



产品使用说明书

Rhinogen[®] Kinase-Turbo[™] 激酶活性 检测试剂盒

货号：RA-GL13、RA-GL14、RA-GL15



目录

产品信息	2
试剂包装	2
保藏条件	2
产品综述	3
背景	3
概述	3
应用	4
特性	5
操作方法	6
操作简介	6
所需自备材料	6
确定最佳底物浓度	6
确定激酶的最佳量	7
确定 ATP 的最佳浓度	7
注意事项	7
相关产品	8
联系我们	9
参考文献	9

产品信息

试剂包装

Rhinogen® Kinase-Turbo™ 激酶活性检测试剂盒包装规格如下：

试剂名称	货号	规格
Kinase-Turbo™ 激酶活性检测试剂	RA-GL13-A	10ml
	RA-GL13-B	10×10ml

Rhinogen® Kinase-Turbo™ Plus 激酶活性检测试剂盒包装规格如下：

试剂名称	货号	规格
Kinase-Turbo™ Plus 激酶活性检测试剂	RA-GL14-A	10ml
	RA-GL14-B	10×10ml

Rhinogen® Kinase-Turbo™ Max 激酶活性检测试剂盒包装规格如下：

试剂名称	货号	规格
Kinase-Turbo™ Max 激酶活性检测试剂	RA-GL15-A	10ml
	RA-GL15-B	10×10ml

保藏条件

置于-20℃保存。试剂使用前请恢复至室温，复溶后置室温使用。为了保证产品稳定性，复溶后的试剂请立即使用。避免试剂反复冻融。

产品综述

背景

蛋白激酶是药物发现中最重要的类别之一，它们在多种细胞事件的调节中起着至关重要的作用，已知至少有 1200 种蛋白激酶参与细胞功能的调节。激酶既作为跨膜酶又作为胞质酶存在，它们磷酸化丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸氨基酸残基，基于这些底物特异性，激酶分为两组，丝氨酸/苏氨酸激酶和酪氨酸激酶。

激酶通过磷酸化其各自的下游特定底物蛋白来发挥其作用，它们催化 ATP 或 GTP 的 γ -磷酸转运到底物蛋白中丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸的羟基或脂质中的糖基部分，并启动一系列激活控制事件，包括细胞的生长、分化、分裂和肿瘤促进。细胞中激酶缺乏受控活性被认为是造成所有主要人类病理状况的原因，例如癌症、心血管疾病、神经退行性疾病和代谢紊乱，因此它已在广泛研究中被用作肿瘤治疗的靶点。

概述

Kinase-Turbo™ 激酶活性检测试剂盒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，从而进行定量来检测激酶活性的试剂盒。激酶在反应过程中会催化 ATP 上的磷酸基团转移到底物的羟基上，从而使 ATP 转变为 ADP，以此根据 ATP 的减少量来定量激酶的活性（如图 1）。本试剂盒借助 ATP 依赖的荧光素酶催化的荧光素发光反应，通过化学发光信号测定细胞内 ATP 含量。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 量，从而计算 ATP 的减少量，最终计算出激酶的活性。激酶的活性与 ATP 剩余量成反比，即 ATP 剩余量越少，发光值越低，激酶活性就越高；若 ATP 剩余量越多，发光值就越高，激酶活性则越低。

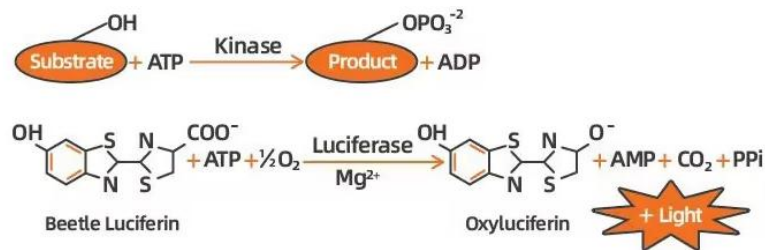


图 1. 检测原理图

Kinase-Turbo™ 激酶活性检测试剂盒（货号：RA-GL13）可以适用最高浓度为 10 μ M 的 ATP，且在 0-10 μ M 范围内线性呈现良好（如图 2）；Kinase-Turbo™ Plus 激酶活性检测试剂盒（货号：RA-GL14）可以适用最高浓度为 100 μ M 的 ATP，并在 0-100 μ M 范围内线性呈现良好（如图 3）；Kinase-Turbo™ Max 激酶活性检测试剂盒（货号：RA-GL15）可以适用最高浓度为 500 μ M 的 ATP，在 0-500 μ M 范围内线性呈现良好（如图 4）。

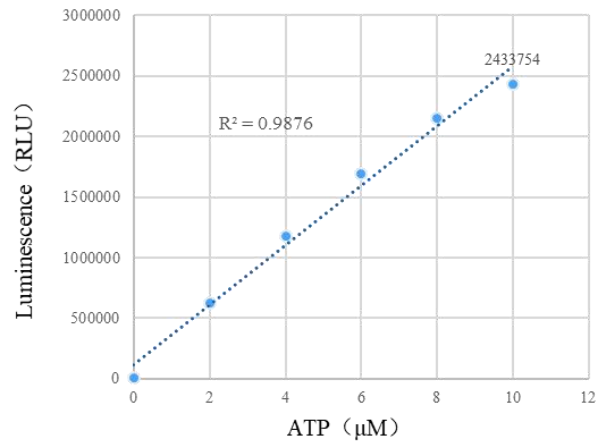


图 2. ATP 浓度为 10μM 线性情况 (货号: RA-GL13)

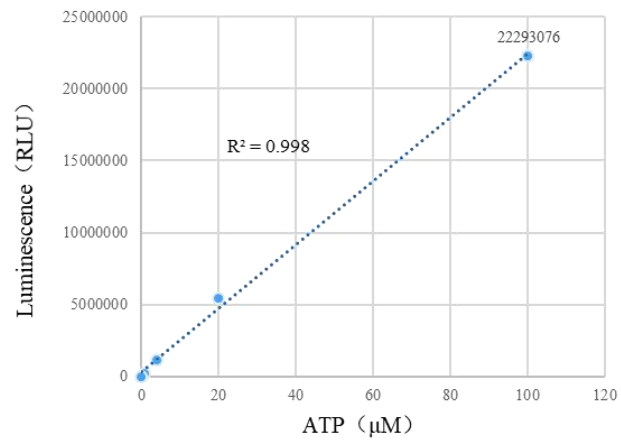


图 3. ATP 浓度为 100μM 线性情况 (货号: RA-GL14)

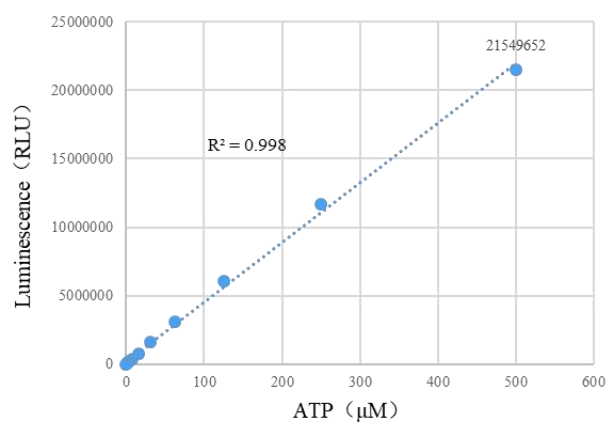


图 4. ATP 浓度为 500μM 线性情况 (货号: RA-GL15)

应用

可用于检测蛋白质、脂质和糖等物质的激酶活性，适用多种激酶和激酶底物组合检测。

特性

1. 可使用较高的 ATP 浓度：线性响应高达 500 μ M ATP；
 2. 可以检测多种激酶和激酶底物组合，包括肽、蛋白质、脂质和糖底物；
 3. 可在不处理底物的情况下直接进行分析；
 4. 进行批量处理，高度稳定的发光信号，3 小时左右仍能保持 50%以上的信号；
 5. 可检测已知激酶抑制剂，且能区分 ATP 竞争性和 ATP 非竞争性激酶抑制剂；
 6. 用这种快速、均匀、无放射性的检测方法筛选大量文库化合物。
-

操作方法

操作简介 本试剂盒操作简单方便，将适量的激酶反应缓冲液、激酶底物、ATP 和激酶加入 96 孔白板中（建议总体积为 50 μ l），反应适宜时间后加入与激酶反应体积相等的激酶活性检测试剂，即 RA-GL13 / RA-GL14 / RA-GL15（加入激酶活性检测试剂可根据 ATP 浓度自行选定），振荡混匀后室温（22-25 $^{\circ}$ C）孵育 10 分钟产生稳定的化学发光，放入酶标仪进行化学发光读值。

所需自备材料

1. 激酶；
2. 激酶底物；
3. ATP；
4. 激酶反应缓冲液；
5. 多孔白板；
6. 多通道移液管或自动移液站；
7. 振荡器；
8. 化学发光酶标仪。

确定最佳底物浓度

1. 使用尽可能多的激酶、适量激酶反应缓冲液和所需浓度的 ATP，在 96 孔白板上连续稀释成多梯度激酶底物浓度。作为对照，在没有激酶的情况下进行相同的滴定。将 96 孔白板震荡后孵育适当的时间；
注：如果激酶反应不是在室温下进行的，则在加入激酶活性检测试剂前，将 96 孔白板平衡至室温。
2. 向每个孔中加入与激酶反应体积相等的激酶活性检测试剂；
注：激酶活性检测试剂（即 RA-GL13 / RA-GL14 / RA-GL15）的选择取决于测定中的 ATP 浓度。
3. 将 96 孔白板震荡混匀溶液，并在室温（22-25 $^{\circ}$ C）下孵育 10 分钟以稳定发光信号；
注：若有需要，在读数之前可将 96 孔白板放置室温下孵育至 30 分钟左右。
4. 记录发光值；
5. 将激酶反应孔与对照孔进行比较，发光值变化量最大，即激酶底物浓度最佳。

确定激酶的最佳量

1. 使用所需量的 ATP、激酶反应缓冲液和激酶底物，在 96 孔白板上设置多梯度的激酶量。将 96 孔白板震荡使内容物混匀，并孵育适当的时间。建议反应在室温下进行，以避免形成温度梯度；
注：如果激酶反应不是在室温下进行的，则在加入激酶活性检测试剂前，将 96 孔白板平衡至室温。
2. 向每个孔中加入与激酶反应体积相等的激酶活性检测试剂；
注：激酶活性检测试剂（即 RA-GL13 / RA-GL14 / RA-GL15）的选择取决于测定中的 ATP 浓度。
3. 将 96 孔白板震荡混匀溶液，并在室温（22-25°C）下孵育 10 分钟以稳定发光信号；
注：若有需要，在读数之前可将 96 孔白板放置室温下孵育至 30 分钟左右。
4. 记录发光值。

确定 ATP 的最佳浓度

1. 使用所需量的激酶、激酶反应缓冲液和激酶底物，在 96 孔白板上设置不同梯度 ATP 浓度。将 96 孔白板震荡使内容物混合，并孵育适当的时间。建议反应在室温下进行，以避免形成温度梯度；
注：如果激酶反应不是在室温下进行的，则在加入激酶活性检测试剂前，将 96 孔白板平衡至室温。
2. 向每个孔中加入与激酶反应体积相等的激酶活性检测试剂；
注：激酶活性检测试剂（即 RA-GL13 / RA-GL14 / RA-GL15）的选择取决于测定中的 ATP 浓度。
3. 将 96 孔白板震荡混匀溶液，并在室温（22-25°C）下孵育 10 分钟以稳定发光信号；
注：若有需要，在读数之前可将 96 孔白板放置室温下孵育至 30 分钟左右。
4. 记录发光值。

注意事项

- ✓ 建议使用适用于发光测量的标准白色多孔板，如：96 孔白板（货号：RA-HC01）；
- ✓ 建议加入试剂前，将白色孔板和试剂平衡至室温；
- ✓ 用于重悬所测试的各种化合物的一些溶剂可能会干扰荧光素酶反应，从而干扰测定的光输出。二甲基亚砜（DMSO），通常用作溶解有机化学物质的载体，在试验中以高达 2% 的最终浓度进行了测试，对光输出的影响最小；
- ✓ 可以根据具体需要调整实际使用的体积。

相关产品

产品名称	货号
Bio-Glory™ One-Step 萤火虫荧光素酶分析试剂盒	RA-GL04
Bio-One™ One-Step 萤火虫荧光素酶分析试剂盒	RA-GL05
Bio-Steady™ One-Step 萤火虫荧光素酶分析试剂盒	RA-GL06
Bio-Bright™ One-Step 萤火虫荧光素酶分析试剂盒	RA-GL07
Cell Titer Turbo 2.0 Luminescent Cell Viability Assay	RA-GL11-A
Cell Titer Turbo 3D Luminescent Cell Viability Assay	RA-GL12-A

联系我们

如果您需要帮助，我们的客户支持专家可以通过电话和 email 为您提供帮助：

- 电 话：[+86 \(0\)21-60878333-8093](tel:+86(0)21-60878333-8093)
 - 技术支持：bio@titansci.com
-

参考文献

1. Baki, A. et al. (2007) A high throughput luminescent assay for glycogen synthase kinase-3 β inhibitors. *Assay Drug Dev. Technol.* 5, 75–84.
 2. Kashem, M.A. et al. (2006) Three mechanistically distinct kinase assays compared: Measurement of intrinsic ATPase activity identified the most comprehensive set of ITK inhibitors. *J. Biomol. Screen.* 12, 70–83.
-

RHINO BIO



上海瑞诺生物科技有限公司
苏州瑞特佰生物科技有限公司
网 址: www.rhinobio.com
电 话: 0512-87663137
邮 箱: techserv@rhinobio.com



公众号



联系客服

