

硫化氢 (H₂S) 含量检测试剂盒 (微量法)

(本试剂盒仅供科研使用)

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0368	硫化氢 (H ₂ S) 含量检测试剂盒 (微量法)	100 管/96 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 100mL × 1 瓶	4℃
试剂一	液体 25mL × 1 瓶	4℃
试剂二	液体 16mL × 1 瓶	4℃
试剂三	液体 8mL × 1 瓶	4℃, 避光
试剂四	液体 8mL × 1 瓶	4℃
试剂五	液体 1.5mL × 1 瓶	4℃, 避光

一、产品说明

H₂S 是一种新型气态信号分子, 存在于脑内的神经递质, 生理浓度的 H₂S 对神经系统海马的长时程增强功能具有重要的调节作用, 并对自发性高血压、出血性休克及肝硬化等疾病的过程发挥着重要的病理生理效应。

H₂S 与醋酸锌、N, N-二甲基对苯二胺和硫酸铁铵等反应生成亚甲基蓝, 亚甲基蓝在 665nm 处有最大吸收峰, 通过测定其吸光值可计算 H₂S 含量。

二、自备材料

天平、低温离心机、酶标仪、96 孔板、蒸馏水。

三、样品准备

- 1、组织: 按照组织质量 (g) : 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液) 进行冰浴匀浆, 然后 10000g, 4℃ 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
- 2、细菌或培养细胞: 按照细胞数量 (10⁴ 个) : 提取液体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1mL 提取液), 冰浴超声波破碎细胞 (功率 300w, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 3min); 然后 10000g, 4℃, 离心 10min, 取上清置于冰上待测。
- 3、血清或血浆: 直接检测。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 1、酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 665nm, 蒸馏水调零。
- 2、按照下表进行操作:

试剂名称 (μL)	空白管	测定管
样品		150
H ₂ O	150	
试剂一	150	150

充分震荡混匀。		
试剂二	150	150
10000g, 4℃, 离心 10min, 去上清, 留沉淀。		
H ₂ O	150	150
10000g, 4℃, 离心 10min, 去上清, 留沉淀。		
试剂一	75	75
试剂三	75	75
充分震荡混匀。		
试剂四	75	75
10000rpm, 4℃, 离心 10min, 吸取 200μL 上清于 96 孔板中。		
试剂五	10	10
混匀, 25℃ 静置 5min, 测定 665nm 吸光值, 记为 A 测定和 A 空白, ΔA=A 测定-A 空白。		

五、H₂S 含量的计算

标准曲线回归方程为: $y = 0.0022x$, $R^2 = 0.9988$ 。

1、按照组织蛋白浓度计算

$$\text{H}_2\text{S} \text{ (nmol/mg prot)} = \frac{\Delta A}{0.0022} \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) = 681.8 \times \Delta A \div \text{Cpr}。$$

2、按照样本鲜重计算

$$\text{H}_2\text{S} \text{ (nmol/g 鲜重)} = \frac{\Delta A}{0.0022} \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) = 681.8 \times \Delta A \div W。$$

3、按照细菌/细胞密度计算

$$\text{H}_2\text{S} \text{ (nmol/10}^4\text{ ceLL)} = \frac{\Delta A}{0.0022} \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量(万个)})$$

$$= 681.8 \times \Delta A \div \text{细胞数量 (万个)}。$$

4、按照血清/血浆体积计算

$$\text{H}_2\text{S} \text{ (nmol/mL)} = \frac{\Delta A}{0.0022} \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} = 681.8 \times \Delta A。$$

V 反总: 反应总体积, 0.225mL; V 样: 反应中样品体积, 0.15mL; V 样总: 加入提取液体积, 1mL; W: 样品质量, g; Cpr: 蛋白浓度, mg/mL。

六、注意事项

1、最低检出限为 1nmol/mL。