

H₂S 含量测定试剂盒说明书

H₂S Assay Kit

微量法

货号: AK032

规格: 100T / 96S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
提取液 ES01	液体 100mL×1 瓶	4°C保存
AK032-A	液体 15mL×1 瓶	4°C保存
AK032-B	液体 8mL×1 瓶	4°C保存
AK032-C	液体 8mL×1 瓶	4°C避光保存
AK032-D	液体 8mL×1 瓶	4°C保存
AK032-E	液体 1.5mL×1 瓶	4°C避光保存

简介:

意义: 硫化氢 (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。

原理: 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。

需自备的仪器和耗材:

天平、低温离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、蒸馏水。

使用说明:

一、样品处理:

- 组织: 按照组织质量 (g): 提取液 ES01 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 ES01) 进行冰浴匀浆, 然后 10000g, 4°C 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
- 细菌、真菌: 按照细胞数量 (10⁴ 个): 提取液 ES01 体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1mL 提取液 ES01), 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°C, 离心 10min, 取上清置于冰上待测。
- 血清 (浆): 直接测定。

二、测定步骤: (取 1.5ml 离心管, 按照下表操作)

	空白管 (ul)	测定管 (ul)
样品		75
H ₂ O	75	
AK032-A	75	75
充分震荡混匀		
AK032-B	75	75
12000rpm, 4°C, 离心 10min, 去上清, 留沉淀		
H ₂ O	150	150
12000rpm, 4°C, 离心 10min, 去上清, 留沉淀		

AK032-A	75	75
AK032-C	75	75
充分震荡混匀		
AK032-D	75	75
12000rpm, 4°C, 离心 10min, 取上清		
AK032-E	15	15
混匀, 室温静置 20min, 测定 665nm 吸光值, 记为 A665。		

三、H₂S 含量计算公式:

(一) 用微量玻璃比色皿测定的计算公式如下:

标准曲线回归方程为: $y = 0.0044x$, $R^2 = 0.9988$

1. 组织样品:

a. 按照蛋白浓度计算:

$$\text{H}_2\text{S} (\mu\text{mol}/\text{mg prot}) = A_{665} \div 0.0044 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \times 10^{-3} = 0.727 \times A_{665} \div \text{Cpr}$$

b. 按照样本重量计算:

$$\text{H}_2\text{S} (\mu\text{mol}/\text{g}) = A_{665} \div 0.0044 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \times 10^{-3} = 0.727 \times A_{665} \div W$$

2. 液体样本:

$$\text{H}_2\text{S} (\mu\text{mol}/\text{L}) = A_{665} \div 0.0044 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} = 727 \times A_{665}$$

3. 细胞样本:

$$\text{H}_2\text{S} (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = A_{665} \div 0.0044 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量(万个)}) \times 10^{-3} = 0.727 \times A_{665} \div \text{细胞数量(万个)}$$

注: V 反总: 反应总体积, 0.24mL; V 样: 反应中样品体积, 0.075mL; V 样总: 加入提取液体积, 1mL; W: 样品质量, g; Cpr: 蛋白浓度, mg/mL。

(二) 用 96 孔板测定的计算公式如下:

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

1. 组织样品:

a. 按照蛋白浓度计算:

$$\text{H}_2\text{S} (\mu\text{mol}/\text{mg prot}) = A_{665} \div 0.0022 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \times 10^{-3} = 1.454 \times A_{665} \div \text{Cpr}$$

b. 按照样本重量计算:

$$\text{H}_2\text{S} (\mu\text{mol}/\text{g}) = A_{665} \div 0.0022 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \times 10^{-3} = 1.454 \times A_{665} \div W$$

2. 液体样本:

$$\text{H}_2\text{S} (\mu\text{mol}/\text{L}) = A_{665} \div 0.0022 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} = 1454 \times A_{665}$$

3. 细胞样本:

$$\text{H}_2\text{S} (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = A_{665} \div 0.0022 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量(万个)}) \times 10^{-3} = 1.454 \times A_{665} \div \text{细胞数量(万个)}$$

注: V 反总: 反应总体积, 0.24mL; V 样: 反应中样品体积, 0.075mL; V 样总: 加入提取液体积, 1mL; W: 样品质量, g; Cpr: 蛋白浓度, mg/mL。