

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	A1	粉剂×1 瓶	4℃避光保存；临用前将 A2 加入 A1 充分溶解，3 天内使用完毕；
	A2	20mL×1 瓶	
AK222-B		1mL×1 瓶	4℃保存；
AK222-C		20mL×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：

- 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。
- 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。
- 体液和培养液等其它液态样品：直接测定。

测定步骤：

- 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 550nm。
- 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 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 标准液。
- 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	500		
样品		500	
标准品			500
AK222-A		250	250
AK222-B	250		

AK222-C	250	250	250
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 ΔA 标准= A 标准- A 空白, ΔA 测定= A 测定- A 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 ΔA 标准为 y 轴做标准曲线, 得到方程 $y=kx+b$; 将 ΔA 测定带入方程求 x 值。
2. NO 含量的计算:

(1) 按样本蛋白浓度计算

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

(2) 按样本质量计算

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

※ 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

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

(4) 按液体体积计算

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

$V_{\text{样}}$: 加入样本体积; $V_{\text{总}}$: 加入提取液体积; C_{pr} : 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。