

上海茁彩生物科技有限公司  
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

## 半胱氨酸 (cysteine, Cys) 含量测定试剂盒说明书 微量法

注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

### 产品内容：

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，向试剂二中加入 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	-

### 产品说明：

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。

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

### 试验所需自备仪器和用品：

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。

### 操作步骤：

#### 一、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、组织后半胱氨酸提取：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。

#### 二、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。

### 三、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  $\Delta A$  (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:

##### a. 按液体样本的体积计算

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

##### b. 按鲜重计算:

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

$V_{\text{样 1}}$ : 提取体系中加入的样本体积, 0.2mL;  $V_{\text{样 2}}$ : 反应体系中加入的样本体积, 0.04mL;  $V_{\text{样总}}$ : 提取体系体积, 0.5mL。W: 样品质量, g。