

## 谷氨酸脱羧酶（GAD）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1814

保存：-20℃保存 6 个月

规格：48T/96T

适用样本：血清（浆）、动植物组织、细胞、细菌

### 产品简介

谷氨酸脱羧酶(GAD)是一种钙调素激活的胞质酶，它将谷氨酸转化成 $\gamma$ -氨基丁酸(GABA)，是GABA生物合成的关键限速酶。 $\gamma$ -氨基丁酸(GABA)在动物中是中枢神经系统中有效的抑制性神经递质，具有降血压、增进脑活力、营养神经细胞、保持神经安定、促进生长激素分泌和保肝利肾等作用，目前在医药和保健食品中已有广泛的应用。GABA也在许多植物胁迫中积累。本试剂盒提供了一种简单的检测方法检测生物样本中谷氨酸脱羧酶(GAD)的活性水平。其原理是GAD催化谷氨酸产生GABA，利用berthelot反应测定GABA含量，从而测定GAD活性。

### 产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
试剂一	6mL	12mL	4℃保存
试剂二	6mL	12mL	-20℃避光保存
试剂三	2.5mL	5mL	4℃保存
试剂四	3mL	6mL	4℃保存
试剂五	6mL	12mL	4℃避光保存
试剂六	6mL	12mL	4℃保存
试剂七	12.5mL	25mL	4℃保存

### 自备耗材

酶标仪或可见分光光度计（能测640nm处的吸光度）及水浴锅  
 96孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头  
 恒温箱、低温离心机、制冰机  
 去离子水  
 匀浆器（如果是组织样本）

### 试剂准备

所有试剂均为即用型；使用前，平衡到室温。按储存条件保存。

### 样本制备

组织：称取约0.1g样本，加入1mL提取液，冰浴匀浆，8,000g，4℃离心10min，取上清液，置冰上待测。  
 细胞或细菌：收集500万细胞或细菌到离心管内，用冷PBS清洗细胞，离心后弃上清，加入1mL提取液，冰浴超声波破碎细胞或细菌5min（功率20%或200W，超声3s，间隔7s，重复30次），8,000g，4℃离心10min，取上清液，置冰上待测。

## 产品说明书

血清（浆）等液体样本：直接测定。

**注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存1个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用Bradford法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。**

### 实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热30min以上，调节波长至640nm，去离子水调零。
2. 样本测定（在EP管中加入下列试剂）：

试剂名称	测定管（ $\mu\text{L}$ ）	对照管（ $\mu\text{L}$ ）
样本	100	0
95℃水浴灭活样本	0	100
试剂一	100	100
试剂二	100	100
混匀，40℃水浴1h，95℃水浴10分钟终止反应，冷却至室温，快速离心，取反应液加入新EP管中		
反应液	40	40
试剂三	10	10
试剂四	50	50
试剂五	100	100
混匀，室温静置5min。		
试剂六	100	100
混匀，室温静置5min。		
试剂七	200	200

混匀，取200 $\mu\text{L}$ 上清液至微量石英比色皿或96孔板中，测定640nm处的吸光值A。 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。每个测定管需设一个对照管。

**注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果 $\Delta A$ 小于0.001可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 大于1.0，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。**

### 结果计算

1. 标准条件下测定回归方程为 $y = 0.0682x - 0.0432$ ， $R^2 = 0.999$ ；x为标准品浓度（ $\mu\text{mol/mL}$ ），y为吸光值。
2. GAD活力计算：

（1）按样本鲜重计算

单位的定义：每g组织在反应体系中每分钟催化产生1 $\mu\text{mol}$  GABA定义为一个酶活力单位。

GAD活力（ $\mu\text{mol/min/g}$ 鲜重）=  $(\Delta A + 0.0432) \div 0.0682 \times V_{\text{反应}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.733 \times (\Delta A + 0.0432) \div W$

（2）按细菌或细胞密度计算

单位的定义：每 $10^4$ 个细菌或细胞每分钟催化产生1 $\mu\text{mol}$  GABA定义为一个酶活力单位。

GAD活力（ $\mu\text{mol/min}/10^4$  cell）=  $(\Delta A + 0.0432) \div 0.0682 \times V_{\text{反应}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.0015 \times (\Delta A + 0.0432)$

（3）按照蛋白浓度计算

单位的定义：每mg组织蛋白在反应体系中每分钟催化产生1 $\mu\text{mol}$  GABA定义为一个酶活力单位。

GAD活力（ $\mu\text{mol/min/mg prot}$ ）=  $(\Delta A + 0.0432) \div 0.0682 \times V_{\text{反应}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 0.733 \times (\Delta A + 0.0432) \div C_{\text{pr}}$

（4）按液体样本体积计算

单位的定义：每mL液体样本在反应体系中每分钟催化产生1 $\mu\text{mol}$  GABA定义为一个酶活力单位。

GAD活力（ $\mu\text{mol/min/mL}$ ）=  $(\Delta A + 0.0432) \div 0.0682 \times V_{\text{反应}} \div V_{\text{样}} \div T = 0.733 \times (\Delta A + 0.0432)$

## 产品说明书

$V_{\text{反应}}$ : 反应体系总体积, 0.3mL;  $V_{\text{样}}$ : 加入样本体积: 0.1mL;  $V_{\text{样总}}$ : 加入提取液体积, 1mL; T: 反应时间, 60min; W: 样本质量, g; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; 500: 细菌或细胞总数, 500 万。

### 注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验, 尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究, 如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途, 我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用, 并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用; 否则, 可能导致结果异常。
5. 勤换吸头, 避免各组分之间的交叉污染。

### 相关产品:

PMK1028  $\gamma$ -谷氨酰半胱氨酸连接酶 (GCL) 检测试剂盒  
PMK1029  $\gamma$ -谷氨酰转肽酶 ( $\gamma$ -GT) 测定检测试剂盒  
PMK1084 谷丙转氨酶/丙氨酸氨基转氨酶 (GPT/ALT) 检测试剂盒  
PMK1085 谷草转氨酶 (AST/GOT) 检测试剂盒 (微量法)  
PMK1076 谷氨酰胺合成酶 (GS) 检测试剂盒 (微量法)  
PMK1091 谷氨酸 (Glu) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解, 请关注公众号:

