

## 糖原合成酶（GCS）检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1380

产品规格：100管/96样

### 产品简介：

糖原合成酶（Glycogen synthase, GCS）将UDPG的糖基加到原有糖原或是糖原蛋白的非还原端，以 $\alpha$ -1,4糖苷键连接。GCS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。

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

**注意：**实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

### 试验中所需的仪器和试剂：

紫外分光光度计/酶标仪、低温台式离心机、水浴锅、微量石英比色皿/96孔UV板、可调式移液枪、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

### 产品组成：

| 试剂名称 | 规格              | 保存条件 |
|------|-----------------|------|
| 提取液  | 液体100mL×1瓶      | 2-8℃ |
| 试剂一  | 液体18mL×1瓶       | 2-8℃ |
| 试剂二  | 液体7.5mL×1瓶      | 2-8℃ |
| 试剂三  | 液体14 $\mu$ L×1支 | 2-8℃ |
| 试剂四  | 粉剂×1支           | -20℃ |
| 试剂五  | 粉剂×1支           | -20℃ |
| 试剂六  | 液体48 $\mu$ L×1支 | 2-8℃ |
| 试剂七  | 粉剂×1支           | -20℃ |
| 试剂八  | 粉剂×1瓶           | 2-8℃ |

### 溶液的配制：

- 工作液的配制：临用前将试剂三、试剂四和试剂五转移到试剂一中混合溶解后待用；用不完的试剂分装后-20℃保存，避免反复冻融，-20℃保存1周。
- 试剂八的配制：临用前在试剂八中加入5mL试剂二充分溶解，再将试剂六和试剂七转移到试剂八中混合溶解后待用；用不完的试剂分装后-20℃保存，避免反复冻融，-20℃保存1周。

### 操作步骤（仅供参考）：

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

- 组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL提取液）进行冰浴匀浆，8000g 4℃离心10min，取上清液待测。
- 细菌或细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细胞数量（10<sup>4</sup>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1mL提取液），冰浴超声波破碎细菌或细胞（功率200w，超声3秒，间隔7秒，总时间3min）；然后8000g，4℃，离心10min，取上清置于冰上待测。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

3. 血清等液体：直接检测。

## 二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零。
2. 临用前将工作液与试剂八置于 37℃ 水浴锅中预热 5min（工作液用多少预热多少）。
3. 操作表：在 1mL 石英比色皿中分别加入下列试剂：

| 试剂名称 (μL) | 空白管 | 测定管 |
|-----------|-----|-----|
| 样本        | -   | 10  |
| 蒸馏水       | 10  | -   |
| 试剂八       | 40  | 40  |
| 工作液       | 150 | 150 |

加入样本即开始计时，充分混匀后于 340nm 处测定 10s 时的吸光值 A1 和 1min 10s 时的吸光值 A2，计算  $\Delta A$  测定管=A1 测定-A2 测定， $\Delta A$  空白管=A1 空白-A2 空白， $\Delta A = \Delta A$  测定管- $\Delta A$  空白管（空白管只需做 1-2 次）。

## 三、GCS 酶活计算

### A、按微量石英比色皿计算：

1. 按蛋白浓度计算

酶活定义：每毫克蛋白每分钟消耗 1nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GCS 酶活 (U/mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反应}} \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 3215.4 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2. 按样本质量计算

酶活定义：每克样本每分钟消耗 1nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GCS 酶活 (U/g 质量)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反应}} \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \div T = 3215.4 \times \Delta A \div W$$

3. 按细菌或细胞数量计算

酶活定义：每  $10^4$  个细胞每分钟消耗 1nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{GCS 酶活 (U/10}^4 \text{ cell)} &= \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反应}} \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量 (万个)}) \div T \\ &= 3215.4 \times \Delta A \div \text{细胞数量 (万个)} \end{aligned}$$

4. 按液体体积计算

酶活定义：每毫升液体每分钟消耗 1nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GCS 酶活 (U/mL)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反应}} \times 10^9 \div V_{\text{样}} \div T = 3215.4 \times \Delta A$$

$\epsilon$ : NADH 摩尔消光系数,  $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ;  $d$ : 比色皿光径,  $1\text{cm}$ ;  $10^9$ : 单位换算系数,  $1\text{mol} = 10^9 \text{ nmol}$ ;

$V_{\text{反应}}$ : 反应体系总体积,  $2 \times 10^{-4} \text{ L}$ ;  $V_{\text{样}}$ : 反应体系中样本体积,  $0.01 \text{ mL}$ ;  $\text{Cpr}$ : 样本蛋白浓度,  $\text{mg/mL}$ ;  $W$ : 样本质量,  $\text{g}$ ;  $V_{\text{样总}}$ : 加入提取液体积,  $1 \text{ mL}$ ;  $T$ : 反应时间:  $1 \text{ min}$ 。

### B、按 96 孔 UV 板计算：

将上述公式中的  $d=1\text{cm}$  改为  $d=0.6\text{cm}$  (96 孔 UV 板光径) 进行计算即可。

## 注意事项：

1. 样本提取上清液置于冰上待测，提取样本建议当天测完。
2. 若  $\Delta A$  大于 0.2，建议将样本用提取液稀释适当倍数后测定，以提高检测灵敏度，并在计算公式中乘以相应的稀释倍数。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com