γ-氨基丁酸 (GABA) 含量试剂盒说明书

（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645nm, 蒸馏水调零。

②所有试剂解冻至室温(25℃)。则试剂一和二可按照60:400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	100	
蒸馏水		100
混合液	460	460
试剂三	200	200

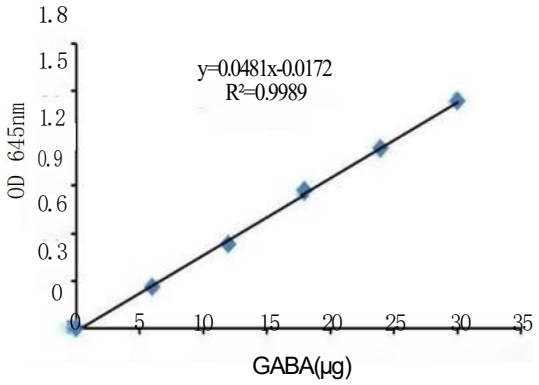
混匀，沸水浴(95-100° ℃)10min,冰浴至室温，若浑浊需12000rpm离心5min,取全部澄清上清液转移至1mL玻璃比色皿(光径1cm)中，于645nm处读取各管的A值，△A=A测定-A空白。

【注】1.若测定管的A值大于1.5,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 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100 μL 增至200μL，则混合液和试剂三均各自减少50μL），则 W 和 V1 代入计算公式重新计算。

五 、结 果 计 算 ：

1、 标 准 曲 线 ：y=0.0481x-0.0172,x 为标准品质量(μg),y 为吸光值△A。



2、 按样本质量计算：

GABA 含量(μg/g 重量)=[(△A+0.0172)÷0.0481]÷(W×V1÷V)×D

=207.9×(△A+0.0172)÷W×D

3、 按细胞数量计算：

GABA 含量(μg/10^4cell)=[(△A+0.0172)÷0.0481]÷(500×V1÷V)×D=0.416×(△A+0.0172)×D

4、 液 体 中GABA 含 量 计 算：

GABA 含量(μg/mL)=[(△A+0.0172)÷0.0481]÷V1×D=207.9×(△A+0.0172)×D

V--- 提取液体积，1mL;

V^1--- 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；

50---细胞数量，万。

附：标准曲线制作过程：

1 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)。

2 把母液稀释成以下浓度梯度的标准品：0,0.06,0.12,0.18,0.24,0.3 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。