

# Neo-Glo<sup>®</sup> AMP检测试剂盒

## Neo-Glo<sup>®</sup> AMP 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
KAS002.1000	AMP GR 试剂 5 ml	200 wells	1,000 wells
	AMP 检测试剂 10 ml		
	ATP (10mM) 0.5 ml		
	ADP (10mM) 0.1 ml		
KAS002.10000	AMP GR 试剂 50 ml	2,000 wells	10,000 wells
	AMP 检测试剂 100 ml		
	ATP (10mM) 5 ml		
	ADP (10mM) 1 ml		

### 保存条件

-20°C或以下避光储存。

### 产品描述

Neo-Glo<sup>®</sup> AMP检测试剂盒可用于均相定量测定酶学实验中任何产生AMP的酶的活性，例如cAMP-特异性磷酸二酯酶(PDE)，氨基酰-tRNA合成酶，T4 DNA连接酶和泛素连接酶等。AMP的量和酶活性呈正相关，检测AMP的量即可确定酶的活性，不论酶反应中是否存在ATP，该试剂盒均可定量检测反应产生的AMP，具有适用性广、灵敏度高、检测动态范围大和不易受化合物干扰的优点。

### 实验步骤

#### 酶反应

- 在96孔或384孔白色不透明孔板中进行酶反应。建议96孔板反应体系为25  $\mu$ l，384孔板反应体系为5  $\mu$ l。可以在酶反应中加入不同浓度梯度的测试化合物。
  - 酶反应体系中的酶和底物浓度需要根据不同的酶进行优化。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酶浓度进行检测。（由于Neo-Glo<sup>®</sup> AMP检测试剂盒的灵敏度高，酶用量可以大幅降低。）
- Note:** 如果酶反应需要ATP，应使用高纯度的ATP以获得最优实验结果。一些市售的ATP可能含有ADP残余，由于Neo-Glo<sup>®</sup> AMP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 $\geq$ 99%）或其他更高纯度的ATP。
- 酶反应可以采用文献报道的反应缓冲液和辅助因子或根据特定实验设定优化后的条件。
  - 酶反应的温度和时间需根据不同酶而设定。进行化合物高通量筛选实验时，建议在室温（22°C-25°C）条件下优化酶反应，确保检测期间孔板温度均一。
  - 酶反应结束后不需要加入额外试剂终止酶反应。如果因特殊实验要求需要加入酶反应终止试剂，请避免使用镁离子螯合

剂，例如EDTA。因为本产品检测时需要镁离子参与反应，镁离子的终浓度必须至少为5mM。

### AMP到ADP的转化和ATP的去除

1. 取出 AMP GR 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及以下避光储存，以保证试剂的稳定性。

**Note 2:** 长期保存于-20°C的AMP检测试剂解冻至室温后可能会出现少许沉淀，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:** AMP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 AMP GR试剂加入以上 25 μl 96孔检测板中（总体积50 μl）或将5 μl AMP GR试剂加入5 μl 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。酶反应体系、AMP GR试剂和AMP检测试剂的体积需为1:1:2。

4. 室温孵育 40 分钟。

### 酶活性测定 (AMP检测)

1. 取出AMP检测试剂，平衡至室温。轻摇混匀。

**Note:** AMP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AMP检测试剂加入以上50 μl 96孔检测板中，或将10 μl AMP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AMP检测试剂后30-180分钟或更长时间内读取发光信号。

**Note:** 本产品发光信号非常稳定，3小时内信号强度基本不变。

### 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