

## CheKine™ 谷氨酸脱羧酶 (GAD) 活性检测试剂盒 (微量法)

货号: KTB3044

规格: 48 T/24 S

96 T/48 S

批号: 见产品标签

|                                                                                   |                         |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|
|  | 适用样本: 动物组织、血清 (浆) 或其他液体 |
|  | 保质期: 4℃, 避光保存 6 个月      |

### 01 背景与原理

谷氨酸脱羧酶 (Glutamate Decarboxylase, GAD) (EC 4.1.1.15) 是将谷氨酸转化成抑制性神经递质γ-氨基丁酸 (GABA) 的限速酶, γ-氨基丁酸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。

本试剂盒检测原理是 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。

### 02 包装清单

| 试剂盒组分                    | 规格     |        | 储存要求     |
|--------------------------|--------|--------|----------|
|                          | 48 T   | 96 T   |          |
| <b>Extraction Buffer</b> | 60 mL  | 120 mL | 4℃       |
| <b>Reagent I</b>         | 7 mL   | 14 mL  | 4℃, 避光保存 |
| <b>Reagent II</b>        | 7 mL   | 14 mL  | 4℃, 避光保存 |
| <b>Reagent III</b>       | 1 mL   | 2 mL   | 4℃       |
| <b>Reagent IV</b>        | 3.5 mL | 7 mL   | 4℃       |
| <b>Reagent V</b>         | 7 mL   | 14 mL  | 4℃, 避光保存 |
| <b>Reagent VI</b>        | 7 mL   | 14 mL  | 4℃, 避光保存 |
| <b>Reagent VII</b>       | 14 mL  | 28 mL  | 4℃       |

\*请在实验前检查各组分的量。

\*各组分在规格基础上额外提供 10% 的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

| 自备资源类型 | 资源名称                           | 备注                        |
|--------|--------------------------------|---------------------------|
| 仪器     | 酶标仪                            | 能测 640 nm 处的吸光度           |
| 耗材     | 96 孔酶标板                        | 普通透明板                     |
| 其他     | 匀浆器（组织样本）、水浴锅、低温离心机、可调节式移液枪及枪头 | 检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率 |

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

| 试剂名称              | 试剂准备         | 注意事项                                         |
|-------------------|--------------|----------------------------------------------|
| Extraction Buffer | 即用型；使用前平衡到室温 | 4℃ 保存                                        |
| Reagent I         | 即用型；使用前平衡到室温 | 4℃ 避光保存                                      |
| Reagent II        | 即用型；使用前平衡到室温 | 4℃ 避光保存                                      |
| Reagent III       | 即用型；使用前平衡到室温 | 4℃ 保存                                        |
| Reagent IV        | 即用型；使用前平衡到室温 | 4℃ 保存                                        |
| Reagent V         | 即用型；使用前平衡到室温 | 4℃ 避光保存； <b>Reagent V 有毒，建议在通风橱进行实验</b>      |
| Reagent VI        | 即用型；使用前平衡到室温 | 4℃ 避光保存； <b>Reagent VI 有刺激性气味，建议在通风橱进行实验</b> |
| Reagent VII       | 即用型；使用前平衡到室温 | 4℃ 保存                                        |

05-2 样本制备

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。测定时，应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时，需在 4 h 内完成样品解冻。

- 动物组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴匀浆，8000 g，4℃ 离心 10 min，取上清置冰上待测。
- 血清（浆）等液体样本：直接测定。

05-3 实验步骤

1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 640 nm。
2. 检测体系配制：每个测定管设一个对照管。在 1.5 mL EP 管中按照如下方式操作：

| 试剂                                                                      | 测定管 (μL) | 对照管 (μL) |
|-------------------------------------------------------------------------|----------|----------|
| 样本                                                                      | 100      | 0        |
| 灭活样本(95℃反应 10 min)                                                      | 0        | 100      |
| Reagent I                                                               | 100      | 100      |
| Reagent II                                                              | 100      | 100      |
| 混匀，40℃水浴反应 1 h 后，95℃水浴 10 min 终止反应，冷却至室温，取反应液待用。以下操作在新的 1.5 mL EP 管中进行： |          |          |
| 反应液                                                                     | 40       | 40       |
| Reagent III                                                             | 10       | 10       |
| Reagent IV                                                              | 50       | 50       |
| Reagent V                                                               | 100      | 100      |
| 混匀，室温静置 5 min                                                           |          |          |
| Reagent VI                                                              | 100      | 100      |
| 混匀，室温静置 5 min                                                           |          |          |
| Reagent VII                                                             | 200      | 200      |

3. 吸光度检测：充分混匀，取 200 μL 于 96 孔板中，测定 640 nm 处吸光值，分别记录为 A<sub>测定</sub> 和 A<sub>对照</sub>。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn) > 进入“技术中心”> 查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A = A_{测定} - A_{对照}$

2. 标准曲线的绘制

标准条件下测定回归方程为  $y = 14.663x + 0.633$ ,  $R^2 = 0.999$ ; x 为吸光值, y 为标准品浓度 (μmol/mL) 。

3. 样本 GAD 活性计算

● 按样本质量计算

酶活单位定义：每克样本每分钟催化产生 1 nmol GABA 定义为一个酶活力单位。

$$GAD\ (U/g)=y\times V_{反总}\div(W\times V_{样}\div V_{样总})\div T\times 1000=50\times y\div W$$

● 按液体体积计算

酶活单位定义：每毫升液体每分钟催化产生 1 nmol GABA 为一个酶活力单位。

$$GAD\ (U/mL)=y\times V_{反总}\div(V_{样}\div V_{样总})\div T\times 1000=50\times y$$

● 按蛋白浓度计算

酶活单位定义：每毫克蛋白每分钟催化产生 1 nmol GABA 定义为一个酶活力单位。

$$GAD\ (U/mg\ prot)=y\times V_{反总}\div(V_{样}\times Cpr)\div T\times 1000=50\times y\div Cpr$$

$V_{反总}$ ：反应体系总体积，0.3 mL； $V_{样}$ ：加入的样本体积，0.1 mL； $V_{样总}$ ：提取液体积，1 mL； $Cpr$ ：样本蛋白浓度，mg/mL； $W$ ：样本质量，g； $T$ ：反应时间，60 min；1000：换算系数，1 μmol=1000 nmol。

07 结果展示

示例-1：取 0.152 g 小鼠脑，按照测定步骤操作，用 96 孔板进行检测。测得 $\Delta A=A_{测定}-A_{对照}=0.175-0.092=0.083$ ，代入标准曲线，计算  $y=1.850$ 。按样本质量计算得：GAD (U/g)=50×y÷W=608.55 U/g。

08 FAQ

● 检测得到的样本ΔA 过高或者过低怎么办？

如果ΔA 小于 0.02 可适当加大样本量。如果ΔA 大于 0.8，样本可用 Extraction Buffer 进一步稀释，或减少提取用样本量，再重新进行测定。

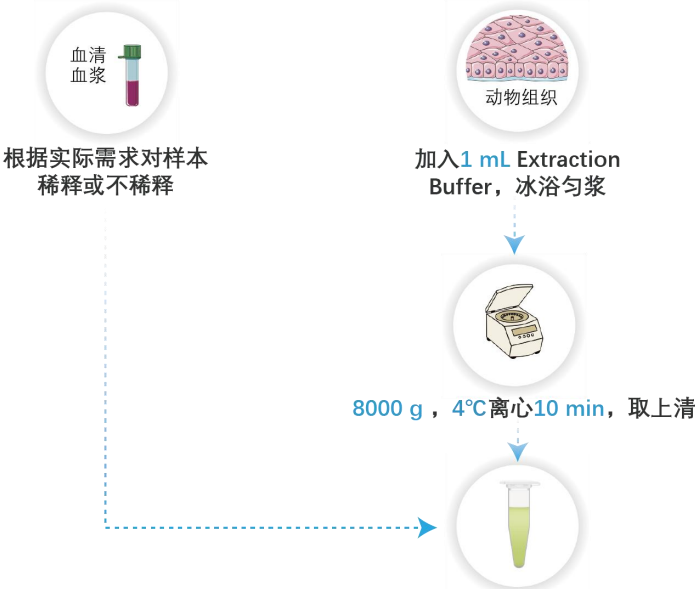
09 相关产品

| 货号      | 试剂盒名称                            |
|---------|----------------------------------|
| KTB1125 | CheKine™ 丙酮酸脱羧酶（PDC）活性检测试剂盒（微量法） |
| KTB3041 | CheKine™ 谷氨酸脱氢酶（GDH）活性检测试剂盒（微量法） |
| KTB1110 | CheKine™ 乳酸脱氢酶（LDH）活性检测试剂盒（微量法）  |

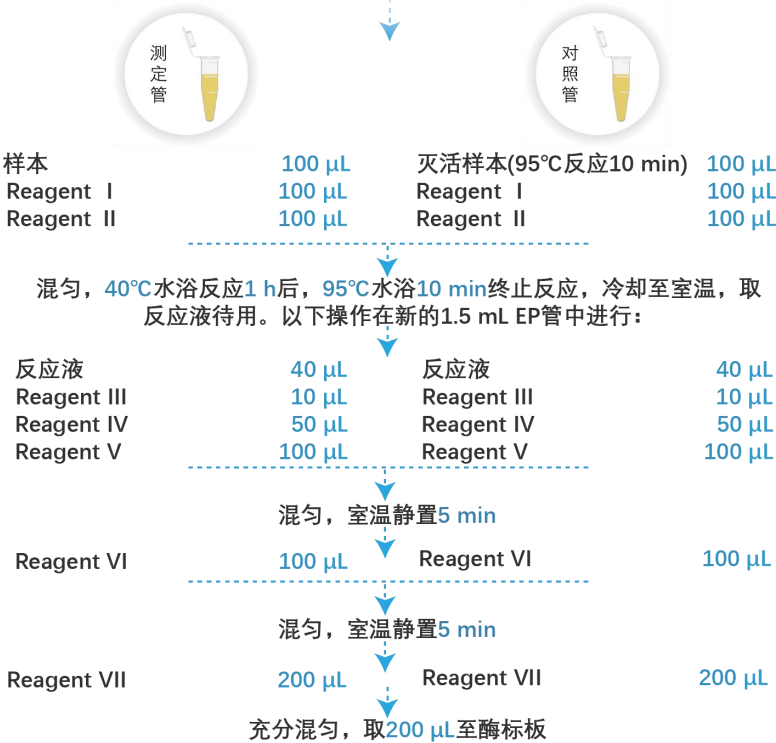
# CheKine™ 谷氨酸脱羧酶（GAD）活性检测流程示意图

(Abbking 货号：KTB3044)

样本处理



体系配置



数据检测

