

(本试剂盒仅供体外研究使用,不用于临床诊断!)

# 一氧化氮测定试剂盒 Nitric Oxide (NO) Assay Kit

产品货号: BC00011

产品规格: 500T

#### 使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题,请通过以下方式联系我们:

☑邮箱(技术支持) tech@enkilife.cn

**3**公司电话 027-87002838

**一网址** www.enkilife.cn

订阅微信公众号 获取更多技术 信息及前沿动态

保质期: 请见试剂盒外包装标签。

技术支持: 为了更好地给您提供服务, 联系时请告知产品外包装标签上批号。

### 基本信息

产品中文名称	一氧化氮测定试剂盒		
产品英文名称	Nitric Oxide (NO) Assay Kit		
检测方法	Colorimetric		
样品类型	血清、血浆、尿液、组织、细胞		
检测类型	Quantitative		
检测仪器及波长	酶标仪 (520-560 nm,最佳检测波长 540 nm)		
检测范围	1-100μΜ		
灵敏度	1.1053μM		

### 产品简介

一氧化氮 (Nitric Oxide, NO) 广泛分布于生物体内,包括神经、循环、呼吸、消化、泌尿生殖等系统中,尤其是神经组织中较为丰富。它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。

# 产品特点

- ★ 本试剂盒采用了经典的 Griess Reagent,并对其测定的溶液体系进行了优化,使检测下限达到 1μM,在 1-100μM 范围内有非常完美的线性关系。
- ★ 检测速度极快,完成一条标准曲线或 5-10 个样品的测定只需 3 分钟。
- ★ 样品范围广,可以检测细胞或组织及其培养液中的一氧化氮的含量,酚红和 10%血清均 对测定无明显干扰,也可以检测血清、血浆和尿液中一氧化氮的含量。

## 检测原理

一氧化氮 (NO) 是一种极不稳定的生物自由基,在体内或水溶液中可以迅速被氧化生成亚 硝酸盐(NO<sub>2-</sub>)和硝酸盐(NO<sub>3-</sub>)。在酸性条件下,亚硝酸盐先和对氨基苯磺酸(sulfanilamide)

反应生成重氮盐, 然后再和 N-(1-萘基)-乙二胺二盐酸盐 (NED) 反应生成一种紫红色的偶氮化合物。生成偶氮化合物的浓度与 NO 的浓度具有线性关系,通过比色可以间接计算 NO的浓度。

### 产品组分

编号	产品名称	包装规格 (500T)	保存方式
试剂一	1M NaNO₂标准品	1ml	-20℃,避光保存。
试剂二	Griess Reagent I	25ml	-20℃,避光保存。
试剂三	Griess Reagent II	25ml	-20℃,避光保存。
耗材一	96 孔酶标板	5 板	RT
耗材二	96 孔覆膜	10 张	RT

### 保存条件

未拆封的试剂盒可在 -20℃保存 12 个月。

开瓶后-20°C 避光保存,一年有效; 4°C 避光保存, 半年有效。

# 实验前准备

#### • 样品处理

- 1. 样品为培养液上清,可以直接取样,如果有可沉淀物则需离心后取上清。
- 2. 如样品为细胞或组织,可以快速冻融裂解,然后离心沉淀取上清,体积不足 50μl 可以用重蒸水或 0.9% NaCl 稀释(相应地标准品也需用重蒸水或 0.9% NaCl 稀释)。
- 3. 细胞或组织也可以用于 Western 或 IP 的裂解液(无需添加抑制剂)裂解,同样标准品也需相应稀释。不建议使用 RIPA 裂解液。

#### • 试剂盒的准备工作

- 1. 取出 Griess Reagent I 和 II, 使恢复室温。
- 2. 用待测样品所用溶液稀释标准品(0-100μM)。

例如样品为细胞培养液上清,细胞培养液为 DMEM + 10%FBS,则用 DMEM + 10%FBS 稀释标准品。通常标准品的浓度可使用对半稀释法配置 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.12, 1.56, 0μM。

示例:配置  $120\mu$ l 浓度  $100\mu$ M 的标准品,取  $60\mu$ l 并加入  $60\mu$ l 的稀释液即可配置  $120\mu$ l 浓度  $50\mu$ M 的标准品,依此类推。 $0\mu$ M 的标准品即为纯稀释液。

### 操作流程

- 1. 按 50μl /孔,在 96 孔板中加入标准品及样品。
- 2. 按 50μl /孔,在各孔中加入室温 Griess Reagent I。
- 3. 按 50μl /孔,各孔中加入室温 Griess Reagent II。
- 4. 酶标仪 540nm 测定吸光度。

#### 操作表如下(可供参考):

	标准孔	测定孔		
不同浓度的标准品(µL)	50			
待测样本(μL)		50		
Griess Reagent I(μL)	50	50		
Griess Reagent II(μL)	50	50		
酶标仪 540 nm,测定各孔 OD 值。				

注: 如无 540nm 滤光片, 520-560nm 的滤光片也可。

## 结果计算

根据标准品曲线计算出样品中一氧化氮的浓度。标准曲线示例参见下图(展示了本试剂盒检测不同浓度 NaNO<sub>2</sub> 标准品的 A560 读数),供参考。实际测定时,由于反应条件、试剂盒

### 注意事项

- 1. 本产品对人体有害,操作时请小心,并注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。
- 2. 如保存不当导致溶液变色或沉淀,则说明该溶液已经失效,请购买新的试剂盒。
- 3. 不建议使用 RIPA 裂解液对细胞或者组织进行裂解, 使用 RIPA 裂解液可能在后续反应中产生沉淀, 影响测试。
- 4. 对于血清样品中 NO 含量的测定,粗略地计算,可以直接用水稀释标准品,从而计算出血清样品中 NO 的浓度。比较精确地计算,如果测定的正常血清是常见血清可以从文献上查到其中 NO 的浓度,然后用该已知 NO 浓度的血清稀释标准品,这样就可以得到比较精确的 NO 浓度。或者使用已知浓度的人或其它动物的血清稀释标准品也同样可以达到目的。或者参照类似文献进行血清中 NO 浓度的测定。
- 5. 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, 不得存放于普通住宅内。