

半胱氨酸（Cys）含量检测试剂盒说明书

（货号：BP10363F 分光法 48 样 有效期：3 个月）

一、指标介绍：

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，进而计算得出半胱氨酸（Cys）含量。

二、试剂盒组分与配制：

试剂组分	试剂规格	存放温度
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃保存
试剂一	液体 18mL×1 瓶	4℃保存
试剂二	液体 1.5mL×1 支	4℃保存
试剂三	液体 3mL×1 瓶	4℃保存
标准品	液体 1mL×1 支	4℃保存

三、实验器材：

研钵（匀浆机）、冰盒（制冰机）、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅（烘箱、培养箱、金属浴）、1ml 比色皿、离心管、分光光度计、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

四、指标测定：

建议先选取 1-3 个差异大的样本（例如不同类型或分组）进行预实验，熟悉操作流程，根据预实验结果确定或调整样本浓度，以防造成样本或试剂不必要的浪费！

1、样本提取：

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、检测步骤：

① 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（ μ L）	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℃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， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。			

【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：

$$\begin{aligned} \text{半胱氨酸(Cys)含量(mg/g)} &= (C_{\text{标准}} \times V_1) \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (V_1 \div V \times W) \times D \\ &= 2 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D \div W \end{aligned}$$

2、按细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{半胱氨酸(Cys)含量(mg/g)} &= (C_{\text{标准}} \times V_1) \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (500 \times V_1 \div V) \times D \\ &= 2 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D \div 500 \end{aligned}$$

3、按照体积计算：

$$\begin{aligned} \text{半胱氨酸(Cys)含量(mg/mL)} &= (C_{\text{标准}} \times V_1) \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (V_1 \div V \times V_2) \times D \\ &= 10 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D \end{aligned}$$

4、按照蛋白浓度计算：

$$\begin{aligned} \text{半胱氨酸(Cys)含量(mg/mg prot)} &= (C_{\text{标准}} \times V_1) \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (V_1 \div V \times C_{\text{pr}}) \times D \\ &= 2 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$

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。

Cpr---蛋白浓度（mg/mL）；建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。