

半胱氨酸(Cys)含量检测试剂盒(微量法)

产品货号: BA1048

产品规格: 100管/96样

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。

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。

产品内容:

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体50mL×1瓶	4℃
试剂一	液体15mL×1瓶	4℃
试剂二	粉剂×1瓶	4℃
试剂三	粉剂×1支	4℃

溶液的配制:

- 1. 试剂二:用前一天,向试剂二中加2mL蒸馏水充分溶解,再加磷酸0.5mL,混匀后盖紧(防止水分散失)沸水浴2h;冷却后加8mL蒸馏水,4℃可保存2周。
- 2. 标准品: 10mg半胱氨酸。

技术指标:

最低检出限: 0.0066 μ mol/mL 线性范围: 0.03125-3 μ mol/mL

所需的仪器和用品:

低温离心机、可调式移液枪、可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96孔板、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℃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,加入提取液0.5mL,冰上充分研磨,11000rpm 4℃离心10min,取上清液待测。





二、测定步骤

- 1. 可见分光光度计/酶标仪预热30min以上,调节波长到600nm,蒸馏水调零。
- 2. 标准液的配制:将标准品加入0.826mL蒸馏水,可得到 $100 \,\mu$ mol/mL的标准液,然后用蒸馏水稀释为 $2 \, \times \, 1 \, \times \, 0.5 \, \times \, 0.25 \, \times \, 0.125 \, \times \, 0.0625 \,\mu$ mol/mL浓度的标准溶液。
- 3. 按下表步骤加样:

试剂名称 (µL)	测定管	标准管	空白管
工作液	40	-	-
标准品	-	40	-
蒸馏水	-	-	40
试剂一	100	100	100
试剂二	60	60	60

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对照管)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

半胱氨酸含量 (μmol/mL) =x×V样总÷V样1=2.5x

(2) 按样本质量计算

半胱氨酸含量(μ mol/g 质量)= $x \times V$ 样2÷($W \times V$ 样2÷V样总)=0.5x÷W

V样1: 提取体系中加入的样本体积,0.2mL; V样2: 反应体系中加入的样本体积,0.04mL; 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。

Zheng zhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd 地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号 免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799 QQ:807961520 731791866 邮箱: zzlybio@126.com