

powered by NanoLuc technology

Lumit[®]

イムノアッセイ

洗いのいらない
ホモジニアスな発光免疫測定法

**Lumit[®] の
簡便性を是非
ご体感ください!**

RentaMAXで
発光プレートリーダー
無償レンタル可能!

※プロメガクラブへの
入会が必要



- **低バックグラウンド&広いダイナミックレンジ**
(サンプルの希釈不要)
- **高価な専用測定装置は不要**
(発光測定プレートリーダーで測定)
- **標的タンパク質の定量から
タンパク質間相互作用解析に**
- **様々なサンプル種、
96 ~ 384 ウェルフォーマットに対応**

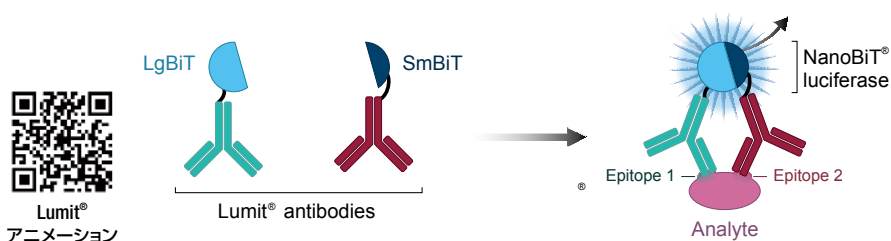
プロメガ株式会社

Lumit® イムノアッセイの特長

Lumit® テクノロジー

高輝度 NanoLuc® 酵素断片を利用した発光免疫検出技術

標的タンパク質の検出と定量は、特異性の高い抗体を利用したウェスタンブロットングや ELISA などのイムノアッセイが利用されますが、洗浄操作やブロッキングなど煩雑な操作が求められます。Lumit® テクノロジーは、マルチウェルプレートフォーマットで試薬を加えるだけのホモジニアスイムノアッセイを実現できるので、操作がシンプルで自動化やハイスループットスクリーニングにも容易に適応します。蛍光を利用した FRET 様のイムノアッセイに比べてもより簡便、広いダイナミックレンジ、低コストでの実施が可能で、基礎研究から創薬研究を行う研究者にとって強力なツールとなります。



Lumit® イムノアッセイの検出原理

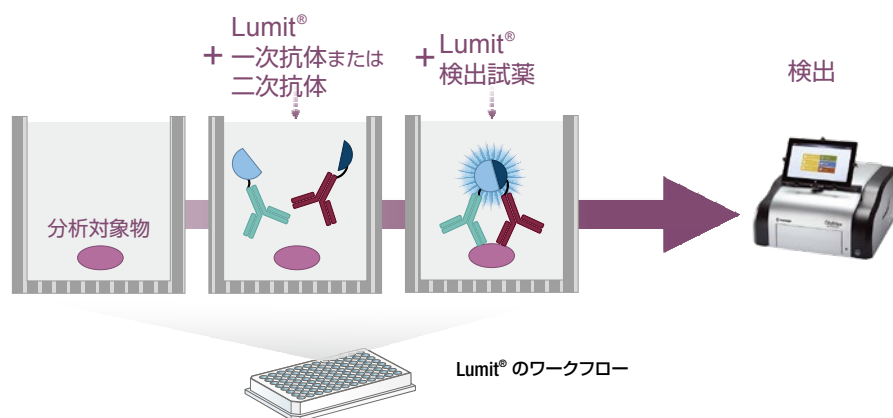
Lumit® の基本原理は高輝度の NanoLuc® をスプリットした大小のフラグメントの再会合による発光活性化を利用しています。Lumit® イムノアッセイでは、これらの断片 (SmBiT と LgBiT) でそれぞれ標識した 2 つの抗体を用います。標識抗体が被検体に直接または間接的に結合することで、SmBiT と LgBiT 断片が空間的に近接し、NanoBiT® ルシフェラーゼとして再構成されると、基質であるフリマジンの存在下で、非常に明るい発光が検出されます。この発光は、サンプル中に存在する分析対象物の量に直接比例します。

特長

- **真のホモジニアスアッセイ**: 洗浄工程、ブロッキング、抗体の固定化が不要で、培地の除去も不要な“添加だけ”のステップ
- **ハイスピード**: ステップ数が最小限で細胞培養プレートでの測定も可能
- **多検体処理**: 自動化にも容易に適応し、384 ウェルフォーマットにも対応
- **高品質データ**: 発光法の特性により高感度・広いダイナミックレンジを実現 (サンプルの希釈不要)
- **プレートリーダーで測定**: シンプルな発光測定機能で OK (高価な専用検出装置は不要)

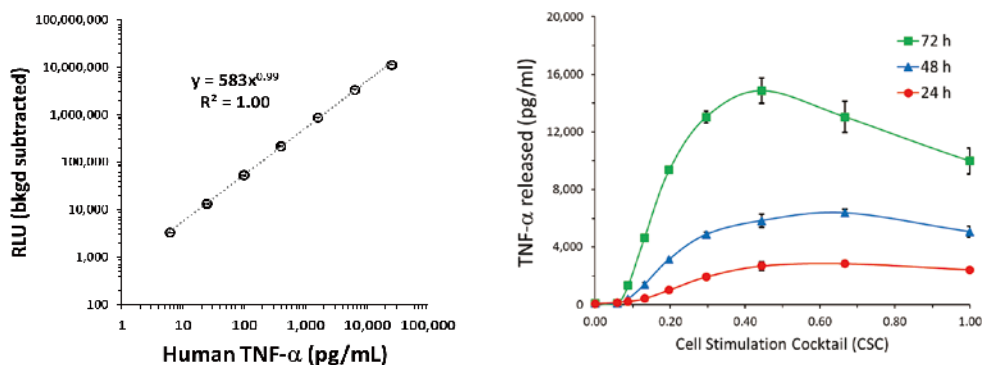
対応フォーマット

- 細胞培養サンプル (培養上清、細胞ライセート)
- 生化学アプリケーション
- 血清・血漿 (右ページ参照)



アプリケーション

- 生体試料中のタンパク質の定量化
- タンパク質と低分子化合物の競合結合研究
- タンパク質や低分子薬物スクリーニング
- シグナル伝達経路の活性化測定
- タンパク質相互作用の解析
- ハイスループットスクリーニング (HTS)

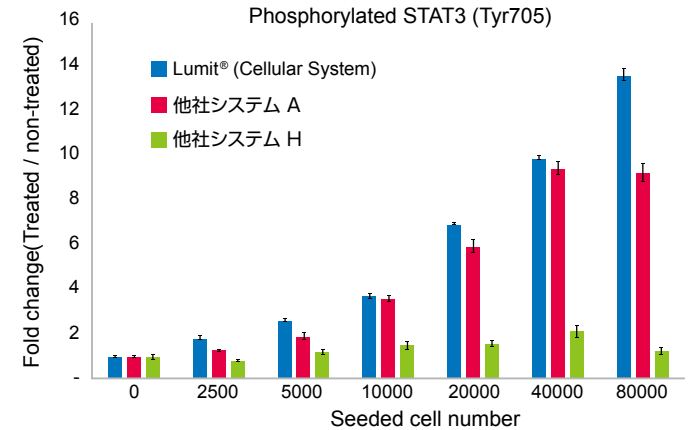
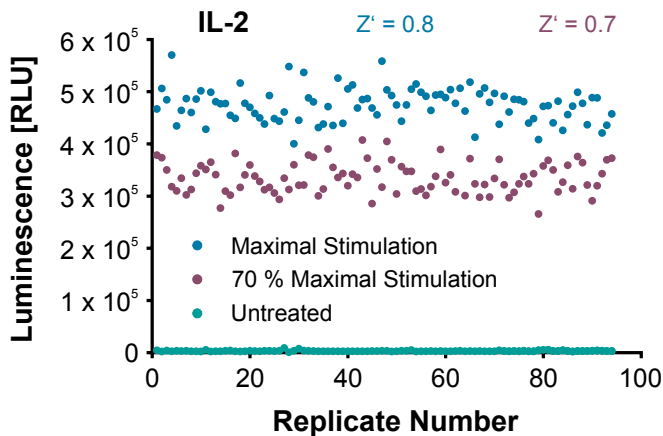
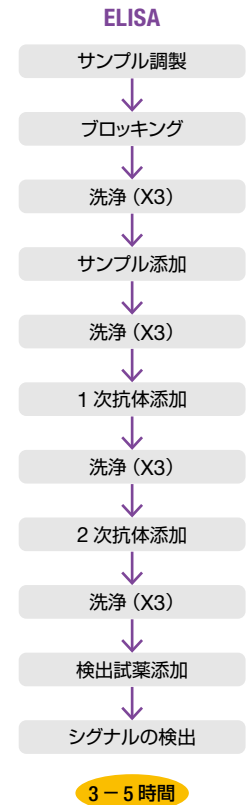
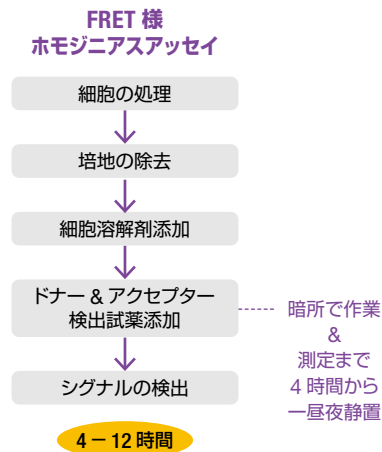
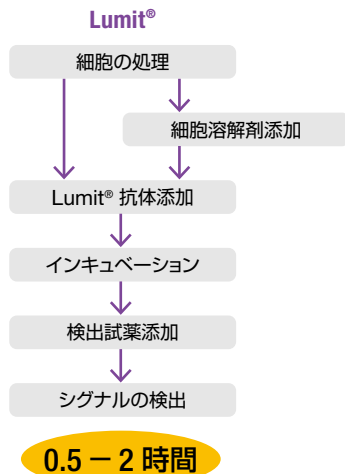


希釈の不要な広いダイナミックレンジ

Lumit® イムノアッセイはダイナミックレンジが広いので、細胞モデルで放出されるサイトカインを検出する場合の多くはレンジ内に収まるため、サンプルの希釈が不要。上記の実験では 96 ウェルフォーマットでヒト PBMC (100,000 cells/well) よりサイトカインを放出させるために細胞刺激カクテルで処理した。3 つのタイムポイントで細胞を含むウェルに Lumit® TNF- α reagent を直接添加した。TNF- α 濃度は標準曲線より算出した。応答レベルは 60 ~ 15,000 pg/ml であり、サンプルの希釈を必要としなかった。左グラフは Lumit® TNF- α (Human) で作成した標準曲線

シンプル＆スピーディー：真のホモジニアスアッセイは Lumit® だけ

抗体の特異性を利用した測定法や検査法は現在でも広く利用されている基盤技術ですが、B/F 分離を必要とするため操作が煩雑で、労力、時間がかかり、バラつきも大きくなります。また、洗浄操作やステップ数の多さにより自動化も容易ではありません。プロメガの Lumit® 法は培地の除去、洗浄操作が不要で、試薬を追加するだけのシンプルステップ（ホモジニアスアッセイ）が特長であり、ELISA やウェスタンにくらべ大幅に処理量を増やすことができます。さらに FRET 様のアッセイは、培地の除去ステップや長い待ち時間が必要であると同時に、複雑な光学系を利用しているため、検出装置も高額で、アッセイ系の構築も容易ではありません。Lumit® 法は高輝度発光酵素断片の再会合を利用したシンプルなテクノロジーであるため、標準的な発光測定プレートリーダーで測定でき、標識やアッセイ構築も比較的容易です。



HTS 適合性の検証

ヒト PBMC を 10000 cells/well で 384-well プレートに播種し、細胞刺激カクテルで 24 時間処理した。24 時間、最大刺激量または 70% 最大刺激量で処理した。各条件において、試薬添加時の発光を 94 レプリケートで測定した。IL-2 放出について算出された Z' ファクターは 0.5 を大幅に上回り、スクリーニングへの応用が可能であることが示された。

他社ホモジニアス法との比較

細胞内のリン酸化 STAT3 検出における各ホモジニアスアッセイの検出パフォーマンスを比較した。Lumit® 法は A 法より同等以上の S/B 比を示し、H 法よりも高い感度を示した。Lumit® は培地の除去を伴わない完全なホモジニアスアッセイを実現でき、他のアッセイと同等以上のパフォーマンスを示した。

Lumit® アッセイは血清サンプルに適合しますか？

特定のアッセイと血清サンプル中の分析対象物の予想濃度により異なります。血漿や血清には、測定に支障をきたし、シグナルを減少させる成分が含まれています。これは、サンプルを希釈して干渉を軽減することにより、場合によっては緩和することができます。

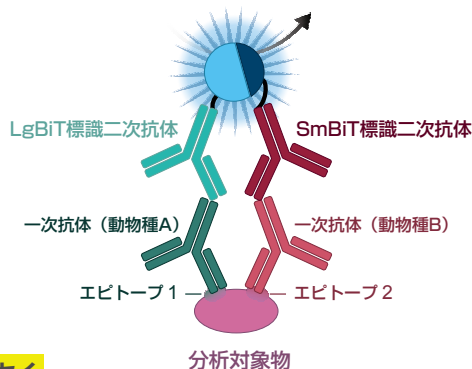
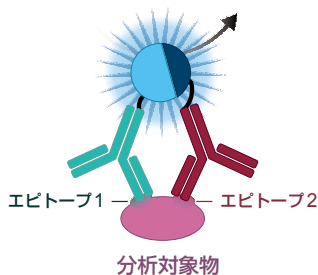
Lumit® SARS-CoV-2 RBD:hACE2 アッセイなど一部製品は血清サンプル用に設計されており、血清と互換性があります。血清のマトリックス効果を緩和するために必要な希釈倍率は、分析対象物のレベルにより異なります。一方、サイトカイン、インスリンおよびグルカゴンアッセイなどほとんどのアッセイは、細胞培養サンプル用に設計されています。これらの場合、健康なヒト血清中の分析物レベルは、血清のマトリックス効果を軽減するために必要な希釈倍率で測定するには低すぎる可能性があるため、血清検体での測定には推奨されません。尚、ルーチンの細胞培養試料に使用される 10% FBS は Lumit® 測定に干渉しません。

タンパク質定量

Lumit® テクノロジーは分析対象物を定量するための様々な測定フォーマットをサポートしています。

プロメガでは特定のサイトカインやその他の標的タンパク質を定量するために、SmBiT、LgBiT で標識した一次抗体および検出試薬を含むターゲットキットをはじめ、抗体のラベリング試薬やご自身でご用意された一次抗体を検出するための標識二次抗体なども用意しています。

標的タンパク質の定量



直接アッセイ

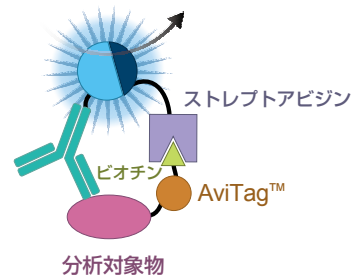
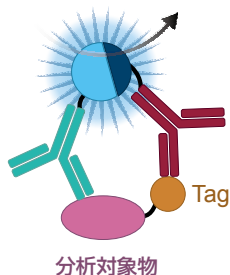
1つの分析対象物に対して異なるエピトープを認識するSmBiTまたはLgBiTで標識された2つの一次抗体を使用。

- 各種ターゲットキット (5 ページ)
- 抗体標識キット (10 ページ)

間接アッセイ

1つの分析対象物に対して2つの異なるエピトープを認識する一次抗体とSmBiTまたはLgBiTで標識された2つの二次抗体を使用。本フォーマットは細胞ライセートに含まれるリン酸化タンパク質など翻訳後修飾を受けたタンパク質の検出に適しています。一次抗体があれば、抗体の標識作業は不要です (別売の標識二次抗体を利用可能)。

- Lumit® Immunoassay Cellular System (一次抗体は不含) (7 ページ)
- SmBiT または LgBiT 標識二次抗体 (13 ページ)



タグ付加タンパク質のアッセイ

各種タグを付加した分析対象物の検出にSmBiTまたはLgBiTで標識された一次抗体および抗タグ抗体 (別売の標識抗体を利用可能) を使用。

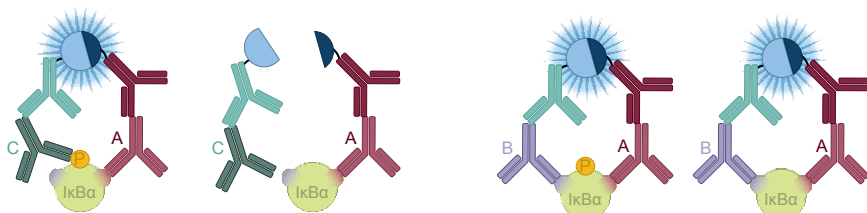
- Anti-Tag (11 ページ)
- 抗体標識キット (10 ページ)

ビオチン付加タンパク質アッセイ

ビオチンを付加した分析対象物の検出にLgBiTで標識された一次抗体およびSmBiT標識ストレプトアビジン (別売の標識抗体を利用可能) を使用。

- Anti-Tag (11 ページ)
- 抗体標識キット (10 ページ)

リン酸化タンパク質 (修飾タンパク質) 定量



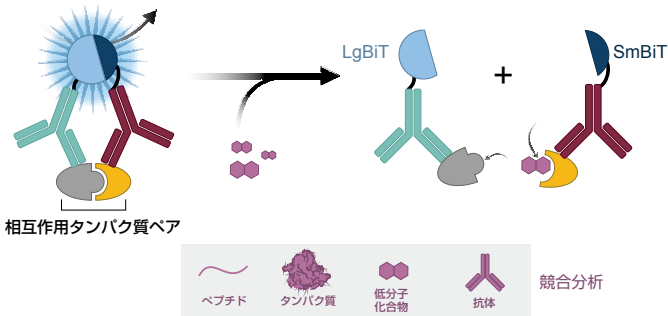
標的タンパク質の非リン酸化部位に対する抗体2種 (A, B) とリン酸化部位に対する抗体 (C) を組み合わせることで、標的タンパク質の定量だけでなく、リン酸化状態も調べることができます。Lumit® Immunoassay Cellular System を用いればウェルあたりの細胞生存性を簡便な蛍光アッセイ法で測定し、Lumit® データを補正することにより正確な結果を得ることができます。

- Lumit® Immunoassay Cellular System (一次抗体は不含) (7 ページ)

相互作用検出

タンパク質の相互作用についても Lumit[®] テクノロジーで解析することができます。これらの結合イベント（タンパク質：タンパク質あるいはタンパク質：化合物）の検出や特性化に適したフォーマットをお選びいただけます。

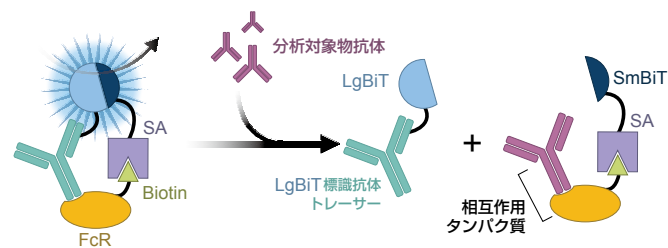
相互作用阻害の検出（シグナルの減衰）



Lumit[®] シグナル減衰相互作用アッセイ

in vitro で競合する分析対象物の効力を判定するために使用されます。この生化学的アッセイフォーマットでは、目的のタンパク質相互作用ペアに対する SmBiT および LgBiT 標識一次抗体を用いて、競合分析対象物（阻害剤）の効力を判定することができます。競合分析物を添加すると、発光シグナルは減少します。このようなアッセイ方式は以下の製品で利用されています。

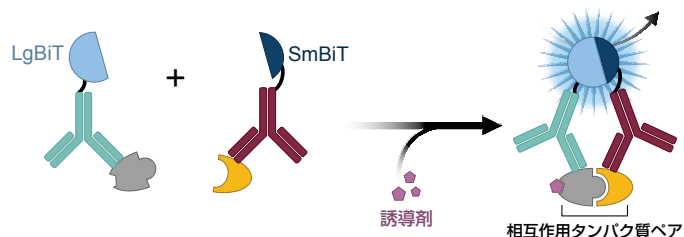
- Lumit[®] SARS-CoV-2 RBD:hACE2 Assay (9 ページ)



Lumit[®] FcR Binding Immunoassay の測定形式は、競合的なシグナル減衰アッセイのもう一つの例です。このアッセイフォーマットでは、ビオチン化 FcR に SmBiT 標識ストレプトアビジン (SA-SmBiT) および LgBiT 標識抗体トレーサーを結合させます。これにより、分析対象抗体の FcR に対する親和性を競合的に測定することができます。標識抗体トレーサーの競合的置換により、FcR に対する抗体（分析対象抗体）の親和性を測定することができます。

- Lumit[®] FcR Binding Immunoassay (8 ページ)

相互作用阻害の検出（シグナルの増加）

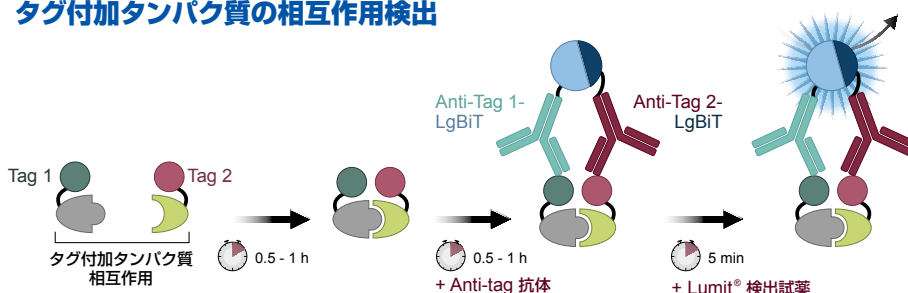


Lumit[®] シグナル増加相互作用アッセイ

Lumit[®] シグナル増加アッセイは、目的のタンパク質：タンパク質ペアの相互作用誘導剤の効力解析に使用されます。このフォーマットでは、SmBiT または LgBiT で標識した一次抗体を誘導剤と同時に使用します。2 つのタンパク質が相互作用することで発光シグナルが相対的に増加します。

- 抗体標識キット (10 ページ)

タグ付加タンパク質の相互作用検出



タグ付加タンパク質間相互作用アッセイ

2 種類の異なる親和性タグを付加した目的タンパク質ペアがあれば、別売の Anti-Tag 抗体を利用することで簡単に Lumit[®] タンパク質：タンパク質相互作用アッセイを構築することができます。

- Anti-Tag (11 ページ)

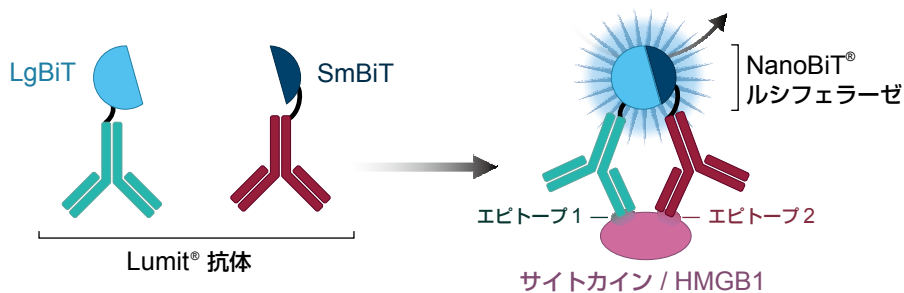
標的タンパク質定量（直接アッセイ）

標的タンパク質定量キット：サイトカイン・HMGB1・ホルモン

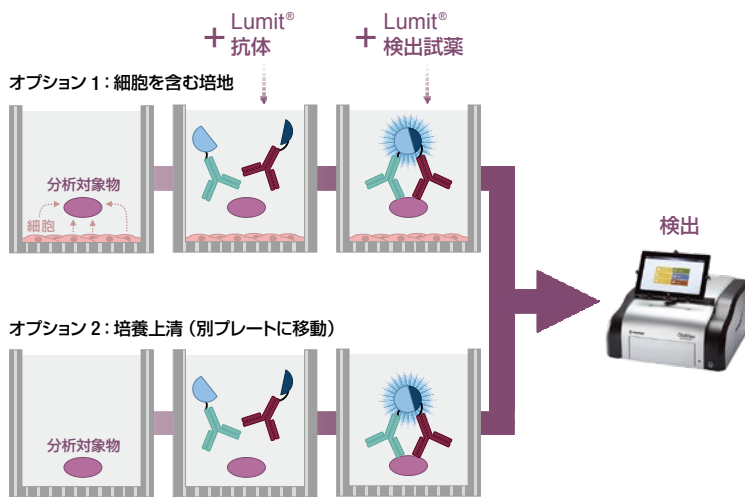
Lumit® ターゲット イムノアッセイは、標的タンパク質に対する一次抗体を含むオールインワンのアッセイキットで、現在サイトカイン、HMGB1 および糖代謝ホルモンに対するキットを用意しています。プレートベースのホモジニアスなイムノアッセイで、発光法の高感度な特長と広いダイナミックレンジにより、多くの場合サンプルの希釈が不要です。Lumit® アッセイは、試薬を添加するだけの簡便なステップによりロースルーブットはもちろんハイスルーブットでの処理時に特に威力を発揮します。

本キットには、標的タンパク質に特異的な2種類の一次抗体が含まれており、LgBiT および SmBiT でそれぞれ標識されています。また、スタンダードおよび検出試薬も添付されます。

細胞培養上清中の標的タンパク質の検出では細胞培養プレートでそのまま、または上清を別プレートに移して測定することもできます。両抗体が結合すると、NanoBiT® 酵素が再構成され、検出試薬の添加により、標的タンパク質量に比例した明るい発光シグナルが得られます。



Lumit® ダイレクト検出法の概要

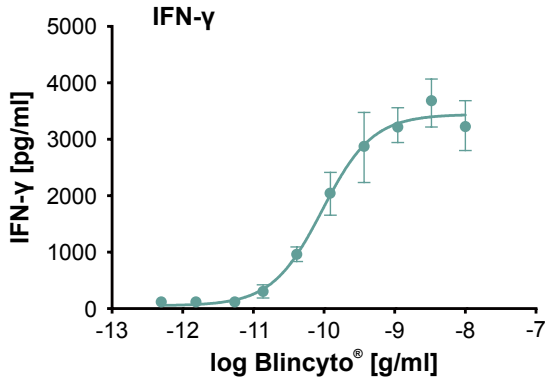


アッセイフォーマット

分析対象	ダイナミックレンジ	検出下限
サイトカイン		
Human IL-1β	22 – 40000 pg / ml	10 pg / ml
Mouse IL-1β	11 – 40000 pg / ml	8 pg / ml
Human IL-2	14 – 25000 pg / ml	13 pg / ml
Human IL-4	14 – 25000 pg / ml	13 pg / ml
Human IL-6	6 – 25000 pg / ml	6 pg / ml
Human IL-10	18 – 25000 pg / ml	18 pg / ml
Human IFN-γ	2 – 10000 pg / ml	2 pg / ml
Human TNF-α	6 – 25000 pg / ml	6 pg / ml
ダメージ関連分子パターン (HMGB1)		
Human/Mouse HMGB1	7 – 729 pg / ml (Hu) 3 – 2187 pg / ml (Ms)	1 ng / ml (Hu) 3 ng / ml (Ms)
糖代謝ホルモン		
Insulin*	58 – 46000 pg / ml	58 pg / ml
Glucagon	3 – 7000 pg / ml	3 pg / ml

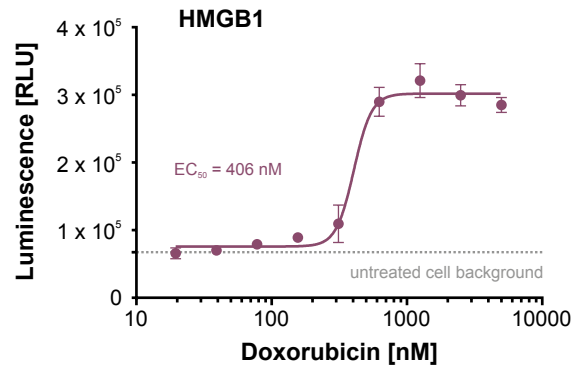
	サイトカイン & HMGB1	ホルモン
サンプル種	培養細胞 分取した培養上澄	分取した培養上澄
サンプル量	12.5 – 80 μl	5 – 50 μl
フォーマット	ダイレクトアッセイ (96 / 384 ウェルフォーマット)	
操作性	ホモジニアス (添加 & 測定)	
所要時間	70 分以内	
マルチアッセイ (オプション)	Caspase-Glo® 1 Inflammasome Assay (カタログ番号 G9951)	Lumit® アッセイの両方を使用し、インスリン*とグルカゴンを同時に分析することができます。並べて分析することで、より多くの 肝臓機能に関する情報を得ることができます。

※ Lumit® Insulin Immunoassay などカスタム製品として提供することができます。詳細については以下のプロメダクラブの裏メニューサイトを参照ください。 www.promega.co.jp/special/club/high-tech/



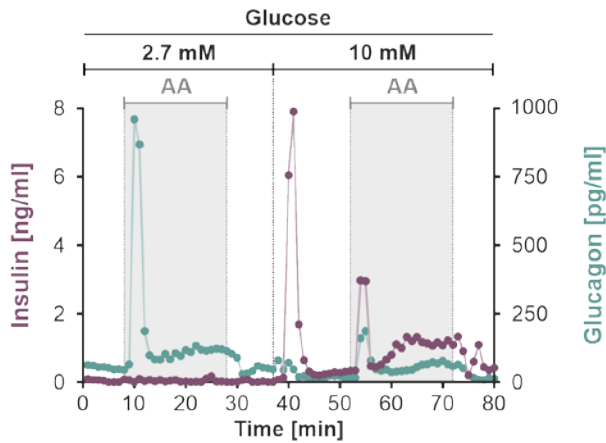
T細胞活性化マーカー IFN-γ の検出

精製した CD8+ T 細胞 (エフェクター細胞) に Raji B 細胞 (ターゲット細胞) を加え、連続希釈した Blincyto® (CD3 および CD19 二重特異性 T 細胞エンゲージャー) を混合した。Lumit® IFN-γ Immunoassay を用いて、細胞存在下 (上清の移替えなし) で、エフェクター細胞から細胞培養上清への IFN-γ の放出を分析した。



薬剤による免疫原性細胞死の誘導

マウス EL4 細胞をドキソルビシンで 24 時間処理した。上清中の HMGB1 を Lumit® HMGB1 Immunoassay を用いて、細胞存在下 (上清の移替えなし) で定量した。



灌流実験における分泌糖代謝ホルモンの測定

灌流チャンバー内の 80 個のマウス膵島を 2.7 mM グルコース、次に 10 mM グルコースで、アミノ酸混合物と組み合わせて処理した。1 分毎に灌流液を分取し、Lumit® アッセイを用いて 10 μl 灌流液を 384 ウェルで測定した。(本データは University of Wisconsin VA Hospital, Madison, WI, H. Foster および M. Merrins 両博士の好意により提供された。)

製品名	カタログ番号	サイズ
サイトカイン		
Lumit® IL-1β Human Immunoassay	W6010	100 ウェル分
	W6012	500 ウェル分
Lumit® IL-1β Mouse Immunoassay	W7010	100 ウェル分
	W7012	500 ウェル分
Lumit® IL-2 Human Immunoassay	W6020	100 ウェル分
	W6022	500 ウェル分
Lumit® IL-4 Human Immunoassay	W6060	100 ウェル分
	W6062	500 ウェル分
Lumit® IL-6 Human Immunoassay	W6030	100 ウェル分
	W6032	500 ウェル分
Lumit® IL-8 Human Immunoassay	CS2032C02	100 ウェル分
Lumit® IL-10 Human Immunoassay	W6070	100 ウェル分
	W6072	500 ウェル分
Lumit® IL-12 Human Immunoassay	CS2032C04	100 ウェル分
Lumit® IL-17A Human Immunoassay	CS2032C01	100 ウェル分
Lumit® Active IL-18 Human Immunoassay	CS3291A01	100 ウェル分

製品名	カタログ番号	サイズ
Lumit® IFN-β Human Immunoassay	CS2032C03	100 ウェル分
Lumit® IFN-γ Human Immunoassay	W6040	100 ウェル分
	W6042	500 ウェル分
Lumit® MCP-1 Human Immunoassay	CS2032C06	100 ウェル分
Lumit® TNF-α Human Immunoassay	W6050	100 ウェル分
	W6052	500 ウェル分
Lumit® VEGF-A Human Immunoassay	CS2032C07	100 ウェル分
ダメージ関連分子パターン		
Lumit® HMGB1 Human/Mouse Immunoassay	W6110	100 ウェル分
	W6112	500 ウェル分
糖代謝ホルモン		
Lumit® Glucagon Immunoassay	W8020	100 ウェル分
	W8022	500 ウェル分

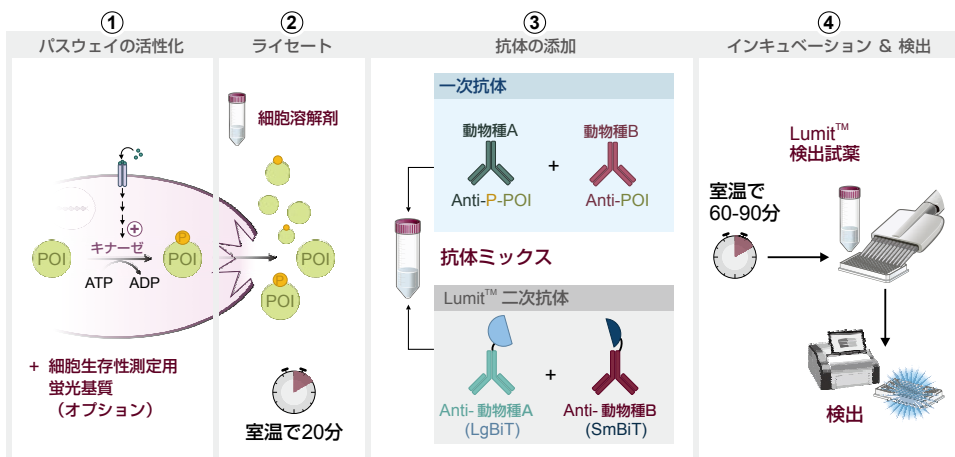
※ 96 ウェルプレートで換算
 ※ IFN-α1, IFN-α2, TGF-β, Insulin に対する Lumit® Immunoassay や上記にないサイズについては別途お問合せください。

価格、プロトコルなどはこちら



細胞内・修飾タンパク質 検出キット

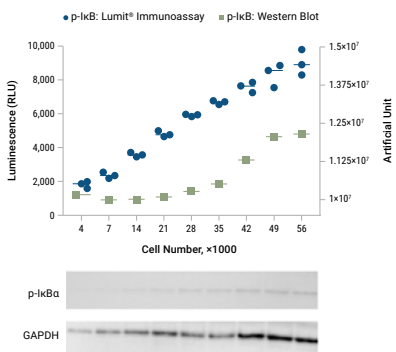
Lumit® Immunoassay Cellular System は、細胞内のキナーゼシグナル伝達経路解析のために、幅広い市販の一次抗体で検証された免疫検出システムです。アッセイキットには、溶解バッファー、標識済み Lumit® 二次抗体、および検出試薬が含まれています。リン酸化タンパク質などに対する一次抗体（別途必要）と組み合わせることで、シグナル伝達経路の解析が容易に行えます。現在までに、このフォーマットは、リン酸化に焦点を当てた細胞ライセートでの細胞シグナル伝達解析で広く検証されています。以下の表にまとめた様々なターゲットやパスウェイの検出アプリケーションも増え続けています。各アプリケーションノートには、プロトコルと使用する市販品の一次抗体の情報が記載されています。



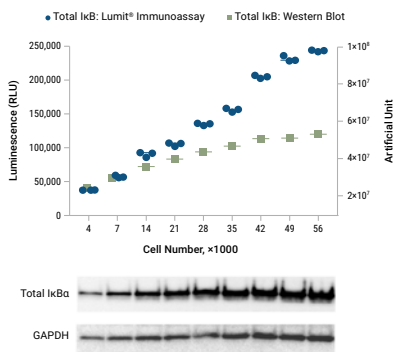
本製品は LgBiT または SmBiT であらかじめ標識された2種類の二次抗体と2種類の一次抗体を混合する間接 Lumit® 検出フォーマットを採用しています。実験のワークフロー ①目的のシグナル伝達経路を活性化するために細胞を処理。生存細胞数の正規化が必要な場合、付属の細胞生存性測定用蛍光基質 (GF-AFC) の利用が可能。②ジギトニンベースの細胞溶解バッファーを添加し、細胞をウェル内で溶解。③抗体ミックスを添加 ④室温で60~90分間インキュベートした後、Lumit® 検出試薬を添加し、発光信号を測定。

Lumit® Immunoassay Cellular System の概要

A パネル



B パネル



ウェスタンブロットリングと Lumit® システムによる IkBα リン酸化および総タンパク質の検出

様々な個数の MCF-7 細胞を播種 (3500 - 56,000) し、37℃、5% CO₂ で一昼夜インキュベーションした。細胞は MG132 (20 μM, 1 h) で前処理した後に TNFα (50 ng/ml, 30 min) で処理 (または未処理) し、同じ一次抗体を用いて Lumit® Immunoassay Cellular System またはウェスタンブロットリングでリン酸化 IkBα を検出した (A パネル)。Total IkBα の検出では MG132 による前処理を行わずに、同じ一次抗体を用いて Lumit® Immunoassay Cellular System またはウェスタンブロットリングを行った (B パネル)。ホモジニアスな Lumit® システムを用いればウェスタンブロットリングと同様のデータがより簡便、迅速に得られ、さらにより少量の細胞で定量性の高い結果を取得できます。

標的タンパク質	リン酸化 / トータル*	標的タンパク質	リン酸化 / トータル*
4E-BP1	P	H2AX	P
AKT*	P/T	HER2	P
BCL-6	T	IkBα*	P/T
β-Catenin	P/T	JNK*	P
BRD4	T	P65*	P/T
BTK*	P/T	RB*	P/T
CHK1	P	rpS6	P
c-Jun	P	SMAD1	P/T
CMET	P	SMAD2	P/T
CREB	P/T	SMARCA2	T
EGFR	P	SMARCA4	T
ER	T	STAT1	P/T
ERK*	P	STAT2	P
GSK3b (S9)	P	STAT3*	P/T

上記標的タンパク質のリン酸化型タンパク質 (P)、トータルタンパク質 (T) または両方を検出するアプリケーションノートがございます (*についてはプレデザインキットがございます)。別途お問合せください。詳細については右 QR コードのページをご覧ください。

製品名	カタログ番号	サイズ
Lumit® Immunoassay Cellular System - Starter Kit	W1220	200 ウェル分
Lumit® Immunoassay Cellular System - Set 1*	W1201	100 ウェル分
	W1202	1000 ウェル分
	W1203	10000 ウェル分
Lumit® Immunoassay Cellular System - Set 2*	W1331	100 ウェル分
	W1332	1000 ウェル分
	W1333	10000 ウェル分

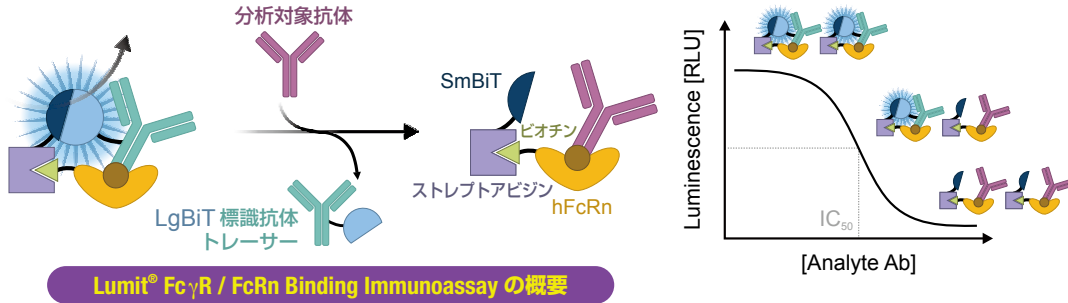
* Set 1: LgBiT 標識 抗マウス抗体 / SmBiT 標識 抗ウサギ抗体の Lumit® 二次抗体セット、Set 2: SmBiT 標識 抗マウス抗体 / LgBiT 標識 抗ウサギ抗体の Lumit® 二次抗体セット。

最新の価格、アプリケーションリスト、プロトコルなどはこちら



Fc 受容体結合アッセイ

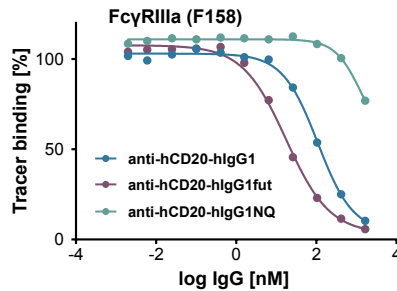
抗体医薬の効果は、Fab フラグメントと標的抗原との結合活性だけでなく、Fc フラグメントと Fc レセプターとの結合活性にも依存します。例えば、Fc フラグメントの新生児 Fc 受容体 (FcRn) への親和性は抗体の半減期に影響し、Fc γ 受容体 (Fc γ R) への結合親和性は、ADCC (抗体依存性細胞傷害) や ADCP (抗体依存性細胞貪食) などの細胞エフェクター機能を誘発する能力に影響すると考えられています。そのため、治療用抗体の開発においては、Fc 受容体に対する試験を実施する必要があります。



本アッセイは LgBiT- 標識 ヒト IgG1 (LgBiT 標識抗体トレーサー) および SmBiT- 標識ストレプトアビジン+ビオチン化 ヒト Fc γ R / FcRn [細胞外ドメイン] (hFc γ R または hFcRn- ビオチン - ストレプトアビジン - SmBiT) で構成されています。分析対象抗体の非存在下では、トレーサーが標識された hFc γ R または hFcRn に結合しているため最大の発光シグナルを生じます。分析対象抗体が存在すると、トレーサーとの競合により、濃度に依存したシグナルの低下が観察されます。

Fc γ R 結合アッセイ

Lumit[®] Fc γ R Binding Immunoassay は、ヒト Fc レセプターと抗体 (または Fc 融合タンパク質) の相互作用を測定する新しい洗浄不要のホモジニアス発光競合アッセイです。溶液中で測定できるため、固定化によるアーチファクトを回避することができます。これらのアッセイは、抗体医薬の開発において、抗体の最適化および抗体の力価測定に使用されます。

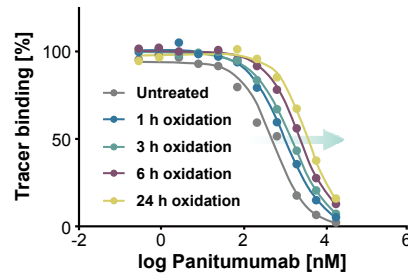


糖鎖による抗体: Fc γ RIIIa (F158) の親和性変化

Lumit[®] Fc γ RIIIa (F158) Binding Immunoassay は抗体の糖鎖状態評価に使用した。抗体の非フコシル化 (抗 hCD20-hlgG1fut) または非グリコシル化 (抗 hCD20-hlgG1NQ) による IC₅₀ シフトが検出された。

FcRn 結合アッセイ

Lumit[®] FcRn Binding Immunoassay は、ヒト新生児 FcRn と Fc タンパク質との相互作用を測定する、ホモジニアスな洗浄不要の競合アッセイです。溶液ベースのフォーマットにより、固定化による実験的アーチファクトを回避することができます。このアッセイは、抗体医薬の開発において、FcRn との結合性を最適化して、抗体半減期の評価・調整に使用することができます。また、抗体の酸化状態の測定や、抗 FcRn ブロッキング抗体の検出にも使用されます。



酸化による抗体: FcRn の親和性の低下

パニツムマブを 0.3% H₂O₂ で 1 - 24 時間処理し、メチオニン酸化を誘導した。Lumit[®] FcRn Binding Immunoassay で用量依存的な抗体: FcRn 親和性の低下を検出した。

Fc γ R / FcRn 結合アッセイ	
サンプル種	抗体 Fc タンパク質
サンプル量	25 μ l
濃度幅	4 ng / ml ~ 4 μ g / ml
フォーマット	シグナル減衰アッセイ (96 / 384 ウェルフォーマット)
操作性	ホモジニアス (添加 & 測定)
所要時間	70 分以内

*イヌおよびネコの Lumit[®] FcRn Binding Immunoassay (動物医薬品開発用) については別途お問合せください。

製品名	カタログ番号	サイズ
FcRn 結合アッセイ		
Lumit [®] FcRn Binding Immunoassay	W1151	100 ウェル分
	W1152	1000 ウェル分
Fc γ R 結合アッセイ		
Lumit [®] Fc γ RI Binding Immunoassay	CS3041A01	100 ウェル分
Lumit [®] Fc γ RIIIa (H131) Binding Immunoassay	CS3041A02	100 ウェル分
Lumit [®] Fc γ RIIIa (R131) Binding Immunoassay	CS3041A03	100 ウェル分
Lumit [®] Fc γ RIIIa (V158) Binding Immunoassay	CS3041A04	100 ウェル分
Lumit [®] Fc γ RIIIa (F158) Binding Immunoassay	CS3041A05	100 ウェル分

* CS から始まる番号はカスタム品です。

価格、プロトコルなどはこちら



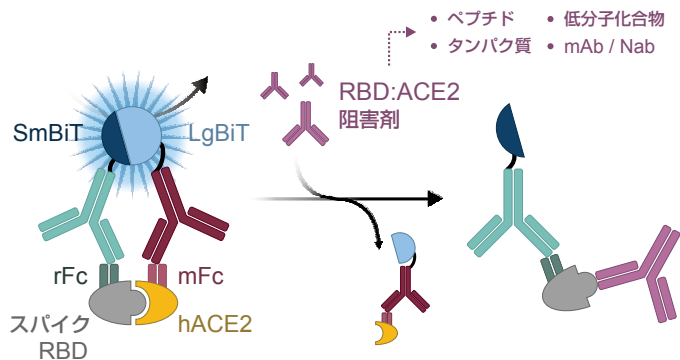
FcRn 結合アッセイ



Fc γ R 結合アッセイ

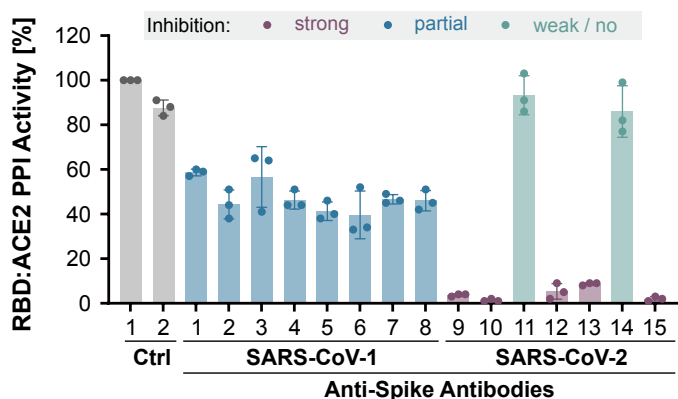
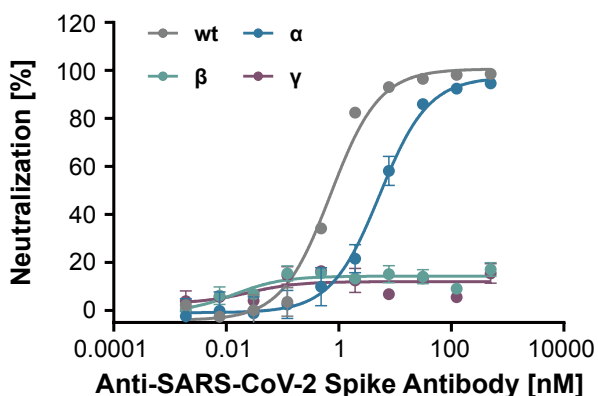
SARS-CoV-2 タンパク質間相互作用アッセイ

Lumit® SARS-CoV-2 RBD:hACE2 イムノアッセイは、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質の受容体結合ドメイン (RBD) とヒトアンジオテンシン変換酵素 2 (ACE2) タンパク質との相互作用を検出します。この相互作用は宿主細胞の感染に不可欠であるため、治療介入の重要なターゲットとなります。この生化学的アッセイは、RBD:hACE2 相互作用阻害剤のスクリーニングに使用され、血漿または血漿中の中和抗体 (NAb) をモニターするための代替中和試験として機能します。



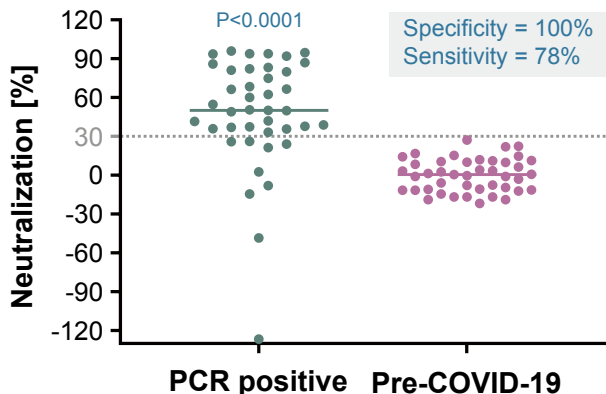
Lumit® SARS-CoV-2 RBD:hACE2 Immunoassay の概要

Lumit® SARS-CoV-2 RBD:hACE2 イムノアッセイは、組換えウサギ Fc-RBD (rFc-RBD) およびマウス Fc-hACE2 (mFc-hACE2) 融合タンパク質を使用しています。抗ウサギ-SmBiT 抗体および抗マウス-LgBiT 抗体でそれぞれ認識されます。相互作用に負の影響を与える分子は、Lumit® による発光シグナルを減衰させます。



SARS-CoV-2 変異体に対する抗体中和効果のモニタリング

SARS-CoV-2 変異体に対する抗 SARS-CoV-2 スパイク抗体の中和能を比較した。野生型と比較すると、α 変異体に固有の RBD 変異は中和に大きな影響を与えなかったが、β 変異体およびγ 変異体の RBD 内の変異は、抗 SARS-CoV-2 スパイク抗体の中和能をほぼ完全に消失させた。



患者由来試料における中和抗体の検出

米国ウィスコンシン州マディソンのプレパンデミック検体 (n = 43) および PCR 陽性血漿検体 (n = 41) のコーホート分析。サンプル希釈液 (1:20) は、他のアッセイ成分を加える前に、RBD-rFc とともに室温で 30 分間プレインキュベーションした。閾値は 30% の中和に設定され、アッセイ特異度 100%、アッセイ感度 78% を示した。

治療用抗体候補のスクリーニング

SARS-CoV-1 または -2 に対する市販の抗体/抗体断片 15 種のミニライブラリーを単回投与でスクリーニングした。データは抗体なし対照 (Ctrl 1) で正規化した。抗体は、RBD:CoV-1、CoV-2 に対する阻害効果によってグループ分けした。RBD:ACE2 相互作用を強く阻害するもの、部分的阻害、弱/無阻害に分類した。抗 SARS-CoV-2 スクレオキャプシド抗体の使用で、アッセイの特異性を確認した。

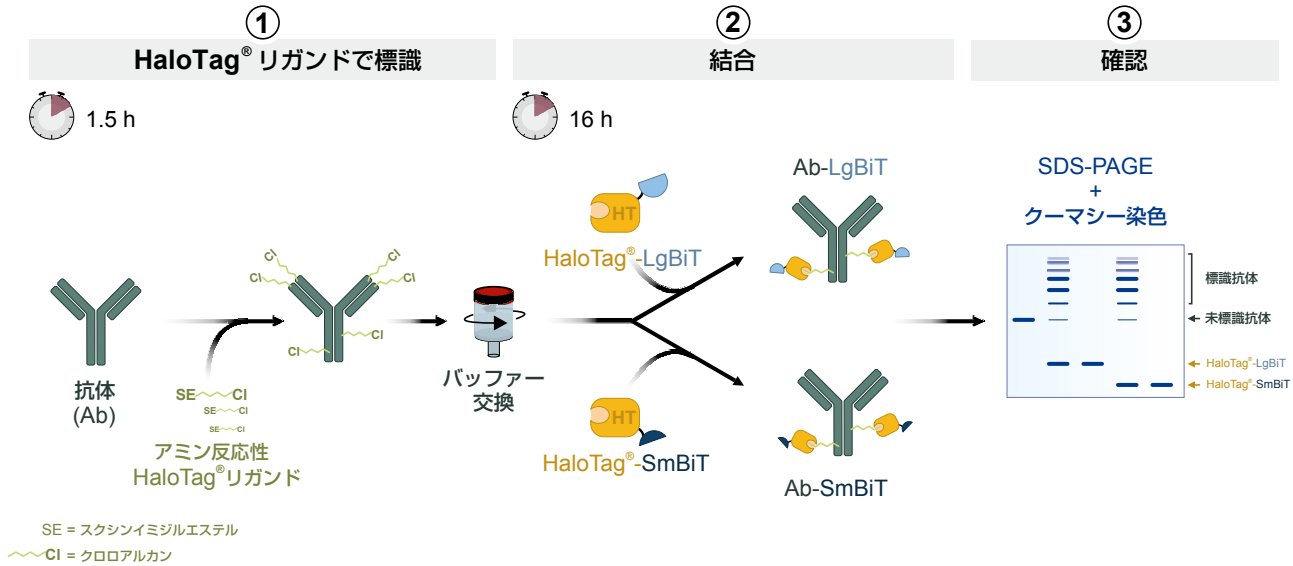
製品名	カタログ番号	サイズ
Lumit® SARS-CoV-2 Spike RBD:hACE2 Immunoassay [wt]	CS3163B01	200 ウェル分
	CS3163B02	2000 ウェル分
SARS-CoV-2 RBD N501Y (rabbit Fc) [α]	CS3163B01C	40 μl
	CS3163B02C	400 μl
SARS-CoV-2 Spike RBD K417N, E484K, N501Y (rabbit Fc) [β]	CS3163B01D	40 μl
	CS3163B02D	400 μl
SARS-CoV-2 Spike RBD K417T, E484K, N501Y (rabbit Fc) [γ]	CS3163B01E	40 μl
	CS3163B02E	400 μl

価格、プロトコルなどはこちら



Lumit® 抗体標識キット

SmBiT および LgBiT をご希望の抗体やタンパク質に結合させ、独自の Lumit® イムノアッセイを開発できるように設計された標識キットです。標識反応には、特殊な HaloTag® タンパク質とクロロアルカンリガンド (HaloTag® リガンド) が生理的条件下で共有結合する HaloTag® 標識技術を利用しています。標識は 2 段階のプロセスで行われ、①アミン反応性の HaloTag® スクシンイミジルエステル (O4) リガンドで抗体 / タンパク質上のリジンアミノ酸の一級アミンと反応 ② HaloTag® リガンドで標識された抗体を、HaloTag®-LgBiT または HaloTag®-SmBiT と共にインとキュベートして抗体に共有結合体をさせます。③ 標識反応の成否を SDS-PAGE および CBB 染色により確認します。



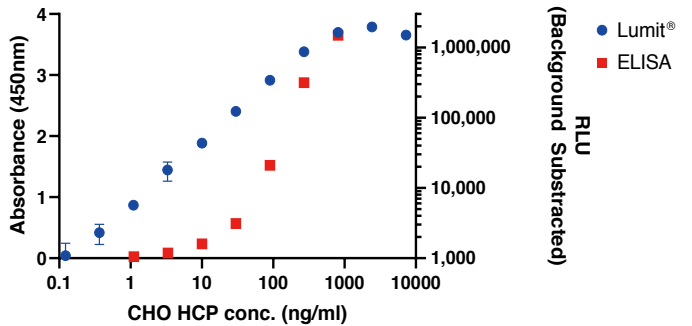
アプリケーション例

遺伝子治療ワークフローにおいて、利用する宿主細胞由来タンパク質の生産物への残存モニタリングは不可欠であり、品質管理のチェック項目にもなっています。これまで ELISA で行っていた煩雑な作業を Lumit® なら効率化させることができます。

抗宿主タンパク質抗体を用いた Lumit® と ELISA 法の比較

市販の Anti-CHO HCP 抗体を Lumit® Labeling Kit で標識し、ELISA 法と CHO 宿主タンパク質アッセイについて比較を行なった。Lumit® 法の検出感度は FDA で許容される HCP レベル内 (1 - 100 ng/ml) でであった。

CHO HCP Lumit® vs ELISA



Lumit® アッセイの血清サンプル測定例として、ネコ血清サンプル中のネコカチオン性トリプシノーゲン (dFCT) の検出を行った。

ネコ血清をサンプルとしたネコカチオン性トリプシノーゲン (dFCT) の Lumit® による測定

抗 dFCT ポリクローナル抗体を Lumit® Labeling Kit を用いて SmBiT または LgBiT で標識し、96 ウェルプレートの各ウェルあたり各 20 µl の pAb-SmBiT および pAb-LgBiT、10 倍希釈したネコ血清 20 µl を用いて測定し、すべての血清サンプルより dFCT を検出した。

Serum Sample	Signal/Background	Serum Sample	Signal/Background
262	15	045	380
797	15	032	422
281	37	047	507
388	93	011	606
591	125	034	644
937	127	025	727
303	149	725	780
895	168	036	818
299	185	039	846
48	223	029	985
684	245	041	1015
663	264	030	1064
803	290	044	1151
027	324	957	1276
023	378	035	1343
033	378	031	3330

製品名	カタログ番号	サイズ
Lumit® Immunoassay Labeling System	VB2500	1 kit

※大量の抗体標識の受託、アッセイ構築なども承ります (14 ページ参照)。

価格、プロトコルなどはこちら

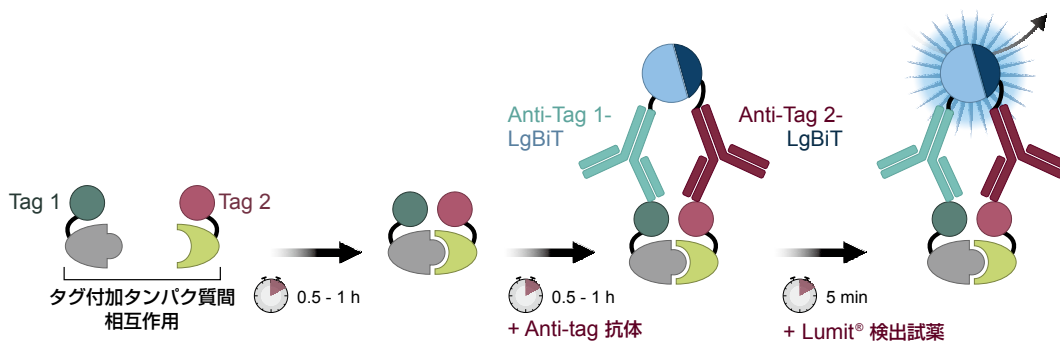


アクセサリー (Anti-Tag, Streptavidin)

Anti-Tag 抗体 : 各種親和性タグ検出用抗体 / タンパク質

タンパク質間またはタンパク質 : 低分子相互作用アッセイ、タグ付加タンパク質検出

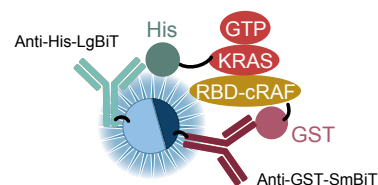
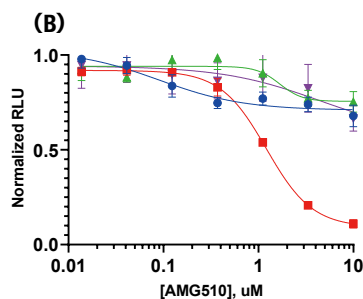
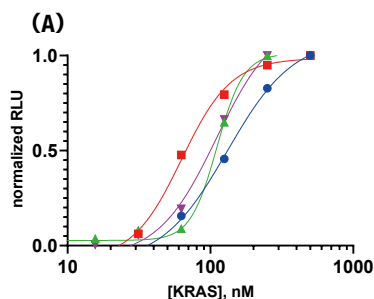
Anti-Tag Lumit[®] 試薬には、一般的な親和性タグ (例 : His-, Flag[®]-, GST- タグ、ヒト Fc) に対する SmBiT または LgBiT 標識抗体およびこれらで標識したストレプトアビジンなどを揃えています。これらの試薬により、タンパク質 : タンパク質相互作用 (PPI) の研究およびこれらの相互作用を調節する分子のスクリーニングに利用できる生化学的アッセイを容易にセットアップすることができます。さらに、タンパク質と低分子の相互作用についても、シンプルな競合ベースの HTS 対応フォーマットで解析することができます。



Anti-Tag を用いたタンパク質相互作用解析の概要

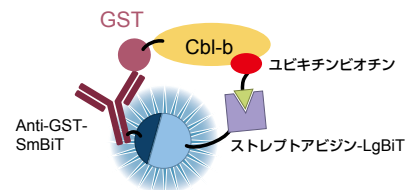
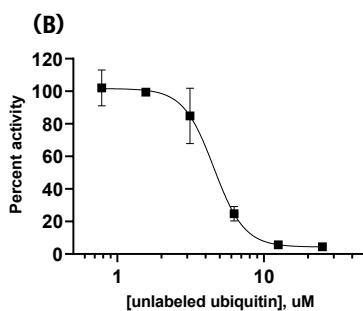
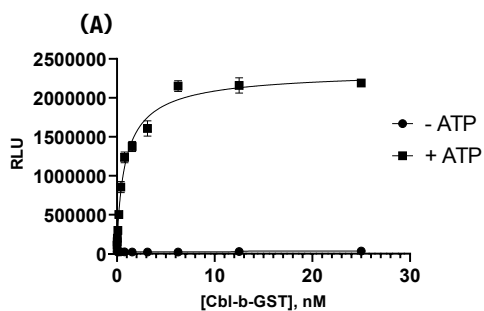
タンパク質 : タンパク質相互作用

2つの異なるタグが付加されたタンパク質ペアをインキュベートし、オプションとして目的の相互作用を調節する化合物を加えます。その後、SmBiT または LgBiT で標識した Lumit[®] 抗タグ抗体を添加した後に Lumit[®] 検出試薬を加え、発光信号をプレートリーダーで測定します。AviTag[™] タグ付きタンパク質やビオチン化タンパク質を使用する場合、SmBiT または LgBiT 標識された抗タグ抗体の1つをストレプトアビジン-LgBiT/-SmBiT に置き換えることができます。



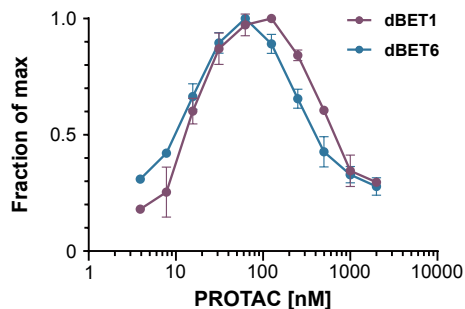
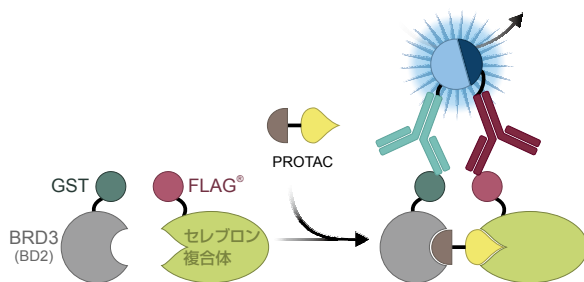
KRAS 変異の違いによる RBD-c-RAF 親和性と AMG510 による阻害に対するの評価

(A) KRAS-6His (WT または変異体) の濃度を上げると RBD-c-RAF-GST 相互作用が生じ、SmBiT または LgBiT 標識抗体を用いてプローブすると発光信号が増加した。(B) AMG510 は KRAS (G12C) /RBD-c-RAF 相互作用を特異的に阻害するが、野生型および他の KRAS 変異体にはほとんど影響を及ぼさなかった。濃度は各ウェルの最終濃度。



Cbl-b の自己ユビキチン化の測定

(A) ATP 存在下における Cbl-b-GST ユビキチン化の濃度依存的な増加により、発光信号が増加する。このプロセスは ATP 依存的であるため、ATP 非存在下では低いバックグラウンド信号が見られる。(B) 未標識ユビキチンの希釈系列は、ビオチン化ユビキチンと競合し、濃度依存的な発光の減少をもたらすために使用された。正規化した RLU データは、ビオチン化ユビキチンでの反応で得られた最大生物発光信号を 100% とし、未標識ユビキチン添加による信号の低下率を算出した。

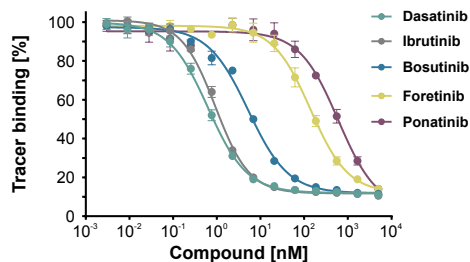
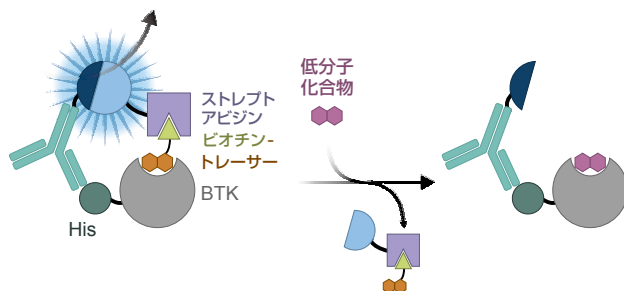


PROTACによるタンパク質：タンパク質相互作用の誘導モニタリング

PROTAC dBET1 および dBET6 によるセレブロン E3 リガーゼと BRD3 (BD2) の複合体形成能を Lumit[®] イムノアッセイで評価した。GST タグおよび FLAG[®] タグを付加したリコンビナント BRD3 (BD2) (6.25 nM) およびセレブロン (6.25 nM) を、それぞれ異なる濃度の PROTAC と 60 分間インキュベートした。検出には、Lumit[®] Anti-GST-LgBiT、Lumit[®] Anti FLAG[®]-SmBiT と Lumit[®] Immunoassay Detection Reagent A を使用した。

タンパク質と低分子化合物の相互作用

ビオチン化低分子化合物 (トレーサー) とタグ付きタンパク質を必要とします。トレーサーとターゲットタンパク質の相互作用は、SmBiT または LgBiT 標識抗タグ抗体とストレプトアビジン-LgBiT/-SmBiT を用いて検出されます。未標識化合物を加えると、ターゲットタンパク質に結合するトレーサー化合物が競合置換されるため発光シグナルが減少します。



タンパク質：低分子相互作用の検出と特性解析

ブルトン型チロシンキナーゼ (BTK) に対する各種キナーゼ阻害剤の相対的結合親和性を競合型 Lumit[®] イムノアッセイで測定した。リコンビナント His タグ付き BTK (5 nM) を、ビオチン化イブルチニブ (トレーサー; 37.5 nM) および濃度の異なるキナーゼ阻害剤 (0.003 - 5000 μM) とともに、攪拌しながら 60 分間インキュベートした。サンプルをストレプトアビジン-LgBiT と Lumit[®] Anti-6His-SmBiT の混合液とともに 30 分間インキュベートし、Lumit[®] Immunoassay Detection Reagent A を添加することにより、並行状態におけるトレーサー結合 BTK の割合が検出された。

GST または His タグ付加キナーゼ (370 種以上) も販売中!



製品名	カタログ番号	サイズ
Lumit [®] Anti-6His-LgBiT and -SmBiT	CS332211	各 20 μl
Lumit [®] Anti-GST-LgBiT and -SmBiT	CS332212	各 20 μl
Lumit [®] Anti-FLAG [®] -LgBiT and -SmBiT	CS332213	各 20 μl
Lumit [®] Anti-Human IgG-LgBiT and -SmBiT	CS332214	各 20 μl
Lumit [®] Streptavidin-LgBiT and -SmBiT	CS332215	各 20 μl

※検出には Lumit[®] Detection Reagent A をご使用ください。

キナーゼの詳細はこちら
www.promega.com/kinases



価格、プロトコルなどはこちら

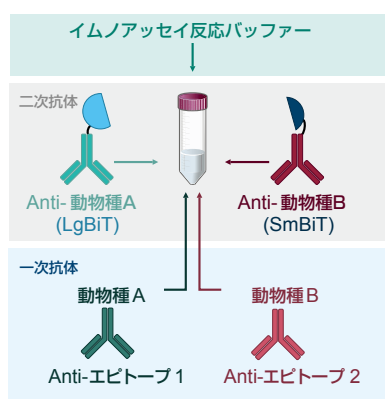


二次抗体

SmBiT / LgBiT 標識 二次抗体

Lumit® 二次抗体は、IgG に対するポリクローナル SmBiT, LgBiT 標識抗体で、分析対象物の検出のための間接イムノアッセイフォーマットの開発をサポートします。このポリクローナル二次抗体は、ロバで免疫され、固定化抗原を用いてイムノアフィニティー精製された後に SmBiT または LgBiT を結合させたものです。IgG の重鎖および軽鎖に対する種特異的な反応性（マウス、ウサギ、ヤギ）が確認されています。

これらの二次抗体を用いた Lumit® イムノアッセイには別途、異なる動物種で作製された 2 種類の一次抗体（例：マウス抗分析対象物質抗体とウサギ抗分析対象物質抗体）を用意する必要があります。準備した一次抗体と Lumit® 二次抗体と組み合わせて、抗体ミックスを作成し、2～3 組の一次抗体をテストします（推奨）。アッセイに使用する最適な組み合わせと濃度アッセイに使用する最適な組み合わせと濃度は、チェッカーボード実験により決定されます。



抗体ミックスの調製方法

製品名	カタログ番号	サイズ
Lumit® Anti-Mouse Ab-LgBiT	W1021	30 µl
	W1022	300 µl
Lumit® Anti-Mouse Ab-SmBiT	W1051	30 µl
	W1052	300 µl
Lumit® Anti-Rabbit Ab-LgBiT	W1041	30 µl
	W1042	300 µl
Lumit® Anti-Rabbit Ab-SmBiT	W1031	30 µl
	W1032	300 µl
Lumit® Anti-Goat Ab-LgBiT	W1061	30 µl
	W1062	300 µl
Lumit® Anti-Goat Ab-SmBiT	W1071	30 µl
	W1072	300 µl

価格、プロトコルなどはこちら



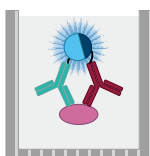
検出試薬

Lumit® イムノアッセイ検出試薬（発光基質）

Lumit® イムノアッセイ検出試薬は、オリジナルの Lumit® イムノアッセイの開発にご利用いただけます。3 種類の試薬（A、B、C）があり、異なる条件下での分析物の検出が可能です。検出試薬 A は細胞や血清がない状態、検出試薬 B は FBS（最大 10%）を含む細胞培養上清やインタクト細胞の存在下で使用されます。溶解した細胞中のタンパク質の定量には、Lumit® Immunoassay Lysis and Detection Kit に含まれる Detection Reagent C をお勧めします。

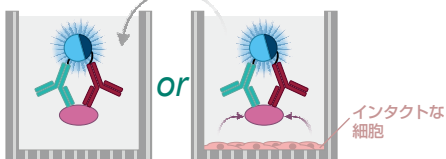
Detection Reagent A

- *in vitro* サンプル
- 細胞を含まないサンプル
- 血清なしサンプル



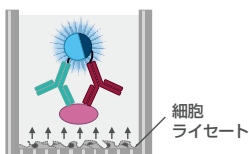
Detection Reagent B

- 培養上清サンプル
- 血清含有サンプル
- 細胞ありまたは含まないサンプル



Detection Reagent C

- 細胞溶解サンプル（ライゼート）



製品名	カタログ番号	サイズ
Lumit® Immunoassay Detection Reagent A	VB2010	500 ウェル分
	VB2020	5000 ウェル分
	VB2030	50000 ウェル分
Lumit® Immunoassay Detection Reagent B	VB4050	100 ウェル分
	VB4060	1000 ウェル分
Lumit® Immunoassay Lysis and Detection Kit (※ Lumit® Detection Reagent C を含む)	W1231	100 ウェル分
	W1232	1000 ウェル分
	W1233	10000 ウェル分

価格、プロトコルなどはこちら



受託サービス (Tailored R&D Solutions)

プロメガの Tailored R&D Solutions (カスタムサービスチーム) は、ターゲット検出のための Lumit[®] テクノロジーの採用をサポートする様々なサービスオプションを提供しています。ご希望の Lumit[®] アッセイが存在しない場合、抗体標識のカスタムプロジェクトやフルアッセイ開発をサポートいたします。

サービス内容

- 抗体のカスタム標識**：お客様にご提供いただいた抗体を、Lumit[®] アッセイ用に SmBiT または LgBiT で標識致します。これは Lumit[®] Labeling Kit を補完するもので、プロメガ社がお客様に代わって標識作業を承ります (1 mg よりお見積り)。
 - ※ アッセイの最適化は本サービスには含まれません。
- Lumit[®] Assay カスタム構築 (一次抗体)**：Lumit[®] アッセイ構築もお手伝いいたします。プロメガが一次抗体を選択し、抗体を標識、標的スタンダード (リコンビナント) を決定いたします。さらに、標識抗体を最適化してアッセイのリニアレンジを提示いたします。お客様には標識抗体、スタンダード、プロトコルが提供されます (Lumit[®] 検出試薬は含まれません)。
- Lumit[®] Assay カスタム構築 (二次抗体)**：お客様より異なる動物種由来の一次抗体のペアをご提供いただけます。プロメガの Lumit[®] Immunoassay Cellular System の Set 1 または Set 2 を用いてテストを実施いたします。プロジェクト完了後、お客様にデータレポートを提供いたします。



アッセイ構築 (一次抗体) サービス例

- ご希望のアッセイについてお打ち合わせ (標的タンパク質、動物種、アッセイするサンプルのタイプなど)
- 複数のモノクローナル二次抗体の候補を選別
- 標的のスタンダード (リコンビナント) の決定
- お客様とプロメガ両社による同意の上、作業範囲記述書 (SOW: Statement of Work) を作成
- 複数の候補抗体を購入
- 購入した複数の抗体を標識し、リコンビナントのスタンダードを検出するための抗体ペアの組み合わせをスクリーニング
- 有望な抗体ペアについて標識抗体の濃度を最適化し、リニアレンジを提示
- アッセイの構築に成功した場合、アッセイ試薬、プロトコルガイダンスをお客様に提供し、お客様ご自身の細胞モデルでアッセイ性能を検証

※本カスタムアッセイ構築サービスの費用についてはお見積りいたします。作業の詳細については SOW に明示されます。
 ※納期：8 - 10 週間 (抗体の入手など問題が無い場合の SOW 締結後からのリードタイム)
 ※構築したアッセイにご満足いただき、標識抗体がさらに必要な場合、弊社に再度ご依頼いただくことも、プロメガの Lumit[®] labeling kit を用いてご自身で抗体を標識することもできます。
 ※サービス内容や費用については予告なく修正、変更する場合がありますので予めご了承ください。

細胞ベースアッセイも NanoLuc[®] テクノロジー

In Vitro でのタンパク質解析結果を細胞ベースアッセイで検証することは、より生体内に近いタンパク質の動態を観察できるため検証実験に最適です。以下のアッセイは NanoLuc[®] 発光酵素あるいは SmBiT (HiBiT) ペプチドと LgBiT 断片の相補性を利用したタンパク質相互作用あるいはタンパク質検出法を利用しています。

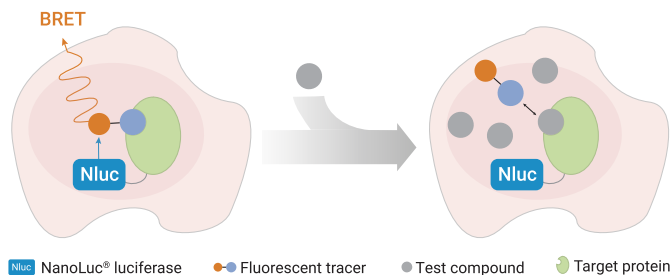
NanoBiT[®] & NanoBRET[™] Protein : Protein Interaction Assay

高輝度 NanoLuc[®] ルシフェラーゼを分割した SmBiT および LgBiT 断片の相補性を利用した NanoBiT[®] あるいは蛍光標識 HaloTag[®] の BRET を細胞で検出する NanoBRET[™] タンパク質間相互作用研究試薬

NanoBRET[™] Target Engagement Assay

NanoLuc[®] と蛍光標識化合物の結合性を BRET を利用して検出します。生細胞における真の結合特性 (化合物親和性、標的占有率、滞留時間など) を理解することができます。

※プロメガの受託サービスでは NanoBRET[™] や NanoBiT[®] PPI アッセイなど細胞ベースのアッセイを行うためのベクター・細胞構築やアッセイ最適化、化合物テストなども承ります。



NanoBRET[™] Target Engagement Assay の概要

FLAG is a trademark of Sigma-Aldrich Co. LLC.

AviTag is a trademark of Avidity, LLC.

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.



Lumit® の簡便性を是非ご体感ください!
RentaMAX で発光プレートリーダー
無償レンタル可能! ※プロメカクラブへの入会が必要

発光プレートリーダー

イムノアッセイ、細胞での発現タンパク質検出や相互作用解析も測定可能!

プロメカは生物発光を利用した高い感度と操作性に優れたアッセイ試薬を提供しており、GloMax® シリーズは試薬の性能を最大限に引き出し、広いシグナルレンジ & 低いバックグラウンドでの測定が可能になります。付属のタブレットで直感的に操作でき、プロメカのアッセイプロトコールがインストール済みなので、すぐに実験を開始することができます。この超高感度なプレートリーダーでレポーターアッセイ、細胞増殖試験をはじめ、各種酵素活性測定を行うことができます。更に GloMax® Discover は発光測定、蛍光および発色測定に加え BRET アッセイが可能なマルチモードリーダーで、プロメカの試薬と組み合わせれば、同一ウェルから得られる情報量を効率的に増やすことができます (マルチアッセイ: 蛍光 & 発光測定など)。

アプリケーション ※以下記載のないものは発光測定法

タンパク質検出 & タンパク質相互作用

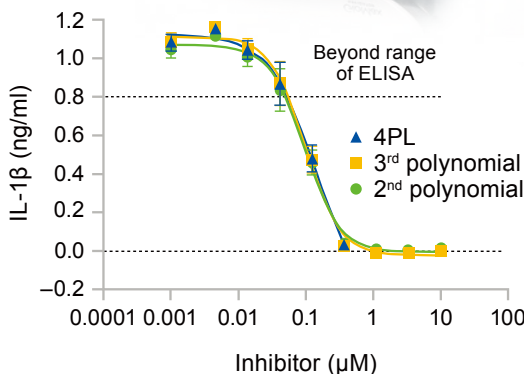
- Lumit®
- ELISA (発色・蛍光)
- HiBIT
- NanoBiT®
- NanoBRET™ (BRET)

細胞アッセイ

- 細胞生存・毒性試験
- アポトーシス
- 免疫原性細胞死
- オートファジー
- 代謝物 (グルコース、グルタミン etc)
- デュアル & シングルレポーターアッセイ

酵素 / 核酸アッセイ

- キナーゼ
- P450
- DNA/RNA (蛍光)



Lumit® + GloMax® でより正確な IC₅₀ 値決定
 阻害剤 MCC950 をマウスマクロファージに添加して IL-1β 放出の阻害効果を調べた。ダイナミックレンジの広い Lumit® では一回の測定で低濃度阻害剤のデータも取得でき、使いやすい GloMax 分析プログラムでイムノアッセイ標準曲線のフィッティングに適した 2 次曲線を選択し、より正しい IC₅₀ を求めることができた (近年の論文ではイムノアッセイでは標準曲線として汎用される 4PL よりも 2 次曲線が適していることが報告されている)。

搭載アプリケーションとアップグレード

機種	発光	蛍光	吸光		BRET and FRET
			可視光	UV / 可視光	
GloMax® Discover GM3000	✓	✓	✓	✓	✓
GloMax® Explorer GM3500	✓	✓	✓	後付け可能 (UV / 可視光ユニット GM3560)	後付け可能 (BRET / FRET 用 GM3570)
GloMax® Explorer GM3510	✓	✓	後付け可能 (可視光ユニット GM3520)		
GloMax® Navigator GM2000	✓				

※ GloMax® Explorer では吸光ユニットや BRET/FRET 用ユニットによる後付けアップグレードが可能。
 ※ GloMax® Navigation は 96 ウェルフォーマットのみ (384 非対応)

日本語 Web site : www.promega.co.jp

テクニカルサービス • Tel. 03-3669-7980 • E-Mail : prometec@jp.promega.com

プロメカ株式会社

本社 〒103-0001
 東京都中央区日本橋小伝馬町1-5 PMO日本橋江戸通
 Tel. 03-3669-7981

大阪事務所 〒541-0051
 大阪市中央区備後町4-1-3 御堂筋三井ビルディング
 Tel. 06-6202-4581

※製品の仕様、価格については 2024 年 4 月現在のものであり予告なしに変更することがあります。

販売店