

·综述·

# 细胞热转移技术的研究进展

朱茵<sup>1</sup>,朱静怡<sup>1</sup>,赵起超<sup>1,2</sup>,谢恬<sup>1,2</sup>,陈功星<sup>1,2</sup>

(1.杭州师范大学医学部,浙江 杭州 311121;

2.浙产中药材资源开发与应用浙江省工程实验室,浙江 杭州 311121)

**摘要:**细胞热转移技术(CETSA)是一种利用蛋白质热稳定变化,可直接在细胞内检测靶标结合状况的方法,此技术已在新药研发、药物评估与优化、基因表达和疾病治疗等领域得到应用,随着不断地研究与应用逐步发展。CETSA 与双向凝胶电泳(2-DE)、质谱分析法(MS)和荧光检测法等技术的结合,拓展了该技术的应用范围和价值。本文现对 CETSA 技术的基本原理、应用、发展情况进行综述及展望,旨在为该技术的在临床诊疗中的应用提供参考。

**关键词:**细胞热转移技术;蛋白质;靶标;热稳定

**中图分类号:**Q819

**文献标识码:**A

**DOI:**10.3969/j.issn.1006-1959.2022.03.007

**文章编号:**1006-1959(2022)03-0029-05

## The Research Progress in Cellular Thermal Shift Assay

ZHU Yin<sup>1</sup>,ZHU Jing-yi<sup>1</sup>,ZHAO Qi-chao<sup>1,2</sup>,XIE Tian<sup>1,2</sup>,CHEN Gong-xing<sup>1,2</sup>

(1.Division of Health Sciences, Hangzhou Normal University, Hangzhou 311121, Zhejiang, China;

2.Engineering Lab of Development and Application of Traditional Chinese Medicine from Zhejiang Province, Hangzhou 311121, Zhejiang, China)

**Abstract:** The cellular thermal shift assay (CETSA) can be used to detect directly the binding target with something in cells basing on the changes of the protein thermal stability. The assay have been applied in the new drug research and development, drug evaluation and optimization, gene expression and disease treatment, and has been gradually developed with continuous research and application. The combination of CETSA with two-dimensional gel electrophoresis (2-DE), mass spectrometry (MS) and fluorescence detection has expanded the application scope and value of this technology. This paper reviews the basic principle, application and development of CETSA technology, and looks forward to providing reference for its application in clinical diagnosis and treatment.

**Key words:** Cellular thermal shift assay; Protein; Target; Thermal stability

细胞热转移技术 (cellular thermal shift assay, CETSA) 是一种可直接检测细胞或组织内药物与靶标蛋白结合程度的研究方法,自 2013 年研发以来,被广泛应用于靶标蛋白的分析,其中大多数是细胞内的可溶性靶标蛋白;CETSA 最早通过 PCR 和蛋白免疫印迹 (Western Blot, WB) 技术显示靶标结合情况,随着该技术的不断发展,CETSA 可在高密度微孔板中用均相法测定、显示靶标结合情况,这一发展实现了 CETSA 向高通量模式的转变<sup>[1]</sup>。目前,CETSA 与双向凝胶电泳(2-DE)、质谱分析法(MS)和荧光检测法等技术的结合,推动了 CETSA 走向一个新高峰,这有可能为蛋白质及其相关学科研究提供新的方向。本文将对该技术的原理、应用以及相关进展进行综述,以期推进 CETSA 技术的应用和发展,生物大分子结合研究提供参考。

### 1 CETSA 技术的原理

蛋白质分子的空间构象决定了特定理化性质,细胞组织中的蛋白质可与相应分子结合。CETSA 的

原理如下:蛋白质溶液在聚集温度 (aggregation temperature, Tagg) 或熔解温度 (melting temperature, Tm) 加热,会以类似于蛋白质纯化的方式先进行展开而后聚集,而当小分子物质与靶蛋白结合后,会使靶蛋白的热稳定性增加,这种改变了 Tagg 或 Tm 从而改变热诱导蛋白质的聚集,被称为细胞热转移<sup>[1]</sup>。该技术的主要步骤是先用实验组 (药物) 和对照组 (空载) 分别处理活细胞或细胞裂解液,并在数分钟内用热 (37 ℃~70 ℃) 分别处理两组,然后离心去除因热变性而沉淀的蛋白,取上清可溶蛋白样本,采用 WB、2-DE、MS 等实验方法测定并对比实验组和对照组中的可溶性蛋白点,寻找出其中因热稳定性发生变化而在两组中显示有所差异的蛋白,并按常规方法测定其氨基酸序列,再根据序列检索蛋白质数据库,进行生物信息学分析,最后根据分析结果验证该蛋白的功能<sup>[2]</sup>。

### 2 CETSA 技术的应用

2.1 新药研发 在 CETSA 被发明之前,药物开发面临多重挑战,临床上大多数作用于细胞或组织的药物是通过直接与一个或几个靶蛋白结合而达到治疗效果的,而药物与靶蛋白的结合不能在细胞和组织中直接测量,研究者常需根据药物在临床试验中的成败才能证明该药物能否与细胞或组织中的预期药物靶点结合,这导致药物研发成本高、周期长、危险

基金项目:1.国家自然科学基金重点项目(编号:81730108);2.浙江省科技厅公益性技术应用研究项目(编号:LGF18H290002);3.杭州师范大学教改项目(编号:YXYJG202114)

作者简介:朱茵(1999.10-),女,浙江嘉兴人,本科

通讯作者:陈功星(1966.10-),男,湖南桑植人,博士,副教授,主要从事医学分子生物学学科研究与教学工作

性大。CETSA 作为一种非标记方法,可用于直接确认药物是否与预期靶点结合,从而保障新药的研发。此外 CETSA 能在研究药物作用的相关通路与机制的同时,确定药物作用靶标的先后次序<sup>[3]</sup>。CETSA 的这些优势不仅克服了以往药物研发中的难关,还促进了药物大规模的开发。目前,CETSA 已运用于抗微生物药物、抗肿瘤等药物的研发中,并取得一定成效,它很可能成为临床前研究和临床药物开发的一个有效工具。

登革热病毒和寨卡病毒为主要的黄病毒,该种病毒造成了世界性的健康和经济问题。Rothan HA 等<sup>[4]</sup>发现 Hrd1 泛素连接酶介导的内质网相关蛋白降解通路可调控黄病毒在宿主内的复制,而化合物 CDDO-Me 作为 Hrd1 泛素连接酶的抑制剂,对登革热病毒和寨卡病毒具有广谱活性。应用 CETSA 发现,CDDO-Me 与 Hrd1 通路中的关键蛋白 grp94 结合而发挥作用,如果对 grp94 蛋白抑制剂进行深入的研究,就很可能产生一类新的广谱抗黄病毒药物。与此相似,甲型流感病毒感染是一种威胁人类健康的世界性公共卫生疾病,随着现有抗流感药物耐药性的不断增强,迫切需要新的抗病毒药物,特别是天然药物。Lai YN 等<sup>[5]</sup>利用 CETSA 证明天然药物异欧前胡素对神经氨酸酶(NA)介导的子代病毒释放过程有抑制作用,异欧前胡素可能将成为预防和治疗甲型流感病毒的潜在药物。

CETSA 在抗肿瘤药物的研发中应用更为广泛。Akt 是多种癌症信号通路中的关键蛋白,也是肝细胞癌(HCC)的重要的调节因子,而 Hongwei L 等<sup>[6]</sup>发现了一种名为 HTBPI 的生物碱,并利用 CETSA 证实 HTBPI 可靶向 Akt 并占据其结合域,使 Akt 功能失活,从而抑制相关肿瘤分子通路,HTBPI 可能会成为靶向 Akt 的 HCC 潜在治疗药物。此外,研究人员<sup>[7]</sup>通过 CETSA 等方法,证实化合物 Aspulvinone O 是谷草酰胺转移酶的有效抑制剂。它抑制了谷氨酰胺的代谢,使胰腺导管腺癌细胞抵抗氧化应激,进而抑制了癌细胞的增殖,这使得 Aspulvinone O 有望成为治疗胰腺导管腺癌的新型药物。TACC3 基因表达在包括乳腺癌在内的多种癌症中。Akbulut O 等<sup>[8]</sup>利用 CETSA 等技术证实一种新的靶向药物 BO-264 与 TACC3 相互作用,从而降低 TACC3 表达,并实现抗癌作用,这为乳腺癌等化疗药物的研发提供了新方向。另外,不少研究者利用 CETSA 寻找到了已有药物的作用靶标和相关分子信号通路,这为药物的创新打开了一扇门。例如药物 Daphnegiravone D (DGD)可诱导 HCC 细胞凋亡和氧化应激,但其具体的靶蛋白仍不清楚。Shang XY 等<sup>[9]</sup>发现 DGD 可改变许多蛋白的表达但以 ART 蛋白的改变最为显著,而

CETSA 结果直接提示了 DGD 可以直接靶向 ART 蛋白;STAT3 蛋白常常在癌症细胞中上调, Lee YJ 等<sup>[10]</sup>发现一种名为 EXT 的苍耳提取物可降低 STAT3-Y705 的磷酸化表达,并利用 CETSA 证明了 EXT 与 STAT3 蛋白的结合,从而抑制 STAT3 的激活,EXT 有望成为癌症治疗的有效药物。

在其他药物的研发中,一种名为 *M. accedens* 的植物可被用于外敷退热,但其抗炎机制尚不清楚。Kim JY 等<sup>[11]</sup>利用 CETSA 发现 *M. accedens* 的甲醇提取物 Ma-ME 可与 NF- $\kappa$ B 信号通路中最上游的 Syk 蛋白结合,从而实现抗炎。抑制淀粉样  $\beta$  肽前体蛋白切割酶-1(BACE1)是治疗阿尔兹海默症的潜在途径。Chambers M 等<sup>[12]</sup>从 ChemBridge DiverSet 化合物库中选取了 3 种待测化合物,并利用 CETSA 筛选出了一种与 BACE1 相结合的化合物 C34,该分子将有望成为治疗阿尔兹海默症的潜在药物。在肺部囊肿性纤维化治疗中,单种药物治疗肺功能有很大的局限性,而 Carlile GW 等<sup>[13]</sup>利用 CETSA 证实伴侣分子 MCG1516A 可能是治疗囊肿性纤维化的第 3 个重要药理位点,推进了三联疗法的发展以及囊肿性纤维化的治疗进程。阻断丝氨酸蛋白酶 9(PCSK9)与低密度脂蛋白(LDL)受体进行蛋白与蛋白间的相互作用可有效降低 LDL 胆固醇水平,而 Petrilli WL 等<sup>[14]</sup>确定了一种与 PCSK9 有着高亲和力并能诱导其分解的化合物,从而阻断了这种蛋白质之间的相互作用,有效降低了 LDL 胆固醇水平。

2.2 药物评估和优化 临床上有些药物治疗效果好,但其相关机制尚不能明确,而靶标结合状态是评估药物有效性和开发潜能的关键依据。CETSA 自开发以来,常用于细胞或组织水平的靶标结合情况的检测,Ishii T 等<sup>[15]</sup>首次报道了 CETSA 应用于动物和临床研究,证实了 CETSA 可以定量评估小鼠脾脏以及大脑内药物的靶标参与。Perrin J 等<sup>[16]</sup>则通过 Blood-CETSA 实验检测了组织和全血中药物的靶标结合情况,进一步拓展了该技术的检测范围,同时也为药物的临床评估和优化奠定了基础。

CETSA 可以检测药物与细胞内靶蛋白的结合状况从而有效评估药物作用效果,同时这也为优化药物在细胞内的靶标结合提供了新思路<sup>[17]</sup>。抗病毒药物在复杂的生理环境中使用时,可能会产生脱靶效应,Tomas F 等<sup>[18]</sup>利用 MS-CETSA 评估了 FDA 批准的一组抗病毒化合物在宿主细胞中的靶点,以此更好的了解药物脱靶与疗效之间的关系,该方法可以用于快速筛选和利用已存在的抗病毒药物来应对新出现的病毒,有望成为研发抗 2019 新型冠状病毒(2019-nCoV)药物的有效方法。此外,STAT3 蛋白往往在癌症细胞中上调,除了在利用 CETSA 开发

STAT3 抑制剂的同时,还可评估已知的 STAT3 抑制剂在生物环境中与 STAT 蛋白的结合能力,从而实现 CETSA 对相关药物从研发到评估和优化的全程利用<sup>[19]</sup>。Tan BX 等<sup>[20]</sup>还通过 CETSA 验证一种新型治疗药物——装订肽(stapled peptide)与 Mdm2 基因和 Mdm4 基因的结合,发现仍需要进一步提高装订肽进入细胞和结合靶标的效率,而 CETSA 的存在则为优化该药物提供了有效的工具。CETSA 也为优化药物的耐药性提供了思路,Langeback A 等<sup>[21]</sup>利用 CETSA 评估患者在临床治疗中对紫杉烷类药物的敏感性和耐药性,以便对不同患者的用药进行剂量分层,实现了紫杉醇类药物治疗的优化。

**2.3 基因表达** 基因表达是分子生物学的重要内容,而蛋白质的研究开展较困难,CETSA 可应用于对基因表达的研究。Dai L 等<sup>[22]</sup>利用 CETSA 发现许多蛋白质复合体在细胞周期特定阶段的表达有所不同,反映出这些蛋白在核膜解体、DNA 复制、转录、翻译等过程中的作用意义,这为研究完整细胞中蛋白质的相互作用提供了新方法。

### 3 CETSA 技术的新发展

技术的特征之一就是不断的改进以满足科学发展的需要。CETSA 的原理是基于靶蛋白在结合药物分子后通常变得稳定,也可利用其他方法显现出来。在 CETSA 创立之初,研究者通常用 WB 和 PCR 检测,但随着 CETSA 的不断发展,CETSA 逐渐与 2-DE、MS、荧光检测等技术相结合,实现了 CETSA 向高通量的转变,同时极大拓宽了 CETSA 的应用范围,受到更多研究者认可及应用,并不断地创新。

**3.1 基于双向凝胶电泳的 CETSA 技术** Nagasawa I 等<sup>[23]</sup>将 CETSA 和双向凝胶电泳(2-DE)结合起来形成基于双向凝胶电泳的 CETSA 技术(2DE-CETSA),用它对结合了新化合物后热稳定性发生变化的蛋白组学进行分析,并成功利用这种方法发现一种名为 NPD10084 的化合物,作用于 PKM2 蛋白并阻断 PKM2 与  $\beta$ -catenin 或 STAT3 蛋白的作用,从而抑制下游通路来实现对直肠癌细胞的抑制,2D-CETSA 可进行全蛋白组范围内靶标蛋白筛选,尤其适用于未知靶标的药物,这为探究未知的靶蛋白和新药的研发提供了强大工具。扩展到蛋白组范围内的 CETSA 使得实验数据更加精确化和科学化,减小了传统 CETSA 的限制性,使得细胞热转移技术有了一个大的飞跃。

**3.2 基于质谱分析技术的细胞热转移技术** 在过去 10 年中,质谱分析技术(MS)取得了巨大进展,现在 MS 可以快速对人类蛋白质组中天然和修饰的蛋白质或者肽进行分子量测定<sup>[24]</sup>。基于质谱分析技术的细胞热转移技术(MS-CETSA)是利用 MS 对 CETSA

中的可溶性蛋白进行分子量的测定,再通过蛋白数据库分析该蛋白,MS-CETSA 现已被用于识别各种药物的未知靶点<sup>[25]</sup>,这也为研究者提供了一个可同时观察由化合物介导的数千种蛋白质稳定性变化的平台<sup>[26]</sup>。现如今该技术较为成熟,应用也较广泛,MS-CETSA 为人们提供了一个研究蛋白功能变化的详细而全面的新平台<sup>[25]</sup>。例如 Sun W 等<sup>[27]</sup>提出 MS-CETSA 可以直接在蛋白质组水平上监测 ROS 和蛋白结构的氧化还原变化,了解不同蛋白质在细胞活性氧反应中的特定作用,并且还发现了新的活性氧敏感性候选蛋白。大多数蛋白质与代谢物之间的相互作用弱于蛋白质与药物之间的相互作用,而研究者又缺乏对传统 CETSA 的特异性和假阳性的分析,此为 CETSA 的一大缺陷。而 Lim YT 等<sup>[28]</sup>则通过利用 MS-CETSA 来快速显示蛋白质与代谢物在裂解物或细胞中的相互作用,弥补了这一缺陷。总之,MS-CETSA 相对于传统的 CETSA 的优势是可以鉴定药物直接作用的靶标蛋白及其对下游通路的影响,并且可以检测反应微弱的蛋白质与代谢物之间的作用,是 CETSA 的一个极大优势。

**3.3 基于荧光检测法的 CETSA 技术** Martinez NJ 等<sup>[29]</sup>介绍了一种基于分裂纳米荧光素酶的 CETSA 技术(SplitLuc CETSA),该技术是一种以高通量(384 和 1536 孔板)形式的检测方法,无需检测试剂与蛋白的结合,对于各种靶标有广泛适用性,为不易获得表型和需要与蛋白结合才能测定的方法定提供了一个快速的检测和筛选平台。Asawa RR 等<sup>[30]</sup>运用 SplitLuc CETSA 检测了 394 种已知的组蛋白去乙酰化酶 1(HDAC1)抑制剂与 HDAC1 的结合效果,并从中发现了两种靶向其他 HDAC 的抑制剂。此外, Park H 等<sup>[31]</sup>开发了一种基于热稳定性改变能够引起凝胶内荧光差异原理的检测技术(TS-FITGE),这是一种无需标记并可用于蛋白质组范围内目标识别的方法,可通过定量分析凝胶图像来找到因结合药物后热稳定性改变的靶蛋白,同时还可绘制融化曲线来证实阳性变化。

**3.4 高通量 CETSA 技术的开发** 分析技术高通量是研究的一大优势,研究表明,高通量细胞热转移技术(HT-CETSA)可以在 96、384 和 1536 孔微孔板内进行,并可联合使用  $\beta$ -半乳糖苷酶、荧光素酶报告基因和 AlphaLISA 均相酶联免疫分析等技术进行检测。HT-CETSA 方法还可通过剂量反应实验来优选化合物<sup>[32]</sup>。如今此方法已运用于不少研究,雄激素受体(AR)是前列腺癌的关键驱动因子,然而在研究中缺乏相关细胞学方法来区分直接结合 AR,或间接作用于 AR 共调节因子的抑制剂,而 Shaw J 等<sup>[33]</sup>利用 HT-CETSA 解决了这个问题。

3.5 其他 CETSA 可用 MS、WB 或 AlphaScreen 等技术对可溶性蛋白进行定量和检测,但这些方法可能会耗费大量时间和细胞;为了解决 CETSA 对蛋白质量需求高的问题,Herledan A 等<sup>[34]</sup>开发了名为细胞热转移-声学反相蛋白质阵列的技术——CETSA-aRPPA,该方法将 CETSA 的优点与纳米声学传输系统和反相蛋白质阵列技术的优点相结合,可以在小样本的条件下同时分析多种药物靶点,是一种快速、经济的方法。此外,Kawatkar A 等<sup>[35]</sup>还对 CETSA 技术进行了改良,表明在 CETSA 的加热步骤后用去污剂对细胞进行提取,可以使 CETSA 应用于多种复杂膜蛋白的测定和分析。

#### 4 总结与展望

CETSA 作为一种可以直接检测靶标参与状况的技术,越来越多的应用于药物靶标研究中,其在新药研发、药物评估与优化,以及疾病治疗等领域具有重要的理论指导意义和实用价值,近几年来不少学者也提出了 2D-CETSA、MS-CETSA、SplitLuc CETSA、HT-CETSA 等技术改进,并将 CETSA 研究领域进一步拓展到了基因表达等方面。

技术的进步必然促进科学的发展,此后可以借助 CETSA 技术的各种新方法研究细胞内针对性药物作用和耐药性机制,从而确定现有药物是否适合个体患者。这对于开展个性化治疗的实现具有潜在应用价值,并且完全有可能预先为临床医生提供确定的治疗方案,这对确定像肿瘤一样疑难疾病是否已经产生某种抗药性以及何种类型的治疗可更适合特定病人的研究有极大帮助。此外,长期受制于分子作用机制未明的中草药和进展缓慢的蛋白质分子生物学的研究,可借助于 CETSA 技术得到更好的发展。

#### 参考文献:

[1]Brinton SL,Thomas L.Early Perspective [J].J Biomol Screen,2016,21(10):1019-1033.  
[2]Li J,Xu H,West GM,et al.Label-Free Technologies for Target Identification and Validation [J].Med Chem Comm,2016,7(5):769-777.  
[3]Lundgren S.Focusing on Relevance:Cetsa-Guided Medicinal Chemistry and Lead Generatio[J].ACS Med Chem Lett,2019,10(5):690-693.  
[4]Rothan HA,Zhong Y,Sanborn MA,et al.Small Molecule Grp94 Inhibitors Block Dengue and Zika Virus Replication[J].Antiviral Res,2019(171):104590.  
[5]Lai Y,Han T,Zhan S,et al.Antiviral Activity of Isoimperatorin against Influenza a Virus and Its Inhibition of Neuraminidase[J].Front Pharmacol,2021(12):657826.  
[6]Hongwei L,Qian C,Di L,et al.Htbp,an Active Phenanthroindolizidine Alkaloid,Inhibits Liver Tumorigenesis by Tar-

geting Akt[J].FASEB J,2020,34(9):12255-12268.

[7]Sun W,Luan S,Qi C,et al.Aspulvinone O,a Natural Inhibitor of Got1 Suppresses Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Cells Growth by Interfering Glutamine Metabolism [J].Cell Commun Signal,2019,17(1):111.  
[8]Akbulut O,Lengerli D,Saatci O,et al.A Highly Potent Tacc3 Inhibitor as a Novel Anti-Cancer Drug Candidate[J].Mol Cancer Ther,2020,19(6):1243-1254.  
[9]Shang XY,Yu XQ,Yao GD,et al.Daphnegiravone D from Daphne Giralidii Induces Cell Death by Targeting Atr in Hep3b Cells[J].Bioorg Chem,2021(110):104802.  
[10]Lee YJ,Choi J,Yoon YJ,et al.8-Epi-Xanthatin Induces the Apoptosis of Du145 Prostate Carcinoma Cells through Signal Transducer and Activator of Transcription 3 Inhibition and Reactive Oxygen Species Generation [J].Phytother Res,2021,35(3):1508-1520.  
[11]Kim JK,Choi E,Hong YH,et al.Syk/Nf-Kb-Targeted Anti-Inflammatory Activity of Melicope Accedens (Blume) T.G. Hartley Methanol Extract [J].J Ethnopharmacol,2021 (271): 113887.  
[12]Chambers M,Delpont A,Hewer R.The Use of the Cellular Thermal Shift Assay for the Detection of Intracellular Beta-Site Amyloid Precursor Protein Cleaving Enzyme-1 Ligand Binding [J].Mol Biol Rep,2021,48(3):2957-2962.  
[13]Carlile GW,Yang Q,Matthes E,et al.A Novel Triple Combination of Pharmacological Chaperones Improves F508del-Cfr Correction[J].Sci Rep,2018,8(1):11404.  
[14]Petrilli WL,Adam GC,Erdmann RS,et al.From Screening to Targeted Degradation: Strategies for the Discovery and Optimization of Small Molecule Ligands for Pcsk9[J].Cell Chem Biol,2020,27(1):32-40.  
[15]Ishii T,Okai T,Iwatani-Yoshihara M,et al.Cetsa Quantitatively Verifies in Vivo Target Engagement of Novel Ripk1 Inhibitors in Various Biospecimens[J].Sci Rep,2017,7(1):13000.  
[16]Perrin J,Werner T,Kurzawa N,et al.Identifying Drug Targets in Tissues and Whole Blood with Thermal-Shift Profiling [J].Nat Biotechnol,2020,38(3):303-308.  
[17]Martinez MD,Jafari R,Ignatushchenko M,et al.Monitoring Drug Target Engagement in Cells and Tissues Using the Cellular Thermal Shift Assay[J].Science,2013,341(6141):84-87.  
[18]Tomas F,Alexey C,Daniel MM,et al.Cetsa Ms Profiling for a Comparative Assessment of Fda-Approved Antivirals Repurposed for Covid-19 Therapy Identifies Trip13 as a Remdesivir Off-Target[J].SLAS Discov,2021,26(3):336-344.  
[19]Sanaz A,Anja R,Sander B,et al.Validating Signal Transducer and Activator of Transcription (Stat) Protein-Inhibitor Interactions Using Biochemical and Cellular Thermal Shift Assays [J].ACS Chem Biol,2020,15(7):1842-1851.  
[20]Tan BX, Brown CJ, Ferrer FJ,et al.Assessing the Efficacy of Mdm2/Mdm4 -Inhibiting Stapled Peptides Using Cellular Thermal Shift Assays[J].Sci Rep,2015(5):12116.

(下转第 48 页)

(上接第32页)

- [21] Langeback A, Bacanu S, Laursen H, et al. Cetsa-Based Target Engagement of Taxanes as Biomarkers for Efficacy and Resistance[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1):19384.
- [22] Dai L, Zhao T, Bisteau X, et al. Modulation of Protein-Interaction States through the Cell Cycle[J]. *Cell*, 2018, 173(6):1481-1494.
- [23] Nagasawa I, Muroi M, Kawatani M, et al. Identification of a Small Compound Targeting Pkm2-Regulated Signaling Using 2d Gel Electrophoresis-Based Proteome-Wide Cetsa[J]. *Cell Chem Biol*, 2020, 27(2):186-196.
- [24] Dai L, Prabhu N, Yu LY, et al. Horizontal Cell Biology: Monitoring Global Changes of Protein Interaction States with the Proteome-Wide Cellular Thermal Shift Assay (Cetsa)[J]. *Annu Rev Biochem*, 2019(88):383-408.
- [25] Prabhu N, Dai L, Nordlund P. Cetsa in Integrated Proteomics Studies of Cellular Processes[J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2020(54):54-62.
- [26] Chernobrovkin AL, Cázares-Korner C, Friman T, et al. A Tale of Two Tails: Efficient Profiling of Protein Degradation by Specific Functional and Target Engagement Readouts[J]. *SLAS Discov*, 2021, 26(4):534-546.
- [27] Sun W, Dai L, Yu H, et al. Monitoring Structural Modulation of Redox-Sensitive Proteins in Cells with Ms-Cetsa[J]. *Redox Biol*, 2019(24):101168.
- [28] Lim YT, Prabhu N, Dai L, et al. An Efficient Proteome-Wide Strategy for Discovery and Characterization of Cellular Nucleotide-Protein Interactions [J]. *PLoS One*, 2018, 13 (12): e0208273.
- [29] Martinez NJ, Asawa RR, Cyr MG, et al. A Widely-Applicable High-Throughput Cellular Thermal Shift Assay (CETSA) Using Split Nano Luciferase[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):9472.
- [30] Asawa RR, Zakharov A, Niehoff T, et al. A Comparative Study of Target Engagement Assays for Hdac1 Inhibitor Profiling[J]. *SLAS discov*, 2020, 25(3):253-264.
- [31] Park H, Ha J, Koo JY, et al. Label-Free Target Identification Using in-Gel Fluorescence Difference Thermal Stability Shift[J]. *Chem Sci*, 2017, 8(2):1127-1133.
- [32] Henderson MJ, Holbert MA, Simeonov A, et al. High-Throughput Cellular Thermal Shift Assays in Research and Drug Discovery[J]. *SLAS discov*, 2020, 25(2):137-147.
- [33] Shaw J, Leveridge M, Norling C, et al. Determining Direct Binders of the Androgen Receptor Using a High-Throughput Cellular Thermal Shift Assay[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):163.
- [34] Herledan A, Andres M, Lejeune-Dodge A, et al. Drug Target Engagement Using Coupled Cellular Thermal Shift Assay-Acoustic Reverse-Phase Protein Array[J]. *SLAS discov*, 2020, 25(2):207-214.
- [35] Kawatkar A, Scheffter M, Hermansson NO, et al. Cetsa Beyond Soluble Targets: A Broad Application to Multipass Transmembrane Proteins[J]. *ACS Chem Biol*, 2019, 14(9):1913-1920.

收稿日期:2021-05-16;修回日期:2021-05-30

编辑/肖婷婷