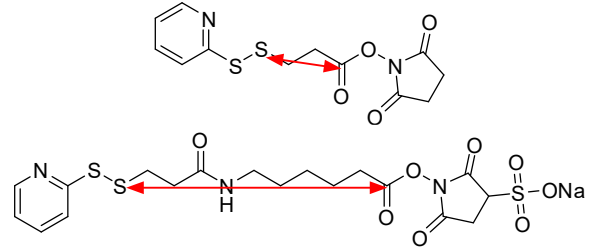


**SPDP** [code: S291]  
 CAS No. 68181-17-9  
 molecular weight: 312.37  
 spacer length 4.1 Å

**Sulfo-AC<sub>5</sub>-SPDP** [code: S359]  
 CAS No. 169751-10-4  
 molecular weight: 527.57  
 spacer length 12.6 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あり、免疫アッセイやタンパク質修飾等で広く用いられている。SPDPはHetero-bifunctional reagentの1つであり、アミノ基に反応するN-ヒドロキシスクシンイミドエステル基およびチオール基との交換機能を持つピリジルジスルフィド基を有している。そのため、SPDPを用いて抗体や酵素等のタンパク質のアミノ基にピリジルジスルフィド基を導入し、下図のようにタンパク質などと架橋することが可能である。Sulfo-AC<sub>5</sub>-SPDP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⇒

同化学 cross-linking

検索



保存条件

SPDPは0～5℃にて保存してください。Sulfo-AC<sub>5</sub>-SPDPは吸湿を避けて-20℃にて保存してください。

・SPDP、Sulfo-AC<sub>5</sub>-SPDP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。

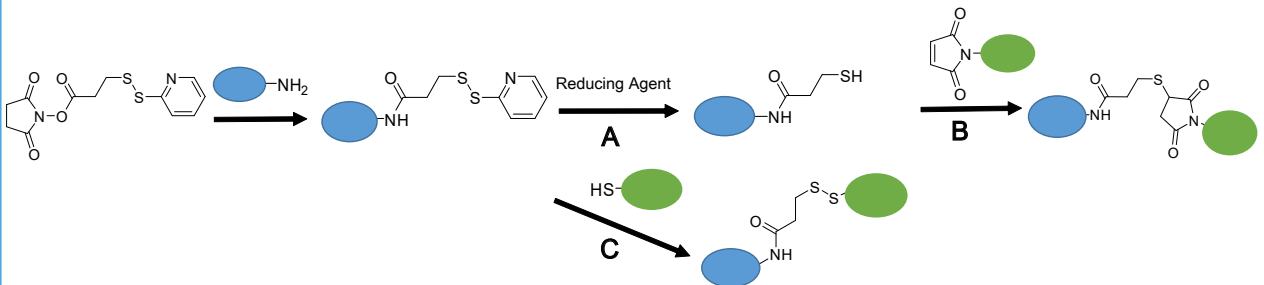
必要なもの

- 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)
- 緩衝液 (PBS など)
- インキュベーター

使用例

タンパク質やポリマーを用いたSPDPのプロトコルを紹介します。

※対象物により反応条件は異なります。実施例を参考に反応条件を設定してください。



SPDPを用いたタンパク質の修飾及びそのタンパク質を用いたタンパク質の架橋

反応A: 還元することで、チオール基に変換される。

反応B: チオール基に変換後、マレイミド化したタンパク質やポリマーと架橋可能である。

反応C: チオール基を有するタンパク質やポリマーとジスルフィド結合で架橋可能である。

【リゾチーム架橋体の作製】（反応A及び反応B）

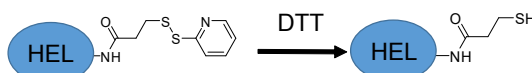
① SPDP修飾タンパク質及びHMCS修飾タンパク質の調製

1. 鶏卵由来リゾチーム (HEL, 100 mg, 7 μmol) をPBS (10 ml) に溶解し、dimethylsulfoxide (50 μl) に溶解したSPDP (2.2 mg, 7 μmol) と混合して、1時間室温で反応する。(SPDP-HEL)
2. マウスリゾチーム (ML, 80 mg) をPBS (10 ml) に溶解し、dimethylsulfoxide (50 μl) に溶解したHMCS (2.8 mg, 8.3 μmol) と混合して、1時間室温で反応する。(HMCS-ML)
3. 上記1、2で調製されたSPDP-HEL及びHMCS-MLをカチオン交換樹脂により、精製する。



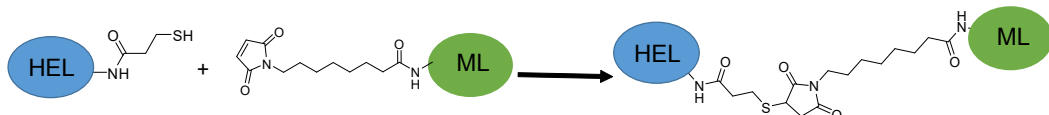
② Aの方法: SPDP修飾部位のチオール化

1. SPDP-HELのSPDP部分をフリーのチオール基に変換するために、10 mmol/l EDTAを含むPBS (500 μl) にSPDP-HEL (2 mg, 140 nmol) を溶解し、10倍モル量のdithiothreitol (DTT, 1.4 μmol) を加えて30分間室温で還元反応を行う。
2. ゲルろ過カラムを用いて、DTTを除去し、還元されたSPDP-HELを精製する。

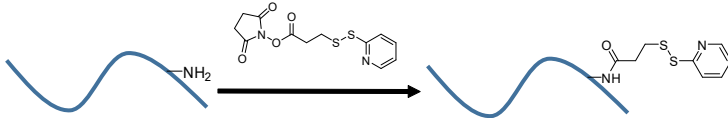


③ Bの方法: タンパク質架橋体の作製

1. 還元されたSPDP-HELにHMCS-ML (2 mg) を加え、室温で終夜反応する。
2. HEL-MLの結合体をカチオン交換樹脂により精製する。

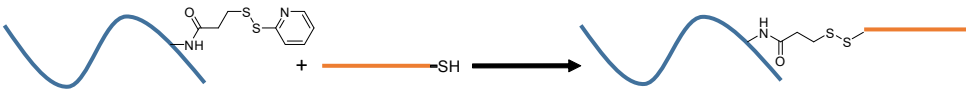


## 【オレイル化ポリマーの合成】(反応 C)



### ①ジスルフィド基を有するポリマーの調製)

1. ポリエチレンイミン (20 mg, 0.8  $\mu\text{mol}$ ) を ethanol (1 ml) に溶解する。
2. SPDP 溶液 (62  $\mu\text{l}$ , 320  $\mu\text{mol/l}$ ) を攪拌中のポリマー溶液に加え、4 時間室温で攪拌する。



### ②オレイル化ポリマーの作製)

1. 上記溶液にチオール基を有する脂質溶液を滴下し、滴下終了後 4 時間攪拌する。
2. 反応液を窒素下で乾燥させ、最終物を得る。

## 参考文献

### 【小社の SPDP 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。

反応	生成物	SPDP 反応対象物	架橋対象物	文献番号
A	チオール基を有するポリマー	アミンを有するポリマー	-	1), 2)
B	タンパク質 - タンパク質	鶏卵由来リゾチーム	マウスリゾチーム	3)
C	脂質を架橋したポリマー	アミンを有するポリマー	チオール基を有する脂質	4)

- 1) M. Oba *et al.*, *Pharmaceutics*, **2008**, 5(6), 1080.
- 2) Y. Vachutinsky *et al.*, *J. Control. Release*, **2011**, 149(1), 51.
- 3) Y. Tsujihata *et al.*, *J. Immunol.*, **2000**, 165(7), 3606.
- 4) S. Yang *et al.*, *Int. J. Pharm.*, **2015**, 484(1-2) 30, 44.

## FAQ

Q: 有機溶媒を使わずに反応は可能ですか？

A: 水溶性の Sulfo-AC<sub>5</sub>-SPDP をご使用ください。

Q: SPDP の使用条件を教えてください。

A: 活性エステルとターゲット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。

Q: SPDP の溶解可能な有機溶媒はありますか？

A: acetonitrile、dimethylsulfoxide、N-methylpyrrolidone、ethanol に溶解できます。

## 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](http://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。

### 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](mailto:info@dojindo.co.jp) URL: [www.dojindo.co.jp](http://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