

(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-K894-M

产品规格: 48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器: 酶标仪(670-690 nm)

Elabscience®硫化氢(H₂S)比色法测试盒(直接法)

Hydrogen Sulfide (H₂S) Colorimetric

Assay Kit(Direct 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(H₂S)含量。

检测原理

硫化氢(H₂S)在 Fe³⁺及显色剂存在下,可形成稳定的亚甲基蓝,亚甲基蓝在 680 nm 处有最大吸收峰,通过测定其吸光值可计算 H₂S 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)	9 mL×1 瓶	18 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	显色剂 (Chromogenic Agent)	3 mL×1 瓶	6 mL×1 瓶	2-8℃ 避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	铁盐试剂 (Ferric Salt Reagent)	3 mL×1 瓶	6 mL×1 瓶	2-8℃ 避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	标准品 (Standard)	7.8 mg×1 支	7.8 mg×1 支	2-8℃ 避光 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	标准品稀释液 (Standard Diluent)	60 mL×2 瓶	60 mL×2 瓶	2-8℃ 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(670-690 nm，最佳检测波长为 680 nm)、涡旋混匀仪、微量移液器(1000 μL ，200 μL ，100 μL ，10 μL)、离心机。

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。

② 1 mmol/L标准品配制：

取一支试剂四用100 mL试剂五溶解，现配现用，2-8 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存1天。

③ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度($\mu\text{mol/L}$)	0	10	20	30	40	60	80	100
1 mmol/L 标准品(μL)	0	10	20	30	40	60	80	100
试剂五(μL)	1000	990	980	970	960	940	920	900

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)：匀浆介质体积(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℃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：1.97-100 $\mu\text{mol/L}$ ，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	不稀释
小鼠血浆	不稀释	10%大鼠脑组织	不稀释
10%大鼠脾脏组织	不稀释		

注：稀释液为生理盐水(0.9% NaCl)。

实验关键点

- ① 在通风橱内进行标准品溶液配制和标准曲线实验。
- ② 溶血会影响测定结果，应避免样本溶血。
- ③ 当检测时测定孔出现浑浊，请稀释样本后再进行检测。
- ④ 检测小鼠血清时，建议将上样量提升至 100 μL ，试剂一降至 100 μL ；标准品检测保持同步。

操作步骤

- ① 向标准孔、测定孔加入 150 μL 试剂一。
- ② 标准孔：加入 50 μL 不同浓度标准品。
测定孔：加入 50 μL 待测样本。
- ③ 向②中各孔加入 50 μL 试剂二。
- ④ 向③中各孔加入 50 μL 试剂三。
- ⑤ 在酶标仪上振板 10 s，覆膜室温避光静置 20 min，酶标仪 680 nm 处，测各孔 OD 值。

操作表

	标准孔	测定孔
试剂一(μL)	150	150
不同浓度标准品(μL)	50	--
待测样本(μL)	--	50
试剂二(μL)	50	50
试剂三(μL)	50	50
在酶标仪上振板 10 s，覆膜室温避光静置 20 min，酶标仪 680 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

标准品拟合曲线: $y = ax + b$

血清(浆)液体样本中 H_2S 含量计算公式:

$$\begin{matrix} H_2S \text{ 含量} \\ (\mu\text{mol/L}) \end{matrix} = (\Delta A_{680} - b) \div a \times f$$

组织样本中 H_2S 含量计算公式:

$$\begin{matrix} H_2S \text{ 含量} \\ (\mu\text{mol/gprot}) \end{matrix} = (\Delta A_{680} - b) \div a \times f \div C_{pr}$$

注解:

y: 标准品 OD 值-空白 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x: 标准品浓度

a: 标准曲线斜率

b: 标准曲线截距

ΔA_{680} : 样本测定 OD 值-空白 OD 值

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

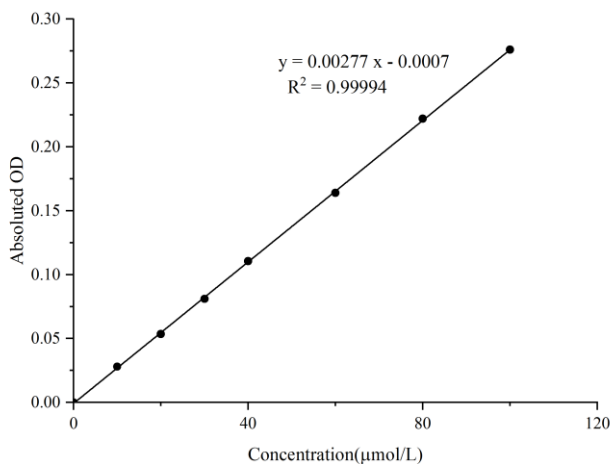
检测范围	1.97-100 $\mu\text{mol/L}$	批间差	4.5-7.7 %
灵敏度	1.97 $\mu\text{mol/L}$	批内差	2.6-4.4 %
加标回收率	95-101 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

①不同浓度标准品加样量50 μL ，按照操作步骤进行实验，OD值如下表所示：

标准品浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	0	10	20	30	40	60	80	100
OD 值	0.075	0.101	0.128	0.155	0.185	0.238	0.296	0.351
	0.073	0.103	0.127	0.155	0.184	0.238	0.296	0.349
平均 OD 值	0.074	0.102	0.128	0.155	0.184	0.238	0.296	0.350
绝对 OD 值	0.000	0.028	0.054	0.081	0.110	0.164	0.222	0.276

②制标准曲线，如下图所示：



附录2 实例分析

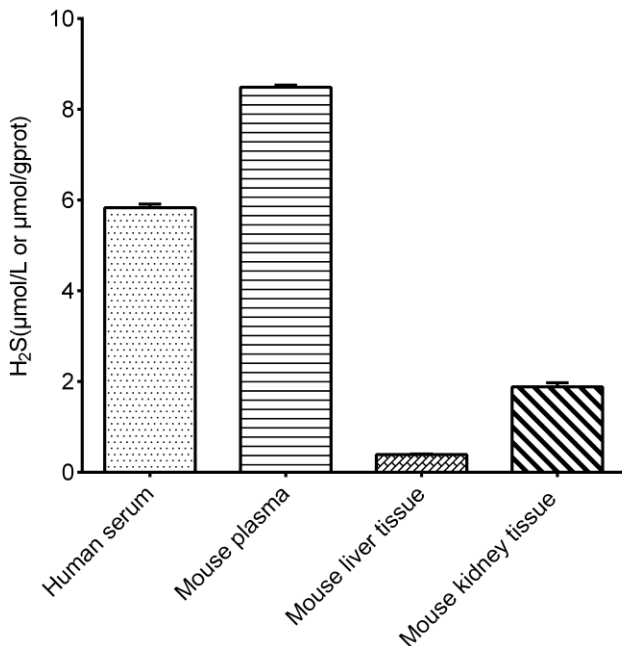
例如检测人血清(数据仅供参考):

取50 μL 人血清样本, 按照操作步骤检测, 结果如下:

H_2S 的标准曲线: $y = 0.00277x - 0.0007$, 测定孔平均OD值为0.097, 空白孔平均OD值为0.082, 计算结果为:

$$\text{H}_2\text{S 含量} = (0.097 - 0.082 + 0.0007) \div 0.00277 = 5.67 \mu\text{mol/L} (\mu\text{mol/L})$$

按照说明书操作, 测定人血清(加样量 50 μL)、小鼠血浆(加样量 50 μL)、小鼠肝脏组织(10%组织匀浆的蛋白含量 13.44 gprot/L , 加样量 50 μL)和小鼠肾组织(10%组织匀浆的蛋白含量 7.97 gprot/L , 加样量 50 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
样本、标准品显色浅	静置时间太短	保证足够静置时间
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。

