



一氧化氮 (Nitric oxide, NO) 含量测定试剂盒说明书

微量法 100 管/96 样

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。

组成：

产品名称	100T/96S	Storage
提取液：液体	100ml	4°C
试剂一：液体	6ml	4°C避光
试剂二：液体	6ml	4°C避光
说明书	一份	

试剂二：液体 6ml×1 瓶，4°C避光保存。(用之前 60°C加热震荡 15min)

自备仪器和用品：

天平、研钵或匀浆器、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、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°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 10000g，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。



测定步骤和操作表：

1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 550nm。

2、操作表

	空白管	测定管
样品 (μl)		100
提取液 (μl)	100	
试剂一 (μl)	50	50
试剂二 (μl)	50	50
混匀，室温静置 15min，于微量石英比色皿/96 孔板，测定 A ₅₅₀ ，ΔA=A 测定-A 空白		

NO 含量计算：

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准曲线回归方程为：y= 0.016x -0.0103，R²= 0.9986

1、组织样品：

(1) 按样本质量计算

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

$$= 0.125 \times (\Delta A + 0.0103) \div W$$

(2) 按样本蛋白浓度计算

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

$$= 0.125 \times (\Delta A + 0.0103) \div C_{\text{pr}}$$

2、细胞：

$$\text{NO 含量 } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = (\Delta A + 0.0103) \div 0.016 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量}) \times 10^{-3}$$

$$= 0.125 \times (\Delta A + 0.0103) \div \text{细胞数量 (万个)}$$

3、其他样品：

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

$$= 125 \times (\Delta A + 0.0103)$$

V 反总：反应总体积，0.2ml；V 样：反应中样品体积，0.1ml；V 样总：加入提取液体积，1ml；

W：样品质量，g；Cpr：蛋白浓度，mg/ml

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

标准曲线回归方程为：y= 0.008x - 0.0103，R²= 0.9986

1、组织样品：

(1) 按样本重量计算

$$\text{NO 含量 } (\mu\text{mol/g 鲜重}) = (\Delta A + 0.0103) \div 0.008 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \times 10^{-3}$$

$$= 0.25 \times (\Delta A + 0.0103) \div W$$



(2) 按样本蛋白浓度计算

$$\begin{aligned}\text{NO 含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) &= (\Delta A + 0.0103) \div 0.008 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \times 10^{-3} \\ &= 0.25 \times (\Delta A + 0.0103) \div \text{Cpr}\end{aligned}$$

2、细胞：

$$\begin{aligned}\text{NO 含量 } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) &= (\Delta A + 0.0103) \div 0.008 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量}) \times 10^{-3} \\ &= 0.25 \times (\Delta A + 0.0103) \div \text{细胞数量 (万个)}\end{aligned}$$

3、其他样品：

$$\text{NO 含量 } (\mu\text{mol/L}) = (\Delta A + 0.0103) \div 0.008 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} = 250 \times (\Delta A + 0.0103)$$

V 反总：反应总体积，0.2ml；V 样：反应中样品体积，0.1ml；V 样总：加入提取液体积，1ml；

W：样品质量，g；Cpr：蛋白浓度，mg/ml