

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: GBQ001

产品规格: 96T

检测仪器: 荧光酶标仪(激发波长 325 nm, 发射波长 395 nm)

Elabscience®血管紧张素转化酶 2(ACE2)

抑制剂筛选测试盒

Angiotensin Converting Enzyme 2 (ACE2) Inhibitor Screening 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

本试剂盒用于筛选作用于血管紧张素转化酶 2 的化合物样本。

检测原理

血管紧张素转化酶 2 (ACE2) 是肾素-血管紧张素系统(RAS)的重要组成部分。ACE2 是 RAS 的负调节因子,可平衡 ACE 的多种功能,通过调节血管紧张素 II, ACE2 可以把血管紧张素 II 裂解成 Ang1-7, 其具有保护心脏,舒张血管等活性作用。也是医药科学领域研究的重点活性受体之一。本试剂盒的作用原理是 ACE2 催化底物分解,释放出荧光产物,加入抑制剂可抑制其荧光值大小,通过荧光值大小可判断抑制剂抑制能力。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 (Size)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	20 mL×1 瓶	-20°C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	酶试剂 (Enzyme Reagent)	0.15 mL×1 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	底物 (Substrate)	0.08 mL×1 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	抑制剂 (Inhibitors)	粉剂×1 支	-20°C 避光 保存 6 个月
	96 孔黑色酶标板	1 板	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：荧光酶标仪(激发波长为 325 nm，发射波长为 395 nm)

试剂：二甲基亚砷 (DMSO)

试剂准备

① 检测前，试剂二置于冰盒待用，其他试剂平衡至室温待用。

② 试剂二工作液的配制：

按试剂二：试剂一体积比=1：44混匀，按需配制，2-8℃保存1天。

③ 试剂三工作液的配制：

按试剂三：试剂一体积比=1：99 混匀，按需配制，2-8℃保存1天。

④ 10 mM抑制剂的配制：

向试剂四中加入1.65 mL DMSO溶液，混匀，分装-20℃可保存1周。注：此试剂为本试剂盒提供ACE2专一性抑制剂，用户可根据情况使用。

样本准备

样本处理

化合物样本选用合适溶剂进行溶解，建议使用DMSO为溶剂。

实验关键点

① 试剂准备过程注意避光，试剂二置于冰盒上待用。

② 试剂二每次使用前都要先离心数秒使液体均一，然后再使用，试剂二取用后及时放入-20℃保存。试剂二工作液配制好后在混匀仪上稍微混匀几秒，试剂二工作液配制好后要置于冰盒上待用。

③ 加样完成后，可稍微振荡酶标板使反应试剂混合均匀。

④ 加入底物后反应会立即开始，如果孔数较多的情况下，建议用排枪操作以减小各孔间加入底物的时间差而导致的误差。

操作步骤

① 空白孔：向酶标板相应孔中加入 5 μL 样本溶剂；

对照孔：向酶标板相应孔中加入 5 μL 样本溶剂；

测定孔：向酶标板相应孔中加入 5 μL 样本。

② 向空白孔中加入 45 μL 试剂一；

向对照孔与测定孔中加入 45 μL 试剂二工作液；

③ 向各孔中加入 50 μL 试剂三工作液。

④ 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 30 min，荧光酶标仪于激发波长 325 nm，发射波长 395 nm 处检测各孔荧光值。

操作表

	空白孔	对照孔	测定孔
样本溶剂(μL)	5	5	
样本(μL)	--		5
试剂一(μL)	45		
试剂二工作液(μL)		45	45
试剂三工作液(μL)	50	50	50
37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 30 min，荧光酶标仪于激发波长 325 nm，发射波长 395 nm 处检测各孔荧光值。			

结果计算

样本抑制率计算公式：

$$\text{样本抑制率}(\%) = \frac{F_{\text{对}} - F_{\text{测}}}{F_{\text{对}} - F_{\text{空}}} \times 100\%$$

注解：

F_测：样本测定孔的荧光值，样本有抑制活性时，荧光值低于对照孔的荧光值

F_对：样本对照孔的荧光值，相当于 100%酶活

F_空：空白孔的荧光值

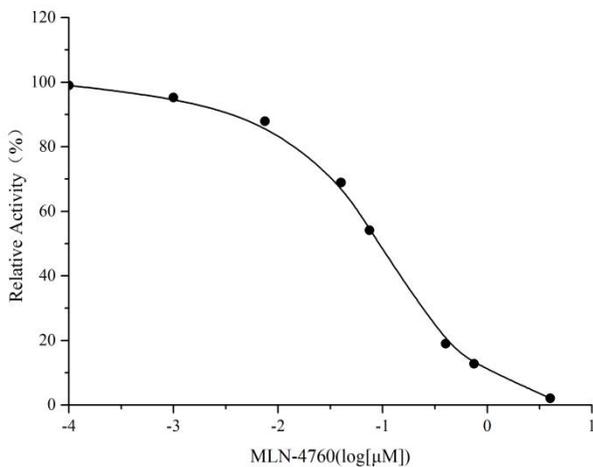
附录1 关键数据

1. 技术参数

平均批内差	0.8 %	平均批间差	10.5 %
稀释回收率	101 %		

2. 抑制率曲线

血管紧张素转换酶2 (ACE2) 抑制剂筛选试剂盒检测ACE2抑制剂MLN-4760的效果图。



附录2 实例分析

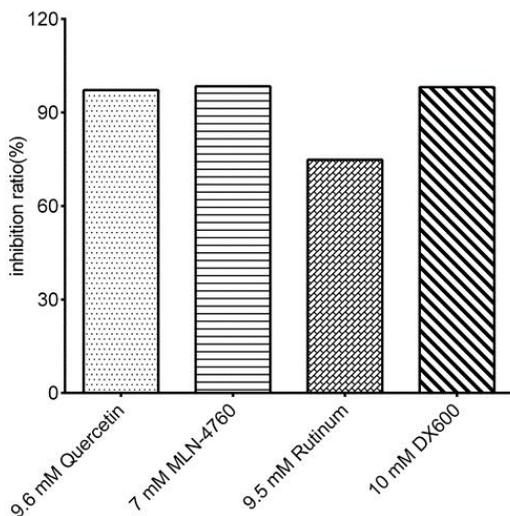
例如检测槲皮素(数据仅供参考):

测定浓度为9.6 mmol/L的槲皮素样本,按操作表操作,结果如下:测定对照孔 $F_{\text{对}}$ 荧光值为5977.31,测定对照孔 $F_{\text{测}}$ 荧光值为347.16,测定空白孔 $F_{\text{空}}$ 荧光值为183.18。

计算结果为:

$$\text{样本抑制率}(\%) = (5977.31 - 347.16) \div (5977.31 - 183.18) \times 100\% = 97.17\%$$

按照说明书操作,测定DMSO溶解的槲皮素样本(9.6 mmol/L,加样量5 μL)、DMSO溶解的MLN-4760样本(7 mmol/L,加样量5 μL)、DMSO溶解的芦丁样本(9.5 mmol/L,加样量5 μL)、DMSO溶解的DX600样本(10 mmol/L,加样量5 μL) (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	试剂三工作液加样时间较长	同一组实验中,加入底物时速度要快,避免时间差导致的随机误差。

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。