（本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断！）

产品货号：E-BC-K352-M

产品规格：48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器：酶标仪(600-620 nm)

Elabscience®半胱氨酸(Cys)比色法测试盒

Cysteine (Cys) Colorimetric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清(浆)、动物组织、培养细胞中半胱氨酸的含量。

检测原理

半胱氨酸还原磷钨酸生成钨蓝，钨蓝在 600 nm 处有吸收峰，通过测定 600 nm 处的吸光度值，可计算出半胱氨酸的含量。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	酸试剂 (Acid Reagent)	60 mL×1 瓶	60 mL×2 瓶	2-8°C 避光 保存 3 个月
试剂二 (Reagent 2)	缓冲液 (Buffer Solution)	7 mL×1 瓶	15 mL×1 瓶	2-8°C 保存 3 个月
试剂三 (Reagent 3)	显色剂 (Chromogenic Agent)	6 mL×1 瓶	12 mL×1 瓶	2-8°C 避光 保存 3 个月
试剂四 (Reagent 4)	标准品 (Standard)	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	2-8°C 避光 保存 3 个月
	96 孔酶标板	48 孔×1 块	96 孔×1 块	无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(600-620 nm，最佳检测波长 600 nm)、涡旋混匀仪、离心机

试剂：双蒸水

试剂准备

① 检测前，试剂平衡至室温。

② 10 mmol/L标准品的配制：

向试剂四中加入10 mL双蒸水，充分混匀溶解即可，2-8°C避光可保存4天。

③ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(mmol/L)	**0**	**0.125**	**0.250**	**0.500**	**0.750**	**1.000**	**1.500**	**2.000**
10 mmol/L 标准品(μL)	0	25	50	100	150	200	300	400
去离子水(μL)	2000	1975	1950	1900	1850	1800	1700	1600

样本准备

① 样本处理

液体样本：取 0.05 mL 液体样本，加入 0.45 mL 试剂一，充分混匀后，4°C，10000 × g，离心 10 min，取上清待用。

组织样本：取 0.1 g 动物组织样本，加入 0.9 mL 试剂一，进行机械匀浆，4°C，10000 × g，离心 10 min，取上清待用。

细胞样本：按照 10^6 个细胞加入 0.2 mL 试剂一，进行机械匀浆，充分破碎(无明显的细胞沉淀，可在显微镜下观察)，4°C，10000 × g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.07-2.0 mmol/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	10%小鼠心脏组织	不稀释
小鼠血清	不稀释	10%大鼠脑组织	不稀释
10%大鼠肺组织	不稀释		

注：样本稀释液为试剂一。

实验关键点

检测时，最好使用新鲜样本。

操作步骤

① 标准孔：取 20 μL 不同浓度标准品，加入到对应的标准孔中；
样本孔：取 20 μL 样本上清，加入到样本孔中。

② 向①中各孔加入 100 μL 试剂二。

③ 向②中各孔加入 100 μL 试剂三。

④ 酶标仪上振板 5 s，室温静置 10 min，酶标仪 600 nm 处，测定各孔 OD 值。

操作表

	标准孔	**测定孔**
不同浓度标准品(μL)	20	--
样本上清(μL)	--	20
试剂二(μL)	100	100
试剂三(μL)	100	100
酶标仪上振板 5 s，室温静置 10 min，酶标仪 600 nm 处，测定各孔 OD 值。		

结果计算

标准品拟合曲线： $y = ax + b$

液体样本中 Cys 含量计算公式：

$$\text{Cys 含量 (mmol/L)} = (\Delta A_{600} - b) \div a \times 10^{*} \times f$$

组织中 Cys 含量计算公式：

$$\text{Cys 含量 (mmol/kg 组织湿重)} = (\Delta A_{600} - b) \div a \times f \div \frac{m}{V_1}$$

细胞样本中 Cys 含量计算公式：

$$\text{Cys 含量 (mmol/}10^9\text{)} = (\Delta A_{600} - b) \div a \times f \div \frac{n}{V_2}$$

注解：

y：标准孔 OD 值-空白孔 OD 值(标准品浓度为 0 时 OD 值)

x：标准品的浓度

a：标曲的斜率

b：标曲的截距

ΔA_{600}：样本测定 OD 值–空白 OD 值

10*：液体样本上清制备过程中稀释 10 倍

f：样本加入检测体系之前的稀释倍数

m：组织的鲜重(g)，建议 m 取 0.1 g

n：当加入细胞为 5×10^6 个时，n=5

V_1：组织处理过程中加入试剂一的体积(mL)，建议取 0.9 mL

V_2：细胞处理时加入试剂一的体积(mL)，建议每 10^6 个细胞取 0.3 mL

附录1 关键数据

1. 技术参数

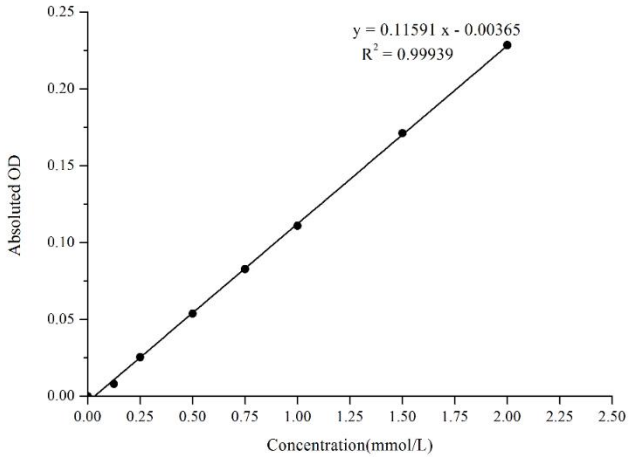
检测范围	0.07-2.0 mmol/L	**平均批间差**	1.3 %
灵敏度	0.03 mmol/L	**平均批内差**	1.1 %
平均回收率	94 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

①标准品浓度测定数据：

标准品浓度 (mmol/L)	**0.00**	**0.125**	**0.25**	**0.50**	**0.75**	**1.00**	**1.50**	**2.00**
OD 值	0.038	0.046	0.066	0.092	0.122	0.149	0.206	0.266
	0.038	0.046	0.061	0.091	0.120	0.149	0.212	0.268
平均 OD 值	0.038	0.046	0.064	0.092	0.121	0.149	0.209	0.267
绝对 OD 值	0.000	0.008	0.026	0.054	0.083	0.111	0.171	0.229

②制标准曲线，如下图所示：



附录2 实例分析

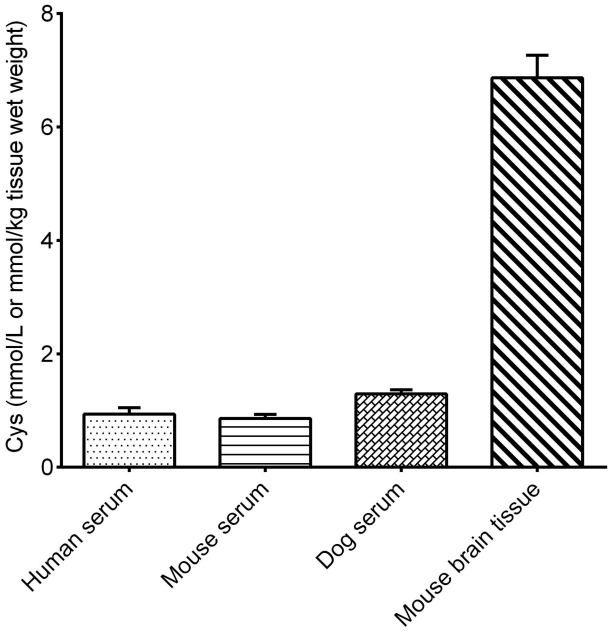
例如检测小鼠血清样本(数据仅供参考)：

取0.05 mL小鼠血清样本，按照说明书操作，结果如下：

Cys的标准曲线：y = 0.1074 x - 0.0046，测定孔平均OD值为0.046，空白孔平均OD值为0.041，计算结果为：

$$\text{Cys 含量 (mmol/L)} = (0.046 - 0.041 + 0.0046) \div 0.1074 \times 10 = 0.89 \text{ mmol/L}$$

按照说明书操作，测定人血清(加样量20 μL)、小鼠血清(加样量20 μL)、狗血清(加样量20 μL)、小鼠脑组织(湿重含量为0.11 g/mL，加样量20 μL)中Cys含量(如下图)：



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
样本测量结果偏大	上清液浑浊或有杂质	取浑浊上清液再次离心直至澄清
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数，重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本，重新检测
样本测量结果>2 mmol/L	样本浓度太高	选择合适稀释倍数，重新检测

声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Tseng S.Ja. An acid degradable, lactate oxidizing nanoparticle formulation for non-small cell lung cancer virotherapy[J]. Nano Today. IF:18.962
2. Salman T M, Iyanda M A, Alli-Oluwafuyi A M, et al. Telfairia occidentalis stimulates hepatic glycolysis and pyruvate production via insulin-dependent and insulin-independent mechanisms[J]. Metabolism Open, 2021, 10(1-10):100092. IF:8.694
3. Zhang Y, Wang Z, Shi B, et al. Effect of gingival mesenchymal stem cell-derived exosomes on inflammatory macrophages in a high-lipid microenvironment[J]. International Immunopharmacology, 2021, 94(9499):107455. IF:4.932
4. Alsayyah A, ElMazoudy R, Al-Namshan M, et al. Chronic neurodegeneration by aflatoxin B1 depends on alterations of brain enzyme activity and immunoexpression of astrocyte in male rats[J]. Ecotoxicology and environmental safety, 2019, 182: 109407. IF:4.527
5. Faheem M. Synthesis and Biological Evaluation of Benzimidazole Derivatives as Potential Neuroprotective Agents in an Ethanol-Induced Rodent Model[J]. ACS Chemical Neuroscience, 2021, 12(3):489−505. IF:4.418
6. Ren F , Xu X , Xu J B , et al. Compound essential oils relieve oxidative stress caused by PM 2. 5 exposure by inhibiting autophagy through the AMPK / mTOR pathway[J]. Environmental Toxicology, 2021 Sep; 36(9):1765-1774. IF:4.119
7. Mohsin Alvi A, Tariq Al Kury L, Umar Ijaz M, et al. Post-Treatment of Synthetic Polyphenolic 1, 3, 4 Oxadiazole Compound A3, Attenuated Ischemic Stroke-Induced Neuroinflammation and Neurodegeneration[J]. Biomolecules, 2020, 10(6): 816. IF:4.082
8. Darband S G, Sadighparvar S, Yousefi B, et al. Quercetin attenuated oxidative DNA damage through NRF2 signaling pathway in rats with DMH induced colon carcinogenesis[J]. Life sciences, 2020(253-). IF:3.708
9. Shah F A, Ali T, Khan A U. Potent Natural Antioxidant Carveol Attenuates MCAO-induced Oxidative stress, Neurodegeneration by Regulating the Nrf-2 pathway[J]. Frontiers in Neuroscience, 2020, 14: 659. IF:3.707
10. Amany Abdel-Rahman Mohamed , Safaa I. Khater , Ahmed Hamed Arisha , et al. Chitosan-stabilized selenium nanoparticles alleviate cardio-hepatic damage in type 2 diabetes mellitus model via regulation of caspase, Bax/Bcl-2, and Fas/FasL-pathway[J]. Gene, 2020, 768(7):145288. IF:3.688