



半胱氨酸检测试剂盒说明书(精简版)

(货号: A126-1-1 Cysteine Kit, Cys 比色法 50T/48 样)

一、测定意义:

蛋白质含有三种含硫氨酸: 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

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、仪器设备(自备):

可见分光光度计、低温离心机、微量移液枪、磷酸和蒸馏水

四、试剂组成:

试剂一: 液体×1 瓶, 4℃保存。

试剂二: 液体×1 瓶, 4℃保存。

试剂三: 粉剂×1 瓶, 4℃保存。提前一天向试剂三中加5mL蒸馏水充分溶解, 再加磷酸1.25mL, 混匀后盖紧(防止水分散失)沸水浴2h; 冷却后加20mL蒸馏水, 4℃保存2周。

标准品: 1μmol/mL 标准液×1 瓶, 4℃保存。

五、操作步骤:

1、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): 提取液体积(mL)=1: 5~10 的比例(即 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): 提取液体积(mL) = 500~1000: 1的比例(建议500万细菌或细胞加入1mL试剂一), 超声破碎细菌或细胞(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。

2、操作表:

试剂名称	空白管	标准管	测定管
双蒸水(μL)	100		
标准液(μL)		100	
样本(μL)			100
试剂二(μL)	800	800	800
试剂三(μL)	100	100	100

混匀, 室温静置15min, 波长600nm, 双蒸水调零, 测定管各管吸光度值。

注: 空白、标准只需做 1-2 管。

六、单位定义与计算公式:

1. 按液体样品的体积计算:

$$\text{Cys浓度} (\mu\text{mol/mL}) = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}}$$

2. 按样本质量计算:

$$\text{Cys浓度} (\mu\text{mol/g组织}) = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \div \frac{W}{V_{\text{样总}}}$$

3. 按蛋白浓度计算:

$$\text{Cys浓度} (\mu\text{mol/mgprot}) = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}}$$

4. 按细胞或细菌数量计算:

$$\text{Cys浓度} (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cells}) = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \div C_{\text{细胞}}$$

C_{标准}: 标准品浓度, 1μmol/mL;

W: 样本质量, g;

V_{样总}: 提取液总体积, mL;

C_{pr}: 样本蛋白浓度, mgprot/mL (prot指蛋白);

C_{细胞}: 细胞浓度, 10⁴个/mL。