



## 花青素还原酶检测试剂盒

### ANR Assay Kit

微量法

产品编号: ES366M

产品规格: 100T/96S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES366	100mL×1 瓶	4℃保存;
ES366-A	20mL×1 瓶	4℃保存;
ES366-B	粉剂×1 瓶	4℃避光保存。临用前加 1mL 蒸馏水溶解; 剩余试剂分装后 -20℃保存, 禁止反复冻融。
ES366-C	粉剂×1 瓶	4℃避光保存。临用前加 1mL 蒸馏水溶解; 剩余试剂分装后 -20℃保存, 禁止反复冻融。
ES366-D	粉剂×1 瓶	4℃避光保存。临用前加 1mL 蒸馏水溶解; 剩余试剂分装后 -20℃保存, 禁止反复冻融。

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

**意义:** 花青素还原酶是黄酮合成途径中的关键酶, 在植物体内起非常重要的调控作用, 对花青素还原酶的调控机制研究有利于从基因水平改变植物的品质。

**原理:** 花青素还原酶在 NADPH 存在的条件下作用于飞燕草色素转变为表没食子儿茶素和 NADP, 使反应体系在 340nm 处的吸光值下降, 吸光值下降速率反应了花青素还原酶的活性。

**自备用品:**

紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、天平、研钵、低温离心机、蒸馏水。

**酶液提取:**

1. 组织: 按照组织质量 (g): ES366 体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL ES366), 进行冰浴匀浆。10000g, 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
2. 液体: 直接检测。

**测定步骤:**

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min, 调节波长至 500nm。
2. 操作表:

试剂名称	测定管 (μL)
ES366-A	150
ES366-B	10
酶液	20
ES366-C	10
ES366-D	10

充分混匀, 于微量石英比色皿/96 孔板测定 340 处吸光值 A1, 然后在 40℃温育 20min 后, 再测定 340nm 处吸光值 A2,  $\Delta A = A1 - A2$

## 酶活性计算公式

### a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

#### 1. 按照蛋白浓度计算

**酶活性定义：**在 40℃，pH6.5 条件下，每毫克蛋白每分钟催化 1nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ANR 活性}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 80.39 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

#### 2. 按照样本质量计算

**酶活性定义：**在 40℃，pH6.5 条件下，每克组织每分钟催化 1nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ANR 活性}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 80.39 \times \Delta A \div W$$

#### 3. 按液体体积计算

**酶活性定义：**在 40℃，pH6.5 条件下，每毫升液体每分钟催化 1nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ANR 活性}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mL}) = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 80.39 \times \Delta A$$

注：V 反总：反应体系总体积，0.2mL； $\epsilon$ ：NADH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3 \text{ L} / \text{mol} / \text{cm}$ ；d：比色皿光径，1cm；V 样：加入样本体积，0.02mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，20min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g。

### b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

标准曲线： $y=0.0092x+0.0002$ ， $R^2=0.999$

#### 1. 按照蛋白浓度计算

**酶活性定义：**在 40℃，pH6.5 条件下，每毫克蛋白每分钟催化 1nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ANR 活性}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 160.78 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

#### 2. 按照样本质量计算

**酶活性定义：**在 40℃，pH6.5 条件下，每克组织每分钟催化 1nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ANR 活性}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 160.78 \times \Delta A \div W$$

#### 3. 按液体体积计算

**酶活性定义：**在 40℃，pH6.5 条件下，每毫升液体每分钟催化 1nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ANR 活性}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mL}) = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 160.78 \times \Delta A$$

V 反总：反应体系总体积，0.2mL； $\epsilon$ ：NADH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3 \text{ L} / \text{mol} / \text{cm}$ ；d：比色皿光径，0.5cm；V 样：加入样本体积，0.02mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，20min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g。