一氧化氮(Nitric oxide,NO)含量试剂盒-微板法

本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断

使用说明书

货号：JL-T2423　　**有 效 期：**6 个月

规格：48T(41S)/96T(89S)　　**保存温度：**2-8℃

实验原理：

NO 在体内或水溶液中极易氧化生成 NO2-，与显色剂生成淡红色偶氮化合物，生成偶氮化合物的浓度与 NO 的浓度具有线性关系，通过比色可以间接计算 NO 的浓度。本试剂盒检测组织和细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法（货号：JL-T0336）。

检测范围：1-100μmol/L　　灵敏度：1μmol/L

注意事项：

1. 不能使用过期产品，不同货号和批号组分不得混用。
2. 本试剂开封后请尽快使用，以免空气、采样污染引起试剂变质。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。
5. 试剂严格按保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。试剂盒中如有提供粉剂，使用前请甩几下，使粉剂落入底部。

产品组成：

试剂名称	规格（48T/41S）	规格（96T/89S）	保存条件
提取液	50mL×1 瓶	100mL×1 瓶	2-8℃
试剂一	3mL×1 瓶	6mL×1 瓶	2-8℃，避光
试剂二	3mL×1 瓶	6mL×1 瓶	2-8℃，避光
标准品	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃

所需仪器耗材及试剂：

离心机、酶标仪、可调式移液器、蒸馏水、恒温箱。

样本处理及要求：

1. **试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**，建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：1-100μmol/L，如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩，样本的稀释液为蒸馏水。

2. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议做预实验验证其检测有效性。

3. **细菌、细胞样本**：细菌或培养细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；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 1mL 提取液），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 300W，超声 3s，间隔 7s，总时间 3min）；10000 g 4℃离心 15min，取上清，置冰上待测。

4. **组织样本：**按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液），进行冰浴匀浆。10000 g 4℃离心 15min，取上清，置冰上待测。

5. **血清（浆）等液体样本**：10000 g 4℃离心 15min 后取上清测定。

检测前准备工作：

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温。

2. 试剂一：临用前若有析出结晶，震荡溶解后使用。

3. 试剂二：临用时若有析出结晶，60℃加热震荡 15min 溶解，冷却后使用。

4. **标准品溶液的配制**：临用前取一瓶标准品加入 10mL 蒸馏水配制为 10μmol/mL 的标准品母液，取一新 EP 管加入 100μL 标准品母液，再加入 900μL 蒸馏水，即 1000μmol/L 的标准品溶液。把标准品母液用蒸馏水稀释成以下浓度梯度的标准品：0μmol/L、10μmol/L、20μmol/L、40μmol/L、60μmol/L、80μmol/L、100μmol/L。（注：配制目标浓度的标准品工作液时，每次请根据表格从标准品母液中取对应的体积与相应稀释液混合均匀后使用。）

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦
标准品浓度 (μmol/L)	0	10	20	40	60	80	100
1000μmol/L 标准品 (μL)	0	10	20	40	60	80	100
蒸馏水(μL)	1000	990	980	960	940	920	900

也可根据实际样本来调整标准品浓度。按照标准孔加样体系操作，依据结果即可制作标准曲线；本说明书中的标曲是用蒸馏水稀释得出，若选取其他稀释液可选择重做标曲。

操作步骤：

1. **酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 550nm。**

2. **样本测定（在 96 板孔中依次加入）：**

试剂名称(μL)	标准孔	测定孔
不同浓度的标准品	100	
样本		100
试剂一	50	50
试剂二	50	50
混匀，室温静置 15min，于 550nm 处测定吸光值。		

实验结果结算：

1. **标准品拟合曲线：**y=ax+b。

2. **按液体体积计算：**

NO 含量(μmol/L)=(△A-b)÷a×N

3. 按样本质量计算：

NO 含量(μmol/g 鲜重)=(△A-b)÷a×$V_{提}$÷W×N

4. 按样本蛋白浓度计算：

NO 含量(μmoL/mg prot)=(△A-b)÷a÷Cpr×N

注：

y：标准品 OD 值–空白孔 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

△A：测定孔 OD 值–对照孔 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x：标准品的浓度

$V_{提}$：加入提取液体积，1mL

a：标曲的斜率

N：样本稀释倍数

b：标曲的截距

W：样本质量，g

Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL

参考样本数据：

以下数据仅供参考：

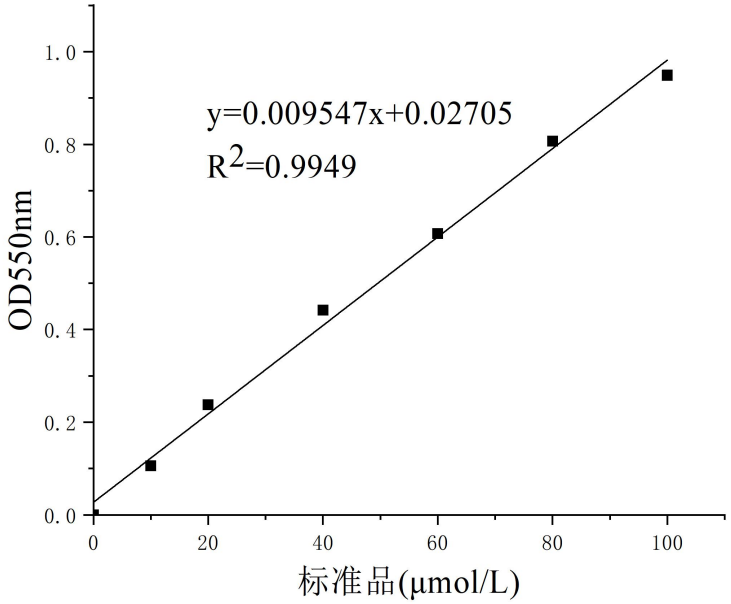
样本类型	稀释倍数	参考值
人血清	2 倍稀释	16.424μmol/L
大鼠血浆	不稀释	1.663μmol/L
小鼠肝脏（10%匀浆）	不稀释	3.451μmol/mg prot
绿萝（10%匀浆）	不稀释	1.875μmol/mg prot

本试剂盒中 BCA 推荐稀释倍数：

样本类型	稀释倍数
绿萝（10%匀浆）	5 倍稀释
小鼠肝脏（10%匀浆）	20 倍稀释

参考曲线：

y=0.009547x+0.02705,R^2=0.9949,x 是标准品的浓度（μmol/L），y 是△A。



注意：本图仅供参考，应以每次实验数据所绘制标准曲线计算样本含量。

Note:

Note:

咨询电话：400-0066-400

传　　真：021-55660885

电子邮箱：shjlsw@163.com

网　　址：www.jonln.com