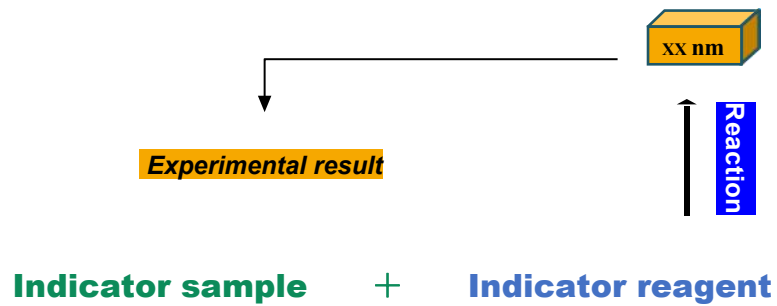


上海茁彩生物科技有限公司  
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

## 脯氨酸（PRO）含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

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 50mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂一	冰乙酸	4℃保存	自备
试剂二	液体 45 mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂三	甲苯	4℃保存	自备
标准品	脯氨酸 10mg	4℃保存	-

### 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、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1 mL 玻璃比色皿、冰乙酸、甲苯、研钵、冰和蒸馏水。

### 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 100 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 100 μL 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：称取 1mg，将标准品稀释为 15、10、8、6、4、2、1、0 μg/ml。

#### 测定步骤:

- 1、分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 520nm, 甲苯调零。
- 2、取 0.5mL 上清液 (或稀释后的标准品) +0.5mL 试剂一+0.5mL 试剂二于有盖试管中, 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, 在试管中加入 1mL 试剂三, 振荡 30s, 静置片刻, 使色素转至试剂三中; 吸取 0.8mL-1mL 上层溶液于 1mL 玻璃比色皿中, 于 520nm 波长处比色, 记录吸光值。
- 4、根据标准品吸光值和浓度, 建立标准曲线。

#### 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,  $\mu\text{g/mL}$ ;  $x$  为 OD 值)
- 2、按照细菌、细胞个数或者组织鲜重计算, 首先根据标准曲线求得  $y$  值:

细胞或细菌中脯氨酸含量 ( $\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}$ ) =  $y \div$  细胞浓度 ( $10^4 \text{ cell/mL}$ )

Pro 含量 ( $\mu\text{g/g mass}$ ) =  $y \div$  样本鲜重 ( $\text{g/mL}$ )

- 3、血清 (浆) 中脯氨酸含量, 首先根据标准曲线求得  $y$  值:

Pro 含量 [ $\mu\text{g/mL}$  血清 (浆)] =  $y \div 0.1\text{mL}$  血清 (浆) /mL

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。