

一氧化氮(NO)含量检测试剂盒

Nitric Oxide Assay Kit

可见分光光度法

货号: AK222

规格: 50T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
提取液	50 ml ×1 瓶	4℃保存;
AK222-A	35mL×1 瓶	4℃避光保存;
AK222-B	3mL×1 瓶	4℃保存;
AK222-C	35mL×1 瓶	4℃避光保存;
AK222-标准品	1ml×1 支(10μmol/mL)	4℃保存。

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 一氧化氮 (Nitric Oxide, NO) 广泛分布于生物体内神经、循环、呼吸、消化、泌尿生殖等系统中, 特别是神经组织中较丰富。它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。

原理: 一氧化氮在体内或水溶液中极易氧化生成 NO_2^- , 在酸性条件下, NO_2^- 与重氮盐磺酸胺生成重氮化合物, 进一步与萘基乙烯基二胺偶合, 产物在 550nm 处有特征吸收峰, 测定其吸光值, 可以计算 NO 含量。

自备用品:

天平、研钵或匀浆器、可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿、蒸馏水。

样品处理:

1. 组织: 按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液) 进行冰浴匀浆。10000g, 4℃离心 15min, 取上清, 置冰上待测。
2. 细菌、真菌: 按照细胞数量 (10^4 个): 提取液体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1mL 提取液), 冰浴超声波破碎细胞 (功率 300w, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 3min); 然后 10000g, 4℃, 离心 15min, 取上清置于冰上待测。
3. 体液和培养液等其它液态样品: 直接测定。

测定步骤:

1. 分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 550nm。
2. 标准液的制备: 将标准品用蒸馏水稀释至 0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625、0.003125、0.0015625μmol/mL 标准液。
3. 在 EP 管中依次加入下列试剂

试剂名称	空白管 (ul)	测定管 (ul)	标准管 (ul)
蒸馏水	1000		
样品		1000	
标准品			1000
AK222-A		500	500
AK222-B	500		
AK222-C	500	500	500

混匀，室温静置 15min，于 550nm 处测定吸光值，分别记为 A 标准、A 测定、A 空白，计算 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。

注意：空白管只需做 1-2 次。

一氧化氮含量计算公式：

1. 标准曲线的绘制：以各标准溶液浓度为 x 轴，以 $\Delta A_{\text{标准}}$ 为 y 轴做标准曲线，得到方程 $y=kx+b$ ；将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入方程求 x 值。

2. NO 含量的计算：

(1) 按样本质量计算

$$\text{NO 含量 } (\mu\text{mol}/\text{mg}) = x \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) = x \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按样本蛋白浓度计算

$$\text{NO 含量 } (\mu\text{mol}/\text{g prot}) = x \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) = x \div W$$

※ 蛋白定量检测建议使用本公司：BCA Protein Assay Kit (C05-02001)

(3) 按样本细胞数量计算

$$\text{NO 含量 } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = x \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{样总}}) = x \div \text{细胞数量}$$

(4) 按样本细胞数量计算

$$\text{NO 含量 } (\mu\text{mol}/\text{mL}) = x \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} = x$$

V 样：加入样本体积；V 样总：加入提取液体积；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细胞数量：以 10^4 为单位，万个。

注意事项：

1. 尽量使用新鲜样品进行检测，且操作时请做好防护措施。
2. 若检测出得 OD 值在标准曲线范围外，请将样品进行适当的浓缩或稀释，并在计算公式中除以浓缩倍数或者乘以稀释倍数。