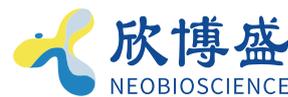


Neo-Glo[®] 激酶ADP检测试剂盒

Neo-Glo[®] Kinase ADP Assay Kit



产品规格

产品货号	组分	可检测 96 孔板孔数	可检测 384 孔板孔数
KAS001.400	ATP 去除试剂 2 ml ADP 检测试剂 4 ml ATP (10mM) 0.5 ml ADP (10mM) 0.5 ml	80 wells	400 wells
KAS001.1000	ATP 去除试剂 5 ml ADP 检测试剂 10 ml ATP (10mM) 0.5 ml ADP (10mM) 0.5 ml	200 wells	1,000 wells
KAS001.10000	ATP 去除试剂 50 ml ADP 检测试剂 100 ml ATP (10mM) 5 ml ADP (10mM) 5 ml	2,000 wells	10,000 wells
KAS001.100000	ATP 去除试剂 10x50 ml ADP 检测试剂 10x100 ml ATP (10mM) 10x5 ml ADP (10mM) 10x5 ml	20,000 wells	100,000 wells

保存条件

-20℃及以下避光保存，有效期12个月。

产品描述

Neo-Glo[®] 激酶 ADP 检测试剂盒 通过检测激酶反应过程中 ADP 的生成量来检测激酶活性。ADP 被转化成 ATP，然后 ATP 再被荧光素酶催化发光，发光信号与激酶活性呈正相关，从而达到检测激酶活性的目的。该试剂盒稳定的发光信号使其特别适合激酶抑制物的高通量筛选，并且能够通过调节 ATP 浓度来鉴别 ATP 竞争性与非竞争性抑制剂。该试剂盒可用于监测任何 ADP 生成酶（例如激酶或 ATP 酶）活性，激酶底物包括多肽，蛋白，脂或糖等。检测过程分为 3 个步骤；首先进行激酶反应，然后终止激酶反应并去除 ATP，最后进行 ADP 检测。使用 Neo-Glo[®] 激酶 ADP 检测试剂盒时激酶反应中的 ATP 浓度最高可至 1mM。

实验步骤

激酶反应

- 在96孔或384孔白色不透明板中进行激酶反应。建议96孔板反应体系为25 μl，384孔板反应体系为5 μl。可以在激酶反应中加入不同浓度梯度的测试化合物。
- 激酶反应体系中的激酶和底物浓度需要根据不同的激酶进行优化。在实验所需的适当信噪比的情况下，可以采用在信号线性反应范围的激酶浓度进行检测。（由于Neo-Glo[®] 激酶ADP检测试剂盒的灵敏度高，激酶用量可以大幅降低。）

Note: ATP的浓度最高可至1mM。一些市售的ATP可能含有ADP残余, 由于Neo-Glo[®]激酶ADP检测试剂盒的高灵敏度, ATP中的ADP残余会导致高背景, 因此激酶反应需使用高纯度的ATP (例如Sigma-Aldrich品牌ATP, 货号A2383, 纯度≥99%) 或其他更高纯度的ATP。

3. 激酶反应可以在通用反应缓冲液中进行 (40mM Tris-HCl (pH 7.5), 0.1 mg/ml BSA, 20mM MgCl₂) 或采用文献报道的反应缓冲液和辅助因子。
4. 激酶反应的温度和时间需根据不同激酶而设定。进行化合物高通量筛选实验时, 建议在室温 (22°C-25°C) 条件下优化激酶反应, 确保检测期间孔板温度均一。
5. 激酶反应结束后不需要加入额外试剂终止激酶反应。如果因特殊实验要求需要加入激酶反应终止试剂, 请避免使用镁离子螯合剂, 例如EDTA。因为本试剂盒检测时需要镁离子参与反应。

激酶反应后去除ATP

1. 取出ATP去除试剂, 平衡至室温 (22°C-25°C), 轻摇混匀。

Note 1: 首次使用试剂后应分装并于-20°C或以下避光储存, 以保证试剂的稳定性。ATP去除试剂和ADP检测试剂反复冻融7次, 或者放置于室温(22°C)24小时, 或者4°C放置7天, 信号强度和功能均无损失。

Note 2: 长期保存于4°C (>5天) 的ADP检测试剂再次冻存后融化使用时可能会存在少许沉淀, 可以直接吸取上清或离心去除沉淀后使用。

Note 3: 不同批次的试剂不建议混用。

2. 如果激酶反应是在非室温条件下进行的 (例如30°C), 需要先将检测板平衡至室温。

Note: ADP检测试剂中的荧光素酶反应对温度变化敏感。试剂和样品/检测板需要平衡到室温 (22°C-25°C), 检测过程温度保持恒定 (±1°C)。

3. 将25 μl的ATP去除试剂加入以上25 μl 96孔检测板中 (总体积50 μl) 或加5μl ATP去除试剂到5μl 384孔检测板中 (总体积10 μl), 振荡混匀。

Note: 非经严格验证, 不建议随意改变反应试剂用量。激酶反应体系、ATP去除试剂和ADP检测试剂的体积需为1:1:2。

4. 室温孵育40分钟。

激酶活性测定 (ADP检测)

1. 取出ADP检测试剂, 平衡至室温, 轻摇混匀。

Note: ADP检测试剂中的荧光素酶反应对温度变化敏感。试剂和样品/检测板需要平衡到室温 (22°C-25°C), 检测过程温度保持恒定 (±1°C)。

2. 将50 μl的ADP检测试剂加入以上50 μl 96孔检测板中, 或加10 μl ADP检测试剂到以上10 μl 384孔检测板中, 振荡混匀。室温避光孵育30分钟。

3. 在加入ADP检测试剂后30-60分钟读取荧光信号。由于荧光信号非常稳定, 根据实验需求, 也可以在加入检测试剂后3小时内读板。

注意事项

试验中请穿着试验服并带手套做好防护工作。请按实验室安全操作规范进行实验。

本试剂 **仅供科研使用**, 请勿用于临床诊断或其他治疗用途。

V06/25