

半胱氨酸 (Cys) 检测试剂盒 (微量法)

货号: PMK1090

保存: 4°C 避光保存 12 个月

规格: 48T/96T

检测范围: 0.156–10 $\mu\text{mol/mL}$ 灵敏度: 0.156 $\mu\text{mol/mL}$

适用样本: 动植物组织、细胞、细菌、血清 (浆) 或其他液体

产品简介

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。本试剂盒提供了一种简单的检测方法, 可检测各种生物样本中 Cys 含量, 其原理是 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, 从而计算出 Cys 含量。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4°C
反应缓冲液	5mL	10mL	4°C
显色物	1	1	4°C 避光保存
半胱氨酸标准品	1 (10mg)	1 (10mg)	4°C 避光保存

自备耗材

酶标仪或可见分光光度计 (能测 600nm 处的吸光度)
96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头
低温离心机、制冰机
去离子水、磷酸
匀浆器 (如果是组织样本)

试剂准备

注意: 各组分 (小管试剂) 开盖前, 请先低速离心。

提取液: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4°C 保存。

反应缓冲液: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4°C 保存。

显色物: 使用前 1 天配制, 显色物瓶中加入 2.5mL 去离子水充分溶解后, 再加入 0.625mL 磷酸, 混匀后盖紧 (防止水分散失) 沸水浴 2h; 冷却后加 10mL 去离子水; 4°C 避光保存。用不完的试剂, 置于 4°C 的条件下可保存 2 周。

半胱氨酸标准品: 临用前配制, 加 8.264mL 去离子水, 充分溶解, 得到 10 $\mu\text{mol/mL}$ 标准品溶液, 4°C 避光保存。未用完的已溶解的标准品可 4°C 避光保存一周。若需长期保存, 请分装后 -20°C 保存, 避免反复冻融。

标准曲线设置: 按下表所示, 用去离子水将 10 $\mu\text{mol/mL}$ 标准品稀释为 5、2.5、1.25、0.625、0.3125、0.156 $\mu\text{mol/mL}$ 的标准溶液。

产品说明书

	半胱氨酸标准品体积	去离子水体积 (μL)	标准品浓度 (μmol/mL)
Std. 1	200μL 10 μmol/mL	0	10
Std. 2	100μL of Std. 1 (10 μmol/mL)	100	5
Std. 3	100μL of Std. 2 (5 μmol/mL)	100	2.5
Std. 4	100μL of Std. 3 (2.5 μmol/mL)	100	1.25
Std. 5	100μL of Std. 4 (1.25 μmol/mL)	100	0.625
Std. 6	100μL of Std. 5 (0.625 μmol/mL)	100	0.3125
Std. 7	100μL of Std. 6 (0.3125 μmol/mL)	100	0.156

注意：每次实验，请使用新配制的标准品。

样本制备

动物组织：称取 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，11,000g，4℃离心 10min，取上清液待测。

植物组织：称取 0.1g 样本，加入 1mL 提取液捣碎，冰浴超声波破碎 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），11,000g，4℃离心 10min，取上清液待测。

细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎细胞或细菌 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 11,000g，4℃离心 10min，取上清液待测。

液体样本：取 0.1mL 液体样本，加入 0.9mL 提取液，混匀。11,000g，4℃离心 10min，取上清待测。

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 6 个月。

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 600nm，可见分光光度计去离子水调零。

2. 操作表（下述操作在 96 孔板或微量玻璃比色皿中操作）：

	空白孔 (μL)	标准孔 (μL)	测定孔 (μL)
样本上清	0	0	20
标准品	0	20	0
去离子水	20	0	0
反应缓冲液	100	100	100
显色物	100	100	100

3. 混匀后室温静置 15min，测定 600nm 处吸光度，空白孔记为 $A_{空}$ ，标准孔记为 $A_{标}$ ，测定孔记为 $A_{测}$ 。计算 $\Delta A_{测} = A_{测} - A_{空}$ ， $\Delta A_{标} = A_{标} - A_{空}$ （空白孔只需测定 1 次）。

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 $\Delta A_{测}$ 小于 0.001 可适当加大样本量。如果 ΔA 大于 1.5，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

结果计算

1. 标准曲线的绘制

以标准溶液浓度为 y 轴， $\Delta A_{标}$ 为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。

2. 半胱氨酸 (Cys) 含量的计算

将样本的 $\Delta A_{测}$ 代入方程得到 y 值 (μmol/mL)

(1) 按样本质量计算

$$\text{Cys 含量} (\mu\text{mol/g}) = y \times V_{\text{样本}} \div (V_{\text{样本}} \div V_{\text{样本}} \times W) \times n = y \div W \times n$$

(2) 按细胞数量计算

$$\text{Cys 含量} (\mu\text{mol}/10^4 \text{ Cells}) = y \times V_{\text{样本}} \div (500 \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{样本}}) \times n = y \div 500 \times n = 0.002y \times n$$

产品说明书

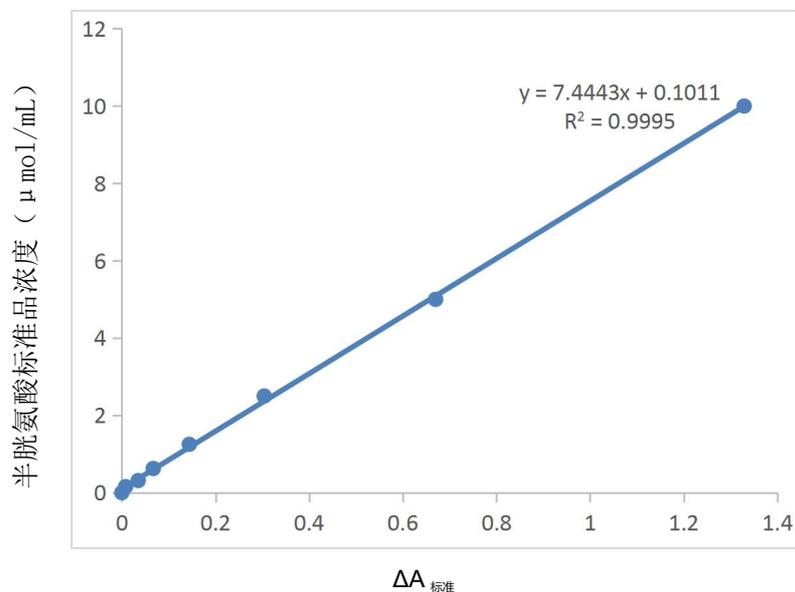
(3) 按液体样本的体积计算

Cys 含量 ($\mu\text{mol/mL}$) = $y \times 10 \times n = 10y \times n$

$V_{\text{样本}}$: 加入反应体系中上清液体积, 0.02mL; $V_{\text{样总}}$: 提取体系体积, 1mL; W: 样品质量, 0.1g; n: 样本进一步稀释的稀释倍数; 500: 细胞数量, 5×10^6 ; 10: 提取液体时的稀释倍数, $(0.1\text{mL} + 0.9\text{mL}) / 0.1\text{mL} = 10$ 。

结果展示

典型标准曲线-以下数据和曲线仅供参考, 实验者需根据自己的实验建立标准曲线。



注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验, 尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究, 如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途, 我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用, 并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用; 否则, 可能导致结果异常。
5. 勤换吸头, 避免各组分之间的交叉污染。

相关产品:

- PMK1046 脯氨酸 (PRO) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1084 谷丙转氨酶 (ALT/GPT) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1085 谷草转氨酶 (AST/GOT) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1091 谷氨酸 (Glu) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1093 赖氨酸 (LYS) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解, 请关注公众号:

