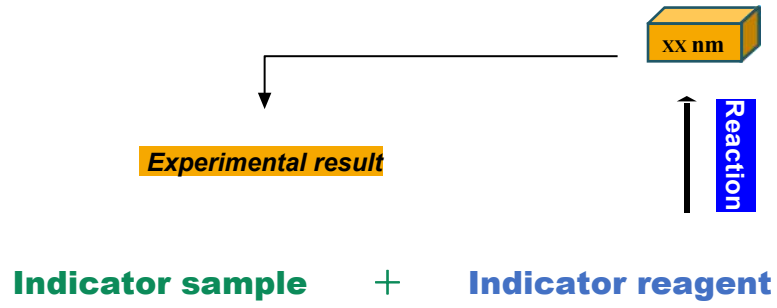
上海茁彩生物科技有限公司

Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

货号：ZC-S0647　　规格：50管/24样

一氧化氮（Nitric oxide，NO）含量测定试剂盒说明书

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

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。

测定原理

NO 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。为了排除样品色素等的影响，每个样品需做对照管。

自备实验用品及仪器

天平、研钵或匀浆器、可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿、蒸馏水。

试剂组成和配制

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℃保存	-
试剂一	液体 6mL×1 瓶	4℃避光保存	-
试剂二	液体 6mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂三	液体 12mL×1 瓶	4℃避光保存。	-

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℃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℃，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。

测定步骤和操作表

	对照管	测定管
样品（μL）	400	400
试剂一（μL）		250
试剂二（μL）	250	
试剂三（μL）	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。		

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℃时，每克样品或每毫克蛋白15min 生成 1μmoL NO_2^-，相当于1μmoL NO。

（1）按样本质量计算

NO 含量（μmoL/g）=（A_{550} +0.0103）÷0.016×V 反总÷（V 样÷V 样总×W）×10^{-3}

= 0.14×（A_{550} +0.0103）÷W

（2）按样本蛋白浓度计算

NO 含量（μmoL/mg prot）=（A_{550} +0.0103）÷0.016×V 反总÷（V 样×Cpr）×10^{-3}

= 0.14×（A_{550} +0.0103）÷Cpr

2、其他样品：

NO 含量定义：25℃时，每升样品 15min 生成 1μmoL NO_2^-，相当于1μmoL NO。

NO 含量（μmoL/L）=（A_{550} +0.0103）÷0.016×V 反总÷V 样

= 140×（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

注意事项

1. 试剂盒 2-8℃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。