

用于带标签蛋白的生物发光检测

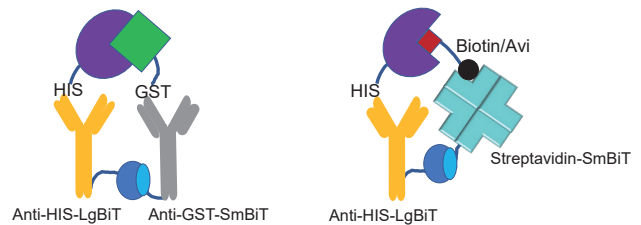
Lumit[®] Anti-Tag Protein Interaction Reagents

蛋白相互作用（包括蛋白-蛋白相互作用（PPI）和蛋白-小分子相互作用）对于许多细胞过程均至关重要，例如运输、信号传导、细胞凋亡和增殖。蛋白相互作用是信号级联反应的主要驱动因素，蛋白相互作用失调可导致自身免疫性疾病和癌症等疾病。因此，调节蛋白相互作用是药物研发的主要着重点。

Promega 开发的 Lumit[®] Anti-Tag Protein Interaction Reagents，是用于测定蛋白质：蛋白质相互作用或蛋白质：小分子相互作用的均质型（无洗涤步骤）免疫检测系统。主要应用包括：寻找这些相互作用的抑制剂或筛选调节相互作用的物质，如 PROTACs 等。

应用：

- 监测 KRAS 突变体和 RBD-cRAF 之间的相互作用
- 监测酪氨酸激酶的小分子抑制剂
- 监测 PROTAC 介导的三元复合物形成
- E3 连接酶 Cbl-b 的自泛素化



蛋白-蛋白相互作用

蛋白-小分子相互作用

特点及优势

- **检测标签蛋白质相互作用**

标签包括 6His、GST、FLAG、人 IgG 和生物素。体外检测蛋白质-蛋白质和蛋白质-小分子相互作用。

- **真正基于溶液的检测方法**

简化工作流程，无需固定或洗涤步骤，节省时间和减少潜在错误。

- **快速且简单**

添加 - 读数格式（没有洗涤步骤），可以在 120 分钟内完成检测。

- **宽广的动态范围**

Lumit[®] 抗标签试剂依赖于生物发光的力量，允许灵敏地检测具有广泛动态范围的蛋白质相互作用。

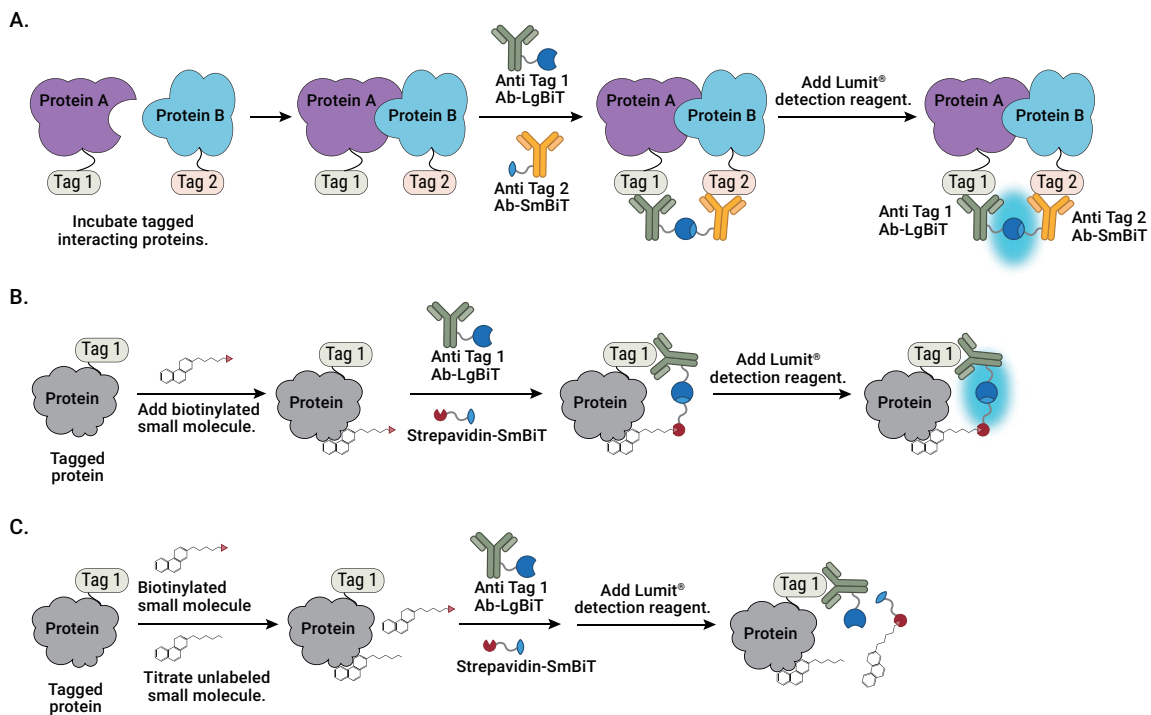
- **适用于高通量应用**

非常适合抑制剂筛选。

Lumit[®] Protein Interaction Immunoassay

原理:

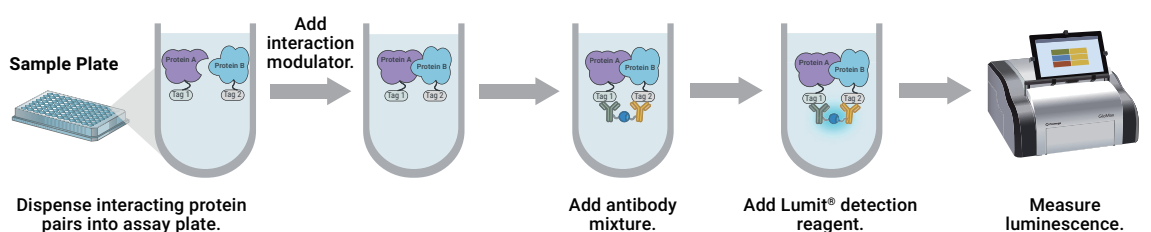
用于蛋白质相互作用研究的 Lumit[®] 抗标签试剂，通过结合免疫检测和 NanoLuc[®] 二亚单元系统 (NanoBiT) 发挥作用。NanoBiT[®] 荧光素酶是一种结构互补性报告基因，非常适合进行相互作用研究。NanoBiT[®] 系统由两个亚基组成：大亚基 (LgBiT; 18kDa) 和小亚基 (SmBiT; 11 氨基酸肽)，它们可以作为重组融合蛋白表达，或通过化学方法偶联到抗体或其他感兴趣的靶标蛋白上。LgBiT 和 SmBiT 两个亚基经过优化，具有最佳的稳定性和极低限度的自我聚合，这是由于它们之间较弱的亲和力 ($K_d \approx 190\mu\text{M}$)。当 LgBiT 和 SmBiT 相互靠近时，它们会形成一个功能性酶，在 Nano-Glo[®] 底物存在的情况下产生发光信号。



上图 . A. Lumit[®] protein interaction immunoassay 示意图。B. Lumit[®] small molecule interaction immunoassay 示意图。C. 在 Lumit[®] small molecule interaction immunoassay 中，滴定未标记的小分子化合物。

简要工作流程:

在多孔板中，将感兴趣的带标签蛋白质置于可促进相互作用的条件下进行孵育。接着，添加抗标签试剂（或者 NanoBiT 标记的链霉亲和素），使其与相应的标签结合。加入 Lumit 检测试剂，检测发光信号。



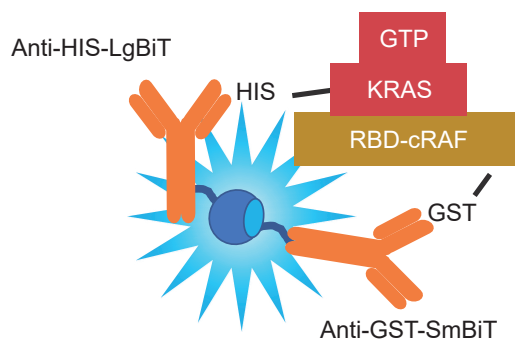
产品订购

产品名称	规格	目录号
Lumit® Anti-6His	LgBiT and SmBiT 20 µl	W1600
	LgBiT 200 µl	W1601
	SmBiT 200 µl	W1611
Lumit® Anti-GST	LgBiT and SmBiT 20 µl	W1620
	LgBiT 200 µl	W1621
	SmBiT 200 µl	W1631
Lumit® Anti-DYKDDDDK*	LgBiT and SmBiT 20 µl	W1640
	LgBiT 200 µl	W1641
	SmBiT 200 µl	W1651
Lumit® Streptavidin	LgBiT and SmBiT 20 µl	W1660
	LgBiT 200 µl	W1661
	SmBiT 200 µl	W1671
Lumit® Anti-Human IgG-LgBiT and -SmBiT	Please Enquire	
Lumit® Detection Reagent A	500 assays	VB2010
	5,000 assays	VB2020

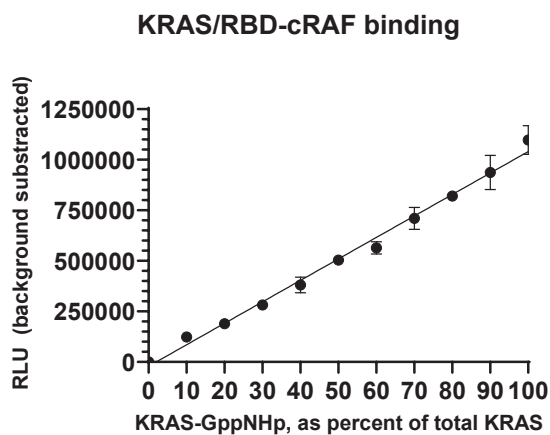
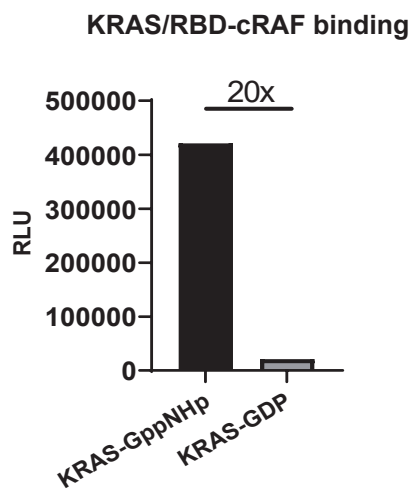
*Anti-DYKDDDDK 识别常用于标记蛋白质的 FLAG® 标签。

应用数据展示

Lumit[®] KRAS-RAF Assay 监测 GTP 结合的 KRAS 与 cRAF 的相互作用

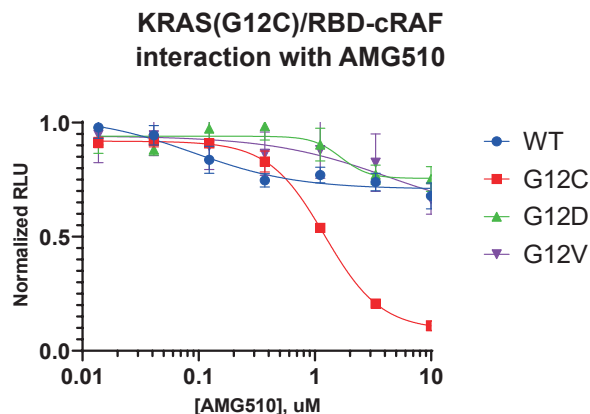
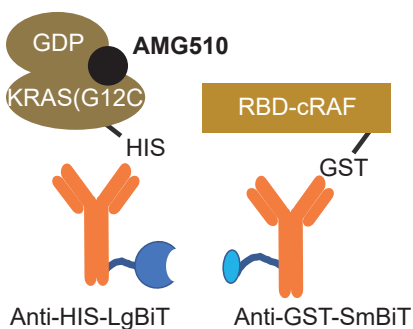


对于 Lumit[®] KRAS/c-RAF 相互作用检测，我们使用了 HIS 标记的 KRAS (G12C) 和 GST 标记的 RBD-cRAF 以及 LgBiT 标记的抗 HIS 和 SmBiT 标记的抗 GST 抗体。

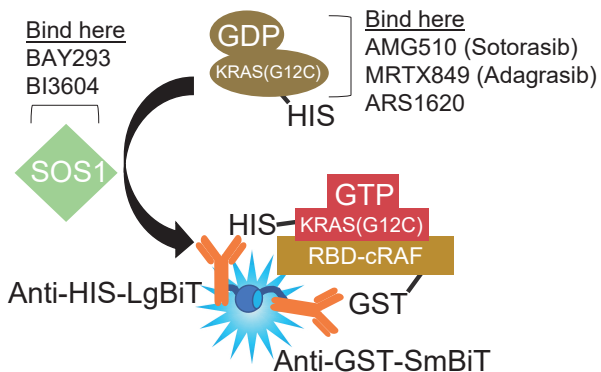


- Lumit[®] KRAS-cRAF 检测方法的检测窗口较宽 (约 20 倍, 左图) 且分辨率极佳 (右图), 可用于监测 KRAS/c-RAF 结合的细微变化, 检测方法准确性和重现性良好。

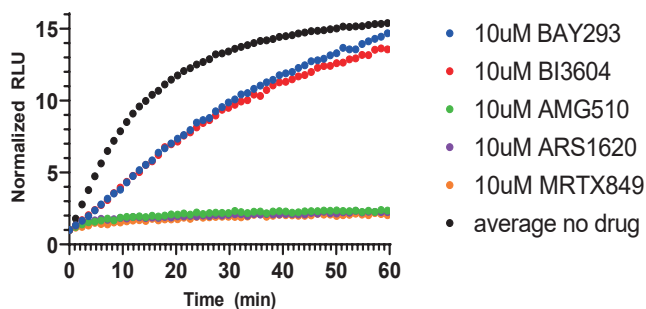
Lumit[®] KRAS-RAF Assay 可用于研究小分子抑制剂



- Lumit[®] KRAS-cRAF Assay 可用于研究小分子抑制剂对系列 KRAS 突变体的特异性。



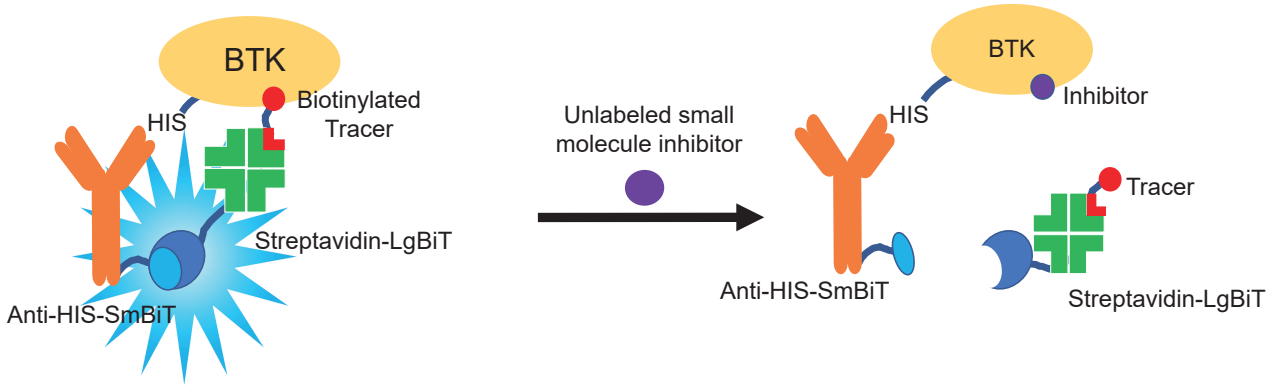
Kinetics of KRAS(G12C)/RBD-cRAF interaction



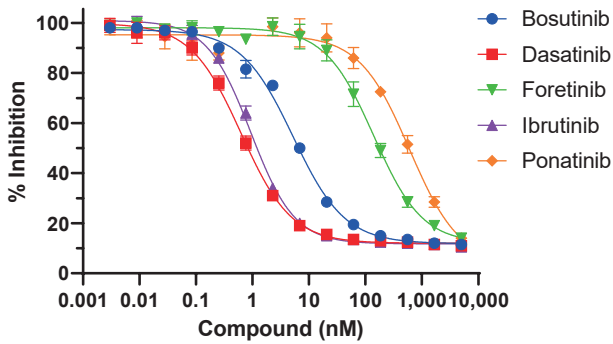
- KRAS 活化循环可于体外重建，且可监测小分子抑制剂存在的情况下 KRAS/cRAF 结合动力学，从而反映 SOS1 介导的 GDP/GTP 转换。

应用数据展示

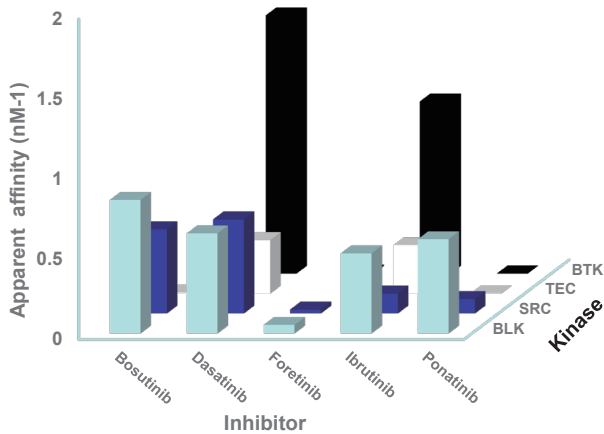
Lumit[®] Protein Interaction Immunoassay 用于监测与小分子的相互作用



BTK with small molecule inhibitors

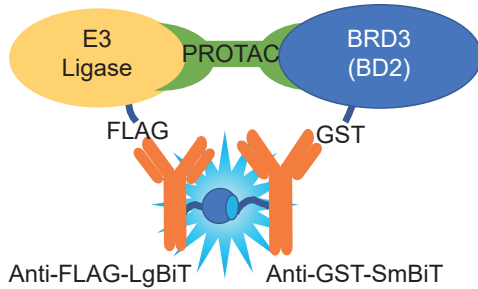


- Lumit[®] Kinase Assay 可实现小分子抑制剂的灵敏、快速筛选。



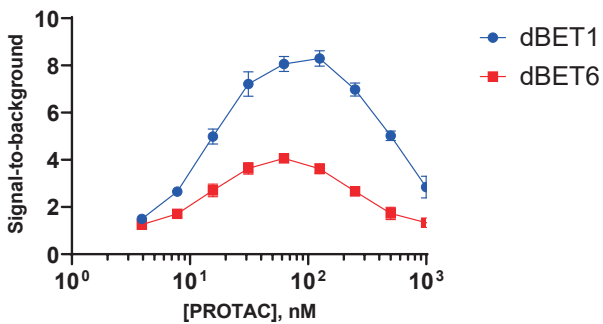
- Lumit[®] Kinase Assay 适用于高通量模式，可用于比较不同抑制剂和靶标的表观亲和力。

Lumit[®] PROTAC Assay 监测三元复合物形成

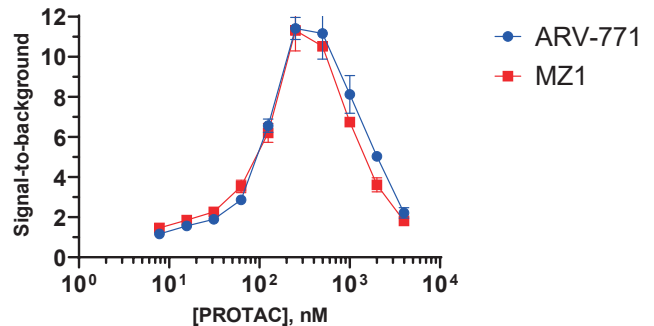


以 BRD3 (BD2) 为靶蛋白, 我们使用抗 FLAG-LgBiT 和抗 GST-SmBiT 的 Lumit[®] 试剂监测了 PROTAC 介导的三元复合物 (cereblon 复合物和 VHL 复合物) 形成。

Cereblon complex + BRD3(BD2)
ternary complex formation

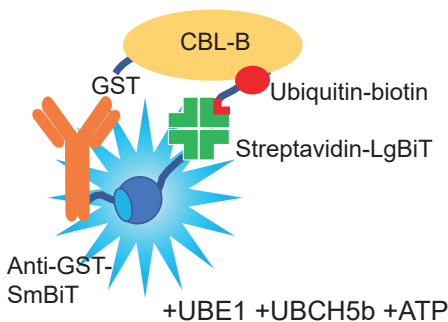


VHL complex + BRD3(BD2)
ternary complex formation

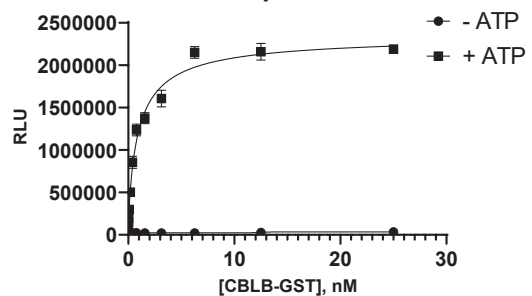


- Lumit[®] PROTAC Assay 可监测不同 E3、靶蛋白和 PROTAC 形成的三元复合物。

Lumit[®] Ubiquitination Assay 监测 E3 连接酶的自泛素化



ATP dependence of Cbl-b
autoubiquitination



为监测 E3 连接酶 Cbl-b 的自泛素化, 我们于 ATP 存在情况下将 Cbl-b 与泛素激活蛋白 (UBE1) 和泛素结合蛋白 (UBCH5b) 共同孵育。并使用链霉亲和素 -LgBiT 和抗 GST-SmBiT 监测了泛素化水平。

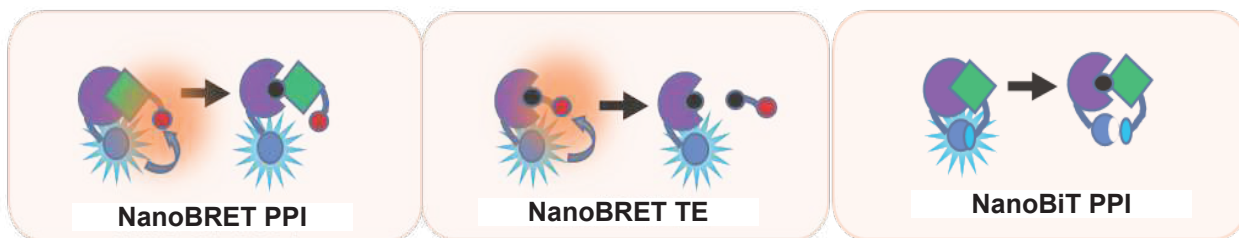
- Lumit[®] 可用监测 E1、E2 和 ATP 存在情况下 E3 连接酶 Cbl-b 的自泛素化水平, 且与对照 (无 ATP) 条件相比, 检测窗口约为 70 倍。

Lumit[®] 检测平台优势:

Promega 开发了一种基于发光信号的均质免疫检测平台 (Lumit[®])，可用于研究蛋白-蛋白和蛋白-小分子相互作用。

- 无需洗涤步骤或表面固定;
- 检测过程快速 (30-60 分钟)、简单;
- 仅需简单化学发光检测仪便可进行检测;
- 可按比例缩减检测方法, 使之适用于 384 孔板;
- 发光信号检测方法的检测窗口较宽。

Lumit[®] Protein Interaction Immunoassay 可与基于发光的细胞试剂盒互补, 具体包括:



了解 Lumit[®] Protein Interaction Immunoassay 更多信息, 请访问
wechat.promega.com.cn

普洛麦格 (北京) 生物技术有限公司
Promega (Beijing) Biotech Co., Ltd

地址: 北京市东城区北三环东路 36 号环球贸易中心
B 座 907-909

电话: 010-58256268

网站: www.promega.com

微网站: wechat.promega.com.cn

技术支持电话: 400 810 8133

技术支持邮箱: chinatechserv@promega.com

更新时间: 2024.7



Promega 生命科学



联系授权经销商