



WWW.WZBIO.COM.CN

400-077-2566
WWW.WZBIO.COM.CN



官方公众号平台



更多科研小技能

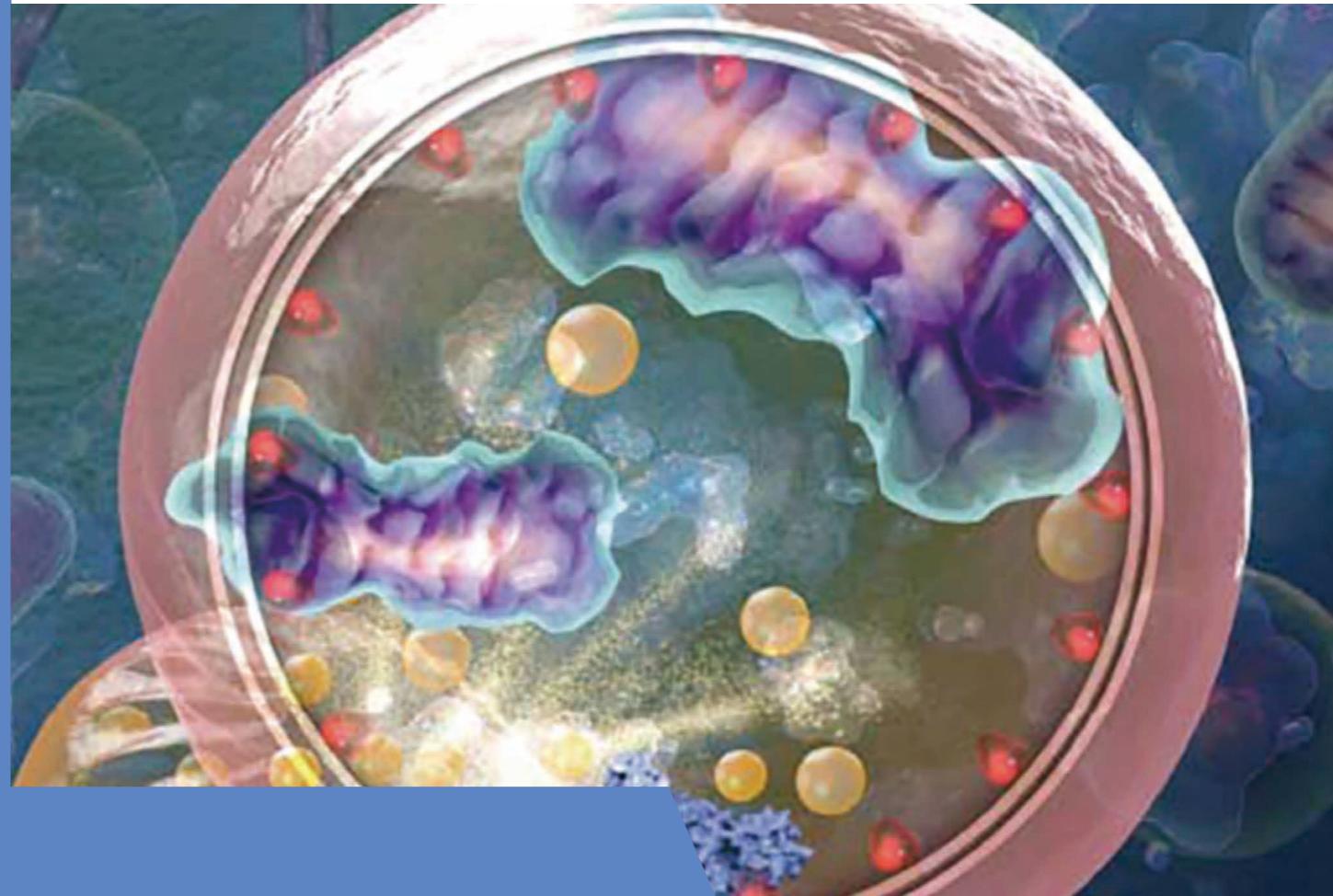
山东维真生物科技有限公司

地址: 山东省济南市高新区港源四路416号维真产业园

网址: www.wzbio.com.cn

技术交流QQ群: 290156365 企业客服QQ: 4000772566

邮箱: service@wzbio.cn



细胞自噬

Autophagy

Technical Manual
技术手册



维真生物公司于 2012 年在中国济南创立，注册资金 1 亿元。维真生物公司定位于生物与健康产业，专注于腺病毒、慢病毒、腺相关病毒（AAV）病毒载体产业。

公司已拥有包含 18000 余个人源 ORF cDNA 克隆、1300 余个人源 miRNA 克隆的现货质粒库和包含 12000 余个人源 ORF 的腺病毒现货库；公司还提供分子克隆、基因敲减、基因敲除、基因突变等基因编辑服务，并在此基础上提供各类病毒包装服务。我们的客户遍及中国、美国、欧洲各国及各大院校、科研院所、医院及高科技生物企业。

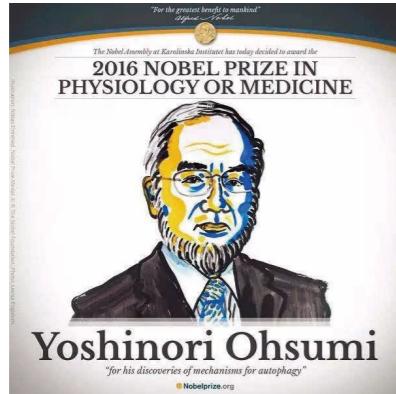
在“让生命更健康，让世界更美好”伟大愿景的指引下，维真生物以帮助客户解决问题为目标，以专业的服务共创未来。

INTRODUCTION

维真生物

- 分子克隆 腺病毒 腺相关病毒 慢病毒 细胞系建立 筛选检测

Part.1 自噬简介	2
1.1 自噬的概念	3
1.2 自噬的分类	3
1.3 自噬的发生过程	4
1.4 自噬相关蛋白	4
1.5 线粒体自噬	6
Part.2 自噬调控	7
Part.3 自噬检测方法	9
Part.4 维真自噬相关产品	13
4.1 克隆产品	14
4.2 病毒产品	14
Part.5 案例展示	15
Part.6 客户代表性文章	19



诺奖级科研热点——细胞自噬

2016 年，瑞典卡洛琳斯卡医学院将诺贝尔生理学或医学奖授予日本科学家大隅良典 (Yoshinori Ohsumi)，以表彰他在细胞自噬机制研究中取得的成就。

上世纪 90 年代初，大隅良典使用酵母发现了细胞自噬的关键基因，随后他在酵母中发现了细胞自噬的基本原理，并揭示了人类细胞中存在类似的复杂机制。大隅良典的研究成果有助于人类更好地了解细胞如何实现自身的循环利用。此外，细胞自噬基因的突变会引发疾病，大隅良典在自噬方面的发现对研究脑退化症、癌症和帕金森症等多种疾病都有很大帮助。

大隅良典
2016 年诺贝尔生理学或医学奖获得者

自噬研究热度分析

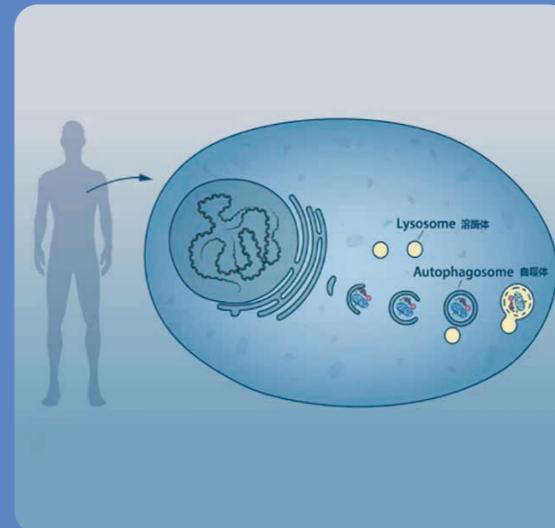
2004 年 12 月出版的《Science》杂志将自噬的研究列为 2005 年科技领域的六大热点之首。2005 年，《Autophagy》杂志创刊，标志着自噬的研究已经得到了国际的公认和重视。根据 PubMed 数据库中收录的自噬相关文献显示，自 1963 年比利时科学家 Christian de Duve 首次提出“自噬”的概念至 2016 年日本科学家大隅良典荣获诺奖，记录的文献数量大约为 25000 余篇，而自 2016 年获得诺奖以来，细胞自噬的研究热度一直持续高涨，近 5 年 PubMed 收录的相关文献已超过 30000 篇，呈现了爆炸式增长。可以预计，自噬的研究将继续呈现上升趋势。



1963-2020 年收录于 PubMed 中的自噬相关报道的文献数量

Part - 1 自噬简介

细胞内的物质代谢平衡是保证一切生命活动顺利进行的基础。真核细胞内物质分解代谢的途径主要有两条：泛素蛋白酶体途径和自噬途径。泛素蛋白酶体途径以待降解蛋白质的泛素化为标志，并最终通过蛋白酶体将其分解，此途径主要选择性地降解细胞内的短寿命蛋白质。细胞内的长寿命蛋白质及受损的细胞器则主要通过自噬途径降解。



图片来源：网络

1. 自噬的概念

自噬(autophagy=self-eating)意为自体吞噬,是真核细胞在自噬相关基因(autophagy related gene, Atg)的调控下利用溶酶体降解自身细胞质蛋白和受损细胞器的过程。自噬可防止细胞损伤,促进细胞在营养缺乏的情况下存活,并对细胞毒性刺激作出反应。自噬包括生理条件下的基础型自噬和应激条件下的诱导型自噬。前者是细胞的自我保护机制,有益于细胞的生长发育,保护细胞防止代谢应激和氧化损伤,对维持细胞内稳态以及细胞产物的合成、降解和循环再利用具有重要作用;但自噬过度可能导致代谢应激、降解细胞成分,甚至引起细胞死亡等。研究表明,自噬能在细胞稳态、衰老、免疫、肿瘤发生及神经退行性疾病等多种生理病理过程中发挥重要作用。

2. 自噬的分类

根据包裹物质及运送方式的不同可将自噬分为3种类型(图1):

- ① **巨自噬 (macroautophagy)**: 通过形成具有双层膜结构的自噬体(autophagosome)包裹胞内物质,最终自噬体与溶酶体融合。一般情况下所说的自噬是指巨自噬。
- ② **微自噬 (microautophagy)**: 通过溶酶体或液泡表面的形变直接吞没特定的细胞器。
- ③ **分子伴侣介导的自噬 (chaperone-mediated autophagy, CMA)**: 具有 KEFRQ 样基序的蛋白在 HSP70 伴侣的帮助下,通过 LAMP-2A 转运体转运到溶酶体。

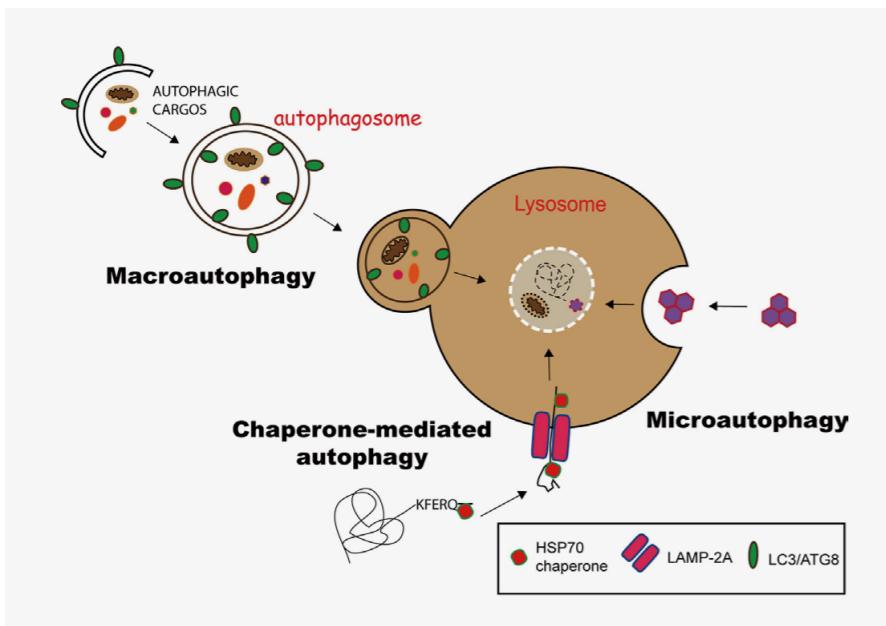


图1. 3种自噬途径 (Duraes Fernanda V et al. Front Immunol, 2015)

3. 自噬的发生过程

自噬是一种在进化上保守的细胞内分解代谢过程,在该过程中,细胞质大分子、聚集性蛋白、受损细胞器或病原体被运送至溶酶体,并被溶酶体水解酶降解,产生核苷酸、氨基酸、脂肪酸、糖和三磷酸腺苷,最终再循环到胞浆中。诸如饥饿、辐射、缺氧、细菌入侵、生长因子匮乏等多种因素均可诱导自噬发生。自噬的发生过程大体分为以下4个阶段(图2):

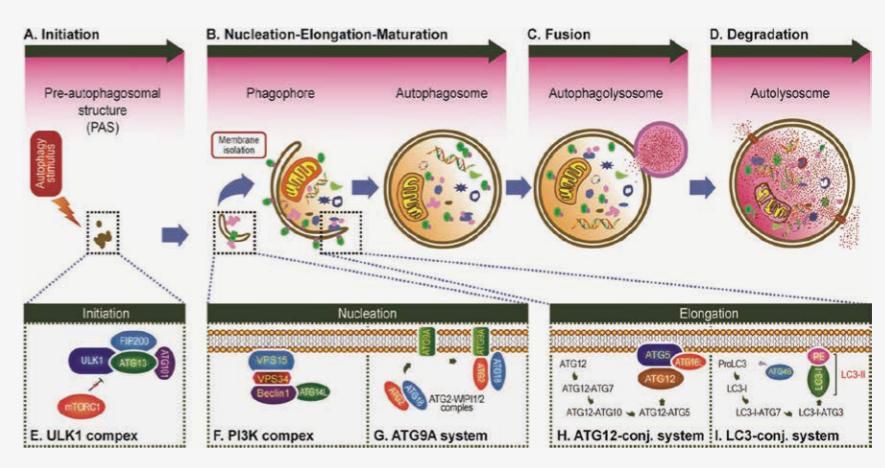


图2. 自噬的发生过程示意图 (Li et al. Molecular Cancer, 2020)

- ① **自噬的起始** 在自噬诱导信号的调控下,ULK1复合物和多种ATG蛋白被活化,并定位于前自噬体处。
- ② **隔离膜和自噬体的形成** ATG蛋白和脂质不断被募集,从而形成杯状的双层膜结构(隔离膜,phagophore);随着隔离膜的逐渐延伸,将要被降解的胞浆成分完全包裹,最终形成闭合的自噬体(autophagosome)。
- ③ **自噬体与溶酶体融合** 自噬体形成后将其包裹物通过胞内运输系统运输至溶酶体,并与溶酶体融合。
- ④ **自噬体的裂解** 自噬体与溶酶体融合后形成自噬溶酶体(autolysosome),最终在溶酶体水解酶的作用下降解其包裹物。

总而言之,自噬的本质其实是细胞内的膜重排。在膜重排的过程中,会形成一个具有双层膜并包裹着随机或特定底物的封闭囊泡,即自噬体,进而与溶酶体融合,形成自噬溶酶体并降解底物。

4. 自噬相关蛋白

细胞自噬的发生与营养状态、能量状态、氧化应激、缺血缺氧等相关,其受多重机制调节,如ULK1通路、Beclin1通路、AMPK通路等。在自噬的发生过程中,有多种蛋白可调节和控制自噬形成的不同阶段。



如图 2 所示，在自噬的发生过程中，多种自噬相关基因调控自噬流的不同阶段。迄今为止，科学家已在酵母中鉴定出 40 余个编码 ATG 蛋白的基因，并且大多数在酵母和哺乳动物之间高度保守。在哺乳动物细胞中，饥饿诱导的自噬大约受 20 种核心 ATG 基因调节，它们在溶酶体附近被不断募集，并组装形成自噬前体。这些基因的分类和作用（表 1）如下：

- ① **ULK1 激酶核心复合物**，包括 ULK1/2、ATG13、RB1CC1/FIP200 和 ATG101；
- ② **PI3K 复合物**，包括 VPS34、VPS15、Beclin1 和 ATG14L；
- ③ **ATG9A 转运系统**，包括 ATG9A、WIPI1/2 和 ATG2A；
- ④ **ATG12 泛素样结合系统**，包括 ATG12、ATG7、ATG10、ATG5 和 ATG16L1；
- ⑤ **LC3 泛素样结合系统**，包括 LC3A/B/C、ATG7、ATG3 和 ATG4A/B/C/D。

Genes		Protein function description
Mammals	Yeast	
ULK1/2 (Unc51-like kinase 1 and 2)	Atg1	Is part of the ULK-ATG13-ATG101-FIP200 complex and phosphorylates Beclin1; interacts with Atg13; is involved in initiation of autophagy, membrane targeting, membrane curvature sensing, and lipid vesicle tethering
ATG2A/B	Atg2	Is part of the ATG9/ATG12-WIPI complex, which is important for ATG9 recruitment to expand autophagosome
ATG3	Atg3	E2-like enzyme in LC3 lipidation; autocatalyzes itself to form ATG12-ATG3 complex for maintaining mitochondrial homeostasis
ATG4A-D	Atg4	Cysteine protease to process Atg8 by removing its last amino acid; and deconjugate Atg8-PE; involved in LC3 activation and delipidation
ATG5	Atg5	Is part of the ATG12-ATG5 complex involved in autophagosome formation/elongation, acting as an E3-like enzyme in LC3 lipidation; interacts with Atg16 and plays crucial roles in autophagy.
Beclin1	Atg6	Is subunit of the VPS34-PI3K complex; recruits Atg14 or Vps38; interacts with Bcl-2; and lipid binding and membrane deformation
ATG7	Atg7	E1-like enzyme interacting with E2 enzyme Atg10 or Atg3 involved in LC3 and ATG12 conjugation; and forms a thioester bond with Atg8
MAP1 LC3A-C, GABARPs, GATE-16	Atg8	Modifier; Ubiquitin-like module conjugated to PE and used as autophagosome marker; recognizes the cargo-specific adaptors; and in vitro membrane tethering
ATG9L1/L2	Atg9	Transmembrane protein; interacts with ATG2-WIPI complex; shuttles between PAS and peripheral organelles to deliver lipids/factors during phagophore expansion; and self-interaction
ATG10	Atg10	E2-like enzyme in ATG12 conjugation with Atg5
ATG12	Atg12	Modifier; ubiquitin-like module conjugated to Atg5; forms an E3 complex with Atg5 and Atg16; and interacts with Atg3
ATG13	Atg13	Is part of the ULK-ATG13-ATG101-FIP200 complex involved in initiation of autophagy; targets mTOR signaling pathway; interact with Atg1 and bridges Atg1 and Atg17-Atg31-Atg29; recruits the Vps34 complex via Atg14; binds to LC3; and interacts with Atg101
ATG14L(Barkor)	Atg14	Is subunit of VPS34-PI3K complex; interacts with Beclin1 to assemble the autophagic-specific complex; membrane targeting and membrane curvature sensing; and promote membrane fusion
ATG16L1/L2 RB1CC1/FIP200	Atg16 Atg17	Binds to ATG5-ATG12 complex acting as part of the E3 enzyme complex Is part of the ULK-ATG13-ATG101-FIP200 complex involved in initiation of autophagy; interacts with Atg13 and Atg5; forms ternary complex with Atg31 and Atg29; and senses membrane curvature
WIPI1-4	Atg18	Is part of the ATG2-WIPI complex which is important for ATG9 recruitment to autophagosome; binds to PIP ₃ ; required for the retrograde transport of Atg9; and complexes with Atg2
ATG101	-	Interact with Atg13 and forms the ULK-ATG13-ATG101-FIP200 complex

表1. 自噬相关基因及其在自噬中的蛋白质功能 (Li et al. Molecular Cancer, 2020)

一心一意
做好服务
全心全意
助力科研



5. 线粒体自噬

细胞自噬既可以是非选择性的，如巨自噬和微自噬；也可以是选择性的，包括线粒体自噬 (mitophagy)、过氧化物酶体自噬 (pexophagy)、内质网以及核糖体自噬等途径。非选择性自噬在细胞饥饿时发挥重要的作用，能为细胞提供氨基酸等以满足营养需要；选择性自噬则主要用于保护细胞的结构，在正常的情况下扮演“大扫除”(house-cleaning) 的角色。

在 ROS、营养缺乏、细胞衰老等外界刺激的作用下，细胞内的线粒体发生去极化出现损伤。损伤的线粒体被特异性的包裹进自噬体中并与溶酶体融合，从而完成线粒体的降解，维持细胞内环境的稳定，这个过程被称为线粒体自噬。

线粒体自噬是由 PINK1-Parkin 介导的选择性清除多余或受损线粒体的自噬过程。正常条件下，PTEN 诱导激酶 1 (PINK1) 通过线粒体靶向序列连续靶向线粒体，并被基质处理肽酶 MPP 降解，随后被线粒体内膜中的蛋白酶 PARL 切割，裂解的 PINK1 转运到胞浆，并被蛋白酶体降解。当线粒体受损时，PINK1 通过外膜转位酶 (TOM) 在线粒体外膜积累，激活并招募 Parkin，随后线粒体外膜上的蛋白 VDAC1 和 Mfn1/2 被 Parkin 泛素化，诱导线粒体自噬。泛素化后，包括 p62 在内的受体蛋白在线粒体外膜中积累，导致泛素化的产物通过与 LC3 结合被招募到自噬体中，成熟的自噬体与溶酶体融合形成自噬溶酶体，包含的线粒体随后被降解。

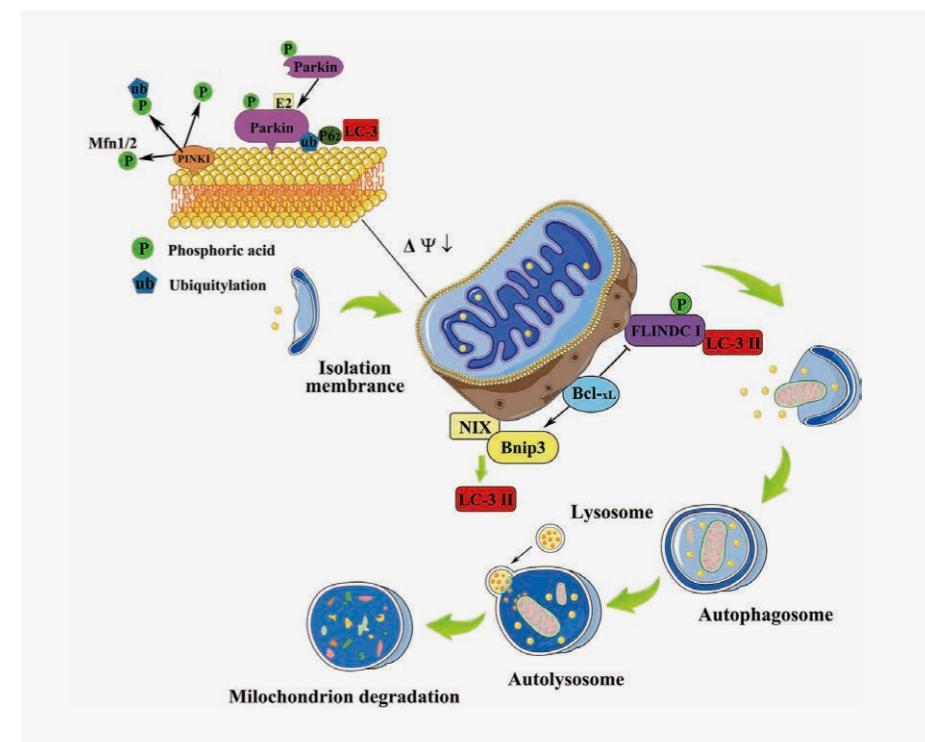
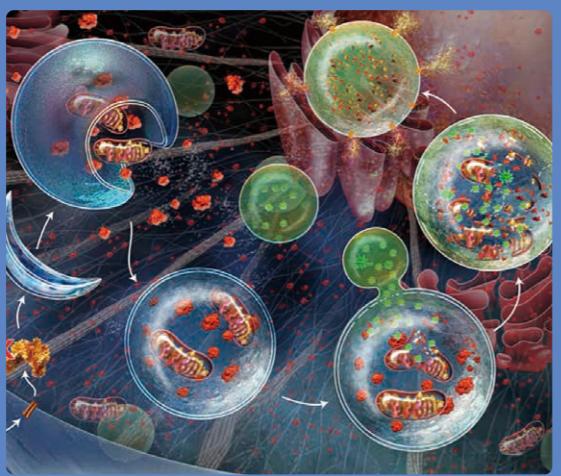


图3. 线粒体自噬的分子机制 (Guan R et al. J Biomed Sci, 2018)

Part - 2 自噬调控

细胞自噬分子机制与功能的研究是生命科学研究中的热点问题之一。在自噬研究中,为了明确细胞自噬参与生理和病理过程的分子机制及功能,研究者通常采用药物对自噬通路进行人为调控,包括正向调控的自噬激动剂和负向调控的自噬抑制剂。这些自噬药物的使用不仅为了自噬研究,也为了人类疾病的治疗,高效特异的自噬药物有望成为疾病的新的治疗策略。本部分,我们给大家重点介绍几种研究者常用的自噬激动剂和自噬抑制剂。



图片来源于网络

● 分子克隆 ● 病毒 ● 病相关病毒 ● 慢病毒 ● 细胞系建立 ● 筛选检测

细胞基础水平的自噬活性很低,不适于观察,因此,对自噬研究多需人工干预。

雷帕霉素靶蛋白(mTOR)激酶在自噬反应中起着重要的调节作用。mTOR(Akt and MAPK signaling)在被mTOR激酶激活后,自噬反应被抑制;而在mTOR(AMPK and p53 signaling)被抑制后,自噬反应机制启动。自噬相关基因(autophagy related gene, Atg)通过形成Atg12-Atg5 和 LC3-II (Atg8-II)复合物来调控自噬体的形成。

自噬既能抑制也能促进细胞凋亡,两种反应在生物体内广泛存在。在营养缺乏时,自噬反应作为一个细胞的促活反应机制存在,但是过量的自噬反应也会导致细胞死亡,但由自噬导致的细胞死亡与细胞凋亡在形态学上有明显的不同。几种促凋亡信号因子,如TNF、TRAIL和 FADD也会诱导自噬的反应发生。此外,Bcl-2也是自噬反应重要的调节因子,其为凋亡抑制蛋白,通过与Beclin-1结合形成复合物,来抑制由Beclin-1诱导的细胞自噬。

已报道的部分干预药物详见表2。

自噬激动剂	自噬拮抗剂
Rapamycin:雷帕霉素, mTOR抑制剂(较常用)	Chloroquine:氯喹, 溶酶体抑制剂
EBSS:Earle's平衡盐溶液, 制造饥饿	Bafilomycin A1:巴佛洛霉素A1, 质子泵抑制剂
Lithium Chloride: 氯化锂, IMPase 抑制剂	3-Methyladenine (3-MA): 3-甲基腺嘌呤, hVps34抑制剂
Xestospongin B/C: 光溜海绵素 B/C, IP3R阻滞剂等	NH4Cl:氯化铵, 溶酶体抑制剂等

表2. 自噬诱导剂及自噬抑制剂

目前常用的自噬激动剂有Rapamycin, EBSS等,常用的自噬抑制剂有Chloroquine, 3-MA, NH4Cl和Bafilomycin A1等。这些自噬激动剂和抑制剂可以分别激活/抑制自噬发生的不同阶段,因此研究者可以根据实验需要选择合适的激动剂或抑制剂。更多自噬通路调控药物见图4。

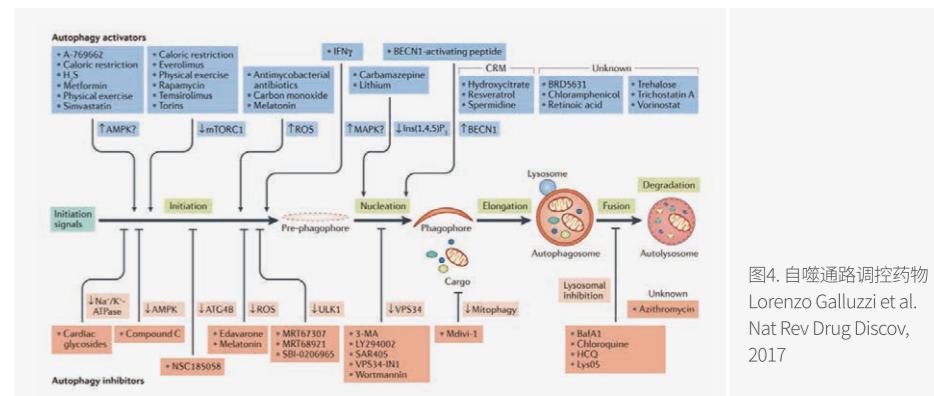
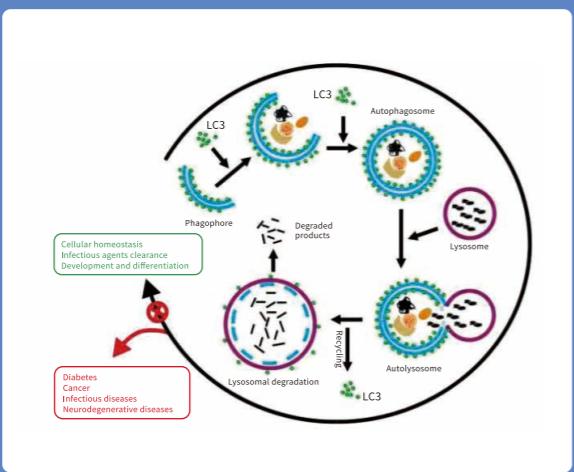


图4. 自噬通路调控药物
Lorenzo Galluzzi et al.
Nat Rev Drug Discov, 2017

Part - 3 自噬检测方法

自噬参与了许多生理和病理过程。因此，研究者需要准确地观察、量化和操控细胞自噬过程。然而，自噬的发生是一个复杂的动态过程，要想准确全面地检测自噬流的变化，需要多种技术手段联合运用，对多个自噬阶段进行综合评估，才能达到理想的实验效果。研究者不仅需要研究细胞水平的自噬变化，还需要借助动物模型，将自噬放到机体内去探究其功能及作用。目前，研究者对自噬的检测主要集中于检测自噬结构的直接法、间接法和针对整个自噬过程设计的荧光指示系统。



在生理条件下，细胞自噬活性通常较低。但在饥饿、缺氧和疾病等刺激下自噬活性会显著上调。另外，自噬抑制也与某些疾病相关，如癌症、神经退行性疾病和传染病等。鉴于细胞自噬与不同的生理和病理生理过程之间存在紧密联系，故科学工作者需要选择理想的自噬检测方法。细胞经自噬诱导或抑制后，常用的观察和检测方法有：

1. 透射电镜法

自噬体属于亚细胞结构，普通光镜下看不到，直接在透射电镜下观察自噬不同阶段的形态变化是一种非常直接的方法。自噬各阶段的形态学特征见表4；透射电镜下自噬小体和自噬溶酶体的形态见图5。

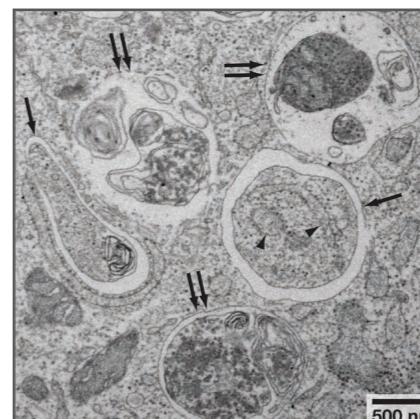


图5. 透射电镜下自噬小体(单箭头)和自噬溶酶体(双箭头)形态 (Noboru, Mizushima et al. Cell, 2010)

自噬标志	形态学特征	自噬阶段
隔离膜	新月状或杯状，双层或多层膜，有包围胞浆成分的趋势	自噬初期
自噬小体	双层或多层膜的液泡状结构，内含胞浆成分，如线粒体、内质网、核糖体等	自噬中期
自噬溶酶体	单层膜，胞浆成分已降解	自噬后期

表4. 自噬各阶段的形态学特征

2. 荧光显微镜观察法

LC3 (light chain 3) 全称MAP1LC3 (microtubule-associated proteins light chain 3)，贯穿整个自噬过程，是目前公认的自噬标记物。哺乳动物中的LC3与酵母中的自噬相关蛋白Apg8/Aut7/Atg8具有同源性。哺乳动物的LC3可分为三种：LC3A、LC3B和LC3C。其中，LC3B应用相对广泛。

LC3蛋白合成后在其羧基端被Atg4剪切掉C端5肽，暴露甘氨酸残基，产生细胞浆定位的LC3-I。在自噬过程中，LC3-I会被包括Atg7和Atg3在内的泛素样体系修饰和加工，与磷脂酰乙醇胺(PE)相偶联，形成LC3-II并定位于自噬体内外膜上。自噬体和溶酶体融合后，外膜上的LC3-II被Atg4切割，产生LC3-I循环利用；内膜上的LC3-II被溶酶体酶降解，导致自噬溶酶体中LC3含量很低(图6)。因此，科研工作者可以通过荧光显微镜观察内源性LC3或GFP-LC3，即可实现对自噬发生的检测。

LC3 荧光病毒 点亮细胞后 信号指示灯 监测自噬流

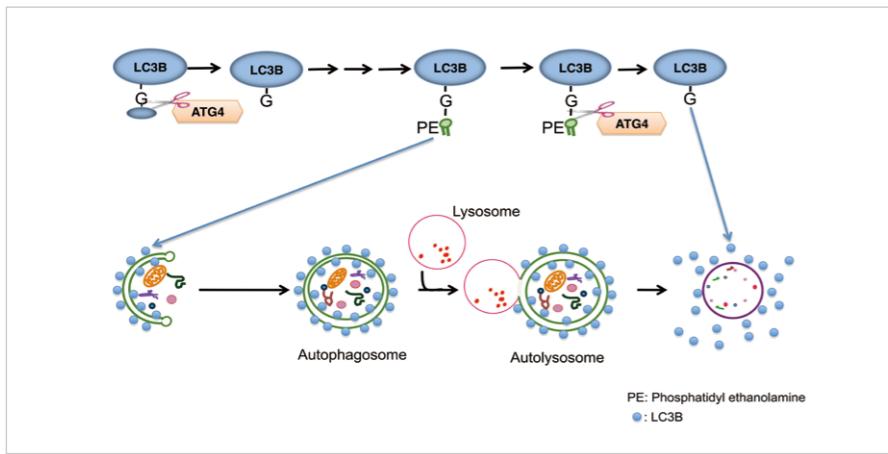


图6. LC3在自噬发生中的路径(Induction of the Expression of GABARAPL1 by Hydrogen Peroxide in C6 Glioma Cells)

GFP-LC3 单荧光和 mCherry-GFP-LC3 双荧光指示系统

自噬形成时, GFP-LC3或mCherry-GFP-LC3融合蛋白转移至自噬体膜, 在荧光显微镜下形成多个明亮的绿色或黄色荧光斑点。当自噬溶酶体形成后, 酸性的溶酶体环境使GFP荧光淬灭, 而mCherry荧光不受影响, 自噬溶酶体呈现红色荧光(图7)。因此, 科研工作者可以通过LC3荧光指示系统来监测自噬流。

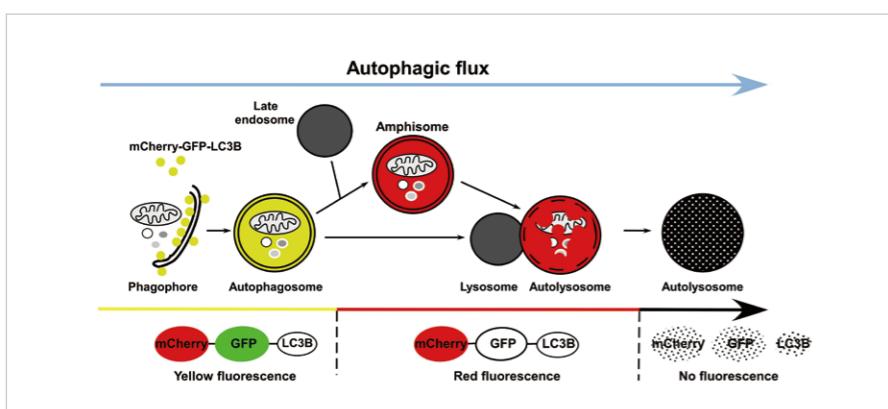


图7. LC3自噬双标系统追踪自噬流不同阶段 (Hansen T E, Johansen T. BMC Biology, 2011)

3. Western Blot 检测 LC3 和 p62 蛋白的表达量

①利用Western Blot检测LC3-II/I比值的变化以评价自噬形成(图8)。自噬形成时, 胞浆型LC3-I会酶解掉一小段多肽, 随后跟PE结合转变为膜型的LC3-II。因此可以通过LC3-II/I比值的大小估计自噬水平的高低。

②除LC3外, 其他自噬底物表达量的变化也可以用于监测自噬流。其中, p62是研究广泛的一个自噬底物。p62(也称为SQSTM1蛋白), 由以下三个结构域组成:N端Phox和Bem1(PB1)结构域、锌指结构域和

C端泛素相关(UBA)结构域。研究表明, p62蛋白锌指结构域和UBA结构域之间的连接区域(LRS区域)负责与自噬受体蛋白Atg8/LC3结合, UBA结构域负责招募泛素化蛋白。在自噬体形成过程中, p62作为链接LC3和聚泛素化蛋白之间的桥梁, 被选择性地包裹进自噬体, 之后被自噬溶酶体中的蛋白水解酶将其降解(图9), 所以p62蛋白的表达量与自噬活性呈现负相关。因此, 利用Western Blot检测p62蛋白的表达量也可以用来评价自噬水平(图8)。

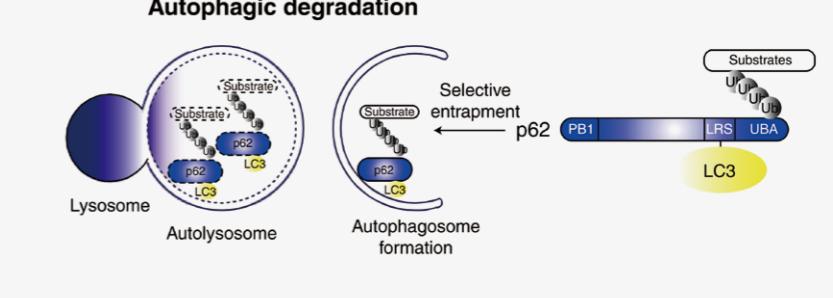
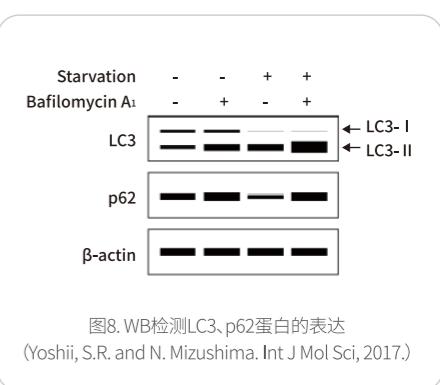


图9. p62介导的选择性自噬模型 (Ichimura Y et al. J Biol Chem, 2008)

4. 基于 Keima 蛋白的自噬评价

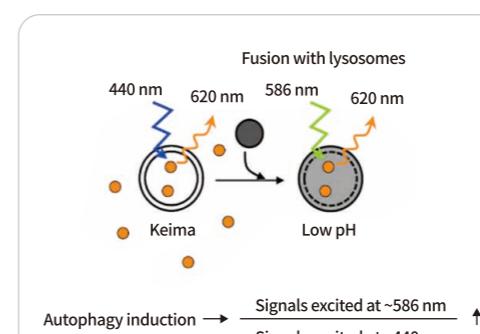


图10. 基于Keima蛋白的自噬评价
(Yoshii, S.R. and N. Mizushima. Int J Mol Sci, 2017.)

Keima是一种PH敏感型的荧光蛋白, 其双峰激发光谱依赖于周围的pH值, 在中性和酸性环境中分别在440nm和586nm处激活。Keima在中性和酸性pH中荧光信号不同的特性, 可以直观地反映自噬程度(图10)。将细胞质的Keima传递到溶酶体可反映非选择性自噬, 将Keima融合到特定的蛋白(如融合到线粒体靶向序列—mt-Keima, 作为线粒体自噬标记)可用于反映选择性自噬。值得注意的是, 基于keima的检测不能在固定细胞中进行, 因为这种检测完全依赖于溶酶体的酸性。

Part - 4

维真自噬产品

除了使用药物人为干预自噬通路外,自噬基因操作(过表达、沉默或者敲除)也有同样的作用。通过这些方法,研究者可以激活或者抑制自噬活性,然后观察细胞行为或者动物行为的变化,从而得出极具说服力的实验结果。在自噬研究方面,维真生物可以提供自噬研究工具,包含大量自噬相关基因的现货克隆,shRNA克隆,CRISPR克隆,以及LC3自噬单双标克隆和病毒,多种策略、多种规格、部分现货,满足您多样化的研究需求。



分子克隆 腺病毒 腺相关病毒 慢病毒 细胞系建立 筛选检测

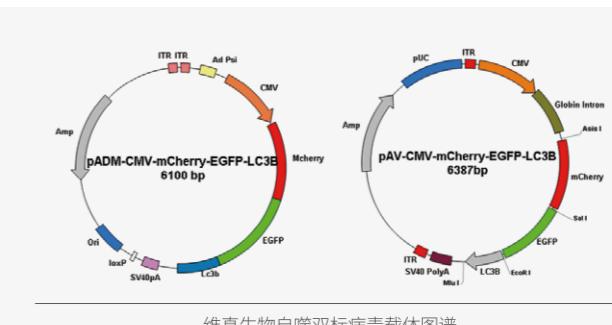
1. 克隆产品

产品货号	基因名称	基因编号	基因长度	分类
CH842100	ATG13	NM_014741	1443 bp	The ULK1 kinase core complex
CH870272	ATG101	NM_021934	657bp	The ULK1 kinase core complex
CH826495	BECN1/Beclin1	NM_003766	1353bp	The class III PI3K complex I
CH810399	PIK3C3/VPS34	NM_002647	2664bp	The class III PI3K complex I
CH841329	PIK3R4/VPS15	NM_014602	4077 bp	The class III PI3K complex I
CH838864	ATG14/ATG14L	NM_014924	1479bp	The class III PI3K complex I
CH854934	WIP1	NM_017983	1341 bp	The ATG9A/ATG2-WIP1/2 trafficking system
CH882336	WIP1	NM_015610	1365 bp	The ATG9A/ATG2-WIP1/2 trafficking system
CH821707	ATG12	NM_004707	423 bp	The ATG12-conjugation system
CH805558	ATG10	NM_031482	663 bp	The ATG12-conjugation system
CH828790	ATG5	NM_004849	828 bp	The ATG12-conjugation system
CH886537	ATG16L1	NM_030803	1824 bp	The ATG12-conjugation system
CH824179	MAP1LC3A/LC3A	NM_032514	366 bp	The LC3-conjugation system
CH837322	MAP1LC3B/LC3B	NM_022818	378 bp	The LC3-conjugation system
CH893675	MAP1LC3C/LC3C	NM_001004343	444 bp	The LC3-conjugation system
CH811236	ATG3	NM_022488	945 bp	The LC3-conjugation system
CH878793	ATG4A	NM_052936	1197 bp	The LC3-conjugation system
CH896350	ATG4B	NM_013325	1182 bp	The LC3-conjugation system
CH804672	ATG4C	NM_178221/NM_032852	1377 bp	The LC3-conjugation system
CH800065	ATG4D	NM_032885	1425 bp	The LC3-conjugation system
CH871029	ATG7	NM_006395	2112 bp	The LC3-conjugation system

注:启动子为CMV,蛋白标签为c-terminal Flag&6×His

2. 病毒产品 - 自噬单双标病毒

产品名称	荧光蛋白	滴度
AdV5-CMV-GFP-LC3	GFP	≥1*10E10pfu/ml
AdV5-CMV-mCherry-GFP-LC3	mCherry, GFP	≥1*10E10pfu/ml
AAV-CMV-GFP-LC3	GFP	≥1*10E13vg/ml
AAV-CMV-mCherry-GFP-LC3	mCherry, GFP	≥1*10E13vg/ml



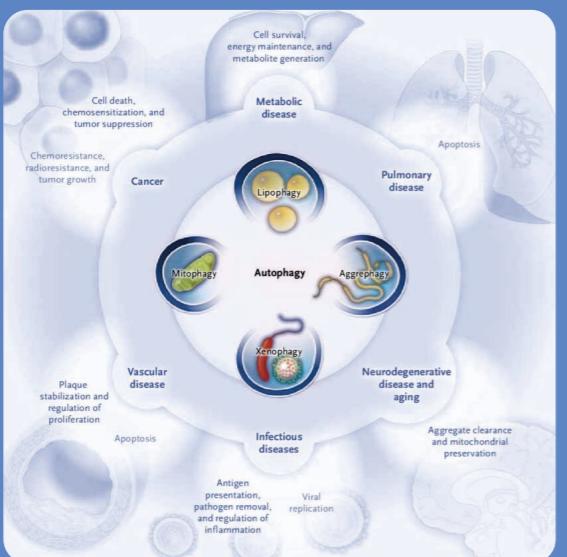
维真生物自噬双标病毒载体图谱



更多自噬相关克隆
与病毒产品
欢迎扫码查看

Part - 5 案例展示

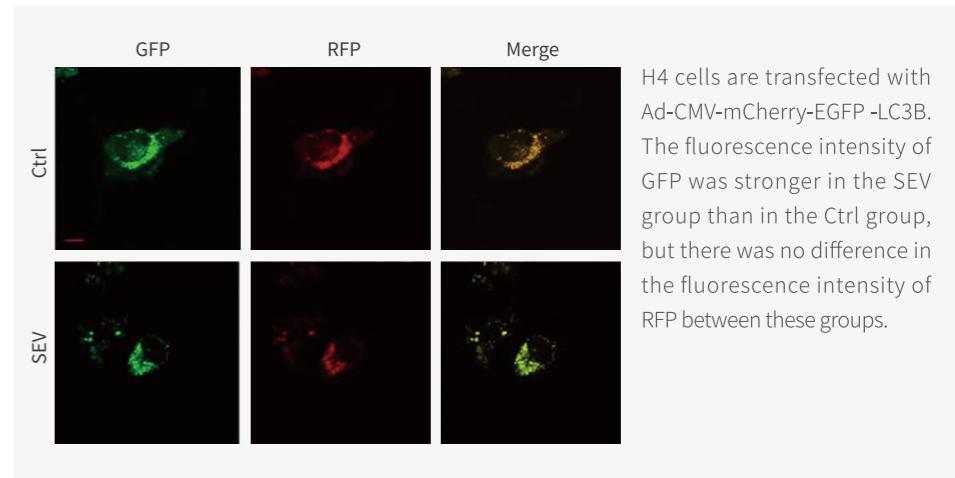
维真生物拥有多年自噬研究经验，公司产品已被客户广泛地应用于多种研究领域，例如神经、肝脏、眼睛和心脏等多方面，相关研究成果也已发表于《Autophagy》、《Molecular Cell》、《Journal of Cellular and Molecular Medicine》等多个世界期刊。希望能通过这些研究成果的分享给各位自噬研究者提供一些参考和支持。期待维真客户更多自噬相关文献的发表！



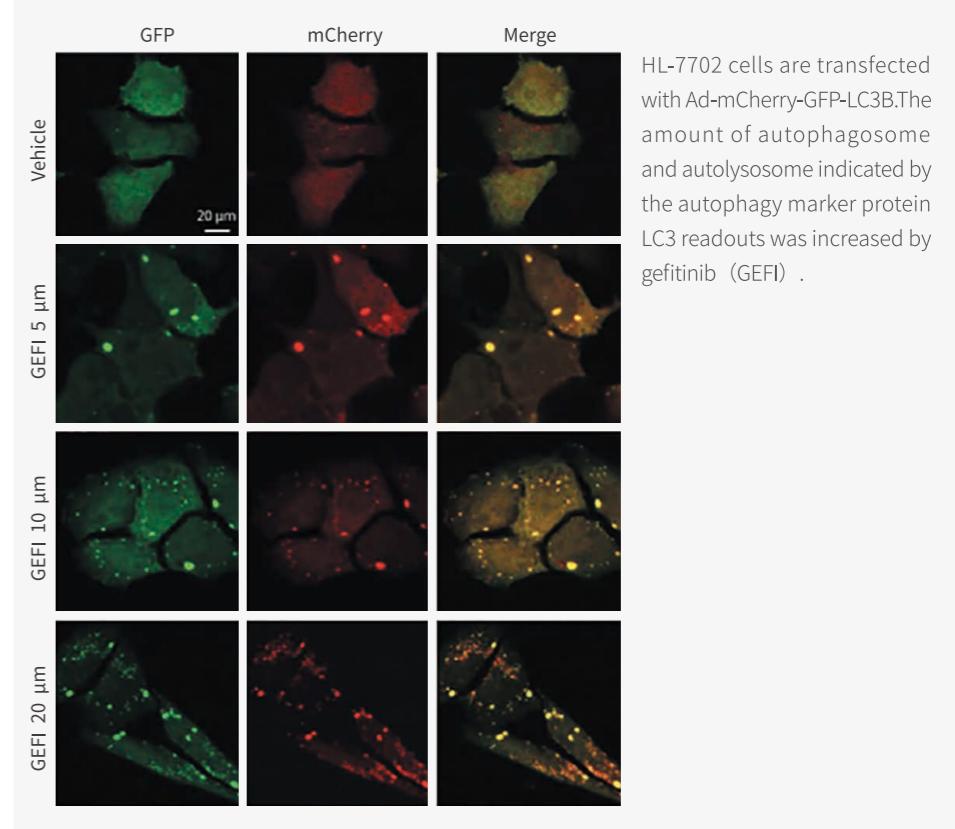
图片来源：网络

● 分子克隆 ● 腺病毒 ● 腺相关病毒 ● 慢病毒 ● 细胞系建立 ● 筛选检测

1. Ad-mCherry-EGFP-LC3B 感染 H4 细胞(人脑神经胶质瘤细胞), MOI=50 (数据来源于 Reference 1)

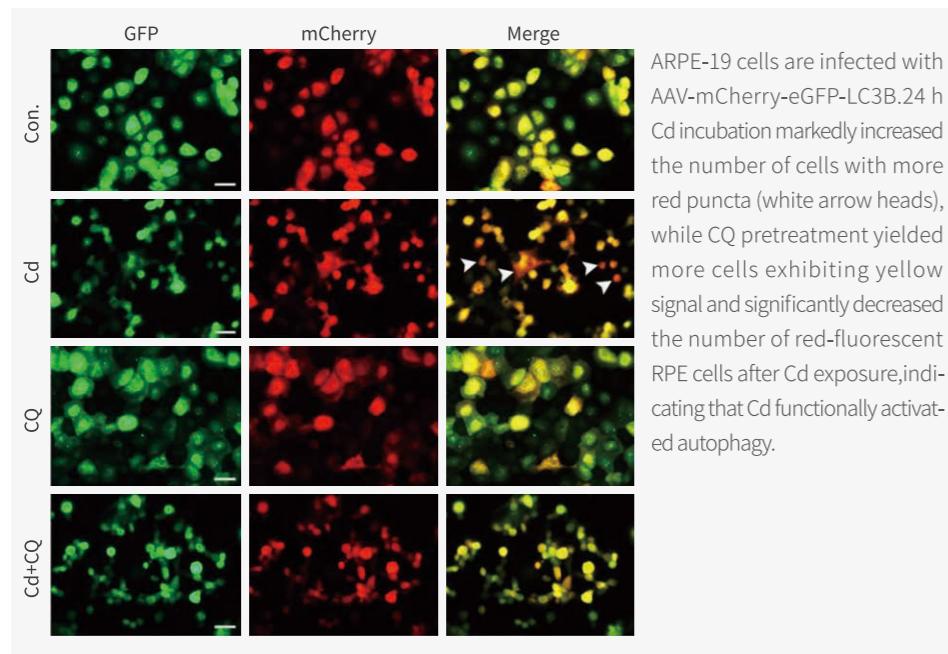


2. Ad-mCherry-GFP-LC3B 感染 HL-7702 细胞 (人肝正常细胞), MOI=20 (数据来源于 Reference 2)

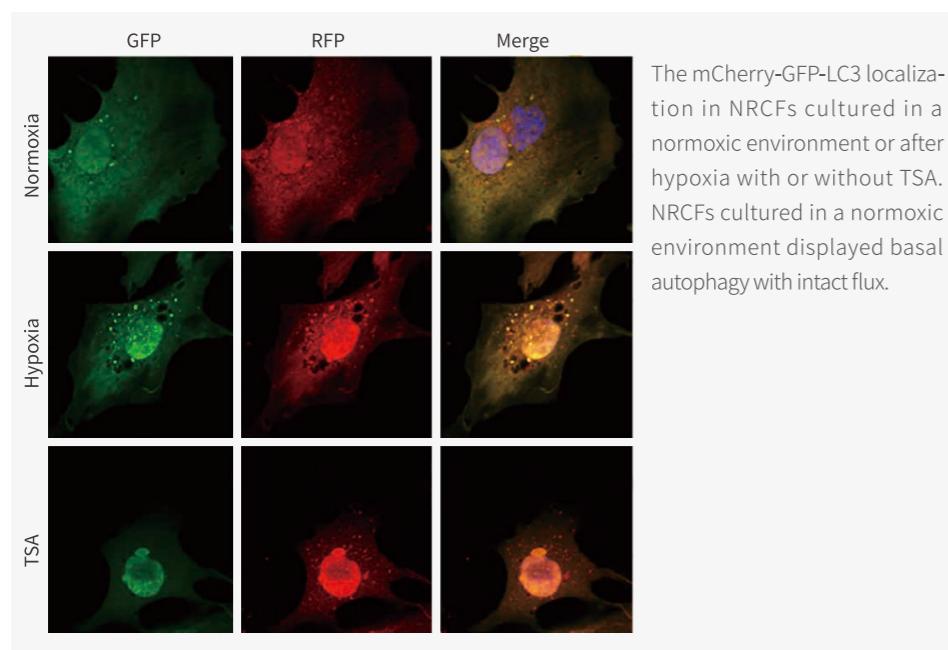


3. AAV-mCherry-eGFP-LC3B 感染 ARPE-19 细胞 (人视网膜上皮细胞),

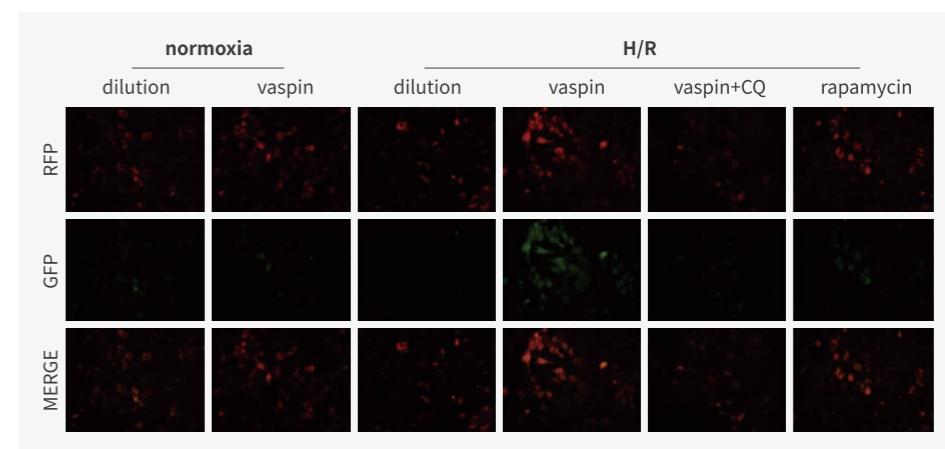
病毒滴度: 3.2×10^{10} pfu/ml (数据来源于 Reference 3)



4. Ad-mCherry-GFP-LC3 感染 NRCFs 细胞(原代培养新生大鼠心脏成纤维细胞), MOI=50 (数据来源于 Reference 5)

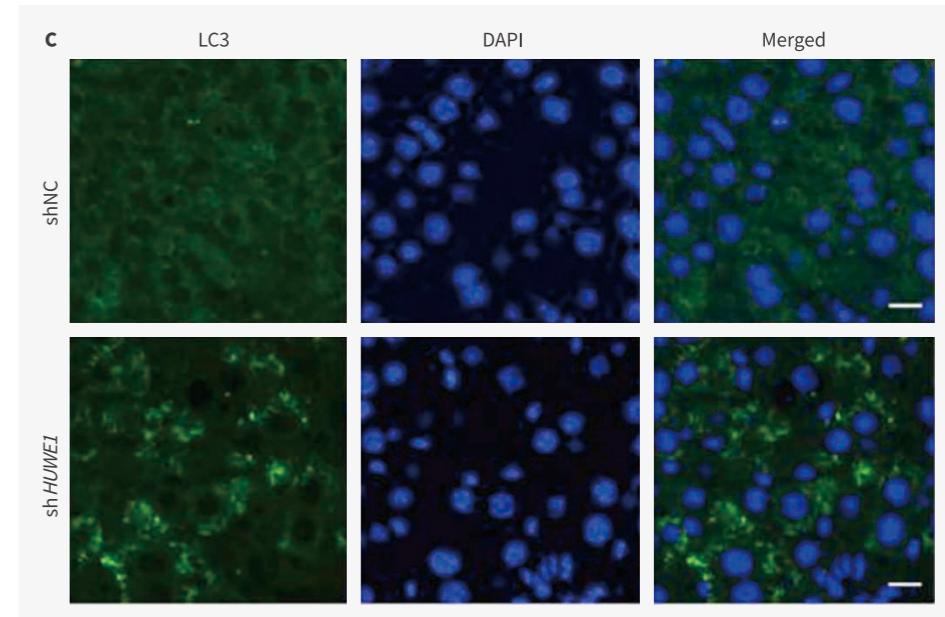


5. Ad-RFP-GFP-LC3 愄染 H9C2 细胞 (大鼠心肌细胞), MOI=50 (数据来源于 Reference 6)



H9C2 cells were transfected with Ad-RFP-GFP-LC3. Rapamycin is shown as a positive control. Puncta representing autophagosomes and autolysosomes both increased significantly under vaspin treatment after H/R, indicating that vaspin exerted promotive and reparative effects on autophagic flux, which were blocked by CQ.

6. AAV 敲低 HUWE1 基因促进小鼠肝组织中 LC3 斑点的形成。(数据来源于 Reference 7)



The mice are intraperitoneally injected with rAAV-shNC or rAAV-shHUWE1. In addition, the formation of LC3 puncta were greatly increased in mouse livers injected with rAAV-shHUWE1.

Part - 6 客户代表性文章

- 1.Aging (Albany NY). (IF=4.831). Chen Y, et al. (2020). Mitophagy impairment is involved in sevoflurane-induced cognitive dysfunction in aged rats. [术后认知功能障碍]
 - 2.Autophagy. (IF=9.77). Peihua Luo, et al. (2020). PLK1 (polo like kinase 1)-dependent autophagy facilitates gefitinib-induced hepatotoxicity by degrading COX6A1(cytochrome coxidase subunit 6A1). [肝功能障碍]
 - 3.Toxicol Lett. (IF=3.569). Zhang L, et al. (2019). Endoplasmic reticulum stress and autophagy contribute to cadmium-induced cytotoxicity in retinal pigment epithelial cells. [视网膜色素上皮]
 - 4.Molecular Cell. (IF=15.584). Wan, et.al. (2019). Pacer is a mediator of mTORC1 and GSK3-TIP60 signaling in regulation of autophagosome maturation and lipid metabolism. [肝自噬和脂代谢]
 - 5.Cell Physiol Biochem. (IF=5.5). Wang Y, et al. (2018). Inhibition of Histone Deacetylases Prevents Cardiac Remodeling After Myocardial Infarction by Restoring Autophagosome Processing in Cardiac Fibroblasts. [心脏重塑]
 - 6.Biochemical and Biophysical Research Communications. (IF=2.985). Yang, et.al. (2018). Vaspin alleviates myocardial ischaemia/reperfusion injury via activating autophagic flux and restoring lysosomal function. [心脏]
 - 7.Molecular Cell. (IF=15.584). Wan W, et al. (2018). mTORC1-Regulated and HUWE1-Mediated WIPI2 Degradation Controls Autophagy Flux. [自噬流]
 - 8.Molecular Cell. (IF=15.584). Su, et al. (2017). VPS34 Acetylation Controls Its Lipid Kinase Activity and the Initiation of Canonical and Non-canonical Autophagy. [肝自噬]
-

维真生物 产品与服务

PRODUCTS & SERVICES



分子克隆



腺病毒



腺相关病毒



慢病毒



细胞系建立



筛选检测

