

脯氨酸（PRO）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1046

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

检测范围：0.5–80μg/mL 灵敏度：0.5μg/mL

适用样本：植物组织、动物组织、细胞、细菌、血清（浆）

产品简介

脯氨酸(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。本试剂盒提供了一种简单的检测方法，用于检测各种生物样本中 PRO 含量。其原理是用磺基水杨酸(SA)提取脯氨酸(Pro)，加热处理后，脯氨酸(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。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
反应缓冲液	6mL	12mL	4℃保存
显色物	6mL	12mL	4℃避光保存
脯氨酸标准品	10mg	10mg	4℃避光保存

自备耗材

酶标仪或可见分光光度计（能测 520nm 处的吸光度）及水浴锅
 96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头
 离心机、制冰机
 去离子水、甲苯
 匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

注意：各组分（小管试剂）开盖前，请先低速离心。

提取液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

反应缓冲液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

显色物：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

脯氨酸标准品：临用前在 10mg 的脯氨酸标准品中加入 1mL 去离子水，充分溶解，获得 10mg/mL 标准液，4℃避光保存。溶解后用不完的试剂，可 4℃保存 3 天或分装-20℃长期保存。

标准曲线设置：取 10μL 10mg/mL 脯氨酸标准品用 990μL 去离子水稀释至 100μg/mL。然后按下表所示，用去离子水进一步稀释标准液：

	100 μg/mL 标准液体积 (μL)	去离子水体积 (μL)	浓度 (μg/mL)
Std. 1	160	40	80

产品说明书

Std. 2	80	120	40
Std. 3	40	160	20
Std. 4	20	180	10
Std. 5	8	192	4
Std. 6	4	196	2
Std. 7	2	198	1
Std. 8	1	199	0.5

注意：每次实验，请使用新配制的标准品。

样本制备

植物或动物组织样本：称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆；之后置沸水浴提取 10min，10,000g，常温离心 10min，取上清，冷却后待测。

细菌或细胞样本：先收集细菌或细胞到离心管内，弃上清；按照每 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液，超声波破碎细菌或细胞 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），之后置沸水浴振荡提取 10min；10,000g，常温离心 10min，取上清，冷却后待测。

血清（浆）样本：取 0.1mL 血清（浆），加提取液 0.9mL，充分混匀，之后置沸水浴振荡提取 10min，10,000g，常温离心 10min，取上清，冷却后待测。

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 6 个月。

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 520nm，可见分光光度计去离子水调零。

2. 操作表：

	标准管 (μL)	空白管 (μL)	测定管 (μL)
样本	0	0	100
标准品	100	0	0
去离子水	0	100	0
反应缓冲液	100	100	100
显色物	100	100	100

将以上溶剂按顺序加入有盖 EP 管中，混匀，沸水浴 30min（盖紧，防止水分散失），每 10min 振荡一次，冷却至室温。

甲苯	200	200	200
----	-----	-----	-----

振荡 30s，静置片刻；吸取 100μL 上层溶液于 96 孔板或微量玻璃比色皿中，于 520nm 处测定吸光值，记录吸光值 A。计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ （空白管只需测定一次）。

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 小于 0.001 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 大于 1.5，需要将样本用提取液稀释，计算公式中乘以相应稀释倍数。

结果计算

1. 标准曲线的绘制：

以标准溶液浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标准}}$ 为 x 轴，绘制标准曲线。

2. 脯氨酸 (Pro) 含量计算：

根据标准曲线，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式中 (x) 计算样品浓度 y (μg/mL)。

(1) 按样本鲜重计算

产品说明书

$$\text{Pro} (\mu\text{g/g 鲜重}) = y \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) = y \div W$$

(2) 按细胞数量计算

$$\text{Pro} (\mu\text{g}/10^4 \text{ cells}) = y \times V_{\text{样}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) = y \div 500 = 0.002y$$

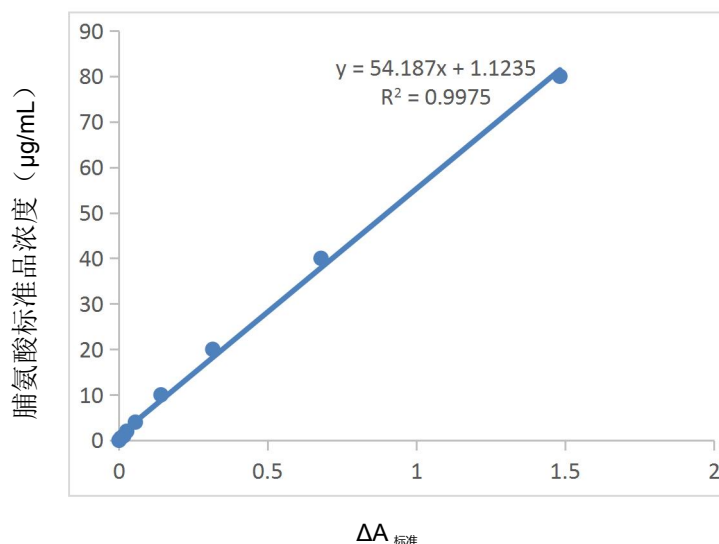
(3) 按液体样本的体积计算

$$\text{Pro} (\mu\text{g/mL}) = y \times 10 = 10y$$

$V_{\text{样}}$: 加入反应体系中上清液体积, $100 \mu\text{L} = 0.1\text{mL}$; $V_{\text{样总}}$: 提取体系体积, 1mL ; W : 样本鲜重, g ; 500 : 细胞数量, 5×10^6 ; 10 : 提取液体时的稀释倍数, $(0.1\text{mL} + 0.9\text{mL}) / 0.1\text{mL} = 10$ 。

结果展示

典型标准曲线-以下数据和曲线仅供参考, 实验者需根据自己的实验建立标准曲线。



注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验, 尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究, 如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途, 我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用, 并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用; 否则, 可能导致结果异常。
5. 勤换吸头, 避免各组分之间的交叉污染。

相关产品:

- PMK1084 谷丙转氨酶 (ALT/GPT) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1085 谷草转氨酶 (AST/GOT) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1090 半胱氨酸 (Cys) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1091 谷氨酸 (Glu) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1093 赖氨酸 (LYS) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解, 请关注公众号:

