

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-M48	硝酸还原酶(NR)试剂盒	48T	微量法
PMHA8-M96		96T	

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 NO_2^- 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（48T）	试剂装量（96T）	保存条件
诱导剂储备液	液体 50 mL×1 瓶	液体 100 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 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2~8℃ 保存
试剂一	液体 6mL×1 瓶	液体 15mL×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℃ 分装冷冻保存。临用前用蒸馏水将试剂二稀释 100 倍，即取 10 μL 试剂二加入 990 μL 蒸馏水充分混匀。			
试剂三	液体 6mL×1 瓶	液体 15mL×1 瓶	2~8℃ 保存
试剂四	液体 6mL×1 瓶	液体 15mL×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
0.1μmol/mL 标准品的配制：将 10μmol/mL 标准品用蒸馏水 100 倍稀释，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、酶标仪预热 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 96 孔板中加入以下试剂）：

试剂名称（μL）	测定管	对照管	标准管	空白管
样本（μL）	25	25	-	-
0.1μmol/mL 标准品（μL）	-	-	25	-
蒸馏水（μL）	-	100	-	25
试剂一（μL）	100	-	100	100
试剂二（μL）	25	25	25	25
混匀后，30℃ 避光孵育 30min				
试剂三（μL）	50	50	50	50
试剂四（μL）	50	50	50	50
混匀，室温静置 20min，540nm 下比色，记为 $A_{\text{测定}}$ ， $A_{\text{对照}}$ ， $A_{\text{标准}}$ ， $A_{\text{空白}}$ ，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。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 μ mol NO² 的量为一个活力单位。

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 μ mol NO² 的量为一个活力单位。

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

$C_{\text{标准}} = 0.1 \mu\text{mol/mL}$ ； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.025mL； $V_{\text{提取}}$ ：加入提取液体积，1 mL； T ：反应时间，30 min=0.5h； C_{pr} ：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，一般情况下是不需要诱导处理，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