

FSP1 Inhibitor Assay Kit

FSP1 抑制剂检测试剂盒说明书

(F1001)

一. 产品描述

FSP1（铁死亡抑制蛋白 1），亦称 AIFM2，是一种定位于质膜的 NAD(P)H 依赖性氧化还原酶。研究表明，FSP1 的表达水平与癌细胞对铁死亡诱导剂（如 GPX4 抑制剂 RSL3）的耐药性正相关，这一特性使 FSP1 成为抗癌治疗的新靶点，尤其在 GPX4 失活或耐药的肿瘤中，靶向抑制 FSP1 可协同诱导铁死亡。目前针对 FSP1 的抑制剂开发及其与铁死亡诱导剂的联合疗法，已成为肿瘤治疗领域研究热点。FSP1 抑制剂检测试剂盒由宁波友波生物科技有限公司研究开发，该试剂盒基于荧光法检测 FSP1 抑制剂活性，通过特异性底物的酶促反应，精确测定抑制效率，具备高灵敏度、操作简便及高通量兼容性等优点，适用于 FSP1 抑制剂的筛选。

二. 产品组成

FSP1 抑制剂检测试剂盒组成和规格如下：

目录号	规格	96-孔板反应数	384-孔板反应数
F1001	检测缓冲液（10×） 5 mL FSP1 1 管 Resazurin 2mL×2 管 NADH 2 管 FSP1 抑制剂 1 管 100μL	200	800

三. 实验步骤

1. 试剂准备

- 1) 10×检测缓冲液室温解冻，按 10X 的比例用去离子水稀释成 1×，稀释后建议当天用完，未稀释的检测缓冲液可于 4℃ 保存 1 个月。

- 2) Resazurin 室温解冻，直接使用（96 孔板）或用 1×检测缓冲液 1: 1 稀释（384 孔板），解冻后应尽快使用，室温避光 2 h 内保持稳定。
- 3) NADH 为干粉，每瓶试剂用 2 mL（96 孔板）或 4 mL（384 孔板）的 1×检测缓冲液溶解，溶解后应尽快使用，室温避光 2 h 内保持稳定。
- 4) FSP1 冰上解冻，将 100 μL FSP1 与 1900 μL 1×检测缓冲液混匀（96 孔板）或 50 μL FSP1 与 1950 μL 1×检测缓冲液混匀（384 孔板），建议现配现用，稀释后于冰上保存，并在 2 h 内使用，未稀释的 FSP1 于 -80 °C 保存，且避免反复冻融。
- 5) FSP1 抑制剂室温解冻，直接使用（96 孔板）或用 1×检测缓冲液 4 倍稀释（384 孔板），解冻后应尽快使用，未使用的 FSP 1 抑制剂于 -20 °C 保存，且避免反复冻融。

2. 操作步骤

- 1) 在 96 孔或 384 孔黑板中进行反应，建议 96 孔板反应体积为 100 μL，384 孔板反应体积为 25 μL。
- 2) 设置背景孔、100%活性孔、阳性对照孔和实验孔：
 - ①背景孔：每孔加入 75 μL /10 μL（96 孔板/384 孔板）1×检测缓冲液，再加入 5 μL 溶解抑制剂用的溶剂。
 - ②100%活性孔：每孔加入 65 μL /5 μL（96 孔板/384 孔板）1×检测缓冲液，再加入 10 μL /5 μL（96 孔板/384 孔板）FSP1 和 5 μL 溶解抑制剂所用的溶剂。
 - ③阳性对照孔：每孔加入 65 μL /5 μL（96 孔板/384 孔板）1×检测缓冲液，再加入 10 μL /5 μL（96 孔板/384 孔板）FSP1 和 5 μL 试剂盒中提供的 FSP 1 抑制剂。
 - ④样本孔：每孔加入 65 μL /5 μL（96 孔板/384 孔板）1×检测缓冲液，再加入 10 μL /5 μL（96 孔板/384 孔板）FSP 1 和 5 μL 测试抑制剂。
- 3) 加好后，轻轻振荡 20s，室温（22~25 °C），避光，孵育 10 min。
- 4) 每孔加入 10 μL /5 μL（96 孔板/384 孔板）Resazurin，再每孔加入 10 μL /5 μL（96 孔板/384 孔板）NADH，轻轻振荡 20s，室温（22~25 °C），避光，孵育 15 min。
- 5) 用 540 nm 的激发波长和 590 nm 的发射波长读板。

3. 结果计算

$$\text{抑制率}\% = \frac{A-B}{A} \times 100\%$$

注解：

A: 100%活性孔信号 — 背景孔信号

B: 样本孔信号 — 背景孔信号

四. 运输和储存条件

干冰运输。FSP1 放-80℃避光储存，其它成分放-20℃及以下避光储存，有效期 12 个月。

五. 注意事项

- 1) 首次使用试剂后应分装并于-20℃及以下避光储存，保证试剂的稳定性。
- 2) 溶解抑制剂用的有机溶剂对反应信号有一定的影响，建议反应 DMSO 终浓度 $\leq 5\%$ ，DMF 终浓度 $\leq 1\%$ ，甲醇或乙醇终浓度 $\leq 1\%$ 。
- 3) 不同批次不建议混用。非经验证，不建议改变反应试剂用量。
- 4) 本产品仅作科研用途。