

一氧化氮(NO)检测试剂盒(磺胺微板法)

产品编号: **MA1500**

规格: **500T**

产品组成和保存/运输条件

产品组成	MA1500-1 500T	保存条件	有效期	运输条件
NO ₂ ⁻ 标准(1M)	1mL	2-8℃, 避光	自生产之日起 6 个月	湿冰运输 (按季节)
Griess Reagent I	25mL			
Griess Reagent II	25mL			
说明书	1 份			

产品简介

一氧化氮 (Nitric Oxide, NO) 是水溶性和脂溶性的气体分子, 在体内或水溶液中极易氧化生成 NO₂⁻, 广泛分布于生物体内神经、循环、呼吸、消化、泌尿生殖等系统中, 特别是神经组织中较丰富。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。

一氧化氮(NO)检测试剂盒(磺胺微板法)(NO Content Assay Kit), 其原理是 NO 在体内形成的 NO₂⁻与 Griess Reagent 试剂反应, 产生的红色耦合物在 520~560nm 处有特征吸收峰, 测定其吸光值, 可以间接计算 NO 含量。本产品检测灵敏度高, 下限可达 1μM。本产品可用于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, 也可用于检测血清、血浆和尿液中一氧化氮的含量。

自备材料

1. 酶标仪、96 孔板或酶标板、涡旋混匀仪、微量移液器、离心机、离心管
2. 稀释液: 双蒸水或去离子水、生理盐水(0.9%NaCl)或 PBS(0.01M, pH7.4)、培养基等

使用方法

1. 样品准备:

① 细胞/组织样本:

- a. 取适量细胞或组织, 快速冻融裂解, 或使用 Western 及 IP 细胞裂解液裂解。
- b. 10000×g, 4℃离心 10min, 取上清, 置于冰上待测, 体积不足 50μL, 加入双蒸水或 0.9% NaCl 稀释 (相应的标准品也需用双蒸水或 0.9% NaCl 稀释)。

② 液体样本:

若浑浊, 先离心取上清液体检测; 若是澄清液体, 直接检测即可。

2. 酶标仪开机预热 30min 以上, 调节波长至 540nm。如无 540nm 滤光片, 520-560nm 的滤光片也可。

3. 取出 Griess Reagent I、Griess Reagent II 试剂, 恢复至室温。



4. 配制 NO₂⁻标准(100μM)及系列 NO₂⁻标准:

① 先取 10μL NO₂⁻标准(1M), 加入到含有 990μL 双蒸水的离心管中, 充分混匀, 即成 NO₂⁻标准(10mM)。

② 再取 10μL NO₂⁻标准(10mM), 加入到另一含 990μL 双蒸水的离心管中, 即成 NO₂⁻标准(100μM)。

③ 用待测样品所用溶液 (如待测样品为细胞培养液(DMEM + 10%FBS)上清, 则用 DMEM + 10%FBS 稀释标准品) 按下表稀释, 配制系列 NO₂⁻标准溶液:

管号(加入量μL)	NO ₂ ⁻ 标准(100μM)	稀释液	NO ₂ ⁻ 含量(μM)
1	2	198	1
2	4	196	2
3	10	190	5
4	20	180	10
5	40	160	20
6	80	120	40
7	120	80	60
8	200	0	100

5. 按照下表在 96 孔板中依次加入并进行吸光度测定:

加入物(μL)	空白管	标准管	测定管
稀释液	50		
系列 NO ₂ ⁻ 标准		50	
样本提取液			50
Griess Reagent I	50	50	50
Griess Reagent II	50	50	50

混匀, 室温反应 10min, 立即于 540nm 处分别读取吸光值 A。

6. 计算:

以系列 NO₂⁻标准浓度(1、2、5、10、20、40、60、100μM)为横坐标, 对应吸光度为纵坐标, 绘制标准曲线; 将吸光度测定值代入方程, 即可求得待测样品中一氧化氮 NO 的浓度。

注意事项

1. 正式测定之前建议选择 2~3 个预期差异较大的样本做预实验。
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。推荐使用 Western 及 IP 细胞裂解液裂解。
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. 试剂开封后请尽快使用, 以防影响后续实验效果。
6. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
7. 本产品仅限科研实验使用, 禁止用于临床、食品、化妆品等非科研场景。

S260801

