

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处有特征吸收峰的可色物质,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℃	
试剂一	粉体2支	-20℃	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℃保存,禁止反复冻融,三天内用完。
试剂二	粉体1支	-20℃	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℃装保存,避免反复冻融。
试剂三	液体2支	-20℃, 避光	每支: 1. 第一次开启前务必8000g 4℃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℃保存,避免反复冻融。
试剂四	粉体1瓶	-20℃	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℃, 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℃, 避光	
标准品	粉体1支	2-8℃, 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（ 10^4 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（ μ L）	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， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。			

【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，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：60 μ L 样本+40 μ L 蒸馏水+100 μ L 的反应 mix，混匀，37°C 避光反应 15min，于 530nm 处读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

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 150 μ L 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:

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

2. 按蛋白浓度计算:

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

3. 按液体体积计算:

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

4. 按细胞/细菌数量计算:

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

C 标准---0.1 $\mu\text{mol/mL}$; 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>