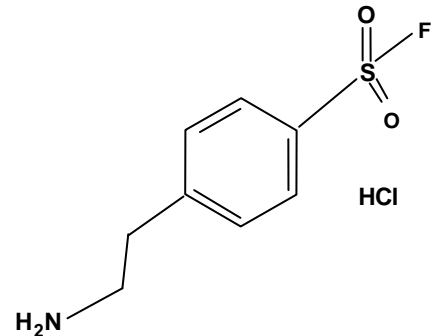


AEBSF - Hydrochlorid *BioChemica*

4-(2-Aminoethyl)-benzolsulfonylfluorid - Hydrochlorid
 Artikel-Nr. A1421

Beschreibung

Summenformel:	$C_8H_{10}FNO_2S \cdot HCl$
Molekulargewicht:	239,69 g/mol
Spezifität:	irreversibler Inhibitor für Serin-Proteasen
CAS-Nr.:	[30827-99-7]
HS-Nr.:	2921 4990
Gehalt (HPLC):	min. 98 %
Arbeitskonzentration:	0,1 - 1 mM*
Löslichkeit:	gut, in Wasser



Stabilität:	in Wasser bei +4°C bis zu 1 Woche in Wasser bei -20°C bis zu 2 Monate
Sicherheit (LD50 oral Ratte):	2,83 g/kg
Lagerung:	+4°C

* nach Referenz (b) - (e) der Anwendungen

Hinweis

AEBSF inaktiviert irreversibel Thrombin und andere Serin-Proteasen (z. B. Chymotrypsin, Kallikrein, Plasmin, Proteinase K, Trypsin) durch Sulfonylierung einer funktionellen Gruppe (Serin) im aktiven Zentrum der Enzyme (1, 2). **AEBSF (LD₅₀ oral bei der Maus 2,8 g/kg) ist ein kaum giftiger Ersatzstoff für PMSF und DFP.** Es ist gut wasserlöslich und ergibt in Wasser eine saure Lösung. In diesem pH-Bereich ist die Stabilität am höchsten, die Anwendung im pH-Bereich 8 - 9 ist aber aufgrund der geringen Eigenhydrolyse auch möglich (1). Es wird empfohlen die Stammlösung (z. B. 20 mM oder 100 mM in Wasser oder Puffer) bei -20°C zu lagern (bis zu 2 Monate stabil) und den Lösungen im Experiment jeweils frisch zuzusetzen. Eine Lagerung bei +4°C ist bis zu einer Woche möglich (6). AEBSF wird in einer Endkonzentration von 0,1 - 2 mM angewendet (z. B. Ref. 3-5).

Literatur

- (1)Walsmann, P. *et al.* (1972) *Acta biol. med. germ.* **28**, 577-585 Inaktivierung von Trypsin und Thrombin durch AEBSF.
- (2)Markwardt, F. *et al.* (1973) *Thrombosis Res.* **2**, 343-348 Der Einfluß synthetischer Thrombin-Inhibitoren auf die Thrombin-Antithrombin-Reaktion.
- (3)Murphy, B.J. *et al.* (1993) *J. Biol. Chem.* **268**, 27355-27362 Phosphorylierungsstudien am Na⁺-Kanal im Rattenhirn.
- (4)Nathan, D.F. & Lindquist, S. (1995) *Mol. Cell. Biol.* **15**, 3917-3925 Mutationsanalyse der Funktion von Hsp90.
- (5)Taylor, J.A. *et al.* (1995) *Mol. Cell. Biol.* **15**, 4149-4157 Aktivierung des IgE-Rezeptors wird durch die SH2-Domäne von Syk gehemmt.
- (6)Taylor, J.A. *et al.* (1995) *Immunology* **86**, 629-635 Serin-Proteaseinhibitoren blockieren Priming von Monocyten für verstärkte Superoxid-Freisetzung.

Anwendung

- (a) Untersuchung des Einflusses synthetischer Thrombin-Inhibitoren auf die Thrombin-Antithrombin-Reaktion. (Markwardt, F. *et al.* (1973) *Thrombosis Res.* **2**, 343-348).
- (b) Isolierung der Syk Tandem SH2 Domäne. Lysieren der E. coli BL21(DE3) - Zellen in einer "French pressure cell" und dem Lysepuffer [20 mM Tris (pH 8), 500 mM NaCl, 5 mM DTT, 1 mM AEBSF]. (Taylor, J.A. *et al.* (1995) *Mol. Cell. Biol.* **15**, 4149-4157)
- (c) Extraktion von löslichem, rekombinanten Maspin-Protein aus Hefe mit dem Extraktionspuffer [100 mM NaCl, 100 mM Tris, 10 mM EDTA, 0,1 mM AEBSF, 0,1% Triton X-100, pH 7,5]. In weiteren Stufen der Proteinreinigung (z.B. Anionen-Austauschchromatographie, Affinitätschromatographie) wird das Protein in TE/AEBSF [10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 8,0; 1 mM AEBSF] gelöst. (Pemberton, P.A. *et al.* (1995) *J. Biol. Chem.* **270**, 15832-15837).
- (d) Herstellung von MDCK-Zellextrakten zur Untersuchung von Exocytose-Vorgängen apikaler Membranproteine. Extraktionspuffer [PBS unter Zusatz von 0,5% Desoxycholat, 0,1% Triton X-100, 1 mM EGTA, 1% Globulin-freies BSA, 1 mM AEBSF, 10 mM E-64, 2 µg/ml Aprotinin, 1 µM Pepstatin]. (Brignoni, M. *et al.* (1995) *J. Cell Sci.* **108**, 1931-1943)
- (e) Lyse von CHO-Zellen in Lysepuffer [1% Triton X-100, 140 mM NaCl, 50 mM Tris-HCl, pH 8,0; 2 mM PMSF, 5 mM EDTA, 0,2 mM AEBSF, 10 mM Leupeptin, 1 mM Pepstatin] für nicht-reduzierender SDS-PAGE und nachfolgendem Immunoblotten der α 3-Integrin-Untereinheit. (Wu, C. *et al.* (1995) *J. Cell Sci.* **108**, 2511-2523)