



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: shyyssw@sina.com

硝酸还原酶(NR)检测试剂盒(萘胺比色法)

货号: R30328

规格: 50T, 100T

保存温度: -20℃避光保存, 有效期 6 个月。

产品简介:

硝酸还原酶(Nitrate reductase, NR)是一种氧化还原酶, 可分为参与硝酸盐同化的同化型还原酶和催化以硝酸盐为活体氧化的最终电子受体的硝酸盐呼吸异化型(呼吸型)还原酶。硝酸还原酶是植物氮素代谢中氮素同化的关键酶, 该酶与作物吸收利用氮肥有关, 对作物的产量和质量有影响, 因此可以把硝酸还原酶的活力当作营养诊断、农田施肥或作物育种的生理生化指标。硝酸还原酶(NR)测定方法可分为活体法和离体法, 活体法步骤简, 适合快速、多组测定; 离体法比较复杂, 但重复性好。

源叶硝酸还原酶(NR)检测试剂盒(离体微板法)检测原理是硝酸还原酶催化硝酸盐还原为亚硝酸盐, 其反应如下: $\text{NO}_3^- + \text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{NO}_2^- + \text{NAD}^+ + \text{H}_2\text{O}$, 产生的亚硝酸盐与磺胺及萘胺在酸性条件下定量生成稳定的红色偶氮化合物, 于分光光度计 520nm 处检测吸光度, 由产生的亚硝态氮的量表示硝酸还原酶的活性, 一般以单位 $\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{h})$ 表示, 主要用于检测植物样本、血清等中硝酸还原酶活性, 尤其适用于离体植物组织硝酸还原酶的活力, 该试剂盒仅用于科研领域, 不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

名称	R30328-50T	Storage
试剂(A): 亚硝态氮标准(100 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	1 ml	4℃
试剂(B): NR Lysis Buffer	250ml	4℃
试剂(C): NR Assay Buffer	30ml	RT
试剂(D): 硝酸盐缓冲液	35ml	RT
试剂(E): NADH	2 支	-20℃
试剂(F): NR 终止液	30ml	RT 避光
试剂(G): 萘胺显色液	30ml	RT 避光



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: shyyssw@sina.com

使用说明书

1 份

自备材料:

- 1、蒸馏水
- 2、恒温箱或水浴锅、离心管或试管、低温离心机、匀浆器或研钵、分光光度计、比色杯

操作步骤(仅供参考):

1、准备样品:

①植物样品: 取 0.5g 植物组织(根系)清洗干净, 切碎, 置于-20℃冰箱 30min, 按植物组织: NR Lysis Buffer=0.5g: 4ml 的比例, 加入预冷的 NR Lysis Buffer, 冰浴情况下充分匀浆或研磨, 4℃ 4000r/min 离心 15~20min, 留取上清液即为硝酸还原酶粗提液, 4℃ 保存待用。

②血浆、血清和尿液样品: 血浆、血清按照常规方法制备后可以直接用于该试剂盒的测定, -20℃冻存, 用于硝酸还原酶的测定

③高活性样品: 如果样品中含有较高活性的硝酸还原酶, 可以使用 NR Lysis Buffer 进行恰当的稀释。

2、稀释系列亚硝态氮标准并制作标准曲线: 取适量的亚硝态氮标准(100ug/ml), 按亚硝态氮标准(100μg/ml): 蒸馏水=1: 99 的比例混合, 即获得亚硝态氮标准(1ug/ml), 然后按下表进行稀释并加入相关试剂。

按下表进行稀释并加入相关试剂。

加入物(ml)	0	1	2	3	4	5	6
亚硝态氮标准(1 μg/ml)	0	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1
蒸馏水	1	0.9	0.8	0.6	0.4	0.2	0
NR 终止液	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
萘胺显色液	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
亚硝态氮含量(ug)	0	0.1	0.2	0.4	0.6	0.8	1

按上表加入试剂后混匀, 25℃水浴孵育 30min, 以 0 号管为空白调零, 比色杯光径 1.0cm, 以分光光度计测定 520nm 处系列标准管(1~6 号)吸光度, 以 1~6 号亚硝态氮含量(μg)为横坐标, 以对应的吸光度为纵坐标, 绘制亚硝态氮标准曲线。



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: shyyssw@sina.com

3、配制 NADH 工作液：取 1 支 NADH 恢复至室温，完全溶解于 10ml NR Assay Buffer 即得 NADH 工作液;4℃ 预冷备用，-20℃ 保存 1 周有效。注意：NADH 易失效，该试剂盒多送 1 支 NADH 备用。

4、NR 加样：按照下表设置对照管、测定管，溶液应按照顺序依次加入。如果样品中的酶活性过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定,样品的检测最好能设置平行管。

加入物(ml)	对照管	测定管
NR Assay Buffer	0.2	—
待测样品(硝酸还原酶粗提液)	—	0.2
硝酸盐缓冲液	0.6	0.6
NADH 工作液	0.2	0.2
混匀，25℃ 孵育 30min，立即加入 NR 终止液。		
NR 终止液	0.5	0.5
萘胺显色液	0.5	0.5
混匀，显色 30min，4℃ 4000r/min 离心 15min。		

5、NR 测定：离心后取上清液，比色杯光径 1.0cm，对照管调零，分光光度计测定 520nm 处测定管的吸光度。

计算：

以亚硝态氮含量(1~6 号)为横坐标，以对应的吸光度为纵坐标，绘制亚硝态氮标准曲线根据亚硝态氮含量与吸光度关系直接计算回归方程,根据回归方程计算出反应体系中亚硝态氮含量。按公式计算样品中的 NR 活性：

$$NR[ug/(g \cdot h)] = X \times V_1 / (W \times t \times V_2)$$

式中：

X=根据标准曲线计算出酶粗提液中亚硝态氮含量(ug)

V₁=提取酶液时加入的缓冲液体积(ml)=4

W=植物新鲜重量(g)

t=孵育时间(h)=0.5

V₂=加样时加入的提取酶液体积(ml)=0.2