

硫化氢 (H₂S) 检测试剂盒说明书(精简版)

(货号: A146-1-1 分光光度法 50T/48 样)

一、试剂用途

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。

二、测定原理

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。

三、试剂组成(试剂盒有效期 3 个月)

- 提取液: 液体 50mL×1 瓶, 4℃保存;
- 试剂一: 液体 50mL×1 瓶, 4℃保存;
- 试剂二: 液体 32mL×1 瓶, 4℃保存;
- 试剂三: 液体 16mL×1 瓶, 4℃避光保存;
- 试剂四: 液体 16mL×1 瓶, 4℃保存;
- 试剂五: 液体 2.5mL×1 瓶, 4℃避光保存。

四、需自备试剂于仪器

天平、低温离心机、可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿、蒸馏水。

五、前处理

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 12000rpm, 4℃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 3s, 间隔 7s, 总时间 3min), 然后 12000rpm, 4℃, 离心 10min, 取上清置于冰上待测;
3. 血清/浆: 直接测定
样品要求: 最适样本为当日空腹采集的无溶血, 无乳糜的血清。

六、检测步骤

	空白	测定
样品 (mL)		0.6
蒸馏水 (mL)	0.6	
试剂一 (mL)	0.6	0.6
充分震荡混匀		
试剂二 (mL)	0.6	0.6
10000g, 4℃, 离心 10min, 去上清, 留沉淀		
蒸馏水 (mL)	0.6	0.6
10000g, 4℃, 离心 10min, 去上清, 留沉淀		
试剂一 (mL)	0.3	0.3
试剂三 (mL)	0.3	0.3
充分震荡混匀		
试剂四 (mL)	0.3	0.3
10000g, 4℃, 离心 10min, 取上清 0.8mL 加入试管中		
试剂五 (mL)	0.04	0.04
混匀, 室温静置 5min, 波长 665nm, 1mL 玻璃比色皿, 空白管调零, 测定各管在 665nm 下吸光度值 (A ₆₆₅), 记为 A 测定和 A 空白, ΔA=A 测定-A 空白		

七、浓度计算

1. 标准曲线回归方程为 y=0.0044x, r²=0.9988
2. 计算公式
 - a. 组织样本
 - ① 按照组织蛋白浓度计算

$$\begin{aligned} \text{H}_2\text{S 含量} \\ (\text{nmol/mgprot}) &= \frac{\Delta A}{0.0044} \times \frac{V_{\text{反总}}}{(V_{\text{样}} \times \text{Cpr})} \\ &= 340.9 \times \Delta A \div \text{Cpr} \end{aligned}$$

② 按照组织样本重量计算

$$\begin{aligned} \text{H}_2\text{S 含量} \\ (\text{nmol/g鲜重}) &= \frac{\Delta A}{0.0044} \times \frac{V_{\text{反总}}}{V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}} \\ &= 340.9 \times \Delta A \div W \end{aligned}$$

b. 血清/浆

$$\begin{aligned} \text{H}_2\text{S 含量} \\ (\text{nmol/mL}) &= \frac{\Delta A}{0.0044} \times \frac{V_{\text{反总}}}{V_{\text{样}}} \\ &= 340.9 \times \Delta A \end{aligned}$$

c. 细胞样本

$$\begin{aligned} \text{H}_2\text{S 含量} \\ (\text{nmol}/10^4 \text{细胞}) &= \frac{\Delta A}{0.0044} \times \frac{V_{\text{反总}}}{V_{\text{样}} \times \text{细胞数} \div V_{\text{样总}}} \\ &= 340.9 \times \Delta A \div \text{细胞数} \end{aligned}$$

- V_{反总}: 反应总体积, 0.9mL;
- V_样: 反应体系中样本体积, 0.6mL
- V_{样总}: 加入提取液体积, 1mL;
- W: 样本质量, g;
- Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL。

八、注意事项

最低检出限为 1nmol/mL。