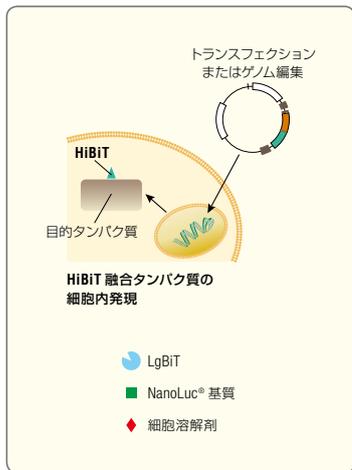


HiBiT の特徴とアプリケーション

HiBiT システムのベースとなる HiBiT は大きさがわずか 11 アミノ酸であり、高い親和性 (Kd = 約 1 nM) で LgBiT と結合して NanoLuc® を再構成し、強い発光を生じます。この非常に明るい光により過剰発現させることなく内在レベルで発現する目的タンパク質の定量化が可能であり、CRISPR 等のゲノム編集技術と組み合わせて内在ローカスにこの HiBiT タグを埋め込むことで実質的にあらゆるタンパク質の発現をモニタリングすることができます。また、SDS-PAGE で分離した HiBiT タグ付きタンパク質をブロットングし、LgBiT を含む検出試薬を添加するだけでフェムトグラムレベルの感度でタンパク質を検出することができます。さらに、細胞を溶解することなく HiBiT タグタンパク質の細胞表面発現、膜受容体の内在化、また分泌タンパク質を数分で測定することもできます。シンプルな 1 回試薬添加のアッセイプロトコルなのでハイスループットアプリケーションにも最適です。



- キーポイント**
- ✓ **明るい** ⇒ 高輝度 NanoLuc® の発光
 - ✓ **シンプル** ⇒ 抗体不要、標準的なルミノメーター
 - ✓ **小さなタグ (11 アミノ酸)** ⇒ 対象タンパク質への影響が最小限、ゲノム編集に最適

細胞溶解アッセイ

生細胞アッセイ

1 細胞ライセートのタンパク質量
HiBiT Lytic Assay

目的タンパク質に HiBiT を付加し、細胞内で発現させ、細胞溶解成分を含む試薬 (LgBiT、NanoLuc® 基質を供給) を添加して発光測定する。

- 試薬を 1 回添加するだけのシンプルな手順
- 10 分以内に実験完了
- 7 桁以上の広いダイナミックレンジ (30kDa タンパク質で 10fg-100ng)

2 ブロットングメンブレン上でのタンパク質量
HiBiT Blotting

HiBiT 付加タンパク質を発現させた細胞を溶解し、SDS-PAGE 泳動、メンブレン転写する。メンブレンに LgBiT および NanoLuc® 基質を含む試薬を添加し、目的タンパク質をバンドとして検出する。

- 試薬を 1 回添加するだけのシンプルな手順
- 30 分以内に実験完了
- 抗体不要・特異的: シグナルは HiBiT と LgBiT の結合でのみ検出

→非特異的のバンドは検出されない

3 生細胞の膜タンパク質、分泌タンパク質の定量
HiBiT Extracellular Assay

HiBiT を付加したタンパク質として発現した膜タンパク質・分泌タンパク質等を細胞を生かしたまま定量する。検出試薬に含まれる LgBiT は細胞膜非透過性なので細胞表面のタンパク質または細胞外への分泌タンパク質のみ検出できる。シンプルな添加・検出フォーマットにより、受容体の細胞内移行、受容体のリサイクリング、タンパク質分泌、細胞膜移行をリアルタイムで測定可能。

アプリケーション例

- GPCR 受容体の生細胞での内在化定量

4 細胞内タンパク質会合による細胞融合、ウイルス感染の検出
HiBiT Intracellular Assay

2種類の細胞あるいは細胞とウイルスなどの組み合わせで、それぞれの細胞に LgBiT、HiBiT を発現させ、それらが融合すると自発的に会合し、基質添加により発光定量する。挿入配列の長さ制限のあるウイルスゲノムや CRISPR-Cas9 によるゲノム編集に

応用することにより、内在性ゲノム、ウイルスゲノム中の遺伝子のマーカーとして利用可能。

アプリケーション例

- ウイルス感染あるいは複製 (極小 HiBiT がウイルスゲノムへの挿入に好適)
- 細胞融合
- アクセプター細胞への Exosome デリバリー
- 生細胞での細胞内タンパク質の定量

HiBiT システムは **9月! 堂々発売スタート!!**

詳細については弊社までお問合せください。