

## 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°C 保存
试剂一	液体 20mL×1 瓶	液体 40mL×1 瓶	2-8°C 保存
试剂二	液体 2.5mL×1 瓶	液体 5mL×1 瓶	2-8°C 保存
标准品 (10μmol/mL)	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×1 瓶	2-8°C 保存

**标准品的配制：**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 0.1 g 组织，加入 1mL 提取液) 进行冰浴匀浆。5000 rpm, 4°C

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 1 mL 提取液)，冰浴超声波破碎细胞 (功率 300w, 超声 3s, 间隔 7s, 总时间 3 min)，5000 rpm, 4°C 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

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 412nm，蒸馏水调零；
- 2、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；

3、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

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

### 3、组织、细胞样本半胱氨酸(Cys)含量计算

(1)按样本质量计算：

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

(2)按蛋白浓度计算：

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

(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,

$20\mu\text{L}=0.02\text{mL}$ ;  $C_{\text{pr}}$ : 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