

血管紧张素转化酶(ACE)活性检测试剂盒 Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Activity Assay Kit



















Catalog Number **AKBL017M**Storage Temperature **2-8°C**Size **100T/96S**

Microanalysis Methods

血管紧张素转化酶(ACE)活性检测试剂盒 Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Activity Assay Kit

一、产品描述

血管紧张素转化酶 (ACE) 是一种含锌二肽羧基肽酶,主要存在于肺、脑、肾等各种组织内皮细胞,其主要功能是使缓激肽失活和催化血管紧张素I转化为血管紧张素II,在血管紧张素系统中发挥着重要的调节作用,并与血压、心血管功能和水盐平衡等生理过程密切相关。

血管紧张素转化酶能够催化底物 N-[3-(2-呋喃基)丙烯酰基]-L-苯丙氨酰-甘氨酰-甘氨酸(FAPGG)水解生成呋喃丙烯酰基 L-苯丙氨酸(FAP)和双甘氨肽(GG), FAPGG 在 340 nm 处具有特征吸收峰,通过吸光值变化即可表征血管紧张素转化酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件
试剂一	液体 110 mL×1 瓶	4℃保存
试剂二	液体 20 mL×1 瓶	4℃保存

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂:紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿(光径 10 mm)/96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.粗酶液的制备(可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

- ①组织:按照组织质量(g):试剂一体积(mL)为1:(5-10)的比例(建议称取0.1g组织,加入1 mL试剂一)处理样品,冰浴匀浆,4℃12000g离心15 min,取上清置于冰上待测。
- ②细菌或细胞: 离心收集细菌或细胞至离心管内, 按照细菌或细胞数量(10⁴个): 试剂一体积(mL)为(500-1000): 1的比例(建议500万细菌或细胞加入1mL试剂一)处理样品, 冰浴超声破碎(功率200 W, 超声3 s, 间隔7 s, 总时间5 min), 4℃12000 g 离心15 min, 取上清置于冰上待测。
 - ③血清(浆)、培养液等液体样本:直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①紫外分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上,调节波长至 340 nm,蒸馏水调零。



②试验前将试剂一37℃预热10 min 以上。

③在96孔UV 板或微量石英比色皿中依次加入下列试剂:

———— 试剂	测定组	空白组
₩\ //\\\	(μL)	(μL)
粗酶液	20	-
试剂一	-	20
试剂二	180	180

吸光值测定: ①充分混匀并立即开始计时,测定 $15 \,\mathrm{s}$ 时(总时间)340 nm 处吸光值,记为 A1 测定和 A1 空白;②37°C准确反应 $300 \,\mathrm{s}$,测定 $315 \,\mathrm{s}$ 时(总时间)340 nm 处吸光值,记为 A2 测定和 A2 空白;计算 ΔA 测定=A1 测定-A2 测定、 ΔA 空白=A1 空白-A2 空白、 ΔA = ΔA 测定- ΔA 空白。注:空白组只需测定 1-2 次。

3.血管紧张素转化酶 (ACE) 活性计算

3.1 使用 96 孔 UV 板测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义: 每 mg 组织蛋白每分钟催化 1 nmol FAPGG 水解定义为一个酶活力单位。

ACE (U/mg prot) =
$$\frac{\Delta A \times V \cancel{L} \cancel{S} \times 10^9}{\varepsilon \times d_1 \times Cpr \times V \cancel{H} \times T} = \frac{5277.04 \times \Delta A}{Cpr}$$

②按组织样本质量计算

单位定义:每g组织每分钟催化1 nmol FAPGG 水解定义为一个酶活力单位。

(3)按细菌或细胞数量计算

单位定义:每104个细菌或细胞每分钟催化1 nmol FAPGG 水解定义为一个酶活力单位。

(4)按液体样本体积计算

单位定义:每 mL 液体样本每分钟催化 1 nmol FAPGG 水解定义为一个酶活力单位。

ACE (U/mL) =
$$\frac{\Delta A \times V \not \boxtimes \dot{\times} 10^9}{\varepsilon \times d_1 \times V \not \bowtie \times T}$$
 = 5277.04×ΔA

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

3.2 使用微量石英比色皿测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义:每 mg 组织蛋白每分钟催化 1 nmol FAPGG 水解定义为一个酶活力单位。

ACE (U/mg prot) =
$$\frac{\Delta A \times V \cancel{K} \cancel{S} \times 10^9}{\varepsilon \times d_2 \times Cpr \times V \cancel{H} \times T} = \frac{2638.5 \times \Delta A}{Cpr}$$

(2)按组织样本质量计算

单位定义:每g组织每分钟催化1 nmol FAPGG 水解定义为一个酶活力单位。

ACE (U/g) =
$$\frac{\Delta A \times V \cancel{L} \times V \cancel{H} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times W \times V \cancel{H} \times T} = \frac{2638.5 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义:每10⁴个细菌或细胞每分钟催化1 nmol FAPGG 水解定义为一个酶活力单位。

ACE (U/10⁴ cell) =
$$\frac{\Delta A \times V \, \angle S \times V \, \angle K \times 10^9}{\varepsilon \times d_2 \times m \, \text{菌 或细胞数 } = \times V \, \angle K \times T} = \frac{2638.5 \times \Delta A}{m \, \text{菌 函 细胞数}}$$

(4)按液体样本体积计算

单位定义:每 mL 液体样本每分钟催化 1 nmol FAPGG 水解定义为一个酶活力单位。

ACE (U/mL) =
$$\frac{\Delta A \times V \cancel{L} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V \cancel{H} \times T}$$
 = 2638.5× ΔA

注释: V样: 反应体系中加入粗酶液的体积, 0.02 mL; V 反总: 反应体系总体积, 2×10-4 L; V 样总: 粗酶液总体积, 1 mL; ε: FAPGG 在 340 nm 处摩尔消光系数, 758 L/mol/cm; d₁: 96 孔 UV 板光径, 0.5 cm; d₂: 微量石英比色皿光径, 1 cm; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 细菌或细胞数量: 以万计; T: 反应时间, 5 min; 10⁹: 单位换算系数, 1 mol=10⁹ nmol。

四、注意事项

- ①准确在规定时间点完成吸光值测定,以确保实验结果的准确性和重复性;若使用酶标仪应使用 多道移液器且分批进行检测,以确保组间反应时间一致;
- ②若 A1 测定大于 1.0 或 ΔA 测定大于 0.3,建议将粗酶液使用试剂一适当稀释后再进行测定;若 ΔA 测定小于 0.02,建议适当酶促反应时间或增加样本量后再进行测定,计算时相应修改;
- ③为保证结果准确且避免试剂损失,测定前请仔细阅读说明书(以实际收到说明书内容为准),确认试剂储存和准备是否充分,操作步骤是否清楚,且务必取2-3个预期差异较大的样本进行预测定,过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

















