

脯氨酸 (PRO) 含量测定试剂盒说明书

分光光度法 50 管/48 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

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。

测定原理：

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。

组成：

产品名称	SR015-50T/48S	Storage
提取液：液体	50ml	4°C
试剂一：冰乙酸（自备）	25ml	4°C
试剂二：液体	25ml	4°C
试剂三：甲苯（自备）	50ml	4°C
说明书	一份	

自备仪器和用品：

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 50ml、甲苯 50ml、研钵、冰和蒸馏水。

样品测定的准备：

1、细菌、细胞或组织样品的制备：

细菌或培养细胞：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）；之后置 95°C 水浴振荡提取 10min；10000g，25°C 离心 10min，取上清，冷却后待测。

组织：按照组织质量 (g)：提取液体积 (ml) 为 1:5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1ml 提取液），进行匀浆；之后置 95°C 水浴振荡提取 10min；10000g，25°C 离心 10min，取上清，冷却后待测。



2、血清（浆）样品：按照血清（浆）体积（ml）：提取液体积(ml)为 1: 5~10 的比例（建议取 0.1ml 血清（浆）加入 1ml 提取液），充分混匀，之后置 95°C 水浴振荡提取 10 分钟，10000g，25°C 离心 10 分钟，取上清，冷却后待测。

测定步骤：

1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 520nm，蒸馏水调零。

2、样本测定：

(1)取 0.5ml 样本+0.5ml 试剂一+0.5ml 试剂二 于有盖试管中，置 95°C 水浴中保温 30min（盖紧，防止水分散失），每 10min 振荡一次。

(2)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 A。

Pro 含量计算：

1、典型回归方程 $y = 0.0521x - 0.0021$ （x 为脯氨酸含量， $\mu\text{g/ml}$ ；y 为吸光值 A）

2、按照血清（浆）体积计算

$$\text{Pro 含量}(\mu\text{g/ml}) = [(A + 0.0021) \div 0.0521 \times V1] \div (V3 \times V1 \div V2) = 192 \times (A + 0.0021)$$

3、按照蛋白浓度计算

$$\text{Pro 含量}(\mu\text{g/mg prot}) = [(A + 0.0021) \div 0.0521 \times V1] \div (V1 \times Cpr) = 19.2 \times (A + 0.0021) \div Cpr$$

4、按照样本质量计算

$$\text{Pro 含量}(\mu\text{g/g 鲜重}) = [(A + 0.0021) \div 0.0521 \times V1] \div (W \times V1 \div V2) = 19.2 \times (A + 0.0021) \div W$$

5、按照细菌或细胞密度计算

$$\text{Pro 含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = [(A + 0.0021) \div 0.0521 \times V1] \div (500 \times V1 \div V2) = 0.0384 \times (A + 0.0021)$$

V1：加入反应体系中样本体积，0.5ml；V2：加入提取液体积，1 ml；V3：加入血清（浆）体积，0.1 ml；

Cpr：样本蛋白质浓度，mg/ml；W：样本质量，g；500：细菌或细胞总数，500 万。

注意：最低检测限为 $1\mu\text{g/ml}$ 或 $1\mu\text{g/g}$ 鲜重 或 $0.01\mu\text{g/mg prot}$

