

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：AC10101

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，有疑问请及时联系本公司工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 25 mL×1 瓶	4°C保存
试剂一	液体 45 mL×1 瓶	4°C保存
试剂二	粉剂×2 瓶	4°C保存
标准品	粉剂×1 瓶	4°C保存

溶液的配制：

1. 试剂二：用前一天，向试剂二中加 5 mL 蒸馏水充分溶解，再加磷酸 1.25 mL，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°C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 20 μ mol/mL 的标准液。4°C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 μ mol/mL

线性范围：0.03125-3 μ mol/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°C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 20 μ mol/mL 的标准液稀释为 2、1、0.5、0.25、0.125、0.0625 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 15min，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 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] Huang Q, Wang M, Xia Z. The SULTR gene family in maize (*Zea mays* L.): gene cloning and expression analyses under sulfate starvation and abiotic stress[J]. Journal of plant physiology, 2018, 220: 24-33.

[2] Yansha Han, Mengyang Wu, Lihong Hao, et al. Sulfur dioxide derivatives alleviate cadmium toxicity by enhancing antioxidant defence and reducing Cd^{2+} uptake and translocation in foxtail millet seedlings. Ecotoxicology and Environmental Safety. August 2018;(IF4.527)