

## キナーゼアッセイスクリーニングキット

# Fluorospark® Kinase/ADP Multi-Assay Kit

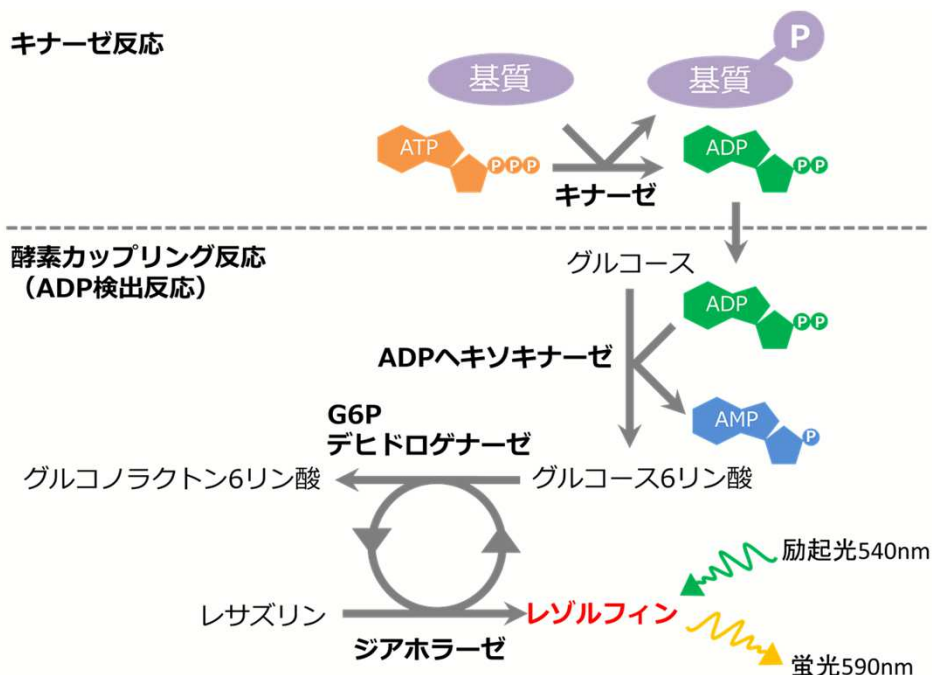
- ✓ 優れたZ'-factor（データのバラつきが少ない）
- ✓ ワンステップ反応で短時間測定
- ✓ エンドポイント & リアルタイムアッセイに対応
- ✓ 低コスト

### <Fluorospark® Kinase/ADP Multi-Assay Kit 参考情報>

- 1) Kumagai, K. et al.: *Anal. Biochem.*, **447**, 146–155 (2014).
- 2) 東京大学創薬機構 webサイト <http://www.ddi.u-tokyo.ac.jp/>

Fluorospark® Kinase/ADP Multi-Assay Kit は、High throughput screening（HTS）に必要な高感度、高精度、低コスト、簡便性を満たすADP蛍光測定キットです。さらに、本キットはキナーゼに限らず、ATPアーゼ、アセチル-CoAカルボキシラーゼなど、ADP生成を伴う酵素の活性測定にも応用できます。

## Fluorospark® Kinase/ADP Multi-Assay Kit 概要

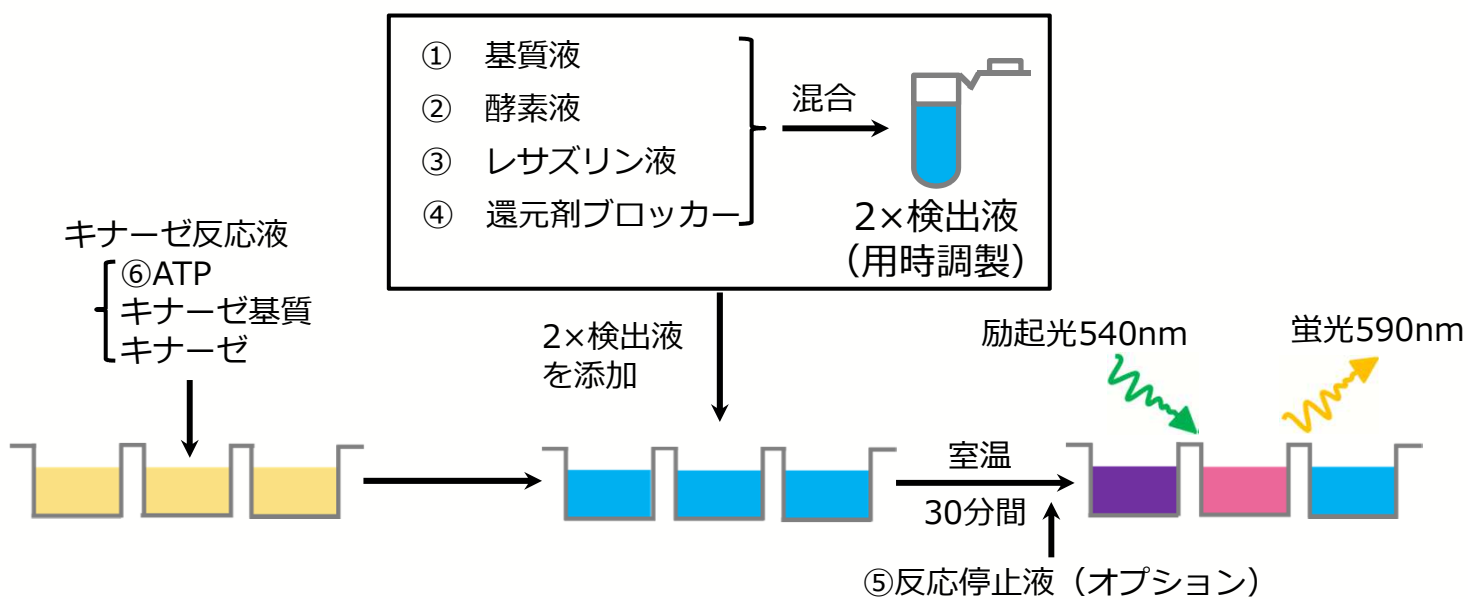


本キットは、キナーゼ反応で生じたADPを、3種類の酵素による酵素カップリング反応により蛍光物質レゾルフィンへと変換します。そのため、レゾルフィンの蛍光強度を指標としてADPを定量することで、キナーゼ活性を測定することができます。

# Fluorospark® Kinase/ADP Multi-Assay Kit プロトコール

## キット構成

- ① 基質液
  - ② 酵素液
  - ③ レサズリン液
  - ④ 還元剤ブロッカー
  - ⑤ 反応停止液・・・カップリング反応の停止
  - ⑥ 10mmol/L ATP溶液・・・キナーゼ基質、検量線用
  - ⑦ 10mmol/L ADP溶液・・・検量線用
- } 2×検出液の調製



2×検出液を調液して添加するだけでキナーゼ活性を測定できます。

## Fluorospark® Kinase/ADP Multi-Assay Kit 従来法（発光）との比較

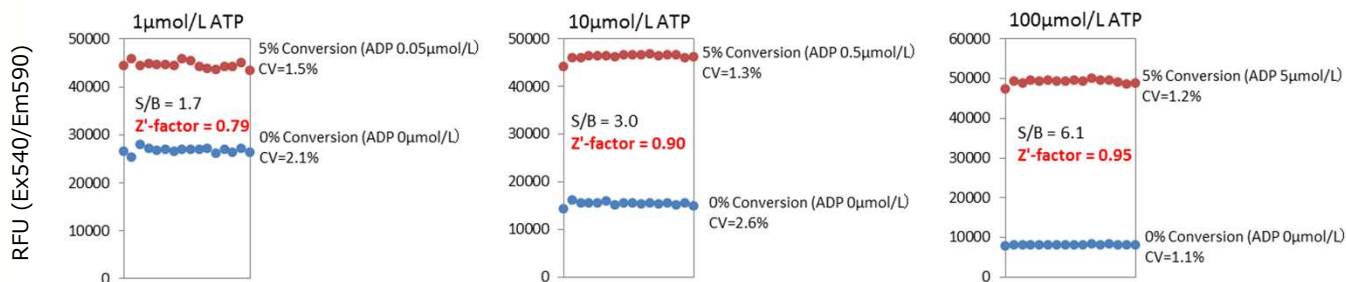
試薬名	Fluorospark® Kinase	従来発光法 (A社)
原理	ADP定量 (蛍光) (生成ADPを直接定量)	ADP定量 (発光) (生成ADPをATPに変換して定量)
操作手順	<b>分注ステップ1回</b>	分注ステップ2回
所要時間	<b>30分</b>	70~100分
ADPの定量範囲	~30 μmol/L	~1 mmol/L
価格	<b>低コスト</b>	高コスト
利点	<b>Z'-factorが高い</b> <b>リアルタイム・アッセイが可能</b>	広いダイナミックレンジ S/B比が高い

# Fluorospark® Kinase/ADP Multi-Assay Kit Z'-factor 実測例

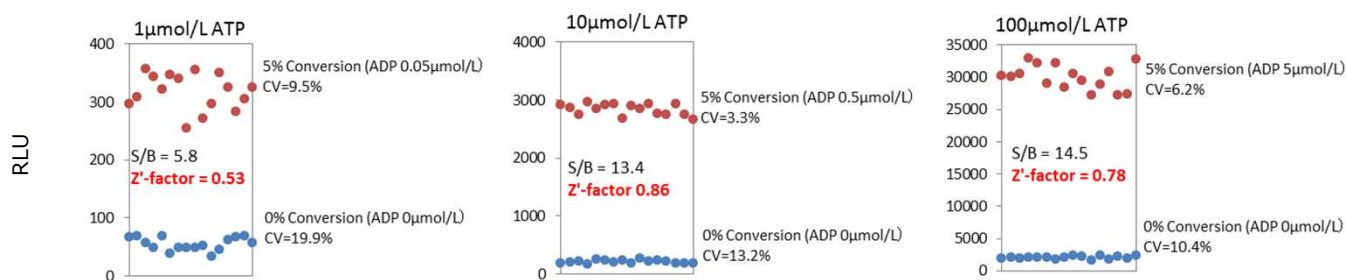
5% Conversion RateにおけるZ'-factorを比較 (ADP/ATP = 1, 10, 100 μmol/L)

## Fluorospark® Kinase

● 5% Conversion Rate ● 0% Conversion Rate



## 従来発光法 (A社)



Z'-factor : Fluorospark® Kinase > 従来発光法 (A社)

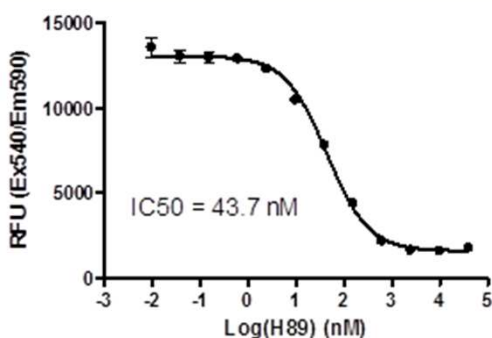
## Z'-factorとは...

スクリーニングにおけるアッセイ系の最適度を表す指標。Z'-factor =  $1 - (3 \times SD_H + 3 \times SD_L) / (A_{V_H} - A_{V_L})$  で計算される (SD<sub>H</sub>とSD<sub>L</sub>はhigh control群とlow control群の各標準偏差を、A<sub>V<sub>H</sub></sub>とA<sub>V<sub>L</sub></sub>はhigh control群とlow control群の各平均値を表す)。1に近い値となるほど感度が良く、ばらつきの少ないアッセイ系であると言える。再現性の良いHTSを行うには通常、0.5以上の値が必要。

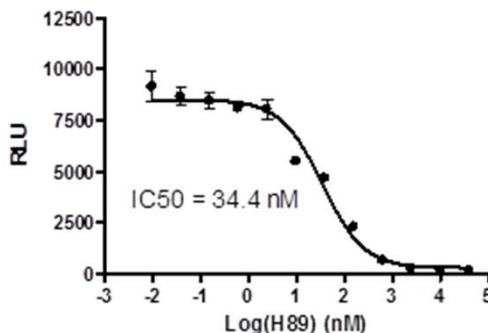
# Fluorospark® Kinase/ADP Multi-Assay Kit 阻害曲線作成

cAMP-dependent protein kinase(PKA)に対する阻害剤 H-89の阻害曲線を作成 (PKA Catalytic Subunit 0.1U, ATP 5 μmol/L, Kemptide 125 μg/mL)

## Fluorospark® Kinase

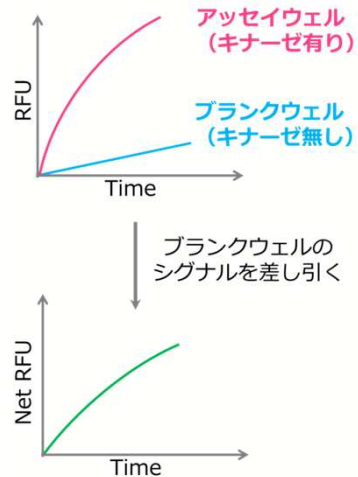
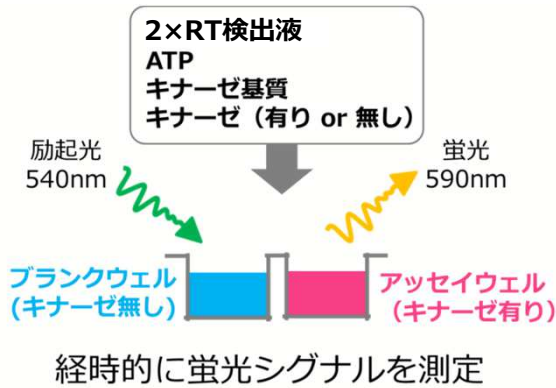


## 従来発光法 (A社)

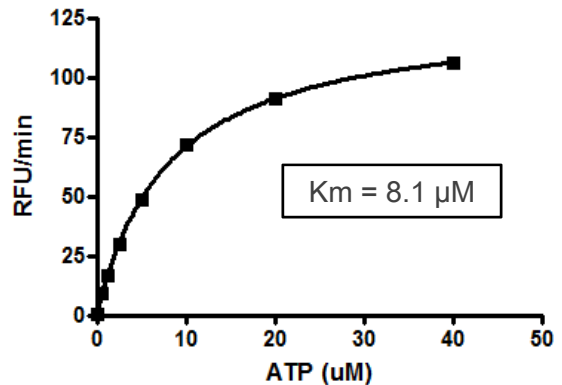
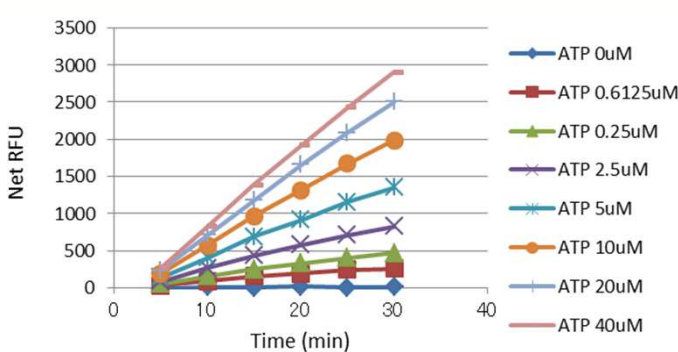


Fluorospark® Kinaseは従来発光法 (A社) とほぼ同じIC<sub>50</sub>値を得ることができます。

# Fluorospark<sup>®</sup> Kinase/ADP Multi-Assay Kit リアルタイム測定



蛍光強度を経時的に検出することで、キナーゼ活性をリアルタイムに測定できます。



リアルタイム測定により、Km値を算出することができます。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
291-77401	Fluorospark <sup>®</sup> Kinase/ADP Multi-Assay Kit <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">F</span> <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">危</span>	酵素活性測定用	1,000回用	65,000

商標について・・・Fluorospark<sup>®</sup>は富士フイルム和光純薬株式会社の登録商標です。

Ref…2~10℃保存 F…-20℃保存 80…-80℃保存 表示が無い場合は室温保存です。  
 特定 毒1…特定毒物 毒2…毒物 劇1 劇2 劇3…劇物 毒…毒薬 劇…劇薬 危…危険物 精…向精神薬 特原…特定麻薬向精神薬原料 カルタヘナ…カルタヘナ法  
毒1…化審法 第一種特定化学物質 毒2…化審法 第二種特定化学物質 化兵1…化学兵器禁止法 第一種指定物質 化兵2…化学兵器禁止法 第二種指定物質  
 覚せい剤取締法…「覚せい剤原料研究者又は取扱者」の免許を取得して、ご購入に際しては、譲受証及び譲渡証による受け渡しが必要となります。関  
 国民保護法…生物・毒素兵器の製造、使用防止のため、「毒素等」を試験研究用に使用することを確認する証を頂戴しております。毒薬等  
 上記以外の法律及び最新情報は、siyaku.com (<https://www.siyaku.com/>) をご参照下さい。

- 本文に記載しております試薬は、試験・研究の目的にのみ使用されるもので、「医療品」、「食品」、「生活用品」などとして使用できません。
- 希望納入価格には消費税等が含まれておりません。

## 富士フイルム 和光純薬株式会社

本 社 〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号 TEL 06-6203-3741 (代表)  
 東京本店 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町二丁目4番1号 TEL 03-3270-8571 (代表)

- 九州営業所
- 中国営業所
- 東海営業所
- 横浜営業所
- 筑波営業所
- 東北営業所
- 北海道営業所

フリーダイヤル 0120-052-099  
 フリーファックス 0120-052-806  
 試薬URL: <https://labchem.wako-chem.co.jp>

■FUJIFILM Wako Chemicals U.S.A. Corporation 1600 Bellwood Road, Richmond, VA 23237, USA TEL:+1-804-714-1920 FAX:+1-804-271-7791  
 ■FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH Fuggerstraße 12, 41468 Neuss, Germany TEL:+49-2131-311-0 FAX:+49-2131-311-100

Online Catalog: [www.e-reagent.com](http://www.e-reagent.com)