

## 组织铜（Cu）含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

货号：BC5560

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°C保存
试剂二	液体 15 mL×1 瓶	2-8°C保存
标准品	液体 1 mL×1 支	2-8°C保存

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10000μmol/L）硫酸铜标准液。

**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。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。**

**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、研钵/匀浆器、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）

1. 组织：按照组织质量（g）：蒸馏水体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 蒸馏水）进行冰浴匀浆，然后 10000g，4°C，离心 10min，取上清待测。

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、80μmol/L标准溶液配制：取100μL 10mmol/L的标准液加入400μL 蒸馏水混匀，即2000μmol/L的标准品；再取40μL 2000μmol/L的标准品和960μL 蒸馏水混合，即配成80μmol/L标准溶液。
- 3、实验前根据样本量取部分试剂一37°C预热10min。
- 4、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	50	-	-
样本	-	50	-
标准品	-	-	50
试剂一	750	750	750
试剂二	250	250	250

充分混匀, 37°C 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、组织铜含量的计算

#### 1. 按样本质量计算

铜含量 (μmol/g) =  $\Delta A_{测定} \div (\Delta A_{标准} \div C_{标准}) \times V_{提取} \div W = 0.08 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W$

#### 2. 按样本蛋白浓度计算

铜含量 (μmol/g prot) =  $\Delta A_{测定} \div (\Delta A_{标准} \div C_{标准}) \times V_{提取} \div (C_{pr} \times V_{提取}) = 80 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div C_{pr}$

C 标准: 标准品浓度, 80 μmol/L; V 提取: 前处理中蒸馏水体积, 0.001L; W: 样本质量, g; C<sub>pr</sub>: 样本蛋白浓度, mg/mL。

#### 注意事项:

- 37°C 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:

- 称取 0.1g 鼠肺加入 1mL 蒸馏水进行匀浆研磨, 离心取上清后按照测定步骤操作, 使用 1mL 玻璃比色皿测得计算  $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{空白} = 0.126 - 0.071 = 0.055$ ,  $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白} = 0.384 - 0.071 = 0.313$ , 按样本质量计算含量得:  
组织铜含量 (μmol/g) =  $0.08 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W = 0.141 \mu\text{mol/g}$ 。
- 称取 0.1010g 杏仁加入 1mL 蒸馏水进行匀浆研磨, 离心取上清后按照测定步骤操作, 使用 96 孔板测得计算  $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{空白} = 0.267 - 0.071 = 0.196$ ,  $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白} = 0.384 - 0.071 = 0.313$ , 按样本质量计算含量得:  
组织铜含量 (μmol/g) =  $0.08 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W = 0.496 \mu\text{mol/g}$ 。
- 称取 0.1053g 黄豆粉加入 1mL 蒸馏水进行匀浆研磨, 离心取上清后按照测定步骤操作, 使用 96 孔板测得计算  $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{空白} = 0.342 - 0.071 = 0.271$ ,  $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白} = 0.384 - 0.071 = 0.313$ , 按样本质量计算含量得:  
组织铜含量 (μmol/g) =  $0.08 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W = 0.658 \mu\text{mol/g}$ 。

#### 相关系列产品:

BC5410/BC5415 亚铁离子含量检测试剂盒

BC4350/BC4355 组织铁含量检测试剂盒