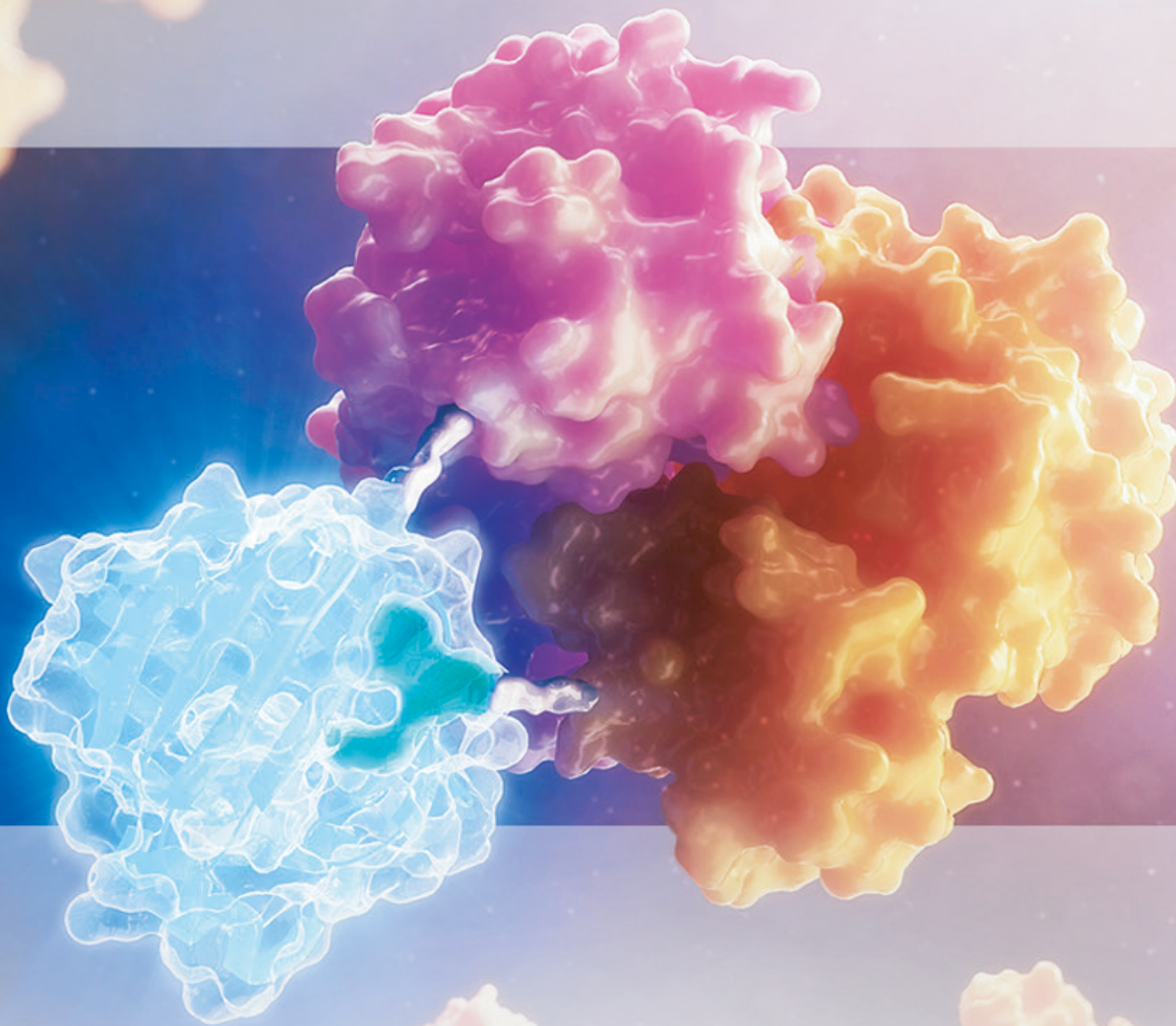


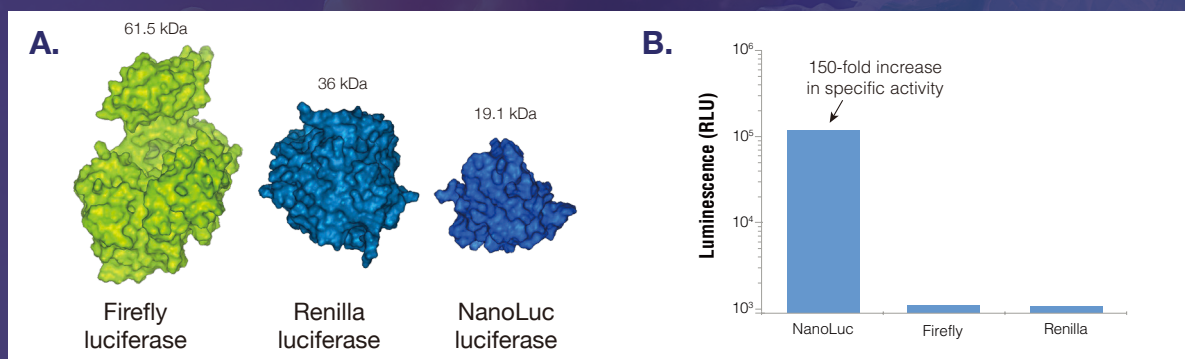
NanoLuc[®] Luciferase Assays to Study Protein: Protein Interactions



NanoLuc[®] 萤光素酶

NanoLuc 萤光素酶为小分子量、非 ATP 依赖型酶，其与呋喃嗪（furimazine，新腔肠素类似物）结合后可产生高强度辉光型发光信号。NanoLuc 萤光素酶是对深海虾（*Oplophorus gracilirostris*）萤光素酶进行工程改造而制得的一种酶。

NanoLuc 的分子量仅为 19.1 kDa，远小于萤火虫（*Photinus pyralis*）和海肾（*Renilla reniformis*）萤光素酶的分子量。NanoLuc 萤光素酶所产生的发光信号强度约是萤火虫和海肾萤光素酶 100 倍。



NanoLuc[®]、萤火虫和海肾萤光素分子量 (A) 和信号明亮度 (B) 比较。

NanoLuc 萤光素酶具有许多独特物理性质，因此其是性能极佳的报告蛋白：

- 分子量极小的单体酶（171 个氨基酸；513bp）
- 热稳定性好（ $T_m=60^{\circ}\text{C}$ ）
- 在较宽的 pH 范围（pH 6-8）均有活性
- 无翻译后修饰或二硫键
- 均匀分布于细胞内
- 发射光谱非常适用于生物发光共振能量转移分析（BRET， $\lambda_{\text{max}} = 465\text{nm}$ ）

NanoLuc 底物呋喃嗪稳定性更好，其半衰期大于 2 小时且本底较低，为生物发光成像技术领域提供了新可能。



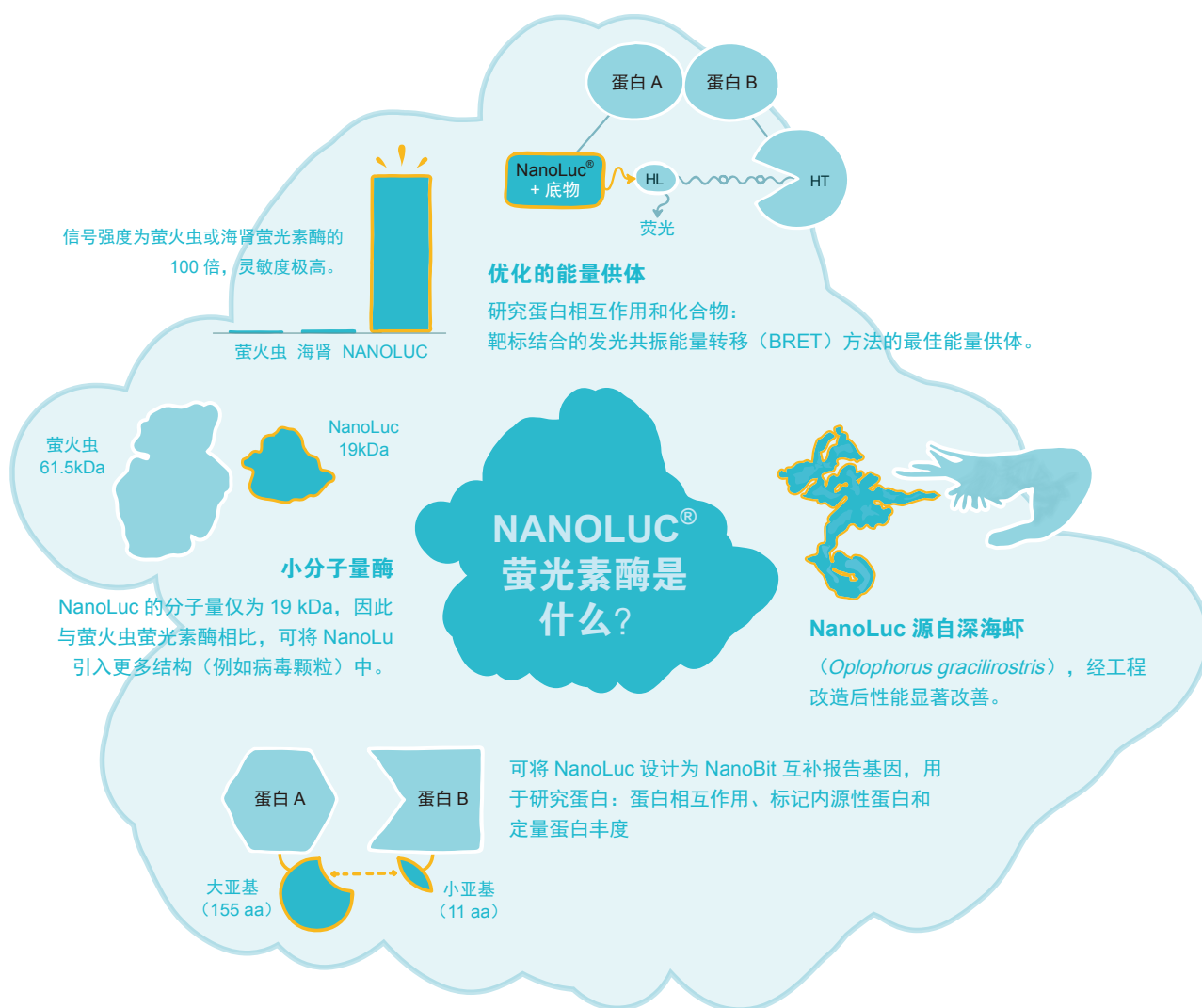
NanoLuc[®] / 呋喃嗪反应

总而言之，此酶具备建立灵敏度高、耐用性好的报告基因检测方法的所有基本特征。

一种酶开启无限可能

NanoLuc 是 Promega 公司细胞内基因应答和蛋白动力学（生理水平）研究技术的基础，同时还为下述多种新兴技术奠定了基础，包括：

- **NanoBRET™ Technology**，一种研究蛋白：蛋白和蛋白：小分子相互作用的生物发光共振能量转移（BRET）方法；
- **NanoLuc® Binary Technology (NanoBiT)**，一种检测活细胞内蛋白：蛋白相互作用（PPI）的二亚基互补系统；
- **Nano-Glo® HiBiT Protein Tagging System**，一种小分子量（11 个氨基酸）的发光肽标签。



NanoLuc 技术的灵活性为研究生物相互作用或进行化合物筛选（通过全新方式）奠定了基础。

蛋白：蛋白相互作用检测方法

了解蛋白功能的关键在于了解细胞内蛋白相互作用。但是，监测活细胞内蛋白：蛋白相互作用以及这些相互作用的变化具有一定挑战性。

由于 NanoLuc 萤光素酶具有明亮的发光信号且分子量较小，因此用于生物发光共振能量转移（BRET）或互补报告基因方法检测蛋白相互作用的灵敏度较高。本文重点阐述的 NanoBRET 和 NanoBiT 技术可在内源性表达水平检测活细胞内蛋白相互作用。

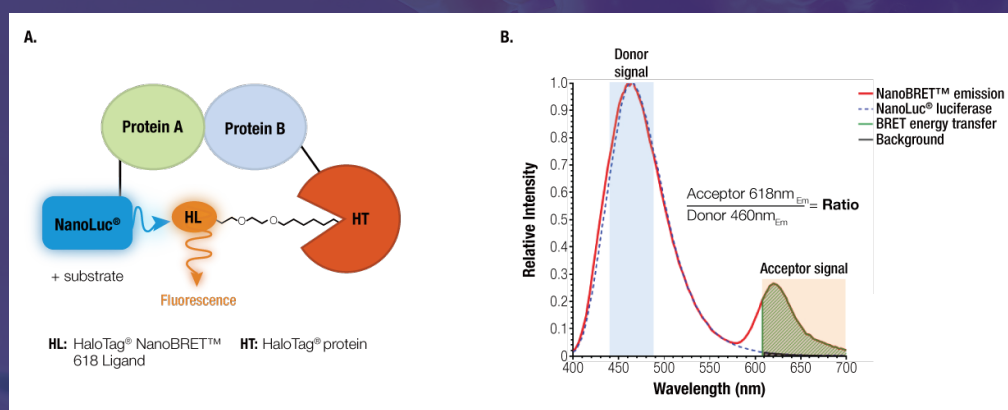
NanoBRET PPI System

基于 BRET 的 PPI

NanoBRET System 是一种基于蛋白接近程度的检测技术，通过测量从生物发光蛋白供体至荧光蛋白受体的能量转移并计算 NanoBRET 比值来检测特定蛋白对的相互作用。NanoBRET System 使用优化的蓝移 NanoLuc® 融合蛋白作为能量给体，并使用红移 NanoBRET 618 荧光团标记的 HaloTag® 融合蛋白作为能量受体，其信号检测窗口 >150nm，分辨率更高。

NanoLuc 的信号明亮度是其他 BRET 萤光素酶供体的 30 倍。发生 NanoBRET 转移时，NanoLuc 和 HaloTag 618 配体紧密靠近彼此（≤10nm）。

使用此检测试剂盒以及生理水平表达的全长蛋白可实现蛋白相互作用的诱导和抑制的实时检测。



NanoBRET™ 检测方法。(图A)发生蛋白相互作用时，从 NanoLuc®-蛋白A融合蛋白（能量供体）至荧光标记的 HaloTag®-蛋白B融合蛋白（能量受体）的能量转移图示。（图B）NanoLuc® 发射光谱信号（460nm）和荧光 HaloTag® NanoBRET™ 配体发射光谱信号（618nm）的光谱分离，以及 NanoBRET™ 比值的计算。

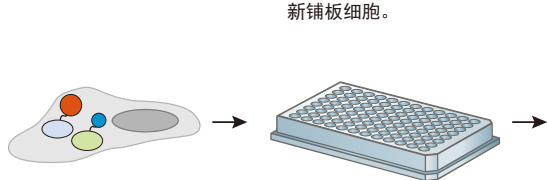
NanoBRET PPI Assay

共转染供体和受体载体。

分别在使用和不使用 HaloTag® NanoBRET™ 618 配体的条件下，重新铺板细胞。

加入 NanoBRET™ Nano Glo® Substrate，并测量供体和受体信号。

计算校正后 NanoBRET™ 比值。

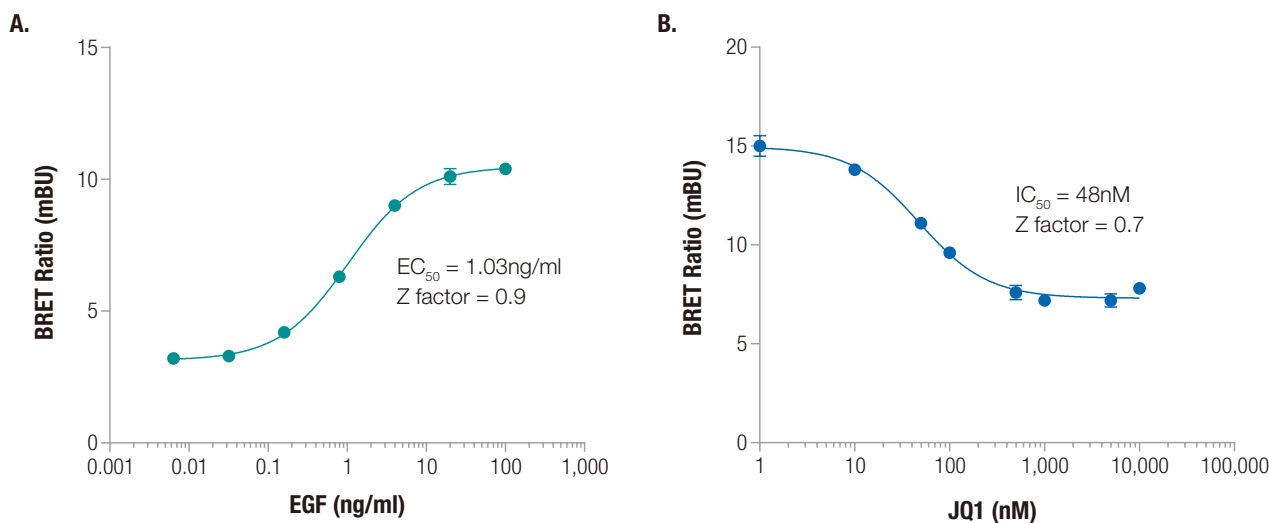


$$\text{校正后 NanoBRET}^{\text{TM}} \text{ 比值} = \frac{\text{配体} \left(\frac{618\text{nm}}{460\text{nm}} \right) - \text{无配体对照组} \left(\frac{618\text{nm}}{460\text{nm}} \right)}{\text{比值}}$$

NanoBRET™ 检测方法概述。

GloMax Discover System

NanoBRET 比值与细胞数量无关，且下述 Z 因子表明，与其他比值检测方法一样，NanoBRET 的变异性较小且重现性较好。



BRET 比值显示蛋白相互作用的诱导和抑制示例。图 A. EGF 诱导 EGFR/GRB2 相互作用的活化。图 B. JQ1 抑制 BRD4/ 组蛋白 H3.3 相互作用。

了解真实的生物学机制

- 使用与活细胞兼容的试剂获取实时数据
- 检测低表达水平
- 使用全长蛋白或片段。

灵活、耐用且可扩展从而满足您的特定需求

- 高通量，可与 96 孔板或 384 孔板兼容
- 检测变异性小且重现性好
- 检测蛋白相互作用的诱导和解离
- 在活细胞中筛选小分子物质。

选择 Starter System、预制或定制 NanoBRET 检测试剂盒

目前有多种 NanoBRET PPI 检测试剂盒可供选择，从而满足特定需求。

预制 NanoBRET PPI 检测试剂盒

产品目录中提供了预制、优化后 NanoBRET PPI 检测试剂盒或其作为定制检测材料予以提供，适用于一系列蛋白质家族，包括：

- 溴结构域 / 组蛋白和其他表观遗传靶标
- 转录蛋白检测试剂盒
- 信号蛋白和激酶检测试剂盒
- 膜蛋白检测试剂盒

预制检测试剂盒包含优化后载体、PPI 阳性对照载体对（p53/MDM2）、检测方案和可于 96 孔板模式进行 400 次检测或可于 384 孔板模式进行 1000 次检测的足量试剂等组分。若需获取更多信息以及是否可购买，请访问：www.promega.com/NanoBRET

NanoBRET PPI Starter System

NanoBRET PPI Starter System 包含您自建检测方法的所有组分。NanoBRET PPI Starter System 随附用于制备表达靶蛋白与 NanoLuc 萤光素酶或 HaloTag 标签融合蛋白的载体，以及可进行 200 次检测的足量检测试剂。

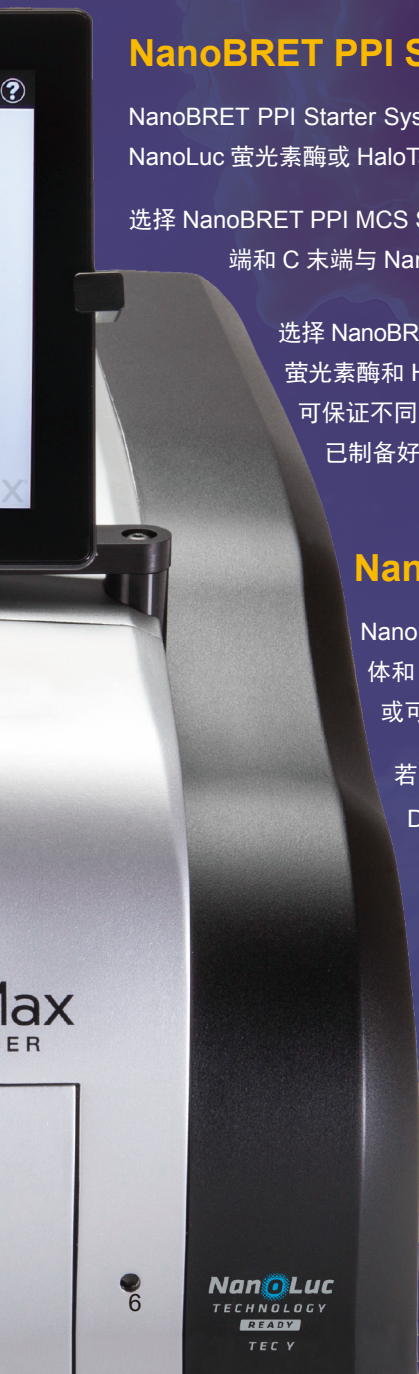
选择 NanoBRET PPI MCS Starter System，使用传统的克隆方法将靶蛋白插入对应载体的多克隆位点（MCS），以制备 N 末端和 C 末端与 NanoLuc 萤光素酶和 HaloTag 标签融合的靶蛋白。

选择 NanoBRET PPI Flexi[®] Starter System 并使用 Flexi Vector Cloning System 制备 N 末端和 C 末端与 NanoLuc 萤光素酶和 HaloTag 标签融合的靶蛋白。此方法为基于 2 种稀切限制性内切酶（SgfI 和 PmeI）的定向克隆方法，可保证不同 Flexi Vector 转移蛋白质编码区过程中的高保真度且无需重新测序。Find My Gene[™] 服务包括多种已制备好的 ORF 克隆体（Flexi 模式），以帮助您更简单的获得融合蛋白。

NanoBRET 阳性对照

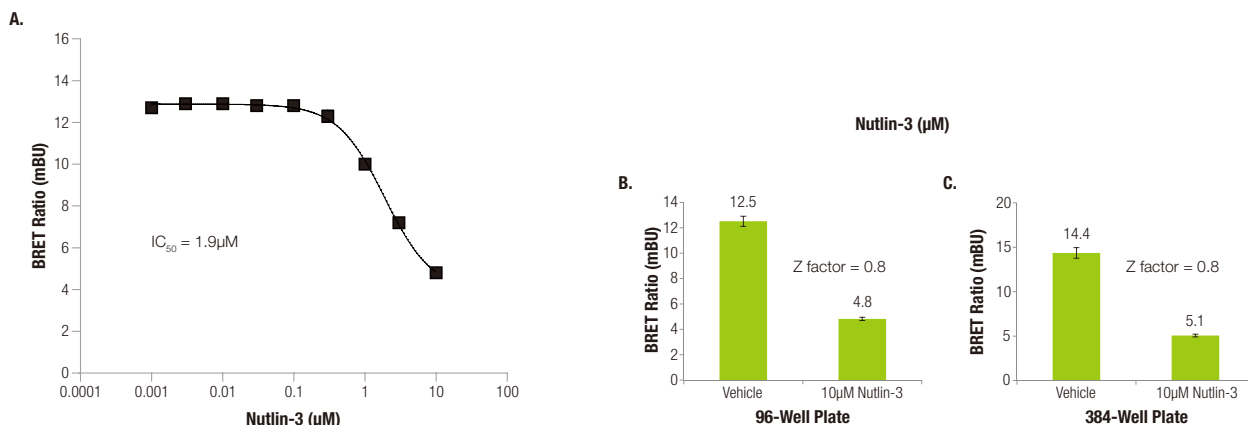
NanoBRET 阳性对照包括转染运载体 DNA 和编码 NanoLuc-HaloTag 融合蛋白的载体（将 NanoLuc 供体和 HaloTag 受体连接在一起，从而确保能量有效转移）。对照载体可在设置仪器时用作阳性信号对照或可在进行其他 NanoBRET 检测时用作参比对照。

若需进行 NanoBRET PPI 检测，则需使用可连续测量双波长窗口的微孔板读数仪（例如 GloMax[®] Discover 仪器）。



NanoBRET PPI Positive Control Pair (p53, MDM2)

NanoBRET PPI Control Pair 为一对优化后载体，适用于使用 NanoBRET 检测试剂盒测量蛋白伴侣 p53 和 MDM2 之间的相互作用。p53/MDM2 蛋白对可产生较强的 NanoBRET 信号，可用于进行仪器设置时使用或在进行其他 NanoBRET PPI 检测时用作参比对照。



p53/MDM2 NanoBRET™ PPI Control Pair 的代表数据。图 A. 特异性抑制剂 Nutlin-3 的量效曲线 (DRC) 图 B 和图 C. 96 孔模式 (图 B) 和 384 孔模式 (图 C) 的单个给药测量值和 Z 因子计算。数据生成通过配备 450nm/8nm BP 和 600nm LP 滤波器的 GloMax® Discover System 完成。

产品	规格	目录号
NanoBRET™ PPI MCS Starter System**	每份 1 个	N1811
NanoBRET™ PPI Flexi Starter System**	每份 1 个	N1821
NanoBRET™ Nano-Glo® Detection System	200 次检测 (96 孔板) 500 次检测 (384 孔板)	N1661
NanoBRET™ Nano-Glo® Detection System	1,000 次检测 (96 孔板) 2,500 次检测 (384 孔板)	N1662
NanoBRET™ Nano-Glo® Detection System	10,000 次检测 (96 孔板) 25,000 次检测 (384 孔板)	N1663
NanoBRET™ Positive Control	2 x 20 μg	N1581

** 包括 NanoBRET™ PPI control pair (p53/MDM2)

Start with a pre-designed and optimized NanoBRET™ PPI Assay				
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 TEAD4/YAP1
CALR WT/MPL	EZH2/Suz12	IRF5/IRF5 Dimer	P53/MDM2	TEAD1, TEAD2, TEAD3, or TEAD4/Taz1
CBP BD/H3.3 or H4	FANCD2:Ubiquitin	KDM4B/H3.3	PLIN5/ABHD5	TREM2/DAP12
CBX2/H3.1	FKBP/FRB	MAVS/IF1H1	PNPLA3/ABHD5	TUDOR/H3.3
CBX7/H3.1 or H3.2 or H3.3	FOXP3/FOXP3 Dimer	MCL-1/BIM L	PRMT5/RIOK1	WDR5/MYC

NanoBiT 蛋白：蛋白相互作用检测方法

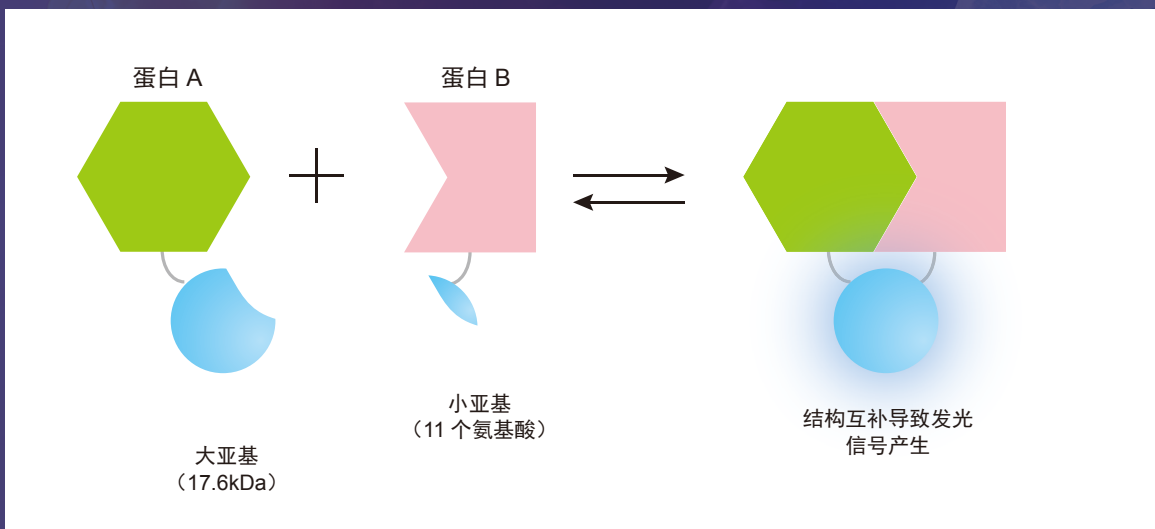
基于结构互补的 PPI

活细胞中蛋白：蛋白相互作用的灵敏检测

NanoLuc Binary Technology (NanoBiT) 通过基于结构互补的方法对活细胞内蛋白相互作用进行实时检测。

在此系统中，NanoLuc 萤光素酶被切割成两个亚基 - 大亚基 (LgBiT=158 aa) 和小亚基 (SmBiT=11 aa)，这两个亚基均已经过优化，拥有良好的稳定性、最小的自结合亲和力和互补明亮发光信号。进行蛋白间相互作用研究时，LgBiT 大亚基和 SmBiT 小亚基分别与一对靶蛋白进行融合并于细胞内进行表达。

当两种蛋白发生相互作用时，两个亚基会相互结合形成具有活性的酶并在底物存在的条件下产生明亮的发光信号。经优化后，SmBiT 小亚基与 LgBiT 大亚基之间亲和力较低，因此结构互补是由靶蛋白之间相互作用所驱动。



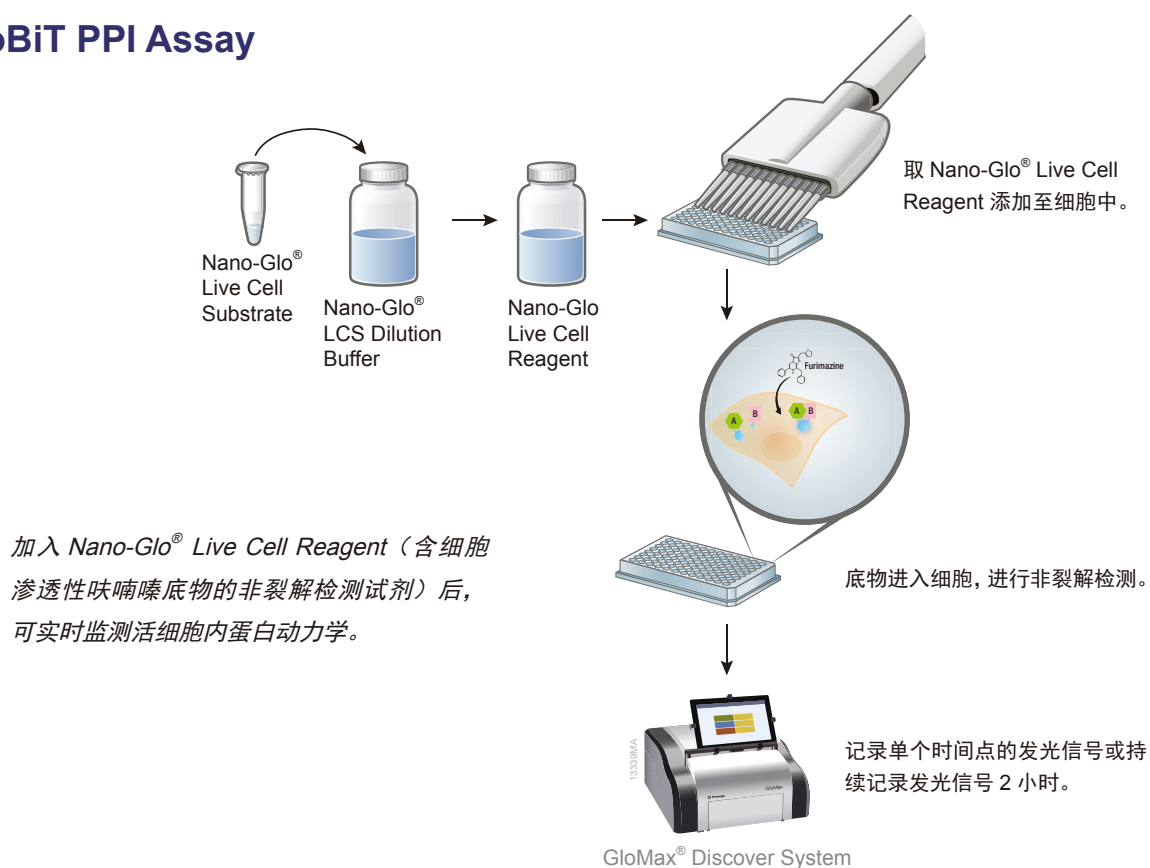
大亚基和小亚基与蛋白 A 和蛋白 B 发生融合。当未发生相互作用时，由于 LgBiT 大亚基和 Sm BiT 小亚基之间的自联作用较弱 ($KD = 190\mu M$)，因此光信号强度较弱。当蛋白 A 和蛋白 B 发生相互作用时，LgBiT 大亚基和 SmBiT 小亚基相互结合并形成极为明亮的发光酶。

由于 LgBiT 大亚基与 SmBiT 小亚基之间的相互作用完全可逆，因此可将其用于研究蛋白缔合和解离事件，而 split GFP 技术则仅可用于研究蛋白缔合。

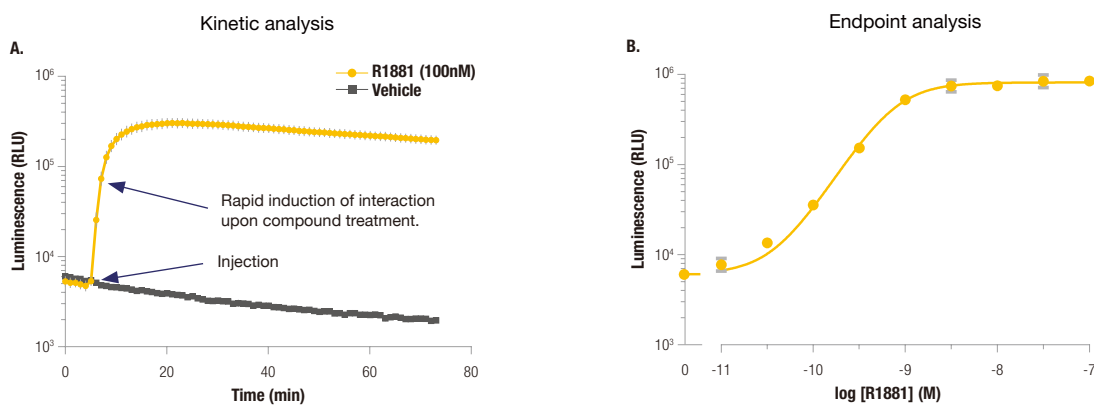
由于 NanoBiT 互补伴侣的分子量较小，因此其对正常蛋白功能的影响极小，且当表达水平（内源性表达水平）较低时，也可产生明亮发光信号。基于 NanoBiT 亚基之间的自联亲和性较弱以及活细胞检测这两项特征，因此可实现蛋白相互作用的动态、实时分析。



NanoBiT PPI Assay



NanoBiT 检测试剂盒（采用终点分析法或动态分析法）可用于监测蛋白相互作用（包括诱导或抑制）的变化。

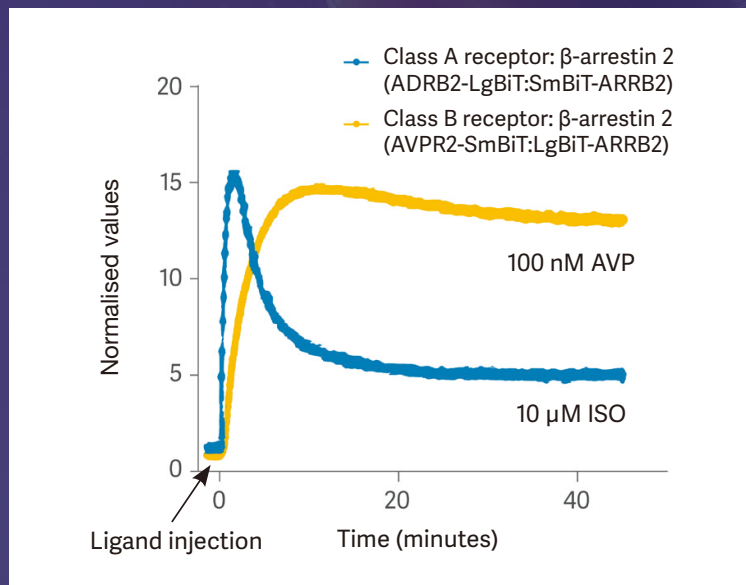


用雄激素受体(AR)的LgBiT 和 SmBiT 融合蛋白转染 HEK293 细胞, 然后孵育过夜。图 A. 进行 AR 二聚作用的动态测量时, 于 37°C 条件下测量 30 分钟内的发光信号。然后向孔中注入溶媒或最终浓度为 100nM 的 R1881 (AR 激动剂), 从而刺激二聚作用并持续测量发光信号 60 分钟。图 B. 进行 AR 二聚作用终点分析时, 向孔中注入不同浓度 R1881, 并于加入化合物 30 分钟后测量发光信号。

示例应用：GPCR 相互作用

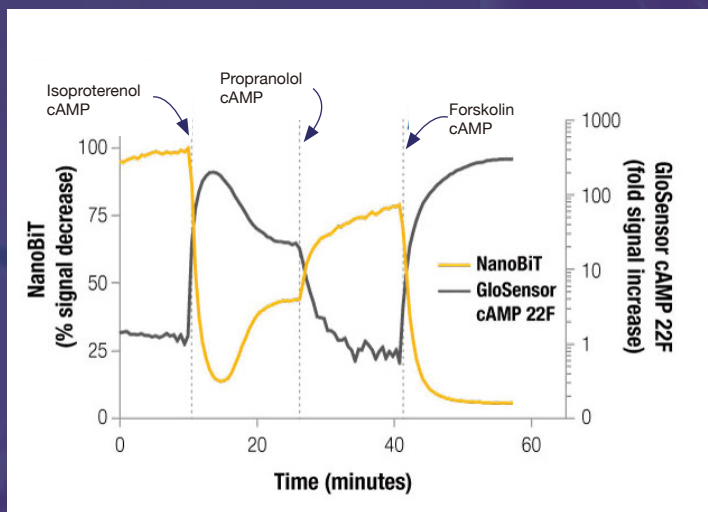
G 蛋白偶联受体（GPCR）属于跨膜受体大家族的一员，可将细胞外部的信号传递至细胞内部。当 GPCR 与配体结合时，其与 G 蛋白、GPCR 激酶和 β -抑制蛋白之间的相互作用对于信号转导和衰减尤为关键。

配体诱导 β -抑制蛋白募集实时监测



β -抑制蛋白-2 (ARRB2) 与 A 类 β 2-肾上腺素受体 2 (ADRB2) 和 B 类精氨酸加压素受体 2 (AVPR2) 的相互作用。分别用激动剂异丙肾上腺素 (10 μ M ISO) 和肽激素精氨酸加压素 (100nM AVP) 诱导相互作用。如预期，A 类受体的再循环速度更快且与 β -抑制蛋白-2 发生瞬时结合，而 B 类受体的再循环速度则较慢且与 β -抑制蛋白-2 之间的结合作用则较为稳定。

蛋白激酶 A (PKA) 复合物的缔合和解离



用 SmBiT PRKACA 和 LgBiT-PRKAR2A 对照载体转染 HEK293 细胞。过夜孵育后，使用异丙肾上腺素 (ADRB2 激动剂)、普萘洛尔 (ADRB2 激动剂)、和佛司可林 (腺苷酸环化酶激活剂) 对细胞进行处理，从而调节 cAMP 水平。NanoBiT® PRKACA: PRKAR2 相互作用可被轻易逆转，表明 cAMP 水平升高可导致快速解离和 cAMP 水平降低可导致快速缔合。还使用了 GloSensor™ cAMP 检测试剂盒对细胞内 cAMP 水平变化进行了监测，结果表明 cAMP 水平与 PRKACA: PRKAR2 相互作用呈负相关性。

NanoBiT PPI Starter System

NanoBiT 包括两个 Starter System（其随附用于制备 LgBiT 和 SmBiT 融合蛋白所需载体、PRKACA: PRKAR2A 组成型相互作用型阳性对照对和阴性对照载体）。

Starter System 还随附 Nano-Glo Live Cell Assay System，一种用于监测活细胞内 NanoBiT 发光信号的单次添加、非裂解检测试剂。使用 Nano-Glo LCS Dilution Buffer 稀释 Nano-Glo Live Cell Substrate，可制得此试剂。底物和缓冲溶液均已经优化，其在存在或不存在血清条件下，均可保证较好的稳定性并降低自发光信号，从而提高检测低水平 NanoBiT 发光信号时的灵敏度。

FKBP: FRB（用作可诱导阳性对照）需单独购买。

HSV-TK 启动子驱动表达，用于哺乳动物细胞内进行低水平、组成型表达。

可使用 FuGENE® HD 或 ViaFect® 转染试剂将 LgBiT 和 SmBiT 融合蛋白转染至目标细胞系中。

NanoBiT 的优点：

- 融合标签分子量小且稳定，对融合伙伴功能的影响极小
- 采用非裂解检测方案实时检测蛋白相互作用
- 发光信号极为明亮，因此可检测内源性表达水平的蛋白相互作用
- 融合伴侣可于极低水平表达，从而将伪影信号降至最低水平
- SmBiT 和 LgBiT 经优化后，可用于检测可逆相互作用且可将非特异性缔合降至最低水平
- 检测全长蛋白、片段或突变体的相互作用
- 工作流程简单，无需专用检测技术
- 已针对 96 孔板、384 孔板和 1536 孔板模式进行了验证

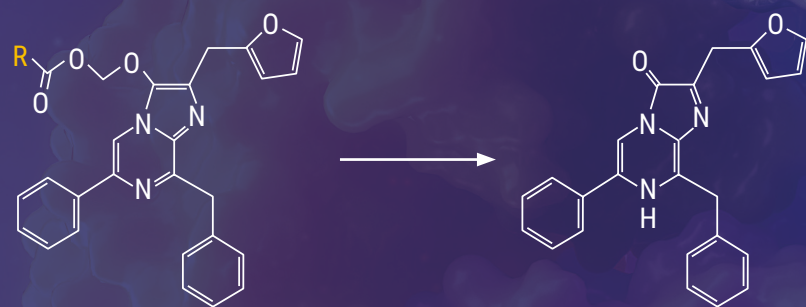
订购信息

产品	规格	目录号
NanoBiT® PPI MCS Starter System	每份 1 个	N2014
NanoBiT® PPI Flexi Starter System	每份 1 个	N2015
Nano-Glo® Live Cell Assay System	100 次检测（96 孔板）	N2011
Nano-Glo® Live Cell Assay System	1,000 次检测（96 孔板）	N2012
Nano-Glo® Live Cell Assay System	10,000 次检测（96 孔板）	N2013
Nano-Glo® PPI Control Pair (FKBP, FRB)	每份 1 个	N2016

Nano-Glo[®] Extended Live Cell Substrates- Endurazine[™] 和 Vivazine[™]

持续检测活细胞内 NanoLuc 或 NanoBiT 报告基因活性数小时或数天

由于会发生信号衰减，因此使用 Nano-Glo Live Cell Assay System 进行活细胞、非裂解检测的持续时长应 ≤ 2 小时。Nano-Glo Endurazine 和 Vivazine Live Cell Substrate 为 NanoLuc 和 NanoBiT 荧光素酶提供了其他活细胞检测方法，从而使得非裂解检测的持续时间达数小时至数天。

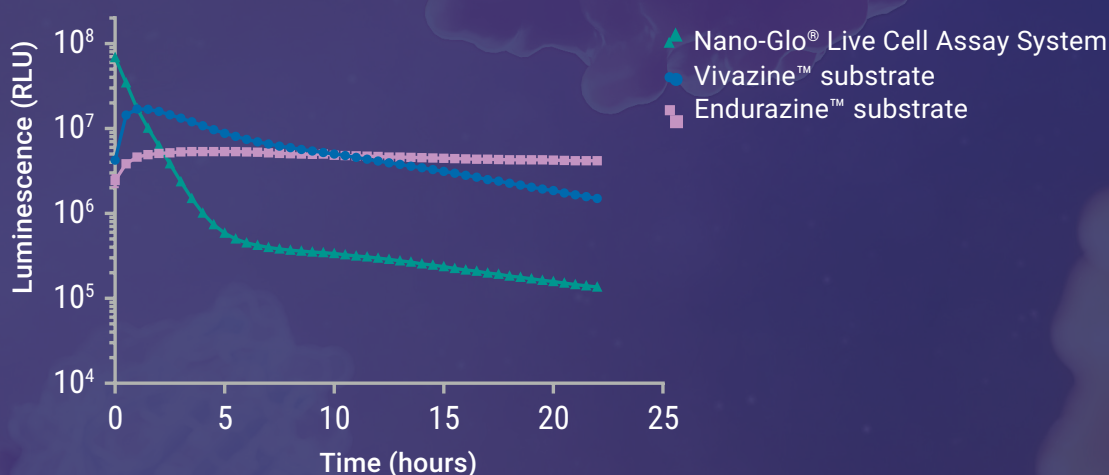


Endurazine[™] 和 Vivazine[™]
活细胞底物

呋喃嗪

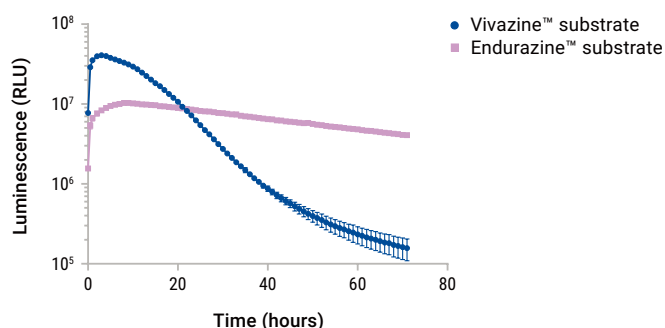
Endurazine[™] 和 Vivazine[™] 转化为呋喃嗪。酯酶酶切保护基 (R) 可释放呋喃嗪 (NanoLuc[®] 和 NanoBiT[®] 荧光素酶的底物)。

对于这两种底物而言，由于酯水解反应（由细胞酯酶催化）速率较为缓慢，因此整个实验过程中呋喃嗪释放速率均较为稳定。生成的呋喃嗪为 NanoLuc 和 NanoBiT 荧光素酶的底物



比较 Nano-Glo[®] Endurazine[™]、Vivazine[™] 底物与 Nano-Glo[®] Live Cell Assay System。将编码 NanoLuc[®] 荧光素酶的质粒（由 PGK 启动子驱动）瞬时转染至 HEK293 细胞中，并测量发光信号强度。

与 Endurazine 底物相比，Vivazine 底物一般具有更高的明亮度，但其信号衰减速度也更快。与其他 Nano-Glo Live Cell Substrates 相比，Endurazine 底物的信号稳定性最好，但其初始信号强度较低。



比较 72 小时内 Nano-Glo® Endurazine™ 和 Vivazine™ 信号。将编码 NanoLuc® 萤光素酶的质粒（由 HSV-TK 启动子驱动）瞬时转染至 HEK293 细胞中，并持续测量发光信号强度 72 小时。

订购信息

产品	规格	目录号
Nano-Glo® Endurazine™ Live Cell Substrate	0.1ml	N2570
Nano-Glo® Endurazine™ Live Cell Substrate	1ml	N2571
Nano-Glo® Endurazine™ Live Cell Substrate	10ml	N2572
Nano-Glo® Vivazine™ Live Cell Substrate	0.1ml	N2580
Nano-Glo® Vivazine™ Live Cell Substrate	1ml	N2581
Nano-Glo® Vivazine™ Live Cell Substrate	10ml	N2582
Nano-Glo® Extended Live Cell Substrates (Trial Size)	0.2ml	N2590



NanoBRET 与 NanoBiT- 哪种技术更佳？

NanoBiT 和 NanoBRET 技术均非常适用于测量蛋白与蛋白之间的相互作用，那么您该如何作出选择呢？首先应明确的是您所在实验室是否了解共振能量转移检测方法，且是否配有可检测此类相互作用的特定仪器。进行 NanoBRET 检测时，需使用可连续测量双滤光发光信号且配备合适滤波器的仪器。

借助专用成像设备，这两种技术均可实现体内或体外成像。下表列出了这两种技术的部分异同点，从而帮助您选择最契合您实验目标的检测方法：

NanoBRET 与 NanoBiT- 相似之处	
可实现活细胞动态检测	
基于转染的克隆	
需对标记蛋白对的 8 种可能组合形式进行测试	
需于稳定细胞内表达两个蛋白伴侣	
借助专用成像，均可实现生物发光成像。	
NanoBRET 与 NanoBiT- 不同之处	
NanoBRET	NanoBiT
需测量经滤光后的发光信号	需测量标准发光信号
必须对供体（NanoLuc 融合载体）与受体（HaloTag 融合载体）比例进行优化	一般来说，进行 PPI 检测时，SmBiT 和 LgBiT 载体比值应为 1:1
由于需添加多种试剂，因此操作流程更长	由于仅需添加 1 种试剂，因此操作流程更短
为校正细胞数量差异，因此进行比值测量	测量信号增益或衰减，因为其对细胞数量差异具有较高的敏感度
基于蛋白对的接近程度。	需亚基发生物理相互作用。

HaloTag[®] Mammalian Pull-Down System

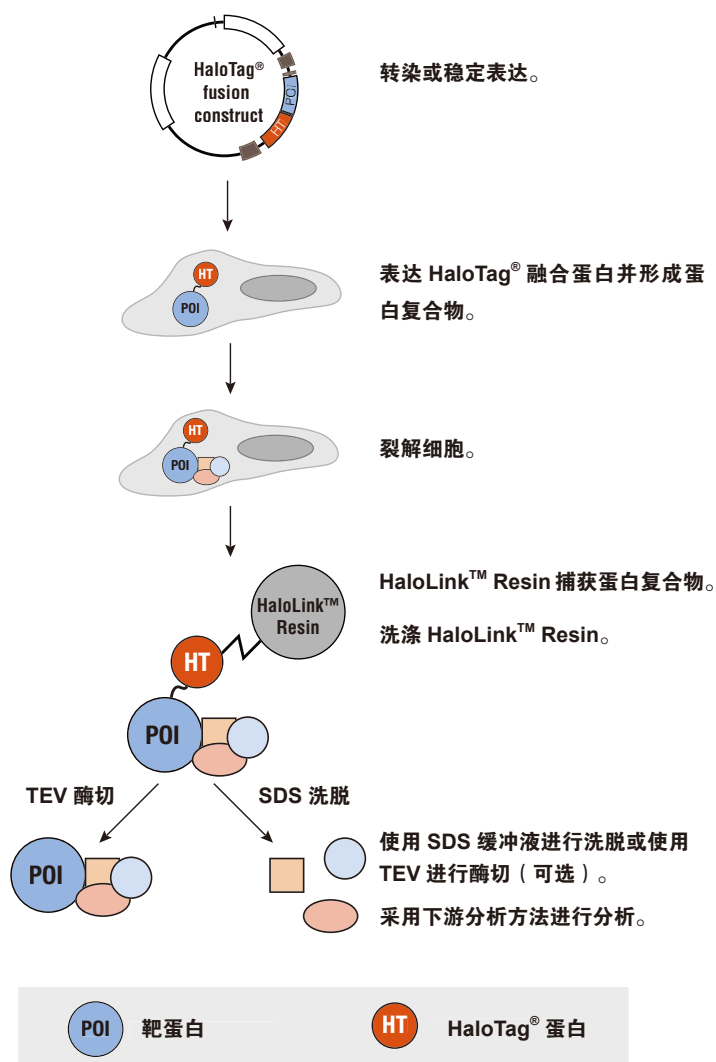
相互作用蛋白的捕获和分析。

产品描述

HaloTag[®] Mammalian Pull-Down System 用于分离和鉴别哺乳动物细胞内蛋白复合物。HaloTag[®] 融合蛋白可与 HaloLink[™] Resin 形成高特异性共价键，因此即使当诱饵蛋白表达水平极低（内源性水平）时，也可快速、有效地捕获蛋白复合物。鉴于 HaloTag[®] Mammalian Pull-Down System 具有这些优点且 HaloLink[™] Resin 发生非特异性结合的可能性较低，因此在哺乳动物细胞中捕获蛋白复合物和识别具有生理意义的蛋白相互作用的成功率较高。HaloTag[®] Mammalian Pull-Down and Labeling System 还随附提供 HaloTag[®] TMRDirect[™] Ligand，该配体可实现蛋白表达水平的优化，使用相同 HaloTag[®] 基因构建体研究细胞定位、转运和蛋白转换。

原理

HaloTag[®] pull-down System 的基本实验方案如图 6.7 所示。HaloTag[®] 融合蛋白可于哺乳动物细胞进行瞬时或稳定表达，且可用作捕获相互作用蛋白或蛋白复合物的诱饵蛋白。细胞裂解后，HaloTag[®] 融合蛋白与其相互作用蛋白伴侣发生结合，并被 HaloLink[™] Resin 捕获。使用 SDS 洗脱缓冲液（或 8M 尿素等其他变性条件）轻轻洗涤并洗脱捕获的蛋白复合物，或使用 TEV 蛋白酶 * 切下树脂上蛋白复合物。可采用多种方法（包括蛋白印迹分析法和质谱法）对回收的蛋白复合物进行分析。



HaloTag[®] Mammalian pull-Down System 原理图

功能和优点

- **捕获量增加：**HaloTag® 蛋白可快速与树脂发生共价结合，因此蛋白伴侣（包括瞬时相互作用蛋白）捕获量增加。
- **兼容性：**与所有下游分析方法（包括质谱法）的兼容性良好。
- **可对 HaloTag® 融合蛋白进行荧光标记：**优化蛋白表达水平并实现细胞蛋白定位。

其他信息

* 也可单独购买 TEV 蛋白酶。

参考文件

Galbraith, M.D. *et al.* (2013) HIF1A Employs CDK8-Mediator to Stimulate RNAPII Elongation in Response to Hypoxia. *Cell* **153**(6), 1327-39.

Kalashnikova, A. *et al.* (2013) Linker histone H1.0 interacts with an extensive network of proteins found in the nucleolus. *Nucl. Acids Res.* **41**(7) 4026-35.

订购信息

产品	目录号
HaloTag® Mammalian Pull-Down System	G6504
HaloTag® Mammalian Pull-Down and Labeling System	G6500
HaloTag® TMRDirect™ Ligand	G2991

HaloCHIP™ System

蛋白：DNA 相互作用的捕获。

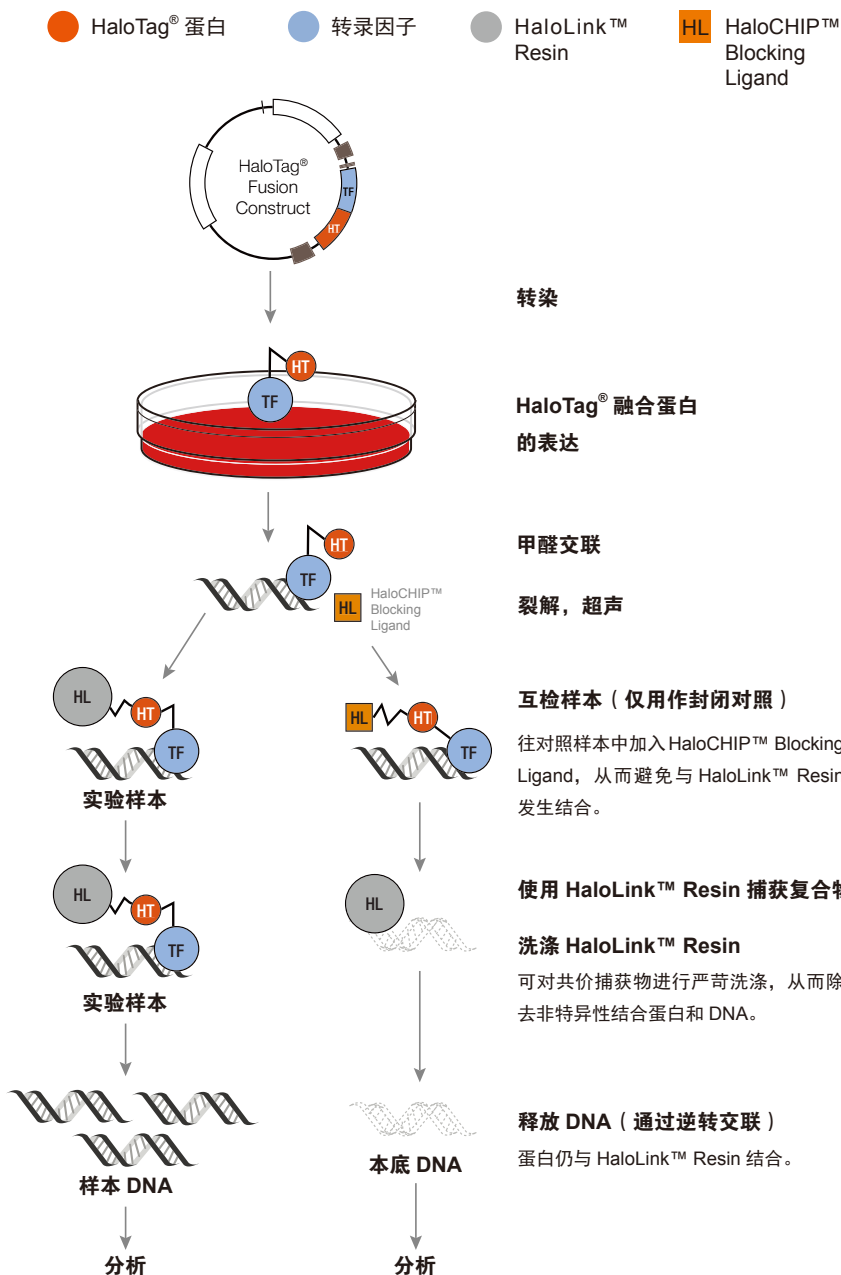
产品描述

HaloCHIP™ System 用于共价捕获（不使用抗体）细胞内蛋白：DNA 复合物。此试剂盒（括 HaloLink™ Resin、Mammalian Lysis Buffer、Wash Buffer 和 HaloCHIP™ Blocking ligand 等组分）高效且耐用性良好，可用于替代标准染色质免疫沉淀（ChIP）方法。

原理

靶蛋白（例如转录因子）以 HaloTag® 融合蛋白这一形式表达于细胞内，并在存在甲醛的条件下与 DNA 发生交联，然后被 HaloLink™ Resin 捕获（共价结合）。可于严苛条件下对共价捕获物充分进行洗涤，但是使用抗体和其他非共价标签进行下拉实验时则无法在此类条件下进行洗涤。由于可于严苛条件下进行洗涤，因此检测 DNA 片段的本底信号更低且信背比更大。共价捕获后，通过严苛洗涤方式除去非特异性结合的核蛋白和 DNA 并进行加热从而逆转 DNA 与 HaloTag® 标记转录因子所发生的交联，进而释放 DNA 以供后续分析（采用 RT-PCR 或测序技术）。

采用 HaloTag® 技术共价捕获染色质复合物



功能和优点

- 无需抗体：无需 ChIP 级抗体。
- 快速获取结果：24-48 小时内便可获取数据，实验步骤少，可将实验误差和伪影信号降至最低水平。
- 信背比更大：使用极少量细胞便可检测蛋白结合方式的细微变化。

参考文件

Nagaki, K. *et al.* (2012) Isolation of centromeric-tandem repetitive DNA sequences by chromatin affinity purification using a HaloTag7-fused centromere-specific histone H3 in tobacco. *Plant Cell Rep.* **31**(4), 771-9.

Felder, T. *et al.* (2011) Characterization of novel proliferator-activated receptor gamma coactivator-1alpha (PCG-1alpha) in human liver. *J. Biol. Chem.* **286**, 42923-36.

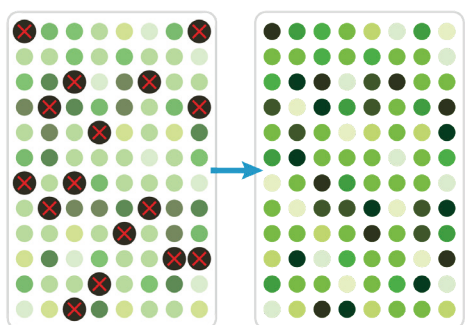
订购信息

产品	目录号
HaloCHIP™ System	G9410

可满足您需求的合适仪器

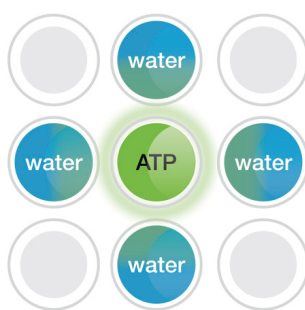
GloMax Discover、Explorer 和 Navigator 均是目前一流的多模式微孔板读数仪，这些仪器均具备发光信号、荧光信号和吸光度检测功能（已预加载相应操作方案）和触摸屏功能。使用这些仪器时，数据分析将变得简单。

所有孔的结果均非常准确



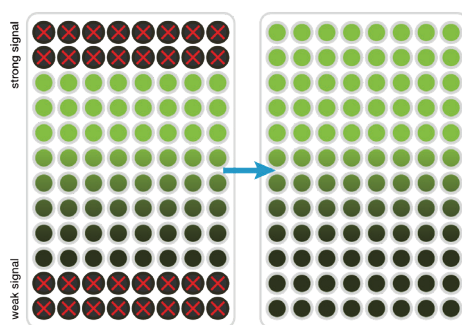
灵敏度极佳，因此您不会错过任何数据

GloMax 微孔板读数仪的灵敏度极佳且具备自动增益调整功能，因此您可于同一板上同时测量弱信号和强信号。



掩蔽功能，因此串扰不会对您的结果造成不利影响

GloMax 微孔板读数仪的掩蔽设计可保证邻孔间信号不会彼此串扰，因此结果偏差较小。



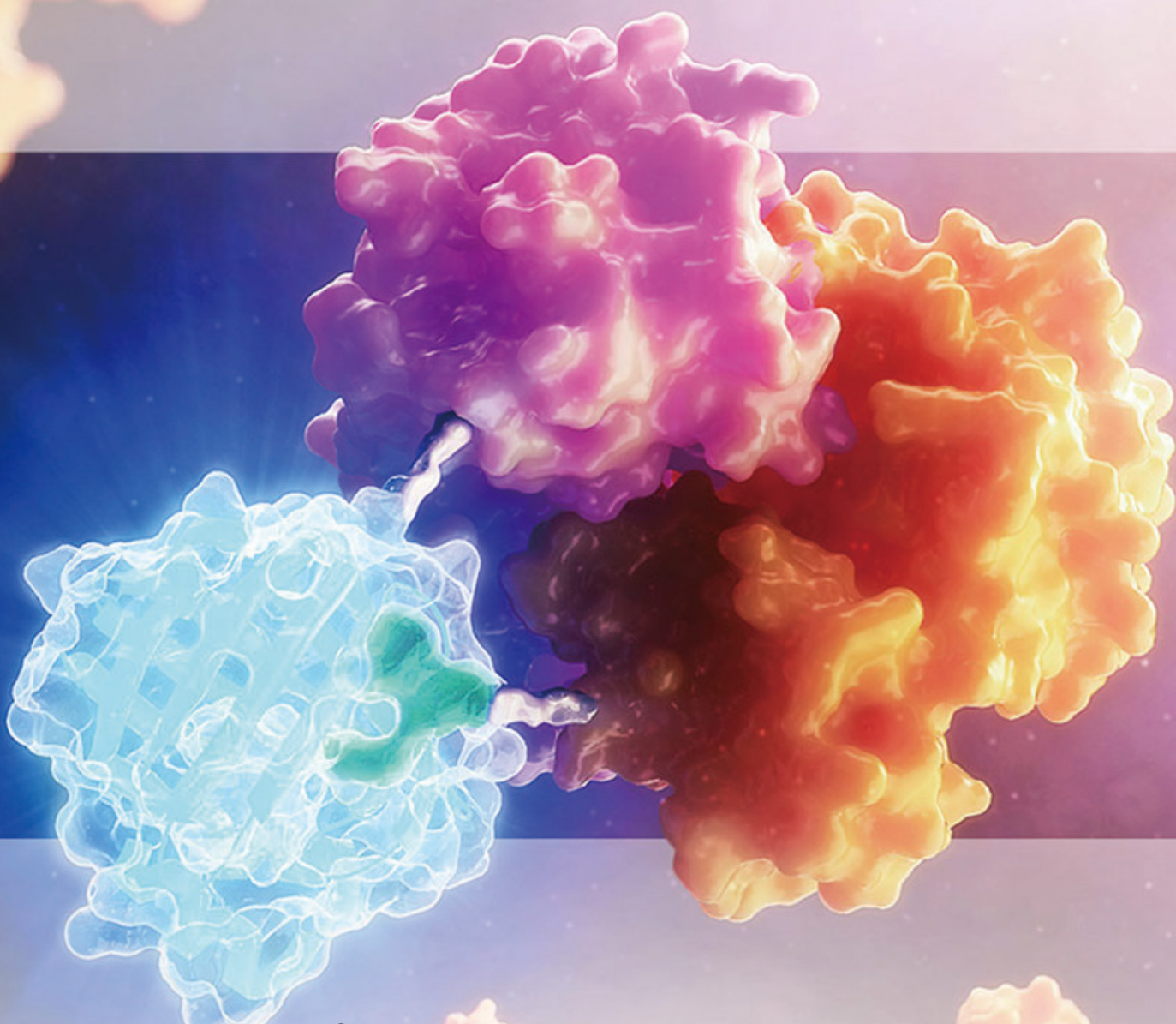
检测范围广，因此您的实验不再具有局限性

由于 GloMax 仪器的检测范围广，因此您可测量从高强度至接近生理水平的所有信号。

订购信息

产品	目录号
GloMax [®] Discover System <i>Configured with Luminescence, Fluorescence, UV-Visible Absorbance and BRET/FRET</i>	GM3000
GloMax [®] Explorer System <i>Configured with Luminescence, Fluorescence and Visible Absorbance</i>	GM3500
GloMax [®] Explorer System <i>Configured with Luminescence and Fluorescence</i>	GM3510
GloMax [®] Navigator System <i>Configured with Luminescence</i>	GM2000
GloMax [®] Navigator System <i>Configured with Luminescence and Dual Injectors</i>	GM2010





Promega (Beijing) Biotech Co., Ltd
普洛麦格 (北京) 生物技术有限公司

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

微网站：wechat.promega.com.cn

技术支持电话：400 810 8133(手机拨打)

技术支持邮箱：chinatechserv@promega.com



欢迎关注 Promega 官方微信