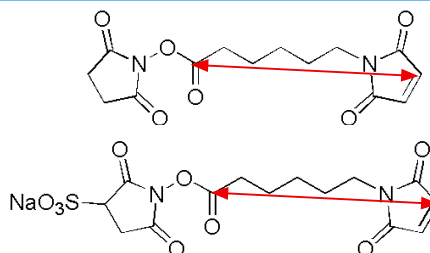


**EMCS** [code: E018]  
 CAS No. 55750-63-5  
 molecular weight: 308.29  
 spacer length: 9.4 Å

**Sulfo-EMCS** [code: S024]  
 CAS No. 103848-61-9 (free acid)  
 molecular weight: 410.33  
 spacer length: 9.4 Å



## はじめに

クロスリンカー（架橋剤）は2つの官能基を有する試薬でその名の通り2つの分子/構造体を結合する化合物であり、免疫アッセイに用いられる酵素と抗体の結合体の作成やタンパク質修飾等に広く用いられている。EMCSはクロスリンカーの1つであり、一級アミノ基(-NH<sub>2</sub>)と反応するNHSエステル基と、チオール基(-SH)と反応するマレイミド基を有している。例えば、ペルオキシダーゼ(POD)等の酵素のアミノ基とEMCSを反応させ、その後、SH基を有するFab'と反応させることにより、酵素標識抗体を作製することができる。その他、BSA (bovine serum albumin) や KLH (keyhole limpet hemocyanin) とEMCSを反応させ、その後SH基を持つハプテンと反応させることにより、ハプテン-キャリアタンパク質複合体を作製することも可能である。また、基板への分子の固定化にも用いられている。Sulfo-EMCSはスルホン酸基を有する活性エステル基が導入されているため、試薬を溶解するためのDMFやDMSOなど有機溶媒を用いることなく標識反応を行うことが可能である。

目的別の実験例や参考文献はこちら⇒

同仁化学 cross-linking

検索



## 保存条件

0 - 5 °Cにて保存してください。

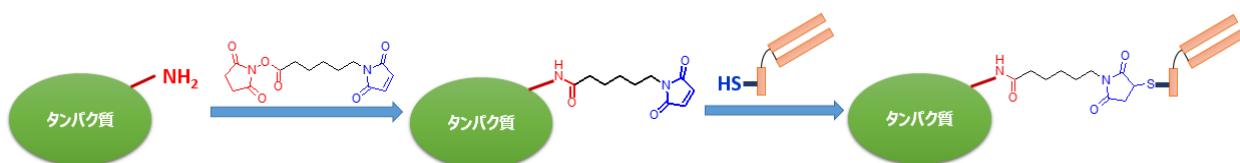
・EMCS、Sulfo-EMCSを溶解した溶液は保存できません。用時調製でご使用ください。

## 必要なもの

- マイクロピペット (10 µl, 200 µl)
- マイクロチューブ
- 精製用ゲルなど
- 有機溶媒 (dimethylsulfoxide など)
- 反応用緩衝液 (PBS など)
- インキュベーター

## 複合体の作製例

## 【酵素-抗体】



## ① ペルオキシダーゼ (POD) を EMCS によりマレイミド化する

1. POD (2 mg, 50 nmol) をリン酸緩衝液 (0.3 ml, 0.1 mol/l, pH7) に溶解する。(167 µmol/l POD)
2. EMCS 3.08 mg をマイクロチューブに量りとり、DMSO 1 ml で溶解する。(10 mmol/l EMCS)
3. POD に対し、50-100 倍モルの EMCS を加える。
4. 1 時間、30°C でインキュベートする。
5. 遠心した後、上清をリン酸緩衝液 (0.1 mol/l, pH6) を用いてゲルろ過で精製する。(maleimide 化 POD)

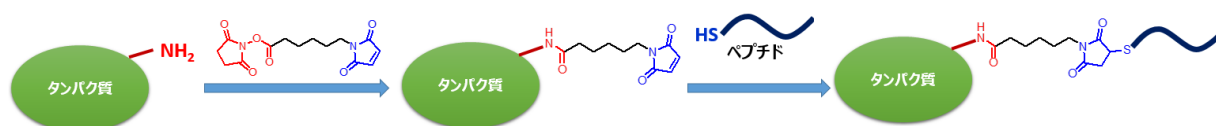
## ② maleimide 化 POD と Fab' (※) をつなぐ。

1. maleimide 化 POD (1.8 mg, 45 nmol) をリン酸緩衝液 (0.3 ml, 0.1 mol/l, pH6) に溶解する。
2. Fab' (2 mg, 33 nmol, 60 kDa) を 5 mmol/l EDTA を含むリン酸緩衝液 (0.3 ml, 0.1 mol/l, pH6) に溶解する。
3. 1 及び 2 で調製した溶液を混合する。
4. 20 時間、4°C で反応する。
5. 反応液をリン酸緩衝液 (0.1 mol/l, pH6) を用いてゲル濾過で精製する。(POD 標識 Fab')

※抗体から Fab' を調製する場合には、酵素処理し、F(ab')<sub>2</sub> とした後、MEA (2-mercaptoethylamine) をご使用ください。

(例: 1-10 mg/ml 抗体、10 mmol/l MEA、90 分間、37°C)

## 【キャリアタンパク質-ペプチド】



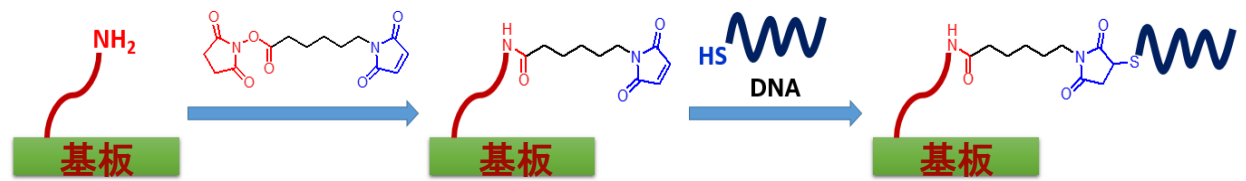
## ① ovalbumin を EMCS によりマレイミド化する

1. ovalbumin (20 mg, 0.22 mmol/l) を PBS (2 ml) に溶解する。
2. 上記溶液に EMCS/DMSO 溶液 (25 mg/ml, 81 mmol/l) を 200 µl 添加して室温で 30 分インキュベートする。(モル比約 ovalbumin: EMCS = 1: 36)
3. 反応液をリン酸緩衝液 (0.1 mol/l, pH6) を用いてゲル濾過で精製し、過剰の EMCS を除く。
4. カラムから溶出したサンプルに 0.2 mol/l Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (1 ml) を添加し、pH7.2 に調整する。

## ② maleimide 化 ovalbumin とペプチドをつなぐ

1. maleimide 化 ovalbumin にペプチド溶液 (1 mg/ml 0.1 mol/l リン酸緩衝液、pH7.2) を添加する。(モル比約 maleimide 化 ovalbumin: ペプチド = 1: 14)
2. 3 時間、室温で攪拌し、その後 PBS で 24 時間透析を行い精製する。

【アミノ基修飾基板 - DNA】



① アミノ基修飾基板を EMCS によりマレイミド化する

1. アミノ基修飾基板（アミノシランコーティング）を 1 時間イオン交換水に浸漬し、その後窒素ガス通気下、120℃で 1 時間焼成する。
2. 処理した基板を EMCS 0.3 mg/ml DMSO/ethanol (1 : 1) 混合溶液に 2 時間浸漬する。
3. 基板を取り出し、DMSO/ethanol 混合溶液で洗浄を行い、窒素ガスで乾燥させる。その後、デシケーターで乾燥を行う。

② maleimide 化した基板と DNA をつなぐ

1. DNA (5' チオール修飾) を 8 μmol/l となるように (glycerin, urea, thiodiglycol, acetylenol 各 7.5% w/v, acetylenol EH 1% w/v、水溶液) で溶解する。
2. 上記 DNA 溶液をインジェクター等を用いて基板にスポットし、一晚反応させる。
3. 基板をイオン交換水を用いて洗浄する。

参考文献

【小社の EMCS 及び Sulfo-EMCS を用い、複合体を作製した使用例】

詳細な実験条件につきましては該当する参考文献をご覧ください。

複合体の種類	EMCS の反応対象物		文献番号
	NH <sub>2</sub> 基	SH 基	
酵素 - 抗体	PPDK (酵素)	抗 FITC 抗体 (Fab' ウサギ由来)	1)
キャリアタンパク質 - ペプチド	ovalbumin	合成ペプチドのシステイン残基	2)
アミノ基修飾基板 - DNA オリゴマー	アミノシランをコートしたガラス基板	DNA (5' チオール修飾)	3)
	DNA (5' アミノ修飾)	基板 (SH 基)	4)
	アミノ基プレート表面	DNA (5' チオール修飾)	5)
その他	DNA	Fab'	6)
	superoxide dismutase (SOD)	高分子	7)
	低分子	抗体	8)

複合体の種類	Sulfo-EMCS の反応対象物		文献番号
	NH <sub>2</sub> 基	SH 基	
酵素 - 抗体	Alkaline phosphatase	抗ヒト IgG 抗体 (Fab' マウス由来)	9)
アミノ基修飾基板 - DNA アプタマー	アミノ化された SiN チップ基板	SH 末端 DNA アプタマー	10)
アミノ基修飾基板 - PNA	アミノ化された IS-FET 基板	PNA	11)

- 1) K. Ito et al., *Anal. Chim. Acta*, **2000**, 421, 113.
- 2) K. Oda et al., *J. Biochem.*, **1990**, 108, 549.
- 3) T. Okamoto et al., *Nat. Biotechnol.*, **2000**, 18, 438.
- 4) M. Ikeda et al., *J. Health Sci.*, **2005**, 51(4), 469.
- 5) Y. Wang et al., *Nanobiotechnology*, **2006**, 2(3), 87.
- 6) Y. Oku et al., *J. Immunol. Methods*, **2001**, 258, 73.
- 7) Y. Kojima et al., *J. Bioact. Compat. Polym.*, **1993**, 8 (2), 115.
- 8) B. Le et al., *J. Chem. Eng. Jpn.*, **2001**, 34(1), 66.
- 9) T. Uno et al., *Anal. Chem*, **2007**, 79, 52.
- 10) S. Goji et al., *J. Nucleic Acids*, **2011**, Article ID 316079.
- 11) S. Watanabe et al., *Biophysics*, **2014**, 10, 49.

FAQ

Q: EMCS、Sulfo-EMCS の使用条件を教えてください。

A: 活性エステルと反応対象物のアミノ基との反応は、弱アルカリ条件 (pH7 ~ 9) で行ってください。その後の還元や他のチオールとの置換反応は中性条件で行ってください。

質問・ご要望は小社カスタマーサポート（フリーダイヤル：0120-489548）までお問い合わせください。

関連製品

○クロスリンカー試薬

製品名	製品コード	容量	距離 (Å)
EMCS	E018	50 mg	9.4
		100 mg	
GMBS	G005	50 mg	6.9
		100 mg	
HMCS	H257	50 mg	13.0
KMUS	K214	50 mg	16.7
DSP	D629	1 g	8.5
SPDP	S291	100 mg	4.1

○水溶性クロスリンカー試薬 (有機溶媒使用不可の実験系向け)

製品名	製品コード	容量	距離 (Å)
Sulfo-EMCS	S024	50 mg	9.4
Sulfo-GMBS	S025	50 mg	6.9
Sulfo-HMCS	S026	50 mg	13.0
Sulfo-KMUS	S250	50 mg	16.7
Sulfo-SMCC	S330	50 mg	8.0
BS3	B574	50 mg	8.9
DTSSP	D630	50 mg	8.5
Sulfo-AC5-SPDP	S359	50 mg	12.6