

上海茁彩生物科技有限公司  
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0530

Size: 100T/96S

## 糖原合成酶（GCS）检测试剂盒说明书

### 微量法

\*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

#### 一、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。

#### 二、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。

#### 三、需自备的仪器和用品：

分光光度计/酶标仪、台式离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96孔板（ZC-1036：UV板）、研钵、冰和蒸馏水。

#### 四、试剂的组成和配置：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 18 mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 2.5mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体×1 支	4℃保存	
试剂四	粉剂×1 支	-20℃保存	
试剂五	粉剂×1 支	-20℃保存	

## 五、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℃ 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

## 六、测定步骤：

- 1、分光光度计或酶标仪预热 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; 现配现用;
- 3、试剂五的配制: 临用前在试剂五中加入 1mL 试剂二充分溶解待用; 现配现用;
- 4、将工作液和试剂五置于 37℃ 预热 5 分钟。
- 5、在 1mL 微量石英比色皿或 96 孔板 (UV 板) 中加入 10 μL 样本、10 μL 试剂五和 180 μL 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。

## 七、GCS 活性计算：

- 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

### (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。

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

### (2) 按样本鲜重计算

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

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

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

● 用 96孔板 (UV板) 测定的计算公式如下

(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。

$$\begin{aligned} \text{GCS (nmol/min/mg prot)} &= [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T \\ &= 6430 \times \Delta A \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$

(2) 按样本鲜重计算

单位定义: 每g组织每分钟消耗1nmol NADH定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{GCS (nmol/min/g 鲜重)} &= [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ &= 6430 \times \Delta A \div W \end{aligned}$$

V反总: 反应体系总体积,  $2 \times 10^{-4}$  L;  $\epsilon$ : NADH 摩尔消光系数,  $6.22 \times 10^3$  L/mol/cm; d: 96孔板 (UV板) 光径, 0.5cm; V样: 加入样本体积, 0.01mL; V样总: 加入提取液体积, 1 mL; T: 反应时间, 1 min; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g。