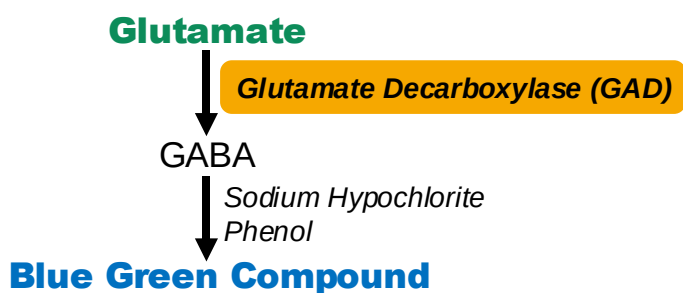




谷氨酸脱羧酶（GAD）活性检测试剂盒

Glutamic Acid Decarboxylase (GAD) Activity Assay Kit



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



谷氨酸脱羧酶（GAD）活性检测试剂盒

Glutamic Acid Decarboxylase (GAD) Activity Assay Kit

一、产品描述

谷氨酸脱羧酶在生物体中具有多种重要功能，主要参与谷氨酸代谢途径中的关键步骤，通过催化谷氨酸脱羧将谷氨酸转化为 γ -氨基丁酸，从而调节神经递质的平衡，在植物神经递质平衡和生长发育等过程中发挥重要作用，其活性分析对植物神经调节机制和植物抗逆性等研究具有重要意义。

谷氨酸脱羧酶可催化谷氨酸生成 γ -氨基丁酸，进一步与次氯酸钠和苯酚反应，生成水溶性蓝色染料靛酚蓝，产物在 640 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征谷氨酸脱羧酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件
提取液	液体 30 mL×1 瓶	4°C 保存
试剂一	液体 6 mL×1 瓶	4°C 保存
试剂二	液体 6 mL×1 瓶	4°C 保存
试剂三	液体 5 mL×1 瓶	4°C 保存
试剂四	液体 10 mL×1 瓶	4°C 保存
试剂五	液体 20 mL×1 瓶	4°C 保存
试剂六	液体 20 mL×1 瓶	4°C 保存
试剂七	液体 35 mL×1 瓶	4°C 保存

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）、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴或培养箱和蒸馏水。

1. 粗酶液的制备（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，4°C 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，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，总时间 3 min），4°C 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③培养液等液体样本：直接测定或适当稀释后再进行测定，若样本浑浊需离心后取上清测定。

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灭活酶液的制备：吸取适量粗酶液，95℃处理 10 min（密封以防止水分散失），冷却至室温即为灭活酶液。

③在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)
粗酶液	100	-
灭活酶液	-	100
试剂一	100	100
试剂二	100	100
①充分混匀，40℃准确反应 1 h		
②立即 95℃处理 10 min，冷却至室温		
③4℃ 8000 离心 5 min，取上清液		
上清液	120	120
试剂三	30	30
试剂四	150	150
试剂五	300	300
充分混匀，室温静置 5 min		
试剂六	300	300
充分混匀，室温静置 5 min		
试剂七	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 测定和 A 对照；计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。注：每个样品均需设一个对照管。

3.谷氨酸脱羧酶（GAD）活性计算（ $y=0.1316x-0.0214$ ， $R^2=0.9992$ ）

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 μmol γ-氨基丁酸定义为一个酶活性单位。

$$\text{GAD (U/mg prot)} = \frac{(\Delta A + 0.0214) \times V_{\text{反总}}}{0.1316 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{0.38 \times (\Delta A + 0.0214)}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟生成 1 μmol γ-氨基丁酸定义为一个酶活性单位。

$$\text{GAD (U/g)} = \frac{(\Delta A + 0.0214) \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{0.1316 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{0.38 \times (\Delta A + 0.0214)}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10⁴ 个细菌或细胞每分钟生成 1 μmol γ-氨基丁酸定义为一个酶活性单位。

$$\text{GAD (U/10}^4\text{ cell)} = \frac{(\Delta A + 0.0214) \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{0.1316 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{0.38 \times (\Delta A + 0.0214)}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟生成 1 μmol γ-氨基丁酸定义为一个酶活性单位。

$$\text{GAD (U/mL)} = \frac{(\Delta A + 0.0214) \times V_{\text{反总}}}{0.1316 \times V_{\text{样}} \times T} = 0.38 \times (\Delta A + 0.0214)$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.1 mL；V 反总：反应体系总体积，0.3 mL；V 样总：粗酶液总体积，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；T：反应时间，60 min。

四、注意事项

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.

Liaodong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

