

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：

| 加入物(ml) | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---------|---|---|---|---|---|---|
|---------|---|---|---|---|---|---|



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

| | | | | | | |
|-----------------|------|------|------|------|------|------|
| 脯氨酸标准(100μg/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(μg) | 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200μl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，测定测定管吸光度。

计算：

以系列脯氨酸标准(1~6号)浓度(μg)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(μg)

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(μg)

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℃。
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℃运输，4℃保存。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com