

## &lt;お客様向け情報&gt;

**タイトル : #1 High Throughput Kinase Inhibitor Profiling in Live Cells with NanoBRET™ Target Engagement K192 Kinase Selectivity System****概要 : 生細胞でのキナーゼ阻害剤のハイスループット プロファイリング**

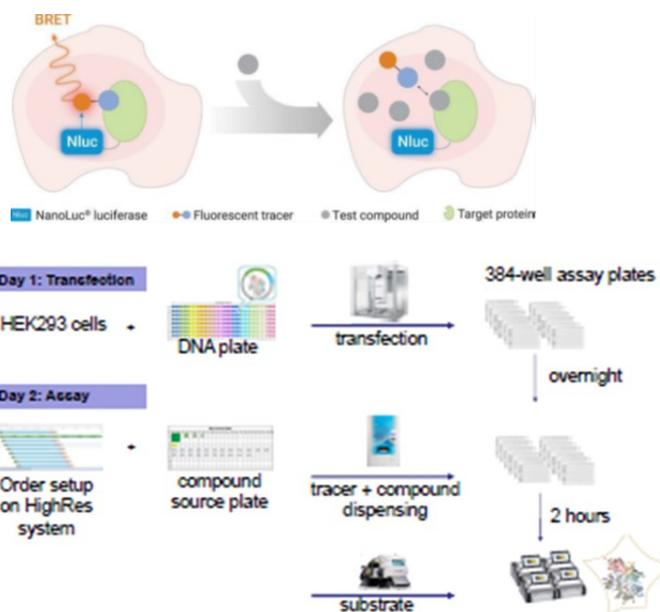
キナーゼ阻害剤の開発においては、特異性やオフターゲットの強さを理解することが重要です。

プロメガでは NanoBRET™ Target Engagement K192 Kinase Selectivity System という、192 種類のキナーゼに対して生細胞で評価可能なパネルを既に提供しています。

本ポスターでは、自動化システム構築による、パネルのハイスループット化について概要を述べています。

**システム概要**

- ✓ **384 well plate フォーマット**
- ✓ **100 plates/day の処理能力の自動化システム構築**  
(全キナーゼに対してトレーサー濃度の再最適化およびアッセイ性能の確認済み)
- ✓ **デフォルトで Duplicate の データを取得**
- ✓ **プロメガの TRS によるサポートが受けられる特典つき**



本サービスをご利用になりたい場合は、お問合せください。

**関連製品・サービス**

NanoBRET TE Intracellular Kinase Assay #N2500

NanoBRET™ TE Intracellular Kinome-Wide Profiling Service (K192)

※カルナバイオ社によるサービス

**タイトル : #2 Exploring the Landscape of PARP Inhibitor Selectivity in Live Cells Using NanoBRET™ Target Engagement Assays**

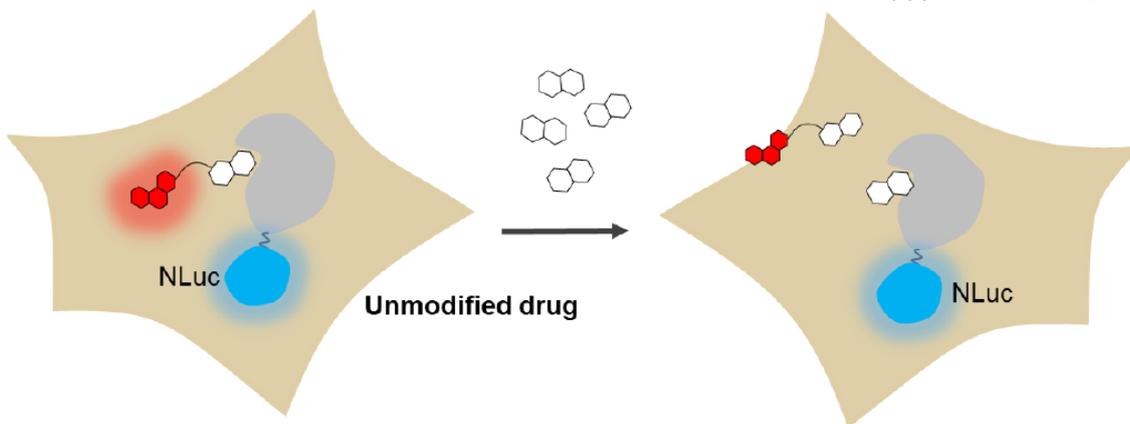
**概要 : 生細胞における PARP 阻害剤選択性評価**

17種のPARP(poly ADP-ribose polymerase)ファミリータンパク質は、遺伝子転写やDNA修復などに関わり、幅広い疾患に関係しています。

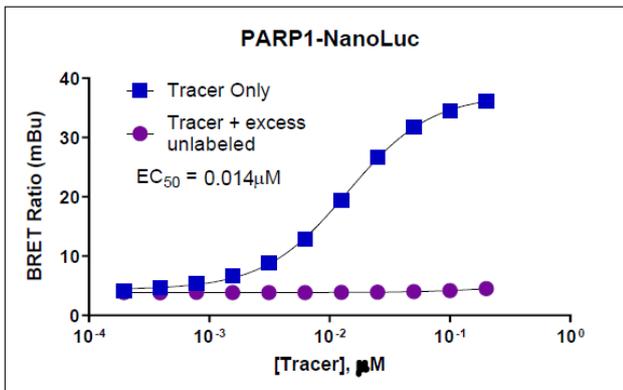
PARP1/2の研究は特に進んでいる一方、いくつかのPARPについては基質や阻害剤などの一般的な情報もあまり研究されていません。

本ポスターでは、PARP阻害剤の特異性や親和性を評価可能な、NanoBRET技術を用いた新規ターゲットエンゲージメント(TE)法を紹介しています。

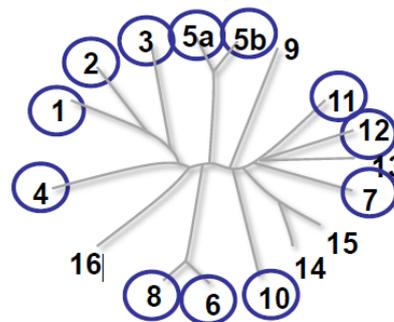
NanoBRETは物理的な結合をモニタリングするため、タンパク質の機能が不明でも評価可能という利点があります。



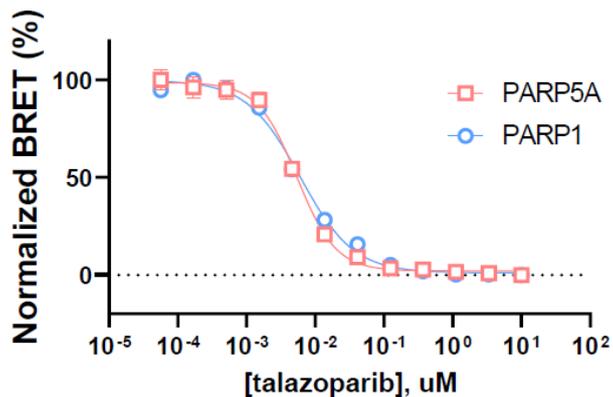
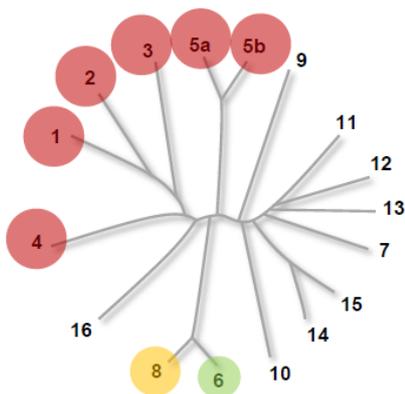
Pan-PARP NanoBRET tracer を用いて広範囲の PARP に対応した TE システムを構築しました。



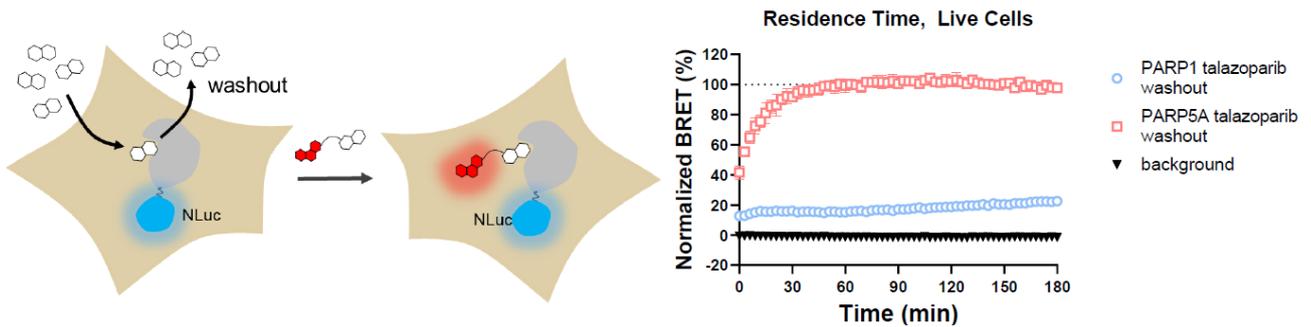
**Tracer Coverage in live cells**



一例として PARP1 阻害剤を調べたところ、他の PARP にも広く結合するものもあることが判明しました。



また、結合の強さは、Drug との競合速度を測定することにより評価することが可能です。



PARP NanoBRET™ Target Engagement Assays は Early Access Materials としてご使用可能です。  
ご興味のある方はぜひお問い合わせください。

## 関連製品

PARP NanoBRET™ Target Engagement Assays

<https://www.promega.jp/products/cell-signaling/parp-nanobret-target-engagement-assays/>

**タイトル : #3 NanoBRET Approach for Characterizing the Impact of RAS Pathway Inhibitors on Protein Interactions in Live Cells**

**概要 : がんのターゲット遺伝子 RAS 下流タンパク質でおきる、タンパク質間相互作用の NanoBRET 解析**

がん化過程では、変異活性化型 RAS ファミリー によるシグナル伝達の異常がおこります。

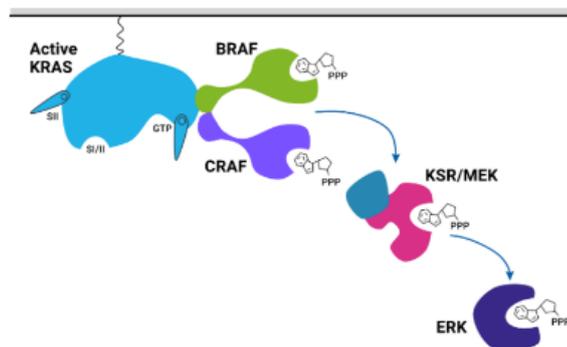
このため RAS は創薬研究のターゲットですが、薬剤の効果を測る適切な方法が必要となります。

プロメガでは RAS 下流経路のタンパク質相互作用 (PPI) によるシグナル伝達の各ステップを、

NanoBRET テクノロジーにより効率よく観察可能としました。

生細胞内で行えることができ、実際の細胞内環境での効果を測定できます。

Protein Interaction Targets along the RAS-RAF-MEK-ERK Pathway



ポスターでは KRAS についての測定例を主に紹介しています。

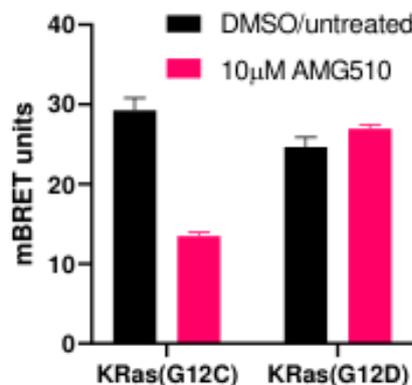
- ① KRAS 阻害剤による、KRAS:CRAF PPI などの阻害
- ② KRAS:SOS や BRAF:MEK の PPI
- ③ 「Ready-to-Use の細胞」を利用したアッセイ
- ④ KRAS をターゲットにする PROTAC 開発での有用性

**製品**

現状で各種の先行販売の特注品となっております。

詳細はお問い合わせください。

Specificity of AMG510 for KRas(G12C) with CRAF-RBD

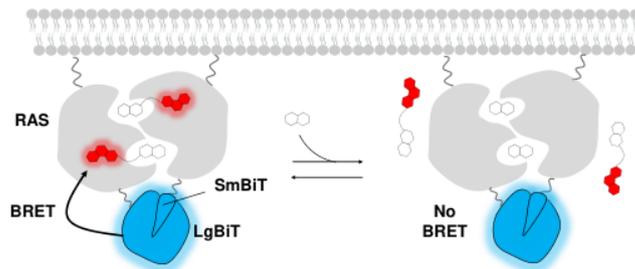


**タイトル : #4 Reversible Switch-II Pocket Engagement Across KRAS Hotspot Mutants in Cells**

**概要 : がんの最重要ターゲット KRAS 阻害剤の NanoBRET RAS TE による探索アッセイ**

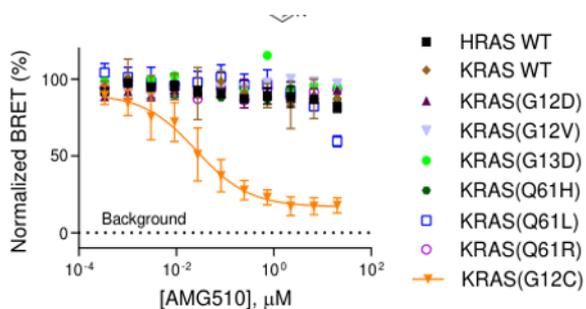
RAS に使用可能な新しいトレーサーが利用可能となりました (上図)。

ここで BRET ドナーシグナルには RAS-RAS の結合による、NanoBiT 発光を用いており、膜表面上で 2 量体化した RAS のみが実験対象になるメリットがあります。



この Pan-RAS Tracer は、Switch I/II (SI/II) ポケットに可逆的に結合をすることで、Switch II ポケットへ共有結合する薬剤も BRET 反応の変化で測定できる仕組みです。これにより、細胞内での変異体毎の阻害剤特異性をみる事が可能です (下図)。

併せて下流シグナル解析には、NanoBRET PPI (別ポスター) や pERK の減少を確認するのに Lumit も活用できます。



**製品**

現状で各種の先行販売の特注品となっております。詳細はお問い合わせください。

## タイトル : #5 Adaption of Lumit p-STAT3 Cellular Immunoassay to high-throughput screening format for identification of JAK\_STAT pathway antagonists

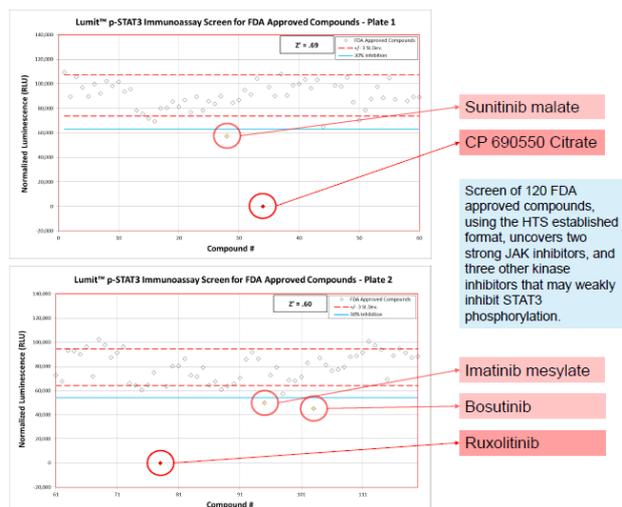
### 概要 : Lumit Cellular Immunoassay を活用した JAK/STAT 阻害剤スクリーニング例

Lumit テクノロジーは、NanoBiT® 相補システムをベースにした高感度で高精度なイムノアッセイです。Lumit Cellular Immunoassay では洗浄ステップのないシンプルな "添加 - 混合 - 測定" プロトコルで細胞ライセート中の標的タンパク質などの測定を行うことができます。Lumit テクノロジーの詳細につきましては、こちらをご覧ください<[リンク](#)>

本ポスターでは、96well 並び 384well プレートでのスクリーニングを想定した Z'-factor の検討を実施しています。

特に 384well プレートでは、抗体濃度を下げることによってバックグラウンドレベルの発光値が低下し、アッセイウィンドウが広がったことを示しています。

リン酸化 STAT3 に対する Lumit Cellular Immunoassay において、120 種の FDA approved compounds でアッセイを行い、既知の JAK 阻害剤を見出すことができています (右図)。



プロメガ内で検証済みのターゲット・抗体について HP 上で公開しております。合わせてご覧ください<[リンク](#)>

### 製品例

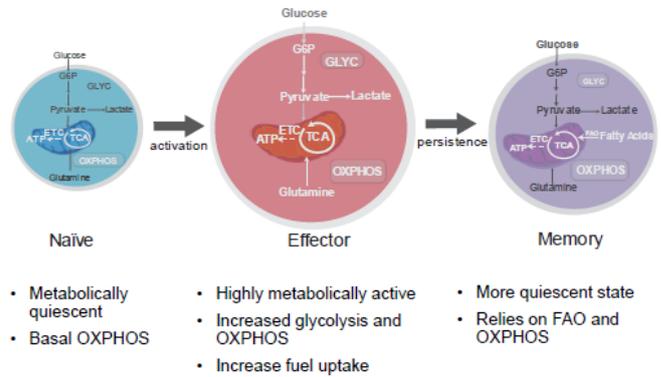
Lumit™ Immunoassay Cellular Systems # W1201, W1331,  
Lumit™ Immunoassay Cellular Systems—Complete Assays \* 先行販売品 \* お問い合わせ下さい。

タイトル : #6 Cell-based metabolic profiling assays for cell therapy

概要 : 細胞療法に向けた、細胞内代謝の発光プロファイリング

T細胞は分化段階に応じて、異なる細胞内代謝機構を使っていることが明らかになっています (右図)

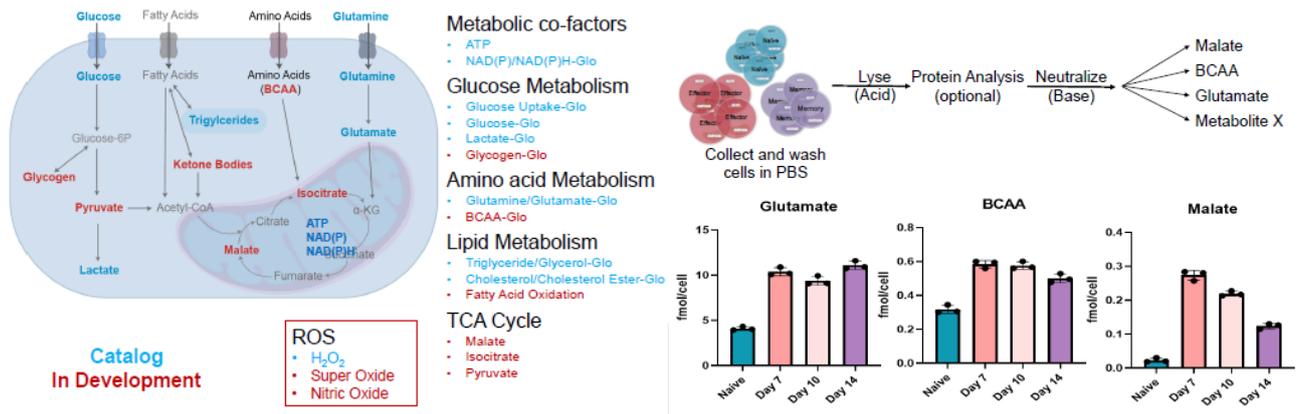
T細胞の自己複製能や機能も、細胞内代謝と密接にかかわっており、CAR-T細胞療法や個別化T細胞療法の研究開発を行っていく際に、細胞内の代謝状況を把握することは非常に重要です。



プロメガでは NAD(P)H を標的とした発光測定を発展させ、種々の代謝物・栄養因子などを高感度・迅速・簡便に測定する系を構築してきました (下左図)。

本ポスターでは、この発光系を活用し、細胞内並びに細胞外の代謝産物の測定や各経路のデヒドロゲナーゼ活性の評価を行っています。

また、下右図では 1 例として、細胞内の Glutamate、BCAA、Malate の測定事例を示しています。



プロメガの発光測定法を活用することで、細胞の代謝状況の変化・代謝プロファイルを評価することが可能となります。

製品例

細胞エネルギー代謝アッセイの HP <[リンク](#)> もしくは、セルベースアッセイガイド <[リンク](#)> をご覧下さい。

\* 先行販売品もございます。お問合せ下さい。



## SLAS2023 プロメガポスター概要

05/09/2023