

脯氨酸（PRO）含量检测试剂盒

（货号：SH3018 酶标法 96T）

一、产品简介

脯氨酸（Proline, 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脯氨酸含量显著增加，其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，可作为抗逆育种的生理指标之一。

二、检测原理

本试剂盒采用茚三酮比色法：用碘基水杨酸提取脯氨酸，在加热条件下脯氨酸与酸性茚三酮溶液反应生成红色产物，在 520 nm 波长处有特征吸收峰。在特定浓度范围内，吸光度值与脯氨酸含量呈正比。

三、试剂盒组分与规格

试剂名称	规格	保存条件	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 40mL×1 瓶	4℃保存	若有沉淀，50℃水浴加热使其溶解，用前摇匀。
标准品	粉体×1 支	4℃保存	若需要做标曲，则用到该试剂

四、所用到的仪器和用品

酶标仪、台式低温离心机、恒温水浴锅、可调式移液器、96 孔板、匀浆器、冰醋酸（乙酸）。

五、脯氨酸（PRO）含量测定

正式实验前务必选取 2-3 个预期差异较大的样本做测定，了解本批样本情况，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（水分充足样本可取 0.5g），加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆，转移至 EP 管后，在 90℃水浴中振荡提取 10min；冷却至室温后，在 25℃ 12000g 离心 10min，取上清待测。

【注】若增加样本量，可以按照组织质量（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；按



照细菌或细胞数量 (10^4 个): 提取液体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液), 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 在 90℃ 水浴振荡提取 10min; 冷却至室温后, 在 25℃ 12000g 离心 10min, 取上清待测。

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, 在 90℃ 水浴振荡提取 10min, 冷却至室温后, 在 25℃ 12000g 离心 10min, 取上清待测。

【注】若增加样本量, 可以按液体体积 (mL): 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例进行提取。

2、上机检测

①酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 520nm。

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	150	
蒸馏水		150
冰醋酸	150	150
试剂一	300	300
混匀, 置于 95℃ 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 200μL 澄清液体于 96 孔板中, 立即于 520nm 处测吸光值, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$		

六、结果计算

1、根据标准曲线, 计算 ΔA 对应的标准品脯氨酸浓度 C (单位为 $\mu\text{g/mL}$)。

例如本说明书中的标准曲线为 $y = 0.0183x - 0.0007$, 则

$C = (\Delta A + 0.0007) / 0.0183$ 。

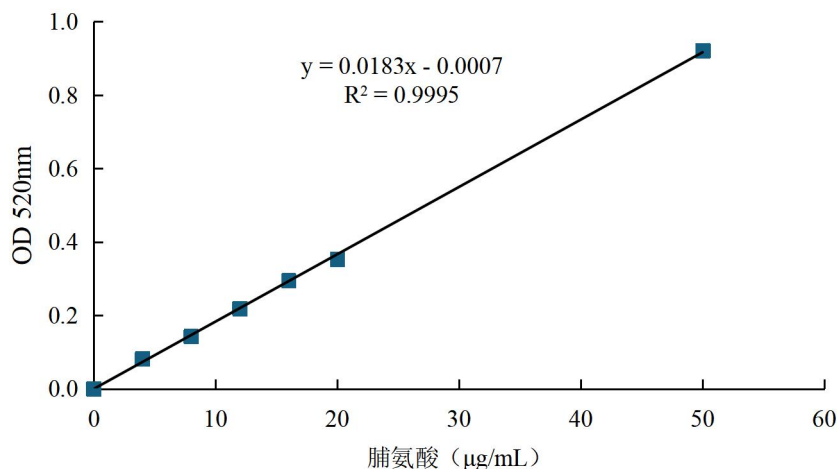


图 1 脯氨酸检测试剂盒的标准曲线效果图，图中数据仅供参考。

2、按照样本鲜重计算：

$$\text{脯氨酸 (PRO) 含量}(\mu\text{g/g 鲜重}) = C \times V1 \div (W \times V1 \div V) \times D$$

3、按照细菌或细胞数量计算：

$$\text{脯氨酸 (PRO) 含量}(\mu\text{g}/10^4\text{cell}) = C \times V1 \div (500 \times V1 \div V) \times D$$

4、按照液体体积计算：

$$\text{脯氨酸 (PRO) 含量}(\mu\text{g/mL}) = C \times [(V + V2) / V2] \times D$$

V---加入提取液体积，1mL；

V1---加入样本体积，0.05mL(反应体积换算成 200μL)；

D---稀释倍数，未稀释即为 1；

W---样本质量，g；

500---细胞数量，万；

V2---液体样本量，0.1mL；

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL，推荐使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒（货号：AR0146）。

注意事项：上清液不能用于蛋白质浓度测定。

七、标准曲线制作

- 1、制备标准品母液（1mg/mL）：标准品溶于 1 mL 蒸馏水中，充分混匀。
- 2、把母液用蒸馏水稀释成以下浓度梯度的标准品：0，10，20，30，40，50μg/mL。也可以根据实际样本来调整校准品浓度。
- 3、依据测定管的加样体系操作，根据结果即可制作标准曲线。