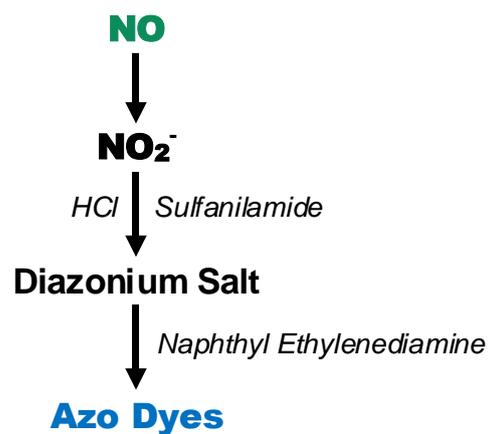




一氧化氮 (NO) 含量检测试剂盒  
Nitric Oxide (NO) Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司  
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



## 一氧化氮 (NO) 含量检测试剂盒

### Nitric Oxide (NO) Content Assay Kit

#### 一、产品描述

一氧化氮广泛分布于生物体内各组织中，是一种强活性的自由基气体，可作为易扩散且具有生物活性的新型递质和信息传递分子，在细胞间及细胞内发挥信号传递的作用，参与和调控多种生理过程，在机体的生理、病理过程中起着重要的作用。

NO 极易氧化生成  $\text{NO}^2$ ， $\text{NO}^2$  在酸性条件下与重氮盐磺胺生成重氮化合物，进一步与萘基乙烯基二胺偶合，产物在 550 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值的变化即可定量检测 NO 的含量。

#### 二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 100 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 6 mL×1 瓶	4°C 避光保存	若出现沉淀析出属于正常现象 (恢复至室温后充分振荡溶解后使用)
试剂二	液体 6 mL×1 瓶	4°C 避光保存	若出现沉淀析出属于正常现象 (恢复至室温后 60°C 水浴溶解后使用)

#### 三、产品使用说明

**测定过程中所需要的仪器和试剂：**可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

##### 1. 一氧化氮 (NO) 的提取（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：按照组织质量 (g)：提取液体积 (mL) 为 1：(5-10) 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4°C 10000 g 离心 15 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量 ( $10^4$  个)：提取液体积 (mL) 为 (500-1000)：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4°C 10000 g 离心 15 min，取上清置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

## 2.测定步骤

①分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 550 nm，蒸馏水调零。

②在 96 孔板或离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 ( $\mu\text{L}$ )	空白组 ( $\mu\text{L}$ )
待测样本	100	-
提取液	-	100
试剂一	50	50
试剂二	50	50
充分混匀，室温静置 15 min		

**吸光值测定：**测定 550 nm 处吸光值，记为 A 测定和 A 空白，计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。注：空白组只需测定 1-2 次。

## 3.一氧化氮 (NO) 含量计算

### 3.1 使用 96 孔板测定的计算公式 (标准曲线 $y=0.0081x-0.0112$ $R^2=0.999$ )

①按组织样本质量计算

$$\text{NO 含量 } (\mu\text{mol/g}) = \frac{(\Delta A + 0.0112) \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^{-3}}{0.0081 \times W \times V_{\text{样}}} = \frac{0.247 \times (\Delta A + 0.0112)}{W}$$

②按组织蛋白浓度计算

$$\text{NO 含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = \frac{(\Delta A + 0.0112) \times V_{\text{反总}} \times 10^{-3}}{0.0081 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}}} = \frac{0.247 \times (\Delta A + 0.0112)}{\text{Cpr}}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$\text{NO 含量 } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = \frac{(\Delta A + 0.0112) \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^{-3}}{0.0081 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}}} = \frac{0.247 \times (\Delta A + 0.0112)}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

$$\text{NO 含量 } (\mu\text{mol/mL}) = \frac{(\Delta A + 0.0112) \times V_{\text{反总}} \times 10^{-3}}{0.0081 \times V_{\text{样}}} = 0.247 \times (\Delta A + 0.0112)$$

**注释：** V 反总：反应体系总体积：0.2 mL； V 样：反应体系中加入待测样本的体积：0.1 mL； V 样总：待测样本总体积：1 mL； W：样本质量，g； Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL； 细菌或细胞数量：以万计。

### 3.2 使用微量玻璃比色皿测定的计算公式 (标准曲线 $y=0.0162x-0.0112$ $R^2=0.999$ )

①按组织样本质量计算

$$\text{NO 含量 } (\mu\text{mol/g}) = \frac{(\Delta A+0.0112) \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^{-3}}{0.0162 \times W \times V_{\text{样}}} = \frac{0.123 \times (\Delta A+0.0112)}{W}$$

②按组织蛋白浓度计算

$$\text{NO 含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = \frac{(\Delta A+0.0112) \times V_{\text{反总}} \times 10^{-3}}{0.0162 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}}} = \frac{0.123 \times (\Delta A+0.0112)}{\text{Cpr}}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$\text{NO 含量 } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = \frac{(\Delta A+0.0112) \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^{-3}}{0.0162 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}}} = \frac{0.123 \times (\Delta A+0.0112)}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

$$\text{NO 含量 } (\mu\text{mol/mL}) = \frac{(\Delta A+0.0112) \times V_{\text{反总}} \times 10^{-3}}{0.0162 \times V_{\text{样}}} = 0.123 \times (\Delta A+0.0112)$$

**注释:** V 反总: 反应体系总体积: 0.2 mL; V 样: 反应体系中加入待测样本的体积: 0.1 mL; V 样总: 待测样本总体积: 1 mL; W: 样本质量, g; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; 细菌或细胞数量: 以万计。

#### 四、注意事项

①若 A 测定大于 1.2, 建议将待测样本适当稀释后再进行测定; 若 A 测定小于 0.05, 建议适当增加样本量后再进行测定, 计算时相应修改;

②为保证结果准确且避免试剂损失, 测定前请仔细阅读说明书 (以实际收到说明书内容为准), 确认试剂储存和准备是否充分, 操作步骤是否清楚, 且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定, 过程中问题请您及时与工作人员联系。

**For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.**

**boxbio**

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.  
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

