

CheKine™ 脯氨酸 (PRO) 含量检测试剂盒 (微量法)

货号: KTB1430

规格: 48 T/48 S

96 T/96 S

批号: 见产品标签

	检测范围: 0.5-80 µg/mL		灵敏度: 0.5 µg/mL
	适用样本: 动植物组织、细胞、细菌、血清 (浆)		
	保质期: 4℃, 避光保存 6 个月		

01 背景与原理

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 PRO。因此, PRO 增加量可以作为抗逆育种的生理指标之一。

本试剂盒检测原理是用磺基水杨酸 (SA) 提取 PRO, 加热处理后, PRO 与酸性茚三酮溶液反应生成红色; 加甲苯萃取后, 在 520 nm 测定吸光度。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	60 mL	120 mL	4℃
Assay Buffer	7 mL	14 mL	4℃
Chromogen	7 mL	14 mL	4℃, 避光保存
PRO Standard	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃, 避光保存

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10% 的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 520 nm 处的吸光度
	恒温水浴振荡器	能加热至 100℃
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	PBS (pH 7.4) 、甲苯	提取或稀释样本/PRO Standard 用
其他	匀浆器（组织样本）、恒温箱、冰盒、低温离心机、 可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有 助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 建议实验者自行建立标准曲线以提高结果准确度。如未自行建立标准曲线，可参考结果展示部分的典型标准曲线公式进行结果计算。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer	即用型；使用前，平衡到室温	4℃保存
Assay Buffer	即用型；使用前，平衡到室温	4℃保存
Chromogen	即用型；使用前平衡到室温	实验过程中避光放置；4℃避光保存
PRO Standard	临用前配制，称取 1 mg 的 PRO Standard，加入 0.1 mL 去离子水，充分溶解，获得 10 mg/mL 标准液。	实验过程中避光放置；用不完的试剂 4℃避光保存 3 天。10 mg 粉末需分批称量溶解。

05-1-2 标准品配制

取 10 μL 10 mg/mL PRO Standard 加入 990 μL 去离子水稀释至 100 $\mu\text{g/mL}$ ，然后按下表所示，用去离子水进一步稀释标准液。每次实验都要做一次标准品检测，制作标曲；稀释后的标准品溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。

Standard 工作液	100 $\mu\text{g/mL}$ 标准液体积 (μL)	去离子水体积 (μL)	浓度 ($\mu\text{g/mL}$)
1	160	40	80
2	80	120	40
3	40	160	20
4	20	180	10
5	8	192	4
6	4	196	2
7	2	198	1
8	1	199	0.5
空白	0	200	0

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在 -80°C 保存 1 个月。

- **动植物组织**: 称取约 0.1 g 组织样本，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴匀浆，之后置于沸水浴振荡提取 10 min，10000 g，常温离心 10 min，取上清，冷却后待测。
- **细菌或细胞样本**: 收集 5×10^6 个细菌，800 g，离心 2 min 弃上清，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴超声波破碎细菌 5 min（功率 20% 或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），之后置于沸水浴振荡提取 10 min，10000 g，常温离心 10 min，取上清，冷却后待测。
- **血清（浆）**: 取 0.1 mL 血清（浆），加 0.9 mL Extraction Buffer，充分混匀，之后置于沸水浴振荡提取 10 min，10,000 g，常温离心 10 min，取上清，冷却后待测。

05-3 实验步骤

1. **酶标仪准备**: 预热 30 min 以上，调节波长到 520 nm。
2. **检测体系配制**: 按如下体系在酶标板中进行检测体系配制。空白管和标准管一般只做 1 次。

试剂	标准管 (μL)	空白管 (μL)	测定管 (μL)
Sample	0	0	100
Different Concentration Std.	100	0	0
去离子水	0	100	0
Assay Buffer	100	100	100
Chromogen	100	100	100
将以上溶剂按顺序加入有盖 EP 管中，混匀，沸水浴 30 min（盖紧，防止水分散失），每 10 min 振荡一次。冷却至室温。			
甲苯（有一定毒性，注意防护）	200	200	200

3. **吸光度检测**: 振荡 30 s，静置片刻；吸取 100 μL 上层溶液于 96 孔板或微量玻璃比色皿中，于 520 nm 处

测定吸光值，分别记为 $A_{\text{标准}}$ 、 $A_{\text{空白}}$ 和 $A_{\text{测定}}$ 。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn)>进入“技术中心”>查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。

2. 标准曲线绘制

以标准品浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标准}}$ 为 x 轴，绘制标准曲线。将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 代入方程得到 y 值 ($\mu\text{g/mL}$)。

3. 样本 PRO 含量计算

● 按样本质量计算

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

● 按细胞或细菌数量计算：

$$\text{PRO } (\mu\text{g}/10^4) = y \times V_{\text{样}} \div (N \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = y \div N \times n$$

● 按液体体积计算

$$\text{PRO } (\mu\text{g/mL}) = y \times V_{\text{样总}} \div V_{\text{样}} \times n = 10y \times n$$

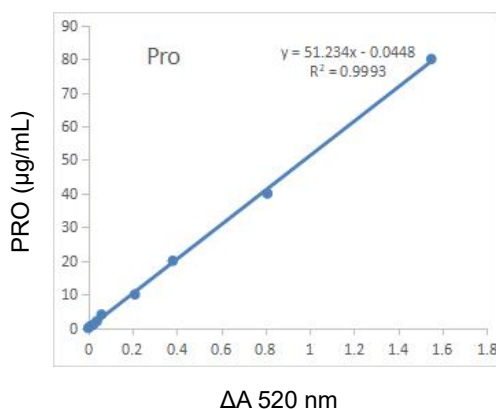
● 按蛋白浓度计算

$$\text{PRO } (\mu\text{g/mg prot}) = y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \times n = y \div \text{Cpr} \times n$$

$V_{\text{样}}$ ：加入反应体系中上清液体积，100 μL =0.1 mL； Cpr ：样本蛋白质浓度，mg/mL； $V_{\text{样总}}$ ：提取体系体积，1 mL； W ：样本鲜重，g； N ：细胞或细菌数量，以 10^4 为单位（例如细胞数量为 5×10^6 ， $N=500$ ）； n ：样本稀释倍数。

07 结果展示

典型标准曲线：



示例-1: 取 0.1 g 包菜，按照测定步骤操作，用 96 孔板进行检测。测得 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}} = 0.264 - 0.048$

$= 0.216$ ，代入标准曲线，计算 $y = 11.02$ 。按样本质量计算得： $\text{PRO } (\mu\text{g/g 鲜重}) = y \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \times n = 3 \times y \div W \times n = 330.6 \mu\text{g/g 鲜重}$ 。

08 FAQ

- 检测得到的样本 $\Delta A_{\text{测定}}$ 过高或者过低怎么办？

如果样本 $\Delta A_{\text{测定}} > 1.5$ ，则说明样本 PRO 含量太高，需用 Extraction Buffer 适当稀释（计算公式中乘以相应稀释倍数）。如果样本的 $\Delta A_{\text{测定}} < 0.006$ ，可提高样本量。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTA8010	双荧光素酶报告基因检测试剂盒
KTA8011	萤火虫荧光素酶检测试剂盒
BMC1041	发光法支原体检测试剂盒
PRP3004	荧光素酶

CheKine™ 脯氨酸（PRO）含量检测流程示意图

(Abbkin 货号：KTB1430)

样本处理

体系配置

数据检测

