

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^{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 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 μ L 10000nmol/mL 的标准液加入 980 μ L 蒸馏水混匀, 即为 200nmol/mL 的标准品; 再吸取 100 μ L 200nmol/mL 的标准液加入 900 μ 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 (10^6 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 (μ L)	空白管	测定管	标准管
蒸馏水	50	-	-
样本	-	50	-



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路 2518 弄 14 号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

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 ΔA 测定=A 测定-A 空白， ΔA 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

$$\text{细胞铜 (Cu) 含量 (nmol/106 cell)} = \Delta A \text{ 测定} \div (\Delta A \text{ 标准} \div C \text{ 标准}) \times V \text{ 提取} \div N = 8 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div N$$

2. 按蛋白浓度计算

$$\begin{aligned} \text{细胞铜 (Cu) 含量 (nmol/mg prot)} &= \Delta A \text{ 测定} \div (\Delta A \text{ 标准} \div C \text{ 标准}) \times V \text{ 提取} \div (Cpr \times V \text{ 提取}) \\ &= 20 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div Cpr \end{aligned}$$

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

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>