

γ-氨基丁酸 (GABA) 含量试剂盒说明书

(货号: BN72133 分光法 48 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 60mL×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:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、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 可见分光光度计预热 30 min, 调节波长到 645 nm, 蒸馏水调零。

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	100	100
试剂一	60	660
试剂二	200	
试剂三	400	
混匀, 沸水浴 (95-100℃) 10min, 冰浴至室温, 呈现蓝绿色颜		

本产品仅用于科研

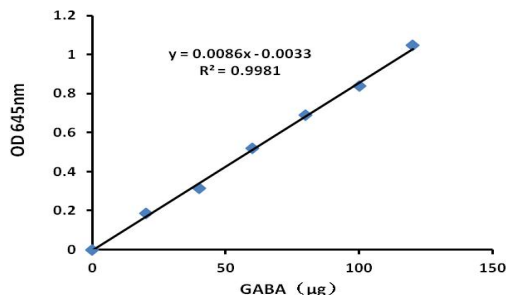
TEL: 010-82422342 www.biorigin.Ltd

色，若浑浊需 12000rpm 离心 5min，取全部澄清上清液转移至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，于 645nm 处读取各管的 A 值， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ （每个样本需做一个自身对照）。

- 【注】1. 若测定管的 A 值大于 1，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： $y = 0.0086x - 0.0033$ ，x 为标准品质量(μg)，y 为吸光值 ΔA 。



- 2、按样本质量计算：

$$\text{GABA 含量}(\mu\text{g/g 重量}) = [(\Delta A + 0.0033) \div 0.0086] \div (W \times V1 \div V) \times D \\ = 1162.8 \times (\Delta A + 0.0033) \div W \times D$$

- 3、按细胞数量计算：

$$\text{GABA 含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A + 0.0033) \div 0.0086] \div (500 \times V1 \div V) \times D = 2.33 \times (\Delta A + 0.0033) \times D$$

- 4、液体中 GABA 含量计算：

$$\text{GABA 含量}(\mu\text{g/mL}) = [(\Delta A + 0.0033) \div 0.0086] \div V1 \times D = 1162.8 \times (\Delta A + 0.0033) \times D$$

V---提取液体积，1mL；

V1---样本加入体积，0.1mL；

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。