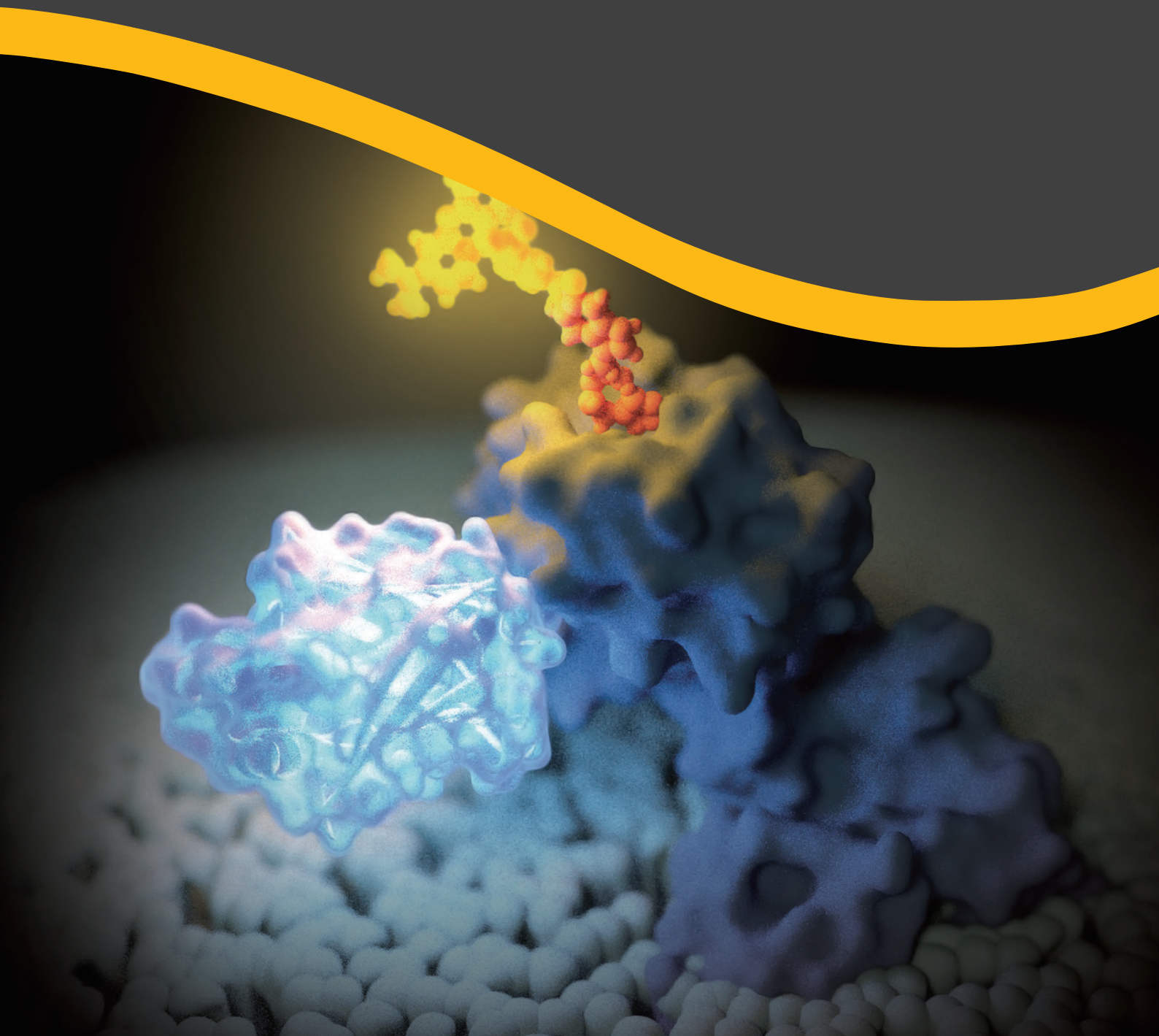


药物：靶蛋白相互作用细胞学检测技术

NanoBRET[®] Target Engagement (TE) Assay

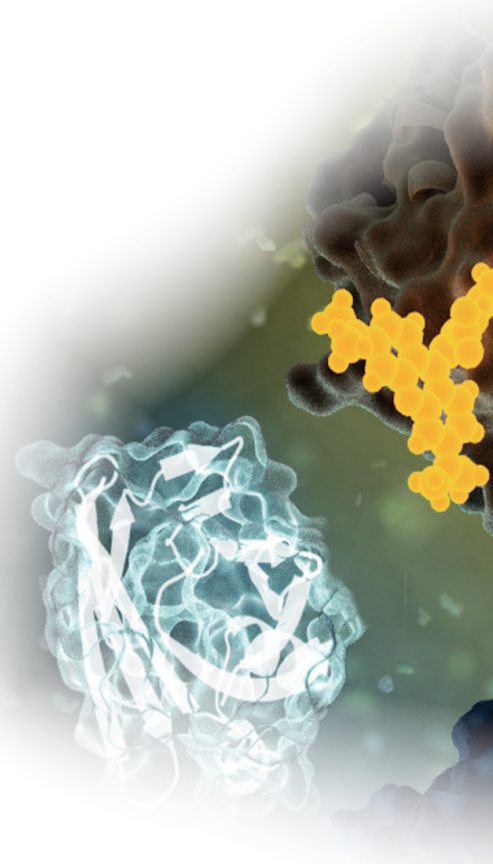
- 活细胞检测
- 检测化合物：靶蛋白亲和力以及滞留时间

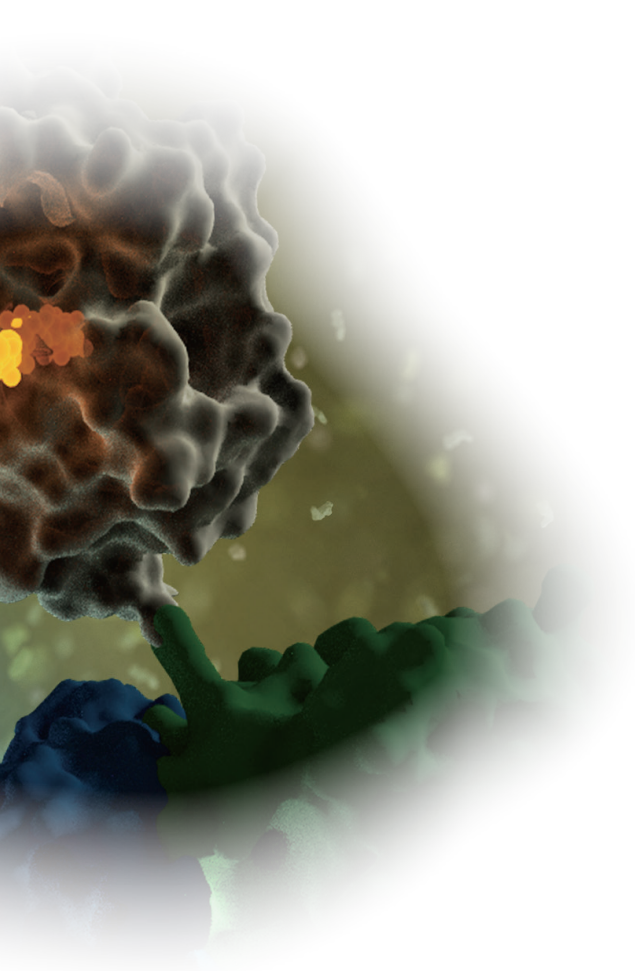


目 录

Content

1. NanoBRET® TE 技术概述.....	4
2. NanoBRET® TE 即用型检测平台	6
• 激酶靶点检测平台	7
• 激酶选择性分析系统	15
• BET BRD 靶点相关药物检测	20
• HDAC 靶点相关药物检测	21
• E3 Ligases 靶点相关药物检测	22
• NLRP3 靶点相关药物检测	23
• DNA 损伤修复靶点相关药物检测	23
• PARP 靶点相关药物检测	24
• RAS 靶点相关药物检测	25
• RAF 靶点相关药物检测	27
• GPCR _s 靶点相关药物检测	28
• Heat Shock Protein (HSP) 靶点相关药物检测	28
3. 自行设计 NanoBRET® TE 检测系统	30





Target Engagement

小分子结合并调控靶蛋白活性的研究对理解生物学和治疗疾病至关重要。生物发光共振能量转移（BRET）技术的应用使得在活细胞内定量检测一个小分子和蛋白之间的相互作用成为可能。某些情况下，这一方法甚至可以实时检测化合物与靶蛋白相互作用，不仅能研究相互作用的形成，且能研究其分离。

Target engagement (TE) assay 检测完整细胞中化合物与靶蛋白的结合。其检测系统还能提供化合物 – 靶蛋白滞留时间的信息，并可用于筛选抑制剂并比较其 IC_{50} 值。

Promega 研发的 **NanoBRET® TE 技术** 是 TE 技术的新一代革新性方案，可实现：

活细胞检测
相互作用

监测化合物
滞留时间

监测化合物
靶标亲和力

高通量
筛选

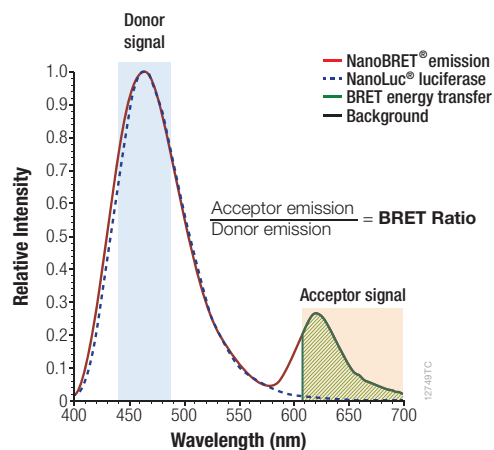
NanoBRET® TE 技术概述

技术原理

NanoBRET® TE 技术是基于大幅度改良的（Bioluminescence Resonance Energy Transfer, 生物发光共振能量转移）分析平台，可用于在活细胞内研究蛋白：小分子化合物相互作用。

如下图所示，此技术使用 NanoLuc® 萤光素酶作为能量供体，系统中带有荧光基团 618 的 **NanoBRET® tracer** 可以透过细胞膜，进入细胞与 NanoLuc®- 靶点融合蛋白相互作用产生 BRET 信号，当待测药物与靶点蛋白存在相互作用时，会与 tracer 竞争结合，BRET 信号减弱。通过 NanoBRET® TE 检测系统可以检测活细胞水平的药物与靶点的亲和力以及药物透膜性，同时也可检测化合物的滞留时间。

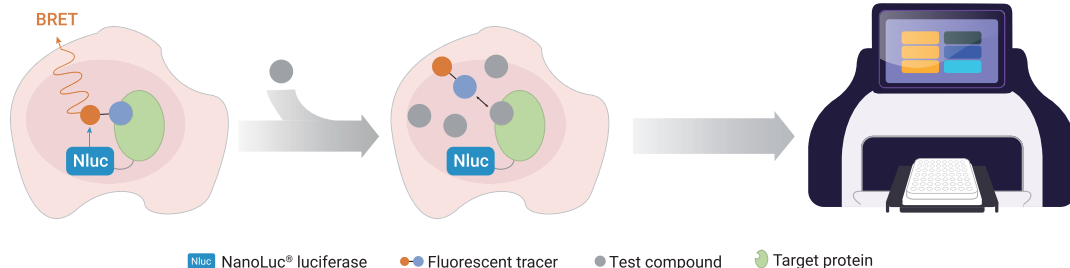
来自 NanoLuc® 供体的明亮的蓝移发光信号耦合到远红移的荧光基团上，光谱叠加更佳、信号更强、且与传统 BRET 分析相比背景更低。



Tracer 与靶蛋白
结合形成 BRET

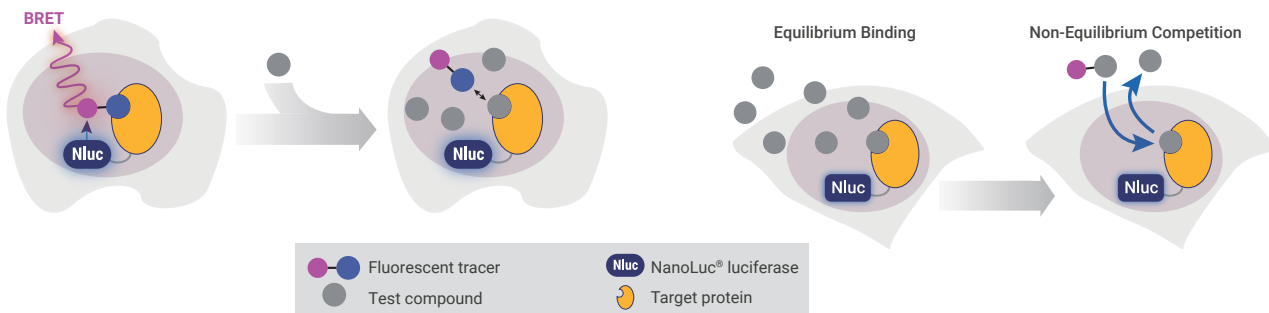
待测化合物与 Tracer 竞争
与靶蛋白的结合

检测光信号



亲和力和选择性检

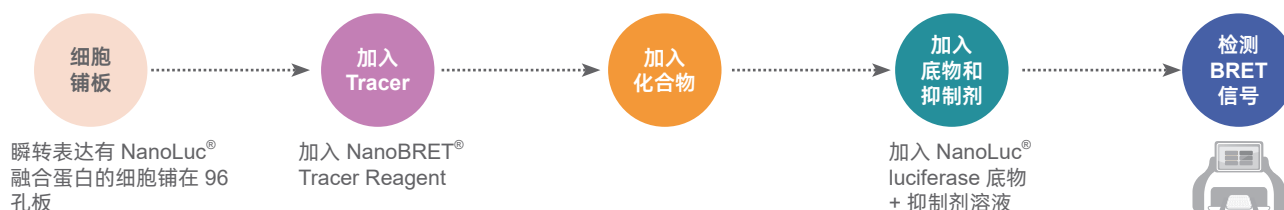
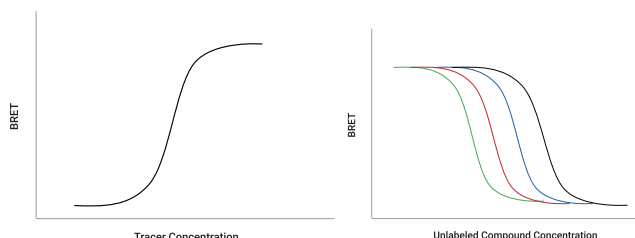
滞留时间检测



检测化合物对靶标的亲和力和选择性 / 化合物的细胞滞留时间的操作流程

亲和力和选择性检测

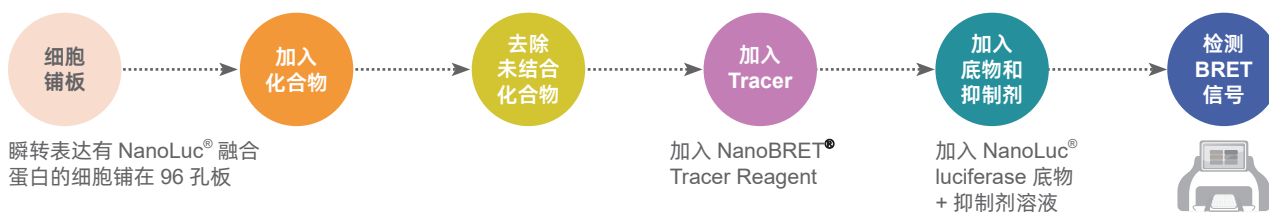
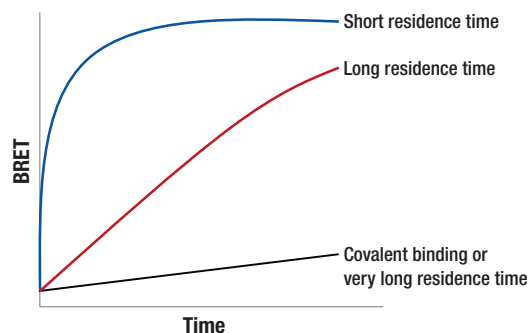
分析受测化合物的 target engagement，使用固定浓度的 NanoBRET® Tracer 处理细胞，该浓度接近 NanoBRET® Tracer 量效曲线的 EC_{50} 值。为了确定受测化合物的亲和力，在固定浓度的 NanoBRET® Tracer (通常是 $EC_{50}-EC_{80}$) 存在下，以不同浓度受测化合物处理细胞，检测 BRET 信号，根据图像得到解离常数 K_d 值。



滞留时间检测

滞留时间分析是通过示踪剂 Tracer 竞争引起的化合物离解动力学分析来测定。将细胞与接近饱和剂量的受试化合物（例如 IC_{80} ）孵育，该化合物能够与目标 NanoLuc® 融合蛋白结合。去除未结合的受试化合物，然后加入 NanoBRET® Tracer 和检测试剂。通过对 NanoBRET® 信号的动力学检测评估化合物的滞留时间。

在加入示踪剂 Tracer 后，加入滞留时间短的化合物将导致 BRET 信号的快速增加，共价结合 / 不可逆结合或长滞留时间的化合物的 BRET 信号将随时间缓慢 / 逐渐增加。



NanoBRET[®] TE 即用型检测平台

—— 激酶靶点检测平台

Promega 研发的 **NanoBRET[®] Target Engagement (TE) Intracellular Kinase Assay** 是用于药物与激酶靶点结合检测的完整检测系统，可以对超过 350 种激酶进行化合物与靶点结合相关的功能检测。NanoBRET[®] TE 平台具有下面的独特优势：

- 活细胞水平的相互作用检测。
- 使用全长激酶，超过 **350** 种激酶载体可供选择。
- 可进行化合物：靶蛋白滞留时间及亲和力定量检测。
- 每种激酶都有对应的操作指导 (Application Note)。
- 适合高通量监测，兼容 96、384 孔板。
- 多种产品模式提供，可根据自己的需求选择产品。

开始实验，您需要准备好下面的实验材料

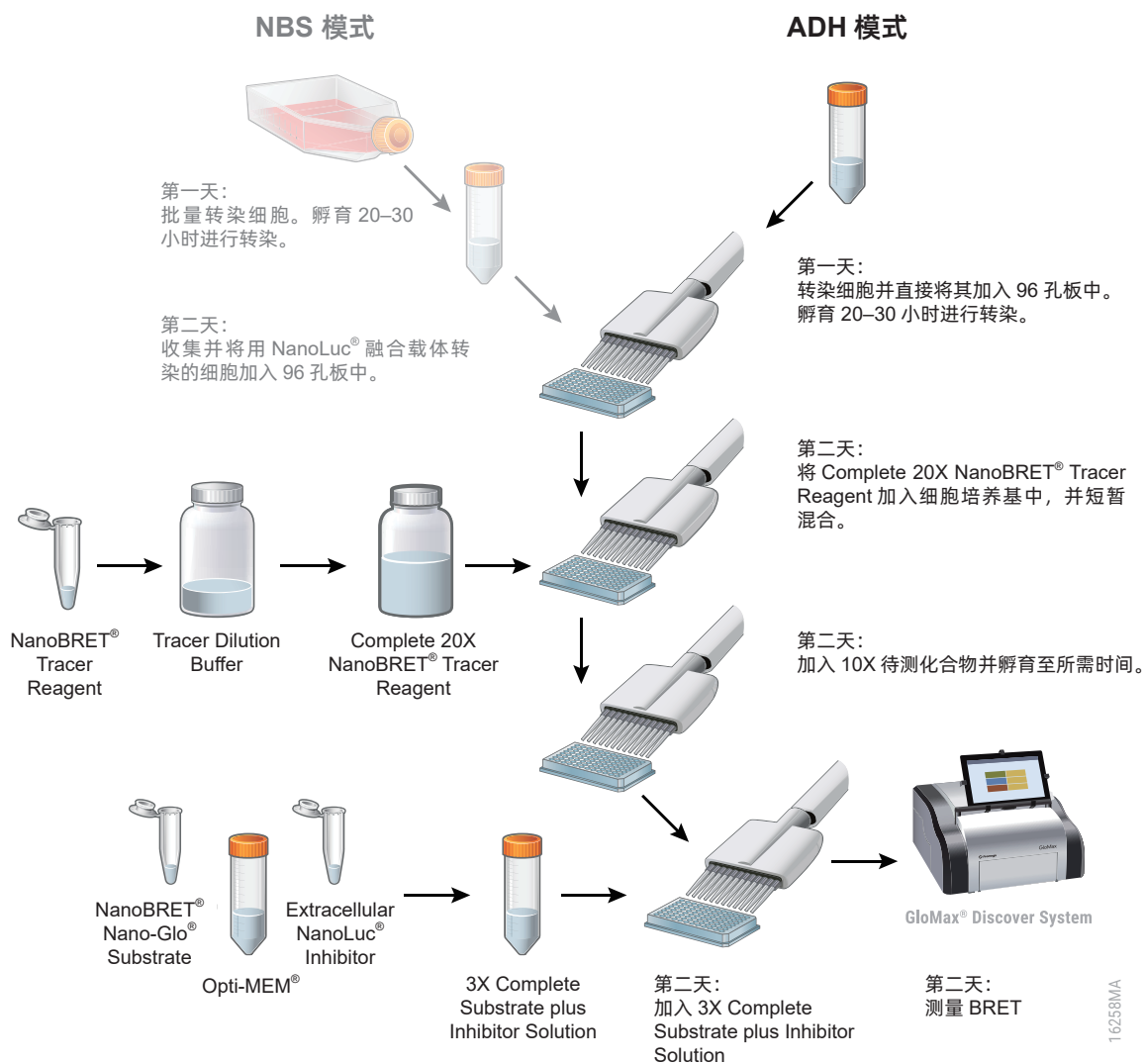
	激酶融合蛋白表达载体	检测试剂	细胞及化合物	检测仪器
实验试剂与仪器	 激酶 -NanoLuc® 融合蛋白载体及转染试剂	 推荐的 NanoBRET® TE 激酶检测试剂	 用户自备	 具有 BRET 检测功能的 多功能读板仪及检测板
Promega 解决方案与产品	Promega 提供超过 350 种激酶载体可供选择。同时提供实验所需的对照载体。 扫描下方二维码查询预构建载体信息。  Promega 提供高效、低毒的转染试剂：FuGENE® HD Transfection Reagent	除了激酶融合表达载体外，实验还需要下面三个主要的组分，包括： ● NanoBRET® Tracer ● NanoLuc® luciferase 底物 ● 不透细胞膜的 NanoLuc® luciferase 抑制剂 Promega 提供含有三个组分的完整试剂盒，同时也提供单独购买的组分产品，让您的选择更灵活。	您需要自备细胞和待测化合物，根据 Promega 提供的操作说明进行处理。	GloMax® Discover 多功能读板仪是高效，易用的多功能微孔板读板仪，可用于化学发光，荧光，吸收光，BRET 和 FRET。通量可以高达 384 孔板，具备加热和震荡功能。可以灵活满足您多方面的实验需求。
注意事项	Note: 您也可选择自行构建载体。另外激酶融合表达载体（Kinase-NanoLuc® fusion vectors）需要搭配或者不搭配调控蛋白表达载体，请注意查询所选激酶所需的对应调控蛋白表达载体。	Note: 如果您是第一次使用我们的平台，建议直接选择完整试剂盒，更加省时省力。		Note: 检测所需的检测板需要客户自备。

实验流程您可参考下面的建议

Target Engagement 的贴壁检测 (ADH 检测) 和非结合表面检测 (NBS 检测) 模式简要操作流程对比

与 Non-Binding Surface (NBS) 检测模式相比，New Adherent (ADH) 检测模式对用户来说更有效。

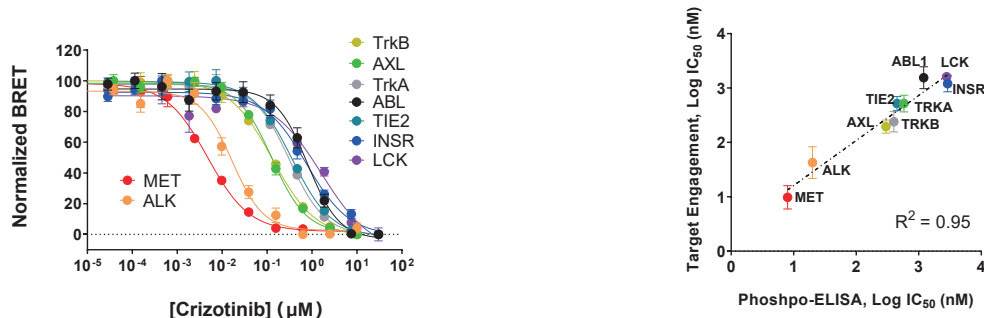
- **非结合表面模式 (NBS)** 要求在加入检测板的前一天将细胞转染到平板或培养皿中。在检测当天收集细胞并在进行检测前将其接种到非结合表面检测板 (non-binding surface assay plates) 中。非结合表面板适用于某些特性不理想的 Tracer，这些 Tracer 无法用于传统的聚苯乙烯检测板。
- **贴壁检测模式 (ADH)** 使用组织培养处理板，允许用户在检测板中转染激酶 - NanoLuc® 融合载体。ADH 格式不需要收集和接种步骤，因为细胞在前一天就转染并接种到检测板中。



16258MA

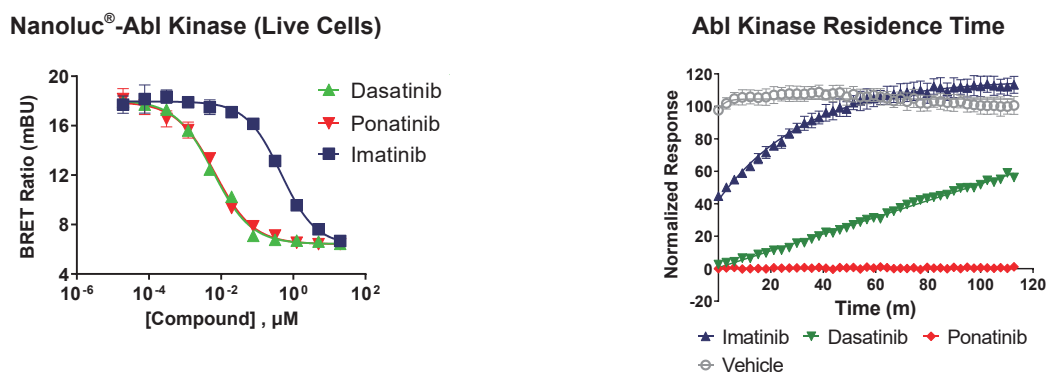
激酶靶点检测系统用数据

测定抑制相似激酶的化合物的细胞内选择性



左图 使用 NanoBRET® TE 测定多靶点激酶抑制剂克唑替尼的细胞选择性，但不仅仅是测定效价排序，主要靶点 MET 和 ALK 表现出了最强的亲和力。右图 NanoBRET® TE 数据与 phospho-ELISA 等细胞功能检测有良好的相关性，但更有针对性和可扩展性。

细胞内滞留时间和亲和力可能并不始终相关



上图 此应用使用 NanoBRET® TE ABL1 kinase assay 和几种针对慢性粒细胞白血病（CML）的药物。与第二代药物 Dasatinib 和第三代药物 Ponatinib 相比，第一代 CML 药物 Imatinib 表现出弱结合和更短的滞留时间。Ponatinib 与 Dasatinib 的亲和力相似，但是滞留时间更长。

应用文献

- Gallo, D. *et al.* (2022) CCNE1 amplification is synthetic lethal with PKMYT1 kinase inhibition. *Nature*. 604:749-756
- Ferguson, F.M. *et al.* (2020) Discovery of a selective inhibitor of doublecortin like kinase 1. *Nat. Chem. Biol.* **16**:635-64
- Hanke, T. *et al.* (2020) A Highly Selective Chemical Probe for Activin Receptor-like Kinases ALK4 and ALK5. *ACS Chem.Biol.* **15**(4):862-8703
- Jin, H.Y. *et al.* (2020) High-Throughput Implementation of the NanoBRET Target Engagement Intracellular Kinase Assay to Reveal Differential Compound Engagement by SIK2/3 Isoforms. *SLAS Discov.* **25**(2):215-222
- Forster, M. *et al.* (2016) Selective JAK3 Inhibitors with a Covalent Reversible Binding Mode Targeting a New Induced Fit Binding Pocket. *Cell Chem. Biol.* **23**(11):1335-1340
- Ong, L.L. *et al.* (2020) A High-Throughput BRET Cellular Target Engagement Assay Links Biochemical to Cellular Activity for Bruton's Tyrosine Kinase. *SLAS Discov.* **25**(2):176-185
- Wells, C.I. *et al.* (2020) Quantifying CDK inhibitor selectivity in live cells. *Nat. Commun.* **11**:2743
- 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**(2):206-214

关键实验产品或实验组分介绍

激酶融合蛋白载体

预构建激酶融合蛋白表达载体 Kinase-NanoLuc® fusion vectors

我们提供超过 **350** 种预构建 NanoLuc® 激酶融合蛋白表达载体，用于 NanoBRET® Target Engagement (TE) Intracellular Kinase Assay。这些载体包含激酶和 NanoLuc® 萤光素酶的 N 端或 C 端融合。

点击下方链接可查看激酶融合蛋白表达载体选择指导列表：

Kinase Target Engagement Assay Selection Table (promega.com.cn)



扫描二维码查看最新可用的所有激酶 - NanoLuc® 融合蛋白表达载体。

调控蛋白表达载体

Regulatory Protein Expression Vectors

检测一个特定的激酶 Target Engagement，激酶融合表达载体 (Kinase-NanoLuc® fusion vectors) 需要搭配或者不搭配调控蛋白表达载体 (Regulatory Protein Expression Vectors)，我们提供 **14** 种调控蛋白或协同蛋白表达载体，用于 NanoBRET® Target Engagement (TE) Intracellular Kinase Assay。对于需要共表达调控蛋白或协同蛋白的激酶，在进行 NanoBRET® TE Assay 检测前，将表达载体与合适的 Kinase-NanoLuc® 融合表达载体共转染。

点击下方链接可查看调控表达载体列表：

Regulatory Protein Expression Vectors (promega.com.cn)



扫描二维码查看最新可用的所有调控蛋白表达载体。

也可选择自行构建激酶融合蛋白表达载体

DIY Kinase-NanoLuc® fusion vectors

构建 Target- NanoLuc® 融合载体，包括 NanoLuc® 萤光素酶在 N 端和 C 端。

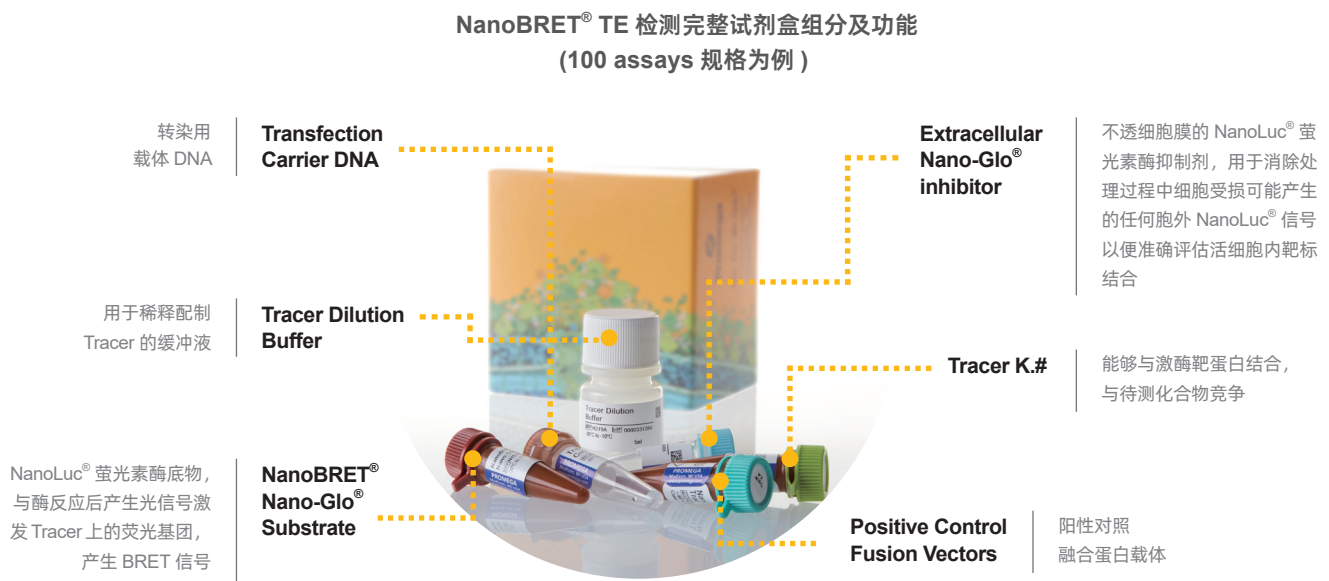
NanoLuc® Cloning Vectors		
产品名称	规格	目录号
NanoLuc® Protein Fusion Flexi® Vectors	20µg	N1311,N1321.N1331,N1341
NanoLuc® Protein Fusion MCS Vectors	20µg	N1351,N1361

完整检测试剂盒

NanoBRET® TE Intracellular Kinase Assay

NanoBRET® TE Intracellular Kinase Assay 是含有检测组分的完整试剂盒，根据不同的 Tracer 类型有多种选择。可根据对应的激酶和所需的 Tracer 选择并直接用于 NanoBRET® TE 的检测。

需注意的是 10,000 次反应规格的试剂盒不包含对照激酶融合载体（positive control fusion vectors）和 transfection carrier DNA。



产品		100 assays	1,000 assays	10,000 assays*
完整试剂盒	NanoBRET® TE Intracellular Kinase Assay , K-3	N2600	N2601	N2810
	NanoBRET® TE Intracellular Kinase Assay , K-4	N2520	N2521	N2540
	NanoBRET® TE Intracellular Kinase Assay , K-5	N2500	N2501	N2530
	NanoBRET® TE Intracellular Kinase Assay , K-8	N2620	N2621	N2820
	NanoBRET® TE Intracellular Kinase Assay , K-9	N2630	N2631	N2830
	NanoBRET® TE Intracellular Kinase Assay , K-10	N2640	N2641	N2840
	NanoBRET® TE Intracellular Kinase Assay , K-11	N2650	N2651	N2850
	NanoBRET® TE Kinase Kit, #12	----	NF1001	NF1200
	NanoBRET® TE Kinase Kit, #14	----		
	NanoBRET® TE Kinase Kit, #15	----		
	NanoBRET® TE Kinase Kit, #16	----		
	NanoBRET® TE Kinase Kit, #17	----		
	NanoBRET® TE Kinase Kit, #18	----		
	NanoBRET® TE Kinase Kit, #19	----		

* 其中 10,000 Assay 包装不包含对照激酶融合载体（ positive control fusion vectors ）和 transfection carrier DNA。

关键实验产品或实验组分介绍

荧光示踪剂

NanoBRET® TE Tracer

Promega 提供可独立购买的 NanoBRET® TE Tracer。它是一种生物可利用的小分子配体或靶蛋白抑制剂，与荧光染料共价结合，作为 NanoBRET® TE Intracellular Kinase Assay system 的一部分。 NanoBRET® TE Tracers 为使用者研究新的激酶或测试替代 Tracer 提供了更大的灵活性。

推荐的 NanoBRET® TE tracer 和所选激酶的 NanoLuc® 融合蛋白的 Tracer 浓度可在下面的链接中找到。

Kinase Target Engagement Assay Selection Table (promega.com.cn)

订购信息

产品	规格	目录号
NanoBRET® TE Tracer K-3	300ul	N2602
NanoBRET® TE Tracer K-4	300ul	N2492
NanoBRET® TE Tracer K-5	550ul	N2482
NanoBRET® TE Tracer K-8	300ul	N2622
NanoBRET® TE Tracer K-9	300ul	N2632
NanoBRET® TE Tracer K-10	300ul	N2642
NanoBRET® TE Tracer K-11	300ul	N2652
NanoBRET® TE Tracer K-12	300ul	NF1011
Tracer Dilution Buffer	50ml	N2191

底物 & 抑制剂

Nano-Glo® Substrate/Inhibitor

Intracellular TE Nano-Glo® Substrate/Inhibitor 和 Intracellular TE Nano-Glo® Vivazine™/Inhibitor 是专为 NanoBRET® Target-Engagement (TE) Assays 而设计，用于检测活细胞中的化合物与靶蛋白的选择性结合。试剂中 NanoLuc® substrates 的量足够在特定时间段内产生 BRET 检测所需的明亮的发光信号。Extracellular NanoLuc® inhibitor 是一种不能透过细胞膜的分子，可以用于抑制细胞外环境的任何 NanoLuc® 信号。

做终点法检测或 2 小时以内的检测推荐用 Intracellular TE Nano-Glo® Substrate。检测时间超过 2 小时以上的推荐使用半衰期更长的底物如 Nano-Glo® Vivazine™ Substrate。

Intracellular TE Nano-Glo® Substrate < 小于 检测时间 2 小时 大于 > Nano-Glo® Vivazine™ Substrate

订购信息

产品	规格	目录号
Intracellular TE Nano-Glo® Substrate/Inhibitor	100 assays	N2162
	1,000 assays	N2160
	10,000assays	N2161
Intracellular TE Nano-Glo® Vivazine™/Inhibitor	1,000 assays	N2200
	10,000 assays	N2201
CC1 pan-Kinase Inhibitor	100ul	N2661

转染试剂

FuGENE® HD Transfection Reagent

FuGENE® HD 转染试剂采用专利的非脂质体配方，提供了一个高效、低毒的转染方法。不含任何人体或其他动物来源的组分，转染前细胞不用去血清培养，转染后不用更换培养基，最大限度的减少对细胞的外源性干扰。操作方便，简单易用，尽可能节省研究者宝贵的实验时间。

技术优势

- 提供超过 40 中细胞类型的数据库，包括原代细胞和干细胞。
- 更具生物相关性，高转染效率，低毒性。
- 操作简单，无需更换培养基，给细胞培养环境带来更小的变化，与血清兼容。

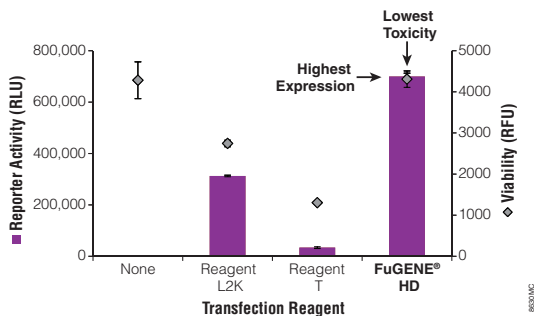
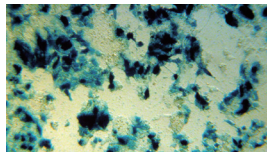
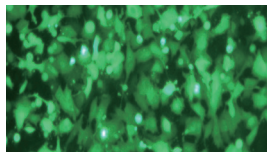


图 . 不同转染试剂转染 HEK293 细胞效果比较。
FuGENE® HD 转染试剂组获得更高的蛋白表达，并对细胞的活性影响更小。

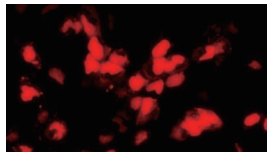
结果展示



干细胞转染
转染在胞外基质中培养的小鼠胚胎干细胞



肿瘤细胞系转染
已验证可转染数十种肿瘤细胞系



细胞成像
高效低毒—增强目的蛋白表达和细胞成像效果

订购信息

产品	规格	目录号
FuGENE® HD Transfection Reagent	1ml	E2311
	5 × 1ml	E2312

检测仪器

GloMax® Discover 多功能检测仪

高效，易用的多功能检测仪

用于化学发光，荧光，吸收光，**BRET 和 FRET**

- **使用简单**

选择预置的 Promega 程序或编辑您自己需要的程序。数据可输出至网络、云、LIMS 或其他服务器。容易实现发光、荧光、UV- 可见吸收光、BRET 和 FRET 检测。

- **可实现自动化**

可与您的自动化工作流程整合实现高通量检测，或者整合进您的 LIMS 数据管理系统。

- **超高灵敏度**

动态范围宽，灵敏度高，孔间交叉干扰小，使得您的数据更加可信。

- **手动干扰最小化**

自动转换滤片，轻松实现多重检测。

- **节省人力**

预置的程序可节省优化程序的时间。

- **直观的软件界面**

GloMax
DISCOVER



订购信息

产品	包装量	目录号
GloMax® Discover System	1 台	GM3000

细胞周期蛋白依赖性激酶（CDK）家族选择性分析系统

NanoBRET® Target Engagement (TE) CDK Selectivity Systems

细胞周期蛋白依赖性激酶（CDK）家族的众多成员已被证实是许多种癌症类型的致癌驱动因素，因此是新药物研发中最受关注的激酶亚家族。然而，由于这一关键激酶亚家族的结构保护性，所以使用 CDK 抑制剂实现同工酶选择性是一个巨大的挑战。虽然目前有生物化学检测方法评估抑制剂对一些经充分研究的 CDK 家族成员的选择性，但缺乏系统分析抑制剂对大多数 CDK 家族成员的选择性的活细胞方法。

NanoBRET® Target Engagement (TE) CDK Selectivity Systems 依赖于 NanoBRET® TE 的检测原理，可以在活细胞中定量测定 2 组每组 8 个 CDK 激酶细胞内的化合物亲和力和占有率，单次实验可检测多达 16 个 CDK 激酶。

活细胞检测

一键式选择性分析流程

灵活的多孔板检测模式

出色的数据质量

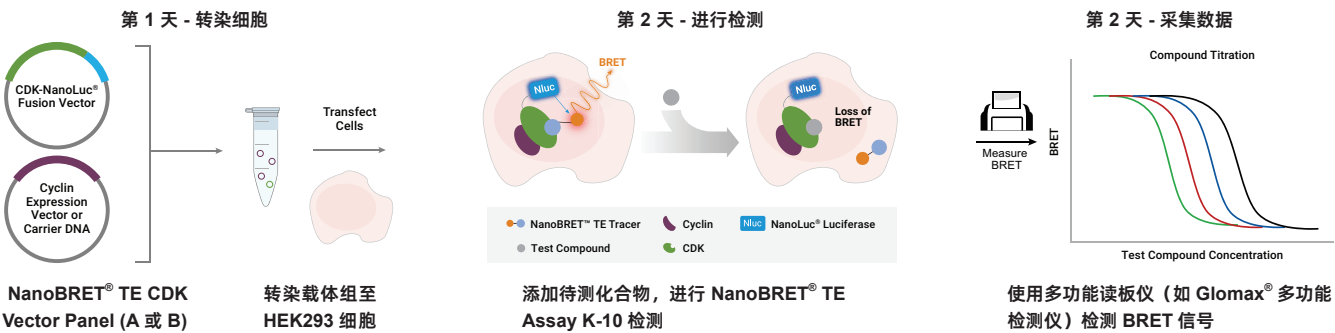
即用型载体组简化选择性分析

提供 A 和 B 两组即用型 CDK 激酶载体组，极大简化了常规激酶选择性筛选。每组包含 8 管 CDK-NanoLuc® 融合表达载体，这些载体与细胞周期蛋白表达载体或载体 DNA 预先混合，以实现最佳转染效果。只需解冻、稀释并转染这些耗材载体混合物即可检测所有 CDK 激酶。载体组 A 提供 8 种已经过高度研究的 CDK 激酶融合表达载体，载体组 B 则包含 8 种未充分研究的 CDK 激酶融合表达载体。

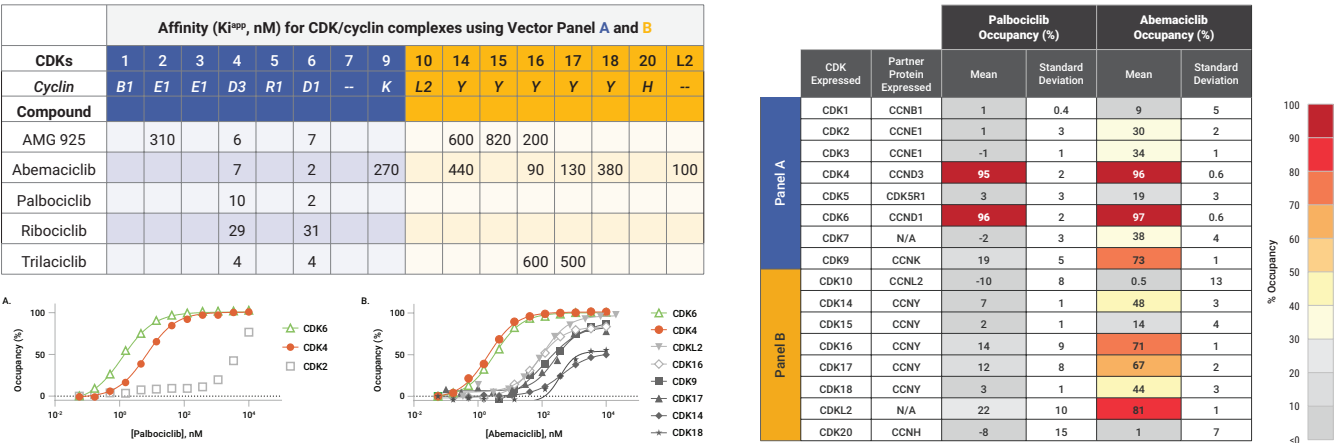
NanoBRET® TE CDK Vector Panel A - 8 Tubes			NanoBRET® TE CDK Vector Panel B - 8 Tubes		
Vector Mix	CDK-NanoLuc® Fusion Vector	Cyclin Vector or Carrier DNA	Vector Mix	CDK-NanoLuc® Fusion Vector	Cyclin Vector or Carrier DNA
CDK1/CCNB1	CDK1	CCNB1	CDK10/CCNL2	CDK10	CCNL2
CDK2/CCNE1	CDK2	CCNE1	CDK14/CCNY	CDK14	CCNY
CDK3/CCNE1	CDK3	CCNE1	CDK15/CCNY	CDK15	CCNY
CDK4/CCND3	CDK4	CCND3	CDK16/CCNY	CDK16	CCNY
CDK5/CDK5R1	CDK5	CDK5R1	CDK17/CCNY	CDK17	CCNY
CDK6/CCND1	CDK6	CCND1	CDK18/CCNY	CDK18	CCNY
CDK7/Carrier DNA	CDK7	Carrier DNA	CDKL2/Carrier DNA	CDKL2	Carrier DNA
CDK9/CCNK	CDK9	CCNK	CDK20/CCNH	CDK20	CCNH

一键式 CDK 选择性分析流程

NanoBRET® Target Engagement (TE) CDK Selectivity Systems 包含一个 CDK-NanoLuc® 融合表达载体组（A 或 B）和 NanoBRET® TE Assay K-10。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，并进行 NanoBRET® TE Assay K-10，对每个 CDK 使用单一优化浓度的 NanoBRET® Tracer K-10，使用多功能检测仪检测 BRET 信号。



测定细胞内亲和力和化合物占有率



左图 利用梯度稀释法对载体组 A 和 B 中的 16 个 CDK 与一组抑制剂进行了测试。CDK4/6 抑制剂 Palbociclib (图 A 和上表) 和 Ribociclib (表), 显示出对 CDK4/6 非常高的选择性。而 Abemaciclib (图 B 和上表) 最然对 CDK4/6 具有选择性, 但它也对 CDK9 和 TAIRE 家族具有选择性。其他抑制剂能有效参与 CDK4/6, 但也表现出附带参与其他 CDK 家族, 包括 TAIRE 家族。表中没有展示 >1μM 的亲和力, 尽管它们是被检测的 (如图 A)

右图 Palbociclib 和 Abemaciclib 的占有率定量检测。通过检测对照值, BRET 比率可以转换为占有率。占有率分数可以在单一化合物浓度下分析 CDK 中的化合物选择性。Palbociclib 和 Abemaciclib 是 CDK4/6 选择性抑制剂。表中显示了 500nM 的 Palbociclib 和 500nM 的 Abemaciclib 对 CDK 载体组 A 和 B 的占有率数据 (平均值和标准偏差是从 3 个独立实验计算得出的)。

参考文献

- 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.
- Wells, C.I., et al. (2020) Quantifying CDK inhibitor selectivity in live cells. *Nature Commun.* **11**, 2743.

产品信息

产品类别	产品	规格	目录号
选择性系统	NanoBRET® TE CDK Selectivity System A	1 each	NP5050
	NanoBRET® TE CDK Selectivity System B	1 each	NP5150
载体组试板	NanoBRET® TE CDK Vector Panel A	1 each	NP5000
	NanoBRET® TE CDK Vector Panel B	1 each	NP5100
可以一起使用的产品	NanoBRET® TE Selectivity DNA Controls	1 each	NP1000
	Fugene® HD Transfection Reagent	1 each	E2311

活细胞中 192 种激酶药物选择性分析系统

NanoBRET® Target Engagement (TE) K192 Kinase Selectivity System

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检测细胞内化合物对 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。

活细胞检测

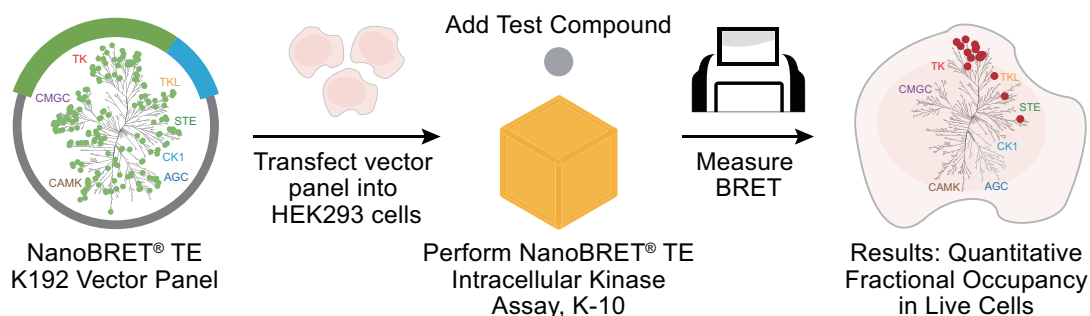
一键式选择性分析流程

灵活的多孔板检测模式

出色的数据质量

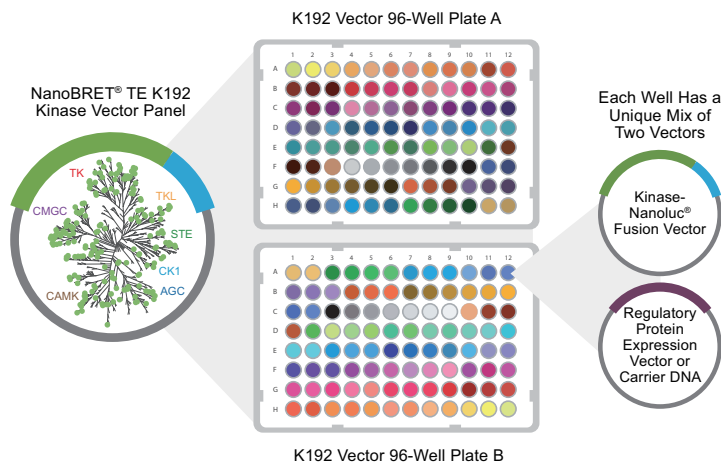
一键式选择性分析流程

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，并进行 NanoBRET® TE Assay K-10，使用单一优化浓度的 NanoBRET® Tracer K-10，使用多功能检测仪检测 BRET 信号。



K192 激酶载体检测组合简化了细胞激酶选择性分析

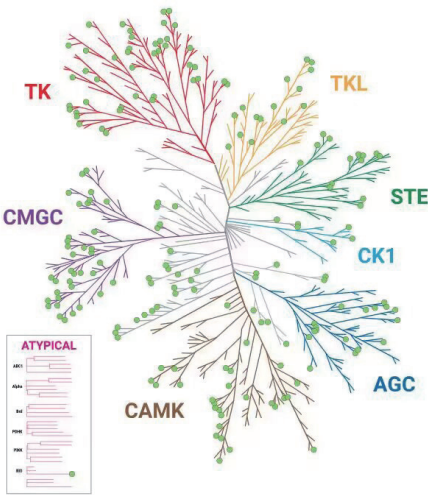
NanoBRET® TE K192 Kinase Vector Panel 包含 192 种激酶 - NanoLuc® 融合表达载体，这些载体广泛分布在激酶组中（树状图上的绿点）。载体组以两个 96 孔板（A 和 B）提供。K192 Kinase Vector Panel 的每个孔都含有两种载体，保证实现最佳转染效果，一种是激酶 - NanoLuc® 融合表达载体，另一种是载体 DNA 或调节蛋白表达载体。“仅需添加”的多孔板工作流程使用预制的转染即用激酶载体组合和单个 NanoBRET® TE 激酶检测试剂盒。



代表激酶组的 192 种激酶

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。

AAK1	ABL2	AKT2	AURKA	AURKB	AURKC	AXL	BMP2K	BMX	BRAF (V600E)	BRSK1	BRSK2
BTX	CAMK1	CAMK2A	CAMK2D	CDK1/ CCNB1	CDK2/ CCNE1	CDK3/ CCNE1	CDK4/ CCND3	CDK5/ CDK5R1	CDK5/ CCND1	CDK7	CDK9/ CCNK
CDK10/ CCNL2	CDK14/ CCNY	CDK15/ CCNY	CDK16/ CCNY	CDK17/ CCNY	CDK18/ CCNY	CDK20/ CCNH	CDKL1	CDKL2	CDKL3	CDKL5	CHEK2
CLK1	CLK2	CLK4	CSNK1A1L	CSNK1D	CSNK1G2	CSNK2A1	CSNK2A2	DAPK2	DCLK2	DYRK1A	DYRK1B
EPHA1	EPHA4	EPHA6	EPHA7	EPHB1	EPHB4	ERN1	ERN2	FER	FES	FGFR1	FGFR2
FGFR3	FGFR4	FLT3	FYN	GAK	HIPK2	HIPK3	HIPK4	ICK	IGF1R	IKBKE	INSR
IRAK3	IRAK4	ITK	JAK2 (V617F)	JAK3	JNK3	LATS1	LATS2	LCK	LIMK1	LIMK2	LRRK2
LTK	MAP3K10	MAP3K11	MAP3K12	MAP3K19	MAP3K2	MAP3K21	MAP3K3	MAP3K4	MAP3K9	MAP4K1	MAP4K2
MAP4K3	MAP4K5	MAPK11	MAPK14	MAPK4	MAPK6	MAPK8	MAPK9	MARK2	MARK4	MAST3	MAST4
MELK	MERTK	MET	MKNK2	MLTK	MUSK	MYLK2	MYLK3	MYLK4	NEK1	NEK11	NEK2
NEK3	NEK4	NEK5	NEK9	NIM1K	NLK	NTRK1	NTRK2	NUAK1	PAK4	PAK6	PHKG1
PHKG2	PKMYT1	PLK2	PLK3	PLK4	PRKAA1	PRKAA2	PRKACA	PRKACB	PRKCE	PRKX	PTK2
PTK2B	PTK6	RET	RIOK2	RIPK1	RIPK2	RON	RPS6KA1	RPS6KA2	RPS6KA3	RPS6KA4	RPS6KA6
SBK3	SGK1	SIK1	SIK3 FL	SLK	SNF1LK2	SNRK	SRMS	STK10	STK11	STK16	STK17B
STK3	STK32B	STK33	STK35	STK36	STK38	STK38L	TK4	TBK1	TEC	TEK	TIE1
TLK1	TLK2	TNK1	TNK2	TNNI3K	TXK	TYRO3	ULK1	ULK2	ULK3	WEE1	WEE2

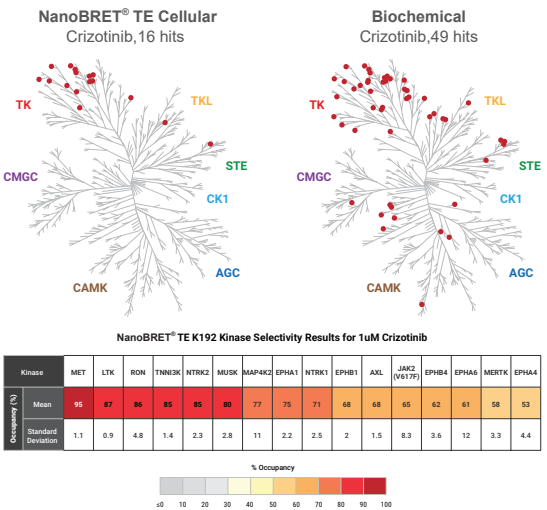


细胞内检测方法与生化检测方法对比

右图 用于检测激酶抑制剂结合或活性的生化检测方法可能无法准确预测细胞内激酶的结合。

树状图比较了使用活细胞 NanoBRET® TE K192 Kinase Selectivity System 与生化方法检测 1 μ M 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。



参考文献

- 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.
- Robers, M.B., et al. (2021) Single tracer-based protocol for broad-spectrum kinase profiling in live cells with NanoBRET. *Star Protocols* **2**, 10822.

产品信息

产品类别	产品	规格	目录号
选择性系统	NanoBRET® TE K192 Kinase Selectivity System	1 each	NP4050
	NanoBRET® TE K192 Kinase Selectivity System with Controls	1 each	NP4060
192 种激酶载体组试板	NanoBRET® TE K192 Kinase Vector Panel	1 each	NP4100
	NanoBRET® TE K192 Kinase Vector Panel, Small	1 each	NP4101
可以一起使用的产品	NanoBRET® TE Selectivity DNA Controls	1 each	NP1000
	Fugene® HD Transfection Reagent	1 each	E2311

NanoBRET[®] TE 即用型检测平台

—— 其他靶点检测平台

Promega 除了强大的激酶靶点检测平台还提供其他多种药物与激酶靶点结合检测的完整检测系统，包括：

- BET BRD 靶点相关药物检测
- HDAC 靶点相关药物检测
- E3 Ligases 靶点相关药物检测
- NLRP3 靶点相关药物检测
- DNA 损伤修复靶点相关药物检测
- PARP 靶点相关药物检测
- RAS 靶点相关药物检测
- RAF 靶点相关药物检测
- GPCRs 靶点相关药物检测
- Heat Shock Protein (HSP) 靶点相关药物检测

BET BRD 靶点相关药物检测系统

NanoBRET® Target Engagement BET BRD Assays

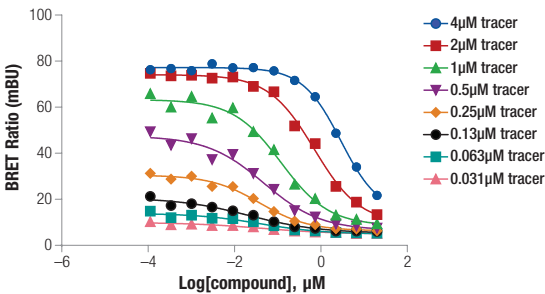
NanoBRET® Target Engagement BET BRD Assays 系列产品也是基于 NanoBRET® TE 的技术原理, 专为 BET BRD 靶点的药物: 靶蛋白结合检测而设计。该系列产品提供包含实验组分的完整检测系统, 同时其组分也可单独购买。

应用举例：评估化合物与关键药物靶蛋白 BRDs 的结合

表达 NanoLuc®-BRD4 全长融合蛋白的瞬时转染 HEK293 细胞中的 Tracer 竞争。将表达 NanoLuc®-BRD4 全长融合蛋白的 HEK293 细胞重悬于培养基中, 接种于 96 孔板中, 并与不同浓度的 Tracer 混合。

以未经修饰的递增浓度的 iBET-151 作为竞争性抑制剂处理细胞 2 小时, 然后加入 3X Complete Substrate plus Inhibitor Solution。以带有 NanoBRET® 618 滤片 (donor 450nm/8nm BP & acceptor 600nm LP) 的 GloMax® Discover System 检测 BRET。BRET 比值原始数据转换为 milliBRET 单位 (mBU), 并绘制出与 iBET-151 抑制剂浓度的关系图, 以确定化合物的表现细胞内亲和力。推荐浓度为 0.5µM NanoBRET® BET BRD Tracer 生成的 IC₅₀ 值以粗体显示。

注意, 较低的 Tracer 浓度会带来更准确的细胞内化合物亲和力的评估, 但分析窗口较窄。在估计细胞内化合物亲和力时, 使用较低浓度的 Tracer 可能更准确。



Tracer Concentration (µM)	4	2	1	0.5	0.25	0.13	0.063	0.031
IC ₅₀	2.9	0.71	0.12	0.048	0.034	0.022	0.040	0.043

应用文献

- Modukuri, R.K. *et al.* (2022) Discovery of potent BET bromodomain 1 stereoselective inhibitors using DNA-encoded chemical library selections. *PNAS*. **119**(22):e2122506119
- Phillipou, A.N. *et al.* (2020) Cellular Target Engagement Approaches to Monitor Epigenetic Reader Domain Interactions. *SLAS Discov*. **25**(2):163-175

订购信息

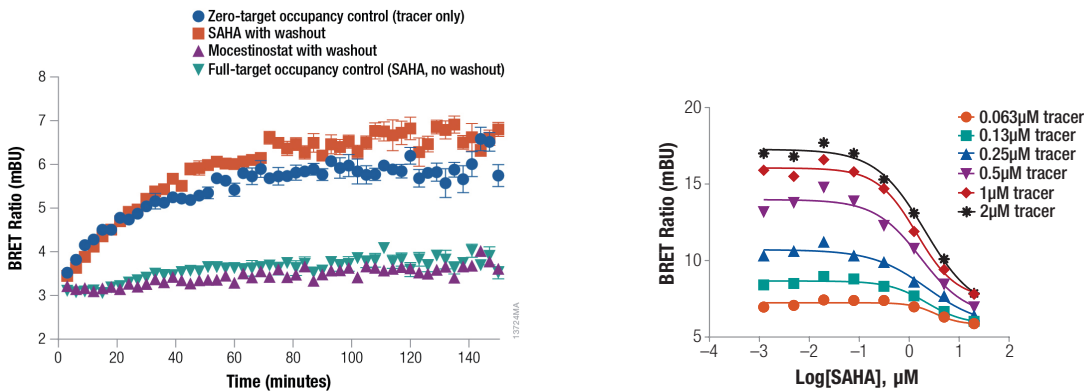
靶点		产品	规格	目录号
检测系统	BRD2, BRD3, BRD4, BRDT	NanoBRET® TE Intracellular BET BRD Complete Kit	1,000 assays	N2180
		NanoBRET® TE Intracellular BET BRD Assay	100 assays	N2130
			1,000assays	N2131
		NanoBRET® TE Intracellular BET BRD Detection Reagents	10,000assays	N2140
8 种融合载体组 (N2180 组分)	BRD2, BRD3, BRD4, BRDT, BRD7, BRD9, BRPF1, CECR2, TAF1, TAF1L	NanoBRET® TE Intracellular BRD Assay-02	购买请咨询 Promega	
	BRD2 FL, BRD2 BD1, BRD2 BD2, BRD3 FL, BRD4 FL, BRD4 BD1, BRD4 BD2, BRDT FL	NanoBRET TE BET BRD DNA Bundle	20ug	N2150
融合蛋白载体	BRD7	NanoLuc®-BRD7-BD Fusion Vector	购买请咨询 Promega	
	BRD9	NanoLuc®-BRD9(FL) Fusion Vector		
	BRD9	NanoLuc®-BRD9(BD) Fusion Vector		
	BRPF1	NanoLuc®-BRPF1 Fusion Vector		
	BRPF1	NanoLuc®-BRPF1(BD) Fusion Vector		
	CECR2	NanoLuc®-CECR2 FL Fusion Vector		
	CECR2	NanoLuc®-CECR2(BD) Fusion Vector		
	TAF1	TAF1 FL-NanoLuc® Fusion Vector		
	TAF1	NanoLuc®-TAF1(BD1-BD2) Fusion Vector		
	TAF1	NanoLuc®-TAF1(BD2) Fusion Vector		
	TAF1L	TAF1L FL-NanoLuc® Fusion Vector		

HDAC 靶点相关药物检测系统

NanoBRET® Target Engagement HDAC Assays

NanoBRET® Target Engagement HDAC Assays 系列产品也是基于 NanoBRET® TE 的技术原理，专为 HDAC 靶点的药物：靶蛋白结合检测而设计。该系列产品提供包含实验组分的完整检测系统，同时其组分也可单独购买。

应用举例：瞬时转染表达有 HDAC1-NanoLuc® 全长融合蛋白的 HeLa 细胞的滞留时间分析



上图 表达 HDAC1-NanoLuc® 全长融合蛋白的 HeLa 细胞以培养基重悬，以 10μM SAHA 或 10μM mocetinostat 结合并孵育 2 小时。去掉化合物后，细胞铺在 96 孔板中，Complete 20X NanoBRET® Tracer 和 2X NanoBRET® Nano-Glo® Substrate plus Extracellular NanoLuc® Inhibitor Solution 加入到每个孔中。使用带有 NanoBRET® 618 滤片 (donor 450nm/8nm BP 和 acceptor 600nm LP) GloMax® Discover System 反复检测 BRET。

应用文献

- Asawa, R.R. *et al.* (2020) A Comparative Study of Target Engagement Assays for HDAC1 Inhibitor Profiling. *SLAS Discov.* **25**(3):253-264
- Robers, M.B. *et al.* (2015) Target engagement and drug residence time can be observed in living cells with BRET. *Nat. Commun.* **6**:10091

订购信息

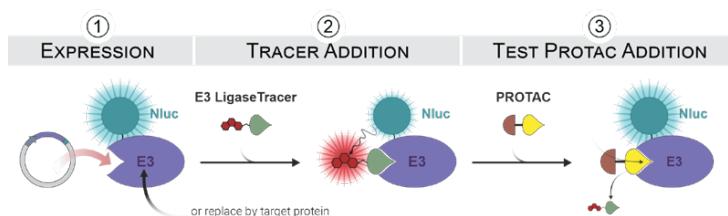
靶点		产品	规格	目录号
检测系统	HDAC1, HDAC2, HDAC3, HDAC6, & HDAC10	NanoBRET® TE Intracellular HDAC Complete Kit	1,000 assays	N2170
		NanoBRET® TE Intracellular HDAC Assay	100 assays	N2080
		NanoBRET® TE Intracellular HDAC Detection Reagents	1,000assays	N2081
		NanoBRET® TE HDAC DNA Bundle	10,000assays	N2090
6 种融合载体组 (N2170 组分)	HDAC1, HDAC2, HDAC3, HDAC6, HDAC6 (CD2), & HDAC10	NanoBRET® TE HDAC DNA Bundle	20ug	N2120

E3 Ligases 靶点相关药物检测系统

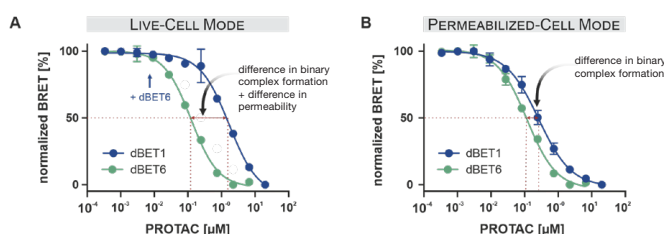
NanoBRET® TE Intracellular E3 Ligase Assays

该方法可检测 PROTAC 小分子化合物与 E3 泛素连接酶（例如与 NanoLuc® 萤光素酶融合的 cereblon (CRBN) 或 von Hippel-Lindau (VHL)）的结合以及对 PROTAC 透膜性进行评价。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 tracer。tracer 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 tracer 的竞争性置换，通过 BRET 的降低可以确定 PROTAC 的结合。

工作流程



应用数据



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。

应用文献

- Kurimchak, A.M. *et al.* (2022) The drug efflux pump MDR1 promotes intrinsic and acquired resistance to PROTACs in cancer cells. *Sci. Signal.* **15**(749):eabn2707
- Schwalm, M.P. *et al.* (2022) A Toolbox for the Generation of Chemical Probes for Baculovirus IAP Repeat Containing Proteins. *Front. Cell Dev. Biol.* **10**:886537
- Vasta, J.D. *et al.* (2021) A High-Throughput Method to Prioritize PROTAC Intracellular Target Engagement and Cell Permeability Using NanoBRET. In: Cacace, A.M., Hickey, C.M., Békés, M. (eds) Targeted Protein Degradation. *Methods Mol. Biol.* 2365:265-282
- Guo, W.H. *et al.* (2020) Enhancing intracellular accumulation and target engagement of PROTACs with reversible covalent chemistry. *Nat. Commun.* **11**:4268

订购信息

配体	产品	规格	目录号
CRBN	NanoBRET® TE Intracellular E3 Ligase Assay, CRBN	100 assays	N2910
		1,000 assays	N2911
	NanoBRET® TE Intracellular E3 Ligase Detection Reagents, CRBN	10,000 assays	N2912
	NanoLuc®-CRBN fusion vector	20ug	N2741
VHL	NanoBRET® TE Intracellular E3 Ligase Assay, VHL	100 assays	N2930
		1,000 assays	N2931
	NanoBRET® TE Intracellular E3 Ligase Detection Reagents, VHL	10,000 assays	N2932
	VHL-NanoLuc® fusion vector	20ug	N2751
IAP(cIAP1, cIAP2, & XIAP)	NanoBRET® TE In-cell IAP kit		
	NanoLuc®-cIAP1 fusion vector		
	NanoLuc®-cIAP2 fusion vector		
	NanoLuc®-XIAP fusion vector		
MDM2	NanoBRET® TE In-cell MDM2 kit, 1K		

购买请咨询 Promega

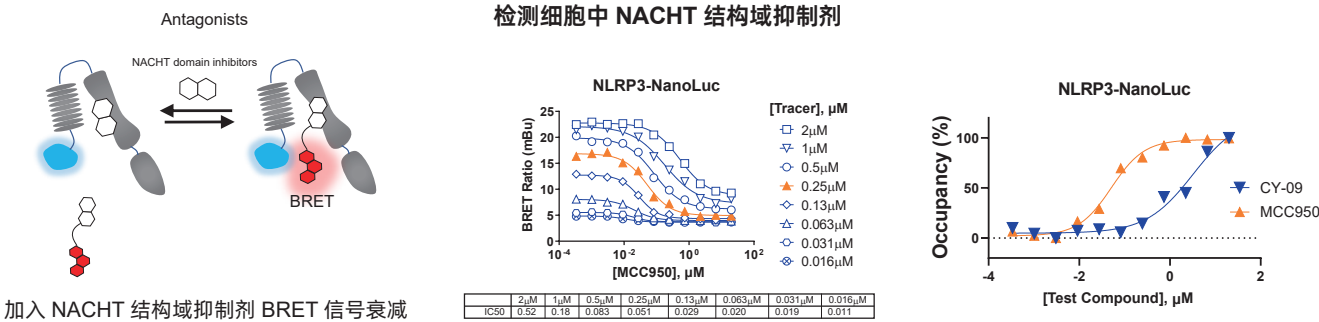
NLRP3 靶点相关药物检测系统

NanoBRET® TE NLRP3 Assay

NLRP3 炎症小体与多种疾病密切相关，靶向 NLRP3 将为炎症小体相关疾病提供新的治疗方法。已有报道，例如 MCC950 和 CY-09 抑制剂可以与 NLRP3 的 NACHT 结构域结合，从而进一步探究这些小分子抑制剂能否治疗炎症小体相关疾病。

NanoBRET® Target Engagement NLRP3 Assay 是一种检测化合物对 NLRP3 的亲力和化合物：靶蛋白复合体的持续时间（滞留时间）的活细胞检测方法。可以检测 NLRP3 NACHT 结构域的抑制剂和 NLRP3 的激活状态。

应用数据



订购信息

产品	规格	目录号
NanoBRET® TE NLRP3 Kit, 1K	1,000 assays	
NLRP3-NanoLuc® Fusion Vector	20 μg	购买请咨询 Promega
NLRP3-NanoLuc® HEK293 Stable Cell Line	each	

DNA 损伤修复（DDR）靶点相关药物检测系统

靶点	产品	规格	目录号
PARG	PARG-NanoLuc® Fusion Vector	20 μg	购买请咨询 Promega
	NanoBRET® Tracer PARG, 400 μM	50 μl	
POLQ (Polymerase Domain)	POLQ-NanoLuc® Fusion Vector (Pol site)	20 μg	
	NanoBRET® Tracer POLQ Polymerase, 100 μM	20 μl	
	Damaged DNA Mimic, 100 μM	300 μl	
POLQ (Helicase Domain)	NanoLuc®-POLQ Fusion Vector (Heli site)	20 μg	
	NanoBRET® Tracer POLQ Helicase, 100 μM	60 μl	
PRMT5	NanoLuc®-PRMT5 Fusion Vector	20 μg	
	WDR77 Expression Vector	60 μg	
	NanoBRET® Tracer PRMT5, 100 μM	30 μl	

PARP 靶点相关药物检测系统

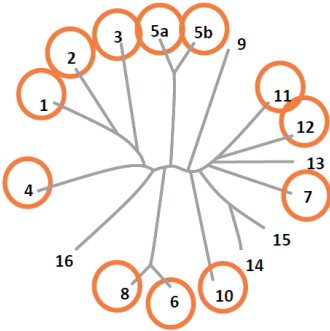
NanoBRET® TE PARP Assays and Vectors

聚（ADP-核糖）聚合酶（PARP）家族由 17 个成员组成，参与介导一系列细胞过程，包括基因转录和 DNA 修复，与人类疾病发生密切相关，PARP 相关小分子抑制剂的研发具有重要的治疗意义。

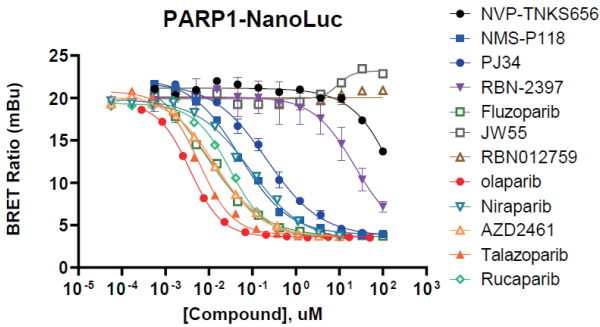
NanoBRET® TE PARP Assay 可用于表征 PARP 抑制剂对多种 PARP 的选择性和亲和力。细胞内滞留时间可以用一种简单的形式进行评估，即在添加示踪剂之前，添加未修饰的化合物。洗去化合物后，添加示踪剂，并对活细胞中的滞留时间进行测定。

应用数据

NanoBRET® TE PARP Assay 可用于
研究 >10 个 PARP 家族成员



多种化合物对 PARP1 亲和力检测



应用文献

- Wigle, T.J. *et al.* (2020) In Vitro and Cellular Probes to Study PARP Enzyme Target Engagement. *Cell Chem. Biol.* **27**(7):877-887

订购信息

靶点	产品	规格	目录号
PARP1, PARP2, PARP3, PARP4, PARP5a, PARP5b, PARP6, PARP7, PARP8, PARP10, PARP11, & PARP12	NanoBRET® TE PARP Kit #1, 1K	1,000 assays	购买请咨询 Promega
	NanoBRET® TE PARP Kit #1, 10K	10,000 assays	
PARP1	PARP1-NanoLuc® fusion vector, Iso 1	20ug	
PARP2	PARP2-NanoLuc® Fusion Vector	20ug	
PARP3	PARP3-NanoLuc® Fusion Vector	20ug	
PARP4	NanoLuc®-PARP4 Fusion Vector	20ug	
PARP5a	PARP5a-NanoLuc® Fusion Vector	20ug	
PARP5b	PARP5b-NanoLuc® Fusion Vector	20ug	
PARP6	PARP6-NanoLuc® Fusion Vector	20ug	
PARP7	PARP7-NanoLuc® Fusion Vector	20ug	
PARP8	PARP8-NanoLuc® Fusion Vector	20ug	
PARP10	PARP10-NanoLuc® Fusion Vector	20ug	
PARP11	PARP11-NanoLuc® Fusion Vector	20ug	
PARP12	PARP12-NanoLuc® Fusion Vector	20ug	

RAS 靶点相关药物检测系统

NanoBRET® TE RAS Assays and Vectors

NanoBRET® TE Intracellular RAS Assay 是一种新型方法，用于检测化合物对 RAS 蛋白的细胞内结合，该蛋白是一类在人类癌症中经常发生突变的 GTP 酶。RAS 基因是人类癌症中最常发生突变的致癌基因，KRAS 则是 RAS 家族中最常发生突变的亚型。大多数肺癌、胰腺癌和结直肠癌是由 KRAS 基因的突变所驱动。直到最近发现 KRAS (G12C) 特异性共价抑制剂之前，KRAS 一直被认为是不可成药的靶点。

技术优势

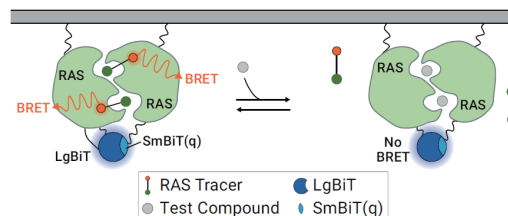
- 可在活细胞中对全长、膜定位 RAS 进行药物靶点亲和力和占有率检测。
- 可对活细胞中具有多种结合机制的配体（包括 SII 口袋和 SI/II 口袋结合剂）进行检测。
- 可对 > 5 个数量级的效价进行检测。
- 即用型试剂盒，可扩展至 384 孔板模式，并用于筛选用途。

可检测的热门靶点：

- KRAS G12: D,V,C,A,S
- KRAS Q61: L,H,R
- KRAS G13D
- HRAS WT,G12C,G12V

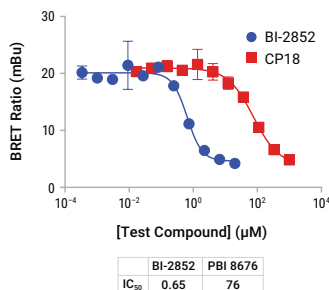
检测原理

NanoBRET® TE Intracellular RAS Assay 使用 NanoBiT® 技术，这是一种由大萤光素酶亚基 (LgBiT) 和小互补肽 (SmBiT(q)) 组成的结构互补系统。具体来说，LgBiT - 全长 RAS 的融合蛋白与 SmBiT(q) - 全长 RAS 的融合蛋白在细胞中共表达。当 RAS 蛋白产生相互作用并形成多聚体时，LgBiT 和 SmBiT(q) 亚基聚集在一起形成作为 BRET 供体的活性萤光素酶。能量受体是一种可渗透细胞的荧光 NanoBRET® tracer，专门与 RAS 结合。与 RAS 结合的化合物的添加会导致 tracer 的替换和剂量依赖性 BRET 信号的下降。Assay 中的 NanoBiT® 系统使用独特的 SmBiT(q) 肽，使 NanoBiT® 萤光素酶对 Extracellular NanoLuc® Inhibitor 敏感。这种抑制剂抑制了来自受损细胞和细胞碎片的信号，确保 NanoBRET® 信号来源于活细胞。

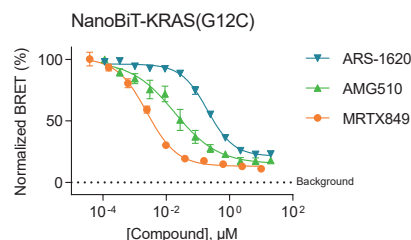


应用数据

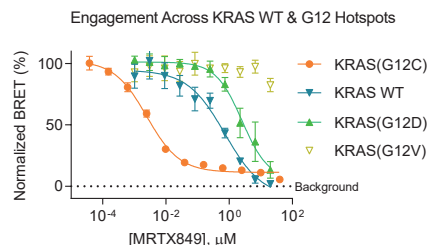
NanoBRET® Tracer 基于 SI/II 口袋配体 BI-2852 开发，可以观察到正构靶点结合



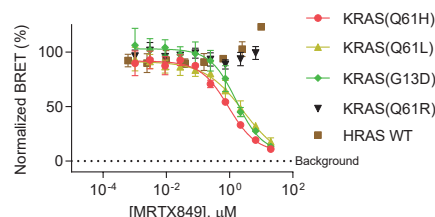
检测抑制剂与已知的 RAS SII 口袋的变构靶点结合



可对多种 RAS 变体进行检测



Engagement Across Other RAS Variants



RAS TE 检测法可对多种 RAS 变体进行检测，包括 KRAS WT、HRAS WT 和热点突变（例如 KRAS G12、Q61 和 G13），因此可进行选择性分析，MRTX849 显示出令人惊讶的结合谱，而不仅仅是 KRAS (G12C)。

应用文献

- Vasta, J.D. *et al.* (2022) KRAS is vulnerable to reversible switch-II pocket engagement in cells. *Nat. Chem. Biol.* **18**:596-604

订购信息

产品	规格	目录号
NanoBRET® TE Intracellular RAS Assay	100 assays	N8010
NanoBRET® TE Intracellular RAS Assay	1,000 assays	N8012
NanoBRET® TE Intracellular RAS Assay	10,000 assays	N8013
LgBiT-KRAS WT Fusion Vector	20µg	NV4561
SmBiT(q)-KRAS WT Fusion Vector	20µg	NV4571
LgBiT-KRAS(G12C) Fusion Vector	20µg	NV4581
SmBiT(q)-KRAS(G12C) Fusion Vector	20µg	NV4591
LgBiT-KRAS(G12D) Fusion Vector	20µg	NV4601
SmBiT(q)-KRAS(G12D) Fusion Vector	20µg	NV4611
LgBiT-KRAS(G12V) Fusion Vector	20µg	NV4621
SmBiT(q)-KRAS(G12V) Fusion Vector	20µg	NV4631
LgBiT-KRAS(G12A) Fusion Vector	20µg	NV4641
SmBiT(q)-KRAS(G12A) Fusion Vector	20µg	NV4651
LgBiT-KRAS(G12S) Fusion Vector	20µg	NV4661
SmBiT(q)-KRAS(G12S) Fusion Vector	20µg	NV4671
LgBiT-KRAS(G12R) Fusion Vector	20µg	NV4681
SmBiT(q)-KRAS(G12R) Fusion Vector	20µg	NV4691
LgBiT-KRAS(G13D) Fusion Vector	20µg	NV4701
SmBiT(q)-KRAS(G13D) Fusion Vector	20µg	NV4711
LgBiT-KRAS(Q61H) Fusion Vector	20µg	NV4721
SmBiT(q)-KRAS(Q61H) Fusion Vector	20µg	NV4731
LgBiT-KRAS(Q61L) Fusion Vector	20µg	NV4741
SmBiT(q)-KRAS(Q61L) Fusion Vector	20µg	NV4751
LgBiT-KRAS(Q61R) Fusion Vector	20µg	NV4761
SmBiT(q)-KRAS(Q61R) Fusion Vector	20µg	NV4771
LgBiT-KRAS(Y96D) Fusion Vector	20µg	NV4781
SmBiT(q)-KRAS(Y96D) Fusion Vector	20µg	NV4791
LgBiT-HRAS WT Fusion Vector	20µg	NV4801
SmBiT(q)-HRAS WT Fusion Vector	20µg	NV4811
LgBiT-HRAS(G12C) Fusion Vector	20µg	NV4821
SmBiT(q)-HRAS(G12C) Fusion Vector	20µg	NV4831
LgBiT-HRAS(G12V) Fusion Vector	20µg	NV4841
SmBiT(q)-HRAS(G12V) Fusion Vector	20µg	NV4851

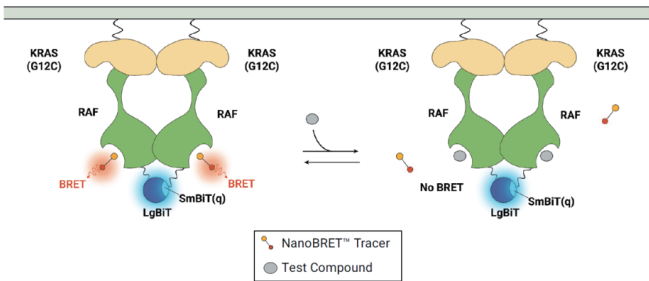
RAF 靶点相关药物检测系统

NanoBRET® TE Intracellular RAF Dimer Assays and Vectors

RAF 激酶 (ARAF, BRAF 和 CRAF) 在 MAPK 信号通路中起重要作用, 该通路是癌症中最易发生突变的通路之一。这种信号通常通过 RAF 二聚体的形成来介导, 因此这些二聚体成为药物发现的重要目标。NanoBRET® TE Intracellular RAF Dimer Assays 可以用来检测化合物在活细胞中对 RAF 激酶的亲和力和部分占有率。

检测原理

该测定依赖于 NanoBRET® TE 技术, 这是一种生物发光共振能量转移 (BRET) 方法, 使用萤光素酶作为能量供体和细胞通透性的 NanoBRET®TE tracer 作为能量受体。与采用了融合了 NanoLuc® 萤光素酶的靶蛋白作为 BRET 供体不同, NanoBRET® TE Intracellular RAF Dimer Assays 采用了 NanoLuc® 二元技术 (NanoLuc® Binary Technology, NanoBiT), 从而能够在 RAF 二聚体上实现细胞内靶标结合度的测定。



技术优势

- 检测二聚体形式的 RAF 激酶的细胞内化合物亲和力和占有率;
- 检测全长 ARAF、BRAF 和 CRAF 在活细胞中的化合物亲和力和占有率;
- 评估 RAF 同源二聚体 (BRAF 和 CRAF) 或 RAF 异源二聚体 (ARAF、BRAF 和 CRAF) 中 RAF 单体的靶标结合情况;
- 方便即用的检测方法, 采用简单的 “添加 - 读取” 的工作流程;
- 可进行 10,000 次检测的示踪剂 K-4 (N2540) 和 K-10 (N2840) 检测试剂盒可分别与 RAF 二聚体检测试剂盒 BC 和 A 配合使用。

订购信息

产品	规格	目录号
NanoBRET® TE Intracellular RAF Dimer Assay, BC	100 assays	N8014
NanoBRET® TE Intracellular RAF Dimer Assay, BC	1,000 assays	N8015
NanoBRET® TE Intracellular RAF Dimer Assay, A	100 assays	N8016
NanoBRET® TE Intracellular RAF Dimer Assay, A	1,000 assays	N8017
SmBiT(q)-ARAF Fusion Vector	20µg	NV4861
BRAF-SmBiT(q) Fusion Vector	20µg	NV4871
BRAF-LgBiT Fusion Vector	20µg	NV4881
CRAF-SmBiT(q) Fusion Vector	20µg	NV4891
CRAF-LgBiT Fusion Vector	20µg	NV4901
BRAF(A481F)-LgBiT Fusion Vector	20µg	NV4911
BRAF(A481F)-SmBiT(q) Fusion Vector	20µg	NV4921
CRAF(A373F)-LgBiT Fusion Vector	20µg	NV4931
KRAS(G12C) Expression Vector	20µg	NV4941

GPCRs 靶点相关药物检测系统

订购信息

分类	靶点	产品	规格	目录号
ADORA Family	ADORA1, ADORA3, ADORA2A, ADORA2B	NanoBRET® TE GPCR Kit, G-1, 1K	1,000 assays	
Opioid Family	OPRD1, OPRK1, OPRM1	NanoBRET® TE GPCR Tracer G-2	each	
alpha-Adrenergic; Dopamine; Histamine; & Serotonin Families	ADRA1A, ADRA2B, ADRA2C; DRD1, DRD2, DRD3, DRD4, DRD5; HRH1; HTR1B, HTR1F, HTR2A, HTR2C, HTR6	NanoBRET® TE GPCR Tracer G-4	each	购买请咨询 Promega
	ADRA1A, ADRA1B, ADRA2A, ADRA2B; DRD1, DRD2, DRD3, DRD4, DRD5; HRH1; HTR1A, HTR1B, HTR1F	NanoBRET® TE GPCR Tracer G-5	each	

	靶点	产品	规格	目录号
融合载体	ADORA2A	HiBiT-ADORA2A fusion vector	20ug	购买请咨询 Promega
	OPRK1	HiBiT-OPRK1 fusion vector	20ug	
	Histamine H2	HiBiT-Histamine H2 fusion vector	20ug	
	HTR2A	HiBiT-HTR2A fusion vector	20ug	
	HTR7	HiBiT-HTR7 fusion vector	20ug	
	CHRM1	HiBiT-CHRM1 fusion vector	20ug	

HEAT SHOCK PROTEIN (HSP) 靶点相关药物检测系统

订购信息

靶点	产品	规格	目录号
HSP90AB1	NanoBRET® TE HSP90 kit, 1K	1,000 assays	购买请咨询 Promega
HSP90AB1	NanoBRET® TE HSP90 kit, 10K	10,000 assays	
HSP90AB1	NanoLuc®-HSP90AB1 fusion vector	20ug	

自行设计 NanoBRET[®] TE 检测系统

您可以根据您的实验需求，自行设计建立针对您所研究的专属靶标的检测系统。

自行设计 NANO BRET® TE 检测系统

NanoBRET® TE “DIY” Reagents

Promega 提供多种商品化检测平台，同时您可以根据您的实验需求，自行设计建立针对您所研究的专属靶标的检测系统。包含以下三个关键步骤：

- ① 制备不同的荧光 NanoBRET® Tracer，适配相应 Linker 用于结合你的目标蛋白
- ② 构建 NanoLuc®-目标蛋白融合载体，包括 NanoLuc® 荧光素酶在 N 端和 C 端
- ③ 使用 NanoBRET® TE assay 检测试剂评估 Tracer 的亲合力，渗透性和检测窗口

开发这些 DIY 分析所需的方法详细说明和订购相关物料，请扫描下方二维码或点击链接：

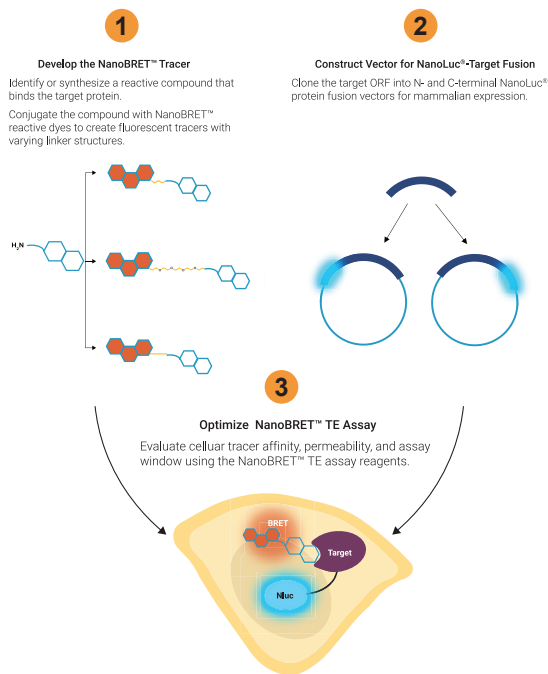
Systems Chemical Biology chapter.



操作流程



订购产品



订购信息

产品	规格	目录号
NanoBRET® Dyes 用于开发 tracer		
NanoBRET® 590 SE	5mg	N5000
	25mg	N5001
NanoBRET® 590 C4 SE	5mg	N5300
	25mg	N5301
NanoBRET® 590 PEG(O4) SE	5mg	N5200
NanoBRET® 590 C3 Azide	5mg	N5100
NanoBRET® 590 SE Bundle	3 x 5mg	N5201
NanoBRET® 618 TFP (Tetrafluoryl Phenyl)	5mg	购买请咨询 Promega
NanoBRET® 590 Carboxylic Acid	5mg	
NanoLuc® Cloning Vectors		
NanoLuc® Protein Fusion Flexi® Vectors	20µg	N1311,N1321.N1331,N1341
NanoLuc® Protein Fusion MCS Vectors	20µg	N1351,N1361

NanoBRET[®] TE 相关资源



NanoBRET[®] TE 技术介绍

包含 NanoBRET[®] TE 原理简介, 相关产品, 技术文章, 技术讲座等。



NanoBRET[®] TE 激酶产品选择列表

可以查询您感兴趣的激酶融合表达载体, 查询适用 tracer 及 Application note 等。



NanoBRET[®] TE 技术讲座

NanoBRET[®] TE 技术介绍在药物研发中的应用如滞留时间的检测等。



激酶活性生化检测解决方案

应用 Promega 专利的生物发光检测技术, 提供基于检测纯化激酶反应中产生的 ADP 来进行体外激酶活性检测和相关药物研发的解决方案。

[www.promega.com.cn/products/cell-signaling/
kinase-target-engagemen](http://www.promega.com.cn/products/cell-signaling/kinase-target-engagemen)



关注 Promega 微信公众号



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: 2024.10