

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K852-M

产品规格: 48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器: 酶标仪(630-650 nm)

Elabscience[®] γ -氨基丁酸(GABA)比色法测试盒

γ -Aminobutyric Acid (GABA) Colorimetric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话: 400-999-2100

邮箱: biochemical@elabscience.cn

网址: www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测动、植物组织样本中的 γ -氨基丁酸的含量。

检测原理

苯酚和次氯酸钠与 GABA 反应，产生蓝绿色产物，在 640 nm 处有最大吸光值。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	提取液 (Extracting Solution)	60 mL×1 瓶	60 mL×2 瓶	2-8°C 保存 3 个月
试剂二 (Reagent 2)	缓冲液 (Buffer Solution)	3 mL×1 瓶	6 mL×1 瓶	2-8°C 保存 3 个月
试剂三 (Reagent 3)	显色剂 A (Chromogenic Agent A)	2.4 mL×1 瓶	4.8 mL×1 瓶	2-8°C 避光 保存 3 个月
试剂四 (Reagent 4)	显色剂 B (Chromogenic Agent B)	3.6 mL×1 瓶	7.2 mL×1 瓶	2-8°C 避光 保存 3 个月
试剂五 (Reagent 5)	补充液 (Supplementary Solution)	12 mL×1 瓶	24 mL×1 瓶	2-8°C 保存 3 个月
试剂六 (Reagent 6)	10 μ mol/mL GABA 标 准品(10 μ mol/mL GABA Standard)	1.6 mL×1 支	1.6 mL×2 支	2-8°C 保存 3 个月
	96 孔酶标板	1 板		
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，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。

试剂一提供量根据每样 0.05 g 加 450 μ L 试剂一匀浆，提取过程中补充一次试剂一进行计算。

所需自备物品

仪器：酶标仪(630-650 nm, 最佳检测波长 640 nm), 水浴锅(95°C)

试剂准备

- ① 检测前，试剂平衡至室温。
- ② 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度($\mu\text{mol/mL}$)	0	1.0	2.0	4.0	5.0	7.0	9.0	10.0
10 $\mu\text{mol/mL}$ 标准品(μL)	0	20	40	80	100	140	180	200
试剂一(μL)	200	180	160	120	100	60	20	0

样本准备

① 样本处理

组织样本：称取约 0.05g 组织样本于匀浆器具中，加入 450 μL 试剂一匀浆，匀浆后，转移至 EP 管中，并标记液面刻度，95 $^{\circ}\text{C}$ 水浴加热 2 小时(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，8000 \times g 离心 10 min，取上清待测。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.06-10.0 $\mu\text{mol/mL}$ ，可参考下表进行稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%绿萝组织	不稀释	10%大鼠心脏组织	不稀释
10%青椒组织	不稀释	10%大鼠肝脏组织	不稀释
10%山药组织	不稀释	10%小鼠肾脏组织	不稀释

注：稀释液为试剂一。

实验关键点

- ① 加入试剂三时，枪头外的液体不要带到反应体系中，减少复孔差。
- ② 反应完后务必在 10 min 内测定。

操作步骤

- ① 标准管：取 30 μL 不同浓度的标准品加入相应的 1.5 mL EP 管中。
测定管：取 30 μL 样本上清液加入 1.5 mL EP 管中。
- ② 向步骤①中各管依次加入 50 μL 试剂二和 40 μL 试剂三，混匀，室温静置 5 min。
- ③ 向步骤②中各管加入 60 μL 试剂四，混匀，95 $^{\circ}\text{C}$ 水浴加热 10 min，冰浴冷却。
- ④ 向步骤③中各管加入 200 μL 试剂五，混匀。
- ⑤ 取 200 μL 于酶标板对应孔中，酶标仪于 640 nm 波长测定各孔 OD 值。

操作表

	标准管	测定管
不同浓度的标准品溶液(μL)	30	--
样本上清液(μL)	--	30
试剂二(μL)	50	50
试剂三(μL)	40	40
混匀，室温静置 5 min		
试剂四(μL)	60	60
混匀，95 $^{\circ}\text{C}$ 水浴加热 10 min，冰浴冷却		
试剂五(μL)	200	200
混匀，取 200 μL 于酶标板对应孔中，酶标仪于 640 nm 波长测定各孔 OD 值。		

结果计算

标准品拟合曲线: $y = ax + b$

组织样本中 GABA 含量计算公式:

$$\text{GABA 含量} \quad (\mu\text{mol/g wet weight}) = (\Delta A_{640} - b) \div a \times V \div m \times f$$

注解:

y: 标准品 OD 值-空白 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

ΔA_{640} : 样本测定 OD 值-空白 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

m: 组织湿重质量, g

V: 加入提取液的体积, mL

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

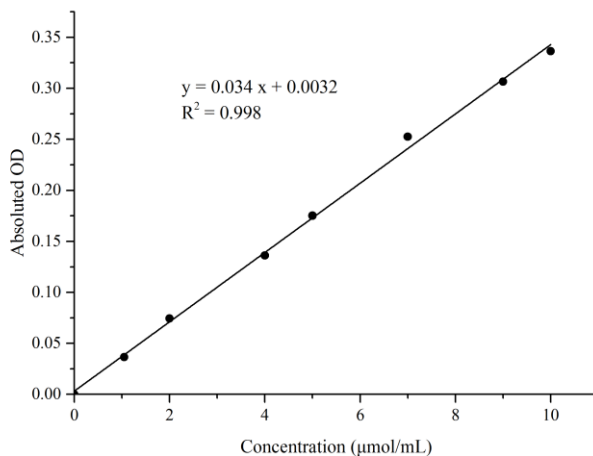
检测范围	0.06-10.0 $\mu\text{mol/mL}$	平均批间差	6.8 %
灵敏度	0.06 $\mu\text{mol/mL}$	平均批内差	4.0 %
平均回收率	96 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

①不同浓度的标准品加样量30 μL ，按照操作步骤进行实验，各点OD值如下表所示：

标准品浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)	0	1	2	4	5	7	9	10
OD 值	0.043	0.082	0.121	0.193	0.216	0.301	0.368	0.394
	0.043	0.077	0.113	0.165	0.220	0.289	0.331	0.365
平均 OD 值	0.043	0.079	0.117	0.179	0.218	0.295	0.349	0.379
绝对 OD 值	0.000	0.037	0.074	0.136	0.175	0.253	0.307	0.336

②绘制标曲(如下图)：



附录2 实例分析

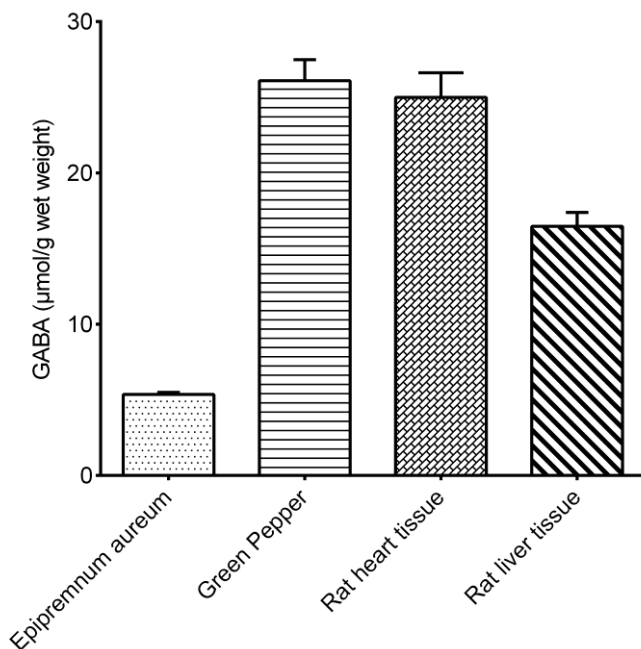
例如检测青椒组织(数据仅供参考):

取制备的30 μL 10%青椒组织上清液, 按操作表操作, 结果如下:

标准曲线: $y = 0.034x + 0.0032$, 空白孔OD值为0.043, 样本测定孔OD值为0.135, 计算结果为:

GABA 含量 $= (0.135 - 0.043 - 0.0032) \div 0.034 \times 0.9 \div 0.1 \times 1 = 23.49 \mu\text{mol/g wet weight}$
($\mu\text{mol/g wet weight}$)

按说明书操作, 测定10%绿萝组织上清液(加样量30 μL)、10%青椒组织上清液(加样量30 μL)、10%大鼠心脏组织上清液(加样量30 μL)、10%大鼠肝脏组织上清液(加样量30 μL)中的GABA含量(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
复孔差异大	样本加入量差异较大	减小样本量差异
样本测不出值	样本浓度低或者稀释倍数较大	重新处理样本,减少匀浆液体积,提高样本浓度

声明

1. 试剂盒仅供研究使用,如将其用于临床诊断或任何其他用途,我公司将不对因此产生的问题负责,亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器,严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低,请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中,建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责,不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责,使用前请充分考虑样本可能的使用量,预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Tseng S.Ja. An acid degradable, lactate oxidizing nanoparticle formulation for non-small cell lung cancer virotherapy[J]. Nano Today. IF:18.962
2. Salman T M, Iyanda M A, Alli-Oluwafuyi A M, et al. Telfairia occidentalis stimulates hepatic glycolysis and pyruvate production via insulin-dependent and insulin-independent mechanisms[J]. Metabolism Open, 2021, 10(1-10):100092. IF:8.694
3. Zhang Y, Wang Z, Shi B, et al. Effect of gingival mesenchymal stem cell-derived exosomes on inflammatory macrophages in a high-lipid microenvironment[J]. International Immunopharmacology, 2021, 94(9499):107455. IF:4.932
4. Alsayyah A, ElMazoudy R, Al-Namshan M, et al. Chronic neurodegeneration by aflatoxin B1 depends on alterations of brain enzyme activity and immunoexpression of astrocyte in male rats[J]. Ecotoxicology and environmental safety, 2019, 182: 109407. IF:4.527
5. Faheem M. Synthesis and Biological Evaluation of Benzimidazole Derivatives as Potential Neuroprotective Agents in an Ethanol-Induced Rodent Model[J]. ACS Chemical Neuroscience, 2021, 12(3):489–505. IF:4.418
6. Ren F , Xu X , Xu J B , et al. Compound essential oils relieve oxidative stress caused by PM 2. 5 exposure by inhibiting autophagy through the AMPK / mTOR pathway[J]. Environmental Toxicology, 2021 Sep; 36(9):1765-1774. IF:4.119
7. Mohsin Alvi A, Tariq Al Kury L, Umar Ijaz M, et al. Post-Treatment of Synthetic Polyphenolic 1, 3, 4 Oxadiazole Compound A3, Attenuated Ischemic Stroke-Induced Neuroinflammation and Neurodegeneration[J]. Biomolecules, 2020, 10(6): 816. IF:4.082
8. Darband S G, Sadighparvar S, Yousefi B, et al. Quercetin attenuated oxidative DNA damage through NRF2 signaling pathway in rats with DMH induced colon carcinogenesis[J]. Life sciences, 2020(253-). IF:3.708
9. Shah F A, Ali T, Khan A U. Potent Natural Antioxidant Carveol Attenuates MCAO-induced Oxidative stress, Neurodegeneration by Regulating the Nrf-2 pathway[J]. Frontiers in Neuroscience, 2020, 14: 659. IF:3.707
10. Amany Abdel-Rahman Mohamed , Safaa I. Khater , Ahmed Hamed Arisha , et al. Chitosan-stabilized selenium nanoparticles alleviate cardio-hepatic damage in type 2 diabetes mellitus model via regulation of caspase, Bax/Bcl-2, and Fas/FasL-pathway[J]. Gene, 2020, 768(7):145288. IF:3.688
11. Amany Abdel-Rahman Mohamed , Safaa I. Khater , Ahmed Hamed Arisha , et al. Chitosan-stabilized selenium nanoparticles alleviate cardio-hepatic damage in type 2

- diabetes mellitus model via regulation of caspase, Bax/Bcl-2, and Fas/FasL-pathway[J]. *Gene*, 2020, 768(7):145288. IF:3.688
12. Yu H, Zhang L, Chen P, et al. Dietary bile acids enhance growth, and alleviate hepatic fibrosis induced by a high starch diet via AKT/FOXO1 and cAMP/AMPK/SREBP1 pathway in *Micropterus salmoides*[J]. *Frontiers in Physiology*, 2019, 10. IF:3.367
 13. Li J, Ma X J, Wu X, et al. Adiponectin modulates steroid hormone secretion, granulosa cell proliferation and apoptosis via binding its receptors during hens' high laying period[J]. *Poultry Science*, 2021, 100(7): 101197. IF:3.352
 14. Fu H, Liu L, Tong Y, et al. The antidepressant effects of hesperidin on chronic unpredictable mild stress-induced mice[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2019. IF:3.04
 15. Guo Y, Liu C, Zhang J, et al. A relationship between MAPK/ERK pathway expression and neuronal apoptosis in rats with white matter lesions[J]. *European review for medical and pharmacological sciences*, 2020, 24(8): 4412-4419. IF:3.024
 16. Li L C , Dong S H , Li S H , et al. Downregulation of circular RNA circDOCK7 identified from diabetic rats after sleeve gastrectomy contributes to hepatocyte apoptosis through regulating miR-139-3p and MCM3[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2021, 548:134-142. IF:2.985
 17. Kumar S, Ivanov S, Lagunin A, et al. Attenuation of Hyperhomocysteinemia Induced Vascular Dementia by Sodium Orthovanadate Perhaps via PTP1B: Pertinent Downstream Outcomes[J]. *Behavioural Brain Research*, 2019. IF:2.77
 18. Yin X, Zhao J, Jiang H, et al. Impact of Xenon on CLIC4 and Bcl-2 Expression in Lipopolysaccharide and Hypoxia-Ischemia-Induced Periventricular White Matter Damage[J]. *Neonatology*, 2018. IF:2.554
 19. Pan H Z, Zhang L J, Liu Y W, et al. Cold-inducible RNA binding protein agonist enhances the cardioprotective effect of UW solution during extended heart preservation[J]. *Artificial Organs*, 2020. IF:2.259
 20. Uysal N, Yuksel O, Kizildag S, et al. Regular Aerobic Exercise Correlates with Reduced Anxiety and Increased Levels of Irisin in Brain and White Adipose Tissue[J]. *Neuroscience Letters*, 2018. IF:2.173
 21. Jasiński Tomasz , Bręborowicz Andrzej . Hyaluronan reduces colitis-induced intraperitoneal inflammation during peritoneal dialysis[J]. *Peritoneal Dialysis International*, 2021. IF:1.756

