

## GABA转氨酶(GABA-T)试剂盒（微板法）

产品货号：BA2561

产品规格：48样

产品简介：

$\gamma$ -氨基丁酸转氨酶(GABA-T, EC2.6.1.96)是GABA支路中的关键酶之一，催化GABA的降解和转化。

本试剂盒利用 $\gamma$ -氨基丁酸转氨酶(GABA-T)催化丙酮酸和GABA反应生成琥珀酸半醛和丙氨酸，通过检测GABA的减少量进而得出GABA-T酶活力大小。

反应方程式： $4\text{-aminobutanoate} + \text{pyruvate} = \text{succinate semialdehyde} + \text{L-alanine}$ 。

试剂盒的组成和配制：

试剂名称	规格	保存条件	备注
提取液	液体60mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	粉剂mg×1支	2-8℃，避光	临用前甩几下使粉剂落入底部，再加3mL试剂三溶解备用。
试剂二	粉剂mg×1支	2-8℃	临用前甩几下使粉剂落入底部，再加4.5mL试剂三溶解备用。
试剂三	液体8mL×1瓶	2-8℃	
试剂四	液体11mL×1瓶	2-8℃	
试剂五	A: 液体8mL×3瓶 B: 液体2mL×1瓶	2-8℃	临用前取0.55mL的B液进一瓶A液中，混匀后作为试剂五使用。混匀后的试剂五半月内用完。
试剂六	液体10mL×1瓶	2-8℃，避光	
标准品	粉剂mg×1支	2-8℃，避光	若重新做标曲，则用到该试剂。

所需的仪器和用品：

酶标仪、96孔板、水浴锅、离心机、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

$\gamma$ -氨基丁酸转氨酶(GABA-T)活性测定：

建议正式实验前选取2个样本做预测定，了解本批样本情况，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：取约0.1g组织(水分充足的样本可取0.5g)，加入1mL提取液，冰浴匀浆，12000rpm，4℃离心10min，取上清液待用。

[注]：若增加样本量，可按照组织质量(g)：提取液体积(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)；12000rpm4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

2. 上机检测：

① 酶标仪预热30min以上，调节波长至645nm。

② 所有试剂解冻至室温，在EP管依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	40	40
试剂一	40	
蒸馏水		40
试剂二	40	40
混匀，于30℃孵育30min		
试剂四	80	80



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

立即混匀，室温12000rpm，离心5min，上清液待测。

③ 显色反应：于EP管依次加入：

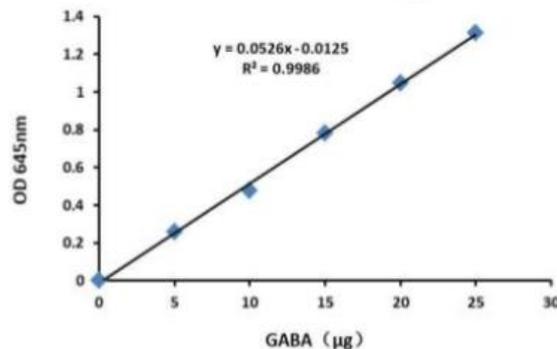
上清液	50	50
试剂四	30	30
试剂五	200	200
试剂六	100	100

混匀，沸水浴(95-100°C)10min，冰浴至室温，呈现蓝绿色颜色，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， $\Delta A = A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}$  (每个样本需做一个自身对照)。

[注]若 $\Delta A$ 值小于0.01，可增加样本质量W(如增至0.2g)，或延长30°C孵育时间T(如增至1h或更长)，或加大样本量V1(如增至80μL，则试剂四相应减少)，则改变后的W和T和V1需代入计算公式重新计算。

#### 结果计算：

1. 标准曲线： $y = 0.0526x - 0.0125$ ，x 为标准品质量(μg)，y 为吸光值 $\Delta A$ 。



2. 按样本蛋白浓度计算：

单位定义：每毫克组织蛋白每小时消耗1μg的GABA定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{GABA-T活力}(\mu\text{g/h/mg prot}) &= [(\Delta A + 0.0125) \div 0.0526] \times (V2 \div V3) \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T \\ &= 3802.3 \times (\Delta A + 0.0125) \div \text{Cpr} \end{aligned}$$

3. 按样本鲜重计算：

单位定义：每克组织每小时消耗1μg的GABA定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{GABA-T活力}(\mu\text{g/h/g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.0003) \div 0.0526] \times (V2 \div V3) \div (W \times V1 \div V) \div T \\ &= 3802.3 \times (\Delta A + 0.0125) \div W \end{aligned}$$

4. 按细菌/细胞数量计算：

单位定义：每10<sup>4</sup>个细胞每小时消耗1μg的GABA定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{GABA-T活力}(\mu\text{g/h}/10^4\text{cell}) &= [(\Delta A + 0.0003) \div 0.0526] \times (V2 \div V3) \div (500 \times V1 \div V) \div T \\ &= 3802.3 \times (\Delta A + 0.0125) \div 500 \end{aligned}$$

V--提取液体积，1mL；V1--加入反应体系中样本体积，0.04mL；W--样本质量，g；500--细胞数量，万；V2--反应体系总体积：0.2mL；V3--③步上清液的体积，0.05mL；T--反应时间，30min=0.5h；Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL，建议使用本公司的BCA蛋白含量检测试剂盒。

#### 附：标准曲线制作过程：

- 标准品母液(5mg/mL)：标准品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：0，0.1，0.2，0.3，0.4，0.5mg/mL。
- 按照测定管的③-显色反应阶段的加样体系操作，根据结果即可制作标准曲线。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com