

花青素还原酶（ANR）活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1157

产品规格：100管/48样

产品简介：

花青素还原酶（ANR）是原花青素生物合成途径中的关键酶，使花色苷转变为相应的顺式黄烷-3-醇，在植物体内起着非常重要的调控作用。

NADPH在ANR作用下将花色苷转化为黄烷-3-醇和NADP，在340nm下测定NADPH的减少速率，即可反映ANR活性。

注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品内容：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体50mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体25mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×2支	2-8℃
试剂三	粉剂×1瓶	-20℃
试剂四	液体1mL×1瓶	2-8℃

溶液的配制：

1. 提取液：内含不溶物，使用前摇匀。
2. 试剂二：临用前加入1mL蒸馏水备用。
3. 试剂三：粉剂置于试剂瓶内玻璃管中。临用前加入1mL乙醇和1mL蒸馏水混匀溶解备用。可以分装后-20℃保存，避免反复冻融。

需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计/酶标仪、低温离心机、水浴锅、可调式移液器、微量石英比色皿/96孔UV板、研钵/匀浆器、乙醇、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 组织：称取约0.1g组织，加入1mL提取液进行冰浴匀浆。12000g 4℃离心15分钟，取上清，置冰上待测。
2. 细胞或细菌样本的制备：先收集细胞或细菌样本到离心管内，弃上清，按照每500万细胞或细菌加入1mL提取液，超声波破碎细菌或细胞（功率20%，超声3s，间隔10s，重复30次）。12000g，4℃离心15min，取上清，置冰上待测。

二、测定操作

1. 紫外分光光度计/酶标仪预热30min，波长调至340nm，蒸馏水调零。
2. 加样表：



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

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
试剂一	170	170
试剂二	10	10
试剂三	5	5
样本	10	-
上述试剂混匀后37℃水浴反应30min。		
试剂四	5	5
样本	-	10

混匀后测量测定管和对照管在340nm下的吸光度，分别记为A测定管、A对照管，计算 $\Delta A = A_{\text{对照管}} - A_{\text{测定管}}$ 。

三、ANR酶活计算

A、按微量石英比色皿计算：

1. 按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每mg组织蛋白在反应体系中每分钟减少1nmol NADPH的酶量定义为一个酶活性单位。

$$\text{ANR酶活 (U/mg prot)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}}] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 107.18 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2. 按样本质量计算：

单位的定义：每g组织在反应体系中每分钟减少1nmol NADPH的酶量定义为一个酶活性单位。

$$\text{ANR酶活 (U/g质量)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}}] \div (W \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样}}) \div T = 107.18 \times \Delta A \div W$$

3. 按细胞或细菌个数计算：

单位的定义：每 10^4 个细胞或细菌在反应体系中每分钟减少1nmol NADPH的酶量定义为一个酶活性单位。

$$\text{ANR酶活 (U/10}^4\text{cell)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}}] \div (500 \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样}}) \div T = 0.2144 \times \Delta A$$

V反总：反应总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：NADPH的摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm；d：比色皿光径，1cm；

V样：加入的样本体积，0.01mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；V提取：提取液体积，1mL；500：500万个细胞；T：反应时间，30min； 10^9 ：单位换算系数，1mol=10⁹nmol。

B、按96孔UV板计算：

将上述公式中的d-1cm改为d-0.6cm（96孔UV板光径）进行计算即可。

注意事项：

1. 当 ΔA 大于0.4或者A对照管大于1（96孔UV板为 ΔA 大于0.2或者A对照管大于1）时，建议将反应混合液用试剂一稀释更大倍数或者减少加入的样本体积进行测定； ΔA 过小时，可以增加酶促反应时间（45min或60min）或增加加入的样本体积来测定。
2. 加入试剂四后，请在15min内测定完成。
3. 样本蛋白浓度另行测定。



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

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com