

产品说明书

26 版

基本信息

产品编号:	D10058
产品名称:	DBeQ

产品简介:

一种有效的, 选择性的, ATP 竞争性的 p97 抑制剂, 对 p97(wt) 和 p97(C522A) 的 IC ₅₀ 值分别为 1.5 μ M 和 1.6 μ M, 同时可抑制 Vps4, IC ₅₀ 值为 11.5 μ M。	
靶点:	IC ₅₀ : 1.5 μ M (p97), 11.5 μ M (Vps4)
体外研究:	
DBeQ 是一种 ATP 竞争性 p97 抑制剂, 对 p97 (wt) 和 p97 (C522A) 的 IC ₅₀ 值分别为 1.5 μ M 和 1.6 μ M。DBeQ 相对于 ATP 来说竞争性地抑制 p97, K _i 为 3.2 $\pm$ 0.4 μ M。DBeQ 抑制 p97 依赖性底物 UbG76V-GFP 的降解, IC ₅₀ 值为 2.6 μ M。DBeQ (10 μ M) 也显著抑制 TCR α -GFP 的降解, 诱导 CHOP 但不增加 p21 水平。此外, DBeQ 抑制 MRC-5、Hek293、HeLa 和 RPMI8226 细胞的活力, GI ₅₀ s 分别为 6.6 $\pm$ 2.9、4 $\pm$ 0.6、3.1 $\pm$ 0.5 和 1.2 $\pm$ 0.3。 DBeQ 通过特异性结合其 D2 结构域 (p97D2) 的 ATP 酶位点, 有效抑制 AAA ATP 酶 p97。DBeQ 还抑制 Vps4, IC ₅₀ 为 11.5 μ M。此外, DBeQ (30 μ M) 抑制野生型细胞 (菌株 YLZ0) 的菌丝生长。	

使用方法 (供参考):

一: 体外实验			
DMSO: 溶于 DMSO (≥ 20 mg/mL)			
浓度 \ 质量 溶液体积	1mg	5mg	10mg
1 mM	2.9375 mL	14.6877 mL	29.3755 mL
5 mM	0.5875 mL	2.9375 mL	5.8751 mL
10 mM	0.2938 mL	1.4688 mL	2.9375 mL
储备液的保存方式: -80 $^{\circ}$ C, 2 years; -20 $^{\circ}$ C, 1 year。			
二: 体内实验			
1、请依序添加每种溶剂: 10% DMSO $\rightarrow$ 40% PEG300 $\rightarrow$ 5% Tween-80 $\rightarrow$ 45% Saline Solubility: ≥ 2.5 mg/mL (7.34 mM); 澄清溶液 此方案可获得 ≥ 2.5 mg/mL (饱和度未知) 的澄清溶液。 以 1 mL 工作液为例, 取 100 μ L 25.0 mg/mL 的澄清 DMSO 储备液加到 400 μ L PEG300 中, 混合均匀; 再向上述体系中加入 50 μ L Tween-80, 混合均匀; 然后再继续加入 450 μ L 生理盐水 定容至 1 mL。			
2、请依序添加每种溶剂: 10% DMSO $\rightarrow$ 90% Corn Oil Solubility: ≥ 2.5 mg/mL (7.34 mM); 澄清溶液 此方案可获得 ≥ 2.5 mg/mL (饱和度未知) 的澄清溶液, 此方案实验周期在半个月以上的动物实验酌情使用。 以 1 mL 工作液为例, 取 100 μ L 25.0 mg/mL 的澄清 DMSO 储备液加到 900 μ L 玉米油中, 混合均匀。			
注: 工作液建议您现用现配, 当天使用。			
<1mg/ml 表示微溶或不溶。			



普西唐提供的所有化合物浓度为内部测试所得，实际溶液度可能与公布值有所偏差，属于正常的批间细微差异现象。

请根据产品在不同溶剂中的溶解度选择合适的溶剂配制储备液；一旦配成溶液，请分装保存，避免反复冻融造成的产品失效。

三、激酶实验

手动 ATP 酶实验：

实验 Buffer [20 μ L 2.5 $\times$ 浓度，1 $\times$ = 50 mM Tris (pH 7.4)，20 mM MgCl₂，1 mM EDTA，和 0.5 mM tris(2-carboxyethyl)phosphine (TCEP)] 加到 96 孔板中。纯化的 p97(25 μ L 50 μ M) 975 μ L 1 $\times$ 实验 Buffer 中稀释，然后每孔中加入 10 μ L。每孔加入 DBeQ (10 μ L) 或 5% DMSO (10 μ L)，实验板在室温下温育 10 分钟。按如下进行 ATP 酶实验：每孔加入 10 μ L 500 μ M ATP (pH 7.5)，在室温下温育 60 分钟，然后加入 50 μ L Kinase Glo Plus 试剂，随后在室温下黑暗环境中温育 10 分钟。使用 Analyst AD 读取发光值。在一个浓度范围 (0, 0.048, 0.24, 1.2, 6, 和 30 μ M) 按一式三份测定 DBeQ。

四、动物实验

细胞系：MRC-5, Hek293, HeLa 和 RPMI8226 细胞

浓度：33 μ M

处理时间：48 小时

方法：细胞按每孔 5,000 个接种于 384 孔白色固体板中。使用荧光素酶 siRNA 或 p97siRNA (10 nM) 进行细胞转染 48 小时，或在指定时间使用 DBeQ 处理。每孔加入 Caspase-3/7 Glo, caspase-6 Glo, caspase-8 Glo, 或 caspase-9，按 500rpm 震荡混合 1 分钟。在室温下温育 1 小时后，测定发光信号。使用 CellTiter-Glo 试剂测定细胞存活力。为了测定细胞活力的 IC₅₀，使用七种浓度的 MG132 或 DBeQ (开始于 μ M 的三倍连续稀释液) 处理细胞 48 小时。拟合发光信号归一化 DMSO 处理细胞的百分比，计算 IC₅₀ 值。

注意事项：

- 1、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 2、以上信息仅做参考交流之用。

储存： -20℃

