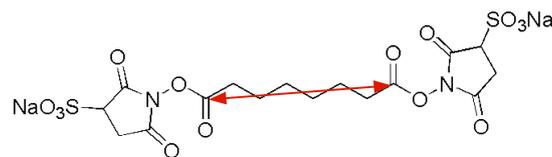
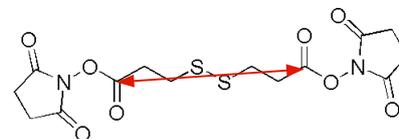


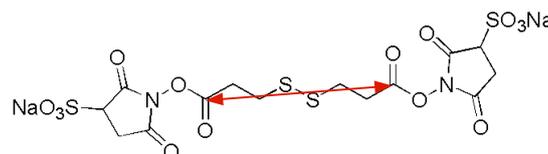
**BS3** [code: B574]  
CAS No. 82436-77-9 (free acid)  
molecular weight: 572.43  
spacer length: 8.9 Å



**DSP** [code: D629]  
CAS No. 57757-57-0  
molecular weight: 404.42  
spacer length: 8.5 Å



**DTSSP** [code: D630]  
CAS No. 81069-02-5 (free acid)  
molecular weight: 608.51  
spacer length: 8.5 Å



## はじめに

BS3, DTSSP, DSP は、アミノ基同士の架橋反応が可能な試薬である。N-ヒドロキシスクシンイミド活性エステルを分子の両端に有しており、アミノ基に対して選択的に反応するため、酵素標識体の調製や単純ハプテンを担体タンパク質に結合することが可能である。BS3 はリンカー部分にアルキル鎖を有する化学構造をとる。一方、DSP および DTSSP は、リンカー部分にジスルフィド基が導入されていることで還元剤により容易に還元されリンカー部分の切断が可能である。また、BS3 および DTSSP 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 dimethylformamide や dimethylsulfoxide 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

吸湿を避けて、0~5℃にて保存してください。

・BS3, DSP, DTSSP 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。

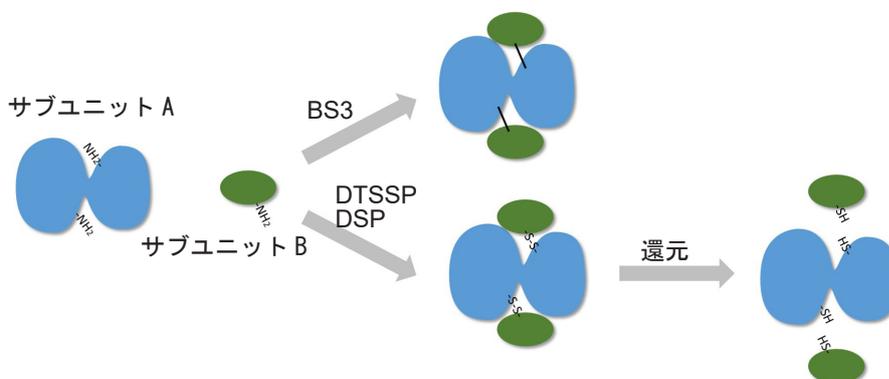
## 必要なもの

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

## 架橋剤の調製

| クロスリンカーの濃度 | BS3 5 mg を溶解する溶媒量 | DTSSP 5 mg を溶解する溶媒量 | DSP 5 mg を溶解する溶媒量 |
|------------|-------------------|---------------------|-------------------|
| 5 mmol/l   | 1747 µl           | 1643 µl             | 2473 µl           |
| 10 mmol/l  | 873 µl            | 822 µl              | 1236 µl           |
| 50 mmol/l  | 175 µl            | 164 µl              | 247 µl            |
| 100 mmol/l | 87 µl             | 82 µl               | 124 µl            |

## 使用例



## ① タンパクサブユニットの架橋

- HEPES 緩衝液 (10 mmol/l, pH7.5, 120 mmol/l NaCl, 3 mmol/l MgCl<sub>2</sub>, 1 mmol/l DTT) を調製する。
- 4 µmol/l サブユニット A と 25 µmol/l サブユニット B を 1. で調製した緩衝液に溶解する。
- BS3、DTSSP または DSP を 2~4 mmol/l 濃度で添加する。\*
- 1~10 分間、25℃で反応させる。
- Tris 緩衝液 (10 mmol/l, pH7.4, 570 mmol/l グリシン) を加え反応を停止する。

\* BS3 と DTSSP は使用直前に緩衝液に溶解して下さい。DSP は DMSO に溶解して下さい。

## ② S-S 結合の開裂 (DTSSP、DSP の場合)

- β-メルカプトエタノールを添加し S-S 結合を開裂する。
- 10 mmol/l ヨードアセトアミドに置換し、フリーの SH 基を保護する。

**【BS3, DSP, DTSSP 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。

表 1 BS3, DSP, DTSSP を用いたアプリケーションと論文

| 架橋剤             | 論文の内容  | 文献  |
|-----------------|--|-----|
| BS3             | ツメガエルガラクト신의結晶構造解析<br>X線構造解析を行うと共に xgalectin-Va と BS3 を反応させ、四量体構造が糖認識機能を有していることを確認  | 1)  |
|                 | ノロウイルスのカプシドタンパク質二量体 (P-domain) と血液型抗原受容体への結合評価<br>P-タンパク質の二量体を各種条件 (濃度、pH) で作製し、安定性等を評価  | 2)  |
|                 | BSA の三次元構造解析<br>BSA を架橋させ、その三次元構造を Mass 解析   | 3)  |
| BS3, DTSSP      | オリゴペプチド誘導体の受容体解析<br><sup>125</sup> I 化 <i>Phytophthora megasperma</i> f.sp. <i>glycines</i> (Pep-13) を parsley microsome と架橋させその受容体の局在や機能を解析 | 4)  |
|                 | 酵素およびサブユニットの相互作用解析<br>cGMP-phosphodiesterase(PDE) と G-protein transducin のサブユニットを架橋、電気泳動による結果をもとに架橋条件の検討および解析                                | 5)  |
| BS3, DTSSP, DSP | RGD ペプチドと血小板レセプターの相互作用解析<br>GP II b-III a と Fibrinogen-7 を架橋させ SDS-PAGE にて解析。そのためにヨウ素標識した fibronectin を使用                                    | 6)  |
| DSP             | F <sub>0</sub> F <sub>1</sub> -ATP synthase の解析<br>ATPase subunit を DSP で架橋。各種得られた subunit の結合形態を解析  | 7)  |
|                 | 亜鉛トランスポーター (ZIP13 タンパク) の生化学特性の解析<br>ZIP13 タンパクを架橋し、homo-dimer の形で機能を有していることを確認  | 8)  |
|                 | ApoA-1 の脂質結合構造の解析<br>冠動脈疾患に対し効能の高い ApoA-1 を架橋し、質量分析により構造を解析  | 9)  |
|                 | ユビキチンタンパクリガーゼ (TRIP12) の構造解析<br>ユビキチンに結合する TRIP12 ドメインの解析に架橋剤として DSP を使用   | 10) |

- 1) Y. Nonaka, *et al.*, "Crystal structure of a *Xenopus laevis* skin proto-type galectin, close to but distinct from galectin-1", *Glycobiology*, **2015**, 25(7), 792.
- 2) M. Tan, *et al.*, "The P Domain of Norovirus Capsid Protein Forms Dimer and Bind to Histo-Blood Group Antigen Receptor", *J. Virol.*, **2004**, 78(12), 6233.
- 3) B. X. Huang, *et al.*, "Probing Three-Dimensional Structure of Bovine Serum Albumin by Chemical Cross-Linking and Mass Spectrometry", *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **2004**, 15, 1237.
- 4) T. Nuernberger, *et al.*, "Covalent cross-linking of the *Phytophthora megasperma* oligopeptide elicitor to its receptor in parsley membranes", *PNAS*, **1995**, 92, 2338.
- 5) Clerc A, *et al.*, "Interaction between cGMP-phosphodiesterase and transducin alpha-subunit in retinal rods. A cross-linking study", *J Biol. Chem.*, **1992**, 267(28),19948.
- 6) Stanley E. D'Souza, *et al.*, "Chemical Cross-linking of Arginyl-Glycyl-Aspartic Acid Peptides to an Adhesion Receptor on Platelets", *J. Biological Chemistry*, **1988**, 263(8), 3943.
- 7) J. P. Aris, *et al.*, "Cross-linking and Labeling of the *Escherichia coli* F<sub>1</sub>F<sub>0</sub>-ATP Synthase Reveal a Compact Hydrophilic Portion of F<sub>0</sub> Close to an F<sub>1</sub> Catalytic Subunit", *J. Biol. Chem.*, **1983**, 258(23), 14599.
- 8) Bum-Ho Bin, *et al.*, "Biochemical characterization of human ZIP13 protein: a homo-dimerized zinc transporter involved in the spondylocheiro dysplastic Ehlers-Danlos syndrome.", *J Biol. Chem.*, **2011**, 286(46), 40255.
- 9) Shaila Bhat, *et al.*, "Intermolecular contact between globular N-terminal fold and C-terminal domain of ApoA-I stabilizes its lipid-bound conformation: studies employing chemical cross-linking and mass spectrometry", *J Biol. Chem.*, **2005**, 280(38), 33015.
- 10) Yoon Park, *et al.*, "The HECT domain of TRIP12 ubiquitinates substrates of the ubiquitin fusion degradation pathway.", *J Biol. Chem.*, **2009**, 284(3), 1540.

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-AC <sub>5</sub> -SPDP | S359  | 50 mg | 12.6     |

その他のアプリケーション

様々な架橋剤を用いたアプリケーションや取扱い説明書をご用意しています。  
 ご興味のある方は、小社ホームページ (www.dojindo.co.jp) にアクセス頂き、試薬パンフレットダウンロード欄よりご確認ください。

ご質問・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。

**DOJINDO** 株式会社同仁化学研究所  
 熊本県上益城郡益城町田原 2025-5  
 熊本テクノリサーチパーク 〒861-2202  
 Tel:096-286-1515 (代表) Fax:096-286-1525  
 E-mail: info@dojindo.co.jp URL: www.dojindo.co.jp

ドージン・イースト (東京)  
 東京都港区芝大門2-1-17 朝川ビル 7F 〒105-0012  
 Tel: 03-3578-9651 (代表) Fax: 03-3578-9650  
 フリーダイヤル :0120-489548  
 フリーファックス :0120-021557