

脯氨酸（PRO）检测试剂盒（茚三酮比色法）

产品货号：BA1585

产品规格：50T

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(茚三酮比色法)检测原理是脯氨酸游离于茚基水杨酸溶液中，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	50T	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(5 \times)	50ml	室温
试剂(C): PRO Assay buffer	50ml	室温
试剂(D): 茚三酮	1.3g	室温，避光
试剂(E): 茚三酮稀释液	50ml	室温

自备材料：

1. 蒸馏水或去离子水、甲苯或二甲苯
2. 电子天平、研钵或匀浆器、滤纸或纱布
3. 离心机、带螺旋盖的离心管或试管、水浴锅或电热炉
4. 分光光度计、比色杯(不宜用塑料的)

操作步骤 (仅供参考)：

1. 配制PRO Lysis buffer(1 \times): 取1份PRO Lysis buffer(5 \times)加4份去离子水混匀即成。
2. 配制茚三酮显色液: 取出1支茚三酮，准确溶解于50ml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。如果2天内用不完，可以称取一定量的茚三酮，加入茚三酮稀释液使终浓度为2.4~2.6%即可。
3. 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(1 \times)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(1 \times)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(1 \times)进行恰当的稀释。
4. 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，用去离子水稀释为脯氨酸标准(10 μ g/ml)，再按下表进行梯度稀释：

加入物(ml)	1	2	3	4	5	6	7
---------	---	---	---	---	---	---	---



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

脯氨酸标准(10 μ g/ml)	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8
蒸馏水	0.8	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3	0.2
脯氨酸浓度(μ g/ml)	2	3	4	5	6	7	8

5. 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	1	-	-
系列脯氨酸标准(1~7号)	-	1	-
脯氨酸提取液	-	-	1
PRO Assay buffer	1	1	1
茚三酮显色液	1	1	1
混匀，沸水浴30min，溶液呈红色。			

6. PRO测定：迅速冷却加入2~3ml甲苯或二甲苯，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。以空白管调零，520nm处用分光光度计(1cm光径比色杯)测定标准管和测定管的吸光度。注：加入甲苯或二甲苯的量前后应统一；空白管和标准管不用离心，可直接取上清液测定。

计算：

以系列脯氨酸标准(1~7号) 浓度(μ g/ml)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：

植物组织样品 植物组织样品 PRO(μ g/g)= $C \times V_T / W$

式中：C=从标准曲线上查得的脯氨酸浓度(μ g/ml)

V_T =脯氨酸提取液总体积(ml)

W=样品鲜重(g)

血清、尿液等样品 血清、尿液等样品 PRO (μ g/ml)= $C \times N$

式中：C=从标准曲线上查得的脯氨酸浓度(μ g/ml)

N=稀释倍数

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. PRO Lysis buffer(5 \times)、PRO Assay buffer和茚三酮稀释液都有一定腐蚀性，应小心操作。
4. 茚三酮显色液配制后可4 $^{\circ}$ C避光保存48h有效。建议尽快使用或用多少配多少。
5. 本检测方法，资料中大多建议使用甲苯进行抽提反应后的红色色素，因甲苯管制或不易获得，经我公司人员进行对比实验及检测结果发现，二甲苯可有效替代甲苯进行抽提。
6. 因甲苯或二甲苯都有一定危害性，使用时应在通风橱中小心抽取，用后应及时盖紧瓶盖，防止挥发。
7. 如果没有分光光度计，也可以使用普通的酶标仪测定，但应考虑酶标仪的最大检测体积。
8. 测定时不能使用塑料的酶标条或比色皿，因甲苯或二甲苯等有机溶剂与其反应，使测定结果不准确。
9. 所测样本的 PRO 浓度过高，应用 PRO Lysis buffer(1 \times)稀释样品后重新测定。
10. 沸水浴的反应过程中，应使用密封性能好的带螺旋盖子的离心管，防止因密封性不好而导致水分进入；不宜使用扣盖离心管，避免因爆沸使得盖子崩开而导致水分进入；此二中原因都可能导致测定结果不准。
11. 沸水浴的反应过程中，人员不应随意接近，防止液体喷出，导致伤人事故的发生。
12. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

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