（本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断！）

产品货号：E-BC-K355-M

产品规格：48T(46 samples)/96T(94 samples)

检测仪器：酶标仪(660-670 nm)

Elabscience®硫化氢(H_2S)比色法测试盒

(间接法)

Hydrogen Sulfide (H_2S) Colorimetric Assay Kit

(Indirect Method)

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清、血浆、动物组织样本中的硫化氢含量。

检测原理

H_2S 在 Fe^{3+}存在下，与显色剂反应形成稳定的亚甲基蓝，亚甲基蓝在 665 nm 处有最大吸收峰，通过测定其吸光值可计算 H_2S 含量。

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法(货号：E-BC-K318-M)。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	13 mL×1 瓶	25 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	碱试剂 (Alkali Reagent)	6 mL×1 瓶	12 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	显色剂 (Chromogenic Agent)	6 mL×1 瓶	12 mL×1 瓶	2-8°C 避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	蛋白沉淀剂 (Protein Precipitator)	6 mL×1 瓶	12 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	铁盐试剂 (Ferric Salt Reagent)	2.5 mL×1 瓶	2.5 mL×1 瓶	2-8°C 避光 保存 6 个月
	96 孔酶标板	48 孔×1 块	96 孔×1 块	无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(660-670 nm，最佳检测波长为 665 nm)、涡旋混匀仪、微量移液器(1000 μL，200 μL，100 μL)、离心机。

耗材：枪头(1000 μL，200 μL)、EP 管(1.5 mL)。

试剂：双蒸水、生理盐水(0.9% NaCl)。

试剂准备

① 检测前，所有的试剂平衡至室温。

样本准备

① 样本处理

血清(浆)样本：可直接测定。

组织样本：按照样本质量(g)：体积(mL)为 1: 9 的比例加入生理盐水(0.9% NaCl)，进行机械匀浆，10000 × g，4°C 离心 10 min，取上清置于冰上待测，留取部分上清进行蛋白浓度测定。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.76-100 μmol/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血浆	不稀释	10%大鼠肾脏组织匀浆	不稀释
小鼠血浆	不稀释	10%大鼠脑组织匀浆	不稀释
10%大鼠脾脏组织匀浆	不稀释		

注：稀释液为生理盐水(0.9% NaCl)。

实验关键点

① 操作步骤中弃上清液时，建议采用倾倒的方式，但注意不要将沉淀倒出(若残留少量上清液，对实验结果无明显影响)。

② 取上清到酶标板时，注意不能吸到沉淀，沉淀影响实验结果。

操作步骤

样本部分

① 对照管、测定管：取 100 μL 试剂一加入到对照管、测定管中。

② 对照管：取 100 μL 双蒸水加到对照管中；

测定管：取 100 μL 待测样本，加入到对应的测定管中。

③ 涡旋混匀 10 s。

④ 向③中的各管加 100 μL 试剂二，涡旋混匀 3 s。

⑤ 12000 × g，4°C，离心 10 min，弃上清，留沉淀。

⑥ 向步骤⑤中各管加入 150 μL 双蒸水，涡旋混匀 3 s。

⑦ 12000 × g，4°C，离心 10 min，弃上清，留沉淀。

⑧ 向步骤⑦中各管加入 100 μL 试剂一。

⑨ 向步骤⑧中各管加入 100 μL 试剂三。

⑩ 向步骤⑨中各管加入 20 μL 试剂五，静置 30 s 后，混匀 5 s。

⑪ 向步骤⑩中各孔加入 100 μL 试剂四。

⑫ 涡旋混匀 3 s，12000×g，4°C，离心 10 min，取 250 μL 上清到酶标板中。覆膜室温静置 10 min，酶标仪 665 nm 处，测各孔 OD 值。

操作表

样本操作表

	对照管	测定管
试剂一(μL)	100	100
样本(μL)	--	100
双蒸水(μL)	100	--
充分混匀 10 s		
试剂二(μL)	100	100
涡旋混匀 3 s，12000 × g，4°C，离心 10 min，弃上清，留沉淀		
双蒸水(μL)	150	150
涡旋混匀 3 s，12000 × g，4°C，离心 10 min，弃上清，留沉淀		
试剂一(μL)	100	100
试剂三(μL)	100	100
试剂五(μL)	20	20
静置 30 s 后，混匀 5 s		
试剂四(μL)	100	100
涡旋混匀 3 s，12000 × g，4°C，离心 10 min，取 225 μL 上清到酶标板中。覆膜室温静置 10 min，酶标仪 665 nm 处，测各孔 OD 值。		

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用本公司 BCA 试剂盒(货号 E-BC-K318-M)进行测定。

结果计算

血清(浆)液体样本中 H_2S 含量计算公式:

$$H_2S\ 含量\ (\mu mol/L) = \frac{\Delta A_{665}}{\varepsilon \times b} \times f$$

组织样本中 H_2S 含量计算公式:

$$H_2S\ 含量\ (\mu mol/gprot) = \frac{\Delta A_{665}}{\varepsilon \times b} \times f \div C_{pr}$$

注解:

ΔA_{665}：样本测定 OD 值-对照 OD 值

ε：9.4×10^{-3} L/(μmol・cm)（亚甲基蓝在 665 nm 处的为微摩尔吸光系数）

b：酶标板孔光径（0.7 cm）

f：样本加入检测体系之前的稀释倍数

C_{Pr}：待测样本的蛋白浓度（gprot/L）

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.76-100 μmol/L	**平均批间差**	9.9 %
灵敏度	0.15 μmol/L	**平均批内差**	3.1 %
平均回收率	94 %		

附录2　实例分析

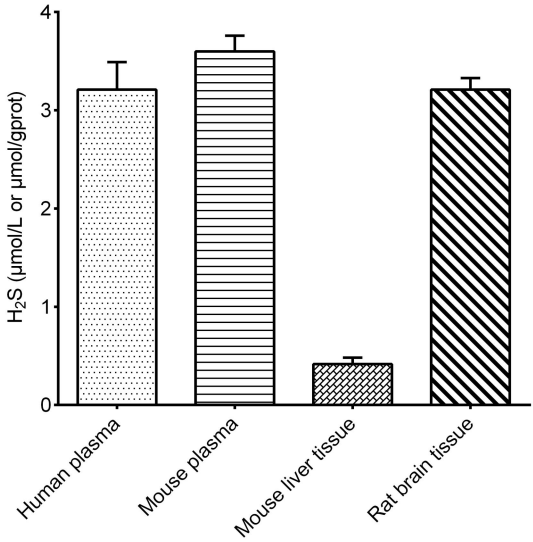
例如检测大鼠肾组织(数据仅供参考)：

取100 μL 10%大鼠肾组织匀浆，按照操作步骤检测，结果如下：

测定孔平均OD值为0.291，对照平均OD值为0.271，10%大鼠肾组织蛋白浓度为7.84 gprot/L，计算结果为：

$$H_2S\ 含量\ (\mu mol/gprot) = (0.291 - 0.271) \div 9.4 \div 0.7 \times 1000 \div 7.84\ gprot/L = 0.39\ \mu mol/gprot$$

按照操作过程，测定人血浆(加样量100 μL)、小鼠血浆(加样量100 μL)、小鼠肝脏组织(10%组织的蛋白含量12.57 gprot/L，加样量100 μL)和大鼠脑组织(10%组织的蛋白含量2.82 gprot/L，加样量100 μL)中含量(如下图)：



附录3　问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
复孔差异大	弃上清时，将部分沉淀去除了	使用倾倒的方式
	吸取上清到酶标板中时，取到了沉淀	小心吸取
样本、标准品显色浅	静置时间太短	保证充足的静置时间
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适的稀释倍数，重新检测
	样本保存时间过长或保存不当	取新鲜样本，重新检测
样本测量结果＞100 μmol/L	样本浓度太高	选择合适的稀释倍数，重新检测

声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Zong Q , Li J , Xu Q ,et al.Self-immolative poly(thiocarbamate) with localized H2S signal amplification for precise cancer imaging and therapy[J].Nature Communications, 15(1):1-14[2025-04-27].DOI:10.1038/s41467-024-52006-0.

2. Liang J , Ling J , Sun D ,et al.Dextran - Based Antibacterial Hydrogel Dressings for Accelerating Infected Wound Healing by Reducing Inflammation Levels[J].Advanced Healthcare Materials, 2024, 13(22).DOI:10.1002/adhm.202400494.

3. Stachowicz A , Czepiel K , Winiewska A ,et al.Mitochondria-targeted hydrogen sulfide donor reduces fatty liver and obesity in mice fed a high fat diet by inhibiting de novo lipogenesis and inflammation via mTOR/SREBP-1 and NF- κ B signaling pathways[J].Pharmacological Research, 2024, 209(000):16.DOI:10.1016/j.phrs.2024.107428.

4. Yu S , Wang X , Li Z ,et al.Solobacterium moorei promotes the progression of adenomatous polyps by causing inflammation and disrupting the intestinal barrier[J].Journal of Translational Medicine, 2024, 22(1):17.DOI:10.1186/s12967-024-04977-3.

5. Zhang Y , Fang J , Ye S ,et al.A hydrogen sulphide-responsive and depleting nanoplatform for cancer photodynamic therapy[J].Nature Communications, 2022, 13.DOI:10.1038/s41467-022-29284-7.

6. Griffiths K K , Wang A , Levy J R J .Sulfide quinone oxidoreductase contributes to voltage sensing of the mitochondrial permeability transition pore[J].The FASEB Journal, 2024, 38(4):e23494-e23494.DOI:10.1096/fj.202301280R.