

一氧化氮（NO）测定试剂盒（微板法）

- 【产品简介】 ◆NO化学性质活泼，体内代谢转化为硝酸盐（ NO_3^- ）和亚硝酸盐（ NO_2^- ），血清（ NO_3^- ）与（ NO_2^- ）浓度之和（ $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ ）才能准确代表体内（NO）水平。血清（ $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ ）含量测定，国内有的单位采用金属镉还原法，但该方法操作繁琐（血清需除蛋白），反应不易控制（金属镉可将 NO_2^- 进一步还原），且不能完全将 NO_3^- 还原为 NO_2^- ，准确性差。
- ◆本测试法为一种灵敏、简便、快速、稳定、易推广的方法。

【货号】 TC1009

【规格】 96T

【包装清单】

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体20mL×1瓶	4℃
试剂二	液体10mL×1瓶	4℃
试剂三	液体10mL×1瓶	4℃避光
试剂四	液体3mL×1瓶	4℃避光
试剂五	液体3mL×1瓶	4℃
试剂三 过饱和溶液，如有结晶析出，60℃加热溶解		
显色剂的配制：试剂三：试剂四：试剂五=2.5：1：1，现用现配，配好的显色剂放冰箱保存，颜色变得很深后不可再用。		
2mmol/L 亚硝酸钠标准液：1mL×1支，4℃保存。用前取按1:99 的比例加蒸馏水稀释成 20 μmol/L 亚硝酸钠标准液，现用现配，用多少配多少。		

【保存条件】 4℃保存，有效期六个月。

【操作步骤】 1、样本前处理：

血清(浆)：取血清(浆)原液 100 μL 加试剂一 200 μL, 混匀, 加试剂二 100 μL, 漩涡充分混匀后静置 10 分钟, 3500~4000 转/分钟, 离心 15 分钟, 取上清液 160 μL 操作。

动物组织：称重, 按重量体积比 1(g):9(mL)的比例加入生理盐水, 机械匀浆, 3500 转/分钟离心 10 分钟, 取上清即10%匀浆上清 300 μL 加试剂一 200 μL, 混匀, 加试剂二100 μL, 漩涡充分混匀后静置 10 分钟, 3500~4000 转/分钟, 离心 15 分钟, 取上清液 160 μL 操作。

植物组织：取植物组织, 用清水清洗表面污渍, 吸干表面水渍, 剪碎, 放入研钵中, 加入液氮, 快速研磨成粉状, 再转移至可以密封的容器(如离心管、自封袋等)中; 取该植物粉末称重, 按重量体积比 1(g):4(mL)的比例加入磷酸盐缓冲液(0.1M, PH7.0~7.4)放入研磨仪中研磨(50hz, 30 秒/次, 运行 2-3 次), 取出, 3500 转/分钟离心 10 分钟, 取上清即 20%匀浆上清 300 μL 加试剂一 200 μL, 混匀, 加试剂二 100 μL, 漩涡充分混匀后静置 10 分钟, 3500~4000 转/分钟, 离心 15 分钟, 取上清液 160 μL 操作。

培养细胞：将制备好的细胞悬液取出, 1000 转/分钟, 离心10 分钟, 弃上清液, 留细胞沉淀; 用等渗缓冲液(推荐 0.1mol/L pH7~7.4 磷酸盐缓冲液)清洗 1~2 次, 同样 1000 转/分, 离心 10 分钟, 弃上清液, 留细胞沉淀; 加入 0.2~0.3mL 的匀浆介质(推荐 0.1mol/L pH7~7.4 磷酸盐缓冲液或生理盐水)进行匀浆, 冰水浴条件下超声破碎或手动匀浆, 制备好的匀浆液不离心直接取 300 μL 加试剂一 200 μL, 混匀, 再加试剂二100 μL, 漩涡充分混匀后静置 10 分钟, 3500~4000转/分钟, 离心 15 分钟, 取上清液 160 μL 操作。

2. 操作表：

	空白孔	标准孔	测定孔
双蒸水 (mL)	0.16		
20 μmol/L 亚硝酸钠标准液(mL)		0.16	
上清液 (mL)			0.16
显色剂 (mL)	0.08	0.08	0.08
混匀, 静置 15 分钟, 波长 550nm, 酶标仪测定各孔吸光度值			

3、结果计算：

血清 细胞上清 计算公式：

$$\text{NO含量} \left(\frac{\mu\text{mol}}{\text{L}} \right) = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \times N$$

动物组织计算公式：

$$\text{NO含量} \left(\mu\text{mol/gprot} \right) = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \times N \div C_{\text{pr}}$$

植物组织计算公式：

$$\text{NO含量} \left(\mu\text{mol/g组织} \right) = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \times N \times V_{\text{提取液}} \div W$$

注：C 标准为标准品浓度，20 $\mu\text{mol/L}$ ；N 为样本稀释测定前处理过程的稀释倍数，血清为 4，组织为 2；Cpr 为组织匀浆蛋白浓度，gprot/L（prot 指蛋白）；V 提取液为提取样本时加入的提取液的体积（L）；W 为称取的样本的质量（g）。

【注意事项】

- 1、如果这个试剂盒不能检测含量比较低的样本，请更换硝酸还原酶法。
- 2、血清尽可能不溶血。
- 3、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
- 4、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。