

NBA-Glo™ Luminescent Kinase Assay

NBA-Glo™ 激酶发光检测试剂盒说明书

(L3001, L3002, L3003)

NBA-Glo™ Luminescent Plus Kinase Assay

NBA-Glo™ 激酶 Plus 发光检测试剂盒说明书

(L3101, L3102, L3103)

NBA-Glo™ Luminescent Max Kinase Assay

NBA-Glo™ 激酶 Max 发光检测试剂盒说明书

(L3201, L3202, L3203)

一. 产品描述

NBA-Glo™ 激酶发光检测试剂盒可以定量测定酶学实验中激酶的活性。该试剂盒通过定量检测激酶反应后剩余 ATP 的数量以确定激酶的活性：剩余 ATP 的数量和激酶活性呈负相关。使用 NBA-Glo™ 激酶发光检测试剂盒时激酶反应中的 ATP 浓度最高可至 10μM，使用 NBA-Glo™ 激酶 Plus 发光检测试剂盒时激酶反应中的 ATP 浓度最高可至 100μM，而使用 NBA-Glo™ 激酶 Max 发光检测试剂盒时激酶反应中的 ATP 浓度最高可至 500μM。该试剂盒可以检测多数激酶，激酶底物包括多肽，蛋白，脂或糖等。该试剂盒可用于激酶抑制物的高通量均相筛选，并可以通过调整 ATP 浓度区分 ATP 竞争性和非竞争性抑制物。

二. 产品组成

NBA-Glo™ 激酶发光检测试剂盒产品组成: 荧光素酶，荧光素，缓冲液混合后灌装于 10 ml 或 100 ml 的棕色瓶中，规格如下：

目录号	规格	96-孔板反应数	384-孔板反应数
L3001	10 ml	200	1,000
L3002	100 ml	2,000	10,000
L3003	10 x 100 ml	20,000	100,000

NBA-Glo™ 激酶 Plus 发光检测试剂盒产品组成: 荧光素酶, 荧光素, 缓冲液混合后灌装于 10 ml 或 100 ml 的棕色瓶中, 规格如下:

目录号	规格	96-孔板反应数	384-孔板反应数
L3101	10 ml	200	1,000
L3102	100 ml	2,000	10,000
L3103	10 x 100 ml	20,000	100,000

NBA-Glo™ 激酶 Max 发光检测试剂盒产品组成: 荧光素酶, 荧光素, 缓冲液混合后灌装于 10 ml 或 100 ml 的棕色瓶中, 规格如下:

目录号	规格	96-孔板反应数	384-孔板反应数
L3201	10 ml	200	1,000
L3202	100 ml	2,000	10,000
L3203	10 x 100 ml	20,000	100,000

三. 实验步骤

1. 激酶反应

- 1) 在 96 孔或 384 孔白不透明实验板中进行激酶反应。建议 96 孔板反应体积为 50μL, 384 孔板反应体积为 10μL。可以在激酶反应中加入浓度梯度的测试化合物。
- 2) 激酶反应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实验。
- 3) ATP 的浓度: NBA-Glo™ 激酶发光检测试剂盒最高可至 10μM, NBA-Glo™ 激酶 Plus 发光检测试剂盒最高可至 100μM, NBA-Glo™ 激酶 Max 发光检测试剂盒最高可至 500μM。
- 4) 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。

- 5) 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)进行，以利于在 NBA-Glo™ 激酶活性测定过程中保持实验板的温度均一性。

2. 激酶活性测定

- 1) 取出 NBA-Glo™ 激酶发光检测试剂，平衡至室温。轻摇混匀。激酶活性发光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(±1°C)。
- 2) 如果激酶反应是在非室温，例如 30°C 进行的，实验板需平衡至室温。
- 3) 加 50 µL 的激酶发光检测试剂到 50 µL 96-孔实验板中, 或 10 µL 激酶发光检测试剂到 10 -µL 384 孔实验板中，振荡混匀，放置暗处 10 分钟。
- 4) 读取荧光信号。由于荧光信号非常稳定，如有需要，可以在加入检测试剂后 3 小时内读板。

四. 运输和储存条件

干冰运输。-20°C 及以下避光储存，有效期 12 个月。

五. 其它注意事项

- 1) 非经严格验证，不建议随意改变反应试剂用量。激酶反应和 NBA-Glo™ 激酶发光检测试剂的体积比应为 1: 1。
- 2) 首次使用 NBA-Glo™ 激酶发光检测试剂后应分装并于负 20°C 储存，保证试剂的稳定性。NBA-Glo™ 激酶发光检测试剂反复冻融 4 次信号强度无损失。
- 3) 本产品仅作科研用途。