

**论文题目:** 构建分子信标检测解螺旋酶活性的高通量筛选体系

**作者:** Craig A. Belon and David N. Frick

**原始论文:** BioTechniques 45:433-442 (Oct 2008) doi 10.2144/000112834

**论文摘要:** 该文描述了一个基于荧光检测的高通量解螺旋酶活性筛选系统，并利用该系统测试了HCV病毒NS3解螺旋酶对DNA及RNA底物的解螺旋活性监控。本系统采用一个人工合成的寡聚双链DNA分子信标为底物。该底物双链分子中的短链（信标链）的一端连接一个荧光基团，在另一端则连接一个荧光猝灭分子；信标链进一步同一条更长的DNA或RNA寡核苷酸结合形成稳定的双链底物。该底物分子在解螺旋酶和ATP的作用下双链打开后，信标链形成分子内发夹结构，荧光基团同猝灭基团靠近而引发荧光猝灭。因而检测荧光猝灭即可监控解螺旋酶的活性变化。不同于传统的是螺旋酶活性检测方法，本方法是不可逆的；因此在测定过程中也无须加入额外的DNA单链以防止解链后的底物再次结合。该文作者构建了若干种基于不同荧光分子的反应体系，包括最常用的Cy3和Cy5染料分子。文中也介绍了基于该技术的高通量筛选应用。Tecan的Infinite M200多功能酶标仪被用于反应体系的荧光检测；其结果表明，在384孔微孔板格式下，Infinite M200提供的高灵敏度能够实现稳定的高通量筛选，筛选体系的Z'（评价筛选体系的稳定性及可靠性的数字指标）可达到0.7以上。

原始论文的PDF文件可咨询BioTechniques，或向作者直接索取。您也可以咨询当地Tecan代表。

Infinite系列多功能酶标仪是Tecan公司最新的多功能酶标仪产品，Tecan提供包括Infinite 200 Pro（光栅型或滤光片型），Infinite F500（滤光片型），以及Infinite M1000（光栅型），以满足不同用户的检测要求。如需上述产品的详细资料，请参照网页（[www.tecan.com](http://www.tecan.com)），或咨询当地Tecan代表。