

血管紧张素转换酶(ACE1)活性检测试剂盒

规格：微量法 100管/96样

编号：JLC_K14836

注意

正式测定前务必取 3 - 5 个预期差异较大的样本做预测定。

测定意义

ACE1 是人体内一个非常重要的生理调节酶，它能够将无活性的血管紧张素I，切掉两个氨基酸，转化为有强效收缩血管作用的血管紧张素II。能同时降解具有扩血管作用的缓激肽，使其失去活性。由于这两个作用都会导致血压升高，因此 ACE1 是调控血压的关键靶点。本试剂盒适用于血清(浆)，动物组织样本中的血管转化素酶活力。

测定原理

N-[3-(2-呋喃基)丙烯酰]-L-苯丙氨酰-甘氨酸-甘氨酸 (FAPGG) 在340nm 处有最大吸收峰，ACE1催化底物FAPGG水解生成呋喃酰基苯丙氨酸(FAP) 及双甘氨酸(GG)，从而引起340nm处吸光度的下降，通过测定FAPGG在 340 nm处吸光度下降的速度可计算出ACE1的活性。

需自备的仪器和用品

酶标仪、恒温箱、台式离心机、可调式移液器、96孔板、研钵、生理盐水、冰、和蒸馏水。

试剂清单

试剂名称	规格	数目	贮藏	
试剂一	液体0.8mL	x1	4°C, 避光	
试剂二	液体20mL	x1	4°C	

样品提取(按照步骤依次操作)

组织样本

1、按照样本质量(g) : 生理盐水(0.9%NaCl)体积(mL)为 1:5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL生理盐水)，研磨成匀浆；

2、8000×g离心力 4℃ 离心10min，取上清液待测（记为样本待测液）。

3、留取部分上清用于蛋白浓度测定。

二、血清(浆)样本：直接检测，若有浑浊离心后取上清待测。

实验准备

1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 340nm

2、工作液的配制：将试剂一和试剂二按照1:25混合，避光保存；

测定操作：

试剂名称 (μL)	测定管
样本待测液	20
工作液	180

振板3s，37℃孵育90s。酶标仪于340nm处，测定各孔吸光值为A1。37℃反应5min后，测定各孔吸光值为A2， $\Delta A = A1 - A2$ 。

若 $\Delta A < 0.01$ ，可延长反应时间到15min或增大样本体积到50μL，计算时公式中相应的T和V1做出修改。

结果计算

1、按血清(浆)计算ACE1活力：

定义：37℃条件下，每升血清(浆)每分钟使反应体系中底物的浓度改变1 μmol 所需的酶量为1个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{ACE1活性(U/L)} &= (\Delta A \times V \times 1000) \div (\epsilon \times V1 \times 0.5) \div T \\ &= 5000 \times \Delta A \end{aligned}$$

2、按蛋白浓度计算ACE1活力：

定义：37℃条件下，每克组织蛋白每分钟使反应体系中底物的浓度改变1 μmol 所需的酶量为1个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{ACE1活性(U/g prot)} &= (\Delta A \times V \times 1000) \div (\epsilon \times V1 \times 0.5) \div T \div Cpr \\ &= 5000 \times \Delta A \div Cpr \end{aligned}$$

ϵ ：底物在340nm波长吸光系数为0.8 L/mmol/cm；

0.5：光径，0.5cm；

V：反应体系总体积，0.2mL；

V1：加入样本体积，0.02mL；

1000：单位换算系数，1mmol=1000μmol；

T: 反应时间, 5min;

Cpr: 待测样本的蛋白浓度, g prot/L

预实验的意义

比色法检测试剂盒预实验非常重要

- 1、确定该试剂盒是否适合客户的样本检测，以免造成试剂盒和样本的浪费（比如低表达处理的样本）；
- 2、熟悉生化试剂盒的操作流程，尤其是初次使用生化试剂盒测定；
- 3、确定样本的处理方法及稀释倍数是否合适；
- 4、了解实验过程中可能出现的实验现象或问题，以便于及时作出调整；
- 5、通过3 - 5组预实验，判断试剂盒对于样本的适应稀释浓度范围，指导实验样本稀释比例。