

血管紧张素转化酶抑制剂活性检测试剂盒（微量法）

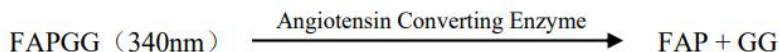
产品货号：BA2241

产品规格：100T/96S

产品说明：

血管紧张素转化酶（Angiotensin Converting Enzyme, ACE, EC 3.4.15.1, 也称为ACE1）是一种含锌二肽羧基肽酶，相对分子质量为120-150kDa，主要存在于肺、脑、肾等各种组织内皮细胞。ACE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，后者可引发血管强烈收缩，促进肾上腺皮质激素醛固酮的合成和释放。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、心肌肥厚、心力衰竭等疾病的理想选择。

ACE可催化底物N-[3-（2-呋喃基）丙烯酰基]-L-苯丙氨酸-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），ACE抑制剂可通过抑制ACE活性减少FAPGG的水解。FAPGG在340nm处有特征吸收峰，根据其在340nm的变化，可计算得到ACE抑制剂活性大小。



注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体65mL×2瓶	2-8℃
试剂二	液体17mL×1瓶	2-8℃
试剂三	粉剂×2支	-20℃
试剂四	粉剂×1瓶	室温

溶液的配制：

1. 试剂三：临用前取一支加入50μL蒸馏水溶解（约66T），可-20℃分装保存4周，避免反复冻融。
2. 试剂三工作液：根据样本量按照试剂三：试剂一=9μL：1791μL（共1.8mL，12T）的比例配制，现用现配。
3. 试剂四：5mg卡托普利，临用前加入4.6mL蒸馏水，充分溶解，配制成5mmol/L卡托普利。用不完的试剂-20℃分装保存4周，避免反复冻融。

需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计/酶标仪、低温离心机、分析天平、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、水浴锅/恒温培养箱、微量石英比色皿/96孔UV板、可调式移液枪、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 组织：按照组织质量（g）：试剂一体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL试剂一）进行冰浴匀浆。12000g，4℃离心20min，取上清置于冰上待测。
2. 细胞：按照细胞数量（10⁴个）：试剂一体积（mL）为500~1000：1的比例（建议500万细胞加入1mL试剂一），冰浴超声破碎（功率200W，超声3秒，间隔7秒，总时间5min）。12000g，4℃离心20min，取上清置于冰上待测。
3. 液体：直接测定。若有浑浊请离心后取上清置于冰上待测。
4. 粉剂：称取适量样本，加入适量试剂一，配制适宜浓度的溶液待测。

注：若粉剂样本不溶于水，可先用少量乙醇溶解，再用试剂一稀释，将乙醇含量降至5%以下。

二、测定步骤



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

1. 紫外分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至340nm，紫外分光光度计蒸馏水调零。
2. 如需选做阳性对照或抑制剂曲线，可将5mmol/L卡托普利用蒸馏水稀释至所需浓度或浓度梯度，现用现配。
3. 根据样本量取试剂二于37℃预热10min以上。
4. 在微量石英比色皿/96孔UV板中按下表步骤加样：

试剂名称 (μL)	空白管1	空白管2	测定管	阳性管 (选做)
试剂四	-	-	-	15
样本上清	-	-	15	-
试剂一	15	165	-	-
试剂二	150	150	150	150
试剂三工作液	150	-	150	150

充分混匀，于340nm处测定10s时的吸光值A1，迅速置于37℃准确反应30min（若酶标仪带有控温功能，将温度调至37℃），测定30min10s时的吸光值A2，分别记为A1_{空白1}、A1_{空白2}、A1_{测定}、A1_{阳性}和A2_{空白1}、A2_{空白2}、A2_{测定}、A2_{阳性}，计算 $\Delta A_{\text{空白}} = (A1_{\text{空白1}} - A2_{\text{空白1}}) - (A1_{\text{空白2}} - A2_{\text{空白2}})$ ， $\Delta A_{\text{测定}} = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{阳性}} = A1_{\text{阳性}} - A2_{\text{阳性}}$ 。空白管1和空白管2只需做1-2次。

三、血管紧张素转化酶抑制剂活性计算

1. 抑制率计算

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

2. IC₅₀计算

IC₅₀，即抑制剂半抑制浓度。对于确定对ACE有抑制作用的样本，可配制成适当的浓度梯度，分别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。

注意事项：

1. 为保证实验结果的准确性和稳定性，请严格控制反应时间和操作时间。
2. 若用于比较不同试剂、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。

实验案例：

1. 取0.1082g银杏果肉样本，加入1mL试剂一进行冰浴匀浆，离心后取上清，稀释8倍后按照测定步骤操作，用96孔UV板测得计算： $\Delta A_{\text{空白}} = (A1_{\text{空白1}} - A2_{\text{空白2}}) - (A1_{\text{空白2}} - A2_{\text{空白2}}) = (1.037 - 0.678) - (1.002 - 0.976) = 0.333$ ， $\Delta A_{\text{测定}} = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}} = 1.040 - 0.914 = 0.126$ ，计算抑制率得：
ACE抑制剂抑制率(%) = $(0.333 - 0.126) \div 0.333 \times 100\% = 62.162\%$ 。
2. 取0.1072g橙子叶片样本，加入1mL试剂一进行冰浴匀浆，离心后取上清，稀释8倍后按照测定步骤操作，用96孔UV板测得计算： $\Delta A_{\text{空白}} = (A1_{\text{空白1}} - A2_{\text{空白2}}) - (A1_{\text{空白2}} - A2_{\text{空白2}}) = (1.037 - 0.678) - (1.002 - 0.976) = 0.333$ ， $\Delta A_{\text{测定}} = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}} = 1.245 - 1.072 = 0.173$ ，计算抑制率得：
ACE抑制剂抑制率(%) = $(0.333 - 0.173) \div 0.333 \times 100\% = 48.048\%$ 。
3. 取15μL 0.25μmol/L卡托普利溶液，按照测定步骤操作，用96孔UV板测得计算： $\Delta A_{\text{空白}} = (A1_{\text{空白1}} - A2_{\text{空白2}}) - (A1_{\text{空白2}} - A2_{\text{空白2}}) = (1.037 - 0.678) - (1.002 - 0.976) = 0.333$ ， $\Delta A_{\text{测定}} = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}} = 0.946 - 0.761 = 0.185$ ，计算抑制率得：
ACE抑制剂抑制率(%) = $(0.333 - 0.185) \div 0.333 \times 100\% = 44.444\%$ 。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com