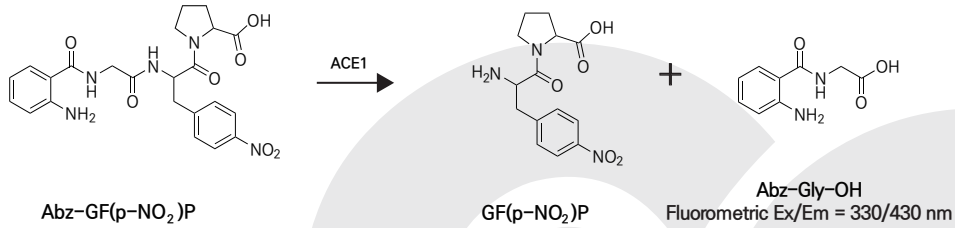


FOR RESEARCH USE ONLY!

PicoSens™ ACE 1 Inhibitor Screening Assay Kit (Fluorometric)

(BM-AOS-F100, 100 assays, Store at -20°C)

제품 원리



BIOMAX PicoSens™ ACE 1 Inhibitor Screening Assay Kit (Fluorometric)에서 ACE 1 작용에 의해 Abz-GF(p-NO₂)P가 절단되어 GF(p-NO₂)P와 Abz-Gly-OH를 방출됩니다. 방출된 Abz-Gly-OH가 Fluorometric Ex/Em = 330/430nm에서 측정되며 이를 통해 ACE 1의 활성을 알 수 있고 ACE 1 Inhibitor Control에 의해 ACE 1이 억제되면 Abz-Gly-OH의 형성 저하를 통해 ACE 1 Inhibition 능력을 알 수 있습니다.

제품의 구성 및 보관 조건

Components	Size	Storage
ACE 1 Assay Buffer	20 mL	-20°C
ACE 1 Dilution Buffer	1 mL	
ACE 1 Positive Control	50 µL	
ACE 1 Substrate	300 µL	
ACE 1 Inhibitor Control	100 µL	

* 개봉하지 않은 제품은 빛을 차단한 상태에서 -20°C 보관 시 약 6개월간 안정적입니다.

검사 필요 장비 및 소모품

- ▶ 96-well Microplate (White, Flat bottom)
- ▶ 8 or 12 Channel micropipette
- ▶ Pipette & Sterile tips
- ▶ Fluorescence microplate reader (Ex/Em = 330/430 nm Filter, 37°C)
- ▶ Incubator or Water bath (37°C)

실험 전 준비사항 및 보관 방법

- ▶ 제품의 모든 구성품은 상온에서 놔두어 완전히 녹인 후 사용합니다.
- ▶ Vial 뚜껑 내부에 시약이 묻어 있을 수 있으니 개봉 전 원심 분리합니다.
- ▶ **ACE 1 Substrate** : 사용 후 -20°C 보관 시 안전합니다.
- ▶ **ACE 1 Positive Control** : ACE 1 Dilution Buffer 950 µL를 넣고 소량 Aliquot하여 사용합니다. 사용 후 -20°C 에 보관합니다.
- ▶ **ACE 1 Inhibitor Control (10 mM Captopril)** : -20°C에 보관하여 약 6개월간 사용 가능합니다.

Test inhibitor(s) preparation

측정하길 원하는 농도의 100X를 만든 후 ACE 1 Assay Buffer로 1/10 희석하여 사용합니다. (1/10으로 희석된 Test inhibitor(s)를 여러 단계의 농도 구배를 준비합니다.)

실험 과정

* Test Inhibitor(s) preparation와 Inhibitor Control을 둘다 미리 준비한 후 아래의 실험 과정 ③, ④를 진행합니다.

- ① 아래 표와 같이 ACE 1 Positive Control mix를 만들어 Positive Control [PC], Sample [S], Inhibitor Control [IC] well에 50 µL씩 분주합니다.

Positive Control mix

Kit Components	Positive Control mix (50 µL/well)
ACE 1 Positive Control	10 µL
ACE 1 Assay Buffer	40 µL

* 희석한 용액은 ice에 담아두고 사용하십시오.

- * 50 µL/well 기준으로 Sample과 Positive Control, Inhibitor Control well 수를 고려하되 총 소요량보다 약 10% 많은 Positive Control mix를 준비합니다. (사용 전 Spin-down)
- ② Background Control [BC] well에 ACE 1 Assay Buffer 50 µL를 분주합니다.
- ③ 준비된 Test inhibitor(s)를 [S] well에 10 µL를 분주합니다.
- ④ [IC] well에 Inhibitor Control 10 µL를 분주합니다.

- ⑤ [PC], [BC]에 ACE 1 Assay Buffer 10 μl 를 분주합니다.
- ⑥ 96-well Microplate를 Shacking 후 37°C에서 15 min 간 Incubation합니다.
- ⑦ 아래 표와 같이 ACE 1 Substrate mix 준비하여 전체 Well에 각각 40 μl 씩 분주합니다

ACE 1 Substrate mix

Kit Components	ACE 1 Substrate mix (40 μl /well)
ACE 1 Substrate	3 μl
ACE 1 Assay Buffer	37 μl

* 희석한 용액은 -20°C에서 3개월간 안정적입니다.

* 40 μl /well 기준으로 Sample과 Positive Control, Inhibitor Control, Background Control well 수를 고려하되 총 소요량보다 약 10% 많은 Positive Control mix를 준비합니다. (사용 전 Spin-down)

- ⑧ Fluorometric microplate reader를 이용하여 Kinetic mode로 37°C, 1~2 h 동안 형광을 측정합니다.
(Ex/Em = 330/430 nm)

결과 분석

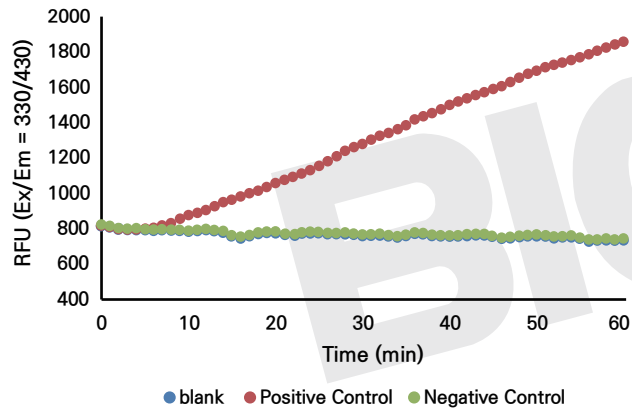
$$\% \text{ Relative Activity} = \frac{\text{Slope of [S]}}{\text{Slope of [PC]}} \times 100$$

T_1, T_2 두 시간대에 RFU₁ 와 RFU₂ 선택합니다. 이때, T_1, T_2 은 1 min 이상 차이ना야 하며, RFU₁은 RFU₂ 보다 커야합니다.

[S], [PC] 모두 ΔRFU 를 계산합니다. $\Delta\text{RFU} : \text{RFU}_1 - \text{RFU}_2 / T_1 - T_2$

Slope of [PC] : $\Delta\text{RFU [PC]} - \Delta\text{RFU [BC]}$

Slope of [S] : $\Delta\text{RFU [S]} - \Delta\text{RFU [BC]}$



Kinetic activity curve using ACE 1 Inhibitor Control

Related products

- | | |
|-------------|--|
| BM-AOA-F100 | Angiotensin I Converting Enzyme (ACE1) Activity Assay Kit |
| BM-ATA-F100 | AngiotensinII Converting Enzyme (ACE2) Activity Assay Kit |
| BM-ATS-F100 | AngiotensinII Converting Enzyme (ACE2) Inhibitor Screening Kit |

* 안전한 사용을 위해 유해물질 정보는 MSDS를 참조하십시오.