

γ-氨基丁酸 (GABA) 含量试剂盒说明书

(货号: G1106W 微板法 96 样)

一、产品简介:

4-氨基丁酸 (GABA) 广泛分布在动植物体中。在动物体内 GABA 几乎只存在于神经组织中。在植物中如豆属、参属、中草药等的种子、根茎和组织液中都含有 GABA, 且与植物的环境应激反应有关。

4-氨基丁酸 (GABA) 在碱性溶液中与次氯酸盐和苯酚反应生成蓝绿色物质, 通过检测该有色物质在 645nm 波长处的值, 即可得出样本中 GABA 的含量。

二、试剂盒的组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	液体 4mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	液体 2mL×1 支	4°C保存	临用前取出 0.13mL 试剂二至一支新 EP 管中, 再向其中加入 1.87mL 蒸馏水混匀做为试剂二使用 (该液体一周内用完)。
试剂三	液体 10mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉体 mg×1 支	4°C保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、可调式移液枪、水浴锅、离心机、研钵、蒸馏水。

四、γ-氨基丁酸 (GABA) 含量测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

① 组织样本: 称取约 0.1g 组织样本加入研钵中, 加入 1mL 提取液, 在冰上进行匀浆, 12000rpm, 4°C或室温离心 10min, 取上清液待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照组织质量 (g): 提取液 (mL) 为 1: 5~10 的比例进行提取。

② 细菌/细胞样本: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 12000rpm 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量 (10⁴): 提取液 (mL) 为 500~1000: 1 的比例进行提取。

③ 液体样本: 澄清的液体样本直接测定, 若浑浊则离心后取上清检测。

2、上机检测:

① 酶标仪预热 30 min, 调节波长到 645 nm。

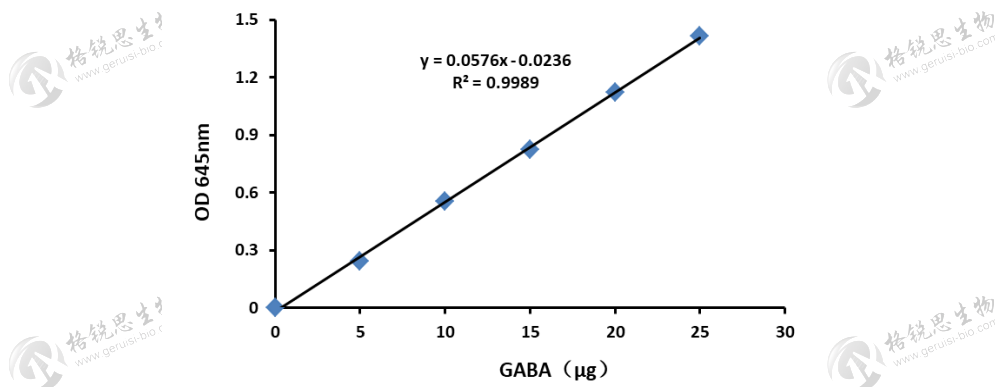
② 所有试剂解冻至室温 (25°C)。则试剂一和二可按照 30:200 的比例预先配制成混合液 (用多少配多少, 现配现用), 在 EP 管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	50	
蒸馏水		50
混合液	230	230
试剂三	100	100
混匀, 沸水浴 (95-100°C) 10min, 冰浴至室温, 若浑浊需		

12000rpm 离心 5min，取澄清的 200 μ L 至 96 孔板中，于 645nm 处读取各管的 A 值。 $\Delta A = A$ 测定 - A 空白。

五、结果计算：

1、标准曲线： $y = 0.0576x - 0.0236$ ，x 为标准品质量(μ g)，y 为吸光值 ΔA 。



2、按样本质量计算：

$$\text{GABA 含量}(\mu\text{g/g 重量}) = [(\Delta A + 0.0236) \div 0.0576] \div (W \times V1 \div V) \times D$$

$$= 347.2 \times (\Delta A + 0.0236) \div W \times D$$

3、按细胞数量计算：

$$\text{GABA 含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A + 0.0236) \div 0.0576] \div (500 \times V1 \div V) \times D$$

$$= 0.7 \times (\Delta A + 0.0236) \times D$$

4、液体中 GABA 含量计算：

$$\text{GABA 含量}(\mu\text{g}/\text{mL}) = [(\Delta A + 0.0236) \div 0.0576] \div V1 \times D = 347.2 \times (\Delta A + 0.0236) \times D$$

V---提取液体积，1mL；

V1---样本加入体积，0.05mL；

D---稀释倍数，未稀释即为 1；

W---样本取样质量，g；

500---细胞数量，万。

附：标准曲线制作过程：

- 1 标准品母液（5mg/mL）：标准品临用前甩几下使粉体落入底部，再加 2mL 蒸馏水溶解（两天内用完）。
- 2 把母液用蒸馏水稀释成以下浓度梯度的标准品：0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 按照测定管的加样体系操作，根据结果即可制作标准曲线。