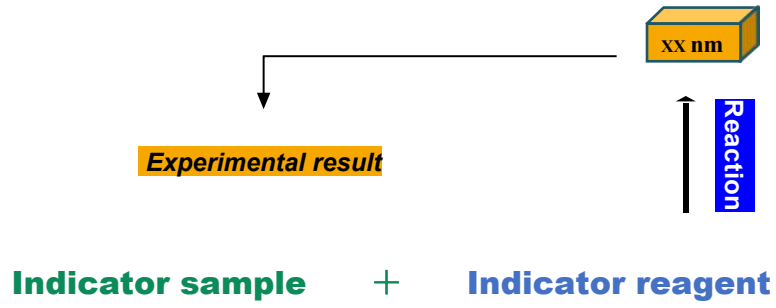
上海茁彩生物科技有限公司

Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

货号：ZC-S0367 规格：100管/96样

脯氨酸（Pro）含量检测试剂盒说明书
微量法

注意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

产品说明：

脯氨酸（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。

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。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板（非聚苯乙烯）、冰乙酸、甲苯、研钵、冰和蒸馏水。

产品内容：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	冰乙酸	4℃保存	自备
试剂二	液体 35 mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	甲苯	4℃保存	自备
标准品	粉剂×1 支	4℃保存	脯氨酸 10mg，临用前加入 1mL 蒸馏水，配成 10mg/mL 标准品

操作步骤：

一、样品测定的准备：

1、细胞、细菌或组织样品的制备 ：

细菌或细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，弃上清；按照每 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液，超声波破碎细菌或细胞（功率 20%，超声 3 秒，间隔 10 秒，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。

组织：称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液进行冰浴匀浆；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。

2、血清（浆）样品：取 0.1mL 血清（浆）加入 0.9mL 提取液，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。

3、标准品的处理：将标准品用蒸馏水稀释为 15、10、8、6、4、2、1 μg/mL。

二、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，分光光度计用甲苯调零。

2、取 0.25mL 上清液或标准品溶液+0.25mL 试剂一+0.25mL 试剂二于 2mL 有盖 EP 管中，置沸水浴中保温 30min（盖紧，防止水分散失），每 10min 振荡一次。

3、待冷却后，加入 0.5mL 试剂三，振荡 30s，静置片刻，使色素转至试剂三中；吸取 0.2mL 上层溶液于微量玻璃比色皿或 96 孔板中，于 520nm 波长处比色，记录吸光值 A。

4、根据标准品吸光值和浓度，建立标准曲线。

三、Pro 含量计算：

1、通过标准曲线计算样品脯氨酸含量(y 为脯氨酸含量，μg/mL；x 为 OD 值)

2、按照细菌、细胞个数计算：

细胞或细菌中脯氨酸含量(μg/10^4 cell)=y×V 提÷细胞/细菌数量= y÷细胞/细菌数量3、按照组织鲜重计算

Pro 含量(μg/g 鲜重）=y×V 提÷W=y÷W 4、按照血清（浆）体积计算

Pro 含量（μg/mL）= 10×y

V 提：加入提取液体积，1mL；W：样本鲜重，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）÷0.1=10。

注意：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。