

(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 °C 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 °C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 °C避光可保存1天，未使用完的试剂三可分装至-20 °C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 °C避光可保存3天。未使用完的试剂四可分装至-20 °C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

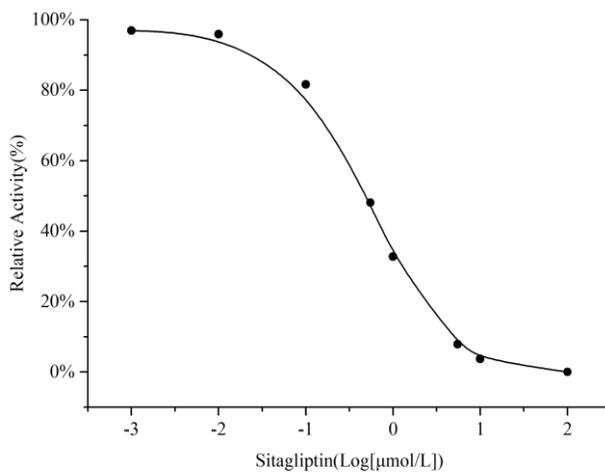
附录1 关键数据

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。

