



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

脯氨酸(PRO)含量检测试剂盒(微量法)

货号: R41841

规格: 100T/96S

保质期: 6个月

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
提取液ES19	液体100mL×1瓶	2-8℃保存
试剂-A	冰乙酸30mL×1瓶	(自备)2-8℃保存
试剂-B	液体30mL×1瓶	2-8℃保存
标准品	粉剂×1支	2-8℃保存, 临用前加入 1 mL 蒸馏水, 配成 10 mg/mL 标准品储备液

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

简介

意义: 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Pro 含量显著增加。Pro 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。因此, 脯氨酸增加量可以作为抗逆育种的生理指标之一。

原理: 用磺基水杨酸 (SA) 提取 Pro, 加热处理后, Pro 与酸性茚三酮溶液反应生成红色; 加甲苯萃取后, 在 520nm 测定吸光度。

自备用品:

可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、水浴锅、天平、离心机、可调式移液枪、冰乙酸、研钵、冰和蒸馏水。

样品准备:

1. 细菌、细胞样品的制备:



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（ 10^4 个）：提取液 ES19 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 ES19），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）；之后置沸水浴振荡提取 10min；10000g，常温离心 10min，取上清，冷却后待测。

2. 组织样品的制备：

组织：按照组织质量（g）：提取液 ES19 体积(mL)为 1: 5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液 ES19），进行冰浴匀浆；之后置沸水浴振荡提取 10min；10000g，常温离心 10min，取上清，冷却后待测。

3. 血清（浆）样品的制备：

按照血清（浆）体积（mL）：提取液 ES19 体积(mL)为 1: 5~10 的比例（建议取 0.1mL 血清（浆）加入 0.9mL 提取液 ES19），充分混匀，之后置沸水浴振荡提取 10 分钟，10000g，常温离心 10分钟，取上清，冷却后待测。

测定步骤：

1. 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 520nm，蒸馏水调零。
2. 标准品的处理：将标准品用蒸馏水稀释为 20、15、10、7.5、5、2.5、1 μ g/mL 的标准溶液。
3. 样本测定：

试剂名称	空白管(ul)	测定管(ul)	标准管(ul)
蒸馏水	250		
上清液		250	
标准品			250
试剂-A	250	250	250
试剂-B	250	250	250

混匀后盖紧盖子，缠好封口膜，置于沸水浴中保温30min,每10min振荡一次，冷却后吸取0.2mL于比色皿或者96孔板中在520nm波长处比色，记录吸光值A测定管、A标准管、A空白管，计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。空白管只需做1-2次。

Pro 含量计算：



1. 以标准溶液浓度为横坐标, ΔA 标准为纵坐标绘制标准曲线, 得到线性回归方程 $y=kx+b$, 将 ΔA 代入方程得到 x ($\mu\text{g/mL}$)。

2. 按照血清 (浆) 体积计算

$$\text{Pro 含量 } (\mu\text{g/mL}) = 10 \times x$$

3. 按照样本质量计算

$$\text{Pro 含量 } (\mu\text{g/g 鲜重}) = x \times V_{\text{提}} \div W = x \div W$$

4. 按照细菌或细胞密度计算

$$\text{Pro 含量 } (\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = x \times V_{\text{提}} \div \text{细胞/细菌数量} = x \div \text{细胞/细菌数量}$$

注: $V_{\text{提}}$: 加入提取液体积, 1mL; W : 样本质量, g; 细胞/细菌数量: 以 10^4 为单位, 万个; 10: 血清稀释倍数, $(0.1+0.9) \div 0.1 = 10$ 。

注意事项:

1. 提取液中含有蛋白沉淀剂, 提取的上清液不能用于蛋白浓度的测定。
2. 如果测定吸光值超过线性范围吸光值, 可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。

源叶