

半胱氨酸（Cys）含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC0180

规格：50T/48S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 25 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 45 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂×2 瓶	2-8℃保存
标准品	粉剂×1 瓶	2-8℃保存

溶液的配制：

1. 试剂二：用前一天，向试剂二中加入 5 mL 蒸馏水充分溶解，再加磷酸 1.25 mL，混匀后盖紧沸水浴 2h（缠封口膜，防止爆盖）；冷却后加 20 mL 蒸馏水，2-8℃可保存 2 周。（一瓶即可做 50T，为延长试剂盒使用时间，故多给一瓶）
2. 标准品：10 mg 半胱氨酸。将标准品加入 4.13mL 蒸馏水得到 20μmol/mL 的标准液。2-8℃可以保存 4 周。

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 还原磷酸钨酸生成钨蓝，在 600nm 处有吸收峰；通过测定 600nm 吸光度，计算 Cys 含量。

技术指标：

最低检出限：0.0053 μmol/mL

线性范围：0.03125-3 μmol/mL

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

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、研钵/匀浆器、磷酸（85%，AR）和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1、液体样本中半胱氨酸提取：

取 0.2mL 液体样本，加提取液 0.3mL，充分混匀，11000rpm 4℃离心 10min，取上清液待测。





2、组织中半胱氨酸提取：

称取约 0.2g 组织，加入 0.5mL 提取液，冰上充分研磨，11000rpm 4℃离心 10min，取上清液待测。

二、测定步骤

1. 分光光度计预热 30 min 以上，调节波长到 600nm，蒸馏水调零。
2. 标准液的配制：用蒸馏水将 20μmol/mL 的标准液稀释为 2、1、0.5、0.25、0.125、0.0625 μmol/mL 浓度的标准溶液。
3. 按下表加入各试剂

试剂名称 (μL)	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 15min，于 600nm 处测定吸光值。空白管和标准曲线只需测定 1-2 次

三、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

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

(2) 按样本质量计算

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

V：液体样本体积，0.2mL；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。

相关发表文献：

[1] Zheng Q, Liu H, Zhang H, Han Y, Yuan J, Wang T, Gao Y, Li Z. Ameliorating Mitochondrial Dysfunction of Neurons by Biomimetic Targeting Nanoparticles Mediated Mitochondrial Biogenesis to Boost the Therapy of Parkinson's Disease. Adv Sci (Weinh). 2023 Aug;10(22): e2300758. doi: 10.1002/advs.202300758. Epub 2023 May 18. PMID: 37202595; PMCID: PMC10401119.

[2] Meng Y, Cui Y, Peng F, Guo L, Cui R, Xu N, Huang H, Han M, Fan Y, Zhang M, Sun Y, Wang L, Yang Z, Liu M, Chen W, Ni K, Wang D, Zhao L, Lu X, Chen X, Wang J, Wang S, Ye W. GhCYS2 governs the tolerance against cadmium stress by regulating cell viability and photosynthesis in cotton. Ecotoxicol Environ Saf. 2023 Sep 15; 263:115386. doi: 10.1016/j.ecoenv.2023.115386. Epub 2023 Aug 18. PMID: 37598545.

[3] Yang Q, Luo M, Zhou Q, Zhao Y, Chen J, Ji S. Insights into the loss of glucoraphanin in post-harvested broccoli-Possible involvement of the declined supply capacity of sulfur donor. Plant Sci. 2023 Mar; 328:111580. doi: 10.1016/j.plantsci.2022.111580. Epub 2022 Dec 30. PMID: 36587585.



[4] Zheng L, Zhou P, Pan Y, Li B, Shen R, Lan P. Proteomic profile of the germinating seeds reveals enhanced seedling growth in *Arabidopsis rpp1a* mutant. *Plant Mol Biol*. 2023 Oct;113(1-3):105-120. doi: 10.1007/s11103-023-01378-w. Epub 2023 Oct 7. PMID: 37804450.

[5] Zhang J, Zhang L, Zhou Y, Li K, Dai X, Bian L. The fluorescence regulation of a tri-functional oligonucleotide probe HEX-OND in detecting Pb (II), cysteine, and K(I) based on two G-quadruplex forms. *Anal Bioanal Chem*. 2023 Jun;415(14):2763-2774. doi: 10.1007/s00216-023-04681-z. Epub 2023 Apr 27. PMID: 37103561.

相关系列产品:

BC1550/BC1555 谷丙转氨酶 (GPT) 活性检测试剂盒
BC1560/BC1565 谷草转氨酶 (GOT) 活性检测试剂盒
BC0290/BC0295 脯氨酸 (Pro) 含量检测试剂盒
B1570/BC1575 氨基酸 (AA) 含量检测试剂盒

