

## 胱氨酸摄取检测试剂盒

产品货号: 26815

产品规格: 96T

### 产品简介:

胱氨酸 (Cystine) 是抗氧化物质谷胱甘肽的来源, 在细胞内的氧化还原平衡中发挥着重要的作用。胱氨酸/谷氨酸转运体 (xCT) 是氨基酸转运体之一, 它按照1:1的比例将细胞外的胱氨酸转运至细胞内, 同时将胞内的谷氨酸转运至细胞外。当细胞膜上的xCT活性降低后, 细胞胱氨酸摄取的能力会下降, 可能会导致细胞铁死亡发生。近年来, xCT与癌症、神经退行性疾病、免疫等相关疾病的关联逐渐成为研究的热点之一。本试剂盒是一种通过荧光法方便快捷检测xCT活性。试剂盒中附带的胱氨酸类似物与胱氨酸一样通过xCT转运进入细胞内, 胱氨酸类似物与荧光探针反应后会发出荧光。因此可以通过检测进入细胞内的胱氨酸类似物所产生的荧光强度来判断xCT的活性。

### 产品组成:

产品名称	规格	保存条件
Cystine Analog Solution	220 $\mu$ L	-20 $^{\circ}$ C, 避光
Fluorescent Probe	50 $\mu$ L	-20 $^{\circ}$ C, 避光
Reducing Agent	500 $\mu$ L	-20 $^{\circ}$ C, 避光
Reaction Buffer	30mL	-20 $^{\circ}$ C, 避光
DMEM (without Cystine)	100mL	-20 $^{\circ}$ C, 避光

### 摄取工作液的配制:

将Cystine Analog Solution按照1:100稀释到DMEM(without Cystine)细胞培养基中, 在37 $^{\circ}$ C培养箱内预热, 备用。

注意: 摄取工作液现配现用。

### 实验方案:

#### A. 贴壁细胞

1. 将细胞按照 6000-10000 个/孔的密度接种到 96 孔板中, 在 37 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中过夜培养。
2. 小心吸掉细胞上清, 用 200 $\mu$ L 37 $^{\circ}$ C 预热的 PBS 清洗细胞 3 次。
3. 每孔加入 200 $\mu$ L 37 $^{\circ}$ C 预热的 DMEM(without Cystine), 在 37 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱内培养 5min。
4. 小心吸掉细胞上清, 每孔加入 200 $\mu$ L 37 $^{\circ}$ C 前述预热的摄取工作液作为(Uptake Work Control)或 DMEM(without Cystine)作为空对照(Blank Control), 待测试的样品按照实验预设的浓度要求稀释到摄取工作液中作为样品组 (Sample), 在 37 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱内培养 30min。
5. 小心吸掉细胞上清, 用 200 $\mu$ L 冷却的 PBS 清洗细胞 3 次。
6. 小心吸掉 PBS, 每孔加入 100 $\mu$ L 甲醇, 小心吹打、混匀。
7. 小心转移到 1.5mL 离心管中, 6000g, 室温离心 1min。
8. 均匀吸取顶部 50 $\mu$ L 至黑色酶标板中。
9. 配制反应工作液 (每孔反应液 200 $\mu$ L, 现配现用)

	25孔用量体积
Fluorescent Probe	10 $\mu$ L
Reducing Agent	100 $\mu$ L
Reaction Buffer	5mL

10. 将反应工作液按照每孔 200 $\mu$ L 加入到黑色酶标板中, 37 $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub> 培养箱中静置 30min。

11. 荧光酶标仪检测荧光 (优先推荐 $\lambda_{ex}$ =490nm,  $\lambda_{em}$ =535nm)。

备注: 激发波长范围允许在 485-495nm

发射波长范围允许在 525-540nm

12. 用样品 Sample 孔的值减去 Blank Control 的值, 得到各组的有效荧光强度。

备注: 建议多复孔操作以减少实验误差 ( $n \geq 3$ )。

#### B. 贴壁细胞



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

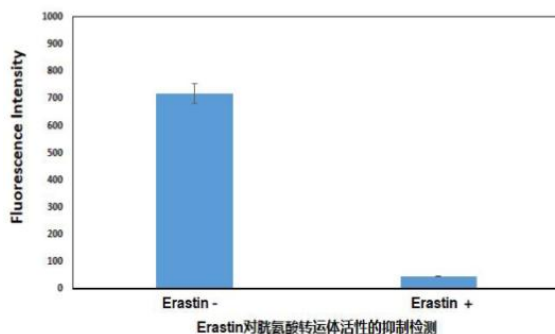
邮箱: zzlybio@126.com

1. 将细胞分别加入到 1.5mL 离心管中。
2. 在 1000g 室温离心 3min。
3. 小心吸掉细胞上清，加入 300μL 37°C DMEM(without Cystine)，重悬细胞后在 1000g 离心 3min，重复此操作 2 次。
4. 小心吸掉细胞上清，加入 500μL 37°C DMEM(without Cystine)，重悬细胞，在 37°C，5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 5min，1000g 离心 3min。
5. 小心吸掉细胞上清，每孔加入 200μL 37°C 前述预热的摄取工作液作为(Uptake Work Control)或 DMEM(without Cystine) 作为空对照(Blank Control)，待测试的样品按照实验预设的浓度要求稀释到摄取工作液中作为样品组 (Sample)，重悬细胞，在 37°C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱内培养 30min。
6. 1000g，离心 3min，小心吸掉细胞上清，加入 500μL 冷却的 PBS，重悬细胞后在 1000g，离心 3min，重复此操作 2 次。
7. 小心吸掉 PBS，加入 100μL 甲醇，小心吹打、混匀。  
备注：当用蛋白质定量的方法来校正测定值时：取操作步骤 7 的 50μL 溶液用于本产品的测定，剩余溶液用于测定蛋白质浓度。
8. 均匀吸取顶部 50μL 至黑色酶标板中。
9. 同 A.9 配制反应工作液（每孔反应液 200μL，现配现用）。
10. 将反应工作液按照每孔 200μL 加入到黑色酶标板中，37°C、5%CO<sub>2</sub> 培养箱中静置 30min。
11. 荧光酶标仪检测荧光（优先推荐 $\lambda_{ex}=490nm$ ,  $\lambda_{em}=535nm$ ）。  
备注：激发波长范围允许在 485-495nm  
发射波长范围允许在 525-540nm
12. 用样品 Sample 孔的值减去 Blank Control 的值，得到各组的有效荧光强度。  
备注：建议多复孔操作以减少实验误差（n≥3）。

#### 注意事项：

1. 由于运输过程中震动等原因，试剂管中的试剂可能会附在管壁或瓶盖内侧，请先将试剂离心至管底再使用。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
3. 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。
4. 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。
5. 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。

#### 实验示例（HeLa细胞株，Erastin工作浓度2μM）：



备注：铁死亡诱导剂Erastin系抑制胱氨酸转运体活性的阳性对照物。

#### 保存条件：

-20°C避光保存，3个月有效。



扫一扫 加微信

**郑州乐业生物科技有限公司**

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com