

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号：GBQ165

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℃ 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℃ 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℃ 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℃ 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℃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℃, 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℃, 10000 × g, 离心 10 min, 取上清待用。

细胞样本:按照 10⁶ 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℃, 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:

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

组织中 Cys 含量计算公式:

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

细胞样本中 Cys 含量计算公式:

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

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

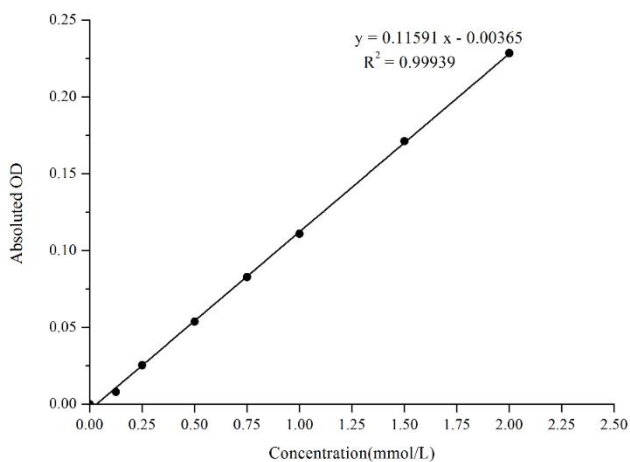
检测范围	0.07-2.0 mmol/L	平均批间差	1.3 %
灵敏度	0.03 mmol/L	平均批内差	1.1 %
平均回收率	94 %		

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):

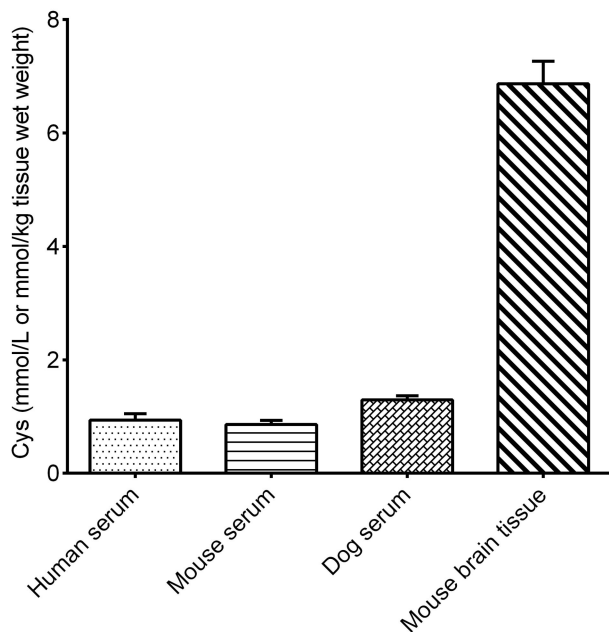
取0.05 mL小鼠血清样本,按照说明书操作,结果如下:

Cys的标准曲线: $y = 0.1074x - 0.0046$, 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:

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

(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

