



β-葡萄糖苷酶活性抑制能力检测试剂盒
β-Glucosidase Activity Inhibition Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



β-葡萄糖苷酶活性抑制能力检测试剂盒

β-Glucosidase Activity Inhibition Assay Kit

一、产品描述

β-葡萄糖苷酶 (β-Glucosidase, β-GC) 广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中，能够催化β-糖苷键水解生成葡萄糖。β-GC 抑制剂能够通过延缓碳水化合物分解、减慢肠道葡萄糖释放来降低餐后血糖水平，减轻胰岛细胞负担，进而改善整体血糖状况。

β-葡萄糖苷酶能够分解对-硝基苯基-β-D-吡喃糖苷生成对-硝基苯酚，对-硝基苯酚在 400 nm 处具有特征吸收峰，β-葡萄糖苷酶抑制剂加入后通过抑制其活性从而减少对-硝基苯酚的生成，下降幅度直接反映样品的抑制能力强弱，通过吸光值变化即可表征对β-葡萄糖苷酶活性的抑制能力，结果通常以抑制率或 IC₅₀值表示。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液	自备试剂	室温保存	根据样本溶解特性选择蒸馏水或有机溶剂作为提取液 (如 DMSO、甲醇、乙醇等)
试剂一	液体 15 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	液体 100 μL×1 支	-20°C保存	使用后-20°C分装保存，避免反复冻融
试剂三	液体 2 mL×1 瓶	-20°C保存	使用后-20°C分装保存，避免反复冻融
试剂四	液体 20 mL×1 瓶	4°C保存	-
阳性对照	液体 500 μL×1 支	-20°C保存	10 mg/mL 米格列醇溶液 (分装后-20°C保存，避免反复冻融)

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿 (光径 10 mm、狭缝 3 mm、体积 1.05 mL)、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.待测样本的制备 (可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

①组织：按照组织质量 (g)：提取液体积 (mL) 为 1：(5-10) 的比例 (建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液) 处理样品，冰浴匀浆，4°C 8000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

②液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。注：若液体样本浑浊，建议 4°C 8000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

③抑制剂粉剂：水溶性样本建议使用蒸馏水提取或溶解；非水溶性样本建议使用相应有机溶剂（如 DMSO、甲醇和乙醇等）提取或溶解。

2.测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 400 nm，蒸馏水调零。

②试验前将试剂一置于 25°C 预热 10 min 以上。

③试剂二应用液的制备（现用现配）：使用前根据使用量按试剂二：蒸馏水=1:9 的体积比配制。

④在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)	空白管 1 (μL)	空白管 2 (μL)	阳性管 (μL)
试剂一	240	240	240	240	240
试剂二应用液	15	-	15	-	15
待测样本	15	15	-	-	-
样本溶剂	-	-	15	15	-
阳性对照	-	-	-	-	15
蒸馏水	-	15	-	15	-
充分混匀，37°C 准确反应 10 min					
试剂三	30	30	30	30	30
充分混匀，37°C 准确反应 10 min					
试剂四	300	300	300	300	300
蒸馏水	400	400	400	400	400
充分混匀，室温静置 2 min					

注：①水溶性样本，样本溶剂为蒸馏水；非水溶性样本，样本溶剂为相应有机溶剂。②若需抑制曲线，可将 10 mg/mL 米格列醇溶液使用蒸馏水稀释至不同浓度（浓度为 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，抑制率为 47% 左右）测定 A 阳性和 A 空 2。

吸光值测定：将反应液置于 1 mL 玻璃比色皿中，测定 400 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 空 1、A 空 2 和 A 阳性；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A_{\text{空 1}} - A_{\text{空 2}}$ ， $\Delta A_{\text{阳性}} = A_{\text{阳性}} - A_{\text{空 2}}$ 。注：每个样本均需设一个对照管，空白管 1 和空白管 2 只需测定 1-2 次，阳性管为选做管可根据试验需要设计使用。

3.β-葡萄糖苷酶 (β-GC) 活性抑制百分率计算

3.1 β-葡萄糖苷酶 (β-GC) 活性抑制率计算

$$\beta\text{-葡萄糖苷酶活性抑制率 (\%)} = \frac{\Delta A_{\text{空白}} - \Delta A_{\text{测定}}}{\Delta A_{\text{空白}}} \times 100\%$$

注：抑制百分率应控制在 20-70% 范围内，若抑制百分率小于 20% 或大于 70%，则需要调整后重新测定；若抑制百分率大于 70%，建议将待测样本使用提取液或有机溶剂适当稀释后再进行测定；若抑制百分率低于 20%，建议适当增加样本量后再进行测定，计算时相应修改。

3.2 IC50 值的测定方法

IC50 是指抑制剂引起酶活性抑制达到 50% 时的浓度，即半抑制浓度。对于能够抑制 β-葡萄糖苷酶活性的样本，可将其配制成不同浓度梯度进行测试。以样本浓度为横坐标，抑制率为纵坐标绘制剂量-效应曲线，通过该曲线即可计算出抑制率为 50% 时所对应的样本浓度，即 IC50 值。

四、注意事项

- ① 试剂二应用液和试剂三在测定过程中应置于冰上放置，以免造成变性或失活；
- ② 为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

