

# Rapamycin(Sirolimus)

说明书修订日期: 2015.07.13

Cat.No: KGATGR005

Store at: -20°C for at least 36 months

For Research Use Only (科研专用)

## 化学数据

分子量	914.18	溶解性(25°C)	DMSO 20 mg/mL
化学式	C <sub>51</sub> H <sub>79</sub> NO <sub>13</sub>		水 <1 mg/mL
CAS 号	53123-88-9	稳定性	乙醇 <1 mg/mL
			3年 -20°C 粉状
			6月-80°C 溶于 DMSO

## 制备储液

	1 mg	5 mg	10 mg
1 mM	1.0939 mL	5.4694 mL	10.9388 mL
5 mM	0.2188 mL	1.0939 mL	2.1878 mL
10 mM	0.1094 mL	0.5469 mL	1.0939 mL
50 mM	-	-	-

## 生物活性

产品描述	Rapamycin (Sirolimus)是一种选择性的 mTOR 抑制剂, IC50为~0.1 nM。
靶点	mTOR
IC50	~0.1nM
体外研究	Rapamycin 作用于 HEK293细胞, 抑制内源性 mTOR 活性, IC50为~0.1 nM,而 iRap 和 AP21967 作用时, IC50 分别为~5 nM 和~10 nM。Rapamycin 处理酿酒酵母, 诱导细胞周期停在 G1/S 期, 且抑制翻译。Rapamycin 显著抑制 T98G 和 U87-MG 细胞活力, 这种作用具有剂量依赖性, IC50分别为2 nM 和 1 μM, 而对 U373-MG 细胞没有作用活性, IC50>25 μM。Rapamycin(100 nM) 作用于对 Rapamycin 敏感的 U87-MG 和 T98G 细胞, 通过抑制 mTOR 功能, 而诱导细胞周期停在 G1期, 也诱导自噬而不是凋亡。
体内研究	在体内, Rapamycin 处理, 特定阻断 mTOR 下游靶点, 如 p70S6K 磷酸化和激活, 和 PHAS-1/4E-BP1导致的 eIF4E 抑制释放, 完全阻断肌重量和纤维尺寸的肥厚增高。短期 Rapamycin 处理,即使按最低剂量0.16 mg/kg 处理, 强抑制 p70S6K 活性, 与提高的肿瘤细胞死亡和 Eker 肾脏肿瘤坏死相关。Rapamycin 作用于 CT-26移植瘤模型, 通过降低 VEGF 产量, 及阻断 VEGF 诱导的内皮细胞信号, 而抑制转移性肿瘤生长和血管新生。Rapamycin 每天按4 mg/kg 剂量处理 C6移植瘤, 显著降低肿瘤生长, 和肿瘤血管通透性。
临床实验	Rapamycin 作用于结节性硬化症(TSC)患者擦除血管纤维瘤目前处于二期研究阶段。

## 推荐的实验操作 (此推荐来自于公开的文献所以不保证其有效性)

### 激酶实验:

mTOR 激酶免疫印迹测定	HEK293细胞按每孔 $2-2.5 \times 10^5$ 个细胞接种在12孔板上, DMEM 培养基上血清饥饿处理24小时。使用浓度不断增加的 Rapamycin(0.05-50 nM)在 37°C 下处理细胞15分钟。加入血清, 终浓度为20%, 在37°C 下处理30分钟。细胞溶解, 使用 SDS-PAGE 分离细胞裂解液。再溶解的蛋白转移到聚偏(二)氟乙烯膜上, 使用抗 p70 S6激酶 Thr-389的磷酸化的一抗进行免疫印迹。使用 ImageQuant 和 KaleidaGraph 分析数据。
---------------	---

### 细胞实验

细胞系	U87-MG, T98G, 和 U373-MG
浓度	溶于 DMSO, 终浓度为~25 $\mu$ M
处理时间	72 小时
方法	使用不同浓度 Rapamycin 处理细胞72小时。为了测量细胞活力, 通过胰蛋白酶化收集细胞, 使用台盼蓝染色, 计数每孔的存活细胞数。为了测定细胞周期, 使细胞胰蛋白酶化, 与70%乙醇混合, 使用碘化丙啶染色。使用 FACScan 流式细胞仪和 CellQuest 软件分析样本 DNA 含量。为了测定凋亡, 细胞染色, 通过末端脱氧核苷酸转移酶调节的 dUTP 缺口末端标记法 (TUNEL) 技术, 使用一个 Annexin V 凋亡检测试剂盒对细胞进行染色。为了测定酸性囊泡细胞器(AVO)的进展, 使用吖啶橙(1 $\mu$ g/mL)对细胞进行染色15分钟, 使用荧光显微镜检测。为了量化 AVOs 的进展, 使用吖啶橙(1 $\mu$ g/mL) 对细胞进行染色15分钟, 然后使用胰蛋白酶-EDTA 使其从实验板上移除, 最后使用 FACScan 流式细胞仪和 CellQuest 软件分析。为了分析自噬过程, 细胞和0.05 mM 丹(磺)酰戊二胺(MDC)在37°C 下温育10分钟, 然后在荧光显微镜下观察。

### 动物实验

动物模型	皮下接种表达 VEGF-A 的 C6大鼠胶质瘤细胞的无胸腺 Nu/Nu 小鼠
配制	溶于溶剂溶液(0.2% 羧甲基纤维素和0.25% Tween-80, 溶于无菌水)
剂量	~4 mg/kg/day
给药处理	腹腔注射

### 参考文献

- [1] Edwards SR, et al. J Biol Chem, 2007, 282(18), 13395-13401.
- [2] Barbet NC, et al. Mol Biol Cell, 1996, 7(1), 25-42.
- [3] Takeuchi H, et al. Cancer Res, 2005, 65(8), 3336-3346.
- [4] Bodine SC, et al. Nat Cell Biol, 2001, 3(11), 1014-1019.
- [5] Kenerson HL, et al. Cancer Res, 2002, 62(20), 5645-5650.
- [6] Guba M, et al. Nat Med, 2002, 8(2), 128-135.
- [7] Phung TL, et al. Cancer Cell, 2006, 10(2), 159-170.
- [8] MG Mohi, et al. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101(9), 3130-3135.