



脯氨酸(PRO)含量测定试剂盒 分光法

货号: R32865

规格: 48T/96T

保存温度: 2-8℃保存, 有效期 3 个月。

产品简介:

植物体内游离脯氨酸含量在一定程度上反映了植物的抗逆性, 在干旱、盐渍等胁迫条件下, 许多植物体内脯氨酸大量积累。另外, 由于脯氨酸亲水性极强, 能稳定原生质胶体及组织内的代谢过程, 因而能降低凝固点, 有防止细胞脱水的作用。在低温条件下, 植物组织中脯氨酸含量增加, 可提高植物的抗寒性, 因此, 亦可作为抗寒育种的生理指标。因此测定脯氨酸含量可以作为抗旱育种的生理指标。

当用磺基水杨酸提取植物样品时, 脯氨酸便游离于磺基水杨酸的溶液中, 然后用酸性茚三酮加热处理后, 溶液即为红色, 再用甲苯萃取红色色素, 该红色物质在 520nm 处有最大吸收峰, 进而通过比色法测定植物体内游离脯氨酸的含量。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60mL×1 瓶	2-8℃保存	
试剂一	液体 30mL×1 瓶	2-8℃保存	若有沉淀, 50℃水浴加热两分钟使其溶解, 用前摇匀
标准品	粉末mg×1 支	2-8℃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)、恒温水浴锅、台式离心机、可调式移液器、冰醋酸(乙酸)、研钵、冰

脯氨酸(PRO)含量的测定:

建议正式实验前, 选取 2 个样本做预测定, 了解实验样品情况, 熟悉流程, 避免样本和试剂浪费!



一、样本准备:

1. 组织样本准备:

① 组织样本

称取约0.1g组织(水分充足的样本可取0.5g), 加入1mL提取液, 进行冰浴匀浆, 转移至EP管后, 于90°C水浴振荡提取10min;冷却至室温后, 于25°C X 12000 rpm, 离心10min, 取上清作为待测样品。

【注】: 若增加样本量, 可按照液体体积 (mL): 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例提取。

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;取500万细菌或细胞加入1mL提取液, 在4°C或冰浴进行匀浆(使用各类常见电动匀浆器或超声破碎)。于90°C水浴振荡提取10min;冷却至室温后, 于25°CX12000 rpm, 离心10min, 取上清作为待测样品。

[注]:若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量(10^4): 提取液(mL)为500~1000: 1的比例进行提取。

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, 于90°C水浴振荡提取10 min,冷却至室温后, 于25°Cx 12000 rpm, 离心10min, 取上清作为待测样品。

[注]:若增加样本量, 可按照液体体积(mL): 提取液体积(mL)为1: 5~10的比例提取。

2、上机检测

①可见分光光度计预热30min以上, 调节波长至520nm, 蒸馏水调零。

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	300	-
蒸馏水	-	300
冰醋酸	300	300



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

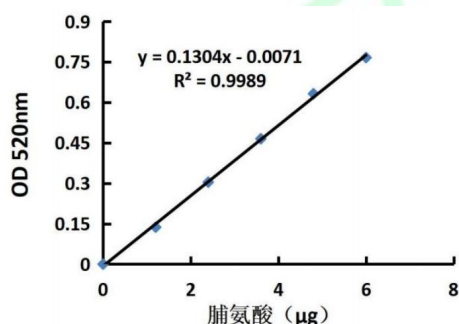
试剂一	600	600
置95℃水浴中加热30min（盖紧封口，防止盖子爆开水分散失），溶液呈红色，冷却至室温。吸取800μL澄清溶液于1mL玻璃比色皿(光径1cm)中，于520nm处读取吸光值A， $\Delta A = A_{测定} - A_{空白}$ 。		

[注]: 1.吸光度 ΔA 线性范围为0.01-1.0，若 ΔA 超过1.0可减少样本加样量 V_1 (如减至150uL,则冰醋酸相应增加)，则改变后的 V_1 需代入计算公式重新计算。

2. 若AA值低于0.005，可增加样本加样体积 V_1 (如增至450μL，则冰醋酸减至为150uL)，或增加样本取样质量 W ，可改变后的 V_1 和 W 需带入公式重新计算。

结果计算

1、标准曲线方程: $y = 0.1304x - 0.0071$; x 为标准品质量 (μg)， y 是 ΔA



2、按样本质量计算:

$$\text{脯氨酸(Pro)含量}(\mu\text{g/g鲜重}) = [(\Delta A + 0.0071) \div 0.1304] \div (W \times V_1 \div V) \times D \\ = 25.6 \times (\Delta A + 0.0071) \div W \times D$$

3、按细菌/细胞数量计算:

$$\text{脯氨酸(Pro)含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A + 0.0071) \div 0.1304] \div (500 \times V_1 \div V) \times D \\ = 25.6 \times (\Delta A + 0.0071) \div 500 \times D$$

4、按液体体积计算:

$$\text{脯氨酸(Pro)含量}(\mu\text{g/mL}) = [(\Delta A + 0.0071) \div 0.1304] \div [V_2 \times V_1 \div (V + V_2)] \times D \\ = 281.2 \times (\Delta A + 0.0071) \times D$$

V ---提取液的总体积，1mL;

V_1 --- 加入反应体系提取液的体积，0.3mL; .

V_2 ---液体样品量，0.1mL;



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

W--样品质量, g;

500--- _细胞数量, 万;

D---稀释倍数, 未稀释即为1。

附:标准曲线制作过程:

1制备标准品母液(1mg/mL):标准品溶解在1mL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, 4, 8, 12, 16, 20ug/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。

3依据测定管的加样表操作, 根据结果即可制作标准曲线。



源叶