



# 血管紧张素转化酶（ACE）活性检测试剂盒说明书

微量法

货号：BC5545

规格：100T/96S

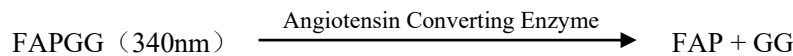
**产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。**

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 110mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 11mL×1 瓶	2-8℃保存

## 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，上皮细胞、血浆和尿液中也有存在，正常情况下肺组织含量最高。ACE主要功能是催化血管紧张素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。ACE活性检测对于肺部、肝脏、甲状腺等器官疾病的诊断和治疗具有重要意义。

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）。FAPGG在340nm处有特征吸收峰，根据其在340nm的变化速率，可计算得到ACE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。**

## 需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计/酶标仪、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、微量石英比色皿/96孔UV板、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），冰浴超声波破碎（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。
3. 血浆/血清：直接测定。若有浑浊请离心后取上清置于冰上待测。

### 二、测定步骤

- 1、紫外分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至340nm，紫外分光光度计蒸馏水调零。
- 2、试剂一于37℃预热10min以上。

3、在微量石英比色皿/96孔UV板中按下表步骤加样：

试剂名称 (μL)	空白管	测定管
样本上清	-	100
试剂一	100	-
试剂二	100	100

充分混匀，于 340nm 处测定 15s 时的吸光值 A1，迅速置于 37°C准确反应 5min（若酶标仪带有控温功能，将温度调至 37°C），测定 5min15s 时的吸光值 A2，计算  $\Delta A_{测定} = A1_{测定} - A2_{测定}$ ， $\Delta A_{空白} = A1_{空白} - A2_{空白}$ ， $\Delta A = \Delta A_{测定} - \Delta A_{空白}$ 。空白管只需做 1-2 次。

### 三、血管紧张素转化酶（ACE）活性计算

#### 1. 使用微量石英比色皿测定：

(1) 按样本蛋白浓度计算

单位的定义：37°C下每mg组织蛋白在反应体系中每分钟催化1nmol FAPGG水解定义为一个酶活力单位。

$$\text{ACE活性 (U/mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反应总}} \times 10^9 \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样本}}) \div T \times F = 527.7 \times \Delta A \div C_{\text{pr}} \times F$$

(2) 按样本质量计算

单位的定义：37°C下每g组织在反应体系中每分钟催化1nmol FAPGG水解定义为一个酶活力单位。

$$\text{ACE活性 (U/g 质量)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反应总}} \times 10^9 \div (W \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{提取}}) \div T \times F = 527.7 \times \Delta A \div W \times F$$

(3) 按细胞计算

单位的定义：37°C下每 $10^4$ 个细胞在反应体系中每分钟催化1nmol FAPGG水解定义为一个酶活力单位。

$$\text{ACE活性 (U/10}^4 \text{ cell)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反应总}} \times 10^9 \div (N \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{提取}}) \div T \times F = 527.7 \times \Delta A \div N \times F$$

(4) 按照血清（浆）体积计算

单位的定义：37°C下每mL血清（浆）在反应体系中每分钟催化1nmol FAPGG水解定义为一个酶活力单位。

$$\text{ACE活性 (U/mL)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反应总}} \times 10^9 \div V_{\text{样本}} \div T \times F = 527.7 \times \Delta A \times F$$

$\epsilon$ : FAPGG在340nm处的摩尔消光系数, 758L/(mol·cm); d: 比色皿光径, 1cm;  $V_{\text{反应总}}$ : 反应体系总体积,  $2 \times 10^{-4}$ L;  $10^9$ : 单位换算系数,  $1\text{mol} = 10^9\text{nmol}$ ;  $C_{\text{pr}}$ : 样本蛋白浓度, mg/mL;  $V_{\text{样本}}$ : 反应体系中加入的样本体积, 0.1mL;  $V_{\text{提取}}$ : 加入试剂一的体积, 1mL; T: 反应时间, 5min; W: 样本质量, g; N: 细胞总数, 以 $10^4$ 计; F: 稀释倍数。

#### 2. 使用96孔UV板测定：

将上述公式中的d=1cm改为d=0.6cm（96孔UV板光径）进行计算即可。

#### 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。
- 样本吸光度初始值 A1 测定大于 1.6（微量石英比色皿）/1（96 孔 UV 板）或  $\Delta A$  测定大于 0.4（微量石英比色皿）/0.3（96 孔 UV 板）时，建议将样本用试剂一稀释后再进行测定。当  $\Delta A$  测定小于 0.01 时，可以延长反应时间来测定。计算时注意同步更改计算公式。

#### 实验实例：

- 取 0.1027g 小鼠肺脏样本，加入 1mL 试剂一进行冰浴匀浆，离心后取上清，稀释 4 倍后按照测定步骤操作，用微量石英比色皿测得计算： $\Delta A_{空白} = A1_{空白} - A2_{空白} = 1.0037 - 1.0021 = 0.0016$ ， $\Delta A_{测定} = A1_{测定} - A2_{测定} = 1.4637 - 1.1426 = 0.3211$ ， $\Delta A = \Delta A_{测定} - \Delta A_{空白} = 0.3211 - 0.0016 = 0.3195$ ，按样本质量计算酶活得：

ACE 活性 (U/g 质量) =  $527.7 \times \Delta A \div W \times F = 6566.705$  U/g 质量。

2. 取牛血清样本, 稀释 2 倍后按照测定步骤操作, 用微量石英比色皿测得计算:  $\Delta A_{\text{空白}} = A1_{\text{空白}} - A2_{\text{空白}} = 1.0037 - 1.0021 = 0.0016$ ,  $\Delta A_{\text{测定}} = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}} = 1.2163 - 1.1277 = 0.0886$ ,  $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}} = 0.0886 - 0.0016 = 0.087$ , 按血清 (浆) 体积计算酶活得:

ACE 活性 (U/mL) =  $527.7 \times \Delta A \times F = 91.820$  U/mL。

#### 参考文献:

[1] Murray B A, Walsh D J, Fitzgerald R J. Modification of the furanacryloyl-L-phenylalanyl-glycylglycine assay for determination of angiotensin-I-converting enzyme inhibitory activity[J]. Journal of Biochemical & Biophysical Methods, 2004, 59(2): 127-137.

[2] Gajanan P G, Elavarasan K, Shamasundar B A. Bioactive and functional properties of protein hydrolysates from fish frame processing waste using plant proteases[J]. Environmental Science & Pollution Research, 2016, 23(24): 24901-24911.

[3] Sun S, Xu X, Sun X, et al. Preparation and Identification of ACE Inhibitory Peptides from the Marine Macroalga *Ulva intestinalis*[J]. Marine Drugs, 2019, 17(3).

#### 相关系列产品:

BC5570/BC5575 血管紧张素转化酶抑制剂活性检测试剂盒