



铜(Cu)含量检测试剂盒

微板法

货号: R45026-48S/96S

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。

试剂盒组分与配制:

试剂名称	R45026-48S	R45026-96S	保存要求	备注
提取液	液体60mL×1瓶	液体100mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	液体8mL×1瓶	液体15mL×1瓶	4℃保存	
试剂二	液体2.5mL×1瓶	液体5mL×1瓶	4℃保存	
标准管	液体0.2mL×1支	液体0.2mL×1支	4℃保存	浓度为25.4μmol/L。

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。

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。△A=A2-A1。			

结果计算:

1、按照体积计算:

$$\begin{aligned}\text{铜 (Cu)}(\mu\text{mol/L}) &= (\text{C标准} \times V_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div V_1 \times D \\ &= 25.4 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times D\end{aligned}$$

2、按样本鲜重计算:

$$\begin{aligned}\text{铜(Cu)}(\text{nmol/g}) &= (\text{C标准} \times V_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (W \times V_1 \div V) \times D \\ &= 25.4 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div W \times D\end{aligned}$$

$$\text{铜(Cu)}(\mu\text{g/g}) = (\text{C标准} \times V_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (W \times V_1 \div V)$$



$\times 63.55 \div 1000 \times D$

$= 1.614 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div W \times D$

3、按细胞数量计算:

铜(Cu)(nmol/g)

$= (C_{\text{标准}} \times V_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (5 \times V_1 \div V) \times D$

$= 25.4 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div 5 \times D$

铜(Cu)(μg/g)

$= (C_{\text{标准}} \times V_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (5 \times V_1 \div V) \times 63.55 \div 1000 \times D$

$= 1.614 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div 5 \times D$

C 标准---标品浓度, $25.4 \mu\text{mol/L} = 25.4 \text{nmol/mL}$;

V-- 提取液提取液体积, 1mL;

V1--- 加入样本体积, 0.01mL;

V2---加入标准品体积, 0.01mL;

63.5---铜的分子量;

W---质量, g;

5---细胞数量, 百万;

D---稀释倍数, 未稀释即为1。