

## GABA 转氨酶(GABA-T)试剂盒

[分光法 24 样](#)

### 产 品 简 介:

$\gamma$ -氨基丁酸转氨酶(GABA-T, EC 2.6.1.96)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-aminobutanoate + pyruvate = succinate semialdehyde + L-alanine.

### 试 剂 盒 组 成 和 配 制:

| 试剂名称 | 规格         | 保存要求  | 备注                             |
|------|------------|-------|--------------------------------|
| 提取液  | 液体 60mL×瓶  | 4°C保存 |                                |
| 试剂一  | 粉体 mg×1 支  | 4°C保存 | 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  | 粉体 mg×1 支  | 4°C保存 | 临用前甩几下使粉剂落入底部, 再加 5mL 试剂三溶解备用。 |
| 试剂三  | 液体 8mL×1 瓶 | 4°C保存 |                                |
| 试剂四  | 液体 11mL×瓶  | 4°C保存 |                                |

|     |                |       |  |
|-----|----------------|-------|--|
| 试剂五 | 液体 10mL×1 支    | 4°C保存 |  |
| 试剂六 | A: 液体 13mL×2 瓶 | 4°C保存 | 临用前取 0.9mL 的 B 液进一瓶 A 液中，<br>混匀后作为试剂六使用。混匀后的试剂六半<br>个月内用完。 |
|     | B: 液体 2mL×1 瓶  |       |  |
| 标准品 | 粉体 mg×1 支      | 4°C保存 | 若重新做标曲，则用到该试剂。   |

### **所需的仪器和用品：**

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）、水浴锅、离心机、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

### **γ-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：**

取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，12000rpm，4°C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、上机检测：**

① 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 645nm，蒸馏水调零。

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                              | 80  | 80  |
| 试剂一                             | 80  |     |
| 蒸馏水                             |     | 80  |
| 试剂二                             | 80  | 80  |
| 混匀，于 30℃ 孵育 30min。              |     |     |
| 试剂三                             | 160 | 160 |
| 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：

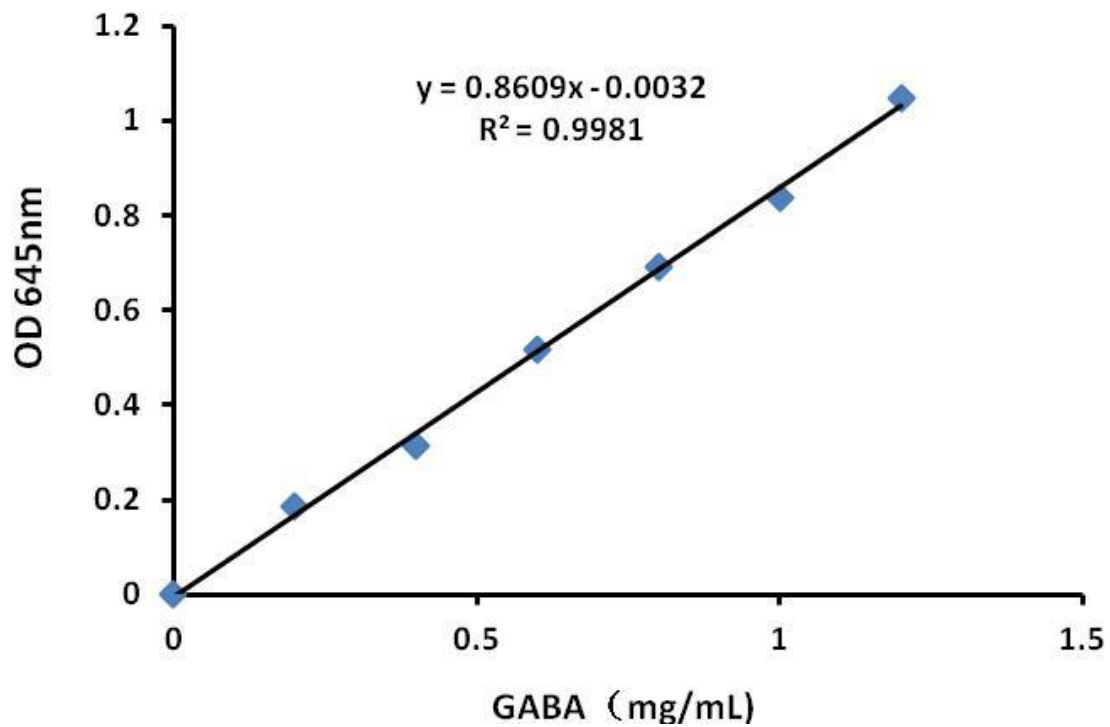
|  |     |     |
|--|-----|-----|
| 上清液  | 100 | 100 |
| 试剂四  | 60  | 60  |
| 试剂五  | 200 | 200 |
| 试剂六  | 400 | 400 |
| 混匀，沸水浴（95-100℃）10min，冰浴至室温，呈现蓝绿色颜色，全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿中，于 645nm 处读取各管的 A 值， $\Delta A = A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}$ （每个样本需做一个自身对照）。 |     |     |

**[注]：**若 $\Delta A$  值在零附近，可增加样本质量 W（如增至 0.2g），或延长 30℃ 孵育时间 T（如增至 1h 或更长），或加大样本量 V1（如增至 1500μL，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：

$y = 0.8609x - 0.0032$ ，x 为标准品浓度(mg/mL)，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 1mg 的 GABA 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GABA-T 活力(mg/h/mg prot)} = [(\Delta A + 0.0032) \div 0.8609] \times V2 \div (V1 \times Cpr) \div T$$

$$= 11.62 \times (\Delta A + 0.0032) \div Cpr$$

## 3、按样本鲜重计算：

单位定义：每克组织每小时消耗 1mg 的 GABA 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GABA-T 活力(mg/h/g 鲜重)} = [(\Delta A + 0.0032 \div 0.8609) \times V2 \div (W \times V1 \div V) \div T$$

$$= 11.62 \times (\Delta A + 0.0032) \div W$$

#### 4、按细菌或细胞密度计算：

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

$$\begin{aligned} \text{GABA-T 活力}(\text{mg/h}/10^4\text{cell}) &= [(\Delta A + 0.0032) \div 0.8609] \times V_2 \div (500 \times V_1 \div V) \div T \\ &= 0.03 \times (\Delta A + 0.0032) \text{GPP}(\mu\text{mol/h} / 10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A + 0.003) \div 0.6624 \times V_2] \div (500 \times V_1 \div V) \\ &\div T = 0.024 \times (\Delta A + 0.003). \end{aligned}$$

#### 5、按照液体体积计算：

单位定义：每毫升液体每小时消耗 1mg 的 GABA 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GABA-T 活力}(\text{mg/h/mL}) = [(\Delta A + 0.0032) \div 0.8609] \times V_2 \div V_1 \div T = 11.62 \times (\Delta A + 0.0032)$$

V---提取液体积，1mL； V1---加入反应体系中样本体积，0.08mL；

V2---反应体系总体积：0.4mL； T---反应时间，30min=0.5h； W---样本质量，g；

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：

1. 标准品母液 (2mg/ml)：标准品临用前加 1mL 蒸馏水溶解。
2. 把母液稀释成以下浓度梯度的标准品：0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1, 1.2 mg/ml。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 按照显色反应阶段的测定管加样体系操作，根据结果即可制作标准曲线。