



# (新品推荐) Promega 蛋白酶体 活性测定又添两个新成员

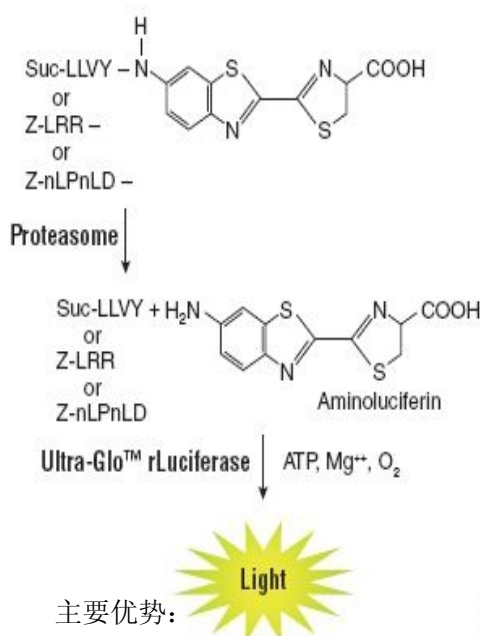
继原先的糜蛋白酶样蛋白酶活性测定之后，Promega 公司最近又推出了两个新的 Proteasome-Glo Cell-Based Assay，能分别检测细胞中蛋白酶体复合物的胰蛋白酶样、caspase 样蛋白酶活性。

26S 蛋白酶体是普遍存在于所有真核细胞的细胞核和细胞质的多蛋白复合物，分子量约为 2500 kDa，包括一个 20S 核心颗粒，一或两个 19S 调节颗粒。20S 核心颗粒有三种主要的蛋白酶活性，也就是上面所说的糜蛋白酶样、胰蛋白酶样、caspase 样蛋白酶活性。这三种活性负责了体内大部分的蛋白降解，包括关键的细胞周期蛋白、肿瘤抑制蛋白、转录因子和受损的胞内蛋白，是维持细胞动态平衡所必需的。

近年来，蛋白酶体抑制剂在抗肿瘤方面的作用引起人们极大的关注。PS-341 (bortezomib) 是第一个经 FDA 批准可用于治疗多发性骨髓瘤的蛋白酶体抑制剂。而其他制药公司也纷纷将他们的蛋白酶体抑制剂投入临床研究。最近的文献也表明在蛋白酶体抑制剂研究中这三个位点对于蛋白降解都是很重要的，而不仅仅是糜蛋白酶样位点。

Proteasome-Glo Cell-Based Assays 包含了一个特异的蛋白酶体发光底物，和专利的重组耐热荧光素酶。胰蛋白酶样分析中还包含了两个降低蛋白酶的非特异性的抑制剂。这三种底物分别是 Suc-LLVYaminoluciferin、Z-LRRaminoluciferin 和 Z-nLPnLDaminoluciferin，它们已经为细胞通透性、蛋白酶体活性及荧光素酶活性研究而优化过。Proteasome-Glo Cell-Based 试剂加入

之后，温和渗透细胞膜，使底物接近蛋白酶体并被其切割，释放出 aminoluciferin，被荧光素酶捕获后，就产生了一个辉光 (glow-type) 信号。整个过程非常简单，就是“添加-混合-测定”，而避免了以前繁复的样品处理步骤，如收集细胞、洗涤、机械提取、离心等。这种蛋白酶切割底物的同时，荧光素酶捕获释放的 aminoluciferin 的酶偶联系统，产生了一个与细胞内蛋白酶体活性成正比的荧光信号。蛋白酶体和荧光素酶的活性在加入试剂 5-10 分钟内达到稳态，使活性监测简单快速。



主要优势:

- ◆ 方法简化: 这种“添加-混合-测定”的方法能让研究人员快速测定蛋白酶体活性, 并实现自动化。
- ◆ 结果更快: 因为测定不依赖于切割产物的

积累，所以在加入试剂 5-10 分钟后就能达到最大的灵敏度。

◆ 灵敏度更高：酶偶联形式和快速的 Proteasome-Glo 分析使背景更低，信噪比更强，Z 因子值更可靠。

◆ 批处理更容易：重组的荧光素酶产生持久的辉光信号，因此读板时间更灵活。

下面列出了 Proteasome-Glo Chymotrypsin-Like Cell-Based Assay 的文献，供您参考：

Groll, M. et al. (2008) A plant pathogen virulence factor inhibits the eukaryotic proteasome by a novel mechanism. *Nature*. 452, 755–8.

Filimonenko, M. et al. (2007) Functional multivesicular bodies are required for autophagic clearance of protein aggregates associated with neurodegenerative disease. *J. Cell Biol.* 179, 485–500.

（生物通 余亮）