

## Nitric Oxide Assay Kit

### 一氧化氮检测试剂盒

产品编号	产品名称	规格
BL1204A	一氧化氮检测试剂盒	500T
BL1204B	一氧化氮检测试剂盒	2500T

#### 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。

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 1 $\mu$ M, 在 1-100 $\mu$ M 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。

#### 产品组成:

编号	产品名称	规格	
		BL1204A	BL1204B
1	1M NaNO <sub>2</sub>	1mL	1mL
2	Griess Reagent I	25mL	125mL
3	Griess Reagent II	25mL	125mL

#### 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. 细胞/组织样本:

- 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 (无需添加抑制剂) 裂解;
- 8000 g, 4°C 离心 10min, 取上清, 置于冰上待测, 体积不足 50 $\mu$ L, 加入重蒸水或 0.9% NaCl 稀释 (相应地标准品也需用重蒸水或 0.9% NaCl 稀释)。

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。

##### 二、样品测定:

- 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 540nm。如无 540nm 滤光片, 520-560nm 的滤光片也可。
- 取出 Griess Reagent I、Griess Reagent II 试剂, 恢复至室温。
- 在 96 孔板中依次加入:

试剂名称 ( $\mu$ L)	测定管	标准管
样本	50	-
标准品工作液	-	50
Griess Reagent I	50	50
Griess Reagent II	50	50

混匀, 室温反应 10min, 立即于 540nm 处分别读取吸光值 A。

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。



### 三、标准曲线制作:

#### 1. 标准品工作液配制:

- 取 10 $\mu$ L 标准品 (1M), 加入到含有 990 $\mu$ L 稀释液的离心管中, 充分混匀, 此时标记混合液体为 A, 浓度 10mM;
- 取 A 液 10 $\mu$ L, 加入到另一含有 990 $\mu$ L 稀释液的离心管中, 此时标记混合液体为 B, 浓度 100 $\mu$ M;
- 用稀释液再将 B 液稀释成不同浓度梯度的标准品工作液: 0, 1, 2, 5, 10, 20, 40, 60, 100 $\mu$ M (浓度梯度可以自行设置)。

**注: 用待测样品所用溶液稀释标准品(1-100 $\mu$ M): 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。**

- 按照样品测定的加样顺序操作, 绘制标准曲线, 根据标准品曲线计算出样品中一氧化氮的浓度。标准曲线示例参见图 1, 供参考。实际测定时, 由于反应条件、试剂盒批次的不同等因素, 会导致检测结果与示例数据存在一定差异。

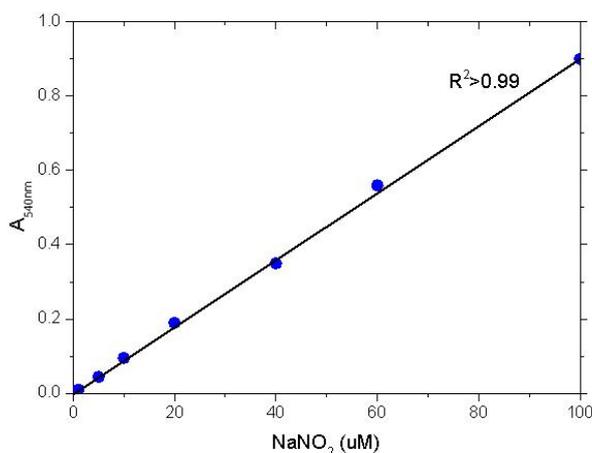


图 1. 一氧化氮含量标准曲线示意图

#### 注意事项:

- 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。
- 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。
- 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。
- 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。
- 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。
- 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 $^{\circ}$ C 避光保存, 一年有效。4 $^{\circ}$ C 避光保存, 半年有效。

