

上海茁彩生物科技有限公司  
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0647

Size: 50T/24S

## 一氧化氮 (NO) 检测试剂盒说明书

### 可见分光光度法

\*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

#### 一、测定意义:

NO (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。

#### 二、测定原理:

NO 在体内或水溶液中极易氧化生成  $\text{NO}_2^-$ , 在酸性条件下,  $\text{NO}_2^-$  与重氮盐磺胺生成重氮化合物,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。为了排除样品色素等的影响,每个样品需做对照管。

#### 三、需自备的仪器和用品:

天平、研钵或匀浆器、可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿、蒸馏水。

#### 四、试剂的组成和配置:

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 50mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	液体 6mL×1 瓶	4°C避光保存	
试剂二	液体 6mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	液体 12mL×1 瓶	4°C避光保存。	

## 五、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。12000rpm, 4°C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12000rpm, 4°C, 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。

## 六、测定步骤和操作表

	对照管	测定管
样品 ( $\mu\text{L}$ )	400	400
试剂一 ( $\mu\text{L}$ )		250
试剂二 ( $\mu\text{L}$ )	250	
试剂三 ( $\mu\text{L}$ )	250	250
混匀, 室温静置 15min, 以对照管调零, 1mL 玻璃比色皿, 测定 A 550。		

## 七、NO 含量计算

标准曲线回归方程为:  $y = 0.016x - 0.0103$ ,  $R^2 = 0.9986$

### 1、组织样品:

NO含量定义: 25°C时, 每克样品或每毫克蛋白15min 生成  $1\mu\text{mol NO}_2^-$ , 相当于 $1\mu\text{mol NO}$ 。

#### (1) 按样本质量计算

$$\text{NO 含量 } (\mu\text{mol/g}) = (A_{550} + 0.0103) \div 0.016 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \times 10^{-3}$$
$$= 0.14 \times (A_{550} + 0.0103) \div W$$

(2) 按样本蛋白浓度计算

$$\text{NO 含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = (A_{550} + 0.0103) \div 0.016 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \times 10^{-3}$$
$$= 0.14 \times (A_{550} + 0.0103) \div C_{\text{pr}}$$

2、其他样品:

NO 含量定义: 25°C时, 每升样品 15min 生成 1 $\mu\text{mol}$  NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, 相当于1 $\mu\text{mol}$  NO。

$$\text{NO 含量 } (\mu\text{mol/L}) = (A_{550} + 0.0103) \div 0.016 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} = 140 \times (A_{550} + 0.0103)$$

V反总: 反应总体积, 0.9mL; V样: 反应中样品体积, 0.4mL; V样总: 加入提取液体积, 1mL; W: 样品质量, g; Cpr: 蛋白浓度, mg/mL

## 八、注意事项

1. 试剂盒 2-8°C保存。
2. 尽量使用新鲜样品进行检测, 试剂三有腐蚀性, 操作时请做好防护措施。
3. 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。