

γ-氨基丁酸（GABA）含量试剂盒说明书

（货号：BP10426W 微板法 96 样 有效期：3 个月）

一、指标介绍：

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：

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
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℃ 避光保存	1. 临用前取出 0.13mL 试剂二至一支新 EP 管中； 2. 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℃ 避光保存	
标准品	粉体 1 支	4℃ 保存	1. 若重新做标曲，则用到该试剂； 2. 按照说明书中标曲制作步骤进行配制； 3. 溶解后的标品一周内用完。

三、实验器材：

研钵（匀浆机）、冰盒（制冰机）、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅（烘箱、培养箱、金属浴）、96 孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

四、指标测定：

建议先选取 1-3 个差异大的样本（例如不同类型或分组）进行预实验，熟悉操作流程，根据预实验结果确定或调整样本浓度，以防造成样本或试剂不必要的浪费！

1、样本提取：

- 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、检测步骤：

- 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：

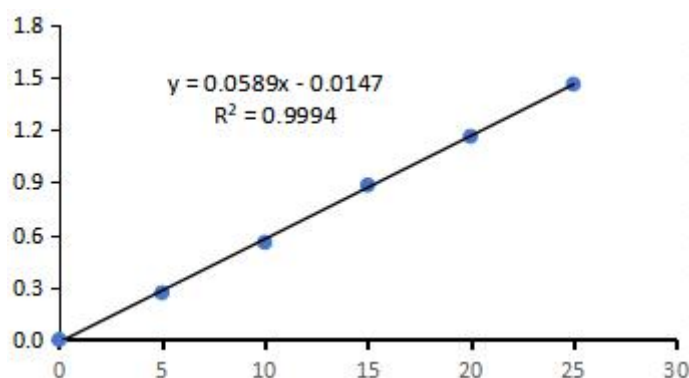
试剂组分（μL）	测定管	空白管（仅做一次）
----------	-----	-----------

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】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ΔA 值低于 0.01，则可增加样本取样量 W（如增至 0.2g）或增加样本加样量 V1（如由 50μL 增至 100μL，则混合液和试剂三均各自减少 25μL），则 W 和 V1 代入计算公式重新计算。
- 3.若样本存在高背景值（例如高含量的氨氮、铵根离子）则不建议用此法检测。

五、结果计算：

- 1、标准曲线：y = 0.0589x - 0.0147，x 为标准品质量(μg)，y 为吸光值ΔA。



- 2、按样本质量计算：

$$\text{GABA 含量}(\mu\text{g/g 重量})=[(\Delta A+0.0147)\div 0.0589]\div (W\times V1\div V)\times D$$

$$=339.6\times (\Delta A+0.0147)\div W\times D$$

- 3、按样本蛋白浓度计算：

$$\text{GABA 含量}(\mu\text{g/mg prot})=[(\Delta A+0.0147)\div 0.0589]\div (Cpr\times V1\div V)\times D$$

$$=339.6\times (\Delta A+0.0147)\div Cpr\times D$$

- 4、按细胞数量计算：

$$\text{GABA 含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell})=[(\Delta A+0.0147)\div 0.0589]\div (500\times V1\div V)\times D$$

$$=0.679\times (\Delta A+0.0147)\times D$$

- 5、液体中 GABA 含量计算：

$$\text{GABA 含量}(\mu\text{g/mL})=[(\Delta A+0.0147)\div 0.0589]\div V1\times D=339.6\times (\Delta A+0.0147)\times D$$

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；

Cpr---蛋白浓度（mg/mL）；建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。

附：标准曲线制作过程：

- 1 标准品临用前甩几下使粉体落入底部，再加 2mL 蒸馏水溶解（两天内用完），标准品母液浓度为

1mg/mL。将母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品，例如：0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mg/mL。也可根据实际样本调整标准品浓度。

2 标品稀释参照表如下：

吸取标准品母液 500uL，加入 500uL 蒸馏水，混匀得到 0.5mg/mL 的标品稀释液待用。						
标品浓度 mg/mL	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
标品稀释液 uL	0	40	80	120	160	200
水 uL	200	160	120	80	40	0
各标准管混匀待用。						

3 依据测定管加样表操作，根据结果，以各浓度吸光值减去 0 浓度吸光值，过 0 点制作标准曲线。

试剂名称 (μL)	标准管	0 浓度管 (仅做一次)
标品	50	
蒸馏水		50
混合液	230	230
试剂三	100	100
混匀，沸水浴 (95-100°C) 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， $\Delta A = A_{测定} - A_{0 浓度管}$ 。		