

组织铜含量检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA2287

产品规格：50T/48S

产品说明：

铜（Cu）是人体必需的微量元素之一，也是蛋白质以及酶的重要组成部分。可以存在于红细胞的内外，主要功能是辅助造血，即催化血红蛋白的合成。铜元素可以适当促进人体的骨骼发育，促进人体神经系统以及脑部发育，维持婴幼儿的正常生长发育，因此，测定组织内铜离子含量可知体内是否缺铜。

在酸性条件下， Cu^{2+} 从铜蓝蛋白和清蛋白中解离出来，与络合剂3,5-二溴-PAESA反应，产生紫色络合物，在580nm处有特征吸收峰，在一定范围内吸光度与浓度成正比，从而计算出 Cu^{2+} 浓度。

注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体45mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体15mL×1瓶	2-8℃
标准品	液体1mL×1支	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂一：若有试剂析出，置于37℃水浴溶解即可。
2. 标准品：10mmol/L（即10000 $\mu\text{mol/L}$ ）硫酸铜标准液。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、低温离心机、水浴锅/恒温培养箱、1mL玻璃比色皿、可调式移液枪、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

测定步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 组织：按照组织质量（g）：蒸馏水体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL蒸馏水）进行冰浴匀浆，然后10000g，4℃，离心10min，取上清待测。

二、测定步骤

1. 可见分光光度计预热30min以上，调节波长至580nm，蒸馏水调零。
2. 80 $\mu\text{mol/L}$ 标准溶液配制：取100 μL 10mmol/L的标准液加入400 μL 蒸馏水混匀，即2000 $\mu\text{mol/L}$ 的标准品；再取40 μL 2000 $\mu\text{mol/L}$ 的标准品和960 μL 蒸馏水混合，即配成80 $\mu\text{mol/L}$ 标准溶液。
3. 实验前根据样本量取部分试剂一37℃预热10min。
4. 操作表：（在1.5mLEP管依次加入下列试剂）：

试剂名称（ μL ）	空白管	测定管	标准管
蒸馏水	50	-	-
样本	-	50	-
标准品	-	-	50
试剂一	750	750	750



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

试剂二	250	250	250
充分混匀，37℃孵育5min，取反应液于1mL玻璃比色皿中，立即测定580nm处吸光值A，记为A空白、A测定、A标准，计算 $\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{空白}$ ， $\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{空白}$ 。空白管和标准管只需测1-2次。			

三、组织铜含量的计算

1. 按样本质量计算

$$\text{组织铜含量} (\mu\text{mol/g}) = \Delta A_{测定} \div (\Delta A_{标准} \div C_{标准}) \times V_{提取} \div W = 0.08 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W$$

2. 按样本蛋白浓度计算

$$\text{组织铜含量} (\mu\text{mol/g prot}) = \Delta A_{测定} \div (\Delta A_{标准} \div C_{标准}) \times V_{提取} \div (C_{pr} \times V_{提取}) = 80 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div C_{pr}$$

C标准：标准品浓度，80 $\mu\text{mol/L}$ ；V提取：前处理中蒸馏水体积，0.001L；W：样本质量，g；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL。

注意事项：

- 37℃孵育5min后请立即测定吸光度，若样本数量过多，可分批次测定，尽量确保在20min内完成测定。
- 如果样本测定吸光值大于0.5，建议将样本用蒸馏水稀释后进行测定，注意同步修改计算公式。
- 如果样本测定吸光值小于0.005或接近空白管吸光值，可适当增大样本量，空白管和标准管也需要进行相应调整。

实验实例：

- 称取0.1g鼠肺加入1mL蒸馏水进行匀浆研磨，离心取上清后按照测定步骤操作，使用1mL玻璃比色皿测得计算 $\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{空白}=0.126-0.071=0.055$ ， $\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{空白}=0.384-0.071=0.313$ ，按样本质量计算含量得：

$$\text{组织铜含量} (\mu\text{mol/g}) = 0.08 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W = 0.141 \mu\text{mol/g}$$

- 称取0.1010g杏仁加入1mL蒸馏水进行匀浆研磨，离心取上清后按照测定步骤操作，使用96孔板测得计算 $\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{空白}=0.267-0.071=0.196$ ， $\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{空白}=0.384-0.071=0.313$ ，按样本质量计算含量得：

$$\text{组织铜含量} (\mu\text{mol/g}) = 0.08 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W = 0.496 \mu\text{mol/g}$$

- 称取0.1053g黄豆粉加入1mL蒸馏水进行匀浆研磨，离心取上清后按照测定步骤操作，使用96孔板测得计算 $\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{空白}=0.342-0.071=0.271$ ， $\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{空白}=0.384-0.071=0.313$ ，按样本质量计算含量得：

$$\text{组织铜含量} (\mu\text{mol/g}) = 0.08 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W = 0.658 \mu\text{mol/g}$$



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