

半胱氨酸（Cys）含量检测试剂盒说明书

（货号：G0428F 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，进而计算得出半胱氨酸（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（ 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， $\Delta A = A - \text{测定} - A - \text{空白}$ 。			

五、结果计算：

1、按照质量计算：

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

2、按细胞数量计算：

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

3、按照体积计算：

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

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。