

Dosage de la sécrétion de monoxyde d'azote par des macrophages murins

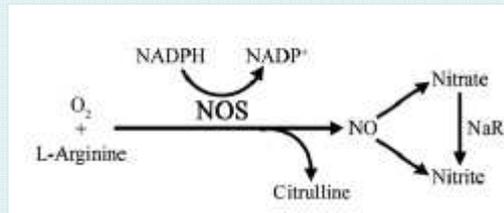
Introduction

Le monoxyde d'azote (NO) exerce un rôle clef dans la réponse inflammatoire en activant plusieurs voies de signalisation permettant d'exacerber les effets délétères du stress oxydant.

Le dosage du monoxyde d'azote (NO) constitue donc une cible biologique pertinente dans la recherche d'actifs anti-inflammatoires.

Principe

L'accumulation de nitrite est considérée comme un indicateur de la production de NO dans le milieu de culture.



Production du NO par la NO synthase (NOS) et transformation du NO en nitrate et nitrite par la nitrate réductase (NaR) [Oxford Biomedical Research]

Le NO est physiologiquement instable et est rapidement oxydé en nitrite et nitrate. Ce dernier est ensuite réduit en nitrite par l'action de la nitrate réductase.

Il devient ainsi possible de quantifier indirectement la production de NO via le dosage de nitrite grâce à la réaction de Griess [Archer S.1993].

Protocole

Format: 96 puits

Lignée cellulaire: RAW 264.7 (ATCC TIB-71)

Stimulation: 5 µg/mL LPS

Molécules de référence: Quercetol ; L-NMMA

Incubation : 24H à 37°C sous 5% CO₂.

Révélation: réaction de Griess avec mesure d'absorbance à 544 nm

