



血管紧张素转化酶 2(ACE2)活性试剂盒

规格：微量法 48 样

检测波长：325/395nm

编号：TW57739

检测原理：荧光法

注意

正式测定前务必取 3 - 5 个预期差异较大的样本做预测定。

测定意义

血管紧张素转化酶 2(AngiotensinIConverting Enzyme 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。

测定原理

ACE2 催化底物分解, 释放出荧光产物, 荧光值越大, 样品中 ACE2 酶活越高。通过标准品制作标准曲线, 可计算样品中 ACE2 酶活。

需自备的仪器和用品

天平、离心机、荧光酶标仪、移液器、涡旋混匀仪、黑色 96 孔板、匀浆器。

试剂的组成和配制

试剂名称	规格	数目	贮藏	备注
提取液	液体 60mL	x1	20	
试剂一	液体 10m	x1	-20℃	
试剂二	液体 100μL	x1	-20℃,避光	



标准品	液体 200 μ L	x1	-20 $^{\circ}$ C,避光	10mM MCA
-----	----------------	----	---------------------	----------

说明：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。

样品处理

细胞：取 5×10^6 个细胞离心后弃上清，用 200 μ L 生理盐水清洗三次。清洗完成后再加入 1mL 提取液超声破碎处理（冰浴，功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次），4 $^{\circ}$ C，10000 \times g 离心 10min 后取上清，置冰上待测。

组织样本：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，10000 \times g，4 $^{\circ}$ C离心 10min，取上清液，置冰上待测。

血清（浆）样品：直接进行检测。

实验准备

- 1、荧光酶标仪预热 30min 以上，设置温度 37 $^{\circ}$ C，激发波长为 325nm，发射波长为 395nm。
- 2、所有试剂平衡至室温。
- 3、试剂二工作液：按所需用量将试剂二用试剂一稀释 10 倍，4 $^{\circ}$ C 避光可保存 1 天。

测定操作表

试剂名称	测定管
样本 (μ L)	10
试剂一 (μ L)	88
试剂二工作液 (μ L)	2
混匀,37 $^{\circ}$ C激发波长为 325nm,发射波长为 395nm 下记录 0min 时荧光值记为 A1, 记录 10min 时荧光值记为 A2, $\Delta A = A2 - A1$ 。	

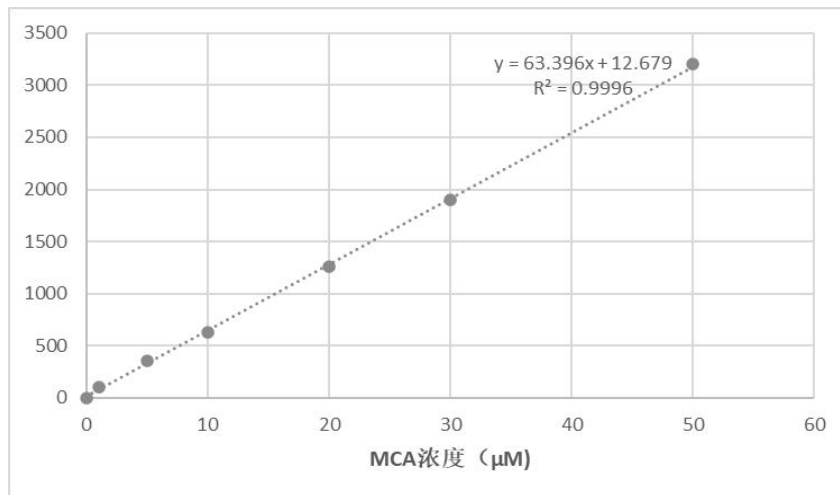
注意：如果 ΔA 大于 2000 可用提取液稀释，如果荧光强度小于 100 可以增加样本量。



结果计算

标准条件下测定的回归方程为 $y = 63.396x + 12.679$, $R^2 = 0.9996$;

x 为标准品浓度 ($\mu\text{mol/L}$), y 为 ΔA 。



1) 按照样本质量计算

定义：37°C 条件下，每克样本每分钟催化底物生成 $1\mu\text{mol}$ 的产物所需要的酶量为一个酶活单位。

$$\text{ACE2 活力(U/g)} = (\Delta A - 12.679) \div 63.396 \times V_{\text{提}} \div W \div T$$

(2) 按照细菌/细胞数量计算

定义：37°C 条件下，每 10⁴ 个细菌/细胞每分钟催化底物生成 $1\mu\text{mol}$ 的产物 所需要的酶量为一个酶活单位。

$$\text{ACE2 活力(U/10}^4\text{cell)} = (\Delta A - 12.679) \div 63.396 \times V_{\text{提}} \div T \div 500$$

(3) 按照液体体积计算

定义：37°C 条件下，每升样本每分钟催化底物生成 $1\mu\text{mol}$ 的产物 所需要的酶量为一个酶活单位。

$$\text{ACE2 活力(U/L)} = (\Delta A - 12.679) \div 63.396 \div T$$



V 提：提取体积，0.001L

T: 反应时间 10min

W:样本重量，g

500：细菌/细胞数量，以万计。

附：标准曲线制作过程

1. 把标准品（10mM）用试剂一稀释成以下浓度梯度的标准品：0，1，5，10，20，30，40，50 $\mu\text{mol/L}$ 也可根据实际样本来调整标准品浓度。
2. 依据加样表操作，根据结果即可制作标准曲线。x 轴为标准品浓度（ $\mu\text{mol/L}$ ），y 轴为 ΔA 。

	标准管	空白管
标准品（ μL ）	10	-
试剂一（ μL ）	90	100

混匀，37 $^{\circ}\text{C}$ 激发波长为 325nm，发射波长为 395nm 下记录 10min 后荧光值， $\Delta A = A$ 标准管 - A 空白管。



预实验的意义

比色法检测试剂盒预实验非常重要

- 1、确定该试剂盒是否适合客户的样本检测，以免造成试剂盒和样本的浪费（比如低表达处理的样本）；
- 2、熟悉生化试剂盒的操作流程，尤其是初次使用生化试剂盒测定；
- 3、确定样本的处理方法及稀释倍数是否合适；
- 4、了解实验过程中可能出现的实验现象或问题，以便于及时作出调整；
- 5、通过 3 - 5 组预实验，判断试剂盒对于样本的最佳适应稀释浓度范围，指导实验样本稀释比例。