

# 花青素还原酶（ANR）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1064

保存：-20℃避光保存 6 个月

规格：48T/96T

适用样本：植物组织、果汁等液体样本

## 产品简介

花青素还原酶（Anthocyanidin reductase, ANR）是原花青素生物合成途径中的关键酶之一，可使花色素转变为相应的顺式黄烷-3-醇，对植物体内类黄酮类物质的合成、花色苷的积累，具有重要作用。本试剂盒可检测生物体内 ANR 活性，其原理是 ANR 可催化 NADPH 和花色素转化为黄烷-3-醇和 NADP<sup>+</sup>，NADPH 在 340nm 有吸收峰，而 NADP<sup>+</sup>没有；通过测定 340nm 光吸收下降速率，计算 ANR 活性。

## 产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
试剂一	10mL	20mL	4℃保存
试剂二	1	1	-20℃避光保存
试剂三	1	1	-20℃避光保存
试剂四	1	1	4℃保存

## 自备耗材

酶标仪或紫外分光光度计（能测 340nm 处的吸光度）  
恒温箱、制冰机、低温离心机  
96 孔 UV 板或微量石英比色皿、可调节式移液枪及枪头  
去离子水、无水乙醇  
匀浆器

## 试剂准备

**注意：各组分（小管试剂）开盖前，请先低速离心。**

提取液：即用型；使用前摇匀；4℃保存。

试剂一：即用型；4℃保存。

试剂二：粉剂，临用前，96T 加入 1mL 50%乙醇，48 T 加入 0.5mL 50%乙醇，充分混匀待用。用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融。

试剂三：粉剂，临用前 96T 加入 1mL 去离子水，48T 加入 0.5mL 去离子水，充分混匀待用。用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融。

试剂四：粉剂，临用前 96T 加入 1mL 去离子水，48T 加入 0.5mL 去离子水，充分混匀待用；4℃保存。

## 样本制备

植物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1 mL 提取液（注意混匀），进行冰浴匀浆，10,000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

果汁等液体样本：直接测定。

## 产品说明书

**注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存1个月。处理好的样本须当天检测。如需测定蛋白浓度，推荐使用BCA法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。**

### 实验步骤

1. 酶标仪或紫外分光光度计预热30min以上，调节波长到340nm。紫外分光光度计去离子水调零。
2. 试剂一40℃预热30min以上。
3. 样本测定：在96孔UV板或微量石英比色皿中依次加入150μL试剂一，10μL试剂二，20μL样本，10μL试剂三，10μL试剂四，混匀，于340nm测定吸光值 $A_1$ ，然后在40℃温育20min后，再测定340nm处吸光值 $A_2$ ， $\Delta A = A_1 - A_2$

**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 $\Delta A$ 小于0.001，可适当加大样本量。如果 $\Delta A$ 大于0.5，样本可用提取液进一步稀释（计算结果乘以稀释倍数），或减少提取用样本量。**

### 结果计算

A. 用96孔板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mg蛋白在反应体系中每分钟催化1nmolNADPH转化。

ANR活性(U/mg prot) =  $[\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反应}} \times 10^9] \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T \times n = 160.75 \times \Delta A \div C_{\text{pr}} \times n$

(2) 按照样本质量计算

酶活性定义：在40℃，pH6.5条件下，每克组织在反应体系中每分钟催化1nmolNADPH转化。

ANR活性(U/g鲜重) =  $[\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反应}} \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T \times n = 160.75 \times \Delta A \div W \times n$

(3) 按液体体积计算

酶活性定义：在40℃，pH6.5条件下，每毫升液体样本在反应体系中每分钟催化1nmolNADPH转化。

ANR活性(U/mL) =  $[\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反应}} \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T \times n = 160.75 \times \Delta A \times n$

$\epsilon$ ：NADPH摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3$  L/mol/cm； $d$ ：96孔板光径，0.5cm； $V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，L， $200 \mu\text{L} = 2 \times 10^{-4}$  L； $10^9$ ： $1\text{mol} = 1 \times 10^9 \text{nmol}$ ； $C_{\text{pr}}$ ：蛋白浓度，mg/mL； $V_{\text{样}}$ ：加入上清液体积，0.02mL； $T$ ：反应时间，20min； $n$ ：样本稀释倍数； $W$ ：样品质量，0.1g； $V_{\text{样总}}$ ：提取液体积，1mL。

B. 使用微量石英比色皿测定的计算公式

将上述计算公式中的光径 $d:0.5\text{cm}$ 调整为 $d:1\text{cm}$ 进行计算即可。

### 注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

### 相关产品：

PMK1059 单宁检测试剂盒（微量法）

PMK1060 单宁酶(Tannase)检测试剂盒（微量法）

PMK1053 植物类黄酮检测试剂盒（微量法）

PMK1054 植物总酚（TP）检测试剂盒（微量法）

PMK1055 植物原花青素（OPC）检测试剂盒（微量法）

更多产品详情了解，请关注公众号：

