

Übersicht und Anwendungsempfehlungen zu Proteaseinhibitoren

Protease-Inhibitor	Best. Nr.	Löslichkeit	Konz. der Stocklg	Stabilität der Stocklg. ^(1,2,3)	Arbeitskonz.	Zielmoleküle/Applikation
AEBSF-Hydrochlorid	2931	H ₂ O	5 - 50 mg/ml (20 - 200 mM)	bei -20 °C max. 6 Monate	0,1 - 5 mM	Serinproteasen. Irreversible Hemmung von Trypsin, Chymotrypsin, Plasmin, Kallikrein, Thrombin. Durch geringe Toxizität gute Alternative zu PMSF. Alkali-labil, ein pH-Wert von 7 darf nicht überschritten werden.
Amastatin-Hydrochlorid	2932	H ₂ O, Methanol	1 mM (511 µg/ml)	bei -20 °C max. 1 Monat	1 - 10 µM	Amino-peptidasen (AP). Langsam, aber fest bindender Inhibitor der Cytosolischen Amino-peptidase M und bakteriellen Leucin-Amino-peptidase. Geringere Inhibition von Amino-peptidase A.
Aminobenzamidin-Dihydrochlorid	CN71	H ₂ O, Ethanol	100 - 200 mg/ml (0,5 - 1 M)	bei -20 °C wenige Tage	0,5 - 2 mM	Serin/Cysteinproteasen, Trypsin-ähnliche Proteasen. Kompetitive Inhibition von Trypsin, Trypsin-ähnlichen Enzymen, Thrombin, Plasmin. Oxidationssensitiv! Stocklösungen frisch ansetzen und nur kurz lagern!
Antipain-Dihydrochlorid	2933	H ₂ O, DMSO, Ethanol	50 mg/ml (75 mM)	bei -20 °C max. 1 Monat	10 - 50 µg/ml (15 - 75 µM)	Serin/Cysteinproteasen, Trypsin-ähnliche Proteasen. Reversible Inhibition von Papain, Trypsin, Cathepsin A, B, D, Plasmin, Chymotrypsin, Pepsin, Calpain I. Ähnliche Wirkung wie Leupeptin.
Aprotinin	A162	H ₂ O	10 mg/ml (1,54 mM)	bei +4 °C ca. 1 Monat, bei -20 °C mehrere Jahre	1 - 10 µg/ml	Serinproteasen, Esterasen. Kompetitive, reversible Inhibition von Trypsin, Chymotrypsin, Plasmin, Kallikrein. pH-Optimum: 7-8. Aktivität: ≥3,0 PEU/mg (Ph. Eur. Units), 1 PEU entspricht 1 TIU (Trypsin-inhibitorische Units), entspricht ca. 13000 KIU (Kallikrein inhibitorische Units)
Bacitracin	5655	H ₂ O, Ethanol	100 - 1000 mg/ml (68 - 680 mM)	bei -20 °C einige Monate	0,1 - 1 mg/ml (0,07 - 0,7 mM)	Inhibitor spezieller Proteasen wie Glutathion-Insulin-Transhydrogenase, einiger Endopeptidasen. Stabil bei pH 4-5, instabil bei pH >5 bei Raumtemperatur.
Benzamidin-Hydrochlorid	CN38	H ₂ O, Ethanol	100 - 150 mg/ml (0,65 - 1 M)	bei -20 °C wenige Tage	1 - 5 M (150 - 750 µg/ml)	Trypsin, Trypsin-ähnliche Enzyme, Serinproteasen. Starke, kompetitive, reversible Inhibition von Trypsin, Thrombin, Plasmin. Oxidationssensitiv! Stocklösungen frisch ansetzen und nur kurz lagern!
Bestatin-Hydrochlorid	2937	Methanol	1 - 15 mM (0,35 - 5 mg/ml)	bei -20 °C max. 1 Monat	10 - 100 µM	Amino-peptidasen. Kompetitive und spezifische Inhibition von Amino-peptidase B, Leucin-Amino-peptidasen, Triamino-peptidasen. Keine Inhibition von Amino-peptidase A, Trypsin, Chymotrypsin, Elastase, Papain, Pepsin, Thermolysin. Nicht antibakteriell, nicht fungizid, wenig toxisch.
Calpain Inhibitor I	2934	DMSO, Methanol	10 mg/ml (25 mM)	bei -20 °C wenige Tage	0,1 - 10 µM	Calpain (Calcium-abhängige Cysteinproteasen). Starker, kompetitiver Inhibitor von Calpain I und Calpain II (geringere Inhibition), Papain, Cathepsin B und L. Keine Inhibition von Trypsin.
E-64	2935	H ₂ O, DMSO, Ethanol	1 mM (360 µg/ml)	bei -20 °C max. 3 Monate	1 - 20 µM	Cysteinproteasen. Irreversible, starke und hochselektive Inhibition. Keine Inhibition von Serinproteasen (Ausnahme: Trypsin). Durch die geringe Toxizität und hohe Zellpermeabilität gute Alternative zu Leupeptin oder Antipain.

EDTA	8043	H ₂ O	0,5 M (186 mg/ml)	autoklaviert bei RT ca. 1 Jahr	1 - 10 mM	Metalloproteasen. Inhibition durch Chelatierung zweiwertiger Metallionen (z.B. Calcium Ca ²⁺ , Magnesium Mg ²⁺). Reversible Inhibition von allen Enzyme, die bivalente Ionen zur Funktion benötigen (Metalloproteasen, DNAsen etc.).
EGTA	3054	H ₂ O	0,5 M (190 mg/ml)	autoklaviert bei RT ca. 1 Jahr	1 - 10 mM	Unspezifischer Protease-Inhibitor. Reversible Inhibition durch Chelatierung zweiwertiger Metallionen (z.B. Calcium Ca ²⁺ , Magnesium Mg ²⁺). Reversible Inhibition von allen Enzyme, die bivalente Ionen zur Funktion benötigen (Metalloproteasen, DNAsen etc.). pK _a Calcium (pH 7): ca. 6,9
Genistein	0716	DMSO	100 mg/ml (370 mM)	bei +4 °C ca. 6 Monate, bei -20 °C ca. 1 Jahr	1 - 100 µg/ml	Tyrosin-spezifische Proteinkinasen. Kompetitive Inhibition der ATP-Bindung. Insulinrezeptor- Tyrosinkinase und Serin-/Threonin-spezifische Proteasen werden nicht inhibiert. Weiterhin Inhibition der Topoisomerasen I und II.
Leupeptin-Hemisulfat	CN33	H ₂ O, Ethanol	1 - 10 mM (0,5 - 5 mg/ml)	bei +4°C für max 7 Tage, bei -20 °C für 6 Monate	1 - 100 µM	Serin- und Cysteinproteasen, Trypsin-ähnliche Proteasen. Kompetitive Inhibition von Calpain, Cathepsin B, Kallikrein, Papain, Plasmin und Trypsin. Die Inhibition von Thrombin wird diskutiert. Wenig oder nicht inhibierend für Pepsin, Cathepsin A und D und Chymotrypsin. Hinweis: die Arbeitslösungen sind nur wenige Stunden stabil. Leupeptin kann in Proteinquantifizierungen die Messwerte verändern.
Pefabloc ^{®(4)}	A154	H ₂ O	5-50 mg/ml (20 - 200 mM)	bei -20 °C max. 6 Monate	0,1 - 5 mM	Serinproteasen. Irreversible Breitband-Inhibition von u.a. Trypsin, Chymotrypsin, Plasmin, Kallikrein, Thrombin. Durch geringe Toxizität gute Alternative zu PMSF. Alkali-labil, ein pH-Wert von 7 darf nicht überschritten werden.
Pepstatin A	2936	DMSO, Methanol ⁽⁵⁾	1 mM (685 µg/ml)	bei -20 °C max. 1 Monat, bei +4 °C max. 1 Woche	1 - 100 µM	Saure Proteasen, Aspartatproteasen. Starke, hochselektive Inhibition von Pepsin, Renin, Cathepsin D, Chymosin, Protease B, retrovirale Protease. Inhibiert nicht Thiolproteasen, Neutrale Proteasen und Serinproteasen.
Phosphoramidon	-	DMSO, Methanol, (H ₂ O, Ethanol)	bis 17 mM (10 mg/ml)	bei -20 °C für max. 1 Jahr	1 - 10 µM	Thermolysin und andere bakterielle Metallo- endopeptidasen. Säuger-Enkephalinase und einige Säuger-Metalloendopeptidasen. Schwache Inhibition der Kollagenase. Keine Inhibition von Trypsin, Chymotrypsin, Papain, oder Pepsin.
PMSF	6367	Ethanol, Methanol	100 mM (17,4 mg/ml) ⁽⁶⁾	bei +4 °C für max. 6 Monate, bei -20 °C für max. 2 Jahre	0,1 - 1 mM	Serin- und Cystein-Proteasen. Irreversible Inhibition von Chymotrypsin, Trypsin und Thrombin und für die Dystin-Protease Papain. Reversible Inhibition der Cysteinproteasen. Nicht stabil in wässrigen Lösungen. Immer frisch zusetzen. Aktivität ist reduziert bei hohen Salzkonzentrationen.
Trypsin-Inhibitor	5279 und 2949	H ₂ O	1 - 10 mg/ml	bei -20 °C ca. 3 Jahre	1 - 100 µg/ml ⁽⁷⁾	Trypsin und Trypsin-ähnliche Proteasen. Starke Inhibition von Trypsin, schwächere Inhibition von Chymotrypsin. Schwach inhibierend für Plasmin, Kallikrein, Thrombin. pH-Optimum: 8,0.

(1) Wir empfehlen die Lagerung in kleinen Aliquots. Mehrfaches Auftauen / Einfrieren ist in jedem Fall zu vermeiden!

(2) Bei voller Aktivitätserhaltung. Eine längere Lagerung kann im Einzelfall möglich sein unter Inkaufnahme von Aktivitätsverlusten.

(3) Durch Lagerung bei -80 °C kann die Haltbarkeit weiter verlängert werden. Grenzwerte sind hier nicht genau bekannt.

(4) Eingetragenes Warenzeichen der Pentapharm AG, Basel.

(5) Ein Zusatz von 10-50% Essigsäure kann notwendig sein, um Pepstatin A vollständig zu lösen.

(6) Höher konzentrierte Stocklösungen wie z.B. 200 – 250 mM sollten zum Lösen für ca. 30 min auf 30 °C erwärmt werden.

(7) Für das Abstoppen von Zellkulturtrypsinierungen: Stocklösung 1 mg/ml, Arbeitskonzentration: 0,5 mg/ml

Carl Roth GmbH + Co. KG

Schoemperlenstraße 3-5
76185 Karlsruhe
Postfach 100121
76231 Karlsruhe
Telefon: +49 (0) 721/ 5606-0
Telefax: +49 (0) 721/ 5606-149
E-Mail: info@carlroth.de
Internet: www.carlroth.de

s.s. 08.2010