

(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-F102**

**产品规格：48T(46 samples)/96T(94 samples)**

**检测仪器：荧光酶标仪(激发波长：395 nm，发射波长：480 nm)**

## **Elabscience®细胞亚铜离子荧光法测试盒**

### **Cellular Cuprous Fluorometric Assay Kit**

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](mailto:biochemical@elabscience.cn)

网址：[www.elabscience.cn](http://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细胞样本中亚铜离子的水平。

## 检测原理：

细胞内亚铜离子异常积蓄会诱导硫辛酸化修饰的丙酮酸脱氢酶复合物关键组分发生寡聚化，影响三羧酸循环，引发了蛋白质毒性应激，并诱导细胞死亡。

亚铜离子可以催化底物生成荧光物质，铜离子浓度越高，单位时间内生成的荧光物质越多，在激发波长 395 nm/发射波长 480 nm 处可检测荧光大小。

## 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)	底物 A (Substrate A)	0.8 mL×1 支	1.6 mL×1 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	底物 B (Substrate B)	6 mL×1 瓶	12 mL×1 瓶	-20°C 避光 保存 6 个月
	96 孔黑色酶标板	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：**荧光酶标仪(激发波长：395 nm，发射波长：480 nm)

**试剂：**生理盐水(0.9% NaCl)，双蒸水

## 试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至25°C。

② 试剂一工作液配制：

试剂一：双蒸水按体积比=1:9混匀，未用完试剂可于-20°C避光保存7天。

## 样本准备

① 样本处理

细胞样本：取 $1 \times 10^6$ 个细胞，加入200  $\mu$ L生理盐水(0.9% NaCl)匀浆，4°C，10000  $\times$ g离心10 min，取上清液，置于冰上待测，当天检测有效。

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，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
$1 \times 10^6$ 个 HeLa 细胞	不稀释	$1 \times 10^6$ 个 Molt-4 细胞	不稀释
$1 \times 10^6$ 个 Jurkat 细胞	不稀释	$1 \times 10^6$ 个 293T 细胞	不稀释
$1 \times 10^6$ 个 K562 细胞	不稀释		

注：稀释液为生理盐水(0.9% NaCl)。

## 操作步骤

- ① 测定孔：取 20  $\mu\text{L}$  待测样本加入相应的酶标孔中。
- ② 向步骤①中各孔加入 100  $\mu\text{L}$  试剂一工作液。
- ③ 将步骤②中各孔加入 100  $\mu\text{L}$  试剂二。
- ④ 振板 5 s, 37  $^{\circ}\text{C}$  避光孵育 10 min, 使用荧光酶标仪检测各孔激发波长 395 nm, 发射波长 480 nm 的荧光值。

## 操作表

	测定孔
待测样本( $\mu\text{L}$ )	20
试剂一工作液( $\mu\text{L}$ )	100
试剂二( $\mu\text{L}$ )	100
振板 5 s, 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 10 min, 使用荧光酶标仪检测各孔激发波长 395 nm, 发射波长 480 nm 的荧光值。	

## 附录1 关键数据

### 1. 技术参数

批内差	3.0-6.0%	批间差	5.0-8.0%
-----	----------	-----	----------

## 附录2 实例分析

例如检测细胞(数据仅供参考):

取20  $\mu\text{L}$ 细胞匀浆上清液,按操作表操作,结果如下表:

样本	绝对荧光值	样本	绝对荧光值
$1 \times 10^6$ 个 HeLa 细胞	714	$1 \times 10^6$ 个 Molt-4 细胞	474
$1 \times 10^6$ 个 Jurkat 细胞	701	$1 \times 10^6$ 个 293T 细胞	1230
$1 \times 10^6$ 个 K562 细胞	577		

## 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同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。

