

γ-氨基丁酸（GABA）含量试剂盒说明书

（货号：ADS-W-AJS009 微板法 96 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 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℃保存	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 蒸馏水混匀做为试剂二使用（该液体一周内用完）。
试剂三	液体 10mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	粉体 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：

酶标仪、96 孔板、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（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、上机检测：

- 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：

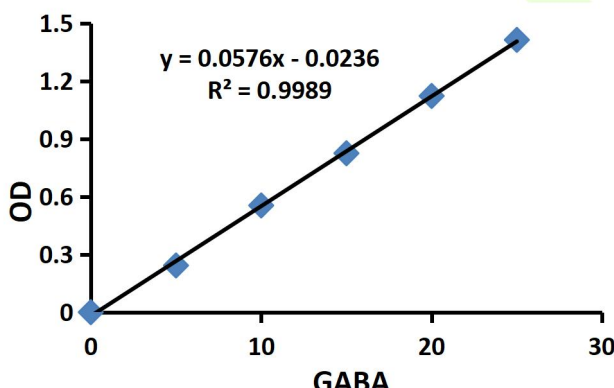
试剂名称（μL）	测定管	空白管（仅做一次）
样本	50	
蒸馏水		50
混合液	230	230
试剂三	100	100

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。 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。

- 【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： $y = 0.0576x - 0.0236$ ，x 为标准品质质量(μg)，y 为吸光值 ΔA 。



- 2、按样本质量计算：

$$\text{GABA 含量}(\mu\text{g/g 重量}) = [(\Delta A + 0.0236) \div 0.0576] \div (W \times V1 \div V) \times D$$

$$= 347.2 \times (\Delta A + 0.0236) \div W \times D$$

- 3、按细胞数量计算：

$$\text{GABA 含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A + 0.0236) \div 0.0576] \div (500 \times V1 \div V) \times D$$

$$= 0.7 \times (\Delta A + 0.0236) \times D$$

- 4、液体中 GABA 含量计算：

$$\text{GABA 含量}(\mu\text{g/mL}) = [(\Delta A + 0.0236) \div 0.0576] \div V1 \times D = 347.2 \times (\Delta A + 0.0236) \times D$$

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。

附：标准曲线制作过程：

- 标准品母液（5mg/mL）：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）。
- 把母液用蒸馏水稀释成以下浓度梯度的标准品：0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 按照测定管的加样体系操作，根据结果即可制作标准曲线。