

γ -氨基丁酸(GABA)含量 检测试剂盒微板法

使用说明书

产品货号: BP10426W

注意: 请在试剂盒保质期内使用, 具体保质期见外包装标签。

本产品仅供科学研究使用, 不能用于临床诊断。

检测范围: 0.005-1mg/mL

灵敏度: 0.005mg/mL

有效期: 6个月

保存温度: 2-8℃

检测原理:

γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA) 是一种四碳非蛋白质组成的氨基酸, 广泛存在于动植物和微生物体内。苯酚和次氯酸钠与 GABA 反应, 产生蓝绿色产物, 在 645nm 处有最大吸光值。

注意事项:

1. 不能使用过期产品, 不同货号 and 批号组分不得混用。
2. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
3. 如果可能传播疾病, 所有的样品都应管理好, 按照规定的程序处理样品和检测装置。
4. 试剂严格按保存条件保存, 不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂, 使用前请先离心, 以免量取不到足够量的试剂。试剂盒中如有提供粉剂, 使用前请甩几下, 使粉剂落入底部。

试剂盒组分：

试剂名称	规格（48T/40S）	规格（96T/88S）	保存条件
提取液	50mL×1 瓶	100mL×1 瓶	2-8℃
试剂一	2mL×1 瓶	4mL×1 瓶	2-8℃
试剂二	2mL×1 瓶	4mL×1 瓶	2-8℃，避光
试剂三	5mL×1 瓶	10mL×1 瓶	2-8℃，避光
标准品	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃

所需仪器耗材及试剂：

离心机、酶标仪、可调式移液器、水浴锅、蒸馏水。

样本处理及要求:

1. **试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**, 建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定, 如果样品中待测物浓度过高或过低, 结合本试剂盒的线性范围: 0.005-1mg/mL, 样本稀释液为蒸馏水, 请对样本做适当的稀释或浓缩。
2. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中, 建议做预实验验证其检测有效性。
3. **组织样本:** 按照组织质量(g):提取液体积(mL)为 1:5~10 的比例 (例如约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液), 充分匀浆, 转移至 EP 管, 95℃水浴 2h(EP 管盖紧, 管盖扎小孔通气, 以防高温下盖子爆开有效成分溅出)。加热结束后, 用试剂一补足至初始液面刻度处, 混匀后, 10000 g 离心 10min, 取上清待测。

检测前准备工作:

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温。
2. **试剂二工作液配制**：临用前取出 0.13mL 试剂二至一支新 EP 管中，再向其中加入 1.87mL 蒸馏水混匀为试剂二工作液使用（该液体一周内用完）。
3. **工作液配置**：试剂一和试剂二工作液按照 30:200 的比例配制为工作液，现用现配。
4. **制备标准品母液（5mg/mL）**：取一支标准品，加 2mL 蒸馏水溶解，充分混匀（两天内用完），浓度为 5mg/mL。
5. **标准工作液配制**：把标准品母液按下表用对应量的蒸馏水稀释成以下浓度的标准品工作液：0mg/mL、0.1mg/mL、0.2mg/mL、0.3mg/mL、0.4mg/mL、0.5mg/mL、0.6mg/mL、0.7mg/mL。（注：配制目标浓度的标准品工作液时，每次请根据表格从标准品母液中取对应的体积与相应稀释液混合均匀后使用。）

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(mg/mL)	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7
5mg/mL 标准品(μL)	0	10	20	30	40	50	60	70
蒸馏水(μL)	500	490	480	470	460	450	440	430

也可根据实际样本来调整标准品浓度。按照标准管加样体系操作，即可制作标准曲线；本说明书中的标曲是用蒸馏水稀释得出，若选取其他稀释液可选择重做标曲。

操作步骤:

1. 酶标仪预热 30min, 调节波长至 645nm。
2. 样本测定 (EP 管中加入如下试剂):

试剂名称(μ L)	标准管	测定管
样本		50
不同浓度的标准品	50	
工作液	230	230
试剂三	100	100

混匀, 95°C 水浴 10min(注意防止爆盖), 冰浴冷却至室温, 若浑浊则 12000 g 离心 5min, 取上清 200 μ L 至 96 孔板, 在 645nm 处读取各管 OD 值。

注:

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

实验结果结算：

1. 标准品拟合曲线： $y=ax+b$

2. 组织样本中 GABA 含量计算公式：

$$(1) \text{GABA 含量}(\text{mg/g})=(\Delta A-b)\div a\times V\div W\times N$$

$$(2) \text{GABA 含量}(\mu\text{mol/g})=(\Delta A-b)\div a\times V\div W\times N\div 103\times 1000$$

注：

y: 标准管 OD 值-空白管 OD 值

(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x: 标准品的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

103: GABA 分子量

ΔA : 测定管 OD 值-空白管 OD 值

(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

N: 样本稀释倍数

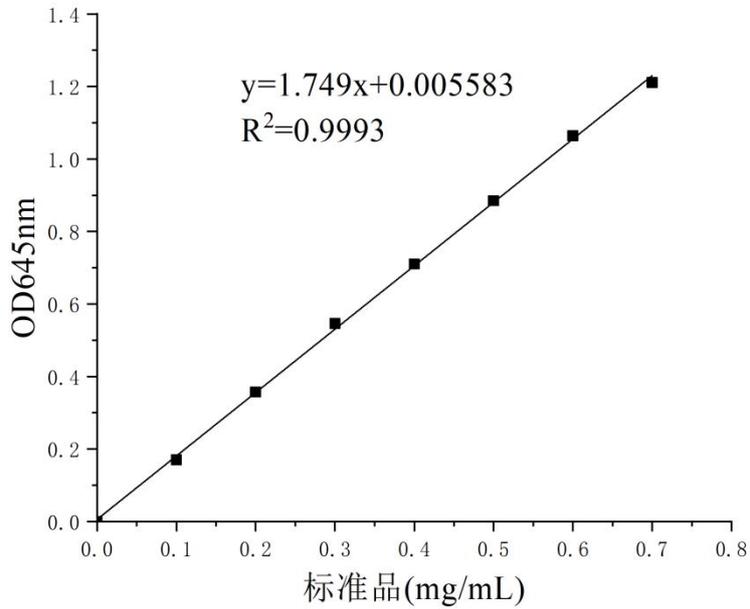
V: 加入提取液的体积, mL

W: 组织质量, g

1000: $1000\mu\text{mol}=1\text{mmol}$

参考曲线:

$y=1.749x+0.005583$, $R^2=0.9993$, x 是标准品的浓度 (mg/mL), y 是 ΔA 。



注意：本图仅供参考，应以每次实验数据所绘制标准曲线计算样本含量。