

# 半胱氨酸 (Cys) 含量 检测试剂盒微板法

## 使用说明书

产品货号: BP10363W

注意: 请在试剂盒保质期内使用, 具体保质期见外包装标签。

本产品仅供科学研究使用, 不能用于临床诊断。

检测范围: 0.07-2.0mmol/L

灵敏度: 0.03mmol/L

有效期: 6个月

保存温度: 2-8℃

## 检测原理:

半胱氨酸(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，具有美白、解毒、改善炎症和过敏性皮肤等作用。半胱氨酸还原磷钨酸生成钨蓝，钨蓝在 600nm 处有吸收峰，通过测定 600nm 处的吸光度值，可计算出半胱氨酸的含量。

## 注意事项:

1. 不能使用过期产品，不同货号 and 批号组分不得混用。
2. 本试剂开封后请尽快使用，以免空气、采样污染引起试剂变质。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。
5. 试剂严格按保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。试剂盒中如有提供粉剂，使用前请甩几下，使粉剂落入底部。

试剂名称	规格（48T/40S）	规格（96T/88S）	保存条件
试剂一	50mL×1 瓶	100mL×1 瓶	2-8℃
试剂二	5mL×1 瓶	10mL×1 瓶	2-8℃
试剂三	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃
标准品	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃，避光

试剂盒组分：

所需仪器耗材及试剂：

离心机、酶标仪、96 孔板、可调式移液器、蒸馏水、水浴锅。

## 样本处理及要求:

1. **试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**, 建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定, 根据预实验的结果, 结合本试剂盒的线性范围: 0.07-2.0mmol/L, 如果样品中待测物浓度过高或过低, 请对样本做适当的稀释或浓缩, 样本稀释液为蒸馏水。
2. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中, 建议做预实验验证其检测有效性。
3. **血清(浆)等液体样本**: 取 0.1mL 液体样品, 加试剂一 0.9mL, 充分混匀, 10000 g, 4℃离心 10min, 取上清液, 待测。
4. **组织样本**: 按照组织质量 (g): 试剂一体积(mL)为 1: 5~10 的比例(建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 试剂一)进行冰浴匀浆, 10000 g, 4℃离心 10 min, 取上清液待测。
5. **细菌或培养细胞样本**: 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): 试剂一体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 试剂一), 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 10000 g, 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

### 检测前准备工作:

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温。
2. **试剂三工作液配制:** 用前 1 天，向试剂三中加 1mL 蒸馏水充分溶解，再加 85%磷酸 0.25mL，混匀后盖紧（防止水分散失）沸水浴 2h；冷却后加 4mL 蒸馏水，2-8℃可保存 2 周。
3. **10mmol/L 标准品母液的配制:** 临用前加 10mL 蒸馏水，充分溶解。10mmol/L 标准液，2-8℃避光保存。用不完的试剂 2-8℃可保存 3 天。
4. **标准工作液配置:** 10mmol/L 标准品母液按下表用对应量的蒸馏水稀释成以下浓度的标准品工作液：0mmol/L、0.125mmol/L、0.25mmol/L、0.50mmol/L、0.75mmol/L、1.0mmol/L、1.5mmol/L、2.0mmol/L。

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度 (mmol/L)	0	0.125	0.25	0.50	0.75	1.0	1.5	2.0
10mmol/L 标准品 (μL)	0	25	50	100	150	200	300	400
蒸馏水 (μL)	2000	1975	1950	1900	1850	1800	1700	1600

也可根据实际样本来调整标准品浓度。按照标准孔加样体系操作，依据结果即可制作标准曲线；本说明书中的标曲是用蒸馏水稀释得出，若选取其他稀释液可选择重做标曲。

操作步骤:

1. 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 600nm。
2. 样本测定 (在 96 孔板中依次加入):

试剂名称( $\mu$ L)	标准孔	测定孔
不同浓度标准品	40	
样本上清液		40
试剂二	100	100
试剂三	60	60
混匀后室温静置 15 min, 在 600nm 处测定各孔 OD 值。		

### 实验结果结算：

1. 标准品拟合曲线： $y=ax+b$
2. 液体样本中：Cys 含量(mmol/L) $=(\Delta A-b) \div a \times 10^* \times N$
3. 组织样本中：Cys 含量(mmol/kg 组织湿重) $=(\Delta A-b) \div a \times N \div (W \div V_1)$
4. 细胞样本中：Cys 含量(mmol/ $10^9$ ) $=(\Delta A-b) \div a \times N \div (f \div V_2)$

### 注：

y: 标准孔 OD 值-空白孔 OD 值  
(标准品浓度为 0 时 OD 值)

$V_1$ : 组织处理过程中加入试剂一的  
体积(mL)，建议取 0.9mL

x: 标准品的浓度

N: 样本稀释倍数

a: 标曲的斜率

W: 组织质量, g, 建议取 0.1g

b: 标曲的截距

f: 当加入细胞为  $5 \times 10^6$  个时,  $f=5$

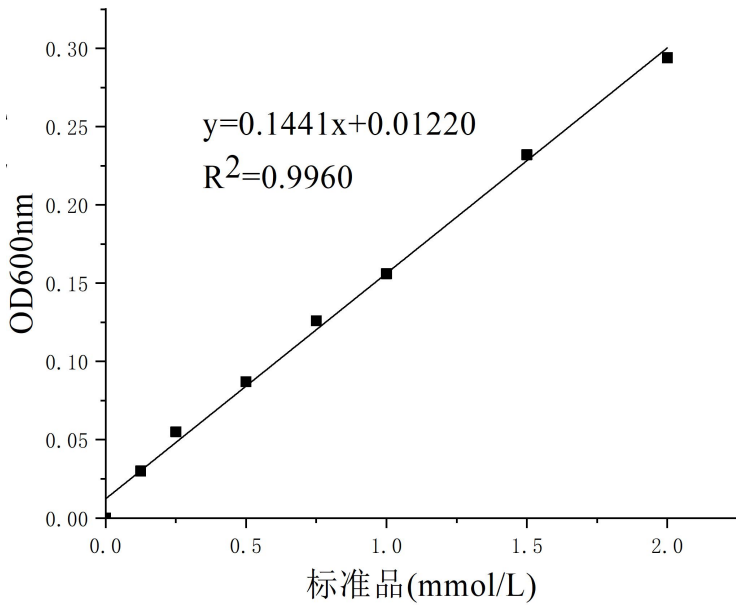
$10^*$ : 液体样本上清制备过程中稀释  
10 倍

$V_2$ : 细胞处理时加入试剂一的体积  
(mL)，建议每  $10^6$  个细胞取 0.3mL

$\Delta A$ : 样本孔 OD 值 - 空白孔 OD 值(标准品浓度为 0 时 OD 值)

参考曲线:

$y=0.1441x+0.01220, R^2=0.9960$ ,  $x$  是标准品的浓度 (mmol/L),  $y$  是  $\Delta A$ 。



注意: 本图仅供参考, 应以每次实验数据所绘制标准曲线计算样本含量。