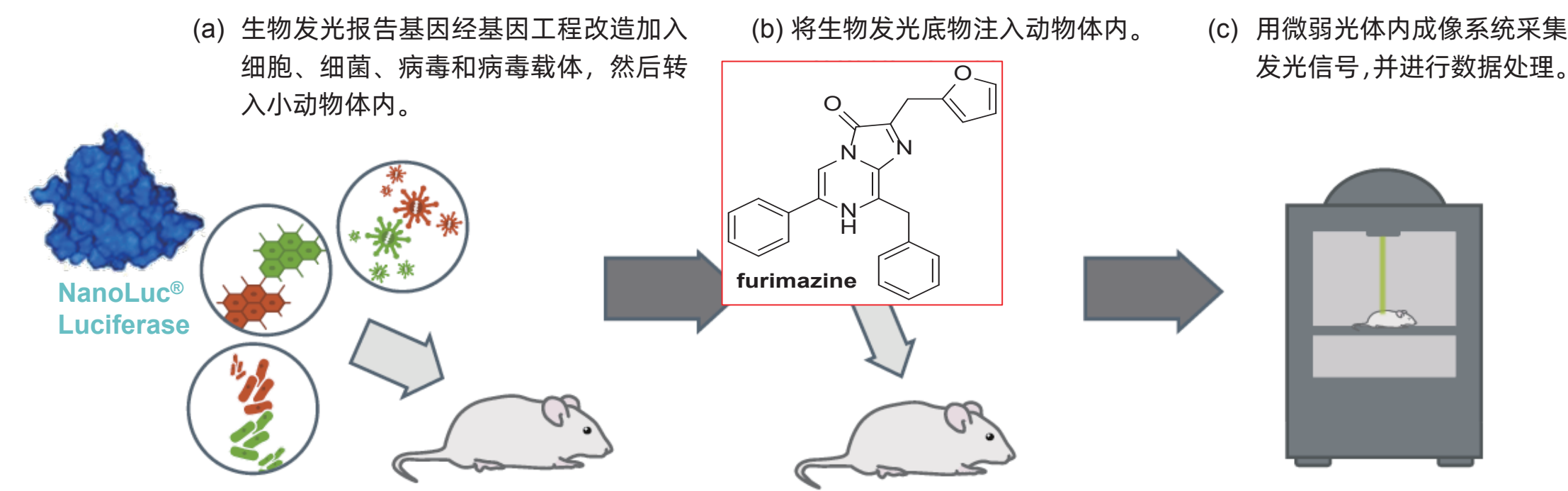


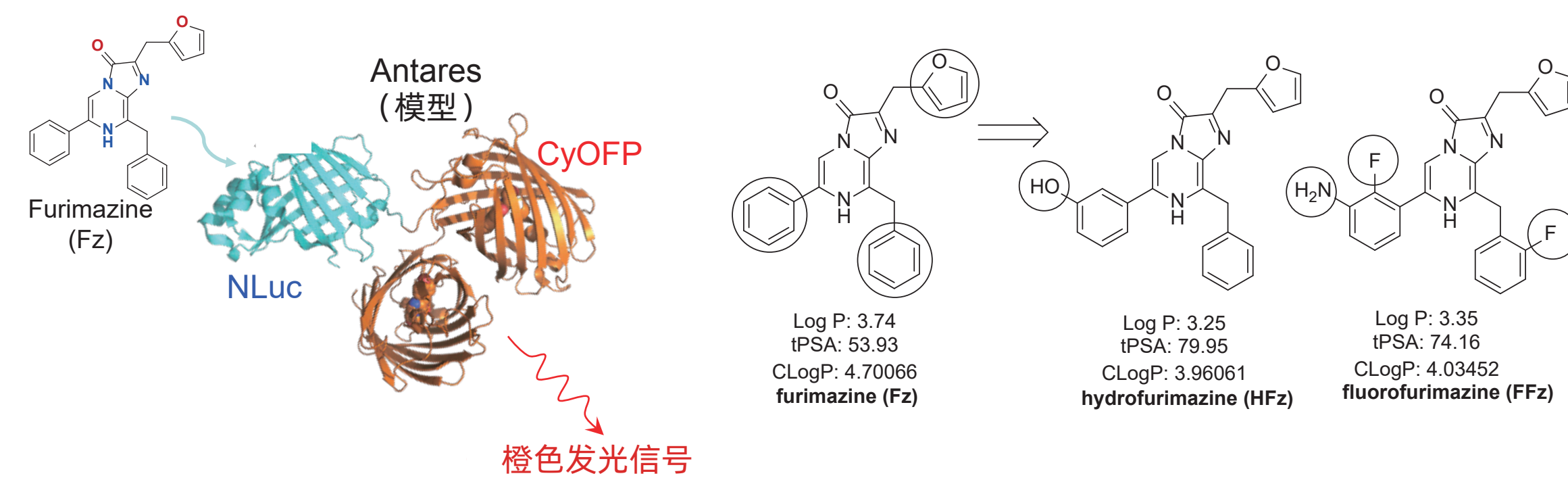
Fluorofurimazine (FFz) : 一种体内 NanoLuc[®] 底物

1. NanoLuc[®] 生物发光成像 (BLI) 简介



- NLuc 分子量小，产生明亮的发光信号，不依赖于 ATP，在细胞内和细胞外都有活性。
- 与基于 FLuc/ 萤光素的生物发光完全正交。
- 发出蓝色发光信号
- Furimazine 的溶解性和 PK (药代动力学) 方面存在挑战

2. 体内 Antares

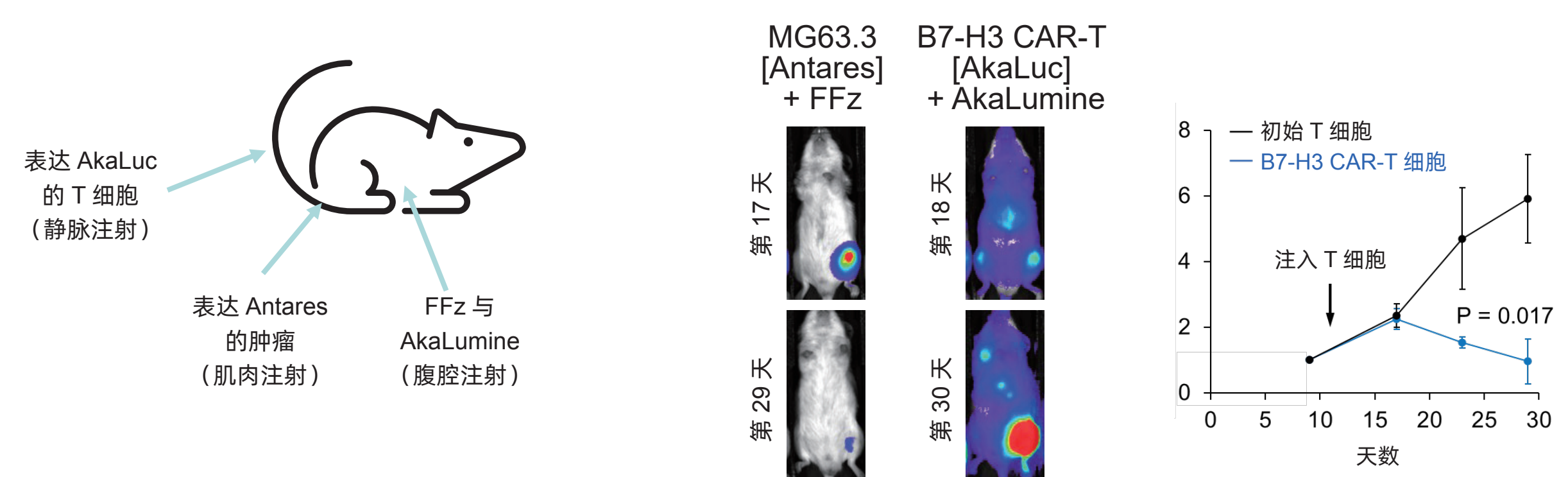


- Antares 是 NLuc 与 CyOFF 的融合体，加入 NLuc 底物，会发出明亮的橙色生物发光¹。
- 与 Fz 相比，FFz 在给药途径上具有更大的灵活性，可以使用更高的剂量。
- FFz 具有更强的信号、更好的溶解度和药代动力学特性 (PK)。

3. FFz/Antares+AkaLumine/AkaLuc 多重检测

FFz 能有效实现临床前动物模型的生物发光成像。

- 可以通过非侵入性成像方法跟踪基因表达、细胞生长、迁移和其他生物事件。
- 与基于萤火虫的系统形成优异的多重检测，例如 AkaLuc/AkaLumine (通常先后给药)。



4. FFz 适合冻干处理

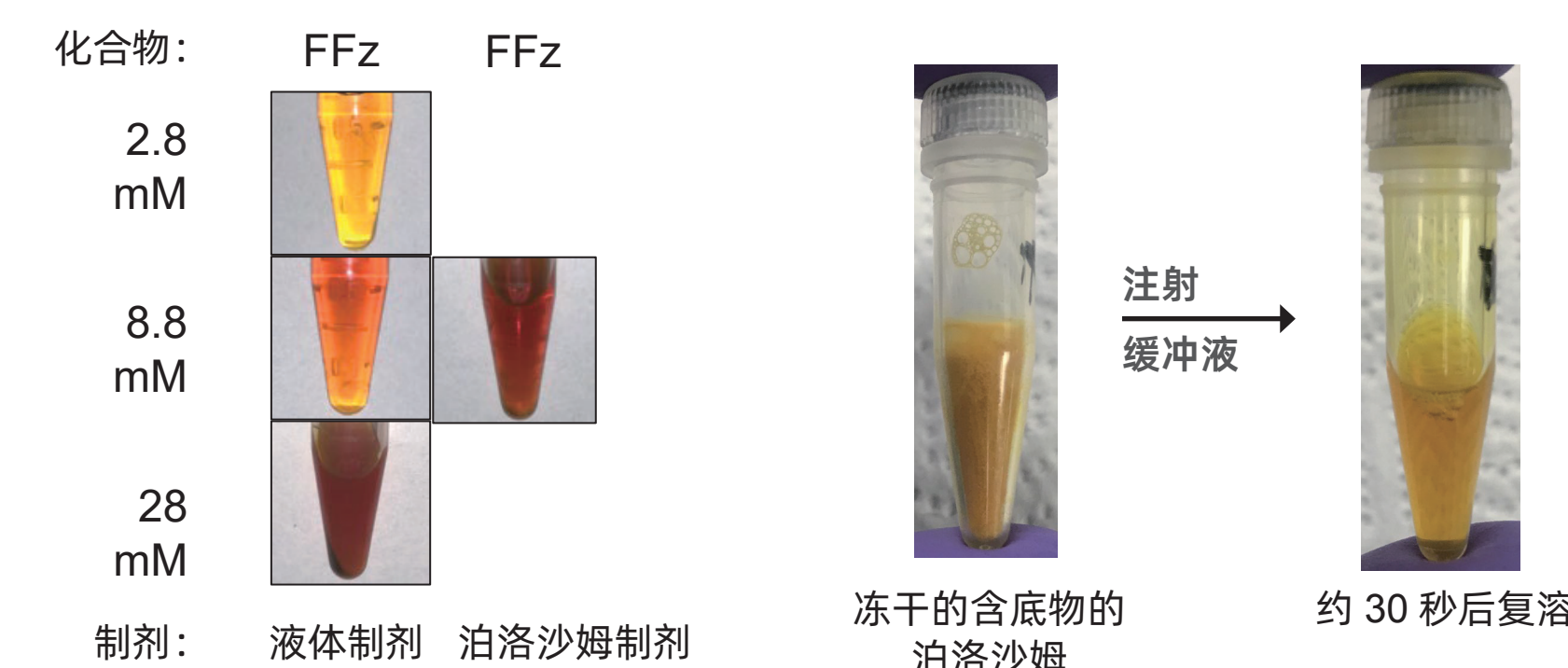
初始液体制剂:

- 固体底物加入有机溶剂溶解，然后用含添加剂的缓冲液稀释。

新 Promega 制剂:

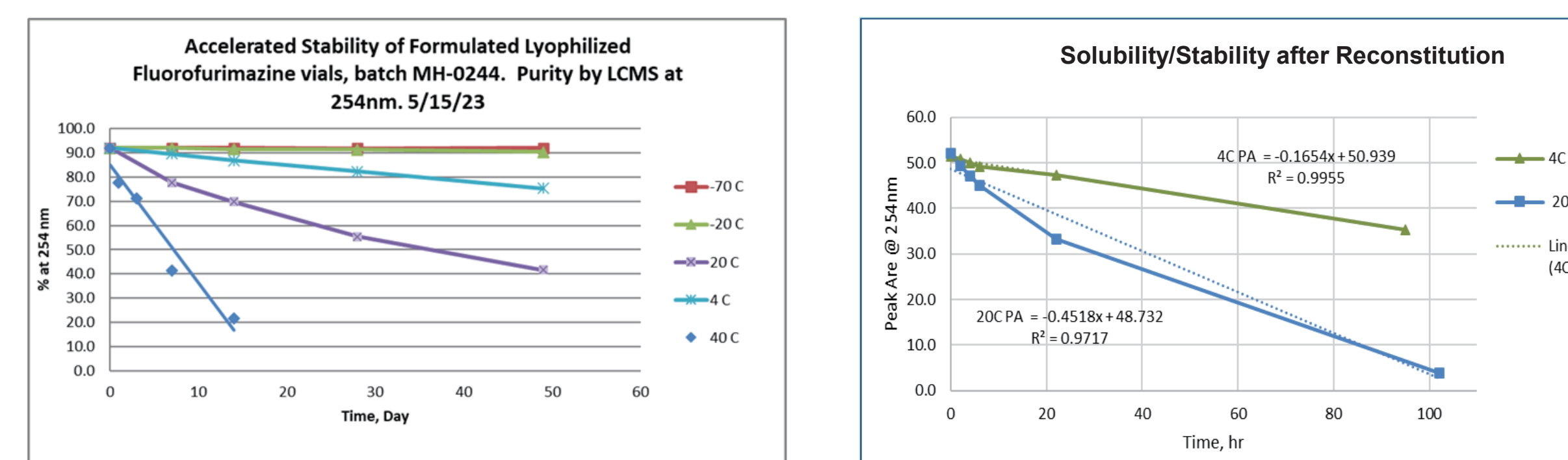
- 底物用泊洛沙姆溶解并与其混合均匀；将混合溶液冻干成可储存的固体。

最终制剂中不含有有机溶剂。



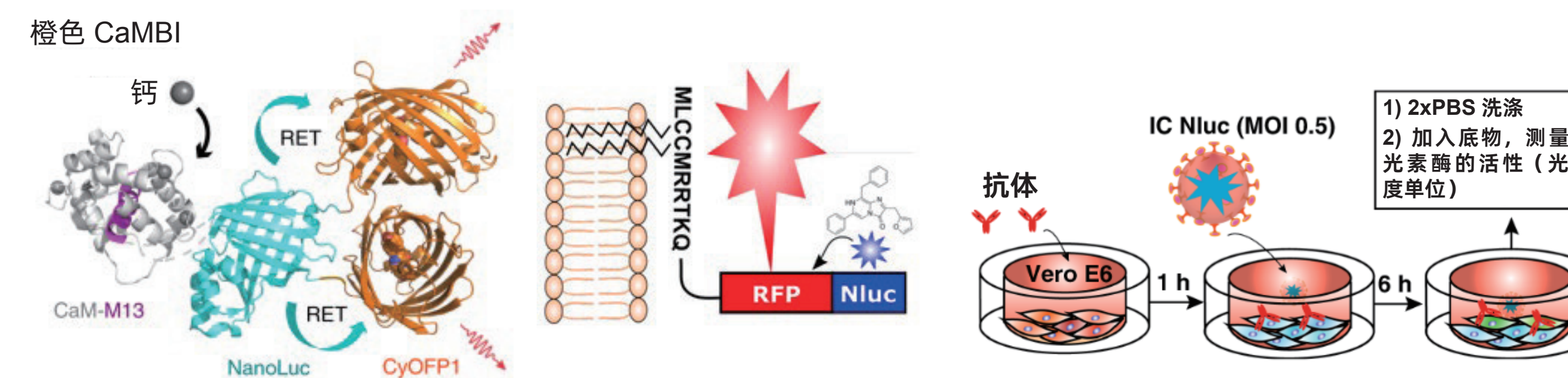
5. FFz 的稳定性

- FFz 冻干成饼块时，在 -80°C 温度下保存，保质期较长。
- 复溶后，建议使用者当天用完。



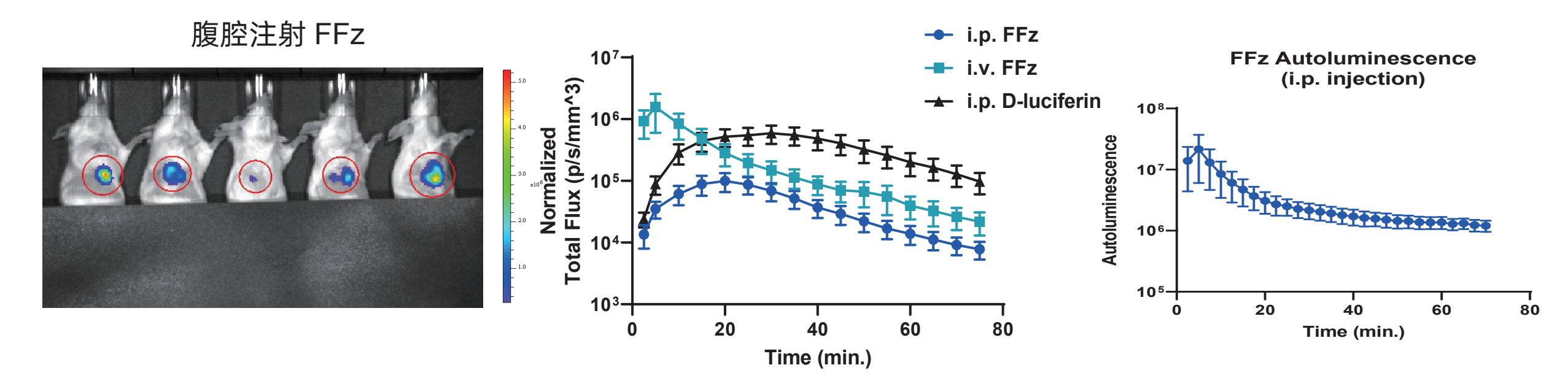
6. NanoLuc/FFz BLI 的其他示例

- NLuc 经基因工程改造，可实现钙流和其他生物传感器在体内的使用³。
- 使用 FFz/RFP-NLuc 追踪外泌体-其他有效的能量受体⁵。
- 未融合的 NLuc 常用于与病毒融合- SARS CoV2 NLuc 体内成像⁴。

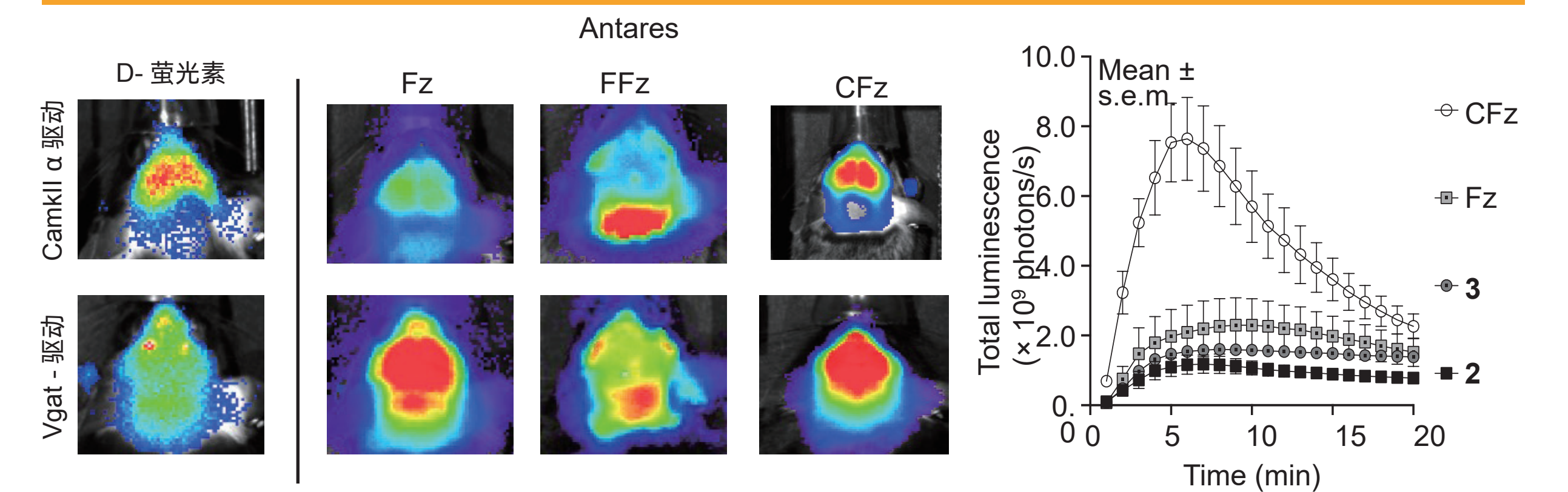


7. FFz 给药途径与自发光

- 在华盛顿大学进行的一项委托研究-将 4T1/NLuc-P2A-Fluc 原位移植入 BALB/c 小鼠的 #3 乳腺脂肪垫。
- 分别通过腹腔注射和静脉注射将 FFz 注入荷瘤小鼠和对照小鼠，并与 FLuc/luciferin 对比。
- 注射部位均有可变且明显的自发光信号，但未融合 NLuc 的发光信号较强。



8. CFz 在中枢神经系统的分布优于 FFz



- Fz 的分布特性与报道的 Vgat 在大脑前部表达的文献中的特性一致。
- 虽然 FFz 和其他苯胺具有优异的溶解度和外周 BLI 性能，但出乎意料地发现在大脑的其他部位发出发光信号。
- CFz 作为一种明亮、可配制的具有适当脑分布特性的底物被筛选得到。

9. 总结与参考文献

- 已实现的重要事件
 - FFz 表现出良好的生物分布特性，能够进行制造、配制，并且易于被最终使用者复溶和注射。
 - 已发表的示例证明了该底物的通用性，可用于各种基于 NLuc 的 BLI 实验。
 - 在其他实验中，CFz9 是中枢神经系统 BLI 的首选底物，但不能替代 FFz。
 - NLuc/FFz 是所有 FLuc/Luciferin 系统的首选多重检测组合。

¹Chu, J., et al. *Nat Biotech.* 2016, 34, 760-767.

²Su, Y., et al. (2020). "Novel NanoLuc substrates enable bright two-population bioluminescence imaging in animals." *Nature Methods* 17: 852-860.

³Oh, Y., et al. (2019). "An orange calcium-modulated bioluminescent indicator for non-invasive activity imaging." *Nature Chemical Biology* 15(5): 433-436.

⁴Xie, X., et al. (2020). "A nanoluciferase SARS-CoV-2 for rapid neutralization testing and screening of anti-infective drugs for COVID-19." *Nature Communications* 11(1): 5214.

⁵*Viruses* (2022), 14(3), 535