

## 半胱氨酸（Cys）含量检测试剂盒说明书

微量法

**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：**BC0185

**规格：**100T/96S

**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 50 mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂一  | 液体 15 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 2 mL 蒸馏水充分溶解，再加磷酸 0.5 mL，混匀后盖紧（缠封口膜，防止爆盖）沸水浴 2h；冷却后加 8 mL 蒸馏水，2-8℃可保存 2 周。（一瓶即可做 100T，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，可得到 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：0.0066 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。

### 需自备仪器和用品：

低温离心机、可调式移液枪、可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、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，加入提取液 0.5mL，冰上充分研磨，11000rpm 4℃离心 10 min，取上清液待测。

## 二、测定步骤

1. 可见分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长到 600nm，蒸馏水调零。
2. 标准液的配制：用蒸馏水稀释为 2、1、0.5、0.25、0.125、0.0625μmol/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        | 40  | -   | -   |
| 标准品       | -   | 40  | -   |
| 蒸馏水       | -   | -   | 40  |
| 试剂一       | 100 | 100 | 100 |
| 试剂二       | 60  | 60  | 60  |

混匀后室温静置 15 min，于 600nm 处测定吸光值。

## 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  $\Delta A$  (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

$$\text{半胱氨酸含量} (\mu\text{mol/mL}) = x \times V_{\text{样总}} \div V_{\text{样1}} = 2.5x$$

#### (2) 按样本质量计算

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

V 样 1：提取体系中加入的样本体积，0.2mL；V 样 2：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。

## 相关发表文献：

[1] Jing Y, Luo L, Chen Y, Westerberg LS, Zhou P, Xu Z, Herrada AA, Park CS, Kubo M, Mei H, Hu Y, Lee PP, Zheng B, Sui Z, Xiao W, Gong Q, Lu Z, Liu C. SARS-CoV-2 infection causes immunodeficiency in recovered patients by downregulating CD19 expression in B cells via enhancing B-cell metabolism. Signal Transduct Target Ther. 2021 Sep 22;6(1):345. doi: 10.1038/s41392-021-00749-3. PMID: 34552055; PMCID: PMC8456405.

[2] Li K, Lin C, Li M, Xu K, He Y, Mao Y, Lu L, Geng W, Li X, Luo Z, Cai K. Multienzyme-like Reactivity Cooperatively Impairs Glutathione Peroxidase 4 and Ferroptosis Suppressor Protein 1 Pathways in Triple-Negative Breast Cancer for Sensitized Ferroptosis Therapy. ACS Nano. 2022 Feb 22;16(2):2381-2398. doi: 10.1021/acsnano.1c08664. Epub 2022 Jan 18. PMID: 35041395.

[3] Mao HT, Chen LX, Zhang MY, Shi QY, Xu H, Zhang DY, Zhang ZW, Yuan M, Yuan S, Zhang HY, Su YQ, Chen YE. Melatonin improves the removal and the reduction of Cr (VI) and alleviates the chromium toxicity by antioxidative machinery in Rhodobacter sphaeroides. Environ Pollut. 2023 Feb 15; 319:120973. doi: 10.1016/j.envpol. 2022.120973. Epub 2022 Dec 28. PMID: 36584859.



[4] Zeng YY, Luo YB, Ju XD, Zhang B, Cui YJ, Pan YB, Tian JH, Teng WJ, Wu J, Li Y. Solasonine Causes Redox Imbalance and Mitochondrial Oxidative Stress of Ferroptosis in Lung Adenocarcinoma. *Front Oncol.* 2022 May 18; 12:874900. doi: 10.3389/fonc.2022.874900. PMID: 35664792; PMCID: PMC9158126.

[5] Luo Y, Pang J, Peng C, Ye J, Long B, Tong J, Shi J. Cr (VI) Reduction and Fe (II) Regeneration by *Penicillium oxalicum* SL2-Enhanced Nanoscale Zero-Valent Iron. *Environ Sci Technol.* 2023 Aug 1;57(30):11313-11324. doi: 10.1021/acs.est.3c01390. Epub 2023 Jul 20. PMID: 37474249.

#### 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

BC1570/BC1575 氨基酸 (AA) 含量检测试剂盒

