

细胞铜（Cu）含量检测试剂盒说明书

微量法

货号：BC5755

规格：100T/96S

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 17 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 6 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，测定细胞内铜离子含量可知体内是否缺铜。

在酸性条件下，Cu²⁺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Cu²⁺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/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（10⁶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/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℃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 (μL)	空白管	测定管	标准管
蒸馏水	50	-	-
样本	-	50	-
标准品	-	-	50
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/10⁶ 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；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 96 孔板测得计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{空白} = 0.152 - 0.092 = 0.060$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白} = 0.334 - 0.092 = 0.242$ ，按细胞数量计算铜含量得：

细胞铜含量（nmol/10⁶ cell）= $8 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div N = 0.3967 \text{ nmol/10}^6 \text{ cell}$ 。

- 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 96 孔板测得计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{空白} = 0.122 - 0.092 = 0.030$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白} = 0.334 - 0.092 = 0.242$ ，按细胞数量计算铜含量得：
- 细胞铜含量（nmol/10⁶ cell）= $8 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div N = 0.1983 \text{ nmol/10}^6 \text{ cell}$ 。

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



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.

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

