

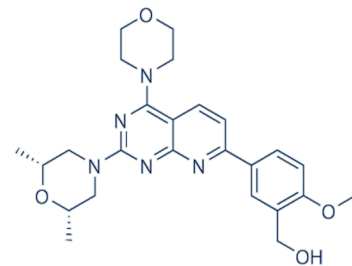
KU0063794 (mTOR抑制剂)

产品编号	产品名称	包装
SF2807-10mM	KU0063794 (mTOR抑制剂)	10mM×0.2ml
SF2807-5mg	KU0063794 (mTOR抑制剂)	5mg
SF2807-25mg	KU0063794 (mTOR抑制剂)	25mg

产品简介:

➤ 化学信息:

化学名	[5-[2-[(2R,6S)-2,6-dimethylmorpholin-4-yl]-4-morpholin-4-yl]pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-yl]-2-methoxyphenyl]methanol
简称	KU0063794
别名	Ku -0063794, Ku 0063794, Ku 63794, Ku-0063794, Ku-63794, Ku63794
中文名	N/A
化学式	C ₂₅ H ₃₁ N ₅ O ₄
分子量	465.54
CAS号	938440-64-3
纯度	98%
溶剂/溶解度	Water <1mg/ml; DMSO 16mg/ml; Ethanol <1mg/ml
溶液配制	5mg加入1.07ml DMSO, 或每4.66mg加入1ml DMSO, 配制成10mM溶液。SF2807-10mM用DMSO配制。



➤ 生物信息:

产品描述	KU-0063794是一种有效的, 高度特异性的, 作用于mTORC1和mTORC2的双重mTOR抑制剂, 在无细胞试验中IC ₅₀ 约为~10nM; 对PI3Ks没有作用。				
信号通路	PI3K/Akt/mTOR				
靶点	mTORC1	mTORC2	—	—	—
IC ₅₀	~10nM	~10nM	—	—	—
体外研究	与mTOR抑制剂PP242相比, KU-0063794高特异性作用于mTOR, 而对PI3Ks或其他76种激酶则无作用活性。30nM KU-0063794作用于HEK-293细胞, 通过抑制疏水基团(Thr389)磷酸化, 及随后的T-环残基(Thr229)磷酸化, 而快速切除S6K1活性。300nM KU-0063794作用于IGF1刺激的血清饥饿处理的HEK-293细胞, 抑制~90%S6K1活性。KU-0063794为100-300nM时, 也完全抑制氨基酸诱导的S6K1和S6蛋白磷酸化。与S6K1类似, KU-0063794抑制mTORC1在Ser2448位点磷酸化, 也抑制mTORC2在Ser2248位点磷酸化, 这种作用存在剂量和时间依赖性。在血清存在时, 或者IGF1刺激的情况下, KU-0063794抑制Akt活性, 或者Akt在Ser473和Thr308(意外的)位点磷酸化, 也抑制Akt底物PRAS40在Thr246位点, GSK3α/GSK3β在Ser21/Ser9位点及Foxo-1/3a在Thr24/Thr32位点磷酸化, 以上作用存在剂量依赖性。KU-0063794而不是Rapamycin抑制SGK1活性和在Ser422位点磷酸化, 也抑制其生理底物NDGR1, 与抑制S6K1和Akt磷酸化程度相似, 这种作用存在剂量依赖性, 然而KU-0063794不抑制佛波酯诱导的ERK或RSK磷酸化和RSK激活。与Rapamycin相比, KU-0063794更有效诱导4E-BP1在Thr37, Thr46和Ser65位点完全去磷酸化。KU-0063794抑制野生型和miST8-缺陷型MEFs细胞生长, 也诱导细胞周期停在G1期, 比Rapamycin效果更显著。				
体内研究	N/A				
临床实验	N/A				
特征	N/A				

➤ 相关实验数据(此数据来自于公开文献, 碧云天并不保证其有效性):

酶活性检测实验	
方法	HEK-293细胞新鲜溶解在Hepes裂解液中。溶解产物(1-4mg)通过与5-20μl G蛋白的琼脂糖凝胶结合免疫前抗体IgG温育而预先清除。裂解抽提物与5-20μl G蛋白的琼脂糖凝胶结合的5-20μg抗Rictor或抗Raptor抗体的免疫前抗体IgG温育。所有抗体共价结合到蛋白G蛋白琼脂糖凝胶上。在振动转台上4°C下进

	行 免疫沉淀1小时。使用Hepes裂解液冲洗免疫沉淀物四次，随后使用Hepes激酶buffer冲洗两次。使用Raptor免疫沉淀物磷酸化S6K1，两次冲洗的初始步骤中，buffer含0.5M NaCl，确保最佳激酶活性。血清饥饿的HEK-293细胞中分离的GST-Akt1与PI-103(1 μ M进行1小时)温育。从血清饥饿的HEK-293细胞中纯化的GST-S6K1与Rapamycin(0.1 μ M进行1小时)温育。加入0.1mM ATP和10mM MgCl ₂ ，在不同浓度KU-0063794和GST-Akt1(0.5 μ g)或GST-S6K1(0.5 μ g)存在时，开始mTOR反应。反应在30°C下在振动转载台上进行30分钟，然后加入SDS样本缓冲液终止反应。反应混合物在0.22- μ m-孔径大小Spin-X过滤器上过滤，样本进行电泳处理，然后使用指定抗体进行免疫印迹分析。
--	--

细胞实验	
细胞系	野生型和mlST8缺陷型MEFs
浓度	溶于DMSO，终浓度为~3 μ M
处理时间	24、48和72小时
方法	使用KU-0063794处理细胞24、48和72小时，每24小时更换一次培养基，加入新鲜溶解的KU-0063794。为了测量细胞生长，使用PBS冲洗细胞一次，然后与4% (v/v) 多聚甲醛在PBS混合15分钟。用水冲洗一次后，使用溶于10%乙醇的0.1%结晶紫对细胞染色20分钟，然后用水冲洗三次。使用0.5 ml 10% (v/v) 乙酸从细胞中抽提结晶紫20分钟。然后洗脱液在水中按1: 10稀释，然后在590nm处测量吸光值。为了测量细胞周期分布，通过胰蛋白酶化作用收集细胞，然后在PBS中冲洗一次，再悬浮于冰冻70% (v/v) 乙醇中。细胞在PBS和1% (w/v) BSA中冲洗两次，再在PBS和含50g/ml碘化丙啶和50g/ml RNase A的0.1% (v/v) Triton X-100中染色20分钟。使用FACSCalibur流式细胞仪和CellQuest软件检测细胞中DNA含量。在线性标度上测量红色荧光(585nm)，进行脉冲宽度分析用于排除双峰值。使用FlowJo软件测定细胞周期分布。

动物实验	
动物模型	N/A
配制	N/A
剂量	N/A
给药方式	N/A

参考文献:

1.García-Martínez JM, et al. Biochem J, 2009, 421(1), 29

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
SF2807-10mM	KU0063794 (mTOR抑制剂)	10mM×0.2ml
SF2807-5mg	KU0063794 (mTOR抑制剂)	5mg
SF2807-25mg	KU0063794 (mTOR抑制剂)	25mg
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C保存，至少一年有效。5mg和25mg包装也可以室温保存，至少6个月有效。如果溶于非DMSO溶剂，建议分装后-80°C保存，预计6个月有效。

注意事项:

- 本产品对人体有毒，操作时请特别小心，并注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. 收到产品后请立即按照说明书推荐的条件保存。使用前可以在2,000-10,000g离心数秒，以使液体或粉末充分沉淀至管底后再开盖使用。
2. 对于10mM溶液，可直接稀释使用。对于固体，请根据本产品的溶解性及实验目的选择相应溶剂配制高浓度的储备液(母液)后使用。
3. 具体的最佳工作浓度请参考本说明书中的体外、体内研究结果或其他相关文献，或者根据实验目的，以及所培养的特定细胞和组织，通过实验进行摸索和优化。
4. 不同实验动物依据体表面积等效剂量转换表请参考如下网页：
<http://www.beyotime.com/support/animal-dose.htm>

Version 2017.11.01