



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

http:// www.real-tims.com.cn

E-mail: real-times@vip.163.com

植物脯氨酸检测试剂盒(茚三酮比色法) Plant Proline Assay Kit with Ninhydrin

● 产品组成:

组分货号	名称	规格	贮存
PP5040-01	试剂 1-Pro 裂解液	100 ml	RT
PP5040-02	试剂 2-Pro 标准液	1 ml	4℃
PP5040-03	试剂 3-Pro 显色液	50 ml	RT 避光

● 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,易溶于水。在正常环境情况下脯氨酸含量较低,但在逆境下(早、热、冷、冻、盐碱等),脯氨酸常有明显积累,即积累指数与植物的抗逆性有关。植物脯氨酸检测试剂盒(茚三酮比色法)检测原理是脯氨酸与茚三酮共热发生反应,能产生稳定的红色产物,以分光光度计测定处吸光度,在一定范围内颜色深浅(即吸光度)与脯氨酸浓度成正比。

该试剂盒不使用传统的磺基水杨酸和甲苯等有害溶剂,经济环保。

该试剂盒主要用于测定植物组织中的游离脯氨酸含量,不适用于动物及医疗样品中脯氨酸的测定。

按照一次使用1 ml Pro 显色液计算,试剂盒可以使用50次。

● 自备材料:

植物根茎、叶子等;剪刀;螺盖离心管或锁盖离心管或96孔板;1ml玻璃比色皿;分光光度计或酶标仪;水浴锅或干浴器;离心机

● 操作步骤:

1、样本处理:

取新鲜植物组织,清洗干净,擦干,剪碎,迅速称取,按照20mg重量加入1ml Pro裂解液的比例加入Pro裂解液(建议使用1.5ml螺口离心管或锁盖离心管),沸水浴或干浴处理20分钟(期间间歇混匀),10000rpm离心2分钟,上清即为脯氨酸提取液,4℃保存备用。待测提取液如不能及时测定,应置于-20℃保存,1-2天内稳定。

2、Pro 显色液的配制:

把小管装的茚三酮粉末,全部加入到茚三酮溶解液中,剧烈混匀至完全溶解,即配成Pro显色液。注意:Pro显色液具有一定腐蚀性,请小心操作。

3、配制系列脯氨酸标准溶液:

取 1ml 试剂 1-Pro 裂解液全部加入到装有 Pro 标准液的小管中，混匀后彻底溶解，即配成的 Pro 标准液（100mg/ml）。

取 1 μl 100mg/ml 标准液加入到 1ml Pro 裂解液中，即配成 100μg/ml Pro 标准液待用。参照下表配制 1-6 号不同浓度的 Pro 标准溶液。

编号	1	2	3	4	5	6	7	8
100μg/ml Pro 标准液加入量 (ml)	0.01	0.02	0.04	0.06	0.08	0.10	0.15	0.2
Pro 裂解液 (ml)	0.49	0.48	0.46	0.44	0.42	0.4	0.35	0.3
脯氨酸含量 (μg)	1	2	4	6	8	10	15	20

4、样品测定:

① 分光光度计测定：参考下表设置反应混合液，依次加入试剂：

	空白管	标准管	测定管
试剂 1-Pro 裂解液	0.5 ml	-	-
步骤 1 中的脯氨酸提取液	-	-	0.5 ml
Pro 标准液（步骤 3 中 1-8 管）	-	0.5 ml	-
试剂 3-Pro 显色液	1 ml	1 ml	1 ml

② 酶标仪测定：参考下表设置反应混合液，依次加入试剂：

	空白管	标准管	测定管
试剂 1-Pro 裂解液	50 μl	-	-
步骤 1 中的脯氨酸提取液	-	-	50 μl
Pro 标准液（步骤 3 中 1-8 管）	-	50 μl	-
试剂 3-Pro 显色液	100 μl	100 μl	100 μl

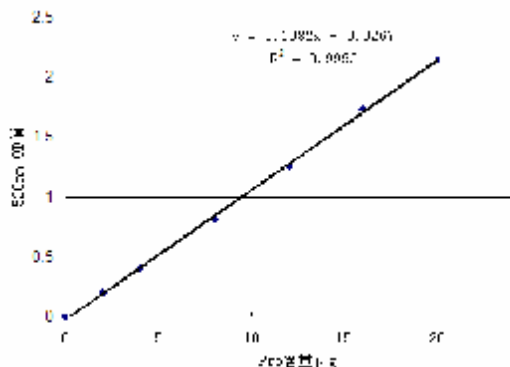
③ 水浴煮沸或干浴 20 分钟，间歇混匀。加热时务必注意避免液体暴沸溅出，可使用锁盖离心管或螺旋盖离心管。

④ 冰浴或流水冷却至室温，10000 rpm 离心 2 分钟，如发现没有不溶物，也可以不离心。

⑤ 取上清，用空白管作为对照，用分光光度计或酶标仪检测分别测定反应混合液 520nm 吸光度值。

5、计算:

以系列脯氨酸标准(1-6 号管)含量(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含量。



根据如下公式计算具体样品中脯氨酸的含量：

$$\text{植物组织样品脯氨酸含量}(\mu\text{g/g}) = (C \times V_T) / (W \times V_S)$$

C=从标准曲线上查得的脯氨酸含量(μg)

V_T =步骤 1 中脯氨酸提取液总体积(ml)

W=步骤 1 中使用的样品鲜重(g)

V_S =步骤 4 中测定时加入的脯氨酸提取液体积(ml)