

一氧化氮检测试剂盒 (100T)

一般说明

一氧化氮是氮的化合物，化学式 NO，分子量 30，氮的化合价为+2。由于一氧化氮带有自由基，这使它个化学性质非常活泼。一氧化氮 (NO) 是一种活性基团，在许多关键的生理功能中发挥着重要作用。NO 是一氧化氮合成酶氧化精氨酸的产物，参与机体防御反应和生长发育、蛋白调节及功能性生物分子间的相互作用。在检测中，NO 可被氧化生成亚硝酸盐和硝酸盐，因此通常测量 $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ 的总浓度作为 NO 的指标。本试剂盒可准确测定硝酸盐还原成亚硝酸盐后的 NO 产物。检测范围 0.6 - 200 μM 。

应用

直接检测：血浆、血清、尿液、组织/细胞及食品中的 NO 浓度。

试剂盒组成与保存

试剂 A: 12mL 试剂 B: 500 μL 试剂 C: 12 mL

NaOH: 1 mL ZnSO_4 : 1 mL 标准液: 1 mL

储存：试剂 A、试剂 B、试剂 C 和标准液在 4° C 下保存，其它试剂可在室温下保存。

预处理

样品处理：组织或细胞样品用 1 x PBS 溶液 (pH 7.4) 均浆。在 4°C 下以 10,000g 或更高的转速离心。取上清液用于 NO 检测。

血清、血浆、全血、含 FBS 的细胞培养液、组织或细胞提取物，需进行脱蛋白处理。尿液和唾液无需脱蛋白处理。

脱蛋白处理：在 1.5mL 离心管中加入 150 μL 样品和 8 μL ZnSO_4 混匀，然后加 8 μL NaOH，再次混匀。在 14,000 转/分的转速下离心 10 分钟。转移 100 μL 上清液到干净的管中。注意：脱蛋白处理时，若平行将 150 μL 标准液同样用 ZnSO_4 和 NaOH 处理，则不需要再计算稀释倍数。

检测步骤

1. 标准品：将 50 μL 1.0mM 标准液与 450 μL 蒸馏水混合，配制 500 μL 100 μM 预混液。使用 1.5mL 离心管，如下表所示稀释标准液

标号	预混液 + H ₂ O	Nitrite (μM)
1	250 μL + 0 μL	100
2	150 μL + 100 μL	60
3	75 μL + 175 μL	30
4	0 μL + 250 μL	0

2、反应：将 100 μL 样品加入分别标记的离心管中。(建议样品的检测做一式两份)。准备足够的反应试剂，按每个反应管混合：100 μL 试剂 A，4 μL 试剂 B 和 100 μL 试剂 C。在每个样品和标准管中加入 200 μL 反应试剂，在 60°C 下反应 10 分钟 (也可在 37°C 下反应 60 分钟，或常温下反应 150 分钟)。

3、测试：短暂离心去除沉淀颗粒，转移 250 μL 反应产物到 96 孔板的不同孔中。在 540nm 处读取吸光值。

浓度计算

从标准品的 OD 值中减去空白对照 (Std 4) 的 OD 值。绘制 OD 与标准浓度的曲线，通过线性回归计算斜率 (Slope)，单位换算：1 mg/dL NO 相当于 333 μM 、0.001% 或 10 ppm。

注意：1. 抗氧化剂和亲核试剂 (如： β -巯基乙醇、谷胱甘肽、二硫苏糖醇和半胱氨酸) 可能会干扰这项检测，因此样品制备过程中应避免使用这类化合物。

2. 预防措施：本产品仅供研究用，使用过程中严格遵循实验安全措施。