

HTRF 应用

HTRF 的优势

HTRF 是不需要洗涤的 ELISA。其优势如下：

- 操作非常简单
- 体系非常稳定
- 反映样品的实际情况，假阳性假阴性率低，可去除由于天热产物自发荧光引起的背景

HTRF 原理

HTRF 技术基于时间分辨荧光（TRF）和荧光共振能量转移（FRET）两大技术原理

时间分辨荧光（TRF） TRF 利用稀土元素中镧系元素的独特性质。它们与普通荧光的主要区别是荧光的持续时间不同。普通荧光的半衰期为纳秒级，镧系元素的半衰期是毫秒级，有 6 个数量级的差别。所以，在检测时，TRF 有一个时间延迟---50 微秒。经过这个时间延迟，普通荧光的信号几乎为零。所以，TRF 的背景非常低，反映样品的实际情况。

荧光共振能量转移（FRET） FRET 技术利用了两种荧光基团的能量转移，这两种荧光基团分别称为能量供体（Donor）和能量受体（Acceptor）。Donor 被外来光源激发（例如氙灯或激光），如果它与 Acceptor 比较接近，可以将能量共振转移到 Acceptor 上，使其受到激发，发出特定波长的发射光。

将 Donor 和 Acceptor 分别与相互作用的两个生物分子结合，生物分子的结合可以将 Donor 和 Acceptor 拉到足够近的距离，产生能量转移。由于 Acceptor 的发射光来自于能量转移，所以在实验中不需要将未结合与已结合的分子分开，即不需要洗涤步骤。

HTRF 的能量供体

HTRF 的能量供体是铕（Eu）和铽（Tb）的穴状化合物。在这个穴状化合物里，Eu 和 Tb 被永久地嵌合在一个笼子里，结构非常稳定。这个结构是由 J.M. Lehn's 教授发明的，并由此在 1987 年获得了诺贝尔奖。

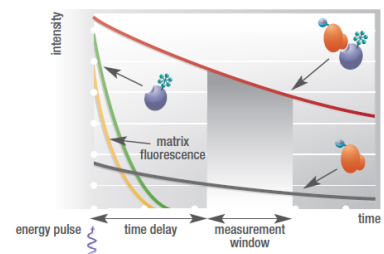


图 1：时间分辨荧光技术原理

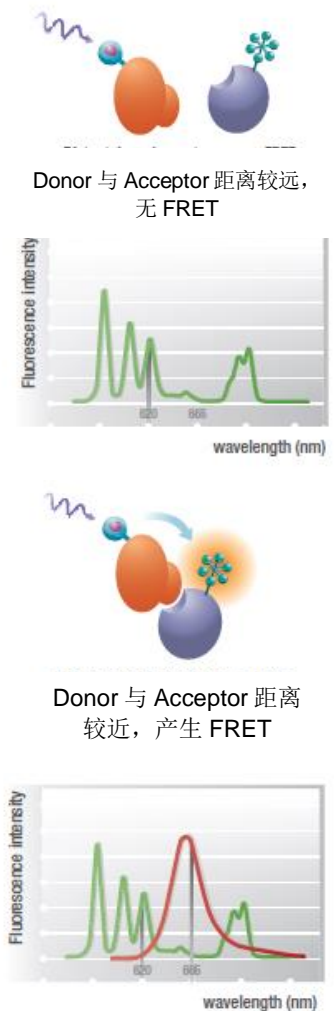


图 2：荧光共振能量转移技术原理

HTRF 的能量受体

HTRF 的能量受体也有两种，XL665 和 d2。它们的光学性质相同，分子量不同。前者分子量为 105 KD，实际上就是别藻蓝蛋白（APC）。我们将 APC 的亚基偶联在一起，使其不能解离，提高了稳定性。后者分子量为 1 KD，在某些实验中有独特的优势。

HTRF 的操作步骤

HTRF 的操作步骤非常简单，只需要将实验所需试剂加进去，然后孵育、检测即可，如图 4 所示。

HTRF 的数据分析

HTRF 采用了比值法来处理数据，可以去除由于溶液通透率、细胞大小、细胞数量不同引起的误差。如图 5 所示，由于溶液通透率不同导致的读数不同，如果不用比值法，则会得出错误的结论。

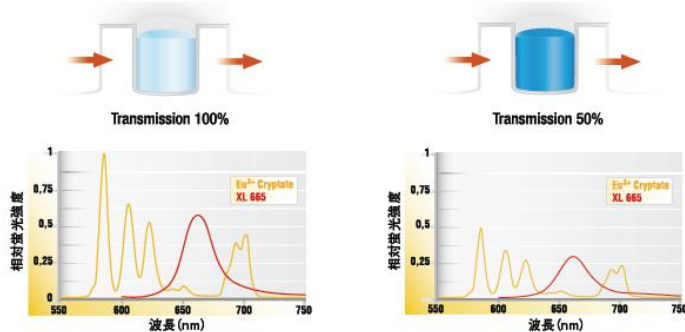


图 5: HTRF 比值法数据分析可去除样品干扰

HTRF 的应用范围

G 蛋白偶联受体研究：受体第二信使检测 受体配体结合 胞内信号分子检测

激酶活性检测：胞外激酶活性检测 胞内激酶活性检测

生物标志物检测：基于抗体的夹心法和竞争法检测

抗体检测：抗体重链含量测定、抗体轻链含量测定

生物过程分析：GST 含量测定、HIS 含量测定、CHO 宿主蛋白含量测定

免疫过程分析：CD16 结合检测、CD32 结合检测、CD64 结合检测

相互作用分析：蛋白-蛋白、蛋白-多肽、蛋白-DNA、蛋白-RNA

蛋白修饰：蛋白甲基化、蛋白乙酰化、蛋白泛素化、蛋白水解

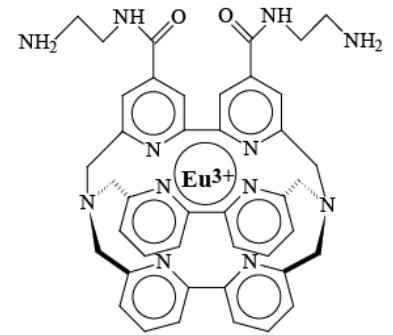


图3: 穴状化合物的结构

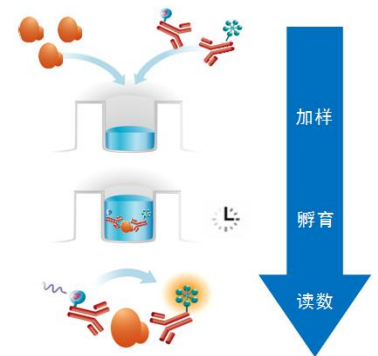


图 4: HTRF 的操作步骤

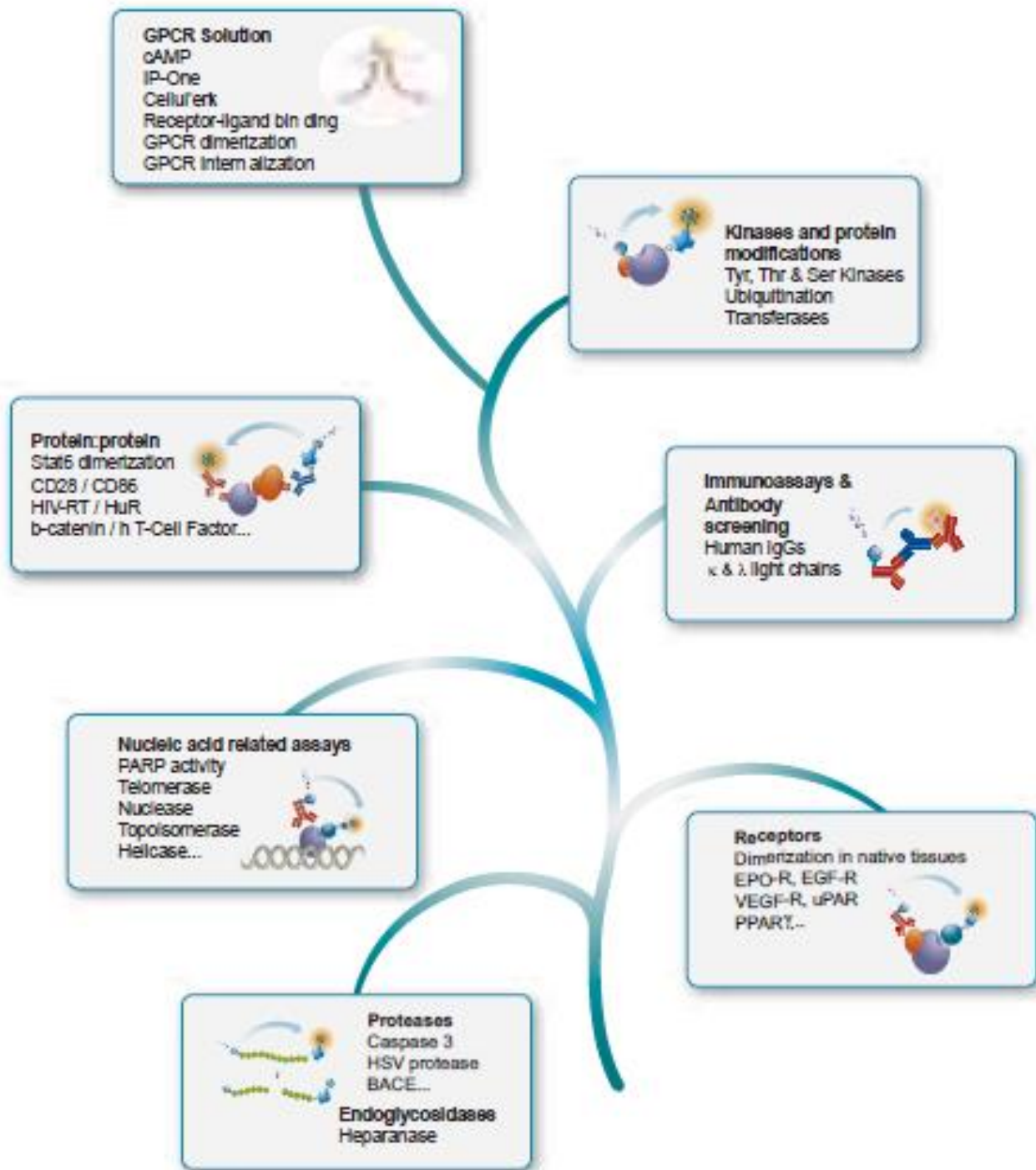


图 6: HTRF 的应用范围

应用产品列表

	试剂盒	应用
激酶 (Kinase)	STK	1, 丝氨酸, 苏氨酸激酶活性检测 2, 抑制剂或激动剂的筛选
	TK	1, 酪氨酸激酶活性检测 2, 抑制剂或激动剂的筛选
	ADP Transcreener	激酶, ATP酶活性检测, 以及反应中生成ADP的定量
G蛋白偶联受体 (GPCR)	cAMP	1, Gs, Gi类受体激动剂和拮抗剂的筛选 2, PDE酶活性的检测 3, 腺苷酸环化酶活性检测 4, 受体活性检测
	IP-One	1, Gq类受体活性检测 2, 受体激动剂和拮抗剂, 别构调节剂以及反向激动剂筛选 3, 缓慢激动剂的检测
	IP-One Elisa	针对科研用户推出的传统的Elisa方法 1, PLC相关受体的活性检测 2, 验证GPCR功能
	Tag-lite	1, 替代同位素做受体配体结合试验 2, 受体的二聚化试验
磷酸化蛋白	pERK	1, AKT/MAPK通路研究 2, 细胞表面受体研究
	pAKT	1, AKT/MAPK通路研究 2, 细胞表面受体研究
生物标记物 (Kinase)	Amyloid beta1-40	1, Amyloid beta1-40 peptide定量 2, 分泌酶活性检测
	Apo A1	1, 载脂蛋白 A1定量 2, 核受体活性检测
	Apo B	1, 载脂蛋白 B定量 2, 核受体活性检测
	cGMP	1, cGMP定量 2, PDE酶活性检测 3, 鸟苷酸环化酶活性检测 4, 受体活性检测
	Cortisol	1, Cortisol 定量 2, 11 β -HSD1 活性检测
	Estradiol	1, Estradiol 定量 2, 17 β -HSD1活性检测
	Histamine	Histamine定量
	Insulin	Insulin定量
	PGE2	PGE2定量
	Sirt1	Sirt1酶活性检测
抗体定量	Total IgG	1, IgG定量 2, 带Fc标签蛋白定量 3, 人源化抗体筛选 4, 抗体生产时的质控
	Kappa Mab	1, 含kappa轻链抗体的定量 2, 抗体生产时的质控
	Lamda Mab	1, 含Lamda轻链抗体的定量 2, 抗体生产时的质控

HTRF 检测的仪器

Cisbio 与几乎所有的仪器供应商都建立了合作伙伴关系，下面是经过验证的仪器列表。所有这些仪器都标有“HTRF®”的标志。

BMG LABTECH	TECAN	Molecular Devices	BioTek	BERTHOLD TECHNOLOGIES
PHERAstar FS PHERAstar Plus PHERAstar FLUOstar Omega POLARstar Omega RUBYstar	Infinite F200 Pro Infinite M1000 Infinite F500 Ultra/evolution GENios Pro Safire ²	Spectramax Paradigm Spectramax M5e FlexStation 3 Analyst AD, HT & GT	Synergy H1 Synergy H4 Synergy 4 Synergy 2	Mithras LB 940 Artemis 101

用于 HTRF 检测的微孔板

公司	产品描述	实验体积	产品处理方式	产品货号
Greiner	96-w	160-200 µL	White - TC* - sterile	655083
Greiner	96-w	160-200 µL	Black	655209
Greiner	96-w	160-200 µL	Black - TC* - sterile	655086
Greiner	96-w	160-200 µL	Black - TC* - sterile	655079
Greiner	96-w	160-200 µL	White - TC* - sterile	655073
Greiner	384-w	80-100 µL	Black - TC* - sterile	781086
Greiner	384-w	80-100 µL	Black - TC* - sterile	781079
Greiner	384-w	80-100 µL	White - TC* - sterile	781073
Greiner	384-w	80-100 µL	Black	781209
Greiner	384-w	80-100 µL	White - TC* - sterile	781080
Greiner	384-w low-volume	15-20 µL	White - TC* - sterile	784080
Greiner	1536-w	5-10 µL	White	783075
Greiner	1536-w	5-10 µL	Black	783076
Greiner	1536-w	5-10 µL	White - TC* - sterile	782080
Greiner	1536-w	5-10 µL	Black - TC* - sterile	782086
Greiner	1536-w	5-10 µL	White - TC* - sterile	782078
Greiner	1536-w	5-10 µL	Black, sterile	782092
Greiner	1536-w	5-10 µL	White, sterile	782073
Greiner	1536-w	5-10 µL	White - TC* - sterile	782093
Corning	96-w	160-200 µL	Black, NT	3915
Corning	96-w	160-200 µL	White, NT	3912
Corning	96-w half-area	80-100 µL	Black, NT	3694
Corning	96-w half-area	80-100 µL	White, NT	3693
Corning	384-w	80-100 µL	Black, NT	3573
Molecular Devices	96-w half area and half-volume	30-40 µL	Black, NT	42-000-0117
.....				

G 蛋白偶联受体功能性检测

HTRF 技术可用来进行第二信使检测、胞内信号分子检测和受体配体结合检测方案，从而从全方位帮助您进行 G 蛋白偶联受体的研究。

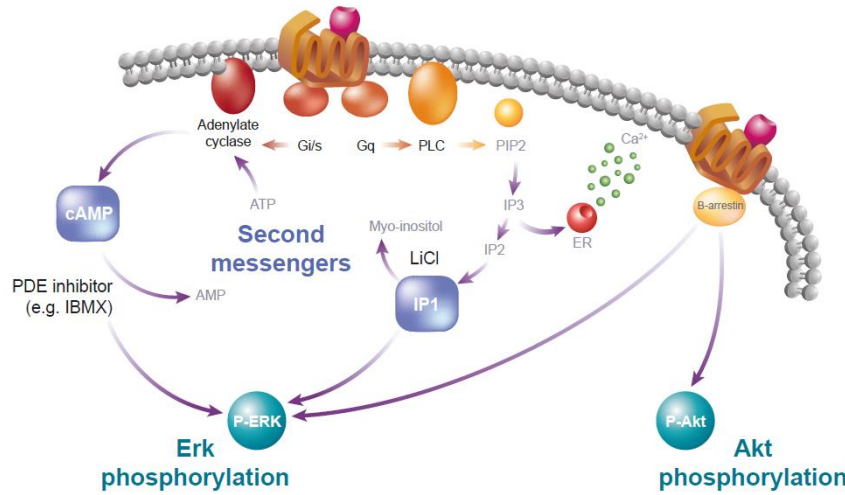


图 7: G 蛋白偶联受体功能性检测

cAMP 检测

Cisbio 提供四个试剂盒进行 cAMP 检测，分别针对不同的灵敏度和线性范围，其检测原理均基于竞争法。试剂盒中有 Eu 标记的 cAMP 抗体和 d2 标记的 cAMP，抗体可以识别 cAMP，使 Eu 与 d2 接近。Eu 受到激发后，其能量可以共振转移到 d2 上，产生信号。当细胞中有 cAMP 产生时，其与 d2 标记的 cAMP 竞争抗体结合位点，使后者与 Eu 标记的抗体距离增大，不能产生能量转移，信号下降。

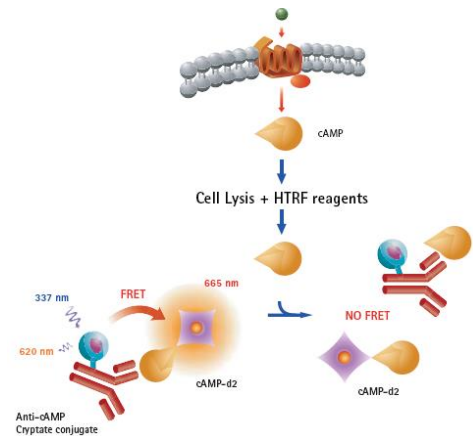


图 8: cAMP 的检测原理

四个试剂盒的比较

	Cryptate	S/B	EC20 nM*	EC50 nM*	EC80 nM*
cAMP femto 2 Kit	Eu ³⁺	10	0.33	1.76	9.4
cAMP femto Tb Kit	Tb ²⁺	10	0.33	1.76	9.4
cAMP dynamic 2 Kit	Eu ³⁺	18	0.91	4.07	18.1
cAMP HiRange Kit	Eu ³⁺	41	4.27	22.8	121

* final cAMP concentration

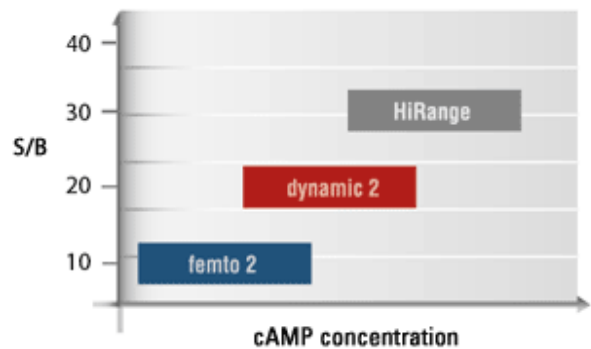


图 9: cAMP 试剂盒的比较

cAMP dynamic 2 拥有较高的检测灵敏度和比较大的线性范围，适合于大多数 Gi/s 实验

cAMP 操作步骤

试剂盒操作步骤非常简单，只需要将细胞处理完毕，然后加入 d2 标记的 cAMP 和铕标记的抗体即可。

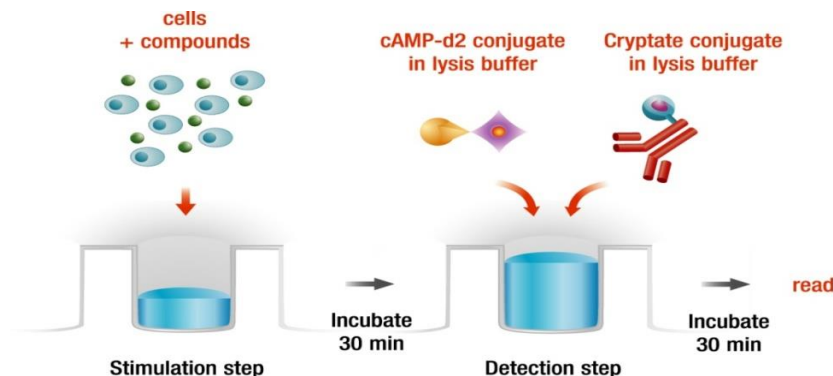


图 10: cAMP 操作步骤

订购信息

产品名称	产品规格	产品货号
cAMP dynamic 2	1,000 tests	62AM4PEB
	20,000 tests	62AM4PEC
	100,000 tests	62AM4PEJ
cAMP femto 2	1,000 tests	62AM5PEB
	20,000 tests	62AM5PEC
	100,000 tests	62AM5PEJ
cAMP HiRange	1,000 tests	62AM6PEB
	20,000 tests	62AM6PEC
	100,000 tests	62AM6PEJ
cAMP femto Tb	1,000 tests	62AM7PEB
	20,000 tests	62AM7PEC
	100,000 tests	62AM7PEJ

IP-One 检测

IP-One 试剂盒是钙流检测方法的替代解决方案。钙流反应非常快，需要加样之后马上检测，所以需要配备自动加样的仪器才能检测。而且，钙流检测只能针对与受体快速结合并发挥作用的化合物，不适合反应较慢的化合物。IP-One 可以非常好地弥补上述缺憾。

IP-One 检测反映的是第二信使 IP3 的含量。当样品中加入 LiCl 后，IP-One 不再代谢，而是蓄积在细胞内。试剂盒基于竞争法，其中含

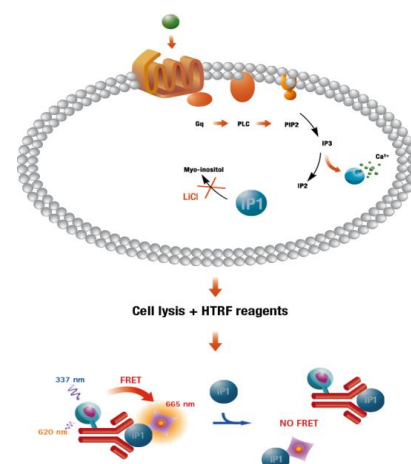


图 11: IP-One 操作步骤

有 Tb 标记的抗 IP1 单抗和 d2 标记的 IP1。细胞所产生的 IP1 和试剂盒所提供的标记了 d2 的 IP1 竞争抗 IP1 抗体的抗原结合位点。当 Tb 标记的抗 IP1 抗体与 d2 标记的 IP1 结合后，会发生能量共振转移，产生比较大的信号。随着细胞内产生的 IP1 增多，游离的 IP1 与抗体结合增多，信号逐渐减少。

IP-One 操作步骤

整个实验过程非常简单，只需要将细胞处理完毕，加入 d2 标记的 IP1 和 Tb 标记的抗 IP1 抗体，检测即可。可以用新鲜培养的细胞，也可以用冷冻细胞。

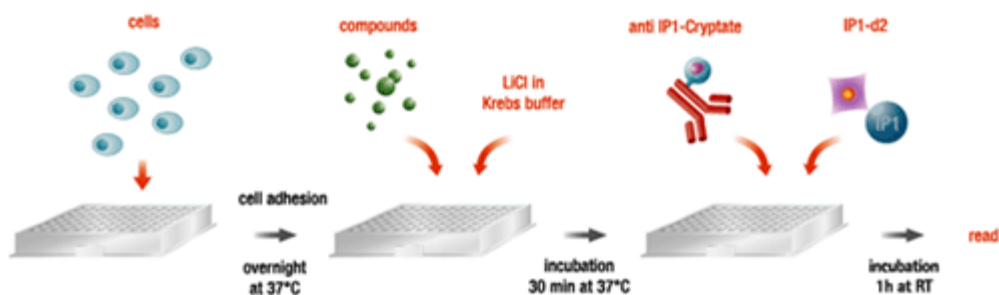


图 12: IP-One 操作步骤

订购信息

产品名称	产品规格	产品货号
IP-One Tb kit	1,000 tests	62IPAPEB
	20,000 tests	62IPAPEC
	100,000 tests	62IPAPEJ
IP-One ELISA	96 tests	72IP1PEA
	96*5 tests	72IP1PED

磷酸化 ERK1/2 的检测

ERK1/2 是 G 蛋白偶联受体所有信号的会聚点，所以可以用磷酸化 ERK 含量的变化来反应 G 蛋白偶联受体是否被活化或者抑制。

磷酸化 ERK1/2 检测是基于双抗体夹心法的原理。在试剂盒中含有两个抗体，一个抗体是抗磷酸化 ERK1/2 的抗体，标记 d2；另一个抗体是抗 ERK1/2 其它位点的抗体，标记 Eu，如图 13 所示。

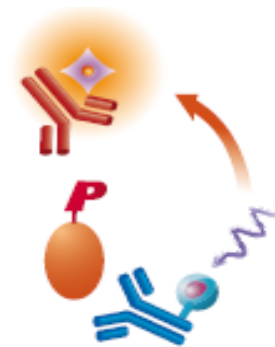


图 13: 磷酸化 ERK1/2 的检测原理

磷酸化 ERK1/2 操作步骤

实验时，将细胞处理完毕，然后裂解细胞。将裂解转移到新的微孔板中，加入两种抗体混匀，室温孵育 2 小时即可进行检测。

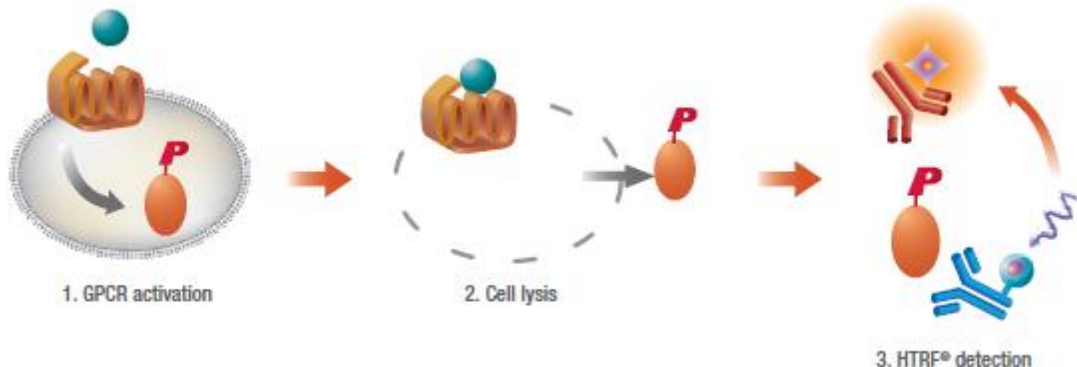


图 14: 磷酸化 ERK1/2 操作步骤

订购信息

产品名称	产品规格	产品货号
	500 tests	64ERKPEG
Cellul'erk	10,000 tests	64ERKPEH
	50,000 tests	64ERKPEI

G 蛋白偶联受体结合检测

Tag-lite 技术简介

Tag-lite 是 SANP-Tag 与 HTRF 技术相结合，进行活细胞表面受体分析的一种技术。

SNAP 是具有自我标记功能的酶，可特异地与底物苯甲基鸟嘌呤（BG），通过苯甲基不可逆共价结合。由于底物可与各种染料形成衍生物，这样，通过共价反应，染料就标记到 SANP（图 15）。同时，SNAP 可以非常容易地融合到蛋白质的 N 端或 C 端。通过构建 SNAP 与目标受体的表达载体，将 SNAP 与目标受体共表达至细胞膜表面。然后，加入标记了 Tb 的底物，我们就得到了标记了 Tb 的目标受体。

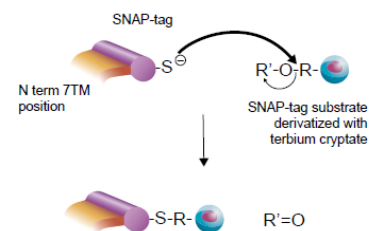


图15: GPCR-SNAP与Tb穴状化合物结合

进行结合实验时，我们加入标记了 d2 的配体。由于配体与受体结合，Tb 与 d2 之间发生能量共振转移，产生 HTRF 信号。化合物如果能够与受体结合，则与 d2 标记的配体竞争，HTRF 信号降低。

受体配体结合实验的操作步骤

首先构建 SNAP 与目标 GPCR 的共转染质粒，然后转染细胞，得到共表达 SNAP 和目标 GPCR 的细胞。加入结合了 Tb 的 SNAP 底物，37°C 孵育 1 小时。SNAP 与底物反应，生成标记了 Tb 的 SNAP，即生成标记了 Tb 的 GPCR 细胞株。进行受体配体结合实验时，加入 d2 标记的配体，受体配体结合，Tb 与 d2 接近，产生 HTRF 信号。

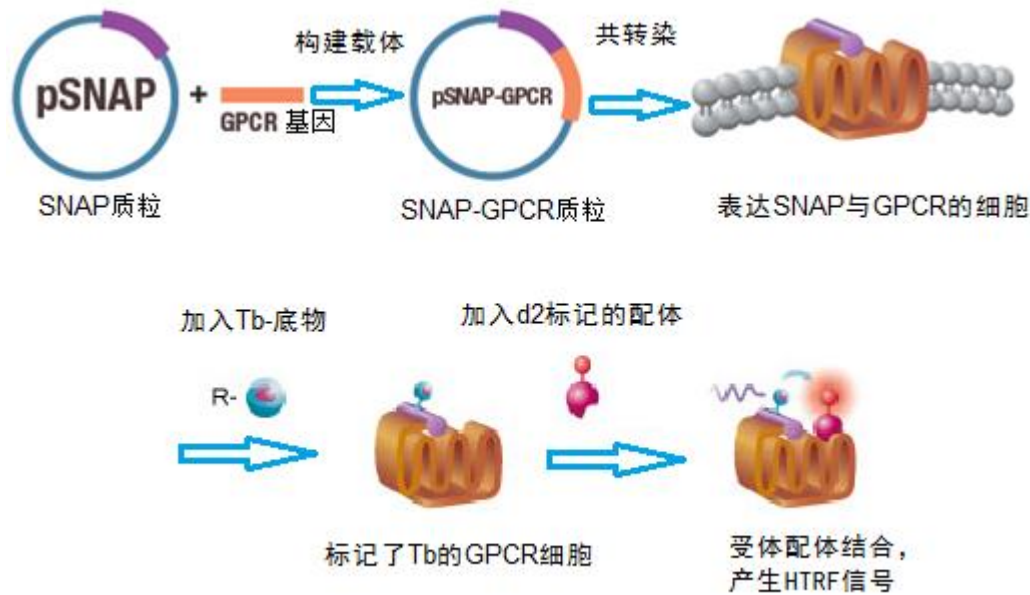


图 16: 受体配体结合实验的实验步骤

Tag-lite 技术的优势

- 无放射性
- 基于活细胞的 GPCR 受体配体结合分析的平台，构建的细胞可用于所有功能性检测
- 采用 HTRF 技术，背景低，操作简单，数据质量高

Tag-lite 技术所需要的实验材料

- 含有 SNAP 的质粒：提供含有信号肽的空质粒或转染了目标受体基因的质粒
- 标记了 Tb 的底物
- 标记了 d2 的配体
- 标记缓冲液

Cisbio 还可提供部分转染了 SNAP 和目标受体的稳转细胞株；转染了 SNAP 和目标受体的稳瞬转细胞株，这部分细胞已经标记了 Tb。具体信息请与相关区域销售人员和技术支持联系。下面列表包括了到目前为止所有的标记配体。

产品货号	标记的配体	受体
L0001RED	Vasopressin receptors red antagonist #2 - 5,000 tests	V2
L0002RED	Dopamine D2 receptor red antagonist - 5,000 tests	D2
L0003RED	Vasopressin receptors red antagonist - 5,000 tests	V1a
L0004RED	VPAC1 receptor red agonist - 5,000 tests	VPAC1
L0005RED	Opioid receptors red antagonist - 5,000 tests	Delta, Kappa, Mu
L0006RED	Melanocortin receptors red agonist - 5,000 tests	M3C, MC4, MC5
L0007RED	Angiotensin receptors red agonist - 5,000 tests	AT1,AT2
L0008RED	NK1 receptor red agonist - 5,000 tests	NK1
L0009RED	NK2 receptor red agonist - 5000 tests	NK2
L0010RED	Alpha adrenergic receptor red antagonist - 5,000 tests	Alpha1A, Alpha 1B
L0011GRE	Beta2 adrenergic receptor green antago - 5000 tests	Beta2
L0012RED	CXCR4 receptor red agonist - 5,000 tests	CXCR4
L0013RED	CCK receptors red agonist - 5,000 tests	CCK1,CCK2
L0014RED	GABAB receptor red antagonist - 5,000 tests	B
L0015GRE	Histamine H1 receptor green inv ago -5,000 tests	H1
L0016RED	Bradykinin B1 receptor red antagonist - 5,000 tests	B1
L0017RED	Bradykinin B2 receptor red antagonist - 5,000 tests	B2
L0018RED	GIP receptor red agonist - 5,000 tests	GIP
L0019RED	Bombesin receptors red agonist - 5,000 tests	BB2
L0020RED	Ghrelin 1A receptor red agonist - 5,000 tests	GHSR1A
L0022RED	Endothelin receptors red agonist - 5,000 tests	ETA, ETB
L0023GRE	beta1	
L0024RED	Chemokine CCL3 receptors red agonist - 5,000 tests	CCR1
L0025RED	Orexin receptors red agonist - 5,000 tests	OX1, OX2
L0026RED	UTR2 receptor red agonist - 5,000 tests	UTR2
L0027RED	PRRP receptor red agonist - 5,000 tests	PRRP
L0028RED	NMU1 receptor red agonist - 5,000 tests	U1
L0029RED	5HT1A receptor red antagonist	5HT1A
L0030RED	GLP1 receptor red agonist - 5,000 tests	GLP1
L0031GRE	Dopamine D1 receptor green antagonist	D1
L0032RED	GAL1	GAL1
L0033RED	PTH receptors red agonist	PTH1

L0034GRE	GCGR	GCGR
L0035GRE	GLP2	GLP2
L0036RED	GNRH receptor red agonist	GnRHR
L0037RED	GPR1 receptor red agonist	GPR1
L0038RED	Bombesin receptors red agonist #2 - 5,000 tests	BB1, BB3
L0039RED	NK3 receptor red agonist	NK3
L0040RED	Muscarinic M1 receptor red agonist	M1, M2, M4
L0041RED	Muscarinic M3 receptor red agonist	M3, M5
L0042RED	Anaphylatoxin receptors red agonist	C5a, C5L2 (GPR77)
L0043RED	5HT4 receptor red agonist	5HT4
L0044RED	AGTRL1	AGTRL1
L0045RED	5HT1B	5HT1B
L0046RED	5HT1D	5HT1D
L0047RED	A1	A1
L0048RED	Adenosine A3 receptor red antagonist	A3
L0049RED	KISS1 receptor red agonist	KISS1
L0050RED	GPR103	GPR103
L0051RED	CXCR1, CXCR2	CXCR1, CXCR2
L0052RED	Histamine H3 receptor red antagonist	H3
L0053RED	EGFR	EGFR
L0057RED	5HT2B	5HT2B
L0058RED	Adenosine A2A red antagonist	A2A
L0059GRE	Beta3 adrenergic receptor green agonist	beta3
L0060RED	OPRL1	OPRL1
L0061RED	MCHR1, MCHR2	MCHR1, MCHR2

胞外激酶检测解决方案

Cisbio 激酶检测，是基于抗体的检测产物生成的解决方案，其特异性各不相同。包括基于 ADP 定量的适用于所有激酶的 ADP Transcreener 检测试剂盒；利用通用底物的经过两百多种激酶验证的 KinEASE 试剂盒；利用特定底物、特异抗体的 HTRF 工具箱解决方案。

这所有的检测方案，操作步骤都是一致的。（1）激酶反应：加入激酶、底物、ATP，室温进行激酶反应；（2）检测步骤：激酶反应完毕，加入能量供体 Eu 和能量受体 XL665/d2 标记试剂，室温孵育 1 小时，读数。

KinEASE TK 试剂盒

KinEASE TK 试剂盒适用于所有酪氨酸激酶的检测。试剂盒提供生物素标记的底物、Eu 标记的磷酸化位点特异性抗体、XL665 标记的亲合素以及缓冲液。激酶将底物磷酸化，Eu-Ab 识别磷酸化底物，XL665-SA 与底物上的生物素结合。Eu 与 XL665 接近，产生 HTRF 信号。

实验步骤 如图 17 所示

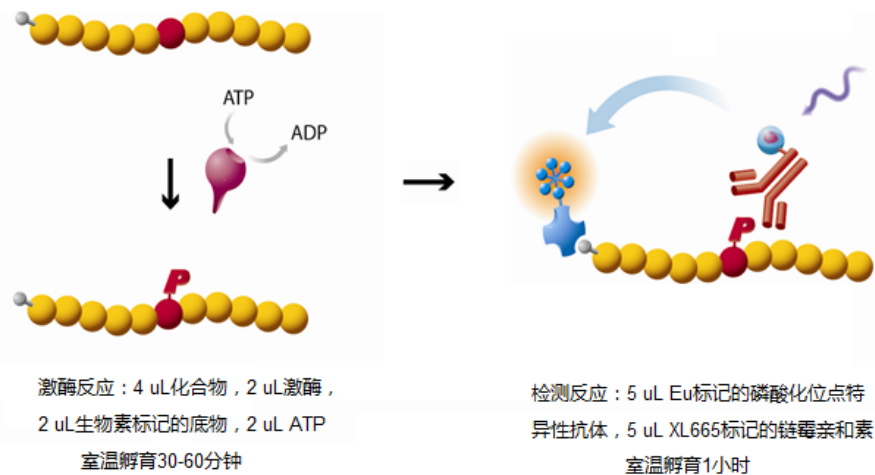


图 17：胞外激酶检测操作步骤

经过验证的激酶列表

Abl	ABL2	ALK	Arg	Axl	Blk	Bmx	BRK	BTK	c-Kit	CSF1R
CSK	c-SRC	DDR2	EGFR	EphA2	EphA3	EphA4	EphA5	EphA7	EphA8	EphB1
EphB2	EphB3	EphB4	ErbB4	FAK	Fer	Fes	FGFR1	FGFR2	FGFR3	FGFR4
Fgr	Flt1	Flt3	Flt4	Fms	Fps	FRK	Fyn	Hck	IGF-1R	INSRR
Insulin R	IRR	ITK	JAK2	JAK3	KDR	Kit	LCK	Lyn	Mer	Met
MST1R	MuSK	NTRK1	NTRK2	PDGFR α	PDGFR β	PYK2	PYK2	PTK5	PTK6	Ret
Ron	Ros	Rse	Src		TEK	Tie2	TRKA	TRKB	TYRO3	VEGFR1
VEGFR2	VEGFR3	Yes	ZAP-70							

订购信息

产品名称	产品规格	产品货号
TK KinEASE Kits	1,000 tests	62TK0PEB
	20,000 tests	62TK0PEC
	100,000 tests	62TK0PEJ

KinEASE STK 试剂盒

KinEASE STK 试剂盒是用来进行丝氨酸/苏氨酸激酶检测的试剂盒。根据激酶的不同，该试剂盒有三个通用底物可供选择，分别为 S1、S2 和 S3，经过验证的激酶有一百多种。对于没有经过验证的激酶，可以用 Discovery 试剂盒确定合适的底物，其中包括了三种底物。试剂盒的检测原理与实验步骤与 KinEASE TK 试剂盒相同。

经过验证的激酶列表

HTRF KinEASE STK S1	AMPK	BrSK2	CAMK1	CaMKII α	CaMKII β	CaMKII δ	CaMKII γ	CaMKIV	CHEK1	CHEK2	CHK1
	CHK2	DAPK1	DAPK2	DAPK3	DCAMK12	DRAK1	LKB1	MAPKAP-K1 α	MAPKAPK1 β	MAPKAP-K2	MAPKAP-K3
	MAPKAPK5	MELK	MLCK	Mnk2	PASK	PHK γ 2	PKC α	PKC β I	PKC β II	PKC δ	PKC ε
	PKC γ	PKC τ	PKC μ	PKC τ	PKC ζ	PKD2	PRAK	PRK2	PRKA	PRKD2	PRKG2
	RPS6KA2	Rsk1	Rsk2	Rsk3	STK22B	STK22D	ZIPK				
HTRF KinEASE STK S2	Aurora A	Aurora B	MARK2	NEK11	PAK2	PAK3	PAK4	PAK5	PAK6	PAR-1B α	PKA
	PKG1 α	PKG1 β	PRKACA	ROCK-I	ROCK-II	ROK α	RPS6KA6	Rsk4	STK6	TBK1	
HTRF KinEASE STK S3	AKT1	AKT2	AKT3	ARI5	ASK1	Aurora C	BrSK1	CDC42 BPA	CDC42 BPB	CLK3	COT
	DMPK	DYRK2	GRK5	GRK6	GSK3 α	GSK3 β	HIPK2	HIPK3	IKK α	IKK β	LOK
	MAP3K8	MARK1	MINK	MINK1	MRCK α	MRCK β	MSK1	MSK2	MSSK1	MST1	MST2
	NEK2	NEK3	NEK6	NEK7	NLK	p70S6K	Pim-1	Pim-2	PKB α	PKB β	PKB γ
	PLK3	RPS6KA4	RPS6KA5	RPS6KB1	SAD1	SGK1	SGK2	SGK3	SGKL	SIK	Snk
	STK23	STK3	STK33	STK4	WNK2	WNK3					

订购信息

产品名称	产品规格	产品货号
HTRF KinEASE -STK S1 kit	1,000 tests	62ST1PEB
	20,000 tests	62ST1PEC
	100,000 tests	62ST1PEJ
HTRF KinEASE -STK S2 kit	1,000 tests	62ST2PEB
	20,000 tests	62ST2PEC
	100,000 tests	62ST2PEJ
HTRF KinEASE -STK S3 kit	1,000 tests	62ST3PEB
	20,000 tests	62ST3PEC
	100,000 tests	62ST3PEJ
HTRF KinEASE Discovery kit	1,000 tests	62ST0PEB

ADP Transcreener®试剂盒

ADP Transcreener 试剂盒适用于所有激酶的检测，其原理是通过测定反应中生成的 ADP。试剂盒中提供了 Eu 标记的抗 ADP 单抗（Eu-mAb）和 d2 标记的 ADP（d2-ADP）。d2-ADP 会跟反应中生成的 ADP 竞争 Eu-mAb 的抗原结合位点，当反应中生成的 ADP 越多，d2-ADP 跟 Eu-mAb 结合的就越少，实验的信号就越小。

订购信息

产品名称	产品规格	产品货号
HTRF Transcreener ADP kit	1,000 tests	62ADPPEB
	20,000 tests	62ADPPEC

HTRF 工具箱特定激酶解决方案

如果您希望用特定的底物、特异的抗体进行激酶检测，HTRF 工具箱试剂为您提供多种选择。我们提供二十多种 Eu 标记的特异性抗体和与之配合使用的能量受体，包括 XL665 或者 d2 标记的链霉亲和素，抗 6HIS 抗体，抗 GST 抗体等。实验检测的是磷酸化产物的生成，最终的实验信号跟底物磷酸化的程度成正比。

HTRF 工具箱方案实例

进行 COT 激酶的检测，其底物为 MEK1，产物为磷酸化 MEK1。我们选择 Biotin-MEK1 蛋白作底物，利用标记了 Eu³⁺的抗磷酸化 MEK1 抗体和标记了 XL665 ad 的链霉亲和素组成一个反应体系，如下图所示。该反应体系与 KinEASE 试剂盒是相似的，只是底物与 Eu 标记抗体是针对 COT 激酶的，比较特异。

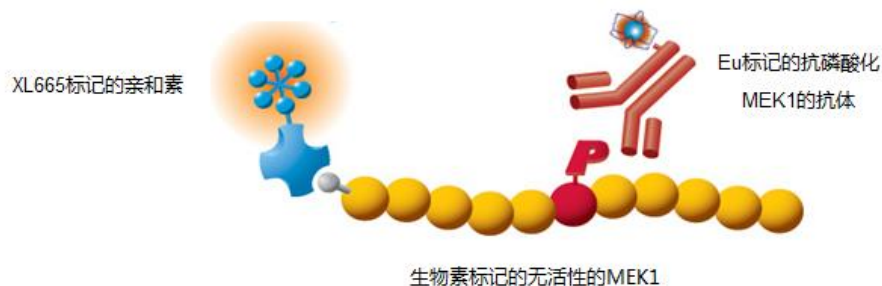


图 18: 用工具箱进行 COT 激酶检测

订购信息

标记的抗体

产品名称	产品规格	产品货号
MAb PT66-K	5,000 tests	61T66KLA
	20,000 tests	61T66KLB
MAb PY20-K	5,000 tests	61Y20KLA
	20,000 tests	61Y20KLB
PolyGAT-Biotin	5,000 tests	61GATBLA
	20,000 tests	61GATBLB
PolyGT-Biotin	5,000 tests	61GT0BLA
	20,000 tests	61GT0BLD
PAb Anti-phospho PKA substrate-K	500 tests	61P01KAE
	10,000 tests	61P01KAZ
	100,000 tests	61P01KAY
PAb Anti-phospho AKT substrate-K	500 tests	61P02KAE
	10,000 tests	61P02KAZ
	100,000 tests	61P02KAY
PAb Anti-phospho PKC substrate-K	500 tests	61P03KAE
	10,000 tests	61P03KAZ
	100,000 tests	61P03KAY
MAb Anti-phospho P38-K	500 tests	61P04KAE
	10,000 tests	61P04KAZ
	100,000 tests	61P04KAY
PAb Anti-phospho I kappa B alpha-K	500 tests	61P06KAE
	10,000 tests	61P06KAZ
	100,000 tests	61P06KAY
MAb Anti-phospho histone H3-K	500 tests	61P07KAE
	10,000 tests	61P07KAZ
	100,000 tests	61P07KAY
MAb Anti-phospho p53-K	500 tests	61P08KAE
	10,000 tests	61P08KAZ
	100,000 tests	61P08KAY
MAb Anti-phosphoSAP/JNK-K	500 tests	61P09KAE
	10,000 tests	61P09KAZ

	100,000 tests	61P09KAY
MAb Anti-phosphop44/42-K	500 tests	61P10KAE
	10,000 tests	61P10KAZ
	100,000 tests	61P10KAY
MAb Anti-phospho ELK-1-K	500 tests	61P11KAE
	10,000 tests	61P11KAZ
	100,000 tests	61P11KAY
PAb Anti-phospho ATF2-K	500 tests	61P12KAE
	10,000 tests	61P12KAZ
	100,000 tests	61P12KAY
MAb Anti-phospho CREB-K	500 tests	61P13KAE
	10,000 tests	61P13KAZ
	100,000 tests	61P13KAY
PAb Anti-phospho C-JUN-K	500 tests	61P14KAE
	10,000 tests	61P14KAZ
	100,000 tests	61P14KAY
MAb Anti-phospho AKT-K	500 tests	61P15KAE
	10,000 tests	61P15KAZ
	100,000 tests	61P15KAY
MAb Anti-phospho MEK1/2-K	500 tests	61P17KAE
	10,000 tests	61P17KAZ
	100,000 tests	61P17KAY
PAb Antiphosphothreonine -K	500 tests	61PTRKAE
	10,000 tests	61PTRKAZ
	100,000 tests	61PTRKAY

标记的标签抗体/二抗

产品名称	产品规格	产品货号
Streptavidin-d2 lyoph.	5,000 tests	610SADLA
	20,000 tests	610SADLB
Streptavidin-K	5,000 tests	610SAKLA
	20,000 tests	610SAKLB
Streptavidin-Tb	5,000 tests	610SATLA
	20,000 tests	610SATLB
Streptavidin-XL665	250 µg	610SAXLA

	1 mg	610SAXLB
	3 mg	610SAXLG
	100,000 tests 5 mg	610SAXAC
Streptavidin-XLent!	5,000 tests	611SAXLA
	20,000 tests	611SAXLB
	5 mg	611SAXAC
MAb Anti GST-d2	5,000 tests	61GSTDLA
	20,000 tests	61GSTDLB
MAb Anti GST-K	5,000 tests	61GSTKLA
	20,000 tests	61GSTKLB
MAb Anti GST-Tb	5,000 tests	61GSTTLA
	20,000 tests	61GSTTLB
MAb Anti GST-XL665	5,000 tests	61GSTXLA
	20,000 tests	61GSTXLB
MAb Anti 6HIS-d2	5,000 tests	61HISDLA
	20,000 tests	61HISDLB
MAb Anti 6HIS-K	5,000 tests	61HISKLA
	20,000 tests	61HISKLB
MAb Anti 6HIS-Tb	5,000 tests	61HISTLA
	20,000 tests	61HISTLB
MAb Anti 6HIS-XL665	5,000 tests	61HISXLA
	20,000 tests	61HISXLB
MAb Anti HA-d2	5,000 tests	610HADAA
	20,000 tests	610HADAB
MAb Anti HA-K	5,000 tests	610HAKLA
	20,000 tests	610HAKLB
MAb Anti HA-Tb	5,000 tests	610HATAA
	20,000 tests	610HATAB
MAb Anti HA-XL	5,000 tests	610HAXLA
	20,000 tests	610HAXLB
MAb Anti MBP-d2	5,000 tests	61MBPDAA
	20,000 tests	61MBPDAB
MAb Anti MBP-K	5,000 tests	61MBPKAA
	20,000 tests	61MBPKAB
MAb Anti MBP-Tb	5,000 tests	61MBPTAA
	20,000 tests	61MBPTAB
MAb Anti cmyc-d2	5,000 tests	61MYCDA

	20,000 tests	61MYCDAB
MAb Anti cmyc-K	5,000 tests	61MYCKLA
	20,000 tests	61MYCKLB
MAb Anti cmyc-Tb	5,000 tests	61MYCTAA
	20,000 tests	61MYCTAB
MAb Anti cmyc-XL665	5,000 tests	61MYCXLA
	20,000 tests	61MYCXLB
MAb Anti FLAG M2-d2	5,000 tests	61FG2DLA
	20,000 tests	61FG2DLB
MAb Anti FLAG M2-K	5,000 tests	61FG2KLA
	20,000 tests	61FG2KLB
MAb Anti FLAG M2-Tb	5,000 tests	61FG2TLA
	20,000 tests	61FG2TLB
MAb Anti FLAG M2-XL665	5,000 tests	61FG2XLA
	20,000 tests	61FG2XLB
MAb Anti DNP-K	5,000 tests	61DNPKLA
	20,000 tests	61DNPKLB
MAb Anti DNP-XL665	5,000 tests	61DNPXLA
	20,000 tests	61DNPXLB
PAb Anti Human Fc-d2	100 µg	61HFCDA
PAb Anti Human IgG-K	5,000 tests	61HFCKLA
	20,000 tests	61HFCKLB
PAb Anti Human IgG-XL665	5,000 tests	61HFCXLA
	20,000 tests	61HFCXLB
PAb Anti Mouse-d2	100 µg	61PAMDAA
	400 µg	61PAMDAB
PAb Anti Mouse IgG-K	5,000 tests	61PAMKLA
	20,000 tests	61PAMKLB
PAb Anti Mouse IgG-XL665	5,000 tests	61PAMXLA
	20,000 tests	61PAMXLB
PAb Anti Rabbit IgG-K	5,000 tests	61PARKLA
	20,000 tests	61PARKLB
PAb Anti Rabbit IgG-XL665	5,000 tests	61PARXLA
	20,000 tests	61PARXLB
Protein A-K	5,000 tests	61PRAKLA
	20,000 tests	61PRAKLB
Protein A-XL665	5,000 tests	61PRAXLA

	20,000 tests	61PRAXLB
Ubiquitin-K	5,000 tests	61UBIKLA
	20,000 tests	61UBIKLB
WGA-XL665	5,000 tests	61WGAXAA
	20,000 tests	61WGAXAB

胞内激酶检测解决方案

Cisbio 研发了一系列试剂盒，进行细胞内激酶活性的检测，即检测细胞内激酶底物的磷酸化情况，我们称之为磷酸化蛋白检测试剂盒。这些试剂盒全部是基于双抗体夹心法的原理。在试剂盒中含有两个抗体，一个抗体是抗磷酸化位点特异性的抗体，标记 Eu；另一个抗体是其它位点的抗体，标记 d2。

实验时，将细胞处理完毕，然后裂解细胞。将裂解液转移到新的微孔板中，加入两种抗体混匀，室温孵育 2 小时即可进行检测，如图 19 所示。

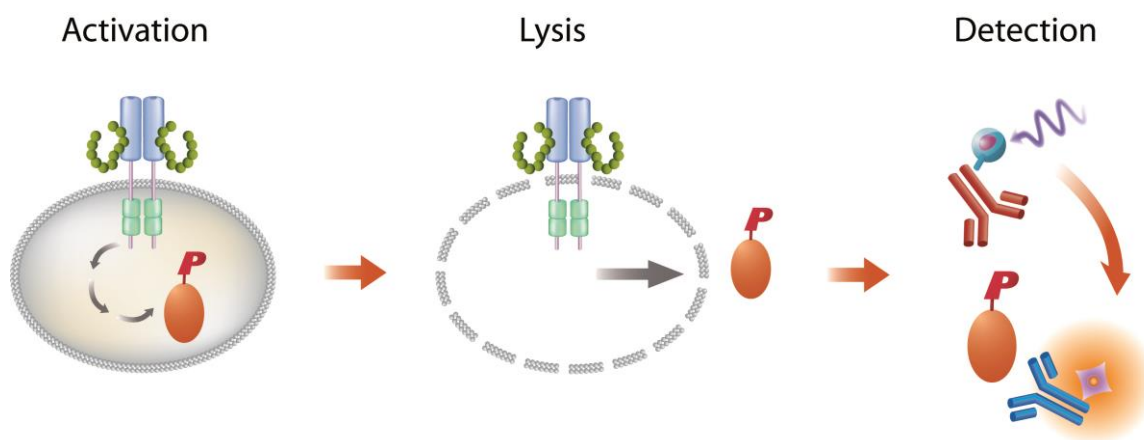


图 19：胞内激酶检测实验步骤

订购信息

产品名称	产品规格	产品货号
Cellul'erk	500 tests	64ERKPEG
	10,000 tests	64ERKPEH
	50,000 tests	64ERKPEI
Phospho Akt (Ser473)	500 tests	64AKSPEG
	10,000 tests	64AKSPEH
	50,000 tests	64AKSPEI
Phospho AKT(Thr308)	500 tests	64AKTPEG
	10,000 tests	64AKTPEH
	50,000 tests	64AKTTDA
Phospho Stat3	500 tests	62AT3PEG
	10,000 tests	62AT3PEH
	50,000 tests	62AT3PEI
Phospho-IKKB	500 tests	64KKBPEG

	10,000 tests	64KKBPEH
	50,000 tests	64KKBPEI
Phospo-P38	500 tests	64P38PEG
	10,000 tests	64P38PEH
	50,000 tests	64P38PEI
Phospo-EGFR	500 tests	6FHR1PEG

HTRF 免疫检测解决方案

HTRF 免疫检测的实验原理为夹心法和竞争法，实质上就是免洗的 ELISA。由于不需洗涤，所以操作非常简单。同时，由于系统非常稳定，可以在 48 小时内任意多次检测，所以实验安排非常灵活。图 20 是 HTRF 免疫检测的操作步骤，只需要加入样品和 HTRF 试剂，然后孵育，进行检测就可以了。

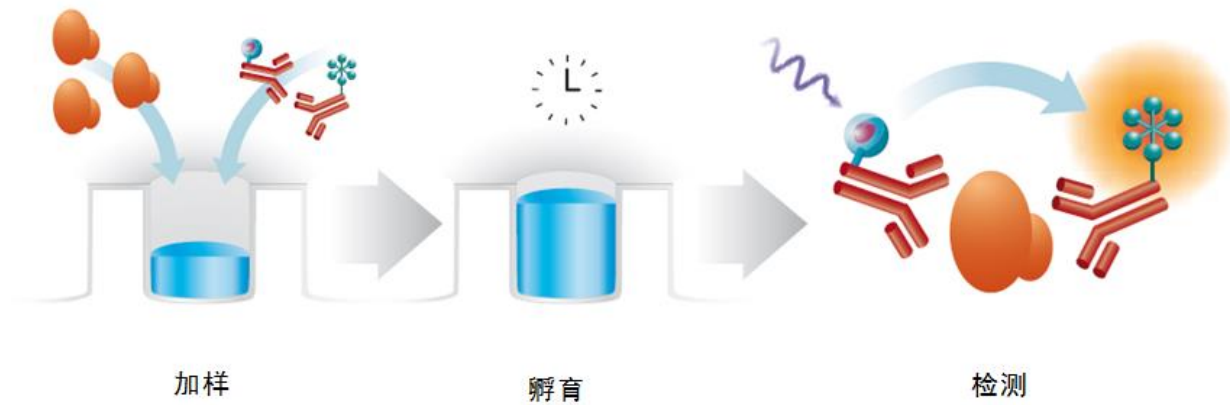


图 20: HTRF 免疫检测的操作步骤

HTRF 与 ELISA 的操作比较 与 ELISA 相比，HTRF 节省了大量的人力和时间，见图 21。

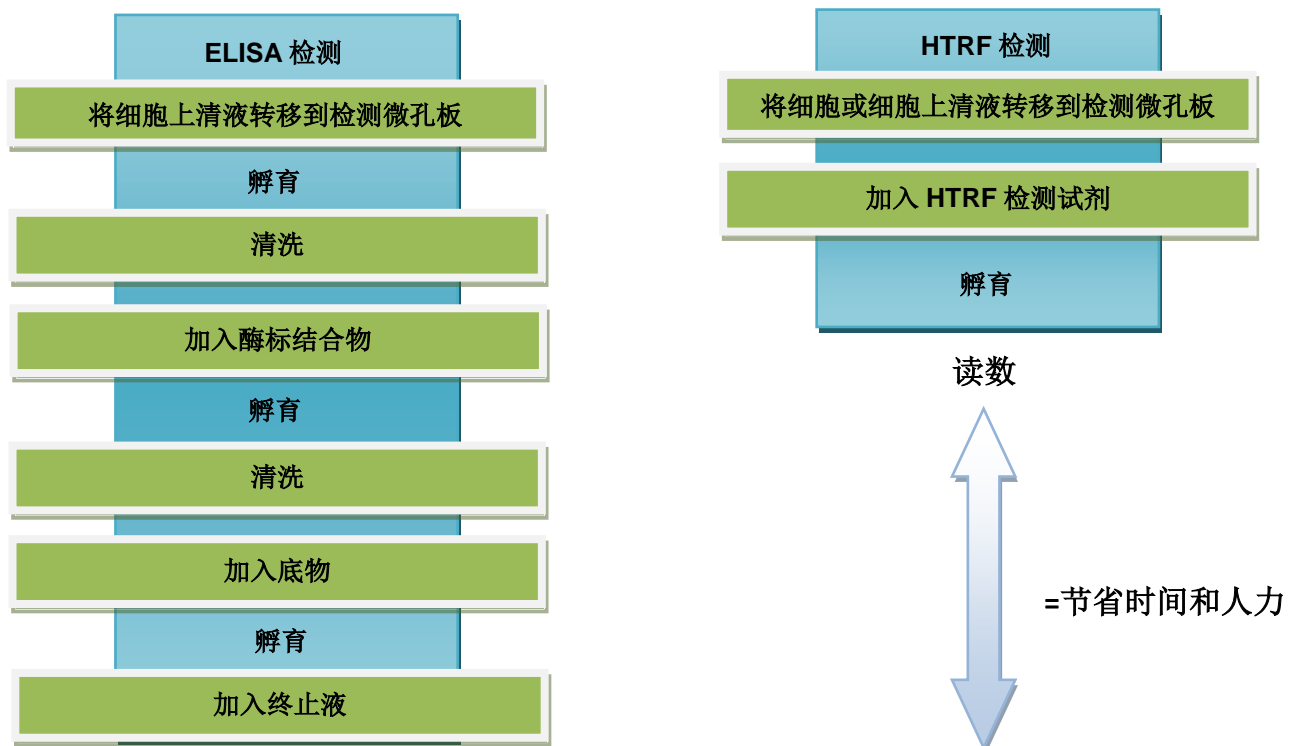


图 21: HTRF 与 ELISA 的操作比较

订购信息

产品名称	产品规格	产品货号
cGMP kit	1,000 tests	62GM2PEB
	20,000 tests	62GM2PEC
Human IL1 beta kit	1,000 tests	62IL1PEB
	20,000 tests	62IL1PEC
Human IL2 kit	1,000 tests	64IL2PEB
	20,000 tests	64IL2PEC
Human IL6 kit	1,000 tests	62IL6PEB
	20,000 tests	62IL6PEC
Human IL8 kit	1,000 tests	62IL8PEB
	20,000 tests	62IL8PEC
Human IL10 kit	1,000 tests	6FH10PEB
	20,000 tests	6FH10PEC
Human IL17 kit	1,000 tests	6FH17PEB
	20,000 tests	6FH17PEC
Mouse IL17 kit	1,000 tests	6FM17PEB
	20,000 tests	6FM17PEC
Human IFN gamma kit	1,000 tests	62IFNPEB
	20,000 tests	62IFNPEC
Human TNF alpha kit	1,000 tests	62TNFPEB
	20,000 tests	62TNFPEC
Human Apolipoprotein A1 kit	1,000 tests	6FAPAPEB
	20,000 tests	6FAPAPEC
Human Apolipoprotein B	1,000 tests	6FAPBPEB
	20,000 tests	6FAPBPEC
LTB4 kit	1,000 tests	64LB4PEB
	20,000 tests	64LB4PEC
LTC4 kit	1,000 tests	64LC4PEB
	20,000 tests	64LC4PEC
Aldosterone kit	1,000 tests	64ALDPEB
	20,000 tests	64ALDPEC
Cortisol kit	1,000 tests	62CRTPEB
	20,000 tests	62CRTPEC
Estradiol kit	1,000 tests	62ESTPEB

	20,000 tests	62ESTPEC
Glucagon kit	1,000 tests	6FGLUPEB
	20,000 tests	6FGLUPEC
Histamine kit	1,000 tests	62HTMPEB
	20,000 tests	62HTMPEC
Insulin kit	1,000 tests	62INSPEB
	20,000 tests	62INSPEC
Prostaglandin E2 kit	1,000 tests	62P2APEB
	20,000 tests	62P2APEC
Testosterone kit	1,000 tests	6FTESPEB
	20,000 tests	6FTESPEC
Human B Amyloid 1-40 kit	1,000 tests	62B40PEB
	20,000 tests	62B40PEC
APP substrate	20,000 tests	64APPKAB
	5,000 tests	64APPKAA
Biotin-APP substrate-K	20,000 tests	64APBKAB
	5,000 tests	64APBKAA
Biotin-Heparan sulfate-K	20,000 tests	61BHSKAB
	5,000 tests	61BHSKAA
SIRT 1 kit	1,000 tests	64SI1PEB
	20,000 tests	64SI1PEC

HTRF 大分子和抗体药物研发解决方案

大分子和抗体药物是未来药物的趋势和发展方向。Cisbio 提供一系列试剂盒，来使您的研发过程更加容易和可靠。

HTRF 抗体定量试剂盒

Cisbio 提供三个抗体定量试剂盒，分别测定人源抗体、人 Lambda 链、人 Kappa 链的含量。人源抗体试剂盒基于竞争法检测原理（也可用于 Fc 段的检测），后两个试剂盒基于夹心法检测原理。

订购信息

产品名称	产品规格	产品货号
Human total IgG kit	1,000 tests	62HFCPEB
	20,000 tests	62HFCPEC

Kappa MAb kit	1,000 tests	64KAPPEB
	20,000 tests	64KAPPEC
Lambda MAb kit	1,000 tests	6FLAMPEB
	20,000 tests	6FLAMPEC

HTRF 标签检测试剂盒

Cisbio 提供了三种标签检测试剂盒，分别为 GST 标签、His 标签和 Fc 段标签，全部基于竞争法检测原理，为大分子和抗体药物提供了统一的检测平台。Fc 标签检测试剂盒与人源抗体检测试剂盒是相同的。

订购信息

产品名称	产品规格	产品货号
Human total IgG kit	1,000 tests	62HFCPEB
	20,000 tests	62HFCPEC
GST check kit	1,000 tests	62GSTPEB
6HIS check kit	1,000 tests	62HISPEB

HTRF CHO 宿主蛋白检测试剂盒

该试剂盒是用来进行宿主 CHO 细胞总蛋白检测的试剂盒，在大分子药物研究领域，主要用来进行产品残余宿主蛋白的检测，用来做质控。检测原理是夹心法。

订购信息

产品名称	产品规格	产品货号
CHO HCP kit	500 tests	6FHCPPEG

Tag-lite 抗体药物研发平台

利用 Tag-lite 技术，建立抗体药物的研发平台，可以用竞争法，也可以用夹心法，如图 22 所示。

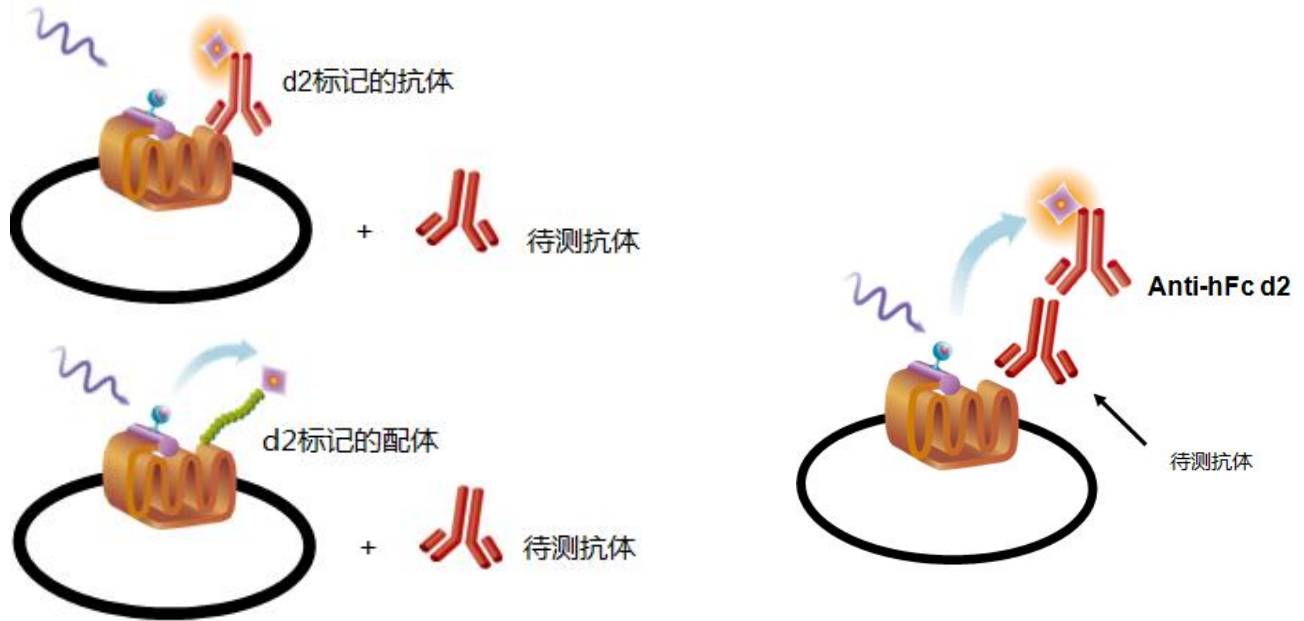


图 22: 用 Tag-lite 技术进行抗体药物的研发

竞争法可以采用标记的抗体，也可以用标记的阳性配体；夹心法则利用标记的 Fc 段抗体。具体实验原理和操作步骤与进行 GPCR 受体配体实验相同。

CD16a(FcγRIIIa V158)细胞结合检测试剂盒

抗体除了可以中和毒素外，还可以通过其 Fc 段受体（FcγRs）介导免疫反应，包括抗体依赖的细胞毒性作用（ADCC）和补体依赖的细胞毒性作用（CDC），促进巨噬细胞的吞噬作用。

CD16a(V158)属于 FcγRs 家族中的一员，其与 Fc 段的结合与 ADCC 的有效性直接相关。该试剂盒可以直接检测抗体与 CD16a 的结合能力；同时，它也可以用来检测岩藻糖基化水平。岩藻糖基化水平越低，ADCC 反应越高。

继 CD16a 细胞结合检测试剂盒之后，Cisbio 又陆续推出了 CD32、CD64 等细胞结合检测试剂盒。

试剂盒实验原理基于竞争法，如图 23 所示：

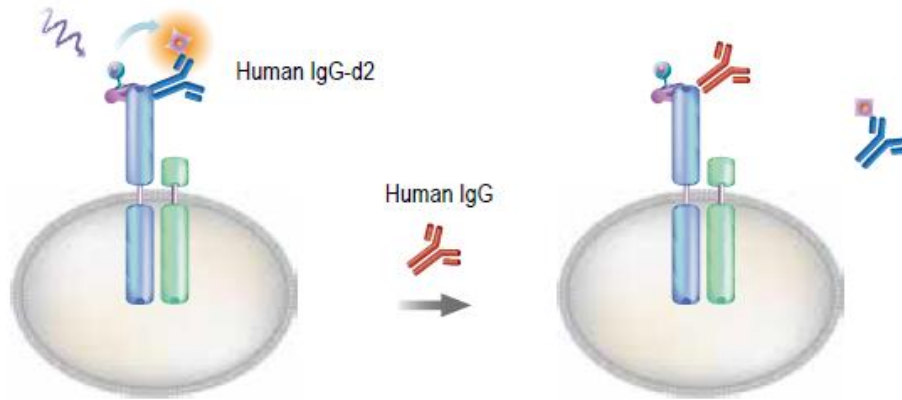


图 23: CD16a 细胞结合检测试剂盒操作步骤

订购信息

产品名称	产品规格	产品货号
CD16a cellular binding kit (FcγRIIIa)	100 tests	62C16PAG
CD32 cellular binding kit FcγRIIA-H131	100 tests	6FRAHPAG
CD32 cellular binding kit FcγRIIA-R131	100 tests	6FRARPAG
CD32 cellular binding kit FcγRIIB	100 tests	6FR2BPAG
CD64 cellular binding kit FcγRI	100 tests	6FC64PAG