

半胱氨酸(Cys)含量检测试剂盒说明书

Cysteine Assay Kit

可见分光光度法

货号：AK052

规格：50T/48S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
AK052-A	液体 25ml×1 瓶	4℃保存
AK052-B	液体 45ml×1 瓶	4℃保存
AK052-C	粉剂×1 瓶	4℃保存；使用前1天，向试剂瓶中加入5 mL 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℃可保存 2 周。
AK052-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。

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、低温离心机、水浴锅、可调式移液器、1ml 玻璃比色皿、研钵、磷酸、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 AK052-A 0.3mL，充分混匀，11000 rpm 4℃离心 10min，取上清液待测。
- 组织半胱氨酸提取：称取约 0.2g 组织，加入 0.5mL AK052-A 进行冰浴匀浆，11000 rpm 4℃离心 10 min，取上清液待测。

测定步骤：

- 分光光度计预热 30 min，调节波长到 600 nm，蒸馏水调零。
- 标准液的配制：用蒸馏水将标准液稀释为 2、1、0.5、0.25、0.125、0.0625 μmol/mL 浓度的标准溶液。
- 按下表进行实验操作：

试剂名称	空白管 (ul)	标准管 (ul)	测定管 (ul)
蒸馏水	200		
标准品(AK052-S)		200	
上清液			200
AK052-B	500	500	500
AK052-C	300	300	300
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 半胱氨酸含量 ($\mu\text{mol/mL}$) $=x \times V_{\text{样总}} \div V = 2.5x$

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

注: V : 液体样本体积, 0.2mL; $V_{\text{样总}}$: 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。