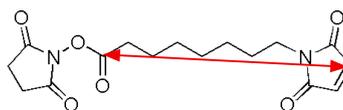
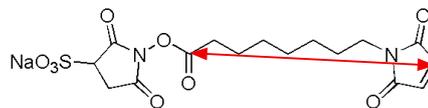


HMCS, Sulfo-HMCS, KMUS, Sulfo-KMUS Technical Manual

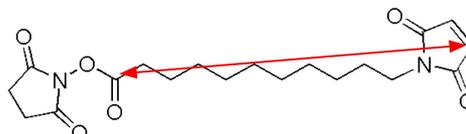
HMCS [code: H257]
CAS No. 87981-03-1
molecular weight: 336.34
spacer length: 13.0 Å



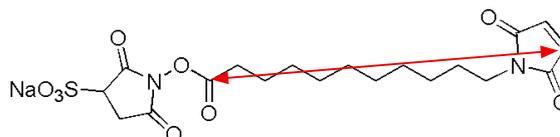
Sulfo-HMCS [code: S026]
CAS No. 211236-35-0
molecular weight: 438.39
spacer length: 13.0 Å



KMUS [code: K214]
CAS No. 87981-04-2
molecular weight: 378.42
spacer length: 16.7 Å



Sulfo-KMUS [code: S250]
CAS No. 211236-68-9
molecular weight: 480.47
spacer length: 16.7 Å



はじめに

HMCS、KMUS はアミノ基と SH 基との架橋反応が可能な異反応性二価性試薬である。構造はマレイミド基と 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もち、アミノ基に対しては活性エステルが反応し SH 基とはマレイミド基が選択的に反応する。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させる時に有用である。Sulfo-HMCS 及び Sulfo-KMUS 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。

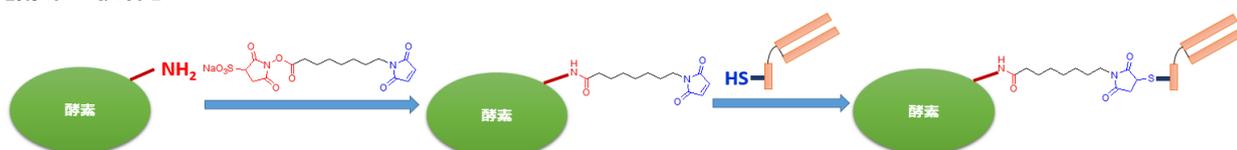
・HMCS、Sulfo-HMCS、KMUS、Sulfo-KMUS を溶解した溶液は保存できません。用時調製でご使用ください。

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 アルカリフォスファターゼ (ALP) を Sulfo-HMCS によりマレイミド化する

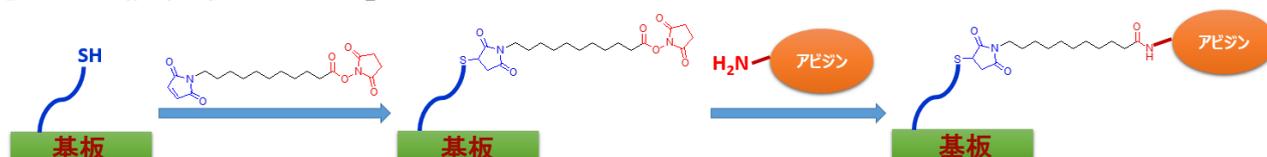
1. ALP 2 mg (14.2 nmol) をトリス緩衝液 (0.1 mol/l, pH7) 475 µl に溶解する。
2. Sulfo-HMCS 31 mg (71 µmol) を水 5 ml に溶解して加える。
3. 氷浴中で 1.5 時間反応する。
4. PD-10 カラムで精製する。

② マレイミド化 ALP と Fab' (*) とつなぐ

1. マレイミド化 ALP (0.96 mg, 192 µl) に 0.1 mol/l リン酸緩衝液 (5 mmol/l EDTA, pH6) で溶解した Fab' 抗体 (0.441 mg, 0.15 ml) を加える。
2. 16 時間 4°C で反応させる。
3. 反応液をカラム精製する。

* 抗体から Fab' を調製する場合には、酵素処理し、F(ab')₂ とした後、2-mercaptoethylamine 等で処理を行って

【チオール修飾基板－アビジン】



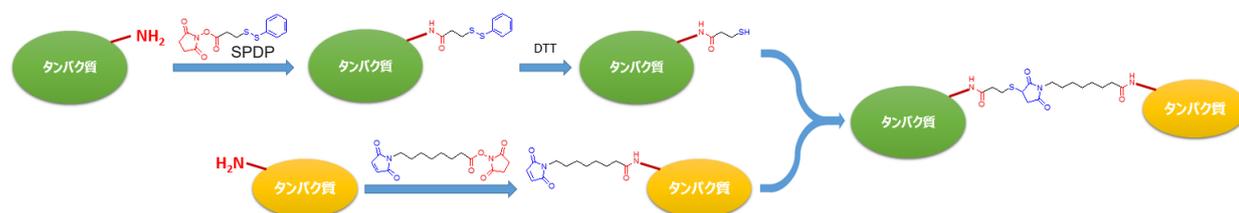
① SH 基修飾基板を KMUS により OSu 化する

1. チオール修飾基板を 2 mmol/l KMUS (DMSO 溶液) に浸し、60 分間室温で反応し、KMUS 修飾基板とする。

② KMUS 修飾基板と avidin をつなぐ

1. KMUS 修飾基板を 0.1 mg/ml avidin (50 mmol/l NaHCO₃/ NaOH 緩衝液, pH10.2) に 60 分間室温で反応する。
2. avidin 修飾基板を 0.5 mol/l ethanolamine (0.1 mol/l NaH₂PO₄/ NaOH, pH8.5) で 30 分間浸漬する。
3. 酢酸緩衝液 (pH5.5)、4°C で終夜保存し、使用する。

【タンパク質-タンパク質】



① 鶏卵由来リゾチーム (HEL) と SPDP をつなぐ (HEL-SPDP)

- HEL 100 mg を PBS 10 ml に溶解する。
- SPDP 2.2 mg を DMSO 50 μ l に溶解し加える。
- 1 時間室温で反応する。
- 反応液をカチオン交換カラムで精製する (50 mmol/l 酢酸緩衝液、0.5 mol/l NaCl、pH5)。

② マウスリゾチーム (ML) と HMCS をつなぐ (ML-HMCS)

- ML 80 mg を PBS 10 ml に溶解する。
- HMCS 2.8 mg を DMSO 50 μ l に溶解し加える。
- 1 時間室温で反応する。
- 反応液をカチオン交換カラムで精製する (50 mmol/l 酢酸緩衝液、0.5 mol/l NaCl、pH5)。

③ HEL-SPDP を SH 化し、ML-HMCS とつなぐ

- HEL-SPDP 2 mg を PBS (10 mmol/l EDTA 含有) 500 μ l に溶解する。
- 10 倍モル量の DTT を加える。
- 30 分間室温で反応する。
- 反応液をゲル濾過で精製する。
- 上記溶液に ML-HMCS 2 mg を加える。
- 一晩室温で反応する。
- 反応液をカチオン交換カラム (50 mmol/l 酢酸緩衝液、0.15 ~ 0.75 mol/l NaCl、pH5) で精製する。

参考文献

【小社の Sulfo-HMCS、KMUS、HMCS 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	Sulfo-HMCS の反応対象物		文献番号
	NH ₂ 基	SH 基	
酵素 - 抗体	Alkaline Phosphatase	Fab'	1)
複合体の種類	KMUS の反応対象物		文献番号
	NH ₂ 基	SH 基	
SH 基修飾基板 - アビジン (avidin)	アビジン (avidin)	SH 基修飾基板	2)
複合体の種類	HMCS の反応対象物		文献番号
	NH ₂ 基	SH 基	
タンパク質 - タンパク質	マウスリゾチーム	鶏卵由来リゾチーム	3)

- T. Nishikimi *et al.*, *PLoS One*, **2013**, 8(1), e53233.
- W. Okumura *et al.*, *Anal. Biochem.*, **2009**, 385(2), 326.
- Y. Tsujihata *et al.*, *J. Immunol.*, **2000**, 165(7), 3606.

FAQ

Q: HMCS、Sulfo-HMCS、KMUS、Sulfo-KMUS 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。

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。

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