



## QIYBIO 细菌亚硝酸盐还原酶定性检测试剂盒产品说明书

### 主要用途

QIYBIO 细菌亚硝酸盐还原酶定性检测试剂是一种旨在通过底物亚硝酸盐，在亚硝酸盐还原酶的催化作用下，产生氨或一氧化氮，进而使用使用磺胺酸和 N,N-二甲基-1-萘胺，呈现无色反应，来定性分析细菌样品中亚硝酸盐还原酶活性的权威而经典的技术方法。该技术经过精心研制、成功实验证明的。其适用于各种细菌样品中亚硝酸盐还原酶活性的定性检测。产品严格无菌，即到即用，操作简捷，性能稳定，重复性好。

### 技术背景

亚硝酸盐还原酶（nitrite reductase; NiR）是一类催化亚硝酸盐还原为氨或一氧化氮的还原反应的酶，其分成同化型（assimilatory）和异化型（dissimilatory）亚硝酸还原酶，在生物氮循环进行厌氧能量代谢中起着重要作用。同化型酶以铁氧还原蛋白、FAD、非血红素铁、西罗血红素（siroheme）、NAD（P）H 等为电子供体，进行 6 个电子的还原产生氨（ammonification），包括高等植物、绿藻及蓝藻、粗糙脉孢菌（*Neurospora crassa*）、和大肠埃希氏菌（*Escherichia coli*）等。异化型酶参与使用亚硝酸氧化有机物质的过程，包括单电子反应生成 NO 和 6 个电子的还原产生氨。其脱氮作用是细菌或真菌等获得能量、适应环境生存的生理过程。脱氮细菌、真菌或植物的亚硝酸还原酶有二种：铜型和铁型。铜型（CuNiR）含有类似于铜蓝蛋白（azurin）的铜中心部位，铜蓝蛋白为电子供体；铁型（ccNiR）含有同源双体，包括 c 型和 d1 型细胞色素结构域，细胞色素 C 为电子供体。亚硝酸盐在食品工业中用于色素、调味和防止氧化，还用于蔬菜发酵，但是它具有致畸（tetragenic）和致癌作用（carcinogenic），会引起高铁血红蛋白血症（methemoglobinemia）。基于底物亚硝酸盐（nitrite），通过亚硝酸盐还原酶（nitrite reductase; NiR）的催化作用，而还原为氨或一氧化氮，进而使用磺胺酸（sulfanilic acid）和 N,N-二甲基-1-萘胺（N,N dimethyl-1-naphthylamine），呈现无色反应，而对照显示红色，来定性分析亚硝酸盐还原酶的活性。

### 产品内容

QIYBIO 培养液（Reagent A）	100 毫升
QIYBIO 反应液（Reagent B）	10 毫升
QIYBIO 显色液（Reagent C）	10 毫升
产品说明书	1 份

### 保存方式

保存在 4℃ 冰箱里；QIYBIO 显色液（Reagent C）避免光照；QIYBIO 反应液（Reagent B）具有腐蚀性，注意操作安全；有效保证 3 月

### 用户自备

15 毫升锥形离心管：用于样品操作的容器

恒温培养箱：用于细菌培养



## 实验步骤

1. 准备好 2 个 15 毫升锥形离心管，标记为：背景对照和待测样品
2. 分别移取 5 毫升 QIYBIO 培养液（Reagent A）到 15 毫升锥形离心管
3. 接种用户自备的待测细菌样品到待测样品管
4. 放进 35℃ 培养箱孵育 48 小时（注意：少量菌种可以延长孵育至 5 天）
5. 加入 500 微升 QIYBIO 反应液（Reagent B），混匀
6. 加入 500 微升 QIYBIO 显色液（Reagent C），混匀
7. 观察 2 分钟
8. 结果：

背景对照呈现红色，待测样品呈现无色，表明样品中亚硝酸盐还原酶阳性

背景对照呈现红色，待测样品呈现红色，表明样品中亚硝酸盐还原酶阴性

## 注意事项

1. 本产品为 20 次操作
2. *Veillonellae*、*Haemophili*、*Staphylococci*、*Corynebacteria*、*Lactobacilli*、*Flavobacteria*、*Fusobacteria*、*Enterobacteriaceae*、*Neisseria spp.*、*Leuconostoc* 等亚硝酸还原酶阳性
3. 操作时，须戴手套
4. 操作时，严格无菌，避免污染母液
5. QIYBIO 反应液（Reagent B）具有腐蚀性，注意操作安全
6. 样品中避免含有各种还原性化学物质，包括巯基乙醇（2-mercaptoethanol）、二硫苏糖醇（dithiothreitol；DTT）、维生素 C（ascorbic acid）和叠氮化钠（azide）等
7. 与背景对照测定显示红色相比，待测样品呈现无色，表明具有酶活性
8. 本公司提供系列亚硝酸盐还原酶分析试剂产品

## 质量标准

1. 本产品经鉴定性能稳定
2. 本产品经鉴定检测敏感

## 友情提醒

**IF IT DOESN'T WORK, RECHECK YOUR EXPERIMENT TO SEE WHAT YOU DID WRONG.**