

γ-氨基丁酸（GABA）含量试剂盒说明书

（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℃保存 | |
| 试剂一 | 液体 40mL×1 瓶 | 4℃保存 | |
| 试剂二 | 液体 10mL×1 瓶 | 4℃保存 | |
| 试剂三 | 液体 20mL×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（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℃）。

③ 在 EP 管中依次加入：

| 试剂名称（μL） | 测定管 | 对照管 |
|---|-----|-----|
| 样本 | 50 | 50 |
| 试剂一 | 30 | 330 |
| 试剂二 | 100 | |
| 试剂三 | 200 | |
| 混匀，沸水浴（95-100℃）10min，冰浴至室温，呈现蓝绿色颜色，若浑浊需 12000rpm 离心 5min，取澄清的 200μL | | |

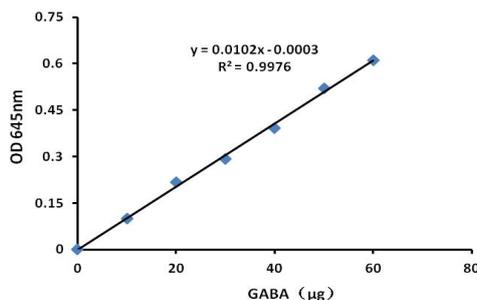
至 96 孔板中，于 645nm 处读取各管的 A 值。 $\Delta A=A$ 测定 -A 对照（每个样本需做一个自身对照）。

【注】1. 若测定管的 A 值大于 0.6，则需将样本进行稀释（用蒸馏水稀释），稀释倍数 D 需代入计算公式重新计算。

2. 若 A 测定 -A 对照的差值在零附近徘徊，则可增加样本取样量（如增至 0.2g），则取样质量 W 代入计算公式重新计算。

五、结果计算：

1、标准曲线： $y = 0.0102x - 0.0003$ ，x 为标准品质量(μg)，y 为吸光值 ΔA 。



2、按样本质量计算：

$$\begin{aligned} \text{GABA 含量}(\mu\text{g/g 重量}) &= [(\Delta A + 0.0003) \div 0.0102] \div (W \times V1 \div V) \times D \\ &= 1960.8 \times (\Delta A + 0.0003) \div W \times D \end{aligned}$$

3、按细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{GABA 含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) &= [(\Delta A + 0.0003) \div 0.0102] \div (500 \times V1 \div V) \times D \\ &= 3.922 \times (\Delta A + 0.0003) \times D \end{aligned}$$

4、液体中 GABA 含量计算：

$$\text{GABA 含量}(\mu\text{g}/\text{mL}) = [(\Delta A + 0.0003) \div 0.0102] \div V1 \times D = 1960.8 \times (\Delta A + 0.0003) \times D$$

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；

500---细胞数量，万。

附：标准曲线制作过程：

- 1 标准品母液（2mg/mL）：标准品临用前加 1mL 蒸馏水溶解。
- 2 把母液稀释成以下浓度梯度的标准品：0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1, 1.2 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。