

半胱氨酸 (Cys) 含量检测试剂盒说明书

(货号: ADS-F-AJS006 分光法 48 样)

一、产品简介:

半胱氨酸 (cysteine, Cys) 是组成蛋白质的氨基酸之一, 半胱氨酸的定量测定在营养学和生物化学的研究中具有重要意义。

本试剂盒利用半胱氨酸的还原性将磷钼杂多酸还原为磷钼杂多蓝, 通过在 710 nm 读取其吸光值, 进而计算出半胱氨酸 (Cys) 含量。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求
提取液	液体 60mL×1 瓶	4°C保存
试剂一	液体 18mL×1 瓶	4°C保存
试剂二	液体 1.5mL×1 支	4°C保存
试剂三	液体 2.5mL×1 支	4°C保存
标准品	液体 1mL×1 支	4°C保存

三、所需仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、可调式移液器、水浴锅/恒温培养箱、离心机、蒸馏水。

四、半胱氨酸 (Cys) 含量检测:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

① 组织样本:

取约 0.1g 组织样本, 加 1mL 的提取液研磨, 粗提液全部转移到 EP 管中, 12000rpm, 常温离心 10min, 上清液待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例进行提取。

② 细菌/细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 12000rpm 室温离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量 (10^4): 提取液 (mL) 为 500~1000: 1 的比例进行提取。

③ 液体样品:

取 0.2mL 液体样品于 EP 管中, 再加 0.8mL 提取液充分混匀, 12000rpm, 常温离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

2、上机检测:

① 可见分光光度计预热 30min, 设定波长到 710nm, 蒸馏水调零。

② 所有试剂解冻至室温, 在 EP 管中依次加入:

试剂 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)	标准管 (仅做一次)
样本	325		
蒸馏水		325	

标准品			325
试剂一	350	350	350
试剂二	25	25	25
试剂三	50	50	50
混匀，置 95°C 水浴 30min（盖紧，防止水分散失），冷却，取全部澄清液体转移至 1mL 玻璃比色皿中，于 710nm 读取吸光值 A， $\Delta A = A - \text{测定-A 空白}$ 。			

【注】：测定管的 A 值若超过 1，可把样本再进行稀释，稀释倍数 D 代入计算公式。

五、结果计算：

1、按照质量计算：

$$\text{半胱氨酸(Cys)含量(mg/g)} = (C \text{ 标准} \times V1) \times \Delta A \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div (V1 \div V \times W) \times D \\ = 2 \times \Delta A \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times D \div W$$

2、按细胞数量计算：

$$\text{半胱氨酸(Cys)含量(mg/g)} = (C \text{ 标准} \times V1) \times \Delta A \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div (500 \times V1 \div V) \times D \\ = 2 \times \Delta A \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times D \div 500$$

3、按照体积计算：

$$\text{半胱氨酸(Cys)含量(mg/mL)} = (C \text{ 标准} \times V1) \times \Delta A \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div (V1 \div V \times V2) \times D \\ = 10 \times \Delta A \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times D$$

C 标准---标品浓度，2mg/mL；

D---稀释倍数，未稀释即为 1；

Mr---半胱氨酸分子量，121.16

V---提取液体积，1mL；

V1---加入样本体积，0.325mL；

V2---液体样本取样量，0.2mL；

500---细胞数量，万。