

半胱氨酸 (Cysteine, Cys) 含量检测试剂盒 (微量法)
(本试剂盒仅供科研使用)**产品包装**

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0098	半胱氨酸 (Cysteine, Cys) 含量检测试剂盒 (微量法)	100 管/96 样

产品内容

名称	规格	储存条件
试剂一	液体 ×1 瓶	4℃
试剂二	液体 ×1 瓶	4℃
试剂三	粉剂 ×1 瓶: 使用前 1 天, 加入 2.5mL 蒸馏水充分溶解, 再加 85% 磷酸 0.625mL, 混匀后盖紧 (防止水分散失) 沸水浴 30min; 冷却后加入 10mL 蒸馏水, 4℃可保存 2 周。	4℃
标准品	粉剂 ×1 瓶: 临用前加入 10mL 蒸馏水充分溶解, 1μmol/mL 标准液, 4℃避光保存。用不完的试剂 4℃可保存 3 天。	4℃, 避光

一、产品说明

蛋白质含有三种含硫氨基酸: 甲硫氨酸、胱氨酸和 Cys。其中, Cys 是唯一一种含有巯基的含硫氨基酸, 从甲硫氨酸转化而来, 并且可与胱氨酸互相转化。Cys 参与蛋白质二硫键的形成, 经常是蛋白质活性中心的组成部分, 还可以为其它生理生化反应提供巯基。此外, Cys 大量积聚在皮肤和粘膜表面, 在角蛋白生成中维持重要的巯基酶的活性, 并且补充巯基, 以维持皮肤的正常代谢, 调节表皮最下层的色素细胞生成的底层黑色素。具有美白、解毒、改善炎症和过敏性皮肤等作用。

Cys 还原磷钨酸生成钨蓝, 在 600nm 处有吸收峰; 通过 600nm 吸光度, 计算 Cys 含量。

二、自备材料

低温离心机、可调式移液枪、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、85% 磷酸和蒸馏水。

三、样品准备

- 1、组织: 按照组织质量 (g): 试剂一体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 试剂一), 进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
- 2、细胞/细菌: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 按照细菌或细胞数量 (10⁴ 个): 试剂一体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 试剂一), 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); 8000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
- 3、液体样本: 取 0.1mL 液体样品, 加试剂一 0.9mL, 充分混匀, 8000g 4℃离心 10min, 取上清液, 置冰上待测。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 1、分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 600nm, 蒸馏水调零。
- 2、空白管: 取微量石英比色皿/96 孔板, 加入 20 μ L 蒸馏水, 100 μ L 试剂二, 100 μ L 试剂三, 混匀后室温静置 15 min, 于 600nm 处测定吸光值, 记为 A 空白管。
- 3、标准管: 取微量石英比色皿/96 孔板, 加入 20 μ L 标准液, 100 μ L 试剂二, 100 μ L 试剂三, 混匀后室温静置 15 min, 于 600nm 处测定吸光值, 记为 A 标准管。
- 4、测定管: 取微量石英比色皿/96 孔板, 加入 20 μ L 上清液, 100 μ L 试剂二, 100 μ L 试剂三, 混匀后室温静置 15 min, 于 600nm 处测定吸光值, 记为 A 测定管。

五、Cys 含量的计算

A. 用 96 孔板测定的计算公式如下:

- 1、按照样本蛋白浓度计算:

半胱氨酸含量 (μ mol /mg prot) = [C 标准品 $\times$ V 标准品 $\times$ (A 测定管 - A 空白管) $\div$ (A 标准管 - A 空白管)] $\div$ (V 样 $\times$ Cpr)

=1 $\times$ (A 测定管 - A 空白管) $\div$ (A 标准管 - A 空白管) $\div$ Cpr。

需要另外测定蛋白浓度, 建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒。

- 2、按照样本鲜重计算:

半胱氨酸含量 (μ mol/g 鲜重) = [C 标准品 $\times$ V 标准品 $\times$ (A 测定管 - A 空白管) $\div$ (A 标准管 - A 空白管)] $\times$ (V 样总 $\div$ V 样) $\div$ W

=1 $\times$ (A 测定管 - A 空白管) $\div$ (A 标准管 - A 空白管) $\div$ W。

- 3、按照细胞/细菌数量计算:

氨基酸含量 (μ mol /10⁴ ceLL) = [C 标准品 $\times$ V 标准品 $\times$ (A 测定管 - A 空白管) $\div$ (A 标准管 - A 空白管)] $\times$ (V 样总 $\div$ V 样 $\times$ 细胞数量)

=1 $\times$ (A 测定管 - A 空白管) $\div$ (A 标准管 - A 空白管) $\div$ 细胞数量。

- 4、按照液体体积计算:

半胱氨酸含量 (μ mol/mL) = [C 标准品 $\times$ V 标准品 $\times$ (A 测定管 - A 空白管) $\div$ (A 标准管 - A 空白管)] $\times$ (V 样总 $\div$ V 样)

=1 $\times$ (A 测定管 - A 空白管) $\div$ (A 标准管 - A 空白管)。

C 标准品: 标准品浓度, 1 μ mol/mL; V 标准品: 反应体系中加入标准品体积, 0.02mL;

V 样: 反应体系中加入样品提取液体积, 0.02 mL; V 样总: 样品提取液, 1mL; W: 样品质量, g。

B. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

- 1、按照样本蛋白浓度计算:

半胱氨酸含量 (μ mol /mg prot) = [C 标准品 $\times$ V 标准品 $\times$ (A 测定管 - A 空白管) $\div$ (A 标准管 - A 空白管)] $\div$ (V 样 $\times$ Cpr)

=1 $\times$ (A 测定管 - A 空白管) $\div$ (A 标准管 - A 空白管) $\div$ Cpr。

需要另外测定蛋白浓度, 建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒。

- 2、按照样本鲜重计算:

半胱氨酸含量 (μ mol/g 鲜重) = [C 标准品 $\times$ V 标准品 $\times$ (A 测定管 - A 空白管) $\div$ (A 标准管 - A 空白管)] $\times$ (V 样总 $\div$ V 样) $\div$ W

$=1 \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \div W$ 。

3、按照细胞/细菌数量计算:

氨基酸含量 ($\mu\text{mol} / 10^4 \text{ ceLL}$) $= [C_{\text{标准品}} \times V_{\text{标准品}} \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}})] \times (V_{\text{样总}} \div V_{\text{样}} \times \text{细胞数量})$

$= 1 \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \div \text{细胞数量}$ 。

4、按照液体体积计算:

半胱氨酸含量 ($\mu\text{mol/mL}$) $= [C_{\text{标准品}} \times V_{\text{标准品}} \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}})] \times (V_{\text{样总}} \div V_{\text{样}})$

$= 1 \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}})$ 。

C 标准品: 标准品浓度, $1 \mu\text{mol/mL}$; V 标准品: 反应体系中加入标准品体积, 0.02mL ;

V 样: 反应体系中加入样品提取液体积, 0.02 mL ; V 样总: 样品提取液, 1mL ; W: 样品质量, g。

六、注意事项

- 1、空白管和标准管只需测一次。
- 2、本试剂盒检测最低下限为 $100\mu\text{mol/L}$ 。