天净沙系列

CAT#:7-C14127-61-8-SR

低温运输和保存

天净沙

肌浆网钙离子含量测定试剂盒（荧光法）

Sarcoplasmic Reticulum Calcium Assay Kit

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本试剂盒采用比率荧光法，通过膜不通透性钙离子探针，实时定量检测小鼠肌肉/组织匀浆中 SERCA 泵介导的钙离子摄取活性，可直接换算胞浆游离 Ca2+浓度变化，适用于骨骼肌、心肌、脑组织及细胞匀浆样品，可用于疾病模型 SERCA 功能评估、药物干预效果验证及化合物活性筛选。本产品具有如下特点：

1. 采用比率荧光法，实时精准检测游离钙离子浓度，结果稳定可靠。
2. 直接测定 SERCA 介导的钙离子摄取，真实反映肌浆网钙泵功能状态。
3. 96 孔板高通量模式，可同时检测多个样品，支持复孔平行测定。
4. 提供 EGTA/CaCl2 双标准校准体系，可计算绝对 Ca2+浓度，定量更准确。
5. 适用于小鼠骨骼肌、心肌、脑组织匀浆及多种细胞样品，通用性强。
6. 本产品足够 100 次 5 mg 的提取和体系 104 μL 的微量法含量检测。
7. 本产品只可用于科研。

规格及成分

本产品采用小扁盒包装

成份	编号	规格	包装
肌浆网匀浆缓冲液	6-C14127-61-8-SR	10 mL	15 mL 本色瓶
钙离子摄取反应缓冲液	6-C14127-61-8-SRfr	25 mL	30 mL 本色瓶
2 mM 钙离子荧光探针	6-C96314-96-4	100 μL	0.5 mL 棕色管
250 mM 启动剂	5-C56-65-5	400 μL	0.5 mL 绿盖管
校准溶液 A	5-C14127-61-8-SRcal1	1 mL	1.5 mL 蓝盖管
校准溶液 B	5-C14127-61-8-SRcal2	8 mL	15 mL 本色瓶
使用手册	sc7-C14127-61-8-SR	1 份	无

运输及保存

低温运输、-20℃保存，有效期半年。

自备试剂

待测样品，环匹阿尼酸（CPA），超纯水，全黑 1.5 mL 离心管，全黑 96 孔板（跟所用的荧光光度计兼容），37℃恒温带震荡功能的多功能酶标仪（激发 355 nm，双发射 405/485 nm）。

使用方法

一、样品制备

1. 肌肉组织离体后液氮速冻，-80℃保存。
2. 用肌浆网匀浆缓冲液按比例匀浆：骨骼肌：1 mg:20 μL（质量：体积），心肌/脑组织：1 mg:10 μL（质量：体积）。
3. 玻璃匀浆器手动匀浆，直接使用全匀浆，不离心、不取上清。

二、配制反应体系

4. 酶标仪预热至 37℃。

	5. 在黑色离心管中配制：钙离子摄取反应缓冲液 200 μL，肌肉匀浆 20 μL（心肌/细胞可加至 60 μL），2 mM 钙离子荧光探针 1 μL 涡旋混匀 6. 取 100 μL 加入全黑 96 孔板，每个样品做复孔。 **三、设置仪器读取信号** 7. 调节激发波长：355 nm 8. 设置双发射：405 nm / 485 nm 9. 读取初始游离钙离子浓度。（注意：加入 2 mM 钙离子荧光探针后需全程避光） **四、启动钙离子摄取并动力学检测** 10. 每孔快速加入 4 μL 250 mM 启动剂来启动反应。 11. 37℃、持续震荡，动力学读取 30 min，每 20 s 记录 1 次。 **五、校准（Rmin / Rmax）** 12. 每孔加 10 μL 校准溶液 A，读数至稳定，获得 Rmin。 13. 再加 80 μL 校准溶液 B，读数至稳定，获得 Rmax。 **六、SERCA 特异性验证** 14. 加入 1 μL 40 mM CPA 抑制 SERCA（自备）。 15. 继续读取 10 – 15 min 至信号平稳。 16. 加 CPA 后应几乎无钙离子摄取，证明信号来自 SERCA。 **七、数据计算** 17. 按下方公式计算钙离子浓度： $$[Ca^{2+}] = K_d \times \frac{R - R_{min}}{R_{max} - R} \times \frac{S_{f2}}{S_{b2}}$$ 18. 其中：Kd（钙离子荧光探针）=250 nM，R = 405/485 荧光比值，Rmin = 校准溶液 A 处理后比值，Rmax = 校准溶液 B 处理后比值，Sf2 = 校准溶液 A 处理后 485 nm 荧光，Sb2 = 校准溶液 B 处理 485 nm 荧光。
关联产品	钙离子测定试剂盒（欧洲药典 2.3.1 A 法）