



花青素还原酶 (ANR) 活性检测试剂盒  
Anthocyanidin Reductase (ANR) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司  
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



## 花青素还原酶 (ANR) 活性检测试剂盒

## Anthocyanidin Reductase (ANR) Activity Assay Kit

## 一、产品描述

花青素还原酶 (ANR) 是原花青素生物合成途径中的关键酶, 使花色素转变为相应的顺式黄烷-3-醇, 对花青素在植物组织中的积累具有重要调控作用。

花青素还原酶可催化花色素和 NADPH 转化为黄烷-3-醇和 NADP, NADPH 在 340 nm 处具有特征吸收峰, 通过测定吸光值变化即可表征花青素还原酶的活性。

## 二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液	液体 50 mL×1 瓶	4°C 保存	内含不溶物, 混匀后使用
试剂一	液体 25 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	粉剂×2 支	4°C 保存	使用前每支加入 1 mL 蒸馏水充分溶解
试剂三	粉剂×1 瓶	-20°C 保存	使用前加入 1 mL 无水乙醇和 1 mL 蒸馏水充分溶解 (配置后-20°C分装保存, 避免反复冻融)
试剂四	液体 1 mL×1 支	4°C 保存	

需自备试剂: 无水乙醇 (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O, MW = 46.07, CAS: 64-17-5);

## 三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿 (光径 10 mm) /96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱、无水乙醇和蒸馏水。

## 1. 粗酶液的制备 (可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

①组织: 按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: (5-10) 的比例 (建议称取 0.1 g 组织, 加入 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴匀浆, 4°C 12000 g 离心 15 min, 取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞: 离心收集细菌或细胞至离心管内, 按照细菌或细胞数量 (10<sup>4</sup> 个): 提取液体积 (mL) 为 (500-1000): 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴超声破碎 (功率 20%, 超声 3 s, 间隔 10 s, 重复 30 次), 4°C 12000 g 离心 15 min, 取上清置于冰上待测。

## 2.测定步骤

①紫外分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 ( $\mu\text{L}$ )	对照管 ( $\mu\text{L}$ )
试剂一	170	170
试剂二	10	10
试剂三	5	5
粗酶液	10	-
充分混匀，37°C准确反应 30 min		
试剂四	5	5
粗酶液	-	10

吸光值测定（15 min 内完成吸光值测定）：测定 340 nm 处吸光值，记为 A 测定和 A 对照，计算  $\Delta A = A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}$ 。注：每个样品均需设一个对照管。

## 3.花青素还原酶（ANR）活性计算

### 3.1 使用 96 孔 UV 板测定的计算公式

①按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟消耗 1 nmol NADPH 的酶量定义为一个酶活性单位。

$$\text{ANR (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{214.36 \times \Delta A}{W}$$

②按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1 nmol NADPH 的酶量定义为一个酶活性单位。

$$\text{ANR (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{214.36 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每  $10^4$  个细菌或细胞每分钟消耗 1 nmol NADPH 的酶量定义为一个酶活性单位。

$$\text{ANR (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{214.36 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

### 3.2 使用微量石英比色皿测定的计算公式

#### ①按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟消耗 1 nmol NADPH 的酶量定义为一个酶活性单位。

$$\text{ANR (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{107.18 \times \Delta A}{W}$$

#### ②按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1 nmol NADPH 的酶量定义为一个酶活性单位。

$$\text{ANR (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{107.18 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

#### ③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每  $10^4$  个细菌或细胞每分钟消耗 1 nmol NADPH 的酶量定义为一个酶活性单位。

$$\text{ANR (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{107.18 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

**注释：** V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.01 mL；V 反总：反应体系总体积， $2 \times 10^{-4}$  L；V 提：粗酶液总体积，1 mL； $\epsilon$ ：NADPH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3$  L/mol/cm； $d_1$ ：96 孔 UV 板光径，0.5 cm； $d_2$ ：微量石英比色皿光径，1 cm；W：样本质量：g；Cpr：样品蛋白浓度，mg/mL；细菌或细胞数量：以万计； $10^9$ ：单位换算系数， $1 \text{ mol} = 10^9 \text{ nmol}$ ；T：反应时间，30 min。

### 四、注意事项

- ①  $\Delta A$  大于 0.4 或 A 对照大于 1 时，建议将粗酶液适当稀释后再进行测定，计算时相应修改；
- ② 反应完成后，应在 15 min 内完成吸光值的测定，不建议一次性制备多个样本；
- ③ 为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

**For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.**

