脯氨酸（PRO）含量测定试剂盒说明书

规格：96 样　　方法：酶标仪法

一、注意事项

1. 使用前请通读一遍说明书再开始实验。

2. 本试剂盒仅用于科研。

3. 正式检测前选取 2~3 个预期差异较大的样本进行预检测，如果 A>2.28，将上清液进行稀释后再检测，直至 A<2.28。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
提取液	105 mL×1	4℃	
试剂一	30 mL×1	4℃	
试剂二	27 mL×1	4℃	
试剂三	甲苯	4℃	自备
标准品	粉剂×1	4℃	临用前加入 1 mL 超纯水/蒸馏水，即为 10 mg/mL 标准溶液，若重新做标曲则用到该溶液，标准系列溶液按照与待测样本相同的操作步骤同步测定。

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、甲苯。

四、样品制备

1. 细菌/细胞或组织样品的制备

细菌/细胞：先收集细菌/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 1 mL 提取液），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次）；之后置 95℃水浴振荡提取 10 min；10000 g，常温离心 10min，置于冰上，上清为待测样本。

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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液），进行冰浴匀浆；之后置 95℃水浴振荡提取 10 min；10000 g，常温离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。

2. 血清、血浆等液体样品：直接测定

五、测定步骤

1.酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 520 nm 处。

3.在 1.5 mL 离心管中依次加入（加入下列试剂时确保准确，降低误差）：

试剂名称	测定管
样本（μL）	250
试剂一（μL）	250
试剂二（μL）	250
混匀，95℃水浴 30 min（盖紧，防止水分散失），每 10 min 振荡一次，待冷却后加入下列试剂	
试剂三（μL）	500
振荡 30 s，室温静置 2 min，吸取 200 μL 上层溶液于 96 孔板中，测定 520 nm 处的吸光度，记为 A。	

六、计算：

1. 标准方程

标准条件下测定的回归方程为 y = 0.0227x - 0.0041，R^2=0.9995；x 为标准品含量，μg/mL；y 为吸光值 A。

2. 按照血清（浆）体积计算

脯氨酸（Pro）含量（μg/mL）=[（A+0.0041）÷0.0227×V1]÷（V3×V1÷V2）

=440.53×（A+0.0041）

3. 按照蛋白浓度计算（需另外测蛋白浓度）

脯氨酸（Pro）含量（μg/mg prot）=[（A+0.0041）÷0.0227×V1]÷（V1×Cpr）

=44.05×（A+0.0041）÷Cpr

4. 按照样本质量计算

脯氨酸（Pro）含量（μg/g鲜重）=[（A+0.0041）÷0.0227×V1]÷（W×V1÷V2）

=44.05×（A+0.0041）÷W

5. 按照细菌或细胞密度计算

脯氨酸（Pro）含量（μg/10^4 cell）=[（A+0.0041）÷0.0227×V1]÷（500×V1÷V2）

=0.0881×（A+0.0041）

V1：加入反应体系中样本体积，0.25 mL；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。

七、产品简介

脯氨酸（Pro）广泛存在于生物细胞中，逆境条件下，生物体内脯氨酸含量会发生变化。脯氨酸的变化在一定程度上反映了生物抗逆性。因此，脯氨酸的变化可以作为生物抗逆的生理指标之一。