

植物脯氨酸检测试剂盒

产品货号: 26930

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,易溶于水。在正常环境情况下脯氨酸含量较低,但在逆境下(旱、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1ml 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 μ l 100mg/ml 标准液加入到1ml Pro裂解液中,即配成100 μ g/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 * GB3 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	0.5ml	-	-
步骤1中的脯氨酸提取液	-	-	0.5ml
Pro标准液(步骤3中1-8管)	-	0.5ml	-
试剂3-Pro显色液	1ml	1ml	1ml

= 2 * GB3 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	50µl	-	-
步骤1中的脯氨酸提取液	-	-	50µl
Pro标准液(步骤3中1-8管)	-	50µl	-
试剂3-Pro显色液	100μ1	100µl	100μ1

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,10000rpm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。

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

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)

Vs=步骤4中测定时加入的脯氨酸提取液体积(ml)