（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-D008

产品规格：48T/96T

检测仪器：荧光酶标仪(激发波长 535 nm，发射波长 587 nm)

Elabscience®铁死亡抑制蛋白-1（FSP-1）抑制剂筛选测试盒

Ferroptosis Suppressor Protein-1 (FSP-1) Inhibitor Screening 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
网址：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铁死亡抑制蛋白-1(FSP-1)抑制剂的抑制效果。

检测原理

铁死亡抑制蛋白 1(Ferroptosis suppressor protein-1，FSP-1)基于其氨基酸系列 C 末端片段、核易位、过表达等因素诱导非 caspase 依赖性的细胞凋亡，并可通过 FSP-1-CoQ10-NAD(P)H 途径、平行于经典的谷胱甘肽(GSH)-GPX4 途径使细胞免于铁死亡，在细胞生命活动中发挥“双刃剑”的作用。

本试剂盒的检测原理：FSP-1 催化底物反应生成荧光产物，抑制剂会抑制 FSP-1 活力，使荧光值上升的速率降低，在激发波长 535 nm，发射波长 587 nm 条件下测定其酶活相对变化值可计算出其抑制率。

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)	缓冲液 (Buffer Solution)	14 mL × 1 瓶	28 mL × 1 瓶	-20ºC 避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	底物 (Substrate)	粉剂 ×2 支	粉剂 ×4 支	-20ºC 避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	酶稀释液 (Enzyme Diluent)	0.6 mL × 1 支	1.2 mL × 1 支	-20ºC 避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	酶试剂 (Enzyme Agent)	0.15 mL × 1 支	0.3 mL × 1 支	-20ºC 避光 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	抑制剂 (Inhibitor)	0.1 mL × 1 支	0.2 mL × 1 支	-20ºC 避光 保存 6 个月
试剂六 (Reagent 6)	显色剂 (Chromogenic Agent)	0.1 mL × 1 支	0.2 mL × 1 支	-20ºC 避光 保存 6 个月
	96 孔黑色酶标板	96 孔×1 块		无要求
	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 535 nm，发射波长 587 nm) 、恒温箱

试剂准备

① 检测前，试剂四置于冰盒上待用，其余试剂平衡至25°C。

② 试剂二工作液配制：

取一支试剂二，加入0.6 mL试剂一，混匀，未使用完的试剂二工作液可分装在-20°C避光存放7天。

③ 1 mmol/L试剂五工作液的配制：

将试剂五：试剂一按体积比= 1：19配制，现配现用，置于冰上避光待用，当天使用有效。(此试剂为FSP-1抑制剂，作为阳性对照，测定抑制率可作为参考，IC_{50}约为10 μmol/L)。

④ 试剂六工作液的配制：

将试剂六：试剂一按体积比= 1：19配制，按需配制，未使用完的试剂六工作液可分装在-20°C避光存放10天。

⑤ 显色工作液的配制：

将试剂六工作液：试剂一按体积比= 1：11配制，按需配制，避光待用，当天使用有效。

⑥ 酶工作液的配制：

将试剂四：试剂一按体积比= 1：3配制，按需配制，置于冰上避光待用，5 h内使用有效。

实验关键点

应确保待测样本与酶工作液充分接触。

操作步骤

① 空白孔：取 10 μL 试剂三加入相应的酶标孔中。
测定孔：取 10 μL 酶工作液加入相应的酶标孔中。
总酶活孔：取 10 μL 酶工作液加入相应的酶标孔中。
阳性对照孔：取 10 μL 酶工作液加入相应的酶标孔中。

② 向步骤①中的空白孔和总酶活孔加入 15 μL 试剂一。
向步骤①中的测定孔加入 15 μL 待测样本。
向步骤①中的阳性对照孔加入 15 μL 试剂五工作液。

③ 37°C 避光孵育 10 min。

④ 向步骤③的各孔中加入 15 μL 试剂二工作液。

⑤ 向步骤④的各孔加入 60 μL 显色工作液。

⑥ 振板 5 s，室温（25°C）避光反应 10 min，荧光酶标仪设置激发波长 535 nm，发射波长 587 nm，测定各孔荧光值 F。

操作表

	空白孔	测定孔	总酶活孔	阳性对照孔
试剂三(μL)	10	--	--	--
酶工作液(μL)	--	10	10	10
试剂一(μL)	15	--	15	--
待测样本(μL)	--	15	--	--
试剂五工作液(μL)	--	--	--	15
37ºC 避光孵育 10 min				
试剂二工作液(μL)	15	15	15	15
显色工作液(μL)	60	60	60	60
振板 5 s，室温(25ºC)避光反应 10 min，荧光酶标仪设置激发波长 535 nm，发射波长 587 nm，测定各孔荧光值 F。				

结果计算

样本抑制率计算公式：

$$抑制率(\%) = \frac{F_{总}-F_{测}}{F_{总}-F_{空}} \times 100\%$$

注解：

$F_{总}$：总酶活孔的荧光值

$F_{测}$：测定孔的荧光值

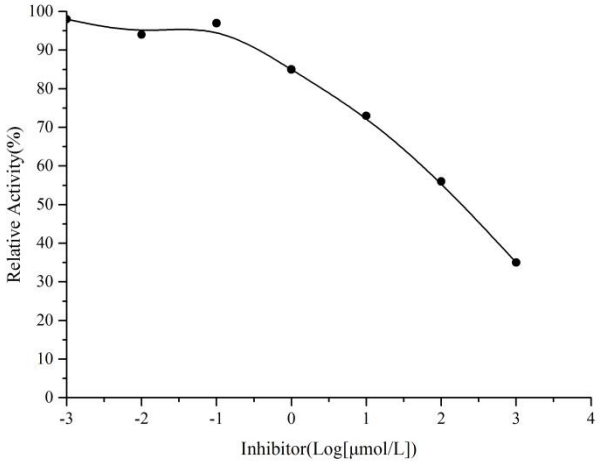
$F_{空}$：空白孔的荧光值

附录1 关键数据

1. 技术参数

批内差	2.6-4.5%	批间差	4.4-7.8%

2. 铁死亡抑制蛋白-1(FSP-1)抑制剂筛选测试盒检测 FSP-1 抑制剂的效果图。



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。