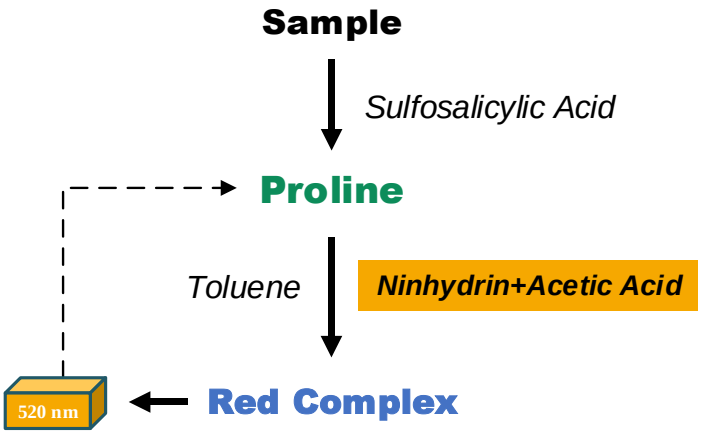
脯氨酸（PRO）含量检测试剂盒

Proline (PRO) Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

脯氨酸（PRO）含量检测试剂盒

Proline (PRO) Content Assay Kit

一、产品描述

脯氨酸（Pro）广泛存在于动植物、微生物和培养细胞中，作为细胞质渗透压调节物质，在稳定生物大分子结构、降低细胞酸性、解除氨毒、调节细胞氧化还原势以及提高植物的抗逆性等方面起重要作用，植物体内脯氨酸含量在一定程度上能够反映植物的抗逆性，可以作为抗逆育种的生理指标之一。

脯氨酸经磺基水杨酸（SSA）提取后，与酸性茚三酮反应生成红色物质，产物经甲苯萃取，测定520 nm 处吸光值变化即可定量检测脯氨酸的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 120 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
显色液	液体 30 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
标准品	粉剂×1 瓶 （10 mg 脯氨酸标准品）	4°C避光保存	**使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解** （即为 10 mg/mL 脯氨酸标准液）
标准稀释液的制备：将 10 mg/mL 脯氨酸标准液使用蒸馏水稀释至 25、20、15、10、5 2.5 μg/mL 即为标准稀释液。			

需自备试剂：冰乙酸（$C_2H_4O_2$，MW=60.05，CAS: 64-19-7）；甲苯（C_7H_8，MW = 92.14，CAS: 108-88-3）

序号	A	B	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度（μg/mL）	10000	1000	100	100	100	100	100	100
标准液体积（μL）	100	100	250	200	150	100	50	25
蒸馏水体积（μL）	900	900	750	800	850	900	950	975
稀释后浓度（μg/mL）	1000	100	25	20	15	10	5	2.5

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 1 cm）/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴、冰乙酸、甲苯和蒸馏水。

Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

1.脯氨酸的提取（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，沸水浴振荡提取 10 min，冷却至室温，10000 g 常温离心 10 min，取上清即为**待测样本**。

②细菌或细胞：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 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 20%，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次）；沸水浴振荡提取 10 min，冷却至室温，10000 g 常温离心 10 min，取上清即为**待测样本**。

③血清（浆）、培养液等液体样本：取 100 μL 液体样本加入 900 μL 提取液后充分混匀，沸水浴振荡提取 10 min，冷却至室温，10000 g 常温离心 10 min，取上清即为**待测样本**。

注：沸水浴提取过程注意密封以防止水分散失。

2.测定步骤

①分光光度计/酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 520 nm，**甲苯**调零。

②在离心管/有盖试管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管（μL）	标准管（μL）	空白管（μL）
待测样本	250	-	-
标准稀释液	-	250	-
蒸馏水	-	-	250
冰乙酸	250	250	250
显色液	250	250	250
沸水浴处理 30 min（密封以防止水分散失）每 10 min 振荡混匀一次，反应结束后冷却至室温			
甲苯	500	500	500
振荡混匀 30 s，静置片刻（使产物完全转至上层甲苯中）			

吸光值测定：吸取 200 μL 上层溶液至微量玻璃比色皿/96 孔板中，测定 520 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 标准和 A 空白；计算ΔA 测定=A 测定-A 空白，ΔA 标准=A 标准-A 空白。注：空白管只需测定 1-2 次。

标准曲线的绘制：以 25、20、15、10、5、2.5 μg/mL 标准稀释液浓度为横坐标（x），以其对应的ΔA 标准为纵坐标（y），得到线性回归方程 y=kx+b，将ΔA 测定带入公式中计算 x（μg/mL）。

Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

3.脯氨酸（PRO）含量计算

①按组织样本质量计算

$$\text{脯氨酸含量（μg/g）} = \frac{x \times V_{样总}}{W} = \frac{x}{W}$$

②按组织样本蛋白浓度计算

$$\text{脯氨酸含量（μg/g）} = \frac{x \times V_{样总}}{Cpr \times V_{样总}} = \frac{x}{Cpr}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$\text{脯氨酸含量（μg/}10^4\text{ cell）} = \frac{x \times V_{样总}}{\text{细菌或细胞数量}} = \frac{x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

$$\text{脯氨酸含量（μg/mL）} = \frac{x \times V_{样总}}{V_{液}} = 10 \times x$$

注释：V 样：反应体系中加入待测样本的体积，0.25 mL；V 样总：待测样本总体积，1 mL；V 液：提取过程中加入液体样本的体积，0.1 mL；W：样本质量，g；细胞或细菌数量：以万计；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL。

四、注意事项

①提取液中含有蛋白沉淀剂，若采用蛋白浓度计算方式，需单独使用PBS提取后再测定蛋白浓度；

②若测定吸光值超出标准线性吸光值范围：高于最高值建议将待测样本适当稀释后再进行测定，低于最低值建议适当调整样本量和比例重新提取后再进行测定，计算时相应修改；

③为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取2-3个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.