

Necrostatin-1 (Necroptosis Inhibitor)

坏死性凋亡抑制剂

产品简介

Necrostatin-1 (Nec-1) 是一种有效的能透过血脑屏障的坏死性凋亡 (necroptosis) 抑制剂, 在 Jurkat 细胞中的 EC_{50} 为 490 nM。Necrostatin-1 抑制 RIP1 激酶 ($EC_{50}=182$ nM)。Necrostatin-1 (Nec-1) 也是一种 (IDO) 抑制剂。

产品特性

CAS : 4311-88-0

生物活性: Necrostatin-1 (Nec-1) is a potent and cross the blood-brain barrier necroptosis inhibitor with an EC_{50} of 490 nM in Jurkat cells. Necrostatin-1 inhibits RIP1 kinase ($EC_{50}=182$ nM). Necrostatin-1 is also an IDO inhibitor.

英文名称: Necrostatin-1

分子式: $C_{13}H_{13}N_3O_5$

分子量: 259.33

纯度: HPLC $\geq 98\%$

靶点: EC_{50} : 182 nM (RIP1 kinase)

产品组成

名称	编号	FSY0311	FSY0311	Storage
SB203580 (p38 MAPK 抑制剂)		10MG	100MG	-20°C
使用说明书		1 份		

体外研究:

Necrostatin-1 (Nec-1) 有效抑制 $TNF\alpha$ 诱导的 L929 细胞坏死性死亡, 无需外源 caspase 抑制剂。Necrostatin-1 (Nec-1) 防止放射造影剂 (RCM) 诱导的管周毛细血管扩张, 表明 RIP1 激酶结构域在调节微血管血流动力学和造影剂诱导的 AKI (CIAKI) 病理生理学中具有与细胞死亡无关的新作用。Necrostatin-1 (Nec-1) (30 μ M) 通过抑制坏死细胞死亡来增加心肌祖细胞 (CMPC) 的存活率。

体内研究:

Necrostatin-1 (Nec-1) 诱导肾小管扩张并影响 RCM 应用后管周毛细血管扩张的动力学。在 RCM 前 15 分钟单次腹腔内应用单剂量的 Necrostatin-1 (1.65 mg/kg 体重, 腹腔注射) 后, 观察期内可防止恢复到基线水平。

使用说明

储存方式	Powder : -20°C																
溶解性数据	<p>体外实验: DMSO : 溶于 DMSO(>10 mg/mL)</p> <p style="text-align: center;">配制储备液</p> <table border="1" data-bbox="424 584 1334 887"> <thead> <tr> <th>浓度溶剂体积质量</th> <th>1 mg</th> <th>5 mg</th> <th>10 mg</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1 mM</td> <td>3.8561 mL</td> <td>19.2805 mL</td> <td>38.5609 mL</td> </tr> <tr> <td>5 mM</td> <td>0.7712 mL</td> <td>3.8561 mL</td> <td>7.7122 mL</td> </tr> <tr> <td>10 mM</td> <td>0.3856 mL</td> <td>1.9280 mL</td> <td>3.8561 mL</td> </tr> </tbody> </table> <p>* 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。 储备液的保存方式和期限：-80°C, 1 year; -20°C, 6 month (protect from light)。-80°C 储存时，请在 1 年内使用，-20°C 储存时，请在 6 个月内使用。</p> <p>In Vivo: 请根据您的实验动物和给药方式选择适当的溶解方案。以下溶解方案都请先按照 In Vitro 方式配制澄清的储备液，再依次添加助溶剂： ——为保证实验结果的可靠性，澄清的储备液可以根据储存条件，适当保存；体内实验的工作液，建议您现用现配，当天使用； 以下溶剂前显示的百分比是指该溶剂在您配制终溶液中的体积占比；如在配制过程中出现沉淀、析出现象，可以通过加热和/或超声的方式助溶</p> <p>1.请依序添加每种溶剂： 10% DMSO→40% PEG300→5% Tween-80→45% saline Solubility: ≥2.08 mg/mL (7.27 mM); Clear solution 此方案可获得 ≥2.08 mg/mL (7.27 mM, 饱和度未知) 的澄清溶液。 以 1 mL 工作液为例，取 100 μL 20.8 mg/mL 的澄清 DMSO 储备液加到 400 μL PEG300 中，混合均匀；向上述体系中加入 50 μL Tween-80，混合均匀；然后继续加入 450 μL 生理盐水定容至 1mL。 将 0.9 g 氯化钠，完全溶解于 100 mL ddH₂ O 中，得到澄清透明的生理盐水溶液</p> <p>2.请依序添加每种溶剂： 10% DMSO→90% (20% SBE-β-CD in saline) Solubility: ≥ 2.08 mg/mL (7.27 mM); Clear solution 此方案可获得 ≥ 2.08 mg/mL (7.27 mM, 饱和度未知) 的澄清溶液。 以 1 mL 工作液为例，取 100 μL 20.8 mg/mL 的澄清 DMSO 储备液加到 900 μ</p>	浓度溶剂体积质量	1 mg	5 mg	10 mg	1 mM	3.8561 mL	19.2805 mL	38.5609 mL	5 mM	0.7712 mL	3.8561 mL	7.7122 mL	10 mM	0.3856 mL	1.9280 mL	3.8561 mL
浓度溶剂体积质量	1 mg	5 mg	10 mg														
1 mM	3.8561 mL	19.2805 mL	38.5609 mL														
5 mM	0.7712 mL	3.8561 mL	7.7122 mL														
10 mM	0.3856 mL	1.9280 mL	3.8561 mL														

L 20% 的 SBE-β-CD 生理盐水水溶液中，混合均匀。

将 2 g 磺丁基醚 β-环糊精加入 5 mL 生理盐水中，再用生理盐水定容至 10 mL，完全溶解，澄清透明

3.请依序添加每种溶剂：10% DMSO→90% corn oil

Solubility: ≥ 2.08 mg/mL (7.27 mM); Clear solution

此方案可获得 ≥ 2.08 mg/mL (7.27 mM，饱和度未知) 的澄清溶液，此方案不适用于实验周期在半个月以上的实验。

以 1 mL 工作液为例，取 100 μL 20.8 mg/mL 的澄清 DMSO 储备液加到 900 μL 玉米油中，混合均匀。

细胞实验： RIP1 激酶检测: RIP1 的磷酸化需要其激酶活性。FLAG 标记的野生型(WT)或 RIP1(K45M) 突变体失活激酶的表达结构转染到 293T 细胞中，在有 $[\gamma^{32}P]$ ATP 存在时，RIP1 激酶实验在 30°C 下进行 30 分钟。样品进行 SDS-PAGE，通过放射自显影可观察到 RIP1 带。对放射性带的相对强度进行量化，并显示比率。在激酶反应的同时，珠样本使用 anti-RIP1 抗体进行 Western Blot 分析，确保与激酶反应中等量的蛋白。

实验案例

细胞系：Jurkat, BALB/c 3T3, SV40-转化的 MEF, L929

浓度：0.01-100 μM

处理时间：--

方法：细胞接种在 96 孔板中（白色板进行发光检测；黑色板进行荧光检测；空白板进行 MTT 实验）贴壁细胞按每孔 5000-10000 个细胞的密度接种，悬浮细胞按每孔 20,000-50,000 个细胞的密度接种，孔中含 100 μl 合适的无酚红培养基。温育后，使用如下方法之一测定细胞存活率。ATP 实验中，使用购买的发光试剂盒，并使用 Wallac Victor II 酶标仪分析发光值。Sytox 实验中，细胞与 1 μM Sytox Green 试剂在 37°C 下温育 30 分钟，然后进行荧光读数。随后，增加 5 μl 20% Triton X-100 溶液到每孔中，产生最大溶解，细胞 37°C 下温育 1 小时，然后进行二次读数。Triton 处理前和后，计算值的比率。MTT 实验，使用 CellTiter 96 AQueous 非放射性细胞增殖检测试剂盒。PI 排除实验中，加入 2 μg/ml PI 到培养基中，立即使用 FACSCalibur 分析样品。PI-膜联蛋白 V 实验中，使用 ApoAlert Annexin V-EGFP 凋亡试剂盒。进行 DioC6 染色，细胞与 40 nM DiOC6 在 37°C 下温育 30 分钟，洗涤一次，使用 FACSCalibur 分析。ROS 分析中，细胞与 5 μM Dihydroethidium 在 37°C 下温育 30 分钟，洗涤一次，使用 FACSCalibur 分析。

注意事项

- 1) 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。
- 2) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

相关产品

产品货号	产品名称	规格
FS0306	Dimethyl Sulfoxide (DMSO), 二甲基亚砜 DMSO (细胞培养级)	100ml
FS0519	PEG 300 聚乙二醇 300	500g
FS0441	Tween-80 吐温-80	500ml
FS0472	Corn oil 玉米油	500ml