

## 半胱氨酸(Cys)含量检测试剂盒说明书

| 产品货号      | 产品名称           | 包装规格 | 测定方法 |
|-----------|----------------|------|------|
| AYFB3-M48 | 半胱氨酸(Cys)含量试剂盒 | 48T  | 微量法  |
| AYFB3-M96 |                | 96T  |      |

### 一、测定意义：

半胱氨酸是关键含硫氨基酸，既是蛋白质合成的必需原料，也是谷胱甘肽（GSH）合成的前体，还参与同型半胱氨酸代谢及甲基化调控，其含量直接反映机体抗氧化稳态与含硫氨基酸代谢平衡。测定Cys含量可评估氧化应激水平、肝脏代谢功能，也能辅助诊断心血管疾病、肾病及肝病等代谢性疾病，为机体健康监测与病理机制研究提供关键指标。

### 二、测定原理：

半胱氨酸的游离巯基与DTNB发生巯基-二硫键交换反应，使DTNB裂解生成具有黄色的TNB。以已知浓度的半胱氨酸作为标准品建立标准曲线，通过测定样本反应体系在412nm的吸光度值，对照标准曲线即可计算出样本中半胱氨酸的实际浓度。

### 三、试剂组成：

| 试剂名称                                      | 试剂装量(48T)    | 试剂装量(96T)    | 保存条件   |
|---|--------------|--------------|--------|
| 提取液                                       | 液体 60mL×1 瓶  | 液体 110mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂一                                       | 液体 20mL×1 瓶  | 液体 40mL×1 瓶  | 2-8℃保存 |
| 试剂二                                       | 液体 2.5mL×1 瓶 | 液体 5mL×1 瓶   | 2-8℃保存 |
| 标准品<br>(10μmol/mL)                        | 粉剂 ×1 瓶      | 粉剂 ×1 瓶      | 2-8℃保存 |
| <b>标准品的配制：</b> 临用前取一支粉剂加入3mL蒸馏水溶解，充分混匀溶解。 |              |              |        |

### 四、操作步骤：

#### 样本前处理

1、组织：按照组织质量(g):提取液体积(mL)为1:5~10的比例（建议称取0.1g组织，加入1mL提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm，4℃

离心10 min，取上清置冰上待测。

2、细菌、细胞：按照细胞数量 $10^4$ 个：提取液体积(mL)500~1000:1的比例（建议500万细胞加入1mL提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率300w，超声3s，间隔7s，总时间3min），5000 rpm，4℃离心10min，取上清置冰上待测。

3、血清（浆）等液体：直接测定。

### 测定步骤

- 酶标仪预热30min以上，调节波长至412nm，蒸馏水调零；
- 将10μmol/mL标准溶液用蒸馏水稀释至0.05、0.1、0.2、0.4、0.6μmol/mL标准溶液备用；
- 操作表（在96孔板中加入以下试剂）：

| 试剂名称   | 测定管 | 对照管 | 空白管 | 标准管 |
|--|-----|-----|-----|-----|
| 样本(μL)   | 20  | 20  | -   | -   |
| 蒸馏水(μL)  | -   | -   | 20  | -   |
| 标准品(μL)  | -   | -   | -   | 20  |
| 试剂一(μL)  | 140 | 180 | 140 | 140 |
| 试剂二(μL)  | 40  | -   | 40  | 40  |
| 充分混匀，常温静置5min后，蒸馏水调零，在波长412nm处读取各管吸光度值。计算 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{对照}} = A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。标准曲线和空白管只需做1-2次。 |     |     |     |     |

### 五、半胱氨酸(Cys)含量计算：

1、标准曲线绘制：以吸光度值 $\Delta A_{\text{标准}}$ 为横坐标，标准品浓度为纵坐标，绘制标准曲线 $y = kx + b$ ，x为吸光度值 $\Delta A_{\text{标准}}$ ，y为标准品浓度(μmol/mL)。根据标准曲线，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式计算出样本浓度(y, μmol/mL)；

2、血清样本Cys计算

Cys含量(μmol/mL) = y

### 3、组织、细胞样本半胱氨酸(Cys)含量计算

#### (1)按样本质量计算:

$$\text{Cys 含量 } (\mu\text{mol/g 质量}) = y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) = y \div W$$

#### (2)按蛋白浓度计算:

$$\text{Cys 含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) = y \div \text{Cpr}$$

#### (3)按细菌或细胞数量计算:

$$\text{Cys 含量 } (\text{mg} / 10^4 \text{ cell}) = y \div (V_{\text{样总}} \div N) = y \times N$$

$V_{\text{样总}}$ : 上清液总体积, 1 mL;  $V_{\text{样}}$ : 加入反应体系中上清液体积,

20 $\mu$ L=0.02mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量 g;

N: 细菌或细胞总数, 以万计。

### 六、注意事项:

1、样本处理需匀浆完全,若当天不能完成测量,可放-80℃保存 3 天;

2、因为试剂一中含有蛋白质沉淀剂,因此上清液不能用于蛋白浓度测定。如需测定蛋白含量,需另取组织;

3、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。

#### 【厂家信息】

生产企业: 南京陌凡生物科技有限公司

地址: 南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

#### 【售后微信】



#### 【说明书核准及修改日期】

核准日期: 2025 年 4 月 7 日

修改日期: 2025 年 4 月 7 日