

## 脯氨酸 (PRO) 含量检测试剂盒 (分光光度计法) (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
YFX0118	脯氨酸 (PRO) 含量检测试剂盒	50 管/48 样

### 产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 50mL ×1 瓶	4°C
试剂一	冰乙酸 (自备)	4°C
试剂二	液体 45mL ×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、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、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 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。
- 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、0 $\mu$ 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 0.5mL 上清液或标准品溶液+0.5mL 试剂一+0.5mL 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 1mL 试剂三, 振荡 30s, 静置片刻, 使色素转至试剂三中; 吸取 0.8-1mL 上层溶液于 1mL 微量玻璃比色皿中, 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。

## 五、Pro 含量的计算

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、按照组织样本鲜重计算:

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

3、按照细菌细胞个数计算:

Pro 含量( $\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}$ ) =  $y \div$  细胞浓度( $10^4 \text{ cell/mL}$ )。

4、按照血清/血浆体积计算:

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

## 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。