

脯氨酸（PRO）检测试剂盒（茚三酮微板法）

产品货号：BA1584

产品规格：100T

产品简介：

脯氨酸(Proline, Pro)是一种环状的 α -亚氨基酸，呈中性，等电点为6.30，水中溶解度比任何氨基酸都大，25℃时100g水中可溶162g左右，易潮解不易得结晶，有甜味。脯氨酸与茚三酮溶液共热，生成黄色化合物，一旦进入肽链后，可发生羟基化作用，从而形4-羟脯氨酸，是组成动物胶原蛋白的重要成分，羟脯氨酸也存在于多种植物蛋白质中，尤其与细胞壁的形成有关，在正常情况下脯氨酸含量较低，但在逆境下(旱、热、冷、冻、盐碱等)，常有脯氨酸的明显积累，即积累指数与植物的抗逆性有关，在临床、生物材料、工业等方面均有广泛应用。

脯氨酸(PRO)检测试剂盒(茚三酮微板法)检测原理是脯氨酸游离于磺基水杨酸溶液中，前者与酸性茚三酮共热发生反应，产生稳定的红色产物，以分光光度计测定520nm处吸光度值，在一定浓度范围内颜色深浅与脯氨酸浓度成正比。该试剂盒主要用于测定植物组织中的游离脯氨酸含量，仅用于科研领域，不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成：

产品名称	100T	保存条件
试剂(A): 脯氨酸标准(100 μ g/ml)	1ml	2-8℃
试剂(B): PRO Lysis buffer	500ml	2-8℃
试剂(C): PRO Assay buffer	160ml	2-8℃
试剂(D): 茚三酮	2支	室温，避光
试剂(E): 茚三酮稀释液	2 \times 100ml	室温

自备材料：

1. 蒸馏水
2. 研钵或匀浆器
3. 离心管或试管
4. 滤纸或纱布
5. 水浴锅
6. 甲苯
7. 96孔板
8. 酶标仪

操作步骤 (仅供参考)：

1. 准备样品：

①植物样品：取新鲜植物组织，清洗干净，擦干，切碎，迅速称取0.5g，加入5ml PRO Lysis buffer 后匀浆或研磨，沸水浴10min(期间经常摇动)，混匀，用滤纸或纱布过滤，滤液即为脯氨酸提取液，4℃保存备用。

②血浆、血清和尿液样品：血浆、血清按照常规方法制备后可以直接用于本试剂盒的测定，-20℃冻存，用于脯氨酸的检测。

③细胞或组织样品：取恰当细胞或组织裂解液，如有必要用PRO Lysis buffer进行适当匀浆，留取上清即脯氨酸提取液，用于脯氨酸的检测。4℃保存备用，3天有效。

④高活性样品：如果样品中含有较高浓度的脯氨酸，可以使用PRO Lysis buffer进行恰当的稀释。

2. 配制茚三酮显色液：取出1支茚三酮，准确溶解于100ml茚三酮稀释液，70℃加热搅拌至完全溶解，混匀，即为茚三酮显色液。4℃避光备用，48h有效。注意：茚三酮稀释液具有一定腐蚀性，请小心操作。

3. 配制系列脯氨酸标准溶液：取出脯氨酸标准(100 μ g/ml)恢复至室温后，按下表稀释：



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

加入物(ml)	1	2	3	4	5	6
脯氨酸标准(100 μ g/ml)	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06
蒸馏水	0.09	0.08	0.07	0.06	0.05	0.04
脯氨酸含量(μ g)	1	2	3	4	5	6

4. PRO加样: 按照下表设置空白管、标准管、测定管, 溶液应按照顺序依次加入, 并注意避免产生气泡。如果样品中的脯氨酸浓度过高, 可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定, 样品的检测最好能设置平行管。

加入物(ml)	空白管	标准管	待测管
蒸馏水	0.1	-	-
系列脯氨酸标准(1~6号)	-	0.1	-
脯氨酸提取液	-	-	0.1
PRO Assay buffer	1.5	1.5	1.5
茚三酮显色液	1.5	1.5	1.5
混匀, 沸水浴30min, 溶液呈红色。			

5. PRO测定: 迅速冷却加入2ml甲苯, 振摇30s, 静置片刻, 取上清液转移至新的离心管或试管, 3000r/min离心10min, 取上清液备用。将离心后的上清液200 μ l分别加至96孔板中, 以空白管调零, 酶标仪测定标准孔520nm处吸光度; 以甲苯调零, 测定管吸光度。

计算:

以系列脯氨酸标准(1~6号) 浓度(μ g)为横坐标, 以对应的吸光度为纵坐标, 制作标准曲线, 根据测定管的吸光度进而计算其脯氨酸浓度。根据如下公式计算具体样品中脯氨酸的含量:

$$\text{植物组织样品 PRO}(\mu\text{g/g}) = C \times V_T / (W \times V_S)$$

式中: C=从标准曲线上查得的脯氨酸浓度(μ g)

V_T = 脯氨酸提取液总体积(ml)

W=样品鲜重(g)

V_S = 测定时加入提取液体积(ml)

$$\text{血清、尿液等样品 AA}(\mu\text{g/ml}) = C \times N / V_S$$

式中: C=从标准曲线上查得的脯氨酸浓度(μ g)

N=稀释倍数

V_S = 测定时加入提取液体积(ml)

注意事项:

1. 实验材料应尽量新鲜, 如取材后不立即使用, 应存于4 $^{\circ}$ C。
2. PRO Assay buffer应密闭保存, 防止挥发。
3. 如果没有酶标仪, 也可以使用普通的分光光度计测定, 但应考虑分光光度计的最小检测体积。
4. 所测样本的PRO浓度过高, 应用PRO Lysis buffer稀释样品后重新测定。

有效期: 6个月有效。4 $^{\circ}$ C运输, 4 $^{\circ}$ C保存。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com