



Nitric Oxide Detection Kit

一氧化氮 (NO) 检测试剂盒

版本号: V260401

货号: H001
 保存: -20°C, 避光
 运输: 低温

货号	规格
H001-01	500 T
H001-05	2500 T

【产品概述】

一氧化氮 (Nitric Oxide, NO) 是一种活性气体分子, 在机体多种关键生理功能中发挥重要调节作用。它由一氧化氮合酶 (NOS) 催化精氨酸氧化生成, 参与宿主防御、发育调控、蛋白活化修饰以及与功能生物分子之间的直接共价相互作用。由于一氧化氮生成后迅速代谢为亚硝酸盐 (Nitrite) 和硝酸盐 (Nitrate) ——这两种稳定、非挥发性的主要终产物, 因此通过测定亚硝酸盐和硝酸盐的含量, 可以间接反映样本中一氧化氮的水平。

本产品基于经典的 Griess 试剂法, 专门用于亚硝酸盐的定量检测。以亚硝酸钠为标准品, 在优化后的检测体系中, 检测下限可达 1 μM , 且在 1-100 μM 浓度范围内呈现优异的线性关系。该试剂盒不仅适用于细胞、组织或培养液中的一氧化氮含量检测, 也可用于血清、血浆或尿液等生物样本中一氧化氮水平的测定。

【产品特点】

1. 线性关系良好: 检测下限达到 1 μM , 在 1-100 μM 范围内有非常完美的线性关系。
2. 样品范围广, 兼容性强: 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。
3. 操作简单, 使用灵活, 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 min。

【产品组分】

组分货号	组分名称	H001-01	H001-05
ZH001-101	Griess Reagent I	25 ml	125 ml
ZH001-102	Griess Reagent II	25 ml	125 ml
ZH001-103	1M NaNO ₂	1 ml	1 ml

【保存条件】

-20°C 避光保存, 保质期 12 个月, 4°C 避光保存, 推荐 6 个月内使用。

【操作步骤】

一、准备步骤:

需要设备: 96 孔酶标仪或可见分光光度计, 最佳波长 540 nm, 或在 520-560 nm 下测定, 灵敏度可能会降低

1. 实验前将试剂从冰箱取出平衡至室温。
2. 标准品准备: 每次测量均新做标准曲线, **用待测样品所用溶液来稀释标准品**, 使得浓度在 1-100 μM 内。比如: 当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。标准品的浓度通常可取 0, 1, 2, 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100 μM 。
3. 样品准备:
 - 1) 当样品为培养液上清, 可直接取样。如果存在沉淀物, 则需离心后取上清;
 - 2) 当样品为组织或细胞, 可快速冻融裂解, 然后离心沉淀取上清, 体积不足 50 μl , 可用双蒸水、超纯水或 0.9% NaCl 稀释 (**相应的标准品也需用双蒸水、超纯水或 0.9% NaCl 稀释**)。
 - 3) 细胞或组织也可用免疫印迹及免疫沉淀用裂解液 (不含蛋白酶/磷酸酶抑制剂) 来裂解, 同样的, **标准品需用裂解液稀释**。(不建议使用 RIPA 裂解液)



二、测定步骤:

1. 取 50 μl 标准品或样品, 加入 96 孔板内, 做好标记;
2. 每孔加入提前平衡至室温的 50 μl Griess reagent I;
3. 每孔加入提前平衡至室温的 50 μl Griess reagent II;
4. 在 540 nm 测定吸光度。(如无 540 nm 滤光片, 520-560 nm 的滤光片也可。如无酶标仪或合适的滤光片, 也可以通过目测比色, 确定样品中一氧化氮的浓度。目测比色时标准品需要更为精细的浓度梯度。)
5. 以标准品浓度为横坐标, 吸光度 OD 值为纵坐标绘制标准曲线, 获得横纵坐标之间的函数关系式。之后将样品 OD 值代入公式来计算一氧化氮浓度。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。

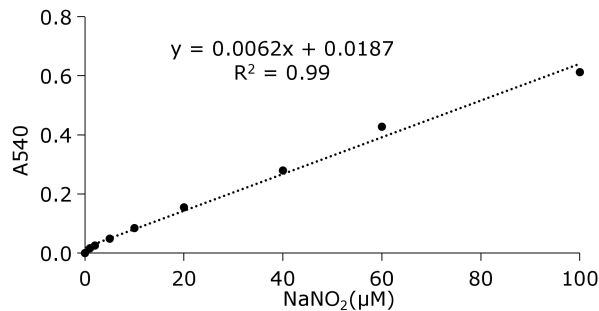


图 1. 一氧化氮 (NO) 检测试剂盒的参考标准曲线

【补充说明】

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. 本试剂盒内的组分若保存不当发生颜色变化或沉淀, 说明溶液已经失效, 请勿再用。
3. 当检测细胞或组织一氧化氮含量, 不建议使用 RIPA 裂解液, 因其可能在后续实验中产生沉淀, 影响测试。建议使用免疫印迹及免疫沉淀用裂解液 (不含蛋白酶/磷酸酶抑制剂)。
4. 本试剂盒仅测定的是亚硝酸盐含量, 不能检测硝酸盐, 反映的并非总一氧化氮含量, 只能在很大程度上反映一氧化氮的相对量, 适合不需要精确定量的实验。
5. 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较精确的 NO 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准确的 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。
6. 样品中存在的一些内在成分可能会干扰测定, 导致 OD 值和灵敏度降低。干扰程度依次顺序: 尿液 > 血清 > 血浆 > 培养基。
7. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时, 本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。在所有情况下, 本公司对此产品所承担的责任, 仅限于此产品的价值本身。