

Anthocyanidin Reductase Activity Assay Kit

花青素还原酶（ANR）试剂盒说明书

货号：G1006F48 | 方法：紫外分光法 | 规格：48 样

一、产品简介：

花青素还原酶（ANR）参与调控花青素的含量水平以及原花青素的形成，是原花青素单体生物合成过程中关键酶之一，在花青素积累过程中具有重要的调节作用。

花青素还原酶(ANR)在 NADPH 存在下使飞燕草色素转变为表没食子儿茶素和 NADP⁺，通过检测反应体系在 340nm 处的吸光值下降速率即可得出花青素还原酶(ANR)活性大小。

二、试剂盒组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂 mg×1 支	-20℃保存	用前甩几下或离心使粉剂落入底部，再加 1.2mL 蒸馏水溶解备用。
试剂二	粉剂 mg×2 支	-20℃保存	用前甩几下或离心使粉剂落入底部，每支分别加 0.6mL 蒸馏水溶解备用。用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融，三天内用完。
试剂三	液体 50mL×1 瓶	4℃保存	
试剂四	粉剂 μg×1 支	-20℃避光保存	用前甩几下或离心使粉剂落入底部，再加 1.1mL 乙醇溶解备用，用不完的试剂分装后-20℃避光保存，禁止反复冻融。

三、所需的仪器和用品：

紫外分光光度计、1mL 石英比色皿（光径 1cm）、无水乙醇、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、研钵、冰。

四、花青素还原酶（ANR）活性测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

① 组织样本：称取约 0.1g 组织样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，12000rpm，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例进行提取。

② 液体样本：若液体澄清可直接检测；若浑浊则 12000rpm，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。

2、上机检测：

① 紫外分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零。

② 所有试剂解冻至室温（25℃），或可于水浴锅（25℃）中孵育 15-25min。

③ 在 1mL 石英比色皿（光径 1cm）中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管
样本	60
试剂一	20
试剂二	20

试剂三	600
340nm, 室温 (25°C) 孵育 5min	
试剂四	20
充分混匀, 立即于 340nm 处读取吸光值 A1, 后于 40°C 温育 20min 后, 再读取吸光值 A2, $\Delta A = A1 - A2$ 。	

【注意: 本操作流程适用于绝大多数常规样本检测, 实验条件可根据实际样本状态适度微调; 针对特殊类型样本, 我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算:

1、按样本蛋白浓度计算:

酶活定义: 40°C 条件下, 每毫克组织蛋白每分钟氧化 1nmolNADPH 定义为一个酶活单位。

$$\text{ANR 活性}(\text{nmol/min/mg prot}) = [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T = 96.5 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2、按样本鲜重计算:

酶活定义: 40°C 条件下, 每克组织每分钟氧化 1nmolNADPH 定义为一个酶活单位。

$$\text{ANR 活性}(\text{nmol/min/g 鲜重}) = [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V1 \div V) \div T = 96.5 \times \Delta A \div W$$

3、按液体体积计算:

酶活定义: 40°C 条件下, 每毫升液体每分钟氧化 1nmolNADPH 定义为一个酶活单位。

$$\text{ANR 活性}(\text{nmol/min/mL}) = [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V1 \div T = 96.5 \times \Delta A$$

V---加入提取液体积, 1 mL;

V2---反应体系总体积, 7.2×10^{-4} L;

ϵ ---NADPH 摩尔消光系数, 6.22×10^3 L/mol/cm;

T---反应时间, 20min;

Cpr---蛋白浓度 (mg/mL), 建议使用本公司的 BCA 蛋白含量测定试剂盒。

V1---加入样本体积, 0.06mL;

d---光径, 1cm;

W---样本质量, g;