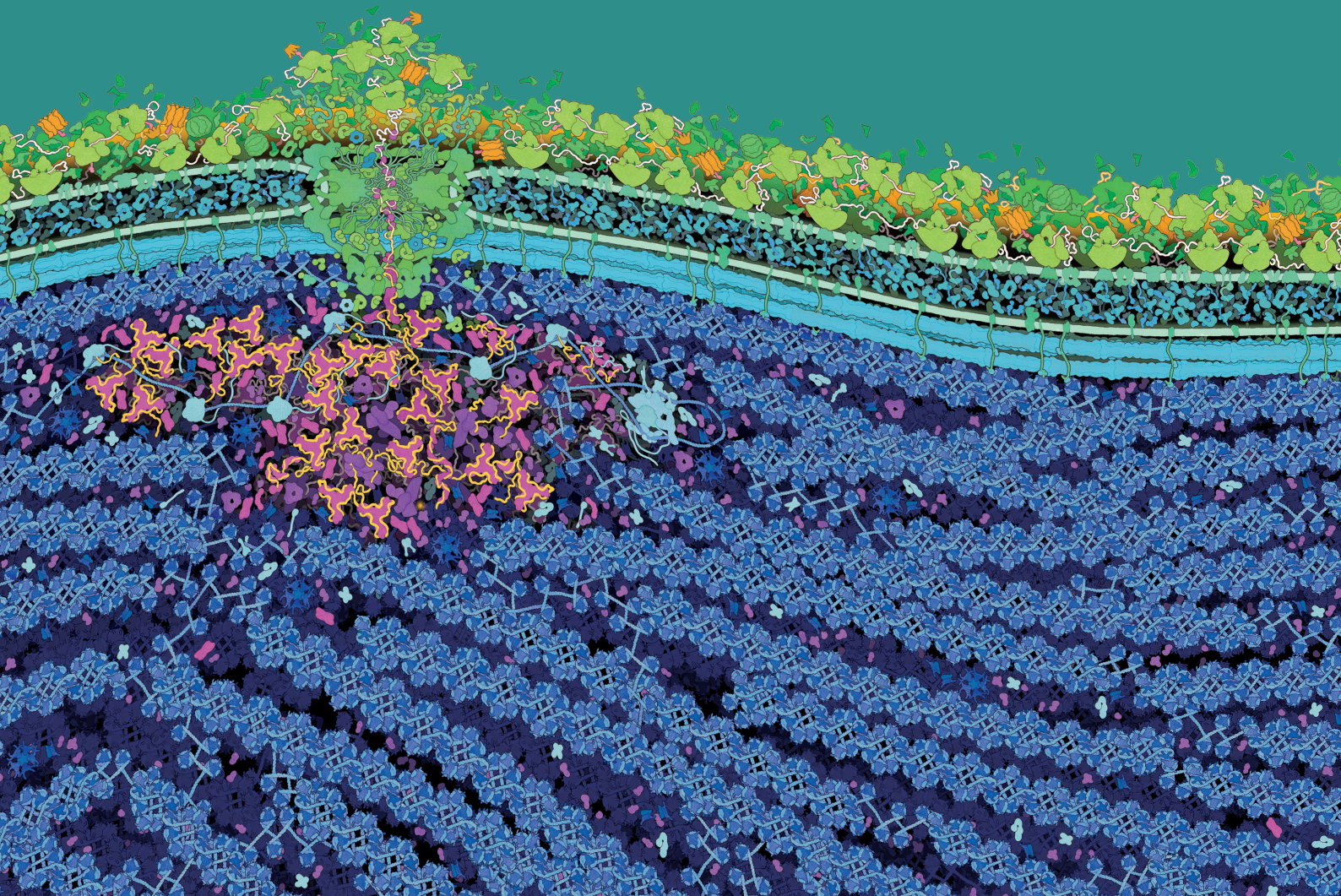




报告基因分析

Genetic Reporters

| 载体 | 检测试剂 |



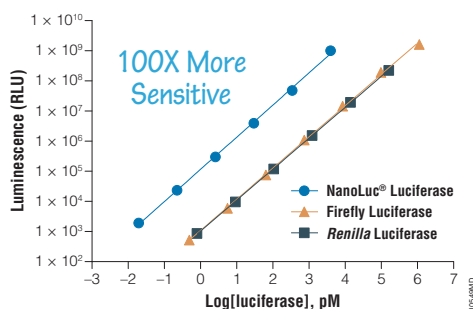
专利 NanoLuc® 萤光素酶

NanoLuc® Luciferase Technology

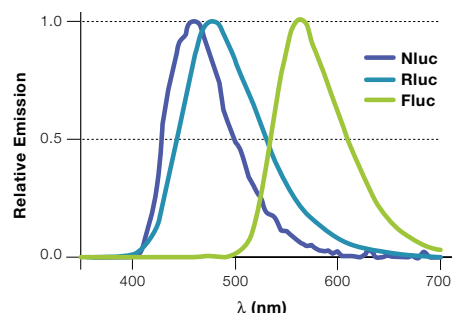
NanoLuc® luciferase (NanoLuc® 萤光素酶, Nluc) 是一个经过基因工程改造的小分子酶 (19.1kDa), 是 Promega 专利技术, 是性能卓越的生物发光报告基因。NanoLuc® 萤光素酶在上市当年被 The Scientist 杂志评选为年度十大创新产品。Furimazine, Furimazine 是 Promega 的新型专利底物。可渗透细胞, 同时还能够减少自发光和实验背景。与 NanoLuc® 反应不依赖 ATP, 可产生高强度、辉光型发光信号。生物发光反应光信号更亮, 可高达 10^{10} 。

Promega 公司拥有 NanoLuc® 萤光素酶 (又称 NanoLuc® 荧光素酶) 及底物 Furimazine 相关专利, 且 NanoLuc 为 Promega 公司官方注册商标。

- | | | | | | |
|---|-------|---------------------|---|---------|---|
| 1 | 分子量小 | 单体酶, 19kD, 171 个氨基酸 | 5 | pH 耐受性高 | pH 值 6-8 范围均有活性 |
| 2 | 结构更简单 | 没有翻译后修饰或二硫键 | 6 | BRET 友好 | $\lambda_{max}=460nm$, 更适于 BRET 实验 |
| 3 | 分布均匀 | 蛋白表达后会均匀分布在细胞中 | 7 | 热稳定性高 | $T_m=60^{\circ}C$, 室温下放置 8h, 活性仍保留 90% |
| 4 | 光信号稳定 | 辉光反应, 室温半衰期通常 >2h | | | |



上图: NanoLuc® luciferase 灵敏度要比萤火虫 (Firefly) 和海肾 (Renilla) 萤光素酶高 100 倍。



上图: NanoLuc® luciferase 与萤火虫 (Firefly) 和海肾 (Renilla) 萤光素酶的发射光谱比较。

Promega 提供的三种萤光素酶性能比较

	NanoLuc®	Firefly	Renilla
来源	细角刺虾萤光素酶突变体	鞘翅目萤火虫	腔肠动物海肾
分子量	19kD	61kD	36kD
蛋白表达	细胞内或分泌型	细胞内	细胞内
颜色	蓝色	黄绿色	蓝色
底物	Furimazine	Luciferin	coelenterazine
灵敏度	+++++	++++	++++
线性范围	10^{10}	10^8	10^8
主要应用	萤光素酶应用, 融合蛋白表达, BRET, 细胞信号通路分析	经典萤光素酶应用, 细胞信号通路分析, 调控元件功能型研究等	与 Firefly 共同使用做为内参报告基因



NanoLuc[®] 萤光素酶技术应用

Promega 在新型专利 NanoLuc[®] 萤光素酶的基础上，借助其卓越的物理特性，开发了多个技术平台，包括 NanoBiT[®] 蛋白互补技术、NanoBRET[®] 技术、HiBiT 蛋白标签系统以及 Lumit[®] 免疫检测等等，广泛应用于蛋白分析、免疫分析、病毒及药物研发等众多热门领域，极大的拓展了萤光素酶报告基因工具箱，为生命科学研究带来更多可能。



报告基因分析

- 启动子分析
- 通读翻译
- 阅读框移码
- miRNA 调控



蛋白功能分析

- 内源性蛋白功能研究
- 细胞蛋白表达定量
- 蛋白：蛋白相互作用



免疫学分析

- 细胞因子检测
- 蛋白磷酸化检测
- 新生儿 Fc 受体检测



病毒研究

- 病毒的生命周期
- 病毒：宿主相互作用
- 病毒的致病机理
- 体内体外的传播



生物发光成像

- 活细胞成像
- 小动物活体成像



小分子药物研发

- 药物：靶标结合检测
- 靶蛋白降解 PROTACs
- GPCR 信号通路研究
- RAS 通路研究

生物发光报告基因能以简便且灵敏的方式反映出基因表达事件。尽管常用作评估启动子活性的手段，但其也可用于评估基因表达的其他方面，如剪接、翻译通读及 miRNA 调控。NanoLuc® 萤光素酶的小体积、高亮度以及多样化的检测方式，使其成为一系列遗传报告基因应用的理想选择。

报告基因操作中的瞬时转染与稳定转染

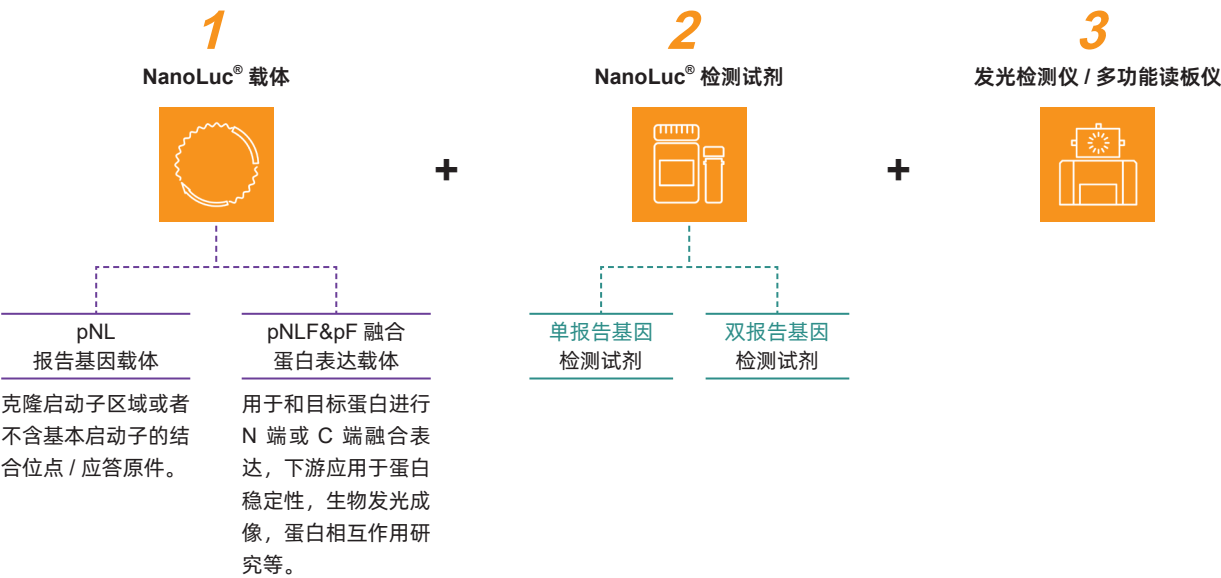
瞬时转染：载体携带的外源基因并没有转染到细胞的染色体上而是存在于游离的载体上，可以在短时间内获得基因的表达产物，但是随着细胞的不断分裂增殖外源基因最终会丢失，无法继续进行重组蛋白的生产。需要每次进行转染，因此需通过在目的报告基因以外，再同时转染一个作为内参的报告基因来进行归一化，去掉每次转染和细胞数量带来的差异。

稳定转染：要使用带有稳定筛选抗性的载体，外源基因转染至细胞染色体上，目的基因不会随着细胞传代而消失，能够长期稳定的表达目的蛋白。通过稳定转染（稳定细胞系构建）能够实现长期、稳定的生产重组蛋白。

转染方式	报告基因载体	报告基因检测试剂
瞬时转染	双报告基因载体 -NanoLuc® 萤光素酶 /Firefly 萤光素酶	双报告基因检测试剂
稳定转染	带有稳定筛选抗性 marker 的 NanoLuc® 载体	单报告基因检测试剂

报告基因检测的核心组成部分：

包括编码 NanoLuc® 萤光素酶的载体与相应的检测试剂，搭配高灵敏度的具有发光检测功能的单功能或多功能读板仪。Promega 提供广泛选择的 NanoLuc® 报告基因载体和试剂，并配备了多种工具，旨在助力您高效搭建个性化的 NanoLuc® 遗传报告检基因分析平台。

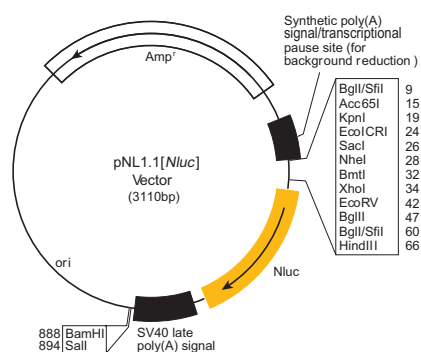




1. 载体

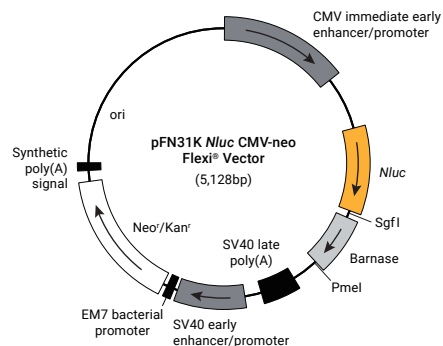
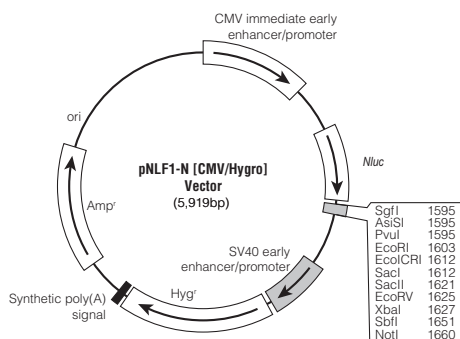
① 应答元件-报告基因载体-pNL 载体

	pNL 载体
用途	克隆启动子区域或者不含基本启动子的结合位点 / 应答原件。
载体特点	pNL 载体系列以 pGL4 为基础设计，以方便从现有的质粒上进行序列转移。载体骨架设计去掉了许多转录因子结合位点和其他潜在的调控元件以减少非特异性结合的发生。
克隆方式	多克隆位点 MCS
载体骨架大小	~3.1kb
报告基因	NanoLuc [®] 萤光素酶
商品化载体类型	- 无启动子 - 含 minP 或组成型启动子 - 带筛选标记 - 带预构建应答原件
配套检测底物	终点法和活细胞检测底物试剂盒



② 融合蛋白表达-pNLF&pF 载体

	pNLF 载体	pF 载体系列
用途	融合蛋白表达载体可方便的构建 N- 或 C- 端融合 Nluc 和您感兴趣蛋白组成的融合蛋白	
载体特点	基于经典的 MCS 位点进行克隆	基于先进的 Flexi 技术进行克隆，更快更简单
克隆方式	多克隆位点 (MCS)	Flexi 克隆
载体骨架大小	5.9-6kb	5.1-6.3kb
报告基因	NanoLuc [®] 萤光素酶	
组成型启动子	CMV	
商品化载体类型	- N 端表达载体 - C 端表达载体 - 分泌型表达载体 - 预构建载体	- N 端表达载体 - C 端表达载体
配套检测底物	终点法和活细胞检测底物试剂盒	





2. 检测试剂

① 单报告基因检测系统选择指导

NanoLuc® 单报告基因检测系统根据检测方式的不同分为终点法检测系统（即裂解细胞后检测）和活细胞实时检测系统 2 种类型。

	终点法检测	活细胞检测系统		
产品	Nano-Glo® Luciferase Assay	Nano-Glo® Live Cell Assay System	Nano-Glo® Vivazine™ Live Cell Substrate	Nano-Glo® Endurazine™ Live Cell Substrate
检测模式	均质裂解法	活细胞实时		
检测类型	裂解细胞或转移上清检测	多时间点活细胞动态监测		
灵敏度	+++++	++++	+++	++
信号类型	辉光	辉光	辉光	辉光
半衰期	~2 小时	~2 小时	~12 小时	~72 小时
应用场景	试剂含有完整的裂解缓冲液成分，可直接用于检测表达 NanoLuc® 萤光素酶的细胞或检测分泌了萤光素酶的培养基。	- 检测活细胞内 NanoBiT® 或 NanoLuc® 发光信号。 - 可用于检测自定义时间点的发光信号或者连续检测发光信号达 2 小时；同时不损害细胞活力。	- 检测活细胞内 NanoBiT® 或 NanoLuc® 发光信号。 12 小时内的长时间点检测。	- 检测活细胞内 NanoBiT® 或 NanoLuc® 发光信号。 72 小时内的长时间点检测。

② 双报告基因检测系统

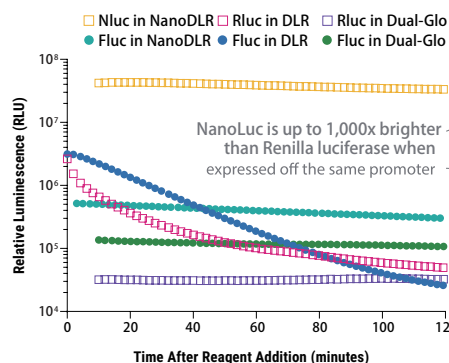
Nano-Glo® Dual-Luciferase® Reporter (NanoDLR™) Assay System 是 Promega 全新推出的一款双报告基因检测系统。该系统提供均质法检测试剂，能够在一个样品中先后检测萤火虫萤光素酶 (Photinus pyralis) 和 NanoLuc® 萤光素酶 (NLuc) 的活性。



下载双报告基因
解决方案

新系统亮点

- 选择灵活：**可以任意选择萤火虫或 NanoLuc® 作为主报告基因，也可二者都作为主报告基因。
- 操作流程简单：**采用“加样 - 检测 - 加样 - 检测”的模式。
- 辉光型检测信号：**信号半衰期更长、适合高通量检测。
- 灵敏度更高：**对于低表达有更高的灵敏度。
- 试剂稳定性更高：**储存更方便。
- 可在原有双报告基因系统（萤火虫 / 海肾）上灵活升级：**仅需构建极少载体或使用商品化对照载体（含 NLuc）即可转换新系统。



上图：比较了内参报告基因：主报告基因：载体 DNA 以 1:1:8 的比例转染 HEK293 细胞，通过 NanoDLR™，Dual-Glo® 或者 Dual-Luciferase® Reporter Assay System 测得的发光信号。

产品列表

• 工具载体

载体类别	分类	产品	规格	目录号
报告基因载体	无启动子载体	pNL1.1 [Nluc] Vector	20µg	N1001
		pNL1.2 [NlucP] Vector	20µg	N1011
		pNL1.3 [secNluc] Vector	20µg	N1021
	含 minP 或组成型启动子	pNL3.1 [Nluc/minP] Vector	20µg	N1031
		pNL3.2 [NlucP/minP] Vector	20µg	N1041
		pNL3.3 [secNluc/minP] Vector	20µg	N1051
		pNL1.1.CMV [Nluc/CMV] Vector	20µg	N1091
		pNL3.2.CMV[NlucP/CMV] Vector	20µg	N1411
		pNL1.3.CMV [secNluc/CMV] Vector	20µg	N1101
		pNL1.1.PGK[Nluc/PGK] Vector	20µg	N1441
		pNL1.1.TK[Nluc/TK]Vector	20µg	N1501
	筛选标记	pNL2.1 [Nluc/Hygro] Vector	20µg	N1061
		pNL2.2 [NlucP/Hygro] Vector	20µg	N1071
		pNL2.3 [secNluc/Hygro] Vector	20µg	N1081
	预构建应答元件	pNL3.2. NF-κB-RE [NlucP/NF-κB-RE/Hygro]	20µg	N1111
融合蛋白表达载体	pF 载体系列	pFN31A Nluc CMV-Hygro Flexi® Vector	20µg	N1311
		pFN31K Nluc CMV-Neo Flexi® Vector	20µg	N1321
		pFC32A Nluc CMV-Hygro Flexi® Vector	20µg	N1331
		pFC32K Nluc CMV-Neo Flexi® Vector	20µg	N1341
	pNLF 载体系列	pNLF1-N [CMV/Hygro] Vector	20µg	N1351
		pNLF1-C [CMV/Hygro] Vector	20µg	N1361
		pNLF1-secN [CMV/Hygro] Vector	20µg	N1371
	pNLF 载体系列预构建载体	pNLF1-HIF1A [CMV/neo] Vector System	20µg	N1381
		pNLF1-NRF2 [CMV/neo] Vector System	20µg	N1391

• 报告基因检测系统

类型	产品说明	产品	规格	目录号
单报告基因检测	终点法检测	Nano-Glo® Luciferase Assay	10ml	N1110
	活细胞检测	Nano-Glo® Live Cell Assay System	100 assays	N2011
		Nano-Glo® Endurazine™ Live Cell Substrate	10ml	N2572
		Nano-Glo® Vivazine™ Live Cell Substrate	10ml	N2582
		Nano-Glo® Extended Live Cell Substrate Trial Pack	0.2ml	N2590
双报告基因检测 主报告 / 内参报告基因	辉光型检测 NanoLuc®/ Firefly 或 Firefly/NanoLuc®	Nano-Glo® Dual-Luciferase® Reporter Assay System	10ml	N1610

以上产品均可提供其他规格，详情请浏览 wechat.promega.com.cn，搜索产品名称或当前规格目录号即可查看。

• 相关产品

类型	产品说明	产品	规格	目录号
双报告基因检测 主报告 / 内参报告基因	辉光型检测 Firefly/Renilla	Dual-Glo® Reporter Assay System	10ml	E2920
	闪光型检测 Firefly/Renilla	Dual-Luciferase® Reporter Assay System	10ml	E1910

以上产品均可提供其他规格，详情请浏览 wechat.promega.com.cn，搜索产品名称或当前规格目录号即可查看。



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

技术支持电话：400 810 8133

技术支持邮箱：chinatechserv@promega.com

更新时间：2025.09