

硝酸还原酶（NR）活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1426

产品规格：100管/96样

产品简介：

NR（EC1.7.1.3）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。

NR催化硝酸盐还原为亚硝酸盐， $\text{NO}_3^- + \text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{NO}_2^- + \text{NAD}^+ + \text{H}_2\text{O}$ ，NADH在340nm下有特征吸收峰，340nm下吸光值的变化即可表示酶活。

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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
诱导剂储备液	液体100mL×1瓶	4°C
提取液	液体120mL×1瓶	4°C
试剂一	液体15mL×1瓶	-20°C
试剂二	粉剂×1瓶	-20°C

溶液的配制：

1. 诱导剂储备液：用蒸馏水10倍稀释后使用，即取10mL诱导剂储备液加90mL蒸馏水，充分混匀。现配现用。
2. 试剂二：临用前加入2mL提取液溶解，可分装后-20°C保存，避免反复冻融。-20°C保存2周。

需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计/酶标仪、水浴锅、台式离心机、微量石英比色皿/96孔UV板、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

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）避光，浸泡2h，取出样本，滤纸吸干后，-20°C冷冻30min，取出样本，滤纸吸干。（根据需要进行诱导处理）
2. 称取约0.1g样本，加入1mL提取液，冰浴研磨，4000g，4°C离心10min，取上清置冰上待测。

二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至340nm，蒸馏水调零。
2. 样本测定（在EP管中加入下列试剂）

试剂名称（ μL ）	测定管	空白管
样本	12	-
提取液	68	80
试剂一	108	108
试剂二	12	12

充分混匀后测定340nm下的初始值A1，25°C（其他物种）或37°C（哺乳动物）反应30min后再次测定吸光值A2，计算 $\Delta A = A1 - A2$ ， $\Delta A_{\text{测定管}} = A1_{\text{测定管}} - A2_{\text{测定管}}$ ， $\Delta A_{\text{空白管}} = A1_{\text{空白管}} - A2_{\text{空白管}}$ ， $\Delta A = \Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}$ 。（空白管只需测1-2次）



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

QQ：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

三、NR活性计算

1. 按微量石英比色皿计算：

(1) 按样本质量计算：

酶活单位定义：每小时每g样本中消耗1 μ mol NADH的量为一个NR活力单位。

$$\text{NR (U/g质量)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (W \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样}}) \div T = 5.359 \times \Delta A \div W$$

(2) 按样本蛋白浓度计算：

酶活单位定义：每小时每mg组织蛋白消耗1 μ mol NADH的量为一个NR活力单位。

$$\text{NR (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 5.359 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

V反总：反应体系体积，2 $\times 10^{-4}$ L；V样：吸取样本体积，0.012mL；V提取：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，0.5h； ϵ ：NADH的摩尔消光系数，6220L/mol/cm；d：比色皿光径，1cm；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；10⁶：单位换算系数，1mol=10⁶ μ mol。

2. 按96孔UV板计算：

将上述公式中的d-1cm换为d-0.6cm（96孔板光径）进行计算即可。

注意事项：

1. 当测定的吸光值大于1.5或者 ΔA 大于0.5时，建议将上清液稀释后测定。
2. ΔA 测定过小（小于0.01），可延长酶促反应时间。
3. 建议一次测定不要测定过多样本以免耽误过多的酶促反应时间。
4. 空白管为检测各试剂组分质量的检测孔，正常情况下，变化不超过0.05。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>