

## 糖原合成酶 (Glycogen synthase, GCS) 试剂盒说明书

分光光度法 50 管/48 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

### 测定意义：

GCS (EC 2.4.1.11) 催化 UDPG 和葡萄糖残基生成糖原和 UTP，以 $\alpha$ -1, 4-糖苷键相连延长糖链，是肝和肌肉糖原合成酶的限速酶，是胰岛素作用的主要靶酶，对糖代谢的调节和血糖稳态的维持具有重要作用。

### 测定原理：

GCS 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 氧化生成 NAD<sup>+</sup>，在 340nm 下测定 NADH 下降速率，即可反映 GCS 活性。

### 组成：

产品名称	GCS001-50T/48S	Storage
提取液：液体	60ml	4°C
试剂一：液体	45ml	4°C
试剂二：液体	5ml	4°C
试剂三：液体	41 $\mu$ l	4°C
试剂四：粉剂	1 支	-20°C
试剂五：粉剂	1 瓶	-20°C
说明书	一份	

### 自备仪器和用品：

紫外分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1 ml 石英比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

### 样本的前处理：

按照组织质量 (g)：提取液体积(ml)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1ml 提取液），进行冰浴匀浆。8000g 4°C 离心 10min，取上清，置冰上待测。

### 测定步骤：

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零。
- 2、工作液的配制：临用前将试剂三和试剂四转移到试剂一中混合溶解待用；用不完的试剂分装后-20°C 保存，禁止反复冻融。
- 3、试剂五的配制：临用前在试剂五瓶中加入 2.5ml 试剂二充分溶解待用；用不完的试剂分装后-20°C 保存，禁止反复冻融。

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



4、将工作液和试剂五置于 37°C 预热 5 分钟。

5、在 1ml 石英比色皿中加入 50 $\mu$ l 样本、50 $\mu$ l 试剂五和 900 $\mu$ l 工作液，立即混匀，记录 340nm 处初始吸光值 A1 和 1min 后的吸光值 A2，计算  $\Delta A = A1 - A2$ 。

注意：在该试剂盒中，若  $\Delta A$  大于 0.1，需将样本用提取液稀释适当倍数后测定，使  $\Delta A$  小于 0.1 可提高检测灵敏度。计算公式中乘以相应稀释倍数。

### GCS 活性计算：

(1) 按样本蛋白浓度计算

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

$$\text{GCS (nmol/min/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 3215 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按样本鲜重计算

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

$$\text{GCS (nmol/min/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 3215 \times \Delta A \div W$$

$V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积， $1 \times 10^{-3}$  L； $\epsilon$ ：NADH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3$  L / mol / cm； $d$ ：比色皿光径，1cm；

$V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.05 ml； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1 ml； $T$ ：反应时间，1 min； $C_{\text{pr}}$ ：样本蛋白质浓度，mg/ml； $W$ ：样本质量，g。

