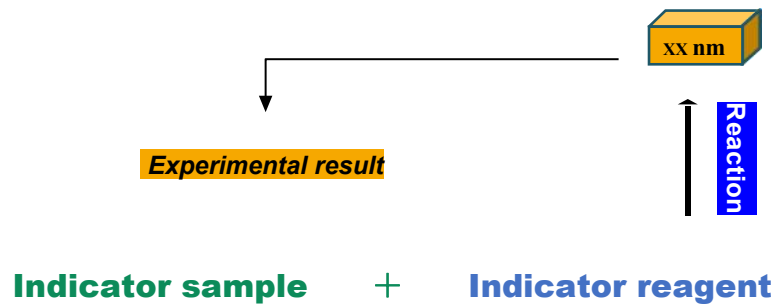


上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



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 可见分光光度法

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。

测定意义：

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。

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。

自备仪器和用品：

可见分光光度计、低温离心机、可调式移液枪、1mL 玻璃比色皿、磷酸和蒸馏水。

试剂的组成和配制：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体×1 瓶	4℃保存	-
试剂二	液体×1 瓶	4℃保存	-
试剂三	液体×1 瓶	4℃保存	-
标准品	液体×1 瓶	4℃保存	1 μmol/mL 标准液

半胱氨酸提取：

- 1、液体样品中半胱氨酸提取：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，待测。
- 2、组织中半胱氨酸提取：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 10 min，取上清液待测。
- 3、细菌或培养细胞：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。

测定操作：

1. 分光光度计预热30min，调节波长到600nm，蒸馏水调零。
2. 空白管：取1mL玻璃比色皿，加入100 μL蒸馏水，500 μL试剂二，500 μL试剂三混匀后室温静置15min，于600nm 处测定吸光值，记为 A 空白管。
3. 标准管：取1mL玻璃比色皿，加入100 μL 标准液，500 μL试剂二，500 μL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 1mL玻璃比色皿，加入100 μL上清液，500 μL试剂二，500 μL试剂三，混匀后室温静置 15min，于600nm处测定吸光值，记为A测定管。

注意：空白管和标准管只需要做一次。

计算公式：

1. 按液体样品的体积计算：

$$\text{半胱氨酸含量} (\mu\text{mol/mL}) = [\text{C标准品} \times \text{V标准品} \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管})] \times (\text{V样总} \div \text{V样}) = 1 \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管})$$

2. 按样本质量计算：

$$\text{半胱氨酸含量} (\mu\text{mol/g}) = [\text{C标准品} \times \text{V标准品} \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管})] \times (\text{V样总} \div \text{V样}) \div \text{W} = 1 \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管}) \div \text{W}$$

3. 按照蛋白浓度计算：

$$\text{半胱氨酸含量} (\mu\text{mol /mg prot}) = [\text{C标准品} \times \text{V标准品} \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管})] \div (\text{V样} \times \text{Cpr}) = 1 \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管}) \div \text{Cpr}$$

4. 按细胞数量计算：

$$\text{氨基酸含量} (\mu\text{mol} / 10^4 \text{cell}) = [\text{C标准品} \times \text{V标准品} \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管})] \times (\text{V样总} \div \text{V样} \times \text{细胞数量}) = 1 \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管}) \div \text{细胞数量}$$

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，0.1 mL；V 样：反应体系中加入样品提取液体积，0.1 mL；V 样总：加入提取液体积，1mL。W：样品质量，g；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL。

注意事项：

最低检出限为 100 $\mu\text{mol/L}$ 。