

γ -Aminobutyric acid (GABA) content Assay Kit

γ -氨基丁酸 (GABA) 含量试剂盒说明书

货号: BN72132 | 方法: 微板法 | 规格: 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℃保存	
试剂一	液体 4mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 2mL×1 支	4℃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℃保存	
标准品	粉体 mg×1 支	4℃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℃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℃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 (10^4): 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℃)。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:

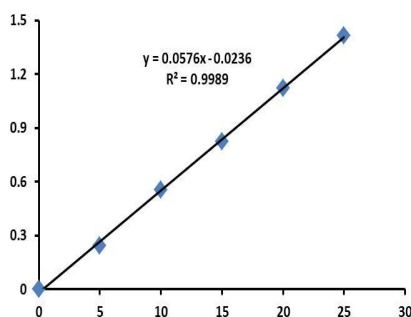
试剂名称 (μ L)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	50	
蒸馏水		50

混合液	230	230
试剂三	100	100
混匀，沸水浴（95-100℃）10min，冰浴至室温，若浑浊需12000rpm 离心 5min，取澄清的 200μL 至 96 孔板中，于 645nm 处读取各管的 A 值。ΔA=A 测定-A 空白。		

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；
针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

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



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

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：

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

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。