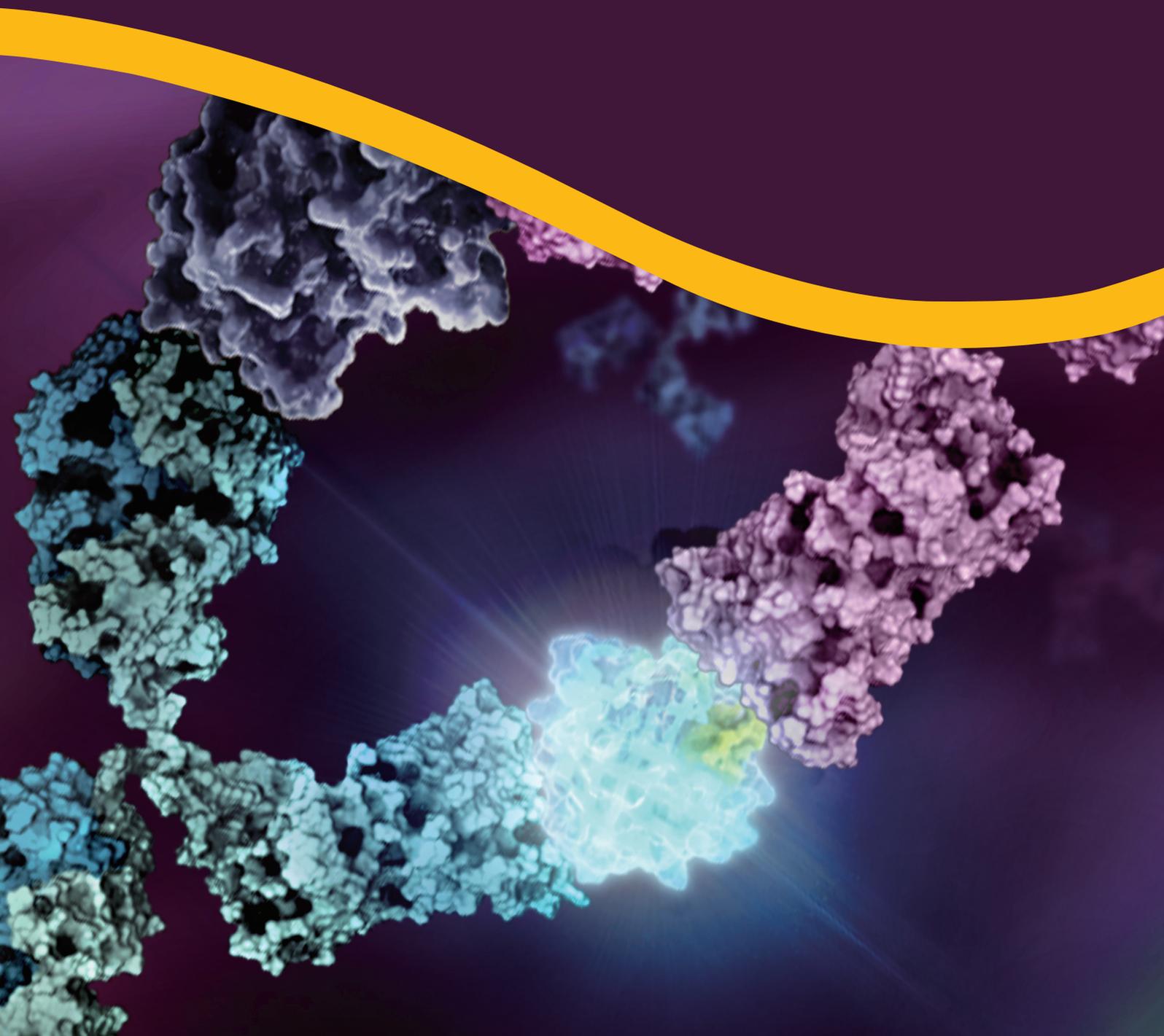


# Lumit<sup>®</sup> Immunoassays

## 一种**简单**、**快速**的分析物检测方法

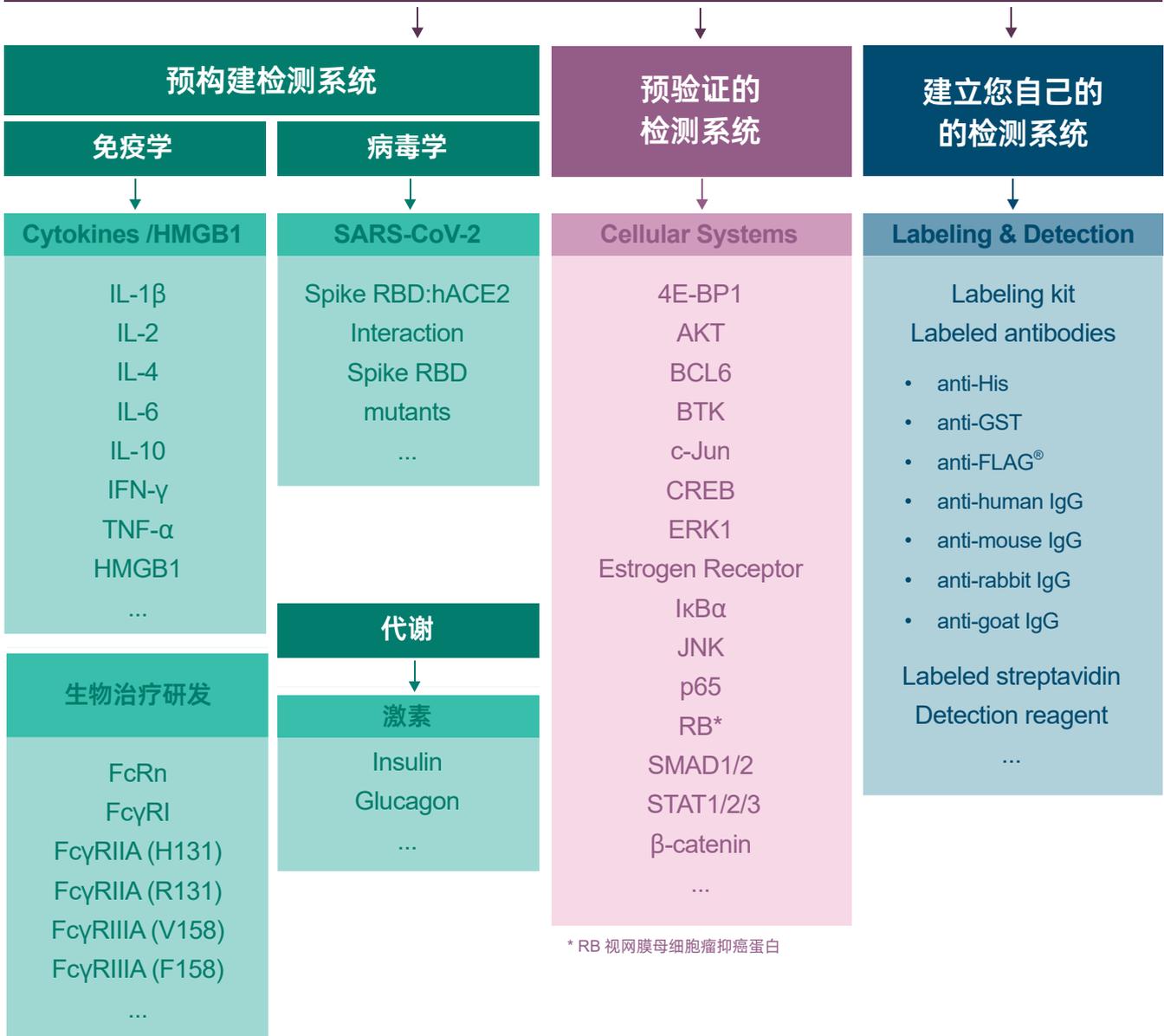
代谢调控 | 免疫原性细胞死亡 | 生物治疗药物研发 | 信号通路分析 |  
细胞因子 | 蛋白相互作用



# 目录

<b>1. 引言</b>	<b>4</b>
1.1 Lumit <sup>®</sup> 技术	4
1.2 应用 & 检测模式	6
<b>2. 预构建的 Lumit<sup>®</sup> Immunoassays</b>	<b>8</b>
2.1 用于检测 Cytokines / HMGB1 的 Lumit <sup>®</sup> Assays	8
• Lumit <sup>®</sup> Human Cytokine Immunoassay (Cytokine 包括: IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-17A, Active IL-18, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IFN- $\beta$ )	8
• Lumit <sup>®</sup> Mouse IL-1 $\beta$ Cytokine Immunoassay	8
• Lumit <sup>®</sup> Human/Mouse HMGB1 Immunoassay	8
2.2 用于检测代谢调控因子的 Lumit <sup>®</sup> Assays	10
• Lumit <sup>®</sup> Insulin Immunoassay	10
• Lumit <sup>®</sup> Glucagon Immunoassay	10
2.3 用于生物治疗研发的 Lumit <sup>®</sup> Fc Receptor Binding Assays	12
• Lumit <sup>®</sup> Fc $\gamma$ R Binding Immunoassays	14
• Lumit <sup>®</sup> FcRn Binding Immunoassay	16
2.4 SARS-CoV-2 蛋白: 蛋白相互作用免疫检测	18
• Lumit <sup>®</sup> SARS-CoV-2 RBD:hACE2 Immunoassay	18
<b>3. 预验证的 Lumit<sup>®</sup> Immunoassays</b>	<b>20</b>
3.1 Lumit <sup>®</sup> Immunoassay Cellular System	20
<b>4. 建立您自己的 Lumit<sup>®</sup> Immunoassays</b>	<b>27</b>
4.1 Lumit <sup>®</sup> Immunoassay Toolbox	27
4.2 Lumit <sup>®</sup> Immunoassay Labeling Kit	28
4.3 Lumit <sup>®</sup> Anti-Tag Antibodies / Streptavidin	29
4.4 Lumit <sup>®</sup> Secondary Antibodies	31
4.5 Lumit <sup>®</sup> Immunoassay Detection Reagents	32
<b>5. 产品列表</b>	<b>33</b>
<b>6. 参考文献</b>	<b>37</b>

# Lumit<sup>®</sup> Immunoassays



\* RB 视网膜母细胞瘤抑制蛋白

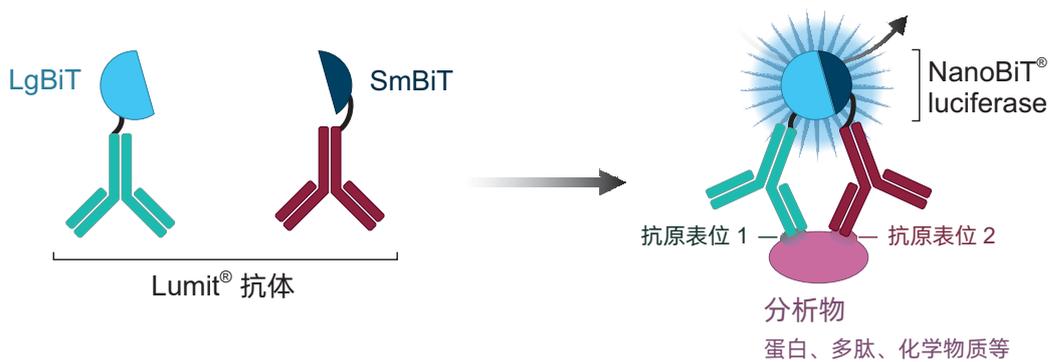
*Time is precious*

# 1. 引言

## 1.1 Lumit<sup>®</sup> 技术

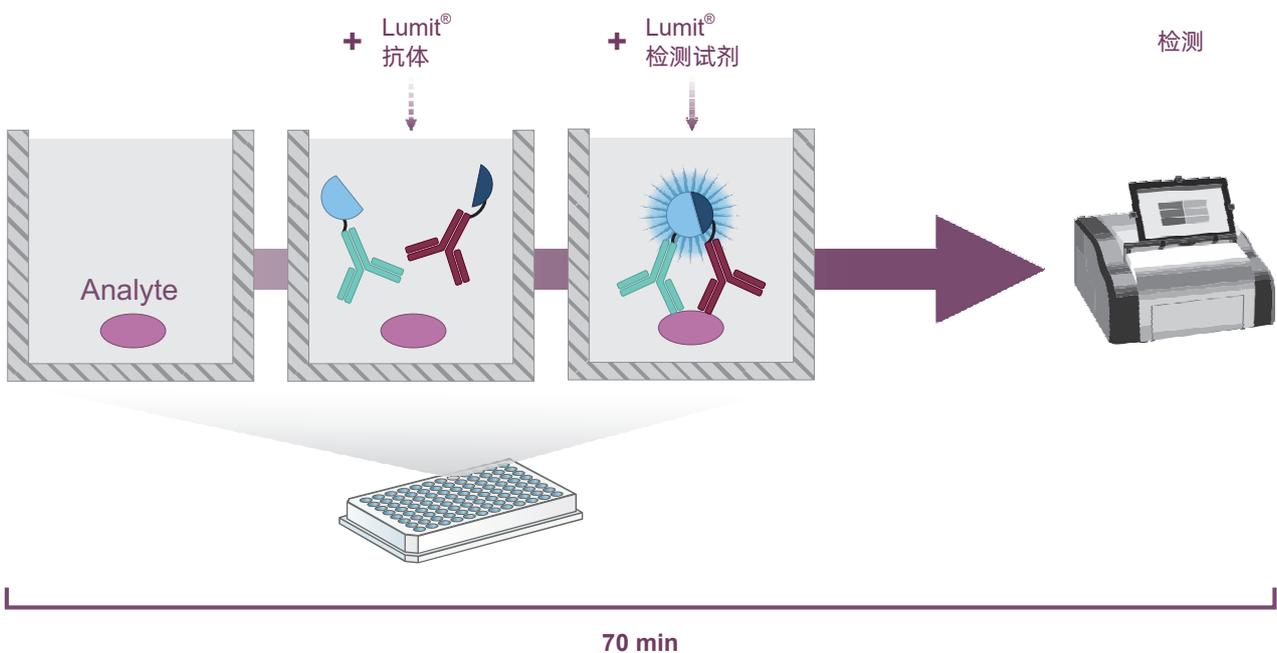
分析物的检测和定量通常使用耗时的多步骤方法，如 Western blotting 和 ELISA。Lumit<sup>®</sup> 技术是一种简单快速的多孔板均质免疫检测的替代方法。它的高特异性和易于高通量筛选 (HTS) 使其成为科学家进行基础研究和药物发现的有力工具。

### 检测原理



Lumit<sup>®</sup> 的基本原理是 NanoLuc<sup>®</sup> 二亚单元系统 (NanoBiT<sup>®</sup>)。在 Lumit<sup>®</sup> 免疫分析中，两种抗体分别用 NanoLuc<sup>®</sup> 萤光素酶的小亚基和大亚基（即 SmBiT 和 LgBiT）进行化学标记。直接或间接与分析物结合产生标记抗体的空间接近性，使 SmBiT 和 LgBiT 能够重组形成 NanoBiT<sup>®</sup> 萤光素酶。在其底物 furimazine 的存在下，可以检测到明亮的发光，发光值与样品中待测物量成正比。

### 工作流程



## 特点

- 简单的均质型操作流程
  - ✓ 无需洗涤
  - ✓ 无需封闭
- 检测分析物类型 \*：
  - ✓ Buffer
  - ✓ 细胞培养基上清
  - ✓ 细胞裂解物
- 在常规的可读板发光检测仪上检测信号

## 优势

- 简单的加样 - 读数流程，无需洗涤步骤
- 减少手动时间，快速出结果
- 无需对孔板、磁珠、或者其他表面物质进行固定
- 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
- 常规的发光仪即可进行检测
- 特异性高，背景信号低
- 容易进行自动化处理，以及兼容高通量（96 孔和 384 孔板）

\* 暂时不能用于血清样本检测

## Lumit<sup>®</sup> vs. 常规的免疫检测

Lumit<sup>®</sup> 免疫检测是快速的、基于孔板的加样 - 读数检测。无需洗涤步骤使得 Lumit<sup>®</sup> 成为了传统的劳动密集型方法（如 ELISA 和 Western Blot）的极好的替代方法。

## 获取高质量数据的捷径

### ELISA



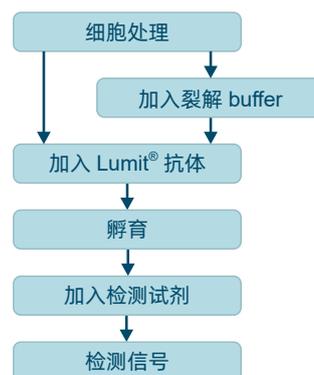
3 - 5 h

### Western blot



1 - 2 d

### Lumit<sup>®</sup>



0.5 - 2 h

*Time is precious*

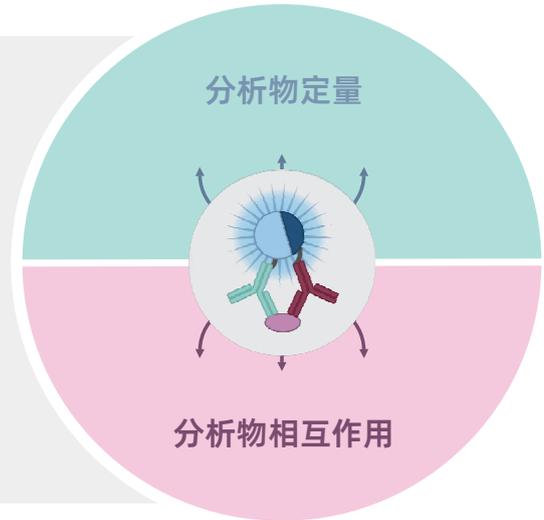
# 1. 引言

## 1.2 应用和检测模式

不同的 Lumit<sup>®</sup> 免疫检测模式支持多种不同应用。

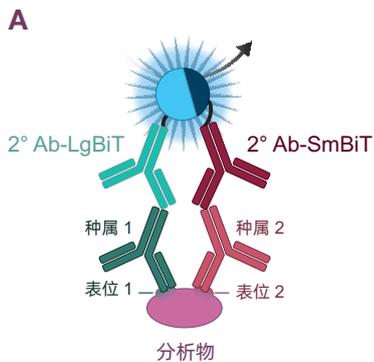
### 应用

- 生物样本中的分析物定量测定
- 蛋白和小分子的竞争性结合研究
- 蛋白质和小分子药物筛选
- 信号通路激活的测定
- 蛋白相互作用分析
- 高通量筛选 (HTS)

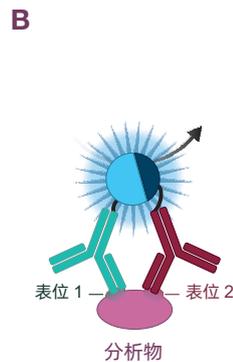


### 分析物定量

#### 间接检测模式



#### 直接检测模式



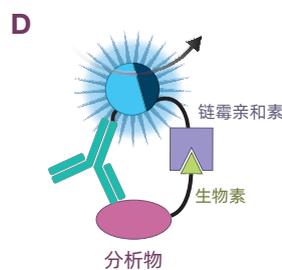
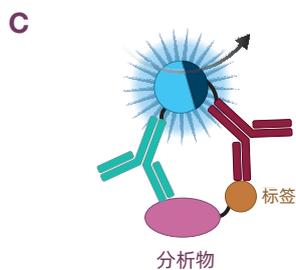
Lumit<sup>®</sup> 技术具有多种不同检测模式，因此可对多种分析物进行定量分析。

**(A)** 在间接检测模式下，来自不同种属的两个不同一抗对两个表位进行识别，并用 BiT 标记的二抗进行检测。该检测模式已经过全面充分验证，可用于细胞裂解物中的 PTM 分析，因此其也称为 Lumit<sup>®</sup> Immunoassay Cellular Systems。

**(B)** 直接检测模式使用两种 BiT 标记的一抗。

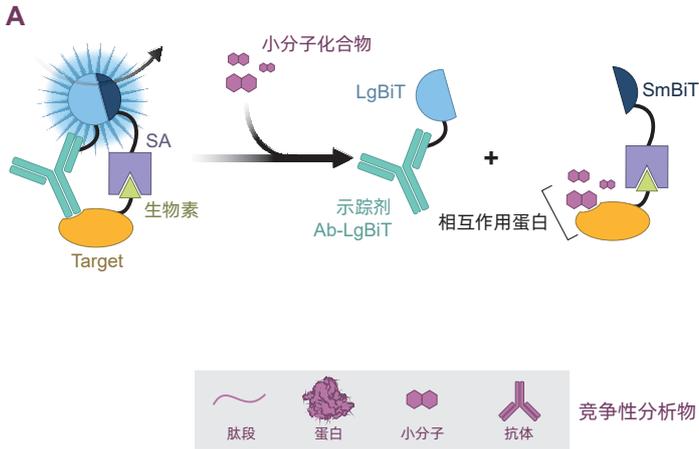
对于涉及 **(C)** BiT 标记的抗标签抗体或 **(D)** BiT 标记的链霉亲和素（旨在检测携带生物素的蛋白）等标记分析物，还具有其他形式的检测模式对其进行检测。

#### 其他检测模式

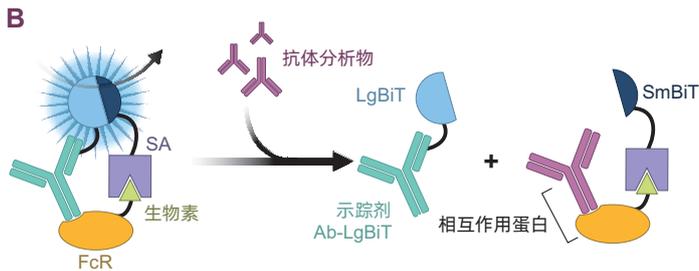


## 分析物相互作用

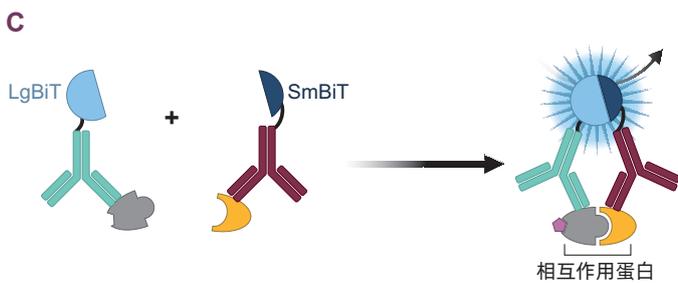
使用 Lumit<sup>®</sup> 技术可轻松对两种分析物之间的二元相互作用进行探索分析。在信号获得检测以及竞争性信号缺失中，多种检测模式能够对分析物结合事件（例如蛋白：蛋白和蛋白：配体相互作用）进行相应测定和表征分析。



**(A)** 在该检测模式下，生物素化的 Target 与 SmBiT 标记的链霉亲和素 (SA-SmBiT) 和 LgBiT 标记的抗体示踪剂 (Tracer-Ab-LgBiT) 结合。这能够通过竞争性置换 Tracer-Ab-LgBiT 测定小分子化合物对靶标的亲和力。



**(B)** Lumit<sup>®</sup> FcR Binding Immunoassay 的设置是竞争性信号丢失检测的另一个示例。在该检测模式下，生物素化的 FcR 与 SmBiT 标记的链霉亲和素 (SA-SmBiT) 和 LgBiT 标记的抗体示踪剂 (Tracer-Ab-LgBiT) 结合。这能够通过竞争性置换 Tracer-Ab-LgBiT 测定分析物抗体 (Ab-Analyte) 对 FcR 的亲和力。



**(C)** Lumit<sup>®</sup> 信号获得检测系统用于对目标蛋白对的相互作用进行效价分析。该检测模式可用于寻找这些相互作用的抑制剂或筛选调节相互作用的物质。

## 2. 预构建的 Lumit<sup>®</sup> Immunoassays

### 2.1 Lumit<sup>®</sup> Assays 检测细胞因子 /HMGB1

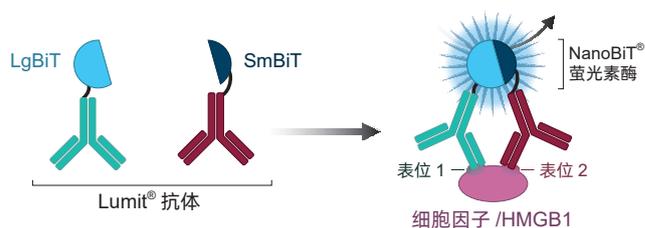
#### 描述和应用

预构建的 Lumit<sup>®</sup> Cytokine/HMGB1 Immunoassays 是简便快捷的定量检测系统，该系统使用平板，操作步骤仅需添加 - 读取即可实现检测。检测系统的良好检测灵敏度通过其较低的检测限 (LOD) 体现，同时检测系统的线性范围较宽可免去对样本进行稀释这一操作步骤。Lumit<sup>®</sup> 检测系统适用于低通量或高通量实验。

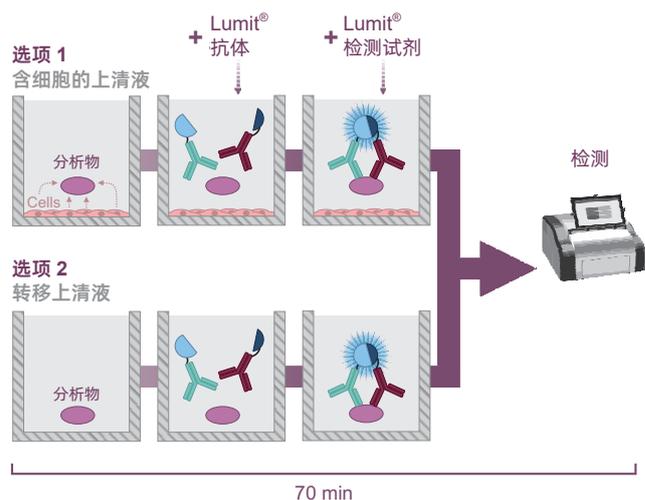
#### 原理和工作流程

检测试剂盒中包含分析物特异性一抗 (NanoBiT<sup>®</sup> 亚基 LgBiT 和 SmBiT 标记)，分析物标准品和检测试剂。在存在细胞 (选项 1) 时或可将样本转移至单独平板 (选项 2) 时，对细胞培养物上清液中的分析物进行检测。两种抗体与分析物的结合促成 NanoBiT<sup>®</sup> 萤光素酶的重构。加入检测试剂后，可在常规发光检测仪上读取并记录与分析物浓度水平成正比的明亮发光信号。

#### 检测原理



#### 检测工作流程



#### 检测特征

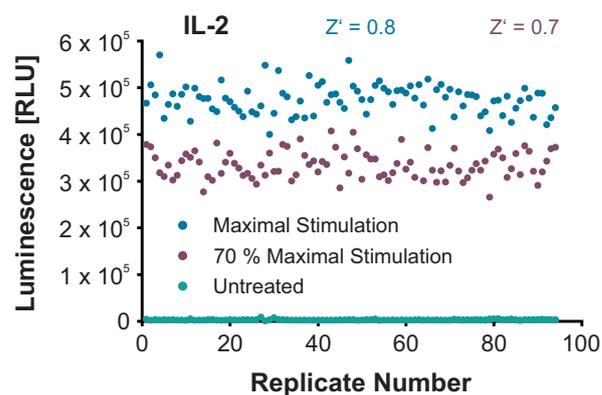
样本材料	含细胞的上清液 转移上清液
样本体积	12.5~80µl
检测模式	直接检测模式 96 孔板 /384 孔板
实施	均质检测 添加和读取模式
所需时间	≤70 分钟
多重检测选项	Caspase-Glo <sup>®</sup> 1 Inflammasome Assay

检测	动态范围	检测限
Human IL-1β	22 – 40000 pg/ml	10 pg/ml
Mouse IL-1β	11 – 20000 pg/ml	8 pg/ml
Human IL-2	28.2– 25000 pg/ml	11.2 pg/ml
Human IL-4	18.2 – 25000 pg/ml	6.7pg/ml
Human IL-6	18.2– 25000 pg/ml	7.5 pg/ml
Human IL-10	18 .2– 25000 pg/ml	7.4 pg/ml
Human IFN-γ	18 .2– 25000 pg/ml	1.7 pg/ml
Human TNF-α	6 – 25000 pg/ml	2.9 pg/ml
Human/Mouse HMGB1	4–1,000ng/ml (Hu) 3 – 2187 pg/ml (Ms)	1 ng/ml (Hu) 3 ng/ml (Ms)
Human IFN-β	18.2–25,000pg/ml	5.3pg/ml
Human IL-12	18.2–25,000pg/ml	4.5pg/ml
Human IL-17A	18.2–25,000pg/ml	3pg/ml
Human IL-8	7.29–10,000pg/ml	1pg/ml
Human Active IL-18	11–20,000pg/ml	≤10pg

## 代表数据

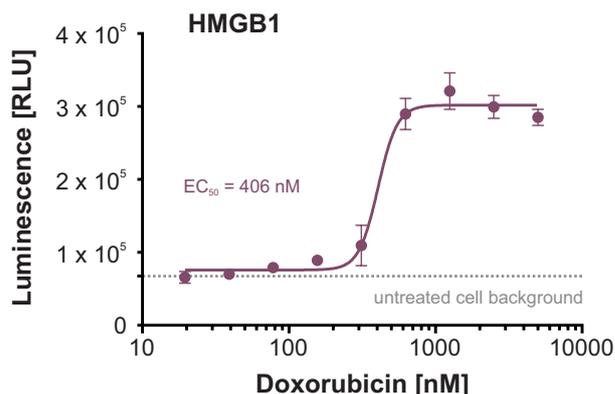
### HTS 兼容性验证

将人 PBMC 以 10000 个细胞 / 孔铺板于 384 孔板中，用细胞刺激混合物在最大或 70% 最大刺激水平下处理 24 小时。在每种条件下，加入试剂后测定了 94 份重复样本的发光信号。IL-2 释放测定的 Z' 因子显著大于 0.5，表明检测系统适合用于筛选用途。



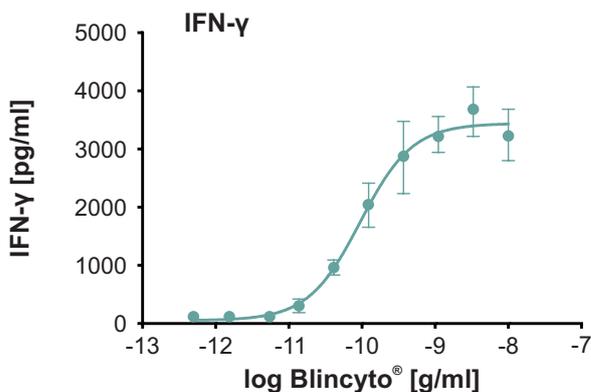
### 药物诱导的免疫原性细胞死亡

用阿霉素处理小鼠 EL4 细胞 24 小时。使用 Lumit<sup>®</sup> HMGB1 Immunoassay，在存在细胞（不进行转移）的情况下定量测定了上清液中的 HMGB1 水平。



### IFN- $\gamma$ (T 细胞活化标志物) 的检测

将纯化的 CD8+T 细胞 (效应细胞) 与 Raji B 细胞 (靶细胞) 合并，然后再加入 Blincyto<sup>®</sup> (一种 CD3 和 CD19 双特异性 T 细胞衔接体) 的连续稀释液。在存在细胞（不进行转移）的情况下，使用 Lumit<sup>®</sup> IFN- $\gamma$  Immunoassay 分析了效应细胞释放至细胞培养上清液中的 IFN- $\gamma$  水平。



### Product Box

Lumit<sup>®</sup> Cytokine Immunoassays Cat.# see page 33

Lumit<sup>®</sup> HMGB1 Immunoassay Cat.# W6110, W6112



## 2. 预构建的 Lumit<sup>®</sup> Immunoassays

### 2.2 Lumit<sup>®</sup> Assays 检测代谢调节剂

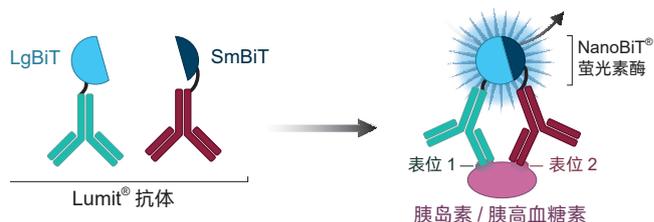
#### 描述和应用

预构建的 Lumit<sup>®</sup> Insulin and Glucagon Immunoassays 是简便快捷的定量检测系统，该系统使用平板，操作步骤仅需添加 - 读取即可实现检测。检测系统的良好检测灵敏度通过其较低的检测限 (LOD) 体现，同时检测系统的线性范围较宽可免去对样本进行稀释这一操作步骤。Lumit<sup>®</sup> Immunoassays 适用于低通量和高通量应用。

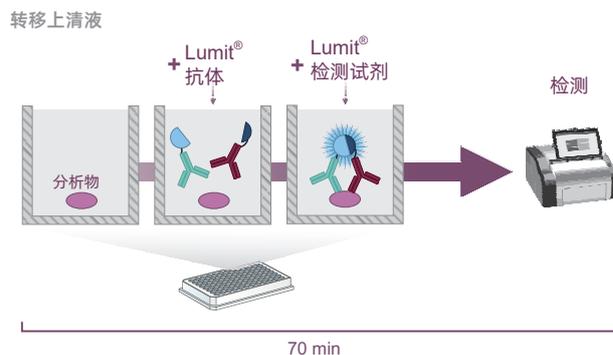
#### 原理和工作流程

检测试剂盒中包含分析物特异性一抗（用 NanoBiT<sup>®</sup> 亚基 LgBiT 和 SmBiT 标记），分析物标准品和检测试剂。使用转移至单独平板的细胞培养上清液进行分析物检测。两种抗体与分析物的结合有助于促进 NanoBiT<sup>®</sup> 萤光素酶的重构。加入检测试剂后，可在常规发光检测仪上读取并记录与分析物浓度水平成正比的明亮发光信号。

#### 检测原理



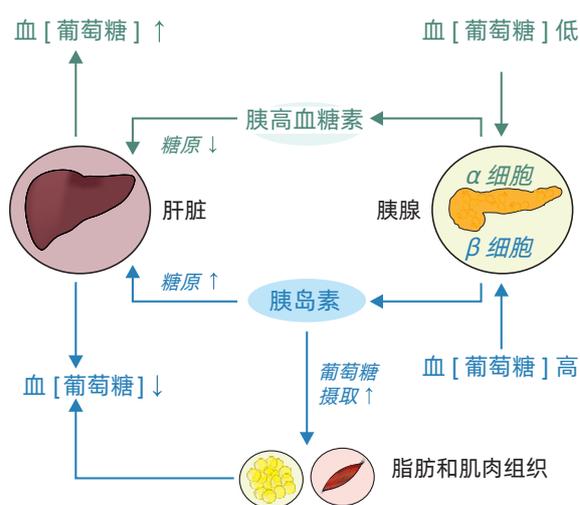
#### 检测工作流程



检测	动态范围	检测限
胰岛素	58-46000 pg/ ml	58 pg/ ml
胰高血糖素	3-7000 pg/ ml	3 pg/ ml

#### 检测特征

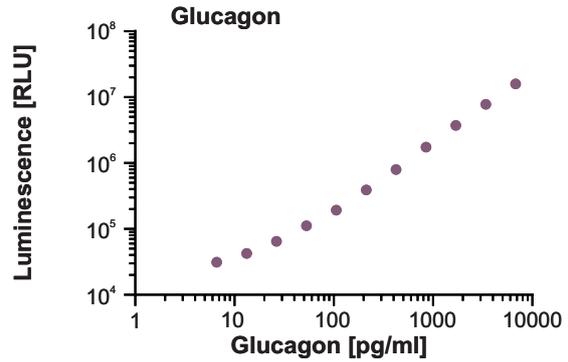
样本材料	转移的上清液
样本体积	5~50µl
检测模式	直接检测模式 96 孔板 /384 孔板
实施	均质检测 添加和读取模式
所需时间	≤70 分钟
多重检测选项	同时使用这两种 Lumit <sup>®</sup> 检测和分析胰岛素和胰高血糖素，以获得更多关于胰岛功能的信息



## 代表数据

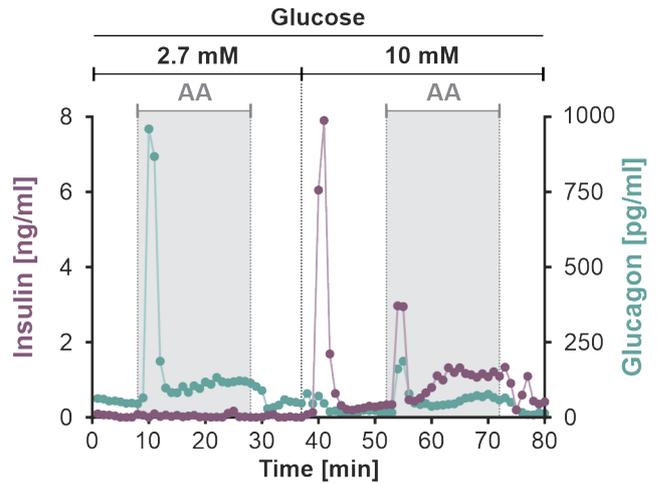
### 较宽的动态范围和皮摩尔级灵敏度

较宽的动态范围能够在不对样本进行稀释的情况下实现较高灵敏度的检测。通过加入 Lumit<sup>®</sup> 抗体，在 96 孔板中对胰高血糖素的系列稀释液进行检测。在孵育 1 小时后，加入 Lumit<sup>®</sup> 检测试剂，并测定发光信号。并进行四次重复分析。



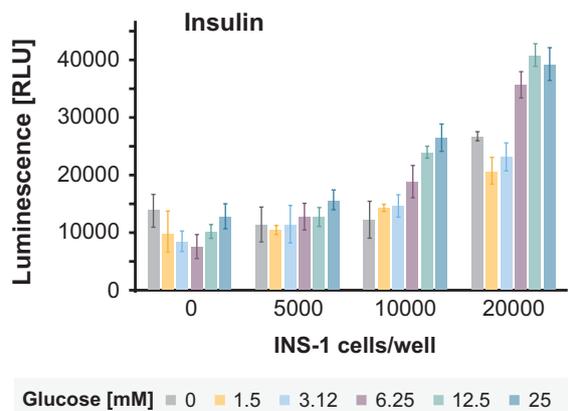
### 在灌注实验中测定激素分泌水平

在灌注室中，使用葡萄糖和氨基酸 (AA) 的混合物对 80 个小鼠胰岛进行处理。然后分别使用 2.7mM 葡萄糖和 10mM 葡萄糖模拟低血糖和高血糖水平。随后每分钟采集灌注液的等份试样。在 384 孔板的 10 $\mu$ l 灌注液中分别检测了胰岛素和胰高血糖素水平。该数据由 Drs. H. Foster 和 M. Merrins (美国威斯康星州麦迪逊威斯康星大学 VA 医院) 友情提供。



### 葡萄糖诱导的胰岛素分泌监测

用不同浓度的葡萄糖刺激 96 孔板中以不同细胞数量铺板的 INS-1 大鼠胰岛素瘤细胞 60 分钟。通过移取 10 $\mu$ l 上清液测定胰岛素分泌情况，并在 384 孔板中使用 Lumit<sup>®</sup> Insulin Immunoassay Kit 对胰岛素分泌水平进行测定。



### Product Box

Lumit<sup>®</sup> Insulin Immunoassay

Please Enquire

Lumit<sup>®</sup> Glucagon Immunoassay

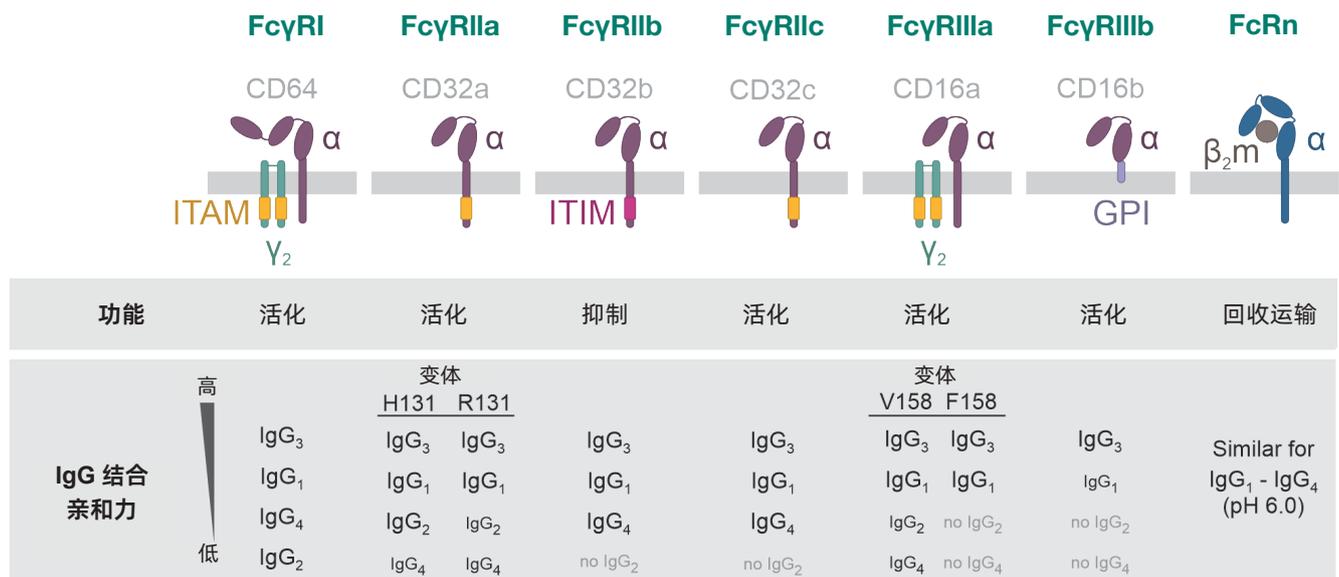
Cat.# W8020, W8022



## 2. 预构建的 Lumit<sup>®</sup> Immunoassays

### 2.3 用于生物治疗药物研发的 Lumit<sup>®</sup> Fc Receptor Binding Assays

治疗性抗体的有效性不仅取决于 Fab 片段与靶抗原的结合活性，还取决于 Fc 片段与 Fc 受体之间的结合活性。例如，Fc 片段与新生儿 Fc 受体 (FcRn) 的亲合力对抗体的半衰期具有一定影响，而其与 Fc $\gamma$  受体 (Fc $\gamma$ R) 的结合亲合力则会影响抗体诱导细胞效应子功能的能力，例如 ADCC (抗体依赖性细胞毒性) 和 ADCP (抗体依赖性细胞吞噬作用)。因此，在药物研发过程中，必须针对一组 Fc 受体对候选治疗性抗体进行相应检测。



IgG 结合 Fc 受体 (Fc $\gamma$ R、FcRn) 的图示。不同 IgG 亚类的结合亲合力也有所不同。ITAM= 免疫受体酪氨酸活化基序；ITIM= 免疫受体酪氨酸抑制基序； $\gamma$ 2=FcR  $\gamma$  亚基二聚体； $\beta$ 2m= $\beta$ -2 巨球蛋白。

参考自：

Bruhns, P. (2012) Blood 14;119(24):5640–9;

Smith, KGC. (2010) Nat Rev Immunol May;10(5):328–43;

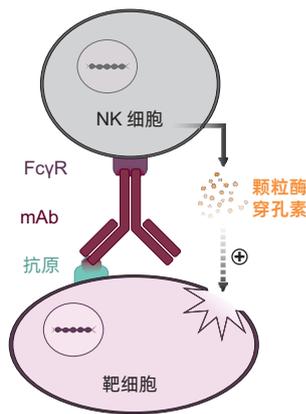
Hogarth, PM. (2012) Nat Rev Drug Discov Mar 30;11(4):311–31.

**新生儿 Fc 受体 (FcRn)** 是一种多功能非典型 Fc $\gamma$  受体，其在全身多种组织中（包括上皮细胞、内皮细胞和造血源性细胞）进行表达。在 pH 呈酸性时，FcRn 在核内体中与 IgG 抗体的 Fc 区域发生结合。FcRn 的功能包括通过极化细胞屏障（如上皮细胞）转运 IgG 同时保护 IgG 免于降解，从而调节抗体在血清中的半衰期。由于半衰期延长有助于患者取得更好的治疗疗效以及降低给药频率，因此 FcRn 与治疗性 IgG 相互作用的研究是药物研发过程中需进行优化的关键参数。

**Fcγ 受体 (FcγR)** 通过与 IgG 的 Fc 结合从而介导多种生物反应，包括抗体依赖性细胞毒性、内吞作用、吞噬作用、释放炎症介质和增强抗原呈递等。在人体中，研究人员已在多种细胞类型中对下述三组 FcγR 进行了研究及描述：**FcγRI (CD64)**、**FcγRIIa/b/c (CD32a/b/c)** 和 **FcγRIIIa/b (CD16a/b)**。这些类型的 FcγR 在多种免疫细胞表面以不同组合进行表达。研究人员将 FcγRI 分类为高亲和力受体 ( $nM K_D$ )，而将 FcγRII 和 FcγRIII 分类为低亲和力至中等亲和力受体 ( $\mu M K_D$ )。多项研究表明，不同的 Fc 受体基因型对 Fc 介导的效应具有显著影响。例如，与变体 F158 相比，决定 NK 细胞 ADCC 活性的 FcγRIIIa 显示多态性变体 V158 对 IgG1 的结合活性更高。

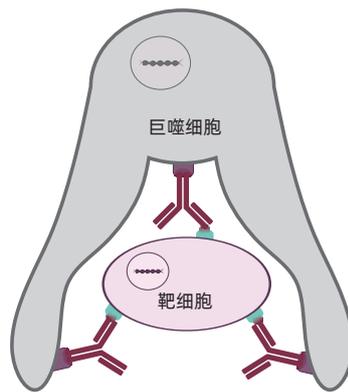
## FcγR-/FcRn 介导的细胞功能

### FcγR 介导的 ADCC



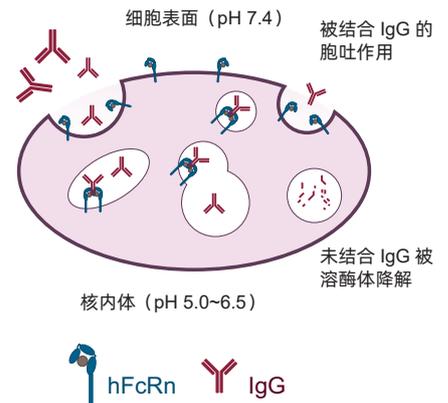
抗体依赖性细胞毒性 (ADCC) 由 NK 细胞介导，NK 细胞通过 FcγR 结合 IgG 的 Fc 区而被激活。刺激细胞毒性效应功能可导致靶细胞死亡。

### FcγR 介导的 ADCP



抗体依赖性细胞吞噬作用 (ADCP) 由巨噬细胞 FcγR 与 IgG 的 Fc 区发生相互作用而诱导，进而增强其吞噬活性。

### FcRn 介导的 IgG 回收



胞饮作用后，核内体的酸性条件可促进 FcRn IgG 的相互作用。未结合的 IgG 部分与其他蛋白一起在溶酶体中发生降解，而 FcRn 结合的 IgG 则通过胞吐作用保留并进行释放。

## 2. 预构建的 Lumit<sup>®</sup> Immunoassays

### Lumit<sup>®</sup> FcγR Binding Immunoassay

#### 描述和应用

Lumit<sup>®</sup> FcγR Binding Immunoassays 是一种新型均相、无需进行洗涤步骤的竞争检测系统，其用于测定人 Fc 受体与抗体或 Fc 融合蛋白之间的相互作用。更为重要的是，该检测系统可对溶液进行检测，进而避免了固定液导致的实验假象。这些检测系统主要用于治疗性抗体的研发，可对抗体进行优化并对抗体效价进行检测。

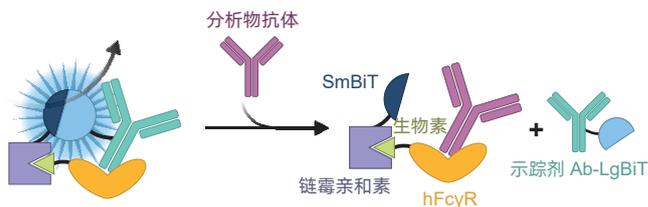
#### 原理和工作流程

FcγR 检测系统包括 LgBiT 标记的人 IgG<sub>1</sub> (示踪剂 Ab-LgBiT) 和与 SmBiT 标记链霉亲和素结合的生物素化人 FcγR (胞外结构域) (hFcγR-生物素-链霉亲和素-SmBiT)。在不存在分析物抗体 (分析物 Ab) 的情况下，示踪剂与标记的 hFcγR 结合可产生最大发光信号。由于与示踪物竞争，发光信号呈浓度依赖性降低，表明分析物抗体结合较为明显。这些易于使用的生化检测系统可用于补充和提供相关正交数据，以支持基于细胞的功能性生物活性检测的结果。

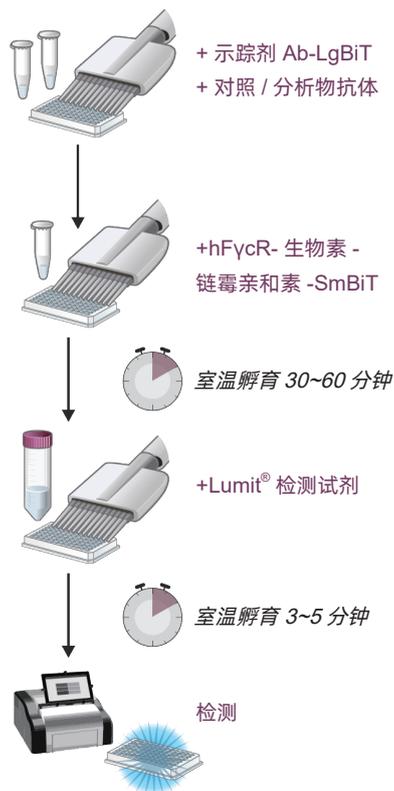
#### 检测特征

样本材料	抗体 Fc 蛋白
样本体积	25μl 抗体
浓度范围	4ng/ml~4μg/ml
检测模式	信号丢失检测 96 孔 /384 孔板
实施	均质检测 添加和读取模式
所需时间	≤70 分钟

#### 检测原理



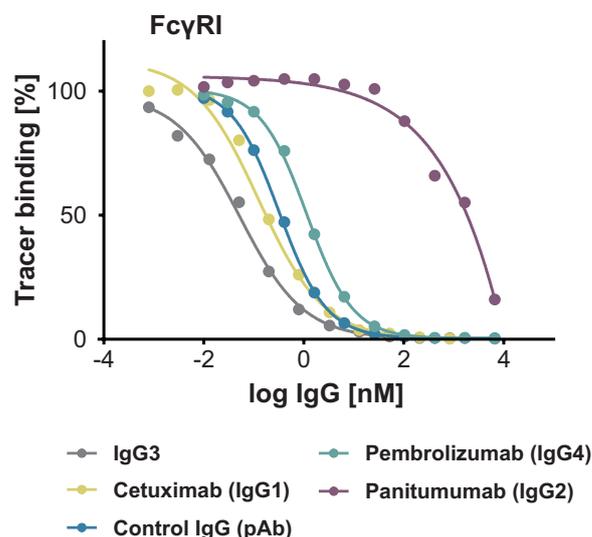
#### 检测工作流程



## 代表数据

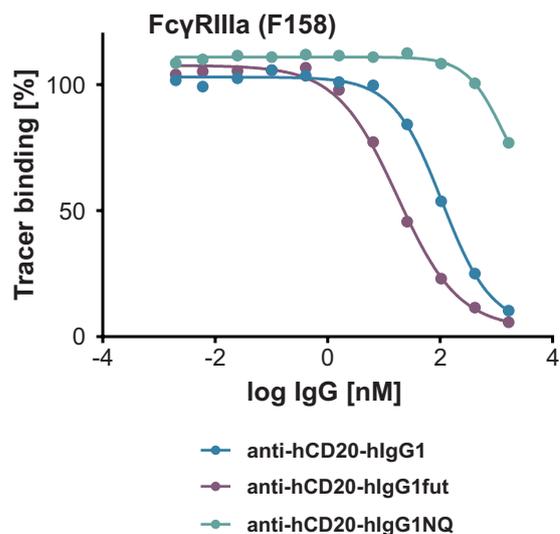
### Lumit® FcγRI Binding Immunoassay

Lumit® FcγRI Binding Immunoassays 是对效价进行检测的系统，其可用作基于细胞的功能性 Fc 效应活性检测的补充系统。FcγRI 以亚类特异性方式与 IgG 发生结合，IC<sub>50</sub> 值反映了与 IgG 的相对亲和力 (IgG<sub>3</sub>>IgG<sub>1</sub>>IgG<sub>4</sub>>>>IgG<sub>2</sub>)。



### Lumit® FcγRIIIa (F158) Binding Immunoassay

Lumit® FcγR Binding Immunoassays 用于对抗体聚糖状态进行评估。检测到非岩藻糖基化 (抗 hCD20-hIgG1fut) 或非糖基化 (抗 hCD20-hIgG1NQ) 抗体的 IC<sub>50</sub> 偏移。



## Product Box

Lumit® FcγRI Binding Immunoassay

Lumit® FcγRIIIa (H131) Binding Immunoassay

Lumit® FcγRIIIa (R131) Binding Immunoassay

以上产品详情请咨询 Promega。

Lumit® FcγRIIIa (V158) Binding Immunoassay

Lumit® FcγRIIIa (F158) Binding Immunoassay



## 2. 预构建的 Lumit<sup>®</sup> Immunoassays

### Lumit<sup>®</sup> FcRn Binding Immunoassay

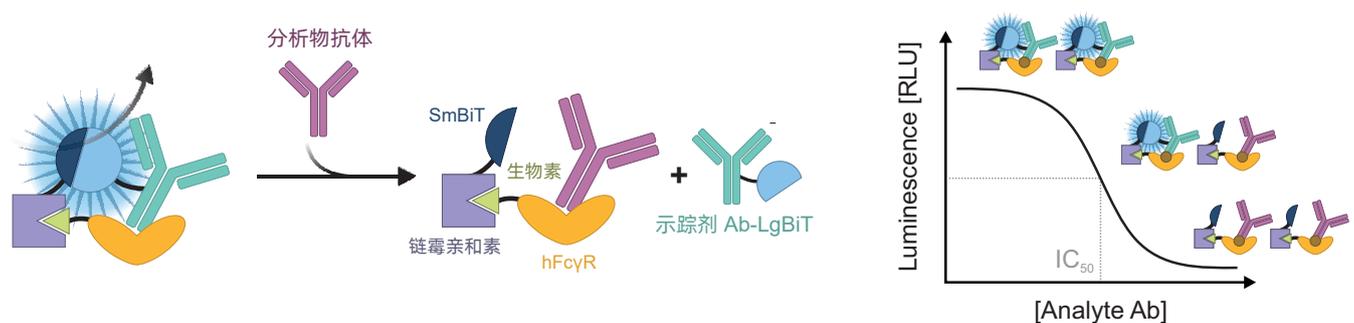
#### 描述和应用

Lumit<sup>®</sup> FcRn Binding Immunoassay 是一种均相、无需进行洗涤的竞争检测系统,其用于测定人新生儿 FcRn 与 Fc 蛋白(包括抗体)之间的相互作用。更为重要的是,该检测系统可对溶液进行检测,进而避免了固定液导致的实验假象。该检测系统可用于治疗性抗体的研发,以评估并调整因优化抗体与 FcRn 发生结合后而产生的抗体半衰期。此外,该检测系统还用于测定抗体氧化状态和检测抗 FcRn 阻断抗体。

#### 原理和工作流程

该检测系统包括 LgBiT 标记的人 IgG1 (示踪剂 Ab-LgBiT) 和与 SmBiT 标记链霉亲和素结合的生物素化人 FcRn (胞外结构域) (hFcRn-生物素-链霉亲和素-SmBiT)。在不存在分析物抗体(分析物 Ab)的情况下,示踪剂与标记的 hFcRn 结合可产生最大发光信号。由于与分析物竞争,发光信号呈浓度依赖性降低,表明分析物抗体结合较为明显。

#### 检测原理



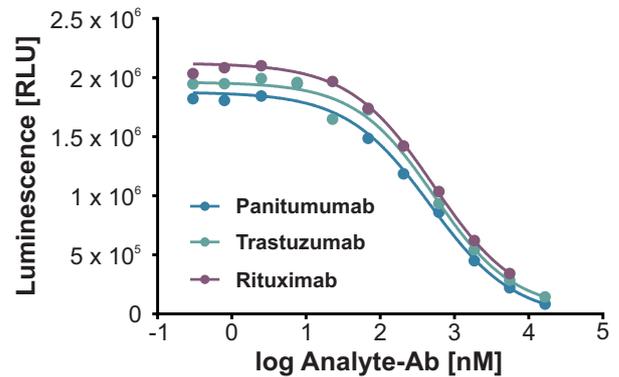
#### 检测特征

样本材料	抗体 Fc 蛋白
样本体积	25µl 抗体
浓度范围	4ng/ml~4µg/ml
检测模式	信号丢失检测 96 孔 /384 孔板
实施	均质检测 添加和读取模式
所需时间	≤70 分钟

## 代表数据

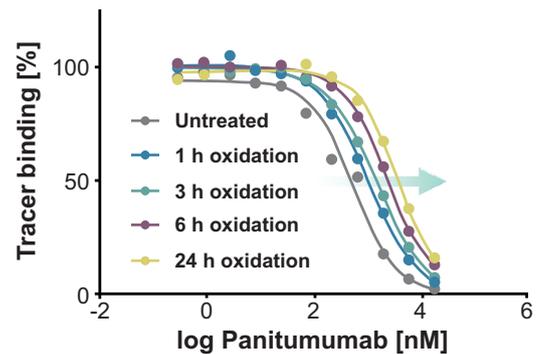
### FcRn 与一组治疗性抗体的结合

使用 Lumit<sup>®</sup> FcRn Binding Immunoassay 检测了一组治疗性抗体与 FcRn 的亲和力。研究人员观察到 IgG/FcRn 结合的检测窗口极佳。



### 抗体 -FcRn 亲和力的氧化性损失

将治疗性抗体与 0.3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 共同孵育 1~24 小时，从而诱导甲硫氨酸氧化。结果显示，使用 Lumit<sup>®</sup> FcRn Binding Immunoassay 可轻松检测到抗体-FcRn 亲和力的剂量依赖性、因发生氧化而造成的损失。



### Product Box

Lumit<sup>®</sup> FcRn Binding Immunoassay Cat.# W1151, W1152



## 参考文献

Nath, N. *et al.* (2021) *Deciphering the interaction between neonatal Fc receptor and antibodies using a homogeneous bioluminescent immunoassay.* *J Immunol.* **207**(4), 1211-1221.

Tian, Z. *et al.* (2021). *Harnessing the power of anti-bodies to fight bone metastasis.* *Sci Adv.* **7**(26), eabf2051

## 2. 预构建的 Lumit<sup>®</sup> Immunoassays

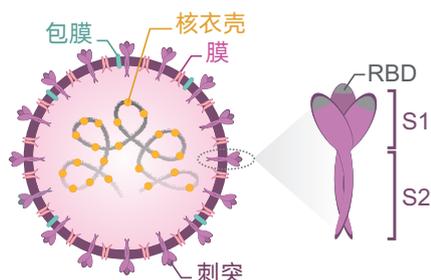
### 2.4 SARS-CoV-2 Protein: Protein Interaction Immunoassays

#### Lumit<sup>®</sup> SARS-CoV-2 RBD: hACE2 Immunoassay

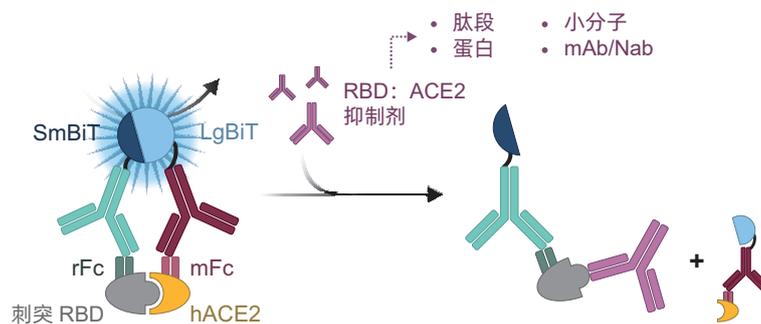
##### 描述和应用

Lumit<sup>®</sup> SARS-CoV-2 RBD: hACE2 Immunoassay 可检测 SARS-CoV-2 刺突蛋白的受体结合域 (RBD) 和人血管紧张素转化酶 2 (ACE2) 蛋白之间的相互作用。这种相互作用是宿主细胞感染的基础这一事实使其成为治疗性干预的重要靶点。该生化、HTS 兼容检测系统用于筛选 RBD: hACE2 相互作用抑制剂，并作为替代中和试验用于监测恢复期患者或接种相关疫苗个体血浆或血清中的中和抗体 (NAb)。

##### SARS-CoV-2 刺突蛋白



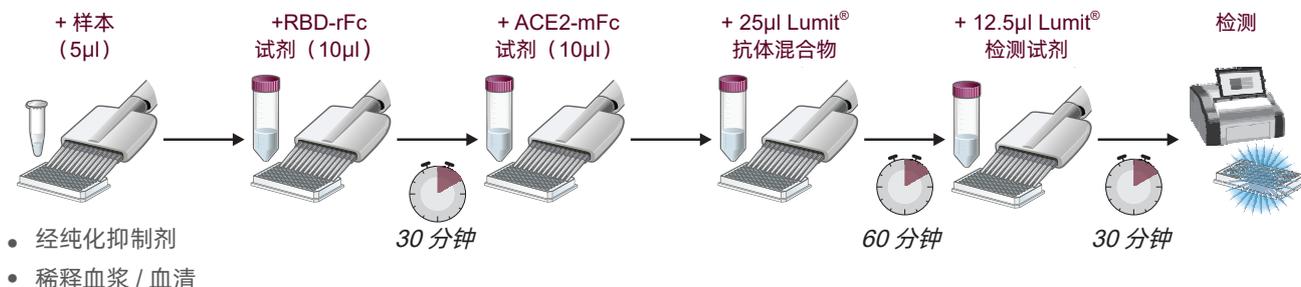
##### 检测原理



##### 原理和工作流程

Lumit<sup>®</sup> SARS-CoV-2 RBD: hACE2 Immunoassay 利用重组兔 Fc-RBD (rFc-RBD) 和小鼠 Fc-hACE2 (mFc-hACE2) 融合蛋白，其分别被 Lumit<sup>®</sup> 抗兔 -SmBiT 和抗小鼠 -LgBiT 抗体识别。从发光信号的相对降低可以明显确定对相互作用产生负面影响的分子。将重组 rFc-RBD 和样本进行充分混匀后，然后加入其他检测组分。生物发光信号可使用传统发光检测仪进行记录。

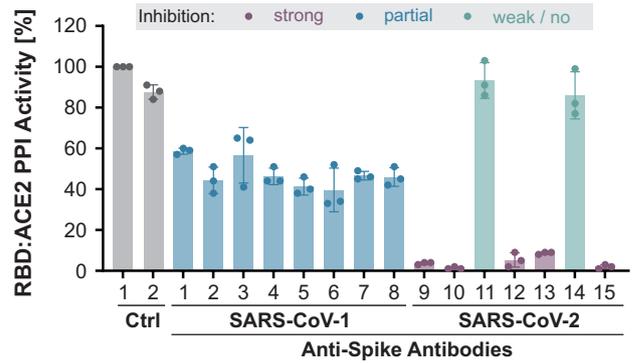
##### 检测工作流程



## 代表数据

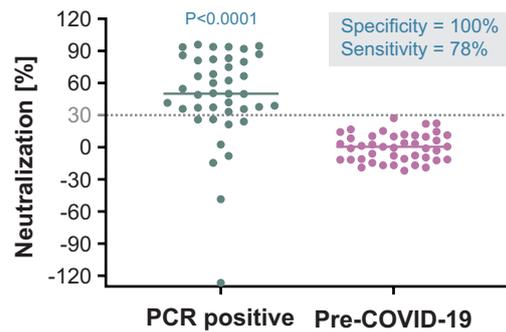
### 候选治疗性抗体的筛选

在单次给药时筛选了 15 种市售抗 SARS-CoV-1 或 SARS-CoV-2 抗体 / 抗体片段的小型迷你文库。然后将数据归一化为无抗体对照（对照 1）。根据抗体阻断 RBD: ACE2 相互作用的效价（即较强抑制、部分抑制和弱 / 无抑制等）对其进行了分组。使用抗 SARS-CoV-2 核衣壳抗体（对照 2）证实了检测系统的特异性。



### 患者样本中的中和抗体检测

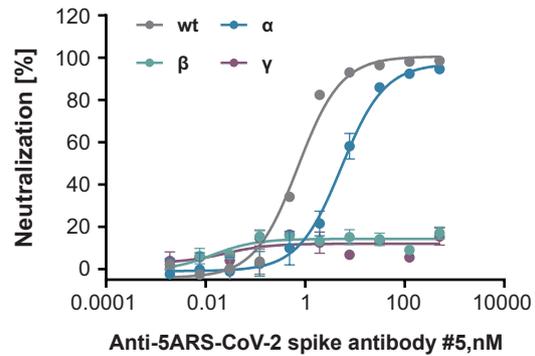
对来自威斯康星州麦迪逊（美国）的大流行爆发前样本（n=43）和 PCR 阳性血浆样本（n=41）队列进行了分析。加入其他检测组分前，将样本稀释液（1: 20）与 RBD-rFc 在室温条件下预孵育 30 分钟。阈值设定为 30% 中和水平，所得结果显示检测系统的检测特异性为 100%。检测灵敏度为 78%。



All figures adapted from Alves *et al.* 2021

### 监测 SARS-CoV-2 变体的抗体中和有效性

研究人员比较了抗 SARS-CoV-2 刺突抗体中和不同目标变体的效价。与野生型相比， $\alpha$  变体固有的 RBD 突变似乎不会对中和造成显著影响，而  $\beta$  和  $\gamma$  变体 RBD 内的突变几乎完全消除了抗 SARS-CoV-2 刺突抗体的中和效价。



### Product Box

- Lumit<sup>®</sup> SARS-CoV-2 Spike RBD:hACE2 Immunoassay **wt**
- SARS-CoV-2 RBD N501Y (rabbit Fc)  **$\alpha$**
- SARS-CoV-2 Spike RBD K417N, E484K, N501Y (rabbit Fc)  **$\beta$**
- SARS-CoV-2 Spike RBD K417T, E484K, N501Y (rabbit Fc)  **$\gamma$**

Combine with

以上产品详情请咨询 Promega。

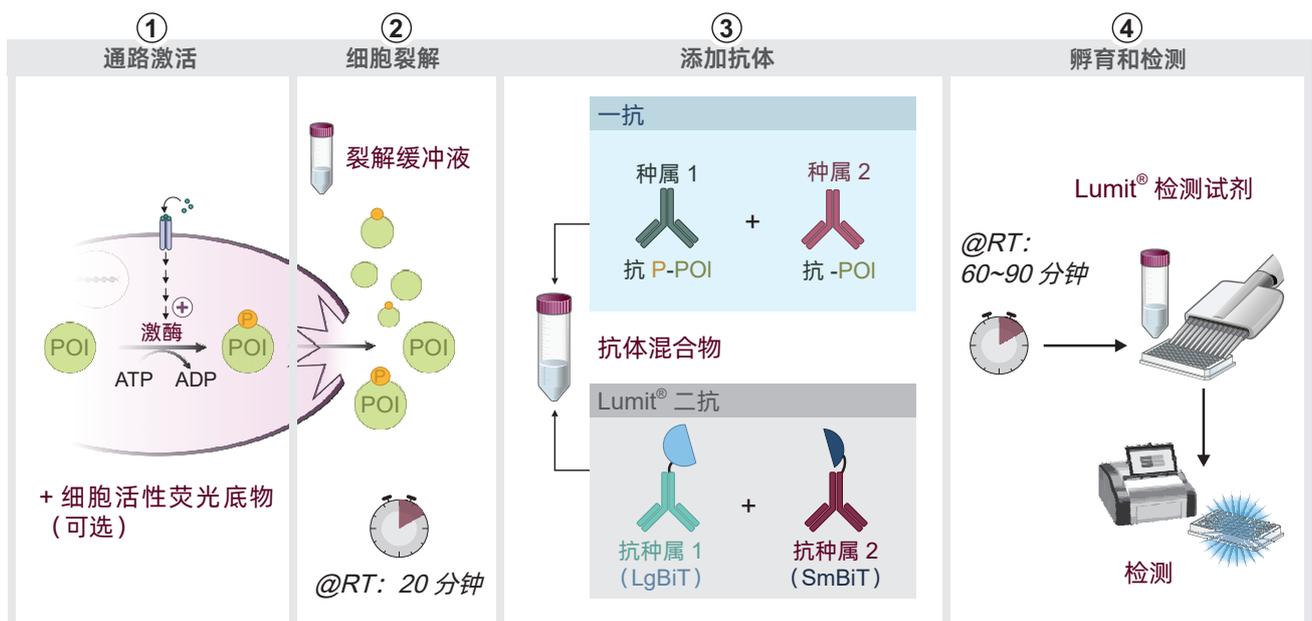


# 3. 预验证的 Lumit<sup>®</sup> Immunoassays

## 3.1 Lumit<sup>®</sup> Immunoassay Cellular Systems

### 激酶信号通路应用

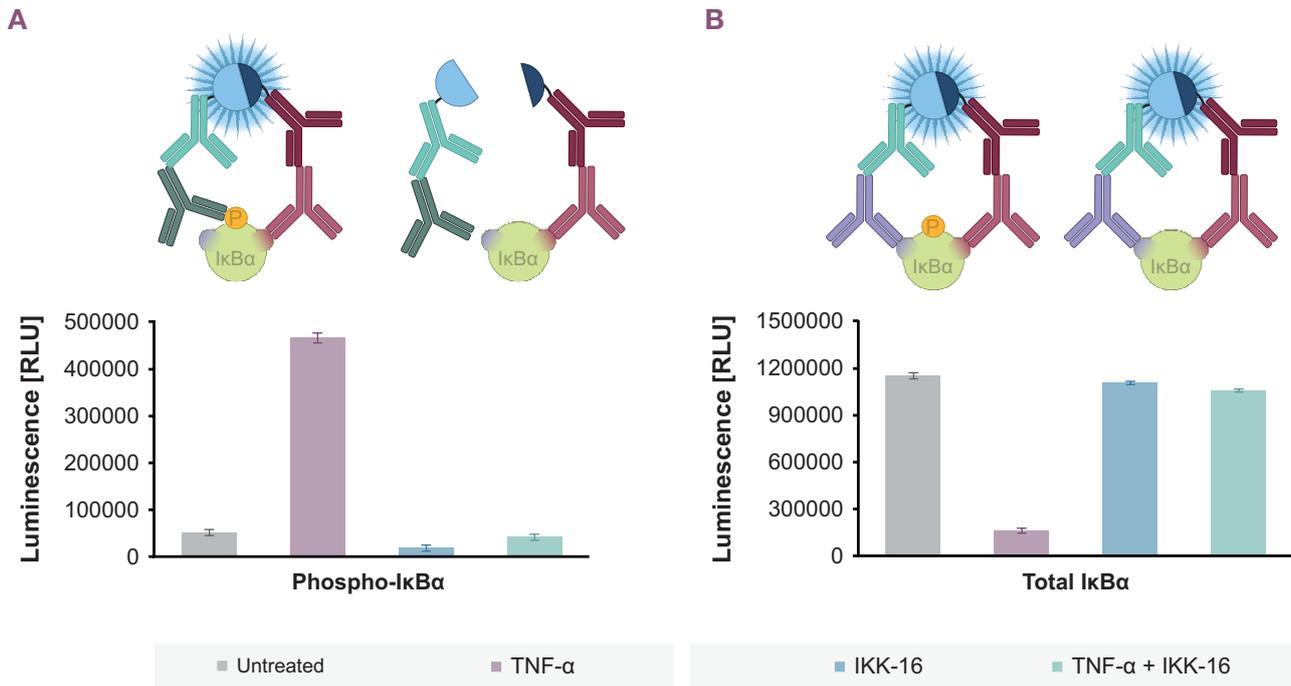
多项研究证实，Lumit<sup>®</sup> Immunoassay Cellular Systems 可用于细胞中的激酶信号通路分析。检测试剂盒包含裂解缓冲液、一组预先标记的 Lumit<sup>®</sup> 二抗以及检测试剂。在联合使用相匹配的一对一抗（试剂盒未提供）时，该免疫检测系统可轻松实现信号通路分析。如第 22 页所述内容，对于可用的不同靶标和通路，提供了数量越来越多的相关应用说明。每个应用说明均提供了操作步骤以及所用一抗的信息。



### 原理和 workflow

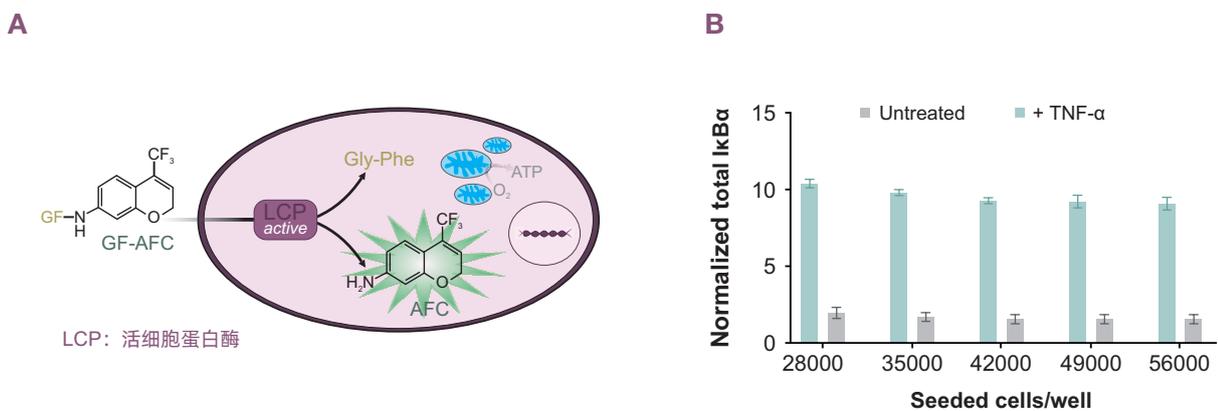
Lumit<sup>®</sup> Immunoassay Cellular Systems 使用间接 Lumit<sup>®</sup> 检测模式，其将两种一抗与预先标记 LgBiT 或 SmBiT 亚基的两种匹配二抗进行混合。目前为止，经多项研究证实，这种检测模式可用于细胞裂解物中的细胞信号传导分析，特别是因磷酸化介导的信号传导。实验工作流程第 (1) 步为对细胞进行相应处理从而激活目标信号通路。此时，如果需要使用活细胞数量对结果进行归一化处理，则可应用提供的细胞活性荧光底物。(2) 加入解缓冲液，从而在孔内裂解细胞。(3) 加入抗体混合物（一抗和 Lumit<sup>®</sup> 二抗）和 (4) 在室温条件下孵育 60 至 90 分钟后，再加入 Lumit<sup>®</sup> 检测试剂来测定检测系统中的发光信号。

## 代表数据



### NF $\kappa$ B 信号通路内磷酸化和总蛋白的检测

以 50000 个 / 孔接种 MCF-7 细胞，然后用 TNF- $\alpha$  (20ng/ml) 处理 30 分钟从而诱导 NF $\kappa$ B 通路。IKK 复合物特异性抑制剂 IKK16 (10 $\mu$ M, 1 小时) 对特异性对照孔中的细胞进行预处理。随后，使用两组一抗在单独的孔中测定 (A) 磷酸化 IkB $\alpha$  (S32) 或 (B) 总 IkB $\alpha$  水平。



### 发光信号数据归一化到每孔活细胞数量

使用 50ng/ml TNF- $\alpha$  对不同数量的细胞处理 30 分钟。(A) 裂解前 30 分钟，向所有细胞中加入细胞活性荧光底物 GF-AFC。本检测系统的检测原理基于活细胞内的活细胞蛋白酶对 GF-AFC 的蛋白水解作用，从而形成荧光产物。细胞裂解后，加入抗体混合物从而对总 IkB $\alpha$  进行检测。(B) 实验结束时读取发光信号和荧光信号。将 Lumit<sup>®</sup> 免疫检测数据归一化到细胞活性可很容易消除细胞数量的孔间差异造成的影响。

# 3. 预验证的 Lumit<sup>®</sup> Immunoassays

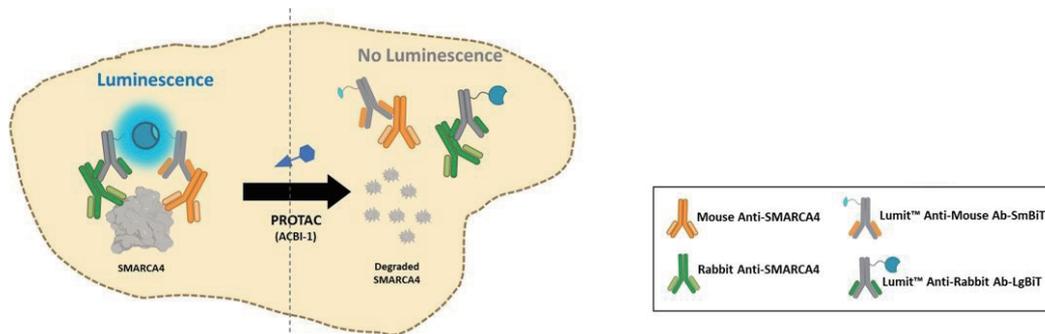
## 3.1 Lumit<sup>®</sup> Immunoassay Cellular Systems (续)

### 靶蛋白降解应用

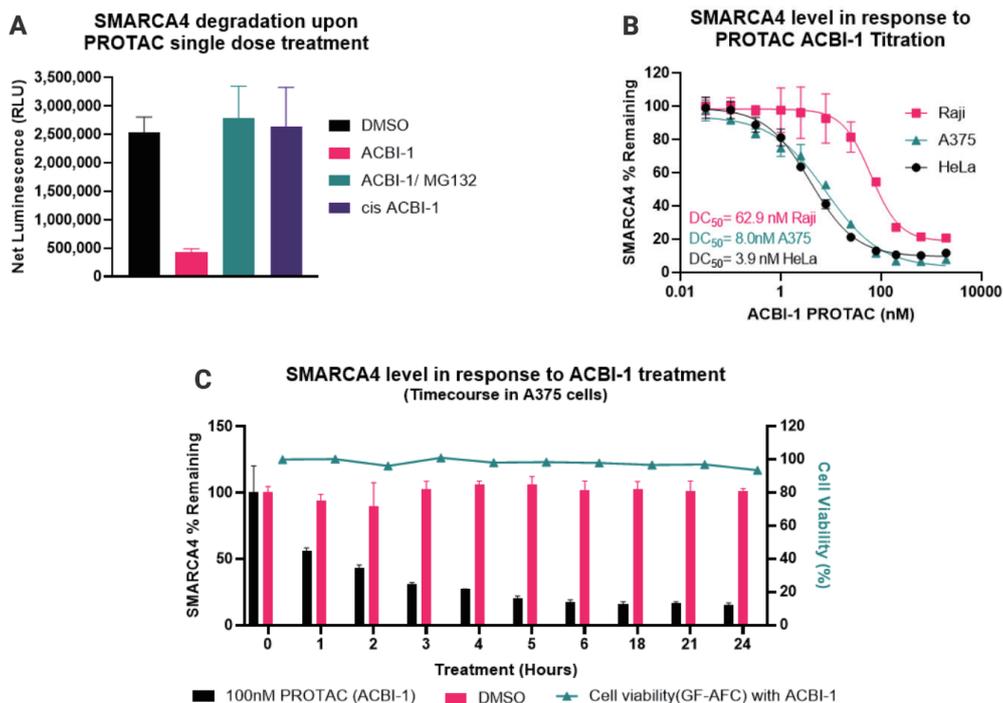
Lumit<sup>®</sup> Immunoassay Cellular System 除了可用于细胞激酶信号通路分析，还可用来监测目标蛋白在天然非修饰的细胞中的降解情况。

### 应用数据一

Lumit<sup>®</sup> Immunoassay Cellular System 用于监测 SMARCA4 的降解。



上图：裂解细胞中的 SMARCA4 被 anti-SMARCA4 一抗识别。然后，Lumit<sup>®</sup> 二抗识别它们的同源一抗，从而使 NanoBiT<sup>®</sup> 亚基紧密结合，形成功能性萤光素酶，可产生明亮发光信号。

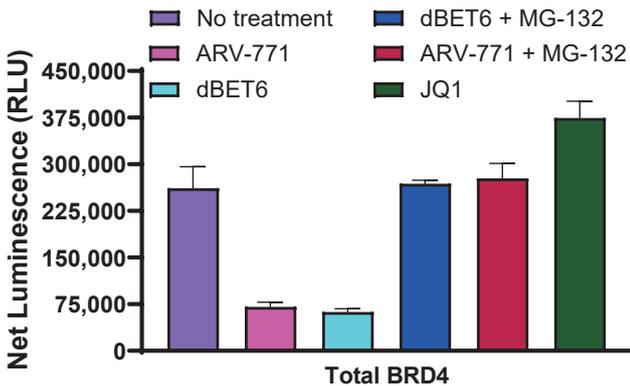


上图：PROTAC 处理后天然的 SMARCA4 的降解。每孔接种 50,000 个细胞。用指定化合物处理后，使用 Lumit<sup>®</sup> Immunoassay Cellular System (set 2) 检测 SMARCA4 的水平。图 A. 用 250nM ACBI-1、250nM ACBI-1 + 20μM MG132、250nM Cis-ACBI-1 或 DMSO 处理 5 小时后的 SMARCA4 水平。图 B. ACBI-1 在三种不同细胞系中对 SMARCA4 降解的分析。图 C. ACBI-1 降解 SMARCA4 的时间过程。

## 应用数据二

Lumit® Immunoassay Cellular System 用于监测 BRD4 的降解。

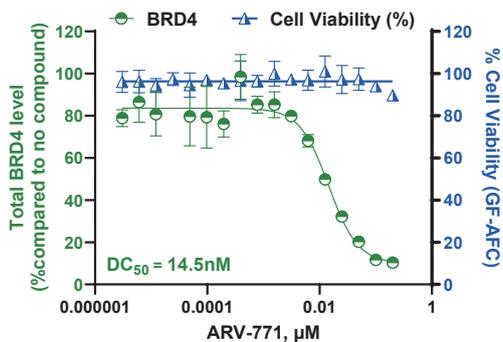
使用小分子降解剂 PROTACS ARV-771 或 dBET6 处理细胞后，BRD4 会被降解。细胞裂解后，可将 Lumit® Immunoassay Cellular System-Set1 中的试剂与下方列表中列出的抗 BRD4 抗体联合使用来检测总 BRD4 蛋白。



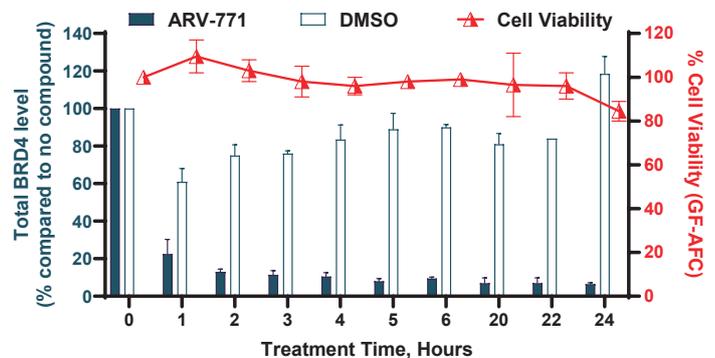
使用 Lumit® Immunoassay Cellular System – Set 1 检测总 BRD4 蛋白。将 50,000 个接种的 HEK293 细胞培养过夜，然后用 ARV-771 (2 $\mu$ M)、dBET6 (1 $\mu$ M)、2 $\mu$ M ARV-771+15 $\mu$ M MG132、2 $\mu$ M dBET6 + 15 $\mu$ M MG132、JQ1 (1 $\mu$ M) 或培养基对照处理 12 小时。使用 Digitonin (洋地黄皂苷) 裂解细胞。使用表 1 中列出的一抗的实验条件，并按照 Promega 技术手册 TM613 测定 BRD4 蛋白的水平。

抗体	靶点	供应商	目录号	工作储备液 ( $\mu$ g/mL)
BRD4 mAb (小鼠)	全部	Cell Signaling Technology	63759	50
BRD4 mAb (兔)	全部	Fortis Life Sciences (Bethyl Labs)	A700-004CF	50

### A ARV-771 PROTAC 降解 BRD4



### B ARV-771 降解 BRD4 的时间进程



上图：靶向蛋白降解 BRD4。图 A. 50,000 个 HEK293 细胞用不同浓度的 ARV-771 PROTAC 处理 12 小时。通过 Lumit® Immunoassay Cellular System-Set1 测定 BRD4 水平，以确定 ARV-771 的 DC50。图 B. 50,000 个 HEK293 细胞用 ARV-771 (终浓度为 2 $\mu$ M) 或 DMSO 对照在指定时间点处理。使用 Digitonin 裂解细胞。通过 Lumit® Immunoassay Cellular System-Set1 测定 BRD4 水平，并通过在裂解前 30 分钟添加 GF-AFC 荧光化合物来确定细胞活性。

# 3. 预验证的 Lumit<sup>®</sup> Immunoassays

## 3.1 Lumit<sup>®</sup> Immunoassay Cellular Systems (续)

### 预验证靶标

提供了预验证靶标的应用说明列表，以节省检测时间和人力。应用说明包含靶标特异性操作步骤、代表性数据以及使用的市售抗体信息。

### 细胞信号通路分析系列

Human Cellular Target	Signaling Pathway	Lumit <sup>®</sup> Immunoassay Cellular System (Cat.#)	Application Note
Phospho-4E-BP1 (Ser 65)	mTor	Set 2 (W1331)	<a href="#">点击下载</a>
<b>NEW</b> AKT	PI3K/mTOR/AKT	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>
Phospho-AKT (Ser 473)	PI3K/mTOR/AKT	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a> *
BCL6	B-cell signaling	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>
β-catenin (Human)	WNT	Set 2 (W1331)	<a href="#">点击下载</a>
Phospho-β-catenin (Thr 41/Ser 45)	WNT	Set 2 (W1331)	<a href="#">点击下载</a>
<b>NEW</b> Burton's Tyrosine Kinase (BTK)	B-cell Receptor (BCR)	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>
Phospho-BTK (Tyr 223)	B-cell Receptor (BCR)	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>
<b>NEW</b> Phospho-CHK1 (Ser 317)	DDR Pathway	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>
Phospho-c-Jun (Ser 63)	JNK	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>
<b>NEW</b> Phospho-c-MET (Tyr 1234/1235)	c-MET	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>
<b>NEW</b> Phospho-c-MET (Tyr 1349)	c-MET	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>
CREB	PKA/CREB	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>
Phospho-CREB (Ser 133)	PKA/CREB	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>
<b>NEW</b> Phospho-EGFR (Tyr 1068)	EGFR	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>
<b>NEW</b> Phospho-EGFR (Tyr 1173)	EGFR	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>
ER (Estrogen Receptor)	Estrogen	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>
Phospho-ERK1 (Thr 202)	ERK	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a> *
<b>NEW</b> Phospho-GSK1-3β (Ser 9)	GSK-3β	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>
<b>NEW</b> Phospho-H2AX	DDR Pathway	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>
<b>NEW</b> Phospho-HER2 (Tyr 1196)	HER2	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>
<b>NEW</b> Phospho-HER2 (Tyr 1221/1222)	HER2	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>
IκBα	NF-κB	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>
Phospho-IκBα (Ser 32)	NF-κB	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>
Phospho-JNK (Thr 183/Tyr 185)	JNK	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a> *
p65	NF-κB	Set 2 (W1331)	<a href="#">点击下载</a> *
Phospho-p65 (Ser 536)	NF-κB	Set 2 (W1331)	<a href="#">点击下载</a> *
Rb (Retinoblastoma Tumor Suppressor)	Cell Cycle	Set 2 (W1331)	<a href="#">点击下载</a>
Phospho-Rb (Retinoblastoma Tumor Suppressor) (Ser 780)	Cell Cycle	Set 2 (W1331)	<a href="#">点击下载</a>
Phospho-Rb (Retinoblastoma Tumor Suppressor) (Ser 807/811)	Cell Cycle	Set 2 (W1331)	<a href="#">点击下载</a>

Human Cellular Target	Signaling Pathway	Lumit <sup>®</sup> Immunoassay Cellular System (Cat.#)	Application Note
<b>NEW</b> Ribosomal Protein S6	PI3K/mTOR/AKT	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>
<b>NEW</b> Phospho-Ribosomal Protein S6 (Ser 240/244)	PI3K/mTOR/AKT	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>
Smad1	BMP	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>
Phospho-Smad1 (Ser 463/465)	BMP	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>
Smad2	TGF-β	Set 2 (W1331)	<a href="#">点击下载</a>
Phospho-Smad2 (Ser 465/467)	TGF-β	Set 2 (W1331)	<a href="#">点击下载</a>
STAT1	JAK/STAT	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>
Phospho-STAT1 (Tyr 701)	JAK/STAT	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>
Phospho-STAT1 (Ser 727)	JAK/STAT	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>
Phospho-STAT2 (Tyr 690)	JAK/STAT	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>
<b>NEW</b> STAT 3	JAK/STAT	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>
Phospho-STAT 3 (Tyr 705)	JAK/STAT	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>

\* 使用 Lumit<sup>®</sup> Lysis Buffer II 的新的裂解操作指导

### 靶蛋白降解系列

Human Cellular Target	Signaling Pathway	Lumit <sup>®</sup> Immunoassay Cellular System (Cat.#)	Application Note
<b>NEW</b> AKT	PROTAC MS-21	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>
B-cell lymphoma 6 protein (BCL-6)	BI-3802	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>
<b>NEW</b> BRD4	PROTACs ARV-771, dBET6	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>
<b>NEW</b> Burton's Tyrosine Kinase (BTK)	PROTAC MT-802	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>
ER (Estrogen Receptor)	Fulvestrant	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>
<b>NEW</b> SMARCA2 (BRM)	PROTAC ACBI-1	See Application Note for details	<a href="#">点击下载</a>
<b>NEW</b> SMARCA4 (BRG1)	PROTAC ACBI-1	Set 2 (W1331)	<a href="#">点击下载</a>
<b>NEW</b> STAT3	PROTAC SD-36	Set 1 (W1201)	<a href="#">点击下载</a>

请访问 Promega 微网站查看以上列出的靶点对应的中文应用说明。

[wechat.promega.com.cn](http://wechat.promega.com.cn)

请访问 Promega 官方网站浏览最新的应用说明。

[www.promega.com/LumitCellularSystems](http://www.promega.com/LumitCellularSystems)

### Product Box

Lumit<sup>®</sup> Immunoassay Cellular System – Starter Kit  
Cat.# W1220

Lumit<sup>®</sup> Immunoassay Cellular System – Set 1  
Cat.# W1201, W1202, W1203

Lumit<sup>®</sup> Immunoassay Cellular System – Set 2  
Cat.# W1331, W1332, W1333

### Includes:

Lumit<sup>®</sup> Secondary Antibodies of Set 1 and Set 2

Lumit<sup>®</sup> Anti-Mouse Ab-LgBiT  
Lumit<sup>®</sup> Anti-Rabbit Ab-SmBiT

Lumit<sup>®</sup> Anti-Mouse Ab-SmBiT  
Lumit<sup>®</sup> Anti-Rabbit Ab-LgBiT



# GLOMAX<sup>®</sup> DETECTION SYSTEMS

## 多功能、可靠、直观实验室检测系统助力研究

GloMax<sup>®</sup> Discover 是一种先进高性能多模式微孔板检测仪，其可与 Promega 检测试剂盒完美搭配，实现对发光信号、荧光、紫外-可见光吸收、生物发光共振能量转移（BRET）和荧光共振能量转移（FRET）、双色过滤发光的检测，同时其还具有动力学测定功能。GloMax<sup>®</sup> Discover 可作为独立微孔板检测仪使用，也可集成至高通量自动化平台进行使用。该仪器使用集成数据分析软件，结果数据清晰、直观。

### 一台仪器 多种功能

- 报告基因检测
- 细胞活性、细胞毒性和细胞凋亡检测
- 动力学测定
- 多重检测
- 氧化应激与细胞代谢
- ELISA 法检测
- BRET/FRET 分析
- Lumit<sup>®</sup> Immunoassays

## GloMax SYSTEMS

一种高性能、便捷多模式微孔板检测仪，  
可实现对发光信号、荧光信号、吸光度、  
BRET 和 FRET 等的检测。



如需获取更多信息，请访问 [www.promega.com/glomax-comparison](http://www.promega.com/glomax-comparison)

# 4. 建立您自己的 Lumit<sup>®</sup> Immunoassays

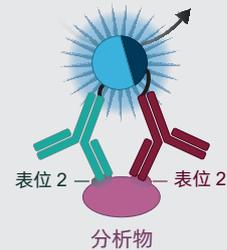
## 4.1 Lumit<sup>®</sup> Immunoassay Toolbox

将在第 4 章中对 Lumit<sup>®</sup> 工具箱在构建符合您需求的检测系统过程中的用途进行说明！

### 抗体 / 蛋白标记试剂盒

使用 Lumit<sup>®</sup> Immunoassay Labeling Kit 快速、便捷地标记抗体 / 蛋白，构建符合您特定需求的 Lumit<sup>®</sup> 检测系统。

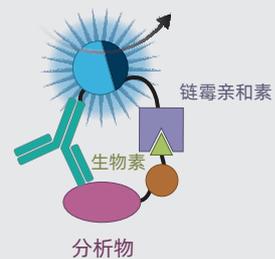
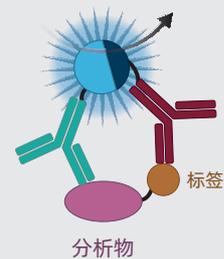
参见第 25 页



### 预标记抗标签抗体 / 链霉亲和素

使用 Lumit<sup>®</sup> 抗标签抗体（用于 His-、GST-、FLAG<sup>®</sup>- 和人 Fc 标记蛋白）和 Lumit<sup>®</sup> 链霉亲和素（用于生物素标记蛋白或小分子）构建符合您要求的蛋白：蛋白或蛋白：小分子相互作用检测系统。

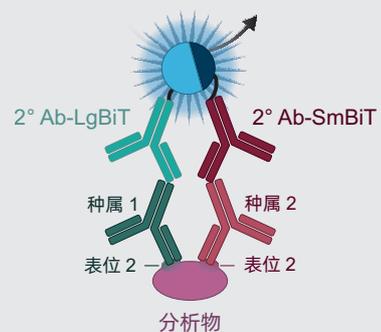
参见第 26 页



### 预先标记的二抗

使用预先标记的小鼠、兔和山羊 IgG 二抗，构建间接 Lumit<sup>®</sup> 免疫检测系统。

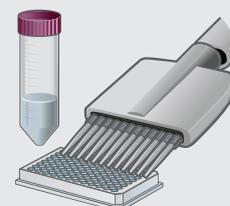
参见第 28 页



### 检测试剂

选择针对不同应用优化的检测试剂，例如生化检测系统或基于细胞的检测系统。

参见第 29 页



# 4. 建立您自己的 Lumit<sup>®</sup> Immunoassays

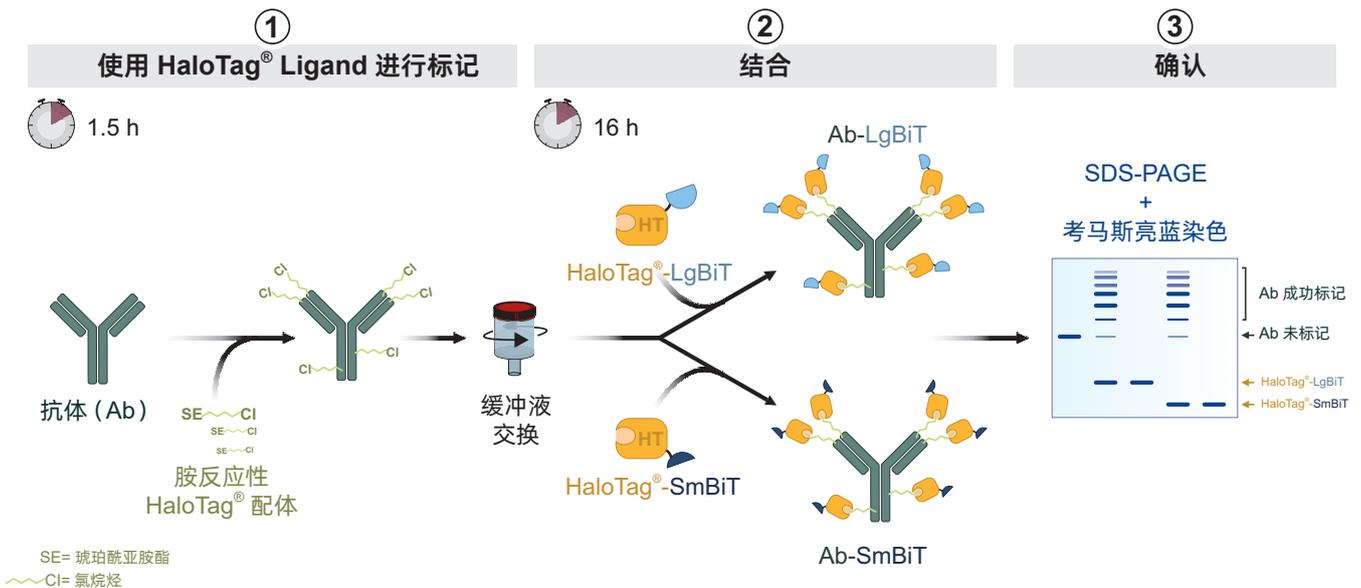
## 4.2 Lumit<sup>®</sup> Immunoassay Labeling Kit

### 描述和应用

该标记试剂盒旨在将抗体 / 蛋白与 SmBiT 和 LgBiT 偶联，从而在构建符合您要求的 Lumit<sup>®</sup> 免疫检测系统时提供支持。

### 原理和工作流程

化学标记反应基于 HaloTag<sup>®</sup> 技术。HaloTag<sup>®</sup> 是一种在生理条件下共价结合氯烷烃配体 (HaloTag<sup>®</sup> 配体) 的蛋白，其可用于包括抗体标记在内的多种应用。抗体标记过程分为两个步骤，胺反应性 HaloTag<sup>®</sup> Succinimidyl Ester (O4) 配体与抗体 / 蛋白上赖氨酸的伯胺发生反应 (1)。对于该反应，抗体应制成不含蛋白防腐剂的无胺缓冲液。然后，将用 HaloTag<sup>®</sup> 配体标记的抗体与 HaloTag<sup>®</sup>-LgBiT 或 HaloTag<sup>®</sup>-SmBiT 融合蛋白共同进行孵育，从而形成抗体-HaloTag<sup>®</sup>-LgBiT 或抗体-HaloTag<sup>®</sup>-SmBiT 共价复合物 (2)。可采用 SDS-PAGE 和考马斯亮蓝染色来确认标记反应是否成功 (3)。技术说明书 TM602 中提供了标记操作步骤指南相关信息。



### Product Box

Lumit<sup>®</sup> Immunoassay Labeling Kit  
Cat.# VB2500



### 参考文献

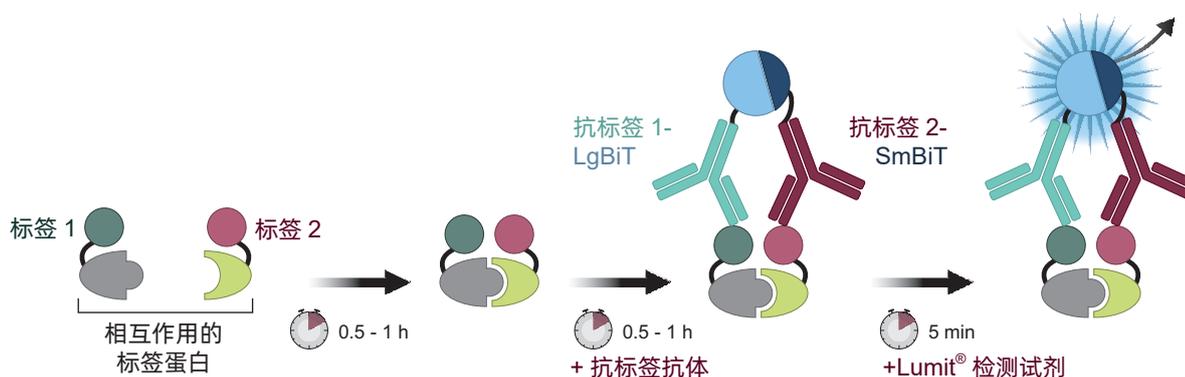
Alsulami, T. et al. (2021). Development of a novel homogeneous immunoassay using the engineered luminescent enzyme NanoLuc for the quantification of the mycotoxin fumonisin B1. *Biosens Bioelectron.* 177, 112939

## 4.3 Lumit<sup>®</sup> Anti-Tag Antibodies / Streptavidin

### 描述和应用

抗标签 Lumit<sup>®</sup> 试剂包括一系列针对常见蛋白标签（例如，His-、Flag<sup>®</sup>-、GST-tag 和人 Fc）的 BiT 标记抗体以及 BiT 标记的链霉亲和素。使用这些试剂能够轻松实现对生化检测系统的设置，从而对蛋白：蛋白相互作用（PPI）进行研究，并筛选调控这些相互作用的分子。此外，可通过便捷、竞争性和 HTS 兼容的检测模式对蛋白：小分子相互作用进行研究分析。

### PPI 分析原理



### 原理和工作流程

在对蛋白相互作用进行研究时，需对两个使用不同标记的蛋白进行孵育。也可选择加入调控目标 PPI 的化合物。随后，加入 BiT 标记的 Lumit<sup>®</sup> 抗标签抗体。加入 Lumit<sup>®</sup> 检测试剂后，在发光检测仪上记录产生的发光信号。当使用 AviTag<sup>™</sup> 标记蛋白或生物素化蛋白时，可使用一种 BiT 标记的 Lumit<sup>®</sup> 抗标签抗体替代链霉亲和素 -LgBiT/-SmBiT。

在研究蛋白质：小分子相互作用时，需要使用生物素化小分子（示踪剂）和标记蛋白。用 BiT 标记的抗标签抗体和链霉亲和素 -LgBiT/-SmBiT 检测示踪剂和靶标之间的相互作用。由竞争性示踪剂置换导致的发光信号降低可确定未标记测试化合物的靶标结合情况。



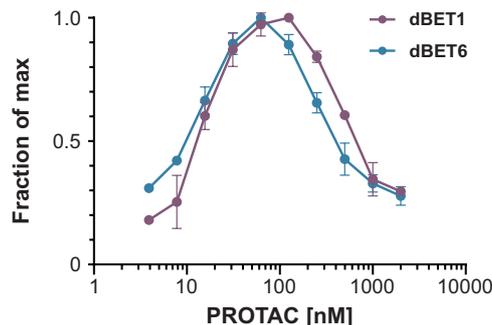
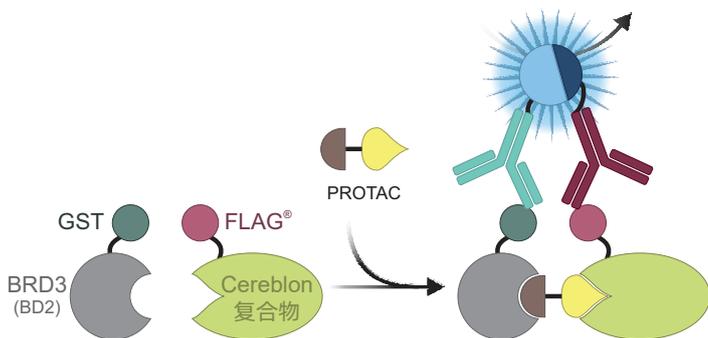
### 寻找标记激酶的来源以定量测定体外测试化合物的亲和力？

Promega 可提供 370 多种不同的标记和纯化激酶，作为 Kinase Enzyme Systems 的一部分进行提供，该系统为即用型检测系统，可用于测定体外激酶活性。

[www.promega.com/kinases](http://www.promega.com/kinases)

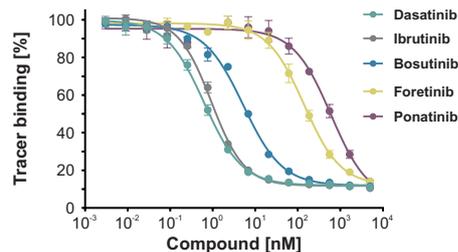
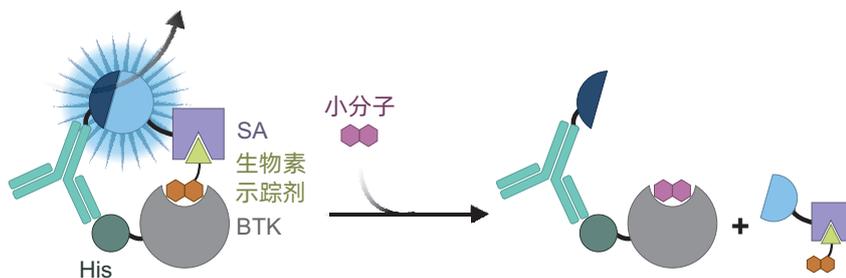
# 4. 建立您自己的 Lumit<sup>®</sup> Immunoassays

## 代表数据



### 监测 PROTAC 诱导的蛋白相互作用

在 Lumit<sup>®</sup> 免疫检测系统中评价了 PROTAC dBET1 和 dBET6 诱导 Cereblon E3 连接酶和 BRD3 (BD2) 之间形成三元复合物的能力。将分别用 GST-和 FLAG<sup>®</sup>- 标记的重组 BRD3 (BD2) (6.25nM) 和 Cereblon (6.25nM) 与不同浓度的 PROTAC 孵育 60 分钟。孵育结束后, 使用 Lumit<sup>®</sup> Anti-GST-LgBiT、Lumit<sup>®</sup> Anti-FLAG<sup>®</sup>-SmBiT 和 Lumit<sup>®</sup> Immunoassay Detection Reagent A 进行了检测。



### 蛋白质: 小分子相互作用的检测和表征

使用竞争性 Lumit<sup>®</sup> 免疫检测系统测定了不同激酶抑制剂对 Bruton 酪氨酸激酶 (BTK) 的相对结合亲和力。将使用 His 标记的重组 BTK (5nM) 与不同浓度 (0.003~5000μM) 的生物素化伊布替尼 (示踪剂; 37.5nM) 和激酶抑制剂一起孵育 60 分钟, 同时轻轻搅拌。用链霉亲和素 -LgBiT 和 Lumit<sup>®</sup> Anti-6His-SmBiT 的混合物孵育样本 30 分钟。加入 Lumit<sup>®</sup> Immunoassay Detection Reagent A 后, 可检测平衡状态下与示踪剂结合的 BTK 部分。

### Product Box

- Lumit<sup>®</sup> Anti-6His-LgBiT and -SmBiT
- Lumit<sup>®</sup> Anti-GST-LgBiT and -SmBiT
- Lumit<sup>®</sup> Anti-Flag<sup>®</sup>-LgBiT and -SmBiT

以上产品详情请咨询 Promega。

- Lumit<sup>®</sup> Anti-Human IgG-LgBiT and -SmBiT
- Lumit<sup>®</sup> Streptavidin-LgBiT and -SmBiT

Combine with Lumit<sup>®</sup> Detection Reagent A



## 4.4 Lumit® 二抗

### 描述和应用

Lumit® 二抗是抗 IgG 的多克隆 BiT 标记抗体，可用于间接免疫检测模式，从而对分析物进行检测。多克隆二抗产生于驴体内，使用固定抗原对其进行免疫亲和纯化，然后将其与 SmBiT 或 LgBiT 偶联。相关研究证实了其对 IgG 重链和轻链（小鼠、兔和山羊）的种属特异性反应性。

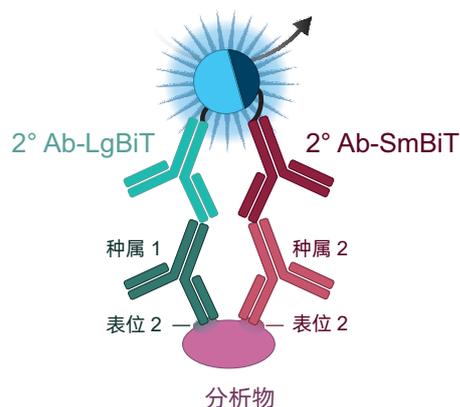
### 原理和工作流程

技术说明书 TM613 中提供了针对新靶标检测建立间接 Lumit® 免疫检测系统的指南信息。简而言之，用户需要提供两种在不同种属中产生的分析物特异性一抗（例如小鼠来源的抗分析物一抗和兔来源的抗分析物一抗）。然后将其与匹配的 Lumit® 二抗结合，例如，Lumit® Anti-Mouse Ab-LgBiT 和 Lumit® Anti-Rabbit Ab-SmBiT，从而产生抗体混合物。在初始时，建议对 2~3 个一抗对进行检测。然后通过棋盘实验确定检测过程中使用的最佳抗体组合和浓度。

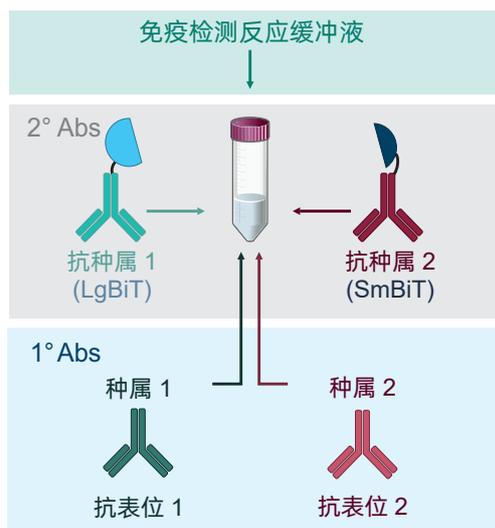
#### Lumit® Immunoassay Detection Reagent A

Cat.# VB2010, VB2020, VB2030

### 间接检测模式



### 抗体混合物的制备



### Product Box

#### Lumit® Anti-Mouse Ab-LgBiT

Cat.# W1021, W1022

#### Lumit® Anti-Rabbit Ab-LgBiT

Cat.# W1041, W1042

#### Lumit® Anti-Goat Ab-LgBiT

Cat.# W1061, W1062

#### Lumit® Anti-Mouse Ab-SmBiT

Cat.# W1051, W1052

#### Lumit® Anti-Rabbit Ab-SmBiT

Cat.# W1031, W1032

#### Lumit® Anti-Goat Ab-SmBiT

Cat.# W1071, W1072



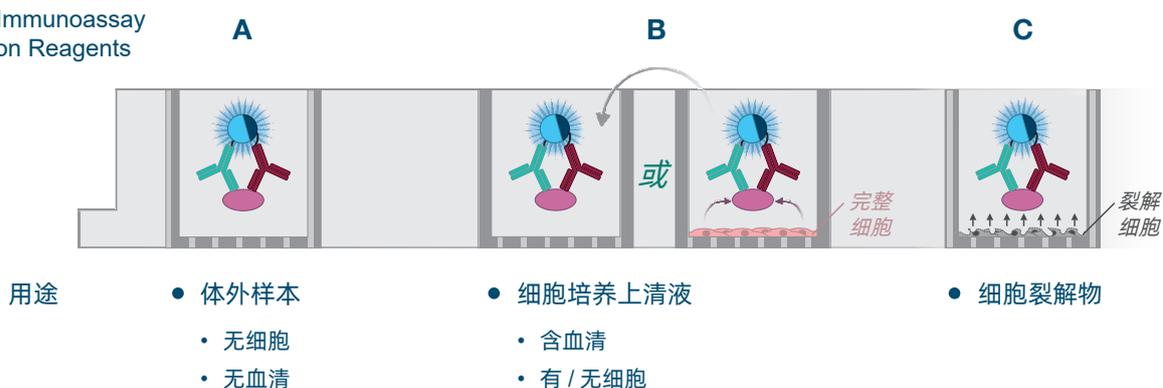
# 4. 建立您自己的 Lumit<sup>®</sup> Immunoassays

## 4.5 Lumit<sup>®</sup> Immunoassay Detection Reagents

### 描述和应用

Lumit<sup>®</sup> Immunoassay Detection Reagents 可用于创建符合您要求的 Lumit<sup>®</sup> 免疫检测系统。Promega 提供三种不同类型的试剂 (A、B、C)，其能够在不同条件下对分析物进行检测。检测试剂 A 用于在不含细胞和血清的情况下进行检测，而检测试剂 B 则用于含 FBS (高达 10%) 的细胞培养上清液和 / 或存在完整细胞的情况下进行检测。在对裂解细胞中蛋白质进行定量测定时，建议使用 Lumit<sup>®</sup> Immunoassay Lysis and Detection Kit 中提供的检测试剂 C。

Lumit<sup>®</sup> Immunoassay  
Detection Reagents



### 原理和工作流程

技术说明书 TM613、TM602 和 TM614 中提供了建立 Lumit<sup>®</sup> 免疫检测系统的指南说明。这些技术说明书中提供了有关检测系统设置和优化 Lumit<sup>®</sup> 免疫检测系统的详细描述，包括避免发生基质效应的相关提示信息和解决办法以及进行棋盘实验的建议。

#### Product Box

##### Lumit<sup>®</sup> Immunoassay Detection Reagent A

Cat.# VB2010, VB2020, VB2030

##### Lumit<sup>®</sup> Immunoassay Detection Reagent B

Cat.# VB4050, VB4060

##### Lumit<sup>®</sup> Immunoassay Lysis and Detection Kit

Cat.# W1231, W1232, W1233

→ Contains Lumit<sup>®</sup> Detection Reagent C



## 5. 订购信息

### 预构建的 Lumit<sup>®</sup> Immunoassays

#### 免疫学

#### Cytokines / HMGB1

产品	目录号	规格
Lumit <sup>®</sup> IL-1 $\beta$ Human Immunoassay	W6010 / W6012 / W6011	100 assays / 500 assays / 1000 assays
Lumit <sup>®</sup> IL-1 $\beta$ Mouse Immunoassay	W7010 / W7012 / W7011	100 assays / 500 assays / 1000 assays
Lumit <sup>®</sup> IFN- $\gamma$ Human Immunoassay	W6040 / W6042 / W6041	100 assays / 500 assays / 1000 assays
Lumit <sup>®</sup> IL-6 Human Immunoassay	W6030 / W6032 / W6031	100 assays / 500 assays / 1000 assays
Lumit <sup>®</sup> IL-2 Human Immunoassay	W6020 / W6022 / W6021	100 assays / 500 assays / 1000 assays
Lumit <sup>®</sup> TNF- $\alpha$ Human Immunoassay	W6050 / W6052 / W6051	100 assays / 500 assays / 1000 assays
Lumit <sup>®</sup> IL-4 Human Immunoassay	W6060 / W6062 / W6061	100 assays / 500 assays / 1000 assays
Lumit <sup>®</sup> IL-10 Human Immunoassay	W6070 / W6072 / W6071	100 assays / 500 assays / 1000 assays
Lumit <sup>®</sup> HMGB1 Human/Mouse Immunoassay	W6110 / W6112	100 assays / 500 assays
Lumit <sup>®</sup> IFN- $\beta$ (Human) Immunoassay		Please Enquire
Lumit <sup>®</sup> IL-12 (Human) Immunoassay		Please Enquire
Lumit <sup>®</sup> IL-17A (Human) Immunoassay		Please Enquire
Lumit <sup>®</sup> IL-8 (Human) Immunoassay		Please Enquire
Lumit <sup>®</sup> Active IL-18 (Human) Immunoassay		Please Enquire

#### 代谢

产品	目录号	规格
Lumit <sup>®</sup> Insulin Immunoassay Kit	Please Enquire	100* – 400** assays
	Please Enquire	500* – 2000** assays
Lumit <sup>®</sup> Glucagon Immunoassay Kit	W8020	100* – 400** assays
	W8022	500* – 2000** assays

\* 96-well; \*\* 384-well

## 5. 订购信息

### 生物治疗研发

产品	目录号	规格
Lumit <sup>®</sup> FcRn Binding Immunoassay	W1151 / W1152	100 assays / 1000 assays
Lumit <sup>®</sup> FcγRI Binding Immunoassay	Please Enquire	100 assays
Lumit <sup>®</sup> FcγRIIA (H131) Binding Immunoassay	Please Enquire	100 assays
Lumit <sup>®</sup> FcγRIIA (R131) Binding Immunoassay	Please Enquire	100 assays
Lumit <sup>®</sup> FcγRIIIA (V158) Binding Immunoassay	Please Enquire	100 assays
Lumit <sup>®</sup> FcγRIIIA (F158) Binding Immunoassay	Please Enquire	100 assays

### 病毒学

产品	目录号	规格
Lumit <sup>®</sup> SARS-CoV 2 Spike RBD:hACE2 Immunoassay	Please Enquire	200 assays 2000 assays
SARS-CoV-2 Spike RBD N501Y (rabbit Fc)	Please Enquire	40 µl, 0.5 µM 400 µl, 0.5 µM
SARS-CoV-2 Spike RBD K417N, E484K, N501Y (rabbit Fc)	Please Enquire	40 µl, 0.5 µM 400 µl, 0.5 µM
SARS-CoV-2 Spike RBD K417T, E484K, N501Y (rabbit Fc)	Please Enquire	40 µl, 0.5 µM 400 µl, 0.5 µM

## 预验证的 Lumit<sup>®</sup> Immunoassays

### Cellular Systems

产品	目录号	规格
Lumit <sup>®</sup> Immunoassay Cellular System – Starter Kit (包含 Lumit <sup>®</sup> Anti-Rabbit Ab-LgBiT、Lumit <sup>®</sup> Anti-Mouse Ab-SmBiT、 Lumit <sup>®</sup> Anti-Mouse Ab-LgBiT 和 Lumit <sup>®</sup> Anti-Rabbit Ab-SmBiT)	W1220	200 assays
Lumit <sup>®</sup> Immunoassay Cellular System – Set 1 (包含 Lumit <sup>®</sup> Anti-Mouse Ab-LgBiT 和 Lumit <sup>®</sup> Anti-Rabbit Ab-SmBiT)	W1201 / W1202 / W1203	100 assays / 1000 assays / 10000 assays
Lumit <sup>®</sup> Immunoassay Cellular System – Set 2 (包含 Lumit <sup>®</sup> Anti-Mouse Ab-SmBiT 和 Lumit <sup>®</sup> Anti-Rabbit Ab-LgBiT)	W1331 / W1332 / W1333	100 assays / 1000 assays / 10000 assays

注：预验证的靶标列表详见第 24 页。

## 建立您自己的 Lumit® Immunoassays

### 标记与检测

产品	目录号	规格
Lumit® Immunoassay Labeling System	VB2500	1 kit
Lumit® Immunoassay Cellular System – Set 1 (包含 Lumit® Anti-Mouse Ab-LgBiT 和 Lumit® Anti-Rabbit Ab-SmBiT)	W1201	100 assays
	W1202	1000 assays
	W1203	10000 assays
Lumit® Immunoassay Cellular System – Set 2 (包含 Lumit® Anti-Mouse Ab-SmBiT 和 Lumit® Anti-Rabbit Ab-LgBiT)	W1331	100 assays
	W1332	1000 assays
	W1333	10000 assays
Lumit® Anti-Mouse Ab-LgBiT	W1021	30 µl
	W1022	300 µl
Lumit® Anti-Mouse Ab-SmBiT	W1051	30 µl
	W1052	300 µl
Lumit® Anti-Rabbit Ab-LgBiT	W1041	30 µl
	W1042	300 µl
Lumit® Anti-Rabbit Ab-SmBiT	W1031	30 µl
	W1032	300 µl
Lumit® Anti-Goat Ab-LgBiT	W1061	30 µl
	W1062	300 µl
Lumit® Anti-Goat Ab-SmBiT	W1071	30 µl
	W1072	300 µl
Lumit® Immunoassay Detection Reagent A	VB2010	500 assays
	VB2020	5000 assays
	VB2030	50000 assays
Lumit® Immunoassay Detection Reagent B	VB4050	100 Assays
	VB4060	1000 Assays
Lumit® Immunoassay Lysis and Detection Kit (包含 Detection Reagent C)	W1231	100 assays
	W1232	1000 assays
	W1233	10000 assays

# 5. 订购信息

## 标记与检测

产品	目录号	规格
Lumit <sup>®</sup> Anti-6His-LgBiT and -SmBiT <sup>1)</sup>	W1600	
• Lumit <sup>®</sup> Anti-6His-LgBiT	W1601	20 µl each
• Lumit <sup>®</sup> Anti-6His-SmBiT	W1611	
Lumit <sup>®</sup> Anti-GST-LgBiT and -SmBiT <sup>1)</sup>	W1620	
• Lumit <sup>®</sup> Anti-GST-LgBiT	W1621	20 µl each
• Lumit <sup>®</sup> Anti-GST-SmBiT	W1631	
Lumit <sup>®</sup> Anti-DYKDDDDK*-LgBiT and -SmBiT <sup>1)</sup>	W1640	
• Lumit <sup>®</sup> Anti-DYKDDDDK-LgBiT	W1641	20 µl each
• Lumit <sup>®</sup> Anti-DYKDDDDK-SmBiT	W1651	
Lumit <sup>®</sup> Streptavidin-LgBiT and -SmBiT <sup>1)2)</sup>	W1660	
• Lumit <sup>®</sup> Streptavidin-LgBiT	W1661	20 µl each
• Lumit <sup>®</sup> Streptavidin-SmBiT	W1671	
Lumit <sup>®</sup> Anti-Human IgG-LgBiT and -SmBiT <sup>1)</sup>		
• Lumit <sup>®</sup> Anti-Human IgG-LgBiT	Please Enquire	20 µl each
• Lumit <sup>®</sup> Anti-Human IgG-SmBiT		
Lumit <sup>®</sup> Anti-Mouse Ab-LgBiT and -SmBiT <sup>3)</sup>	refer to page 32	
Lumit <sup>®</sup> Anti-Rabbit Ab-LgBiT and -SmBiT <sup>3)</sup>	refer to page 32	
Lumit <sup>®</sup> Anti-Goat Ab-LgBiT and -SmBiT <sup>3)</sup>	refer to page 32	

\*Anti-DYKDDDDK 识别常用于标记蛋白质的 FLAG<sup>®</sup> 标签。

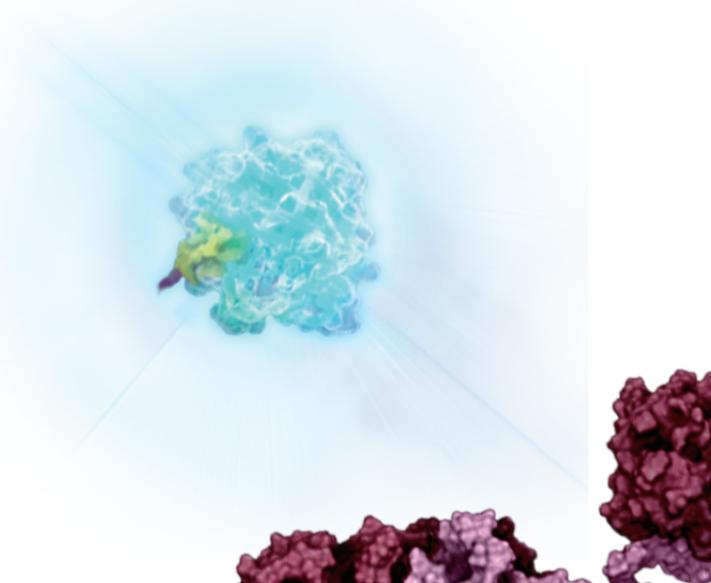
- 1) 根据需求可以提供单独的 Lumit Anti-Tag 抗体 / 链霉亲和素。请咨询 Promega。
- 2) 可以和 AviTag 标记的蛋白或生物素化的蛋白 / 小分子一起使用。
- 3) 不能和 Lumit anti-6His-BiT 系统一起使用。

如果没有另行说明，则给出的是用于 96 孔板的测定次数。

FLAG 是 Sigma-Aldrich Co.LLC 的商标。

AviTag 是 Avidity, LLC 的商标。

仅供科研使用。不可用于诊断流程。



## 6. 应用文献

### Build-Your-Own Lumit<sup>®</sup> Immunoassay

- Alsulami, T. *et al.* (2021). *Development of a novel homogeneous immunoassay using the engineered luminescent enzyme NanoLuc for the quantification of the mycotoxin fumonisin B1.* **Biosens Bioelectron.** **177:112939**

### Lumit<sup>®</sup> Immunoassay Cellular Systems

- Swiatnicki, M. *et al.* (2022) *Profiling oncogenic KRAS mutant drugs with a cell-based Lumit p-ERK immunoassay.* **SLAS Discov.** **S2472-5552(22)12517-7 IN PRESS**
- Waninger, JJ. *et al.* (2022). *Biochemical characterization of the interaction between KRAS and Argonaute 2.* **Biochem Biophys Rep.** **29:101191**
- Hwang, BB. *et al.* (2020). *A homogeneous bioluminescent immunoassay to probe cellular signaling pathway regulation.* **Commun Biol.** **3:8**

### Lumit<sup>®</sup> SARS-CoV-2 RBD:hACE2 Immunoassay

- Alves, J. *et al.* (2021). *A bioluminescent and homogeneous SARS-CoV-2 spike RBD and hACE2 interaction assay for antiviral screening and monitoring patient neutralizing antibody levels.* **Sci Rep.** **11(1):18428**

### Lumit<sup>®</sup> FcRn Binding Immunoassay

- Nath, N. *et al.* (2021). *Deciphering the interaction between neonatal Fc receptor and antibodies using a homogeneous bioluminescent immunoassay.* **J Immunol.** **207(4):1211–1221**
- Tian, Z. *et al.* (2021). *Harnessing the power of antibodies to fight bone metastasis.* **Sci Adv.** **7(26):eabf2051**

### Lumit<sup>®</sup> Glucagon Immunoassay

- Zhang, GF. *et al.* (2021). *Reductive TCA cycle metabolism fuels glutamine-and glucose-stimulated insulin secretion.* **Cell metab.** **33(4):804–817**
- El, K. *et al.* (2021). *GIP mediates the incretin effect and glucose tolerance by dual actions on  $\alpha$  cells and  $\beta$  cells.* **Sci Adv.** **7(11):eabf1948**

### Lumit<sup>®</sup> Insulin Immunoassay

- Tong, X. and Stein, R. (2021). *Lipid droplets protect human  $\beta$  cells from lipotoxic-induced stress and cell identity changes.* **Diabetes.** **70(11):2595–2607**

## 6. 应用文献

### Lumit<sup>®</sup> Cytokine Immunoassay

- Reed, K.J. and Landry, G.M. (2023) *Diglycolic acid inhibits succinate dehydrogenase activity, depletes mitochondrial membrane potential, and induces inflammation in an SH-SY5Y neuroblastoma model of neurotoxicity in vitro.* **Toxicol. Appl. Pharmacol. 463, 116414.**

#### 相关产品:

- Lumit<sup>®</sup> IL-1 $\beta$  Human/Mouse Immunoassay
  - Lumit<sup>®</sup> TNF- $\alpha$  (Human) Immunoassay
  - CellTiter-Glo<sup>®</sup> One Solution Assay
- 
- Convertini, P. et al. (2023) *ACLY as a modulator of liver cell functions and its role in Metabolic Dysfunction-Associated Steatohepatitis.* **J Transl Med. 21(1), 568.**

#### 相关产品:

- Lumit<sup>®</sup> IL-1 $\beta$  Human/Mouse Immunoassay
  - Lumit<sup>®</sup> IL-6 (Human) Immunoassay
  - Dual-Luciferase<sup>®</sup> Reporter Assay System
  - GloMax<sup>®</sup> Discover System
- 
- Zhang, Z. et al. (2023) *Structural basis for thioredoxin-mediated suppression of NLRP1 inflammasome.* **Nature. 622, 188-194.**

#### 相关产品:

- Lumit<sup>®</sup> IL-1 $\beta$  Human/Mouse Immunoassay
- CellTiter-Glo<sup>®</sup> 2.0 Cell Viability Assay

# 想研究体内蛋白动力学？

## NanoBiT<sup>®</sup> 蛋白：蛋白相互作用检测系统

### 生理表达水平

明亮的 NanoLuc<sup>®</sup> 允许建立低表达水平的弱启动子构建的 NanoBiT<sup>®</sup> 分析检测

### 高动力学系统

NanoBiT<sup>®</sup> 亚基的可逆性结合允许对实时监测蛋白的快速结合和分离进行研究

### 支持高通量

96-, 384-, 1536 孔板模式

### 在活细胞中进行实时检测

非裂解型检测试剂

### 小标签

将空间位阻的风险降到最低



扫码查看  
NanoBiT<sup>®</sup> 蛋白互补技  
术解决方案

# Lumit<sup>®</sup> Immunoassays



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](http://www.promega.com)

技术支持电话：400 810 8133

技术支持邮箱：[chinatechserv@promega.com](mailto:chinatechserv@promega.com)

更新时间：2024.08