

半胱氨酸(Cys)含量检测试剂盒说明书

Cysteine Assay Kit

微量法

货号：AK053

规格：100T/96S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
AK053-A	50ml×1 瓶	4°C保存
AK053-B	15ml×1 瓶	4°C保存
AK053-C	粉剂×1 瓶	4°C保存。使用前 1 天，向试剂瓶中加 2 mL 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 8 mL 蒸馏水，4°C可保存 2 周。
AK053-S	标准品×1 支	4°C保存；使用前加入 4.13ml 蒸馏水得到 20 umol/mL 标准液，4°C避光可保存一个月。

简介：

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。

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。

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 AK053-A 0.3mL，充分混匀，11000 rpm 4°C 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 AK053-A 进行冰浴匀浆，11000 rpm 4°C 离心 10 min，取上清液待测。

测定步骤：

- 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 5、4、3、2、1、0.5 umol/mL 浓度的标准溶液。

试剂名称	空白管 (ul)	标准管 (ul)	测定管 (ul)
蒸馏水	40		
标准品(AK053-S)		40	
上清液			40
AK053-B	100	100	100
AK053-C	60	60	60
混匀后室温静置 15 min，于 600nm 处测定吸光值			

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：

$$\text{半胱氨酸含量} (\mu\text{mol/mL}) = x \times V_{\text{样总}} \div V_1 = 2.5x$$

(2) 按样本质量计算：

$$\text{半胱氨酸含量} (\mu\text{mol/g 质量}) = x \times V_2 \div (W \times V_2 \div V_{\text{样总}}) = 0.5x \div W$$

注：V1：提取体系中加入的样本体积，0.2mL；V2：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。