

# 半胱氨酸检测试剂盒

(货号: BC146 比色法 50T/48 样)

## 一、测定意义:

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。

## 二、测定原理:

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。

## 三、仪器设备 (自备):

可见光分光光度计、低温离心机、微量移液枪、磷酸和蒸馏水

## 四、试剂组成: (50T/48样)

**试剂一:** 液体×1 瓶, 4℃保存。

**试剂二:** 液体×1 瓶, 4℃保存。

**试剂三:** 粉剂×1 瓶, 4℃保存。提前一天向试剂三中加入5mL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℃保存2周。

**标准品:** 1μmol/mL 标准液×1 瓶, 4℃保存。

## 五、操作步骤:

### 1、半胱氨酸提取:

- (1)、液体样品中半胱氨酸提取:** 取0.1mL 液体样品, 加试剂一0.9mL, 充分混匀, 8000g, 4℃离心10min, 取上清液待测。
- (2)、组织中半胱氨酸提取:** 按照组织质量 (g) : 提取液体积 (mL)=1: 5~10 的比例 (即取约0.1g 组织, 加入1mL试剂一) 进行冰浴匀浆, 8000g, 4℃离心10min, 取上清液待测。
- (3)、细菌或培养细胞:** 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 按照细菌或细胞数量 ( $10^4$  个) : 提取液体积 (mL) = 500~1000: 1的比例 (建议500万细菌或细胞加入1mL试剂一), 超声破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率20%或200W, 超声3s, 间隔10s, 重复30 次); 8000g, 4℃离心10min, 取上清, 置冰上待测。

## 2、操作表:

试剂名称	空白管	标准管	测定管
双蒸水 (μL)	100		
标准液 (μL)		100	
样 本 (μL)			100
试剂二 (μL)	800	800	800
试剂三 (μL)	100	100	100
混匀, 室温静置15min, 波长600nm, 双蒸水调零, 测定管各管吸光度值。			
注: 空白、标准只需做 1-2 管。			

## 六、单位定义与计算公式:

### 1. 按液体样品的体积计算:

$$\text{Cys浓度} \left( \frac{\mu\text{mol}}{\text{mL}} \right) = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}}$$

### 2. 按样本质量计算:

$$\text{Cys浓度} \left( \frac{\mu\text{mol}}{\text{g组织}} \right) = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \div \frac{W}{V_{\text{样总}}}$$

### 3. 按蛋白浓度计算:

$$\text{Cys浓度} \left( \frac{\mu\text{mol}}{\text{mgprot}} \right) = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}}$$

### 4. 按细胞或细菌数量计算:

$$\text{Cys浓度} \left( \frac{\mu\text{mol}}{10^4 \text{ cells}} \right) = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \div C_{\text{细胞}}$$

$C_{\text{标准}}$ : 标准品浓度, 1μmol/mL;

$W$ : 样本质量, g;

$V_{\text{样总}}$ : 提取液总体积, mL;

$C_{\text{pr}}$ : 样本蛋白浓度, mgprot/mL (prot指蛋白);

$C_{\text{细胞}}$ : 细胞浓度,  $10^4$ 个/mL。

## 七、检出限:

最低检出限: 0.05μmol/mL。