

一氧化氮(NO)(硝酸还原酶法)含量检测试剂盒(分光法)

产品货号：BA3397

产品规格：48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60mL×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1.5mL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4.2mL蒸馏水溶解。 3. 保存周期与试剂盒有效期相同。
试剂五	液体12mL×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12mL×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）、1ml比色皿、离心管、分光光度计、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(10⁴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 分光光度计预热30min以上（等仪器过自检程序亦可），调节波长至530nm，蒸馏水调零。

② 其余试剂于37°C预热5min。在EP管中依次加入：

试剂组分(μL)	测定管	标准管 (做一次)	空白管 (做一次)
试剂一	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30min			
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，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：120μL样本+150μL蒸馏水+400μL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，测定管和空白管都取出全部上清液至1mL玻璃比色皿中于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:

- 按样本质量计算:

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

- 按蛋白浓度计算:

$$\text{NO 含量}(\mu\text{mol/mg Prot}) = (\text{C 标准} \times V_1) \times \Delta A \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div (V_1 \div V \times C_{pr}) \times D \\ = 0.1 \times \Delta A \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div C_{pr} \times D$$

- 按液体体积计算:

$$\text{NO 含量}(\mu\text{mol/mL}) = (\text{C 标准} \times V_1) \times \Delta A \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div V_1 \times D \\ = 0.1 \times \Delta A \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times D$$

- 按细胞/细菌数量计算:

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

C 标准---0.1 μ mol/mL; V---加入提取液体积, 1mL; V1---反应中样品体积, 0.12mL; W---样品质量, g;
500---细胞数量, 万; D---稀释倍数, 未稀释即为 1。

C_{pr}---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>