（本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断！）

产品货号：E-BC-K003-S

产品规格：50 assays(48 samples)/ 100 assays(98 samples)

检测仪器：紫外-可见光分光光度计(340 nm)

Elabscience®血管紧张素转换酶(ACE1)比色法测试盒

Angiotensin Converting Enzyme (ACE1) Activity Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100
邮箱：biochemical@elabscience.cn
网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

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。

检测原理

N-[3-(2-呋喃基)丙烯酰]-L-苯丙氨酰-甘氨酰-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)及双甘氨肽(GG), 从而引起 340 nm 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。

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法(货号：E-BC-K318-M)。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1) (50 assays)	规格 2 (Size 2) (100 assays)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	工作液 (Working Solution)	55 mL×1 瓶	55 mL×2 瓶	2-8°C 保存 6 个月

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：紫外-可见光分光光度计(340 nm)

试剂准备

检测前，试剂平衡至室温。

样本准备

① 样本处理

组织样本：匀浆介质为生理盐水(0.9% NaCl)。匀浆后，4℃，10000 × g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。留取部分上清用于蛋白浓度测定。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：27.5-682 U/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	10%大鼠肝组织	不稀释
小鼠血清	不稀释	10%大鼠肾组织	不稀释
大鼠血浆	不稀释	10%大鼠肺匀浆	3-5 倍

注：稀释液为生理盐水(0.9% NaCl)。

实验关键点

① 必须严格控制反应时间及操作时间。

② 每次实验只可做一个管。

操作步骤

① 空白管：取 1000 μL 试剂一，加入 2 mL 的 EP 管中；

测定管：取 1000 μL 试剂一，加入 2 mL 的 EP 管中。

② 向步骤①中的空白管，加入 100 μL 双蒸水；

向步骤①中的测定管，加入 100 μL 待测样本；

③ 充分混匀，37°C 孵育 1.5 min

④ 紫外分光光度计上 340 nm 处，0.5 cm 石英比色皿，双蒸水调零，测定 OD 值为 A_1，再 37°C 反应 5 min 后，测定 OD 值为 A_2。

⑤ 求出 2 次吸光度差值($\Delta A = A_1 - A_2$)。

操作表

	空白管	**测定管**
试剂一(μL)	1000	1000
双蒸水(μL)	100	--
待测样本(μL)	--	100
充分混匀，37°C 孵育 1.5 min，紫外分光光度计上 340 nm 处，0.5 cm 石英比色皿，双蒸水调零，测定 OD 值为 A_1，再 37°C 反应 5 min 后，测定 OD 值为 A_2，$\Delta A=A_1-A_2$。		

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法(货号：E-BC-K318-M)。

结果计算

血清(浆)中 ACE1 活力计算：

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。

$$\text{ACE1 活力 U/L} = \left(\frac{\Delta A_{测}}{\Delta T} - \frac{\Delta A_{空}}{\Delta T}\right) \times \frac{1000}{\varepsilon \times d} \times \frac{V_{总}}{V_{样}} \times f$$

组织中 ACE1 活力的计算：

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。

$$\text{ACE1 活力 U/gprot} = \left(\frac{\Delta A_{测}}{\Delta T} - \frac{\Delta A_{空}}{\Delta T}\right) \times \frac{1000}{\varepsilon \times d} \times \frac{V_{总}}{V_{样}} \div C_{pr} \times f$$

注解：

ΔA：A_1-A_2

ε：底物在 340 nm 波长 1 cm 光径的毫摩尔吸光系数为 0.8 L/(mmol•cm)

d：比色光径(0.5 cm)

ΔT：反应时间(5 min)

1000: 1mmol=1000 μmol

$V_{总}$：反应液的总体积(1.1 mL)

$V_{样}$：加入检测体系样本量(0.1 mL)

f：样本加入检测体系之前的稀释倍数

C_{pr}：待测样本的蛋白浓度(gprot/L)

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	27.5-682 U/L	**平均批间差**	4.4 %
灵敏度	27.5 U/L	**平均批内差**	3.0 %
平均回收率	103 %		

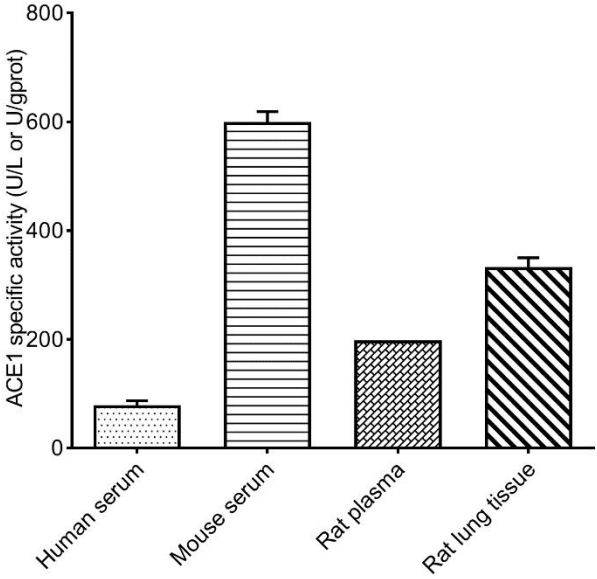
附录2 实例分析

例如检测大鼠肺组织(数据仅供参考)：

10%大鼠肺匀浆用生理盐水稀释4倍，取100 μL稀释后的样本按操作表检测，结果如下：空白管A_1平均值1.037，空白管A_2平均值1.037；测定管平均测定管A_1平均值为1.066，测定管A_2平均值为0.989，同时10%匀浆测得蛋白浓度为5.03 gprot/L计算结果为：

$$\text{ACE1 活力 (U/gprot)} = \left(\frac{1.066 - 0.989}{5} - \frac{1.037 - 1.037}{5}\right) \times \frac{1000}{0.8 \times 0.5} \times \frac{1.1}{0.1} \div 5.03 \times 4 = 336.78\ \text{U/gprot}$$

按照说明书操作，测定人血清(加样量100 μL)、小鼠血清(加样量100 μL)、大鼠血浆(加样量100 μL)、大鼠肺(10%组织匀浆蛋白含量5.03 gprot/L，稀释4倍，加样量100 μL)中ACE1酶活力(如下图)：



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
复孔差异大	反应时间未准确控制	严格控制反应时间
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数，重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本，重新检测
样本测量结果>628 U/L	样本浓度太高	选择合适稀释倍数，重新检测
读数数值低	用不恰当波长检测	选择正确的检测波长

声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。