

糖原合成酶（GCS）检测试剂盒（紫外分光光度法）

产品货号：BA1379

产品规格：50管/48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 α -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⁺，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、低温台式离心机、水浴锅、1mL石英比色皿、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60mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体40mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体15mL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体36 μ 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115 μ 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12 mL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（10⁴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。
- 血清等液体：直接检测。



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

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

二、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. 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	-	50
蒸馏水	50	-
工作液	750	750
试剂八	200	200

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 ΔA 测定管=A1 测定-A2 测定， ΔA 空白管=A1 空白-A2 空白， $\Delta A = \Delta A$ 测定管- ΔA 空白管（空白管只需做 1-2 次）。

三、GCS 酶活计算

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。

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

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。

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

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。

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

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。

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

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

$V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, $1 \times 10^{-3} \text{ L}$; $V_{\text{样}}$: 反应体系中样本体积, 0.05mL; Cpr : 样本蛋白浓度, mg/mL; W : 样本质量, g; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; T : 反应时间: 1min。

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 ΔA 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

QQ: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com