

一氧化氮（NO）测定试剂盒

化学法：100 管/96 样

一、测定意义：

一氧化氮 NO（即血管内皮舒张因子），在生物体内作为一种反应性极强的自由基，兼有第二信使和神经递质作用，同时又是一种效应分子，在体内具有广泛的生理作用，如松弛血管平滑肌，抑制血小板聚集，调节脑血流，介导细胞毒效应和免疫调节，参与学习和记忆、动脉粥样硬化等作用。NO 产生异常与某些疾病的发生发展有着密切关系。因此，近年来对 NO 的研究越来越受到广大医学科学工作者的重视。

NO 本身半衰期极短，血液中的 NO 主要由血管内皮细胞、血管平滑肌细胞、血小板、巨噬细胞等产生以硝酸盐及亚硝酸盐的形式存在，通过其浓度可以间接测知 NO 浓度。

二、测定原理：

NO 遇氧及水生成硝酸盐及亚硝酸盐，后二者遇硝酸盐显色剂可生成淡红色偶氮化合物，通过比色可间接测知 NO 浓度。

三、试剂组成及配制：

试剂一：溶液，100ml×1 瓶，4℃保存一年。

试剂二：溶液，50ml×1 瓶，室温或 4℃保存一年。

试剂三：粉剂，用时加蒸馏水至 30ml，4℃避光保存。（难溶，可以 60℃隔水加热至溶解）试剂四：粉剂，用时加蒸馏水至 12ml，4℃避光保存。试剂五：溶液，12ml×1 瓶，室温保存。

显色剂的配制：按 3 号：4 号：5 号=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。20 μmol/L 亚硝酸钠标准液 10ml×1 支；2mmol/L 亚硝酸钠标准液 1ml 一支，4℃保存。

四、操作步骤：

	空白管	标准管	测定管
--	-----	-----	-----

蒸馏水 (ml)	a*		
20 μ mol/L 亚硝酸钠 (ml)		a*	
样品 (ml)			a*
试剂一 (ml)	0.8	0.8	0.8
试剂二 (ml)	0.4	0.4	0.4
混合试剂 (ml)	0.4	0.4	0.4
混匀后放置 10 分钟, 3500~4000 转/分, 离心 10 分钟, 取澄清的上清液。			
上清液 (ml)	0.8	0.8	0.8
显色剂 (ml)	0.4	0.4	0.4
混匀, 15 分钟后, 550nm 比色, 0.5cm 光径比色杯, 水调零, 测各管 OD 值			

[注]: a*为取样量=标准品量=蒸馏水量

六、操作注意点:

- 1、严格按照操作规程。
- 2、要用一次性塑料试管或用清洗十分干净的玻璃管。
- 3、离心后的上层液一定要澄清, 若有混浊要再次离心。
- 4、溶血及混浊血清对测定结果有影响。
- 5、血清及组织块零下冷冻后可保存半月左右。温度越低保存时间越长。零上 4~5℃保存三天。
- 6、所有试剂配制均应在测试前一天配制, 目的使其充分溶解。在测试过程中, 第一次吸的试剂要丢弃, 样品和试剂要垂直加入试管, 不要加在管壁上(因试剂及样品量小)。离心前要用旋涡混匀器充分混匀, 至少放置 10 分钟以上。