

铜(Cu)含量检测试剂盒说明书

(货号: G08104W 微板法 96 样)

一、产品简介:

在酸性条件下,铜蓝蛋白和清蛋白中的铜解离出来,抗坏血酸(还原型)将解离出来二价铜离子还原成一价铜离子,一价铜离子与显色剂 3,5-DiBr-PAESA 生成蓝色络合物,在 600nm 波长处测试,通过检测蓝色铜络合物的吸光度,可以计算出铜的浓度。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 15mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 5mL×1 瓶	4℃保存	
标准管	液体 0.2mL×1 支	4℃保存	浓度为25.4μmol/L。

三、所需仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、离心机、去离子水。

四、铜(Cu)含量检测:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定,了解本批样品情况,熟悉实验流程,避免样本和试剂浪费!

1、样本制备:

- ① 液体样本:直接检测。若浑浊,离心后取上清检测。
- ② 组织样本:取约 0.1g 组织样本,加入 1mL 提取液,进行冰浴匀浆。12000rpm, 4℃离心 10min, 取上清,置冰上待测。

【注】:若增加样本量,可按照组织质量(g):提取液体积(mL)为 1:5~10 的比例提取。

- ③ 细菌/细胞样本:先收集细菌或细胞到离心管内,离心后弃上清;取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液,超声波破碎细菌或细胞(冰浴,功率 200W,超声 3s,间隔 10s,重复 30 次);12000rpm 离心 10min,取上清待测。

【注】:若增加样本量,可按照细菌/细胞数量(10^4):提取液(mL)为 500~1000:1 的比例进行提取。

2、上机检测:

- ① 酶标仪预热 30min,设定波长到 600nm。
- ② 所有试剂解冻至室温,在 96 孔板中依次加入:

试剂名称(μL)	测定管	标准管 (仅做一次)	空白管 (仅做一次)
样本	10		
蒸馏水			10
标准品		10	
试剂一	150	150	150
37℃条件下,孵育 5min 后于 600nm 处读取 A1。			
试剂二	50	50	50
混匀,37℃条件下,孵育 5min 后于 600nm 处读取 A2。 $\Delta A = A2 - A1$ 。			

【注】:若 A2 值大于 1,可用生理盐水或蒸馏水对样本进行稀释,稀释倍数 D 代入计算公式。

五、结果计算：

1、按照体积计算：

$$\begin{aligned}\text{铜(Cu)} (\mu\text{mol/L}) &= (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times (\Delta\text{A}_{\text{测定}} - \Delta\text{A}_{\text{空白}}) \div (\Delta\text{A}_{\text{标准}} - \Delta\text{A}_{\text{空白}}) \div \text{V1} \times \text{D} \\ &= 25.4 \times (\Delta\text{A}_{\text{测定}} - \Delta\text{A}_{\text{空白}}) \div (\Delta\text{A}_{\text{标准}} - \Delta\text{A}_{\text{空白}}) \times \text{D}\end{aligned}$$

2、按样本鲜重计算：

$$\begin{aligned}\text{铜(Cu)} (\text{nmol/g}) &= (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times (\Delta\text{A}_{\text{测定}} - \Delta\text{A}_{\text{空白}}) \div (\Delta\text{A}_{\text{标准}} - \Delta\text{A}_{\text{空白}}) \div (\text{W} \times \text{V1} \div \text{V}) \times \text{D} \\ &= 25.4 \times (\Delta\text{A}_{\text{测定}} - \Delta\text{A}_{\text{空白}}) \div (\Delta\text{A}_{\text{标准}} - \Delta\text{A}_{\text{空白}}) \div \text{W} \times \text{D}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{铜(Cu)} (\mu\text{g/g}) &= (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times (\Delta\text{A}_{\text{测定}} - \Delta\text{A}_{\text{空白}}) \div (\Delta\text{A}_{\text{标准}} - \Delta\text{A}_{\text{空白}}) \div (\text{W} \times \text{V1} \div \text{V}) \times 63.55 \div 1000 \times \text{D} \\ &= 1.614 \times (\Delta\text{A}_{\text{测定}} - \Delta\text{A}_{\text{空白}}) \div (\Delta\text{A}_{\text{标准}} - \Delta\text{A}_{\text{空白}}) \div \text{W} \times \text{D}\end{aligned}$$

3、按细胞数量计算：

$$\begin{aligned}\text{铜(Cu)} (\text{nmol/g}) &= (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times (\Delta\text{A}_{\text{测定}} - \Delta\text{A}_{\text{空白}}) \div (\Delta\text{A}_{\text{标准}} - \Delta\text{A}_{\text{空白}}) \div (5 \times \text{V1} \div \text{V}) \times \text{D} \\ &= 25.4 \times (\Delta\text{A}_{\text{测定}} - \Delta\text{A}_{\text{空白}}) \div (\Delta\text{A}_{\text{标准}} - \Delta\text{A}_{\text{空白}}) \div 5 \times \text{D}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{铜(Cu)} (\mu\text{g/g}) &= (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times (\Delta\text{A}_{\text{测定}} - \Delta\text{A}_{\text{空白}}) \div (\Delta\text{A}_{\text{标准}} - \Delta\text{A}_{\text{空白}}) \div (5 \times \text{V1} \div \text{V}) \times 63.55 \div 1000 \times \text{D} \\ &= 1.614 \times (\Delta\text{A}_{\text{测定}} - \Delta\text{A}_{\text{空白}}) \div (\Delta\text{A}_{\text{标准}} - \Delta\text{A}_{\text{空白}}) \div 5 \times \text{D}\end{aligned}$$

C 标准---标品浓度，25.4μmol/L=25.4nmol/mL；

V1---加入样本体积，0.01mL；

63.55---铜的分子量；

5---细胞数量，百万；

V---提取液提取液体积，1 mL；

V2---加入标准品体积，0.01mL；

W---质量，g；

D---稀释倍数，未稀释即为1。