

Nitric Oxide (NO) Content Assay Kit

一氧化氮 (NO) 含量测定试剂盒

产品编号	产品名称	规格
BL850B	一氧化氮 (NO) 含量测定试剂盒	96T

产品简介:

一氧化氮 (NO) 广泛分布于生物体内, 分子小, 结构简单, 微溶于水, 具有脂溶性, 可快速透过生物膜扩散, 作为细胞间及细胞内的信息物质, 发挥信号传递的作用, 是一种新型的生物信使分子, 在机体的生理、病理过程中起着重要的作用。由于一氧化氮 (NO) 本身极不稳定, 在细胞内很快代谢为 NO₂⁻ 和 NO₃⁻, 本试剂盒采用硝酸盐还原酶将 NO₃⁻ 还原成 NO₂⁻, 然后与改良的 Griess Reagent 反应生成在 530nm 处有特征吸收峰的可有色物质, 通过测定其吸光值的变化即可计算出待检样本中一氧化氮 (NO) 含量。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	粉末×2 支	-20°C保存	用前甩几下或离心使粉剂落入底部, 分别加 0.31mL 蒸馏水溶解备用。用不完的试剂分装后 -20°C保存, 禁止反复冻融, 三天内用完。
试剂二	液体 1mL×1 支	-20°C保存	若一次性用不完, 可分装保存, 避免反复冻融。
试剂三	液体 260μL×2 支	-20°C保存	若一次性用不完, 可分装保存, 避免反复冻融。
试剂四	粉末×1 支	-20°C保存	临用前甩几下或离心使粉剂落入底部, 再加 2.1mL 蒸馏水溶解。
试剂五	粉末×1 瓶	4°C保存	用前甩几下使试剂落入底部, 再加 6mL 的蒸馏水, 于 70°C水浴约半小时至完全溶解备用。
试剂六	液体 6mL×1 瓶	4°C保存	使用前需超声至完全溶解。
标准品	粉末×1 支	4°C保存	临用前甩几下或离心使粉剂落入底部, 再加 1mL 的蒸馏水溶解, 再用蒸馏水稀释 1000 倍即 0.1μmol/mL, 现配现用。

使用方法:

建议正式实验前, 选取 2 个样本做预测定, 了解实验样品情况, 熟悉流程, 避免样本和试剂浪费。

一、样本准备:

1. 组织样本准备:

- (a) 称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆;
- (b) 8000 g, 4°C离心 10min, 取上清;
- (c) 将上清水浴 (95-100°C) 5min;
- (d) 10000-12000 g 离心 5min 后取上清, 置于冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例进行提取。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



2. 细胞/细胞样本准备:

- 先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；
- 取 5×10^6 个细菌或细胞加入 1mL 提取液；超声波破碎细菌或细胞（冰浴，300W，超声 3s，间隔 7s，总时间 3min）；
- 8000 g，4°C 离心 10min，取上清液沸水（95-100°C）5min 后，于 10000-12000g 再离心 5min 后取上清，上清置冰上待测。

【注】：若增加样本量，按照每 $5 \sim 10 \times 10^6$ 个细菌/细胞数量加入 1mL 提取液进行提取。

3. 液体样本准备:

若浑浊先离心取上清液液体检测，若是液体澄清直接检测即可（尿液样本一般需做几个样本预测定，找出适合本批样本的稀释倍数 D）。

二、样品测定:

1. 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 530nm。

2. 反应 mix 的制备：已完全溶解的试剂五和试剂六按照 1:1 的比例混合（每次可根据检测样本数量现用现配），试剂五和六完全溶解后于 4°C 存放一段时间会有沉淀析出，每次配置反应 mix 前需重新完全溶解。

3. 其余试剂于 37°C 预热 5min。

4. 在 96 孔板中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	标准管(做一次)	空白管(做一次)
样本	60	-	-
标准品	-	60	-
蒸馏水	-	-	60
试剂一	5	5	5
试剂二	10	10	10
试剂三	5	5	5
混匀，37°C 反应 60min			
试剂四	20	20	20
混匀，37°C 反应 60min			
反应 mix	100	100	100
混匀，37°C 避光反应 15min，于 530nm 处读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。			

【注】1. 若 ΔA 在零附近徘徊，可以增加样本取样量（如增加至 0.2g）。若 A 测定大于 1.5，可对样本用蒸馏水稀释，改变后的样本质量 W 和稀释倍数 D 需代入计算公式重新计算。

2. 若加完反应 mix 出现浑浊沉淀（如血清样本），可于 5000g 室温离心 5min 后，取出全部上清液至 1mL 玻璃比色皿中于 530nm 处读取吸光值 A。

三、含量计算

1. 按样本质量计算:

$$\text{NO 含量} (\mu\text{mol/g 鲜重}) = (C_{\text{标准}} \times V_1) \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (V_1 \div V \times W) \times D \\ = 0.1 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W \times D$$

2. 按细胞/细菌数量计算:

$$\text{NO 含量} (\text{nmol}/10^4 \text{ cell}) = (C_{\text{标准}} \times V_1) \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (V_1 \div V \times 500) \times D \times 10^3 \\ = 0.2 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D$$

3. 按液体体积计算:

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



$$\text{NO 含量 } (\mu\text{mol/mL}) = (\text{C 标准} \times \text{V1}) \times \Delta A \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{V1} \times \text{D} \\ = 0.1 \times \Delta A \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times \text{D}$$

$\Delta A = A$ 测定 - A 空白

V---加入提取液体积, 1mL

W---样品质量, g

D---稀释倍数, 未稀释即为 1

C 标准---0.1 $\mu\text{mol/mL}$

V1---反应中样品体积, 0.06mL

500---细胞数量, 百万

注意事项:

- 1、本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品。
- 2、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期:

-20°C保存三个月。

