

一氧化氮检测试剂盒产品说明书

货号：JX30

描述：一氧化氮(Nitric oxide, NO)是一种重要的气体信号分子和效应分子，可以作为第二信使参与许多生物效应和生理病理过程。体内 NO 含量低，半衰期短，且易被氧化。Griess 反应一直是最经典的生物样品 NO 测定方法，反应产物的光密度 OD 值与 NO 浓度呈线性关系。本试剂盒基于 Griess 反应原理，采用优化的反应条件和比色法测量液体样品 NO 的浓度。方法简单，线性范围 **2.5~800μM**。按照每 150 μl 反应体系含 50 μl 样品推算，相当于样品的检测灵敏度约为 300 pmol/50 μl。

参考文献：

1. Bredt, D.S. and Snyder, S.H. (1994) Nitric oxide: a physiologic molecule. *Ann. Rev. Biochem.* 63, 175
2. Griess, P. (1879) *Chem. Ber.* 12, 426.

适用：

液体生物样品如血液、尿、培养基中 NO 的检测。

组成：(500 次)

- | | |
|--------------------------|---------------------|
| 1. NaNO ₂ 标准品 | 0.5 ml (100 mmol/L) |
| 2. Griess R1 | 25 ml |
| 3. Griess R2 | 25 ml |

储存：4°C 避光保存 6 个月有效

所需设备

96 孔酶标板，可见光分光光度计，最佳波长 540nm，也可选用 490-550 nm 进行测定，但灵敏度略降。

准备步骤：

测定前取出试剂升温到室温。

标准品稀释：每次测量均新做标准曲线，用与样品相似的液体稀释标准品。

- 取 100 mmol/L NaNO₂ 标准品 8μl，加到 992μl 蒸馏水中，得到 1000μl 之 800 μM 管。
- 从 800 μM 管取 200μl 加入 200μl 蒸馏水得 400μM 管，然后依次取样用蒸馏水倍比稀释，得到 200、100、50、25、12.5、6.25、3.13、1.57 μM 管。
最后设置不加标准品的 0 浓度管。
- 从以上各管各取 50 μl 加入酶标板。
- 等待后续加入样品，以及加入 Griess 试剂后，一起反应并测量。

样品测量：

- 取 50 μl 标准品或样品，加入 96 孔板中。
- 每孔加入 50 μl Griess R1
- 优化步骤：室温避光放置 5 分钟。此步骤可进一步提高灵敏度。但 NO 浓度较高时可省略。
- 每孔加入 50 μl Griess R2。
- 室温避光放置 5 分钟。
- 540 nm (490-550 nm 均可) 测定吸光度。应在 30 min 内测完，以免退色降低灵敏度。
- 制备标准曲线：以吸光度 OD 值为 x 轴，标准品浓度为 y 轴，用 Excel 做图并得到标准曲线公式。
- 将样品 OD 值代入公式计算 NO 浓度。

说明：

- 在 30 min 内测完，以免退色而降低灵敏度。
- 快速测定：如果样品 NO 浓度较高，则可将 Griess R1 和 R2 预先 1:1 等体积混合后，各取 100 μl 混合试剂与 50 μl 样品反应测定。
- 样品所赖以存在的液体的内在成分会干扰测定，降低 OD 值和灵敏度。干扰程度：尿液>血清>血浆>培养基>蒸馏水。
- 每次测量必须新做标准曲线，尽量用与样品相同的液体稀释标准品。
- 细胞培养基中酚红的红色颜色不影响测定。

官方网址：www.genesion.com.cn

公司邮箱：GenXion@vip.qq.com

订货热线：4006-169-114、020-84224925

