

## 一氧化氮检测试剂盒

### Nitric Oxide Assay Kit

产品编号	产品名称	规格
BN27106	Nitric Oxide Assay Kit	200T, 500T

#### 产品简介

一氧化氮检测试剂盒 (Nitric Oxide Assay Kit) 是一种灵敏简单的检测一氧化氮的试剂盒。生物机体内有三种一氧化氮合酶 (Nitric Oxide Synthase, NOS)。一氧化氮合酶催化 L-精氨酸产生一氧化氮, 发挥复杂的生理功能。

一氧化氮产生之后, 会被迅速代谢为硝酸盐和亚硝酸盐, 本试剂盒利用经典的 Griess 试剂对亚硝酸盐进行定量测定来间接测定细胞释放的一氧化氮。

本试剂盒以亚硝酸钠为标准品, 检测线性范围为 3.12-200  $\mu\text{M}$ , 灵敏度  $\leq 3.12 \mu\text{M}$ 。

本试剂盒能够检测动物细胞培养上清和血浆中的一氧化氮。

#### 试剂盒组成

组份编号	组份名称	规格 (200T; 500T)	数量
BN27106 -1	Griess Reagent I	10 ml/瓶 ; 25 ml/瓶	1
BN27106 -2	Griess Reagent II	10 ml/瓶 ; 25 ml/瓶	1
BN27106 -3	NaNO <sub>2</sub> (20 mM)	0.5 ml/管 ; 0.5 ml/管	1
—	说明书	份	1

#### 需要而未提供的试剂及器材

1. 超纯水
2. 系列可调节量程移液器及吸头
3. 干净的试管、离心管及 96 孔板
4. 酶标仪

#### 储存条件

4 °C 储存, 保质期 12 个月。

#### 注意事项

1. 每次测定时利用标准品制作标准曲线。
2. 本产品仅限专业人员用于科学研究, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品。

3. 本试剂盒中  $\text{NaNO}_2$  对人体有一定毒性，为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 测定前准备

### 1. 样品的准备

1.1 细胞培养上清的准备：将处于对数生长期的细胞接种到 96 孔板中，然后加入刺激剂刺激一定时间后（贴壁细胞待细胞贴壁后加刺激剂），收集细胞，室温 300g 离心 5 分钟（贴壁细胞直接取上清），取上清用于一氧化氮测定。

1.2 血浆样品的准备：取新鲜抗凝血液，600g 离心 10 分钟，上清为血浆。取上清用于一氧化氮测定。

### 2. 标准品的准备

在 1.5 ml 离心管中，加入 990  $\mu\text{l}$  纯水，再取 10  $\mu\text{l}$  的 20 mM 浓度  $\text{NaNO}_2$  标准品加入离心管中配制 200  $\mu\text{M}$  浓度  $\text{NaNO}_2$  标准品；然后取另外 6 根 1.5 ml 离心管，分别加入 500  $\mu\text{l}$  纯水，再吸取 500  $\mu\text{l}$  的 200  $\mu\text{M}$  浓度  $\text{NaNO}_2$  标准品依次倍倍稀释为 100、50、25、12.5、6.25、3.12  $\mu\text{M}$  浓度。

## 测定方法

1. 参考下表，使用透明 96 孔板，依次加入标准品或样品、Griess Reagent I 和 Griess Reagent II 后，混匀，室温孵育 5 分钟。

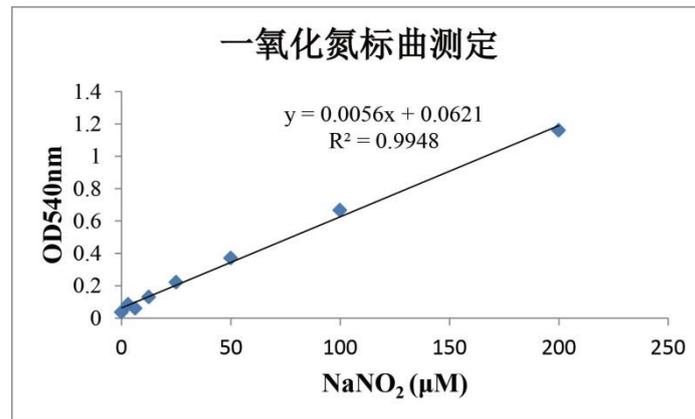
	空白对照孔	标准曲线孔	样品孔
纯水	50 $\mu\text{l}$	—	—
标准品	—	50 $\mu\text{l}$	—
样品	—	—	50 $\mu\text{l}$
Griess Reagent I	50 $\mu\text{l}$	50 $\mu\text{l}$	50 $\mu\text{l}$
Griess Reagent II	50 $\mu\text{l}$	50 $\mu\text{l}$	50 $\mu\text{l}$

2. 待反应完成后，利用酶标仪测定  $A_{540\text{nm}}$ 。

注：务必保证 Griess Reagent I 和 Griess Reagent II 加入顺序正确；如果样品中一氧化氮浓度偏低，可加倍加入待测样品，将标准品同样加倍并降低 1 个浓度梯度进行测定。

## 数据处理

利用标准品浓度为横坐标，吸光度值为纵坐标制作标准曲线，并获得横纵坐标之间的函数关系式，然后利用标准曲线和各样品的吸光度值计算样品中一氧化氮浓度。一氧化氮标曲测定如下图所示：



### 参考文献

1. S. Moncada, 1992. The L-arginine: nitric oxide pathway. *Acta Physiol. Cand.* 145: 201-227.
2. C. Nathan, 1992. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB Journal.* 6: 3051-3064.