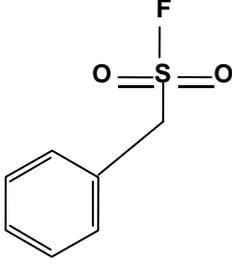


PMSF

Phenylmethansulfonylfluorid; Benzylsulfonylfluorid
Artikel-Nr. A0999

Beschreibung

Summenformel:	C ₇ H ₇ FO ₂ S	
Molekulargewicht:	174,19 g/mol	
CAS-Nr.:	[329-98-6]	
Gehalt (HPLC):	min. 99 %	
Wasser (K.F.):	max. 0,5 %	
Schmelzpunkt:	91 - 92°C	
Lösungsmittel:	trockene, wasserfreie Lösungsmittel (DMSO, EtOH, <u>Isopropanol</u>)	
Arbeitskonzentration:	0,1 - 1 mM (17 - 174 µg/ml)	
Stammlösung:	100 - 200 mM (Lagerung: -20°C)	
Stabilität (Stammlösung):	mindestens 9 - 12 Monate bei +4°C oder Raumtemperatur	
Lagerung:	Raumtemperatur	

Hinweis

PMSF ist ein irreversibler Inhibitor von Serin-Proteasen wie Trypsin und Chymotrypsin und Thiol-Proteasen wie Papain. Die Hemmung von Cystein-Proteasen kann durch reduzierte Thiole revertiert werden. Es wird häufig bei der Aufreinigung von Proteinen aus Zellysaten eingesetzt, da es sehr effektiv den Proteinabbau hemmt. PMSF ist in Wasser begrenzt löslich. Stammlösungen werden in organischen Lösungsmitteln hergestellt. In 10% Isopropanol ist es mit bis zu 10 mg/ml löslich. In der Regel wird PMSF in der Endkonzentration von 1 mM eingesetzt. Die LD₅₀ (i.p.) der Maus beträgt 200 mg/kg.

Stabilität

In wäßrigen Lösungen wird PMSF schnell inaktiviert, besonders bei steigenden pH-Werten und Temperaturen und muß deshalb bei jedem Arbeitsschritt den gekühlten Lösungen frisch zugesetzt werden. Bei pH-Werten von 7,0, 7,5 und 8,0 beträgt die Halbwertszeit bei 25°C 110, 55 bzw. 35 Minuten. Die Stammlösungen (Isopropanol) sind bei +4°C oder 25°C mindestens 9 Monate stabil (4). Stammlösungen von PMSF (10-100 mM; entsprechend 1,74 mg/ml bzw. 17,4 mg/ml) werden daher in wasserfreiem Ethanol, Methanol oder Isopropanol hergestellt und bei -20°C gelagert. Bei -20°C kristallisiert PMSF in Isopropanol aus (5).

Achtung: PMSF ist schädlich für die Schleimhäute der Lunge, die Augen und die Haut. Jeglicher Kontakt durch Einatmen, Verschlucken oder Hautkontakt müssen vermieden werden. Bei Berührung sofort mit viel Wasser abwaschen. Wir empfehlen statt PMSF das wesentlich weniger giftige, aber genauso effektive, **AEBSF** (A1421) zu verwenden.

Anwendung und Literatur

- (1)Sulfonylfluoride als Inhibitoren von Esterasen I. (Fahrney, D.E. & Gold, A.M. (1963) *J. Am. Chem. Soc.* **85**, 997-1000)
- (2)Sulfonylfluoride als Inhibitoren von Esterasen II. Eingesetzt als 100 - 200 μ M in 10% Isopropanol. (Gold, A.M. & Fahrney, D.E. (1964) *Biochemistry* **3**, 783-791)
- (3)Effekte von Protease-Inhibitoren auf Proteinabbau in *E. coli*. (Prouty, W.F. & Goldberg, A.L. (1972) *J. Biol. Chem.* **247**, 3341-3352)
- (4)Herstellung von Extrakten aus Pflanzenzellen. Stammlösung PMSF 100 mM (100x) in trockenem Isopropanol oder wasserfreiem Ethanol; Die Stammlösung wird bei Raumtemperatur gelagert und wird direkt vor Gebrauch den Lösungen zugesetzt (1 mM Endkonzentration). (Gegenheimer, P. (1990) *Methods Enzymol.* **182**, 174-193)
- (5)Herstellung von Extrakten aus Zellen höherer Eukaryonten (Dignam-Extrakte). Verwendung verschiedener Puffer in Abhängigkeit des Zellmaterials und des aufzureinigenden Proteins: z.B. für einen Aminoacyl-tRNA Synthetase-Komplex u.a. mit Puffer B [50 mM Tris-HCl (pH 7,5 bei 25°C), 10% (v/v) Glycerin, 5 mM MgOAc, 0,2 mM EDTA, 0,5 mM DTT, 1 mM PMSF] oder mit Puffer C [10 mM Tris-HCl (pH 7,5 bei 25°C), 5 mM MgCl₂, 2 mM PMSF] und Puffer D [250 mM Tris-HCl (pH 7,5 bei 25°C), 250 mM KCl, 10 mM MgCl₂, 5 mM DTT, 5 mM PMSF, 0,5 mM EDTA, 50% (v/v) Glycerin] oder für die Gewinnung des S100-Extraktes (cytoplasm. Fraktion) u.a. mit Puffer A [10 mM Hepes-NaOH (pH 7,9 bei 25°C), 1,5 mM MgCl₂, 10 mM KCl, 0,5 mM DTT, 0,5 mM PMSF] und Puffer C [20 mM Hepes-NaOH (pH 7,9 bei 25°C), 25% (v/v) Glycerin, 420 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂, 0,2 mM EDTA, 0,5 mM DTT, 0,5 mM PMSF] und Puffer D [20 mM Hepes-NaOH (pH 7,9 bei 25°C), 20% (v/v) Glycerin, 100 mM KCl, 0,2 mM EDTA, 0,5 mM DTT, 0,5 mM PMSF]. (Dignam, J.D. (1990) *Methods Enzymol.* **182**, 194-203)
- (6)Isolierung des Syk-Proteins aus RBL-Zellen. Lyse der Zellen auf Eis in Lysepuffer [1% NP-40, 50 mM Tris (pH 7,4), 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1 mM Natriumorthovanadat, 25 μ g/ml Leupeptin, 10 U/ml Aprotinin, 1 mM PMSF]. (Taylor, J.A. et al. (1995) *Mol. Cell. Biol.* **15**, 4149-4157)
- (7)Proteinextraktion aus Pollenschläuchen von *Lilium longiflorum* und *Nicotiana glauca* in [500 mM KCl, 15 mM Tris-HCl (pH 7,5), 1 mM EDTA, 5 mM DTT, 0,1 mM PMSF, 5 μ g/ml Tosyl-L-Argininmethylester, 10 μ g/ml Antipain, 10 μ g/ml Chymostatin, 10 μ g/ml Leupeptin, 10 μ g/ml Pepstatin, 10 μ g/ml N-Benzoyl-L-Argininethylester-HCl, 244 μ M Benzamidin, 10 μ g/ml TPCK]. (Miller, D.D. et al. (1995) *J. Cell Science* **108**, 2549-2563)
- (8)Expression von GST-Fusionsproteinen in B-Zellen. Lyse der Zellen in Lysepuffer [1% NP-40, 50 mM Tris (pH 8,0), 120 mM NaCl, 0,2 mM Na₃VO₄, 100 mM NaF, 2 mM PMSF]. (Aoki, Y. et al. (1995) *J. Biol. Chem.* **270**, 15658-15663)
- (9)Expression des *Agrobacterium tumefaciens* Virulenzproteins D2 in *E.coli*. Lyse der Bakterien in Puffer A [50 mM Tris-HCl (pH 8,5), 150 mM NaCl, 5 mM EDTA, 0,1 mM PMSF, 10 mM β -Mercaptoethanol, 0,5 mg/ml Lysozym, 0,1% Tween-20]. (Tinland, B. et al. (1995) *EMBO J.* **14**, 3585-3595)