

脯氨酸（PRO）含量检测试剂盒

（货号：SH3018 酶标法 96T）

一、产品简介

脯氨酸（Proline, PRO）广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中，逆境条件下植物体内脯氨酸含量显著增加，其增加量在一定程度上反映了抗逆性，抗旱性强的品种往往积累较多的脯氨酸，可作为抗逆育种的生理指标之一。

二、检测原理

本试剂盒采用茚三酮比色法：用磺基水杨酸提取脯氨酸，在加热条件下脯氨酸与酸性茚三酮溶液反应生成红色产物，在 520 nm 波长处有特征吸收峰。在特定浓度范围内，吸光度值与脯氨酸含量呈正比。

三、试剂盒组分与规格

试剂名称	规格	保存条件	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃ 保存	
试剂一	液体 40mL×1 瓶	4℃ 保存	若有沉淀，50℃水浴加热使其溶解，用前摇匀。
标准品	粉体×1 支	4℃ 保存	若需要做标曲，则用到该试剂

四、保存条件：4℃ 保存，6 个月有效。

五、所用到的仪器和用品

酶标仪、台式低温离心机、恒温水浴锅、可调式移液器、96 孔板、匀浆器、冰醋酸（乙酸）。

六、脯氨酸（PRO）含量测定

正式实验前务必选取 2-3 个预期差异较大的样本做测定，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：称取约 0.1g 组织（水分充足样本可取 0.5g），加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆，转移至 EP 管后，在 90℃ 水浴中振荡提取 10min；冷却至室温后，在 25℃ 12000g 离心 10min，取上清待测。

【注】若增加样本量，可以按照组织质量（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；按照细菌或细胞数量（10⁴ 个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 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 20% 或 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；在 90℃ 水浴振荡提取 10min；冷却至室温后，在 25℃ 12000g 离心 10min，取上清待测。

③液体样本：取 0.1mL 液体样本加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆，转移至 EP 管后，在 90℃ 水浴振荡提取 10min，冷却至室温后，在 25℃ 12000g 离心 10min，取上清待测。

【注】若增加样本量，可以按液体体积（mL）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例进行提取。

2、上机检测

①酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 520nm。

②在 EP 管中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	150	
蒸馏水		150
冰醋酸	150	150
试剂一	300	300

混匀，置于 95℃ 水浴中加热 30min (盖紧封口，防止盖子爆开水分散失)，冷却至室温。
吸取 200 μL 澄清液体于 96 孔板中，立即于 520nm 处测吸光值， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$

七、结果计算

1、根据标准曲线，计算 ΔA 对应的标准品脯氨酸浓度 C (单位为 μg/mL)。例如本说明书中的标准曲线为 $y = 0.0183x - 0.0007$ ，则 $C = (\Delta A + 0.0007) / 0.0183$ 。

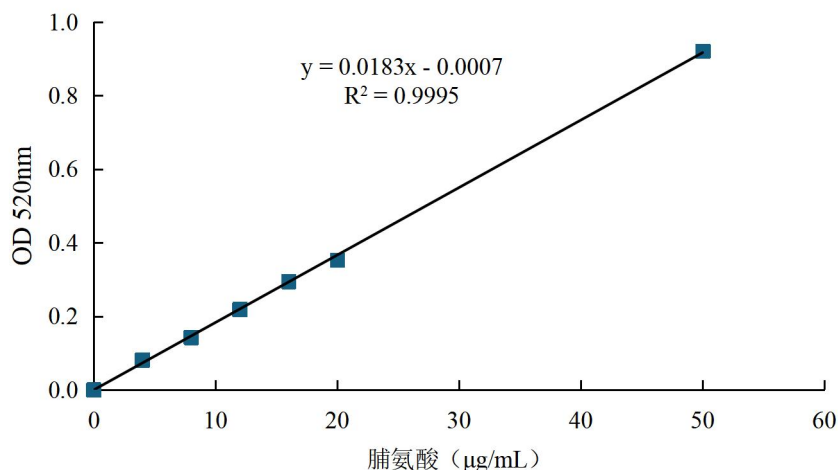


图 1 脯氨酸检测试剂盒的标准曲线效果图，图中数据仅供参考。

2、按照样本鲜重计算：

$$\text{脯氨酸 (PRO) 含量 (μg/g 鲜重)} = C \times V_1 \div (W \times V_1 \div V) \times D$$

3、按照细菌或细胞数量计算：

$$\text{脯氨酸 (PRO) 含量 (μg/10}^4\text{cell)} = C \times V_1 \div (500 \times V_1 \div V) \times D$$

4、按照液体体积计算：

$$\text{脯氨酸 (PRO) 含量 (μg/mL)} = C \times [(V + V_2) / V_2] \times D$$

V---加入提取液体积，1mL；

V₁---加入样本体积，0.05mL (反应体积换算成 200 μL)；

D---稀释倍数，未稀释即为 1； W---样本质量，g；

500---细胞数量，万； V₂---液体样本量，0.1mL；

C_{pr}---样本蛋白质浓度，mg/mL，推荐使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒 (货号：AR0146)。

注意事项：上清液不能用于蛋白质浓度测定。



八、标准曲线制作

- 1、制备标准品母液（1mg/mL）：标准品溶于 1 mL 蒸馏水中，充分混匀。
- 2、把母液用蒸馏水稀释成以下浓度梯度的标准品：0，10，20，30，40，50 μ g/mL。也可以根据实际样本来调整校准品浓度。
- 3、依据测定管的加样体系操作，根据结果即可制作标准曲线。