

## H<sub>2</sub>S 含量测定试剂盒说明书

### 微量法 100T/96S

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

#### 测定意义：

H<sub>2</sub>S 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 H<sub>2</sub>S 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。

#### 测定原理：

H<sub>2</sub>S 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 H<sub>2</sub>S 含量。

#### 组成：

产品名称	SG002-100T/96S	Storage
提取液：液体	100ml	4°C
试剂一：液体	25ml	4°C
试剂二：液体	16ml	4°C
试剂三：液体	8ml	4°C避光
试剂四：液体	8ml	4°C
试剂五：液体	1.5ml	4°C避光
说明书	一份	

#### 自备仪器和用品：

天平、低温离心机、酶标仪、96 孔板、蒸馏水。

#### 样品处理：

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°C 离心 10min，取上清，置冰上待测。
2. 细菌、真菌：按照细胞数量 (10<sup>4</sup> 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°C，离心 10min，取上清置于冰上待测。
3. 血清（浆）：直接测定。

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



## 操作表：

1、酶标仪预热 30min，调节波长至 665nm。

## 2、操作表

	空白管	测定管
样品 (μl)		150
H <sub>2</sub> O (μl)	150	
试剂一 (μl)	150	150
充分震荡混匀		
试剂二 (μl)	150	150
10000g, 4°C, 离心 10min, 去上清, 留沉淀		
H <sub>2</sub> O (μl)	150	150
10000g, 4°C, 离心 10min, 去上清, 留沉淀		
试剂一 (μl)	75	75
试剂三 (μl)	75	75
充分震荡混匀		
试剂四 (μl)	75	75
10000rpm, 4°C, 离心 10min, 吸取 200μl 上清于 96 孔板中		
试剂五 (μl)	10	10
混匀, 25°C 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。		

## H<sub>2</sub>S 含量计算公式：

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<sup>2</sup> = 0.9988

(1) 组织样品

a.按照蛋白浓度计算

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

b.按照样本重量计算

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

(3) 细胞

$$\text{H}_2\text{S (nmol/10}^4\text{ cell)} = \frac{\Delta A}{0.0022} \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量(万个)}) = 681.8 \times \Delta A \div \text{细胞数量 (万个)}$$

$$(2) \text{液体样品 H}_2\text{S (nmol/ml)} = \frac{\Delta A}{0.0022} \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} = 681.8 \times \Delta A$$

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；C<sub>pr</sub>：蛋白浓度，mg/ml

**注意事项:**最低检出限为 1nmol/ml。

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



伊势久(江苏连云港)生物科技有限责任公司

江苏省连云港市海州区花果山大道 17 号



服务热线：0518-81263339

官网：<http://www.bio149.com>