

(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<sub>2</sub>S)比色法测试盒

(间接法)

Hydrogen Sulfide (H<sub>2</sub>S) 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](mailto:biochemical@elabscience.cn)

网址: [www.elabscience.cn](http://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<sub>2</sub>S 在 Fe<sup>3+</sup>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<sub>2</sub>S 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℃ 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℃ 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℃ 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℃ 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℃ 避光 保存 6 个月
	96 孔酶标板	1 板		
	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  $\mu$ L, 200  $\mu$ L, 100  $\mu$ L)、离心机。

**耗材:** 枪头(1000  $\mu$ L, 200  $\mu$ L)、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  $\times$  g, 4  $^{\circ}$ 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  $\mu$ mol/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  $\mu\text{L}$  试剂一加入到对照管、测定管中。

② 对照管：取 100  $\mu\text{L}$  双蒸水加到对照管中；

测定管：取 100  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$  试剂二，涡旋混匀 3 s。

⑤ 12000  $\times g$ ，4  $^{\circ}\text{C}$ ，离心 10 min，弃上清，留沉淀。

⑥ 向步骤⑤中各管加入 150  $\mu\text{L}$  双蒸水，涡旋混匀 3 s。

⑦ 12000  $\times g$ ，4  $^{\circ}\text{C}$ ，离心 10 min，弃上清，留沉淀。

⑧ 向步骤⑦中各管加入 100  $\mu\text{L}$  试剂一。

⑨ 向步骤⑧中各管加入 100  $\mu\text{L}$  试剂三。

⑩ 向步骤⑨中各管加入 20  $\mu\text{L}$  试剂五，静置 30 s 后，混匀 5 s。

⑪ 向步骤⑩中各孔加入 100  $\mu\text{L}$  试剂四。

⑫ 涡旋混匀 3 s，12000 $\times g$ ，4  $^{\circ}\text{C}$ ，离心 10 min，取 250  $\mu\text{L}$  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( $\mu\text{L}$ )	100	100
样本( $\mu\text{L}$ )	--	100
双蒸水( $\mu\text{L}$ )	100	--
充分混匀 10 s		
试剂二( $\mu\text{L}$ )	100	100
涡旋混匀 3 s, $12000 \times g$ , $4^\circ\text{C}$ , 离心 10 min, 弃上清, 留沉淀		
双蒸水( $\mu\text{L}$ )	150	150
涡旋混匀 3 s, $12000 \times g$ , $4^\circ\text{C}$ , 离心 10 min, 弃上清, 留沉淀		
试剂一( $\mu\text{L}$ )	100	100
试剂三( $\mu\text{L}$ )	100	100
试剂五( $\mu\text{L}$ )	20	20
静置 30 s 后, 混匀 5 s		
试剂四( $\mu\text{L}$ )	100	100
涡旋混匀 3 s, $12000 \times g$ , $4^\circ\text{C}$ , 离心 10 min, 取 $225 \mu\text{L}$ 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<sub>2</sub>S 含量计算公式:

$$\text{H}_2\text{S 含量} \frac{\Delta A_{665}}{\varepsilon \times b} \times f$$

( $\mu\text{mol/L}$ )

组织样本中 H<sub>2</sub>S 含量计算公式:

$$\text{H}_2\text{S 含量} \frac{\Delta A_{665}}{\varepsilon \times b} \times f \div C_{\text{Pr}}$$

( $\mu\text{mol/gprot}$ )

注解:

$\Delta A_{665}$ : 样本测定 OD 值-对照 OD 值

$\varepsilon$ :  $9.4 \times 10^{-3} \text{ L}/(\mu\text{mol} \cdot \text{cm})$  (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

$C_{\text{Pr}}$ : 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 $\mu\text{mol/L}$	平均批间差	9.9 %
灵敏度	0.15 $\mu\text{mol/L}$	平均批内差	3.1 %
平均回收率	94 %		

## 附录2 实例分析

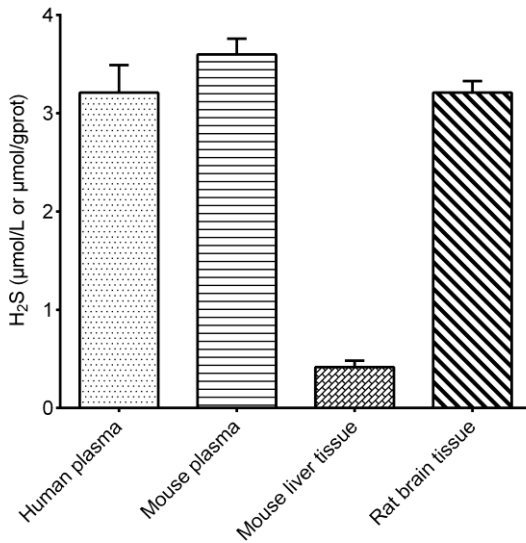
例如检测大鼠肾组织(数据仅供参考):

取100  $\mu\text{L}$  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  $\text{gprot/L}$ , 计算结果为:

$$\text{H}_2\text{S 含量} = (0.291 - 0.271) \div 9.4 \div 0.7 \times 1000 \div 7.84 \text{ gprot/L} = 0.39 \text{ } \mu\text{mol/gprot} \text{ (}\mu\text{mol/gprot)}$$

按照操作过程, 测定人血浆(加样量100  $\mu\text{L}$ )、小鼠血浆(加样量100  $\mu\text{L}$ )、小鼠肝脏组织(10%组织的蛋白含量12.57  $\text{gprot/L}$ , 加样量100  $\mu\text{L}$ )和大鼠脑组织(10%组织的蛋白含量2.82  $\text{gprot/L}$ , 加样量100  $\mu\text{L}$ )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 $\mu\text{mol/L}$	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. Du S, Zhou N, Xie G, et al. Surface-engineered triboelectric nanogenerator patches with drug loading and electrical stimulation capabilities: Toward promoting infected wounds healing[J]. *Nano Energy*, 2021, 85:106004. IF:17.087
2. Bartolini D, Arato I, Mancuso F, et al. Melatonin modulates Nrf2 activity to protect porcine pre-pubertal Sertoli cells from the abnormal H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generation and reductive stress effects of cadmium. *J Pineal Res.* 2022;73 (1):e12806. IF:13.007
3. Yang Z, Wang J, Ai S, et al. Self-generating oxygen enhanced mitochondrion-targeted photodynamic therapy for tumor treatment with hypoxia scavenging[J]. *Theranostics*, 2019, 9(23): 6809. IF:11.556
4. Wan Q, Cao R, Wen G, et al. Sequential use of UV-LEDs irradiation and chlorine to disinfect waterborne fungal spores: Efficiency, mechanism and photoreactivation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 423:127102-. IF:10.588
5. Tian J, Wang L, Hui S, et al. Cadmium accumulation regulated by a rice heavy-metal importer is harmful for host plant and leaf bacteria. *J Adv Res.* 2022. IF:10.479
6. Jg A, Jie S B, Jy B, et al. Comparative toxicity reduction potential of UV/sodium percarbonate and UV/hydrogen peroxide treatments for bisphenol A in water: An integrated analysis using chemical, computational, biological, and metabolomic approaches[J]. *Water Research*, 2020, 190. IF:9.702
7. Yang X X, Xu X, Wang M F, et al. A nanoreactor boosts chemodynamic therapy and ferroptosis for synergistic cancer therapy using molecular amplifier dihydroartemisinin[J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2022, 20(1):1-19. IF:9.464
8. Liu Z, Liu X, Yang Q, et al. Neutrophil membrane-enveloped nanoparticles for the amelioration of renal ischemia-reperfusion injury in mice[J]. *Acta Biomaterialia*, 2020, 104: 158-166. IF:8.947
9. Huang S, Le H, Hong G, et al. An all-in-one biomimetic iron-small interfering RNA nanoplatfrom induces ferroptosis for cancer therapy. *Acta Biomater.* 2022;148:244-257. IF:8.291
10. Alharbi YM, Sakr SS, Albarrak SM, et al. Antioxidative, Antidiabetic, and Hypolipidemic Properties of Probiotic-Enriched Fermented Camel Milk Combined with *Salvia officinalis* Leaves Hydroalcoholic Extract in Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11 (4):. IF:7.675
11. Wang H, Huang Q, Zhang Z, et al. Transient post-operative overexpression of CXCR2 on

- monocytes of traumatic brain injury patients drives monocyte chemotaxis toward cerebrospinal fluid and enhances monocyte-mediated immunogenic cell death of neurons in vitro[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2022. IF:7.573
12. Liu P, Yin Z, Chen M, et al. Cytotoxicity of adducts formed between quercetin and methylglyoxal in PC-12 cells[J]. *Food Chemistry*, 2021, 352(2):129424. IF:7.514
  13. Adhikari B, Adhikari M, Ghimire B, et al. Cold plasma seed priming modulates growth, redox homeostasis and stress response by inducing reactive species in tomato (*Solanum lycopersicum*)[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2020, 156: 57-69. IF:7.376
  14. Zhao X, Wang C, Dai S, et al. Quercetin Protects Ethanol-Induced Hepatocyte Pyroptosis via Scavenging Mitochondrial ROS and Promoting PGC-1  $\alpha$  -Regulated Mitochondrial Homeostasis in L02 Cells. *Oxid Med Cell Longev*. 2022;2022:4591134. IF:7.31
  15. Chagas TQ, Freitas N, Montalvão MF, Nobrega RH, Machado MRF, Charlie-Silva I, Araújo APDC, Guimarães ATB, Alvarez TGDS, Malafaia G. Multiple endpoints of polylactic acid biomicroplastic toxicity in adult zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *Chemosphere*. 2021 Aug;277:130279. IF:7.086
  16. Mlindeli Gamede, Lindokuhle Mabuza, Phikelelani Ngubane, et al. Preventing the onset of diabetes-induced chronic kidney disease during prediabetes: The effects of oleanolic acid on selected markers of chronic kidney disease in a diet-induced prediabetic rat model[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2021 Jul;139:111570. IF:6.529
  17. Yang H, Zhu Y, Ye Y, et al. Nitric oxide protects against cochlear hair cell damage and noise-induced hearing loss through glucose metabolic reprogramming.[J]. *Free radical biology & medicine*, 2021. IF:6.525
  18. Rao M J, Xu Y, Tang X, et al. CsCYT75B1, a Citrus CYTOCHROME P450 Gene, Is Involved in Accumulation of Antioxidant Flavonoids and Induces Drought Tolerance in Transgenic Arabidopsis[J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2020, 9(2):161. IF:6.313
  19. Liou G G, Hsieh C C, Lee Y J, et al. N-Acetyl Cysteine Overdose Inducing Hepatic Steatosis and Systemic Inflammation in Both Propacetamol-Induced Hepatotoxic and Normal Mice[J]. *Antioxidants*, 2021, 10(3):442. IF:6.312
  20. Wang Y, Chi H, Xu F, et al. Cadmium chloride-induced apoptosis of HK-2 cells via interfering with mitochondrial respiratory chain[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022, 236:113494-. IF:6.233



