



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyyssw@sina.com

一氧化氮(NO) (硝酸还原酶法) 含量检测试剂盒 分光法

货号: R33082

规格: 48T

保存温度: -20℃, 避光保存。

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℃保存	
试剂一	粉末 ×2 支	-20℃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℃保存, 禁止反复冻融, 三天内用完。
试剂二	液体 1mL×1 支	-20℃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℃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℃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℃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℃保存	
标准品	粉末 ×1 支	4℃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 0.1μmol/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:

- 取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆;
- 8000rpm, 4℃ 离心 10min, 取上清水浴 (95-100℃) 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。

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 5×10^6 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℃ 离心 10min, 取上清液沸水 (95-100℃) 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。

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

- 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℃ 预热 5min。
- 在离心管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	标准管 (做一次)	空白管 (做一次)
试剂一	40	40	40
试剂二	20	20	20



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyyssw@sina.com

试剂三	10	10	10
样本	120	-	-
标准品	-	120	-
蒸馏水	-	-	120
混匀, 37℃反应 60min			
试剂四	80	80	80
混匀, 37℃反应 60min			
反应 mix	400	400	400
混匀, 37℃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 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: 120 μ L 样本+150 μ L 蒸馏水+400 μ L 的反应 mix, 混匀, 37℃避光反应 15min, 于 530nm 处读取吸光值 A, $\Delta A=A$ 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 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:

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

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



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

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

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。

