



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
邮箱: shyysw@sina.com

硝酸还原酶(NR)活性检测试剂盒(微量法)

货号: R41883

规格: 100T/48S

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。		
提取液ES08	50mL×1瓶	2-8℃保存;
试剂-A	10mL×1瓶	-20℃保存;
试剂-B	5mL×1瓶	2-8℃保存;
试剂-C	5mL×1瓶	2-8℃保存(如析出结晶, 60度水浴溶解后使用)
试剂-D	5mL×1瓶	2-8℃避光保存;
标准储备液	1mL×1支	-20℃保存

0.1umol/mL的标准液的配制: 用时将标准储备液蒸馏水100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 α -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/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96孔板、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. 分光光度计或酶标仪预热30min 以上, 调节波长至540nm, 蒸馏水调零。

2. 在EP 管或96 孔板中加入下列试剂

试剂名称	测定管(ul)	对照管(ul)	标准管(ul)	空白管(ul)
样本	20	20		
0.1μmol/mL标准液			20	
蒸馏水		100		120
试剂-A	75		75	
试剂-B	25		25	
混匀后, 37℃(哺乳动物)或25℃(其它物种)反应30min				
试剂-C	50	50	50	50
试剂-D	50	50	50	50
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 NO₂⁻ 的量为一个 NR 活力单位。

$$\text{NR } (\mu\text{mol/h/g 鲜重}) = (C \text{ 标准管} \times V_1) \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div (W \times V_1 \div V_2) \div T = 0.2 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div W$$

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
邮箱: 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。

$$\text{NR } (\mu\text{mol/h/mg prot}) = (\text{C 标准管} \times \text{V1}) \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div (\text{V1} \times \text{Cpr}) \div \text{T} = 0.2 \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{Cpr}$$

注: C 标准管: 标准管浓度, $0.1\mu\text{mol/mL}$; V1: 加入样本体积: 0.02mL ; V2: 加入提取液体积, 1mL ; T: 反应时间, 0.5h ; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL ; W: 样本鲜重, g。



源叶