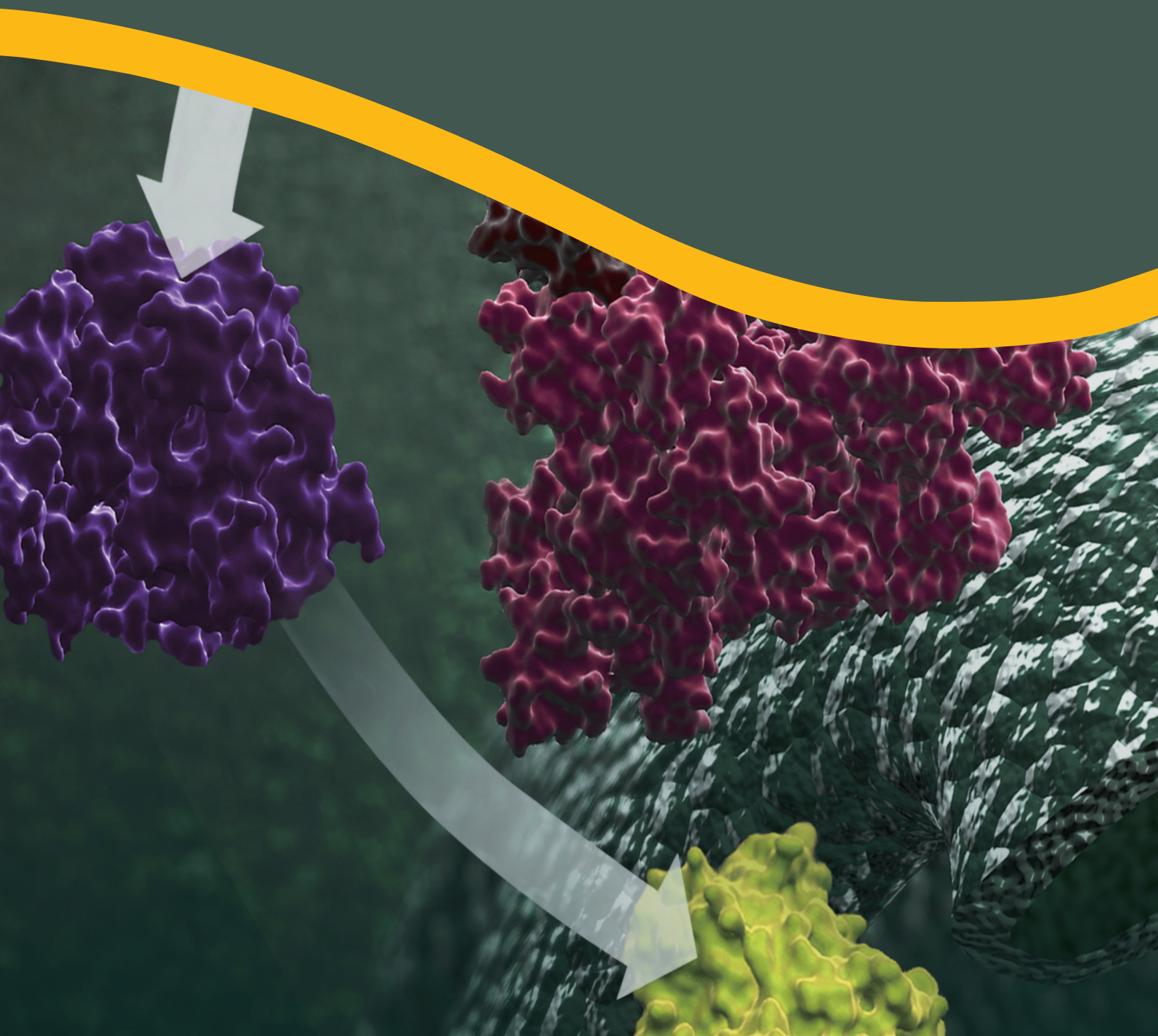


AMP 相关酶药物靶标 高通量检测技术

热门靶点：CD73/CD39 | ENPP1 | PDE4 | ADPr



Content

目录

产品介绍3

- AMP 相关酶检测平台3
- AMP-Glo™ Assay 介绍.....4

相关应用6

- CD73/CD39 检测6
- ENPP1 检测.....7
- ADP- 核糖基化水解酶检测8
- PDE 检测9

相关产品及订购信息.....10

更优的通用型 AMP 相关酶检测平台

AMP-Glo™ Assay 检测具有宽线性范围，能在低底物转化率下产生强信号，可以筛选低活性酶。该检测方法产生的假阳性率非常低，Z' 值大于 0.7，可用于筛选库化合物对靶酶的影响。

AMP 或相关酶活性检测

抑制剂筛选

量化抑制剂 Potency (IC₅₀)

AMP-Glo™ Assay 可以检测的酶

- 蛋白质翻译后修饰相关酶：Ubiquitin, SUMO, NEDD 化修饰
- 氨基酸-tRNA 合成酶 aminoacyl-tRNA synthetases (aaRSs)
- DNA 连接酶 DNA ligase
- 核糖核酸酶 Poly(A) Deadenylases
- cAMP- 特异性磷酸二酯酶 **cAMP-PDE**
- ADP- 核糖基化水解酶 **ADPRH**
- 胞外腺苷代谢酶 **ENPP1**
- CD73 & CD39**

蛋白翻译后修饰	酶	关键词
SUMO	SUMO-activating enzyme subunit 1/ubiquitin-like modifier activating enzyme 2 Hetetodimer	蛋白稳定，转录调控
	SUMO conjugating enzyme	
NEDD	Ubiquitin-like modifier activating enzyme 3	
	NEDD8 activating enzyme E1 subunit 1	
Ubiquitin	Ubiquitin Ligase E1, E2, E3	蛋白降解，质控
核酸修饰	酶	关键词
Nucleotidase	5'-nucleotidase (5'-NT) or Ecto-5'-nucleotidase	肝功能标志物，胃肠疾病，A2AR
	ecto-NTPDases or NTPDase1	
	5'-nucleotidase (5'-NT) or Cytosolic-5'-nucleotidase	肝功能标志物、胃肠道疾病调节、细胞内磷酸核糖焦磷酸 (PRPP)
Ligase	DNA Ligases (Human or Bacteria)	抗生素
Nuclease	Ribonucleases	
Sirtuin	SIRT1(NAD dependent Deacetylase)	NAD 脱乙酰酶 - 表观遗传学修饰
Sulfotransferasee	Sulfotransferasee	
Deadenilation	Poly A-Deadenylases	mRNA 稳定性，基因表达调控
ADP-ribosylation	Poly ADP-Ribose transferases 1	DNA 修复，癌症
信号通路	酶	关键词
cAMP-PDE	Phosphodiesterase 3B, 4B2, 7A, 8A, 10A1, 11A4	cAMP 信号通路
代谢·生物合成	酶	关键词
Succinate CoA Synthetase	Succinate CoA Synthetase	TCA 循环，有氧代谢
tRNA synthetases	Aminoacyl tRNA synthetases	蛋白合成，代谢

AMP-Glo™ Assay

(AMP-Glo™ 检测试剂盒)

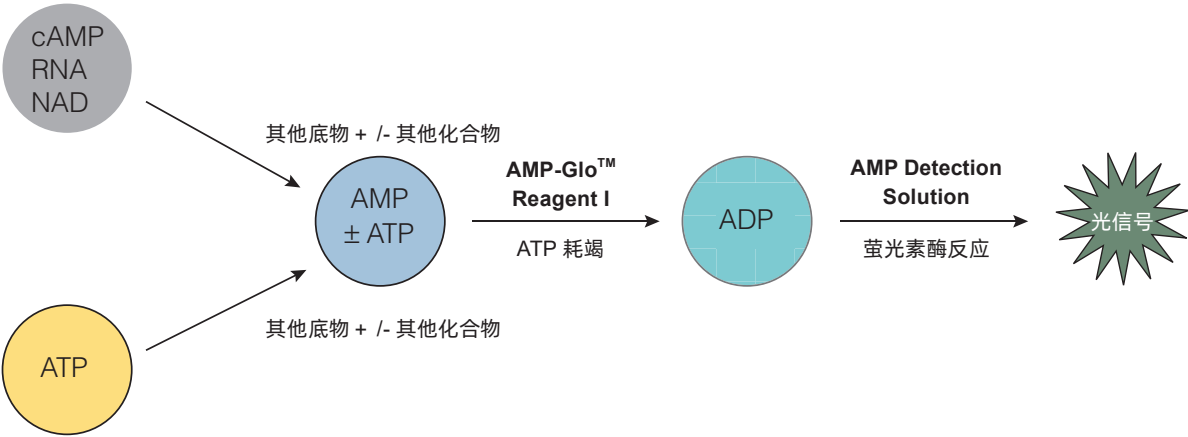
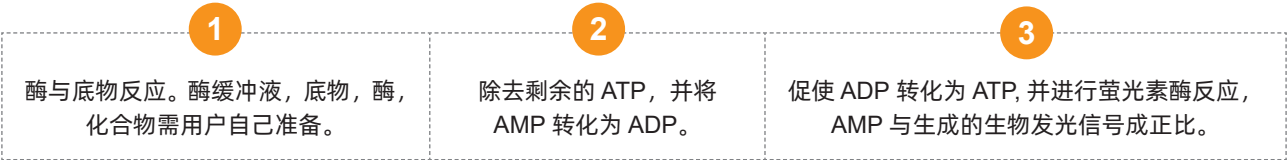
- 适合检测低活性酶
- 适合高通量酶或抑制剂筛选
- 卓越的灵敏度和线性范围
- 生物发光酶偶联检测法，不受荧光干扰
- 无需特殊仪器，仅需发光检测仪

AMP-Glo™ Assay 是一种均质的、利用生物发光原理检测 AMP 的方法，可用于检测任何产生 AMP 的生化反应。可检测多种 AMP 相关的酶类，用于相关药物筛选。

AMP-Glo™ Assay 包含足够的试剂，可以使用 5μl 酶反应、5μl AMP-Glo® reagent I 和 10μl AMP 检测溶液在低容量 384 孔板型中进行指定数量的反应。该系统也可用于标准 96 孔板或更高通量的 1536 孔板。

AMP-Glo™ Assay	
目录号与规格	V5011 1,000 assays V5012 10,000 assays
样本类型	纯酶或细胞（膜蛋白）
Z'	Z' ≥ 0.7 准确性高
检测通量	96/384/1536
仪器	发光检测仪
适用酶和底物	几乎适用于任何产生 AMP 的酶及底物
操作步骤	操作简单，混合 - 加样 - 检测 90mins 或更短时间
线性范围	0.1μM-20μM
特异性	特异性检测 AMP 生成
荧光干扰	无
是否基于抗体	否，无需使用抗体

检测原理



性能数据

ATP 和 cAMP 对反应无干扰

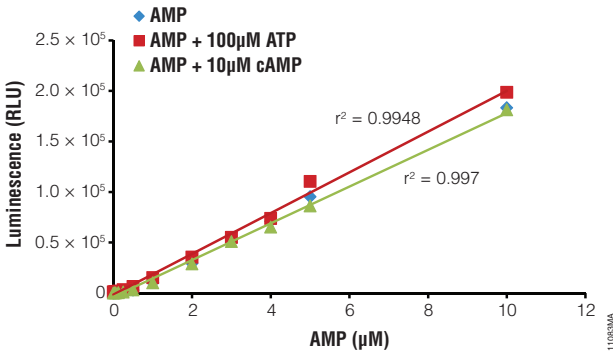


图 . 纯化 AMP 的滴定。在低体积的 384 孔板中，使用指定浓度的纯化 AMP 组装反应。单独滴定 AMP，或与 100 μM ATP 或 10 μM cAMP 一起滴定。按照说明书中描述进行 AMP-Glo™ 检测。使用平板读数发光仪收集数据。每个点代表四个独立反应的平均值，误差棒显示标准偏差。

优异的 Z'值

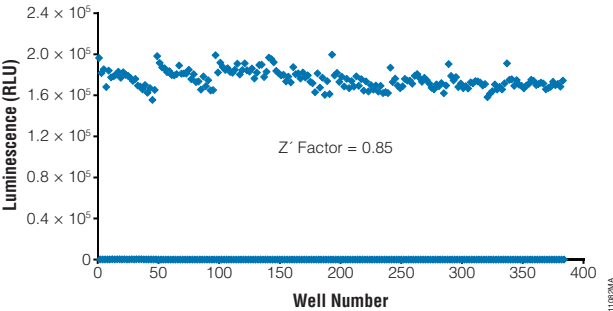


图 . 散点图以确定 AMP-Glo™ 检测法的 Z' 因子。PDE4B2 反应在含有 20μM cAMP 的条件下，在室温下孵育 60 分钟，在低体积的 384 孔板中进行。AMP-Glo™ 检测按照说明书中描述进行。

产品优势对比

性能指标	AMP-Glo™ Assay	其他高通量筛选方法	其他非高通量筛选方法
检测仪器	无需特殊仪器，仅需发光检测仪	可能需要特殊模块的仪器	酶标仪或其他
样本类型	纯酶或细胞（膜蛋白）	纯酶	多种样本类型
检测通量	96/384/1536	96/384/1536	96
操作步骤	操作简单，混合 - 加样 - 检测 1.5h 或更短时间	操作复杂，需要设置仪器，需要预 实验设置抗体浓度	操作繁琐，可能需要多步洗涤孵育， 约 3h 以上
荧光干扰	无	有	有
是否基于抗体	否	是	是

使用 AMP-Glo™ Assay 测定 IC₅₀ 值

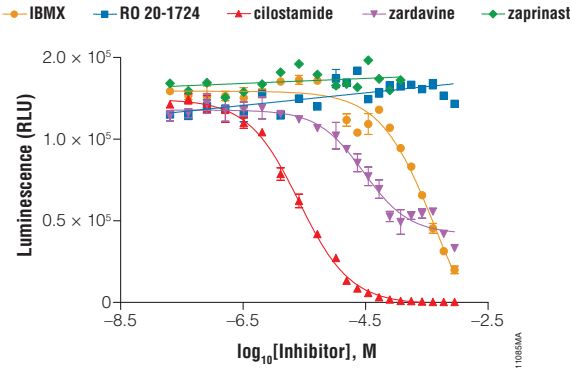


图 . 不同的磷酸二酯酶抑制剂的 IC₅₀ 值测定。磷酸二酯酶反应使用 20μM cAMP 作为底物，在固体白色、低体积的 384 孔板中进行。PDE3B 反应于室温（23℃）下孵育 60 分钟。AMP-Glo™ 检测法按照说明书中描述进行。每个点代表三次试验的平均值；误差线显示标准偏差。

CD73/CD39 检测

肿瘤微环境中的细胞损伤产生的 ATP 可以促进免疫反应，而胞外 ATP、ADP 在 CD39 催化作用下分解产生 AMP；AMP 在 CD73 催化作用下生成的 ADO（腺苷），ADO 则与 NK 细胞、T 细胞 / 巨噬细胞等免疫细胞表面受体结合限制其免疫功能，导致肿瘤免疫逃逸，也会影响如 PD-1/PD-L1 抑制剂，CAR-T 疗法等免疫疗法的效果。因此，CD73 和 CD39 是抗肿瘤的重要靶点之一。

检测流程

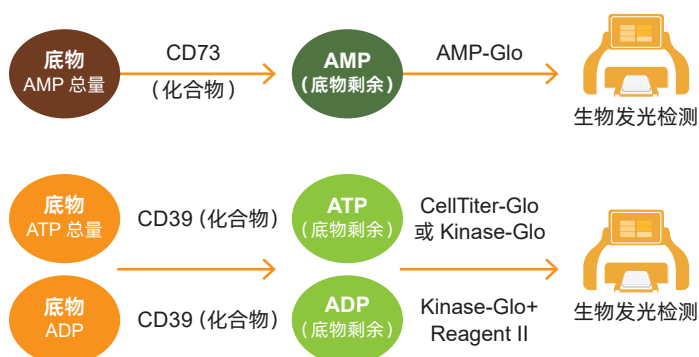
Promega 提供可以高通量快速检测 CD73/CD39 活性或筛选 CD73/CD39 抑制剂的方法。

CD73 的检测：以 AMP 作为底物，可以使用 AMP-Glo 检测酶促反应后 AMP 的剩余，以反应 CD73 酶的活性。

CD39 的检测：以 ATP 为底物，可以使用 Kinase-Glo 或 CellTiter-Glo 检测 ATP 的剩余，或以 ADP 为底物，使用 Kinase-Glo 和 Reagent II 检测 ADP 的剩余，以反应 CD39 的活性。

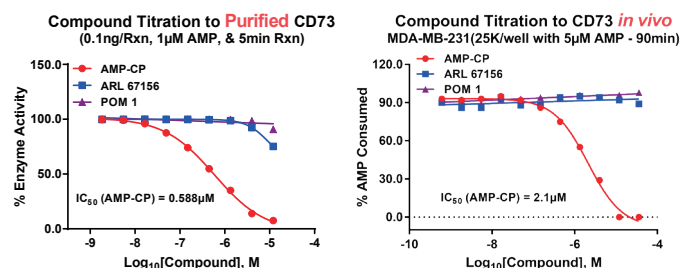
AMP-Glo™ Assay 提供 AMP 检测的所有试剂，但不包含酶、酶反应缓冲液、底物和化合物。

纯酶或细胞水平检测：

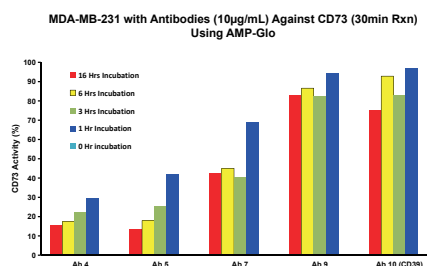


应用数据

使用不同抑制剂处理 CD73, 在纯酶水平和细胞水平检测酶活



监测膜锚定 CD73 在 MDA-MB-231 细胞中的细胞水平活性使用不同 CD73 抗体处理 MDA-MB-231 细胞



文献 Citations

CD73 活性检测 (AMP 剩余) 使用 AMP-Glo

Magagna I, Gourdin N, Kieffer Y, et al. CD73-Mediated Immunosuppression Is Linked to a Specific Fibroblast Population That Paves the Way for New Therapy in Breast Cancer. *Cancers (Basel)*. 2021;13(23):5878. Published 2021 Nov 23. doi:10.3390/cancers13235878

CD39 活性检测 (ATP 剩余) 使用 CellTiter-Glo

Menzel S, Duan Y, Hambach J, et al. Generation and characterization of antagonistic anti-human CD39 nanobodies. *Front Immunol*. 2024;15:1328306. Published 2024 Mar 25. doi:10.3389/fimmu.2024.1328306

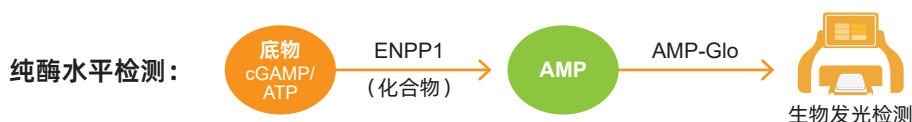
ENPP1 检测

ENPP1 是核苷酸焦磷酸酶和磷酸二酯酶 (NPP) 中的一员, 可以降解 ATP 和 cGAMP 生成 AMP, 在肿瘤, 免疫治疗, 罕见病, 糖尿病以及调节 cGAS-STING 信号通路中的关键角色, 也是癌症和免疫疗法的重要靶点。

ENPP1 活性检测流程

Promega 提供可以高通量快速检测 ENPP1 活性或筛选 ENPP1 抑制剂的方法。底物与 ENPP1 酶反应后生成 AMP, 使用 AMP-Glo™ Assay 将 AMP 转化为 ATP, 通过萤光素酶反应检测 ATP, 产生的生物发光信号与 AMP 含量 (ENPP1 活性) 成正比。

AMP-Glo™ Assay 提供 AMP 检测的所有试剂, 但不包含酶、酶反应缓冲液、底物和化合物。



文献 Citations

ENPP1 活性检测 | 上海药物所

Sun Y, Chen M, Han Y, et al. Discovery of Pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-one Derivatives as Highly Potent and Efficacious Ectonucleotide Pyrophosphatase/Phosphodiesterase 1 (ENPP1) Inhibitors for Cancer Treatment. *J Med Chem.* 2024;67(5):3986-4006. doi:10.1021/acs.jmedchem.3c02288

ENPP1 活性检测

Solomon PE, Bracken CJ, Carozza JA, et al. Discovery of VH domains that allosterically inhibit ENPP1. *Nat Chem Biol.* 2024;20(1):30-41. doi:10.1038/s41589-023-01368-5

ENPP1 活性检测

Rohilla A, Singh AK, Koleske B, Srikrishna G, Bishai WR. Structure-based virtual screening and in vitro validation of inhibitors of cyclic dinucleotide phosphodiesterases ENPP1 and CdnP. *Microbiol Spectr.* 2024;12(1):e0201223. doi:10.1128/spectrum.02012-23

化合物对 ENPP1 活性的抑制检测

Kawaguchi M, Minami S, Ieda N, Nakagawa H. [1,2,4]Triazolo[1,5-a]pyrimidine derivatives: Structure-activity relationship study leading to highly selective ENPP1 inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett.* 2024;110:129820. doi:10.1016/j.bmcl.2024.129820

ADP-核糖基化水解酶检测

ADP-核糖基化 (ADP-ribosylation) 修饰是一种常见的蛋白质翻译后修饰, 在包括 DNA 损伤修复, 细胞增殖和分化, 代谢, 应激和免疫反应等的一系列生物学过程中发挥重要功能。ADP-核糖基化逆转酶负责从 ADP-核糖化的蛋白上移除 ADP-核糖单体或聚合物, 如 PARG、ARH3、ARH1、MacroD1/D2、TARG1 和病毒宏结构域等。

ADP-核糖基化水解酶活性检测流程

该方法基于 AMP-Glo™ Assay 并由客户进行改进和验证 (具体见 Citations), 目前已被广泛用于高通量快速检测 ADP-核糖基化水解酶活性或筛选其抑制剂。具体步骤为:

Step1: ADP-核糖基化水解酶与其相应的底物反应, 释放 ADP 核糖;

Step2: Nudx 酶具有选择性 (如 NudF), 可以切割游离的 ADP 核糖并生成 AMP;

Step3: 使用 AMP-Glo™ Assay 将 AMP 转化为 ATP, 通过萤光素酶反应检测 ATP, 产生的生物发光信号与 AMP 含量 (ADP-核糖基化水解酶活性) 成正比。

AMP-Glo™ Assay 提供 AMP 检测的所有试剂, 但不包含酶、酶反应缓冲液、底物和化合物。



文献 Citations

客户基于 AMP-Glo 进行改进和验证的具体操作方法

Dasovich M, Zhuo J, Goodman JA, et al. High-Throughput Activity Assay for Screening Inhibitors of the SARS-CoV-2 Mac1 Macrodomain. *ACS Chem Biol.* 2022;17(1):17-23. doi:10.1021/acscchembio.1c00721

Kasson S, Dharmapriya N, Kim IK. Selective monitoring of the protein-free ADP-ribose released by ADP-ribosylation reversal enzymes. *PLoS One.* 2021;16(6):e0254022. Published 2021 Jun 30. doi:10.1371/journal.pone.0254022

果蝇中的丝氨酸 ADP-核糖基化功能检测

Fontana P, Buch-Larsen SC, Suyari O, et al. Serine ADP-ribosylation in Drosophila provides insights into the evolution of reversible ADP-ribosylation signalling. *Nat Commun.* 2023;14(1):3200. Published 2023 Jun 2. doi:10.1038/s41467-023-38793-y

PARP14 同时具有 ADP-核糖基转移酶和水解酶活性

Đukić N, Strømmand Ø, Elsborg JD, et al. PARP14 is a PARP with both ADP-ribosyl transferase and hydrolase activities. *Sci Adv.* 2023;9(37):eadi2687. doi:10.1126/sciadv.adi2687

病毒宏结构域活性检测

Dasovich M, Zhuo J, Goodman JA, et al. High-Throughput Activity Assay for Screening Inhibitors of the SARS-CoV-2 Mac1 Macrodomain. *ACS Chem Biol.* 2022;17(1):17-23. doi:10.1021/acscchembio.1c00721

PDE 检测

磷酸二酯酶（PDE），它通过催化细胞内第二信使 cGMP 和 cAMP 的水解，来调控细胞的信号转导过程。这一机制在多种疾病的发生发展中起着关键作用，包括心血管疾病、糖尿病、阿尔茨海默病等。

截至目前，在哺乳动物体内鉴定的 PDEs 亚型共有 11 个

第一类，特异性水解 cAMP： PDE4、PDE7 和 PDE8

第二类，特异性水解 cGMP： PDE5、PDE6 和 PDE9

第三类，能够水解 cAMP 和 cGMP： PDE1、PDE2、PDE3、PDE10 和 PDE11

PDE 活性检测流程

Promega 提供高灵敏度可高通量筛选 PDE 酶活及抑制剂的方法。

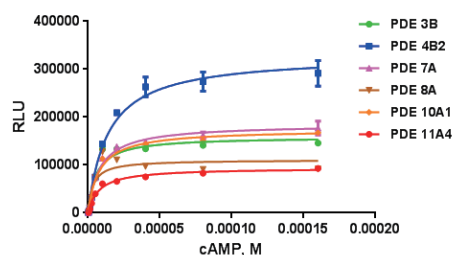
使用 PDE-Glo™ Assay，可以检测以 cGMP 和 cAMP 为底物的 PDE 酶，并且操作更加快速；

使用 AMP-Glo™ Assay，可以检测以 cAMP 为底物的 PDE 酶，可以耐受更高浓度的 cAMP 底物（>1μM）。



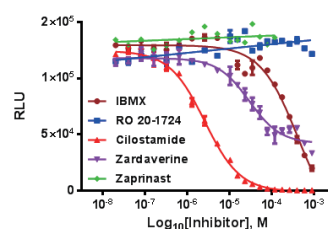
应用数据

不同 PDE 亚型酶活检测



	PDE 3B	PDE 4B2	PDE 7A	PDE 8A	PDE 10A1	PDE 11A4
Km	5.728e-006	1.384e-005	8.265e-006	3.324e-006	7.833e-006	7.633e-006

不同抑制剂对 PDE3B 的抑制情况



	IBMX	Cilostamide	Zardaverine
IC ₅₀ (M)	4.29X10 ⁻⁴	2.61X10 ⁻⁶	2.94X10 ⁻⁵

文献 Citations

进行 PDE8A 活性检测 - 使用 AMP-Glo

Tulsian NK, Krishnamurthy S, Anand GS. Channeling of cAMP in PDE-PKA Complexes Promotes Signal Adaptation. *Biophys J*. 2017;112(12):2552-2566. doi:10.1016/j.bpj.2017.04.045

抑制剂对 PDE1A、PDE1B、PDE1C、PDE3A、PDE3B、PDE4A、PDE4B、PDE4D、PDE7A 和 PDE8A 活性影响 - 使用 PDE-Glo

Wójcik-Pszczota K, Chłóń-Rzepa G, Jankowska A, et al. A Novel, Pan-PDE Inhibitor Exerts Anti-Fibrotic Effects in Human Lung Fibroblasts via Inhibition of TGF-β Signaling and Activation of cAMP/PKA Signaling. *Int J Mol Sci*. 2020;21(11):4008. Published 2020 Jun 3. doi:10.3390/ijms21114008

相关产品及订购信息

检测靶标	产品	应用	样本类型	规格	目录号
AMP	AMP-Glo™ Assay	产 AMP 酶活性	纯酶或细胞（膜蛋白）	1,000 Assays	V5011
				10,000 Assays	V5012
cAMP/ cGMP	PDE-Glo™ Phosphodiesterase Assay	PDE 酶活性	纯酶	1,000 assays	V1361
ATP	CellTiter- Glo® Luminescent Cell Viability Assay (CTG)	以 ATP 为底物酶活性 （如 ENPP1）	纯酶（用于酶活检测） 细胞（裂解法，用于测 定细胞活力）	10ml	G7570
				10 × 10ml	G7571
				100ml	G7572
				10 × 100ml	G7573
ADP	ADP-Glo™ Kinase Assay	激酶活性	纯酶	400 Assays	V6930
				1,000 Assays	V9101
				10,000 Assays	V9102
				10 x 10,000 Assays	V9103
				100,000 Assays	V9104
GTP	GTPase-Glo™ Assay	GTPases、GAPs 和 GEFs 的活性	纯酶	1,000 Assays	V7681
				10,000 Assays	V7682
cAMP	cAMP-Glo™ Assay	产 cAMP 酶活性（如 GPCRs）	细胞（裂解法）	300 assays	V1501
				3,000 assays	V1502
cAMP	GloSensor™ cAMP Assay	GPCR 活性	细胞（活细胞）	20µg	E1171
				25mg	E1290
				250mg	E1291
				20µg	E2301

细胞因子检测

Lumit[®] Cytokine Immunoassay 是 Promega 基于 NanoBiT 技术研发的免疫检测技术。在检测细胞因子时，特异性抗体分别用 NanoLuc[®] 萤光素酶的大小亚基（称为 SmBiT 和 LgBiT）进行化学标记，在分析物存在的情况下，两种抗体非常接近，从而使 SmBiT 和 LgBiT 形成有活性的酶并产生明亮的发光信号。

该检测系统有如下优势：

- 简单的“加样 - 读数”模式，专为细胞样本开发（不适用于血清样本）；
- 生物发光法，仅需发光检测仪；
- 适用于 96 或 384 孔板高通量检测；
- 操作最少只需 70min；
- 无需洗涤，无需固定。

产品订购信息

检测靶标	产品	规格	目录号
IL-1 β Human	Lumit [®] IL-1 β Human Immunoassay	W6010	100 assays
		W6012	500 assays
		W6011	1000 assays
IL-1 β Mouse	Lumit [®] IL-1 β Mouse Immunoassay	W7010	100 assays
		W7012	500 assays
		W7011	1000 assays
IFN- γ	Lumit [®] IFN- γ Human Immunoassay	W6040	100 assays
		W6042	500 assays
		W6041	1000 assays
IL-6	Lumit [®] IL-6 Human Immunoassay	W6030	100 assays
		W6032	500 assays
		W6031	1000 assays
IL-2	Lumit [®] IL-2 Human Immunoassay	W6020	100 assays
		W6022	500 assays
		W6021	1000 assays
TNF- α	Lumit [®] TNF- α Human Immunoassay	W6050	100 assays
		W6052	500 assays
		W6051	1000 assays
IL-4	Lumit [®] IL-4 Human Immunoassay	W6060	100 assays
		W6062	500 assays
		W6061	1000 assays
IL-10	Lumit [®] IL-10 Human Immunoassay	W6070	100 assays
		W6072	500 assays
		W6071	1000 assays
HMGB1	Lumit [®] HMGB1 Human/Mouse Immunoassay	W6110	100 assays
		W6112	500 assays
IFN- β	Lumit [®] IFN- β (Human) Immunoassay	请咨询 Promega。	1000 assays
IL-12	Lumit [®] IL-12 (Human) Immunoassay		
IL-17A	Lumit [®] IL-17A (Human) Immunoassay		
IL-8	Lumit [®] IL-8 (Human) Immunoassay		
Active IL-18	Lumit [®] Active IL-18 (Human) Immunoassay		

AMP 相关酶药物靶标高通量检测技术



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：2024.08