

上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0381

Size: 100T/96S

半胱氨酸 (Cys) 检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义:

蛋白质含有三种含硫氨基酸: 甲硫氨酸、胱氨酸和半胱氨酸 (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。

二、测定原理:

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。

三、需自备的仪器和用品:

低温离心机、可调式移液枪、可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、磷酸和蒸馏水。

四、试剂的组成和配置：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 50mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 15mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉剂×1 瓶	4℃保存	用前1天，向试剂二中加2mL蒸馏水充分溶解，再加磷酸0.5mL，混匀后盖紧(防止水分散失)沸水浴2h；冷却后加8mL蒸馏水，4℃可保存2周
标准品	粉剂×1支，10mg 半胱氨酸	4℃保存	

五、操作步骤：

● 半胱氨酸提取：

1、液体样品中半胱氨酸提取：取 0.2mL 液体样品，加提取液 0.3mL，充分混匀，11000 rpm 4℃离心 10min，取上清液，待测。

2、组织中半胱氨酸提取：称取约 0.2 g 组织，加入提取液 0.5 mL，冰上充分研磨，11000 rpm 4℃离心10 min，取上清液待测。

● 测定操作：

1. 可见分光光度计/酶标仪预热 30 min 以上，调节波长到 600 nm，蒸馏水调零。

2. 标准液的配制：将标准品加入 0.826mL 蒸馏水，可得到 100μmol/mL 的标准液，稀释为 40、20、10、8、4、2、1、0.5 μmol/mL 浓度的标准溶液。

3. 按下表加入各试剂

试剂名称 (μL)	测定管	标准管	空白管
样本	40		
标准品		40	
蒸馏水			40
试剂一	100	100	100
试剂二	60	60	60

混匀后室温静置 15 min, 于 600nm 处测定吸光值。

六、样品中半胱氨酸含量计算:

1、标准曲线的绘制:

以各标准溶液浓度为 x 轴, 以 ΔA (A 标准管-A 空白管) 为 y 轴做标准曲线, 得到方程 $y=kx+b$ 。将 (A 测定管-A 对照管) 带入方程求 x 值。

2、半胱氨酸含量计算:

- 按液体样本的体积计算

半胱氨酸含量 ($\mu\text{ mol/mL}$) = $x \times V_{\text{样总}} \div V_{\text{样1}} = 2.5x$

- 按鲜重计算:

半胱氨酸含量 ($\mu\text{ mol/g 鲜重}$) = $x \times V_{\text{样2}} \div (W \times V_{\text{样2}} \div V_{\text{样总}}) = 2x \div W$

V 样1: 提取体系中加入的样本体积, 0.2mL; V 样2: 反应体系中加入的样本体积, 0.04mL;

V 样总: 提取体系体积, 0.5mL。W: 样品质量, g。