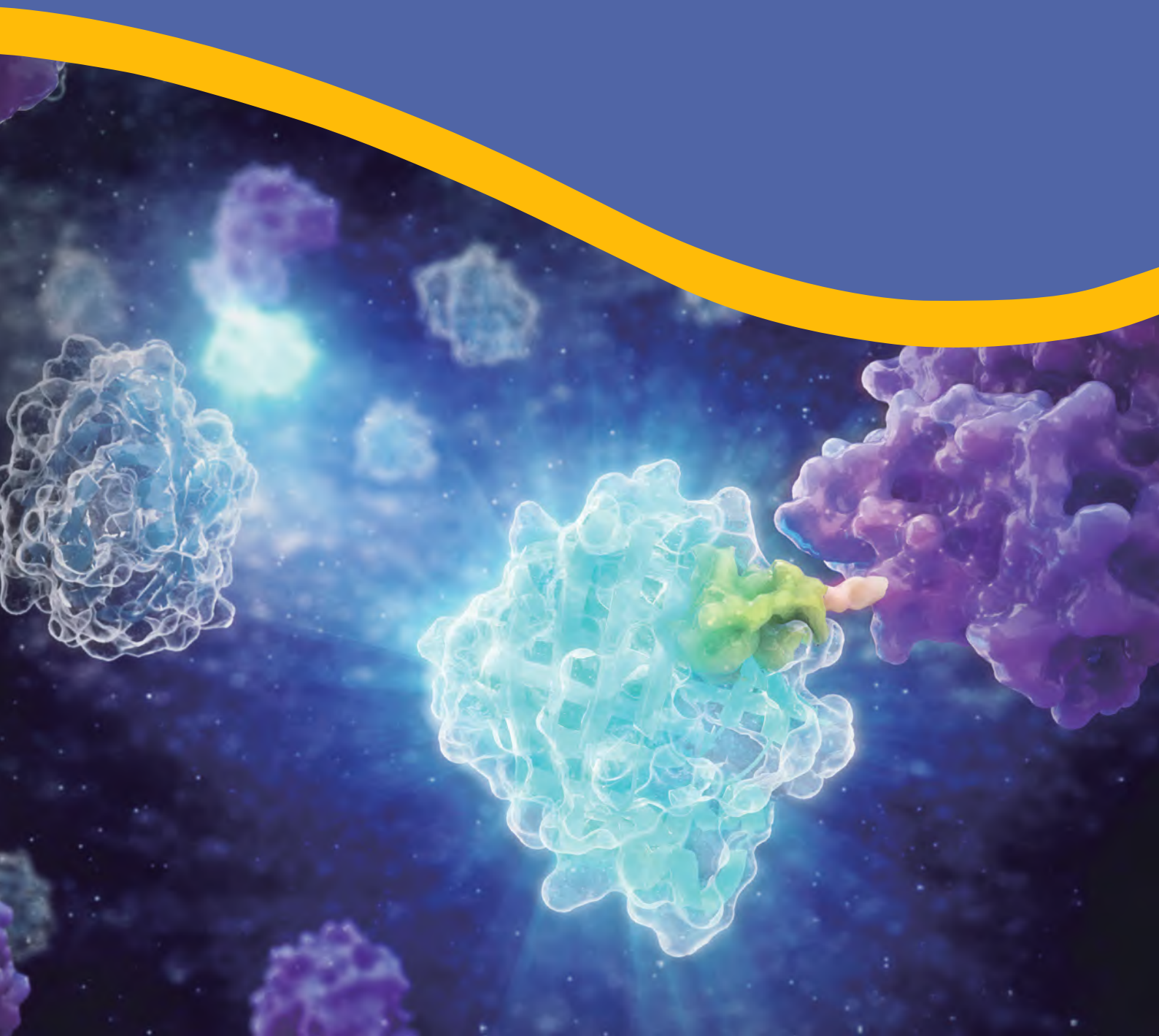


NanoLuc[®] 萤光素酶技术

| 报告基因分析 | 蛋白功能分析 | 免疫学分析
| 生物发光成像 | 病毒研究 | 小分子药物研发



目 录

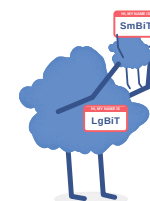
Content

1. NanoLuc® 萤光素酶简介	3
2. NanoLuc® 萤光素酶技术应用	5
2.1 报告基因分析	6
2.2 蛋白分析	10
• 内源性蛋白检测及功能分析	11
• 蛋白：蛋白相互作用	12
2.3 免疫学分析	15
2.4 生物发光成像	16
• 活细胞成像	17
• 小动物活体成像	18
2.5 病毒研究	19
2.6 药物研发	20
• 药物：靶标结合检测	20
• 靶蛋白降解 PROTAC 研究	21
• GPCR 信号通路研究	22
• RAS 信号通路研究	23
3. 应用文献列表	26



100X BRIGHTER

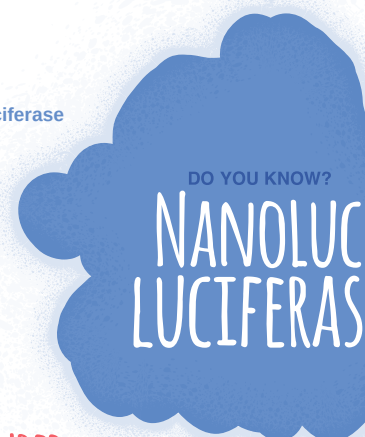
than firefly or *Renilla* Luciferase
for maximum sensitivity.



CAN BE CONFIGURED

as a binary complementation reporter
called NanoBiT to investigate the following:

- protein:protein interactions
- tag endogenous proteins
- quantify protein abundance



A SMALL ENZYME

at only 19kDa, it can squeeze into
more places such as viruses
than the 61.5kDa firefly luciferase

NanoLuc[®] 萤光素酶

NanoLuc[®] Luciferase Technology

TheScientist
**TOP
TEN** 2012
INNOVATIONS



NanoLuc is derived from a
DEEP SEA SHRIMP
(*Oplophorus gracilirostris*)
and is engineered for optimal
performance



OPTIMAL DONOR
for bioluminescent resonance
energy transfer (BRET) to study
protein interactions and
compound:target engagement

NanoLuc[®] luciferase (NanoLuc[®] 萤光素酶, Nluc) 是一个经过基因工程改造的小分子酶 (19.1kDa), 是 Promega 专利技术, 是性能卓越的生物发光报告基因。NanoLuc[®] 萤光素酶在上市当年被 The Scientist 杂志评选为年度十大创新产品。

它使用一种新型底物——Furimazine, Furimazine 是 Promega 的新型专利底物。可渗透细胞, 同时还能够减少自发光和实验背景。与 NanoLuc[®] 反应不依赖 ATP, 可产生高强度、辉光型发光信号。生物发光反应光信号更亮, 可高达 10^{10} 。

Promega 公司拥有 NanoLuc[®] 萤光素酶 (又称 NanoLuc[®] 荧光素酶) 及底物 Furimazine 相关专利, 且 NanoLuc[®] 为 Promega 公司官方注册商标。详情如下。

NanoLuc[®] 萤光素酶专利如下

- 专利号: ZL 2010 8 0019477.4
- 专利公告号: 102459579

NanoLuc[®] 萤光素酶底物 (Furimazine) 的专利如下:

- 专利号: ZL 2011 8 0063659.6; 专利公告号: 103443121
- 专利号: ZL 2011 8 0062485.1; 专利公告号: 103370319

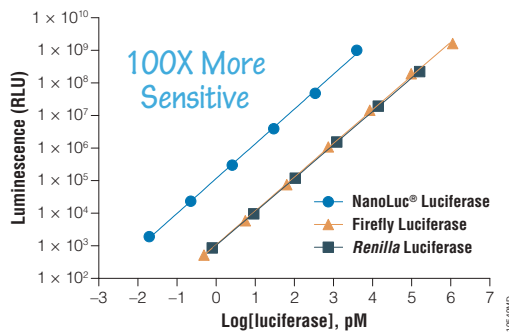
注意: 使用 NanoLuc[®] 产品, 研究人员需同意接受本有限使用商标许可条款 (LULL) 的约束, 否则视为侵犯专利权。



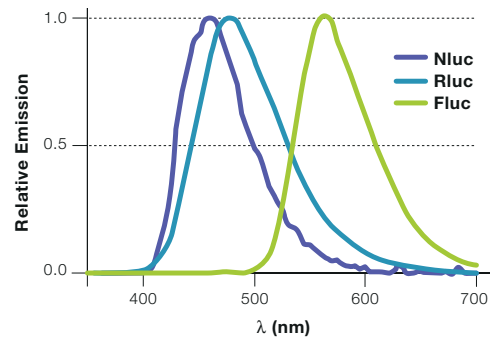
Features 优势特性

- 1 分子量小** 单体酶，19kD，171 个氨基酸
- 2 结构更简单** 没有翻译后修饰或二硫键
- 3 分布均匀** 蛋白表达后会均匀分布在细胞中
- 4 光信号稳定** 辉光反应，室温半衰期通常 >2h

- 5 pH 耐受性高** pH 值 6-8 范围均有活性
- 6 BRET 友好** $\lambda_{\text{max}}=460\text{nm}$ ，更适于 BRET 实验
- 7 热稳定性高** $T_m=60^\circ\text{C}$ ，室温下放置 8h，活性仍保留 90%



上图：NanoLuc[®] luciferase 灵敏度要比萤火虫（Firefly）和海肾（Renilla）萤光素酶高 100 倍。



上图：NanoLuc[®] luciferase 与萤火虫（Firefly）和海肾（Renilla）萤光素酶的发射光谱比较。

Promega 提供的三种萤光素酶性能比较

	NanoLuc [®]	Firefly	Renilla
来源	细角刺虾萤光素酶突变体	鞘翅目萤火虫	腔肠动物海肾
分子量	19kD	61kD	36kD
蛋白表达	细胞内或分泌型	细胞内	细胞内
颜色	蓝色	黄绿色	蓝色
底物	Furimazine	Luciferin	coelenterazine
灵敏度	+++++	++++	++++
线性范围	10 ¹⁰	10 ⁸	10 ⁸
主要应用	萤光素酶应用，融合蛋白表达，BRET，细胞信号通路分析	经典萤光素酶应用，细胞信号通路分析，调控元件功能型研究等	与 Firefly 共同使用做为内参报告基因



NanoLuc[®] 萤光素酶技术应用

Promega 在新型专利 NanoLuc[®] 萤光素酶的基础上，借助其卓越的物理特性，开发了多个技术平台，包括 NanoBiT[®] 蛋白互补技术、NanoBRET[®] 技术、HiBiT 蛋白标签系统以及 Lumit[®] 免疫检测等等，广泛应用于蛋白分析、免疫分析、病毒及药物研发等众多热门领域，极大的拓展了萤光素酶报告基因工具箱，为生命科学研究带来更多可能。



报告基因分析

- 启动子分析
- 通读翻译
- 阅读框移码
- miRNA 调控



蛋白功能分析

- 内源性蛋白功能研究
- 细胞蛋白表达定量
- 蛋白：蛋白相互作用



免疫学分析

- 细胞因子检测
- 蛋白磷酸化检测
- 新生儿 Fc 受体检测



病毒研究

- 病毒的生命周期
- 病毒：宿主相互作用
- 病毒的致病机理
- 体内体外的传播



生物发光成像

- 活细胞成像
- 小动物活体成像



小分子药物研发

- 药物：靶标结合检测
- 靶蛋白降解 PROTACs
- GPCR 信号通路研究
- RAS 通路研究



报告基因分析

Genetic Reporters

生物发光报告基因能以简便且灵敏的方式反映出基因表达事件。尽管常用作评估启动子活性的手段，但其也可用于评估基因表达的其他方面，如剪接、翻译通读及 miRNA 调控。NanoLuc[®] 萤光素酶的小体积、高亮度以及多样化的检测方式，使其成为一系列遗传报告基因应用的理想选择。

报告基因操作中的瞬时转染与稳定转染

瞬时转染：载体携带的外源基因并没有转染到细胞的染色体上而是存在于游离的载体上，可以在短时间内获得基因的表达产物，但是随着细胞的不断分裂增殖外源基因最终会丢失，无法继续进行重组蛋白的生产。需要每次进行转染，因此需通过在目的报告基因以外，再同时转染一个作为内参的报告基因来进行归一化，去掉每次转染和细胞数量带来的差异。

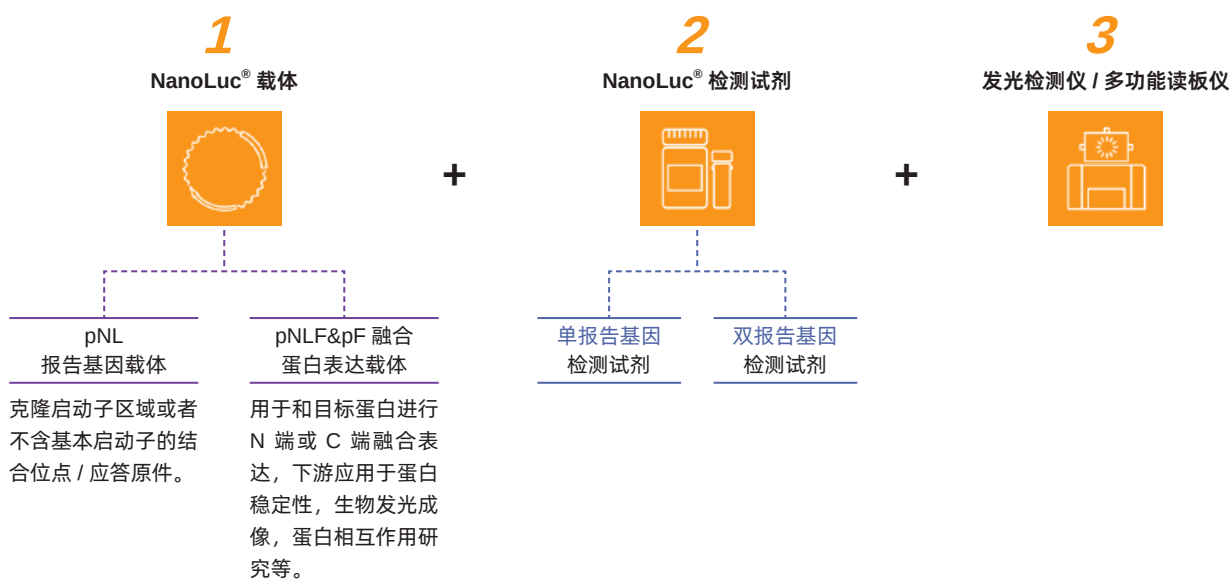
稳定转染：要使用带有稳定筛选抗性的载体，外源基因转染至细胞染色体上，目的基因不会随着细胞传代而消失，能够长期稳定的表达目的蛋白。通过稳定转染（稳定细胞系构建）能够实现长期、稳定的生产重组蛋白。

转染方式	报告基因载体	报告基因检测试剂
瞬时转染	双报告基因载体 -NanoLuc [®] 萤光素酶 /Firefly 萤光素酶	双报告基因检测试剂
稳定转染	带有稳定筛选抗性 marker 的 NanoLuc [®] 载体	单报告基因检测试剂

报告基因检测的核心组成部分：

包括编码 NanoLuc[®] 萤光素酶的载体与相应的检测试剂，搭配高灵敏度的具有发光检测功能的单功能或多功能读板仪。

Promega 提供广泛选择的 NanoLuc[®] 报告基因载体和试剂，并配备了多种工具，旨在助力您高效搭建个性化的 NanoLuc[®] 遗传报告基因分析平台。

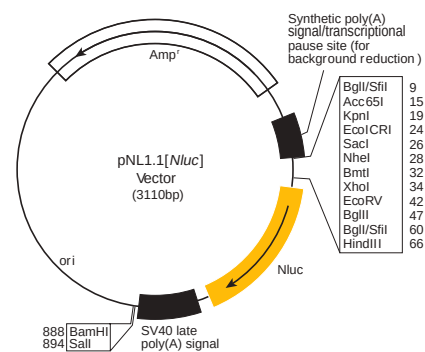




1. 载体

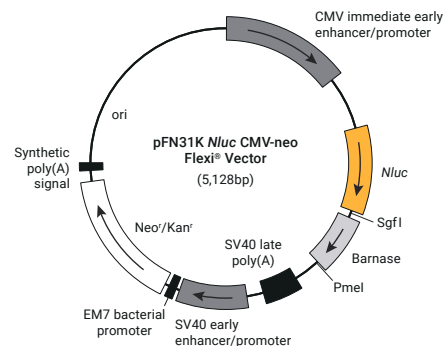
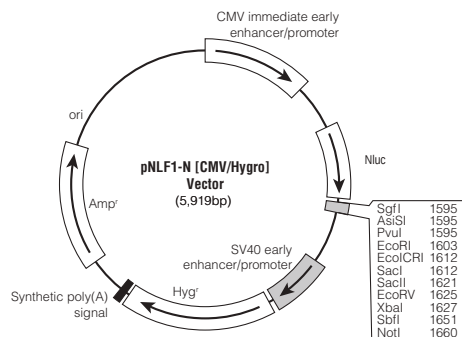
① 应答元件-报告基因载体-pNL 载体

	pNL 载体
用途	克隆启动子区域或者不含基本启动子的结合位点 / 应答原件。
载体特点	pNL 载体系列以 pGL4 为基础设计，以方便从现有的质粒上进行序列转移。载体骨架设计去掉了许多转录因子结合位点和其他潜在的调控元件以减少非特异性结合的发生。
克隆方式	多克隆位点 MCS
载体骨架大小	~3.1kb
报告基因	NanoLuc [®] 萤光素酶
商品化载体类型	- 无启动子 - 含 minP 或组成型启动子 - 带筛选标记 - 带预构建应答原件
配套检测底物	终点法和活细胞检测底物试剂盒



② 融合蛋白表达-pNLF&pF 载体

	pNLF 载体	pF 载体系列
用途	融合蛋白表达载体可方便的构建 N- 或 C- 端融合 Nluc 和您感兴趣蛋白组成的融合蛋白	
载体特点	基于经典的 MCS 位点进行克隆	基于先进的 Flexi 技术进行克隆，更快更简单
克隆方式	多克隆位点 (MCS)	Flexi 克隆
载体骨架大小	5.9-6kb	5.1-6.3kb
报告基因	NanoLuc [®] 萤光素酶	
组成型启动子	CMV	
商品化载体类型	- N 端表达载体 - C 端表达载体 - 分泌型表达载体 - 预构建载体	- N 端表达载体 - C 端表达载体
配套检测底物	终点法和活细胞检测底物试剂盒	





2. 检测试剂

① 单报告基因检测系统选择指导

NanoLuc® 单报告基因检测系统根据检测方式的不同分为终点法检测系统（即裂解细胞后检测）和活细胞实时检测系统 2 种类型。

	终点法检测	活细胞检测系统		
产品	Nano-Glo® Luciferase Assay	Nano-Glo® Live Cell Assay System	Nano-Glo® Vivazine™ Live Cell Substrate	Nano-Glo® Endurazine™ Live Cell Substrate
检测模式	均质裂解法	活细胞实时		
检测类型	裂解细胞或转移上清检测	多时间点活细胞动态监测		
灵敏度	+++++	++++	+++	++
信号类型	辉光	辉光	辉光	辉光
半衰期	~2 小时	~2 小时	~12 小时	~72 小时
应用场景	试剂含有完整的裂解缓冲液成分，可直接用于检测表达 NanoLuc® 萤光素酶的细胞或检测分泌了萤光素酶的培养基。	- 检测活细胞内 NanoBiT® 或 NanoLuc® 发光信号。 - 可用于检测自定义时间点的发光信号或者连续检测发光信号达 2 小时；同时不损害细胞活力。	- 检测活细胞内 NanoBiT® 或 NanoLuc® 发光信号。 12 小时内的长时间点检测。	- 检测活细胞内 NanoBiT® 或 NanoLuc® 发光信号。 72 小时内的长时间点检测。

② 双报告基因检测系统

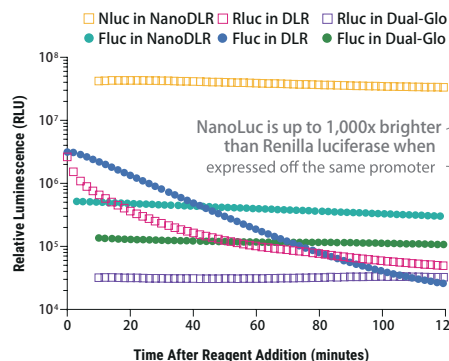
Nano-Glo® Dual-Luciferase® Reporter (NanoDLR™) Assay System 是 Promega 全新推出的一款双报告基因检测系统。该系统提供均质法检测试剂，能够在一个样品中先后检测萤火虫萤光素酶 (Photinus pyralis) 和 NanoLuc® 萤光素酶 (NLuc) 的活性。



下载双报告基因
解决方案

新系统亮点

- 选择灵活：**可以任意选择萤火虫或 NanoLuc® 作为主报告基因，也可二者都作为主报告基因。
- 操作流程简单：**采用“加样 - 检测 - 加样 - 检测”的模式。
- 辉光型检测信号：**信号半衰期更长、适合高通量检测。
- 灵敏度更高：**对于低表达有更高的灵敏度。
- 试剂稳定性更高：**储存更方便。
- 可在原有双报告基因系统（萤火虫 / 海肾）上灵活升级：**仅需构建极少载体或使用商品化对照载体（含 NLuc）即可转换新系统。



上图：比较了内参报告基因：主报告基因：载体 DNA 以 1:1:8 的比例转染 HEK293 细胞，通过 NanoDLR™，Dual-Glo® 或者 Dual-Luciferase® Reporter Assay System 测得的发光信号。

产品列表

• 工具载体

载体类别	分类	产品	规格	目录号
报告基因载体	无启动子载体	pNL1.1 [Nluc] Vector	20µg	N1001
		pNL1.2 [NlucP] Vector	20µg	N1011
		pNL1.3 [secNluc] Vector	20µg	N1021
	含 minP 或组成型启动子	pNL3.1 [Nluc/minP] Vector	20µg	N1031
		pNL3.2 [NlucP/minP] Vector	20µg	N1041
		pNL3.3 [secNluc/minP] Vector	20µg	N1051
		pNL1.1.CMV [Nluc/CMV] Vector	20µg	N1091
		pNL3.2.CMV[NlucP/CMV] Vector	20µg	N1411
		pNL1.3.CMV [secNluc/CMV] Vector	20µg	N1101
		pNL1.1.PGK[Nluc/PGK] Vector	20µg	N1441
		pNL1.1.TK[Nluc/TK]Vector	20µg	N1501
	筛选标记	pNL2.1 [Nluc/Hygro] Vector	20µg	N1061
		pNL2.2 [NlucP/Hygro] Vector	20µg	N1071
		pNL2.3 [secNluc/Hygro] Vector	20µg	N1081
	预构建应答元件	pNL3.2. NF-κB-RE [NlucP/NF-κB-RE/Hygro]	20µg	N1111
融合蛋白表达载体	pF 载体系列	pFN31A Nluc CMV-Hygro Flexi [®] Vector	20µg	N1311
		pFN31K Nluc CMV-Neo Flexi [®] Vector	20µg	N1321
		pFC32A Nluc CMV-Hygro Flexi [®] Vector	20µg	N1331
		pFC32K Nluc CMV-Neo Flexi [®] Vector	20µg	N1341
	pNLF 载体系列	pNLF1-N [CMV/Hygro] Vector	20µg	N1351
		pNLF1-C [CMV/Hygro] Vector	20µg	N1361
		pNLF1-secN [CMV/Hygro] Vector	20µg	N1371
	pNLF 载体系列预构建载体	pNLF1-HIF1A [CMV/neo] Vector System	20µg	N1381
		pNLF1-NRF2 [CMV/neo] Vector System	20µg	N1391

• 报告基因检测系统

类型	产品说明	产品	规格	目录号
单报告基因检测	终点法检测	Nano-Glo [®] Luciferase Assay	10ml	N1110
	活细胞检测	Nano-Glo [®] Live Cell Assay System	100 assays	N2011
		Nano-Glo [®] Endurazine™ Live Cell Substrate	10ml	N2572
		Nano-Glo [®] Vivazine™ Live Cell Substrate	10ml	N2582
		Nano-Glo [®] Extended Live Cell Substrate Trial Pack	0.2ml	N2590
双报告基因检测 主报告 / 内参报告基因	辉光型检测 NanoLuc [®] / Firefly 或 Firefly/NanoLuc [®]	Nano-Glo [®] Dual-Luciferase [®] Reporter Assay System	10ml	N1610

以上产品均可提供其他规格，详情请浏览 wechat.promega.com.cn，搜索产品名称或当前规格目录号即可查看。

• 相关产品

类型	产品说明	产品	规格	目录号
双报告基因检测 主报告 / 内参报告基因	辉光型检测 Firefly/Renilla	Dual-Glo [®] Reporter Assay System	10ml	E2920
	闪光型检测 Firefly/Renilla	Dual-Luciferase [®] Reporter Assay System	10ml	E1910

以上产品均可提供其他规格，详情请浏览 wechat.promega.com.cn，搜索产品名称或当前规格目录号即可查看。



蛋白功能分析

Protein Functional Analysis

基于 NanoLuc[®] 的蛋白功能分析工具

应用	应用			技术与产品
	 内源水平 蛋白定量与功能分析	 活细胞 蛋白相互作用检测	 生化水平 蛋白相互作用检测	
	HiBiT 蛋白标签技术	NanoBiT[®] 蛋白互补技术 (发光法)	NanoBRET[®] 生物发光能量 共振转移技术 (BRET 法)	Lumit[®] 蛋白相互作用 免疫检测技术

NanoBiT[®] 与 NanoBRET[®] 蛋白相互作用检测技术的区别

	NanoBiT [®] 蛋白互补技术	NanoBRET [®] 生物发光能量共振转移技术
检测蛋白相互作用的能力	蛋白需发生物理相互作用	测定蛋白对的接近程度
细胞数量敏感度	敏感	不敏感
供体：受体比例	对供体：受体比例 (1:1) 不敏感，通常无需优化	对供体：受体比例较为敏感，需进行优化
检测过程	仅需加入 1 种试剂	需分步骤加入 2 种试剂
光信号输出	单一生物发光信号 可检测信号增加 / 损失	生物发光：荧光的比例数据
检测仪器	只需发光检测仪或者具有发光检测功能的酶标仪或多孔板读板仪	具有 BRET 检测功能的多孔板读板仪或酶标仪



内源性生物学的高灵敏蛋白分析技术

HiBiT 蛋白标签技术

TOP10

2017 年 The Scientist
创新技术大奖

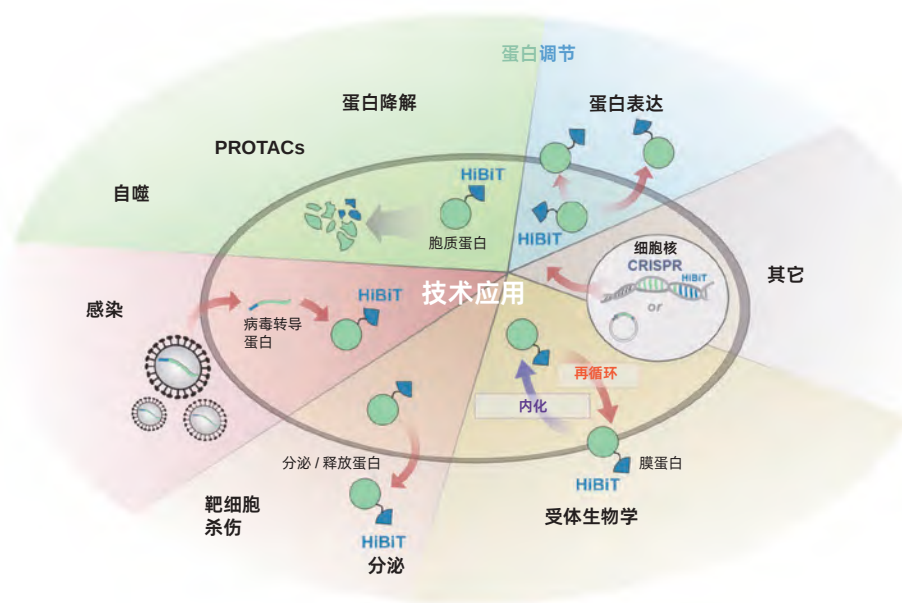
5000⁺

学术文献

N+

应用方向

HiBiT 是一个由 11 个氨基酸构成的肽标签, 可以连接到任何目的蛋白 (POI), 可在 10 分钟或更短时间内使用生物发光试剂进行检测。检测试剂含有一个无活性的萤光素酶亚基 LgBiT, 其能快速与 HiBiT 结合, 产生一种高活性萤光素酶。



技术优势

- **标签小:** 11 个氨基酸, 对蛋白功能影响小。
- **一步法均质检测:** 无需抗体, 无洗涤步骤。
- **Sub-attomole 级灵敏度:** 能够检测内源性水平的蛋白。
- **线性范围大:** >7 logs。
- **便于用 CRISPR/Cas9 插入:** 无需克隆, 方案可优化。
- **提供多种检测模式:** 活细胞形式 (胞内或胞外); 裂解型终点法检测模式。
- **兼容高通量:** 基于孔板的生物发光检测, 可扩展至 96/384 孔板。
- **可进行基于抗体的检测:** 使用 Anti-HiBiT 单抗进行免疫学分析 (如 WB, IP, ICC, FACS)。



下载 HiBiT[®]
蛋白标签
技术手册



活细胞蛋白相互作用研究

NanoBiT® 技术

TOP10

2015 年 The Scientist
创新技术大奖

1300⁺

学术文献

1 Step

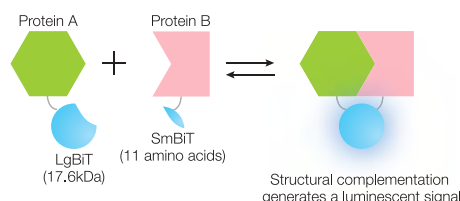
检测试剂加入



NanoBiT® 系统是由 Promega 专利型萤光素酶 -NanoLuc® Luciferase 人工重组的两个亚基组成，即大亚基（LgBiT；17.6 kDa）和小亚基（SmBiT；11 氨基酸肽，1.3 kDa），可与 2 个待测目的蛋白分别表达为融合蛋白。目的蛋白之间的相互作用使两个亚基组合从而得到有活性的萤光素酶，进而可与底物反应发光。

技术应用

- 活细胞蛋白相互作用的动态实时监测。
- 单细胞蛋白相互作用的检测。
- 蛋白相互作用调节因子的筛选（高达 384 孔板和 1536 孔板通量）。

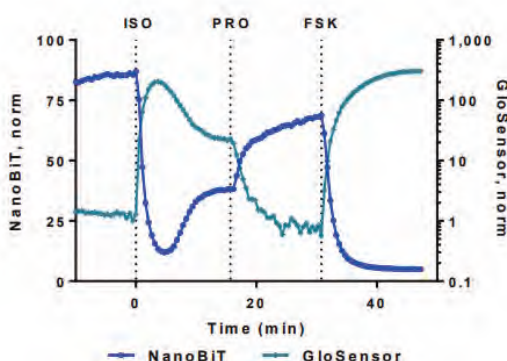
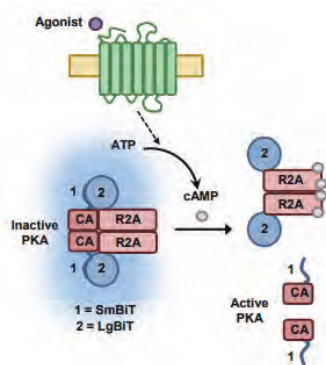


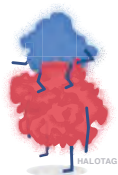
技术优势

- 精确地动态监测蛋白相互作用：**标签蛋白之间的自发亲和力低，LgBiT:SmBiT 的自发结合最小化；互补作用可逆，可精确分析蛋白质的相互作用和解离。
- 灵敏度更高：**明亮的信号和更低的背景提高了灵敏度、信噪比和动态检测范围。
- 更准确的蛋白相互作用生物模型：**小标签蛋白和接近生理条件的低水平蛋白表达将人工影响降到最低；在活细胞水平进行实时动态分析。
- 操作更简单：**明亮发光的输出，无需使用特殊的滤光片或进样器。
- 可调整放大实验通量：**操作可以从手动到 HTS，最高至 1536 孔板的检测通量；检测试剂的稳定性高，适用于手动加样操作。

应用数据

- SmBiT-PRKACA 和 LgBiT-PRKAR2A 在 HEK293 中瞬时表达；在指定时间点依次添加细胞内 cAMP 的调节剂；
- NanoBiT® 与 GloSensor™ cAMP 22F（cAMP 生物传感器）的反相关性；
- NanoBiT® 可实时监测可逆 PPIs。





活细胞蛋白相互作用研究

NanoBRET® 技术

BRET

更优化生物发光能量
共振转移技术

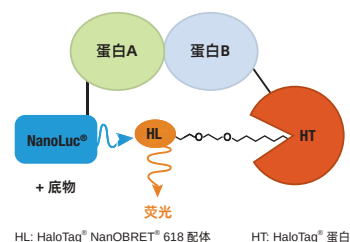
1300⁺

学术文献

100+

预构建载体

NanoBRET® 分析是大幅度改良的 BRET 分析平台，使用 NanoLuc® luciferase 作为能量供体和 HaloTag® 蛋白标记的 NanoBRET® 618* 荧光基团作为受体。来自 NanoLuc® 供体的明亮的蓝移发光信号耦合到远红移的 HaloTag® 受体上后，光谱叠加更佳、信号更强、且与传统 BRET 分析相比背景更低，可使用全长蛋白或相关结构域分析蛋白相互作用。



技术应用

- 活细胞内的蛋白质相互作用动力学分析；
- 单个时间点的蛋白相互作用或实时动力学分析；
- 药物与靶标的相互作用。

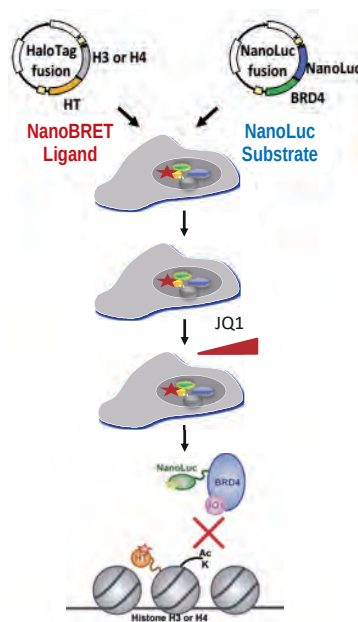
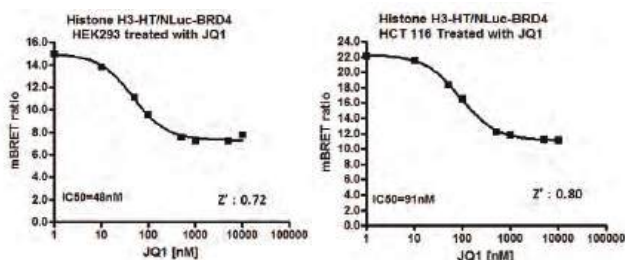
技术优势

- **更优的 BRET：**作为供体的专利型 NanoLuc® 萤光素酶蛋白光信号更强，与受体荧光基团的波长配对更理想。
- **克隆更简单：**使用先进的 Flexi® 载体技术进行克隆，更简单省时。
- **线性范围更宽。**
- **提供商品化预构建载体：**可节省自行构建载体的时间，应用更方便。
- **可高通量检测。**

应用数据

检测 BET bromodomain 抑制剂 -JQ1 对 BRD4 和 Histone H.3 蛋白相互作用的影响：

- 使用 Promega 预构建的 BRD4 融合蛋白载体和 Histone H.3 融合蛋白载体，转染 HEK293 和 HCT116 细胞。
- 以 JQ1 处理细胞。
- 孵育后再按顺序加入荧光配基和 NanoBRET® Nano-Glo® Substrate 底物反应。
- 最终检测 BRET ratio 信号。



下载 NanoBRET®
技术手册



查看针对热门靶点的
预构建载体



生化水平蛋白相互作用检测

Lumit[®] 免疫检测技术

<2 小时

即可完成检测操作

免洗

只需加入和读取

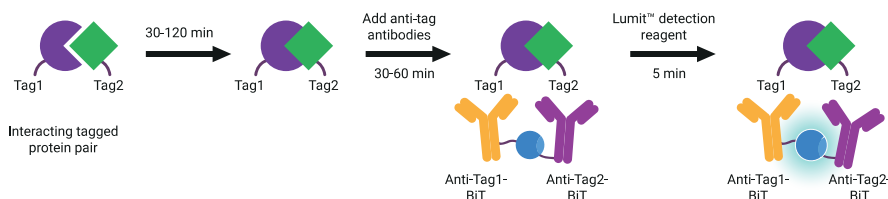
高通量

可扩展至 384 孔板

Promega 开发的使用蛋白标签的 Lumit[®] Protein Interaction Immunoassay，是一款均质型（无洗涤步骤）生物发光检测试剂盒，基于 SmBiT 和 LgBiT 标记的抗标签抗体和链霉亲和素，用于检测溶液中蛋白-蛋白或蛋白-小分子相互作用。当存在相应 Lumit[®] 检测试剂的情况下两个标记蛋白或一个蛋白和小分子发生相互作用时，两个抗标签抗体彼此接近且 SmBiT 和 LgBiT 互补形成一种有活性的酶，并在底物存在的情况下产生明亮发光信号。检测过程只需添加和读取，流程简便，适用于快速、高灵敏度的多重检测和高通量筛选。

可提供下述蛋白标签的试剂：

- 6His
- GST
- 人 IgG
- FLAG[®]
- Biotin/AVI



技术应用

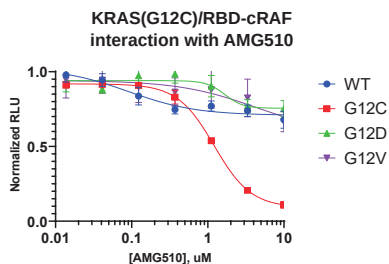
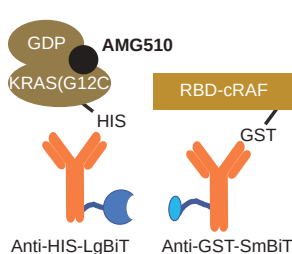
- 监测 KRAS 突变体和 RBD-CRAF 之间的相互作用
- 监测酪氨酸激酶的小分子抑制剂
- 监测 PROTAC 介导的三元复合物形成
- 检测 E3 连接酶 Cbl-b 的自泛素化

技术优势

- 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。

应用数据

Lumit[®] KRAS-RAF Assay 可用于研究小分子抑制剂



上图：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。



免疫学分析

Immunoassay

简单、快速、免洗、均质型、生物发光检测

分析物的检测和定量通常使用耗时的多步骤方法，如 Western blotting 和 ELISA。Lumit[®] 技术是一种简单快速的多孔板均质免疫检测的替代方法。它的高特异性和易于高通量筛选（HTS）等特点使其成为科学家进行基础研究和药物发现的有力工具。

技术优势

- 简单的均质型操作流程，无需洗涤和封闭步骤
- 直接在细胞培养板中检测分析物
- 灵敏的发光检测，动态范围宽
- 在常规的可读板发光检测仪上检测信号
- 特异性高，背景信号低

技术应用

- 蛋白磷酸化与信号通路分析
- 代谢调控（相关靶标检测）
- 细胞因子检测
- 生物治疗药物研发
- 蛋白和小分子药物筛选
- 蛋白相互作用分析
- 高通量筛选（HTS）

Lumit[®] 产品分类

蛋白质磷酸化 / 通路分析

提供信号通路相关靶标检测方案。如 AKT, 4E-BP1, β -catenin, BTK, c-Jun, CREB。

细胞因子检测

多种即用型细胞因子检测试剂盒可选。如：人 IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-10, IFN- γ , TNF- α 。

能量代谢靶标研究

胰岛素（Insulin）和胰高血糖素（Glucagon）即用型检测。

病毒学检测

新冠病毒抗体血清学检测试剂盒。

生物治疗研发

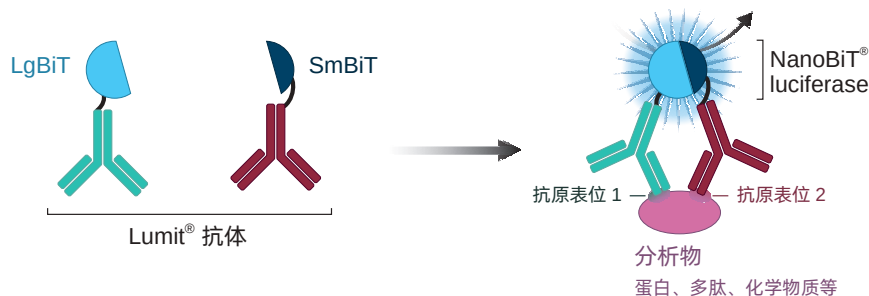
提供信号通路相关靶标检测方案。如 AKT, 4E-BP1, β -catenin, BTK, c-Jun, CREB。

自行建立检测系统

Promega 提供抗体标记和检测系统，您可根据自己实验需求建立专属检测系统。

Lumit[®] 检测原理

Lumit[®] 免疫检测系统是基于 NanoLuc[®] Binary Technology（NanoBiT[®]）。在 Lumit[®] 免疫检测系统中，抗体分别用 NanoLuc[®] 萤光素酶的大小亚基（称为 LgBiT 和 SmBiT）进行化学标记。在分析物存在的情况下，两种抗体非常接近，从而使 SmBiT 和 LgBiT 形成有活性的酶并产生明亮的发光信号。





生物发光成像

Bioluminescence imaging

NanoLuc® 萤光素酶允许进行高灵敏度、高亮度的生物发光成像，具有低背景信号且无需激发光。

在活体动物中对细胞和分子过程进行生物发光成像，为研究正常生理、监测疾病进展或理解治疗反应提供了重要的洞察。NanoLuc® 报告基因技术为在整体动物模型中研究生物过程提供了新的工具。这个明亮且小巧的报告基因使得从定量肿瘤生长变化到通过工程化 NanoLuc® 报告基因病毒可视化病毒复制和传播等一系列体内应用成为可能。

基于 NanoLuc® 的生物发光成像

应用	 活细胞成像 Live Cell Imaging	 活体成像 In Vivo Imaging
优势	• 实时观察 • 非侵入性监测 • 易于多重检测	• 低毒性 • 高灵敏度 • 更具生物相关性
成像底物	Nano-Glo® Vivazine™/ Endurazine Live Cell Substrates	• Nano-Glo® Fluorofurimazine In Vivo Substrate (FFz) • CFz9 (针对脑部组织)
成像设备	GloMax® Galaxy Bioluminescence Imager	——



活细胞成像

Nano-Glo® Vivazine™/Endurazine Live Cell Substrates

更小

几乎不会对融合伴侣
功能产生干扰

更亮

曝光时间仅需几秒钟

更稳定

信号可持续几小时
至几天

亚细胞定位调控是调节许多蛋白质功能和信号活性的重要机制。例如，蛋白质从细胞质转位到细胞核或蛋白质招募到质膜都是激活信号通路的关键事件。生物发光成像（BLI）可用于监测亚细胞蛋白质定位，从而直接观察活细胞中的蛋白质动态，而无需重复激发样品。Promega 可提供包括萤光素酶报告基因载体、转染试剂、活细胞成像底物及成像仪在内的完整解决方案。

活细胞成像底物

NanoLuc® 萤光素酶非常适合在 BLI 研究中用作蛋白质标签。与其他发光报告基因蛋白需要数分钟的曝光时间相比，NanoLuc® Luciferase 的亮度极高，可将曝光时间缩短到几秒钟。此外，它的体积小，不易干扰融合伴侣的正常生物学特性或功能。我们的 Nano-Glo® Vivazine™/Endurazine Live Cell Substrates 具有更高的信号稳定性，可进行持续数小时至数天的动力学分析。

活细胞成像系统

要确定相关的生物过程，必须捕捉活细胞图像。GloMax® Galaxy 生物发光成像仪将生物发光报告基因的优势与活体成像获得的信息相结合。它专为 NanoLuc® 萤光素酶技术（如 NanoBRET®、NanoBiT®、HiBiT 和 Lumit®）成像而设计。

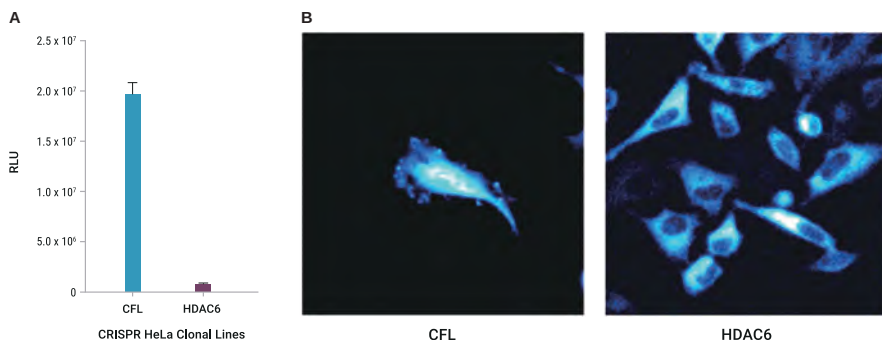
GloMax® Galaxy 的应用：

- 蛋白质与蛋白质之间的相互作用
- 蛋白质定位和转运
- 蛋白质降解和稳定性研究
- 配体与蛋白质之间的相互作用（Target Engagement）
- 靶向细胞杀伤



GloMax® Galaxy
生物发光成像仪

应用数据



左图：对低丰度蛋白质进行生物发光成像。A. 低丰度内源蛋白显示较低的发光信号。NanoBiT® 融合蛋白的相对发光单位 (RLU) 显示，高丰度 (CFL) 和低丰度 (HDAC6) 内源蛋白的发光信号相差 2 个对数。B. 在 GloMax® Galaxy 上捕获的低丰度和高丰度内源 NanoBiT® 融合蛋白图像。在 HeLa 细胞中通过 CRISPR/CAS9 将 HiBiT 插入目标蛋白的基因组位点。异位表达 LgBiT，二元互补产生目标蛋白 - NanoBiT® 融合体。高丰度 CFL 的图像需要 1 分钟曝光。低丰度 HDAC6 的图像需要 3 分钟曝光。



小动物活体成像

Nano-Glo® Fluorofurimazine In vivo Substrate(FFz)

高灵敏度

更明亮的体内信号

低毒性

去除了有机溶剂

深部组织

专为体内成像开发的
新型底物

生物发光活体成像 (BLI) 是一种非侵入性技术，用于实时监测活体内的细胞和分子过程。与其他可能使用对比剂或辐射的成像方式不同，BLI 完全依赖于生物发光反应产生的光。

NanoLuc® 萤光素酶的诞生为先进的体内成像应用提供了新的报告基因选择。而 Promega 最新推出的 Nano-Glo® Fluorofurimazine In vivo Substrate(FFz) 则是专为体内检测 NanoLuc® 和 NanoBiT® 技术而开发的新型底物和配方，与传统底物相比有显著改进。这种经过优化的水溶性的体内检测试剂提高了底物的生物利用率，可产生明亮、稳定的光信号，并提供灵活的递送选择，其处理要求与体内工作流程兼容。

产品优势

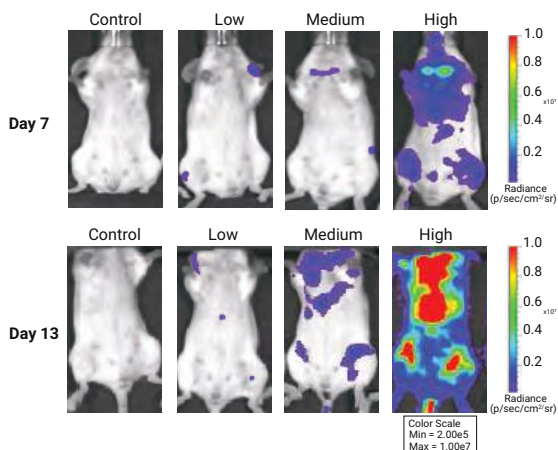
- 去除了有机溶剂，降低了细胞毒性增加水溶性，提高底物递送率
- 更明亮的体内信号
- 更灵活的递送选择
- 与其他基于腔肠素的底物相比，信号稳定性更高

主要应用

- 病毒分布
- CAR-T 细胞追踪
- 外泌体 / 细胞外囊泡
- 光遗传学
- 基于 BRET 的报告基因，用于增强型深部组织成像
- 和萤火虫萤光素酶组成多重报告基因检测

此外，Promega 还推出了 Nano-Glo® Cephalofurimazine In Vivo Brain Substrate (CFz9)，专门适用于体内中枢神经系统 (CNS) 应用。CFz 底物具有更高的血脑屏障通透性，在 CNS 中提供了更高的底物生物利用率，产生的信号也更亮。因此非常适合用于脑部组织成像研究。如您对该产品感兴趣请联系 Promega。

应用数据



左图：注射 AAV9-NanoLuc® 的小鼠活体全身成像。给小鼠注射浓度逐渐增加的 AAV9-NanoLuc®，转导 7 天和 13 天后，注射 0.44μmoles FFz。在 7 天开始出现组织嗜性，13 天后出现更强的信号和更广泛的组织嗜性。生物发光成像是在威斯康星大学小动物成像与放射治疗机构完成。



下载小动物
活体成像
介绍手册



病毒研究

Viral Research

Promega 提供合作支持以及广泛的试剂组合，这些试剂可在研究冠状病毒和其他新兴病毒性疾病的研究实验室中得到应用。我们支持致力于疫苗开发并探究有关病毒病理学和治疗问题的科学家们，这些待探究的问题通常包括：

- 病毒如何进入人体细胞？
- 该病毒如何使人生病？
- 可以使用哪些疗法来减轻症状？
- 如何获得对病毒的免疫力？

病毒研究解决方案

病毒：宿主细胞相互作用		免疫应答		宿主细胞应答		病毒复制
病毒进入	病毒释放	先天性免疫	免疫应答	宿主细胞代谢	信号传导响应	病毒拷贝数 & 病毒滴度
NanoLuc® 萤光素酶构建报告基因病毒	多功能 HiBiT 蛋白标签系统 *	caspase-1 活性、胞外 ATP 和 HMGB1 的测定	Lumit® 细胞因子检测，如 IL-1β、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、IFN-γ、TNF-α 等	检测各种细胞代谢标志物。如：NAD(P)H、Glucose、Lactate 等	萤光素酶报告基因信号通路载体	从各种样本类型中高效分离总的病毒核酸； 有效地扩增病毒 DNA/RNA 以评估病毒拷贝数； 测定病毒滴度。
病毒蛋白的靶标结合	病毒蛋白相互作用	抗病毒治疗 / 疫苗	宿主细胞毒性	监测宿主细胞活性		
NanoBRET® TE 检测	NanoBiT® 和 NanoBRET® 活细胞蛋白互作实时检测	ADCC Reporter Bioassay； 抗病毒抗体的检测	靶细胞杀伤（HiBiT 标签技术）； PBMC ADCC Bioassay	监测宿主细胞活力的关键标志物。如：LDH-Glo™、CellTiter-Glo®、Caspase-Glo® 3/7		

* 通过以下网址获取免费的 HiBiT 标签序列：www.promega.com/HiBiT-Synthesis 并且标记你感兴趣的病毒蛋白。

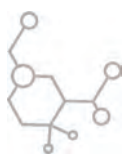
应用文献：

Hooper, K. (2018) Size does matter: NanoLuc® Technologies advance virology research.

Hooper, K. (2020) Choices for measuring luciferase-tagged reporter pseudotyped viral particles in coronavirus research.



下载病毒研究
解决方案技术手册



小分子药物研发

Small-Molecule Drug Discovery

药物：靶标结合检测

NanoBRET® Target Engagement (TE)

活细胞

相互作用检测

高通量

兼容 96/384 孔板

400+

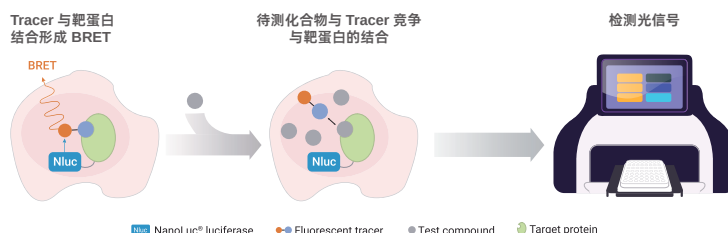
药物靶标载体

小分子结合并调控靶蛋白活性研究技术的发展对理解生物学机制和治疗疾病至关重要。生物发光能量共振转移 (BRET) 的应用使得在活细胞内定量检测一个小分子和蛋白之间的相互作用成为可能。Promega 研发的 NanoBRET® Target Engagement (TE) Assay 可用于在完整细胞中检测化合物和特定靶点实时的相互作用。其检测系统还能提供化合物 -- 靶蛋白滞留时间的信息，并可用于筛选抑制剂并比较其 IC₅₀ 值。

技术应用

- Kinase 相关药物检测
- BET BRD 相关药物检测
- HDAC 相关药物检测
- E3 Ligases 靶点相关药物检测
- NLRP3 靶点相关药物检测
- PARP 靶点相关药物检测
- RAS 靶点相关药物检测
- RAF 靶点相关药物检测
- GPCRs 靶点相关药物检测
- Heat Shock Protein (HSP) 靶点相关药物检测

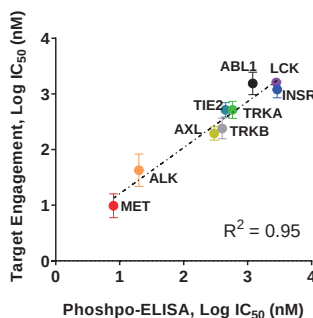
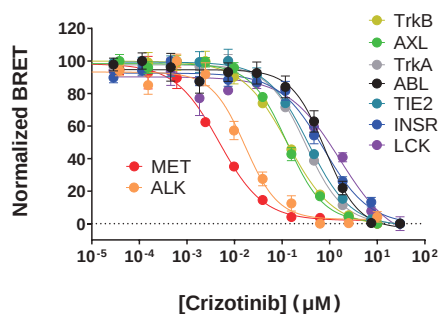
技术原理



应用数据

图 A. 使用 NanoBRET® TE 测定多靶点激酶抑制剂克唑替尼的细胞选择性，但不仅仅是测定效价排序，主要靶点 MET 和 ALK 表现出了最强的亲和力。

图 B. NanoBRET® TE 数据与 phospho-ELISA 等细胞功能检测有良好的相关性，但更有针对性和可扩展性。



下载药物：靶蛋白
相互作用细胞学
检测技术手册

靶蛋白降解研究 PROTACS

Target Protein Degradation

细胞水平

完整解决方案

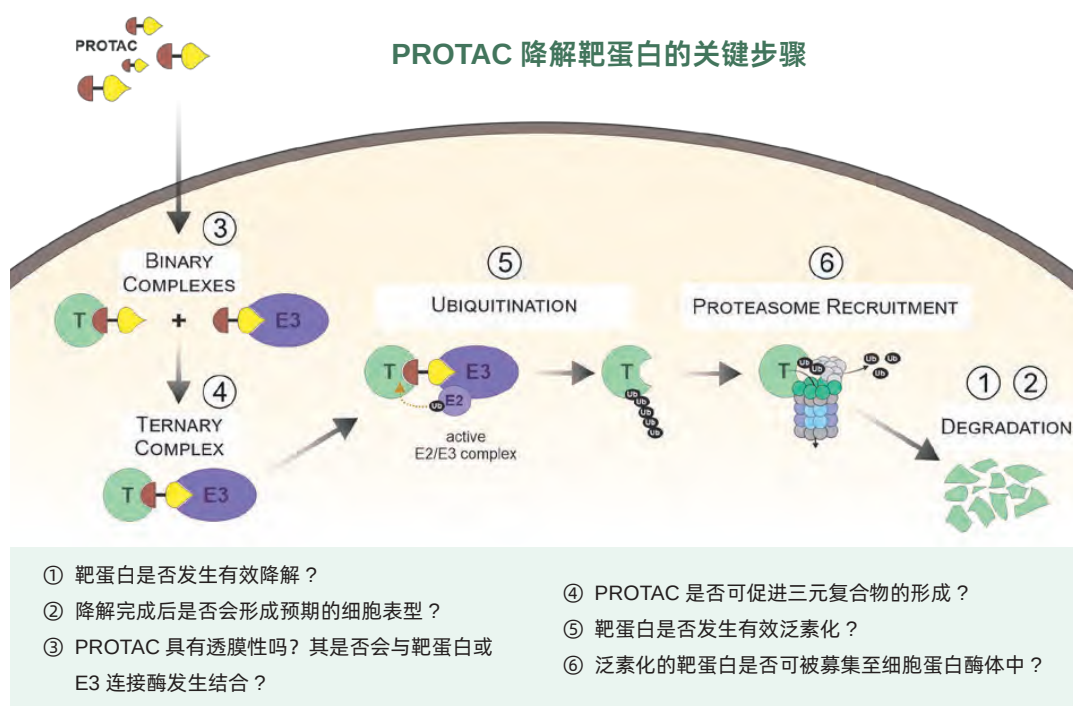
生物发光法

灵敏度更高

200+

CRISPR Knock in 细胞系
研究热点靶标

选择性地靶蛋白从细胞中去除而不是抑制靶蛋白活性，是一种新的潜在治疗方法。靶蛋白通过细胞内的天然泛素 - 蛋白酶体系统 (UPS) 被降解。如“分子胶”和蛋白水解靶向嵌合体 (PROTACs) 等这类的化合物通过将靶蛋白与 E3 连接酶连接来启动这一过程，剩下的过程就由 UPS 来完成。Promega 利用灵敏的生物发光技术，提供使用 CRISPR 编辑的细胞系池和克隆的综合选择，以便于研究当下热点的蛋白质降解靶标。我们可以为您提供细胞水平的完整分析解决方案，用于开发有效的蛋白质降解剂。



Promega 提供的靶蛋白降解研究用工具概览

- 检测靶蛋白是否成功降解：HiBiT 蛋白标签技术
- 蛋白质降解表型研究：HaloPROTAC-3
- 测定化合物亲和力和靶蛋白占有率：NanoBRET® Target Engagement (TE) Assays
- 活细胞形式的三元复合物形成：NanoBRET® 蛋白互作检测技术
- 靶标蛋白泛素化动力学检测：NanoBRET® 技术



下载 PROTAC 蛋白
降解研究解决方案

GPCR 信号通路研究 Signaling Pathway

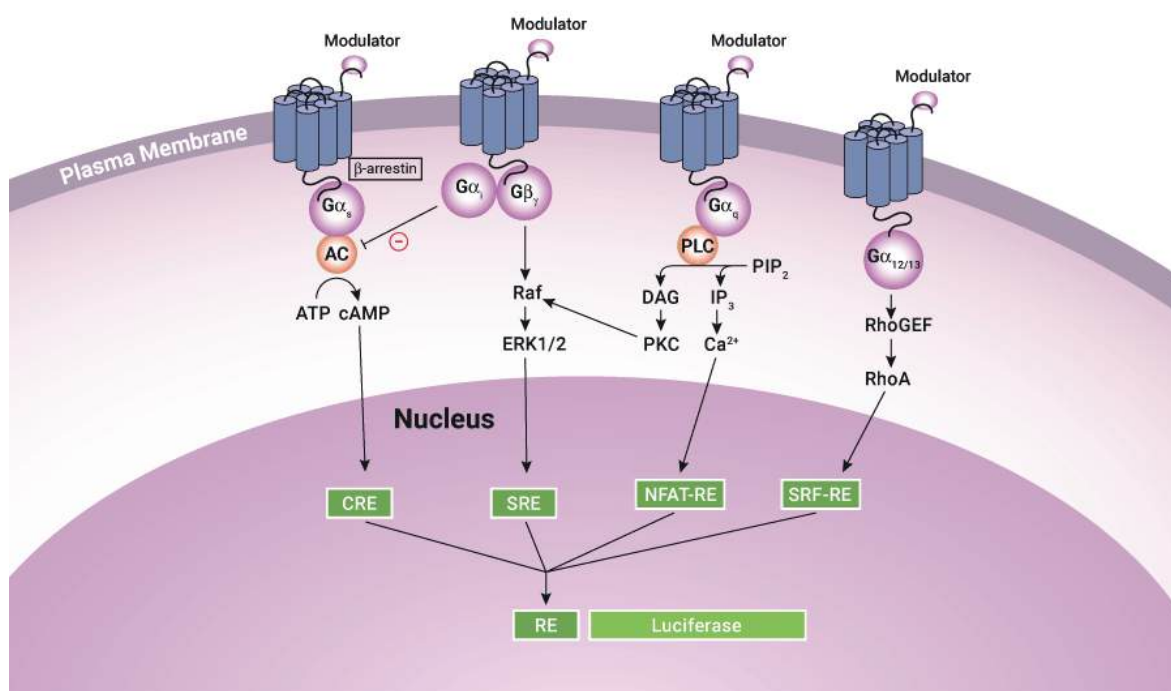
新型萤光素酶

基于 NanoLuc® 萤光素酶
开发的多种检测技术平台

Nature 主刊

高分应用文献支持

萤光素酶报告基因具有高灵敏度、非放射性、易于操作等特点，在众多生物学领域尤其是信号转导研究中具有广泛的应用价值。Promega 公司在萤光素酶报告基因技术领域占据着领导地位，基于萤光素酶技术开发的多个平台工具更是促进了信号通路的研究。



Promega 提供的 GPCR 信号通路研究用工具概览

- 配基与受体结合检测：NanoBRET® Target Engagement (TE) 技术
- GPCR 蛋白相互作用研究：NanoBiT® 蛋白互补检测系统；NanoBRET® 蛋白互补检测
- GPCR 内化研究：HiBiT 蛋白标签系统
- 转录反应：萤光素酶报告基因检测
- 蛋白磷酸化检测：Lumit® Immunoassay Cellular Systems
- cAMP 检测：cAMP-Glo™ Assay；GloSensor™ cAMP Assay



下载 GPCR 信号
通路研究用工具

RAS 信号通路研究

Signaling Pathway

RAS

药物：靶标结合

RAF

蛋白相互作用

MEK

蛋白降解

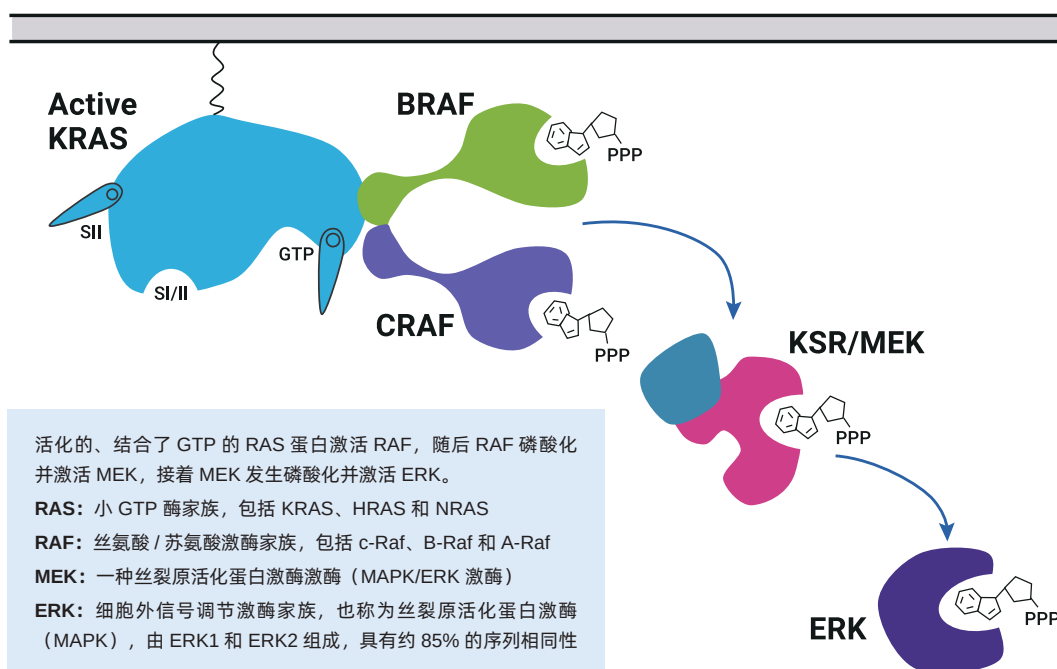
蛋白磷酸化

ERK

GTP 酶活性

RAS 基因是人类癌症中最常发生突变的致癌基因，KRAS 则是 RAS 家族中最常发生突变的亚型。大多数肺癌、胰腺癌和结直肠癌是由 KRAS 基因的突变所驱动。在发现 KRAS (G12C) 特异性共价抑制剂之前，KRAS 一直被认为是不可成药的靶点。

Promega 可提供多种检测试剂盒和先进技术来助力 RAS 药物的研发。这些检测试剂盒可检测化合物与通路组分的结合，并评估它们对蛋白质相互作用、蛋白质水平以及最终 ERK 激活的影响。



Promega 提供的 RAS 信号通路研究用工具概览

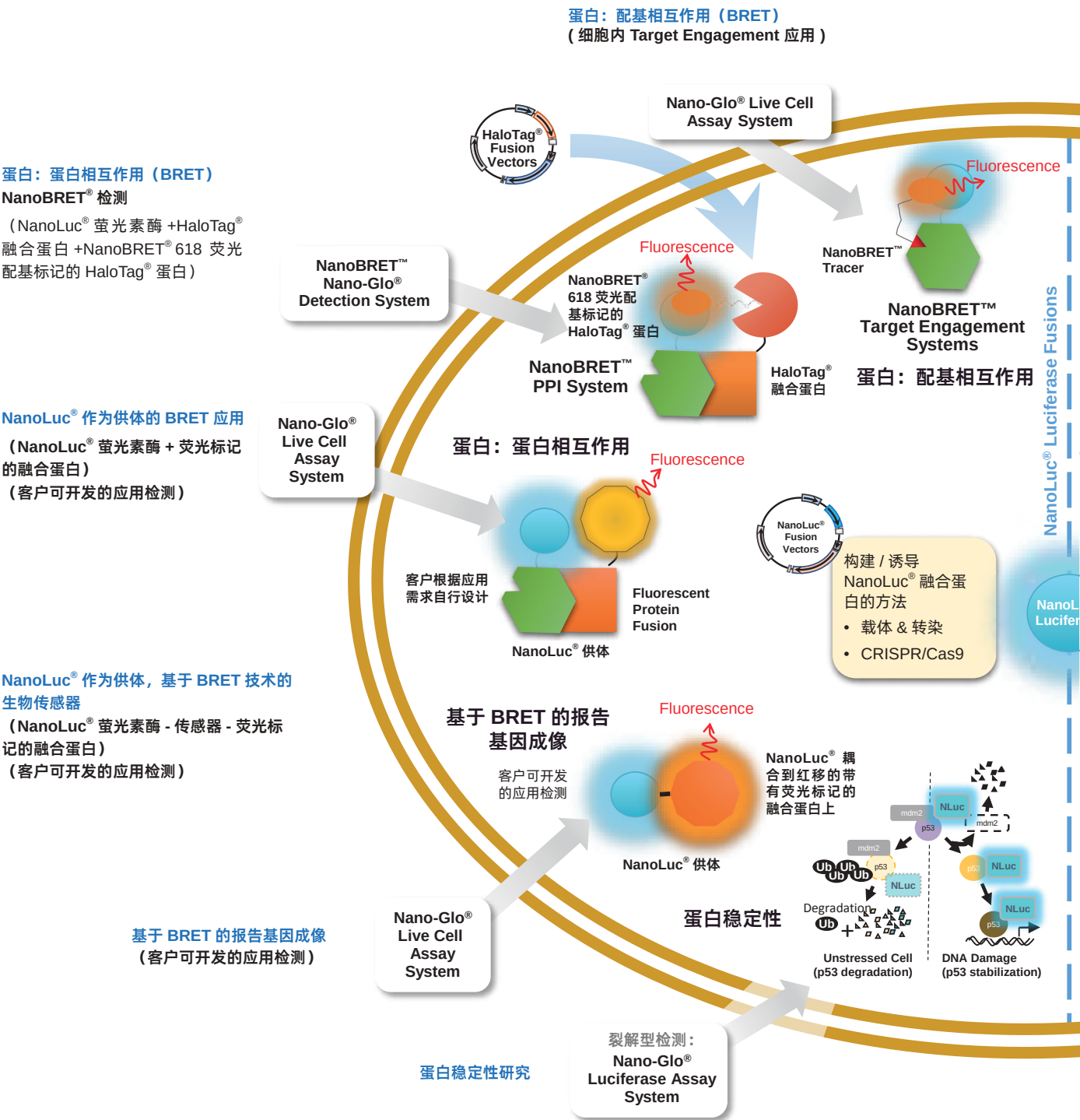
- 检测小分子药物与其靶蛋白在活细胞中的相互作用：NanoBRET® Target Engagement Assay
- 检测靶蛋白降解：HiBiT 蛋白标签系统（包括 CRISPR Knock-in Cell Lines）
- 检测活细胞内蛋白相互作用：NanoBiT® PPI 和 NanoBRET® PPI 技术；其中 NanoBRET® 检测可涵盖 RAS 和 RAF 基因家族成员，用于研究通路中蛋白质相互作用的抑制和 / 或诱导。
- 检测蛋白磷酸化：Lumit® Immunoassay Cellular Systems
- 检测 GTPase 活性：GTPase-Glo™ Assay

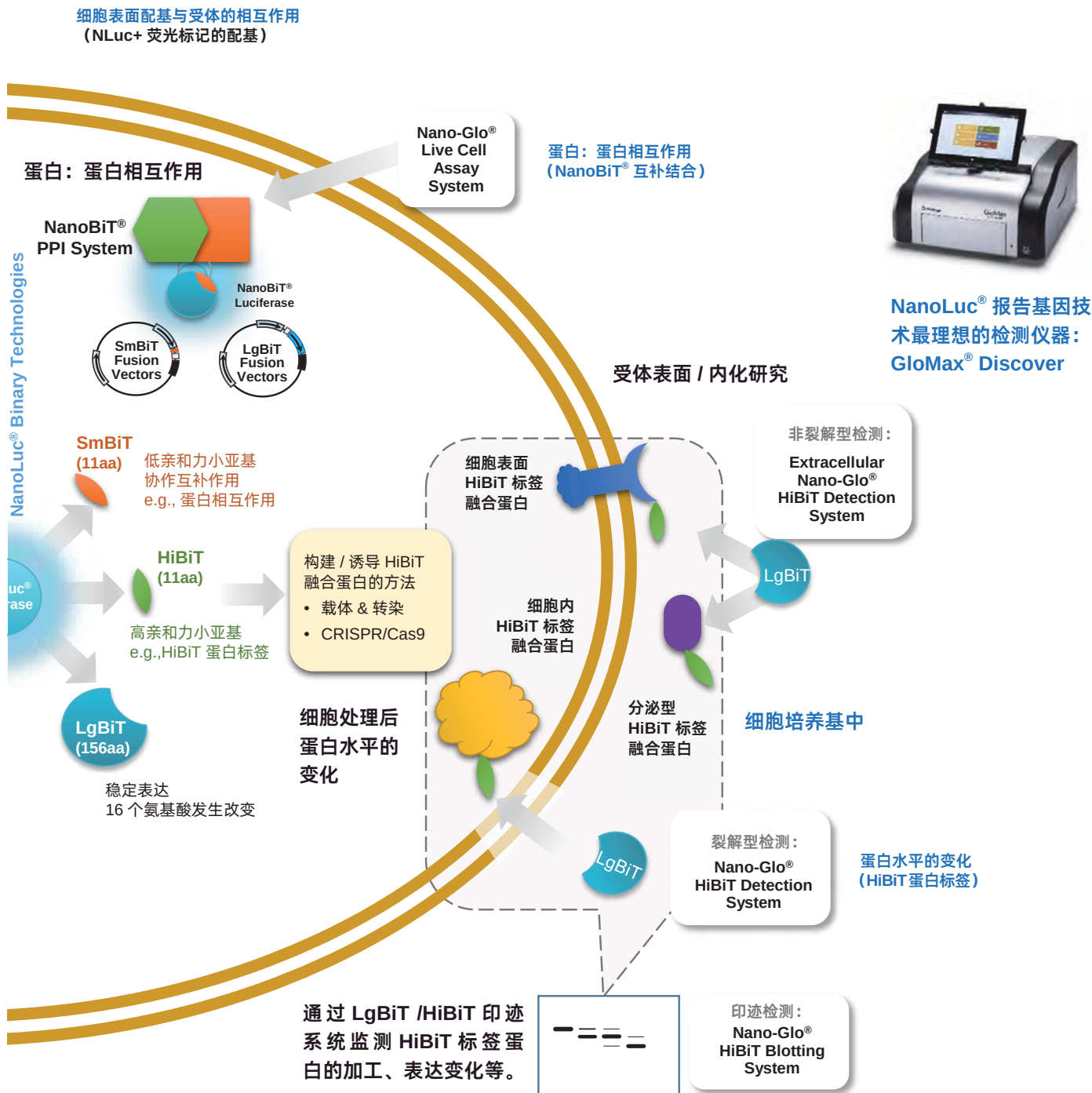


浏览作用于 RAS 通路的药物研发内容

NanoLuc[®]

萤光素酶技术





NanoLuc[®] 萤光素酶技术应用及文献列表

应用方向	应用文献	主要使用产品 *
靶蛋白降解	Targeted protein degradation via intramolecular bivalent glues. Hsia, O., <i>et al.</i> (2024) <i>Nature</i> 627, 204–211. https://doi.org/10.1038/s41586-024-07089-6	Nano-Glo [®] HiBiT Lytic detection system (N3030)
	HiBiT-SpyTag: A Minimal Tag for Covalent Protein Capture and Degradation Development. Tiffany Tsang, <i>et al.</i> (2023) <i>ACS Chemical Biology</i> , 15(8). doi: 10.1021/acscchembio.3c00084	Nano-Glo [®] HiBiT Lytic detection system (N3030)
蛋白定位	Platelet factors attenuate inflammation and rescue cognition in ageing. Schroer, A.B., <i>et al.</i> (2023) <i>Nature</i> 620, 1071–1079. https://doi.org/10.1038/s41586-023-06436-3	Nano-Glo [®] HiBiT Lytic detection system (N3030)
内源性蛋白分析	Monitoring phosphorylation and acetylation of CRISPR-mediated HiBiT-tagged endogenous proteins. Alves, J., <i>et al.</i> (2024) <i>Sci Rep</i> 14, 2138. https://doi.org/10.1038/s41598-024-51887-x	Nano-Glo HiBiT Lytic Detection System (N3030) GloMax Discover System (GM3000)
蛋白转运 药物研发	A NanoBiT assay to monitor membrane proteins trafficking for drug discovery and drug development. Reyes-Alcaraz, A., <i>et al.</i> (2022). <i>Commun Biol</i> 5, 212 https://doi.org/10.1038/s42003-022-03163-9	NanoBiT [®] PPI Starter kit (N2014/N2015)
蛋白相互作用	Split NanoLuc technology allows quantitation of interactions between PII protein and its receptors with unprecedented sensitivity and reveals transient interactions. Rozbeh, R., <i>et al.</i> (2021). <i>Sci Rep</i> 11, 12535 https://doi.org/10.1038/s41598-021-91856-2	NanoBiT [®] PPI Starter kit (N2014/N2015)
活体成像	Visualizing cell-cell communication using synthetic notch activated MRI. Wang, T., <i>et al.</i> (2023) <i>Proc. Natl. Acad. Sci.</i> 120, e2216901120. https://doi.org/10.1073/pnas.2216901120	Nano-Glo [®] Fluorofurimazine In Vivo Substrate (FFz) (N4100)
	Orthogonal inducible control of Cas13 circuits enable programmable RNA regulation in mammalian cells. Ding, Y., <i>et al.</i> (2023) <i>bioRxiv</i> posted 20 March 2023. https://doi.org/10.1101/2023.03.20.533499	Nano-Glo [®] Fluorofurimazine In Vivo Substrate (FFz) (N4100)
	In vivo bioluminescence imaging of the intracerebral fibroin-controlled AAV- α -synuclein diffusion for monitoring the central nervous system and peripheral expression. Mazzocco, C., <i>et al.</i> (2024) <i>Sci Rep</i> 14, 9710. https://doi.org/10.1038/s41598-024-60613-6	Nano-Glo [®] Fluorofurimazine In Vivo Substrate (FFz) (N4100) Anti-NanoLuc [®] Monoclonal Antibody (N7000)

* 括号中列出了文献中主要使用产品对应的目录号，请浏览 wechat.promega.com.cn 查看更多产品详情。

应用方向	应用文献	主要使用产品 *
信号通路研究	GPCR activation and GRK2 assembly by a biased intracellular agonist. Duan, J., <i>et al.</i> (2023) <i>Nature</i> 620, 676–681. https://doi.org/10.1038/s41586-023-06395-9	NanoBiT® PPI Starter kit (N2014/N2015)
	Recognition of methamphetamine and other amines by trace amine receptor TAAR1. Liu, H., <i>et al.</i> <i>Nature</i> 624, 663–671 (2023). https://doi.org/10.1038/s41586-023-06775-1	NanoBiT® PPI Starter kit (N2014/N2015)
	Specific inhibition of oncogenic RAS using cell-permeable RAS-binding domains Nomura, Teiko Komori., <i>et al.</i> (2021) <i>Cell Chemical Biology</i> 28(11), 1581 - 1589.e6 DOI: 10.1016/j.chembiol.2021.04.013	NanoBiT® PPI Flexi® Starter System (N2015) Nano-Glo® Live Cell Assay System (N2011/N2012/N2013)
	A bioluminescent and homogeneous assay for monitoring GPCR-mediated cAMP modulation and PDE activity. Mikheil, D., <i>et al.</i> (2024) <i>Sci Rep</i> 14, 4440. https://doi.org/10.1038/s41598-024-55038-0	GloSensor™ cAMP assay (E1290) cAMP Glo™ assay (V1501)
病毒研究	Longitudinal variation in SARS-CoV-2 antibody levels and emergence of viral variants: a serological analysis. Muecksch, Frauke <i>et al.</i> (2022) <i>The Lancet Microbe</i> , Volume 3, Issue 7, e493 - e502 DOI: 10.1016/S2666-5247(22)00090-8	Nano-Glo® Luciferase Assay System (N1110)
	Highly sensitive and quantitative HiBiT-tagged Nipah virus-like particles: A platform for rapid antibody neutralization studies. Rajan, Arathi <i>et al.</i> (2024) <i>Heliyon</i> , Volume 10, Issue 11, e31905 DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e31905	LgBiT expression vector (N268A) Nano-Glo HiBiT blotting system (N2410) Nano-Glo luciferase assay system (N1110) Nano-Glo live cell substrate vivazine (N2580) Anti-LgBiT Monoclonal Antibody (N7100)
	Virological characteristics of the SARS-CoV-2 Omicron BA.2 spike. Yamasoba, Daichi <i>et al.</i> (2022) <i>Cell</i> 185(12), 2103 - 2115.e19 https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.04.035	Nano-Glo® HiBiT lytic detection system (Cat# N3040)
	Establishment of the Foot-and-Mouth Disease Virus Type Asia1 Expressing the HiBiT Protein: A Useful Tool for a NanoBiT Split Luciferase Assay. Cho G, <i>et al.</i> (2024) <i>Viruses</i> . 16(7):1002. https://doi.org/10.3390/v16071002	Nano-Glo luciferase assay system (N1110/N1120/N1130) LgBiT expression vector (N268A) Anti-LgBiT mAb (N7100) Anti-HiBiT mAb FuGENE HD transfection reagent (E2311/E2312)

NanoLuc[®] Luciferase

[www.promega.com.cn/resources/technologies/
nanoluc-luciferase-enzyme/](http://www.promega.com.cn/resources/technologies/nanoluc-luciferase-enzyme/)



关注 Promega 生命科学公众号，您可获得



产品信息



价格查询



中文说明书



讲座视频



技术资料



实验工具



市场活动



经销商信息

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

网址：www.promega.com

技术支持电话：400 810 8133

技术支持邮箱：chinatechserv@promega.com

更新时间：2024.10