



探索新世界的工具!

HiBiT 蛋白标签系统

表达分析 • 蛋白稳定性 • 蛋白降解 • 自噬 • 膜受体转运 • 病毒 & 细菌感染 • 靶细胞杀伤

Content 目 录

1. HiBiT 蛋白标签系统介绍 3

- 基本原理介绍 3
- HiBiT 标签蛋白的定量工作流程 4
- HiBiT 标签的特点及优势 6
- HiBiT 蛋白标签系统的应用总览 6

2. HiBiT 蛋白标签系统应用 7

- 监测细胞内蛋白的翻译后调控 7
- 监测病毒感染和病毒释放 8
- 检测自噬潮 9
- 监测细胞内蛋白降解 10
- 表面受体定量与内化 12
- 检测共培养中靶细胞的杀伤 14

3. Anti-HiBiT 单克隆抗体介绍 16

- 基本背景介绍 16
- Anti-HiBiT 单抗与其他表位标签相比的优势 16

4. Anti-HiBiT 单克隆抗体的应用 17

- 免疫荧光法进行亚细胞定位 17
- 荧光活化细胞分选 (FACS) 分析 17
- 免疫印迹检测 17
- 免疫沉淀分析 17

5. 产品订购信息 18

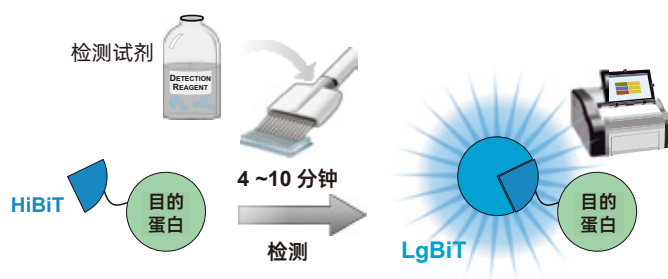
HiBiT 蛋白标签系统

将生物发光应用于蛋白分析

使用 HiBiT 蛋白标签系统，可开发出操作简便、灵敏度高的蛋白定量方法，来检测蛋白丰度或定位的变化。HiBiT 系统简化了活细胞中的蛋白标签，提供了一种精简、无抗体检测方案，仅需使用光度计进行信号定量。HiBiT 技术凭借其测定内源性表达水平灵敏度高和仅需加入单一试剂的便利，为蛋白生物学研究人员开辟了无限可能。

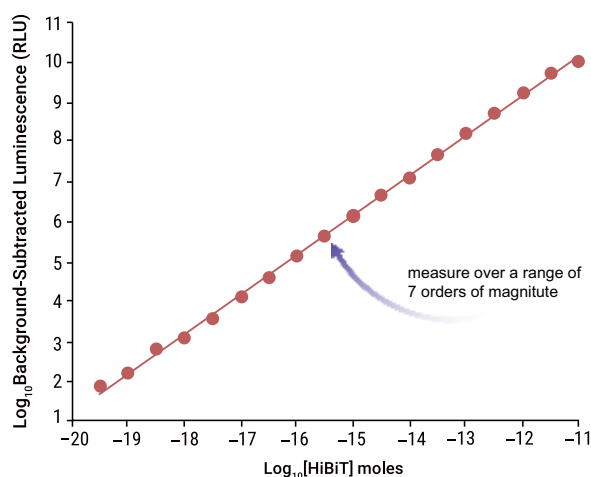
原理

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。



用于内源性生物学的高灵敏蛋白定量技术

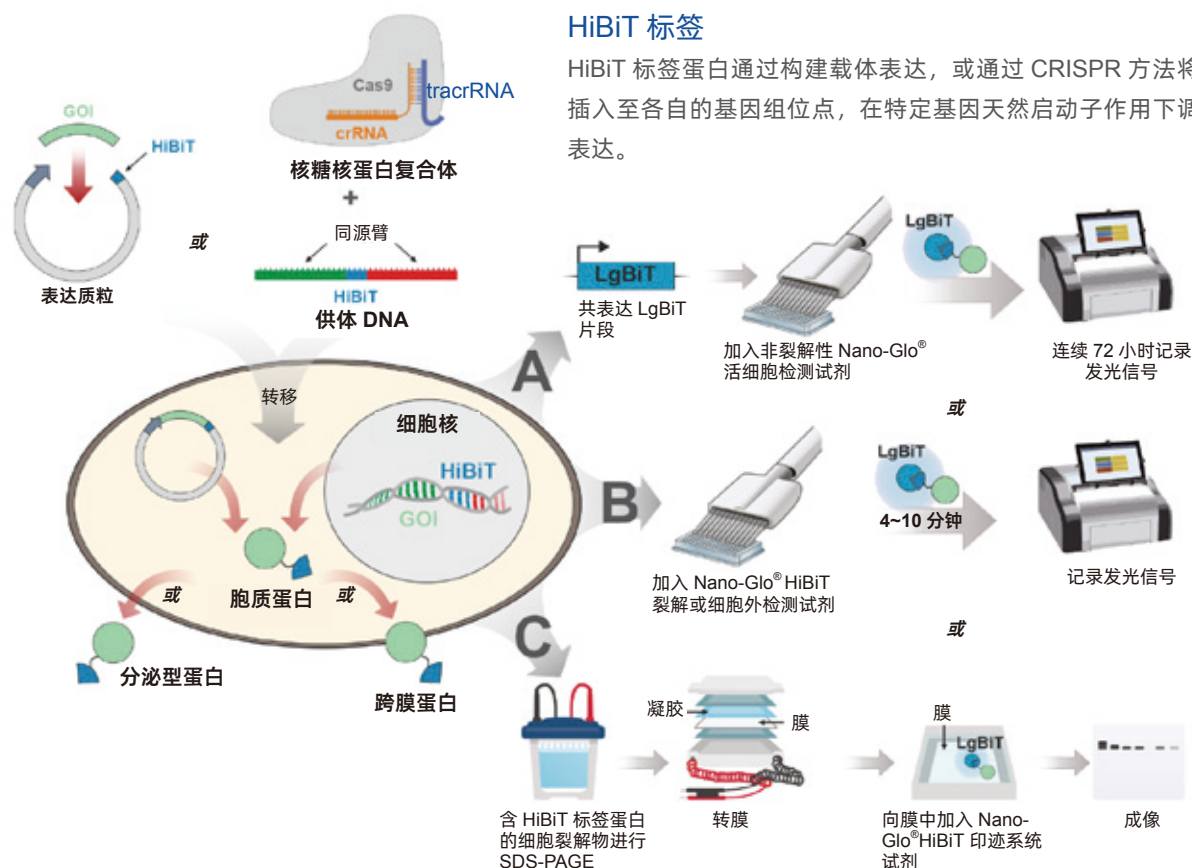
较宽的线性动态范围可准确定量 HiBiT 标签蛋白，不受蛋白表达水平的影响。HiBiT 检测系统的检测限 $<10^{-19}$ 摩尔，支持在内源性表达水平对低丰度蛋白进行定量。



参考文献

- Schwinn, M.K. *et al.* (2020) A simple and scalable strategy for analysis of endogenous protein dynamics. *PSci Rep.* 10(1):8953
- Boursier, M.E. *et al.* (2020) The luminescent HiBiT peptide enables selective quantitation of G protein-coupled ligand engagement and internalization in living cells. *J. Biol. Chem.* 295(15):5124–5135
- Riching, K.M. *et al.* (2018) Quantitative Live-Cell Kinetic Degradation and Mechanistic Profiling of PROTAC Mode of Action. *ACS Chem Biol.* 13(9):2758–2770
- Sasaki, M. *et al.* (2018) Development of a rapid and quantitative method for the analysis of viral entry and release using a NanoLuc luciferase complementation assay. *Virus Res.* 243:69–79
- Schwinn, M.K. *et al.* (2018): CRISPR-Mediated Tagging of Endogenous Proteins with a Luminescent Peptide. *ACS Chem Biol.* 13(2):467–474
- Oh-Hashi, K. *et al.* (2017) Application of a novel HiBiT peptide tag for monitoring ATF4 protein expression in Neuro2a cells. *Biochem Biophys Res.* 12:40–45
- Rouault, A. A. J. *et al.* (2017) Regions of MRAP2 required for the inhibition of orexin and prokineticin receptor signaling. *Biochim Biophys Acta.* 1864:2322–2329

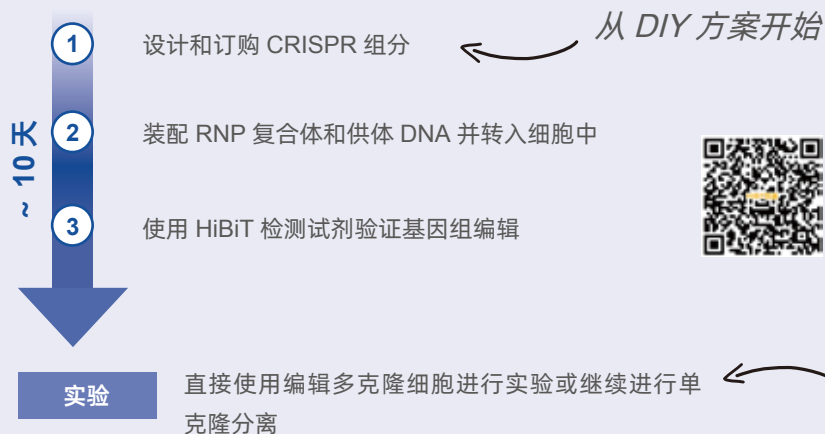
HiBiT 标签与定量工作流程



HiBiT 标签蛋白的定量： HiBiT 标签蛋白定量仅需“加入 - 读数”测定，无需抗体，操作简单。（**A**）通过 LgBiT 亚基的瞬时或稳定共表达与其中一种非裂解性 Nano-Glo[®] 底物，实时动力学研究可达 72 小时。（**B**）裂解检测试剂定量 HiBiT 标签蛋白的总量，而细胞外检测试剂检测细胞表面或分泌型的标签蛋白的量。（**C**）通过使用 HiBiT 印迹试剂，在常规蛋白免疫印迹分析膜上快速测定 HiBiT 标签蛋白的大小。

完美匹配 – HiBiT & CRISPR/Cas9

为最大程度提高操作便利性，可自行设计快速测定的无克隆方案，或从不断扩充的即用型 CRISPR 编辑细胞系库中选择！

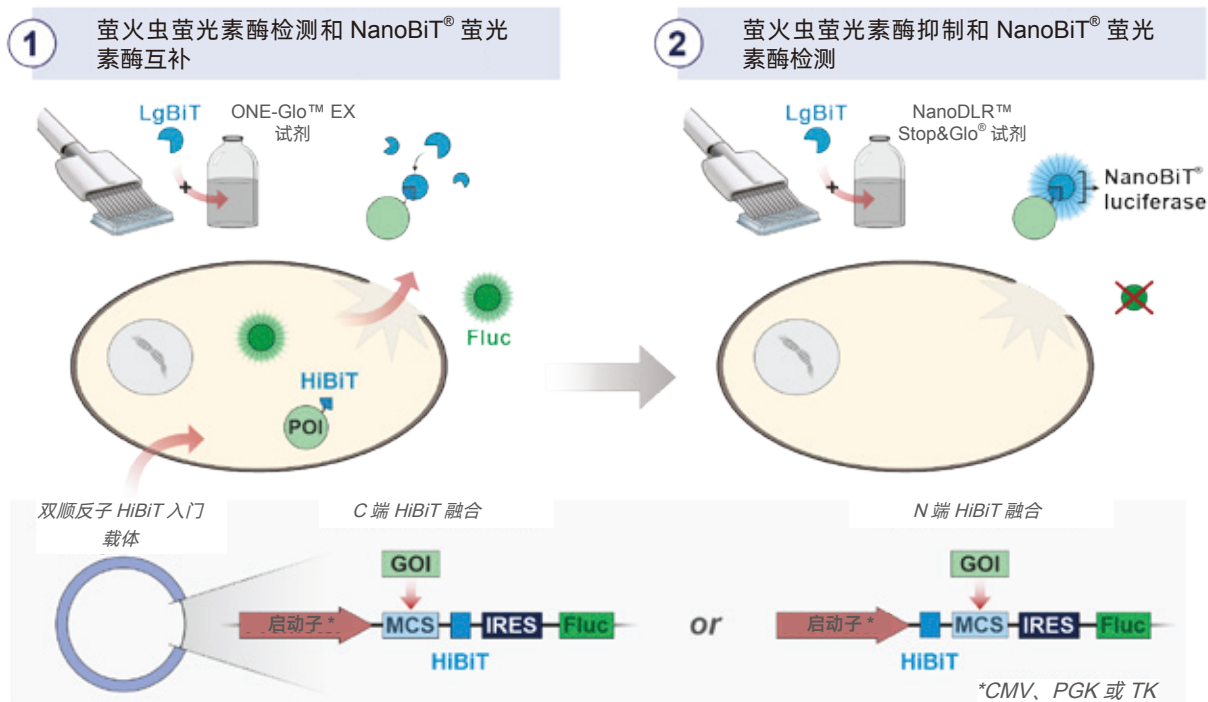


了解有关选项的详细信息：
www.promega.com/applications/small-molecule-drug-discovery/crispr-cas9-knock-in-tagging/
 或扫描左侧二维码进入中文页面

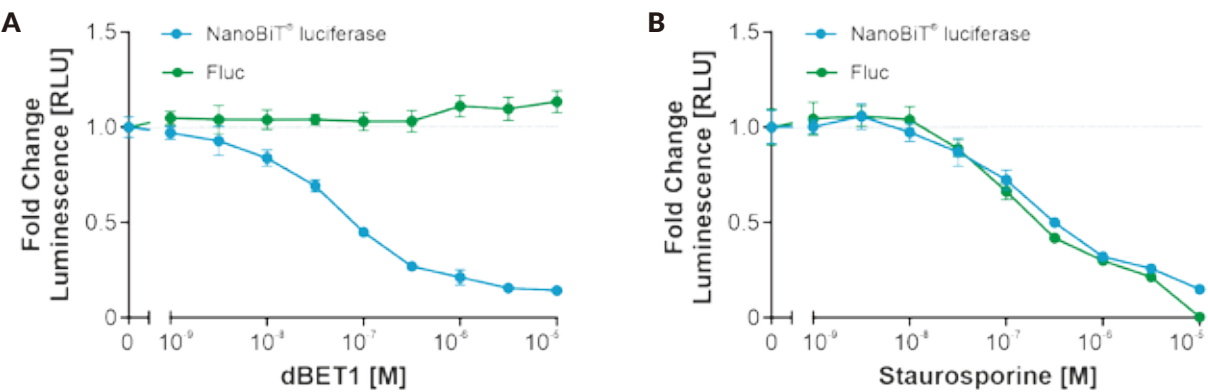
通过内参报告基因归一化来控制特异性

HiBiT NanoDLR™

Nano-Glo® HiBiT 双萤光素酶® 报告基因检测系统可以在同一孔中对 HiBiT 标签蛋白和萤火虫萤光素酶 (Fluc) 进行多重检测。该检测系统可最大程度减少或消除由转染效率、细胞数量、细胞活性、温度或检测时间等因素导致的实验变异性，从而提高数据质量。检测 HiBiT 目的蛋白 (POI) 的调控降解时，该方法可以区分蛋白表达水平总体变化导致的特异性效应。



POI 的编码序列 (coding sequence of the POI, GOI) 克隆到一个带有 N 端或 C 端 HiBiT 标签的多克隆位点 (MCS)。HiBiT 融合蛋白的终止密码子之后是一个 IRES 序列，该序列能够使来自相同 mRNA 的非融合 Fluc 进行组成性共表达。第一步 (1)，加入含有 LgBiT 蛋白的 ONE-Glo™ EX 试剂，定量 Fluc。其可裂解细胞，提供 Fluc 底物，并将 HiBiT 标签转换为 NanoBiT® 萤光素酶。第二步 (2)，向样品中加入 NanoDLR™ Stop&Glo® Reagent，淬灭 Fluc 信号并提供 NanoBiT® Substrate。

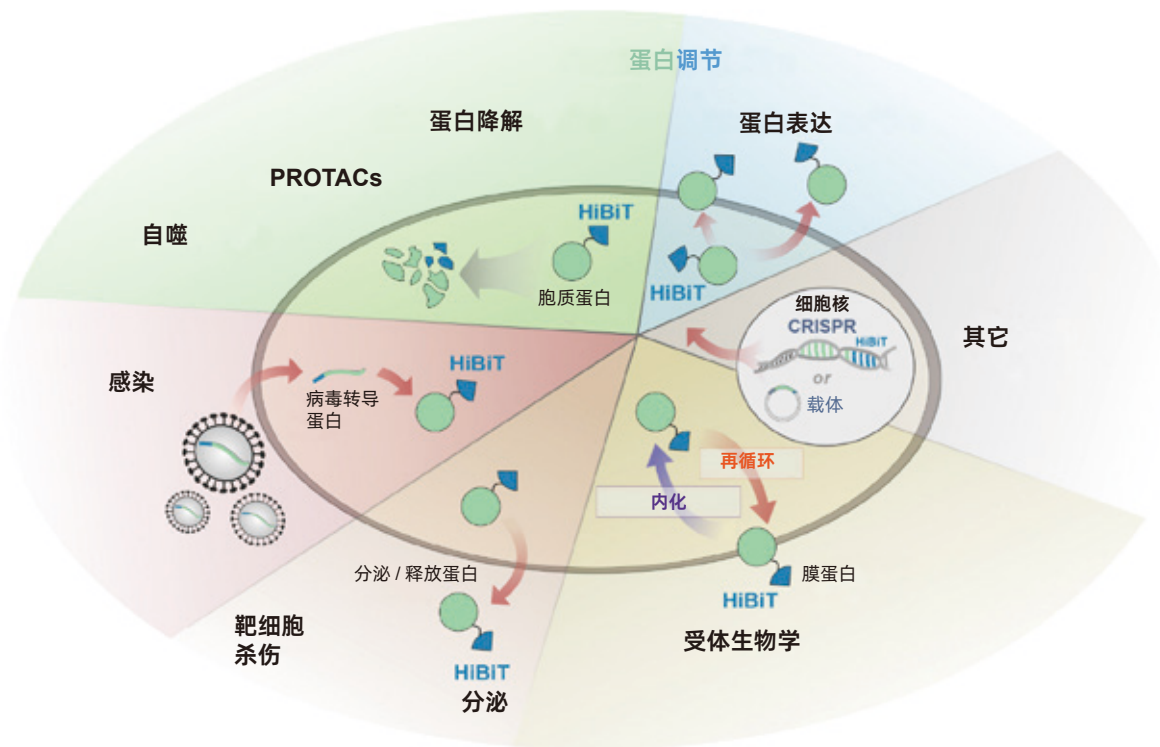


用 TK 启动子驱动的 HiBiT-BRD4 和 Fluc 的双顺反子表达构建体瞬时转染 HEK293 细胞。(A) 用靶向 BRD4 的 PROTAC 化合物 dBET1 处理细胞，会导致 HiBiT-BRD4 特异性降解，而 Fluc 对照不会发生降解。(B) 另一方面，用有毒化合物星形孢菌素处理，两种蛋白信号均出现了非特异性下降。

HiBiT 蛋白标签系统的应用

利用 HiBiT 蛋白标签系统，研究人员在功能基因和蛋白分析领域拥有了无限可能。该系统可用于构建新的检测方法，通过生物发光蛋白标签探究细胞蛋白生物学。通过对检测方案进行优化，以及使用多种检测试剂，可对单一靶蛋白建立以细胞为基础的检测方法。

检测调控蛋白表达、蛋白稳定性、靶向蛋白降解、受体内化、靶细胞杀伤.....



特点及优势

标签小（11 个氨基酸，1.3kDa）

- 降低对融合蛋白伴侣功能的潜在影响
- 大大简化了 CRISPR/Cas9 基因组敲入的工作流程

简单、快速的检测方案

- 一步均质检测（“加入 - 读数”）
- 无需抗体，无洗涤步骤
- 适用于高通量筛选

灵敏度及定量

- Sub-attomole 级灵敏度，能够检测内源性水平的蛋白
- 线性检测范围大（>7 logs）

便于用 CRISPR/Cas9 进行内源性蛋白检测

- 研究内源性调控下的蛋白质
- 无需克隆
- 方案可优化

多种检测模式

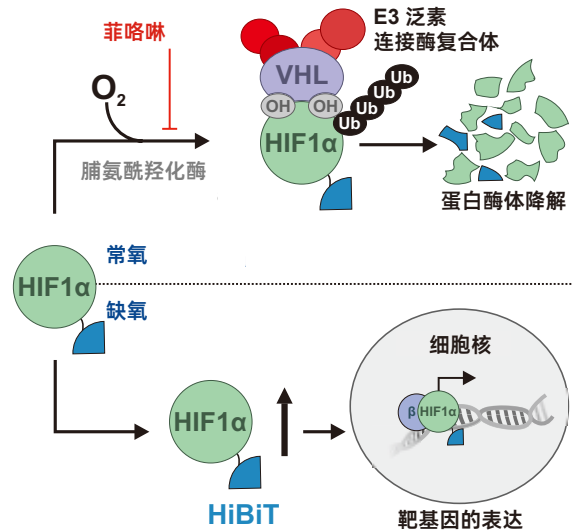
- 裂解终点法检测模式
- 活细胞形式（细胞内和细胞外），具有可延长时程分析选项

监测细胞内蛋白的翻译后调控

HiBiT 标签技术可以轻松应用于监测翻译后的调控过程，如下图泛素介导的转录因子 HIF1 α 降解。本实验使用 *Nano-Glo[®] HiBiT Lytic Detection System* 来检测蛋白丰度的调控变化。

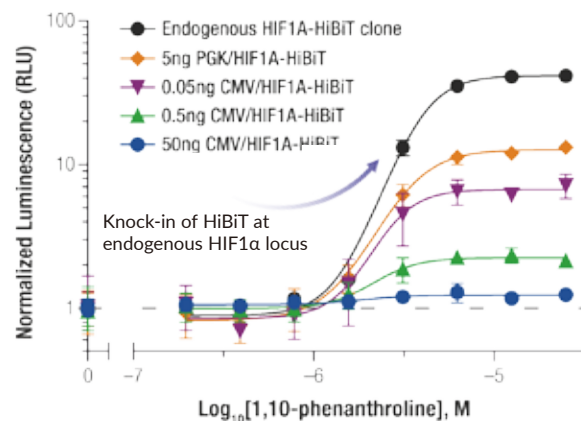
转录因子 HIF1 α 的稳定性

组成型表达转录因子 HIF1 α 的水平通过分子氧 (O_2) 的存在控制。在常氧条件下，HIF1 α 与脯氨酰羟化酶发生氧依赖性反应的脯氨酰羟化。该修饰导致肿瘤抑制因子 Von-Hippel-Lindau (VHL) 和 E3 泛素连接酶复合体其他组分的募集，标志着 HIF1 α 通过多泛素化进行蛋白酶体降解。缺氧条件下或用菲咯啉化学抑制脯氨酰羟化酶后，HIF1 α 蓄积，与 β -亚基形成二聚体，并促进 HIF1 α 应答基因表达。通过用 HiBiT 标签标记 HIF1 α ，可以轻松检测这种翻译后调控过程。

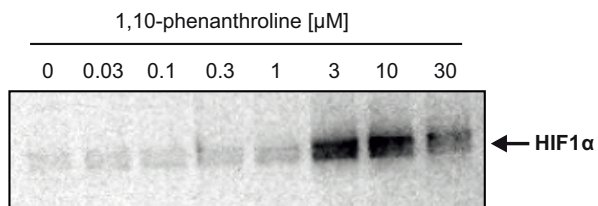


不同表达水平下缺氧诱导的 HIF1 α 稳定性定量

HIF1 α -HiBiT 融合蛋白通过瞬时转染不同数量的 CMV 或 PGK 启动子驱动的表达构建载体，或通过 CRISPR 方法将 HiBiT 标签在内源性位点插入，在 HeLa 细胞中进行表达。加入缺氧模拟物 1,10-菲咯啉后，用 *Nano-Glo[®] HiBiT Lytic Detection System* 检测 HIF1 α -HiBiT 蛋白表达水平。检测到在内源性调控条件下表达的 HIF1 α -HiBiT 融合蛋白获得最大倍数响应。内源性表达不仅减少了过表达带来的影响，而且与内源性融合蛋白结合伴侣保持了适当的化学计量关系。



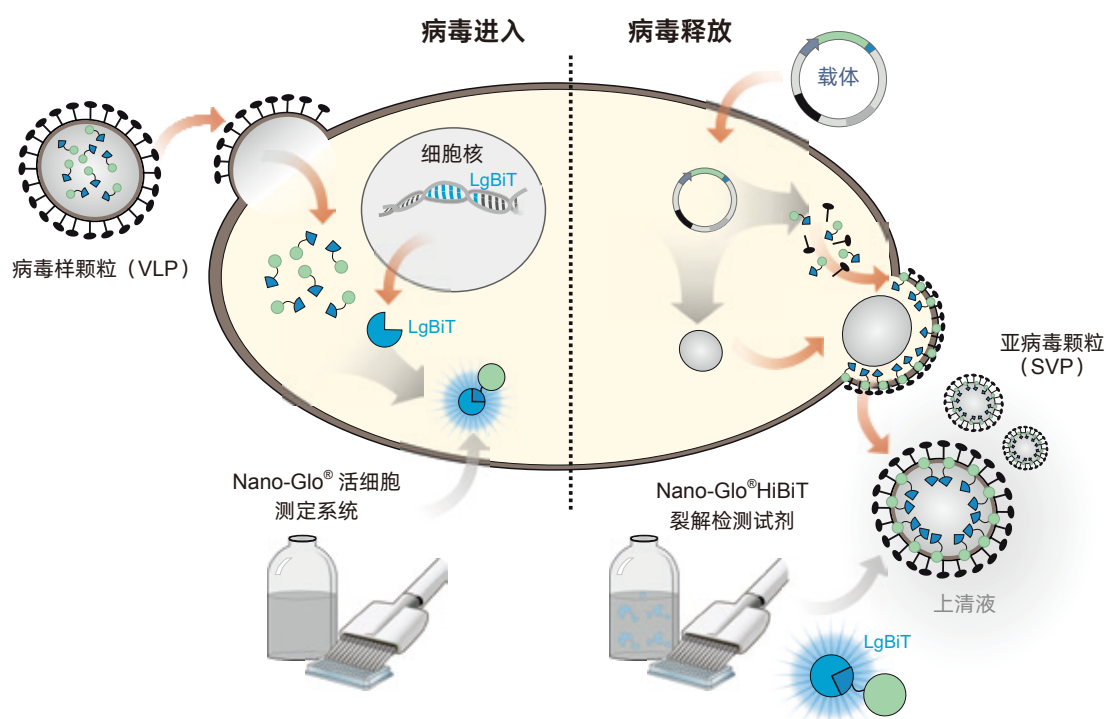
使用 *Nano-Glo[®] HiBiT Blotting System*，可在不使用抗体的情况下快速观察经菲咯啉处理的细胞的 HIF1 α 稳定情况。用 PGK 启动子驱动的 HIF1 α -HiBiT 表达构建体瞬时转染细胞，对细胞裂解物进行印迹分析。



监测病毒感染和病毒释放

HiBiT 标签小，有利于其插入到病毒基因组中，而与 LgBiT 互补则可以进行活细胞病毒进入与复制检测。相较于 ELISA 等传统的检测方法，HiBiT 提供了操作简单、可兼容 HTS “加入 - 读取” 检测形式，不需要抗体或洗涤步骤。

利用 HiBiT 蛋白标签系统分析病毒进入与释放



使用 Nano-Glo® 活细胞检测系统 (Nano-Glo® Live Cell Assay System)，可以在表达与 HiBiT 互补的 LgBiT 亚基的活细胞中监测带有 HiBiT 标签的病毒样颗粒 (VLP) 的细胞感染 (左)。此外，通过向 Nano-Glo® HiBiT Lytic Detection System 中加入含亚病毒颗粒 (SVP) 的上清液，可以很简便地定量检测 SVP 的释放 (右)。

关于 HiBiT 如何促进病毒进入和释放的快速定量检测方法开发的代表性示例，请参见以下内容：

Miyakawa, K. *et al.* (2020) Rapid quantitative screening assay for SARS-CoV-2 neutralizing antibodies using HiBiT-tagged virus-like particles. *medRxiv* (preprint)

Yamamoto, M. *et al.* (2019) Cell-cell and virus-cell fusion assay-based analyses of alanine insertion mutants in the distal $\alpha 9$ portion of the JRFL gp41 subunit from HIV-1. *J Biol Chem.* 294(14):5677–56787

Tamura, T. *et al.* (2019) In vivo dynamics of reporter Flaviviridae viruses. *J. Virol.* 93(22):e011191–19

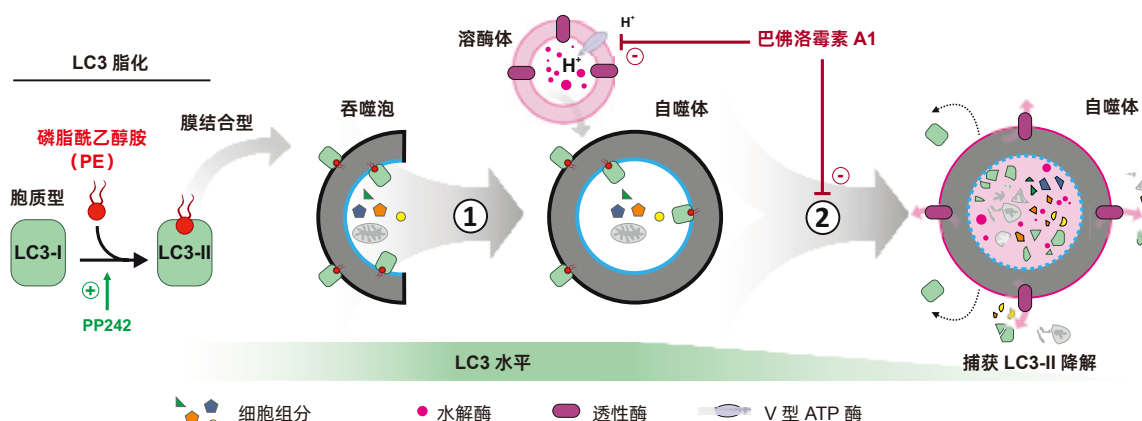
Sasaki, M. *et al.* (2018) Development of a rapid and quantitative method for the analysis of viral entry and release using a Nanoluc luciferase complementation assay. *Virus Res.* 243:69–74

Tamura, T. *et al.* (2018) Characterization of recombinant Flaviviridae viruses possessing a small reporter tag. *J. Virol.* 92:e01582–17

检测自噬潮

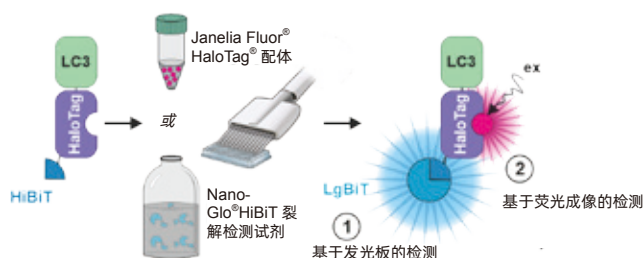
自噬是细胞内降解多余或有害亚细胞物质的重要途径，因此在正常和应激条件下对维持细胞健康至关重要。LC3 蛋白总水平的变化可用于监测自噬潮的变化。HiBiT 技术应用于构建自噬 LC3 HiBiT 报告基因检测系统 (*Autophagy LC3 HiBiT Reporter Assay System*)，该系统提供一种均质的基于生物发光技术的多孔板模式的检测方法，用于定量评估自噬作用，包括简单可靠地区分通路的诱导剂和抑制剂。

自噬过程中 LC3 的降解过程

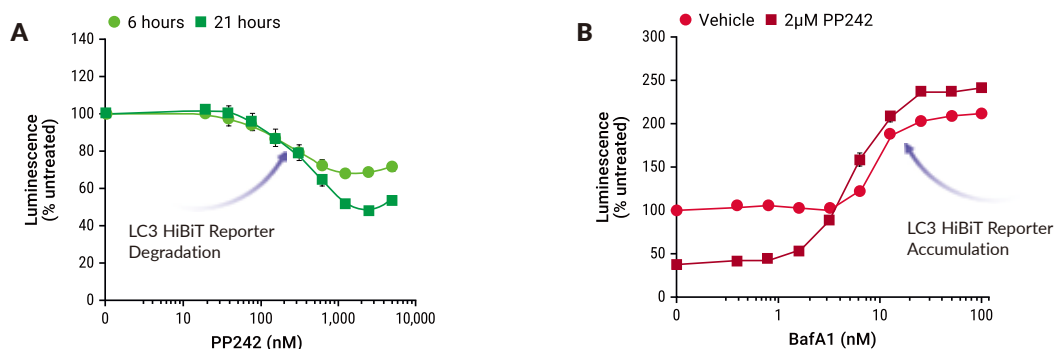


LC3 HiBiT 报告基因—两次检测合二为一

通过基因工程用 HiBiT 和 HaloTag[®] 标记人类 LC3B 蛋白，建立了自噬 LC3 HiBiT 报告基因。通过基于裂解发光测定方法定量 LC3 HiBiT 报告基因的量。发光信号量与裂解液中报告基因的量成正比，因此检测信号与自噬潮呈负相关。此外，明亮的 Janelia Fluor[®] HaloTag[®] Ligands 可对 LC3 报告基因定位变化进行荧光成像。



利用自噬 LC3 HiBiT 报告基因检测系统测定自噬潮



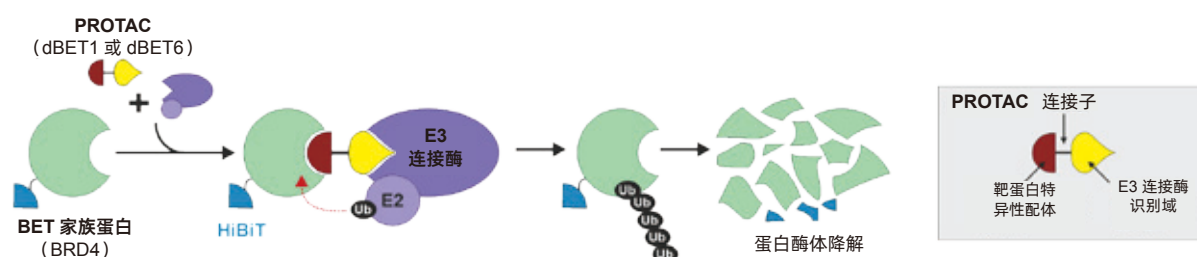
(A) 用自噬诱导剂 PP242 处理稳定的 U2OS 自噬 LC3 HiBiT 报告基因细胞，由于 HiBiT 标记的自噬报告基因降解，导致发光信号呈现时间和浓度依赖性衰减。(B) 采用浓度递增的参比抑制剂 Bafilomycin A1 (Baf A1)，在不加 (溶剂) 或加入 2μM PP242 的情况下处理报告基因细胞 21 小时。与 PP242 共处理显著延长了自噬抑制剂的检测窗口。

监测细胞内蛋白降解

蛋白降解是改变信号通路活性的一种常见机制。除通过 RNAi 或化学抑制分子活性敲除某个蛋白外，通过蛋白水解靶向嵌合体（proteolysis-targeting chimeras, PROTACs）靶向降解蛋白已经成为一种很有前景的药物干预细胞信号的策略，尤其是在缺乏调控或活性位点与传统酶抑制剂结合的情况下的蛋白质。

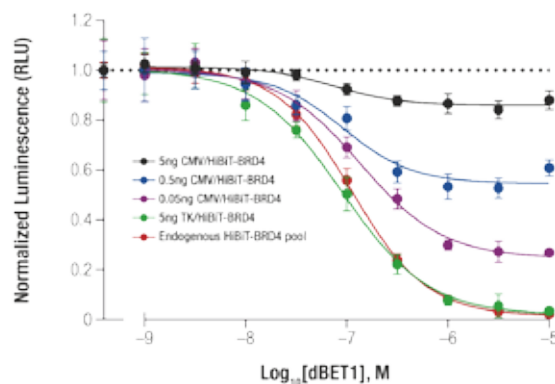
PROTACs-靶向蛋白降解

PROTACs 是双官能团分子，由与靶蛋白结合的部分和与 E3 连接酶复合体组分结合的部分偶联而成。各部分同时结合将 E3 连接酶复合体带至靶蛋白附近，导致其泛素化和后续蛋白酶体降解。PROTACs dBET1 和 dBET6 设计用于 BET 家族蛋白靶向蛋白降解，例如溴结构域蛋白 4（bromodomain-containing protein 4, BRD4）。通过用 HiBiT 标签标记靶蛋白，可以很容易地监测该过程。



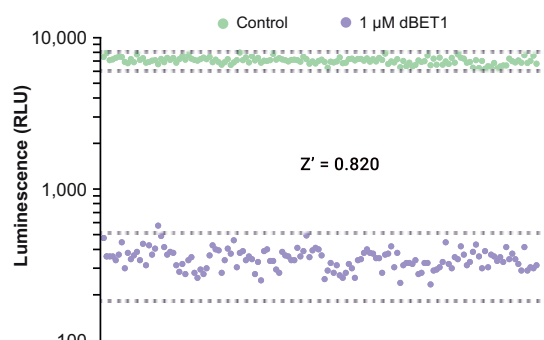
监测用 PROTAC dBET1 处理的细胞内 HiBiT-BRD4 的靶向降解

呈 dBET1 剂量依赖性的 HiBiT-BRD4 的降解程度受其表达水平的影响。过表达可能会掩盖内源性泛素连接酶和蛋白酶体的形成。通过减少转染 CMV 表达载体的量、使用较弱的 TK 启动子或标记内源性表达的蛋白来降低表达水平，提高响应强度。蛋白降解动力学（见下页）只能用内源性蛋白进行研究，因为调控天然蛋白与异位蛋白周转的机制影响降解速率、程度和恢复。



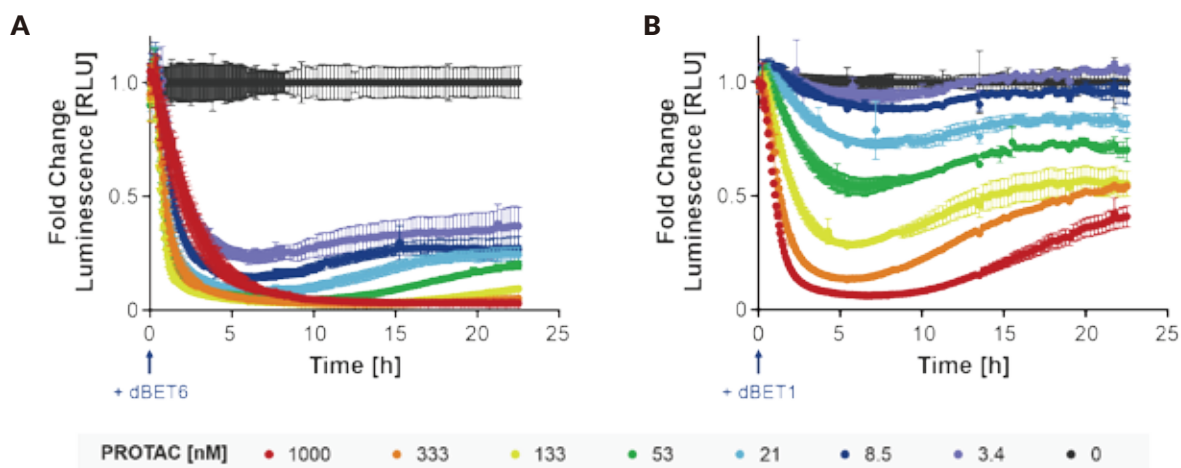
在 384 孔板的 CRISPR 衍生的多克隆细胞株中诱导 HiBiT-BRD4 降解

Nano-Glo® HiBiT Lytic Detection System 凭借其检测方案简单，发光信号半衰期大于 3 个小时，成为高通量应用中批量处理多块板的理想选择。相较于抗体检测方法，HiBiT 灵敏度更高，操作更简单，因而更有利于蛋白降解 HTS 的测定。



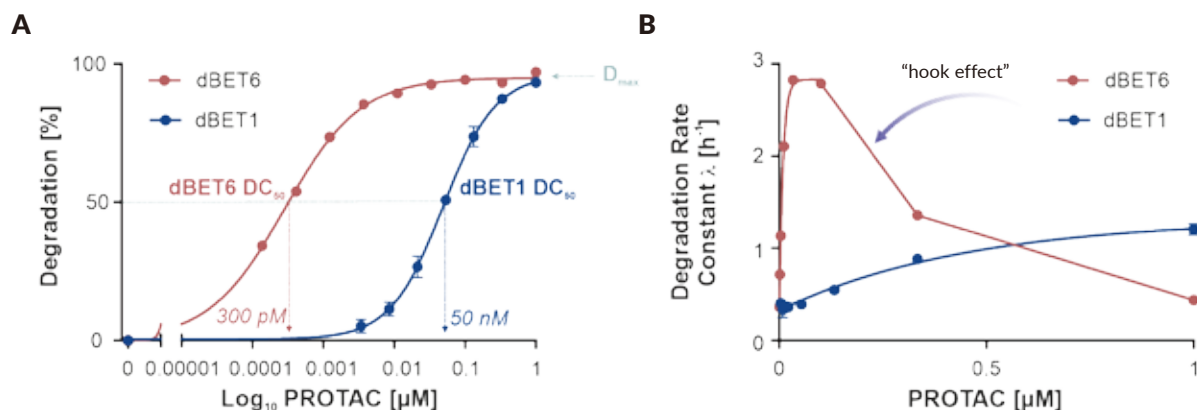
蛋白降解研究的新途径

PROTAC 处理后蛋白损失实时定量



在稳定表达 LgBiT 亚基的细胞中，使用 CRISPR 介导 HiBiT 对 BET 家族成员 BRD4 进行蛋白标记，能够实时监测靶向内源性蛋白降解。在零时，加入 PROTACs dBET6 (A) 和 dBET1 (B) 前，用长时间型 *Nano-Glo® Endurazine™ Live-Cell Substrate* 预平衡细胞。记录 24 小时内的发光信号，确定 HiBiT-BRD4 降解和恢复。

根据实时降解曲线计算定量参数



记录实时蛋白降解率和恢复，可以确定定量降解参数，即降解百分比、半最大降解浓度 (DC₅₀)、最大降解水平 (D_{max}) (A) 和降解率 (B)。这些参数可用于化合物的排序。在高浓度的 dBET6 下，由于三元复合体（靶蛋白：PROTAC：E3 连接酶）的形成受阻（亦称为“hook effect”），降解速率下降。

了解 Promega 研究（靶向）蛋白降解技术的更多信息



请访问 www.promega.com/applications/small-molecule-drug-discovery/protein-degradation-drug-discovery/ 或扫描左侧二维码进入中文页面

查看

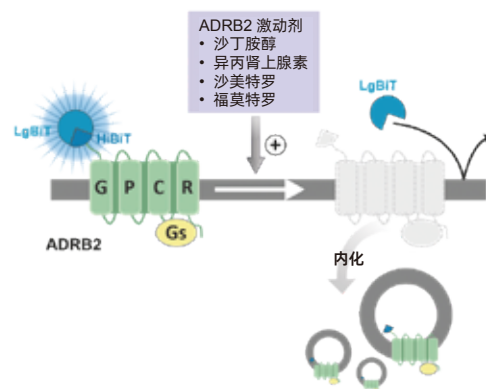
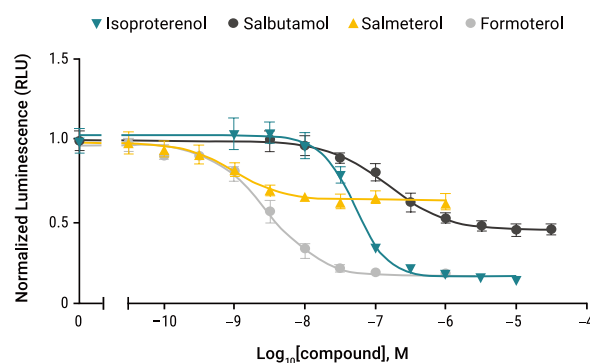
- PROTAC 渗透性
- 二元和三元复合体形成
- 泛素化
- 蛋白酶体募集

表面受体定量与内化

利用 Nano-Glo® HiBiT Extracellular Detection System, 能够开发出操作简单、可定量测定受体内化的检测方法, 可节省时间并消除基于抗体方法的变异性。使用经优化的检测试剂, 可快速平衡表面受体, 快速采集变化的生物学数据, 最大限度降低孔间变异性。

在几分钟内检测配体的效价和 GPCR 受体内化的程度

不同激动剂刺激 β_2 肾上腺素能受体 (β_2 adrenergic receptor, ADRB2) 导致其内化。当作为外源标记的 HiBiT 融合蛋白进行表达时, 这个过程可以很容易地使用 Nano-Glo® HiBiT Extracellular Detection System 进行定量, 因为 LgBiT 蛋白具有细胞非渗透性, 只会结合到表面受体上。

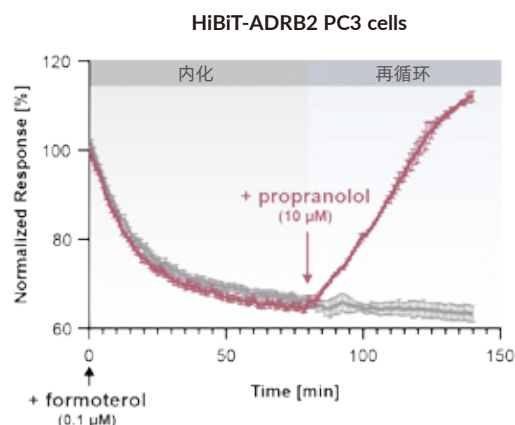


激动剂	EC ₅₀	表面受体剩余百分比
异丙肾上腺素	50.9nM	16%
沙丁胺醇	161nM	45%
沙美特罗	1.04nM	63%
福莫特罗	2.92nM	16%

在基于均质多孔板的实验中测定不同 ADRB2 受体激动剂的效价 (EC₅₀), 并分别计算受体内化程度。ADRB2 的已知激动剂促进了受体的内化, 其效价的等级顺序差异符合预期。此外, 部分激动剂沙丁胺醇和沙美特罗的内化程度也出现了预期的降低。

实时监测活细胞受体转运

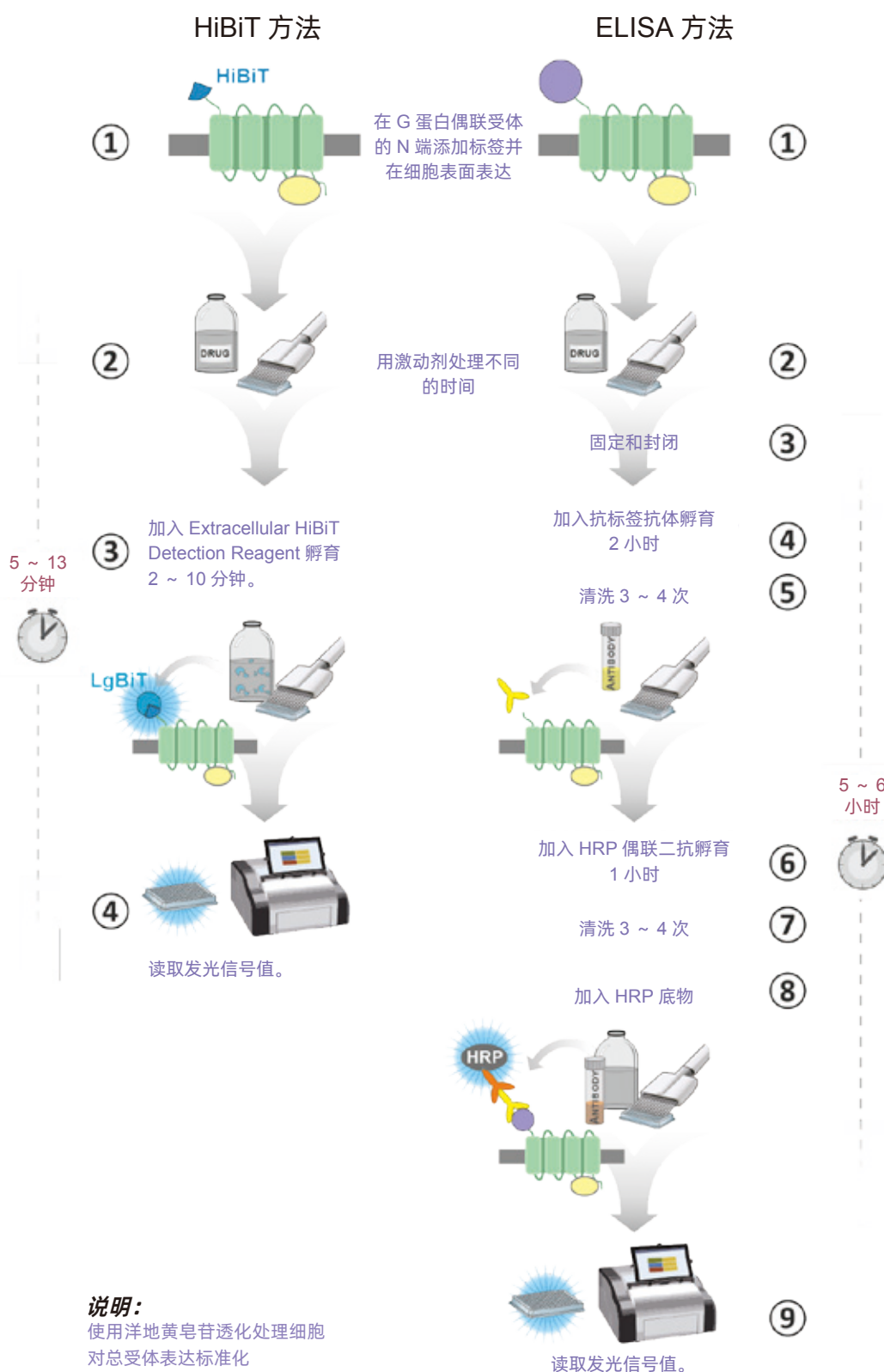
加入纯化的 LgBiT 蛋白和活细胞底物 (或长时间底物), 即使在内源性表达水平也能够实时分析受体转运的动力学。细胞与 LgBiT 和底物预孵育后, 激动剂福莫特罗诱导 ADRB2 受体内化。这导致发光信号减少, 可能是由于较低的体内 pH 或底物利用率对 NanoBiT® 荧光素酶活性的影响。加入拮抗剂普萘洛尔可终止内吞作用, 导致受体逐渐循环返回至表面, 如信号增加 (红色所示), 而未经普萘洛尔处理后该受体水平仍较低 (灰色所示)。



一张图片胜过千言万语

“我们曾用过 ELISA，现在我们只使用 HiBiT。”
- 爱荷华大学研究员 -

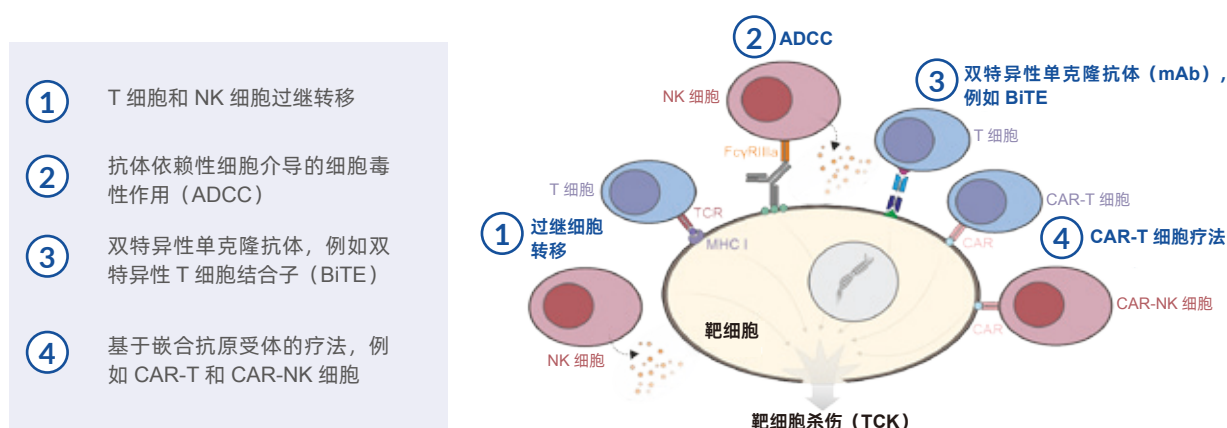
与工作负荷较高的 ELISA 方法相比，HiBiT 蛋白标签系统提供了一种更快、更灵敏和更稳定的方法来监测进出细胞表面的受体。



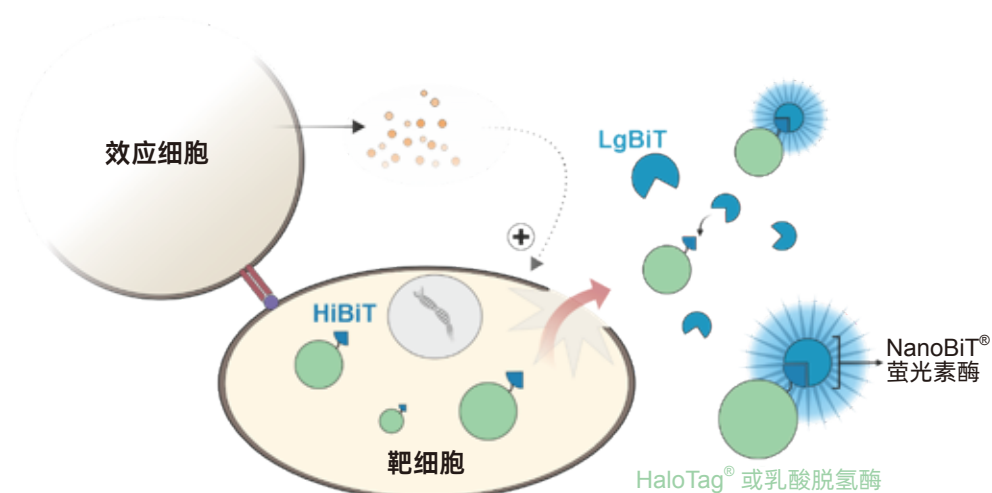
检测共培养中靶细胞的杀伤

靶细胞杀伤

利用人体自身的免疫系统抗癌,是一个有前景的新策略。目前已有多种引导特异性免疫效应细胞杀死肿瘤靶细胞的方法。因此,该领域的研究需要用到在共培养环境中特异性检测靶细胞群死亡情况的技术。然而,目前的方法要么缺乏特异性(如乳酸脱氢酶释放试验),要么需要放射性标记(如铬-51 释放细胞毒性试验),都需要专门仪器或工作流程繁琐。迄今为止研发的各种治疗策略包括:



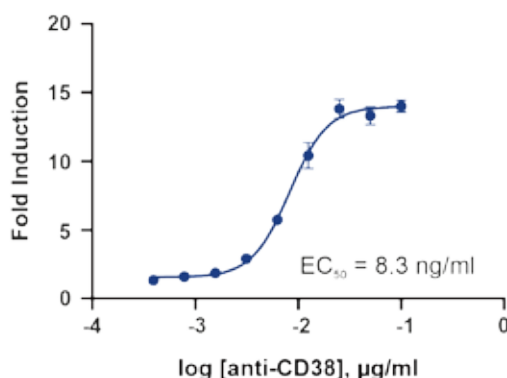
利用 HiBiT 技术检测共培养靶细胞杀伤的原理



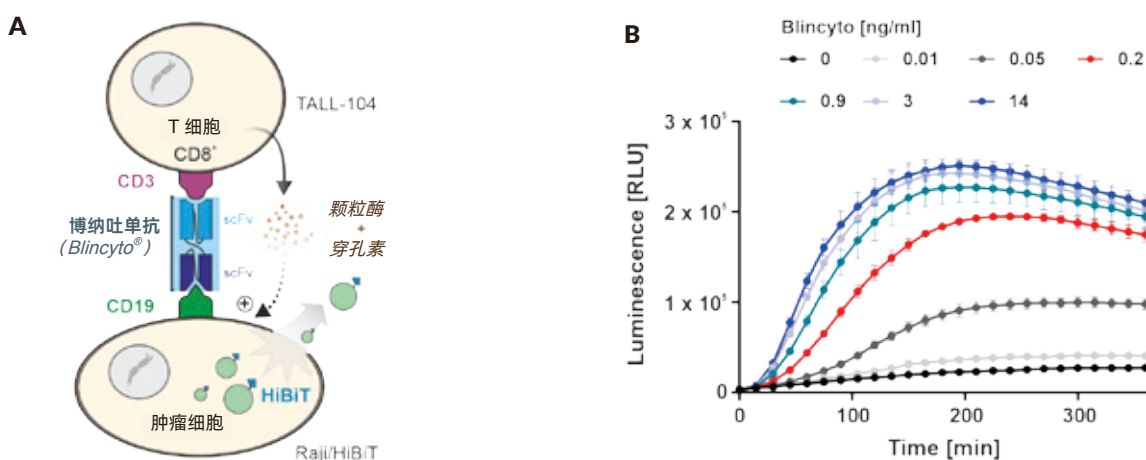
HiBiT 靶细胞杀伤作用测定是基于膜完整性丧失后从靶细胞释放 HiBiT 融合蛋白。通过添加不透膜 LgBiT 蛋白,可轻松检测到靶细胞释放 HiBiT 融合蛋白。不透膜 LgBiT 蛋白立即与细胞外 HiBiT 结合,重构 HiBiT: LgBiT 萤光素酶产生生物发光信号。信号与靶细胞死亡量成正比。靶细胞被设计为异位表达 HaloTag[®]-HiBiT,由此 HaloTag[®] 融合能够使用荧光的 Janelia Fluor[®]646 HaloTag[®] Ligand,通过 FACS 进行荧光成像和阳性克隆分离。或者,可采用 CRISPR 技术将 HiBiT 添加到常用的细胞死亡胞质蛋白标记物乳酸脱氢酶 (LDH) 的内源性位点。

抗体依赖性细胞介导的细胞毒性作用（ADCC）

将稳定表达 HaloTag®-HiBiT 融合蛋白的 A549 细胞 (2,500 个细胞 / 孔) 与作为效应细胞的原代外周血单核细胞一起孵育，效应细胞：靶细胞比率为 20:1 时，加入不同浓度的治疗性抗体西妥昔单抗孵育 5 小时。使用 Nano-Glo® HiBiT Extracellular Detection System 检测 ADCC 对靶细胞的杀伤作用。



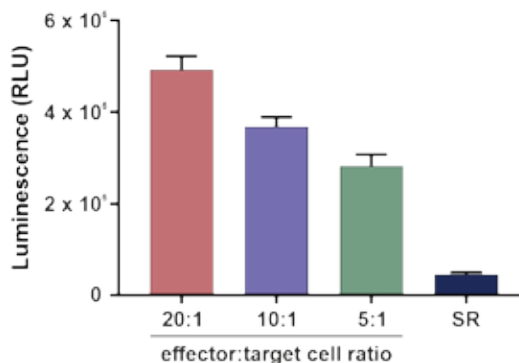
重定向 T 细胞细胞毒性



(A) 双特异性 T 细胞结合子 (BiTE) 类似于两种不同单克隆抗体的两个单链可变片段 (scFv) 的融合物。BiTE 通过同时结合 T 细胞和肿瘤特异性抗原，将 T 细胞毒性重定向至肿瘤细胞。例如，Blinicyto® 与 T 细胞上的 CD3 和肿瘤细胞上的 CD19 结合。使用稳定表达 HaloTag®-HiBiT 融合蛋白的靶细胞，能够在存在活化的 TALL-104 CD8⁺ 效应 T 细胞的情况下选择性测定 Blincyto® 诱导的靶细胞杀伤作用。(B) 可以通过添加 Nano-Glo® Endurazine™ Live Cell Substrate 和不透膜 LgBiT 蛋白对该过程进行实时监测。

CAR-T 细胞疗法

采用 Nano-Glo® HiBiT Extracellular Detection System 进行终点法检测 CAR-T 细胞介导对表达 CD19⁺ K562 靶细胞的 HaloTag®-HiBiT 的杀伤作用。将靶细胞 (2,500 个细胞 / 孔) 与抗 -CD19 CAR-T 细胞 (ProMab; PM-CAR1003) 按不同的效靶细胞比率孵育 24 小时：在不存在效应细胞的情况下测定自发释放 (SR) 引起的背景发光。



Anti-HiBiT 单克隆抗体

背景介绍

为了将 HiBiT 的功能扩展到包括传统的免疫测定，我们力求开发一种针对 HiBiT 的特异性、高亲和力的小鼠单克隆抗体。我们对抗体进行了免疫印迹、免疫荧光染色、免疫沉淀和 FACS 验证。Anti-HiBiT 抗体也比常用的表位标签抗体结合更紧密，在免疫分析中通常表现出更高的灵敏度或特异性。

HiBiT 是目前唯一的在检测选择上具有最大灵活性的小肽标签。用户可以很容易地使用定量的、生物发光的、基于细胞的检测方法和执行传统的基于抗体的方法测定蛋白质。HiBiT 标签的高实用性消除了对串联标记方法的需求。

Anti-HiBiT 单抗与其他表位标签抗体相比的优势：

免疫荧光：对内源性表达的 HiBiT 标记蛋白可进行荧光显微成像，研究亚细胞定位。

FACS 分析：可用于分离表面表达 HiBiT 的活细胞，或在固定的渗透细胞中定量 HiBiT 标记的蛋白。

Western Blot：以最小的交叉反应检测低至皮克的 HiBiT 标记蛋白。

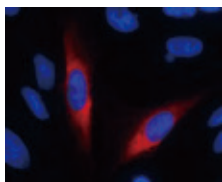
免疫沉淀：从样品中快速沉淀高比例的 HiBiT 标记蛋白。

亲和力高：Anti-HiBiT mAb 与 HiBiT 的结合比 LgBiT 高 2 个数量级。

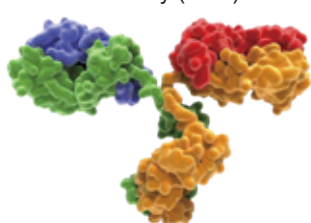
拓展 HiBiT 工具箱

虽然 LgBiT 互补能够简单、灵敏地定量 HiBiT 标记的蛋白，但一种特异性、高亲和力的单克隆抗体将使 HiBiT 也能支持传统表位标签的所有应用。

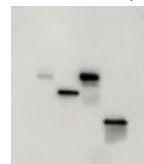
Immunocytochemistry (ICC)



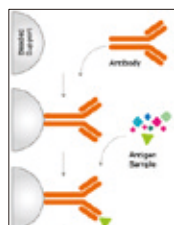
High-affinity, high-specificity monoclonal antibody (mAb)



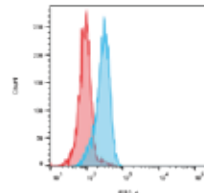
Western Blot (WB)



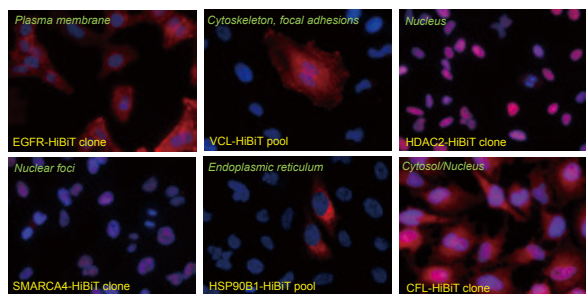
Immunoprecipitation (IP)



Fluorescence-activated cell sorting (FACS)

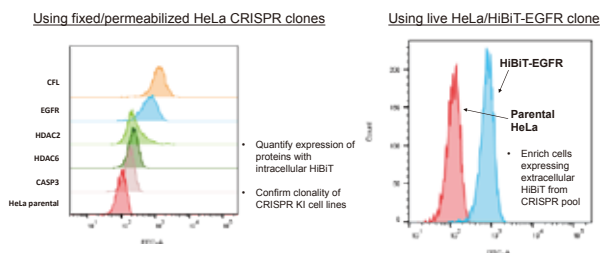


免疫荧光法进行亚细胞定位



将 HiBiT 添加到 HeLa 细胞中具有不同亚细胞定位的内源性蛋白位点,并用 Anti-HiBiT 单抗对细胞进行免疫染色 (红色)。

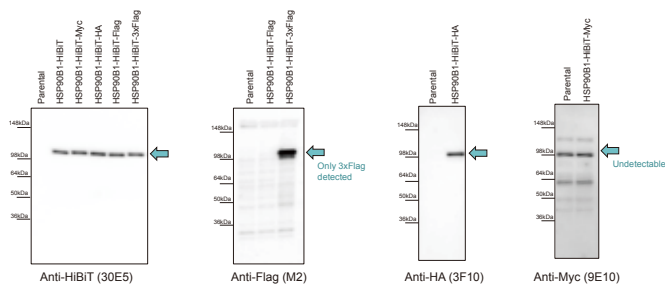
荧光活化细胞分选 (FACS)



荧光活化细胞分选可用于在固定细胞、通透化细胞中定量细胞内的 HiBiT 标记蛋白 (左图), 或用于分离表面表达 HiBiT 标记蛋白的活细胞 (右图)。

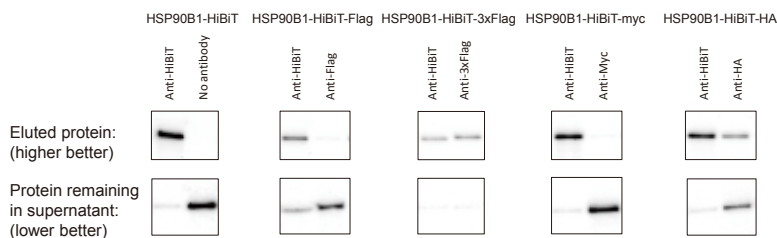
免疫印迹检测

- 使用 CRISPR/Cas9 对 HSP90B1 进行串联标记: HiBiT + HA、Myc、1 或 3 个拷贝的 FLAG 标签。
- 从 CRISPR 池中产生裂解物并进行免疫印迹检测 (箭头表示预期条带)。
- Anti-HiBiT 单抗与普通表位标签抗体相比效果相似或更优。



免疫沉淀分析

- 使用 CRISPR/Cas9 对 HSP90B1 进行串联标记: HiBiT + HA、Myc、1 或 3 个拷贝的 FLAG 标签。
- 从 CRISPR 池中产生裂解物并分离以制备 IP 样本。
- 标记的 HSP90B1 用 Anti-HiBiT、Anti-Myc、Anti-HA 或 Anti-FLAG 抗体进行免疫沉淀, 偶联磁性蛋白 G 树脂。
- HiBiT 的性能与 3xFlag 相似, 优于单拷贝标签。



产品订单信息

Nano-Glo®HiBiT 裂解检测系统

- 细胞裂解物中 HiBiT 标记蛋白的检测
- 快速灵敏的检测

目录号	规格
N3030	10 ml
N3040	100 ml
N3050	10 x 100 ml

Nano-Glo®HiBiT 细胞外检测系统

- HiBiT 标记的细胞表面受体或分泌蛋白的检测
- 在数分钟内监测受体内化动态
- 无需抗体的均质型检测形式

目录号	规格
N2420	10 ml
N2421	100 ml
N2422	10 x 100 ml

Nano-Glo®HiBiT 印迹系统

- 几分钟快速检测蛋白免疫印迹膜上的 HiBiT 标签蛋白
- 无需抗体的均质型检测形式

目录号	规格
N2410	100 ml

HiBiT 对照蛋白

- 纯化的重组 HaloTag® 蛋白 (36kDa), 在其 C 端与 HiBiT 蛋白 (1.3 kDa) 融合
- 使用 Nano-Glo®HiBiT 裂解检测系统, Nano-Glo® HiBiT 细胞外检测系统或 Nano-Glo® HiBiT 印迹系统时, 作为已知浓度的阳性对照
- LgBiT 和 LgBiT 融合蛋白的检测

目录号	规格
N3010	100 µl

LgBiT 亚基的共表达

	目录号	规格
LgBiT Expression Vector [CMV / Hygro]	N2681	20 µg
LgBiT-LentiB3 Transfer Vector	Please Enquire	20 µg
HaloTag®-LgBiT Expression Vector [CMV / Hygro]	Please Enquire	20 µg
HEK293 LgBiT Cell Line (stable)	N2672	1 each
HeLa LgBiT Cell Line (stable)	Please Enquire	2 vials
Jurkat LgBiT Cell Line (stable)	Please Enquire	2 vials

如需更多细胞系, 请联系咨询。

Nano-Glo® 活细胞测定系统

- 用于检测 NanoBiT® 蛋白互补或 NanoLuc® 报告基因活性
- 监测单个时间点或连续长达 2 小时的发光情况 (不影响细胞活性)

目录号	规格
N2011	100 assays
N2012	1000 assays
N2013	10,000 assays

Nano-Glo® 扩展的活细胞底物

- HiBiT 标记蛋白的实时定量
- Furimazine 前体底物可在细胞中被酯酶缓慢水解, 在整个实验期间稳定释放 furimazine 底物。

Nano-Glo® Vivazine™ 底物

- 2 至 24 小时监测的最佳选择

目录号	规格
N2580	0.1 ml
N2581	1 ml
N2582	10 ml

Nano-Glo® Endurazine™ 底物

- 2 至 72 小时监测的最佳选择

目录号	规格
N2570	0.1 ml
N2571	1 ml
N2572	10 ml

Nano-Glo® 扩展的活细胞底物试验包

- Nano-Glo® Endurazine™ 底物 + Vivazine™ 底物

目录号	规格
N2590	0.2 ml

您有 CRISPR/HiBiT 标记实验设计需求吗？
您想获得免费的 crRNA 和供体 DNA 序列建议吗？

 wechat.promega.com.cn/technical/

请与我们的技术
服务部取得联系。



产品订单信息

HiBiT NanoDLR™

- 最大程度降低或消除实验变异性
- 专属性对照

	目录号	规格
Nano-Glo® HiBiT Dual-Luciferase® Reporter System	Please Enquire	10ml
Nano-Glo® HiBiT Dual-Luciferase® Reporter System	Please Enquire	100ml
pBit4.1-C [HiBiT-IRES-luc2/CMV/Blast] Vector	Please Enquire	20 µg
pBit4.2-C [HiBiT-IRES-luc2/TK/Blast] Vector	Please Enquire	20 µg
pBit4.3-C [HiBiT-IRES-luc2/PGK/Blast] Vector	Please Enquire	20 µg
pBit4.1-N [HiBiT-IRES-luc2/CMV/Blast] Vector	Please Enquire	20 µg
pBit4.2-N [HiBiT-IRES-luc2/TK/Blast] Vector	Please Enquire	20 µg
pBit4.3-N [HiBiT-IRES-luc2/PGK/Blast] Vector	Please Enquire	20 µg

HiBiT 融合载体

- 选择 Flexi® 载体可以实现插入片段的快速、方便、定点亚克隆。
- 选择 MCS 载体以改变连接肽长度

	目录号	规格
pBit3.1-N [CMV/HiBiT/Blast] Vector	N2361	20 µg
pBit3.1-C [CMV/HiBiT/Blast] Vector	N2371	20 µg
pBit3.1-secN [CMV/HiBiT/Blast] Vector	N2381	20 µg
pFN38K HiBiT CMV-neo Flexi® Vector	N2401	20 µg
pFC37K HiBiT CMV-neo Flexi® Vector	N2391	20 µg
pFN39K secHiBiT CMV-neo Flexi® Vector	N2411	20 µg

自噬 LC3 HiBiT 报告基因检测系统

	目录号	规格
U2OS Autophagy LC3 HiBiT Reporter Cell Line and Detection System	GA1050	1 kit*
HEK293 Autophagy LC3 HiBiT Reporter Cell Line and Detection System	GA1040	1 kit*
Autophagy LC3 HiBiT Reporter Vector and Detection System	GA2550	1 kit*
Janelia Fluor® 549 HaloTag® Ligands	GA1110	5µg
	GA1111	3×5µg
Janelia Fluor® 646 HaloTag® Ligands	GA1120	5µg
	GA1121	3×5µg

* 包括 10mL Nano-Glo® HiBiT 裂解检测系统

HiBiT 靶细胞杀伤作用检测

	目录号	规格
LgBiT Protein	Please Enquire	10ml
	Please Enquire	0.1ml
HaloTag®-HiBiT Vector [CAG / Blast]	Please Enquire	2µg
HaloTag®-HiBiT Target Cells		
Raji Cells, Propagation Model	Please Enquire	2 vials
Ramos Cells, Propagation Model	Please Enquire	2 vials
A549 Cells, Propagation Model	Please Enquire	2 vials
H929 Cells, Propagation Model	Please Enquire	2 vials
SK-BR-3 Cells, Propagation Model	Please Enquire	1 vial
K562 Cells, Propagation Model	Please Enquire	1 vial
U937 Cells, Propagation Model	Please Enquire	1 vial
LDH-HiBiT Target Cells		
Raji Cells, Propagation Model	Please Enquire	2 vials
Raji CD19-KO Cells, Propagation Model	Please Enquire	2 vials
Ramos Cells, Propagation Model	Please Enquire	2 vials
Ramos CD19-KO Cells, Propagation Model	Please Enquire	2 vials
OVCAR-3 Cells, Propagation Model	Please Enquire	2 vials
SC-OV-3 Cells, Propagation Model	Please Enquire	2 vials
A549 Cells, Propagation Model	Please Enquire	2 vials
T2 Cells, Propagation Model	Please Enquire	2 vials
PBMC ADCC Bioassays		
PBMC ADCC Bioassay Kit (Raji)	Please Enquire	1 kit*
PBMC ADCC Bioassay Kit (Ramos)	Please Enquire	1 kit*
PBMC ADCC Bioassay Kit (A549)	Please Enquire	1 kit*
PBMC ADCC Bioassay Kit (H929)	Please Enquire	1 kit*
PBMC ADCC Bioassay Kit (SK-BR-3)	Please Enquire	1 kit*

仅供研究使用。不得用于诊断。

如需更多细胞系，请联系 Promega 咨询。

* 包括细胞培养基、胎牛血清（FBS）和 10mL Nano-Glo®HiBiT 细胞外检测系统。

Anti-HiBiT 单克隆抗体

	目录号	规格
Anti-HiBiT Monoclonal Antibody	N7200	1x 100ug
	N7210	5x 100ug

想了解更多关于 HiBiT 标签的更多信息，请访问 <https://www.promega.com/HiBiTtagging>

生物发光检测

GloMax[®]Discover 是一种先进的高性能多功能酶标仪，可与 Promega 检测试剂盒完美匹配，检测发光、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，并具有动力学量化功能。GloMax[®]Discover 可作为独立的读板器，也可与高通量自动化平台进行整合。该仪器使用集成数据分析软件，结果数据易于解释。

一种多功能仪器：

- 报告基因分析
- 细胞活力、细胞毒性和细胞凋亡试验
- 动力学测定
- 多重检测
- 氧化应激和细胞代谢检测试验
- ELISA 法检测
- BRET/FRET 分析



GloMax

DISCOVER

一种高性能且使用方便的多模式酶标仪，可检测
发光、荧光、吸光度、BRET 和 FRET 等。



更多信息请访问：www.promega.com/glomax-comparison

HiBiT Protein Tagging System



关注 Promega 微信公众号



价格查询



中文说明书



实验工具



技术资料



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

印刷时间: 2023.6