

Proline (Pro) Content Assay Kit

脯氨酸 (PRO) 含量测定试剂盒说明书

货号: G0111F96 | 方法: 分光法 | 规格: 96 样

一、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, 抗旱性强的品种往往积累较多的脯氨酸。因此测定脯氨酸含量可以作为抗旱育种的生理指标。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。

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, 然后与酸性茚三酮加热反应后形成红色物质, 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。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4°C保存	使用前摇匀。
试剂一	液体 60mL×1 瓶	4°C保存	若有沉淀, 50°C水浴加热两分钟使其溶解, 用前摇匀。
标准品	粉体 mg×1 支	4°C保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

三、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

四、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, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备

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×12000 rpm, 离心 10min, 取上清作为待测样品。

【注】: 若增加样本量, 可按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例进行提取。

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°C×12000 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 (10⁴): 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°C×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：

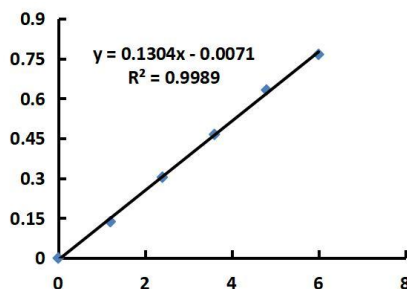
试剂名称（ μL ）	测定管	空白管（仅做一次）
样本	300	
蒸馏水		300
冰醋酸	300	300
试剂一	600	600

置 95°C 水浴中加热 30min（盖紧封口，防止盖子爆开水分散失），冷却至室温。吸取 800 μL 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。

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、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 为 ΔA 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

- 2、按样本质量计算：

$$\begin{aligned} \text{脯氨酸(Pro)含量}(\mu\text{g/g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.0071) \div 0.1304] \div (W \times V1 \div V) \times D \\ &= 25.6 \times (\Delta A + 0.0071) \div W \times D \end{aligned}$$

- 3、按细菌/细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{脯氨酸(Pro)含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) &= [(\Delta A + 0.0071) \div 0.1304] \div (500 \times V1 \div V) \times D \\ &= 25.6 \times (\Delta A + 0.0071) \div 500 \times D \end{aligned}$$

- 4、按液体体积计算：

$$\begin{aligned} \text{脯氨酸(Pro)含量}(\mu\text{g}/\text{mL}) &= [(\Delta A + 0.0071) \div 0.1304] \div [V2 \times V1 \div (V + V2)] \times D \\ &= 281.2 \times (\Delta A + 0.0071) \times D \end{aligned}$$

V—提取液的总体积，1mL； V1---加入反应体系提取液的体积，0.3mL；

V2---液体样品量，0.1mL；

W---样品质量，g；

500---细胞数量，万；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。

