（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-M

产品规格：48T(46 samples)/ 96T(94 samples)

检测仪器：酶标仪(340 nm)

Elabscience®血管紧张素转换酶(ACE1)比色法测试盒

Angiotensin Converting Enzyme (ACE1)

Activity Colorimetric 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)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	工作液 (Working Solution)	10 mL×1 瓶	20 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月
	96 孔 UV 酶标板	96 孔×1 块		无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

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：酶标仪(340 nm)

试剂：生理盐水(0.9% NaCl)

试剂准备

检测前，所有试剂平衡至25℃后使用。

样本准备

① 样本处理

血清(浆)样本：直接检测。

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：25-620 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 每次实验将样本孔，控制在 8 个之内。

操作步骤

① 空白孔：取 20 μL 双蒸水加入到空白孔中；
测定孔：取 20 μL 待测样本，加入到测定孔中。

② 向步骤①中各孔，加入 180 μL 试剂一。

③ 振板 3 s，37°C 孵育 90 s。酶标仪于 340 nm 处，测定各孔 OD 值为 A_1。37°C 反应 5 min 后，测定各孔 OD 值为 A_2，$\Delta A = A_1 - A_2$。

操作表

	空白孔	**测定孔**
双蒸水(μL)	20	--
待测样本(μL)	--	20
试剂一(μL)	180	180
振板 3 s，37°C 孵育 90 s。酶标仪于 340 nm 处，测定各孔 OD 值为 A_1。37°C 反应 5 min 后，测定各孔 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：光径，0.5 cm

ΔT：反应时间，5 min

1000: 1 mmol = 1000 μmol

$V_{总}$：反应液的总体积，0.2 mL

$V_{样}$：加入检测体系样本量，0.02 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	25-620 U/L	**批间差**	2.9-5.2 %
灵敏度	25 U/L	**批内差**	1.8-3.1 %
回收率	95-102 %		

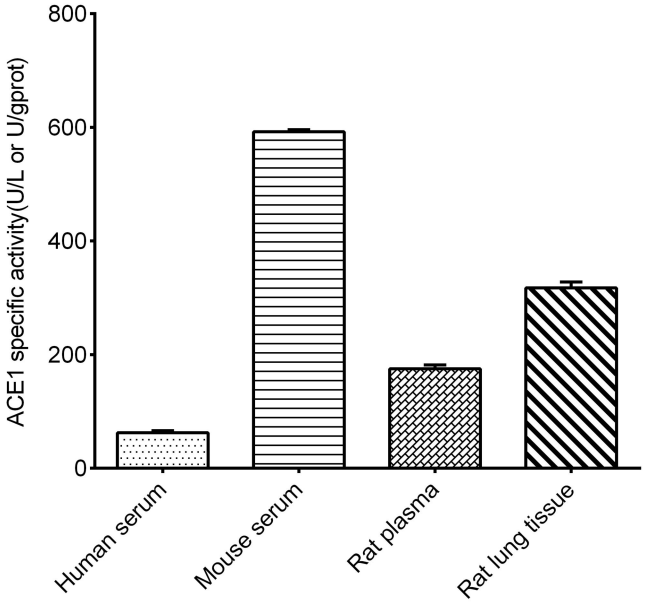
附录2 实例分析

例如检测小鼠血清(数据仅供参考)：

取20 μL小鼠血清样本按操作表检测，结果如下：空白孔A_1平均值1.465，空白孔A_2平均值1.465；测定孔A_1平均值为1.538，测定孔A_2平均值为1.419，计算结果为：

$$\underset{(U/L)}{ACE1\ 活力} = \left(\frac{1.538 - 1.419}{5} - \frac{1.465 - 1.465}{5}\right) \times \frac{1000}{0.8 \times 0.5} \times \frac{0.2}{0.02} \times 1 = 595\ U/L$$

按照说明书操作，测定人血清(加样量20 μL)、小鼠血清(加样量20 μL)、大鼠血浆(加样量20 μL)、大鼠肺(10%组织匀浆蛋白含量5.03 gprot/L，稀释4倍，加样量20 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>620 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。