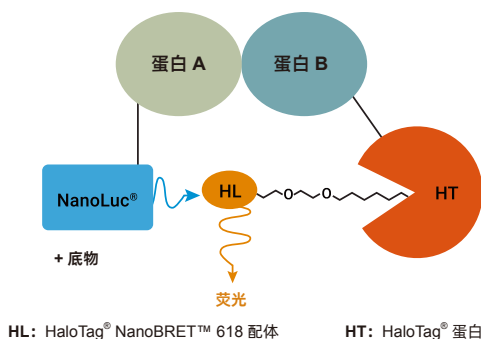


## 通过即用型方法测定活细胞中的实时蛋白相互作用

NanoBRET™ 和 NanoBiT® 两种系统均可实现对蛋白相互作用的实时测定。NanoBRET™ PPI 检测系统的工作原理是利用两种靶蛋白在细胞中进行表达并发生相互作用时，NanoLuc®-蛋白 A 融合蛋白（能量供体）和荧光标记的 Halo-Tag®-蛋白 B 融合蛋白（能量受体）之间发生的能量转移。来自 NanoLuc® 供体的明亮蓝移信号与远红移 HaloTag® 受体的结合可实现对蛋白质相互作用的检测，并且相较于传统 BRET 检测系统，该检测系统可产生最佳的光谱重叠、可增强信号以及产生较低的背景信号。

### NanoBRET™ PPI 检测系统工作原理。

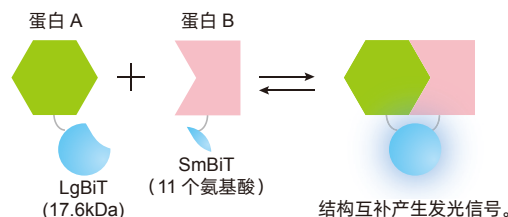


NanoBiT® PPI 系统由两个亚基组成，分别为大亚基（LgBiT；18kDa）和小亚基（SmBiT；1.3kDa），其可作为与目标蛋白的融合蛋白进行表达。研发人员已分别对 LgBiT 和 SmBiT 亚基进行了优化，优化后的两个亚基具有良好的稳定性和最小程度的自缔合作用。靶蛋白之间的相互作用促进亚基的互补作用，从而形成明亮的发光酶。

NanoBRET™ 和 NanoBiT® PPI 检测系统具有下述应用：

- 对活细胞内的蛋白质相互作用动力学进行分析；
- 测定单个时间点的蛋白相互作用或进行实时动力学分析；
- 使用全长蛋白或相关结构域分析蛋白相互作用；
- 使用基于转染的方法引入蛋白融合体；
- 将检测扩展为高通量检测模式。

### NanoBiT® PPI 检测系统的工作原理。



## NanoBRET™ 和 NanoBiT® PPI 系统的区别

| NanoBiT® 系统                            |
|----------------------------------------|
| 需发生物理相互作用                              |
| NanoBiT® 仅需添加一种试剂<br>(Nano-Glo® 活细胞底物) |
| 对细胞数量敏感 #                              |
| 只需简易光度计                                |
| 可测定信号增加 / 损失                           |
| 对供体：受体比率（1:1）不敏感                       |

| NanoBRET™ 系统                                  |
|-----------------------------------------------|
| BRET 测定蛋白对的接近程度                               |
| NanoBRET™ 需添加两种试剂<br>(NanoBRET™ 底物和 618 配体)   |
| 对细胞数量不敏感 #                                    |
| 需要能够测定过滤后的发光信号的仪器<br>(需要带滤光片的检测仪)             |
| 可产生比率数据                                       |
| 对供体：受体比率较为敏感<br>(需经过优化；例如，供体：受体 (D:A) =1:100) |

# 使用针对热门靶标预先设计好的检测系统即可轻松开始实验

已针对这些检测系统，确定了最佳的标签定位和转染条件。

## NanoBRET™ PPI RAS 信号收集

|                                      |                                       |                                               |
|--------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------------------|
| <b>KRAS 突变检测</b>                     | <b>Ras WT 检测</b>                      | <b>NRas 突变检测</b>                              |
| <b>KRASG12C</b>                      | <b>KRas WT</b>                        | <b>NRasQ61R WT</b>                            |
| NL-KRasG12C:BRAF-HT (BiBRET)         | NL-KRasWT:BRAF-HT (BiBRET)            | NL-NRasQ61R:BRAF-HT                           |
| NL-KRasG12C:BRAF RBD-HT              | NL-KRasWT:BRAF RBD-HT                 | NL-NRasQ61R:BRAF RBD-HT                       |
| NL-KRasG12C:CRAF-HT (BiBRET)         | NL-KRasWT:CRAF-HT (BiBRET)            | NL-NRasQ61R:CRAF-HT                           |
| NL-KRasG12C:CRAF RBD-HT (BiBRET)     | NL-KRasWT:CRAF RBD-HT (BiBRET)        | NL-NRasQ61R:CRAF RBD-HT                       |
| NL-KRasG12C:CRAF RBD-CRD-HT (BiBRET) | NL-KRasWT:CRAF RBD-CRD-HT             | <b>NRasQ61K WT</b>                            |
| NL-KRasG12C:ARAF-HT                  | HT-KRasWT:NL-PI3KCA1 <i>(New!)</i>    | NL-NRasQ61K:BRAF-HT                           |
| NL-KRasG12C:ARAF RBD (BiBRET)        | HT-KRasWT:NL-SOS1cat <i>(New!)</i>    | NL-NRasQ61K:BRAF RBD-HT                       |
| HT-KRasG12C:NL-PI3KCA1 <i>(New!)</i> | <b>HRas WT</b>                        | NL-NRasQ61K:CRAF-HT                           |
| <b>KrasG12D</b>                      | NL-HRasWT:BRAF-HT                     | NL-NRasQ61K:CRAF RBD-HT                       |
| NL-KRasG12D:BRAF-HT (BiBRET)         | NL-HRasWT:BRAF RBD-HT                 |                                               |
| NL-KRasG12D:BRAF RBD-HT (BiBRET)     | NL-HRasWT:CRAF-HT                     | <b>RAF 二聚化作用检测</b>                            |
| NL-KRasG12D:CRAF-HT (BiBRET)         | NL-HRas:CRAF RBD-HT (BiBRET)          | <b>BRAF FL and CRAF FL</b>                    |
| NL-KRasG12D:CRAF RBD-HT (BiBRET)     | <b>NRas WT</b>                        | BRAF-NL:CRAF-HT (BiBRET)                      |
| NL-KRasG12D:CRAF RBD-CRD-HT (BiBRET) | NL-NRasWT:BRAF-HT DS5331              | BRAF-NL:BRAF-HT                               |
| NL-KRasG12D:ARAF-HT                  | NL-NRasWT:BRAF RBD-HT DS5331          | CRAF-NL:CRAF-HT                               |
| NL-KRasG12D:ARAF-RBD-HT (BiBRET)     | NL-NRasWT:CRAF-HT DS5331              | ARAF-NL:ARAF-HT                               |
| HT-KRasG12D:NL-PI3KCA1 <i>(New!)</i> | NL-NRasWT:CRAF RBD-HT (BiBRET) DS5331 | <b>RAF Dimers + co-expression of KRasG12C</b> |
| <b>KRasG12V</b>                      |                                       | BRAF-NL:CRAF-HT (BiBRET) + untagged KRasG12C  |
| NL-KRasG12V:BRAF-HT                  | <b>信号通路检测</b>                         | CRAF-NL:CRAF-HT + untagged KRasG12C           |
| NL-KRasG12V:BRAF RBD-HT              | HT-MEK1:NL-ERK1                       |                                               |
| NL-KRasG12V:CRAF-HT                  | HT-BRAF:MEK1-NL                       |                                               |
| NL-KrasG12V:CRAF RBD-HT (BiBRET)     | KSR1-HT-MEK1-NL                       |                                               |
| NL-KRasG12V:ARAF-HT                  | BRAF-HT:NL-KSR2                       |                                               |
| NL-KRasG12V:ARAF RBD-HT              |                                       |                                               |

完整的 NanoBRET™ 检测可通过所示的单个双向表达载体（BiBRET）予以提供。

## 其他 NanoBRET™ PPI 检测系统

|                           |                   |                 |                   |                                       |
|---------------------------|-------------------|-----------------|-------------------|---------------------------------------|
| ATAD2:H3.3 or H4          | cMyc:AURKA        | FOXP3:NFATC2    | MEK:ERK           | PRMT5:WDR77(MEP50)                    |
| BCL9L:Beta-catenin        | DAGR:PRKCD C1     | GADD45B:MKK7    | MerTK:MerTK Dimer | SHN3:ERK1                             |
| Beta-catenin:TCF3 or TCF4 | DAGR:RASGRP1C1    | GR:GR Dimer     | MET:Grb2          | SHN3:ERK2                             |
| BRD2 FL:H3.3 or H4        | DAP12:Syk         | GRB2/EGFR       | MID1:Alpha4       | SHN3:SHN3 Dimer                       |
| BRD3 FL:H3.3 or H4        | E6:E6AP           | HCN1:TRIP8b     | MLL1:Menin        | SMARCA2:H3.3                          |
| BRD4:H3.3                 | EP300 BD:H4       | HDAC1:HDAC2     | MLL1:WDR5         | SP140:H3.3                            |
| BRD4 BD1:H3.3 or H4       |                   |                 |                   |                                       |
| BRD4 BD2:H3.3 or H4       | ER:ER Dimer       | CKS1B:Skp2      | MycN:AURKA        | STIM1:Orai                            |
| BRD7 BD:H3.3              | ERK:ELK           | IL17RA:ACT 1    | Myc:Max           | TEAD1, TEAD2, TEAD3, or<br>TEAD4:YAP1 |
| CALR WT:MPL               | EZH2:Suz12        | IRF5:IRF5 Dimer | P53:MDM2          | TEAD1, TEAD2, TEAD3, or<br>TEAD4:Taz1 |
| CBX2:H3.1                 | FKBP:FRB          | MAVS:IF1H1      | PNPLA3:ABHD5      | WDR5:MYC                              |
| CBX7:H3.1 or H3.2 or H3.3 | FOXP3:/OXP3 Dimer | MCL-1:BIM L     | PRMT5:RIOK1       |                                       |

## 可购买的 NanoBiT® PPI 检测系统

### 信号传导

BCL2/BAK

c-MET/c-MET

c-MET(1-960)/c-MET(1-960)

KRAS 4B WT:CRAF RBD

KRAS 4B G12D:CRAF RBD

KRAS 4B G12V:CRAF RBD

KRAS 4B G12C:CRAF RBD

KRAS 4B WT:CRAF RBD-CRD

KRAS 4B G12D:CRAF RBD-CRD

KRAS 4B G12V:CRAF RBD-CRD

KRAS 4B G12C:CRAF RBD-CRD

KRAS 4B WT:CRAF (f.l.)

KRAS 4B G12D:CRAF (f.l.)

KRAS 4B G12V:CRAF(f.l.)

KRAS 4B G12C:CRAF (f.l.)

KRAS 4B WT:BRAF (f.l.)

KRAS 4B G12D:BRAF (f.l.)

KRAS 4B G12V:BRAF (f.l.)

KRAS 4B G12C:BRAF (f.l.)

CRAF:BRAF

CRAF:CRAF

BRAF:BRAF

PRKACA/PRKAR2A

### 膜受体

EGFR/GRB2

HER1(1-668)/HER2(1-675)

HER1(1-668)/HER3(1-664)

HER3(1-664)/HER3(1-664)

HER2(1-675)/HER3(1-664)

VEGFR1(1-785)/VEGFR1(1-785)

EGFR(1-673)/EGFR(1-673)

ADRB2:ARRB2

AVPR2:ARRB2

CX3CR1:ARRB2

PD-1/SHP-1

### β-Arrestin 募集检测

NanoBiT®β-Arrestin 2 MCS Vector Set

NanoBiT®β-Arrestin 2 Flexi® Vector Set

NanoBiT®β-Arrestin 1 MCS Vector Set

NanoBiT®β-Arrestin 1 Flexi® Vector Set

NanoBiT® AVPR2, ARRB2 Control Pair

NanoBiT® ADRB2, ARRB2 Control Pair

### 细胞核受体

AR/AR (NR3C4/NR3C4)

AR/SCR1

GR(NR3C1)/GR(NR3C1)

### 转录

Myc/MAX

P53/MDM2

RELA/NFKBIA

FKBP/FRB

### NanoBiT® PPI 稳转细胞系

U2OS HER2(1-675):HER3(1-644)

U2OS VEGFR1(1-785):VEGFR1(1-785)

HEK293 CX3CR1:ARRB2

若需获得关于预先设计好的 NanoBRET™ 和 NanoBiT®PPI 检测系统的更多信息，或有定制检测系统开发需求，敬请发送邮件至 [chinatechserv@promega.com](mailto:chinatechserv@promega.com) 或访问 [www.Promega.com/RealTimePPI](http://www.Promega.com/RealTimePPI)

HaloTag, NanoBiT and NanoLuc are registered trademarks of Promega Corporation. NanoBRET is a trademark of Promega Corporation. Products may be covered by pending or issued patents or may have certain limitations. Please visit our Web site for more information.



欢迎关注 Promega 生命科学