

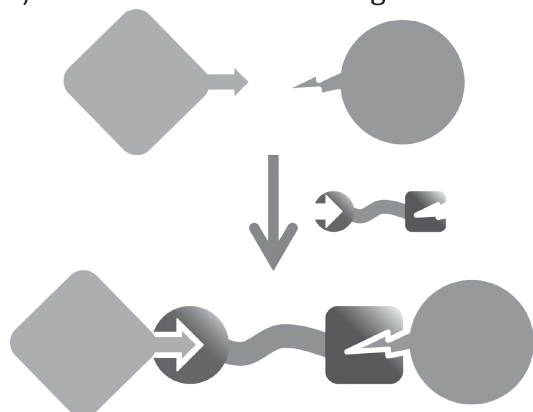
## 9 二価性試薬

二価性試薬は2つの官能基を有する試薬で、免疫アッセイやタンパク質研究などで広く利用される。同仁化学ではスペーサー鎖長や官能基の異なる種々の二価性試薬を取り揃えているので、用途に合わせ選択頂きたい。

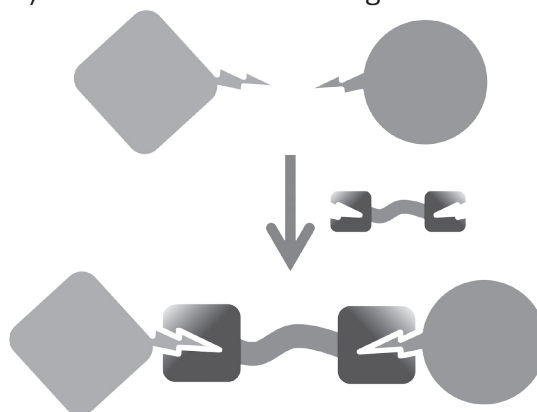
Hetero-bifunctional Reagents は、1級アミノ基と反応する NHS エステル (OSu) 基と、チオール (SH 基) と反応するマレイミド基を有する試薬群で、Fab' のような SH 基を有するタンパク質に POD や ALP などの酵素を結合する場合などに利用できる。

Homo-bifunctional Reagents は、2つの NHS エステルを有する試薬群である。近接した2つのタンパク質を結合したり、アミノ基を有する化合物をアミノ基反応性にする際などに活用できる。

a) Hetero-bifunctional Reagents



b) Homo-bifunctional Reagents



## 9-1 Hetero-bifunctional Reagents

EMCS	190
GMBS	191
HMCS	192
KMUS	192
Sulfo-EMCS	193
Sulfo-GMBS	193
Sulfo-HMCS	193
Sulfo-KMUS	193
Sulfo-SMCC	194

## 9-2 Homo-bifunctional Reagents

BS3	195
DSP	195
DTSSP	196
Dithiobis(succinimidyl undecanoate)	197
Dithiobis(succinimidyl octanoate)	197
Dithiobis(succinimidyl hexanoate)	197

## 9-3 その他

BABE	198
FeBABE	198
Aminobenzyl-EDTA	200
Isothiocyanobenzyl-EDTA	200
AB-NTA free acid	201
Maleimido-C <sub>3</sub> -NTA	202
Isothiocyanobenzyl-NTA	203
Dithiobis(C <sub>2</sub> -NTA)	203
Sulfo-AC <sub>5</sub> -SPDP	204
SPDP	205

## 9-1 Hetero-bifunctional Reagents

## EMCS

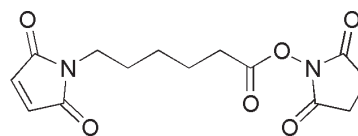
*N*-(6-Maleimidocaproyloxy)succinimide  
[CAS No. 55750-63-5]

同仁品コード：E018  
50 mg ￥10,400 344-05051  
100 mg ￥17,600 340-05053

**Protocol:** 「抗体に標識したい (架橋剤)」

<b>規格</b>	(1) 性状：白色～微黄白色粉末 (2) 純度 (HPLC)：90.0% 以上 (3) ジメチルホルムアミド溶状：試験適合 (4) 融点：63℃ 以上 (5) IR スペクトル：試験適合 (6) NMR スペクトル：試験適合
<b>溶解例</b>	200 mg/ml (ジメチルホルムアミド)
<b>取扱注意</b>	1. 保存方法：冷蔵

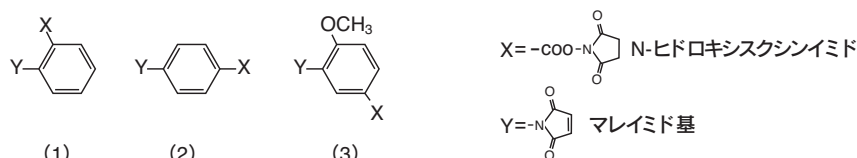
構造式


 $C_{14}H_{16}N_2O_6=308.29$ 

**性質** EMCS 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。次表に

示すように、芳香族系のマレイミド架橋試薬 (R=(1),(2),(3)) が中性から弱アルカリ性で不安定であるのに対し、EMCS, GMBS などの脂肪族系の架橋剤は広い pH 領域で安定である。

\* 使用方法はプロトコルをご覧ください。



マレイミド基の分解率 (%)

化合物	pH5.0	pH6.0	pH7.0	pH7.5	pH8.0
(1)	3.1	6.2	21.4	18.8	69.0
(2)	3.8	6.6	32.0	37.5	52.0
(3)	3.0	0.7	2.0	8.3	41.0
EMCS	5.3	3.0	4.5	5.0	8.4

最新の情報は web へ [同仁化学 E018](#) で検索

## 参考文献

- S. Yoshitake, Y. Yamada, E. Ishikawa and R. Masseyeff, "Conjugation of Glucose Oxidase from *Aspergillus Niger* and Rabbit Antibodies Using *N*-Hydroxysuccinimide Ester of *N*-(4-Carboxycyclohexylmethyl)-Maleimide", *Eur. J. Biochem.*, 1979, 101, 395.
- T. Kitagawa, T. Shimozone, T. Aikawa, T. Yoshida and H. Nishimura, "Preparation and Characterization of Hetero-bifunctional Cross-linking Reagents for Protein Modifications", *Chem. Pharm. Bull.*, 1981, 29, 1130.
- S. Yoshitake, M. Imagawa, E. Ishikawa, Y. Niitsu, I. Urushizaki, M. Nishimura, R. Kanazawa, H. Kurosaki, S. Tachibana, N. Nakazawa and H. Ogawa, "Mild and Efficient Conjugation of Rabbit Fab' and Horseradish Peroxidase Using a Maleimide Compound and Its Use for Enzyme Immunoassay", *J. Biochem.*, 1982, 92, 1413.
- E. Ishikawa, M. Imagawa, S. Hashida, S. Yoshitake, Y. Hamaguchi and T. Ueno, "Enzyme-Labeling of Antibodies and Their Fragments for Enzyme Immunoassay and Immunohistochemical Staining", *J. Immunol.*, 1983, 4, 209.
- 石川榮治, "エンザイムイムノアッセイ", *Dojin news*, 1983, 28, 1.
- 北川常廣, "蛋白質の選択的な化学修飾法における最近の進歩", *有機合成化学*, 1984, 42, 283.
- S. Hashida, M. Imagawa, S. Inoue, K. Ruan and E. Ishikawa, "More Useful Maleimide Compounds for the Conjugation of Fab' to Horseradish Peroxidase through Thiol Groups in the Hinge", *J. Appl. Biochem.*, 1984, 6, 56.
- S. Inoue, M. Imagawa, S. Hashida, K. Ruan and E. Ishikawa, "A Small Scale Preparation of Affinity-Purified Rabbit Fab'-Horseradish Peroxidase Conjugate for Enzyme Immunoassay", *Anal. Lett.*, 1984, 17, 229.
- M. Koizumi, K. Endo, M. Kunimatsu, H. Sakahara, T. Nakashima, Y. Kawamura, Y. Watanabe, T. Saga, J. Konishi, T. Yamamura, S. Hosoi, S. Toyama, Y. Arano and A. Yokoyama, "Ga-Labeled Antibodies for Immunoscintigraphy and Evaluation of Tumor Targeting of Drug-Antibody Conjugates in Mice", *Cancer Res.*, 1988, 48, 1189.
- T. Kohno and E. Ishikawa, "Novel Enzyme Immunoassay (Immune Complex Transfer Enzyme Immunoassay) for Anti-insulin IgG in Guinea Pig Serum", *Anal. Lett.*, 1988, 21, 1019.

目的化合物に応じた最適なタンパク質架橋剤と取扱い方法を一覽で解説しております。

架橋剤ガイド 同仁 検索

## GMBS

*N*-(4-Maleimidobutyryloxy)succinimide  
〔CAS No. 80307-12-6〕

**Protocol:** 「抗体に標識したい(架橋剤)」

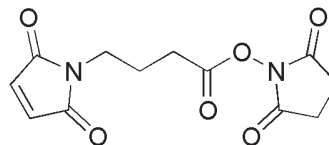
同仁品コード: G005  
50 mg ¥10,400 347-05041  
100 mg ¥17,600 343-05043

**規格** (1) 性状: 白色粉末  
(2) 純度 (HPLC): 95.0%以上  
(3) クロロホルム溶状: 試験適合  
(4) ジメチルホルムアミド溶状: 試験適合  
(5) 融点: 124 ~ 132°C  
(6) IR スペクトル: 試験適合  
(7) NMR スペクトル: 試験適合

**溶解例** 50 mg/5 ml (クロロホルム)、  
50 mg/5 ml (ジメチルホルムアミド)

**取扱注意** 1. 保存方法: 冷蔵

## 構造式



C<sub>12</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>=280.23

**性質** GMBS は二官能性の架橋試薬である。ハプテンと担体タンパク質 (BSA など) との結合反応や、酵素標識体を調製する際に利用される。構造はマレイミド、ヒドロキシスクシンイミジルエステル型で、アミノ基に対しては活性エステルであるヒドロキシスクシンイミジルエステル基が反応し、SH 基とはマレイミド基が選択的に反応する。

薬剤検出用の抗血清を得るために、抗がん剤を BSA に結

合するためにも GMBS が用いられている。ネオカルチノスタチン (NCS) を GMBS で  $\beta$ -D-ガラクトシダーゼで標識し、 $10^{-15}$  mol レベルの血清中 NCS のモニタリングを可能としている。ドラッグキャリアーとしてのリポソームに標的指向性を持たせるために、GMBS によるモノクローナル抗体の結合も試みられている。

\* 使用方法はプロトコルをご覧ください。

最新の情報は web へ  で検索

## 参考文献

- 1) S. Yoshitake, Y. Yamada, E. Ishikawa and Rene Masseyeff, "Conjugation of Glucose Oxidase from *Aspergillus Niger* and Rabbit Antibodies Using *N*-Hydroxysuccinimide Ester of *N*-(4-Carboxycyclohexylmethyl)-Maleimide", *Eur. J. Biochem.*, 1979, 101, 395.
- 2) H. Tanimori, T. Kitagawa, T. Tsunoda and R. Tsuchiya, "Enzyme Immunoassay of Neocarzinostatin Using  $\beta$ -Galactosidase as Label", *J. Pharm. Dyn.*, 1981, 4, 812.
- 3) K. Fujiwara, M. Yasuno and T. Kitagawa, "Novel Preparation Method of Immunogen for Hydrophobic Hapten, Enzyme Immunoassay for Daunomycin and Adriamycin", *J. Immunol. Methods*, 1981, 45, 195.
- 4) T. Miura, H. Kouno and T. Kitagawa, "Detection of Residual Penicillin in Milk by Sensitive Enzyme Immunoassay", *J. Pharm. Dyn.*, 1981, 4, 706.
- 5) S. Yoshitake, M. Imagawa, E. Ishikawa, Y. Niitsu, I. Urushizaki, M. Nishiura, R. Kanazawa and H. Ogawa, "Mild and Efficient Conjugation of Rabbit Fab' and Horseradish Peroxidase Using a Maleimide Compound and Its Use for Enzyme Immunoassay", *J. Biochem.*, 1982, 92, 1413.
- 6) T. Kitagawa, H. Tanimori, K. Yoshida, H. Asada, T. Miura and K. Fujiwara, "Studies on Viomycin. XV. Comparative Study on the Specificities of Two Anti-viomycin Antisera by Enzyme Immunoassay", *Chem. Pharm. Bull.*, 1982, 30, 2487.
- 7) T. Kitagawa, T. Kawasaki and H. Munechika, "Enzyme Immunoassay of Blasticidin S with High Sensitivity: A New and Convenient Method for Preparation of Immunogenic (Hapten-Protein) Conjugates", *J. Biochem.*, 1982, 92, 585.
- 8) 北川常廣, "酵素免疫測定法の開発と応用", 臨床病理, 1982, 30, 377.
- 9) 北川常廣, "選択的な蛋白の修飾法と応用", ファルマシア, 1983, 19, 781.
- 10) 北川常廣, "蛋白質の選択的な化学修飾法における最近の進歩", 有機合成化学, 1984, 42, 283.
- 11) J. Sunamoto, T. Sato, M. Hirota, K. Fukushima, K. Hiratani and K. Hara, "A Newly Developed Immunoliposome - an Egg Phosphatidylcholine Liposome Coated with Pullulan Bearing Both a Cholesterol Moiety and an IgMs Fragment", *Biochim. Biophys. Acta*, 1987, 898, 323.
- 12) K. Fujiwara, N. Matsumoto, S. Yagisawa, H. Tanimori, T. Kitagawa, M. Hirota, K. Hiratani, K. Fukushima, A. Tomonaga, K. Hara and K. Yamamoto, "Sandwich Enzyme Immunoassay of Tumor-associated Antigens Using  $\beta$ -D-Galactosidase-coupled to a Monoclonal Antibody of IgM Isotype", *J. Immunol. Methods*, 1988, 112, 77.

目的化合物に応じた最適なタンパク質架橋剤と取扱い方法を一覽で解説しております。

## HMCS

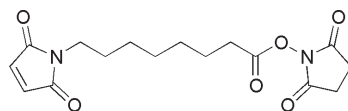
*N*-(8-Maleimidocapryloxy)succinimide  
〔CAS No. 87981-03-1〕

**Protocol:** 「抗体に標識したい(架橋剤)」

同仁品コード：H257  
50 mg ￥18,600 342-06191

- 規格** (1) 性状：白色粉末又は結晶性粉末  
(2) 純度 (HPLC)：90.0%以上  
(3) IR スペクトル：試験適合  
(4) NMR スペクトル：試験適合
- 溶解例** 20 mg/ml (アセトニトリル)
- 取扱注意** 1. 保存方法：冷蔵

構造式


 $C_{16}H_{20}N_2O_6=336.34$ 

## KMUS

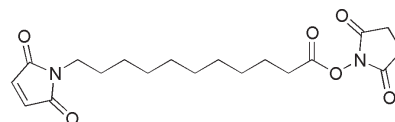
*N*-(11-Maleimidoundecanoyloxy)succinimide  
〔CAS No. 87981-04-2〕

**Protocol:** 「抗体に標識したい(架橋剤)」

同仁品コード：K214  
50 mg ￥18,600 345-06201

- 規格** (1) 性状：白色粉末又は結晶性粉末  
(2) 純度 (HPLC)：90.0%以上  
(3) IR スペクトル：試験適合  
(4) NMR スペクトル：試験適合
- 溶解例** 20 mg/ml (アセトニトリル)、  
20 mg/3 ml (メチルアルコール)
- 取扱注意** 1. 保存方法：冷蔵

構造式


 $C_{19}H_{26}N_2O_6=378.42$ 

**性質** 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。

最新の情報は web へ  で検索

目的化合物に応じた最適なタンパク質架橋剤と取扱い方法を一覧で解説しております。

[架橋剤ガイド](#) [同仁](#) [検索](#)

細胞増殖/毒性  
酸化ストレス  
分子生物学  
細胞内蛍光プローブ  
細胞染色  
細菌研究用試薬  
膜タンパク質ラベル  
化学剤  
二価性試薬  
酸化還元イオン電極  
シンチレーター  
生化学用緩衝剤  
キレート  
比色/金属試薬  
水質分析用溶媒抽出  
高純度溶媒  
その他  
機能性有機材料

## Sulfo-EMCS

*N*-(6-Maleimidocaproyloxy)sulfosuccinimide, sodium salt  
〔CAS No. 103848-61-9(free acid)〕

Protocol: 「抗体に標識したい(架橋剤)」

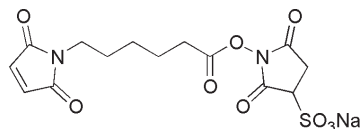
同仁品コード: S024  
50 mg ¥32,600 340-06011

**規格** (1) 性状: 白色~微黄桃色粉末  
(2) 純度 (HPLC): 90.0% 以上  
(3) 水溶状: 試験適合  
(4) IR スペクトル: 試験適合  
(5) NMR スペクトル: 試験適合

**溶解例** 20 mg/ml (水)

**取扱注意** 1. 保存方法: 冷蔵

構造式

C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>9</sub>S=410.33

## Sulfo-GMBS

*N*-(4-Maleimidobutyryloxy)sulfosuccinimide, sodium salt  
〔CAS No. 185332-92-7〕

Protocol: 「抗体に標識したい(架橋剤)」

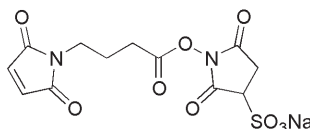
同仁品コード: S025  
50 mg ¥32,600 347-06021

**規格** (1) 性状: 白色~微黄桃色粉末  
(2) 純度 (HPLC): 90.0% 以上  
(3) 水溶状: 試験適合  
(4) IR スペクトル: 試験適合  
(5) NMR スペクトル: 試験適合

**溶解例** 20 mg/ml (水)

**取扱注意** 1. 保存方法: 冷蔵

構造式

C<sub>12</sub>H<sub>11</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>9</sub>S=382.28

## Sulfo-HMCS

*N*-(8-Maleimidocapryloxy)sulfosuccinimide, sodium salt  
〔CAS No. 211236-35-0〕

Protocol: 「抗体に標識したい(架橋剤)」

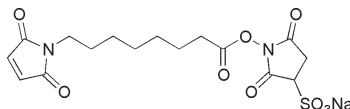
同仁品コード: S026  
50 mg ¥34,600 341-06041

**規格** (1) 性状: 白色~微黄桃色粉末  
(2) 純度 (HPLC): 90.0% 以上  
(3) 水溶状: 試験適合  
(4) IR スペクトル: 試験適合

**溶解例** 20 mg/ml (水)

**取扱注意** 1. 保存方法: 冷蔵

構造式

C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>9</sub>S=438.39

## Sulfo-KMUS

*N*-(11-Maleimidoundecanoyloxy)sulfosuccinimide, sodium salt  
〔CAS No. 211236-68-9〕

Protocol: 「抗体に標識したい(架橋剤)」

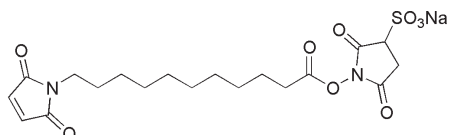
同仁品コード: S250  
50 mg ¥34,600 342-06211

**規格** (1) 性状: 白色~微黄桃色粉末  
(2) 純度 (HPLC): 90.0% 以上  
(3) 水溶状: 試験適合  
(4) IR スペクトル: 試験適合  
(5) NMR スペクトル: 試験適合

**溶解例** 1 mg/ml (水)

**取扱注意** 1. 保存方法: 冷蔵

構造式

C<sub>19</sub>H<sub>25</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>9</sub>S=480.47

参考文献

最新の情報は webへ  で検索

- 1) J. V. Staros, "N-Hydroxysulfosuccinimide Active Esters: Bis(N-hydroxysulfosuccinimide) Esters of Two Dicarboxylic acids Are Hydrophilic, Membrane-impermeant, Protein Cross-linkers", *Biochemistry*, 1982, 21, 3950.
- 2) P. S. R. Anjaneyulu and James V. Staros, "Reactions of N-Hydroxysulfosuccinimide Active Esters", *Int. J. Peptide Protein Res.*, 1987, 30, 117.
- 3) Y. Fukami, K. Sato, K. Ikeda, K. Kamisango, K. Koizumi and T. Matsuno, "Evidence for Autoinhibitory Regulation of the c-src Gene Product a Possible Interaction Between the Src Homology 2 Domain and Autophosphorylation Site", *J. Biol. Chem.*, 1993, 268, 1132.

目的化合物に応じた最適なタンパク質架橋剤と取扱い方法を一通り解説しております。

架橋剤ガイド 同仁 検索

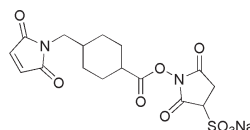
## Sulfo-SMCC

*N*-[(4-Maleimidomethyl)cyclohexylcarbonyloxy]sulfosuccinimide, sodium salt  
〔CAS No. 92921-24-9〕

同仁品コード：S330  
50 mg ￥27,600 349-09141

- 規格** (1) 性状：白色～殆ど白色粉末  
(2) 純度 (HPLC)：90.0% 以上  
(3) 水溶状：試験適合
- 溶解例** 10 mg/ml (水)
- 取扱注意** 1. 保存方法：冷凍 2. 吸湿注意

## 構造式



$C_{16}H_{17}N_2NaO_5S=436.37$

**性質** Sulfo-SMCC は、分子の両端に反応性が異なる *N*-ヒドロキシスクシンイミド活性エステルとマレイミド基を導入した二価性試薬である。マレイミド基は SH 基、*N*-ヒドロキシスクシンイミド活性エステルはアミノ基と特異的に反応する。活性エステル基は、中性以上の pH でアミノ基と効率よく反応し、アミノ基と安定なアミド結合を形成する。一方、マレイミド基は、アルカリ性条件下では、中性に比べてアミノ基とも反応性するため、pH6-7 の条件下で

チオール基に対して選択的に反応することができる。また、リンカー部位にシクロヘキサン構造を有する Sulfo-SMCC は、リンカー部位に芳香環を有する同種の架橋剤と比較して、マレイミド基の安定性が増すという特徴を持つ。更に、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。

## 参考文献

- 1) 酵素免疫測定法 (第 2 版), 石川榮治, 河合忠, 宮井潔, 医学書院, 1978
- 2) S. Hashida, M. Imagawa, S. Inoue, K.-H. Ruan and E. Ishikawa, "More Useful Maleimide Compounds for the Conjugation of Fab' to Horseradish Peroxidase Through Thiol Groups in the Hinge", *J. Appl. Biochem.*, 1984, 6, 56.
- 3) O. Prat, E. Lopez and G. Mathis, "Europium(III) Cryptate: A Fluorescent Label for the Detection of DNA Hybrids on Solid Support", *Anal. Biochem.*, 1991, 195(2), 283.
- 4) O. Siiman, A. Burshteyn, J. A. Maples and J. K. Whitesell, "Tris(3-mercaptopropyl)-*N*-glycylaminomethane as a New Linker to Bridge Antibody with Metal Particles for Biological Cell Separations", *Bioconjugate Chem.*, 2000, 11(4), 549.
- 5) T. P. Thomas, A. K. Patri, A. Myc, M. T. Myaing, J. Y. Ye, T. B. Norris and J. R. Baker Jr., "In Vitro Targeting of Synthesized Antibody-conjugated Dendrimer Nanoparticles", *Biomacromolecules*, 2004, 5(6), 2269.
- 6) V. Gauvreau, G. Laroche, "Micropattern Printing of Adhesion, Spreading, and Migration Peptides on Poly(tetrafluoroethylene) Films to Promote Endothelialization", *Bioconjugate Chem.*, 2005, 16(5), 1088.

最新の情報は web へ  で検索

目的化合物に応じた最適なタンパク質架橋剤と取扱い方法を一覧で解説しております。

[架橋剤ガイド](#) [同仁](#) [検索](#)

細胞増殖/毒性
酸化ストレス
分子生物学
細胞内蛍光プローブ
細胞染色
細菌研究用試薬
膜タンパク質
ラベル化剤
二価性試薬
酸化還元
イオン電極
シンチレーター
生化学用緩衝剤
キレート
比色/金属
試薬
水質分析用
溶媒抽出
高純度溶媒
その他
機能性有機材料

## 9-2 Homo-bifunctional Reagents

## BS3

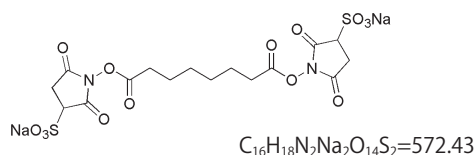
Bis(sulfosuccinimidyl)suberate, disodium salt  
〔CAS No. 82436-77-9(free acid)〕同仁品コード：B574  
50 mg ¥17,000 348-09111

**規格** (1) 性状：白色～殆ど白色粉末  
(2) 純度 (HPLC)：93.0% 以上  
(3) 水溶液：試験適合

**溶解例** 10 mg/ml(水)

**取扱注意** 1. 保存方法：冷蔵 2. 吸湿注意

## 構造式



**性質** 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

部位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位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 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。

最新の情報は web へ [同仁化学 B574](#) で検索

## 参考文献

- 1) J. V. Staros, "N-Hydroxysulfosuccinimide Active Ester: Bis(N-hydroxysulfosuccinimide) Ester of Two Dicarboxylic Acids Are Hydrophilic, Membrane-impermeant, Protein Cross-Linkers", *Biochemistry*, 1982, 21, 3950.
- 2) J. M. Salhany, R. L. Sloan and K. A. Cordes, "In Situ Cross-linking of Human Erythrocyte Band 3 by Bis(sulfosuccinimidyl)suberate", *J. Biol. Chem.*, 1990, 265(29), 17688.
- 3) J. E. Gestwicki, C. W. Cairo, L. E. Strong, K. A. Oetjen and L. L. Kiessling, "Influencing Receptor-Ligand Binding Mechanisms with Multivalent Ligand Architecture", *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, 124, 14922.
- 4) S. S. Mark, N. Sandhyarani, C. Zhu, C. Campagnolo and C. A. Batt, "Dendrimer-functionalized Self-assembled Monolayers as a Surface Plasmon Resonance Sensor Surface", *Langmuir*, 2004, 20, 6808.

## DSP

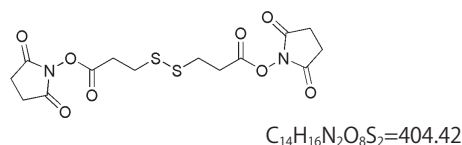
Dithiobis(succinimidyl propionate)  
〔CAS No. 57757-57-0〕同仁品コード：D629  
1 g ¥30,400 345-09121

**規格** (1) 性状：白色～殆ど白色粉末  
(2) 純度 (HPLC)：95.0% 以上  
(3) ジメチルホルムアミド溶液：試験適合

**溶解例** 10 mg/ml (ジメチルスルホキシド),  
10 mg/ml (ジメチルホルムアミド)

**取扱注意** 1. 保存方法：冷蔵 2. 吸湿注意

## 構造式



**性質** 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

部位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位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 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。

最新の情報は web へ [同仁化学 D629](#) で検索

## 参考文献

- 1) P. F. Pilch and M. P. Czech, "Interaction of Cross-linking Agents with the Insulin Effector System of Isolated Fat Cells", *J. Biol. Chem.*, 1979, 254(9), 3375.
- 2) M. A. Gosselin, W. Guo and R. J. Lee, "Efficient Gene Transfer Using Reversibly Cross-linked Low Molecular Weight Polyethylenimine", *Bioconjugate Chem.*, 2001, 12, 989.
- 3) M. A. Gosselin, W. Guo and R. J. Lee, "Incorporation of Reversibly Cross-linked Polyplexes into LPDII Vectors for Gene Delivery", *Bioconjugate Chem.*, 2002, 13, 1044.
- 4) P.-Y. Zeng, C. R. Vakoc, Z.-C. Chen, G. A. Blobel and S. L. Berger, "In vivo dual Cross-linking for Identification of Indirect DNA-Associated Proteins by Chromatin Immunoprecipitation", *BioTechniques*, 2006, 41(6), 694.
- 5) S. Santra, C. Kaittanis, O. J. Santiesteban and J. M. Perez, "Cell-Specific, Activatable, and Theranostic Prodrug for Dual-Targeted Cancer Imaging and Therapy", *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, 133, 16680.

目的化合物に応じた最適なタンパク質架橋剤と取扱方法を一覽で解説しております。

架橋剤ガイド [同仁](#) 検索

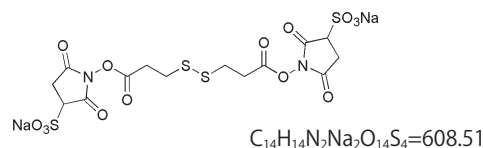
## DTSSP

Dithiobis(sulfosuccinimidyl propionate), disodium salt  
〔CAS No. 81069-02-5(free acid)〕

同仁品コード：D630  
50 mg ￥18,000 342-09131

**規格** (1) 性状：白色～殆ど白色粉末  
(2) 純度 (HPLC)：80.0% 以上  
(3) 水溶状：試験適合  
**溶解例** 10 mg/ml(水)  
**取扱注意** 1. 保存方法：冷蔵 2. 吸湿注意

構造式



**性質** 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

部位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位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 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。

## 参考文献

- 1) J. V. Staros, "N-Hydroxysulfosuccinimide Active Ester: Bis(N-hydroxysulfosuccinimide) Ester of Two Dicarboxylic Acids Are Hydrophilic, Membrane-impermeant, Protein Cross-Linkers", *Biochemistry*, 1982, 21, 3950.
- 2) S. M. Jung and M. Moroi, "Crosslinking of Platelet Glycoprotein Ib by N-Succinimidyl(4-azidophenylthio)propionate and 3,3'-Dithiobis(sulfosuccinimidyl propionate)", *Biochim. Biophys. Acta*, 1983, 761, 152.
- 3) C. L. Swaim, J. B. Smith and D. L. Smith, "Unexpected Products From the Reaction of the Synthetic Cross-linker 3,3'-Dithiobis(sulfosuccinimidyl propionate), DTSSP with Peptides", *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 2004, 15, 736.
- 4) P. Kao, S. Doerner, T. Schneider, D. Allara, P. Hauptmann and S. Tadiadapa, "A Micromachined Quartz Resonator Array for Biosensing Applications", *J. Microelectromech. Syst.*, 2009, 18(3), 522.
- 5) G. J. King, A. Jones, B. Kobe, T. Huber, D. Mouradov, D. A. Hume and I. L. Ross, "Identification of Disulfide-containing Chemical Cross-links in Proteins Using MALDI-TOF/TOF-Mass Spectrometry", *Anal. Chem.*, 2008, 80, 5036.

最新の情報は web へ  で検索

目的化合物に応じた最適なタンパク質架橋剤と取扱い方法を一覧で解説しております。

細胞  
増殖/毒性  
酸化  
ストレス  
分子  
生物学  
細胞内  
蛍光プローブ  
細胞  
染色  
細菌研究用  
試薬  
膜タン  
パク質  
ラベル  
化剤  
二価性  
試薬  
酸化  
還元  
イオン  
電極  
シンチ  
レーター  
生化学用  
緩衝剤  
キレート  
比色/金属  
試薬  
水質  
分析用  
溶媒  
抽出  
高純度  
溶媒  
その他  
機能性  
有機材料

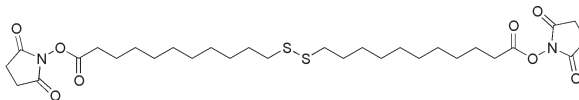


## Dithiobis(succinimidyl undecanoate)

Dithiobis(succinimidyl undecanoate)  
〔CAS No. 147072-47-7〕同仁品コード：D537  
10 mg ￥15,200  
50 mg ￥46,200

- 規格** (1) 性状：白色粉末  
(2) 純度 (HPLC)：90.0% 以上  
(3) NMR スペクトル：試験適合
- 溶解例** 10 mmol/l 以上 (Chloroform, Dichloromethane, Tetrahydrofuran, Acetonitrile, Ethyl acetate, Dimethyl sulfoxide, Dimethyl formamide)
- 取扱注意** 1. 保存方法：冷蔵 2. 窒素置換，吸湿注意

構造式

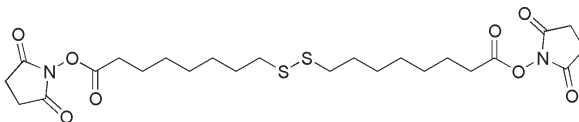
C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>S<sub>2</sub>=628.84

## Dithiobis(succinimidyl octanoate)

Dithiobis(succinimidyl octanoate)  
〔CAS No. 1083285-39-5〕同仁品コード：D538  
10 mg ￥15,200  
50 mg request

- 規格** (1) 性状：白色粉末  
(2) 純度 (HPLC)：90.0% 以上  
(3) NMR スペクトル：試験適合
- 溶解例** 10 mmol/l 以上 (Chloroform, Dichloromethane, Tetrahydrofuran, Acetonitrile, Ethyl acetate, Dimethyl sulfoxide, Dimethyl formamide)
- 取扱注意** 1. 保存方法：冷蔵 2. 窒素置換，吸湿注意

構造式

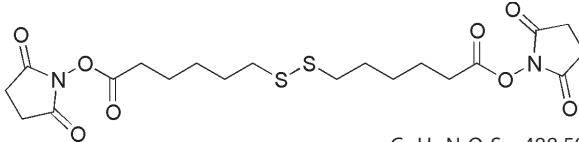
C<sub>24</sub>H<sub>36</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>S<sub>2</sub>=544.68

## Dithiobis(succinimidyl hexanoate)

Dithiobis(succinimidyl hexanoate)  
〔CAS No. 1083285-37-3〕同仁品コード：D539  
10 mg ￥15,200  
50 mg request

- 規格** (1) 性状：白色粉末  
(2) 純度 (HPLC)：90.0% 以上  
(3) NMR スペクトル：試験適合
- 溶解例** 10 mmol/l 以上 (Chloroform, Dichloromethane, Tetrahydrofuran, Acetonitrile, Ethyl acetate, Dimethyl sulfoxide, Dimethyl formamide)
- 取扱注意** 1. 保存方法：冷蔵 2. 窒素置換，吸湿注意

構造式

C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>S<sub>2</sub>=488.58最新の情報は web へ  

目的化合物に応じた最適なタンパク質架橋剤と取扱い方法を一覧で解説しております。

## 9-3 その他

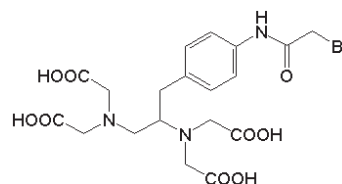
## BABE

1-(*p*-Bromoacetamidobenzyl)ethylenediamine-*N,N,N',N'*-tetraacetic acid  
[ CAS No. 84256-91-7 ]

同仁品コード：B437  
Request

溶解例 緩衝溶液、DMSO に可溶  
取扱注意 1. 保存方法：冷凍 2. 吸湿注意

構造式


 $C_{19}H_{24}BrN_3O_9=518.31$ 

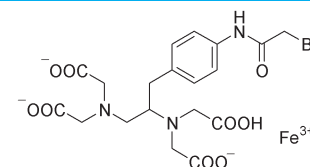
## FeBABE

1-(*p*-Bromoacetamidobenzyl)ethylenediamine-*N,N,N',N'*-tetraacetic acid, iron(III)  
[ CAS No. 186136-50-5 ]

同仁品コード：F279  
1 mg ¥ 15,600

規格 (1) 性状：黄褐色粉末  
(2) 純度 (HPLC)：95.0% 以上  
(3) 水溶状：試験適合  
溶解例 緩衝溶液、DMSO に可溶  
取扱注意 1. 安衛法 2. 保存方法：冷凍 3. 吸湿注意

構造式


 $C_{19}H_{21}BrFeN_3O_9=571.13$ 

**性質** EDTA は Fe イオンと結合すると、還元条件下でラジカルを発生し生体高分子を切断する性質をもっている。DNA 結合タンパク質の DNA 上の結合部位を、FeEDTA による切断抵抗性領域として同定する「DNA フットプリンティング法」、タンパク質複合体中で表面に露出した部分を切断感受性領域として調べる「プロテインフットプリンティング法」は、生命科学では広く利用されている。FeEDTA のこの反応性を利用し、タンパク質の特定部位に FeEDTA を結合し、その周辺の接触する核酸やタンパク質を同定し、また接触点を同定する目的で、BABE が生命科学研究に広く利用されるようになってきた。

BABE は、当初、金属を生体物質に結合させる架橋試薬として開発され、EDTA 部分に放射性  $^{111}\text{In}^{3+}$  を結合させ、抗腫瘍性抗生物質であるブレオマイシン A2 の末端に結合し、その集積でマウスの腫瘍部位を同定するなどの、薬理的・臨床的な利用が計られてきた<sup>1)</sup>。Fe イオンを結合した BABE (FeBABE) がタンパク質のペプチド結合と核酸ホスホジエステル結合の両方を選択的に、しかしアミノ酸配列・ヌクレオチド配列に関係なく、非特異的に切断する活性が注目され<sup>2, 3)</sup>、その有用性が認められたことで効率的合成法が開発された<sup>4)</sup>。

タンパク質結合性の EDTA 化合物は一般に Meares 試薬と呼ばれる。BABE は bromoacetamido 基によって、タンパク質のシステイン残基の SH 基と温和な条件で反応する。タンパク質の天然のシステイン残基あるいは遺伝子工学的な手法によって導入したシステイン残基に FeBABE を結合し、アスコルビン酸と過酸化水素を加えると活性ラジカルが発生し、ラジカル飛程距離内の核酸やタンパク質の主鎖の切断が起きる。この切断反応は秒単位で進行するので、反応は 10 秒から 10 分程度の短時間で良い。FeBABE の分子構造から推定して、タンパク質システイン残基から 1.2 nm の

位置に Fe イオンが配置されるので、開裂するのはその周辺に限られる。切断箇所をヌクレオチド配列やアミノ酸配列から解析することで、接触していた相手物質とその分子上の接触点を同定することが出来る。従って、タンパク質非結合型の切断試薬では得られない、タンパク質の三次元構造に関する情報までも得ることが出来る。核酸の切断に関してはヒドロキシルラジカルを介した酸化的な反応によるものと考えられているが<sup>5)</sup>、ペプチド結合切断の機構としてはそれ以上に、鉄に配位したペルオキシ中間体によるカルボニル炭素の求核攻撃説が提唱されている<sup>3)</sup>。

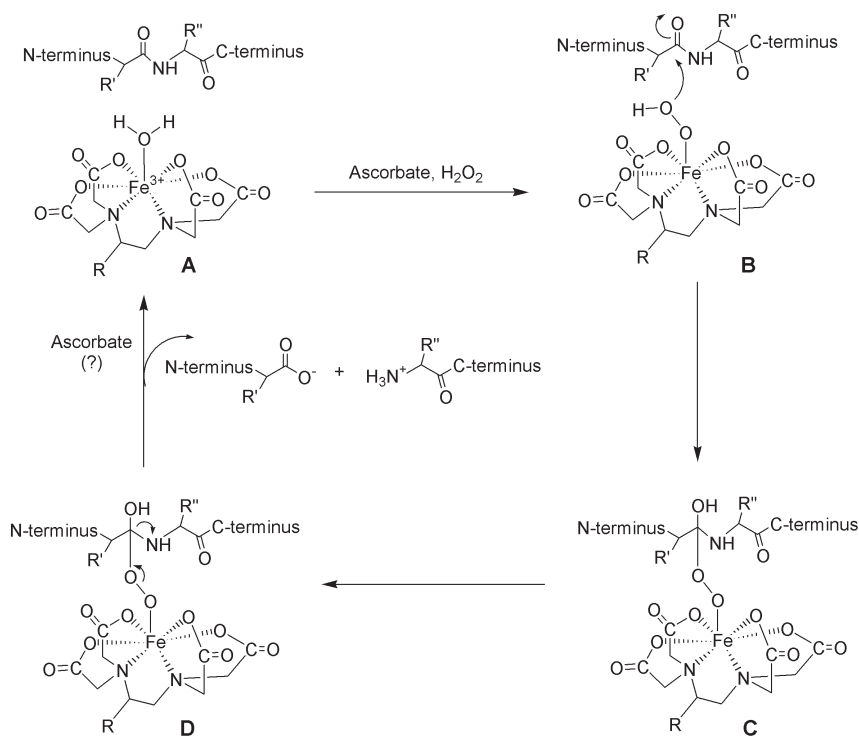
FeBABE の利点としては、1) ペプチドやタンパク質へ温和な条件で結合できること、2) 温和な条件で開裂反応を行えること、3) 開裂反応が速く、高収率であること、4) 核酸やタンパク質の主鎖が選択的に切断されるが、ヌクレオチドやアミノ酸配列に影響されないこと、などが挙げられる。また、タンパク質のリジン残基や末端アミノ基に、2-iminothiolane (2-IT) を介在させることで、FeBABE を結合する応用法が開発された<sup>6)</sup> ことによって、FeBABE の利用範囲はさらに拡大した。

FeBABE をタンパク質 - タンパク質間相互作用の接点解析に利用した例としては、大腸菌チトクローム *bd* オキシダーゼのサブユニット I と II の接点の同定<sup>7)</sup>、大腸菌 RNA ポリメラーゼの  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\beta'$ ,  $\sigma$  サブユニット間の接点の同定<sup>8, 9)</sup> などがある。一方、核酸切断からタンパク質の結合領域を同定した研究としては、大腸菌 RNA ポリメラーゼの遺伝子プロモーター結合域の同定<sup>10, 11)</sup> や、リボゾームタンパク質の rRNA 結合点の同定<sup>12-14)</sup> などがある。

このように高分解能の構造情報が得られない複雑なタンパク質集合体のサブユニット内、あるいはサブユニット間、さらにそれらと相互作用する核酸分子との空間的關係を解明するのに有効であり、今後広く利用されると期待される。

\*表示している希望納入価格は「本体価格のみ」で消費税等は含まれておりません。社会状況の変動により、予告なしに変更することがありますので、最新の価格は HP にてご確認ください。

細胞増殖/毒性
酸化ストレス
分子生物学
細胞内蛍光プローブ
細胞染色
細菌研究用試薬
膜タンパク質
ラベル化剤
二価性試薬
酸化還元
イオン電極
シンチレーター
生化学用緩衝剤
キレート
比色/金属試薬
水質分析用溶媒
抽出
高純度溶媒
その他
機能性有機材料



FeBABAによるペプチド結合の切断機構<sup>3)</sup>

最新の情報は web へ  で検索

参考文献

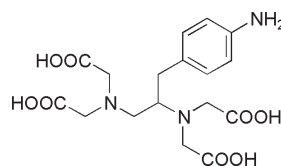
- 1) L. H. DeRiemer, C. F. Meares, D. A. Goodwin and C. I. Diamanti, "BLEDTA II: Synthesis of a New Tumor-Visualizing Derivative of Co(III)-bleomycin", *J. Labelled Compd. Radiopharm.*, 1981, 18, 1517.
- 2) T. M. Rana and C. F. Meares, "Specific Cleavage of a Protein by an Attached Iron Chelate", *J. Am. Chem. Soc.*, 1990, 112, 2457.
- 3) T. M. Rana and C. F. Meares, "Transfer of Oxygen from an artificial protease to peptide carbon during proteolysis", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, 88, 10578.
- 4) D. P. Greiner, R. Miyake, J. K. Moran, A. D. Jones, T. Negishi, A. Ishihama and C. F. Meares, "Synthesis of the Protein Cutting Reagent Iron (S)-1-(p-Bromoacetamidobenzyl)ethylethylenediaminetetraacetate and Conjugation to cysteine Side Chains", *Bioconjugate Chem.*, 1997, 8, 44.
- 5) E. Platis, M. R. Ermacora and R. O. Fox, "Oxidative Polypeptide Cleavage Mediated by EDTA-Fe Covalently Linked to Cysteine Residue", *Biochemistry*, 1993, 32, 12761.
- 6) S. L. Traviglia, S. A. Datwyler, D. Yan, A. Ishihama and C. F. Meares, "Targeted Protein Footprinting: Where Different Transcription Factors bind to RNA Polymerase", *Biochemistry*, 1999, 38, 4259.
- 7) J. B. Ghaim, D. P. Greiner, C. F. Meares and R. B. Gennis, "Proximity Mapping the surface of Membrane Protein Using an Artificial Protease: Demonstration That the Quinone-Binding Domain of Subunit I Is near the N-Terminal Region of Subunit II of Cytochrome *bd*", *Biochemistry*, 1995, 34, 11311.
- 8) R. Miyake, K. Murakami, J. T. Owens, D. P. Greiner, O. N. Ozoline, A. Ishihama and C. F. Meares, "Dimeric Association of *Escherichia coli* RNA Polymerase  $\alpha$  subunits, studied by Cleavage of Single-Cysteine  $\alpha$  Subunits Conjugated to Iron-(S)-1-(p-(Bromoacetamido)benzyl)ethylethylenediaminetetraacetate", *Biochemistry*, 1998, 37, 1344.
- 9) J. T. Owens, R. Miyake, K. Murakami, A. J. Chmura, N. Fujita, A. Ishihama and C. F. Meares, "Mapping the  $\sigma$  70 subunits contact sites on *Escherichia coli* RNA polymerase with a  $\sigma$  70-conjugated chemical protease", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998, 95, 6021.
- 10) J. A. Bown, J. T. Owens, C. F. Meares, N. Fujita, A. Ishihama, S. J. Busby and S. D. Minchin, "Organization of open complexes at *Escherichia coli* promoters. Location of promoter DNA sites close to region 2.5 of the  $\sigma$  70 subunit of RNA polymerase", *J. Biol. Chem.*, 1999, 274, 2263.
- 11) F. Colland, N. Fujita, D. Kotlarz, J. A. Bown, C. F. Meares, A. Ishihama and A. Kolb, "Positioning of  $\sigma$  5', the stationary phase  $\sigma$  factor, in *Escherichia coli* RNA polymerase-promoter open complexes", *EMBO J.*, 1999, 18, 4049.
- 12) G. M. Heilek, R. Marusak, C. F. Meares and H. F. Noller, "Directed hydroxyl radical probing of 16S rRNA using Fe(II) tethered to ribosomal protein S4", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995, 92, 1113.
- 13) G. M. Heilek and H. F. Noller, "Site-directed hydroxyl radical probing of the rRNA neighborhood of ribosomal protein S5", *Science*, 1996, 272, 1659.
- 14) K. R. Lieberman and H. F. Noller, "Ribosomal protein L15 as a probe of 50S ribosomal subunit structure.", *J. Mol. Biol.*, 1998, 284, 1367.

## Aminobenzyl-EDTA

1-(4-Aminobenzyl)ethylenediamine-*N,N,N',N'*-tetraacetic acid  
〔CAS No. 84256-90-6〕同仁品コード：M029  
25 mg ¥37,800 346-05991

- 規格** (1) 性状：微黄色～淡橙色粉末  
(2) 純度 (HPLC)：90.0% 以上  
(3) IR スペクトル：試験適合
- 溶解例** 2 mg/ml(アセトニトリル：10 mmol/l リン酸=1：1)
- 取扱注意** 1. 保存方法：冷凍

構造式

C<sub>17</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>=397.38

## 参考文献

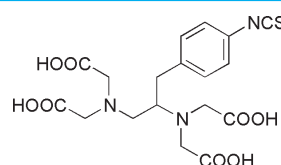
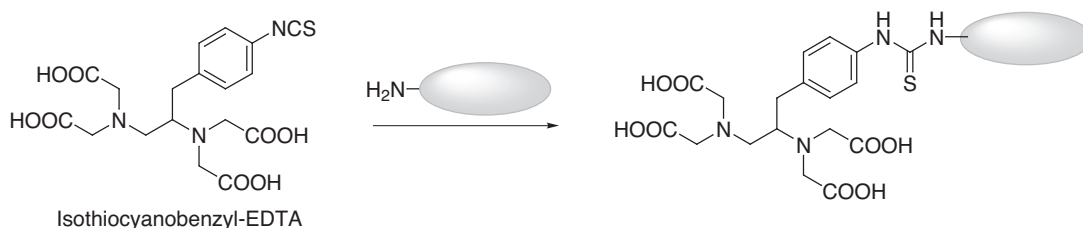
- 1) C. F. Meares and T. G. Wensel, "Metal Chelates as Probes of Biological Systems", *Acc. Chem. Res.*, 1984, 17, 202.
- 2) S. V. Deshpande, R. Subramanian, M. J. McCall, S. J. Denardo, G. L. Denardo and C. F. Meares, "Metabolism of Indium Chelates Attached to Monoclonal Antibody: Minimal Transchelation of Indium from Benzyl-EDTA Chelate *in vivo*", *J. Nucl. Med.*, 1990, 31, 218.
- 3) S. Mirzadeh, M. W. Brechbiel, R. W. Atcher and O. A. Gansow, "Radiometal Labeling of Immunoproteins: Covalent Linkage of 2-(4-Isothiocyanatobenzyl)diethylenetriaminepentaacetic acid Ligands to Immunoglobulin", *Bioconjugate Chem.*, 1990, 1, 59.

## Isothiocyanobenzyl-EDTA

1-(4-Isothiocyanatobenzyl)ethylenediamine-*N,N,N',N'*-tetraacetic acid  
〔CAS No. 105394-74-9〕同仁品コード：M030  
10 mg ¥44,600 343-06001

- 規格** (1) 性状：白色～微黄褐色粉末  
(2) 純度 (HPLC)：90.0% 以上  
(3) IR スペクトル：試験適合
- 溶解例** 2 mg/ml(アセトニトリル：10 mmol/l リン酸=1：1)
- 取扱注意** 1. 保存方法：冷凍 2. 吸湿注意

構造式

C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>S=439.44

## 参考文献

- 1) C. F. Meares and T. G. Wensel, "Metal Chelates as Probes of Biological Systems", *Acc. Chem. Res.*, 1984, 17, 202.
- 2) S. V. Deshpande, R. Subramanian, M. J. McCall, S. J. Denardo, G. L. Denardo and C. F. Meares, "Metabolism of Indium Chelates Attached to Monoclonal Antibody: Minimal Transchelation of Indium from Benzyl-EDTA Chelate *in vivo*", *J. Nucl. Med.*, 1990, 31, 218.
- 3) S. Mirzadeh, M. W. Brechbiel, R. W. Atcher and O. A. Gansow, "Radiometal Labeling of Immunoproteins: Covalent Linkage of 2-(4-Isothiocyanatobenzyl)diethylenetriaminepentaacetic acid Ligands to Immunoglobulin", *Bioconjugate Chem.*, 1990, 1, 59.

最新の情報は web へ  で検索

細胞増殖/毒性
酸化ストレス
分子生物学
細胞内蛍光プローブ
細胞染色
細菌研究用試薬
膜タンパク質ラベル
酸化還元イオン電極
シンチレーター
生化学用緩衝剤
キレート
比色/金属試薬
水質分析用溶媒抽出
高純度溶媒
その他
機能性有機材料

## AB-NTA free acid

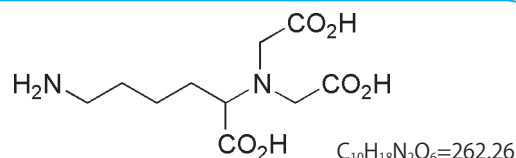
*N*-(5-Amino-1-carboxypentyl)iminodiacetic acid  
〔CAS No. 129179-17-5〕

同仁品コード：A459  
100 mg ¥13,400 340-08071

**規格** (1) 性状：白色～淡黄白色粉末  
(2) 純度 (HPLC)：97.0% 以上  
(3) 水溶状：試験適合  
(4) IR スペクトル：試験適合  
(5) NMR スペクトル：試験適合

**溶解例** 10 mg/ml (水)

構造式



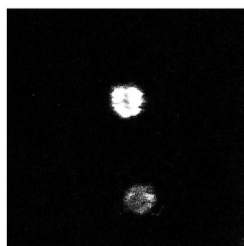
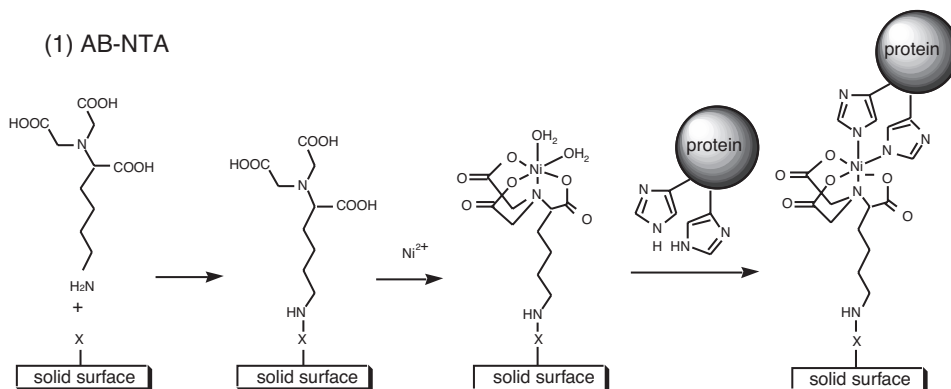
**性質** タンパク質を固体表面に並べるための“His-tag”と呼ばれる技術が注目されている。AB-NTAは、1987年 Hochuli らによって報告されたもので、この“His-tag”技術にとって欠かせない基本的なツールになっている。この技術は、分子生物学の分野で（遺伝子組換え技術によって発現させた）人工タンパク質の精製に威力を発揮しているが、現在では、ガラス基板や金電極といった固体表面に、タンパク質を一定の配向性で結合させる目的にも用いられている。

基本原理を次のスキームに示している。“His-tag”技術により、複雑な高次構造を持つタンパク質を、その活性を損なわずに固体表面に化学的に結合させることが可能になった。まず、AB-NTAを官能基（通常、活性エステルなどの反応性基）で修飾した固体表面と反応させ固定化する。次いでNi(II)を加え錯形成させる。ここで、Ni(II)の配位座はAB-NTAによって完全には満たされず、空いた部分には水が配位している。このAB-NTAのNi(II)錯体に6個のヒスチジンを末端に発現させた融合タンパク質を加えると、ヒスチジン部分がNi(II)に配位するため、特異的かつ一定方向に固体

表面に結合されることになる（この結合は強固だが、フリーのヒスチジンやイミダゾールによって可逆的に解離する）。

画像は、この試薬を用いて His<sub>6</sub>-green fluorescent protein (His<sub>6</sub>-GFP) をポリスチレンビーズに結合させ、蛍光顕微鏡で観察した例である。さらにこの“His-tag”技術の一般的な応用として、固体表面に生体機能を再現させることが可能であり、実際、バイオセンサーへの応用も盛んに研究されている。特に、生体分子の検出や相互作用の解析に有用な表面プラズモン共鳴 (SPR) では、キーテクノロジーとなりつつある。また、タンパク質の構造解析法としても注目されている。これは、基板上にタンパク質単分子膜をつくり蛍光X線干渉を測定するもので、結晶化しないタンパク質でも生理的条件下で、その構造についての情報を得ることができる。さらに、野地らは、ATP合成酵素のF1部分をNi(II)を介してガラス基板上に固定し、ATPの加水分解に伴ってγサブユニットが回転する様子を捉えることに成功し、従来から提唱されてきた回転触媒説を実証している。

## (1) AB-NTA



AB-NTA/Ni(II)を介してビーズ上に固定されたGFPの蛍光顕微鏡像  
(科学技術振興事業団・船津先生提供)

## 参考文献

- 1) E. Hochuli, H. Doeli and A. Schacher, "New Metal Chelate Adsorbent Selective for Proteins and Peptides Containing Neighbouring Histidine Residues", *J. Chromatogr.*, 1987, 411, 177.
- 2) E. Hochuli, "Large-scale Chromatography of Recombinant Proteins", *J. Chromatogr.*, 1988, 444, 293.
- 3) 河田聡, 高木俊夫, "表面プラズモン共鳴センサとは", 蛋白質、核酸、酵素, 1992, 37(15), 3005.
- 4) 笠井献一, "表面プラズモン共鳴 (SPR) を利用したバイオセンサー", 蛋白質、核酸、酵素, 1992, 37(15), 2977.
- 5) Y. C. Sasaki, Y. Suzuki and T. Ishibashi, "Fluorescent X-ray Interference from a Protein Monolayer", *Science*, 1994, 263, 62.
- 6) G. B. Sigal, C. Bamdad, A. Barberis, J. Strominger and G. M. Whitesides, "A Self-assembled Monolayer for the Binding and Study of Histidine-tagged Proteins by Surface Plasmon Resonance", *Anal. Chem.*, 1996, 68, 490.
- 7) E. L. Schmid, T. A. Keller, Z. Dienes and H. Vogel, "Reversible Oriented Surface Immobilization of Functional Proteins on Oxide Surface", *Anal. Chem.*, 1997, 69, 1979.
- 8) 橋本せつ子, "表面プラズモン共鳴現象を利用する生体分子相互作用の解析", *ぶんせき*, 1997, 362.
- 9) R. Yasuda, H. Noji, K. Kinoshita and M. Yoshida, "F1-ATPase is a Highly Efficient Molecular Motor that Rotates with Discrete 120° Steps", *Cell*, 1998, 93, 1117.

最新の情報は webへ 同仁化学 A459 で検索

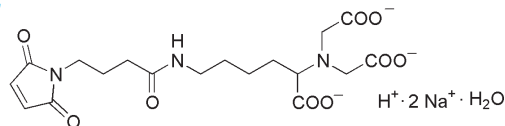
Maleimido-C<sub>3</sub>-NTA

*N*-[5-(3'-Maleimidopropylamido)-1-carboxypentyl]iminodiacetic acid, disodium salt, monohydrate  
[CAS No. 869843-95-8]

同仁品コード：M035  
10 mg ¥17,600

**規格** (1) 性状：白色～淡黄白色粉末  
(2) 純度 (HPLC)：97.0% 以上  
(3) 水溶状：試験適合  
(4) IR スペクトル：試験適合  
(5) NMR スペクトル：試験適合  
**溶解例** 10 mg/ml (水)  
**取扱注意** 1. 保存方法：冷蔵 2. 吸湿注意

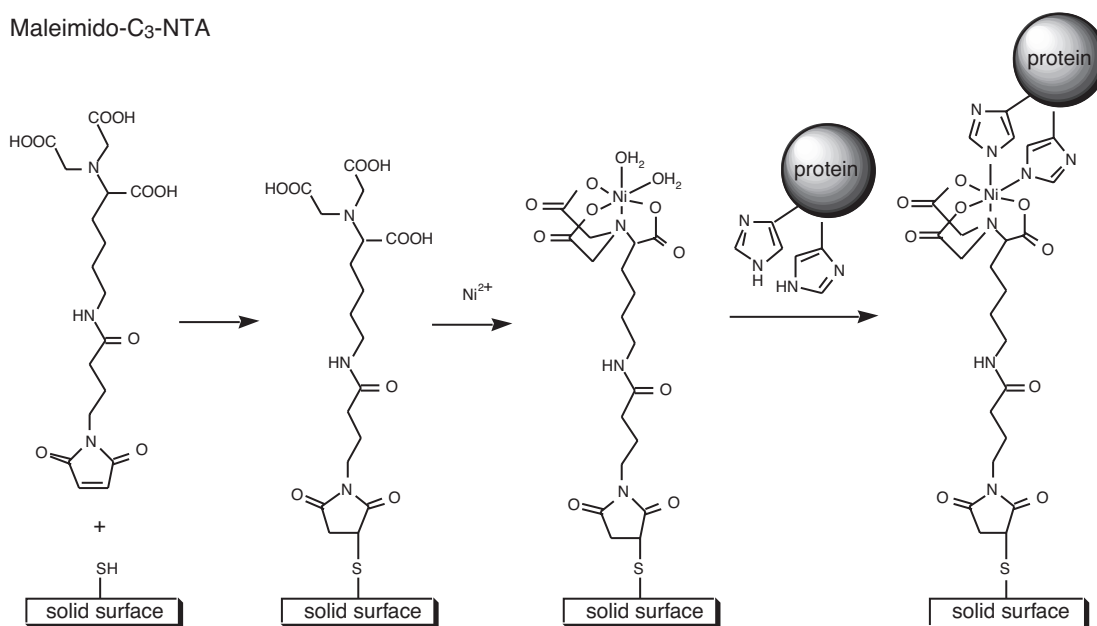
構造式


 $C_{18}H_{23}N_3Na_2O_9 \cdot H_2O = 489.38$ 

**性質** タンパク質を固体表面に並べるための“His-tag”と呼ばれる技術が注目されている。AB-NTA(Code:A459)は、1987年 Hochuli らによって報告されたもので、この“His-tag”技術にとって欠かせない基本的なツールになっている。この技術は、分子生物学の分野で（遺伝子組換え技術によって発現させた）人工タンパク質の精製に威力を発揮しているが、現在では、ガラス基板や金電極といった固体表面に、タンパク質を一定の配向性で結合させる目的にも用いられている。

基本原理を次のスキームに示している。“His-tag”技術により、複雑な高次構造を持つタンパク質を、その活性を損な

わずに固体表面に化学的に結合させることが可能になった。まず、Maleimido-C<sub>3</sub>-NTA を官能基（チオールなど）で修飾した固体表面と反応させ固定化する。次いで Ni(II) を加え錯形成させる。ここで、Ni(II) の配位座は Maleimido-C<sub>3</sub>-NTA によって完全には満たされず、空いた部分には水が配位している。この Maleimido-C<sub>3</sub>-NTA の Ni(II) 錯体に 6 個のヒスチジンを末端に発現させた融合タンパク質を加えると、ヒスチジン部分が Ni(II) に配位するため、特異的かつ一定方向に固体表面に結合されることになる（この結合は強固だが、フリーのヒスチジンやイミダゾールによって可逆的に解離する）。

Maleimido-C<sub>3</sub>-NTA

最新の情報は web へ [同仁化学 M035](#) で検索

## 参考文献

- 1) E. Hochuli, H. Doeli and A. Schacher, "New Metal Chelate Adsorbent Selective for Proteins and Peptides Containing Neighbouring Histidine Residues", *J. Chromatogr.*, 1987, 411, 177.
- 2) E. Hochuli, "Large-Scale Chromatography of Recombinant Proteins", *J. Chromatogr.*, 1988, 444, 293.
- 3) 河田聡, 高木俊夫, "表面プラズモン共鳴センサとは", 蛋白質、核酸、酵素, 1992, 37(15), 3005.
- 4) 笠井献一, "表面プラズモン共鳴 (SPR) を利用したバイオセンサー", 蛋白質、核酸、酵素, 1992, 37(15), 2977.
- 5) Y. C. Sasaki, Y. Suzuki and T. Ishibashi, "Fluorescent X-ray Interference from a Protein Monolayer", *Science*, 1994, 263, 62.
- 6) G. B. Sigal, C. Bamdad, A. Barberis, J. Strominger and G. M. Whitesides, "A Self-Assembled Monolayer for The Binding and Study of Histidine-Tagged Proteins by Surface Plasmon Resonance", *Anal. Chem.*, 1996, 68, 490.
- 7) E. L. Schmid, T. A. Keller, Z. Dienes and H. Vogel, "Reversible Oriented Surface Immobilization of Functional Proteins on Oxide Surface", *Anal. Chem.*, 1997, 69, 1979.
- 8) 橋本せつ子, "表面プラズモン共鳴現象を利用する生体分子相互作用の解析", *ぶんせき*, 1997, 362.

細胞増殖/毒性
酸化ストレス
分子生物学
細胞内蛍光プローブ
細胞染色
細菌研究用試薬
膜タンパク質ラベル
酸化還元
イオン電極
シンチレーター
生化学用緩衝剤
キレート
比色/金属試薬
水質分析用溶媒抽出
高純度溶媒
その他
機能性有機材料

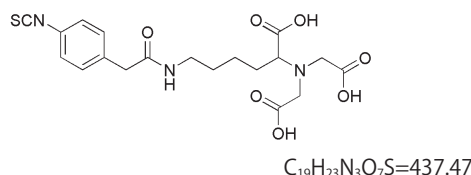
## Isothiocyanobenzyl-NTA

同仁品コード：I279  
10 mg ¥19,000

N-[5-(4-Isothiocyanatobenzyl)amido-1-carboxypentyl]iminodiacetic acid

- 規格** (1) 性状：白色～微黄色粉末  
(2) 純度 (HPLC)：90.0% 以上  
(3) IR スペクトル：試験適合  
(4) NMR スペクトル：試験適合
- 溶解例** DMSO に可溶
- 取扱注意** 1. 保存方法：冷凍

構造式



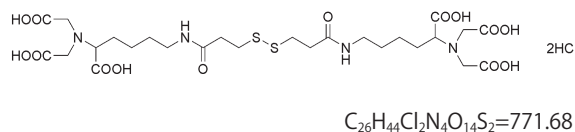
**性質** Isothiocyanobenzyl-NTA (ITC-Bz-NTA) は、生理的条件下においてアミン化合物、生体分子、固体表面などの様々な物質にキレート部位を導入できる。NTA は重金属と安定なキレートを形成するため、NTA と結合した化合物、

生体分子、固体表面に金属イオンを導入することが可能である。これら金属キレート化合物は、金属イオンと相互作用する特定の物質の検出や分離に用いることができる。

Dithiobis(C<sub>2</sub>-NTA)同仁品コード：D550  
10 mg ¥21,400  
50 mg ¥85,4003,3'-Dithiobis[N-(5-amino-5-carboxypentyl)propionamide-N',N'-diacetic acid] dihydrochloride  
[CAS No. 1097730-65-8]

- 規格** (1) 性状：白色～微黄色粉末又は結晶  
(2) 純度 (滴定, 無水物換算)：95.0% 以上  
(3) 水溶液：試験適合  
(4) 水分：10.0% 以下  
(5) NMR スペクトル：試験適合

構造式



**性質** 近年、“His-tag” 技術により、複雑な高次構造を持つタンパク質を、その活性を損なわずに固体表面に化学的に結合させることが可能になっている。その基本原理は、NTA 誘導体を官能基 (通常、活性エステル、チオール、エポキシなどの反応性基) で修飾した固体表面と反応させ固定化した後、Ni(II) を加えて錯形成させる。その時、Ni(II) の配位座は完全には満たされず、空いた部分には水が配位する。この状態で 6 個のヒスチジン末端に発現させた融合タンパク質を加えると、ヒスチジン部分が Ni(II) に配位するため、特異的かつ一定方向に固体表面に結合される (この結合は強固だが、フリーのヒスチジンやイミダゾール、EDTA 等のキレート剤によって可逆的に解離する)。この “His-tag” 技術は、人工タンパク質の精製や表面プラズモン共鳴 (SPR) 等に使用されている。

Dithiobis(C<sub>2</sub>-NTA) は両端に NTA 基を持つジスルフィドである。アルキルジスルフィド化合物は、アルカンチオール

と同様に、金表面と反応して Au-S 結合すると共に、アルキル鎖同士の相互作用によって高い配向性を持つ単分子膜を形成することが報告されている。Dithiobis(C<sub>2</sub>-NTA) も、他のアルキルジスルフィドと同様に SAMs を形成することをサイクリックボルタンメトリー (CV) で確認している。

この Dithiobis(C<sub>2</sub>-NTA) は、金表面上に SAMs を形成させた後、“His-tag” 技術を用いることで、特定の配向を維持したままタンパク質を結合できる可能性がある。各種センサー等への応用が期待される。

特長

- 1) NTA 末端を持つ自己組織化単分子膜 (Self-Assembled Monolayers: SAMs) を作製することができる。
- 2) “His-tag” 技術により、特定の配向を維持したままタンパク質を結合できる。

参考文献

最新の情報は web へ [同仁化学 I279/D550](#) で検索

- 1) M. Murata, C. Gouda, K. Yano, S. Kuroki, T. Suzutani and Y. Katayama, "Piezo electric sensor for endocrine-disrupting chemicals using receptor-co-factor interaction", *Anal. Sci.*, 2003, 19, 1355.

目的化合物に応じた最適なタンパク質架橋剤と取扱い方法を一通り解説しております。

架橋剤ガイド 同仁 検索

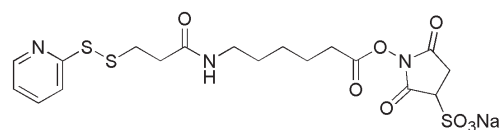
Sulfo-AC<sub>5</sub>-SPDP

*N*-[6-[3-(2-Pyridyldithio)propionamido]hexanoyloxy]sulfosuccinimide, sodium salt  
[CAS No. 169751-10-4]

同仁品コード：S359  
50 mg ¥66,000 346-09151

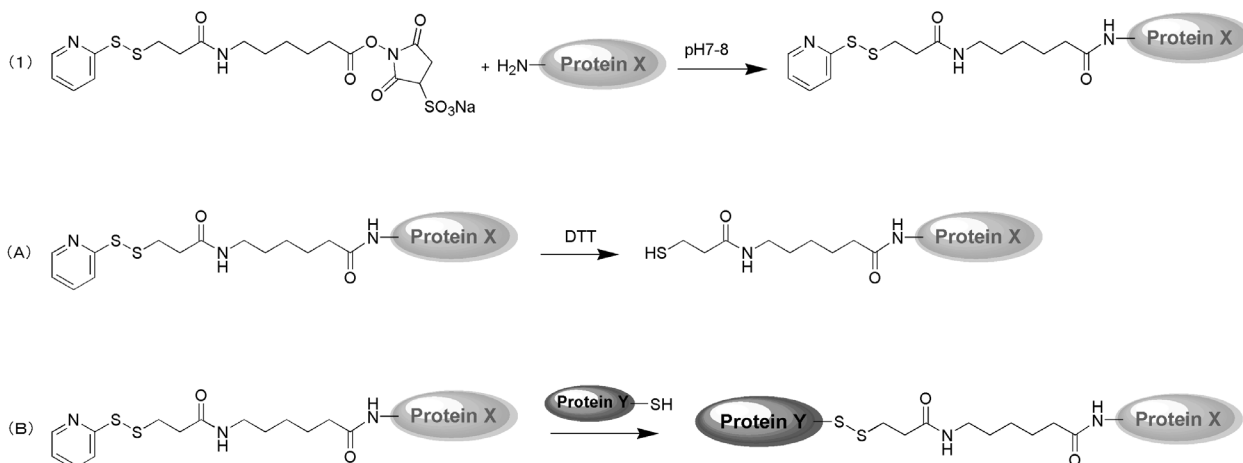
- 規格** (1) 性状：白色～殆ど白色粉末  
(2) 純度 (HPLC)：90.0% 以上  
(3) 水溶状：試験適合
- 溶解例** 95 mg/ml (水)
- 取扱注意** 1. 保存方法：冷凍 2. 吸湿注意

構造式


 $C_{18}H_{22}N_3NaO_8S_3=527.57$ 

**性質** Sulfo-AC<sub>5</sub>-SPDP は、分子内に *N*-ヒドロキシスクシンイミド活性エステル基を持つため、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することができる。ピリジルジスルフィド基は還元剤により容易に還元され SH 基とすることができる。また、タンパク質などの SH 基と交換反応するため、ジスルフィド結合を介してカラムの担体やタンパク質などと結合させることができる。本試薬は、SPDP と異なり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。本試薬は、まず通常のアミノ基ラベルの方法でタンパク質に導入し (1)、DTT 等とインキュベートすることにより還元して、ピリジル-2-チオンを解離させ、SH 基とすることができる (A)。また、(1) で得られた物を、2-PDS と反応活性な SH 残基を持った別のタンパク質とインキュベートすることにより、タンパク質同士を結合させる事ができる (B)。



## 参考文献

- 1) A. K. Patri, A. Myc, J. Beals, T. P. Thomas, N. H. Bander and J. R. Baker, Jr., "Synthesis and *in vitro* Testing of J591 Antibody-dendrimer Conjugates for Targeted Prostate Cancer Therapy", *Bioconjugate Chem.*, 2004, 15(6), 1174.
- 2) N. W. S. Kam, Z. Liu and H. Dai, "Functionalization of Carbon Nanotubes via Cleavable Disulfide Bonds for Efficient Intracellular Delivery of siRNA and Potent Gene Silencing", *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, 127(36), 12492.
- 3) A. M. Derfus, A. A. Chen, D-H. Min, E. Ruoslahti and S. N. Bhatia, "Targeted Quantum Dot Conjugates for siRNA Delivery", *Bioconjugate Chem.*, 2007, 18(5), 1391.
- 4) M. Ghasemi, M. Minier, M. Tatoulian and F. Arefi-Khonsari, "Determination of Amine and Aldehyde Surface Densities: Application to the Study of Aged Plasma Treated Polyethylene Films", *Langmuir*, 2007, 23(23), 11554.
- 5) C. L. Waite and C. M. Roth, "PAMAM-RGD Conjugates Enhance siRNA Delivery Through a Multicellular Spheroid Model of Malignant Glioma", *Bioconjugate Chem.*, 2009, 20(10), 1908.
- 6) R. Xu, M. Fisher and R. L. Juliano, "Targeted Albumin-Based Nanoparticles for Delivery of Amphipathic Drugs", *Bioconjugate Chem.*, 2011, 22(5), 870.

最新の情報は web へ [同仁化学 S359](#) で検索

目的化合物に応じた最適なタンパク質架橋剤と取扱い方法を一覽で解説しております。

架橋剤ガイド 同仁 検索

細胞増殖/毒性
酸化ストレス
分子生物学
細胞内蛍光プローブ
細胞染色
細菌研究用試薬
膜タンパク質ラベル
化学剤
二価性試薬
酸化還元イオン電極
シンチレーター
生化学用緩衝剤
キレート
比色/金属試薬
水質分析用溶媒抽出
高純度溶媒
その他
機能性有機材料



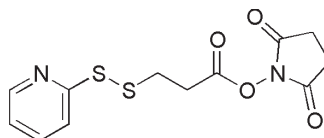
## SPDP

同仁品コード：S291  
100 mg ¥41,200

*N*-Succinimidyl 3-(2-pyridyldithio)propionate  
〔CAS No. 68181-17-9〕

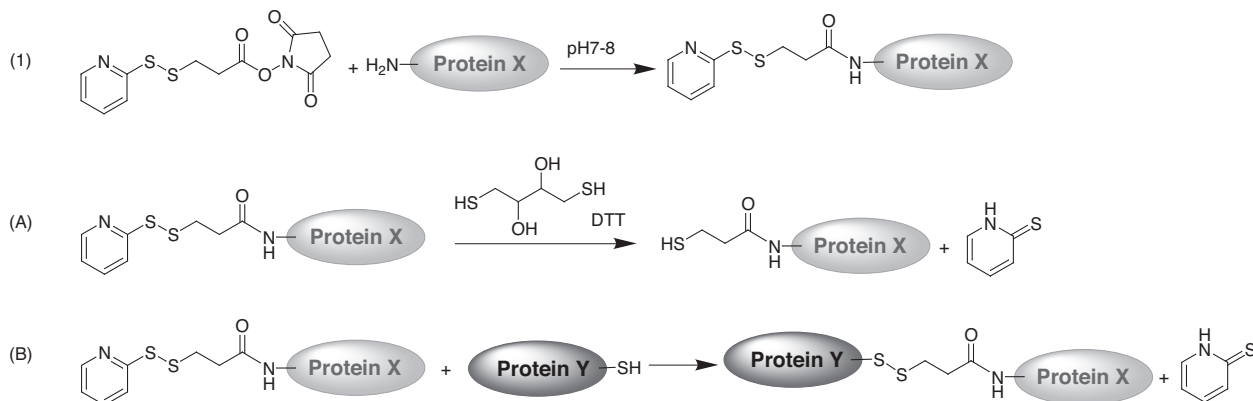
- 規格** (1) 性状：白色～微黄色粉末  
(2) 純度 (HPLC)：98.0% 以上  
(3) アセトニトリル溶状：試験適合  
(4) NMR スペクトル：試験適合
- 溶解例** 100 mg/50 ml (アセトニトリル)
- 取扱注意** 1. 保存方法：冷蔵

構造式


 $C_{12}H_{12}N_2O_4S_2=312.37$ 

**性質** 有機溶媒に溶ける。分子内に *N*-ヒドロキシスルホニミド活性エステル基を持つため、抗体や酵素等のタンパク質のアミノ基にピリジジルスルフィド基を導入することができる。ピリジジルスルフィド基は還元剤により容易に還元され SH 基とすることができる。また、タンパク質などの SH 基と交換反応するため、ジスルフィド結合を介してカラムの担体やタンパク質などと結合させることができる。

本試薬はまず通常のアミノ基ラベルの方法でタンパク質に導入し (1)、DTT 等とインキュベートすることにより還元して、ピリジジル-2-チオンを解離させ、SH 基とすることができる (A)。また、(1) で得られた物を、2-PDS と反応活性な SH 残基を持った別のタンパク質とインキュベートすることにより、タンパク質同士を結合させる事ができる (B)。



## 参考文献

- 1) P. Walden, Z. A. Nagy and J. Klein, "Major Histocompatibility Complex-Restricted and Unrestricted Activation of Helper T Cell Lines by Liposome-bound Antigens", *J. Mol. Cell. Immunol.*, 1986, 2, 191.
- 2) R. D. Gordon, W. E. Fieles, D. L. Schotland, R. Hogue-Angeletti and R. L. Barchi, "Topographical Localization of the C-terminal Region of the Voltage-dependent Sodium Channel from *Electrophorus Electricus* Using Antibodies Raised Against a Synthetic Peptide", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1987, 84, 308.

最新の情報は web へ  で検索