



花青素还原酶检测试剂盒

ANR Assay Kit

紫外分光光度

产品编号: ES366U

产品规格: 50T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES366	50mL×1瓶	4℃保存;
ES366-A	40mL×1瓶	4℃保存;
ES366-B	粉剂×1瓶	4℃避光保存。临用前加 3mL 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 3mL 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 3mL 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、1mL 石英比色皿、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	750
ES366-B	50
酶液	100
ES366-C	50
ES366-D	50
充分混匀, 于 1mL 石英比色皿测定 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

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，1mL； ϵ ：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，0.1mL；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。