上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话：021-61312973　　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：shyysw@sina.com

产品名称：EN6
CAS 号：1808714-73-9
产品货号：S88508

生物活性：

Description	EN6 是一种小分子体内自噬 (autophagy) 激活剂，其共价靶向溶酶体 v-ATP 酶的 ATP6V1A 亚基中的半胱氨酸 277。EN6 介导的 ATP6V1A 修饰使 v-ATP 酶与 Rag 解偶联，导致 mTORC1 信号的抑制，增加溶酶体酸化，并激活自噬。EN6 还能以溶酶体依赖的方式清除 TDP-43 聚集物 (额颞叶痴呆的致病因子)。
IC50 & Target	EC50: 16 nM (Human GPR139), 63 nM (Rat GPR139) and 28 nM (Mouse GPR139)[1]
In Vitro	在 HEK293A 细胞中，EN6 (50 μM; 1, 4, 8 h) 增加 LC3BII 的水平，并以时间和剂量依赖的方式触发 LC3 斑点的形成[1]。 EN6 导致 HEK293A 细胞中自噬体和自噬溶酶体数量显著增加[1]。 EN6 (25 μM；1 h) 阻断 HEK293A 细胞中的 mTORC1 溶酶体定位和激活[1]。 EN6 (50 μM；4 h) 激活 HEK293A 细胞中的 v-ATPase 和溶酶体酸化[1]。 EN6 (25 μM；7 h) 促进 IPTG 诱导的 GFP-TDP43 U2OS 骨肉瘤细胞系模型中蛋白质聚集体的自噬清除[1]。

Western Blot Analysis[1]

Cell Line:	HEK293A cells
Concentration:	50 μM
Incubation Time:	1, 4, 8 h
Result:	Time- and dose-dependently triggered formation of LC3 puncta and increased the levels of LC3BII.

Western Blot Analysis[1]

Cell Line:	HEK293A cells
Concentration:	25 μM
Incubation Time:	1 h
Result:	Led to complete inactivation of mTORC1 signaling, as shown by reduced levels of phosphorylated canonical substrates, S6 kinase 1 (S6K1), 4EBP1, and ULK1.

Immunofluorescence[1]

Cell Line:	HEK293A cells
Concentration:	50 μM
Incubation Time:	4 h
Result:	Led to significantly increased acidification of the lysosome in HEK293A cells, and this heightened acidification was blocked by BafA1.

Immunofluorescence[1]

Cell Line:	IPTG-inducible GFP-TDP43 U2OS osteosarcoma cell line model
Concentration:	25 μM
Incubation Time:	7 h
Result:	Reduced IPTG-induced TDP43 aggregates by 75 %.

In Vivo	EN6 (50 mg/kg; i.p.; single) 在体内抑制 mTORC1 并激活自噬[1]。

上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话：021-61312973　　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：shyysw@sina.com

	Animal Model:	Six-week-old male C57BL/6 mice[1].
	Dosage:	50 mg/kg
	Administration:	Intraperitoneal injection; single
	Result:	Significantly inhibited mTORC1 signaling in both skeletal muscle and heart, as demonstrated by reduced phosphorylation of S6, 4EBP1 and ULK1. Strongly activated autophagy as shown by heightened LC3BII levels and reduced p62 levels.

Solvent&Solubility

细胞实验:

DMSO 中的溶解度 ：5 mg/mL (13.57 mM; 超声助溶; 吸湿的 DMSO 对产品的溶解度有显著影响，请使用新开封的 DMSO)

Ethanol 中的溶解度 ：1.11 mg/mL (3.01 mM; 超声助溶 (<60°C))

	Solvent / Mass / Concentration	1 mg	5 mg	10 mg
Preparing Stock Solutions	1 mM	2.7149 mL	13.5744 mL	27.1488 mL
	5 mM	0.5430 mL	2.7149 mL	5.4298 mL
	10 mM	0.2715 mL	1.3574 mL	2.7149 mL

*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, 2 years; -20°C, 1 year。-80°C 储存时，请在 2 年内使用， -20°C 储存时，请在 1 年内使用。

动物实验：

以下溶解方案，请直接配制工作液。建议现用现配，在短期内尽快用完。 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。

方案 一

请依序添加每种溶剂： 50% PEG300 → 50% Saline

Solubility: 10 mg/mL (27.15 mM); 悬浊液; 超声助溶。

参考文献

[1]. Chung CY, et al. Covalent targeting of the vacuolar H+-ATPase activates autophagy via mTORC1 inhibition. Nat Chem Biol. 2019 Aug;15(8):776-785.

完整储备液配制表：

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, 2 years; -20° C, 1 year。-80° C 储存时，请在 2 年内使用， -20° C 储存时，请在 1 年内使用。

可选溶剂	质量 / 溶剂体积 / 浓度	1 mg	5 mg	10 mg	25 mg
Ethanol / DMSO	**1 mM**	2.7149 mL	13.5744 mL	27.1488 mL	67.8721 mL
DMSO	**5 mM**	0.5430 mL	2.7149 mL	5.4298 mL	13.5744 mL
	10 mM	0.2715 mL	1.3574 mL	2.7149 mL	6.7872 mL