

## Kinase-Lumi™超强型化学发光法激酶活性检测试剂盒

产品编号	产品名称	包装
S0158S	Kinase-Lumi™超强型化学发光法激酶活性检测试剂盒	1000次
S0158M	Kinase-Lumi™超强型化学发光法激酶活性检测试剂盒	10000次

### 产品简介:

- Kinase-Lumi™超强型化学发光法激酶活性检测试剂盒(Kinase-Lumi™ Max Luminescent Kinase Assay Kit), 是一种通过化学发光法测定激酶反应后溶液中ATP的剩余量(最高可达200μM)来定量检测激酶活性的试剂盒。本试剂盒也可用于检测任何消耗ATP的酶, 例如ATPase。
- 本试剂盒可以检测反应体系中浓度高达200μM的ATP, 并在0-200μM范围内有良好的线性关系。对于更低浓度的ATP可以选购检测浓度上限为10μM的Kinase-Lumi™化学发光法激酶活性检测试剂盒(Kinase-Lumi™ Luminescent Kinase Assay Kit)或上限为50μM的Kinase-Lumi™增强型化学发光法激酶活性检测试剂盒(Kinase-Lumi™ Plus Luminescent Kinase Assay Kit)。另外两个试剂盒分别在0-10μM和0-50μM范围内有良好的线性关系。对于更高浓度的ATP需要适当稀释后再进行检测。
- 本试剂盒应用范围广, 适用于各类消耗ATP的激酶, 包括以蛋白或多肽为底物的蛋白激酶和以糖、脂、醇等为底物的非蛋白激酶。本试剂盒也同样适用于检测消耗ATP的ATPase。
- 本试剂盒的检测激酶活性的原理参考图1。激酶在反应过程中催化ATP上的磷酸基团转移到底物的羟基上, 从而使ATP转变为ADP, 这样就可以根据ATP的减少量来定量激酶的活性。借助ATP依赖的萤光素酶(也称萤光素酶)催化的萤光素发光反应, ATP可以通过测定化学发光来进行定量。这样就可以通过设置ATP的标准曲线, 来定量激酶反应体系中的ATP剩余量, 从而计算出ATP的消耗量, 最终计算出激酶的活性。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, 发光值越低; 反之, 激酶活性越低, ATP剩余量越多, 发光值越高。

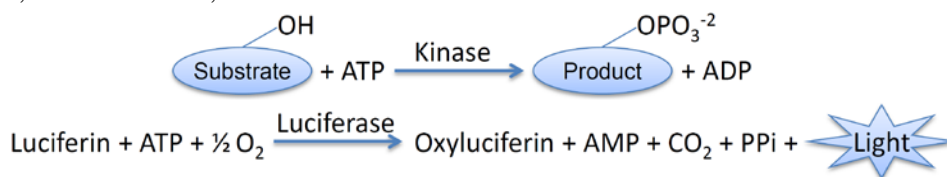


图1. 本试剂盒检测激酶活性的原理图。

- 本试剂盒的使用非常便捷, 对于待测样品仅需加入等体积的检测试剂即可完成检测反应, 并且检测反应可以仅在一个孔内完成。本试剂盒不仅适合少量样品的检测, 也非常适合大量样品的高通量筛选(high-throughput screening)检测。
- 本试剂盒不仅操作特别方便, 并且由于使用了热稳定的萤火虫萤光素酶并对反应体系进行了优化, 检测体系的发光信号也非常稳定。加入检测试剂后10分钟即可产生非常稳定的化学发光, 30分钟内化学发光的下降通常不会超过10%。
- 对于96孔板, 我们推荐使用50μl激酶反应体系和50μl的检测试剂, 总体积为100μl, 此时本试剂盒可以进行200或2000次检测。对于384孔板, 我们推荐使用10μl激酶反应体系和10μl的检测试剂, 总体积为20μl, 此时本试剂盒可以进行1000或10000次检测。也可以用其它体积, 但激酶反应体积和检测试剂体积的比例必须为1:1。

### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
S0158S-1	Kinase-Lumi™超强型化学发光法激酶活性检测试剂	10ml
S0158S-2	0.5mM ATP	0.2ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
S0158M	Kinase-Lumi™超强型化学发光法激酶活性检测试剂盒	S0158S×10
—	说明书	1份

### 保存条件:

-20℃保存, 半年有效。-80℃保存, 一年有效。检测试剂需避光保存。

### 注意事项:

- 本试剂盒的检测试剂中含有萤光素酶，反复冻融会导致其逐渐失活。为取得较好的使用效果，第一次解冻后可适当分装，且分装后的检测试剂冻融次数不宜超过3次。反复冻融过程中，可能会导致检测试剂中出现少量沉淀，此时宜平衡至室温，并尽量溶解。如仍有残留的不溶物，可以离心去除后使用，经测试不会影响后续的检测效果。
- 建议激酶或ATPase的反应尽量在室温(约25°C)进行，如果不是在室温进行，需把样品平衡至室温才能用本试剂盒检测。
- 试剂盒中提供的ATP仅足够用于标准曲线的检测，用于激酶反应的ATP需自备。
- 检测时需使用白色或黑色的96孔板或384孔板。如果使用普通透明的96孔板或384孔板，相邻孔之间会产生相互干扰。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 使用说明：

### 1. 需要用户自己准备的器材和试剂：

- 白色或黑色的96孔板或384孔板，以及适合96孔或384孔板检测的具有化学发光检测功能的多功能酶标仪；或者可以进行单个样品化学发光检测的化学发光仪(luminometer)及配套可以用于样品检测的适当容器，如离心管、酶标条管等。
- 待检测的激酶、激酶底物、激酶反应用ATP和激酶反应缓冲液。

### 2. 试剂准备

- 激酶催化的反应结束后可立即进行ATP检测，也可-80°C冻存后再检测。样品检测前需平衡至室温(约25°C)，并混匀。
- 检测试剂使用前需平衡至室温，并混匀后使用。

### 3. 激酶活性检测

以下是96孔板推荐检测体系，384孔板等可以参考96孔板的检测体系进行：

- 激酶反应：**在激酶反应体系中，加入适量的反应缓冲液、激酶底物、ATP和激酶，总体积为50 $\mu$ l，反应适当时间。ATP的用量和反应的时间以使20-90%ATP转化为ADP为宜，以使30-70%ATP转化为ADP为更佳。具体的反应条件，需根据特定的激酶，参考文献资料自行摸索。
- ATP标准曲线设置：**设置0、1、2、4、8、16、32、64、128、200 $\mu$ M标准品孔(标准品孔中ATP的最高浓度可以根据激酶反应体系中的ATP浓度自行调整)，每孔50 $\mu$ l。ATP用激酶反应缓冲液稀释。
- 在样品孔和标准品孔中，加入50 $\mu$ l Kinase-Lumi™超强型化学发光法激酶检测试剂，混匀。
- 室温(约25°C)反应10分钟，然后用多功能酶标仪进行化学发光检测。请根据仪器要求设置相应的参数，每个孔的检测时间一般为0.25-1秒或更长时间，具体需根据仪器的检测灵敏度进行适当的调整。
- 根据标准曲线计算出样品孔中剩余的ATP量，随后根据酶活力的定义计算出酶活性。ATP标准曲线可以参考图2，在0-200 $\mu$ M范围内存在良好的线性关系。

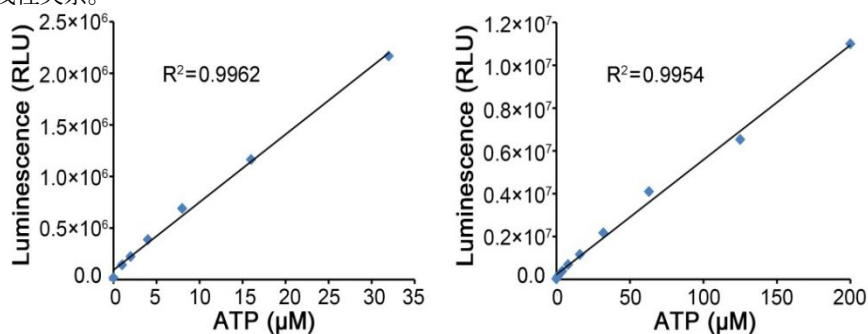


图2. 化学发光法激酶活性检测试剂盒ATP标准曲线。实测数据会因检测仪器等的不同而存在差异，图中数据仅供参考。

## 补充说明：

### 关于激酶反应条件的优化

- 关于ATP浓度：**筛选激酶抑制剂时，使用低浓度的ATP(10 $\mu$ M或更小)，适合优先筛选出ATP竞争性抑制剂。如果需要优先筛选ATP非竞争性抑制剂，建议使用较高浓度的ATP。一旦ATP浓度改变，酶和底物浓度以及反应温度和孵育时间都要相应再进行优化。
- 关于底物浓度：**通常底物宜处于过量的条件，实际用量以确保激酶加入孔和未加入激酶孔的最终化学发光值差别最大为佳。可以通过设置底物的浓度梯度进行摸索。
- 关于激酶用量：**激酶用量也可以通过设置激酶的剂量梯度进行摸索，并先尝试把反应时间相对固定在10或20分钟等。激酶用量和反应时间，以使ATP含量的变化为30-70%为最佳。

## 常见问题：

### 1. Luminometer和荧光分光光度计有何不同？

荧光分光光度计检测的样品本身不能发光，样品需要由特定波长的激发光激发，然后才能产生荧光并被荧光分光光度计检测。Luminometer检测的样品本身可以发光，不需要激发光进行激发。也就是说luminometer是检测化学发光(萤光)的仪器。有些型号的荧光分光光度计也具有luminometer的功能，即也可以检测化学发光。您所使用的荧光分光光度计能否用于化学发光的测定请仔细阅读该仪器的说明书。

### 2. 可以进行萤光素酶报告基因检测的仪器是否就可以用于本试剂盒的检测？

是。萤光素酶报告基因的检测原理和本试剂盒的原理相同，可以用相同的仪器测定。

相关产品：

产品编号	产品名称	包装	ATP检测上限
S0150S	Kinase-Lumi™化学发光法激酶活性检测试剂盒	1000次	10μM
S0150M	Kinase-Lumi™化学发光法激酶活性检测试剂盒	10000次	10μM
S0155S	Kinase-Lumi™增强型化学发光法激酶活性检测试剂盒	1000次	50μM
S0155M	Kinase-Lumi™增强型化学发光法激酶活性检测试剂盒	10000次	50μM
S0158S	Kinase-Lumi™超强型化学发光法激酶活性检测试剂盒	1000次	200μM
S0158M	Kinase-Lumi™超强型化学发光法激酶活性检测试剂盒	10000次	200μM

Version 2017.10.10