

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-D007

产品规格: 96T

检测仪器: 荧光酶标仪(激发波长 360 nm, 发射波长 460 nm)

Elabscience®二肽基肽酶 4(DPP4)抑制剂筛选测试盒

Dipeptidyl Peptidase IV (DPP4) Inhibitor

Screening Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话: 400-999-2100

邮箱: biochemical@elabscience.cn

网址: www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于筛选作用于二肽基肽酶 4(DPP4)的化合物样本抑制活性。

检测原理

二肽基肽酶 4(Dipeptidyl peptidase 4, DPP4), 又称为 CD26, 是一种丝氨酸蛋白酶, 能够分解肽链 N 端的第二位的脯氨酸或者丙氨酸残基的肽键。在生物体内 DPP4 能够快速分解肠促胰素, 肠促胰素能够稳定胰岛素水平, 促进生物体血糖水平降低。本试剂盒的检测原理为 DPP4 能够分解底物释放荧光物质 AMC, 加入 DPP4 抑制剂可抑制该酶活, 通过荧光值大小可判断抑制剂的抑制能力。

提供试剂和物品

| 编号 | 名称 | 规格 (Size)(96 T) | 保存方式 (Storage) |
|--------------------|---|--------------------|--------------------|
| 试剂一 (Reagent 1) | 缓冲液 (Buffer Solution) | 25 mL×1 瓶 | -20℃ 保存 6 个月 |
| 试剂二 (Reagent 2) | 酶试剂 (Enzyme Reagent) | 粉剂×4 支 | -20℃ 避光 保存 6 个月 |
| 试剂三 (Reagent 3) | 底物 (Substrate) | 1.2 mL×2 支 | -20℃ 避光 保存 6 个月 |
| 试剂四 (Reagent 4) | 1 mmol/L 西他列汀 (1 mmol/L Sitagliptin) | 0.3 mL×2 支 | -20℃ 避光 保存 6 个月 |
| | 96 孔黑色酶标板 | 1 板 | |
| | 96 孔覆膜 | 2 张 | |
| | 样本位置标记表 | 1 张 | |

说明: 试剂严格按上表中的保存条件保存, 不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂, 使用前请先离心, 以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：荧光酶标仪(激发波长为 360 nm，发射波长为 460 nm)，37℃ 恒温箱

试剂准备

① 检测前，试剂二置于冰盒待用，其余试剂平衡至室温。

② 试剂二工作液的配制：

取一支试剂二用0.6 mL双蒸水溶解，2-8℃避光可保存1天。

③ 反应工作液的配制：

按试剂三：试剂一体积比=1：9混匀，按需配制，反应工作液2-8℃避光可保存1天，未使用完的试剂三可分装至-20℃避光保存，避免反复冻融。

④ 100 μmol/L 西他列汀的配制：

按试剂四：试剂一体积比=1：9混匀，按需配制，2-8℃避光可保存3天。未使用完的试剂四可分装至-20℃避光保存，避免反复冻融。注：此试剂为 DPP4 专一性抑制剂，用户可根据情况选择使用。

样本准备

样本处理

化合物样本选用适合溶剂进行溶解，建议先用 DMSO 配成高浓度母液，再用双蒸水稀释至所需浓度（高浓度 DMSO 会对体系酶活产生影响，建议化合物溶液中 DMSO 的浓度需低于 10%）。

实验关键点

① 试剂准备过程注意避光。

② 加样完成后，可稍微振荡酶标板使反应试剂混合均匀。

③ 加入底物后反应会立即开始，如果孔数较多，建议用排枪操作，以减小各孔间加入反应工作液的时间差而导致的误差。

操作步骤

- ① 空白孔：向相应孔中加入 20 μL 试剂一；
对照孔、测定孔：向相应孔中加入 20 μL 试剂二工作液；
- ② 向空白孔、对照孔中加入 30 μL 样本溶剂；
测定孔中加入 30 μL 待测样本。
- ③ 振板 3 s, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10 min。
- ④ 向各孔中加入 170 μL 反应工作液。
- ⑤ 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 30 min, 荧光酶标仪于激发波长 360 nm, 发射波长 460 nm 处检测各孔荧光值。

操作表

| | 空白孔 | 对照孔 | 测定孔 |
|--|-----|-----|-----|
| 试剂一(μL) | 20 | -- | -- |
| 试剂二工作液(μL) | -- | 20 | 20 |
| 样本溶剂(μL) | 30 | 30 | -- |
| 待测样本(μL) | -- | -- | 30 |
| 振板 3 s, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10 min | | | |
| 反应工作液(μL) | 170 | 170 | 170 |
| 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 30 min, 荧光酶标仪于激发波长 360 nm, 发射波长 460 nm 相同条件下, 检测各对照孔荧光值。 | | | |

结果计算

样本抑制率计算公式：

$$\text{样本抑制率}(\%) = \frac{F_{\text{对}} - F_{\text{测}}}{F_{\text{对}} - F_{\text{空}}} \times 100\%$$

注解：

$F_{\text{空}}$ ：空白孔荧光值

$F_{\text{测}}$ ：测定孔荧光值

$F_{\text{对}}$ ：对照孔荧光值

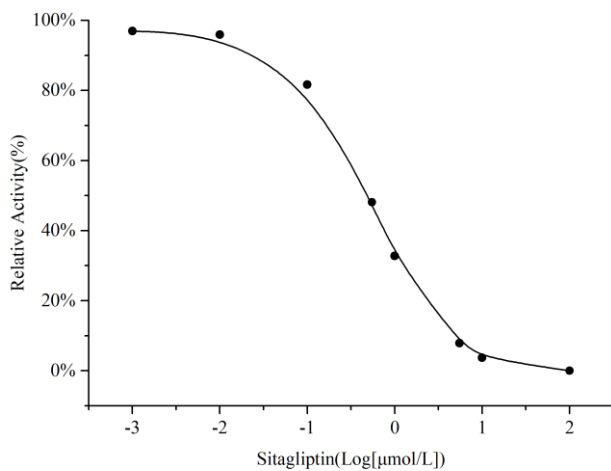
附录1 关键数据

1. 技术参数

| | | | |
|-----|-----------|-----|-----------|
| 批内差 | 0.6-2.7 % | 批间差 | 5.7-7.2 % |
|-----|-----------|-----|-----------|

2. 抑制率曲线

二肽基肽酶4 (DPP4) 抑制剂筛选试剂盒检测DPP4抑制剂西他列汀的效果图:



附录2 问题答疑

| 问题 | 可能原因 | 建议解决方案 |
|---------|-------------------|-----------------------|
| 样本荧光值偏高 | 样本稀释倍数太大, 或孵育时间不够 | 选择合适的稀释倍数, 或延长样本的孵育时间 |

声明

1. 试剂盒仅供研究使用, 如将其用于临床诊断或任何其他用途, 我公司将不对因此产生的问题负责, 亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器, 严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低, 请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中, 建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责, 不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责, 使用前请充分考虑样本可能的使用量, 预留充足的样本。

