

脯氨酸 (PRO) 含量检测试剂盒 (微量法) (本试剂盒仅供科研使用)

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0119	脯氨酸 (PRO) 含量检测试剂盒	100 管/96 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 100mL ×1 瓶	4°C
试剂一	冰乙酸 (自备)	4°C
试剂二	液体 35mL ×1 瓶	4°C
试剂三	甲苯 (自备)	4°C
标准品	粉剂×1 支, 脯氨酸 10mg: 临用前加入 1mL 蒸馏水, 配成 10mg/mL 标准品。	4°C

一、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。

二、自备材料

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。

三、样品准备

- 1、组织样本: 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、细胞或细菌样本: 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。
- 3、血清/血浆样本: 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 min, 10000g, 常温离心 10 分钟, 取上清, 冷却后待测。
- 4、标准品的处理: 将标准品用蒸馏水稀释为 15、10、8、6、4、2、1 μ g/mL。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 520nm, 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。

五、Pro 含量的计算

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)。

1、按照组织鲜重计算:

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

2、按照细菌、细胞个数计算:

细胞或细菌中脯氨酸含量($\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}$) = $y \times V_{\text{提}} \div \text{细胞/细菌数量} = y \div \text{细胞/细菌数量}$ 。

3、按照血清/血浆体积计算:

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

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, $(0.1+0.9) \div 0.1=10$ 。

六、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。