

亚硝酸还原酶 (NiR) 检测试剂盒(微量法)

产品货号: BA1462

产品规格: 100管/48样

产品简介:

土壤亚硝酸还原酶 (Solid-Nitrite reductase, S-NiR) 是反硝化作用中的关键酶之一, 它是由土壤反硝化细菌产生的一种还原酶类, 可将 NO_2^- 还原为 NO , 它的活性反映了生物降解过程中氮素的转化效率, 为氮素转化规律的研究提供一定的依据。

亚硝酸还原酶可将 NO_2^- 还原为 NO , 使样本中参与重氮化反应生成紫红色化合物的 NO_2^- 减少, 即540nm处吸光值的变化可反应土壤中亚硝酸还原酶的活性。

注意: 实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成:

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	粉剂×1支	4°C
试剂二	粉剂×1瓶	4°C
试剂三	液体15mL×1瓶	4°C
试剂四	液体15mL×1瓶	4°C
试剂五	液体15mL×1瓶	4°C
标准品	液体1mL×1支	4°C

溶液的配制:

1. 试剂一: 临用前加入1mL蒸馏水充分溶解, 4°C保存2周。临用前根据用量用蒸馏水稀释100倍, 现用现配;
2. 试剂二: 临用前加15mL蒸馏水备用, 4°C保存2周;
3. 试剂三: 此溶液为饱和溶液, 取上清使用即可;
4. 标准品: 10 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 亚硝酸钠标准液。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、低温离心机、水浴锅、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、30-50目筛、研钵、冰和蒸馏水。

操作步骤:

一、样本处理 (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

新鲜土样自然风干或37°C烘箱烘干, 过30-50目筛。

二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上, 调节波长至540nm, 蒸馏水调零。
2. 标准液的稀释: 将10 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 标准液用蒸馏水稀释至0.8、0.6、0.4、0.2、0.1、0.05 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 的标准液。
3. 样本测定:

	无基质管	空白管1	对照管	测定管	标准管	空白管2
风干土样 (g)	-	-	0.05	0.05	-	-
蒸馏水 (μL)	-	100	100	-	-	-
试剂一 (μL)	100	-	-	100	-	-



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

试剂二 (μL)	100	100	100	100	-	-
混匀后, 25°C反应3h						
试剂三 (μL)	100	100	100	100	-	-
充分震荡30s, 10000rpm, 4°C, 离心10min						
上清液 (μL)	100	100	100	100	-	-
标准品 (μL)	-	-	-	-	100	-
试剂四 (μL)	100	100	100	100	100	100
试剂五 (μL)	100	100	100	100	100	100
蒸馏水 (μL)	-	-	-	-	-	100
充分混匀, 室温放置15min后吸取200μL于微量玻璃比色皿或96孔板中测定540nm各管吸光值, 分别记为A无基质管、A空白管1、A对照管、A测定管、A标准管和A空白管2, 计算 $\Delta A_{测定} = (A_{无基质管} - A_{空白管1}) - (A_{测定管} - A_{对照管})$, $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{空白管2}$ (无基质管、空白管1、空白管2只需做1-2次)。						

三、S-NiR计算

1. 标准曲线的绘制:

以标准溶液的浓度为x轴, 以标准溶液对应的 ΔA 为y轴, 绘制标准曲线, 得到标准方程 $y=kx+b$, 将 ΔA 测定带入标准方程得到x ($\mu\text{mol/mL}$)。

2. S-NiR的计算:

酶活单位定义: 每g土样每天还原 $1\mu\text{mol NO}_2^-$ 的量为一个酶活力单位。

$$S\text{-NiR (U/g土样)} = x \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 2.4 \times x \div W$$

T: 反应时间, 3h=1/8d; V反应: 反应体系体积, 0.3mL; W: 土样质量, g。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>