



γ -氨基丁酸 (GABA) 含量检测试剂盒
 γ -Aminobutyric Acid (GABA) Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



γ-氨基丁酸 (GABA) 含量检测试剂盒

γ-Aminobutyric Acid (GABA) Content Assay Kit

一、产品描述

γ-氨基丁酸是一种神经递质和重要的抑制性神经调节物质，广泛存在于动植物和微生物体内，通过与受体结合抑制神经元的兴奋性，从而调节神经传递和神经电活动，对维持神经系统的平衡和正常功能至关重要，并具有调节神经传递、睡眠、情绪和神经发育等多种生物学功能。

γ-氨基丁酸能够与苯酚和次氯酸钠反应生成蓝绿色化合物，产物在 640 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测 γ-氨基丁酸的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 60 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	液体 35 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	液体 9 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
试剂三	液体 13 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
试剂四	液体 75 mL×1 瓶	4°C保存	-
标准品	粉剂×1 支 (10 mg γ-氨基丁酸标准品)	4°C避光保存	使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解 (即为 10 mg/mL γ-氨基丁酸标准液)
标准稀释液的制备 (现用现配): 使用前将 10 mg/mL γ-氨基丁酸标准液使用蒸馏水稀释至 0.4、0.3、0.2、0.1、0.05、0.025 mg/mL 即为标准稀释液。			

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (mg/mL)	10	1.0	1.0	1.0	0.2	0.1	0.05
标准液体积 (μL)	100	400	300	200	500	500	500
蒸馏水体积 (μL)	900	600	700	800	500	500	500
稀释后浓度 (mg/mL)	1.0	0.4	0.3	0.2	0.1	0.05	0.025

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿 (光径 10 mm、狭缝 3 mm、体积 1.05 mL)、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 样本处理（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，95℃处理 2 h（密封以防止水分散失），期间振荡混匀 3-5 次，冷却至室温，8000 g 常温离心 10 min，取上清液即为待测样本。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管中，按照细菌或细胞数量(10^4 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 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），95℃处理 2 h（密封以防止水分散失），期间振荡混匀 3-5 次，冷却至室温，8000 g 常温离心 10 min，取上清液即为待测样本。

③液体样本：吸取 0.1 mL 液体样本，加入 0.9 mL 提取液充分混匀，95℃处理 2 h（密封以防止水分散失），期间振荡混匀 3-5 次，冷却至室温，8000 g 常温离心 10 min，取上清液即为待测样本。

2. 测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 640 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μ L)	对照管 (μ L)	标准管 (μ L)	空白管 (μ L)
待测样本	90	90	-	-
标准稀释液	-	-	90	-
蒸馏水	-	-	-	90
试剂一	150	450	150	150
试剂二	120	-	120	120
充分混匀，室温静置 5 min				
试剂三	180	-	180	180
充分混匀				
95℃处理 10 min，冷却至室温				
试剂四	600	600	600	600

注：95℃处理过程中注意密封以防止水分散失。

吸光值测定：吸取 1 mL 反应液至 1 mL 玻璃比色皿中，测定 640 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ； $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：每个样本均需设一个对照管，各浓度标准管和空白管只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 0.4、0.3、0.2、0.1、0.05、0.025 mg/mL 为横坐标 (x)，对应的 $\Delta A_{\text{标准}}$ 为纵坐标 (y)，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式中得到 x (mg/mL)。

3. γ -氨基丁酸含量计算

①按组织蛋白浓度计算

$$\gamma\text{-氨基丁酸含量 (mg/mg prot)} = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{C_{\text{pr}} \times V_{\text{样总}}} = \frac{x}{C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

$$\gamma\text{-氨基丁酸含量 (mg/g)} = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{W} = \frac{x}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$\gamma\text{-氨基丁酸含量 (mg/10}^4\text{ cell)} = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{\text{细菌或细胞数量}} = \frac{x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

$$\gamma\text{-氨基丁酸含量 (mg/mL)} = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{V_{\text{液}}} = 10 \times x$$

注释： V 样总：待测样本总体积，1 mL；V 液：提取过程中加入液体样本的体积，0.1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计。

四、注意事项

- ①95°C处理过程中应注意密封以防止水分散失，推荐使用螺纹盖离心管或冻存管；
- ②若 A 测定或 ΔA 测定超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将待测样本使用**提取液**适当稀释后再进行测定；低于最低值建议制备更高浓度样本后再进行测定，计算时相应修改；
- ③提取液中含有蛋白去除组分，待测样本不能用于蛋白浓度测定，若需要使用蛋白浓度计算结果，需另取样本使用 PBS 或生理盐水按照相同比例，单独提取后再进行蛋白浓度测定；
- ④检测样本中应不含有谷氨酰胺，且氨基酸含量应低于 10 mg/g 或 1 mg/mL；
- ⑤为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China
TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

