

## Total Nitric Oxide (NO) Content Assay Kit

### 总一氧化氮(NO) (硝酸还原酶法) 含量测定试剂盒 分光法

| 产品编号   | 产品名称                           | 规格  |
|--------|--------------------------------|-----|
| BL850A | 总一氧化氮(NO) (硝酸还原酶法) 含量测定试剂盒 分光法 | 48T |

#### 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  $\text{NO}_2^-$  和  $\text{NO}_3^-$ , 本试剂盒采用硝酸盐还原酶将  $\text{NO}_3^-$  还原成  $\text{NO}_2^-$ , 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总一氧化氮 (NO) 含量。

#### 产品组成:

| 试剂名称 | 规格          | 保存要求    | 备注  |
|------|-------------|---------|---|
| 提取液  | 液体 60mL×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 1.5mL 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 ×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 4.2mL 蒸馏水溶解。   |
| 试剂五  | 液体 12mL×1 瓶 | 4°C保存   | 临用前, 根据待测样本数量, 等比例混合试剂五、六成无色混合溶液 (若混合溶液变粉色, 则不能使用), 两天内用完。                              |
| 试剂六  | 液体 12mL×1 瓶 | 4°C保存   |   |
| 标准品  | 粉末 ×1 支     | 4°C保存   | 用天平称取 6.9mg 的标准品至新的离心管中, 再加 1mL 的蒸馏水溶解, 然后用蒸馏水稀释 1000 倍即 0.1 $\mu\text{mol/mL}$ , 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:

- 称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆;
- 8000rpm, 4°C离心 10min, 取上清;
- 将上清水浴 (95-100°C) 5min;
- 12000rpm 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/细菌样本准备:

- 先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；
- 取  $5 \times 10^6$  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）；
- 8000rpm，4°C 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，按照每  $0.5 \sim 1 \times 10^7$  个细菌/细胞加入 1mL 提取液进行提取。

- 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:

- 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 530nm，蒸馏水调零。
- 其余试剂于 37°C 预热 5min。
- 在离心管中依次加入：

| 试剂名称<br>( $\mu\text{L}$ )  | 测定管 | 标准管<br>(做一次) | 空白管<br>(做一次) |
|--|-----|--------------|--------------|
| 试剂一  | 40  | 40           | 40           |
| 试剂二  | 20  | 20           | 20           |
| 试剂三  | 10  | 10           | 10           |
| 样本   | 120 | -            | -            |
| 标准品  | -   | 120          | -            |
| 蒸馏水  | -   | -            | 120          |
| 混匀，37°C 反应 60min   |     |              |              |
| 试剂四  | 80  | 80           | 80           |
| 混匀，37°C 反应 60min   |     |              |              |
| 反应 mix   | 400 | 400          | 400          |
| 混匀，37°C 避光反应 15min，全部上清液转移至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，于 530nm 处读取吸光值 A。 |     |              |              |

- 【注】1. 若  $\Delta A$  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。
- 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:

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

### 2、按细胞/细菌数量计算:

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

### 3、按液体体积计算:

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

$\Delta A = A \text{ 测定} - A \text{ 空白}$

C 标准 --- 0.1  $\mu\text{mol}/\text{mL}$

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。





V---加入提取液体积, 1mL  
W---样品质量, g

V1---反应中样品体积, 0.12mL  
D---稀释倍数, 未稀释即为 1

**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。

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。

电话: 400-600-4213

邮箱: techserv@labgic.com

