

铜检测试剂盒(Cuprizone 微板法)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

产品简介：

铜是人体重要的微量元素，是酶的重要组成部分如铜蓝蛋白(亚铁氧化酶)、超氧化物歧化酶、细胞色素氧化酶等，总含量约为 90mg，有 90~95%的铜与球蛋白结合，形成铜蓝蛋白；5~10%的铜与清蛋白结合，清蛋白可作为血浆铜的载体，铜的检测方法有分光光度计、原子吸收光谱法、中子活化分析法等。

铜检测试剂盒(Cuprizone 微板法)检测原理是在酸性介质中与白蛋白结合的铜从白蛋白中解离出来，经沉淀蛋白质后铜离子与 Cuprizone 络合，形成稳定的蓝色络合物，通过酶标仪测定 620nm 处吸光度，形成的蓝色与血清、血浆铜成线性关系，与标准品比较，根据公式计算出铜含量，该检测试剂盒在 62.8 $\mu\text{mol/L}$ 以下线性关系良好，特异性高，较为灵敏。该试剂盒仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成：

名称	规格	保存条件
铜检测试剂盒(Cuprizone 微板法)	100T	4℃避光
试剂(A):铜标准(100 $\mu\text{g/ml}$)	1ml	4℃避光
试剂(B):铜标准稀释液	5ml	RT
试剂(C):Cu 酸化液	15ml	RT
试剂(D):Lea 蛋白沉淀液	25ml	4℃避光
试剂(E):CuAssayBuffer	2×10ml	4℃
试剂(F):Cuprizone 显色液	1.2ml	4℃避光
试剂(G):ddH ₂ O	10ml	RT
使用说明书	1 份	
有效期	1 年	

自备材料：

- 1.5ml 离心管或试管
- 离心机
- 酶标仪、96 孔板

操作步骤(仅供参考):

- 1、制备样品：血浆、血清按照常规方法制备，可以直接用于该试剂盒的测定，-20℃冻存，用于 Cu 的检测。
- 2、配制铜标准工作液：取适量的铜标准(100 μg/ml)，按铜标准(100 μg/ml)：铜标准稀释液=1:24 的比例配制铜标准(4 μg/ml)，即为铜标准工作液：4℃避光保存，3 个月有效。
- 3、Cu 加样：最好选用经稀盐酸处理及去离子水清洁的干燥试管或者一次性无菌聚乙烯 1.5ml 离心管，以及洁净 96 孔板，如果无法达到上述要求，应尽量避免使用铜污染的器皿，按下表操作。

加入物(μl)	空白管/孔	标准管/孔	测定管/孔
ddH ₂ O	200	—	—
铜标准(4 μg/ml)	—	200	—
待测样品	—	—	200
Cu 酸化液	140	140	140
充分混匀，室温放置 10min。			
Lea 蛋白沉淀液	200	200	200
充分混匀，室温放置 10min，3000g 离心 10min，吸取各管上清液，取 96 孔板按下列步骤操作。			
上述上清液	100	100	100
CuAssayBuffer	140	140	140
Cuprizone 显色液	10	10	10

- 4、Cu 测定：混匀，室温静置 20min，以空白调零，酶标仪 620nm 处测定标准孔和测定孔的吸光度(即为 A 标准和 A 测定)。

计算:

血浆、血清铜(μmol/L)=(A 测定/A 标准)×62.8

式中：A 测定=测定管的吸光度

A 标准=标准管的吸光度

铜标准(4 μg/ml)=铜标准(62.8 μmol/L)

μg/dl=μmol/L/0.157

参考区间:

成年健康人血清铜:

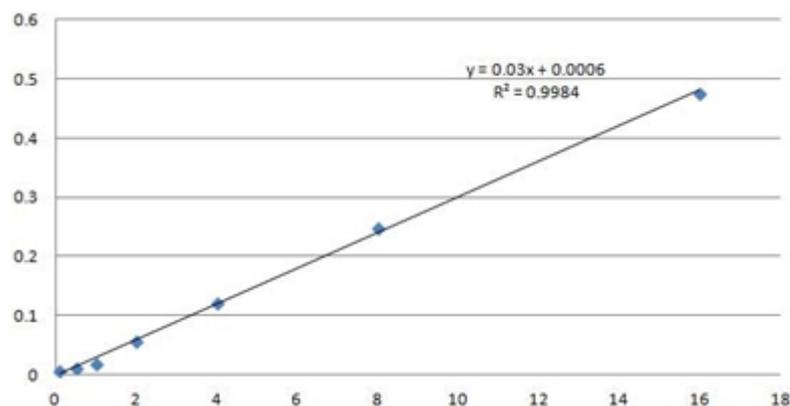
男性：10.99~21.98 μmol/L(70~140 μg/dl)

女性：12.56~23.55 μmol/L(80~150 μg/dl)

注意事项:

- 1、如果样品浓度过高，应用去离子水稀释后重测，结果乘以稀释倍数。
- 2、实验过程中用到的水，不可用普通的蒸馏水，尽量采用高纯度的去离子水。
- 3、玻璃器材尽量用 10%的盐酸浸泡 24h，取出后用去离子水冲洗后才可以使⤵用。
- 4、试验中仪器、试管、注射器等尽量避免铜污染。
- 5、测定波长可选 600~640nm，检测结果差异不大。
- 6、该试剂盒呈色稳定，显色后在 4~20℃可稳定 1h。
- 7、随着时间的延长，颜色会变浅或消失，应在 1h 内检测完毕。
- 8、CuAssayBuffer 应密闭保存，用完立即盖紧盖子，防止有效成分挥发。
- 9、经典标准品采用铜标准(2 μg/ml)，如仪器精密干扰小，可以采用铜标准(2 μg/ml)，其计算公式为：血浆、血清铜(μmol/L)=(A 测定/A 标准)×31.4。

附录: 参考标准曲线范围：空白调零，通过分光光度计测定吸光度，铜标准为 2 μg/ml 时，OD 值为 0.05~0.07；铜标准为 4 μg/ml 时，OD 值为 0.10~0.13；通过测定铜标准为 0.1、0.5、1、2、4、8、16 μg/ml 时的吸光度，作出其标准曲线如下：



注意: 由于检测仪器和操作手法等条件的不同，参考值范围会有波动，该值仅供参考，对于要求精确计算铜含量的，可以采用标准曲线进行多点测定；根据测定经验显示，标准品浓度在 0.5 μg/ml 以下，50 μg/ml 以上，标准曲线会有偏差。

