



血管紧张素转化酶抑制剂活性检测试剂盒

Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



血管紧张素转化酶抑制剂活性检测试剂盒

Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor 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，血管紧张素转化酶抑制剂可减少血管紧张素II生成，增加缓激肽活性，从而成为治疗高血压、心力衰竭等疾病的理想选择。

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-苯丙氨酸-甘氨酸-甘氨酸(FAPGG) 水解生成呋喃丙烯酰基 L-苯丙氨酸 (FAP) 和双甘氨酸 (GG)，血管紧张素转化酶抑制剂可通过抑制 ACE 活性进而减少 FAPGG 的水解，FAPGG 在 340 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值的变化即可表征血管紧张素转化酶抑制剂活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 90 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	液体 27 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂三	粉剂×3 支	-20°C保存	使用前每支加入 50 μ L 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存一个月，避免反复冻融)
试剂四	粉剂×1 瓶 (5 mg 卡托普利)	RT 保存	使用前加入 4.6 mL 蒸馏水充分溶解 (即为 5 mmol/L 卡托普利，-20°C可保存一个月)
检测工作液的制备（现用现配）：根据使用量按试剂一：试剂三=199:1 的体积比配制，充分混匀即为检测工作液。			

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、1 mL 石英比色皿（光径 10 mm）、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 样本处理（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 0.1 g 组织，加入 1 mL 试剂一）处理样品，冰浴匀浆，4°C 12000 g 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(10^4 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1 mL 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°C 12000 g 离心15 min,取上清置于冰上待测。

③粉剂样本:使用试剂一配制为相应浓度的溶液。注:若粉剂样本不溶于水,建议先使用少量乙醇溶解,再使用试剂一稀释,将乙醇含量降至5%以下。

④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紫外分光光度计预热30 min以上,调节波长至340 nm,蒸馏水调零。

②若选做阳性对照或抑制剂曲线,可将5 mmol/L 卡托普利使用蒸馏水稀释至所需浓度或浓度梯度,现用现配。

③试验前将试剂二37°C预热10 min以上。

④在1 mL 石英比色皿中依次加入下列试剂:

试剂	测定管 (μ L)	空白管1 (μ L)	空白管2 (μ L)	阳性管 (μ L)
待测样本	45	-	-	-
试剂一	-	45	495	-
试剂四	-	-	-	45
试剂二	450	450	450	450
检测工作液	450	450	-	450

吸光值测定:①充分混匀并立即开始计时,测定10 s时340 nm处吸光值,记为 $A1_{\text{测定}}$ 、 $A1_{\text{空白1}}$ 、 $A1_{\text{空白2}}$ 和 $A1_{\text{阳性}}$;②37°C准确反应30 min,测定30 min 10 s时340 nm处吸光值,记为 $A2_{\text{测定}}$ 、 $A2_{\text{空白1}}$ 、 $A2_{\text{空白2}}$ 和 $A2_{\text{阳性}}$;计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}}$ 、 $\Delta A_{\text{空白}} = (A1_{\text{空白1}} - A2_{\text{空白1}}) - (A1_{\text{空白2}} - A2_{\text{空白2}})$ 、 $\Delta A_{\text{阳性}} = A1_{\text{阳性}} - A2_{\text{阳性}}$ 。注:空白管1和空白管2只需测定1-2次,阳性管为选做。

3.血管紧张素转化酶抑制剂活性计算

①抑制率计算

$$\text{ACE 抑制剂抑制率 (\%)} = \frac{\Delta A_{\text{空白}} - \Delta A_{\text{测定}}}{\Delta A_{\text{空白}}} \times 100\%$$

② IC50 计算

IC50 即抑制剂半抑制浓度,建议将待测样本配制成适当的浓度梯度,以样本浓度为横坐标,以抑制率为纵坐标作抑制曲线,以此计算得到抑制率为50%时的样本浓度即IC50值。

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；
- ②若 A1 测定大于 1.2 或 ΔA 测定大于 0.4，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比较不同试剂、提取物、药物或组织对 ACE 的抑制程度，必须将试剂、提取物、药物或组织匀浆配制成相同浓度、反应相同时间进行比较；
- ④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.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

