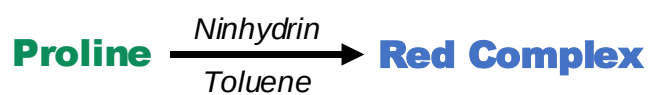




脯氨酸（PRO）含量检测试剂盒

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提取后，与酸性茚三酮反应生成红色物质，产物经甲苯萃取，通过测定 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 25 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（现用现配）：使用前将 10 mg/mL 脯氨酸标准液使用蒸馏水稀释至 30、20、10、5、2.5、1.25 µg/mL 即为标准稀释液。			

需自备试剂：冰乙酸（C₂H₄O₂，MW=60.05，CAS:64-19-7）；甲苯（C₇H₈，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	10	5	2.5
标准液体积（µL）	100	100	300	200	100	500	500	500
蒸馏水体积（µL）	900	900	700	800	900	500	500	500
稀释后浓度（µg/mL）	1000	100	30	20	10	5	2.5	1.25

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：酶标仪、96 孔板（非聚苯乙烯材质）、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。

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，沸水浴处理 10 min（期间振荡混匀 2-3 次），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：离心收集细菌或细胞至离心管内，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 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），沸水浴处理 10 min（期间振荡混匀 2-3 次），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：吸取 100 μ L 液体样本加入 900 μ L 提取液充分混匀，沸水浴处理 10 min（期间振荡混匀 2-3 次），冷却至室温，10000 g 常温离心 10 min，取上清即为待测样本。

注：沸水浴处理过程中注意密封以防止水分散失，推荐使用螺纹盖离心管或冻存管。

2. 测定步骤

①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 520 nm。

②在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μ L)	标准管 (μ L)	空白管 (μ L)
待测样本	200	-	-
标准稀释液	-	200	-
蒸馏水	-	-	200
冰乙酸	200	200	200
显色液	200	200	200
充分混匀，沸水浴处理 30 min 期间振荡混匀 2-3 次，反应结束后冷却至室温			
甲苯	400	400	400
充分振荡混匀 30 s 室温静置 10 min，使产物完全转至上层甲苯中			

吸光值测定：吸取 200 μ L 上层溶液至 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：各浓度标准管和空白管只需测定 1-2 次。

标准曲线的绘制：以 30、20、10、5、2.5、1.25 μ g/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），绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定带入公式中计算 x（ μ g/mL）。

3.脯氨酸（PRO）含量计算

①按组织样本质量计算

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

②按组织蛋白浓度计算

$$\text{脯氨酸含量} (\mu\text{g/mg prot}) = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{C_{\text{pr}} \times V_{\text{样总}}} = \frac{x}{C_{\text{pr}}}$$

③按细菌或细胞数量计算

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

④按液体样本体积计算

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

注释： 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结果，需单独使用PBS提取后再测定蛋白浓度；
- ②若A测定或ΔA测定超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将待测样本使用提取液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.

Liaodong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

