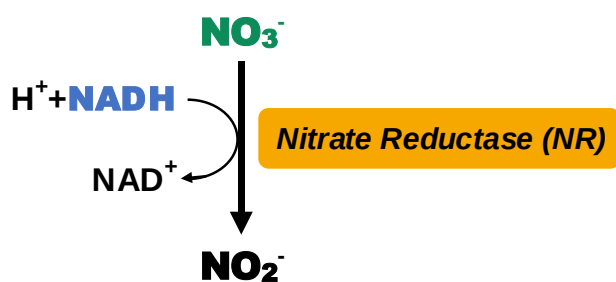




硝酸还原酶 (NR) 活性检测试剂盒

Nitrate Reductase (NR) Activity Assay Kit



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



硝酸还原酶（NR）活性检测试剂盒

Nitrate Reductase (NR) Activity Assay Kit

一、产品描述

硝酸还原酶（NR）是植物硝态氮转化为氨态氮的关键酶，受光和 NO_3^- 的诱导产生，可催化硝酸盐还原为亚硝酸盐，并与亚硝酸还原酶以偶联调节的形式对氮代谢进行调节，在初级氮同化的控制中起着重要作用。

硝酸还原酶可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 340 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征硝酸还原酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
诱导剂储备液	液体 60 mL×1 瓶	4°C 保存	根据使用量蒸馏水 10 倍稀释后使用 (即为诱导剂应用液，现用现配)
试剂一	液体 80 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	液体 30 mL×1 瓶	-20°C 保存	-
试剂三	粉剂×2 瓶	-20°C 避光保存	使用前每瓶加入 6 mL 试剂一充分溶解 (分装后 -20°C 可保存 2 周，避免反复冻融)

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、1 mL 石英比色皿（光径 10 mm）、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

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）

按照组织质量（g）：试剂一体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 试剂一）处理样品，冰浴匀浆，4°C 8000 g 离心 10 min，取上清即为粗酶液，置于冰上待测。

注：植物样本一般不需诱导处理，若预实验结果没有活性（ ΔA 测定 ≤ 0 ）则需诱导处理：将新鲜标本洗净，滤纸吸干，放入装有适量诱导剂应用液的烧杯中（浸没即可），避光浸泡 2 h，取出样本，滤纸吸干后按组织程序提取。

2.测定步骤

①紫外分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm，蒸馏水调零。

②在 1 mL 石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	空白组 (μL)
粗酶液	100	-
试剂一	300	400
试剂二	500	500
试剂三	100	100

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 340 nm 处测定组和空白组初始吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②25°C（其他物种）或 37°C（哺乳动物）准确反应 30 min，测定 340 nm 处测定组和空白组吸光值，记为 A2 测定和 A2 空白；③计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A1_{\text{空白}} - A2_{\text{空白}}$ ， $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。注：空白组只需测 1-2 次。

3.硝酸还原酶（NR）活性计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每小时每 mg 组织蛋白消耗 1 μmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{NR (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^6}{\epsilon \times d \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{3.215 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每小时每 g 组织样本消耗 1 μmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{NR (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times 10^6}{\epsilon \times d \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{3.215 \times \Delta A}{W}$$

注释：V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，100 μL =0.1 mL；V 提：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积，1 $\times 10^{-3}$ L；T：反应时间，30 min=0.5 h； ϵ ：NADH 摩尔消光系数：6220 L/mol/cm；d：1 mL 石英比色皿光径：1 cm；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g； 10^6 ：单位换算系数，1 mol= 10^6 μmol 。

四、注意事项

- ①硝酸还原酶易失活，粗酶液制备过程需在冰上迅速完成；
- ②空白组为各试剂组分质量的检测孔，正常情况下变化不超过 0.05；
- ③准确在规定时间点完成吸光值的测定，以确保实验结果的准确性和重复性；
- ④试剂三有效期较短，为便于试验安排附赠 1 瓶作为备用，每瓶均可满足至少 50 个样本的测定；
- ⑤若 A 测定大于 1.2 或者 ΔA 大于 0.5 时，建议将粗酶液适当稀释后再进行测定；若 ΔA 测定小于 0.01，可适当延长酶促反应时间后再进行测定，计算时相应修改；
- ⑥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.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

