

H₂S 含量测定试剂盒说明书

(微板法 96 样)

一、产品简介:

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 Fe³⁺(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:

试剂名称	规格	保存要求
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存
试剂一	液体 2mL×1 瓶	4℃保存
试剂二	液体 2mL×1 瓶	4℃保存

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、天平、低温离心机、蒸馏水。

四、H₂S 含量测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定,了解本批样品情况,熟悉实验流程,避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

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、上机检测:

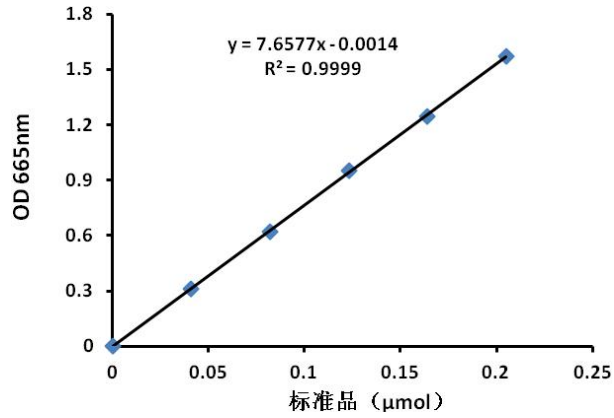
① 酶标仪预热 30min,调节波长至 665nm。

② 在 96 孔板中依次加入:

试剂名称(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: $y = 7.6577x - 0.0014$, x 是标准品摩尔质量(μmol), y 是 ΔA。



2、按照样本重量计算：

$$\begin{aligned} \text{H}_2\text{S}(\mu\text{mol/g 鲜重}) &= (\Delta A + 0.0014) \div 7.6577 \div (V1 \div V \times W) \\ &= 0.82 \times (\Delta A + 0.0014) \div W \end{aligned}$$

3、按细胞/细菌数量计算：

$$\begin{aligned} \text{H}_2\text{S}(\mu\text{mol}/10^4 \text{ 个}) &= (\Delta A + 0.0014) \div 7.6577 \div (V1 \div V \times \text{细胞数量}) \\ &= 0.82 \times (\Delta A + 0.0014) \div \text{细胞数量} \end{aligned}$$

4、按照液体体积：

$$\text{H}_2\text{S}(\mu\text{mol/mL}) = (\Delta A + 0.0014) \div 7.6577 \div V1 = 0.82 \times (\Delta A + 0.0014)$$

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。