

H₂S 含量测定试剂盒说明书

(货号: BP10068W 微板法 96 样 有效期: 6 个月)

一、指标介绍:

H₂S 被认为是细胞内第三种气体信号分子, 在植物体内, 参与植物生长发育、增强生物以及非生物抗逆性, 延缓植物衰老的多种生理过程。在动物体内, 对神经系统有调节作用, 还可舒张血管平滑肌, 降低血压。

在 Fe⁺³(作为氧化剂)存在的强酸性条件下, 硫化氢与 N,N-二甲基对苯二胺反应生成蓝色的亚甲蓝, 亚甲蓝在 665nm 处有最大吸收峰, 故可根据亚甲蓝生成的量来计算植物组织中的 H₂S 的含量。

二、测试盒组成和配制:

试剂组分	试剂规格	存放温度
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存
试剂一	液体 2mL×1 支	4℃避光保存
试剂二	液体 2mL×1 支	4℃避光保存

三、实验器材:

研钵(匀浆机)、冰盒(制冰机)、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅(烘箱、培养箱、金属浴)、96 孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水(去离子水、超纯水均可)。

四、指标测定:

建议先选取 1-3 个差异大的样本(例如不同类型或分组)进行预实验, 熟悉操作流程, 根据预实验结果确定或调整样本浓度, 以防造成样本或试剂不必要的浪费!

1、样本提取:

① 组织样本:

称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆。12000rpm, 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】:若增加样本量, 可按组织质量(g): 提取液体积(mL)为 1:5~10 的比例进行提取

② 细菌/细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液; 冰浴超声波破碎细菌或细胞(冰浴, 功率 20%或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 12000rpm, 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】:若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量(10⁴): 提取液体积(mL)为 500~1000:1 比例进行提取。

③ 液体样本: 直接检测, 若浑浊则离心后取上清检测。

2、检测步骤:

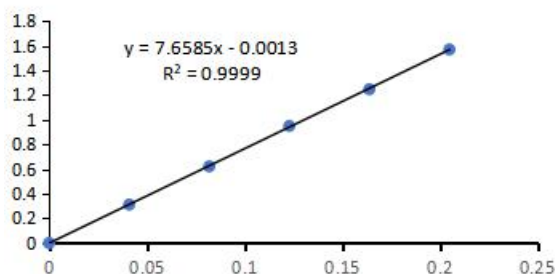
① 酶标仪预热 30min(等仪器过自检程序亦可), 调节波长至 665nm。

② 在 96 孔板中依次加入:

试剂组分 (μL)	测定管	空白管(仅做一次)
上清液	160	
蒸馏水		160
试剂一	20	20
试剂二	20	20
混匀, 室温 (25℃) 反应 15min, 于 665nm 处读取吸光值 A, ΔA=A 测定-A 空白。		

五、结果计算：

1、标准曲线方程： $y = 7.6585x - 0.0013$ ， x 是标准品摩尔质量 (μmol)， y 是 ΔA 。



2、按照样本重量计算：

$$\begin{aligned} \text{H}_2\text{S}(\mu\text{mol/g 鲜重}) &= (\Delta A + 0.0013) \div 7.6585 \div (V1 \div V \times W) \\ &= 0.82 \times (\Delta A + 0.0013) \div W \end{aligned}$$

3、按照蛋白浓度计算：

$$\begin{aligned} \text{H}_2\text{S}(\mu\text{mol/mg Prot}) &= (\Delta A + 0.0013) \div 7.6585 \div (V1 \div V \times \text{Cpr}) \\ &= 0.82 \times (\Delta A + 0.0013) \div \text{Cpr} \end{aligned}$$

4、按照液体体积：

$$\text{H}_2\text{S}(\mu\text{mol/mL}) = (\Delta A + 0.0013) \div 7.6585 \div V1 = 0.82 \times (\Delta A + 0.0013)$$

5、按细胞/细菌数量计算：

$$\begin{aligned} \text{H}_2\text{S}(\mu\text{mol}/10^4 \text{ 个}) &= (\Delta A + 0.0013) \div 7.6585 \div (V1 \div V \times 500) \\ &= 0.82 \times (\Delta A + 0.0013) \div 500 \end{aligned}$$

V ---加入提取液体积， 1mL； $V1$ ---反应中样品体积， 0.16mL； W ---样品质量， g。

500---细菌或细胞总数， 万。

Cpr ---样本蛋白质浓度， mg/mL， 建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。