

植物硝酸还原酶(NR)检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PMHA8-C24	硝酸还原酶(NR)试剂盒	24T	常量法
PMHA8-C48		48T	

一、测定意义：

硝酸还原酶广泛存在于植物中，是植物氮素同化的限速酶，可直接调节硝酸盐还原，从而调节氮代谢，并影响到光合碳代谢，其活性水平与植物体内多种代谢过程和生理指标有关。

二、测定原理：

硝酸还原酶催化硝酸盐还原为亚硝酸盐，在酸性条件下，产生的NO²⁻能够参与重氮化反应生成红色偶氮化合物，该物质在波长540 nm 处有吸收峰，测定其吸光度值的变化来计算硝酸还原酶的活性。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(24T)	试剂装量(48T)	保存条件
诱导剂储备液	液体 30 mL×1 瓶	液体 50 mL×1 瓶	2~8℃保存
诱导剂应用液的配制： 用时将诱导剂储备液用蒸馏水稀释10倍，充分混匀。			
提取液	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一	液体 15mL×1 瓶	液体 25mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂二	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	2~8℃保存
试剂二的配制： 每支粉剂加入蒸馏水1mL，充分溶解，-20℃保存。临用前用蒸馏水将试剂二稀释100倍，备用，即取10 μL 试剂二加入 990 μL 蒸馏水混匀。			
试剂三	液体 15mL×1 瓶	液体 25mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂四	液体 15mL×1 瓶	液体 25mL×1 瓶	2~8℃保存
标准品 (10μmol/mL)	液体 1mL×1 支	液体 1mL×1 支	2~8℃保存
标准品的配制： 将标准品用蒸馏水100倍稀释得到0.1μmol/mL标准液，现用现配。			

四、操作步骤：

样本前处理

- 1、取适量**诱导应用液**于烧杯中，将新鲜标本洗净，滤纸吸干，放入诱导液中（淹没即可），避光浸泡 2 h，取出样本，滤纸吸干后，-20℃冷冻 30 min，取出样本，滤纸吸干。
- 2、植物组织提取液的制备：取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，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），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g, 4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。

测定步骤

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 540nm，蒸馏水调零。
- 2、试剂回复至常温；
- 3、操作表（在离心管中加入以下试剂）：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管	空白管
样本 (μL)	100	100	-	-
0.1μmol/mL 标准品(μL)	-	-	100	-
蒸馏水 (μL)	-	400	-	100
试剂一 (μL)	400	-	400	400
试剂二 (μL)	100	100	100	100
混匀后，37℃（哺乳动物）或 25℃（其他物种）水浴 30min				
试剂三 (μL)	200	200	200	200
试剂四 (μL)	200	200	200	200
混匀，25℃室温静置 20min，540nm 下比色，记为 A _{测定} ，A _{对照} ，A _{标准} ，A _{空白} ，计算△A _{测定} =A _{测定} -A _{对照} ，△A _{标准} =A _{标准} -A _{空白} 。每个样本需设置一个对照，标准和空白只需做 1-2 管。				

五、植物样本中硝酸还原酶(NR)活性计算：

1、按样本质量计算：

单位定义：每小时每 g 鲜重样中催化产生 1 μmol NO²⁻的量为一个 NR 活力单位。

计算公式：NR (U/g) = $\Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准}} \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}} \times W)$
 $\div T = 0.2 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$

2、按蛋白浓度计算：

单位定义：每小时每 mg 组织蛋白催化产生 1 μmol NO²⁻的量为一个 NR 活力单位。

计算公式：NR (U/mg Cpr) = $\Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准}} \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times Cpr)$
 $\div T = 0.2 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div Cpr$

$C_{\text{标准}} = 0.1 \mu\text{mol}/\text{mL}$; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.1mL; $V_{\text{提取}}$: 加入提取液体积, 1 mL; T : 反应时间, 30 min=0.5h; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量 g。

六、注意事项：

1、根据需要进行诱导处理，一般不需要诱导处理，预实验结果没有活性则需要进行诱导处理。

2、样本活性比较低的时候，可以适当增加样本的取样量或者增加样本提取浓度。

3、本反应显色 1h 较为稳定，在此时间内比色较好。

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司
地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】**【说明书核准及修改日期】**

核准日期：2025 年 4 月 7 日
修改日期：2025 年 4 月 7 日