

铁死亡抑制蛋白1(FSP1)抑制剂筛选试剂盒 (荧光法)

FSP1 Inhibitor Screening Assay Kit (Fluorescent)



产品规格

产品货号	组分	可检测 96 孔板孔数	可检测 384 孔板孔数
FSA001.800	NADH 2 支	200 wells	800 wells
	FSP1 1 支		
	10×检测缓冲液 5 ml		
	Resazurin 2ml×2 支		
	FSP 1 抑制剂 100μl×1 支		

保存条件

FSP1于-80℃避光储存，其余组分于-20℃或以下避光储存。首次使用后可分装保存，以保证试剂的稳定性。

产品描述

FSP1 (ferroptosis suppressor protein 1, 铁死亡抑制蛋白1), 也称 AIFM2 (apoptosis-inducing factor mitochondria-associated 2), 是一种定位于质膜的 NAD(P)H 依赖性氧化还原酶。现有研究表明, 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。铁死亡抑制蛋白 1(FSP1)抑制剂筛选试剂盒是基于荧光法检测 FSP1 抑制剂活性的试剂盒, 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、操作简便及兼容高通量等优点, 适用于 FSP1 抑制剂的筛选。

实验步骤

试剂准备

- 10×检测缓冲液于室温解冻, 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。
- Resazurin于室温解冻, 直接使用 (96孔板) 或用1×检测缓冲液按照1: 1的比例稀释 (384孔板), 解冻后需尽快使用, 室温避光2 h内保持稳定。
- 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, 溶解后需尽快使用, 室温避光2 h内保持稳定。
- FSP1于冰上解冻, 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, 避免反复冻融。
- FSP1 抑制剂于室温解冻, 直接使用 (96 孔板) 或用 1×检测缓冲液 4 倍稀释 (384 孔板), 解冻后需尽快使用, 未使用的 FSP 1 抑制剂于-20 °C保存, 避免反复冻融。

检测步骤

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 (96孔板) /10 μl (384孔板) 1 $\times$ 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 (96孔板) /5 μl (384孔板) 1 $\times$ 检测缓冲液，再加入10 μl (96孔板) /5 μl (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 (96孔板) /5 μl (384孔板) 1 $\times$ 检测缓冲液，再加入10 μl (96孔板) /5 μl (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 (96 孔板) /5 μl (384 孔板) 1 $\times$ 检测缓冲液，再加入 10 μl (96 孔板) /5 μl (384 孔板) FSP 1 和 5 μl 抑制剂样本。
3. 轻轻振荡20s，室温（22~25 $^{\circ}\text{C}$ ）避光孵育10 min。
4. 每孔加入10 μl (96孔板) /5 μl (384孔板) Resazurin，再加入10 μl (96孔板) /5 μl (384孔板) NADH，轻轻振荡20s，室温（22~25 $^{\circ}\text{C}$ ）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。

结果计算

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

A: 100%活性孔信号-背景孔信号

B: 样本孔信号-背景孔信号

注意事项

1. 不同批次的试剂不建议混用。
2. 非经严格验证，不建议改变反应试剂的用量。
3. 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 $\leq 1\%$ 。
4. 试验中请穿着试验服并带手套做好防护工作。请按实验室安全操作规范进行实验。
5. 本试剂**仅供科研使用**，请勿用于临床诊断或其他治疗用途。

V06/25