

Neo-Glo® 发光法激酶活性检测试剂盒

Neo-Glo® Luminescent Kinase Assay Kit



产品规格

产品货号	规格	可检测 96 孔板孔数	可检测 384 孔板孔数
LKS001.10	10 ml	200 wells	1,000 wells
LKS001.100	100 ml	2,000 wells	10,000 wells
LKS001.500	500 ml (5×100 ml)	10,000 wells	50,000 wells
LKS001.1000	1000 ml (10×100 ml)	20,000 wells	100,000 wells

保存条件

-20℃或以下避光储存，有效期12个月。

产品描述

激酶是一类能够将 ATP 上的磷酸基团转移到特定底物蛋白上的酶，参与细胞信号传导、代谢调控、增殖与凋亡等多种生物过程。在激酶反应过程中，ATP 被消耗生成 ADP。激酶的活性和 ATP 的剩余量成反比，即激酶活性越高，ATP 剩余量越少，发光强度越低；反之，激酶活性越低，ATP 剩余量越多，发光强度越高。

Neo-Glo® 发光法激酶活性检测试剂盒可以定量检测激酶活性，适用于多种激酶的检测，激酶底物包括多肽、蛋白质、脂质和糖类等。此外，本产品可用于激酶抑制剂的高通量筛选，并能够通过调整 ATP 浓度来区分 ATP 竞争性和非竞争性抑制剂。本试剂盒可以检测反应体系中 ATP 浓度最高为 10μM，对于更高浓度的 ATP，可以使用检测浓度上限为 100μM 的增强型试剂盒 Neo-Glo® Luminescent Kinase Assay Kit (Plus)或上限为 500μM 的超强型试剂盒 Neo-Glo® Luminescent Kinase Assay Kit (Max)。

实验步骤

激酶反应

1. 在96孔或384孔白色不透明细胞培养板中进行激酶反应。建议96孔板反应体积为50 μl，384孔板反应体积为10 μl。可以在激酶反应中加入梯度浓度的测试化合物。
2. 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实验。
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，建议优化激酶反应于室温(22℃-25℃)下进行，以利于在激酶活性检测过程中保持反应板的温度均一性。

激酶活性测定

1. 取出Neo-Glo® 激酶活性检测试剂，平衡至室温，轻摇混匀。

NOTE：激酶活性检测试剂中的荧光素酶反应对温度变化敏感，试剂和实验板需要平衡到室温，测试过程温度保持恒定($\pm 1^{\circ}\text{C}$)。

2. 如果激酶反应是在非室温（如：30°C）条件下进行的，培养板需平衡至室温。

3. 将50 μl 激酶活性检测试剂加入到50 μl 96孔板中，或将10 μl 激酶活性检测试剂加到10 μl 384孔板中，振荡混匀，避光放置10分钟。

4. 读取荧光信号。由于荧光信号非常稳定，可以在加入检测试剂后 3 小时内读板。

注意事项

1. 非经严格验证，不建议随意改变反应试剂用量，激酶反应体积和Neo-Glo® 发光法激酶活性检测试剂的体积比应为1: 1。
2. 建议首次使用后分装并于-20°C储存，以保证试剂的稳定性。Neo-Glo® 发光法激酶活性检测试剂反复冻融4次信号强度无损失。
3. 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。
4. 本试剂**仅供科研使用**，请勿用于临床诊断或其他治疗用途。

V02/25