

## 硝酸还原酶（NR）活性检测试剂盒（紫外分光光度法）

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号：BA1425

产品规格：50管/48样

### 产品内容：

诱导剂储备液：液体50mL×1瓶，4℃保存。10倍稀释后使用，现配现用。

提取液：液体80mL×1瓶，4℃保存。

试剂一：液体30mL×1瓶，-20℃保存。

试剂二：粉剂×1瓶，-20℃保存。临用前加入5mL提取液溶解，可分装后-20℃保存，避免反复冻融。-20℃可保存2周。

诱导剂应用液的配制：用时将诱导剂储备液用水稀释10倍，即取10mL诱导剂储备液加90mL蒸馏水，充分混匀。

### 产品说明：

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。

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。

### 需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计、水浴锅、台式离心机、1mL石英比色皿、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

### 操作步骤：

#### 一、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）避光，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、称取约0.1g样本，加入1mL提取液，冰浴研磨，4000g，4℃离心10min，取上清置冰上待测。

#### 二、测定步骤

- 1、分光光度计预热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（uL）	测定管	空白管
样本	60	-
提取液	340	400
试剂一	540	540
试剂二	60	60

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

注意：空白管只需测1-2次。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

### 三、NR活性计算：

(1) 按样本鲜重计算：

酶活单位定义：每小时每g鲜重样品中消耗1 $\mu$ mol NADH的量为一个NR活力单位。

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

(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 $\mu$ mol NADH的量为一个NR活力单位。

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

V反总：反应体系体积，0.001L；V样：吸取样本体积，0.06mL；V提取：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，0.5h； $\epsilon$ ：NADH的摩尔消光系数：6220 L/mol/cm；d：比色皿光径：1cm；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本鲜重，g； $10^6$ ：单位换算系数，1mol=10<sup>6</sup>nmol。

#### 注意事项：

- 1、当测定的吸光值大于1.5或者 $\Delta A$ 大于0.6时，建议将上清液稀释后测定。
- 2、 $\Delta A$ 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品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，空白管的初始测定值（A1空白管）在0.9左右，变化不超过0.05。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com