

## 血管紧张素转化酶抑制剂活性检测试剂盒（紫外分光光度法）

产品货号：BA2242

产品规格：50T/48S

### 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-苯丙氨酰-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），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90mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体27mL×1瓶	2-8℃
试剂三	粉剂×3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22T），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，4T）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、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、1mL石英比色皿、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（10<sup>4</sup>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），



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

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。

- 液体：直接测定。若有浑浊请离心后取上清置于冰上待测。
- 粉剂：称取适量样本，加入适量试剂一，配制成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

- 紫外分光光度计预热30min以上，调节波长至340nm，蒸馏水调零。
- 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。
- 根据样本量取试剂二于37℃预热10min以上。
- 在1mL石英比色皿中按下表步骤加样：

试剂名称 (μL)	空白管1	空白管2	测定管	阳性管 (选做)
试剂四	-	-	-	45
样本上清	-	-	45	-
试剂一	45	495	-	-
试剂二	450	450	450	450
试剂三工作液	450	-	450	450

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，测定30min10s时的吸光值A2，分别记为A1<sub>空白1</sub>、A1<sub>空白2</sub>、A1<sub>测定</sub>、A1<sub>阳性</sub>和A2<sub>空白1</sub>、A2<sub>空白2</sub>、A2<sub>测定</sub>、A2<sub>阳性</sub>，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

- 抑制率计算

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

- IC<sub>50</sub>计算

IC<sub>50</sub>，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IC<sub>50</sub>。

### 注意事项：

- 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。
- 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。

### 实验实例：

- 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1mL石英比色皿测得计算： $\Delta A_{\text{空白}} = (A1_{\text{空白1}} - A2_{\text{空白1}}) - (A1_{\text{空白2}} - A2_{\text{空白2}}) = (1.197 - 0.709) - (1.192 - 1.155) = 0.451$ ， $\Delta A_{\text{测定}} = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}} = 1.413 - 1.208 = 0.205$ ，计算抑制率得：  
 $\text{ACE抑制剂抑制率}(\%) = (0.451 - 0.205) \div 0.451 \times 100\% = 54.545\%$ 。
- 取45μL 0.25μmol卡托普利溶液，按照测定步骤操作，用1mL石英比色皿测得计算： $\Delta A_{\text{空白}} = (A1_{\text{空白1}} - A2_{\text{空白1}}) - (A1_{\text{空白2}} - A2_{\text{空白2}}) = (1.197 - 0.709) - (1.192 - 1.155) = 0.451$ ， $\Delta A_{\text{测定}} = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}} = 1.165 - 0.927 = 0.238$ ，计算抑制率得：  
 $\text{ACE抑制剂抑制率}(\%) = (0.451 - 0.238) \div 0.451 \times 100\% = 47.228\%$ 。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com