

活细胞中 192 种激酶药物选择性分析系统

检测原理

NanoBRET™ TE K192 Kinase Selectivity System 是一种用于广泛激酶选择性分析的活细胞方法，可以在单个实验中定量细胞内化合物对 192 种激酶的占有率。该系统使用 NanoBRET™ TE 技术，一种生物发光共振能量转移(BRET)方法，使用小而明亮的 NanoLuc® 萤光素酶作为能量供体和细胞可渗透的 NanoBRET™ TE tracer 作为能量受体（图 1A）。添加待测化合物后，化合物与 tracer 竞争靶蛋白的结合而导致 BRET 信号减弱。

NanoBRET™ TE K192 Kinase Vector Panel 包含 192 种激酶 -NanoLuc® 融合表达载体，这些载体广泛分布在激酶组中（树状图上的绿点）。载体组以两个 96 孔板（A 和 B）提供。K192 Kinase Vector Panel 的每个孔都含有两种载体，保证实现最佳转染效果，一种是激酶 -NanoLuc® 融合表达载体，另一种是载体 DNA 或调节蛋白表达载体。“仅需添加”的多孔板工作流程使用预制的转染即用激酶载体组合和单个 NanoBRET™ TE 激酶检测试剂盒。

特点

- **检测活细胞中 192 种激酶的化合物占有率：**使用直接竞争结合分析方法和全长激酶（广泛代表激酶组）量化细胞内化合物占有率。
- **转染即用型载体组：**K192 Kinase Vector Panel 以多孔板形式提供，转染即用型。优化后的操作方法使用 NanoBRET™ TE Intracellular Kinase Assay (K-10) 检测。
- **简单的工作流程：**使用“仅需添加”模式的多孔板形式。
- **出色的数据质量：**BRET 比率数据重现性高、误差小。
- **后续化合物亲和力测定：**K192 载体组中的每个激酶都有一键式 NanoBRET™ TE Intracellular Kinase Assay 检测系统以供检测。

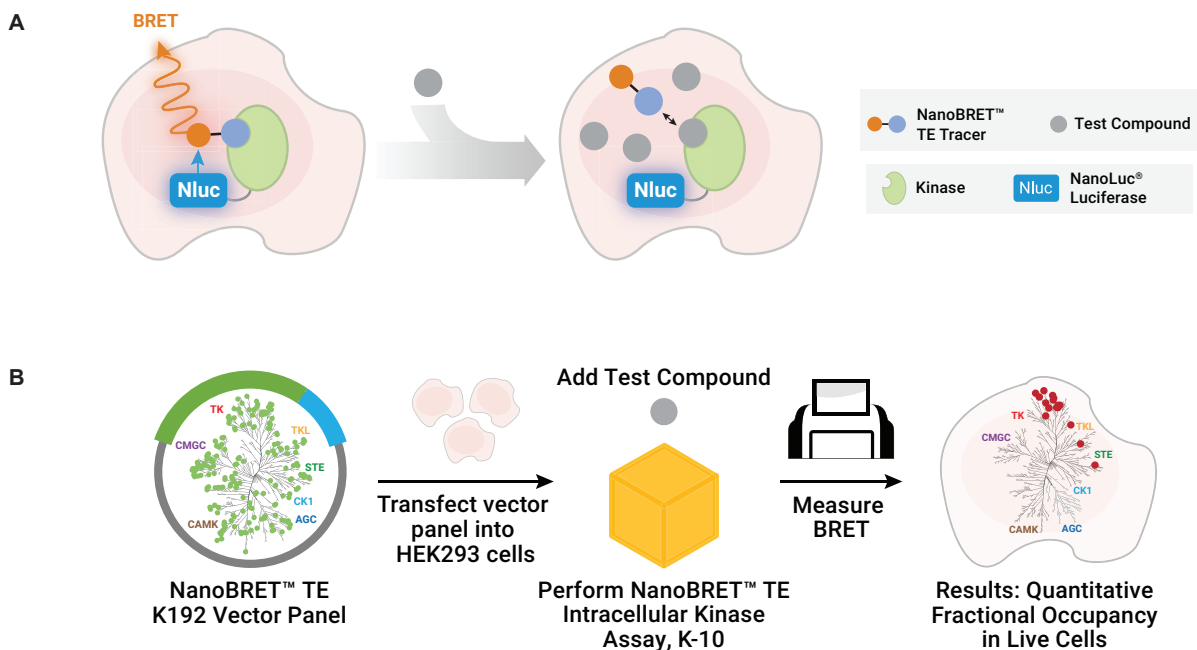
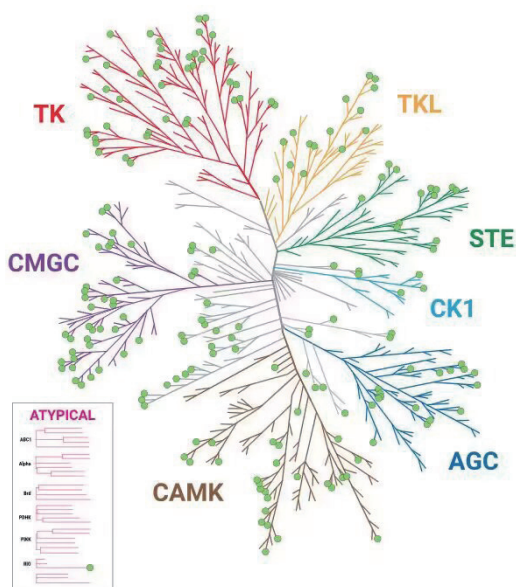


图 1 NanoBRET™ TE K192 Kinase Selectivity System 操作流程概述。 NanoBRET™ TE K192 Kinase Selectivity System 使用“仅需添加”模式的多孔板形式。该系统包含一个 NanoBRET™ TE K192 Kinase Vector Panel（192 种激酶载体组试板）和 NanoBRET™ TE Intracellular Kinase Assay (K-10)（激酶检测系统）。首先将载体组转染到多孔板的 HEK293 细胞中。孵育过夜后，将待测化合物添加到检测板中，并根据说明书进行 NanoBRET™ TE Assay K-10 检测，使用多功能检测仪检测 BRET 信号。

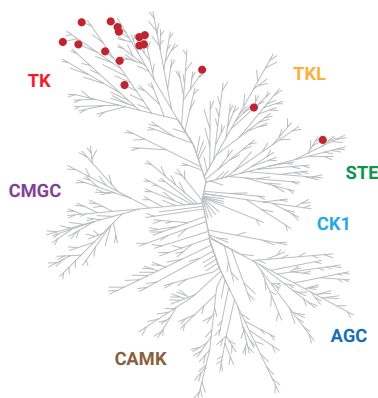
192 种激酶在活细胞中的化合物占有率定量检测

NanoBRET™ TE K192 激酶选择性系统中的 192 个激酶在树状图中表示为绿点，表明该系统广泛覆盖激酶组（图 A）。图 B 通过树状图比较了使用活细胞 NanoBRET™ TE K192 Kinase Selectivity System 与生化方法检测 1μM 克唑替尼时获得的靶点占有率。结果显示，细胞中的活性图谱得到了改善，使用 NanoBRET™ TE 方法，克唑替尼仅有 16 个靶点的占有率达到或超过 50%，而使用生化方法，则有 49 个激酶靶点被克唑替尼占据。使用 K192 Kinase Selectivity System 检测到的 16 种占有率大于 50% 的激酶以及三次独立实验得出的平均占有率以表格形式列出。这些检测结果的标准偏差表明 K192 Kinase Selectivity System 具有可重复性。

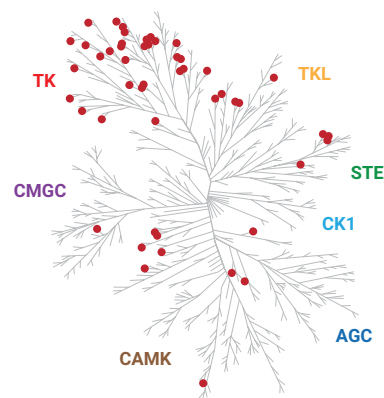
A. K192 Panel of 192 Kinases



B. NanoBRET™ Cellular
Crizotinib, 16 hits



Biochemical
Crizotinib, 49 hits



Kinase		MET	LTK	RON	TNNI3K	NTRK2	MUSK	MAP4K2	EPHA1	NTRK1	EPHB1	AXL	JAK2 (V617F)	EPHB4	EPHA6	MERTK	EPHA4
Occupancy (%)	Mean	95	87	86	85	85	80	77	75	71	68	68	65	62	61	58	53
	Standard Deviation	1.1	0.9	4.8	1.4	2.3	2.8	11	2.2	2.5	2	1.5	8.3	3.6	12	3.3	4.4

产品信息

激酶选择性系统	目录号
NanoBRET™ TE K192 Kinase Selectivity System	NP4050
NanoB E K192 Kinase Selectivity System with Controls	NP4060
载体组	目录号
NanoBRET™ TE K192 Kinase Vector Panel	NP4100
NanoBRET™ TE K192 Kinase Vector Panel, Small	NP4101
经常一起使用的产品	目录号
NanoBRET™ TE Selectivity DNA Controls	NP1000
Fugene® HD Transfection Reagent	E2311

参考文献

1. Vasta, J.D., et al. (2018) Quantitative, wide-spectrum kinase profiling in live cells for assessing the effect of cellular ATP on target engagement. *Cell Chem Biol* **25**, 206.
2. Robers, M.B., et al. (2021) Single tracer-based protocol for broad-spectrum kinase profiling in live cells with NanoBRET. *Star Protocols* **2**, 10822.

更多详细信息

- NanoBRET™ TE K192 Selectivity 产品请访问 [产品页面](#)
- NanoBRET™ TE 激酶检测请访问: www.Promega.com/NanoBRETkinaseTE

NanoBRET is a trademark and NanoLuc is a registered trademark of Promega Corporation.

Products may be covered by existing or pending patents or may have certain limitations. Please view Promega.com for more information.

PROMEGA CORPORATION • 2800 WOODS HOLLOW ROAD • MADISON, WI 53711-5399 USA • TELEPHONE 608-274-4330

www.promega.com • © 2023 PROMEGA CORPORATION • Part #GFN210 • REV. 10/23