

使用说明书

Instruction Manual

半胱氨酸(Cys)含量检测试剂盒（微量法）

Cysteine Assay Kit (Microanalysis)

产品描述

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。

检测原理

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。

产品组成及储存条件

100T/96S 规格的产品组成如下：

组成	规格	储存条件
CB0063M-A	50mL×1 瓶	4℃保存。
CB0063M-B	15mL×1 瓶	4℃保存。
CB0063M-C	粉剂×1 瓶	4℃保存。使用前 1 天，向试剂瓶中加入 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 周有效。
CB0063M-S	标准品×1 支	4℃保存；使用前加入 4.13mL 蒸馏水得到 20μmol/mL 标准液，4℃避光可保存一个月。

操作说明

一、自备用品：

可见分光光度计/酶标仪、低温离心机、水浴锅、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵、磷酸（85%）、冰和蒸馏水。

二、样品处理（半胱氨酸提取）：

- 液体样品中半胱氨酸提取：取 0.2mL 液体样品，加 CB0063M-A 0.3mL，充分混匀，11000 rpm 4℃离心 10min，取上清液，待测。
- 组织中半胱氨酸提取：称取约 0.2g 组织，加入 0.5mL CB0063M-A 进行冰浴匀浆，11000 rpm 4℃离心 10 min，取上清液待测。

三、测定步骤：

（取 1.5mL 离心管，按照下表操作）

- 分光光度计/酶标仪预热 30 min，调节波长到 600 nm，蒸馏水调零。
- 标准液的配制：用蒸馏水稀释为 2、1.5、1、0.5、0.25、0.125 μmol/mL 浓度的标准溶液。

试剂名称	空白管 (μL)	标准管 (μL)	测定管 (μL)
蒸馏水	40		
标准品(CB0063M-S)		40	
上清液			40
CB0063M-B	100	100	100
CB0063M-C	60	60	60

混匀后室温静置 15 min, 于 600nm 处测定吸光值。

四、半胱氨酸(Cys)含量计算公式:

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 空白管) 带入方程求 x 值。

2. 半胱氨酸含量计算:

(1) 按液体样本的体积计算半胱氨酸含量 ($\mu\text{mol/mL}$) = $x \times V_{\text{样总}} \div V_{\text{样1}} = 2.5x$

(2) 按样本质量计算半胱氨酸含量 ($\mu\text{mol/g 质量}$) = $x \times V_{\text{样2}} \div (W \times V_{\text{样2}} \div V_{\text{样总}}) = 0.5x \div W$

注: $V_{\text{样1}}$: 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 : 样本质量, g。

注意事项

- 如果测定吸光值超过线性范围吸光值, 可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

