

H₂S 含量测定试剂盒说明书

H₂S Assay Kit

分光光度法

货号：AK031

规格：50T/48S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
提取液 ES01	50mLx1	4°C保存
AK031-A	25mLx1	4°C保存
AK031-B	15mLx1	4°C保存
AK031-C	15mLx1	4°C避光保存
AK031-D	15mLx1	4°C保存
AK031-E	3mLx1	4°C避光保存

简介：

意义：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、比色皿、蒸馏水。

使用说明：

一、样品处理：

1. 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。
2. 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。
3. 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		25
H ₂ O	25	
AK031-A	25	25
充分震荡混匀		
AK031-B	25	25
12000rpm, 4°C, 离心 10min, 去上清, 留沉淀		
H ₂ O	500	500
12000rpm, 4°C, 离心 10min, 去上清, 留沉淀		
AK031-A	25	25

AK031-C	25	25
充分震荡混匀		
AK031-D	25	25
12000rpm, 4°C, 离心 10min, 取上清		
AK031-E	50	50
混匀, 25°C静置 20min, 于微量石英比色皿/96 孔板中, 空白管调零, 测定 665nm 吸光值, 记为 A665。		

三、H₂S 含量计算公式:

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:

$$\text{H}_2\text{S} (\mu\text{mol}/\text{mg prot}) = \text{A665} \div 0.0044 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \times 10^{-3} = 0.727 \times \text{A665} \div \text{Cpr}$$

b. 按照样本重量计算:

$$\text{H}_2\text{S} (\mu\text{mol}/\text{g}) = \text{A665} \div 0.0044 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \times 10^{-3} = 0.727 \times \text{A665} \div W$$

2. 液体样本:

$$\text{H}_2\text{S} (\mu\text{mol}/\text{L}) = \text{A665} \div 0.0044 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} = 727 \times \text{A665}$$

3. 细胞样本:

$$\text{H}_2\text{S} (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = \text{A665} \div 0.0044 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量}(\text{万个}) \times 10^{-3}) = 0.727 \times \text{A665} \div \text{细胞数量}(\text{万个})$$

注: V 反总: 反应总体积, 0.8mL; V 样: 反应中样品体积, 0.25mL; V 样总: 加入提取液体积, 1mL; W: 样品质量, g; Cpr: 蛋白浓度, mg/mL。