天净沙系列

CAT#: 7-C56-89-3

低温运输，-20℃保存

胱氨酸含量测定试剂盒

Cystine Assay Kit

使用手册 V0.5

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品是用于检测胱氨酸（Cystine）含量的试剂盒。其原理是先将样品中的胱氨酸（二硫键形式）定量还原成半胱氨酸（巯基形式），半胱氨酸的巯基（-SH）与 5，5'-二硫代双（2-硝基苯甲酸）（DTNB，又称 Ellman's 试剂）反应生成黄色产物（TNB^-），由于 TNB^-阴离子在 412 nm 波长处有强烈的特征吸收峰，故通过监测 TNB^-在 412 nm 处的吸光度即可计算出胱氨酸的含量。本产品具有如下特点：

1. 操作简单快捷。
2. 即开即用，用户不用单独准备各种试剂。
3. 提供胱氨酸干粉，便于在遇到问题时分析原因。
4. 适用于检测人工合成的、或从各种材料中提取的胱氨酸样本。
5. 检测的线性范围是 XX mM 至 XXX μM，检测下限是 X μM。
6. 本产品足够 100 次 1 mL 体系的比色皿检测或 400 次 250 μL 体系的 96 孔板检测。
7. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用小扁盒包装

成份	编号	规格	包装
胱氨酸含量测定反应液	7-C56-89-3r	120 mL	120 mL 棕色瓶
胱氨酸干粉	CAS:56-89-3	100 T	1.5 mL 本色管
胱氨酸含量测定底物干粉	7-C56-89-3s	100 T	75 mL 本色管
胱氨酸含量测定显色液	7-C56-89-3c	50 mL	50 mL 棕色瓶
使用手册	7-C56-89-3sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，-20℃保存。有效期一年。

自备物品

超纯水、分光光度计

使用方法

一、首次使用本试剂盒时试剂的配制

1. 配置 1 mM 胱氨酸阳性对照溶液：在装有胱氨酸干粉的瓶中加入 10 mL 自备超纯水，颠倒摇晃 20 次溶解得到 1 mM 胱氨酸阳性对照溶液。没用完的此溶液需要-20℃保存。
2. 配制胱氨酸含量测定底物溶液：将 50 mL 胱氨酸含量测定反应液加入到装有胱氨酸含量测定底物干粉的瓶中，颠倒摇晃 20 次溶解，得到胱氨酸含量测定底物溶液。没用完的此溶液需要-20℃保存。

3. 用自选方式制备待测样本，样本溶于水或碳酸盐缓冲液中，缓冲液 pH 值控制为 8.0。

二、标准曲线梯度稀释液的制备

4. 每次测量都应制作标准曲线，下面以 6 个稀释度的标准曲线为例。
5. 标记 1-6 个 1.5 mL 离心管，每个管中加入 0.7 mL 超纯水。
6. 将第 1 步制备的 1 mM 胱氨酸阳性对照溶液为 1 号管样品。
7. 2 号管中加入 0.7 mL 在第 1 步制备的 1 mM 胱氨酸阳性对照溶液，充分震荡 1 分钟，得 0.5 mM 胱氨酸溶液。放冰上待用。
8. 换枪头，在 3 号管中加入 0.7 mL 0.5 mM 胱氨酸溶液(上步稀释所得)，充分震荡 1 分钟，得 250 μM 胱氨酸溶液。放冰上待用。
9. 重复上面的操作直到得到 1 mM、0.5 mM、250 μM、125 μM、62.5 μM、31.25 μM 共 6 个稀释度的样品。放冰上待用。

三、用光径 1 cm 的比色皿测定光吸收

10. 假设有 N 个样本，每个样本做一次重复，则标记 N+7 个 1.5 mL 离心管，其中 N 个用于待测样本，多出的 6 个用于标准曲线制备，另外一个用做阴性对照。
11. 按下表在各管中加入各成分。根据分光光度计一次可以同时测定的样本数决定每次加几个样本:

成分	N 个样本管	阴性对照	6 个标曲管
胱氨酸含量测定底物溶液	各 450 μL	450 μL	450 μL
N 个待测样本	各 100 μL	不加	不加
第 8 步所得 6 个样	不加	不加	各 100 μL 分别到对应的管
混合均匀 37℃孵育 30 min			
胱氨酸含量测定显色液	各 450 μL	450 μL	450 μL
混合均匀 37℃孵育 30 min			

12. 冷却到室温后迅速使用分光光度计测定每个样本在 412 nm 的光吸收读数，测前用超纯水调零，共得 N+7 个读数。

四、数据处理

13. 计算真实 OD412 光吸收: 每个样本测得的光吸收减去阴性对照的光吸收即为每个样本的光吸收。共 N+6 个读数。

	14. 制备标准曲线：以胱氨酸溶液的浓度为横轴，以其真实 OD412 光吸收为纵轴，绘制标准曲线。 15. 将 N 个待测样品的 OD412 值带入标准曲线方程，即可计算出每个待测样品中的胱氨酸的浓度。 **四、多孔板酶标仪检测** 16. 同上，只是所有反应体系按比例缩小使得终体积跟酶标用多孔板板兼容，最后在 412 nm 测定光吸收。
关联产品	胱氨酸还原酶活性测定试剂盒

20250717ztl