



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

## 硝酸还原酶(NR)活性检测试剂盒(可见分光光度法)

货号: R41882

规格: 50T/24S

保质期: 6个月

产品组成及保存条件:

| 编号                                          | 规格      | 储存条件                      |
|---------------------------------------------|---------|---------------------------|
| 诱导剂储备液                                      | 50mL×1瓶 | 2-8℃保存;                   |
| 诱导剂应用液配制: 用时将诱导剂储备液用蒸馏水10倍稀释, 充分混匀即可, 现用现配; |         |                           |
| 提取液ES08                                     | 50mL×1瓶 | 2-8℃保存;                   |
| 试剂-A                                        | 20mL×1瓶 | -20℃保存;                   |
| 试剂-B                                        | 10mL×1瓶 | 2-8℃保存;                   |
| 试剂-C                                        | 25mL×1瓶 | 2-8℃保存(如析出结晶, 60度水浴溶解后使用) |
| 试剂-D                                        | 25mL×1瓶 | 2-8℃保存;                   |
| 标准储备液                                       | 1mL×1支  | 2-8℃保存;                   |
| 1μmol/mL的标准液的配制: 用时将标准储备液用蒸馏水10倍稀释, 充分混匀即可  |         |                           |

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: 硝酸还原酶 (Nitrate Reductase, NR; EC 1.7.1.3) 广泛存在于植物中, 是植物硝态氮转化为氨态氮的关键酶, 也是诱导酶, 对作物的产量和品质有影响。

原理: 硝酸还原酶催化硝酸盐还原为亚硝酸盐,  $\text{NO}_3^- + \text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{NO}_2^- + \text{NAD}^+ + \text{H}_2\text{O}$ ; 产生的亚硝酸盐能够在酸性条件下, 与对-氨基苯磺酸及  $\alpha$ -萘胺定量生成红色偶氮化合物; 生成的红色偶氮化合物在540 nm 有最大吸收峰, 可用分光光度法测定。

### 自备用品:

可见分光光度计、水浴锅、台式离心机、1mL 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水。



## 样品测定的前处理:

1. 取适量诱导剂于烧杯中, 将新鲜标本洗净, 滤纸吸干, 放入诱导剂应用液中(淹没即可), 浸泡 2h, 取出样本, 滤纸吸干后, -20℃冷冻 30min, 取出样本, 滤纸吸干。(根据需要进行诱导处理)

2. 按照组织质量(g): 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例(建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液 ES08), 进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

## 测定步骤:

1. 分光光度计预热30min 以上, 调节波长至540nm, 蒸馏水调零。

2. 在 EP 管中加入下列试剂

| 试剂名称                                             | 测定管(ul) | 对照管(ul) | 标准管(ul) | 空白管(ul) |
|--------------------------------------------------|---------|---------|---------|---------|
| 样本                                               | 100     | 100     |         |         |
| 1μmol/mL标准液                                      |         |         | 100     |         |
| 蒸馏水                                              |         | 500     |         | 600     |
| 试剂-A                                             | 375     |         | 375     |         |
| 试剂-B                                             | 125     |         | 125     |         |
| 混匀后, 37℃(哺乳动物)或25℃(其它物种)反应30min                  |         |         |         |         |
| 试剂-C                                             | 250     | 250     | 250     | 250     |
| 试剂-D                                             | 250     | 250     | 250     | 250     |
| 混匀, 显色20min, 540nm处比色, 标记为: A测定管、A对照管、A标准管、A空白管; |         |         |         |         |

注意: 标准管和空白管只需测一次, 每个测定管设一个对照管

## 硝酸还原酶 (NR) 活性计算:

1. 按样本鲜重计算:

单位定义: 每小时每g 鲜重样品中催化产生 1μmol NO<sub>2</sub><sup>-</sup>的量为一个 NR 活力单位。

$$\text{NR (U/g 鲜重)} = (C \text{ 标准管} \times V1) \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div (W \times V1 \div V2) \div T = 2 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div W$$

2. 按样本蛋白浓度计算:



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

---

单位定义: 每小时每 mg 组织蛋白催化产生  $1\mu\text{mol NO}_2^-$  的量为一个 NR 活力单位。

$$\text{NR (U/mg prot)} = (\text{C 标准管} \times \text{V1}) \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div (\text{V1} \times \text{Cpr}) \div \text{T} = 2 \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{Cpr}$$

注: C 标准管: 标准管浓度,  $1\mu\text{mol/mL}$ ; V1: 加入样本体积:  $0.1\text{mL}$ ; V2: 加入提取液体积,  $1\text{mL}$ ; T: 反应时间,  $0.5\text{h}$ ; Cpr: 样本蛋白质浓度,  $\text{mg/mL}$ ; W: 样本鲜重, g。



源叶