

脯氨酸（Pro）含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC0290

规格：50T/48S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 60 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	自备试剂	-
试剂二	液体 45 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	粉剂×1 支	2-8℃保存

溶液的配制：

1. 试剂一：自备冰乙酸，大约需要 45mL，常温保存；试剂盒内提供一个 30mL 棕色空瓶，仅做分装使用，请自行标注试剂名称。
2. 标准品：脯氨酸 10 mg，临用前加入 1 mL 蒸馏水，配成 10 mg/mL 标准品。

产品说明：

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。

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，在 520nm 测定吸光度。

技术指标：

最低检出限：0.1791 μg/mL

线性范围：0.5-40 μg/mL

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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器及用品：

可见分光光度计、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、冰乙酸（>98%，AR）、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1、细胞、细菌或组织样本的制备：

细菌或细胞：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（功率 200W，超声 3 秒，间隔 10 秒，重复 30 次），之后置沸水浴振荡提取 10min（缠封口膜，防止爆盖）；10000g，常温离心 10min，取上清，冷却后待测。





组织：称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液进行冰浴匀浆；之后置沸水浴振荡提取 10min（缠封面膜，防止爆盖），10000g，常温离心 10min，取上清，冷却后待测。

2、血清（浆）样本：取 100 μ L 血清（浆）加入 0.9mL 提取液，充分混匀，之后置沸水浴振荡提取 10 分钟（缠封面膜，防止爆盖），10000g，常温离心 10 分钟，取上清，冷却后待测。

二、测定步骤

1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 520nm，用蒸馏水调零。

2、标准品的处理：将标准品用蒸馏水稀释为 40、20、10、8、4、2、1、0.5 μ g/mL。

3、操作表：

试剂名称（mL）	测定管	标准管	空白管
上清液	0.5	-	-
标准品	-	0.5	-
蒸馏水	-	-	0.5
试剂一	0.5	0.5	0.5
试剂二	0.5	0.5	0.5

混匀后盖紧盖子，缠好封面膜，置于沸水浴中保温 30min，每 10min 振荡一次，冷却后在 520nm 波长处比色，记录吸光值 A 测定管、A 标准管、A 空白管，计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。空白管只需做 1-2 次。

三、Pro 含量计算

1、以标准溶液浓度为横坐标， ΔA 标准为纵坐标绘制标准曲线，得到线性回归方程 $y = kx + b$ ，将 ΔA 代入方程得到 x （ μ g/mL）。

2、按照细菌、细胞数量计算

$$\text{Pro 含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = x \times V_{\text{提}} \div \text{细胞/细菌数量} = x \div \text{细胞/细菌数量}$$

3、按照组织质量计算

$$\text{Pro 含量}(\mu\text{g}/\text{g 质量}) = x \times V_{\text{提}} \div W = x \div W$$

4、按血清（浆）体积计算

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

V 提：加入提取液体积，1mL；W：样本质量，g；细胞/细菌数量：以 10^4 为单位，万个；10：血清稀释倍数， $(0.1 + 0.9) \div 0.1 = 10$ 。

注意事项：

1. 提取液中含有蛋白沉淀剂，提取的上清液不能用于蛋白浓度的测定。
2. 如果测定吸光值超过线性范围吸光值，可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定

相关发表文献：

- [1] Zhang D, Liu J, Zhang Y, Wang H, Wei S, Zhang X, Zhang D, Ma H, Ding Q, Ma L. Morphophysiological, proteomic and metabolomic analyses reveal cadmium tolerance mechanism in common wheat (*Triticum aestivum* L.). J Hazard Mater. 2023 Mar 5;445:130499. doi: 10.1016/j.jhazmat.2022.130499. Epub 2022 Nov 25. PMID: 36455318.
- [2] Liu X, Cheng C, Min Y, Xie X, Muzahid ANM, Lv H, Tian H, Zhang C, Ye C, Cao S, Chen P, Zhong C, Li D. Increased ascorbic acid synthesis by overexpression of AcGGP3 ameliorates copper toxicity in kiwifruit. J Hazard Mater. 2023 Oct 15;460:132393. doi: 10.1016/j.jhazmat.2023.132393. Epub 2023 Aug 23. PMID: 37660623.



- [3] Liu K, Chen J, Sun S, Chen X, Zhao X, Hu Y, Qi G, Li X, Xu B, Miao J, Xue C, Zhou Y, Gong Z. Histone deacetylase OsHDA706 increases salt tolerance via H4K5/K8 deacetylation of OsPP2C49 in rice. *J Integr Plant Biol.* 2023 Jun;65(6):1394-1407. doi: 10.1111/jipb.13470. Epub 2023 Apr 19. PMID: 36807738.
- [4] Qiao Z, Sun X, Gong K, Zhan X, Luo K, Fu M, Zhou S, Han Y, He Y, Peng C, Zhang W. Toxicity of decabromodiphenyl ethane on lettuce: Evaluation through growth, oxidative defense, microstructure, and metabolism. *Environ Pollut.* 2023 Dec 1;338:122724. doi: 10.1016/j.envpol.2023.122724. Epub 2023 Oct 11. PMID: 37832780.
- [5] Xu T, Wu Z, Yuan Q, Zhang X, Liu Y, Wu C, Song M, Wu J, Jiang J, Wang Z, Chen Z, Zhang M, Huang M, Ji N. Proline is increased in allergic asthma and promotes airway remodeling. *JCI Insight.* 2023 Aug 22;8(16):e167395. doi: 10.1172/jci.insight.167395. PMID: 37432745; PMCID: PMC10543727.

参考文献:

- [1] Vieira S M, Silva T M, Glória M B A. Influence of processing on the levels of amines and proline and on the physico-chemical characteristics of concentrated orange juice[J]. *Food chemistry*, 2010, 119(1): 7-11.
- [2] Demiral T, Türkan I. Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance[J]. *Environmental and experimental botany*, 2005, 53(3): 247-257.

相关系列产品:

BC1550/BC1555 谷丙转氨酶 (GPT) 活性检测试剂盒
BC1560/BC1565 谷草转氨酶 (GOT) 活性检测试剂盒
BC0180/BC0185 半胱氨酸 (Cys) 含量检测试剂盒
BC1580/BC1585 谷氨酸 (Glu) 含量检测试剂盒

