

## 一氧化氮检测试剂盒 E1030

一起反应并测量。

**描述:** 一氧化氮(Nitric oxide, NO)是一种重要的气体信号分子和效应分子, 可以作为第二信使参与许多生物效应和生理病理过程。体内 NO 含量低, 半衰期短, 且易被氧化。Griess 反应一直是最经典的生物样品 NO 测定方法, 反应产物的光密度 OD 值与 NO 浓度呈线性关系。本试剂盒基于 Griess 反应原理, 采用优化的反应条件和比色法测量液体样品 NO 的浓度。方法简单, 线性范围 **2.5~800 $\mu$ M**。按照每 150  $\mu$ l 反应体系含 50  $\mu$ l 样品推算, 相当于样品的检测灵敏度约为 300 pmol/50  $\mu$ l。

参考文献:

1. Bredt, D.S. and Snyder, S.H. (1994) Nitric oxide: a physiologic molecule. *Ann. Rev. Biochem.* 63, 175
2. Griess, P. (1879) *Chem. Ber.* 12, 426.

**适用:** 液体生物样品如血液、尿、培养基中 NO 的检测。

**组成:** (500 次)

- |                          |                     |
|--------------------------|---------------------|
| 1. NaNO <sub>2</sub> 标准品 | 0.5 ml (100 mmol/L) |
| 2. Griess R1             | 25 ml               |
| 3. Griess R2             | 25 ml               |

**储存:** 4 $^{\circ}$ C 避光保存 6 个月有效

**所需设备:** 96 孔酶标板, 可见分光光度计, 最佳波长 540nm, 也可选用 490-550 nm 进行测定, 但灵敏度略降。

**准备步骤:**

测定前取出试剂升温到室温。

标准品稀释: 每次测量均新做标准曲线, 用与样品相似的液体稀释标准品。

- A. 取 100 mmol/L NaNO<sub>2</sub> 标准品 8 $\mu$ l, 加到 992 $\mu$ l 蒸馏水中, 得到 1000 $\mu$ l 之 800  $\mu$ M 管。
- B. 从 800  $\mu$ M 管取 200 $\mu$ l 加入 200 $\mu$ l 蒸馏水得 400 $\mu$ M 管, 然后依次取样用蒸馏水倍比稀释, 得到 200、100、50、25、12.5、6.25、3.13、1.57  $\mu$ M 管。最后设置不加标准品的 0 浓度管。
- C. 从以上各管各取 50  $\mu$ l 加入酶标板。
- D. 等待后续加入样品, 以及加入 Griess 试剂后,

**样品测量:**

1. 取 50  $\mu$ l 标准品或样品, 加入 96 孔板中。
2. 每孔加入 50  $\mu$ l Griess R1
3. 优化步骤: 室温避光放置 5 分钟。此步骤可进一步提高灵敏度。但 NO 浓度较高时可省略。
4. 每孔加入 50  $\mu$ l Griess R2。
5. 室温避光放置 5 分钟。
6. 540 nm (490-550 nm 均可)测定吸光度。应在 30 min 内测完, 以免退色降低灵敏度。
7. 制备标准曲线: 以吸光度 OD 值为 x 轴, 标准品浓度为 y 轴, 用 Excel 做图并得到标准曲线公式。
8. 将样品 OD 值代入公式计算 NO 浓度。

**说明:**

1. 在 30 min 内测完, 以免退色而降低灵敏度。
2. 快速测定: 如果样品 NO 浓度较高, 则可将 Griess R1 和 R2 预先 1:1 等体积混合后, 各取 100  $\mu$ l 混合试剂与 50  $\mu$ l 样品反应测定。
3. 样品所赖以存在的液体的内在成分会干扰测定, 降低 OD 值和灵敏度。干扰程度: 尿液>血清>血浆>培养基>蒸馏水。
4. 每次测量必须新做标准曲线, 尽量用与样品相同的液体稀释标准品。
5. 细胞培养基中酚红的红色颜色不影响测定。

以下为使用普利莱 NO 检测试剂盒发表的文章, 供参考:

- 1、Ji Y, Sun X, Liu X Y, et al. *Toxoplasma gondii*: effects of exogenous nitric oxide on egress of tachyzoites from infected macrophages[J]. *Experimental parasitology*, 2013, 133(1): 70-74.
- 2、Hong Q, Qi K, Feng Z, et al. Hyperuricemia induces endothelial dysfunction via mitochondrial Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchanger-mediated mitochondrial calcium overload[J]. *Cell calcium*, 2012, 51(5): 402-410.
- 3、Ding Y, Zhang Z F, Dai X Q, et al. Myricetin protects against cytokine-induced cell death in RIN-m5f  $\beta$  cells[J]. *Journal of medicinal food*, 2012, 15(8): 733-740.