CARNA BIOSCIENCES

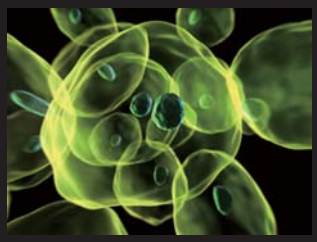
ClariCELL™ Kinase Cell-Based Assay Services

Cell Assay Innovations

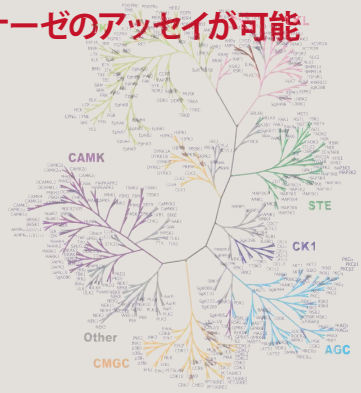
セルベーススクリーニング・アッセイ開発をシンプルに！

ClariCELL™ Kinase Assay Platform

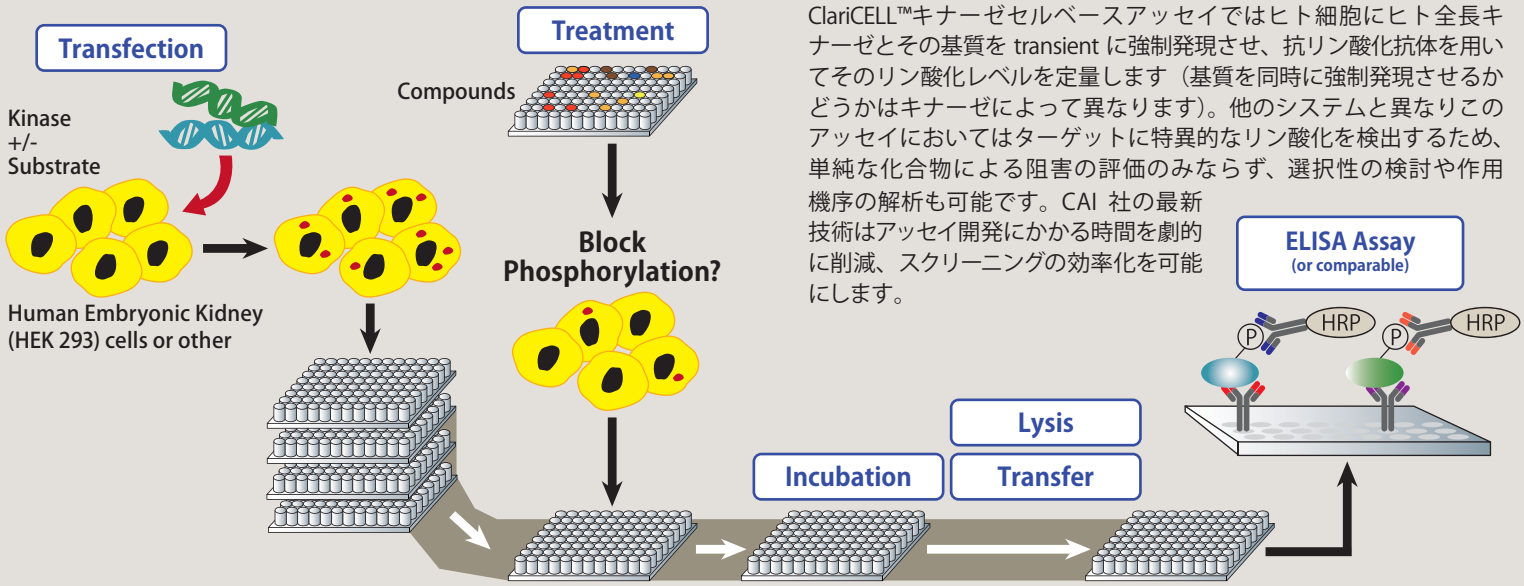
Why CAI's ClariCELL™?



- **細胞内セリン・スレオニンキナーゼおよびチロシンキナーゼのアッセイが可能**
- **リン酸化をダイレクトに検出**
  初期スクリーニングからリード探索、選択性プロファイリングにも有用
- **キナーゼ全長を強制発現させた細胞を使用**
- **多様性**
  変異体を含むターゲットの同時測定が可能
- **柔軟性**
  興味のあるキナーゼや細胞を選択



ClariCELL™キナーゼセルベースアッセイの原理とアッセイ法



ClariCELL™キナーゼセルベースアッセイではヒト細胞にヒト全長キナーゼとその基質を transient に強制発現させ、抗リン酸化抗体を用いてそのリン酸化レベルを定量します（基質を同時に強制発現させるかどうかはキナーゼによって異なります）。他のシステムと異なりこのアッセイにおいてはターゲットに特異的なリン酸化を検出するため、単純な化合物による阻害の評価のみならず、選択性の検討や作用機序の解析も可能です。CAI 社の最新技術はアッセイ開発にかかる時間を劇的に削減、スクリーニングの効率化を可能にします。

CAI ClariCELL™ キナーゼセルベースアッセイ　サービス対象キナーゼ

Tyrosine Kinases		Serine/Threonine Kinases	現在開発中
ABL1	EphB4	AKT1	AKT [W80A]
ABL1 [T315I]	FGFR1	PDK1	BTK [T474A]
ABL1 [E255V]	JAK3	PIM1	JAK1
BTK	KDR (VEGFR2) NEW	PIM2	JAK2
BTK [C481S] NEW	LCK	PIM3	MST1
	TEC NEW		TYK2

ClariCELL™ アッセイキットの販売を開始しました！（納期4週間）

：ClariCELL™ アッセイキット販売中
マークが付いていないターゲットもリクエストによりご提供可能です

キナーゼタンパク質／基質の組合せやシングル・マルチフォーマットに限らず**お客様のご要望に応じたアッセイ開発も行ないます。**
また、化合物プロファイリング・スクリーニングのほか、対象キナーゼを組込んだ細胞(HEK293)をキットとしてご提供も可能です。是非お問合せください。

Updated : 2013/11/1

カルナバイオサイエンス株式会社
〒650-0047　神戸市中央区港島南町1-5-5 BMA3F
TEL：078-302-7091（営業部直通）/ FAX：078-302-7086
E-mail：info@carnabio.com

www.carnabio.com

©2012 Carna Biosciences, Inc.

ClariCELL™ Kinase Cell-Based Assay Services

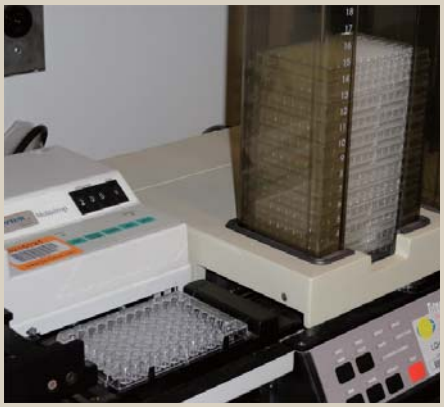
Example of Assay Validation and Study

Cell Assay Innovations

ClariCELL™ FGFR1 Kinase Assay Service

説 明

ClariCELL™ FGFR1 Kinase Assay では、ヒト細胞内に transient に強制発現させた FGFR1 の自己リン酸化レベルを指標に、細胞内の FGFR1 に対する低分子化合物の阻害活性を検出します。



概 要

HEK 293 細胞にヒト全長 FGFR1 を transient に導入します（アミノ酸配列は確認済みです）。FGFR1 の阻害剤をこの細胞に添加し、一定時間培養後、細胞を溶解させます。細胞内の FGFR1 をアッセイプレートの上に捕捉し、その自己リン酸化レベルを特異的の抗体を用いた ELISA によって定量します。ネガティブコントロールにはキナーゼ活性の無い FGFR1［K512M］を導入した細胞中のリン酸化レベルの値を使用します。

4-Step Assay Validation

FGFR1 Expression in Cells

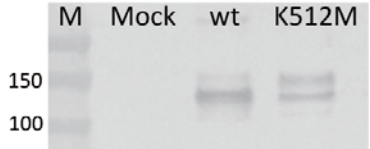


Figure 1: Wild type (wt) or kinase dead (K512M) FGFR1 was expressed transiently in 293 cells. Following cell lysis, an IP Western was performed with appropriate antibodies to capture and detect total FGFR1 protein.

FGFR1 Autophosphorylation in Cells

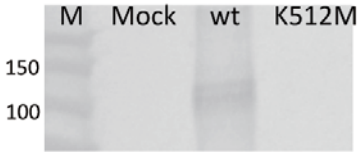


Figure 2: Wild type (wt) or kinase dead (K512M) FGFR1 was expressed transiently in 293 cells. An IP Western was performed with appropriate antibodies to capture and detect phospho- FGFR1 protein.

Quantification of Phosphorylation

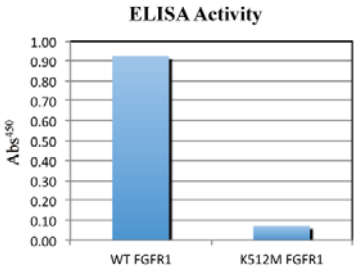


Figure 3: Wild type (wt) or kinase dead (K512M) FGFR1 was expressed transiently in 293 cells. Following cell lysis, an ELISA was performed to quantify the extent of autophosphorylation of FGFR1.

Reference Inhibitor Data

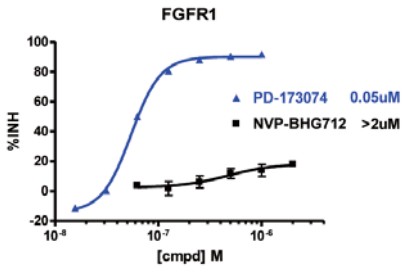


Figure 4: An autophosphorylation assay was performed in the presence of PD-173074, an FGFR1 inhibitor, and NVP-BHG712, a compound that is not expected to inhibit FGFR1. % inhibition data were plotted to determine EC_{50} values.

©2012 Cell Assay Innovations, LLC

©2012 Carna Biosciences, Inc.