

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K300-M

产品规格: 48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器: 酶标仪(575-585 nm)

Elabscience®铜(Cu^{2+})比色法测试盒(络合法)

Copper (Cu^{2+}) Colorimetric Assay Kit

(Complexing Method)

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话: 400-999-2100

邮箱: biochemical@elabscience.cn

网址: www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清、血浆、动物组织样本中铜离子含量。

检测原理

在酸性条件下,铜离子从铜蓝蛋白上解离下来,与络合剂 3,5-DiBr-PAESA 反应,产生紫色络合物,在一定范围内吸光度值与浓度成正比。

检测组织样本时,需测定总蛋白浓度,推荐使用本公司 BCA 试剂盒(货号 E-BC-K318-M)进行测定。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	显色剂 A (Chromogenic Agent A)	17.5 mL×1 瓶	35 mL×1 瓶	2-8°C 避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	显色剂 B (Chromogenic Agent B)	粉剂×1 支	粉剂×2 支	2-8°C 避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	100 μmol/L 铜离子 标准品 (100 μmol/L Copper Standard)	1 mL×1 支	1 mL×1 支	2-8°C 保存 6 个月
	96 孔酶标板	1 板		
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明:试剂严格按上表中的保存条件保存,不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂,使用前请先离心,以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪（575-585 nm）、37°C恒温箱

试剂：双蒸水

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温，试剂一37 °C孵育直至澄清。

② 试剂二工作液的配制：

临用前，取一支试剂二，加入 1.25 mL 双蒸水混匀，即为试剂二工作液，分装后-20°C保存 1 个月。

③ 显色剂工作液：

将试剂一：试剂二工作液按 14：1 的体积比混匀，现用现配。

④ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度($\mu\text{mol/L}$)	0	5	10	20	30	40	50	60
100 $\mu\text{mol/L}$ 标准品(μL)	0	5	10	20	30	40	50	60
双蒸水(μL)	100	95	90	80	70	60	50	40

样本准备

① 样本处理

样本要求：血浆样本不能用 EDTA、柠檬酸盐等整合剂作为抗凝剂。建议使用肝素作为抗凝剂

血清血浆样本：直接进行测定。

组织样本：匀浆介质为双蒸水，匀浆离心取上清待测，留取部分上清用于蛋白浓度测定。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：1.84-60 $\mu\text{mol/L}$ ，可参考下表进行稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	大鼠血清	不稀释
人血浆	不稀释	兔血清	不稀释
狗血清	不稀释	猪血清	不稀释
10%小鼠肝组织	不稀释	10%大鼠肺组织	不稀释

注：稀释液为双蒸水。

实验关键点

- ① 血清、血浆样本须澄清，避免溶血。血浆抗凝剂必须是肝素。
- ② 在通风良好的地方操作。

操作步骤

- ① 标准孔：取 15 μL 8 个不同浓度的标准品，分别触底加入对应的标准孔中；
测定孔：取 15 μL 待测样本，触底加入样本孔中。
- ② 向步骤①中各孔加入 230 μL 显色剂工作液。
- ③ 盖上覆膜，37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 5 min。
- ④ 酶标仪 580 nm，测各孔 OD 值。

操作表

	标准孔	测定孔
不同浓度的标准品(μL)	15	--
待测样本(μL)	--	15
显色剂工作液(μL)	230	230
盖上覆膜，37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 5 min，酶标仪 580 nm，测各孔 OD 值。		

检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用本公司 BCA 试剂盒(货号 E-BC-K318-M)进行测定。

结果计算

标准品拟合曲线: $y = ax + b$

血清(浆)中铜离子浓度计算公式:

$$\text{铜离子含量 } (\mu\text{mol/L}) = (\Delta A_{580} - b) \div a \times f$$

组织样本中铜离子浓度计算公式:

$$\begin{aligned} \text{铜离子含量} \\ (\mu\text{mol/gprot}) &= (\Delta A_{580} - b) \div a \div C_{\text{pr}} \times f \end{aligned}$$

注解:

y: 标准孔 OD 值-空白孔 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x: 标准品的浓度

a: 标准曲线斜率

b: 标准曲线截距

ΔA_{580} : 样本测定 OD 值-空白 OD 值

C_{pr} : 待测样本的蛋白浓度(gprot/L)

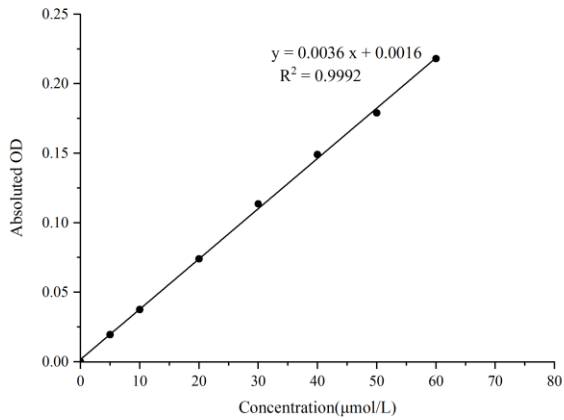
f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	1.84-60 $\mu\text{mol/L}$	平均批间差	3.1 %
灵敏度	1.84 $\mu\text{mol/L}$	平均批内差	3.0 %
平均回收率	105 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)



附录2 实例分析

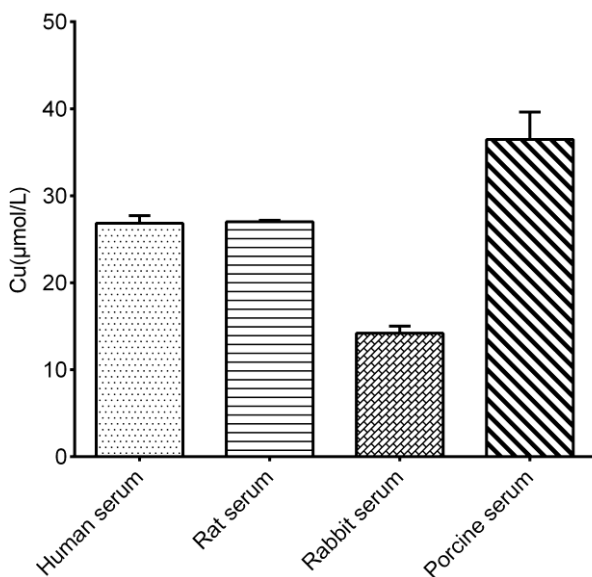
例如检测大鼠血清(数据仅供参考):

取15 μL 大鼠血清,按照操作步骤进行实验,结果如下:

标准品拟合曲线: $y = 0.0036x + 0.0016$, 空白OD值0.074, 测定孔OD值0.170, 代入公式计算结果如下:

$$\begin{aligned} \text{铜含量} &= (0.170 - 0.074 - 0.0016) \div 0.0036 = 26.22 \mu\text{mol/L} \\ &(\mu\text{mol/L}) \end{aligned}$$

按照说明书操作,测定人血清(加样量15 μL)、大鼠血清(加样量15 μL)、兔血清(加样量15 μL)和猪血清(加样量15 μL)中Cu含量(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
复孔差异大	未严格按照说明书操作	严格按照说明书操作
样本和标准品显色很低	孵育时间太短	保证充足的孵育时间
样本测不出值	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本，重新检测
样本测量结果 $>60\ \mu\text{mol/L}$	样本浓度太高	选择合适稀释倍数，重新检测
读数数值低	用不恰当波长检测	选择正确的检测波长

声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Tseng S.Ja. An acid degradable, lactate oxidizing nanoparticle formulation for non-small cell lung cancer virotherapy[J]. *Nano Today*. IF:18.962
2. Salman T M, Iyanda M A, Alli-Oluwafuyi A M, et al. Telfairia occidentalis stimulates hepatic glycolysis and pyruvate production via insulin-dependent and insulin-independent mechanisms[J]. *Metabolism Open*, 2021, 10(1-10):100092. IF:8.694
3. Wang H, Huang Q, Zhang Z, et al. Transient post-operative overexpression of CXCR2 on monocytes of traumatic brain injury patients drives monocyte chemotaxis toward cerebrospinal fluid and enhances monocyte-mediated immunogenic cell death of neurons in vitro[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2022. IF:7.573
4. Carafa V, Russo R, Della Torre L, et al. The Pan-Sirtuin Inhibitor MC2494 Regulates Mitochondrial Function in a Leukemia Cell Line[J]. *Frontiers in Oncology*, 2020, 10: 820. IF:4.848
5. Sun J, Leng P, Li X, et al. Salvianolic acid A promotes mitochondrial biogenesis and mitochondrial function in 3T3-L1 adipocytes through regulation of the AMPK-PGC1 α signalling pathway. *Adipocyte*. 2022;11 (1):562-571. IF:3.553
6. Xu X, Cui Y, Li C, et al. SETD3 Downregulation Mediates PTEN Upregulation-Induced Ischemic Neuronal Death Through Suppression of Actin Polymerization and Mitochondrial Function. *Mol Neurobiol*. 2021; 58 (10):4906-4920. IF:3.464
7. Gao S, Li N, Chen R, et al. Bushen Huoxue Formula Modulates Autophagic Flux and Inhibits Apoptosis to Protect Nucleus Pulposus Cells by Restoring the AMPK/SIRT1 Pathway. *Biomed Res Int*. 2022; 2022:8929448. IF:3.047
8. Cheng F, Yu J, Zhang X, et al. CircSEC31A Promotes the Malignant Progression of Non-Small Cell Lung Cancer Through Regulating SEC31A Expression via Sponging miR-376a[J]. *Cancer Management and Research*, 2020, Volume 12:11527-11539. IF:2.886
9. Soebagjo H D, Fatmariyanti S, Paulus Sugianto N, et al. Detection of the Calcium and ATP Role in Apoptosis of Retinoblastoma Culture Cells through Caspase-3 Expression[J]. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 2019, 12(03): 1307-1314.
10. Al-Ziaydi A G, Al-Shammari A M, Hamzah M I, et al. Newcastle disease virus suppress glycolysis pathway and induce breast cancer cells death[J]. *VirusDisease*, 2020: 1-8.

