

## 细胞铜（Cu）含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

货号：BC5750

规格：50T/48S

**产品组成：**使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

| 试剂名称 | 规格           | 保存条件   |
|------|--------------|--------|
| 试剂一  | 液体 45 mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂二  | 液体 15 mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 标准品  | 液体 1 mL×1 支  | 2-8℃保存 |

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20μL 10000nmol/mL的标准液加入980μL蒸馏水混匀，即为200nmol/mL的标准品；再吸取100μL 200nmol/mL的标准液加入900μL蒸馏水混匀，即为20nmol/mL的标准品。

### 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。

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。

### 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、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℃，离心 10min，取上清置冰上待测。

#### 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、实验前根据样本量取部分试剂一37℃预热10min。





### 3、操作表：（在1.5mLEP管中依次加入以下试剂）

| 试剂名称 (μL) | 空白管 | 测定管 | 标准管 |
|-----------|-----|-----|-----|
| 蒸馏水       | 250 | -   | -   |
| 样本        | -   | 250 | -   |
| 标准品       | -   | -   | 250 |
| 试剂一       | 550 | 550 | 550 |
| 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、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：前处理蒸馏水体积，0.4mL；N：细胞总数，以百万计；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：

- 收集约 5 百万 SHSY5Y 细胞，加入 0.4mL 蒸馏水，超声波破碎（功率 200w，超声 3s，间隔 7s，共 3min），10000g，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。之后按照测定步骤操作，用 1mL 玻璃比色皿测得计算  $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{空白} = 0.187 - 0.071 = 0.116$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白} = 0.441 - 0.071 = 0.370$ ，按细胞数量计算铜含量得：细胞铜含量（nmol/10<sup>6</sup> cell）=  $8 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div N = 0.5016 \text{ nmol/10}^6 \text{ cell}$ 。
- 收集约 5 百万 U937 细胞，加入 0.4mL 蒸馏水，超声波破碎（功率 200w，超声 3s，间隔 7s，共 3min），10000g，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。之后按照测定步骤操作，用 1mL 玻璃比色皿测得计算  $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{空白} = 0.129 - 0.071 = 0.058$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白} = 0.441 - 0.071 = 0.370$ ，按细胞数量计算铜含量得：细胞铜含量（nmol/10<sup>6</sup> cell）=  $8 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div N = 0.2508 \text{ nmol/10}^6 \text{ cell}$ 。

### 相关系列产品：

BC1730/BC1735 血清铁浓度检测试剂盒

BC5410/BC5415 亚铁离子含量检测试剂盒

BC5630/BC5635 组织铜（Cu）含量检测试剂盒

BC5640/BC5645 血清铜（Cu）含量检测试剂盒



本产品仅供科学研究使用。请勿用于临床、诊断、食品、化妆品检测等用途。

For research use only. Do not use for clinical, diagnostic, food, cosmetic testing and other purposes.