（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-F048

产品规格：48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器：荧光酶标仪(激发波长 535 nm，发射波长 587 nm)

Elabscience®γ-氨基丁酸(GABA)荧光法测试盒

γ-Aminobutyric Acid(GABA) Fluorometric 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血清（浆）、组织及细胞样本中的γ-氨基丁酸（GABA）的含量。

检测原理

γ-氨基丁酸(γ-Aminobutyric acid，GABA)是哺乳动物中枢神经系统中主要的抑制性神经传递物质。GABA 还具有促进精神安定、调节血压水平、提高脑活力、增加生长激素分泌、加快乙醇代谢以及给神经细胞提供营养的作用。

GABA 经酶催化转化生成产物，脱下的氢将 $NADP^+$ 还原为 NADPH，测定 NADPH 的生成量即可计算样品 GABA 的含量。

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)	缓冲液 (Buffer Solution)	13 mL×1 瓶	26 mL×1 瓶	2-8°C 避光保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	加速剂 (Accelerrant)	0.27 mL×1 支	0.54 mL×1 支	-20°C 避光保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	显色剂 (Chromogenic Agent)	0.1 mL×1 支	0.2 mL×1 支	-20°C 避光保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	底物 (Substrate)	粉剂×2 支	粉剂×4 支	-20°C 避光保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	1 mmol/L 标准品溶液 (1 mmol/L Standard Solution)	1.2 mL×1 支	1.2 mL×2 支	-20°C 避光保存 6 个月
	96 孔黑色酶标板	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。

所需自备物品

仪器：荧光酶标仪(激发波长 535 nm，发射波长 587 nm)、37°C 恒温箱

试剂：生理盐水(0.9% NaCl)

耗材：3 KD 超滤管

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至25℃。

② 工作液的配制：

吸取5.85 mL试剂一，加入120 μL试剂二和30 μL试剂三，混匀，配制成A液。

取一支试剂四，用配制好的A液溶解试剂四，混匀，即为工作液。工作液即配即用，一天内使用有效。

③ 100 μmol/L标准品溶液的配制：

取100 μL试剂五用900 μL双蒸水溶解混匀，未使用溶液2-8°C保存一周。

④ 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 (μmol/L)	**0**	**20**	**40**	**50**	**60**	**70**	**80**	**100**
100 μmol/L 标准品 (μL)	0	40	80	100	120	140	160	200
双蒸水 (μL)	200	160	120	100	80	60	40	0

样本准备

① 样本处理

血清(浆)样本：使用3 KD超滤管4℃，12000 × g离心15 min，收集滤液，置于冰上待测。

组织样本：按照组织样本质量(g)：生理盐水(0.9% NaCl)体积(mL)=1：9的比例匀浆，4℃，10000 × g，离心10 min，收集上清，使用3 KD超滤管4℃，12000 × g离心15 min，收集滤液，置于冰上待测。

细胞样本：取1×10^6个细胞，加入200 μL生理盐水(0.9% NaCl)匀浆，4℃，10000 × g，离心10 min，取上清液，使用3 KD超滤管4℃，12000 × g，离心15 min，收集滤液，置于冰上待测。

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：10.74-200 μmol/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
兔血清	15-25	大鼠血清	20-40
小鼠血浆	15-25	人血清	15-25
10%小鼠肝脏组织	15-20	10%小鼠脑组织	30-45
1×10^6 个 Molt-4 细胞	不稀释	1×10^6 个 RAW 细胞	2-3

注：稀释液为生理盐水(0.9% NaCl)。

操作步骤

① 标准孔：取 20 μL 不同浓度的标准品溶液，分别加入相应的酶标孔中。测定孔：取 20 μL 待测样本加入相应的酶标孔中。

② 向步骤①中标准孔和测定孔加入 200 μL 工作液。

③ 振板 3 s，37°C 避光孵育 30 min，荧光酶标仪于激发波长 535 nm，发射波长 587 nm 检测各孔荧光值。

操作表

	标准孔	**测定孔**
不同浓度标准品溶液(μL)	20	--
待测样本(μL)	--	20
工作液(μL)	200	200
振板 3 s，37°C 避光孵育 30 min，荧光酶标仪于激发波长 535 nm，发射波长 587 nm 检测各孔荧光值。		

结果计算

标准品拟合曲线： $y = ax + b$

血清(浆)样本中γ-氨基丁酸(GABA)含量计算公式：

$$\text{GABA 含量 (μmol/L)} = \frac{\Delta F - b}{a} \times f$$

组织样本中γ-氨基丁酸(GABA)含量计算公式：

$$\text{GABA 含量 (μmol/kg wet weight)} = \frac{\Delta F - b}{a} \div \frac{m}{V} \times f$$

细胞样本中γ-氨基丁酸(GABA)含量计算公式：

$$\text{GABA 含量 (nmol/10^6 个)} = \frac{\Delta F - b}{a} \div \frac{n}{V} \times f$$

注解：

y：标准品荧光值-空白荧光值(标准品浓度为 0 时的荧光值)

x：标准品的浓度

a：标曲的斜率

b：标曲的截距

ΔF：样本的绝对荧光值(测定孔荧光值-空白孔荧光值)

V：组织或细胞样本加入匀浆液的体积，mL

m：样本质量，g

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

n：细胞样本数量，10^6 个

附录1 关键数据

1. 技术参数

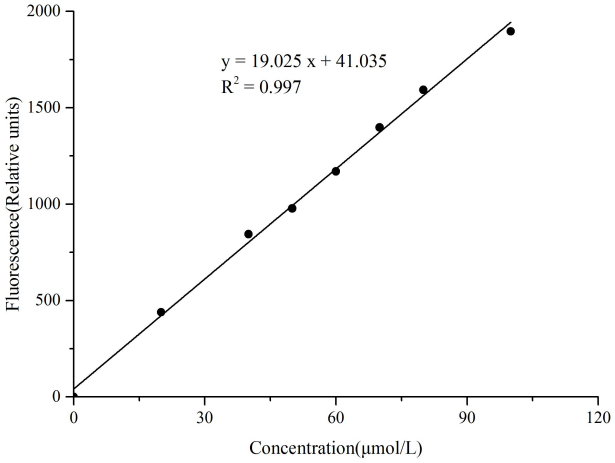
检测范围	10.74-200 μmol/L	批间差	3.1-9.5%
灵敏度	10.74 μmol/L	批内差	3.2-4.5%
加标回收率	103-108%		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

①不同浓度标准品加样量20 μL，按照操作步骤进行实验，荧光值如下表所示：

标准品浓度 (μmol/L)	0	20	40	50	60	70	80	100
荧光值	1084	1524	1900	2006	2226	2447	2623	2942
	1048	1487	1920	2082	2246	2482	2695	2983
平均荧光值	1066	1506	1910	2044	2236	2464	2659	2962
绝对荧光值	0	440	844	978	1170	1398	1593	1896

②绘制标曲(如下图)：



附录2 实例分析

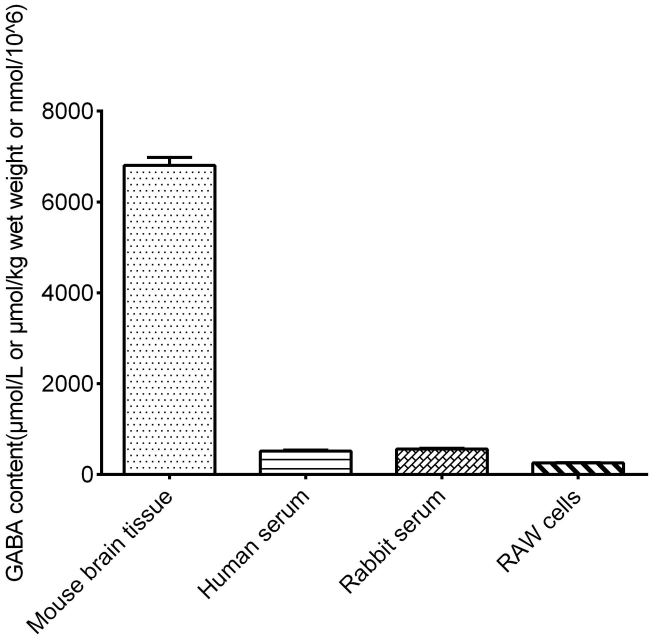
例如检测小鼠脑组织(数据仅供参考)：

取稀释40倍的10%小鼠脑组织匀浆上清液20 μL，按操作表操作，结果如下：标准曲线：y = 19.025 x + 41.035，测定孔平均荧光值为1475，空白孔平均荧光值为1066，计算结果为：

GABA含量(μmol/kg wet weight) = (1475 – 1066 – 41.035) ÷ 19.025 × 0.9 ÷ 0.1 ×40

= 6963 μmol/kg wet weight

按说明书操作，测定小鼠脑组织(稀释40倍，加样量20 μL)、人血清(稀释20倍，加样量20 μL)、兔血清(稀释20倍，加样量20 μL)、1×10^6个RAW细胞(稀释2倍，加样量20 μL)中的GABA含量(如下图)：



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。