

血管紧张素转换酶(ACE1)活性试剂盒

编号: ml300864

微量法 100 管/96 样

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-苯丙氨酸-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。

自备仪器和用品:

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°C 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°C 孵育 90s。酶标仪于 340nm 处, 测定各孔吸光值为 A1。37°C 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°C 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。

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

2、按蛋白浓度计算 ACE1 活力：

定义：37°C 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。

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

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=1000 μmol ；

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最佳适应稀释浓度范围，指导实验样本稀释比例。