

半胱氨酸 (Cys) 含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

注意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

货号：BC0180

规格：50T/48S

产品内容：

提取液：液体 25mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂一：液体 45mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂二：粉剂×1 瓶，4℃ 保存。用前 1 天，向试剂二中加 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 20 mL 蒸馏水，4℃ 可保存 2 周。

标准品：粉剂×1 支，10mg 半胱氨酸，4℃ 保存。

产品说明：

蛋白质含有三种含硫氨基酸：甲硫氨酸、胱氨酸和半胱氨酸 (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。

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。

试验需自备的仪器和用品：

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。

操作步骤：

一、半胱氨酸提取：

- 1、液体样品中半胱氨酸提取：取 0.2mL 液体样品，加提取液 0.3 mL，充分混匀，11000 rpm 4℃ 离心 10min，取上清液，待测。
- 2、组织中半胱氨酸提取：称取约 0.2 g 组织，加入 0.5 mL 提取液，冰上充分研磨，11000 rpm 4℃ 离心 10 min，取上清液待测。

二、测定操作：

1. 分光光度计预热 30 min 以上，调节波长到 600 nm，蒸馏水调零。
2. 标准液的配制：将标准品加入 0.826mL 蒸馏水得到 100 μ mol/mL 的标准液。然后加水稀释为 40、20、10、8、2、1、0.5、0.25 μ mol/mL 浓度的标准溶液。
3. 按下表加入各试剂

试剂名称 (μ L)	测定管	标准管	空白管
样本	200		
标准品		200	
蒸馏水			200
试剂一	500	500	500
试剂二	300	300	300

混匀后室温静置 15 min，于 600nm 处测定吸光值。

三、样品中半胱氨酸含量计算：

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) 按鲜重计算：

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

V：液体样本体积，0.2 mL；V 样总：提取体系体积，0.5mL；W：样品质量，g。