

# 一氧化氮(NO)(硝酸还原酶法)含量检测试剂盒(微板法)

产品货号: BA3398

产品规格: 96样

## 产品简介:

一氧化氮 (NO) 广泛分布于生物体内, 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硝酸盐和亚硝酸盐, 本试剂盒采用硝酸盐还原酶还原硝酸盐为亚硝酸盐, 然后与改良的Griess Reagent反应生成在530nm处有特征吸收峰的有色物质, 通过测定其吸光值的变化即可计算出待检样本中总一氧化氮 (NO) 含量。

## 产品内容:

产品名称	规格	保存条件	注意事项
提取液	液体100mL×1瓶	2-8°C	
试剂一	粉体2支	-20°C	每支: 1. 开盖前注意使粉体落入底部 (可手动甩一甩); 2. 加入0.31mL蒸馏水溶解备用; 3. 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	粉体1支	-20°C	1. 开盖前注意使粉体落入底部 (可手动甩一甩); 2. 加入1ml蒸馏水, 若一次性用不完, 可分-20°C装保存, 避免反复冻融。
试剂三	液体2支	-20°C, 避光	每支: 1. 第一次开启前务必8000g 4°C离心2min使试剂落入管底再开盖 (避免试剂浪费); 2. 若一次性用不完, 可分装-20°C保存, 避免反复冻融。
试剂四	粉体1瓶	-20°C	1. 开盖前注意使粉体落入底部 (可手动甩一甩); 2. 加入2.1mL蒸馏水溶解。 3. 保存周期与试剂盒有效期相同。
试剂五	液体6mL×1瓶	2-8°C, 避光	1. 临用前, 可依据待检测样本数量, 把试剂五和六按照等比例混合成无色的反应mix (注意观察, 若变粉色, 则不能使用); 2. 两天之内用完。
试剂六	液体6mL×1瓶	2-8°C, 避光	
标准品	粉体1支	2-8°C, 避光	1. 用天平称取6.9mg的标准品至一新EP管中, 再加1mL蒸馏水溶解即100μmol/mL; 2. 再用蒸馏水稀释1000倍即0.1μmol/mL, 现配现用。 3. 溶解后的标品一周内用完。



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

**实验器材:**

研钵（匀浆机）、冰盒（制冰机）、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅（烘箱、培养箱、金属浴）、96孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

**指标测定:**

建议先选取1-3个差异大的样本（例如不同类型或分组）进行预实验，熟悉操作流程，根据预实验结果确定或调整样本浓度，以防造成样本或试剂不必要的浪费！

**1. 样本提取:**
**① 组织样本:**

称取约0.1g组织，加入1mL提取液，进行冰浴匀浆，4°C×8000rpm，离心10min，取上清液沸水（95-100°C）5min后，于12000rpm再离心5min后取上清，上清置冰上待测。

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

**② 细菌/细胞样本:**

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取500万细菌或细胞加入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）；4°C×8000rpm，离心10min，取上清液沸水（95-100°C）5min后，于12000rpm再离心5min后取上清，上清置冰上待测。

**【注】**：若增加样本量，按照细菌/细胞数量（10<sup>4</sup>个）：提取液体积（mL）为500~1000:1比例进行提取。

**③ 液体样本：**若浑浊先离心取澄清上清液液体检测，若是澄清液体直接检测即可（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。

**2. 检测步骤:**

① 酶标仪预热30min以上（等仪器过自检程序亦可），调节波长至530nm。

② 其余试剂于37°C预热5min。在96孔板中依次加入：

试剂组分(μL)	测定管	标准管 (做一次)	空白管 (做一次)
试剂一	5	5	5
试剂二	10	10	10
试剂三	5	5	5
样本	60		
标准品		60	
蒸馏水			60
混匀，37°C反应60min			
试剂四	20	20	20
混匀，37°C反应30min			
反应mix	100	100	100
混匀，37°C避光反应15min，于530nm处读取吸光值A， ΔA=A测定-A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，则改变后的样本质量W和稀释倍数D需代入计算公式重新计算。
  2. 若样本自身为较明显的红色或粉红色，可增设一个样本自身对照管：60μL样本+40μL蒸馏水+100μL的反应mix，混匀，37°C避光反应15min，于530nm处读取吸光值A，ΔA=A测定-A对照。
  3. 若加完反应mix出现浑浊沉淀（如血清样本），可于5000rpm室温离心5min，测定管和标准管和空白管都取出150μL至96孔板中于530nm处读取吸光值A。



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>

**结果计算:**

## 1. 按样本质量计算:

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

## 2. 按蛋白浓度计算:

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

## 3. 按液体体积计算:

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

## 4. 按细胞/细菌数量计算:

$$\text{NO 含量}(\text{nmoL}/10^4 \text{ cell}) = (C \text{ 标准} \times V1) \times \Delta A \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div (V1 \div V \times 500) \times D \times 10^3$$
$$= 0.2 \times \Delta A \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times D$$

C 标准---0.1 $\mu$ mol/mL; V---加入提取液体积, 1mL; V1---反应中样品体积, 0.06mL; W---样品质量, g;  
500---细胞数量, 万; D---稀释倍数, 未稀释即为 1。

Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL, 建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。



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