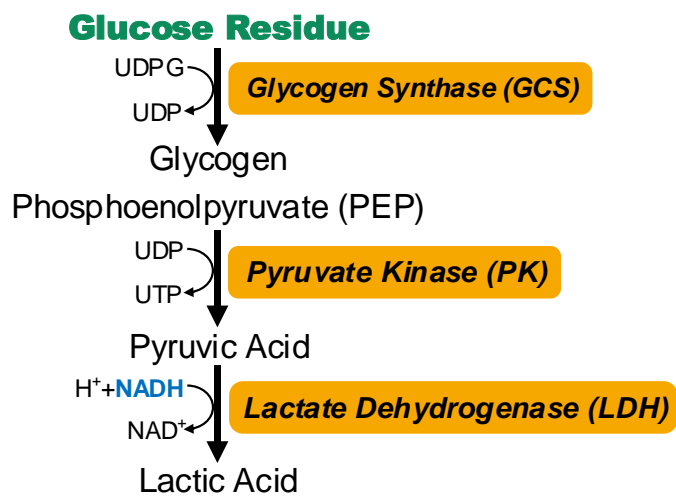




糖原合成酶 (GCS) 活性检测试剂盒
Glycogen Synthase (GCS) Activity Assay Kit



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



糖原合成酶 (GCS) 活性检测试剂盒

Glycogen Synthase (GCS) Activity Assay Kit

一、产品描述

糖原合成酶 (GCS) 能够将 UDPG 的糖基加至原有糖原或是糖原蛋白的非还原端, 以 α -1,4 糖苷键连接, 糖原合成酶是动物机体糖原合成过程的限速酶, 同时也是胰岛素作用的主要靶酶, 在糖代谢及维持血糖相对稳定的过程中有着重要作用。

糖原合成酶能够催化 UDPG 和葡萄糖残基生成糖原和 UDP, 丙酮酸激酶和乳酸脱氢酶进一步依次催化 NADH 生成 NAD^+ , NADH 在 340 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值的下降速率即可表征糖原合成酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 110 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 25 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	液体 7.5 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂三	液体 20 μ L×1 支	4°C 保存	-
试剂四	粉剂×2 支	-20°C 保存	使用前每支加入 1.5 mL 试剂一充分溶解 (分装后-20°C可保存一个月, 避免反复冻融)
试剂五	粉剂×2 支	-20°C 保存	使用前每支加入 1.5 mL 试剂一充分溶解 (分装后-20°C可保存一个月, 避免反复冻融)
试剂六	液体 45 μ L×1 支	4°C 保存	-
试剂七	粉剂×2 支	-20°C 保存	-
试剂八	粉剂×2 瓶	4°C 保存	使用前每瓶加入 2.5 mL 试剂二充分溶解 再加入 1 支试剂七充分溶解 (分装后-20°C可保存一个月, 避免反复冻融)
检测工作液 A 的制备 (现有现配): 使用前根据使用量, 按照试剂六: 试剂八=7:730 的体积比配制, 充分混匀即为检测工作液 A。			
检测工作液 B 的制备 (现有现配): 使用前根据使用量, 按照试剂一: 试剂三: 试剂四: 试剂五=700:1:150:150 的体积比配制, 充分混匀即为检测工作液 B。			

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿（光径 10 mm）/96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①**细菌或细胞：**离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量(10^4 个)：提取液体积(mL) 为 (500-1000)：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4°C 10000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②**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 10000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③**血液（浆）、培养液等液体样本：**直接测定或适当稀释后再进行测定。

2.测定步骤

①紫外分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm，蒸馏水调零。

②试验前将**检测工作液 A** 和**检测工作液 B** 置于 37°C 预热 5 min。

③在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	空白组 (μL)
粗酶液	10	-
蒸馏水	-	10
检测工作液 A	40	40
检测工作液 B	150	150

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 10 s 时（总时间）340 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②准确反应 60 s，测定 70 s 时（总时间）340 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 空白；③计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A1_{\text{空白}} - A2_{\text{空白}}$ ， $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。注：空白组只需测定 1-2 次。

3.糖原合成酶（GCS）活性计算

3.1 使用 96 孔 UV 板测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GSC (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{6430.9 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织样本每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GSC (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{6430.9 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细菌每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GSC (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{6430.9 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GSC (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times T} = 6430.9 \times \Delta A$$

3.2 使用微量石英比色皿测定的计算公式

将上述 3.1 公式中 96 孔 UV 板光径 ($d_1=0.5$ cm) 改为微量石英比色皿光径 ($d_2=1$ cm) 即可。

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.01 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm； d_1 ：96 孔 UV 板光径，0.5 cm； d_2 ：微量石英比色皿光径，1 cm；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T：反应时间：1 min；细菌或细胞数量：以万计； 10^9 ：单位换算系数， $1 \text{ mol} = 10^9 \text{ nmol}$ 。

四、注意事项

①若 ΔA 测定大于 0.2，建议将粗酶液使用提取液稀释适当后再进行测定，计算时相应修改；

②准确在 10 s 和 70 s 处完成吸光值测定，以确保实验结果的准确性和重复性；若使用 96 孔 UV 板进行测定，建议使用多道移液器且分批进行测定，以确保组间反应时间一致；

③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.

