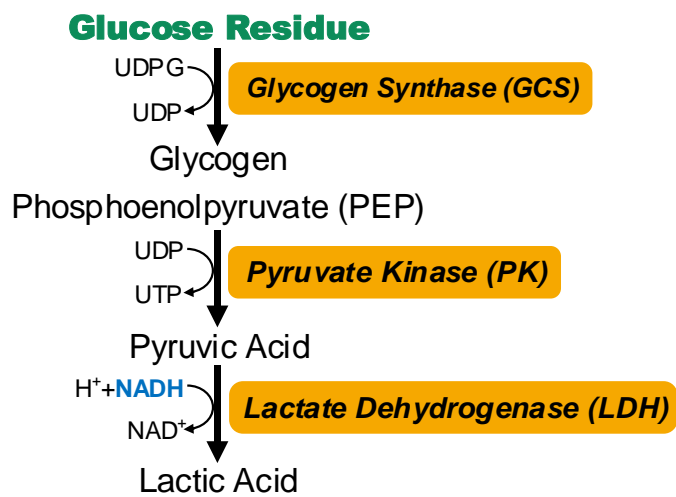




糖原合成酶 (GCS) 活性检测试剂盒  
Glycogen Synthase (GCS) Activity Assay Kit



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  $\alpha$ -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  $\text{NAD}^+$ , 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 60 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 45 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	液体 15 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂三	液体 40 $\mu$ 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 3 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 3 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 115 $\mu$ 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 6 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)
<b>检测工作液 A 的制备 (现有现配):</b> 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。 <b>检测工作液 B 的制备 (现有现配):</b> 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、1 mL 石英比色皿（光径 10 mm）、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.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1 mL石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 ( $\mu\text{L}$ )	空白组 ( $\mu\text{L}$ )
粗酶液	50	-
蒸馏水	-	50
检测工作液 A	200	200
检测工作液 B	750	750

**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

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。

$$\text{GSC (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{3215.4 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

## 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。

$$\text{GSC (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\varepsilon \times d \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{3215.4 \times \Delta A}{W}$$

## 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。

$$\text{GSC (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\varepsilon \times d \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{3215.4 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

## 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。

$$\text{GSC (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\varepsilon \times d \times V_{\text{样}} \times T} = 3215.4 \times \Delta A$$

**注释：** V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.05 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积， $1 \times 10^{-3}$  L； $\varepsilon$ ：NADH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3$  L/mol/cm；d：1 mL 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  $\Delta A$  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；
- 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.**

**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.

