

## 细胞铜 (Cu) 含量检测试剂盒 (微量法)

产品货号: BA2235

产品规格: 100T/96S

### 产品简介:

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,测定细胞内铜离子含量可知体内是否缺铜。

在酸性条件下,Cu<sup>2+</sup>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<sup>2+</sup>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17mL×1瓶 | 2-8°C |
| 试剂二  | 液体6mL×1瓶  | 2-8°C |
| 标准品  | 液体1mL×1支  | 2-8°C |

溶液的配制:

1. 试剂一:若有试剂析出,置于37°C水浴溶解即可。
2. 标准品:10mmol/L(即10000nmol/mL)硫酸铜标准液。
3. 20nmol/mL标准品配制:将10000nmol/mL标准液用蒸馏水先稀释为200nmol/mL的标准溶液,再将200nmol/mL标准液稀释为20nmol/mL的标准液备用,具体稀释可参考以下:取20 $\mu$ L 10000nmol/mL的标准液加入980 $\mu$ L蒸馏水混匀,即为200nmol/mL的标准品;再吸取100 $\mu$ L 200nmol/mL的标准液加入900 $\mu$ L蒸馏水混匀,即为20nmol/mL的标准品。

### 需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、低温离心机、水浴锅/恒温培养箱、微量玻璃比色皿/96孔板、可调式移液枪、细胞超声破碎仪、冰和蒸馏水。

### 操作步骤:

#### 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)

细胞的处理:收集细胞到离心管内,离心后弃上清;按照细胞数量(10<sup>6</sup>个):蒸馏水体积(mL)为5~10:0.4的比例(建议5百万细胞加入0.4mL蒸馏水),超声波破碎细胞(冰浴,功率200W,超声3s,间隔7s,共3min),然后10000g,4°C,离心10min,取上清置冰上待测。

#### 二、测定步骤

1. 可见分光光度计/酶标仪预热30min以上,调节波长至580nm,分光光度计用蒸馏水调零。
2. 实验前根据样本量取部分试剂一37°C预热10min。
3. 操作表:(在1.5mLEP管或96孔板中加入下列试剂)

| 试剂名称( $\mu$ L) | 空白管 | 测定管 | 标准管 |
|----------------|-----|-----|-----|
| 蒸馏水            | 50  | -   | -   |
| 样本             | -   | 50  | -   |
| 标准品            | -   | -   | 50  |



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: zzybio@126.com

|   |     |     |     |
|---|-----|-----|-----|
| 试剂一   | 110 | 110 | 110 |
| 试剂二   | 50  | 50  | 50  |
| 充分混匀，37℃孵育 5min，取反应液于微量玻璃比色皿/96 孔板中，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、细胞铜（Cu）含量的计算

#### 1. 按细胞数量计算

细胞铜（Cu）含量（nmol/10<sup>6</sup> cell）=  $\Delta A_{测定} \div (\Delta A_{标准} \div C_{标准}) \times V_{提取} \div N = 8 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div N$

#### 2. 按蛋白浓度计算

细胞铜（Cu）含量（nmol/mg prot）=  $\Delta A_{测定} \div (\Delta A_{标准} \div C_{标准}) \times V_{提取} \div (C_{pr} \times V_{提取})$   
=  $20 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div C_{pr}$

C 标准：标准品浓度，20nmol/mL；V 提取：前处理中蒸馏水体积，0.4mL；N：细胞总数，以百万计；C<sub>pr</sub>：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。



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