

# Neo-Glo® 发光法激酶活性检测试剂盒 (增强型)

## Neo-Glo® Luminescent Kinase Assay Kit (Plus)



### 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
LKS002.10	10 ml	200 wells	1,000 wells
LKS002.100	100 ml	2,000 wells	10,000 wells
LKS002.500	500 ml (5×100 ml)	10,000 wells	50,000 wells
LKS002.1000	1000 ml (10×100 ml)	20,000 wells	100,000 wells

### 保存条件

-20°C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 (增强型)** 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 100 $\mu$ M, 对于更低或更高浓度的 ATP, 可以使用检测浓度上限为 10 $\mu$ M 的 Neo-Glo® Luminescent Kinase Assay Kit 或上限为 500 $\mu$ M 的超增强型试剂盒 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  $\mu$ l, 384孔板反应体积为10  $\mu$ l。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 MgCl<sub>2</sub>) 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°C-25°C)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  $\mu\text{l}$ 激酶活性检测试剂加入到50  $\mu\text{l}$  96孔板中，或将10  $\mu\text{l}$ 激酶活性检测试剂加到10  $\mu\text{l}$  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