

一氧化氮 (NO) 含量检测试剂盒

(货号: SH3004 酶标法 96T)

一、产品简介

一氧化氮 (Nitric Oxide, NO) 广泛分布于生物体内, 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。

二、检测原理

NO 在体内或水溶液中极不稳定, 会迅速氧化生成亚硝酸盐 (NO_2^-)。在酸性条件下, 亚硝酸盐与 Griess Reagent 反应, 生成玫瑰红色偶氮化合物。该产物在 540nm 波长处有特征吸收峰。通过测定该波长处的吸光度, 与标准曲线比较, 即可计算样品中的 NO 含量 (以 NO_2^- 计)。

三、试剂盒组分与规格

试剂名称	规格	保存条件	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 6mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 6mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	液体 1ml×1 支	4℃保存	用蒸馏水稀释 1000 倍, 现配现用。

四、所用到的仪器和用品

酶标仪、台式离心机、可调式移液器、96 孔板、匀浆器、冰和蒸馏水。

五、一氧化氮 (NO) 的测定

正式实验前务必选取 2-3 个预期差异较大的样本做测定, 了解本批样本情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

①组织样本: 称取约 0.1g 组织 (水分充足的样本可取 0.5g), 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆, 在 4℃ 12000g 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】若增加样本量, 可以按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为

1: 5~10 的比例进行提取。

②细菌/细胞样本：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 20% 或 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；12000g 4℃ 离心 10min，取上清，置冰上待测。

③液体样本：直接检测，若浑浊，离心后取上清检测。

2、上机检测

①酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 540nm。

②在 96 孔板中依次加入：

试剂名称 (μL)	样本管	空白管	标准品管
样本	50		
蒸馏水		50	
标准品			50
试剂一	50	50	50
试剂二	50	50	50
混匀，室温孵育 5min，在 540nm 处测吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{样本管}} - A_{\text{空白管}}$			

【注】：可以将试剂一与试剂二等体积混合后加入，每孔加入 100μL 混合液。

六、结果计算

- 根据标准曲线，计算 ΔA 对应的标准品亚硝酸钠 (NaNO_2) 浓度 C（单位为 $\mu\text{mol/mL}$ ）。例如本说明书中的标准曲线为 $y = 11.502x - 0.0213$ ，则 $C = (\Delta A + 0.0213) / 11.502$ 。

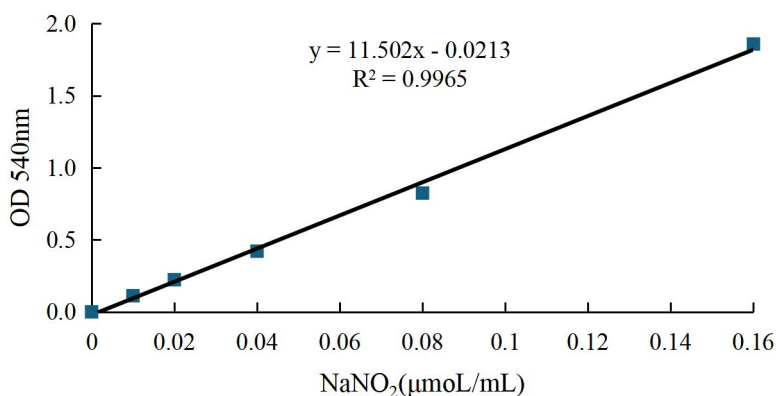


图1 一氧化氮的标准曲线效果图，图中数据仅供参考。

2、按样本鲜重计算：

$$\text{NO 含量}(\mu\text{mol/g 鲜重})=C \times V1 \div (W \times V1 \div V) \times D$$

3、按细胞数量计算：

$$\text{NO 含量}(\mu\text{mol}/10^4\text{cell})=C \times V1 \div (500 \times V1 \div V) \times D$$

4、液体 NO 含量

$$\text{NO 含量}(\mu\text{mol/mL})=C$$

V---加入提取液体积，1mL；

V1---加入样本体积，0.05mL；

500---细胞数量，万；

W---样本质量，g；

D---稀释倍数，未稀释即为1；

七、标准曲线制作

1、标准品制备：按上述方法配制得到 1 $\mu\text{mol/mL}$ 的标准品。

2、将母液用蒸馏水稀释成以下浓度：0, 0.01, 0.02, 0.04, 0.08, 0.16 $\mu\text{mol/mL}$ 。

也可以根据实际情况调整浓度。