CheKine™ 半胱氨酸（Cys）含量检测试剂盒（微量法）

货号: KTB1450　　规格: 48 T/48 S　96 T/96 S　　批号：见产品标签

≠	**检测范围：**0.156-10 μmol/mL		**灵敏度：**0.156 μmol/mL
	适用样本：动植物组织、细胞、细菌、血清（浆）或其他液体		
	保质期：4℃，避光保存 6 个月		

01 背景与原理

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。

本试剂盒检测原理是 Cys 还原磷钨酸生成钨蓝，在 600 nm 处有吸收峰；通过测定 600 nm 吸光度，从而计算出 Cys 含量。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	60 mL	120 mL	4℃
Assay Buffer	7 mL	14 mL	4℃
Chromogen	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃，避光保存
Cys Standard	Powder×1 vial (10 mg)	Powder×1 vial (10 mg)	4℃，避光保存

***请在实验前检查各组分的量。**

***各组分在规格基础上额外提供 10%的量用于进行标准曲线制作或预实验。**

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 600 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	去离子水、磷酸/PBS	试剂配制用/样本清洗用
其他	匀浆器（组织样本）、低温离心机、制冰机、恒温箱、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- **正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。**
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 建议实验者自行建立标准曲线以提高结果准确度。如未自行建立标准曲线，可参考结果展示部分的典型标准曲线公式进行结果计算。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，**请在实验全程做好生物安全防护**，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Assay Buffer	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Working Chromogen Reagent	使用前 1 天配置，Chromogen 加入 3 mL 去离子水充分溶解后，再加入 0.75 mL 磷酸，混匀后盖紧（防止水分散失）沸水浴 2 h；冷却后加 12 mL 去离子水，使用前平衡到室温	4℃避光保存；未用完的试剂，置于 4℃避光条件下可保存 2 周
10 μmol/mL Cys Standard	临用前配制，加 8.264 mL 去离子水，充分溶解，配制成 10 μmol/mL 标准品溶液	4℃避光保存；未用完的试剂，可置于 4℃避光条件下保存 3 天

05-1-2 标准品配制

按下表所示，用去离子水将 10 μmol/mL 标准品稀释为 5、2.5、1.25、0.625、0.3125、0.156 μmol/mL 的标准溶液。每次实验都要做一次标准品检测，制作标曲；稀释后的标准品溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。

序号	10 μmol/mL Cys Standard 体积（μL）	去离子水（μL）	浓度（μmol/mL）
1	200 μL 10 μmol/mL	0	10
2	100 μL of 10 μmol/mL	100	5
3	100 μL of 5 μmol/mL	100	2.5
4	100 μL of 2.5 μmol/mL	100	1.25
5	100 μL of 1.25 μmol/mL	100	0.625
6	100 μL of 0.625 μmol/mL	100	0.3125
7	100 μL of 0.3125 μmol/mL	100	0.156
空白	0	200	0

05-2 样本制备

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 1 个月。

- **动物组织**：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴匀浆，11000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。
- **植物组织**：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer 捣碎，冰浴超声波破碎 5 min（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），11000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。
- **细胞或细菌**：收集 5×10^6 个细胞或细菌，用预冷的 PBS 清洗细胞或细菌，800 g 离心 2 min，弃上清。加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴超声波破碎细胞或细菌 5 min（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），然后 11000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。
- **血清（浆）等液体样本**：取 0.1 mL 液体样本，加入 0.3 mL Extraction Buffer，混匀。11000 g，4℃离心 10 min，取上清，置冰上待测。

05-3 实验步骤

1. **酶标仪准备**：预热 30 min 以上，调节波长到 600 nm。
2. **检测体系配制**：空白孔只需测定 1 次。在 96 孔板中按照如下方式操作：

试剂	空白孔（μL）	标准孔（μL）	测定孔（μL）
样本上清	0	0	20
Standard	0	20	0
去离子水	20	0	0
Assay Buffer	100	100	100
Working Chromogen Solution	100	100	100

3. **吸光度检测：**混匀后室温静置 15 min，测定 600 nm 处吸光值。分别记为 $A_{空}$、$A_{标}$、$A_{测}$。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧**二维码**或访问官网[https://www.abbkine.cn] > 进入“**技术中心**”> 查找“**在线计算器**”**工具**。

06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算$\Delta A_{测}=A_{测}-A_{空}$，$\Delta A_{标}=A_{标}-A_{空}$。

2. 标准曲线绘制

以标准品浓度为 y 轴，$\Delta A_{标}$为 x 轴，绘制标准曲线。将$\Delta A_{测}$代入方程得到 y 值（μmol/mL）。

3. 样本半胱氨酸（Cys）含量计算

- 按样本蛋白浓度计算

半胱氨酸(Cys) (μmol/mg prot)**=y÷Cpr×n**

- 按样本质量计算

半胱氨酸(Cys) (μmol/g)=y×$V_{样总}$÷W×n**=y÷W×n**

- 按样本体积计算

半胱氨酸(Cys) (μmol/mL)**=4×y×n**

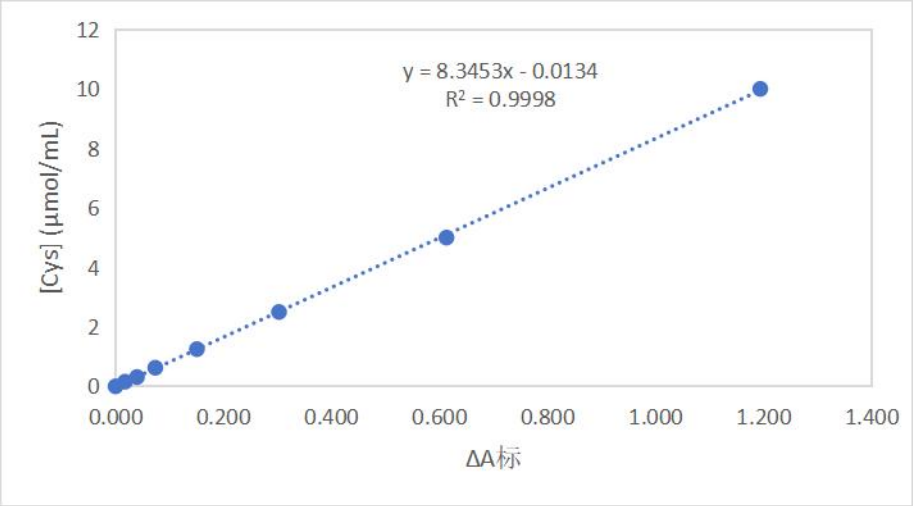
- 按细胞或细菌数量计算

半胱氨酸(Cys) (μmol/10^4)=y×$V_{样总}$÷N×n**=y÷N×n**

4：液体样本提取时的稀释倍数；$V_{样总}$：提取液体积，1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；n：稀释倍数；N：细胞或细菌数量，以 10^4 为单位（例如细胞数量为 5×10^6，N=500）。

07 结果展示

典型标准曲线：y=8.3453x-0.0134，R^2=0.9998



示例-1：取 0.1 g 小鼠肺脏，按照测定步骤操作，用 96 孔板进行检测。测得$\Delta A_{测}=A_{测}-A_{空}$=0.120-0.048=0.072，代入标准曲线，计算 y=0.587。按样本质量计算得：半胱氨酸(Cys) (μmol/g)=y÷W×n=5.87 μmol/g。

08 FAQ

- **检测得到的样本ΔA $_{测}$过高或者过低怎么办?**

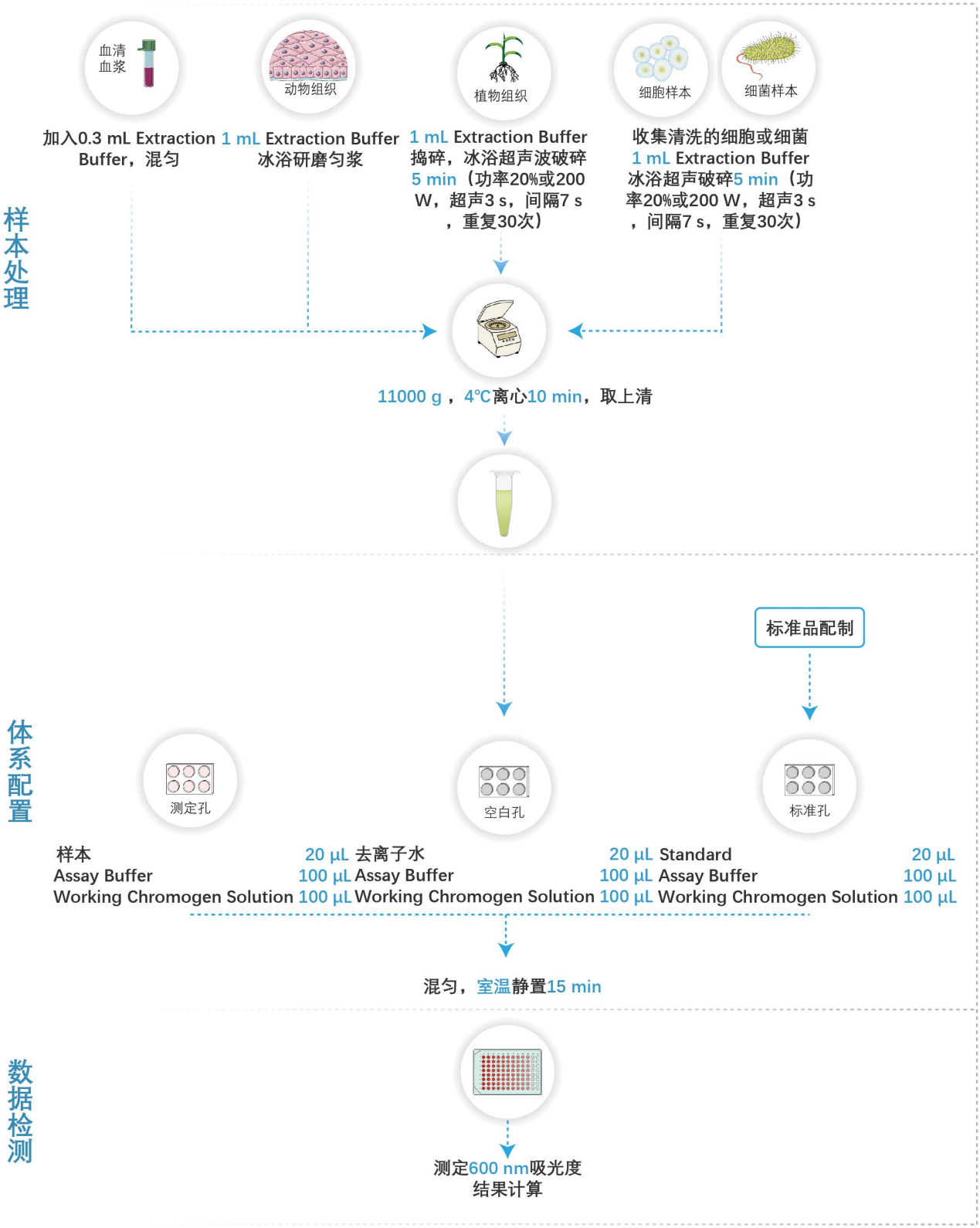
如果ΔA $_{测}$小于 0.001 可适当加大样本量。如果ΔA $_{测}$大于 1.5，样本可用 Extraction Buffer 进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1410	CheKine™ 谷丙转氨酶（ALT/GPT）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1420	CheKine™ 谷草转氨酶（AST/GOT）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1430	CheKine™ 脯氨酸（PRO）含量检测试剂盒（微量法）
KTB1440	CheKine™ 谷氨酸（Glu）含量检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 半胱氨酸（Cys）含量检测流程示意图

（Abbkine 货号：KTB1450）



V1.0