

EGTA ultrapure

Ethylendioxy-bis(ethylenitrilo)-tetraessigsäure;
Ethylenglycol-bis-(β -aminoethylether)-N,N',N',-tetraessigsäure
Artikel-Nr. A0878

Beschreibung

Summenformel:	C ₁₄ H ₂₄ N ₂ O ₁₀
Molekulargewicht:	380,35 g/mol
CAS-Nr.:	[67-42-5]
HS-Nr.:	29225000
Gehalt (chelatometr.):	min. 99 %
Schmelzpunkt:	240°C (Zers.)
Sicherheit (LD ₅₀ oral; Ratte):	3587 mg/kg
Entsorgung:	3
Lagerung:	Raumtemperatur
Spezifität:	Inhibitor von Metallo-Proteasen Chelator von Ca ²⁺ - und Zn ²⁺ -Ionen
Lösungsmittel:	Wasser
Arbeitskonzentration:	0,1 - 2 mM*
Stammlösung:	100 mM (bei -20°C stabil)

* empfohlene Anfangskonzentration als Proteaseinhibitor in Inhibitor-Cocktails; für andere Anwendungen oft höher

Hinweis

EGTA ist wie EDTA ein Chelator von Calcium- und Zinkionen, nicht aber von Magnesiumionen und damit auch ein Inhibitor von Metallo-Proteasen. Es kann aber auch andere Metallionen-abhängige biologische Prozesse beeinflussen und schützt Enzyme vor der Inaktivierung durch Schwermetallionen. Die effektive inhibitorische Konzentration liegt bei 0,1 - 2 mM. Als Stammlösung kann eine 100 mM EGTA Lösung in Wasser hergestellt werden (Einstellung des pH-Wertes mit 10 N NaOH auf 7,0). Die Stammlösung kann bei -20°C viele Monate gelagert werden.

Anwendung und Literatur

- (1) Hemmung der Ca²⁺-abhängigen ATPase des sarcoplasmatischen Reticulums durch 0,1 mM EGTA. (Dean, W.L. & Tanford, C. (1978) *Biochemistry* **17**, 1683-1690)
- (2) Stimulation des Calcium-Transportes von Vesikeln des sarcoplasmatischen Retikulums durch den Ca-EGTA-Komplex. EGTA wurde als Stammlösung mit der Konzentration 10 mM (pH 7,2) eingesetzt. (Berman, M.C. (1982) *J. Biol. Chem.* **257**, 1953-1957)
- (3) Beschreibung einer einfachen Methode für die genaue Bestimmung der freien [Ca] in Ca-EGTA-Lösungen. Als Standardlösungen wurden [1 mM EGTA, 0,01-2 mM CaCl₂, 100 mM KCl, 10 mM Hepes (pH 7,0 bei 23°C mit KOH)] verwendet. (Bers, D.M. (1982) *Am. J. Physiol.* **242**, C404-C408)
- (4) Regulierte Exocytose von permeabilisierten Mastzellen. Untersuchung der Abhängigkeit der Exocytose von der Ca²⁺-Konzentration. Verwendung von CaEGTA-Puffern, d.h. Ca²⁺ mit einem geeigneten Chelator [Stammlösung 100 mM EGTA; Endkonzentration 3 mM EGTA]. Sekretion von Hexosaminidase: Inkubation der Zellen mit 0,2% (v/v) Triton X-100 und anschließend mit eiskalter NaCl-Lösung [120 mM NaCl, 10 mM EGTA, 25 mM Hepes (pH 8,0)]. (Gomperts, B.D. & Tatham, P.E.R. (1992) *Methods Enzymol.* **219**, 178-189)

- (5) Aufreinigung der Ca^{2+} -abhängigen KEX2-kodierten Endoprotease (Serin-Protease) aus Hefe. KEX2 ist gegen PMSF, TPCK und TLCK resistent ist, aber gegen 0,25 mM EDTA oder EGTA sensitiv. Bestimmung der Enzymaktivität in [200 mM Hepes (pH 7,0), 1 mM CaCl_2 , 0,5 mM PMSF, 0,1 mM TPCK, 1% (w/v) Triton X-100, 100 μM *t*-Butoxycarbonyl-Gln-Arg-Arg-MCA]. Zur Aufreinigung des Enzyms werden Hefezellen (Stamm BFY101-35C) in Puffer A [50 mM Hepes-Na (pH 7,6), 10 mM EDTA, 0,5 mM TPCK, 1 mM Benzamidin-Hydrochlorid, 5 μM Ep459, 25 μM Pepstatin A] gewaschen und durch Vortexen mit Glaskugeln lysiert. (Fuller, R.S. *et al.* (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **86**, 1434-1438)
- (6) Fixierung von *D. melanogaster* Embryonen für die Immunocytochemie in 3,5% Formaldehyd in [100 mM Pipes, 1 mM MgCl_2 , 1 mM EGTA (pH 6,9)]. Um die fixierten Embryonen zu de-vitellinisieren, wird das Fixans durch [90% Methanol, 50 mM EGTA] ersetzt. (Galindo, R.L. *et al.* (1995) *Development* **121**, 2209-2218)
- (7) Polymerisation von Tubulin in PMMEG-Puffer [87 mM Pipes, 36 mM Mes, 1,4 mM Mg^{2+} , 1 mM EGTA, 1 mM GTP (pH 6,8)]. (Panda, D. *et al.* (1995) *Biochemistry* **34**, 9921-9929)
- (8) Isolierung von Tubulin aus Schweine-Hirn. Waschen der frischen Gehirne in [100 mM Mes, 1 mM EGTA, 0,5 mM MgCl_2 , pH 6,5] und homogenisiert in Mes-Puffer [100 mM Mes, 1 mM EGTA, 0,5 mM MgCl_2 , 0,5 mM β -Mercaptoethanol, 1 mM GTP, pH 6,5]. (Li, Y. *et al.* (1995) *Biochem. Pharmacol.* **49**, 1367-1372)
- (9) Immunpräzipitation von Myosin II aus menschlichen Venen-Endothelzellen. Aufnahme der Zellen bei +4°C in Extraktionspuffer [25 mM Tris-HCl (pH 7,9), 250 mM NaCl, 100 mM $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$, 75 mM NaF, 5 mM EGTA, 5 mM EDTA, 1% NP-40, 0,5% DOC, 0,2 mM PMSF, 0,5 mM DTT, 100 $\mu\text{g/ml}$ Benzamidin, 100 $\mu\text{g/ml}$ Sojabohne Trypsininhibitor, je 10 $\mu\text{g/ml}$ TLCK, TPCK, Aprotinin, Leupeptin, Pepstatin, 15 mM β -Mercaptoethanol]. (Goekeler, Z.M. & Wysolmerski, R.B. (1995) *J. Cell Biol.* **130**, 613-627)
- (10) Aufreinigung des Microfilament-Proteins VASP. Homogenisierung von Kalbsthymus in [20 mM Natriumphosphat (pH 6,8), 50 mM NaCl, 2 mM EDTA, 2 mM EGTA, 1 mM PMSF, 100 U/ml Aprotinin]. (Reinhard, M. *et al.* (1995) *EMBO J.* **14**, 1583-1589)
- (11) Herstellung von Kernextrakten. Abzentrifugierte Zellkerne werden in eiskaltem Puffer extrahiert [10 mM Hepes (pH 7,9), 400 mM NaCl, 0,1 mM EDTA, 0,1 mM EGTA, 2 mM DTT, 1% NP-40, 2 $\mu\text{g/ml}$ Pepstatin, 2 $\mu\text{g/ml}$ Leupeptin, 1 $\mu\text{g/ml}$ Aprotinin]. (Leger, H. *et al.* (1995) *Mol. Cell. Biol.* **15**, 3738-3747)
- (12) Lyse von U937-Zellen für die Gewinnung von Extrakten für Western Blots in NP-40 - Lysepuffer [50 mM Hepes (pH 7,5), 150 mM NaCl, 1,5 mM MgCl_2 , 1 mM EGTA, 100 mM NaF, 10% Glycerin, 1% NP-40, 1 mM Na_2VO_4 , 1 mM AEBSF, 10 $\mu\text{g/ml}$ Aprotinin, 10 $\mu\text{g/ml}$ Leupeptin]. (Robbins, S.M. *et al.* (1995) *Mol. Cell. Biol.* **15**, 3507-3515)
- (13) Lyse von *Drosophila* Schneiderzellen für Extrakte für Immunoblots [50 mM Hepes, 150 mM NaCl, 2 mM EGTA, 2 mM EDTA, 25 mM NaF, 10% Glycerin, 1 mM Na_2VO_4 , 10 $\mu\text{g/ml}$ Aprotinin, 10 $\mu\text{g/ml}$ Leupeptin, 10 $\mu\text{g/ml}$ Pepstatin]. (Fernandez, R. *et al.* (1995) *EMBO J.* **14**, 3373-3384)