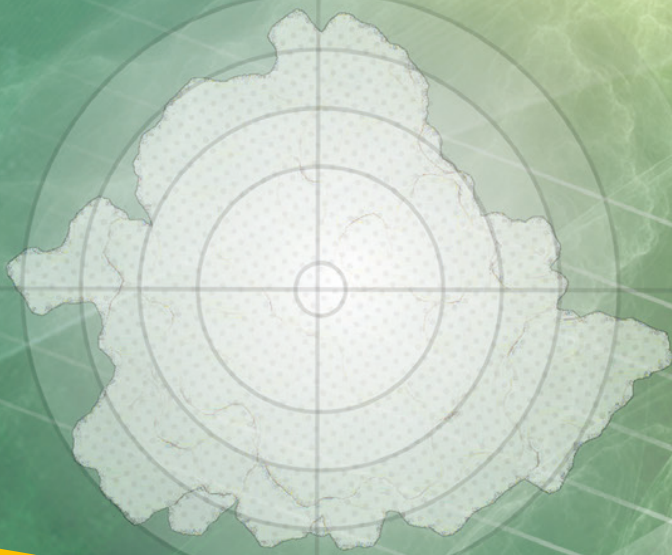




Targeted Protein Degradation

蛋白降解研究解决方案

Your molecular toolbox to explore degradation of proteins in living cells

目 录

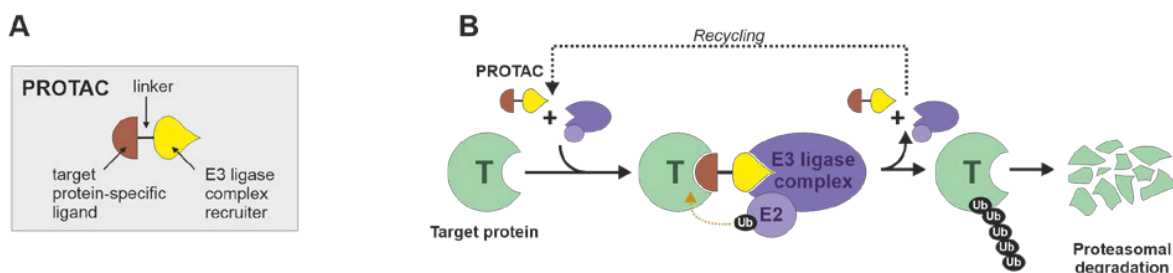
(靶) 蛋白降解研究概述	3
PROTAC 结构和作用机制	3
有关 PROTAC 开发的基本问题	3
靶蛋白降解	4
检测工作流程	4
获取内源性蛋白标记 HiBiT 融合的途径	4
PROTAC 降解后蛋白损失的实时定量	5
根据实时降解曲线计算定量参数	5
产品包装内容	5
降解表型	6
检测工作流程	6
确认靶蛋白降解是 PROTAC 介导的 VHL 参与的机制	6
Wnt/ β -Catenin 模型系统	7
靶点丢失与表型之间的联系	7
产品包装内容	7
PROTAC 透膜率与二元复合物的形成	8
检测工作流程	8
细胞内亲和力的定量与复合物透膜性的评估	8
产品包装内容	8
三元复合物的形成	9
检测工作流程	9
三元复合物形成的实时监测	9
产品包装内容	9
靶蛋白泛素化	10
检测工作流程	10
检测 PROTAC 诱导靶点泛素化的效能	10
产品包装内容	10
蛋白酶体募集	11
检测工作流程	11
多泛素化靶蛋白的蛋白酶体募集研究	11
产品包装内容	11
GloMax® Detection Systems	12
产品订购信息	13
参考文献	22

(靶) 蛋白降解

蛋白质降解是维持细胞蛋白质内稳态的重要机制。当无功能蛋白的溶酶体和 / 或蛋白酶体清除途径失效时，会形成聚合物，而这些聚合物可导致机体内潜发各种疾病，包括帕金森病和阿尔茨海默病。

另一方面，通过影响细胞降解机制而使靶蛋白发生明显降解，可作为一种治疗癌症、自身免疫和神经疾病等疾病新型治疗方法，拥有巨大的应用前景。相较于传统的小分子疗法，蛋白降解药物具有多种优势，例如其可扩大“可靶向”蛋白质组的使用范围，延长药代动力学持续时间；同时蛋白降解药物以催化的模式起作用，因此使用其进行治疗时，给予较低给药剂量即可达到较好效果。分子胶和蛋白降解靶向嵌合体（PROTAC）是该类新型小分子降解药物（如LYTAC、PHOTAC、PROTAC、分子胶、AUTAC、疏水标记物）中最具有代表性的药物。

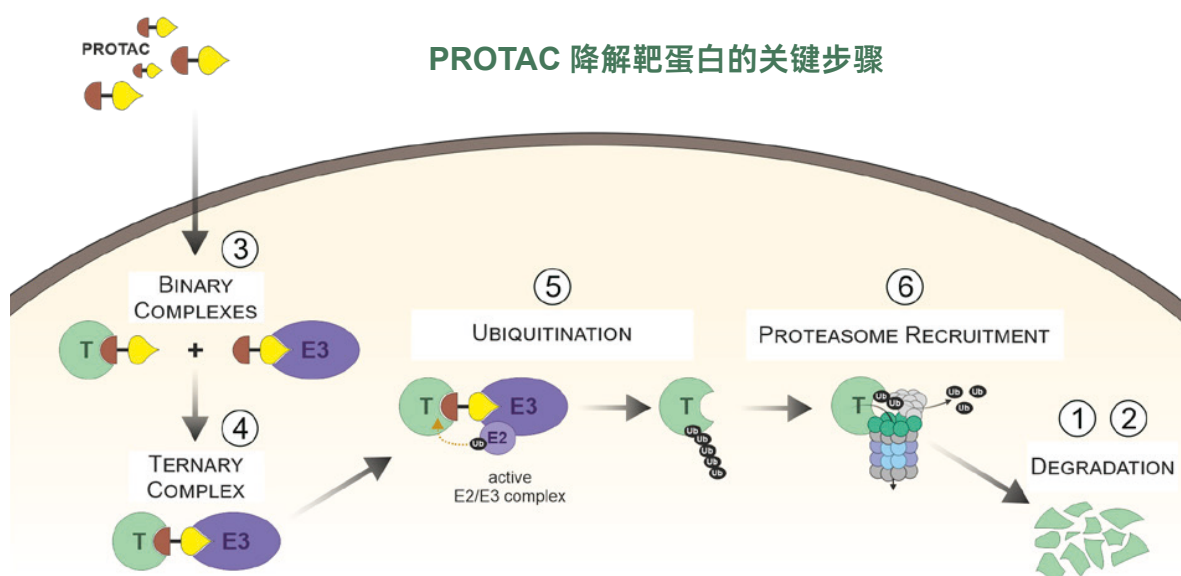
PROTAC 结构和作用机制



PROTAC 属于异源双功能分子，其由两个配体结构域组成，而两个配体结构域则通过长度不同的连接体偶联而成。一个配体可与靶蛋白（T）结合，而另一个配体则结合 E3 泛素连接酶复合物（图 A）。PROTAC 的作用机制为其可将靶蛋白（T）与 E2/E3 连接酶复合物进行连接。PROTAC 可拉近靶蛋白与 E3 连接酶间的距离，从而促进靶蛋白的泛素化和蛋白酶体降解，而同时 PROTAC 还可循环发挥作用（图 B）。

有关 PROTAC 开发的基本问题

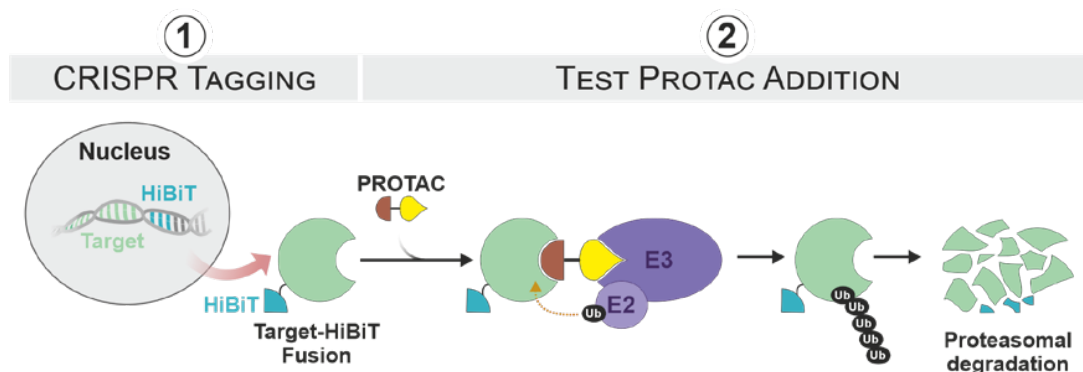
- ① 靶蛋白是否发生有效降解？
- ② 降解完成后是否会形成预期的细胞表型？
- ③ PROTAC 具有透膜性吗？其是否会与靶蛋白或 E3 连接酶发生结合？
- ④ PROTAC 是否可促进三元复合物的形成？
- ⑤ 靶蛋白是否发生有效泛素化？
- ⑥ 泛素化的靶蛋白是否可被募集至细胞蛋白酶体中？



靶蛋白降解

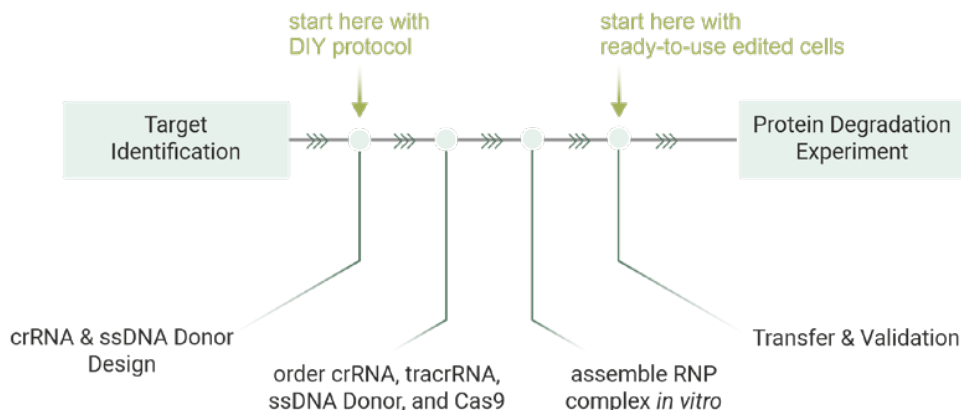
使用 PROTAC 的主要目标为对某一特定靶蛋白进行降解。过去，业内广泛采用免疫检测和质谱分析对靶蛋白丢失进行相关验证。虽然这些方法可实现对内源性蛋白质的检测，但其操作过程均较为复杂、繁琐。此外，这些方法均为裂解法终点检测，因而其无法获取蛋白质的多相降解相关特征信息。虽然使用自发荧光蛋白进行标记可实时监测靶点丢失，但因其分子量较高，所以在基因组进行靶向插入较为困难，且其效率也会受到较大影响。然而，经相关研究证明，受基因自身启动子控制的内源性表达是获取相关生理降解数据的必要因素。生物发光肽标签 HiBiT（“*High BiT*”）可满足前述所有要求。HiBiT 是一种由 NanoLuc® 萤光素酶衍生的 11 个氨基酸肽亚基，其可与互补的 LgBiT（“*Large BiT*”）亚基高亲和力地进行结合（ $KD = 700 \text{ pM}$ ），因而可实现对其的检测。这些亚基结合在一起后即可重新形成功能性 NanoBiT® 萤光素酶，可通过生物发光法实现对其的轻松检测。因此，可通过使用 LgBiT 和萤光素酶底物 furimazine 对 HiBiT 标记的蛋白质进行定量检测。

检测工作流程



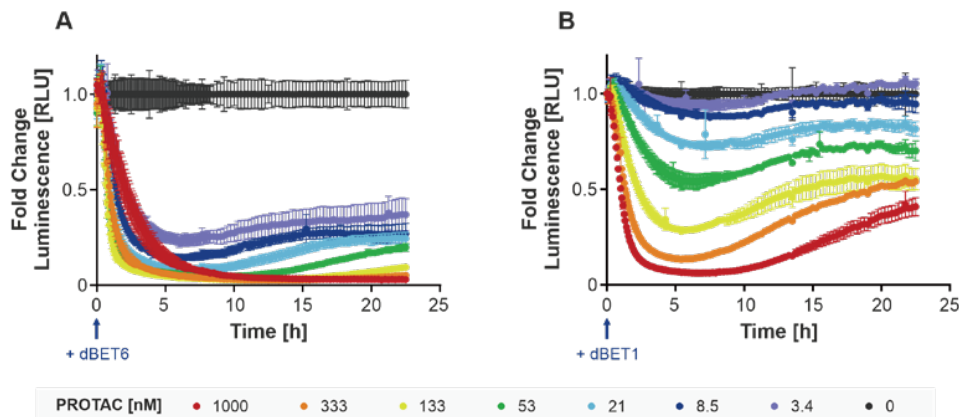
通过 CRISPR/Cas9 技术，可将 HiBiT 编码序列插入至目标基因位点中（图 1）。加入 PROTAC 后，重组 HiBiT 融合蛋白的降解 / 恢复可以用裂解法终点检测或活细胞实时动力学检测来确定（图 2）。

制备内源性标记 HiBiT 标签融合蛋白的途径



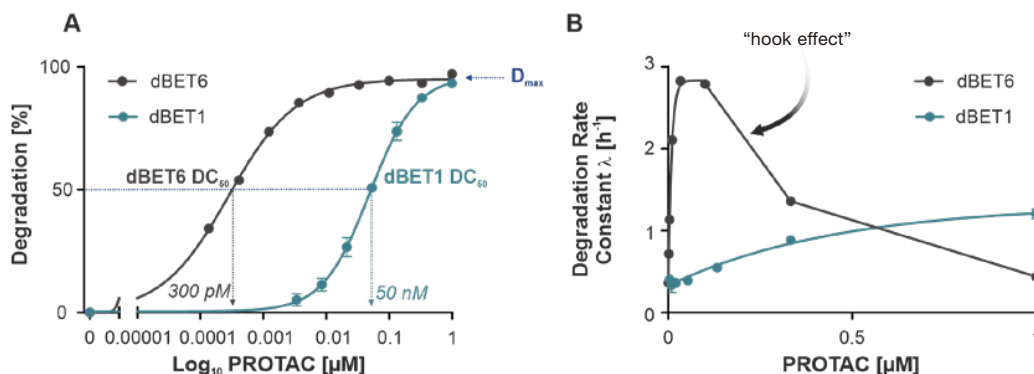
您可以自己 DIY 无需克隆的基因编辑操作，也可以从我们不断更新的即用型 CRISPR 编辑细胞库中直接选择需要的细胞以最大程度提高操作便利性！

PROTAC 处理后蛋白降解的实时定量



在稳定表达 LgBiT 亚基的细胞中，使用 HiBiT 对 BET 家族成员 BRD4 进行 CRISPR 介导的蛋白标记，可实时监测靶向的内源性蛋白的降解情况。在零时加入 PROTAC dBET6（图 A）和 dBET1（图 B）前，用增强型 Nano-Glo® Endurazine™ 活细胞底物对细胞进行预平衡。记录 24 小时内的发光信号，并确定 HiBiT-BRD4 降解率和回收率。

根据实时降解曲线计算定量参数



记录实时蛋白降解率和回收率，可确定定量降解参数，即降解百分比、半数降解浓度（DC₅₀）、最大降解水平（D_{max}）（图 A）和降解速率（图 B）。这些定量降解参数可用于对化合物进行排序。在较高 dBET6 浓度下，因三元复合物（靶蛋白：PROTAC：E3 连接酶）形成受阻而导致降解率发生降低，该现象也称为“钩状效应”。

产品包装内容

LgBiT 稳转细胞系

- HEK293
- Jurkat
- HeLa

LgBiT 表达载体

即用型 CRISPR/HiBiT 细胞系

检测试剂

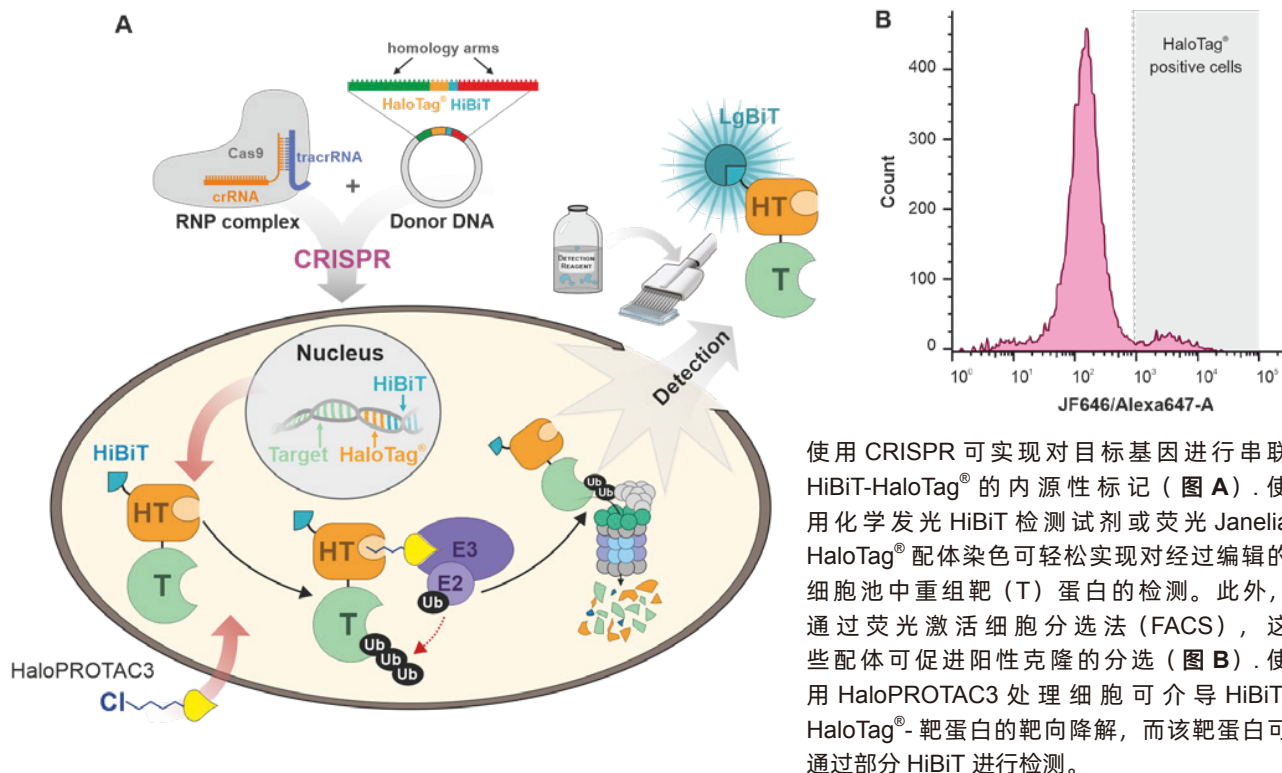
- Nano-Glo® HiBiT Lytic Detection System
- Nano-Glo® HiBiT Extracellular Detection System
- Nano-Glo® HiBiT Blotting System
- Nano-Glo® Live-Cell Assay System (0 – 2 h)
- Nano-Glo® Vivazine™ Substrate (2 – 24 h)
- Nano-Glo® Endurazine™ Substrate (2 – 72 h)

更多产品信息详见第 13 页。

降解表型

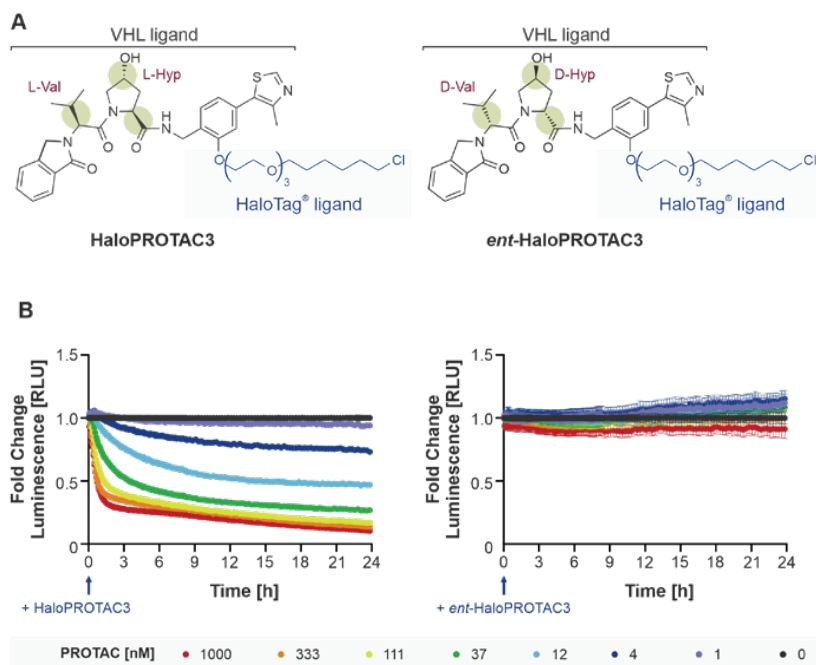
在开发 PROTAC 前，通常需要确定合适的靶点，将其敲除后，可获得目标表型。HaloPROTAC3 可通过介导 HaloTag® (HT) 融合蛋白的靶向降解来轻松实现对降解表型的评价。

检测工作流程

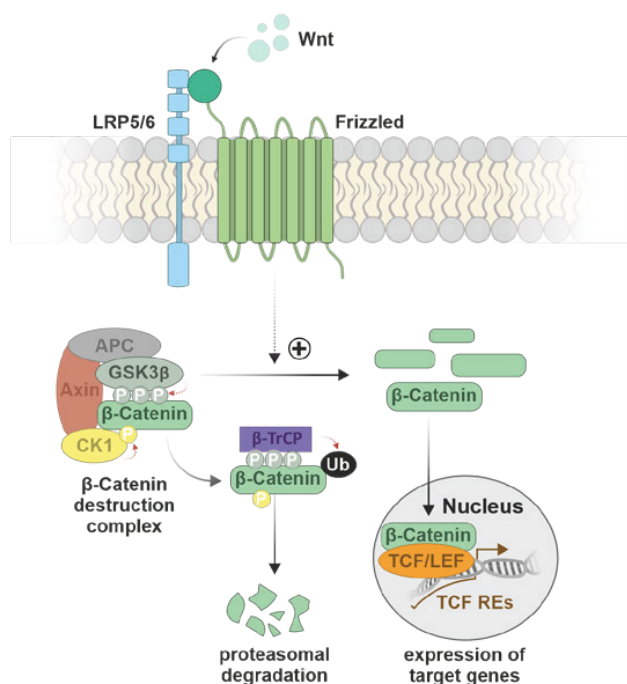


确认靶蛋白降解是 PROTAC 介导的 VHL 参与的机制

对映体化合物 *ent*-HaloPROTAC3 可与 HaloPROTAC3 配合使用，其可用于确认 HaloTag® 融合蛋白的确是 VHL 参与的 PROTAC 机制被降解。*ent*-HaloPROTAC3 与其对映体分子量相同，且基本结构也相同。然而，D-羟脯氨酸 (D-Hyp) 和 D-缬氨酸 (D-Val) 残基修饰可对其与 VHL 的结合造成显著影响 (图 A)。以 CRISPR 编辑 HEK293 细胞，使细胞共表达 HiBiT-HaloTag®-BRD4 融合蛋白及 LgBiT 亚基。使用不同浓度的 HaloPROTAC3 变体处理细胞。同时对重组 BRD4 的蛋白浓度水平进行了实时监测。HaloPROTAC3 处理产生了与浓度相关的靶蛋白损失，但 *ent*-HaloPROTAC3 处理组，却未检测到蛋白降解 (图 B)。

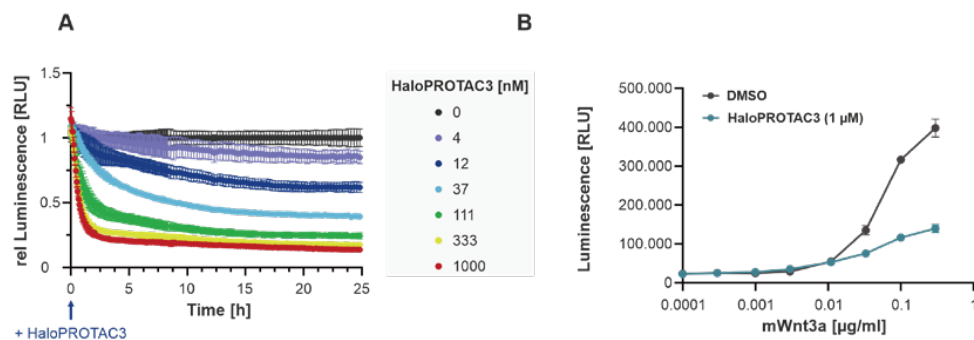


Wnt/ β -Catenin 模型系统



β -Catenin(β - 连环蛋白)是经典的 Wnt 信号通路的重要组成物质。通过该临床相关通路，细胞可整合外部信号，实现对胚胎发育的全面控制。在非刺激条件下， β - 连环蛋白与 β - 连环蛋白破坏复合物发生结合，并发生磷酸化。这可使 E3 连接酶 β -TrCP 发生聚集，并导致 β - 连环蛋白发生多聚泛素化和蛋白酶体降解。Wnt 配体与膜受体 Frizzled 发生结合时可激活了这一信号通路，进而促进 β - 连环蛋白的胞质聚集，并随后促进其发生核转位。此时作为转录共激活因子， β - 连环蛋白通过与 T 细胞因子 / 淋巴增强因子 (TCF/LEF) 转录因子发生结合，启动 Wnt 应答基因的转录。

靶蛋白丢失与表型之间的联系



转录共激活因子 β - 连环蛋白是 Wnt 信号通路的关键组成物质，使用 HiBiT-HaloTag[®] 对其进行内源性标记。（图 A）使用 HaloPROTAC3 进行处理后，所获结果证实了靶蛋白降解与时间和剂量的相关性。（图 B）利用含 TCF 响应元件（RE）的萤火虫萤光素酶基因报告质粒，检测 HaloPROTAC3 处理导致的对 mWnt3a 诱导的 β - 连环蛋白 / TCF 介导的转录的抑制作用。

产品包装内容

HaloPROTAC3

ent-HaloPROTAC3 (Negative Control)

HiBiT-HaloTag[®] CRISPR Donor Vector (N-terminal)

HaloTag[®]-VS-HiBiT CRISPR Donor Vector (C-terminal)

HaloTag[®] CRISPR Donor Vector (N-terminal)

HaloTag[®] CRISPR Donor Vector (C-terminal)

Janelia Fluor[®] 549 HaloTag[®] Ligand

Janelia Fluor[®] 646 HaloTag[®] Ligand

LgBiT Expression Vector

检测试剂

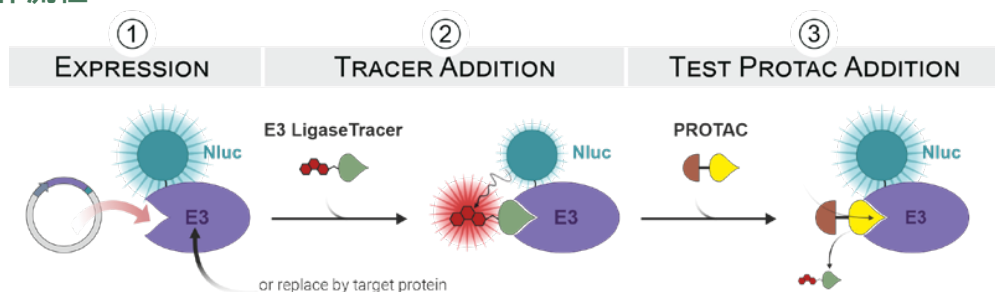
- Nano-Glo[®] HiBiT Lytic Detection System
- Nano-Glo[®] HiBiT Blotting System
- Nano-Glo[®] Live-Cell Assay System (0 – 2 h)
- Nano-Glo[®] Vivazine[™] Substrate (2 – 24 h)
- Nano-Glo[®] Endurazine[™] Substrate (2 – 72 h)

更多产品信息详见第 13 页。

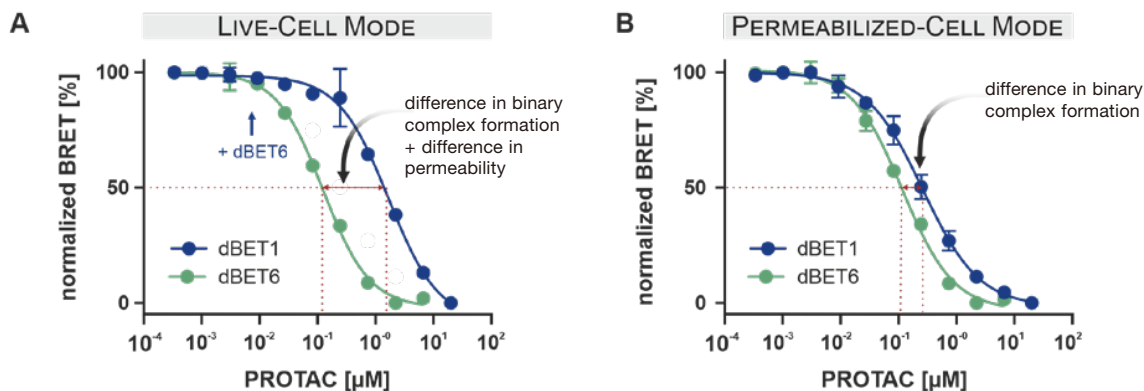
PROTAC 透膜率与二元复合物的形成

PROTAC 穿透细胞膜的能力是发挥其相关分子功能的必要先决条件。NanoBRET™ 靶点结合 (TE) 是一种强大的技术, 可用于研究活细胞中的相关蛋白: 配体结合事件。就是说, 将目标蛋白 (POI) ——可以是靶蛋白 (T) 或所需的 E3 连接酶——与 NanoLuc® 萤光素酶融合后异位表达, 然后添加对 POI 具有已知亲和力的细胞渗透性荧光示踪分子。示踪物结合可拉近萤光素酶 (供体) 和荧光基团 (受体) 的距离, 进而触发生物发光共振能量转移 (BRET)。由于对示踪物的竞争性置换, 通过 BRET 的降低可以确定 PROTAC 的结合。除对二元复合物形成进行研究外, NanoBRET™ TE 还可对 PROTAC 透膜性进行评价。

检测工作流程



细胞内亲和力的定量与复合物透膜性的评估



采用活细胞模型, NanoBRET™ TE CRBN 检测可对活细胞模型中的 PROTAC dBET1 和 dBET6 细胞内亲和力进行定量检测 (图 A)。由于固有二元复合物亲和力和 / 或复合物渗透率的差异, 因此检测时, 可能会造成活细胞模型中亲和力存在差异。我们使用了渗透细胞模型测定固有二元复合物的亲和力 (图 B)。使用活细胞和渗透模型数据, 可确定化合物在细胞内的可用性, 即检测相关化合物的透膜性。

产品包装内容

NanoBRET™ TE Intracellular E3 Ligase Assays

- Cereblon (CRBN)
- Von Hippel-Lindau disease tumor suppressor (VHL)
- E3 ubiquitin-protein ligase Mdm2 (MDM2)
- Inhibitor of apoptosis proteins (IAP), i.e. cIAP1 and XIAP

检测试剂

- Intracellular TE Nano-Glo® Substrate/Inhibitor (0–2 h)
- Intracellular TE Nano-Glo® Vivazine™/Inhibitor (2–24 h)

NanoBRET™ TE 表达载体

- DDB1 (for co-expression in CRBN assay)

NanoLuc® 融合蛋白载体 &

经验证的 NanoBRET™ TE Assays

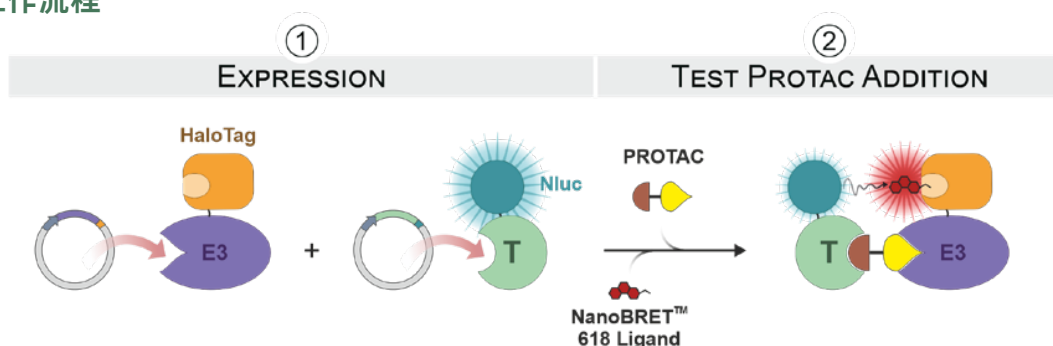
- Kinases
- BET-family proteins
- HDACs
- Heat shock protein 90 (Hsp90)
- NLR family pyrin domain containing 3 (NLRP3)

更多信息详见第 14 页。

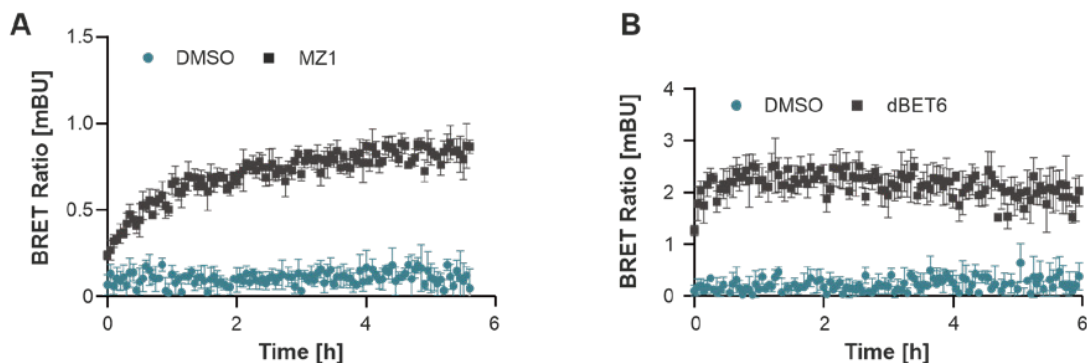
三元复合物的形成

PROTAC 可介导靶蛋白与 E3 连接酶复合物间的连接，即形成三元复合物，该过程是实现靶蛋白降解的一个基本步骤。NanoBRET™ Target PPI 技术可实现对活细胞中蛋白质间相互作用（PPI）（即其结合和解离）的可靠研究。就是说，可将靶蛋白（T）：NanoLuc® 融合，E3 连接酶：HaloTag® 融合，并将二者共同进行异位表达。三元复合物的成功形成可拉近萤光素酶（供体）与可渗透细胞荧光 NanoBRET™ 618 HaloTag® 配体标记的 HaloTag-E3 连接酶（受体）的距离，进而触发生物发光共振能量转移（BRET）。因此，该类复合物发生结合和解离时，可导致 BRET 相应增加或减少。本检测也可使用内源性标记的靶蛋白 - 供体融合进行。

检测工作流程



三元复合物形成的实时监测



分别使用 PROTACs MZ-1 (1 μ M) 或 dBET6 (0.1 μ M) 进行相关处理后，测定内源性标记的 HiBiT-BRD4 与异位表达的 HaloTag®-VHL (图 A) 和 HaloTag®-CRBN (图 B) 之间三元复合物的形成情况。使用 NanoBRET™ Kinetic Detection System 记录 6 小时内的相关数据。

产品包装内容

NanoBRET™ CRBN Ternary Complex Starter Kit
HaloTag®-CRBN Fusion Vector
HaloTag®-CRBN HEK293 Cell Line
NanoBRET™ VHL Ternary Complex Starter Kit
HaloTag®-VHL Fusion Vector
HaloTag®-VHL HEK293 Cell Line
HaloTag® Control Vector (Negative Control)
NanoLuc®-BRD4 FL Fusion Vector (Positive Control)

检测试剂

- NanoBRET™ Nano-Glo® Detection System (0 – 2 h)
- NanoBRET™ Nano-Glo® Kinetic Detection System (2 – 24 h)

您的目标是激酶、BET 家族还是 HDAC 蛋白？

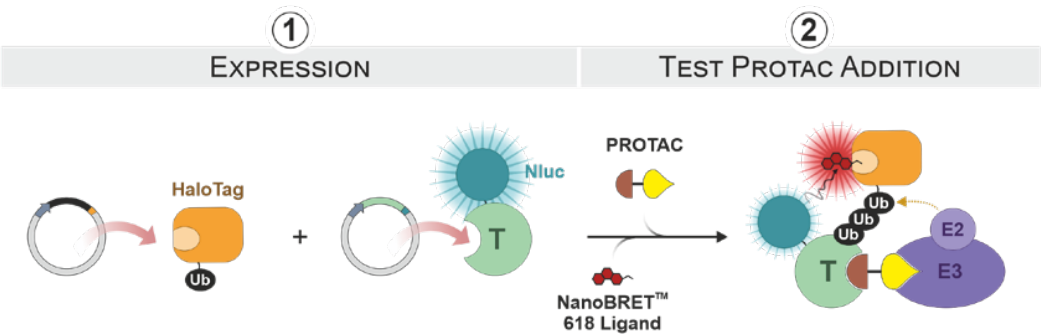
敬请参见我公司提供的多种预克隆
NanoLuc® 融合载体。

更多产品信息详见第 19 页。

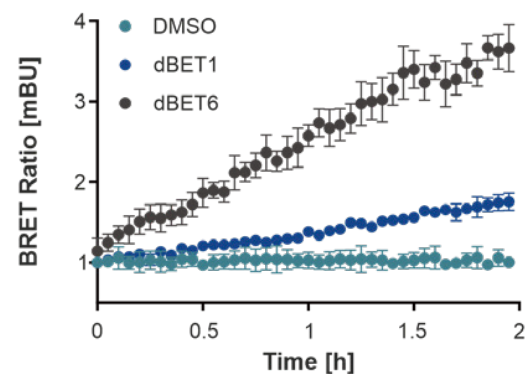
靶蛋白泛素化

通过泛素蛋白酶体系统（UPS）发生降解的靶蛋白，在转运到蛋白酶体前，需进行有效泛素结合。任何特定靶点上的泛素化水平（单泛素化和多聚泛素化）均有所不同，并由多种氨基酸连接介导。NanoBRET™ 可广泛确定所有类型的泛素化（泛素化程度和连接情况）。因此，重组 HaloTag®-泛素融合蛋白和 NanoLuc®（Nluc）-靶蛋白（T）融合蛋白可进行异位共表达，并在使用 PROTAC 处理后，检测相应 BRET 信号。本检测也可使用内源性标记的靶蛋白-供体融合进行。

检测工作流程



检测 PROTAC 诱导靶点泛素化的效能



PROTAC—dBET1 (1 μ M) 和 dBET6 (0.1 μ M) ——处理后异位表达的 HiBiT-BRD4 的泛素化——通过 NanoBRET™ 进行检测。相较于 dBET1，dBET6 的泛素化信号增加速度更快，强度更高，尽管其浓度比 dBET1 低 10 倍。

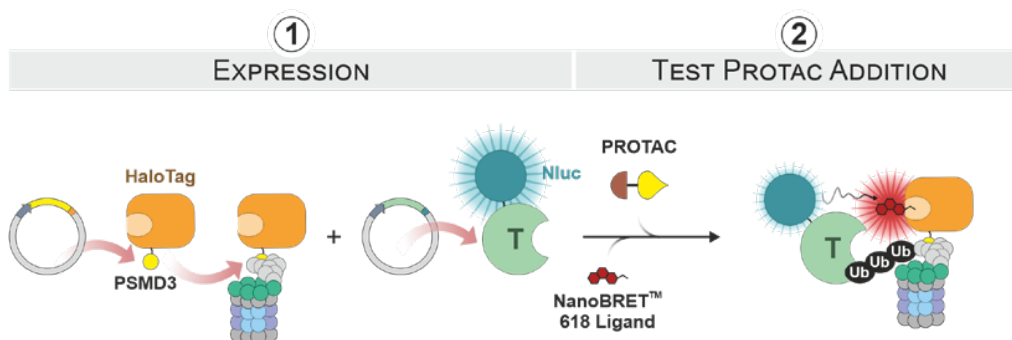
产品包装内容

NanoBRET™ Ubiquitination Starter Kit HaloTag®-Ubiquitin Fusion Vector HaloTag® Control Vector (Negative Control) NanoLuc®-BRD4 FL Fusion Vector (Positive Control)	检测试剂 • NanoBRET™ Nano-Glo® Detection System (0 – 2 h) • NanoBRET™ Nano-Glo® Kinetic Detection System (2 – 24 h)
您的目标是激酶、BET 家族还是 HDAC 蛋白？ 敬请参阅我公司提供的多种预克隆 NanoLuc® 融合载体。 更多产品信息详见第 19 页。	

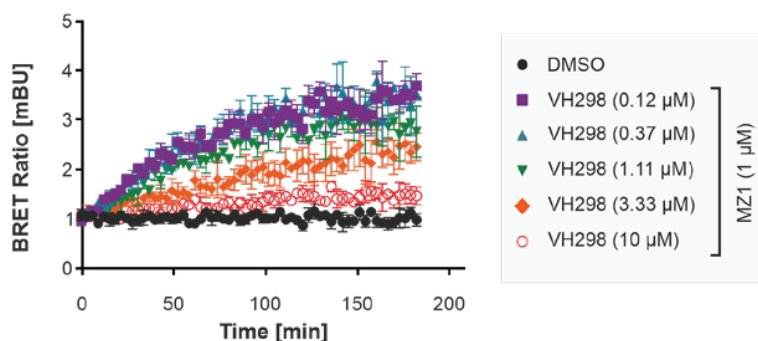
蛋白酶体募集

大多数真核蛋白在泛素化完成后，通过 26S 蛋白酶体介导的募集和相关过程发生降解。NanoBRET™ 可对活细胞中的这一过程进行监测。由于蛋白质稳定性或降解的动力学因素，最佳 NanoBRET™ 检测方案配置为将 NanoLuc® 与靶蛋白融合作为发光供体，将 26S 蛋白酶体成分作为荧光受体。得益于 NanoBRET™ 分析中的发光 / 荧光比的数据分析方式，您可以在观察蛋白酶体募集的同时监测目标蛋白水平。在众多蛋白酶体亚基中，当 N 端与 HaloTag® 融合时，PSMD3 (26S 蛋白酶体调节亚基 3) 为该进行该通用型检测的最佳蛋白酶体蛋白。该受体融合物可采用 HaloTag® NanoBRET™ 618 Ligand 将其标记为荧光受体。本检测也可使用内源性标记的靶蛋白 - 供体融合进行。

检测工作流程



多泛素化靶蛋白的蛋白酶体募集研究



使用 PROTAC MZ-1 (1 μM) 进行处理后，26S 蛋白酶体中 HiBiT-BRD4 募集的时间过程分析。与母体化合物 VH298 (即 MZ-1 的 VHL 识别域) 共处理结果证实了本检测的特异性。由于 MZ-1 被竞争性置换，BRET 信号随 VH298 浓度的增加而降低。

产品包装内容

NanoBRET™ Proteasomal Recruitment Starter Kit
HaloTag®-PSMD3 Fusion Vector
HaloTag® Control Vector (Negative Control)
NanoLuc®-BRD4 FL Fusion Vector (Positive Control)

检测试剂

- NanoBRET™ Nano-Glo® Detection System (0 – 2 h)
- NanoBRET™ Nano-Glo® Kinetic Detection System (2 – 24 h)

您的目标是激酶、BET 家族还是 HDAC 蛋白？

敬请参阅我公司提供的多种预克隆 NanoLuc® 融合载体。

更多产品信息详见第 20 页。

GloMax[®] Detection Systems

多功能、可靠、直观实验室检测系统助力研究

GloMax[®] Discover 是一种先进高性能多模式微孔板检测仪，其可与 Promega 公司检测试剂盒完美搭配，实现对发光、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）、双色过滤发光的检测，同时其还具有动力学测定功能。GloMax[®] 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。

适用于多种用途：

- 报告基因测定
- 细胞活力、细胞毒性和细胞凋亡检测
- 动力学测定
- 多重通道
- 氧化应激与细胞代谢
- ELISA 法检测
- BRET/FRET 分析
- Lumit[™] Immunoassays

GloMax

DISCOVER

一种高性能、便捷多模式微孔板检测仪，可实现对发光、荧光、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

产品订购信息

HiBiT 蛋白降解检测（第 4-7 页）

Nano-Glo® HiBiT 检测试剂

	目录号	规格
Nano-Glo® HiBiT Lytic Detection System	N3030	10 ml
• Nano-Glo® HiBiT Lytic Substrate	N3040	100 ml
• Nano-Glo® HiBiT Lytic Buffer	N3050	10 x 100 ml
• LgBiT Protein		
Nano-Glo® HiBiT Extracellular Detection System	N2420	10 ml
• Nano-Glo® HiBiT Extracellular Substrate	N2421	100 ml
• Nano-Glo® HiBiT Extracellular Buffer	N2422	10 x 100 ml
• LgBiT Protein		
Nano-Glo® HiBiT Blotting System	N2410	100 ml
Nano-Glo® Live Cell Assay System (0 – 2 h)	N2011	10 ml
• Nano-Glo® Live Cell Substrate	N2012	100 ml
• Nano-Glo® LCS Dilution Buffer	N2013	10 x 100 ml
Nano-Glo® Vivazine™ Substrate (2 – 24 h)	N2580	0.1 ml
	N2581	1 ml
	N2582	10 ml
Nano-Glo® Endurazine™ Substrate (2 – 72 h)	N2570	0.1 ml
	N2571	1 ml
	N2572	10 ml

细胞内 LgBiT 亚基的表达

	目录号	规格
LgBiT Expression Vector	N2681	20 µg
HEK293 LgBiT Stable Cell Line	N2627	2 瓶
Jurkat LgBiT Stable Cell Line	CS1956D07	2 瓶
HeLa LgBiT Stable Cell Line	CS1956D05	2 瓶

如需获取更多 LgBiT 表达细胞系相关信息，请登录我公司网站进行查询。

HaloTag® HiBiT 融合蛋白的降解

	目录号	规格
HaloPROTAC3, 2.5 mM	GA3110	20 µl
ent-HaloPROTAC3, 2.5 mM (Negative Control)	GA4110	20 µl
NanoBRET™ Positive Control Vector (Positive Control)	N1581	20 µg
HaloTag®-HiBiT Vector [CAG / Blast] (Positive Control)	CS1956B17	20 µg
HiBiT-HaloTag® CRISPR Donor Vector (N-terminal)	CS3023278	20 µg
HaloTag®-VS-HiBiT CRISPR Donor Vector (C-terminal)	CS3023277	20 µg
HaloTag® CRISPR Donor Vector (N-terminal)	联系 Promega	20 µg
HaloTag® CRISPR Donor Vector (C-terminal)	联系 Promega	20 µg
Janelia Fluor® 549 HaloTag® Ligand	GA1110	5 µg
	GA1111	3 x 5 µg
Janelia Fluor® 646 HaloTag® Ligand	GA1120	5 µg
	GA1121	3 x 5 µg

产品订购信息

NanoBRET™ Target Engagement (TE) (第 8 页)

NanoBRET™ TE 细胞内 E3 连接酶检测

	目录号	规格
NanoBRET™ TE Intracellular E3 Ligase Assay, CRBN	N2910	100 次检测 (96 孔)
• NanoLuc®-CRBN Fusion Vector *	N2911	1,000 次检测 (96 孔)
• NanoBRET™ TE Tracer CRBN, 400 µM	N2912	10,000 次检测 (96 孔)
• Tracer Dilution Buffer		
• Intracellular TE Nano-Glo® Substrate/Inhibitor		
• DDB1 Expression Vector *		
NanoBRET™ TE Intracellular E3 Ligase Assay, VHL	N2930	100 次检测 (96 孔)
• VHL-NanoLuc® Fusion Vector *	N2931	1,000 次检测 (96 孔)
• NanoBRET™ TE Tracer VHL, 400 µM	N2932	10,000 次检测 (96 孔)
• Tracer Dilution Buffer		
• Intracellular TE Nano-Glo® Substrate/Inhibitor		
• Transfection Carrier DNA *		
NanoBRET™ TE Intracellular E3 Ligase Assay, IAP	CS1810C431	1,000 次检测 (96 孔)
• NanoLuc®-XIAP Fusion Vector *	CS1810C484	10,000 次检测 (96 孔)
• NanoBRET™ TE Tracer IAP, 100 µM		
• Tracer Dilution Buffer		
• Intracellular TE Nano-Glo® Substrate/Inhibitor		
• Transfection Carrier DNA *		
NanoBRET™ TE Intracellular E3 Ligase Assay, MDM2	CS (TBD)	1,000 次检测 (96 孔)
• NanoLuc®-MDM2 Fusion Vector *	CS (TBD)	10,000 次检测 (96 孔)
• NanoBRET™ TE Tracer MDM2		
• Tracer Dilution Buffer		
• Intracellular TE Nano-Glo® Substrate/Inhibitor		
• Transfection Carrier DNA *		

* 不包含在可供 10,000 次检测的试剂盒中

是否需要技术援助吗?



请联系我公司技术服务部:



www.promega.com/support/tech-support

产品订购信息

NanoBRET™ TE 激酶检测

	目录号	规格
NanoBRET™ TE Intracellular Kinase Assay, K-3	N2600	100 次检测 (96 孔)
• NanoLuc®-PIK3CA Fusion Vector *	N2601	1,000 次检测 (96 孔)
• NanoBRET™ Tracer K-3, 400 µM	N2810	10,000 次检测 (96 孔)
• Tracer Dilution Buffer		
• Intracellular TE Nano-Glo® Substrate/Inhibitor		
• PIK3R1 Expression Vector *		
• Transfection Carrier DNA *		
NanoBRET™ TE Intracellular Kinase Assay, K-4	N2520	100 次检测 (96 孔)
• DDR1-NanoLuc® Fusion Vector *	N2521	1,000 次检测 (96 孔)
• NanoBRET™ Tracer K-4, 400 µM	N2540	10,000 次检测 (96 孔)
• Tracer Dilution Buffer		
• Intracellular TE Nano-Glo® Substrate/Inhibitor		
• Transfection Carrier DNA *		
NanoBRET™ TE Intracellular Kinase Assay, K-5	N2500	100 次检测 (96 孔)
• BTK-NanoLuc® Fusion Vector *	N2501	1,000 次检测 (96 孔)
• NanoBRET™ Tracer K-5, 400 µM	N2530	10,000 次检测 (96 孔)
• Tracer Dilution Buffer		
• Intracellular TE Nano-Glo® Substrate/Inhibitor		
• Transfection Carrier DNA *		
NanoBRET™ TE Intracellular Kinase Assay, K-8	N2620	100 次检测 (96 孔)
• NanoLuc®-GSK3B Fusion Vector *	N2621	1,000 次检测 (96 孔)
• NanoBRET™ Tracer K-8, 400 µM	N2820	10,000 次检测 (96 孔)
• Tracer Dilution Buffer		
• Intracellular TE Nano-Glo® Substrate/Inhibitor		
• Transfection Carrier DNA *		
NanoBRET™ TE Intracellular Kinase Assay, K-9	N2630	100 次检测 (96 孔)
• NanoLuc®-PLK2 Fusion Vector *	N2631	1,000 次检测 (96 孔)
• NanoBRET™ Tracer K-9, 400 µM	N2830	10,000 次检测 (96 孔)
• Tracer Dilution Buffer		
• Intracellular TE Nano-Glo® Substrate/Inhibitor		
• Transfection Carrier DNA *		
NanoBRET™ TE Intracellular Kinase Assay, K-10	N2640	100 次检测 (96 孔)
• LIMK1-NanoLuc® Fusion Vector *	N2641	1,000 次检测 (96 孔)
• NanoBRET™ Tracer K-10, 400 µM	N2840	10,000 次检测 (96 孔)
• Tracer Dilution Buffer		
• Intracellular TE Nano-Glo® Substrate/Inhibitor		
• Transfection Carrier DNA *		
NanoBRET™ TE Intracellular Kinase Assay, K-11	N2650	100 次检测 (96 孔)
• ACVR1-NanoLuc® Fusion Vector *	N2651	1,000 次检测 (96 孔)
• NanoBRET™ Tracer K-11, 400 µM	N2850	10,000 次检测 (96 孔)
• Tracer Dilution Buffer		
• Intracellular TE Nano-Glo® Substrate/Inhibitor		
• Transfection Carrier DNA *		

* 不包含在可供 10000 次检测的试剂盒中

产品订购信息

NanoBRET™ TE 细胞内 HDAC 检测

	目录号	规格
NanoBRET™ TE Intracellular HDAC Assay	N2080	100 次检测 (96 孔)
• NanoLuc®-HDAC6 FL Fusion Vector *	N2081	1,000 次检测 (96 孔)
• NanoBRET™ Intracellular TE HDAC Tracer, 100 µM	N2090	10,000 次检测 (96 孔)
• Tracer Dilution Buffer		
• Intracellular TE Nano-Glo® Substrate/Inhibitor		
• Transfection Carrier DNA *		
NanoBRET™ TE Intracellular HDAC Complete Kit	N2170	1,000 次检测 (96 孔)
• NanoBRET™ TE Intracellular HDAC Assay		
• NanoBRET™ TE HDAC DNA Bundle		

* 不包含在可供 10,000 次检测的试剂盒中

NanoBRET™ TE 细胞内 BET BRD 检测

	目录号	规格
NanoBRET™ TE Intracellular BET BRD Assay	N2130	100 次检测 (96 孔)
• NanoLuc®-BRD4 FL Fusion Vector *	N2131	1,000 次检测 (96 孔)
• NanoBRET™ Intracellular TE BET BRD Tracer, 100 µM	N2140	10,000 次检测 (96 孔)
• Tracer Dilution Buffer		
• Intracellular TE Nano-Glo® Substrate/Inhibitor		
• Transfection Carrier DNA *		
NanoBRET™ TE Intracellular BET BRD Complete Kit	N2180	1,000 次检测 (96 孔)
• NanoBRET™ TE Intracellular BET BRD Assay		
• NanoBRET™ TE BET BRD DNA Bundle		
NanoBRET™ TE Intracellular BRD Assay-02	CS1810C21	1,000 次检测 (96 孔)
• NanoLuc®-BRD4 FL Fusion Vector		
• NanoBRET™ BRD Tracer-02, 400 µM		
• Intracellular TE Nano-Glo® Substrate/Inhibitor		
• Tracer Dilution Buffer		

* 不包含在可供 10000 次检测的试剂盒中

用于其他靶点的 NanoBRET™ TE Assay

	目录号	规格
NanoBRET™ TE HSP90 Assay	CS1810C458	10,000 次检测 (96 孔)
• NanoBRET™ TE Tracer HSP90, 400 µM		
• Tracer Dilution Buffer		
• Intracellular TE Nano-Glo® Substrate/Inhibitor		
NanoBRET™ TE NLRP3 Assay	CS1810C523	1,000 次检测 (96 孔)
• NLRP3-NanoLuc® Fusion Vector *		
• NanoBRET™ TE Tracer NLRP3, 400 µM		
• Tracer Dilution Buffer		
• Intracellular TE Nano-Glo® Substrate/Inhibitor		
• Transfection Carrier DNA *		

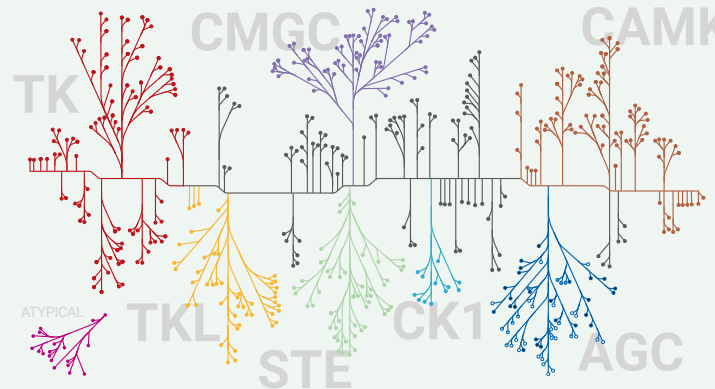
产品订购信息

NanoBRET™ TE NanoLuc® 融合蛋白载体

	目录号	规格
E3 Ligases		
NanoLuc®-CRBN Fusion Vector	N2741	20 µg
VHL-NanoLuc® Fusion Vector	N2751	20 µg
NanoLuc®-cIAP1 Fusion Vector	CS1810C435	20 µg
NanoLuc®-XIAP Fusion Vector	CS1810C110	20 µg
Targets		
HDAC8-NanoLuc® Fusion Vector	CS181001F	20 µg
NanoLuc®-HSP90AB1 Fusion Vector	CS1810C461	20 µg
NLRP3-NanoLuc® Fusion Vector	CS1810C450	20 µg

	目录号	规格
NanoBRET™ TE HDAC DNA Bundle	N2120	各 20µg
• HDAC1-NanoLuc® FL Fusion Vector • HDAC2-NanoLuc® FL Fusion Vector • HDAC3-NanoLuc® FL Fusion Vector • NanoLuc®-HDAC6 FL Fusion Vector • NanoLuc®-HDAC6 (CD2) Fusion Vector • HDAC10-NanoLuc® FL Fusion Vector		
NanoBRET™ TE BET BRD DNA Bundle	N2150	各 20µg
• NanoLuc®-BRD2 FL Fusion Vector • NanoLuc®-BRD2 BD1 Fusion Vector • NanoLuc®-BRD2 BD2 Fusion Vector • NanoLuc®-BRD3 FL Fusion Vector • NanoLuc®-BRD4 FL Fusion Vector • NanoLuc®-BRD4 BD1 Fusion Vector • NanoLuc®-BRD4 BD2 Fusion Vector • NanoLuc®-BRDT FL Fusion Vector		

NanoLuc® Kinase Fusion Vectors



查看更多 NanoLuc® Kinase Fusion Vectors:

- 263 种全长激酶
- 79 种激酶突变体
- 4 种激酶结构域

www.promega.com/kinasevectors

产品订购信息

NanoBRET™ TE 表达载体

	目录号	规格
DDB1 Expression Vector	N2761	3 x 20 µg

可获得激酶调节蛋白（例如细胞周期蛋白）共表达的额外表达载体。

NanoBRET™ TE NanoLuc® 稳转细胞系

	目录号	规格
NanoLuc®-CRBN HEK293 Cell Line	CS1810C398	2 瓶
VHL-NanoLuc® HEK293 Cell Line	CS1810C393	2 瓶
NLRP3-NanoLuc HEK293 Stable Cell Line	CS1810C494	2 瓶
BRD4 NanoBRET™ TE HEK293 Cell Line	CS1810C09	2 瓶
NanoLuc®-RIPK2 HEK293 Cell Line	CS1810C01	2 瓶
MAPK1 NanoBRET™ TE HEK293 Cell Line	CS1810C07	2 瓶
IRAK3 NanoBRET™ TE HEK293 Cell Line	CS1810C41	2 瓶

NanoBRET™ TE 检测试剂

	目录号	规格
Intracellular TE Nano-Glo® Substrate/Inhibitor	N2162	100 次检测 (96 孔)
• NanoBRET™ Nano-Glo® Substrate	N2160	1,000 次检测 (96 孔)
• Extracellular NanoLuc® Inhibitor	N2161	10,000 次检测 (96 孔)
Intracellular TE Nano-Glo® Vivazine™/Inhibitor	N2200	1,000 次检测 (96 孔)
• Nano-Glo® Vivazine™ Substrate	N2201	10,000 次检测 (96 孔)
• Extracellular NanoLuc® Inhibitor		

产品订购信息

NanoBRET™ 蛋白质间相互作用 (PPI) (第 9-11 页)

NanoBRET™ 三元复合物检测

	目录号	规格
NanoBRET™ CRBN Ternary Complex Starter Kit	ND2720	200 次检测 (96 孔)
• HaloTag®-CRBN Fusion Vector (N2691) • pNLF1-N [CMV/Hygro] Vector (N1351) • pNLF1-C [CMV/Hygro] Vector (N1361) • HaloTag® Control Vector (G6591) (Negative Control) • NanoLuc®-BRD4 FL Fusion Vector (N1691) (Positive Control) • NanoBRET™ Nano-Glo® Detection System (N1661)		
NanoBRET™ VHL Ternary Complex Starter Kit	ND2700	200 次检测 (96 孔)
• HaloTag®-VHL Fusion Vector (N2691) • pNLF1-N [CMV/Hygro] Vector (N1351) • pNLF1-C [CMV/Hygro] Vector (N1361) • HaloTag® Control Vector (G6591) (Negative Control) • NanoLuc®-BRD4 FL Fusion Vector (N1691) (Positive Control) • NanoBRET™ Nano-Glo® Detection System (N1661)		

如目标是激酶、BET 家族或 HDAC 蛋白，请参见我公司提供的多种预克隆 NanoLuc® 融合载体。

NanoBRET™ Ubiquitination Assay

	目录号	规格
NanoBRET™ Ubiquitination Starter Kit	ND2690	200 次检测 (96 孔)
• HaloTag®-Ubiquitin Fusion Vector (N2721) • pNLF1-N [CMV/Hygro] Vector (N1351) • pNLF1-C [CMV/Hygro] Vector (N1361) • HaloTag® Control Vector (G6591) (Negative Control) • NanoLuc®-BRD4 FL Fusion Vector (N1691) (Positive Control) • NanoBRET™ Nano-Glo® Detection System (N1661)		

针对不同可用靶点 (如 β -连环蛋白、c-Myc) 即用型检测试剂，请咨询 Promega。

产品订购信息

NanoBRET™ 蛋白酶体募集检测

	目录号	规格
NanoBRET™ Proteasomal Recruitment Starter Kit	ND2730	200 次检测 (96 孔)
• HaloTag®-PSMD3 Fusion Vector (N2701) • pNLF1-N [CMV/Hygro] Vector (N1351) • pNLF1-C [CMV/Hygro] Vector (N1361) • HaloTag® Control Vector (G6591) (Negative Control) • NanoLuc®-BRD4 FL Fusion Vector (N1691) (Positive Control) • NanoBRET™ Nano-Glo® Detection System (N1661)		

针对不同可用靶点 (如 β -连环蛋白、c-Myc) 即用型检测试剂, 请咨询 Promega。

NanoBRET™ HaloTag® 融合蛋白载体

	目录号	规格
E3 Ligases		
HaloTag®-CRBN Fusion Vector	N2691	20 μ g
HaloTag®-VHL Fusion Vector	N2731	20 μ g



不同 E3 连接酶?
HaloTag-E3 连接酶融合系列产品 (-320)
www.promega.com/FindMyGene

其他产品		
HaloTag®-Ubiquitin Fusion Vector	N2721	20 μ g
HaloTag®-PSMD3 Fusion Vector	N2701	20 μ g

NanoBRET™ 对照载体

	目录号	规格
E3 Ligases		
NanoLuc®-BRD4 FL Fusion Vector	N1691	20 μ g
HaloTag® Control Vector	G6591	20 μ g

产品订购信息

NanoBRET™ PPI HaloTag® 稳转细胞系

	目录号	规格
HaloTag®-CRBN HEK293 Cell Line	CS3005A01	2 瓶
HaloTag®-VHL HEK293 Cell Line	CS2016A02	2 瓶

用于 NanoLuc® 靶蛋白融合的空白载体

	目录号	规格
MCS Vectors		
pNLF1-N [CMV/Hygro] Vector	N1351	20 µg
pNLF1-C [CMV/Hygro] Vector	N1361	20 µg
Flexi® Vectors		
pFN31A <i>Nluc</i> CMV-Hygro Flexi® Vector	N1311	20 µg
pFC32A <i>Nluc</i> CMV-Hygro Flexi® Vector	N1331	20 µg
pFN31K <i>Nluc</i> CMV-neo Flexi® Vector	N1321	20 µg
pFC32K <i>Nluc</i> CMV-neo Flexi® Vector	N1341	20 µg

NanoBRET™ PPI 检测试剂

	目录号	规格
NanoBRET™ Nano-Glo® Detection System (< 2 h)		
• NanoBRET™ Nano-Glo® Substrate	N1661	200 次检测 (96 孔)
• HaloTag® NanoBRET™ 618 Ligand	N1662	1,000 次检测 (96 孔)
	N1663	10,000 次检测 (96 孔)
NanoBRET™ Nano-Glo® Kinetic Detection System (> 2 h)		
• Nano-Glo® Vivazine™ Substrate	N2583	200 次检测 (96 孔)
• HaloTag® NanoBRET™ 618 Ligand	N2584	1,000 次检测 (96 孔)
	N2585	10,000 次检测 (96 孔)

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



请联系我公司技术服务部



www.promega.com/support/tech-support

仅供研究使用。不得用于诊断用途。

更多有用资料请参考：

Targeted Protein Degradation

- Caine, E.A. *et al.* (2020) *Targeted Protein Degradation Phenotypic Studies Using HaloTag CRISPR/Cas9 Endogenous Tagging Coupled with HaloPROTAC3*. *Curr Protoc Pharmacol* 91(1):e81
- Riching, K.M. *et al.* (2020) *High-Throughput Cellular Profiling of Targeted Protein Degradation Compounds using HiBiT CRISPR Cell Lines*. *J. Vis. Exp.* (165), e61787
- Zhang, Y. *et al.* (2019) *Targeted protein degradation mechanisms*. *Drug Discov Today Technol.* 31:53-60
- Zoppi, V. *et al.* (2019) *Iterative Design and Optimization of Initially Inactive Proteolysis Targeting Chimeras (PROTACs) Identify VZ185 as a Potent, Fast, and Selective von Hippel-Lindau (VHL) Based Dual Degradator Probe of BRD9 and BRD7*. *J Med Chem.* 62(2):699-726
- Daniels, DL. *et al.* (2019) *Monitoring and deciphering protein degradation pathways inside cells*. *Drug Discov Today Technol.* 31:61-68
- 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
- Buckley, DL. *et al.* (2015) *HaloPROTACS: use of small molecule PROTACs to induce degradation of HaloTag fusion proteins*. *ACS Chem Biol.* 10(8):1831-7

NanoBRET™ TE & PPI

- Guo, WH *et al.* (2020) *Enhancing intracellular accumulation and target engagement of PROTACs with reversible covalent chemistry*. *Nat Commun.* 11(1):4268
- Wells, C *et al.* (2020) *Quantifying CDK inhibitor selectivity in live cells*. *Nature Communications* 11(1):2743
- Dale, NC. *et al.* (2018) *NanoBRET: The Bright Future of Proximity-Based Assays*. *Front Bioeng Biotechnol.* 7:56
- Vasta, JD. *et al.* (2018) *Wide-Spectrum Kinase Profiling in Live Cells for Assessing the Effect of cellular ATP on Target Engagement*. *Cell Chem Biol.* 25:1-9
- Robers, MB. *et al.* (2015) *Target engagement and drug residence time can be observed in living cells with BRET*. *Nat Commun.* 6:10091
- Machleidt, T. *et al.* (2015) *NanoBRET – A Novel BRET Platform for the Analysis of Protein:Protein Interactions*. *ACS Chem Biol.* 10(8):1797-804

HiBiT Protein Tagging System

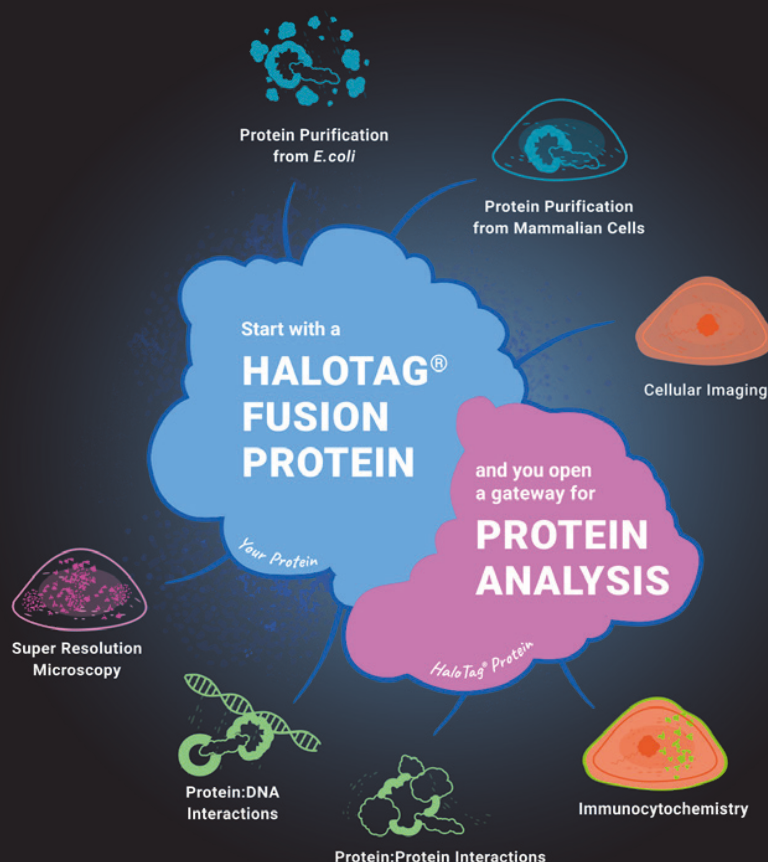
- Schwinn, MK. *et al.* (2020) *A simple and scalable strategy for analysis of endogenous protein dynamics*. *Sci Rep.* 10(1):8953
- Schwinn, M.K. *et al.* (2017) *CRISPR-Mediated Tagging of Endogenous Proteins with a Luminescent Peptide*. *ACS Chem Biol.* 13(2):467-474

HaloTag® Technology

- Los, GV. *et al.* (2008) *HaloTag: a novel protein labeling technology for cell imaging and protein analysis*. *ACS Chem Biol.* 3(6):373-82

HaloTag[®] 技术

一种用于蛋白质标记和分析的强大工具



只需简单三步。即可轻松满足您的需求！

1

将 HaloTag[®] 融合标签
添加至蛋白质中

2

与 HaloTag[®] Ligands 系列
产品中的配体进行配对

3

用于多种应用方向



立即访问 www.promega.com/FindMyGene, 即可查看超过 9,000 种
经验证的 HaloTag[®]- 人类 ORF 克隆产品

了解更多信息, 请访问
www.promega.com/halotag-technology

Promega 公司全球联系信息

联系 Promega

中国大陆

电话: +86 10 5825 6268

传真: +86 10 5825 6160

免费热线: 400 810 8133

邮箱: info@promega.com.cn



-  Promega 总部
-  Promega 生产基地
-  分公司
-  经销商



有关 Promega 各分公司和经销商的更多信息，
请访问：
www.promega.com/support/worldwide-contacts

CRISPR/Cas9 基因敲入单克隆或多克隆细胞系



Promega 公司将持续开发更多 HiBiT、NanoLuc® 和 HaloTag® CRISPR 基因敲入多克隆细胞系和克隆产品系列。如需查看最新相关产品列表，请访问：

www.promega.com/CRISPR_HiBiT

细胞系相关问题，或无法找到目标靶点或细胞背景？
请联系当地 Promega 经销商或联系 Promega 公司技术支持团队：
EliteAccess@promega.com

Targeted Protein Degradation

<https://www.promega.com.cn/applications/small-molecule-drug-discovery/protein-degradation-drug-discovery/>



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: 2022.11