



**β-半乳糖苷酶活性抑制能力检测试剂盒**  
**β-Galactosidase Activity Inhibition Assay Kit**



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



## β-半乳糖苷酶活性抑制能力检测试剂盒

### β-Galactosidase Activity Inhibition Assay Kit

#### 一、产品描述

β-半乳糖苷酶 (β-Galactosidase, β-GAL) 是一类能够水解 β-半乳糖苷键的酶, 广泛存在于动物、植物、微生物及培养细胞中。β-GAL 在植物体内能够水解细胞壁和储存多糖中的 β-半乳糖苷键, 释放出游离的半乳糖, 半乳糖随后进入糖酵解或其他代谢途径, 可为植物的快速生长释放储存的能量, 在食品工业、生物技术和医药、寡糖合成及疾病检测等领域发挥着重要作用。

β-半乳糖苷酶能够分解对-硝基苯-β-D-吡喃半乳糖苷生成对-硝基苯酚, 对-硝基苯酚在 400 nm 处具有特征吸收峰, β-半乳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-半乳糖苷酶活性的抑制能力, 结果通常以抑制率或 IC<sub>50</sub> 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	RT	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 20 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	液体 150 μL×1 支	4°C 保存	按照试剂一: 试剂二=99:1 的体积比配制 (即为试剂二应用液, 根据使用量现用现配)
试剂三	粉剂×3 支	-20°C 保存	使用前每支加入 160 μL 试剂一充分溶解 (配制后 4°C 可保存 1 周)
试剂四	液体 2 mL×1 瓶	-20°C 保存	-
试剂五	液体 20 mL×1 瓶	4°C 保存	-
阳性对照	粉剂×1 支	-20°C 保存	使用前加入 233 μL 蒸馏水充分溶解 (即为 50 mM β-D 半乳糖吡喃糖胺溶液)

#### 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℃ 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℃ 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试验前将试剂二应用液置于 25℃ 预热 10 min 以上。

③在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 ( $\mu\text{L}$ )	对照管 ( $\mu\text{L}$ )	空白管 1 ( $\mu\text{L}$ )	空白管 2 ( $\mu\text{L}$ )	阳性管 ( $\mu\text{L}$ )
试剂二应用液	240	240	240	240	240
试剂三	15	-	15	-	15
试剂一	-	15	-	15	-
待测样本	15	15	-	-	-
样本溶剂	-	-	15	15	-
阳性对照	-	-	-	-	15
充分混匀，37℃ 准确反应 5 min					
试剂四	30	30	30	30	30
充分混匀，37℃ 准确反应 10 min					
试剂五	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 50 mM  $\beta$ -D 半乳糖吡喃糖胺使用蒸馏水稀释至不同浓度（浓度为 1.5 mM，抑制率为 47% 左右）测定 A 阳性和 A 空 2。

**吸光值测定：**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  $\Delta A$  测定 = A 测定 - A 对照， $\Delta A$  空白 = A 空 1 - A 空 2， $\Delta A$  阳性 = A 阳性 - A 空 2。注：每个样本均需设一个对照组，空白组 1 和空白组 2 只需测定 1-2 次，阳性组为选做组可根据试验需要设计使用。

### 3.β-半乳糖苷酶 (β-GAL) 活性抑制百分率计算

#### 3.1 β-半乳糖苷酶 (β-GAL) 活性抑制率计算

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

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蒸馏水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 计算

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-半乳糖苷酶 (β-GAL) 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% 时对应的样本浓度，即 IC50 值。

### 四、注意事项

- ① 试剂三和试剂四在测定过程中应置于冰上放置，以免造成变性或失活；
- ② 试剂二应用液若产生絮状沉淀，则不可使用，需重新配制试剂二应用液；
- ③ 样本中不得含有金属离子螯合剂（如 EDTA-2Na），以确保实验结果的准确性；
- ④ 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.

