

产品说明书

26 版

基本信息

产品编号:	U10007
产品名称:	UNC1999

产品简介:

一种有效的 SAM 竞争性的选择性 EZH2 和 EZH1 抑制剂, 可参考结构基因组学协会 (SGC) 关于此产品的介绍。

靶点:	EZH2	EZH1
-----	------	------

体外研究:

UNC1999, the first orally bioavailable inhibitor that has high in vitro potency for wild-type and mutant EZH2 as well as EZH1, a closely related H3K27 methyltransferase that shares 96% sequence identity with EZH2 in their respective catalytic domains. UNC1999 is highly selective for EZH2 and EZH1 over a broad range of epigenetic and non-epigenetic targets, competitive with the cofactor SAM, and non-competitive with the peptide substrate. UNC1999 has K_i values of 4,700 nM, 65 nM, 300 nM, and 1,500 nM for sigma1, sigma2, histamine H3, and NET, respectively. UNC1999 selectively kills DB cells, a DLBCL cell line with the EZH2 Y641N mutation. UNC1999 displays a concentration- and time-dependent inhibition of DB cell proliferation ($EC_{50}=633\pm101$ nM ($n=3$)).

体内研究:

A single intraperitoneal (IP) injection of UNC1999 at 15, 50, or 150 mg/kg achieved high C_{max} (9,700–11,800 nM) and exhibited dose linearity in male Swiss albino mice. Both the 150 and 50 mg/kg IP doses resulted in the plasma concentrations of UNC1999 above its cellular IC_{50} over the entire 24 h period while the 15 mg/kg IP dose led to the plasma concentrations of UNC1999 above its cellular IC_{50} for approximately 12 h. We next examined whether UNC1999 is orally bioavailable and are pleased to find that a single 50 mg/kg oral dose of UNC1999 achieved high C_{max} (4,700 nM) and good exposure levels in male Swiss albino mice. The plasma concentrations of UNC1999 are maintained above its cellular IC_{50} for approximately 20 h following this single oral dose. It is worth noting that all doses including the 150 mg/kg IP dose are well tolerated by all test mice, and no adverse effects are observed.

使用方法（供参考）:

一：体外实验				
DMSO：溶于 DMSO(15mg/ml)				
浓度	质量	1mg	5mg	10mg
	溶液体积			
	1 mM			
	5 mM			
10 mM		0.1755 mL	0.8776 mL	1.7552 mL
储备液的保存方式：-80° C, 2 years; -20° C, 1 year。				
二：体内实验				



1、请依序添加每种溶剂： 10% DMSO→40% PEG300→5% Tween-80→45% Saline

Solubility: ≥ 2.25 mg/mL (3.95 mM); 澄清溶液

此方案可获得 ≥ 2.25 mg/mL (饱和度未知) 的澄清溶液。

以 1 mL 工作液为例, 取 100 μ L 22.5 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→90% (20% SBE- β -CD in Saline)

Solubility: 2.25 mg/mL (3.95 mM); 悬浊液; 超声助溶

此方案可获得 2.25 mg/mL 的均匀悬浊液, 悬浊液可用于口服和腹腔注射。

以 1 mL 工作液为例, 取 100 μ L 22.5 mg/mL 的澄清 DMSO 储备液加到 900 μ L 20% 的 SBE- β -CD 生理盐水水溶液 中, 混合均匀。

3、请依序添加每种溶剂： 10% DMSO→90% Corn Oil

Solubility: 2.25 mg/mL (3.95 mM); 澄清溶液; 加热助溶

此方案可获得 2.25 mg/mL 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 22.5 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

临近闪烁分析法:

以氘代腺苷甲硫氨酸接合生物素标记的多肽作为底物, 采用闪烁逼近分析法检测甲基转移酶活力。反应缓冲液系统: 50 mM Tris pH 9.0, 5 mM DTT, 0.01% TritonX-100 (for SMYD2 and SMYD3); 25 mM 磷酸钾 pH 8.0, 1 mM EDTA, 2 mM MgCl₂ and 0.01% Triton X-100 (for G9a, GLP and SUV39H2); 20 mM Tris pH 8.0, 5 mM DTT, 0.01% TritonX-100 (for other HMTs)。加入 10 μ L of 7.5 M 盐酸胍淬灭酶反应后加入缓冲液, 转移至 384 孔板, 孵育并计数。无化合物的度数记为 100%, 无酶时计数记为 0%。100 nM-100 μ M 的化合物被用于检测 IC₅₀。

四、细胞实验

细胞系: 含有 EZH2Y641N 突变体的 DLBCL 细胞系

浓度: ~ 5 μ M

处理时间: 8 天

方法: DB 细胞系, 一种具有高度扩散性的包含 EZH2 Y641N 突变的 B 细胞淋巴瘤细胞系, 从 ATCC 中获得并在添加了 10%胎牛血清、抗生素和各种浓度的化合物(DMSO control, UNC1999, or UNC2400)的 RPMI 1640 培养。含有被测抑制剂或者空白对照的培养基, 每三天更换一次。使用 TC20 自动细胞计数系统测量活细胞数目至少需要三次独立实验。总组蛋白按照酸性萃取步骤从细胞核中取出。大约 1 μ g 总族蛋白用 15% SDS-PAGE 分离, 转移到 PVDF 细胞膜, 组蛋白抗体探测。被用于这个实验的抗体是针对 EZH2, general H3, and H3K27me3。

五、动物实验

动物模型: 雄性瑞士白化小鼠

剂量: ~ 150 mg/kg (i. p.), ~ 50 mg/kg (口服)

给药处理: 腹腔注射或口服

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。





Beijing Psaitong
Biotechnology Co., Ltd

储存: 2-8℃

*更多产品请登陆官网查询。
*本公司产品仅用于科研。

真实 准确 稳定 负责

010-60605840
www.jm-bio.com
psaitong@jm-bio.com

