

生物偶联技术手册

用于蛋白和多肽的交联、固定、修饰、生物素化和荧光标记的试剂

简介

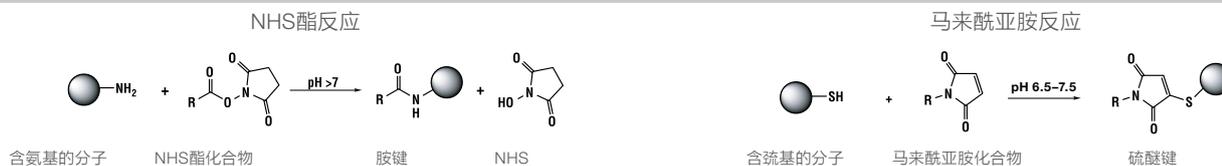
生物偶联是通过化学共价键结合两个或多个分子或生物大分子的过程。该技术利用多种化学试剂进行蛋白和多肽的交联、固定、修饰和标记。生物偶联试剂含有具有反应活性的末端,可与蛋白或其他分子上的特定功能基团(如伯氨基、巯基)反应。蛋白和多肽上有多个功能基团可用于交联,因此蛋白和多肽可以在各种应用中作为靶标,这些应用包括生物素化、固定到固相支持物表面、蛋白质结构研究和代谢标记等。化学试剂可用于修饰蛋白和多肽的氨基酸侧链,改变蛋白或者多肽的电荷、封闭或暴露反应活性位点,使功能基团失活或改变其特性,从而形成用于交联和标记的靶标。交联、标记和修饰试剂可以根据其化学反应活性、分子特征或者应用进行分类(表1)。



表1. 选择生物偶联试剂的关键考虑因素。

化学反应活性

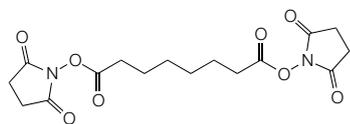
首先, 选择可结合目标生物分子功能基团的试剂。



分子特征

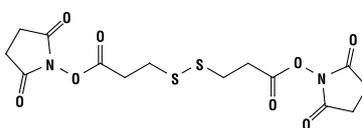
其次, 选择与应用相关的重要功能或特征。

功能



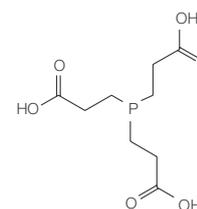
DSS—两端反应基团相同

可切割



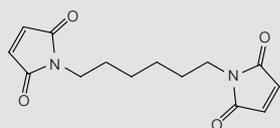
DSP—具有可切割的二硫键

结构修饰



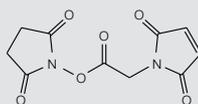
TCEP—还原二硫键

间隔臂组成



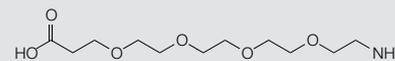
BMH—带有碳氢骨架间隔

间隔臂长度



AMAS 4.4 Å—反应基团的间距

间隔臂结构

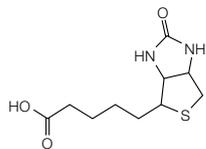


CA(PEG)_n—增加在水溶液中的溶解度

应用

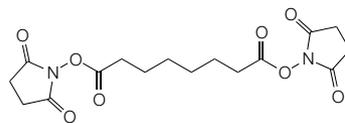
根据应用 (例如, 蛋白质检测、固定或相互作用研究) 选择特定试剂。

标记



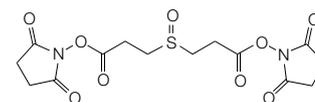
生物素—用于标记和检测

固定



DSS—将蛋白质偶联到表面

蛋白质相互作用研究



DSSO—用于质谱, 切割型交联剂

包装选项

根据您的反应规模或需求选择包装尺寸或等级。可提供的试剂范围从毫克到千克不等。

毫克



单管

毫克到克



目录产品

毫克到克



Premium (特优级)

克到千克



大容量或定制包装

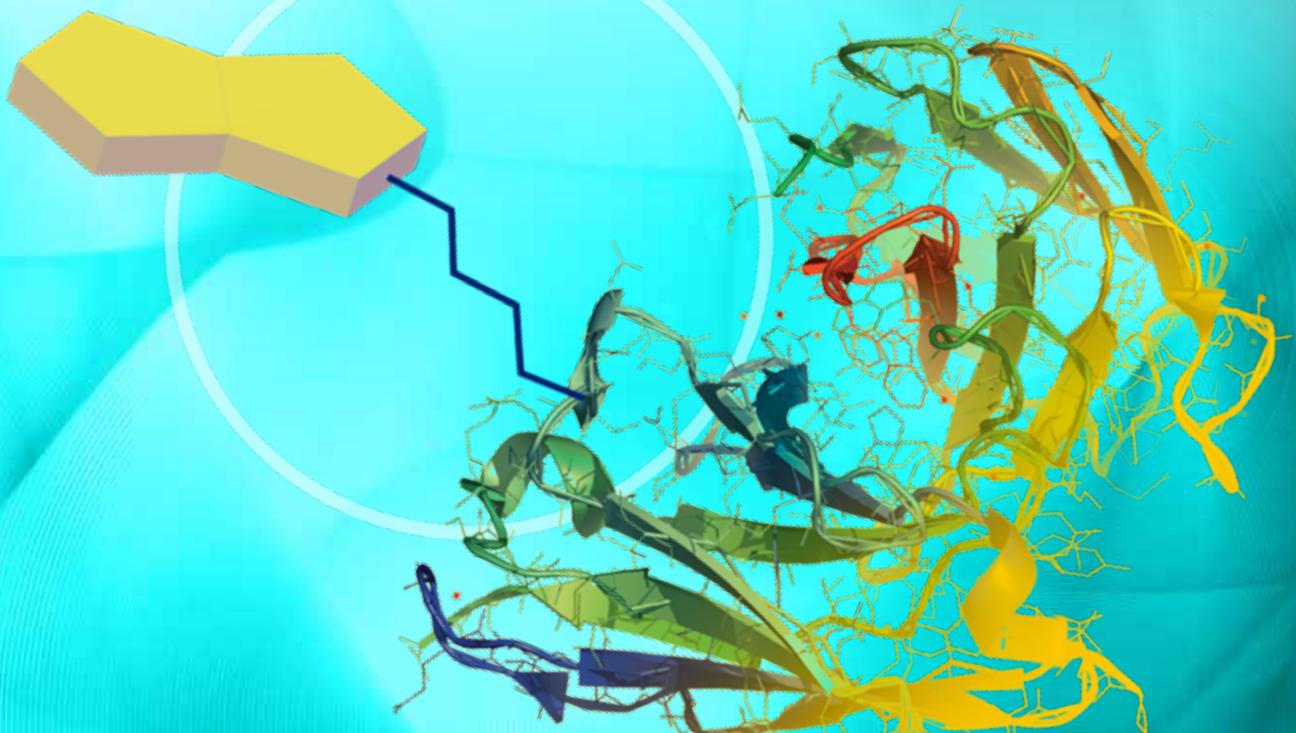
目录

生物偶联试剂的化学反应活性		蛋白-蛋白偶联	28
简介	5	产生免疫毒素	29
与氨基反应的化学基团	6	标记转移	29
与羧酸反应的化学基团	7	亚基交联和蛋白质结构研究	31
与巯基反应的化学基团	8	应用交联质谱研究蛋白质相互作用	32
与羰基反应的化学基团	10	质谱可切割交联剂	33
非特异性反应性的化学基团	12	体内交联	34
化学选择性连接	13	代谢标记	35
<hr/>		细胞表面交联	36
生物偶联试剂的分子特征		细胞膜结构研究	36
简介	14	<hr/>	
同型双功能和异型双功能交联剂	15	满足生物偶联特定需求的包装	
一般反应条件	16	简介	37
修饰	16	生物偶联试剂的No-Weigh包装形式	38
间隔臂长度	18	Premium (特优级) 生物偶联试剂	39
间隔臂组成	18	<hr/>	
间隔臂可切割性	18	生物偶联资源	40
间隔臂结构和溶解性	19	<hr/>	
<hr/>		词汇表	42
使用生物偶联试剂的应用		<hr/>	
简介	20	参考文献	44
蛋白和多肽的生物素化	21	<hr/>	
蛋白和多肽的荧光标记	23	订购信息	50
将蛋白质固定到固相支持物上	25	<hr/>	
使用基于PEG的试剂进行表面修饰	26	相关手册和资源	71
用于抗体制备的半抗原-载体偶联	27	<hr/>	

生物偶联试剂的化学反应活性

简介

生物偶联试剂最重要的特征是其化学反应基团，反应基团是化学修饰方法和机制建立的基础。交联剂至少含有两个反应基团，它们靶向生物分子（例如蛋白质和核酸）中常见的特定功能基团。蛋白修饰试剂，比如聚乙二醇化或生物素化试剂，在其一个末端具有一个生物修饰基团（上述两种试剂分别为PEG链或生物素），在其另一端具有活性的化学反应基团。常见的用作生物偶联靶标（生物大分子）的功能基团包括伯胺、巯基、羰基、碳水化合物以及羧酸（图1，表1）。也可使用光反应基团进行无选择性的偶联。



与氨基反应的化学基团

伯胺 (-NH₂) 存在于每条多肽链的N-末端 (称为α-氨基) 以及赖氨酸 (Lys, K) 残基的侧链中 (称为ε-氨基)。由于伯胺在生理条件下带正电荷, 因此它通常朝外 (即, 在蛋白质的外表面上), 使得其更易于偶联而不会使蛋白质结构改变。许多化学反应基团均靶向伯胺 (图2), 最常用的化学反应基团是N-羟基琥珀酰亚胺酯 (NHS酯) 和亚氨酸酯。

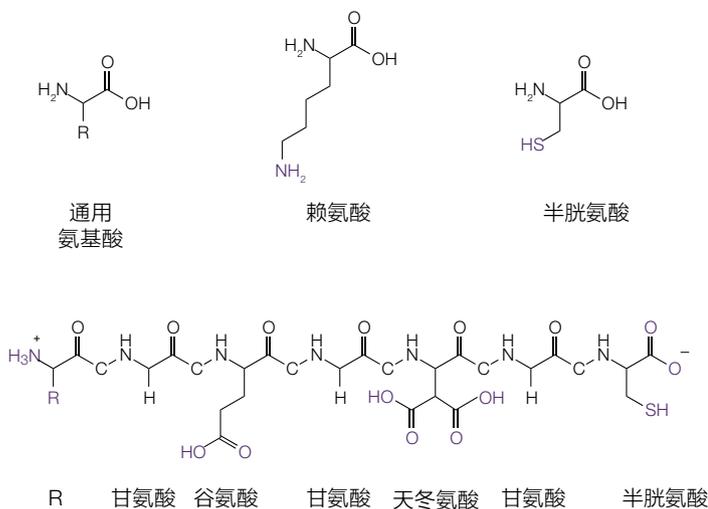


图1. 用作生物偶联靶标的常见氨基酸基团。

表2. 用于蛋白偶联的常用交联剂反应基团。

反应类别	靶点 (靶标功能基团)	化学反应基团
氨基反应	-NH ₂	NHS酯 亚氨酸酯 五氟苯酯 羟甲基磷
羧基-氨基反应	-COOH	碳二亚胺 (例如EDC)
巯基反应	-SH	马来酰亚胺 卤代乙酰基 (溴-、氯-或碘-) 吡啶二硫基 硫代磺酸盐 乙烯基砜
醛基反应 (例如, 氧化糖、羰基)	-CHO	酰肼 烷氧基胺 NHS酯
光反应 (即无选择性、随机插入)	随机	双吡丙啶 芳香叠氮
羟基 (非水性)-反应	-OH	异氰酸盐
叠氮-反应	-N ₃	炔烃 磷

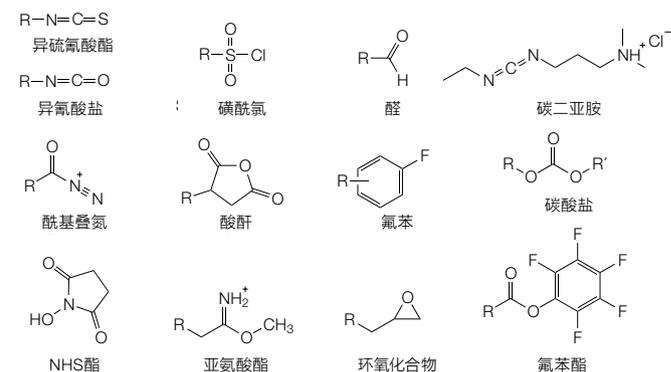


图2. 靶向伯胺的化学反应基团。

N-羟基琥珀酰亚胺酯 (NHS酯, NHS esters)



NHS酯是EDC (碳二亚胺) 活化羧酸分子形成的反应基团。带有活化的NHS酯的交联剂和标记化合物在弱碱性条件下与伯胺反应, 产生稳定的酰胺键 (图3)。该反应释放N-羟基琥珀酰亚胺 (NHS), 可通过透析或脱盐轻易去除。

NHS化学反应

通常在室温或4°C下, 在pH值为7.2-8.5的磷酸盐、碳酸盐-碳酸氢盐、HEPES或硼酸盐缓冲液中进行NHS酯交联反应, 反应时间为30分钟至4小时。不能使用诸如Tris (TBS) 之类的含伯胺缓冲液, 因为会产生竞争反应。但是在某些实验中, 在偶联反应结束时加入Tris或甘氨酸缓冲液有助于停止反应。

详情请访问

[thermofisher.com/proteincrosslinking](https://www.thermofisher.com/proteincrosslinking)

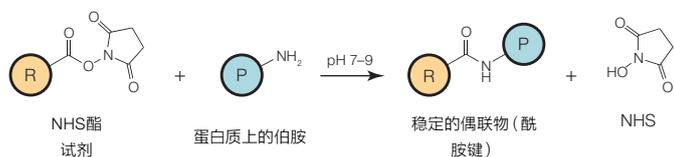


图3. NHS酯化学偶联到伯胺的反应图式。(R)表示具有NHS酯反应基团的标记试剂或交联剂的一端；(P)表示含有靶标功能基团(即伯胺)的蛋白质或其它分子。

NHS酯的水解与伯胺反应产生竞争。水解速率随着缓冲液pH值的增加而增加，并且导致较低浓度的蛋白质溶液中交联效率较低。NHS酯化合物在pH 7.0和0°C条件下的水解半衰期为4-5小时。在pH 8.6和4°C的条件下，该半衰期缩短至10分钟。NHS酯在不含伯胺的水溶液中的水解程度可在260-280nm下测量，因为在该范围内，NHS副产物会发生吸收峰值。

Sulfo-NHS酯与NHS酯基本相同，只是Sulfo-NHS酯在N-羟基琥珀酰亚胺环上含有一个磺酸盐(-SO₃)基团。这一带电基团对化学反应没有影响，它会增加含有这种基团的交联剂的水溶性。此外带电基团(水溶性)可防止交联剂穿过细胞膜(脂溶性)，使该交联剂能够用于细胞表面的交联方法。

亚氨酸酯 (Imidoesters)



亚氨酸酯交联剂与伯胺反应形成脒键(图4)。为了确保对伯胺的特异性，最好在无氨基、碱性条件(pH 10)下(例如使用硼酸盐缓冲液)完成亚氨酸酯反应。

由于反应所得到的脒键是质子化的，交联物在生理pH条件下带正电荷，非常类似于它所取代的伯胺。鉴于此，亚氨酸酯交联剂已被用于研究膜中的蛋白质结构和分子缔合，以及用于将蛋白质固定在固相支持物上，同时保留天然蛋白质的等电点(pI)。尽管亚氨酸酯在某些实验中仍有应用，但由于其形成的脒键在高pH值条件下是可逆的，因此在大多数应用中，其已被更稳定和更有效的NHS酯交联剂取代。

亚氨酸酯化学反应

亚氨酸酯交联剂在碱性pH条件下与氨基快速反应形成脒键，但半衰期较短。随着pH值的增大，半衰期和与氨基的反应活性增加，交联在pH值为10时比pH值为8时更为有效。尽管pH值在8至10的范围内时均可形成脒，但pH值低于10的反应条件可能导致副反应。使用单功能烷基亚氨酸酯进行的多项研究表明，在pH <10时，仅能与一个亚氨酸酯功能基团形成偶联。在较低pH值范围内时，会形成中间体N-烷基亚氨酸酯，其将与紧邻的另一个氨基交联，产生N,N'-脒衍生物，或者其会转化为脒键。在pH较高的条件下，会在不形成中间体或副产物的情况下直接形成脒。当使用硫醇可切割的二亚胺酸酯时，在pH小于10时发生的外来交联有时会干扰结果。

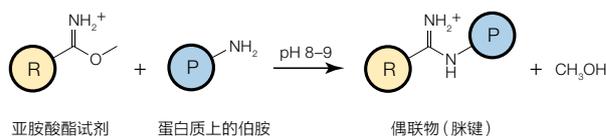
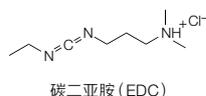


图4.亚氨酸酯化学偶联到伯胺的反应图式。(R)表示具有亚氨酸酯反应基团的标记试剂或交联剂的一端；(P)表示含有靶标功能基团(即伯胺, -NH₂)的蛋白质或其他分子。

羧酸反应性化学基团

羧酸(-COOH)存在于每条多肽链的C-末端以及天冬氨酸(Asp, D)和谷氨酸(Glu, E)的侧链中。与伯胺一样，羧基通常位于蛋白质结构的表面。羧酸对碳二亚胺具有反应活性。

碳二亚胺 (Carbodiimides, EDC和DCC)



EDC和其他碳二亚胺是零长度交联剂。它们使羧酸(-COOH)与伯胺(-NH₂)直接偶联，而不会成为靶标分子之间最终酰胺键交联的一部分。

因为多肽和蛋白含有多个羧基和氨基，EDC直接介导的交联通常会造成多肽的随机聚合。然而，这一化学反应广泛用于固定化实验中（例如，将蛋白质交联到羧化表面）和免疫原制备中（例如，将小肽交联到大载体蛋白上）。

EDC化学反应

EDC与羧基反应形成活性O-酰基异脲中间体，该中间体易于被反应混合物中伯氨基的亲核攻击并取代（图5），伯胺与原始羧基基团从而反应形成一个酰胺键，EDC副产物作为可溶性脲衍生物释放。O-酰基异脲中间体在水溶液中不稳定，其未能与氨基反应会导致中间体水解，再生羧基基团。

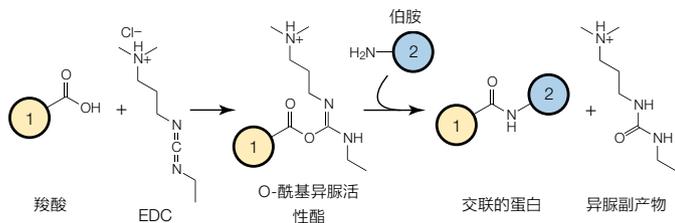


图5.使用常用的碳二亚胺EDC进行的羧基-氨基交联。分子(1)和(2)可以是多肽、蛋白质或分别具有羧酸和伯氨基的任何化学试剂。如果这些分子是多肽或蛋白质，则其分子比反应中图示的交联剂和偶联臂大几十到几百倍。

EDC交联在酸性 (pH 4.5) 条件下最有效，并且必须在没有外来羧基和氨基的缓冲液中进行。MES缓冲液 (4-吗啉乙磺酸) 是一种适宜的碳二亚胺反应缓冲液。磷酸盐缓冲液和中性pH (不超过7.2) 条件与化学反应相容，但效率较低。增加反应溶液中EDC的量可以补偿降低的效率。

EDC偶联方案中通常包含N-羟基琥珀酰亚胺 (NHS) 或其水溶性类似物 (Sulfo-NHS)，以提高效率或生成干燥条件下稳定的 (氨基反应性) 中间体 (图6)。EDC使NHS与羧基偶联，形成比O-酰基异脲中间体稳定许多的NHS酯，同时允许在生理pH下与伯胺有效偶联。

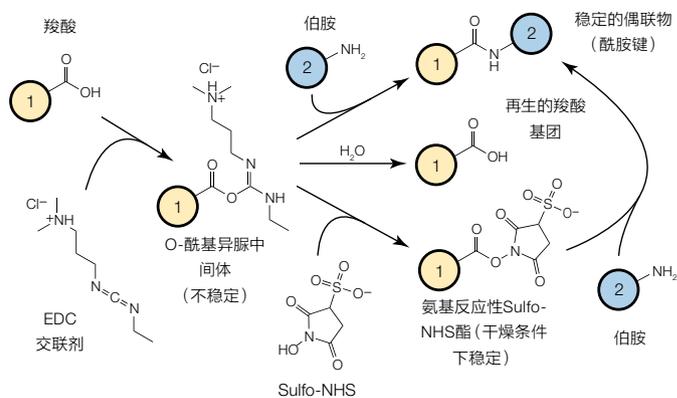


图6.使用碳二亚胺EDC和Sulfo-NHS进行的羧基-氨基交联。在EDC反应中添加NHS或Sulfo-NHS (最常用) 可提高效率并使分子(1)活化以供储存和以后使用。

EDC还能够在咪唑存在的情况下活化磷酸基团与伯胺偶联。这一方法有时用于通过5'磷酸基团修饰、标记、交联或固定寡核苷酸。

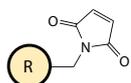
DCC化学反应和应用

DCC (二环己基碳二亚胺) 以与EDC相同的方式将羧酸与伯胺交联。由于DCC不溶于水，其主要用于制造和有机合成应用，而不在典型的蛋白质研究生物学实验中使用。例如，大多数市售的即用型NHS酯交联剂和标记试剂都是用DCC制造的。由于不含水，所生成的NHS酯可以制备及稳定为干粉状态，而且没有明显水解。DCC也常用于商业多肽合成操作。

巯基反应性化学基团

巯基 (-SH) 存在于半胱氨酸 (Cys, C) 的侧链中。半胱氨酸通常作为蛋白质二级或三级结构的一部分，会通过二硫键 (-S-S-) 实现侧链之间的连接。在进行交联反应时，必须将其还原成巯基，使其可以与大多数类型的反应基团进行交联。巯基对马来酰亚胺、卤代乙酰基和吡啶二硫基具有反应活性。

马来酰亚胺 (Maleimides)



马来酰亚胺

马来酰亚胺活化的交联剂和标记试剂在近中性条件 (pH 6.5-7.5) 下与巯基基团 (-SH) 发生特异性反应, 形成稳定的硫醚键。蛋白质结构中的二硫键必须还原成游离硫醇 (巯基) 才能与马来酰亚胺试剂反应。马来酰亚胺反应缓冲液中不得含有外来硫醇 (例如, 来自大多数还原剂的硫醇), 因为外来硫醇会竞争偶联位点。

同型双功能马来酰亚胺交联剂长度短, 使蛋白质结构中的二硫桥能够转化为半胱氨酸间永久的、不可还原的键。更常见的情况是, 马来酰亚胺与反应性的NHS酯组合使用, 两者作为异型双功能交联剂, 能够对纯化的多肽和/或蛋白质进行可控的两步法交联。

马来酰亚胺化学反应

当反应混合物的pH值在6.5-7.5之间时, 马来酰亚胺基团会与巯基基团特异性反应, 形成不可逆的稳定硫醚键 (图7)。在碱性更强的条件下 (pH > 8.5), 反应会支持伯胺偶联, 并且还会增加马来酰亚胺基团水解成非反应性马来酰胺酸的速率。马来酰亚胺不与酪氨酸、组氨酸或蛋氨酸反应。

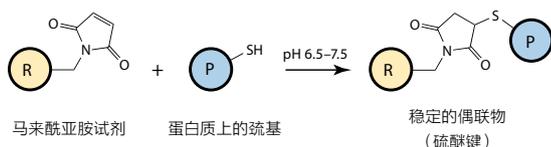


图7.马来酰亚胺化学偶联到巯基的反应图式。 (R) 表示具有马来酰亚胺反应基团的标记试剂或交联剂的一端; (P) 表示含有靶标功能基团 (即巯基, -SH) 的蛋白质或其他分子。

马来酰亚胺使用的反应缓冲液中不得存在含有硫醇的化合物, 例如二硫苏糖醇 (DTT) 和β-巯基乙醇 (BME (也称为2-巯基乙醇)), 因为这些化合物会竞争偶联位点。例如, 如果使用DTT还原蛋白质中的二硫键以使用巯基基团进行偶联, 则在开始马来酰亚胺反应之前必须使用脱盐柱彻底去除DTT。有趣的是, 二硫键还原剂TCEP确实不含硫醇, 但又确实必须在使用马来酰亚胺试剂的反应之前去除。

可以在反应结束时通过添加游离硫醇淬灭过量的马来酰亚胺。偶联缓冲液中可以包含EDTA, 以螯合游离的二价金属, 否则这些金属会促进巯基的氧化 (非反应性)。

卤代乙酰基 (Haloacetyls)



碘乙酰基团

大多数卤代乙酰基交联剂都含有碘乙酰基或溴乙酰基基团。在生理至碱性条件 (pH 7.2-9) 下, 卤代乙酰基与巯基基团反应, 产生稳定的硫醚键。为了限制可能与酪氨酸、组氨酸和色氨酸残基发生反应的游离碘的产生, 最好在黑暗条件下进行碘乙酰基反应。

卤代乙酰基化学反应

卤代乙酰基在生理pH下与巯基反应。碘乙酰基基团的反应通过来自巯基基团的硫原子对碘的亲核取代来进行, 产生稳定的硫醚键 (图8)。在pH 8.3的条件下, 使用比巯基基团数量略多的碘乙酰基基团可确保巯基选择性。在不存在游离巯基的情况下, 或者如果使用的碘乙酰基基团数量超出巯基基团过多, 碘乙酰基基团可与其他氨基酸反应。咪唑可以在pH值为6.9-7.0时与碘乙酰基基团反应, 但孵育期必须超过一周。

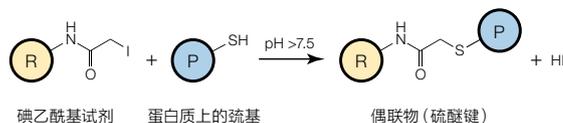


图8.碘乙酰基化学偶联到巯基的反应图式。 (R) 表示具有碘乙酰基或溴乙酰基反应基团的标记试剂或交联剂的一端; (P) 表示含有靶标功能基团 (即巯基, -SH) 的蛋白质或其他分子。

组氨酸侧链和氨基基团分别在pH值超过5和pH值超过7时以非质子化形式与碘乙酰基基团反应。为了限制可能与酪氨酸、组氨酸和色氨酸残基发生反应的游离碘的产生, 请在黑暗条件下进行碘乙酰基反应和制备。避免将碘乙酰基化合物暴露于还原剂。

吡啶二硫基 (Pyridyl disulfides)



吡啶二硫基可在广泛的pH范围内与巯基反应形成二硫键。因此,使用这种交联剂制备的偶联物可以用典型的二硫键还原剂(如二硫苏糖醇(DTT))切割。

吡啶二硫基化学反应

吡啶二硫基可在广泛的pH范围内(最适宜范围为pH 4-5)与巯基反应形成二硫键。在反应过程中,分子的-SH基团和试剂的2-吡啶二硫基基团之间会发生二硫键交换。该过程会导致吡啶-2-硫酮被释放并且可以通过分光光度法(A最大=343nm)测量吡啶-2-硫酮以监测反应进程。这些试剂可用作交联剂并将巯基基团引入蛋白质中。二硫键交换可以在生理pH下进行,不过其反应速率比在酸性条件下低。

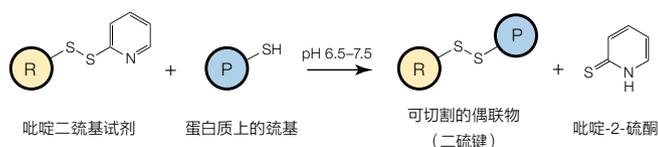


图9. 吡啶二硫基与巯基发生的可切割(可逆性)化学偶联反应图式。(R)表示具有吡啶二硫基反应基团的标记试剂或交联剂的一端;(P)表示含有靶标功能基团(即巯基, -SH)的蛋白质或其他分子。

醛基反应性化学基团

醛基(-CHO)基团可以用偏高碘酸钠氧化翻译后修饰的糖蛋白形成。酰肼和烷氧基胺反应基团靶向醛。这些醛还与伯胺反应形成席夫碱(Schiff bases),可进一步还原形成共价键(还原胺化)。

由于多糖位于抗体Fc区,因此碳水化合物修饰非常有助于在多克隆抗体上创建偶联的靶标位点。这使得标记或交联位点远离抗原结合位点,确保抗体功能不会受到偶联过程的不利影响。

羰基(醛)作为交联靶标

醛(RCHO)和酮(RCOR')是更通用的用功能基团羰基的反应性变体,具有碳-氧双键(C=O)。该键(特别是为醛时)的极性使碳原子亲电且对诸如伯胺之类的亲核体具有反应活性。

尽管在典型的生物样本中,醛不会天然存在于蛋白质或其他目标大分子中,但是它们可以在任何存在可氧化糖基团(也称为还原糖)的地方产生。这些糖是许多蛋白质的翻译后糖基化中多糖或碳水化合物的常见单体成分。此外, RNA的核糖是一种还原糖。

溶解高碘酸钠(NaIO_4)所得的高碘酸(HIO_4)是一种用于在碳水化合物糖中有效地氧化邻二醇的常用温和试剂,可生成反应性醛基。碳-碳键在相邻的羟基基团之间切割。可以通过改变所用的高碘酸盐的量,在分子量较小或较大的糖类型中选择生成醛。例如,用1 mM高碘酸盐处理糖蛋白通常仅影响唾液酸残基,此残基通常存在于多糖链的末端。在6-10 mM高碘酸盐的浓度下,蛋白质中的其他糖基团将受到影响(图10)。

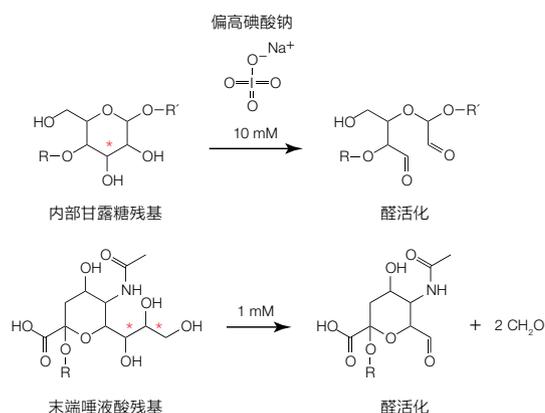


图10. 高碘酸钠与糖残基反应产生用于偶联反应的醛。R和R'代表多糖的连接糖单体。红色星号表示二醇切割的位点。唾液酸也称为N-乙酰-D-神经氨酸。

酰肼 (Hydrazides)



可以使用偏高碘酸钠温和氧化某些糖乙二醇从而在糖蛋白和其他含多糖的分子中生成羰基(醛和酮)。然后酰肼活化的交联剂和标记化合物将在pH 5-7下与这些羰基偶联, 进而形成腙键。

酰肼化学可用于通过糖基化位点标记、固定或偶联糖蛋白, 这些位点通常(与大多数多克隆抗体一样)位于远离关键结合位点的结构域, 这些关键结合位点的功能是人们希望保留的。

酰肼化学反应

在pH 5-7的条件下, 通过生物样本中糖的高碘酸盐氧化产生的醛与酰肼反应形成腙键(图11)。尽管这种与酰肼基团反应形成的键是一种席夫碱, 但它比用简单的胺形成的席夫碱稳定许多。此种腙键对于大多数蛋白质标记应用均足够稳定。如果需要, 可以使用氰基硼氢化钠将双键还原成更稳定的仲胺键(参见有关还原胺化的小节)。

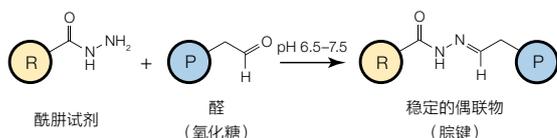


图11.酰肼化学偶联到醛的反应图式。(R)表示具有酰肼反应基团的标记试剂或交联剂的一端;(P)表示含有靶标功能基团(即,通过碳水化合物糖基团(如唾液酸)的高碘酸盐氧化形成的醛)的糖蛋白或其他糖基化分子。

烷氧基胺



虽然目前烷氧基胺化合物不像酰肼试剂那样常用或普遍, 但其以与酰肼大致相同的方式与羰基(醛和酮)偶联。

烷氧基胺化学反应

烷氧基胺化合物与羰基偶联形成腙键(图12)。该反应与酰肼的反应类似, 也可以使用苯胺作为催化剂。

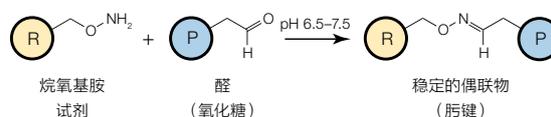


图12.烷氧基胺化学偶联到醛的反应图式。(R)表示具有烷氧基胺反应基团的标记试剂或交联剂的一端;(P)表示含有靶标功能基团(即,通过碳水化合物糖基团(如唾液酸)的高碘酸盐氧化形成的醛)的糖蛋白或其他糖基化分子。

还原胺化

在还原胺化中, 醛的亲电碳原子攻击伯胺的亲核氮, 产生称为席夫碱的弱键。与使用酰肼或烷氧基胺形成的键不同, 用普通胺形成的席夫碱在水溶液中快速水解(逆转), 并且必须还原成烷基胺(仲胺)键才能使其稳定。氰基硼氢化钠(NaCNBH_3)是一种温和的还原剂, 能够有效地发挥这一还原功能, 并且不会还原生物样本中的其他化学基团(图13)。与碳二亚胺交联化学(羧基到氨基)一样, 还原胺化(醛到胺)是一种零长度交联方法。

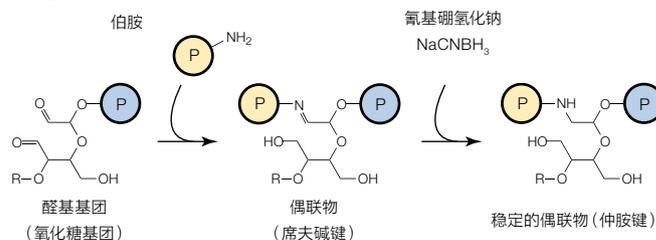


图13.还原胺化, 醛和伯胺的偶联。初始反应产生弱的、可逆席夫碱键。使用氰基硼氢化钠还原产生稳定的、不可逆的仲胺键。

非特异性化学反应基团

光反应性交联剂广泛用于非特异性生物偶联。尽管存在大量光反应基团(图14),但两种最常见的光反应性化学基团是双吡丙啶和芳香叠氮化物。光反应基团通过紫外光活化,可在体外和体内使用。

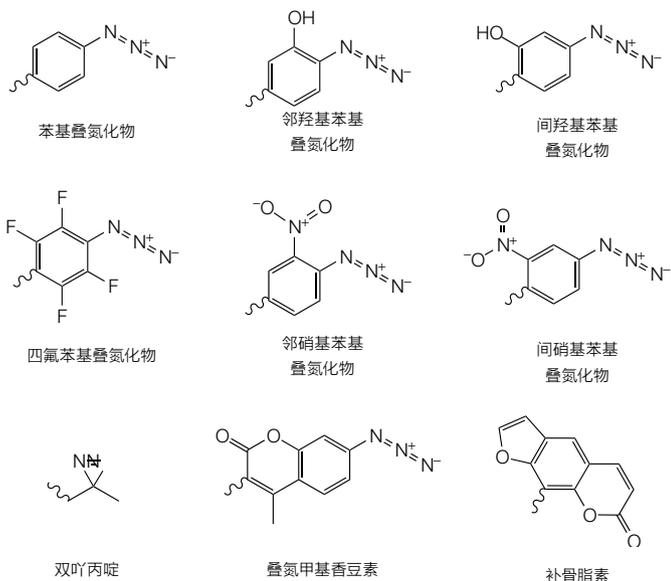


图14. 用于生物偶联的常见光反应性化学基团。

芳香叠氮 (Aryl azides)



光反应性试剂是化学惰性化合物,当暴露于紫外光或可见光时会产生反应活性。历史上,芳香叠氮(也称为苯基叠氮化物)已经是用于交联和标记试剂的最常用的光反应性化学基团。

光反应性试剂最常用作异型双功能交联剂以捕获相互作用的结合配体。使用交联剂的氨基-或巯基-反应性末端标记纯化的诱饵蛋白。然后将标记的诱饵蛋白加入裂解物中并与相互作用的因子或者配体相结合。最后,使用紫外光活化苯基叠氮基团引发相互偶联。

芳香叠氮化学反应

当芳香叠氮暴露于紫外光(250-350 nm)时,其会形成一个氮烯基团,该基团可以引发与双键的加成反应、向C-H和N-H位点的插入或随后的扩环以与亲核体(例如,伯胺)反应。当样本中存在伯胺时,后一反应路径占主导地位(图15)。

在光活化之前和期间的所有步骤中,样本溶液中均不得存在含硫醇的还原剂(例如,DTT或β-巯基乙醇),因为它们会将叠氮功能基团还原成胺,从而阻止光活化。反应可以在各种无氨基缓冲液的条件下进行。如果使用异型双功能光反应性交联剂,请使用与相关的两种化学反应基团均相容的缓冲液。实验必须在柔和的光线下和/或用箔覆盖的反应容器中进行,直到达到预期的光反应。通常,将手持式紫外灯放在靠近反应溶液的位置并直接照射(即,不通过玻璃或聚丙烯)几分钟,即可完成光活化。

存在三种基本形式的芳香叠氮:简单的苯基叠氮化物、羟基苯基叠氮化物和硝基苯基叠氮化物。通常,需要使用短波长紫外光(例如,254nm;265-275nm)来有效地活化简单的苯基叠氮化物,而长紫外光(例如,365nm;300-460nm)可充分满足硝基苯基叠氮化物的活化要求。由于短波紫外光可能对其他分子有害,因此硝基苯基叠氮化物通常是交联实验的优选方案。

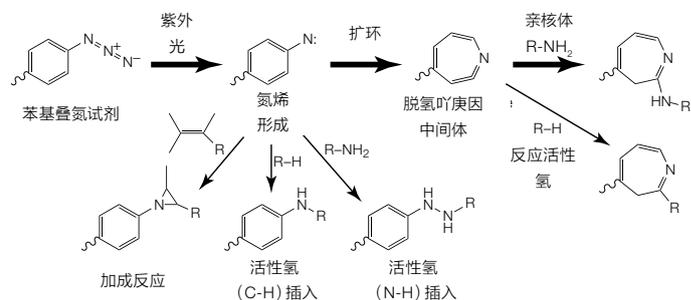
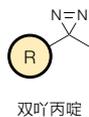


图15.光活化的芳香叠氮的光化学偶联反应图式。波浪形键表示具有苯基叠氮化物反应基团的标记试剂或交联剂的一端;(R)表示含有亲核或活性氢基团的蛋白质或其他分子。粗体箭头表示主导路径。卤代芳香叠氮从活化的氮烯状态中直接反应(没有扩环)。

双吡丙啶 (Diazirines)



双吡丙啶是一种更新型的可光活化的化学基团，应用于交联和标记试剂中。双吡丙啶（重氮甲烷）残基具有比苯基叠氮基团更佳的光稳定性，使用长波紫外光 (330-370 nm) 可更易于将其有效活化。

双吡丙啶化学反应

双吡丙啶的光活化会产生反应活性碳烯中间体 (图16)。这些中间体可以在与特定试剂的间隔臂长度相应的距离下，通过与任何氨基酸侧链或多肽骨架的加成反应形成共价键。氨基酸的双吡丙啶类似物可通过翻译掺入到蛋白质结构中，使特定的重组蛋白能够作为交联剂被活化。

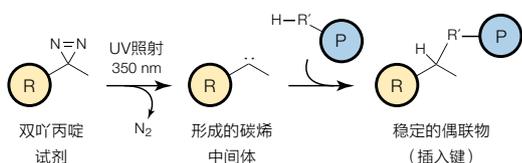
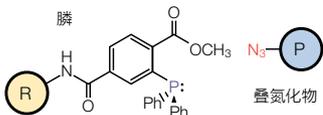


图16. 双吡丙啶的光活化偶联的反应图式。(R) 表示具有双吡丙啶反应基团的标记试剂或交联剂的一端；(P) 表示含有亲核或活性氢基团 (R*) 的蛋白质或其他分子。

化学选择性连接



化学选择性连接是指使用相互特异的偶联试剂对。与生物研究中使用的典型交联方法不同，该化学反应依赖于一对彼此特异并且不来自生物系统的独特反应基团。因为这些反应

(叠氮化物-炔烃或叠氮化物-磷) 不会在细胞中发生，所以在生物样本中仅有这些功能基团相互反应，因而产生的背景和假阳性极少，由此使用术语“化学选择性”。这些特殊形式的交联最常用于体内代谢标记。

叠氮化物-炔烃反应的化学选择性

Invitrogen™ Click-iT™ 技术使用叠氮化物和炔烃作为特异性结合残基，采用两步法，首先进行标记，然后检测目标分子。叠氮化物和炔烃可以在“点击 (Click)” 反应中交换使用，因此任一种都可以用作经标记的底物或标记用于检测步骤。

由于叠氮化物和炔烃是极小且生物相容的化学基团，这些分子可以掺入到生物系统中而不破坏细胞功能，并且通常掺入到核酸、复合多糖和蛋白质中。

如果将叠氮化物掺入到细胞蛋白质中，可以使用标记有 Invitrogen™ Alexa Fluor™ 染料的炔烃对其进行标记。相反，如果将炔烃掺入到细胞蛋白质中，可以使用标记有 Alexa Fluor 染料的叠氮化物对其进行标记。Click-iT Plus 试剂的温和反应条件有助于保留荧光蛋白的活性，因此 Click-iT 反应可与 GFP 或 R-PE 一起使用进行多重检测。

叠氮化物-磷反应的化学选择性

施陶丁格 (Staudinger) 反应在甲酯磷 (PH_3) 和叠氮化物 (N_3^-) 之间发生，产生氮杂-叶立德中间体，该中间体被捕获以形成稳定的共价键 (图17)。

施陶丁格连接涉及叠氮基生物正交探针与磷化合物的反应。与点击化学相似，施陶丁格连接反应具有高度特异性，并且可以在生理 pH 下的水环境中进行。施陶丁格连接不需要铜辅助，即可具有反应活性。虽然这增加了施陶丁格连接的生物相容性，但由于没有催化剂，此类反应也往往比点击反应慢。

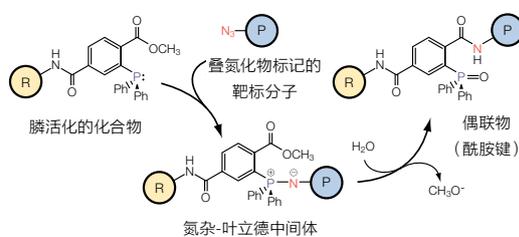


图17. 施陶丁格连接反应图式 (叠氮化物-磷偶联)。磷活化的蛋白质或标记试剂与叠氮化物标记的靶标分子反应形成氮杂-叶立德中间体，该中间体在水性条件下快速重排以在反应物分子之间形成稳定的酰胺键。

生物偶联试剂的分子特征

简介

生物偶联试剂的选择是基于它们的化学反应活性和其他化学特性, 这些其他化学特性会影响它们在不同应用中的效果。需要考虑的几个关键因素包括: 反应活性末端的化学特异性、反应条件以及是否需要为目标蛋白或多肽进行进一步修饰以实现生物偶联。影响生物偶联试剂的功能、特异性和溶解度的其他重要因素包括: 间隔臂长度、可切割性、组成以及结构(表3)。

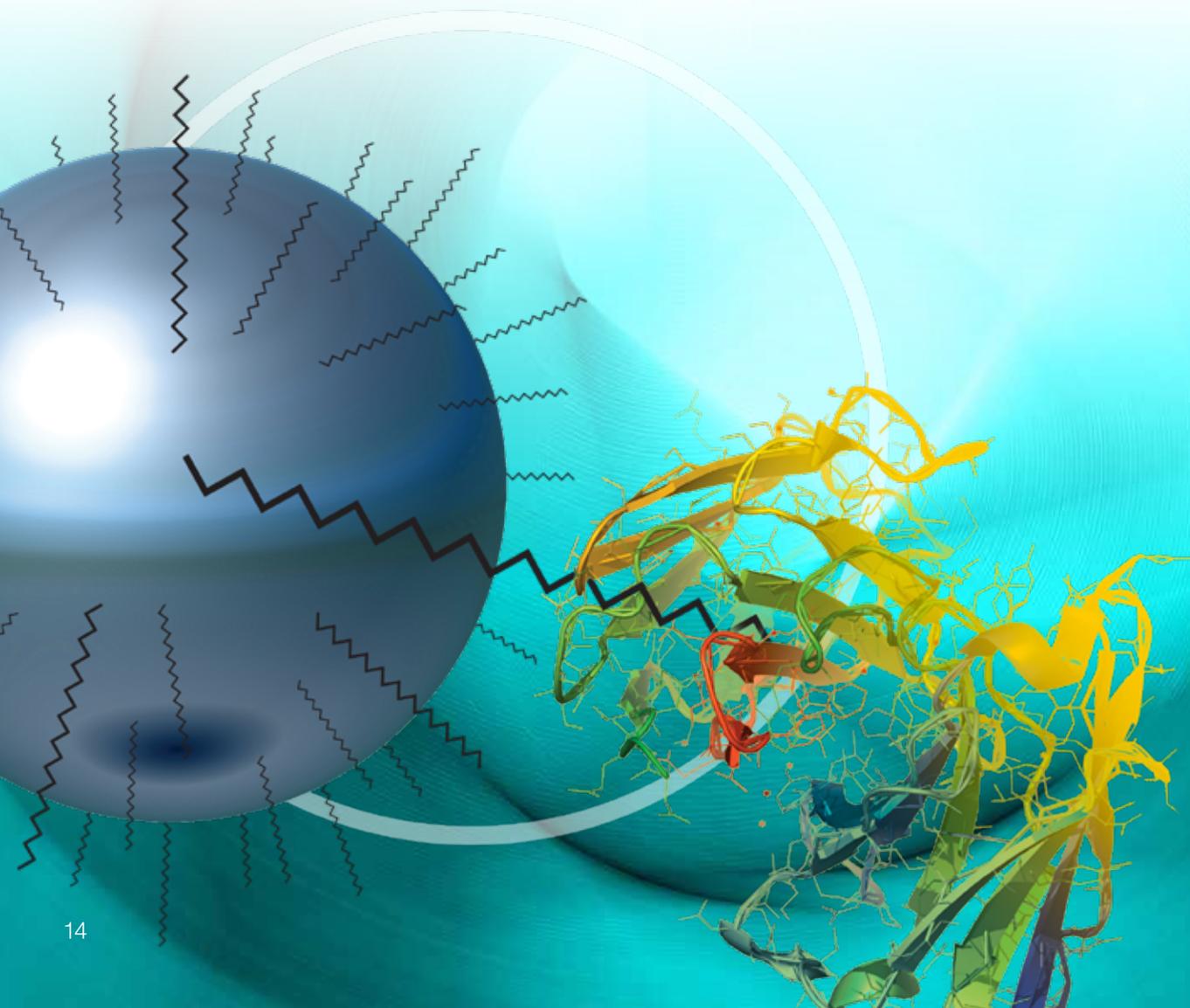
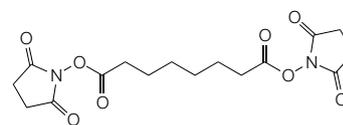


表3. 生物偶联试剂的分子特征。

化学特异性	交联剂活性末端靶向的靶标分子的功能基团。通常需要考虑试剂的两端具有的反应基团是相同的还是不同的(分别称为同型双功能和异型双功能)。
一般反应条件	进行生物偶联所需的缓冲液系统。变量包括pH值、缓冲液浓度和蛋白质浓度。
修饰	这些特殊试剂可增加分子量,产生可在后续反应步骤中新的靶向功能基团或者增加溶解度。
间隔臂长度	交联剂的分子跨度(即偶联分子之间的距离)。相关的考虑因素是,连接是否可切割或可逆。
间隔臂组成	间隔臂内的化学基团。
间隔臂可切割性	化学反应基团之间的间隔臂内是否存在切割位点。
链结构和溶解度	直链或者支链结构的存在会影响到交联剂或修饰剂是否可以穿过细胞膜,或者由于其不能穿过细胞膜而与细胞膜表面的疏水蛋白交联。这些性质由间隔臂和/或反应基团的组成决定。

同型双功能和异型双功能交联剂

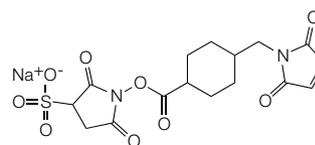
交联剂可以分为同型双功能或异型双功能交联剂。同型双功能交联剂在间隔臂两端具有相同的反应基团(图18)。通常,它们只能用于一步法反应过程中,以随机“固定”或聚合含有相似功能基团的分子。例如,将氨基-氨基交联剂添加到细胞裂解液中,将导致蛋白质亚基、相互作用蛋白质以及在溶液中其赖氨酸侧链恰好彼此邻近的任何其他多肽发生随机偶联。这是捕获所有蛋白质相互作用的“快照”的理想方法,但不能满足需要精确交联的应用需求。例如,当制备抗体-酶偶联物时,目标是在不形成任何抗体-抗体键的情况下将一个至多个酶分子与每个抗体分子连接。而同型双功能交联剂无法达成此目标。



DSS, 二琥珀酰亚氨基辛二酸酯
MW 368.34
间隔臂11.4Å

图18. 同型双功能交联剂示例。DSS是一种常用的简单交联剂,其在短间隔臂的两端具有相同的靶向氨基的NHS酯基团。间隔臂长度(11.4Å)是最终的偶联分子(即靶标氨基中的氮分子)之间的最大分子距离。

异型双功能交联剂的两端具有不同的反应基团(图19)。这些试剂不仅可以对具有各自靶标功能基团的分子进行单步法偶联,而且可以进行顺序(两步法)偶联,最大程度的减少不想要的聚合或自身偶联。在顺序偶联过程中,首先使用交联剂最不稳定的基团使异型双功能试剂与一种蛋白质反应。除去过量的未反应的交联剂后,将经修饰的第一种蛋白质加入到含有第二种蛋白质的溶液中,在该溶液中,通过交联剂的第二反应基团发生反应。最广泛使用的异型双功能交联剂在其一端具有与氨基反应的琥珀酰亚胺酯(NHS酯),另一端具有与巯基反应的活性基团(例如马来酰亚胺)。由于NHS酯基团在水溶液中较不稳定,所以它通常先与一种蛋白质反应。如果第二种蛋白质不具有可用的天然巯基,则可在偶联之前添加一步,使用巯基试剂为该蛋白添加巯基。



Sulfo-SMCC, 磺基琥珀酰亚氨基4-(N-马来酰亚氨基甲基)环己烷-1-羧酸酯
MW 436.37
间隔臂8.3Å

图19. 异型双功能交联剂示例。Sulfo-SMCC是一种常用的交联剂,其在一端具有与氨基反应的Sulfo-NHS酯基团(左),在环己烷间隔臂的相对端具有与巯基反应的马来酰亚胺基团(右)。这使其可以用于两步法顺序偶联。

更多信息请访问

thermofisher.com/proteincrosslinking

某些交联剂具有三个末端，被称为三功能交联剂或标记转移试剂。这些化合物通常具有两个化学反应活性功能基团和一个标记基团，例如生物素基团。常用的一种三功能交联剂是 Sulfo-SBED (图20)。

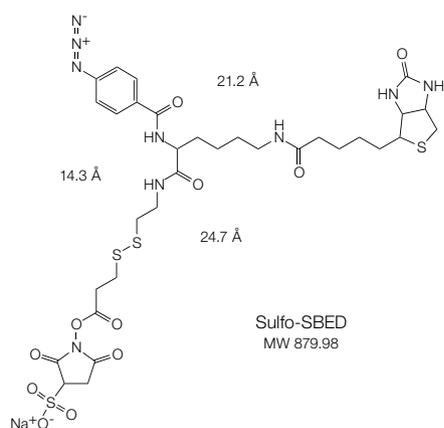


图20. 三功能交联剂示例: Sulfo-SBED。

一般反应条件

在许多应用中，必须保持蛋白质复合体的天然结构，因此最常在接近生理的条件下进行交联。表4总结了常用反应基团适合的反应缓冲液。尽管各试剂的产品说明书通常包含常规应用的指南和建议，但反应中的交联剂/蛋白的最适摩尔比例必须凭经验确定。

偶联程度是一个重要的考虑因素，具体取决于特定的应用。例如，当制备免疫原偶联物时，需要高度偶联以增加抗原的免疫原性。然而，当抗体或酶偶联时，低至中等程度的偶联可能最有利于保留蛋白质的生物活性。

蛋白质表面的功能基团数量也是重要的影响因素。如果存在许多靶标基团，则可以使用较低交联剂/蛋白比例。对于潜在靶标数量有限的情况，可能需要更高的交联剂/蛋白比例。此外，如果有两种以上的组分组成偶联物，不仅会增加分析难度，而且能获取的蛋白质亚基空间排布方式信息会更少，因此应尽量减少组分数量。

表4. 反应基团特征总结。

反应基团	靶标分子	反应缓冲液	最佳反应pH范围
氨基 Amine	醛(氧化碳水化合物) 羧酸(经EDC修饰)	PBS(无氨基) MES	pH 7.2 pH 4.5-7.2
芳香叠氮 Aryl azide	未取代的芳香叠氮 氮主要与氨基反应	PBS(无氨基)	
碳二亚胺 Carbodiimide	羧酸、羟基	MES或PBS	pH 4.5-7.2
酰肼 Hydrazide	醛、 酮	0.1 M 乙酸钠/磷酸盐 MES/无氨基 缓冲液	pH 5.5-7.5 pH 4.5-7.2 不超过pH 7.5
亚氨酸酯 Imidoester	氨基	PBS、硼酸盐、碳酸盐/碳酸氢盐、HEPES	pH 8-9
碘乙酰基 Iodoacetyl	巯基	PBS、硼酸盐、碳酸盐/碳酸氢盐、HEPES	pH 7.5-8.5
异氰酸酯 (PMPI)	羟基 胺	非水性	
马来酰亚胺 Maleimide	巯基	无硫醇	pH 7最佳 pH 6.5-7.5
NHS酯 NHS ester	氨基	PBS、硼酸盐、碳酸盐/碳酸氢盐、HEPES	pH 7.5最佳 pH 7.2-8.5
吡啶二硫基 Pyridyl disulfide	巯基	无硫醇	pH 7-8
乙烯基砷 (HBVS)	巯基	无硫醇	pH 8

修饰

蛋白质分析和检测技术通常需要的不仅仅是与双功能交联剂或活化标记试剂的直接偶联。例如，在许多情况下，需要特殊的蛋白质修饰来增加分子量，增加溶解度以便储存，或产生可在后续反应步骤中可作为靶标的新功能基团。蛋白质修饰试剂是封闭、添加、改变或延伸功能基团的化学品。

蛋白质巯基(半胱氨酸侧链)是蛋白质结构和功能的重要调控因子。还原剂用于防止蛋白质的半胱氨酸残基之间形成分子内和分子间二硫键，以便能够进行交联或修饰。这种还原有时在变性条件下进行，以增强难以接近的二硫键的反应活性。二硫苏糖醇(DTT)、β-巯基乙醇(BME)和三(2-羧乙基)膦盐酸盐(TCEP-HCl)经常用于还原蛋白质的二硫键。TCEP•HCl是一种高效的、多功能、无味、无硫醇的还原剂，广泛应用于蛋白质研究和其他涉及还原二硫键的研究中(图21)。这种独特的

化合物易于溶解,在许多水溶液中都非常稳定。TCEP可与二硫苏糖醇(DTT)一样有效地还原二硫键,但与DTT和其他含硫醇还原剂不同的是,TCEP在某些巯基反应性交联反应前无需特地去除。

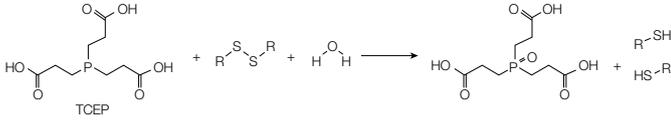


图21. TCEP还原生物偶联试剂和蛋白质中的二硫键。

促溶剂和变性化学试剂,包括尿素和盐酸胍,会破坏水的相互作用并有助于疏水蛋白和多肽的溶解、洗脱、重折叠和结构分析。

某些试剂能够与巯基基团永久(例如NEM)或可逆地(例如MMTS)反应这些试剂在天然巯基上添加一个非常小的“帽”,能特异性调控某些酶的活性,以便应用于特定的检测(图22)。

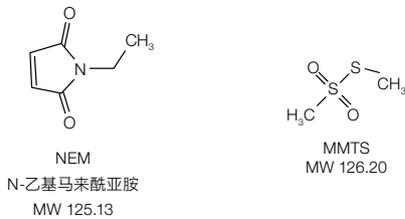
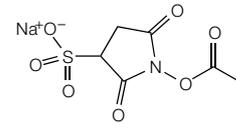


图22. 可使用NEM和MMTS封闭巯基。

Sulfo-NHS乙酸酯是一种蛋白质修饰试剂,其在pH 7.0-9.0的条件下与伯胺反应,可以在多种无氨基的标准缓冲液中进行修饰。一旦发生反应,氨基就不可逆地戴上酰基基团的“帽子”。如需实现可逆的氨基后封闭,使用Thermo Scientific™ Pierce™ 柠檬酸酐(货号20907)。当进行蛋白质交联反应以及将多肽与载体蛋白偶联以产生免疫原时,通常使用Sulfo-NHS乙酸酯来防止聚合。封闭多肽上的氨基可以使用Thermo Scientific™ EDC(货号29980)将多肽上的羧酸定向偶联至蛋白质上的伯胺。



Sulfo-NHS乙酸酯
MW 259.17

图23. Sulfo-NHS乙酸酯是一种用于封闭伯胺的蛋白质修饰试剂。

SATA和相关试剂含有氨基反应基团和受保护的巯基基团。通过将化合物与纯化的蛋白质反应,赖氨酸残基的侧链可以被添加上巯基,以便使用巯基特异性交联剂或固定化学试剂对其进行靶向。该方法实际上未将氨基转化为巯基;相反,它将含巯基的基团附着到伯胺上,以此可将侧链的长度延长数埃。

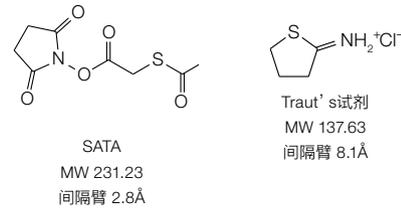


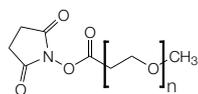
图24. 使用SATA或Traut's试剂可将巯基转化为氨基。

将单链或支链聚乙二醇(PEG)基团化学附着到蛋白质上是一种标记或修饰形式,主要用于赋予蛋白质水溶性和/或惰性分子量。通过合成而得以含有化学反应基团的PEG形式组成了用于聚乙二醇化的即用型活化试剂(图25)。

更多信息请访问

thermofisher.com/proteinmodification

MS (PEG) n
甲基 - PEGn - NHS酯
琥珀酰亚胺基 - (N-甲基) - # 乙二醇 酯



n = 8
MS (PEG) 8
MW 509.4
间隔臂 30.8 Å

n = 12
MS (PEG) 12
MW 685.71
间隔臂 44.9 Å

n = 24
MS (PEG) 24
MW 1214.39
间隔臂 88.2 Å

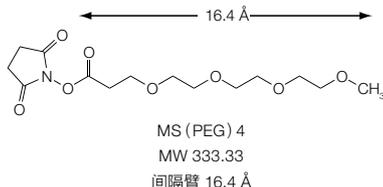
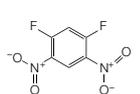


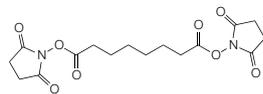
图25. 单链、氨基反应性聚乙二醇化试剂示例。

间隔臂长度

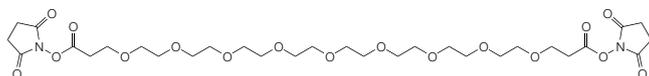
间隔臂是两个反应基团之间或一个反应基团和一个标记分子之间的化学链。间隔臂的长度(以Å为测量单位)决定了偶联物的柔韧性。间隔臂越长则柔韧性越强并且位阻越小。但是间隔臂过长时也需当心其会产生更多潜在在非特异性结合的位点。间隔臂的长度范围为从零长度到超过100Å(图26)。



DFNB
1,5-二氟-2,4-二硝基苯
MW 204.09
间隔臂 3.0 Å



DSS
二琥珀酰亚胺基辛二酸酯
MW 368.34
间隔臂 11.4 Å



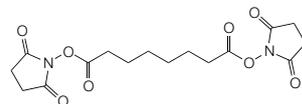
BS (PEG) 9
双(琥珀酰亚胺基)壬(乙二醇)
MW 708.71
间隔臂 35.8 Å

图26. 不同长度的间隔臂。

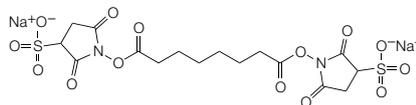
间隔臂组成

生物偶联间隔臂的分子组成会影响溶解度和非特异性结合。传统交联剂和标记试剂的间隔臂包含烃链或聚乙二醇(PEG)链。烃链不溶于水,并且通常需要有机溶剂(如DMSO或DMF)才可进行溶解。由于这些试剂疏水且不带电荷,因此更适合穿透细胞膜并进行细胞间交联。如果将带电荷的

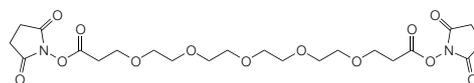
基团,比如磺酸基(Sulfo-),添加至疏水性交联剂的末端,则会形成水溶性类似物。其中一个很好的示例就是DSS与BS3的比较。DSS可溶于有机溶剂,而BS3可溶于水性缓冲液。BS(PEG)5则由于具备PEG间隔基,也有溶于水的特性(图27)。



DSS
二琥珀酰亚胺基辛二酸酯
MW 368.34
间隔臂 11.4 Å



BS³
双(磺基琥珀酰亚胺基)辛二酸酯
MW 572.43
间隔臂 11.4 Å

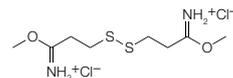


BS (PEG)₅
双(琥珀酰亚胺基)戊(乙二醇)
MW 532.50
间隔臂 21.7 Å

图27. 具有各种间隔臂组成的同型交联剂。

间隔臂的可切割性

交联剂和蛋白质修饰试剂与其目标蛋白质反应可成稳定的共价键,但是在某些应用中,需要能够破坏该键并恢复各个组分。此时可以选择使用在间隔臂中含有切割位点的生物偶联试剂。最常用的切割位点是二硫键,它可以被常见的还原剂(如β-巯基乙醇、二硫苏糖醇或TCEP)轻易地还原。其中一个示例是交联剂DTBP(图28)。



DTBP
3,3'-二硫代双丙基亚氨酸二甲酯二盐酸盐
MW 309.28
间隔臂 11.9 Å

图28. DTBP间隔臂中的二硫键能够被标准还原剂轻松还原,以此达到切割蛋白质偶联物的目的。

间隔臂结构和溶解度

交联剂通常具有一个直链间隔臂，但蛋白质修饰试剂的间隔臂类型则更具有多样性。其中一个很好的示例是 Thermo Scientific™ 聚乙二醇化试剂，该试剂可以具有直链或支链间隔臂。例如，CA (PEG) 是直链聚乙二醇化试剂，而 TMM (PEG)₁₂ 是支链试剂 (图29)。

许多交联剂因其疏水性间隔臂而在水溶液中具有有限的溶解度。通常将这些交联剂溶解于DMF或DMSO中，然后将其加入待交联的生物体系或生物分子溶液中。疏水性交联剂能够穿过细胞膜和细胞器膜并影响膜的外表面和膜结合空间内的交联。通常不便或不希望将有机溶剂引入生物系统的交联程序。在许多情况下，还希望仅影响细胞膜或细胞器膜的外表面上的交联而不改变细胞或细胞器的内部情形。对于这种情况，有多种水溶性、不透膜的交联剂可供选择。

有些交联剂含有由PEG亚基形成的间隔臂，可产生富含氧原子的聚环氧乙烷 (PEO) 链从而提供水溶性。这些交联剂的名称中包含 (PEG) n，均具有水溶性并且不能渗透生物膜。它们可将亲水间隔插入到交联复合物中，降低复合物聚集和沉淀的可能性，提供了额外好处。

其他交联剂间隔臂任一端带上带电荷的反应基团，则可具备水溶性和渗透膜的能力。这些带电荷的反应基团 (例如 Sulfo-NHS 酯或亚氨酸酯) 赋予交联剂水溶性，但不赋予交联复合物水溶性，因为反应基团不是最终复合物的一部分。

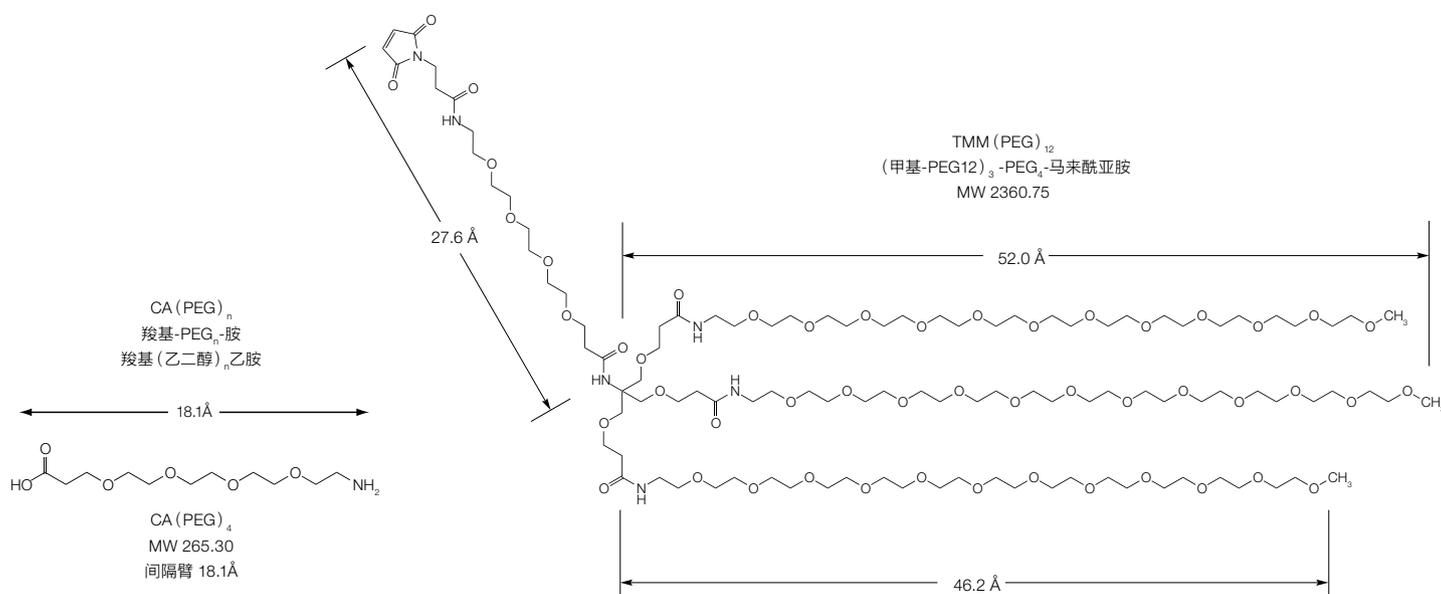


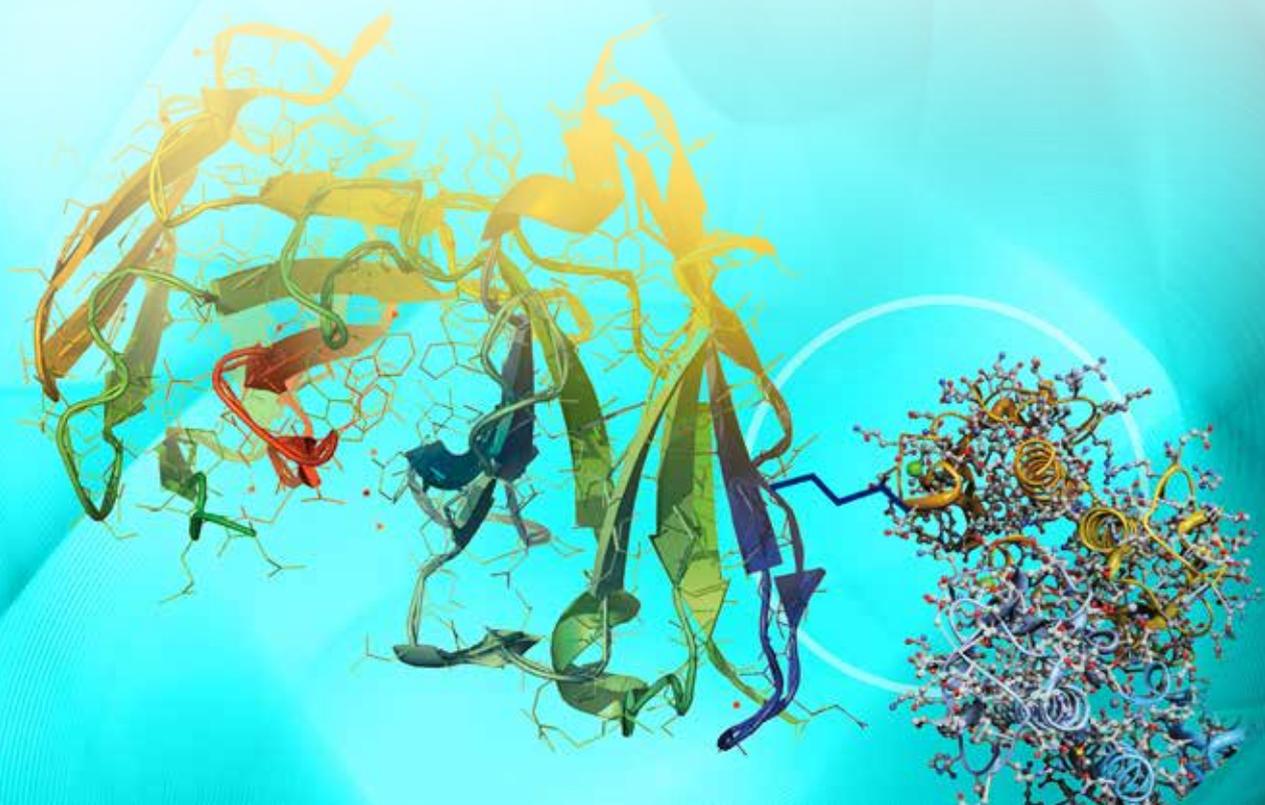
图29. 直链和支链蛋白质修饰试剂。

生物偶联试剂的应用

简介

生物偶联试剂在生命科学研究和检测开发中有多种用途。其中包括蛋白和多肽的生物素化、蛋白和多肽的荧光标记、将蛋白质固定在固相支持物上、半抗原-载体偶联、蛋白-蛋白偶联、产生免疫毒素、标记转移、亚基交联和蛋白质结构研究、使用质谱法进行蛋白质相互作用和交联、体内交联、代谢标记、细胞表面交联和细胞膜结构研究。

蛋白质偶联物常用于对复杂的生物样本进行纯化和检测。通常，抗体是生物偶联的靶标，常见的标记有生物素和化学反应荧光染料等。在标记过程中，NHS酯是最广泛使用的方法，通过对可用的赖氨酸残基进行标记。



蛋白和多肽的生物素化

亲和素与生物素（维生素H）的高度特异性相互作用可以成为设计非放射性纯化和检测系统时的有力工具。亲和素对生物素的卓越亲和力 ($K_a = 10^{15} \text{ M}^{-1}$) 是目前已知的最强的蛋白质和配体的非共价相互作用，这种亲和力使复杂混合物中的含生物素分子可与亲和素偶联物不连续地结合。脱硫生物素是一种生物素的修饰形式，其与亲和素以及链霉亲和素的结合不如生物素的结合紧密，但仍然在亲和纯化方法中提供了极好的特异性。与用生物素标记的生物分子不同，用脱硫生物素标记的蛋白质和其他靶标可不需要苛刻的变性条件即可洗脱（图30）。

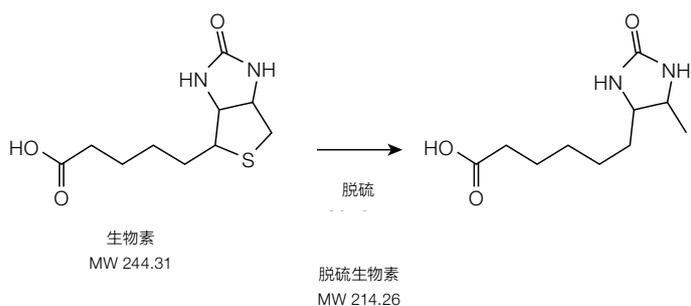


图30. 生物素和脱硫生物素的化学结构比较。

Thermo Scientific™生物素化标记试剂广泛用了这种独特的相互作用。生物素是一种在所有活细胞中都以微量存在的244道尔顿的维生素，其对亲和素分子具有较高的亲和力。由于生物素是一种相对较小的分子，因此它可以与许多蛋白质偶联而不会显著改变它们的生物活性。生物素分子的戊酸侧链可以衍生化，以掺入各种反应基团，这些基团被用来连接生物素和其它分子。使用这些反应基团，生物素可以很容易地附着在大多数蛋白和多肽上。

生物素化试剂可用于靶向各种功能基团，包括伯胺、巯基、碳水化合物和羧基。此外还有对光活化产生非特异性反应的光敏性生物素化合物可供选择。这种功能基团特异的种类多样非常有用，有助于选择不会使靶标大分子失活的生物素化试剂。

此外，还有多种可切割或可逆的生物素化试剂可供选择，其允许从结合了生物素的蛋白和多肽中对生物素化分子进行特异性洗脱。最常用的生物素化试剂，N-羟基琥珀酰亚胺（NHS）酯和N-羟基磺基琥珀酰亚胺（Sulfo-NHS）酯与伯胺反应（图31）。虽然生物素的NHS酯是最常用的生物素化试剂，但对于某些应用，它们并不一定是最佳选择。如果仅靶标蛋白质上仅有部分伯胺发生反应，则使用生物素的NHS酯的反应将导致生物素在蛋白质表面上随机分布。如果特定的伯胺对蛋白质的生物活性至关重要，则对此种关键氨基的修饰可能导致其生物活性丧失。根据生物素化程度的不同，可能会发生完全丧失活性的情况。

抗体比任何其他类型的蛋白质更频繁地被生物素化，以保持免疫反应性的方式进行生物素化大有裨益。Thermo Scientific™Sulfo-NHS-LC-生物素是标记单克隆和多克隆抗体的卓越选择，因为它是最简单且通常是最有效的方法。

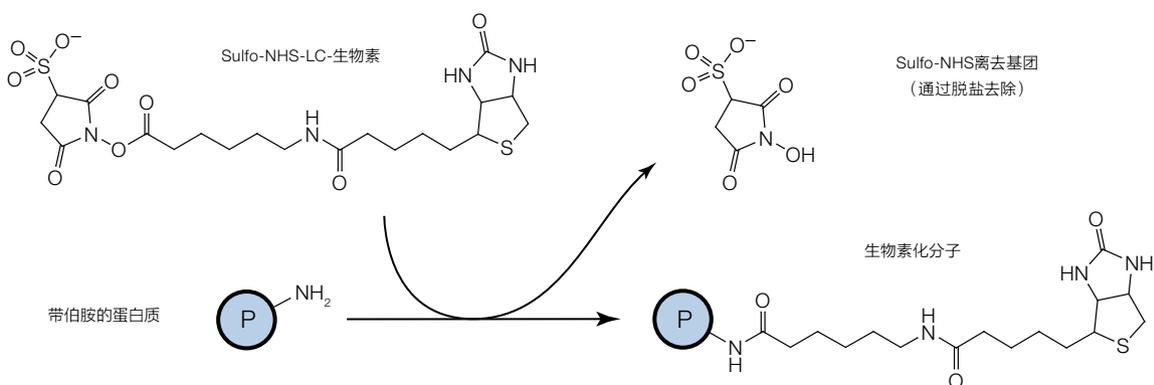


图31. 使用NHS酯化学的生物素化。

了解一种抗体可供选择的功能基团是确定修饰策略的关键。

- 伯氨基团 (-NH₂) 存在于赖氨酸侧链和每条多肽链的氨基末端。
- 通过还原铰链区中的二硫键可以产生巯基 (-SH)。
- 可以氧化含有顺式二醇的碳水化合物残基以产生活性醛 (-CHO)。

对抗体修饰已有优化好的快速、可靠的实验流程。如果抗体的抗原结合位点富含赖氨酸，则氨基反应性试剂可抑制抗原结合。传统的策略是使用与巯基或醛基基团反应的生物素衍生物。

这些传统方法的一种简单替代方案是SiteClick™抗体标记系统（图32），其允许以简单且温和的位点选择性方式将检测分子附着在重链N-联聚糖上——远离抗原结合结构域。由于N-联聚糖高度保守，因此这种方法无论是对抗体的重复标记还是标记不同的抗体都显示了优异的重复性。这一简单的方法基于无酶和无铜催化的点击（Click）化学。除了生物素之外，还有许多不同的检测分子可以通过位点选择性方法标记到重链聚糖上——包括藻胆蛋白（例如R-PE）、Invitrogen™ Qdot™探针、Alexa Fluor染料和金属螯合化合物。

蛋白和多肽的荧光标记

荧光分子（也称为荧光基团）对光产生直接和明显的反应并产生可检测的信号。与酶或生物素不同，荧光标记不需要额外的试剂即可进行检测。这一特性使荧光基团用途极为广泛，是检测蛋白质定位和活化、鉴定蛋白质复合体形成和构象变化以及监测体内生物过程的新标准。如今，大量可供选择的荧光基团为研究应用提供了前所未有的灵活性、多样性和荧光基团的性能。使用活性荧光染料标记的生物分子，可通过荧光显微镜、流式细胞术、高内涵分析、高密度阵列、体内成像、免疫印迹和免疫染色进行检测。可供选择的荧光染料使用NHS酯化学或马来酰亚胺化学活化，分别用于标记伯胺和经还原的巯基。此外，还提供了各种荧光衍生物，用于双正交标记和点击（Click）化学，以及用于修饰醇、醛和酮。选择活性染料的关键考虑因素有亮度、光稳定性、仪器兼容性、颜色选择、pH不敏感性以及水溶性。

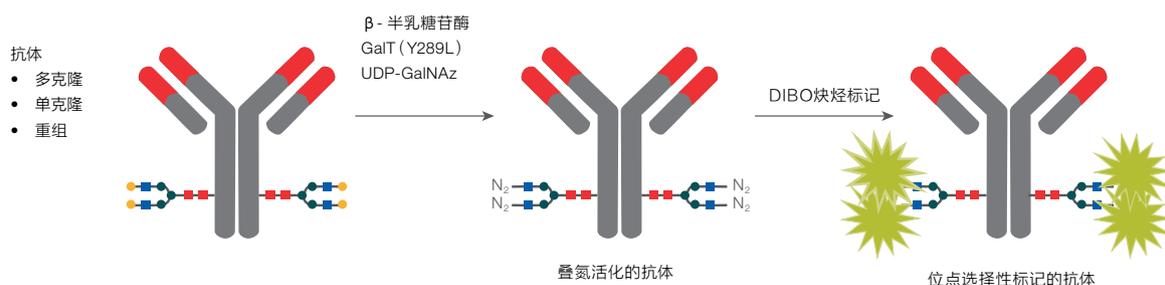


图32. SiteClick抗体标记系统。 SiteClick抗体标记过程的第一步涉及使用 β -半乳糖苷酶从重链N-联聚糖中去除末端半乳糖残基，暴露出所有可能的可修饰GlcNAc（N乙酰葡萄糖胺）残基。在第二步中，利用GalT（Y289L）酶将GalNAz酶促附着于末端GlcNAc残基，实现对游离的末端GlcNAc残基的叠氮标记活化。在第三步中，叠氮残基与所选择的二苯并环辛炔（DIBO）官能化的探针（例如，Alexa Fluor 488 DIBO炔烃）反应。平均标记程度为每个抗体3-3.5个标记。

详情请访问 [thermofisher.com/siteclick](https://www.thermofisher.com/siteclick)

表5. 活性荧光染料概览。

发射光颜色	Ex/Em (nm)	荧光基团	氨基反应性	硫醇反应性	化学选择性 (Click-iT)	-COOH或 -NH ₂ 末端
蓝色	346/442	Alexa Fluor 350	•	•		•
蓝色	402/421	Alexa Fluor 405	•			
蓝色	410/455	Pacific Blue	•	•		
蓝色	375/470	7-Aminocoumarin	•			•
绿色	500/506	BODIPY 493/503	•			
绿色	505/513	BODIPY FL	•	•		•
绿色	494/518	Fluorescein (FITC)	•	•		•
绿色	495/519	Alexa Fluor 488	•	•	•	
绿色	505/520	iFL pHrodo Green	•		•	
绿色	495/524	Oregon Green 488	•	•	•	•
绿色	405/525	Qdot 525			•	•
黄色	511/530	Oregon Green 514	•			•
黄色	517/542	Alexa Fluor 514	•			
黄色	434/539	Alexa Fluor 430	•			
黄色	405/545	Qdot 545				•
橙色	528/550	BODIPY R6G	•			
橙色	400/551	Pacific Orange	•			
橙色	531/554	Alexa Fluor 532	•	•		
橙色	534/554	BODIPY 530/550	•			
橙色	405/565	Qdot 565	•		•	•
橙色	555/565	Alexa Fluor 555	•	•	•	•
橙色	558/569	BODIPY 558/568	•			

表5.活性荧光染料概览。(接上页)

发射光颜色	Ex/Em (nm)	荧光基团	氨基反应性	硫醇反应性	化学选择性 (Click-iT)	-COOH或 -NH ₂ 末端
橙色/红色	542/574	BODIPY TMR	•	•		
橙色/红色	556/575	Alexa Fluor 546	•	•		
橙色/红色	555/580	Tetramethylrhodamine (TMR; TRITC)	•	•	•	•
橙色/红色	405/585	Qdot 585			•	•
红色	570/590	Rhodamine Red (RITC)	•	•		
红色	576/590	BODIPY 576/589	•			
红色	566/590	iFL pHrodo Red	•		•	
红色	578/603	Alexa Fluor 568	•	•		
红色	405/605	Qdot 605			•	•
红色	580/605	X-Rhodamine (XRITC)	•	•		•
红色	595/615	Texas Red	•	•		•
红色	589/617	BODIPY TR	•			
红色	590/617	Alexa Fluor 594	•	•	•	
红色	405/625	Qdot 625			•	•
远红外光	625/640	BODIPY 630/650	•			
远红外光	632/647	Alexa Fluor 633	•	•		
远红外光	405/655	Qdot 655			•	•
远红外光	646/660	BODIPY 650/665	•			
远红外光	650/668	Alexa Fluor 647	•	•	•	
远红外光	679/702	Alexa Fluor 680	•	•		
近红外光	405/705	Qdot 705			•	•
近红外光	702/723	Alexa Fluor 700	•			
近红外光	749/775	Alexa Fluor 750	•	•		
近红外光	405/800	Qdot 800			•	•
近红外光	782/805	Alexa Fluor 790	•			

详情请访问 thermofisher.com/fluorophores

将蛋白质固定到固相支持物上

蛋白质、多肽和其他分子可以固定在固相支持物上，以便用于蛋白质的亲和纯化或用于样本分析。支持物可以是硝酸纤维素或其他膜材料、聚苯乙烯板或磁珠、琼脂糖、珠状聚合物或载玻片。有些支持物可被活化以直接与配体偶连。其它支持物由亲核体或其它功能基团制成，可通过使用交联剂使其与蛋白质偶连。碳二亚胺（如Thermo Scientific™ EDC（货号22980、22981））非常适用于将蛋白质偶联到羧基和氨基活化的玻璃、塑料和琼脂糖支持物上。碳二亚胺程序通常为一步法；但是，如果在有机溶剂中进行反应，或者如果使用Thermo Scientific™ NHS（货号24500）或 Sulfo-NHS（货号24510）来增强反应，则可以采用两步法。EDC可用于将配体偶联到固相支持物上以及将链索附着在亲和支持物上以用于随后的配体偶联。实用的间隔有二氨基二丙胺（DADPA）、乙二胺、己二胺、6-氨基己酸和多种氨基酸或多肽中的任何一种。当固定的配体离固体介质太近时，间隔臂可以帮助克服位阻效应，从而允许受体进入。

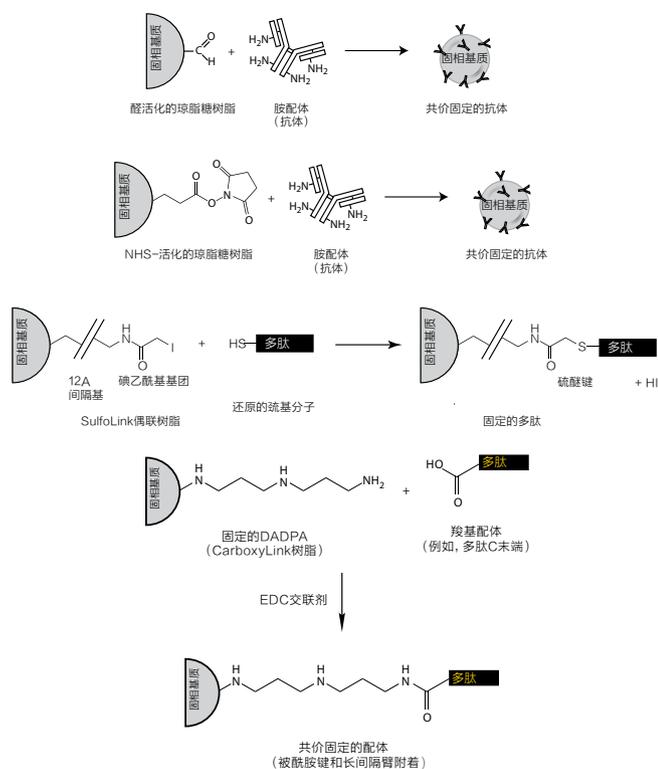


图33. 使用不同的生物偶联化学方式将生物分子固定在固相支持物上。

位阻效应通常在配体是小分子时最为明显。醛基活化的 Thermo Scientific™ AminoLink™ Plus琼脂糖树脂（货号20501）使用还原胺化，Thermo Scientific™ Pierce™ NHS活化的琼脂糖（货号26200）使用NHS酯化学，Thermo Scientific™ SulfoLink™ 树脂（货号20401）使用卤代乙酰基化学来固定分子，而Thermo Scientific™ CarboxyLink™树脂（货号20266）使用碳二亚胺化学（图33）。

ThermoScientific™ 交联剂DMP（货号21666）和DSS（货号21555）用于将抗体固定在蛋白A或蛋白G支持物上，以便进行抗原纯化。当抗体与Fc结合蛋白结合后，抗体被定向，仅留Fab区可用于抗原结合。DSS或DMP被应用于结合的抗体柱以通过伯胺连接两种蛋白质。Thermo Scientific™ Pierce™ 交联IP试剂盒（货号26147）基于上述化学原理，利用DSS将捕获的抗体共价固定到蛋白A/G琼脂糖树脂上。然后将抗体树脂与含有目标蛋白质抗原的样品一起孵育，形成抗体-抗原复合物。洗涤后，用试剂盒中提供的洗脱缓冲液从抗体中解离以回收抗原。整个程序在微量离心旋转杯中进行，在短暂离心后使溶液与琼脂糖树脂完全分离。该程序仅洗脱抗原，使其能够被鉴定并进行进一步分析而不受抗体片段的干扰。此外，抗体树脂通常可以重复用于更多轮的免疫沉淀。



图34. 使用DSS交联剂将捕获的抗体与蛋白A/G琼脂糖树脂共价连接。

使用基于PEG的试剂进行表面修饰

链长度不一的聚乙二醇 (PEG) 化合物可以提供分子尺寸已知的接头, 用于产生生物相容的平面表面或颗粒。尤其是, PEG 试剂的一端含有羧酸酯基团, 在另一端含有硫醇或硫辛酰氨基团, 可以有效地作为吸附表面和亲和配体之间的亲水性连接键。

在表面修饰中将CA (PEG)₁₂分子与MA (PEG)₈衍生物 (或CT (PEG)₁₂与作为硫醇试剂的MT (PEG)₈) 组合使用可以形成一个由甲基醚封端的PEG和周期性暴露的含羧酸的PEG构成的亲水性“草坪”(图35)。使用碳二亚胺与EDC和Sulfo-NHS的偶联反应, 可以将暴露的羧酸基团偶联到亲和配体上。此外, 用聚乙二醇间隔臂对固相表面进行官能化可显著降低非特异性蛋白质结合。

硫醇容易与金表面结合, 形成配位键, 已广泛用于各种表面修饰, 例如量子点、自组装单层和磁性颗粒表面。然而, 单齿硫醇可以通过诸如DTT等化合物轻易去除。双齿硫醇, 例如硫辛酰胺, 增加了纳米结构的稳定性水平, 并且更不易被DTT或类似试剂从金属表面去除。除了增加稳定性之外, 双齿硫醇还有更大的灵活性, 因为它们可以与各种金属表面 (例如, 金或银纳米颗粒) 发生结合。

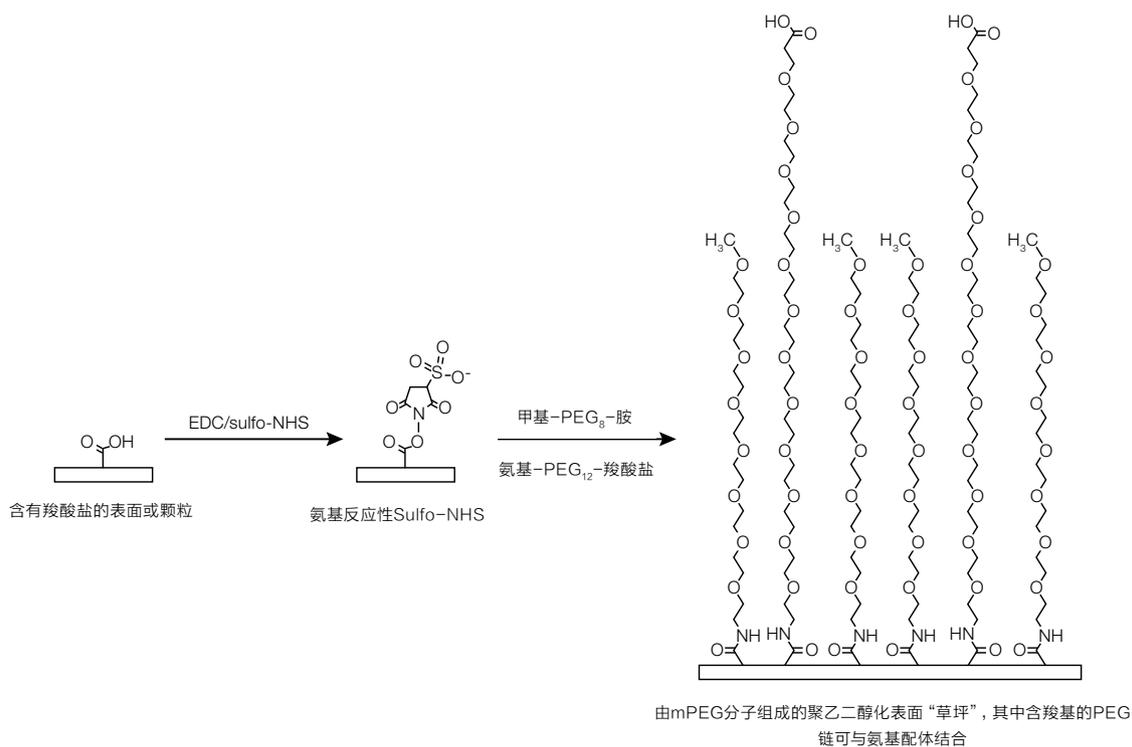


图35. 较短的甲基-PEG_n-胺试剂可与含有末端羧酸酯基团的较长PEG化合物组合使用, 以产生经典的“草中花”表面修饰。然后羧酸酯基团可以用来使用碳二亚胺与EDC和Sulfo-NHS的偶联程序来固定亲和基团。

详情请访问 thermofisher.com/pegylation

用于抗体制备的半抗原-载体偶联

可使用多种方法将半抗原与载体蛋白进行偶联。选择哪种偶联方法主要取决于半抗原上可以连接哪些功能基团、半抗原偶联的方向、半抗原与载体蛋白之间的间距以及偶联后是否会对半抗原的免疫原性产生影响。例如，蛋白和多肽具有伯胺（N-末端和赖氨酸残基的侧链）、羧基基团（C-末端或天冬氨酸和谷氨酸的侧链）和巯基（半胱氨酸残基的侧链），其都可作为偶联的靶标。通常，我们是通过交联剂将半抗原与载体蛋白中的众多伯胺进行偶联。

在利用半抗原制备免疫原的过程中，许多交联剂都可以用来制备作为免疫原的偶联物。最适合的交联剂取决于半抗原上存在的功能基团和半抗原-载体蛋白偶联物在注射后能否产生很好的免疫原性。碳二亚胺是制备多肽-载体蛋白偶联物的优良之选，因为蛋白和多肽通常都含有多个羧基和伯胺。诸如EDC等碳二亚胺首先与羧基反应以产生高反应性的不稳定中间体，然后再将该中间体偶联到伯胺上（图36）。

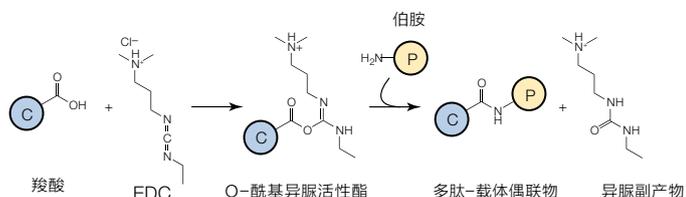


图36. EDC介导的多肽和载体蛋白的偶联。载体蛋白(C)和多肽(P)具有羧基和氨基，因此偶联在两个定向上都有发生。与典型的多肽半抗原相比，载体蛋白非常大；因此，每个载体蛋白分子上都存在许多偶联位点。

这一高效的反应在不到2小时内即可产生偶联的免疫原。在合成多肽时，通常在末端添加一个半胱氨酸，以便能够使用巯基和氨基反应性异型双功能交联剂将多肽附着到支持物或载体蛋白上。将试剂首先与载体蛋白（通过它的多个氨基）反应，然后与含有还原末端的半胱氨酸的多肽反应，从而将所有的多肽实现定向偶联（图37）。这种方法非常高效并且能够在注射后产生非常好的免疫原性。

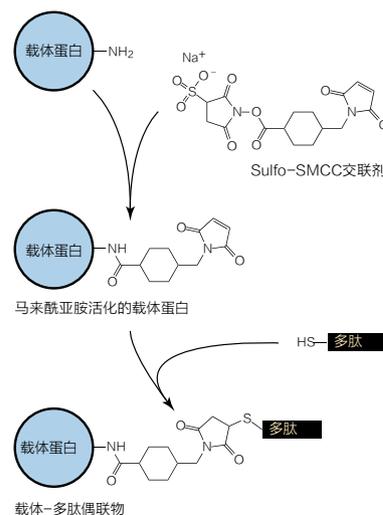


图37. 多肽与载体蛋白偶联以用于抗体制备。

蛋白-蛋白偶联

制备蛋白-蛋白偶联物是交联剂最常见的应用之一。一般是通过将酶、荧光基团或其他分子附着到与所研究的生物系统中的一种组分具有亲和力的蛋白质上来进行。抗体-酶偶联物（一抗或二抗）是最常用的蛋白-蛋白偶联物。尽管二抗偶联物易于获得且相对便宜，但酶标记的一抗通常较昂贵而且制作难度较高。许多试剂都可用于制备抗体-酶偶联物。戊二醛偶联物易于制备，但戊二醛生成的偶联物在免疫检测中容易产生高背景。碳水化合物残基可以被氧化，然后在被称为还原烷基化或胺化的过程中与酶上的伯胺偶联。这些偶联物在酶免疫检测中通常产生较低的背景，并且相对容易制备；但是可能会有一些抗体的自身偶联的情况发生（图38）。

同型双功能NHS酯（N-羟基琥珀酰亚胺酯）或亚氨酸酯交联剂可以在一步法方案中使用，但同样可能发生聚合和自身偶联。如果待偶联的两种蛋白质都含有巯基，则可以使用同型双功能的巯基反应性交联剂，例如Thermo Scientific™ Pierce™ BMH（货号22330）交联剂。异型双功能交联剂可能是抗体-酶或其他蛋白-蛋白交联的最佳选择。使用同型双功能NHS酯试剂或戊二醛时，那些固有的、不需要的自身偶联，可以通过使用相应的Thermo Scientific™ Pierce™ 试剂来避免，比如SMCC（货号22360）或Sulfo-SMCC（货号22322）。Sulfo-SMCC首先与一种蛋白质偶联，然后使用SATA（货号26102）或Traut's试剂（货号26101）对第二种蛋白质进行硫醇化，然后再进行偶联（图39）。或者，可以还原蛋白质中的二硫键，并将两种活化的蛋白质一起孵育，可以使形成的偶联物不含这两种蛋白质各自的二聚体。在该反应方案中，任何其他NHS酯、马来酰亚胺或吡啶二巯基交联剂都可以取代Sulfo-SMCC。一般很少将异型双功能光激活的苯基叠氮化物交联剂用于制备蛋白-蛋白偶联物，因为其交联效率比较低。

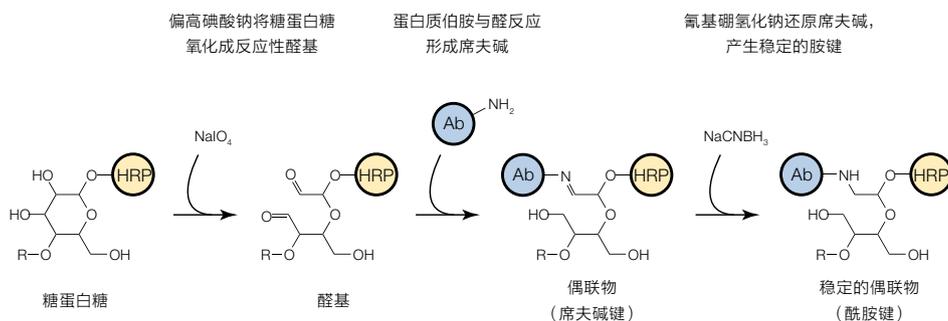


图38. 使用HRP等酶通过还原胺化标记抗体的反应图式。

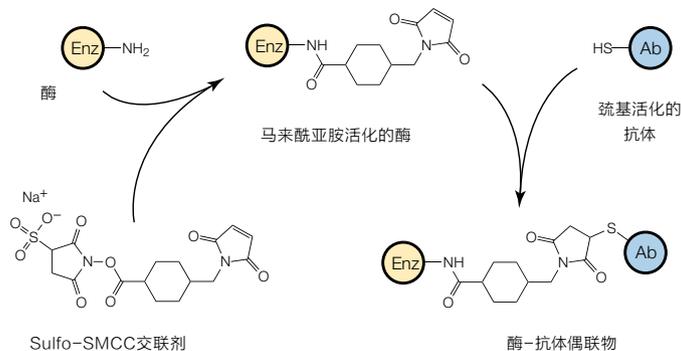


图39. 用马来酰亚胺活化的酶标记还原的抗体片段的反应图式。

产生免疫毒素

特异性抗体可以与毒性分子共价连接,然后作用于靶向细胞上的抗原。这些抗体通常对肿瘤相关抗原具有特异性。免疫毒素在表面抗原的引导下进入细胞,一旦内化,它们会开始通过核糖体失活或以其他方式杀灭细胞。用于制备免疫毒素的交联剂的类型可以影响其定位和杀灭相应细胞的能力。为提高免疫毒素效用,偶联物必须在体内稳定。此外,一旦免疫毒素达到其靶标位置,抗体必须与毒素分离才能使毒素行使杀灭细胞的功能。经证明,和不可切割的蓖麻毒蛋白A链免疫毒素偶联物相比,含可切割二硫键的偶联物对肿瘤细胞有更强的细胞毒性。细胞可以通过破坏交联剂中的二硫键,在靶细胞内释放毒素。

Thermo Scientific™ Pierce™ SPDP (货号21857) 是一种NHS反应可逆型的、吡啶二巯基交联剂,用于将含氨基的分子与巯基偶联。多年以来,这种产品一直是制备免疫毒素的“主力”交联剂。与氨基反应的NHS酯通常首先与抗体反应。通常,毒素不含表面巯基;因此,必须通过还原二硫键将巯基引入其中,这常见于涉及蓖麻毒蛋白A链和相思豆毒蛋白A链或者使用化学修饰试剂的反应中。为了实现这一目的,可以再使用一个SPDP分子,使其与免疫毒素上的胺反应,然后还原得到巯基。

常用于制备免疫毒素的另一种化学修饰试剂是Thermo Scientific™ Pierce™ 2-亚氨基硫烷,也称为Traut's试剂(货号26101)。Traut's试剂与氨基反应的过程中,可以在其环状结构打开时产生巯基。

标记转移

标记转移过程是先使用带标记的交联剂对相互作用的分子(即诱饵和靶蛋白)进行交联,然后切割诱饵和靶蛋白之间的连接,使得标记继续附着在靶蛋白上。这种方法可以使标记从已知蛋白质转移到未知的相互作用蛋白质上。然后可以使用该标记纯化和/或检测该相互作用的蛋白质。标记转移极具价值,因为其能够识别与兴趣蛋白质发生轻微或瞬时相互作用的蛋白质。新型非同位素试剂和方法使这项技术更可实现,并且使得该实验的操作更容易。

标记转移试剂也可以在其结构中构建生物素。这种类型的设计允许在切割横桥之后将生物素标记转移至相互作用的蛋白质上。Thermo Scientific™ Pierce™ Sulfo-SBED试剂(货号33033)就是这种多功能试剂的一个示例(参见图20)。它的一个臂上含有氨基反应性Sulfo-NHS酯(在赖氨酸核心的 α -羧酸外构建),在另一侧含有光反应性苯基叠氮化物基团(由 α -氨基合成)和一个生物素(连接到赖氨酸的 ϵ -氨基基团)。含有Sulfo-NHS酯的臂具有可切割的二硫键,可以将生物素组分转移至任何捕获的蛋白质上。

在使用中,首先通过诱饵蛋白的氨基作用将Sulfo-SBED对其进行衍生化,而后使经修饰的蛋白与样品相互作用。当暴露于紫外光(300-366nm)时,光反应性末端可与诱饵-靶标复合物中最近的C-H或N-H键偶联,导致诱饵和靶标蛋白之间产生共价交联。在还原和切割二硫键间隔臂后,生物素柄仍保持与和诱饵蛋白相互作用的蛋白质的连接,有助于使用链霉亲和素, Thermo Scientific™ NeutrAvidin™ 蛋白,或单体亲和素分离或识别未知蛋白品种。

这款三项功能标记转移试剂在结构上与上述讨论的双功能试剂存在实质性差异。因此,仅通过检查结构,高下立判。

Sulfo-SBED中的活性残基间分离良好。最重要的是,在Sulfo-SBED的设计中加入生物素标记后,已不再需要使用¹²⁵I进行放射性标记。生物素标记在标记转移应用中具有显著优势。例如,生物素可以作为纯化靶标蛋白或靶标蛋白片段的抓手,或者作为使用链霉亲和素-HRP和比色或化学发光底物的检测靶标。

Sulfo-SBED的应用

自1994年该试剂首次投入使用以来, 在蛋白质相互作用相关应用中使用Sulfo-SBED的参考文献数量已迅速增长。已发表的文献展示了Sulfo-SBED的以下应用:

- 用于确定复合物与激活因子结构域的相互作用¹
- 用于阐明蛋白质复合体的组装机制²
- 用于转换为巯基反应性三功能试剂以确定相互作用³
- 用于研究结合所需的对接位点和因子⁴
- 用于描述相互作用因子的结合⁵
- 用于确认特异性磷酸化表位的识别⁶
- 用于搜索假定的结合配偶体⁷
- 用于深入了解分子伴侣介导的重折叠相互作用⁸
- 用于研究蛋白质相互作用的机制⁹
- 用于促进受体活性导向的亲和标记(重新标记)¹⁰
- 用于检测低丰度蛋白质受体
- 用于发现蛋白质-碳水化合物相互作用
- 用于了解药物-受体相互作用¹¹
- 用于定量形成三股螺旋的寡核苷酸¹²

图40是使用Sulfo-SBED确定靶标蛋白身份的过程示意图。请注意, 生物素标记是所捕获靶标蛋白的纯化标记。在胰蛋白酶消化策略中, 所捕获的多肽可以提供相互作用结合界面的相关信息。按下文概述的策略回收得到的生物素标记的靶标蛋白或靶标蛋白多肽可以通过多种检测和鉴定方案确定其身份。

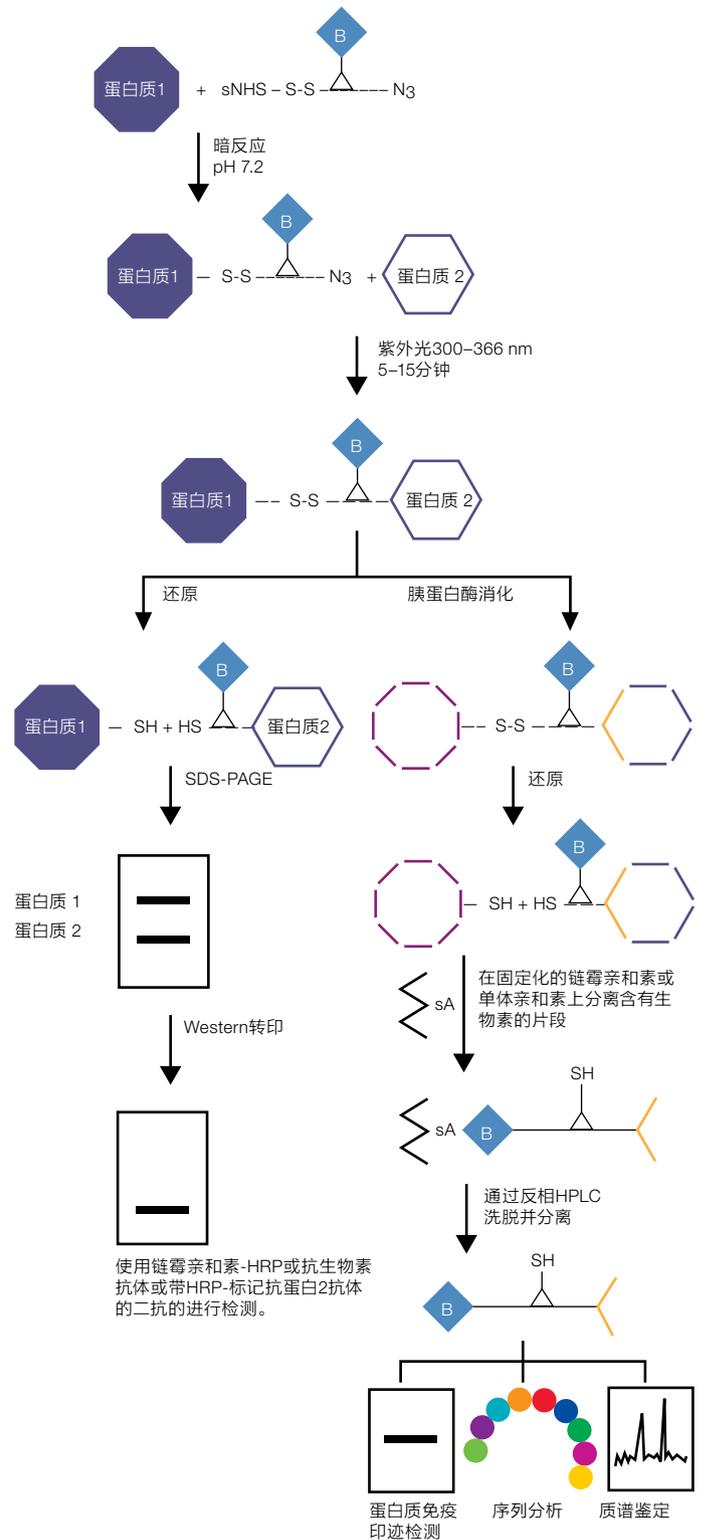


图40. Sulfo-SBED在蛋白质相互作用研究中的应用。

亚基交联和蛋白质结构研究

交联剂可用于研究样品中蛋白质的结构和组成。有些蛋白质很难进行研究，因为它们在不同的pH或盐溶液条件下以不同的构象存在。避免构象变化的一种方法是对亚基进行交联。氨基、羧基或巯基反应性试剂可用于鉴定特定氨基酸或用于确定亚基的数量、位置和大小。当需要分子内交联时，可选择间隔臂较短至中等长度的交联剂。如果间隔臂太长，则可能发生分子间交联。如果在最适宜的浓度和条件下使用无间隔臂的碳二亚胺，以及短间隔臂的偶联试剂，例如氨基反应性的Thermo Scientific™ Pierce™ DFDNB (货号21525)，可以在不与外来分子交联的情况下交联亚基 (图41)。间隔臂稍长的交联剂，例如Thermo Scientific™ DMP (货号21666、21667)，也可以交联亚基，但它们可能会导致分子间交联。调整试剂用量和蛋白质浓度可以控制分子间交联。当使用同型双功能交联剂时，稀释蛋白质溶液和使用高浓度交联剂有利于分子内交联。

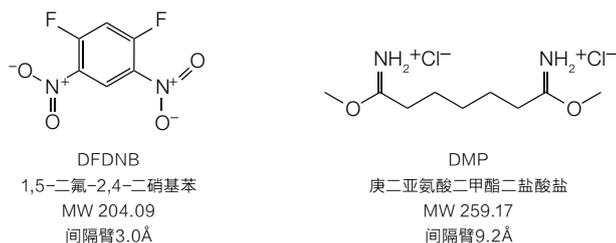


图41. DFDNB和DMP用于蛋白质亚基之间的交联。

为了测定或确认三维结构，可以使用具有加长间隔臂的可切割交联剂来测定亚基之间的距离。使用具有不同反应基团的交联剂进行的实验可以指示特定氨基酸的位置。偶联完成之后，可对蛋白质进行二维电泳。在第一维中，使用非还原条件分离蛋白质并记录分子量。有些亚基可能未被交联，它们将依据各自的分子量被分离，而已偶联的亚基将根据结合后的分子量大小被分离。然后使用切割交联亚基的条件进行第二维凝胶电泳。可以测定已交联亚基各自的分子量。未还原的已交联亚基将形成一个对角线图案，但是已被还原剂切割的亚基将不在对角线上。各个亚基的分子量应与使用还原性SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳得到的蛋白质亚基的已测定分子量进行比较。

应用质谱分析蛋白相互作用和交联

化学交联与质谱联用是确定蛋白质-蛋白质相互作用的有效方法。该方法已应用于重组和天然蛋白质复合物，并且已在最近应用于全细胞裂解物或完整的单细胞生物体，力求广泛鉴定蛋白质-蛋白质相互作用。

Thermo Scientific™ MS级交联剂提供不同间隔臂长度以及同位素标记的交联剂套装，有助于阐明蛋白质-蛋白质相互作用（表6）。传统型不可切割的和MS级可切割的交联剂都可以用来对蛋白质-蛋白质相互作用位点的鉴定进行深入研究。这些高品质试剂已在Thermo Scientific™质谱仪上使用不同碎裂模式（CID、HCD、ETD和EtHCD）和不同串联质谱水平（MS²和MS³）进行的蛋白质-蛋白质相互作用研究中得到验证，以改善蛋白质-蛋白质相互作用位点的鉴定。

赛默飞提供的高品质质谱级交联剂具有多种包装形式和规格可供选择。我们针对多种应用提供广泛的专业知识支持和帮助，并使用Thermo Scientific™质谱仪在工作流程中验证了这些产品。

产品亮点

- **优质**—产品在ISO 9001认证工厂中生产
- **方便**—产品提供No-Weigh™包装或多种包装规格
- **广泛的选择性**—可提供不同的接头长度，MS可切割性以及氘同位素标记
- **技术支持**—提供广泛的网页资源和支持，帮助客户确保成功的研究结果

表6. 用于研究蛋白质-蛋白质相互作用的Thermo Scientific交联剂概览。

交联剂	DSS	BS ³	BS ² -d ₄	DSG
结构				
全名	二琥珀酰亚氨基辛二酸酯	二(磺酸基-琥珀酰亚氨基)辛二酸酯	二(磺酸基-琥珀酰亚氨基) 2,2,7,7-辛二酸-d ₄	二琥珀酰亚氨基戊二酸酯
间隔臂 (Å)	11.4	11.4	11.4	7.7
水溶性	否	是	是	否
同位素标记	否	否	是	否
MS可切割	否	否	否	否

交联剂	BS ² G-d ₀	BS ² G-d ₄	DSSO	DSBU
结构				
全名	二(磺酸基-琥珀酰亚氨基)戊二酸酯	二(磺酸基-琥珀酰亚氨基) 2,2,4,4-辛二酸-d ₄	二琥珀酰亚胺基砜	二琥珀酰亚氨基二丁基脲
间隔臂 (Å)	7.7	7.7	10.1	12.5
水溶性	是	是	否	否
同位素标记	否	是	否	否
MS可切割	否	否	是	是

详情请访问 thermofisher.com/ms-crosslinking

质谱级可切割的交联剂

Thermo Scientific™ DSSO (二琥珀酰亚氨基亚砷) 和DSBU (二琥珀酰亚氨基二丁基脒, 也称为BuUrBu[注: BuUrBu代表二丁基脒]) 是质谱级可切割的优质交联试剂。两种交联剂的结构对称, 间隔臂长度分别为7-Atom (DSSO) 和11-Atom (DSBU), 两端含有氨基反应活性的 N-羟基琥珀酰亚胺 (NHS) 酯 (图42)。这些产品提供独立包装, 方便使用 (10 x 1 mg)。

化学交联与质谱法联用是鉴定蛋白质的有效方法。该方法已应用于重组和天然蛋白质复合物, 并且最近也应用于全细胞裂解液或完整的单细胞生物, 力求广泛鉴定蛋白质-蛋白质相互作用。

DSSO和DSBU的特征

- 氨基反应性NHS酯 (两端) 可与任何含有伯胺的分子快速反应
- 可通透细胞膜, 实现细胞内交联
- 高纯度试剂, 可用于产生高纯度的偶联物
- 质谱级可切割
- 非水溶性 (首先溶于DMF或DMSO)

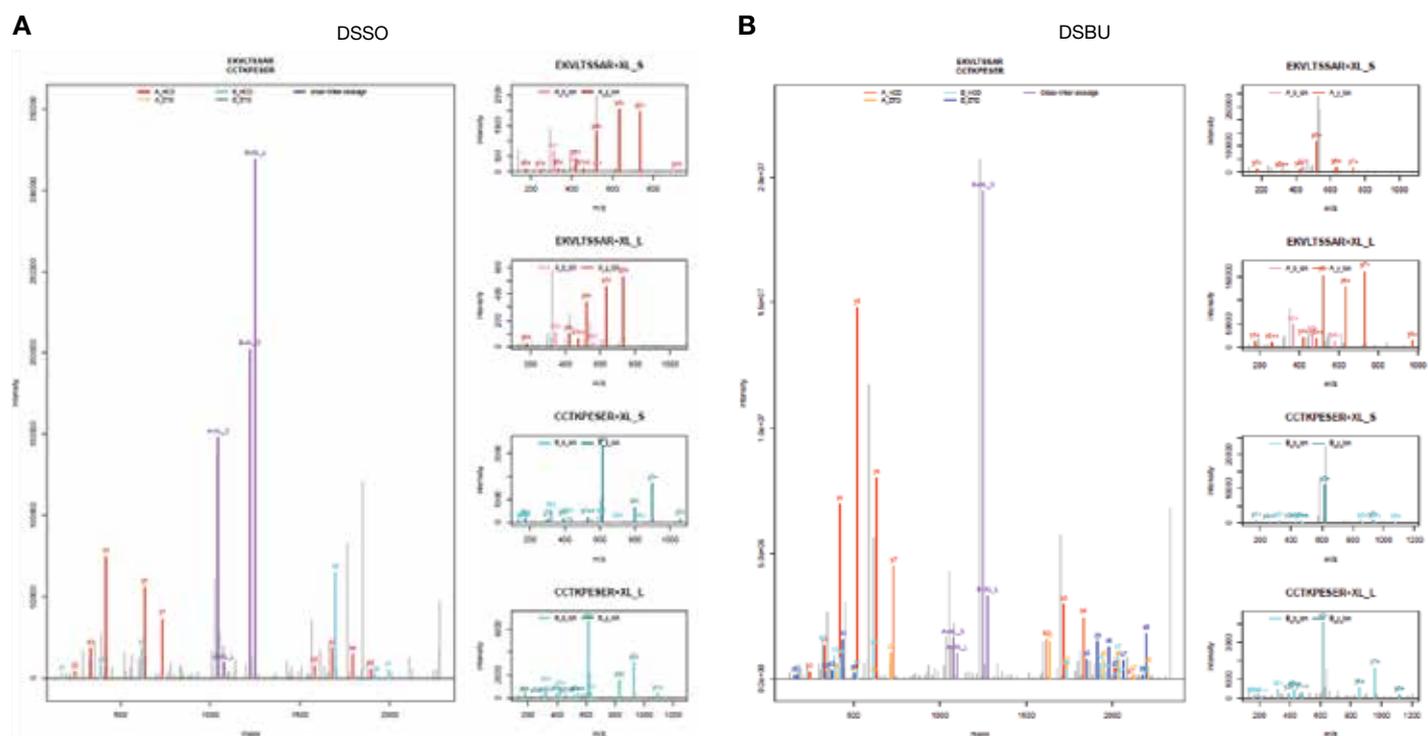


图42. 使用 (A) DSSO和 (B) DSBU交联剂, 利用MS²/MS³方法和XLinkX软件*确定BSA交联多肽的谱图。XLinkX软件XLinkX软件使用MS可切割交联剂的独特片段模式 (紫色注释) 来检测和过滤交联肽以进行数据库搜索。

*获得荷兰乌特勒支大学Heck集团的许可。

体内交联

交联剂可用于近邻蛋白质的相互关系以及配体-受体相互作用的鉴定。交联可使内源的瞬时形成的蛋白-蛋白复合物保持稳定，而其在用传统生物化学方法（如免疫沉淀）检测时很难保留。常用的细胞交联剂是甲醛（Thermo Scientific™ Pierce™ 16%甲醛（w/v），不含甲醇，货号28906），在染色质免疫共沉淀（ChIP）实验中，常用于稳定染色质与蛋白的相互作用（Thermo Scientific™ Pierce™ 琼脂糖ChIP试剂盒，货号26156）。用于体内交联的交联剂通常比用于亚基交联的交联剂拥有更长的间隔臂。同型双功能交联剂，包括氨基反应性NHS酯或亚胺酸酯，以及异型双功能交联剂，包括氨基反应性可光活化的叠氮苯，是这些应用中最常用的交联剂。在特定的情况下，如果已知两种蛋白质或分子中的一种含有巯基，则可以使用巯基和氨基反应性交联剂，例如Thermo Scientific™ Sulfo-SMCC（货号22322）。可切割或不可切割的交联剂均可使用。因为两个分子之间的距离并不总是已知的，所以交联剂间隔臂的最佳长度可以通过使用具有不同长度的一系列交联剂来确定。在研究蛋白质相互作用时，常使用较短间隔臂的交联剂，包括Thermo Scientific™ DSS（货号21555）或其可切割的类似交联剂DSP（货号22585）。

交联剂除了以外源加入的形式引入细胞，还可以整合到细胞的蛋白质组中。通常可以用光反应性交联剂完成，例如Thermo Scientific™ L-Photo-亮氨酸（货号22610）和L-Photo-甲硫氨酸（货号22615）。这些氨基酸类似物在细胞生长期间被用于细胞的培养并通过紫外光活化（图43）。在下面鉴定内源蛋白复合体的实验中，比较了使用光反应性氨基酸与甲醛处理的效果（图44）。

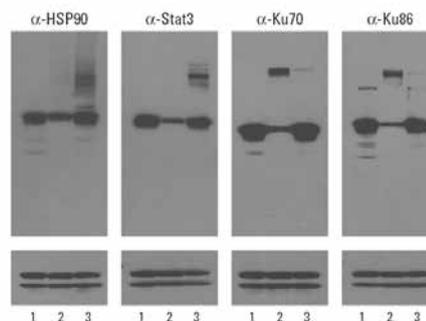


图44.蛋白质相互作用中，光反应性氨基酸交联和甲醛交联技术可做到分析互补。未处理的HeLa细胞（泳道1），用1%甲醛处理10分钟（泳道2），或用Photo-甲硫氨酸和Photo-亮氨酸处理，然后进行紫外光照（泳道3）。裂解细胞后，每泳道上样10μg蛋白进行SDS-PAGE，并使用识别HSP90、Stat3、Ku70和Ku86的抗体进行蛋白质免疫印迹的分析。下图是作为内参的β-actin（上方的条带）和GAPDH（下方的条带）的免疫印迹图。

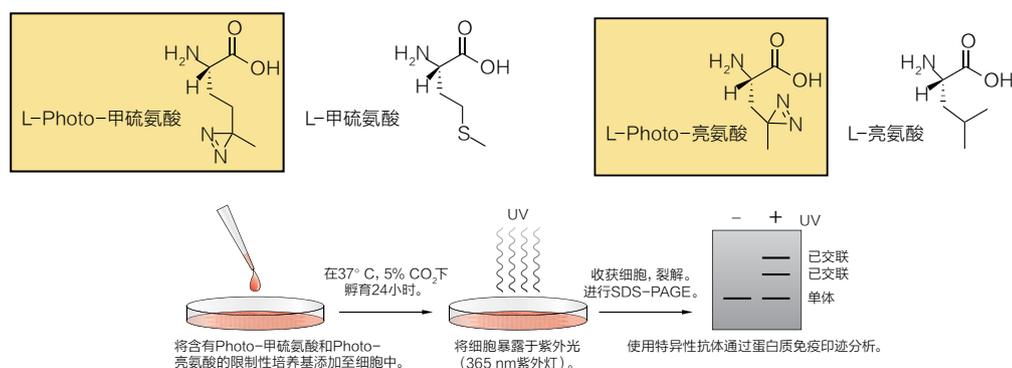


图43. 使用光反应性氨基酸进行体内交联。

详情请访问 thermofisher.com/metabolic-labeling

代谢标记

化学选择性连接使用独特的化学功能基团进行特异性偶联。这种化学反应的示例包括酰肼-醛缩合、点击化学(叠氮化物-炔烃)和施陶丁格连接(叠氮化物-磷)。¹当直接标记或者基于抗体的二级检测技术会影响样本功能时,点击化学是更适合的标记方式。点击标记非常小,足以轻松穿透复合物样品,并且点击反应的选择性和稳定性可提供高灵敏度和低背景信号。这种温和的样品处理方式加上Invitrogen™ Click-iT™ Plus反应,可以对过表达的蛋白质(如GFP)、蛋白质标记(如R-PE)和各种有机荧光基团进行多重检测。施陶丁格连接(Staudinger ligation)对活细胞标记和质谱(MS)应用具有最佳效用。施陶丁格反应发生在磷和叠氮化物之间,反应产生氮杂-叶立德(aza-ylide),其被捕获并形成稳定的共价键。因为生物系统中不存在磷和叠氮化物,所以对细胞或裂解物进行标记时背景极小。与点击化学不同,施陶丁格连接不需要铜等辅助试剂。

代谢标记过程中会将化学选择性交联剂掺入到活细胞的蛋白质组中,这有利于蛋白质分离或荧光标记。例如使用叠氮糖代谢标记糖蛋白。施陶丁格反应完成后,叠氮基团与磷反应产生稳定的酰胺键。叠氮糖掺入之后即可使用生物素(图45)或DyLight™ 550-磷(图46)进行标记。如图46所示,用叠氮糖饲养U2OS细胞或HK-2细胞,将其固定,并用Thermo Scientific™ DyLight™ 550-磷(货号88910)或DyLight™ 650-磷(货号88911)染色。

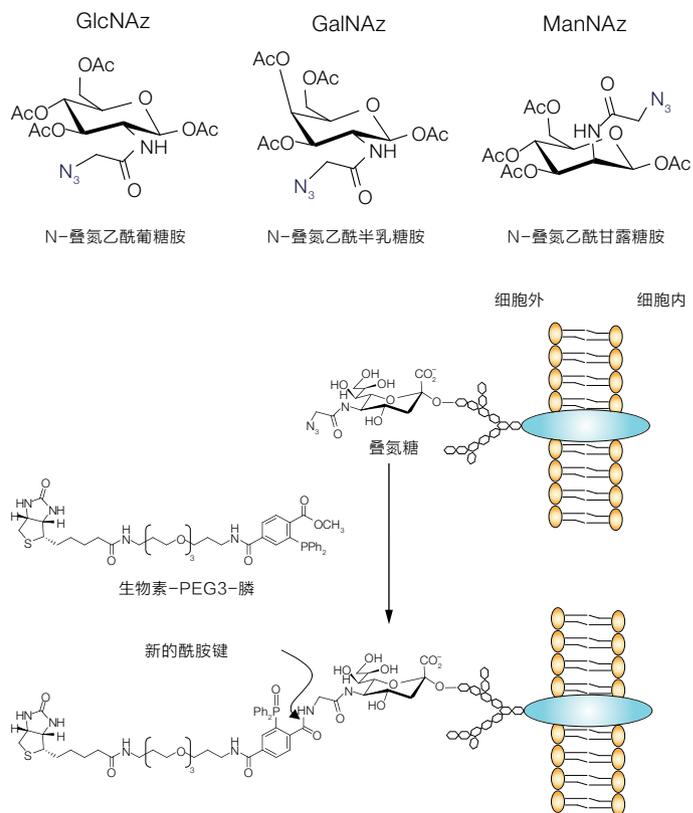


图45.生物素标记叠氮糖。

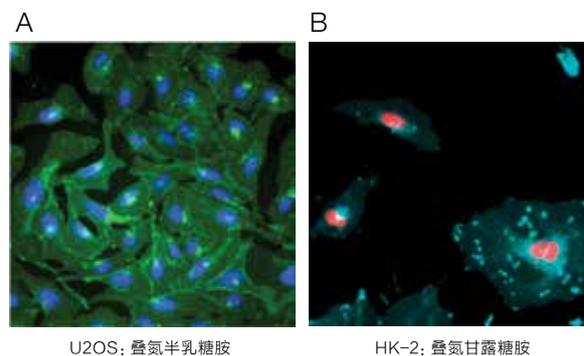


图46.使用DyLight 550-和650-磷标记试剂进行代谢结合的叠氮乙酰半乳糖胺的体内检测。(A)将U2OS细胞与40 μM叠氮乙酰半乳糖胺在细胞培养基中孵育72小时,并将活细胞与100 μM DyLight 550-磷一起孵育。然后洗涤细胞,用4%多聚甲醛固定,并用Hoechst™ 33342染料复染(绿色: DyLight 550标记的叠氮半乳糖胺,蓝色: Hoechst 33342标记的细胞核)。(B)将HK-2细胞与40 μM叠氮乙酰甘露糖胺在细胞培养基中孵育72小时,并将活细胞与100 μM DyLight 650-磷一起孵育。然后洗涤细胞,用4%多聚甲醛固定,并用Hoechst 33342染料复染(蓝绿色: DyLight 650标记的叠氮甘露糖胺,红色: Hoechst 33342标记的细胞核)。

细胞表面交联和生物素化

交联剂常用来鉴定表面受体或其配体。不透膜的交联剂可确保细胞表面特异性交联。当在试剂剂量和反应时间受控的条件下使用时，不溶于水的交联剂可以减少膜渗透和与内膜蛋白的反应。

附着于NHS酯的琥珀酰亚胺环上的磺酰基团可产生水溶性、不透膜且不与细胞内膜蛋白反应的交联剂。因此，当使用 Sulfo-NHS酯时，交联剂的反应时间和剂量均没那么关键。同型双功能Sulfo-NHS酯、异型双功能Sulfo-NHS酯和光反应性苯基叠氮化物是交联细胞表面蛋白质的良好选择。

可以通过使用水溶性或不溶于水的交联剂对细胞膜制备物中的已知蛋白质或放射性标记物进行偶联反应，来确定特定蛋白质是位于膜的表面还是全部位于膜内。

偶联后，可以洗涤、溶解细胞，并通过SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE) 来鉴定目标蛋白质是否已被偶联。全部位于膜内的膜蛋白会在使用不溶于水的交联剂时形成偶联物，在使用水溶性的交联剂时则不会形成。表面膜蛋白可以在使用水溶性和不溶于水的交联剂时都形成偶联物。Thermo Scientific™ Pierce™ 细胞表面蛋白分离试剂盒 (货号89881) 是一套完整的试剂，利用细胞不渗透、可切割的生物素化试剂 (Sulfo-NHS-SS-生物素) 进行选择性的生物素化，并在随后纯化哺乳动物细胞表面蛋白以去除细胞内蛋白。使用Thermo Scientific NeutrAvidin琼脂糖树脂对标记的表面蛋白进行亲和纯化。

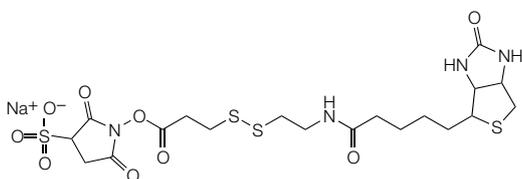


图47.使用Sulfo-NHS-SS-生物素进行细胞表面蛋白的生物素化和分离。

细胞膜结构研究

细胞膜结构研究需要具有不同疏水性的试剂来确定细胞脂质双层内的位置和环境。使用荧光标签可以用于定位膜内部和外部的蛋白质、脂质或其他分子。可使用具有不同间隔臂长度的各种交联剂，将蛋白质交联至膜内的相关分子上以确定分子之间的距离。使用较短交联剂交联成功即可有力证明两个分子正在以某种方式相互作用。若无法用较短交联剂进行交联，而使用较长试剂却成功交联，通常表明分子位于膜的不同部分，但不相互作用。同型双功能NHS酯、亚氨酸酯或异型双功能NHS酯/可光活化的苯基叠氮化物可用于进行上述的实验。尽管亚氨酸酯交联剂 (亚氨酸酯) 具有水溶性，但它们仍然能够渗透膜。巯基反应性交联剂可用于将具有半胱氨酸的分子与膜内的其他分子交联。

Thermo Scientific™ EDC (货号22980、22981) 和其他水溶性和非水溶性的偶联试剂成对使用可用于研究膜和细胞结构、蛋白质亚基结构和排列、酶-底物相互作用以及细胞表面和膜受体。与疏水性碳二亚胺相比，EDC的亲水特性可能会导致其在膜和亚基研究中更易产生不同的交联模式。通常最好尝试分别用水溶性和非水溶性的碳二亚胺交联，以获得所涉及的空间排列或蛋白质-蛋白质相互作用的完整图像。

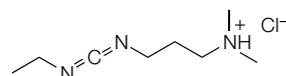


图48. EDC可用于偶联以研究细胞膜结构。

满足特定生物偶联需求的特殊包装

简介

生物偶联试剂是具有高度反应活性的分子, 因此可能对水、光、氧或其他周围环境很敏感。它们可能形成不稳定的中间体, 导致实验过程中出现非预期的副产物。因此, 必须尽量减少生物偶联试剂在这些不利环境因素中的暴露, 以获得最高的产量和质量。

为了降低这些风险, 我们提供特殊包装和更高品质的生物偶联试剂。

除了这些, 我们的生物偶联试剂还以多种包装规格提供, 还可根据需求提供定制包装形式和规格。



生物偶联试剂的No-Weigh包装形式

方便的即用型包装, 适用于一次性应用

Thermo Scientific™ No-Weigh™免称量包装形式, 可以快速便捷地制备即用型溶液。这种独特的包装形式有助于免除称量少量干燥化学品的必要。

重溶后试剂即为所需浓度的即用型工作液。使用我们的一次性No-Weigh包装形式, 避免称重麻烦和浪费珍贵试剂。

产品亮点

- **节省时间**—避免称重化学品; 只需添加水、缓冲液或溶剂即可在几秒钟内制备工作溶液
- **减少浪费**—小剂量等分试剂, 最大限度地减少了配制工作液所需的冗余体积的量
- **始终新鲜**—配好后即为所需浓度的即用型工作液; 无需储存储备液, 确保功能基团的活性

No-Weigh包装形式以方便、易于操作的螺旋盖小瓶提供, 使用最广泛的蛋白质修饰试剂, 包括还原剂、交联剂及PEG-和生物素标记产品(表7) 都有该包装形式提供。



表7. No-Weigh试剂。

羧基-氨基交联剂	EDC DSG Sulfo-NHS
氨基-氨基交联剂	DSP BS ³ DSS DSSO DBSU BS(PEG) ₅
氨基-巯基交联剂	SMCC Sulfo-SMCC SM(PEG) ₂ SM(PEG) ₁₂
光反应性交联剂	Sulfo-SANPAH
修饰试剂	Iodoacetamide(碘乙酰胺)
生物素化试剂	Sulfo-NHS-LC-LC-Biotin HPDP-Biotin Sulfo-NHS-Biotin Sulfo-NHS-SS-Biotin Sulfo-NHS-LC-Biotin Sulfo-NHS-LC-Desthiobiotin Sulfo-SBED
聚乙二醇化的生物素化试剂	NHS-PEG ₁₂ -Biotin NHS-PEG ₄ -Biotin Maleimide-PEG ₂ -Biotin Hydrazide-PEG ₄ -Desthiobiotin Amine-PEG ₄ -Desthiobiotin Phosphine-PEG ₄ -Desthiobiotin
还原试剂	TCEP·HCl DTT

详情请访问 thermofisher.com/no-weigh

Premium (特优级) 蛋白质生物偶联试剂

更高品质满足更高需求

如果您对产品完整性和风险最小化有极高的要求, Thermo Scientific™ Pierce™ Premium (特优级) 试剂将会是您的首选 (表8)。与标准级试剂相比, Pierce Premium (特优级) 试剂通过增加批次特定信息 (如质量保证审查、批次样本保留和变更控制通知 (CCN)) 以及更高水平的分析测试和产品特性鉴定, 提供清晰明确的质量。

Pierce Premium (特优级) 试剂按照可能的最高规格制造, 以实现数据完整性并提供稳定的一致性。使用全面的测试程序评估每批试剂的一致性 (表9)。

产品亮点

- **优质试剂**—高纯度试剂, 可用于制备高品质的活化衍生物、标记蛋白质和生物偶联物
- **产品完整性**—更高的检测和鉴定水平
- **批次保留**—保留过去批次的充分供应, 以确保将来的过程测试
- **变更管理**—变更控制通知 (CCN) 服务
- **制造的一致性**—每个批次都有制造文档审查



表8. Pierce Premium (特优级) 试剂。

试剂类型	Premium (特优级) 试剂
羧基-氨基交联剂	EDC Sulfo-NHS
氨基-氨基交联剂	BS ³ DSP
氨基-巯基交联剂	Sulfo-SMCC SPDP
生物素化试剂	Sulfo-NHS-LC-Biotin Sulfo-NHS-SS-Biotin
还原试剂	TCEP-HCl

表9. Premium (特优级) 试剂的测试

参数	程序
纯度	使用内部标准进行定量NMR
目视检查	颜色评估
溶解度	示例: 样本在给定溶剂中以指定浓度溶解, 得到透明无色溶液
身份鉴定	红外 (IR) 光谱
质量鉴定	质谱法
含水量	卡尔费休滴定法
微量金属	电感耦合等离子体质谱法 (ICP-MS)
元素分析	基于燃烧分析报告C、H、N、O和S值
残留溶剂分析*	顶空气相色谱法

*根据要求进行, 需额外付费。

详情请访问 thermofisher.com/premium-grade

Thermo Fisher SCIENTIFIC Return to thermofisher.com

Crosslinker Selection Tool

Find the best crosslinker for your bioconjugation experiments

This Crosslinker Selection Tool provides quick access to a customized list of Thermo Scientific Pierce Crosslinkers that meet specific criteria, including target functional group, solubility, and cell membrane permeability.

Select the desired features to view results. Choose "No specific requirement" to see all items. Search results include a list of products in order of crosslinking distance (spacer arm length) with links to individual product pages. Alternatively, visit the [Crosslinker Selection Guide](#) page or simply browse our entire line of [crosslinking reagents](#).

Conjugation	to	Cleavability	Water soluble	Pegylated	Membrane permeable
Amines (e.g., lysine)	Amines (e.g., lysine)	Any	Any	Any	Any
Sulfhydryl (e.g., cysteine)	Sulfhydryl (e.g., cysteine)	Non-Cleavable	Yes	Yes	Yes
			No	No	No
Carbohydrates (oxidized sugars)	Carbohydrates (oxidized sugars)	By Thiols	Spacer arm length		Packaging
		By Base	Any	Any	
Nonselective (thioselective)	Nonselective (thioselective)	By Peroxide	Short	Premium grade	
			Medium	Single use	
Carboxyl (e.g., C-terminus)	Carboxyl (e.g., C-terminus)	By Hydroxylamine	Long	Standard	

[Download](#)

交联剂选择工具

使用交联剂选择工具可快速访问符合特定标准的Thermo Scientific™ Pierce™ 交联剂的定制列表这些标准, 包括靶标功能基团、溶解度和穿过细胞膜的能力。使用简单的下拉框轻松选择适合不同应用的最佳交联剂。

详情请访问
thermofisher.com/crosslinking-tool

交联剂应用参考文献指南

需要轻松访问关键参考文献吗? 该资源可帮助您快速找到这些交联剂在广泛应用中使用的相关出版物, 这些应用包括相互作用分析、偶联、固定、体内交联、标记、结构分析等。

详情请访问 thermofisher.com/crosslinker-publications

Thermo Fisher SCIENTIFIC Contact Us Sign In Quick Order

Popular Applications & Techniques Shop All Products Services & Support About Us Connect Your Lab

Home > Life Sciences > Protein Biology > Protein Labeling and Crosslinking > Protein Crosslinking > Crosslinker Application Reference Guide

Crosslinker Application Reference Guide

Find out how crosslinkers are used in the literature

Have you ever looked at our [crosslinkers](#) and wondered why you would crosslink your own biomolecules? Well, we reviewed the literature to identify recent papers in which the authors describe using our crosslinkers to answer biological questions using the following applications:

- Interaction analysis**—study signal transduction pathways using crosslinkers to trap, isolate and identify interactions between proteins, membrane receptors, peptides and nucleic acids
- Conjugation**—create custom conjugates by covalently linking biomolecules such as proteins, antibodies, enzymes, nucleic acids, drugs, peptides, hormones, metabolites and cellular organelles
- Immobilization**—immobilize antibodies and other proteins, nucleic acids, and cells onto resin, extracellular matrix (ECM), chips, slides, or nanoparticles
- In vivo crosslinking**—trap protein complexes in live cells by treating cells with crosslinking reagents
- Labeling**—tag proteins or nucleic acids with various reagents, such as fluorophores
- Chromatin immunoprecipitation (ChIP)**—isolate DNA binding complexes by crosslinking and immunoprecipitating DNA binding proteins
- Structural analysis**—study protein oligomerization or the formation of heterologous protein complexes by mapping binding sites
- Antigen preparation**—crosslink antigens to carrier proteins for animal immunization and antibody production
- Protein alkylation**—chemically block amino acid functional groups on proteins

ThermoFisher SCIENTIFIC [Return to ThermoFisher.com](#)

Biotinylation Reagent Selection Tool

Find a biotin labeling reagent for your experiment

The Biotinylation Reagent Selection Tool provides quick access to a customized list of Thermo Scientific EZ Link Biotin Reagents that meet specific criteria, including target functional group, spacer arm length, and solubility.

Select the desired features to view results. Search results include a list of products in order of reagent length (spacer arm length) with links to individual product pages. Alternatively, simply browse our entire line of biotinylation reagents.

Crosslinks / Reacts with	Cleavability	Membrane permeable	Aqueous soluble
Any	Any	Any	Any
Primary amine (NH ₂)	Yes	Yes	No
Sulphydryl (SH)	No	Yes	No
Carbonyl-amine (CHO)		Spacer arm length	Packaging
Carboxyl (-COOH)		Any	Any
Non-reductive (Phthalimide)		Short	Premium grade
Adds (H+)-NH ₂		Medium	Single use
Special other		Long	Standard

[Download](#)

Catalog No.	20124	20127	20136	21506
Reagent Name	Aldehyde-PEG12 Biotin	Aldehyde-PEG14 Biotin	Amine-PEG11 Biotin	Amine-PEG12 Biotin
Spacer Arm Length	Long (12.6k)	Medium (14.1k)	Long (11.3k)	Medium (12.6k)

生物素化试剂选择工具

使用生物素化试剂选择工具可快速访问符合特定标准的Thermo Scientific™生物素化和脱巯生物素试剂的定制列表这些标准, 包括靶标功能基团、间隔臂长度和溶解度。使用简单的下拉框轻松选择适合不同应用的最佳生物素化试剂。

详情请访问

thermofisher.com/biotinylation-tool

Click-iT标记技术指南

困扰于直接标记或基于抗体的二次检测技术对样本造成的损害? Click-iT标记技术指南可以帮助您选择最合适的实验产品。

详情请访问

thermofisher.com/clickit

ThermoFisher SCIENTIFIC [Search All](#) [Contact Us](#) [Sign In](#) [Quick Order](#)

Popular Applications & Techniques Shop All Products Services & Support About Us [Connect Your Lab](#)

Home > Life Sciences > Cell Analysis > Labeling Chemistry > Click-iT Labeling Technologies

Click-iT Labeling Technologies

Click chemistry is the reaction method of choice for samples that would be compromised by direct labeling or antibody-based secondary detection techniques. The click label is small enough to penetrate complex samples easily and the stability and ability of the click reaction provide high sensitivity and low background signal. The gentle reaction conditions together with the biocompatible Click-iT Plus reaction means that detection can be multiplexed with expressed systems such as GFP, protein tags such as RFP, and a wide range of organic fluorophores.

Browse Invitrogen Molecular Probes products such as Click-iT assay kits and Click-iT tools below to find the product that best fits your experiment.



Click-iT Assay Kits

- Invitrogen Molecular Probes Click-iT Assay Kits for imaging
- Invitrogen Molecular Probes Click-iT Assay Kits for FACS
- Invitrogen Molecular Probes Click-iT Kits for biomolecule capture
- Invitrogen Molecular Probes Click-iT Kits for flow cytometry



Click-iT tools

- Protein and glycan labeling tools
- Nucleic acid labeling tools
- Detection tools for steroidal, bicyclic, and copper-free reactions

荧光光谱查看器工具

光谱查看器是一款帮助您计划实验和分析的工具, 可帮助您根据应用、光源和滤光片选择最合适的荧光基团。在广泛的应用和技术中, 轻松找到合适的荧光基团来标记您的蛋白质、抗体或核酸。

详情请访问

thermofisher.com/spectraviewer

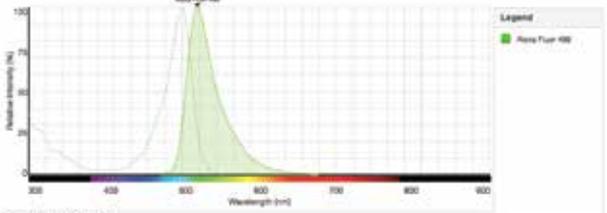
ThermoFisher SCIENTIFIC [Search All](#) [Contact Us](#) [Sign In](#) [Quick Order](#)

Popular Applications & Techniques Shop All Products Services & Support About Us [Connect Your Lab](#)

Home > Life Sciences > Cell Analysis > Labeling Chemistry > Fluorescence Spectroscopy

Fluorescence SpectraViewer

[Load Data](#) [Print](#) [Export](#) [Software Tools](#) [Review Products and Purchases](#)



Fluorescence Light Sources Excitation Filters Emission Filters [Reset](#) [Display Options](#)

Category (Optional) Fluorescence [Show plot](#)

1. [Antibody and Detection Reagents](#) [Area Four 488](#) Excitation Emission Reference Background Plot

交联术语表

酰化(Acylation): 将酰基基团 (-COR) 引入化合物的反应。

芳香叠氮(Aryl azide): 含有光反应性功能基团 (例如苯基叠氮化物) 的化合物, 能与靶分子发生非特异性反应。

碳二亚胺(Carbodiimide): 催化羧基 (-COOH) 与伯胺 (-NH₂) 或酰肼 (-NHNH₂) 之间形成酰胺键的试剂。这些试剂不会导致形成交联桥, 并且被称为零长度交联剂。

交联剂(Crosslinker): 一种试剂, 能与两个或多个分子上的功能基团反应, 并在分子之间形成共价连接。

偶联试剂(Conjugation reagent): 用于共价连接两个分子的交联剂或其他试剂。

双吡丙啶交联剂(Diazirine crosslinker): 琥珀酰亚氨基酯双吡丙啶 (SDA) 交联剂将氨基反应化学与基于双吡丙啶的光化学结合, 用于光交联至几乎任何其他功能基团。长波紫外光 (330-370nm) 对双吡丙啶的光活化会产生卡宾中间体。这些中间体可以在与间隔臂长度相应的距离下, 通过与任何氨基酸侧链或多肽骨架的加成反应形成共价键。

二硫键(Disulfide bonds): 氧化形式的巯基 (-S-S-); 由来自两个半胱氨酸分子的-SH基团在蛋白质中形成。这些键通常在蛋白质内将多肽链连接在一起, 并促成蛋白质的三级结构。

α -卤代酰基(α -Haloacyl): 靶向亲核试剂, 尤其是硫醇的功能基团 (例如, 碘乙酰基)。 α -卤代酰基化合物具有一个附着在分子的酰基基团上的卤素原子, 例如碘、氯或溴。当暴露于直射光或还原剂时, 这些烷基化的试剂会降解, 导致卤素丢失并显现特征颜色。

半抗原(Hapten): 一种被抗体识别但不能引发免疫应答的分子, 需要附着在载体蛋白上引发免疫应答。半抗原通常但并不总是小 (<5 kDa) 分子。

同型双功能交联剂(Homobifunctional crosslinker): 具有两个相同反应基团的试剂, 用于连接两个分子或残基。

异型双功能交联剂(Heterobifunctional crosslinker): 具有两个不同反应基团的试剂, 用于连接两个分子或残基。

亲水性(Hydrophilic): 易溶于水。

疏水性(Hydrophobic): 在水中溶解度有限。

N-羟基琥珀酰亚氨基 (NHS) 酯

(N-Hydroxysuccinimidyl(NHS) ester): 常用于交联或修饰蛋白质的酰化试剂。它们对pH值 7 至 9 之间的伯 (-NH₂) 胺具有特异性, 但通常在中性pH条件下最有效。这些酯会发生水解, 在室温、中性pH下半衰期约为1-2小时。

亚胺酸酯交联剂(Imidate crosslinker): 能与伯胺反应形成脒键的功能基团。赖氨酸中的 ϵ -氨基和N-末端氨基是蛋白质中的靶标。亚胺酸酯在碱性pH条件下 (pH范围7.5-10) 与氨基反应并快速水解, 在室温和pH 7-9条件下, 半衰期通常约为10-15分钟。在pH>11时, 脒键不稳定, 并且可以解交联。在生理PH条件下, 脒键会质子化而带有正电荷。

亚氨酸酯(Imidoester): 亚氨酸酯交联剂的氨基反应性的功能基团。

免疫原(Immunogen): 一种能够引发免疫应答的大分子。

全部位于膜内的膜蛋白(Integral membrane protein): 穿过细胞膜并通过膜的脂质双层内的疏水相互作用而稳定的蛋白质。

配体(Ligand): 与另一个分子特异性结合的分子。例如, 与受体结合的蛋白质。

残基(Moiety): 样本或分子的无定数部分。

单体(Monomer): 分子的单个单位。

NHS: N-羟基琥珀酰亚胺的缩写。

氮烯(Nitrene): 叠氮基团暴露于紫外光后形成的三键氮-氮反应基团。该反应是非特异性的并且很短暂。

非选择性交联(Nonselective crosslinking): 使用反应基团(例如氮烯或芳香叠氮化物)进行交联, 反应快速且广泛, 从而难以有效靶向特异性基团。产量通常较低, 易形成多种不同的交联产物。

非特异性交联(Nonspecific crosslinking): 非选择性交联的另一种说法。

低聚体(Oligomer): 由几个单体组成的分子。

光反应性(Photoreactive): 一种在特定波长范围内的光激发后变得具有反应性的功能基团。

多聚体(Polymer): 由许多重复单体组成的分子。

吡啶二巯基(Pyridyl disulfide): 带二硫键的芳香族残基, 附着于与吡啶环中的氮相邻的碳上。该试剂与含巯基(-SH)的化合物反应会释放吡啶2-硫酮。

间隔臂(Spacer arm): 交联剂的一部分, 连接在两个已交联的分子之间, 并充当分子之间的桥梁。

底物(Substrate): 能使特异的酶在其上发生作用的物质。

巯基(Sulfhydryl): 存在于蛋白质中半胱氨酸残基上的-SH基团。

硫醇(Thiols): 也称为硫醇(mercaptans), 硫烷(thiolanes), 巯基或-SH基团, 是可作为靶标的良好亲核体, 用于交联。

紫外光(Ultraviolet): 波长在10到390 nm之间的电磁辐射。

参考文献

同型双功能交联剂, 氨基反应

BSCOES

1. Fenton RA et al. (2007) *Am J Physiol Renal Physiol* 293:F748–F760.
2. Grinberg M et al. (2005) *Mol Cell Biol* 25:4579–4590.

BS³

3. Shi JM et al. (2017) *PLoS One* 12(3):e0173871.
4. Presentini R (2017) *J Immunoassay Immunochem* 38(1):100–113.
5. Nguyen-Huyh NT et al. (2015) *Protein Sci* 24(8):1232–1246.
6. Aravind A et al. (2012) *Cancer Nanotechnol* 3(1–6):1–12.
7. Lay FT et al. (2012) *J Biol Chem* 287:19961–19972.
8. Kilkenney ML et al. (2012) *J Biol Chem* 287:23740–23747.
9. Van Meeteren LA et al. (2012) *J Biol Chem* 287:18551–18561.
10. Richter C et al. (2012) *Mol Cell Biol* 32:2515–2529.
11. Sachais BS et al. (2012) *Blood* 119:5955–5962.
12. Ohgo K et al. (2012) *J Biol Chem* 287:18201–18209.
13. Aryal RP et al. (2012) *J Biol Chem* 287:15317–15329.
14. Ohnishi H et al. (2012) *J Biol Chem* 287:13371–13381.

BS³ analogs (heavy/light)

15. Kalkhof S et al. (2005) *Anal Chem* 77:495–503.
16. Schilling B et al. (2003) *J Am Soc Mass Spectrom* 14:834–850.
17. Sinz A (2003) *J Mass Spectrom* 38:1225–1237.
18. Back JW et al. (2003) *J Mol Biol* 331:303–313.
19. Dihazi GH and Sinz A (2003) *Rapid Commun Mass Spectrom* 17:2005–2014.
20. Pearson KM et al. (2002) *Rapid Commun Mass Spectrom* 16:149–159.
21. Muller DR et al. (2001) *Anal Chem* 73:1927–1934.
22. Peri S et al. (2001) *Trends Biochem Sci* 26:687–689.
23. Hermanson GT (1996) *Bioconjugate Techniques*. Academic Press pp 284, 416.
24. Hermanson GT (1996) *Bioconjugate Techniques*. Academic Press pp 214, 416.
25. Krieg UC et al. (1986) *Proc Natl Acad Sci USA* 83:8604–8608.
26. Traut RR et al. (1989) *Protein Function, A Practical Approach*. IRL Press, 101.
27. Sgro JY et al. (1986) *Eur J Biochem* 154:69–76.

BS(PEG)₅, BS(PEG)₉

28. Lay FT et al. (2012) *J Biol Chem* 287:19961–19972.
29. Petrie RJ et al. (2012) *J Cell Biol* 197:439–455.
30. Blank K et al. (2003) *Proc Natl Acad Sci USA* 100:11356–11360.

DFDNB

31. Geula S et al. (2012) *J Biol Chem* 287:2179–2190.
32. Schulz C et al. (2011) *J Cell Biol* 195:643–656.
33. Sheridan JT et al. (2011) *J Biol Chem* 286:1381–1388.
34. Keinan N et al. (2010) *Mol Cell Biol* 30:5698–5709.
35. Lucker BF et al. (2010) *J Biol Chem* 285:21508–21518.
36. Gruschke S et al. (2010) *J Biol Chem* 285:19022–19028.

DMA

37. Peng L et al. (2012) *Mol Cell Biol* 32:2823–2836.
38. Korczynska JE et al. (2012) *Nucleic Acids Res* 40:928–938.
39. Mizutani A et al. (2011) *J Biol Chem* 286:29848–29860.

40. Fenton RA et al. (2007) *Am J Physiol Renal Physiol* 293:F748–F760.

DMP

41. Guergova-Kuras M et al. (2011) *Mol Cell Proteomics* 10:M111.010298.
42. Fenton RA et al. (2007) *Am J Physiol Renal Physiol* 293:F748–F760.

DMS

43. Korczynska JE et al. (2012) *Nucleic Acids Res* 40:928–938.
44. Sen D et al. (2012) *J Biol Chem* 287:14545–14556.
45. Chang T-W et al. (2012) *J Biol Chem* 287:418–428.
46. Guergova-Kuras M et al. (2011) *Mol Cell Proteomics* 10:M111.010298.
47. Jha BK et al. (2011) *J Biol Chem* 286:26319–26326.

DSG

48. Yeo KB et al. (2013) *Enzyme Microb Technol* 53(4):223–228.
49. Wang Z et al. (2012) *Nucleic Acids Res* 40:4193–4202.
50. Akin BL and Jones LR (2012) *J Biol Chem* 287:7582–7593.
51. Tsai H et al. (2011) *Nucleic Acids Res* 39:2165–2174.
52. Sen N and Snyder SH (2011) *Proc Natl Acad Sci USA* 108:20178–20183.
53. Brasier AR et al. (2011) *J Virol* 85:11752–11769.
54. Mardaryev AN et al. (2011) *Development* 138:4843–4852.
55. Hauser N et al. (2006) *Nucleic Acid Res* 34:5101–5111.
56. Baraquet C et al. (2006) *J Biol Chem* 281:38189–38199.
57. Strang C et al. (2001) *J Biol Chem* 276:28493–28502.

DSBU

58. Arit C et al. (2016) *Anal Chem* 88(16):7930–7937.
59. Müller MQ et al. (2011) *Rapid Commun Mass Spectrom* 25(1):155–161.

DSP

60. Preterre C et al. (2015) *J Parkinsons Dis* 5(4):765–772.
61. Aoki T et al. (2014) *Fly (Austin)* 8(1):43–51.
62. Liu L et al. (2012) *Analyst* 137(16):3794–3799.
63. Smith AL et al. (2012) *Mol Biol Cell* 23:99–110.
64. Larimore J et al. (2011) *Mol Biol Cell* 22:4854–4867.
65. Zlatic SA et al. (2011) *Mol Biol Cell* 22:1699–1715.
66. Penmatsa H et al. (2010) *Mol Biol Cell* 21:1097–1110.
67. Bue CA and Barlowe C (2009) *J Biol Chem* 284:24049–24060.
68. Denver RJ and Williamson KE (2009) *Endocrinology* 150:3935–3943.
69. Steiner H et al. (2008) *J Biol Chem* 283:34677–34686.
70. Gavazzi F et al. (2007) *Plant Physiol* 145:933–945.

DSS

71. Jin Y et al. (2014) *J Biol Chem* 289(41):28237–28248.
72. Merkley ED et al. (2014) *Protein Sci* 23(6):747–759.
73. Macakova E et al (2013) *Biochim Biophys Acta* 1830(10):4491–9
74. Jennebach S et al. (2012) *Nucleic Acids Res* 40:5591–5601.
75. Ahmad R et al. (2012) *J Biol Chem* 287:20866–20875.
76. van Meeteren LA et al. (2012) *J Biol Chem* 287:18551–18561.
77. Yao Y et al. (2012) *Blood* 119:5037–5047.
78. Sarkar DK et al. (2012) *J Biol Chem* 287:16734–16747.
79. Faye A et al. (2007) *J Biol Chem* 282:26908–26916.
80. Bofill-Cardona E et al. (2000) *J Biol Chem* 275:32672–32680.

DSSO

81. Aebbersold R et al. (2017) *Mol Cell Proteomics* 16(5):840–854.
82. Kao A et al. (2011) *Mol Cell Proteomics* 10(1):M110.002212.

DST

83. Matsuda M et al. (2012) *J Bioact Compat Polym* 27:31–44.
84. Yu Y et al. (2009) *Proc Natl Acad Sci USA* 106:11558–11563.
85. Alian A et al. (2009) *Proc Natl Acad Sci USA* 106:8192–8197.
86. Nakayama K et al. (2007) *Plant Physiol* 144:513–523.

DTBP

87. Zhu B et al. (2012) *Mol Cell Biol* 32:2065–2082.
88. Bhattacharya M et al. (2012) *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 303:L12–L19.
89. Shi Y et al. (2011) *Mol Biol Cell* 22:4093–4107.

DTSSP (Sulfo-DPSP)

90. Hung C-H et al. (2012) *J Biol Chem* 287:17398–17407.
91. Fenyk S et al. (2012) *J Biol Chem* 287:4023–4032.
92. Geula S et al. (2012) *J Biol Chem* 287:2179–2190.
93. Mokry M et al. (2012) *Nucleic Acids Res* 40:148–158.
94. Boleij A et al. (2011) *Infect Immun* 79:4777–4783.
95. Li H and Pauza CD (2011) *Blood* 118:5824–5831.
96. Liu H et al. (2011) *Proc Natl Acad Sci USA* 108:18536–18541.

EGS

97. Gogada R et al. (2011) *J Biol Chem* 286:28749–28760.
98. Pourcet B et al. (2011) *Circ Res* 109:492–501.
99. Keinan N et al. (2010) *Mol Cell Biol* 30:5698–5709.

Sulfo-EGS

100. Deiss K et al. (2012) *J Biol Chem* 287:23407–23417.
101. Xayarath B et al. (2011) *Microbiology* 157:3138–3149.
102. Kim J et al. (2011) *J Virol* 85:8116–8132.
103. Séverin S et al. (2011) *J Biol Chem* 286:4107–4116.
104. Jansma AL et al. (2010) *J Biol Chem* 285:14424–14437.
105. Özvegy-Laczka C et al. (2008) *J Biol Chem* 283:26059–26070.
106. Xing Y et al. (2004) *J Biol Chem* 279:30662–30669.

TSAT

107. Bofill-Cardona E et al. (2000) *J Biol Chem* 275:32672–32680.

同型双功能交联剂, 巯基反应

BMOE

108. Geula S et al. (2012) *J Biol Chem* 287:2179–2190.
109. Auclair JR et al. (2010) *Proc Natl Acad Sci USA* 107:21394–21399.
110. Kida Y et al. (2007) *J Cell Biol* 179:1441–1452.

BMB

111. Auclair JR et al. (2010) *Proc Natl Acad Sci USA* 107:21394–21399.
112. Kida Y et al. (2007) *J Cell Biol* 179:1441–1452.

BMH

113. Ahmad R et al. (2012) *J Biol Chem* 287:20866–20875.
114. Gogada R et al. (2011) *J Biol Chem* 286:28749–28760.
115. Beck R et al. (2008) *Proc Natl Acad Sci USA* 105:11731–11736.
116. Kida Y et al. (2007) *J Cell Biol* 179:1441–1452.

BM(PEG)₂, BM(PEG)₃

117. Auclair JR et al. (2010) *Proc Natl Acad Sci USA* 107:21394–21399.
118. Kida Y et al. (2007) *J Cell Biol* 179:1441–1452.

DTME

119. Smith AL et al. (2012) *Mol Biol Cell* 23:99–110.
120. Van Itallie CM et al. (2011) *J Biol Chem* 286:3442–3450.
121. Auclair JR et al. (2010) *Proc Natl Acad Sci USA* 107:21394–21399.
122. Zhang H et al. (2010) *J Biol Chem* 285:38324–38336.

123. Simonin A and Fuster D (2010) *J Biol Chem* 285:38293–38303.

TMEA

124. Gosink KK et al. (2011) *J Bacteriol* 193:6452–6460.
125. Auclair JR et al. (2010) *Proc Natl Acad Sci USA* 107:21394–21399.
126. Studdert CA and Parkinson JS (2004) *Proc Natl Acad Sci USA* 101:2117–2122.

异型双功能交联剂, 氨基-巯基

AMAS

127. Pech M et al. (2010) *J Biol Chem* 285:19679–19687.
128. Tran HJ et al. (2005) *J Biol Chem* 280:42423–42432.
129. Chen Z et al. (2003) *J Biol Chem* 278:48348–48356.
130. Strang C et al. (2001) *J Biol Chem* 276:28493–28502.

BMPS

131. Chen Z et al. (2003) *J Biol Chem* 278:48348–48356.

EMCA

132. Griffith DG et al. (1981) *FEBS Lett* 134:261–263.

EMCS

133. Akin L and Jones LR (2012) *J Biol Chem* 287:7582–7593.
134. Chen Z et al. (2007) *J Biol Chem* 282:20968–20976.
135. Chen Z et al. (2005) *J Biol Chem* 280:10530–10539.
136. Hamby CV et al. (2005) *Clin Diagn Lab Immunol* 12:801–807.
137. Chen Z. et al. (2003) *J Biol Chem* 278:48348–48356.
138. Brandt O et al. (2003) *Nucleic Acids Res* 31:e119.
139. Härmä H et al. (2000) *Clin Chem* 46:1755–1761.

Sulfo-EMCS

140. Anderson JP et al. (2006) *J Biol Chem* 281:29739–29752.
141. Fixe F et al. (2004) *Nucleic Acids Res* 32:e70.

GMBS

142. Lee S-J et al. (2011) *Blood* 117:5215–5223.
143. Lee H-S et al. (2010) *FASEB J* 24:2314–2324.
144. Gunning AP et al. (2009) *FASEB J* 23:415–424.
145. Gunning AP et al. (2008) *FASEB J* 22:2331–2339.
146. Adessi C et al. (2000) *Nucleic Acids Res* 28:e87.
147. Fujiwara K et al. (1998) *J Biochem* 124:244–249.
148. Chrisey LA et al. (1996) *Nucleic Acids Res* 24:3031–3039.

Sulfo-GMBS

149. Wang QS et al. (2011) *RNA* 17:469–477.
150. Faye A et al. (2007) *J Biol Chem* 282:26908–26916.
151. Liu S-H et al. (2006) *Mol Cell Proteomics* 5:1019–1032.
152. Weber ANR et al. (2005) *J Biol Chem* 280:22793–22799.

Sulfo-KMUS

153. Faye A et al. (2007) *J Biol Chem* 282:26908–26916.
154. DeCory TR et al. (2005) *Appl Environ Microbiol* 71:1856–1864.
155. Weber ANR et al. (2005) *J Biol Chem* 280:22793–22799.

MBS

156. Chen Z et al. (2003) *J Biol Chem* 278:48348–48356.
157. Adessi C et al. (2000) *Nucleic Acids Res* 28:e87.
158. Chrisey LA et al. (1996) *Nucleic Acids Res* 24:3031–3039.

Sulfo-MBS

159. Özvegy-Laczka C et al. (2008) *J Biol Chem* 283:26059–26070.
160. Faye A et al. (2007) *J Biol Chem* 282:26908–26916.

SIA

161. Chen Y-R et al. (2004) *J Biol Chem* 279:18054–18062.

162. Strang C et al. (2001) *J Biol Chem* 276:28493–28502.

SIAB

163. Stan T et al. (2003) *Mol Cell Biol* 23:2239–2250.

164. Andreadis JD and Chrisey LA (2000) *Nucleic Acids Res* 28:e5.

165. Tang K et al. (1999) *Proc Natl Acad Sci USA* 96:10016–10020.

166. Weng G et al. (1996) *J Biol Chem* 271:26445–26448.

167. Chrisey LA et al. (1996) *Nucleic Acids Res* 24:3031–3039.

Sulfo-SIAB

168. Crawford JB and Patton JG (2006) *Mol Cell Biol* 26:8791–8802.

169. Allerson CR et al. (2003) *RNA* 9:364–374.

170. Härmä H et al. (2000) *Clin Chem* 46:1755–1761.

171. Adessi C et al. (2000) *Nucleic Acids Res* 28:e87.

SMCC

172. Chen Y et al. (2016) *Bioconjugate Chem* 27(9):2037–2047.

173. Ballantyne A et al. (2013) *Drugs* 73(7):755–765

174. Hatakeyama S et al. (2011) *Proc Natl Acad Sci USA* 108:19587–19592.

175. Sperling RA and Parak W (2010) *J Phil Trans R Soc A* 368:1333–1383.

176. Kovtun YV et al. (2010) *Cancer Res* 70:2528–2537.

177. Chen Z et al. (2003) *J Biol Chem* 278:48348–48356.

178. Obara K et al. (2001) *Nucleic Acids Symp Ser* 1:217–218.

179. Adessi C et al. (2000) *Nucleic Acids Res* 28:e87.

180. Chrisey LA et al. (1996) *Nucleic Acids Res* 24:3031–3039.

Sulfo-SMCC

181. Bäumer N et al. (2016) *Nat Protoc* 11(1):22–36.

182. Li F et al. (2015) *J Biomed Nanotechnol* 11(10):1776–1782.

183. Hnasko RM et al (2015) *Methods Mol Biol* 1318:43–50.

184. De la Torre TZ et al. (2011) *J Nanosci Nanotechnol* 11(10):8532–8537

185. Betting DJ et al. (2008) *J Immunol* 181:4131–4140.

186. Mamedova AA et al. (2004) *J Biol Chem* 279:23830–23836.

187. Harvey S et al. (1998) *Clin Chem* 44:509–516.

188. Percy AJ et al. (1996) *Clin Chem* 42:576–585.

LC-SMCC

189. Nguyen M et al. (2007) *Proc Natl Acad Sci USA* 104:19512–19517.

190. Masuko M (2003) *Nucleic Acids Symp Ser* 3:145–146.

191. Ruffolo SC and Shore GC (2003) *J Biol Chem* 278:25039–25045.

SMPB

192. Meng F and Sachs F (2011) *J Cell Sci* 124:261–269.

193. Karumuthil-Melethil S et al. (2010) *J Immunol* 184:6695–6708.

194. Goldoni S et al. (2009) *J Cell Biol* 185:743–754.

195. Chrisey LA et al. (1996) *Nucleic Acids Res* 24:3031–3039.

Sulfo-SMPB

196. Zhu J-X et al. (2005) *J Biol Chem* 280:32468–32479.

197. Mamedova AA et al. (2004) *J Biol Chem* 279:23830–23836.

198. Goldoni S et al. (2004) *J Biol Chem* 279:6606–6612.

199. Niemeyer CM et al. (2003) *Nucleic Acids Res* 31:e90.

200. Pu WT et al. (1999) *Mol Cell Biol* 19:4113–4120.

SMPT

201. Austin CD et al. (2005) *Proc Natl Acad Sci USA* 102:17987–17992.

202. Solomon SR et al. (2005) *Blood* 106:1123–1129.

203. Windt W et al. (2004) *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 5:197–202.

204. Ding B-S et al. (2003) *Circulation* 108:2892–2898.

SMPH

205. Schmitz N et al. (2009) *J Exp Med* 206:1941–1955.

206. Chen Z et al. (2003) *J Biol Chem* 278:48348–48356.

SPDP

207. You H et al. (2012) *Nucleic Acids Res* 40(19):e151.

208. Pallaoro A et al. (2011) *Proc Natl Acad Sci USA* 108:16559–16564.

209. Janganan TK et al. (2011) *J Biol Chem* 286:26900–26912.

210. Zhou H et al. (2011) *Mol Cancer Ther* 10:1276–1288.

211. Karumuthil-Melethil S et al. (2010) *J Immunol* 184:6695–6708.

212. Lobedanz S et al. (2007) *Proc Natl Acad Sci USA* 104:4612–4617.

LC-SPDP

213. Janganan TK et al. (2011) *J Biol Chem* 286:26900–26912.

214. Symmons MF et al. (2009) *Proc Natl Acad Sci USA* 106:7173–7178.

215. Yuan J and Berg HC (2008) *Proc Natl Acad Sci USA* 105:1182–1185.

216. Lobedanz S et al. (2007) *Proc Natl Acad Sci USA* 104:4612–4617.

Sulfo-LC-SPDP

217. Zhao D et al. (2011) *Clin Cancer Res* 17:771–782.

218. Zhang J et al. (2008) *Mol Cell Proteomics* 7:1378–1388.

219. Backer MV et al. (2005) *Mol Cancer Ther* 4:1423–1429.

异型双功能交联剂, 羧基-氨基

EDC

220. Kaldeus T et al (2018) *Carbohydr Polym* 181:871–878.

221. Bergfeld AK et al. (2012) *J Biol Chem* 287:28865–28881.

222. Kloetzel P-M and Janek K. (2012) *Mol Cell Proteomics* 11:467–477.

223. Olsson N et al. (2012) *Mol Cell Proteomics* 11:342–354.

224. Li Z et al. (2012) *Nucleic Acids Res* 40:6787–6799.

225. Ido K et al. (2012) *J Biol Chem* 287:26377–26387.

226. Sperling RA and Parak WJ (2010) *Phil Trans R Soc A* 368:1333–1383.

227. Bronfman FC et al. (2003) *J Neurosci* 23(8):3209–3220.

228. Adessi C et al. (2000) *Nucleic Acids Res* 28:e87.

BMPH

229. Özvegy-Laczka C et al. (2008) *J Biol Chem* 283:26059–26070.

230. Ishmael SS et al. (2006) *J Biol Chem* 281:37404–37415.

EMCH

231. Ouertatani-Sakouhi H et al. (2010) *J Biol Chem* 285:26581–26598.

232. Bao X et al. (2007) *Proc Natl Acad Sci USA* 104:4919–4924.

233. Joyce J et al. (2006) *J Biol Chem* 281:4831–4843.

MPBH

234. Gunning AP et al. (2009) *FASEB J* 23:415–424.

235. Gunning AP et al. (2008) *FASEB J* 22:2331–2339.

236. Chamow SM et al. (1992) *J Biol Chem* 267:15916–15922.

KMUH

237. Yang W et al. (2008) *Clin Cancer Res* 14:883–891.

238. Wu G et al. (2006) *Mol Cancer Ther* 5:52–59.

239. Yang W et al. (2006) *Clin Cancer Res* 12:3792–3802.

Sulfo-NHS

240. Hu N et al. (2017) *Cell Physiol Biochem* 44(6):2158–2173.

241. Quevedo PD et al. (2016) *Anal Bioanal Chem* 408(15):4133–4149.

242. Esfandiari N et al. (2016) *Tumour Biol* 37(1):1229–1236.

243. Figueroa ER et al. (2014) *Biomaterials* 35(5):1725–1734.

PDPH

244. Atkinson SF et al. (2001) *J Biol Chem* 276:27930–27935.

245. Bäckman C et al. (1996) *J Neurosci* 16:5437–5442.

246. Govindan SV et al. (1995) *Cancer Res* 55:5721s–5725s.

PMP1

247. Chirayil S et al. (2009) *Nucleic Acids Res* 37:5486–5497.
248. Özvegy-Laczka C et al. (2008) *J Biol Chem* 283:26059–26070.
249. Pourmand N et al. (2006) *Proc Natl Acad Sci USA* 103:6466–6470.
250. Shen G et al. (2004) *Nucleic Acids Res* 32:5973–5980.

光反应性交联剂

ANB-NOS

251. Koulov AV et al. (2010) *Mol Biol Cell* 21:871–884.
252. Gónna MW et al. (2010) *RNA* 16:553–562.
253. Adams CA et al. (2004) *J Biol Chem* 279:1376–1382.
254. Park B and Ahn K (2003) *J Biol Chem* 278:14337–14345.

Sulfo-SANPAH

255. Nishitani WS et al. (2015) *PLoS One* 10(5):e0126440.
256. Yip AK et al. (2013) *Biophys J* 104(1):19–29.
257. Oakes PW et al. (2012) *J Cell Biol* 196:363–374.
258. Elliott CG et al. (2012) *J Cell Sci* 125:121–132.
259. Mierke CT et al. (2011) *J Biol Chem* 286:34858–34871.
260. Liu Z et al. (2011) *J Biol Chem* 286:30795–30805.
261. Betz T et al. (2011) *Proc Natl Acad Sci USA* 108:13420–13425.

SDAD

262. Inman JK et al. (1991) *Bioconjug Chem* 2:458–463.

Sulfo-SBED

263. App C et al. (2014) *Anal Biochem* 456:14–21.
264. Neely KE et al. (2002) *Mol Cell Biol* 22(6):1615–1625.
265. Ishmael FT et al. (2002) *J Biol Chem* 277(23):20555–20562.
266. Alley SC et al. (2000) *J Am Chem Soc* 122:6126–6127.
267. Trotman LC et al. (2001) *Nat Cell Biol* 3:1092–1100.
268. Horney MJ et al. (2001) *J Biol Chem* 276(4):2880–2889.
269. Daum JR et al. (2000) *Curr. Biology* 10(23):R850–R857, S1–S2.
270. Kleene R et al. (2000) *Biochemistry* 39:9893–9900.
271. Minami Y et al. (2000) *J Biol Chem* 275(12):9055–9061.
272. Sharma KK et al. (2000) *J Biol Chem* 275(6):3767–3771.
273. Ilver D et al. (1998) *Science* 279(5349):373–377.
274. Jacobson KA et al. (1995) *Life Sci* 56 (11/12):823–830.
275. Geselowitz DA and Neumann RD (1995) *BioConjug Chem* 6:502–506.

化学选择性连接

NHS-膦

276. Jumper CC and Schriemer DC (2011) *Anal Chem* 83(8):2913–2920.

光反应性氨基酸

L-Photo-亮氨酸

277. Zhao W-Q et al. (2010) *J Biol Chem* 285:7619–7632.

L-Photo-甲硫酸

278. Weaver MS et al. (2008) *J Biol Chem* 283:22826–22837.

生物素化试剂 (常用)

279. Ali MK and Bergson C (2003) *J Biol Chem* 278:51654–51663.
280. Du J et al. (2003) *J Cell Biol* 163(2):385–395.
281. Lee-Kwon W et al. (2003) *J Biol Chem* 278:16494–16501.
282. Lin Z et al. (2003) *J Biol Chem* 278(22):20162–20170.
283. Trotti D et al. (2001) *J Biol Chem* 276:576–582.
284. Zuk PA and Elferink LA (2000) *J Biol Chem* 275:26754–26764.
285. Huh K-H and Wenthold RJ (1999) *J Biol Chem* 274:151–157.
286. Zhang L et al. (1999) *J Biol Chem* 274:8966–8972.
287. Daniels GM and Amara SG (1998) *Methods Enzymol* 296:307–318.

生物素化试剂, 氨基反应

NHS-生物素

288. Fouassier L et al. (2000) *J Biol Chem* 275:25039–25045.
289. Nunomura W et al. (2000) *J Biol Chem* 275:6360–6367.

Sulfo-NHS-生物素

290. Lei Z et al. (2012) *Dev Biol* 371:136–145.
291. Wu M et al. (2012) *Invest Ophthalmol Vis Sci* 53(6):2541–2550.
292. Claypool SM et al. (2002) *J Biol Chem* 277:28038–28050.
293. Leighton BH et al. (2002) *J Biol Chem* 277:29847–29855.
294. Neely KE et al. (2002) *Mol Cell Biol* 22:1615–1625.
295. Ellerbroek SM et al. (2001) *J Biol Chem* 276:24833–24842.
296. Arosa FA et al. (1999) *J Biol Chem* 274:16917–16922.

NHS-LC-生物素

297. Chiu NH et al. (1999) *Clin Chem* 45:1954–1959.
298. Schumacher TN et al. (1996) *Science* 271:1854–1857.
299. Tang A et al. (1993) *Nature* 361:82–85.

Sulfo-NHS-LC-生物素

300. Liu S et al. (2012) *Biomaterials* 33:7828–7833.
301. Strassberger V et al. (2011) *Proteomics Clin Appl* 5(3–4):194.
302. Tolino LA et al. (2011) *J Biol Chem* 286:16297–16307.
303. Baqui M et al. (2003) *J Biol Chem* 278:1206–1211.
304. Liaw PCY et al. (2001) *J Biol Chem* 276:8364–8370.
305. Lesa GM et al. (2000) *J Biol Chem* 275:2831–2836.
306. Huh K-H and Wenthold RJ (1999) *J Biol Chem* 274:151–157.
307. Liu LA and Engvall E (1999) *J Biol Chem* 274:38171–38176.
308. Arosa FA et al. (1999) *J Biol Chem* 274:16917–16922.

NHS-LC-LC-生物素

309. Bradley C et al. (2007) *Carcinogen* 28:2184–2192.
310. Sehr P et al. (2007) *J Biomol Screen* 12:560–567.
311. Negishi A et al. (2004) *Glycobiology* 14:969–977.

Sulfo-NHS-LC-LC-生物素

312. Gabant G et al. (2008) *J Mass Spectrom* 43(3):360–370.
313. Muroi M et al. (2002) *J Biol Chem* 277:42372–42379.
314. Schwarzman AL et al. (1999) *Proc Natl Acad Sci USA* 96:7932–7937.

Sulfo-NHS-SS-生物素

315. Markoutsas S et al. (2014) *Proteomics* 14(6):659–667
316. Hayashi H et al. (2012) *J Biol Chem* 287(18):15054–15065
317. Knezevic I et al. (2011) *J Cell Mol Med* 15(11):2364–2376
318. Trotti D et al. (2001) *J Biol Chem* 276:576–582.
319. Huh K-H and Wenthold RJ (1999) *J Biol Chem* 274:151–157.
320. Daniels GM and Amara SG (1998) *Methods Enzymol* 296:307–318.

NHS-亚氨基生物素

321. Zeheb R et al. (1983) *Anal Biochem* 129:156–161.
322. Orr GA et al. (1981) *J Biol Chem* 256:761–766.

EZ-Link PFP-生物素

323. Michaelis K et al. (2006) *J Pharmacol Exp Ther* 317:1246–1253.
324. Muroi M et al. (2002) *J Biol Chem* 277:42372–42379.

NHS-PEG4-生物素

325. Sirianni R et al. (2014) *Bioconjug Chem* 25(12):2157–2165.
326. Dodeller F et al. (2008) *J Biol Chem* 283:21487–21494.
327. Newton JR et al. (2007) *J Nucl Med* 48:429–436.
328. Behrens M et al. (2006) *J Biol Chem* 281:20650–20659.

生物素化试剂, 巯基反应

生物素-BMCC

329. Roberts PJ et al. (2008) *J Biol Chem* 283:25150–25163.
330. Shi M et al. (2007) *J Biol Chem* 282:30198–30206.
331. Chenette EJ et al. (2006) *Mol Biol Cell* 17:3108–3121.

HPDP-生物素

332. Lee P et al (2011) *Mol Cells* 31(3):255–259.
333. Seth D et al (2011) *Curr Opin Chem Bio* 15(1):126–136.
334. Slatin SL et al. (2002) *Proc Natl Acad Sci USA* 99:1286–1291.
335. Ishmael FT et al. (2001) *J Biol Chem* 276:25236–25242.

碘乙酰基-LC-生物素

336. Sutoh K et al. (1984) *J Mol Biol* 178:323–339.
337. Yamamoto K et al. (1984) *FEBS Lett* 176:75–78.

碘乙酰基-PEG₂-生物素

338. Muroi M et al. (2002) *J Biol Chem* 277:42372–42379.
339. Kim K et al. (2001) *J Biol Chem* 276:40591–40598.

马来酰亚胺-PEG₂-生物素

340. Fraser J et al. (2011) *J Biol Chem* 286(37):31984–31992.
341. Mellgren R (2010) *J Biol Chem* 285(47):36597–36607.
342. Inglis KJ et al. (2008) *J Biol Chem* 284(5):2598–2602
343. Oda Y et al. (2001) *Nat Biotechnol* 19:379–382.

生物素化试剂, 羧基反应

生物胞素

344. Baqui M et al. (2003) *J Biol Chem* 278:1206–1211.

戊胺-生物素

345. Cernuda-Morollon E et al. (2001) *J Biol Chem* 276:35530–35536.
346. Liu Y et al. (1999) *Proc Natl Acad Sci USA* 96:14694–14699.

胺-PEG₂-生物素

347. Fezza F et al. (2008) *J Lipid Res* 49:1216–1223.
348. Cui B et al. (2007) *Proc Natl Acad Sci USA* 104:13666–13671.
349. Pihlajamaa T et al. (2004) *J Biol Chem* 279:24265–24273.

胺-PEG₃-生物素

350. Maguire B A et al. (2008) *RNA* 14:188–195.

生物素化试剂, 羰基反应

酰肼-生物胞素

351. Bayer EA et al. (1988) *Anal Biochem* 170:271–281.
352. Reisfeld A et al. (1987) *Biochem Biophys Res Commun* 142:519–526.
353. Roffman E et al. (1986) *Biochem Biophys Res Commun* 136:80–85.

酰肼-生物素

354. Edwards SW et al. (1999) *J Biol Chem* 274:16331–16336.
355. Reisfeld A et al. (1987) *Biochem Biophys Res Commun* 142:519–526.

生物素-LC-酰肼

356. Scott MG et al. (2000) *J Immunol* 164:549–553.
357. Araga S et al. (1999) *J Immunol* 163:476–482.
358. Luk JM et al. (1995) *Anal Biochem* 232:217–224.
359. Yu Q and Toole BP (1995) *Biotechniques* 19:122–129.
360. Kahne T and Ansorge S (1994) *J Immunol Methods* 168:209–218.

酰肼-PEG₄-生物素

361. Ding S et al. (2005) *J Gen Physiol* 126:213–226.
362. Handlogten ME et al. (2005) *Am J Physiol Renal Physiol* 289:F347–F358.
363. Jang JH and Hanash S (2003) *Proteomics* 3:1947–1954.

生物素化试剂, 光反应性或化学选择性

补骨脂素-PEG₃-生物素

364. Cimono GD et al. (1985) *Annu Rev Biochem* 54:1151–1193.
365. Wassarman DA (1993) *Mol Biol Rep* 17:143–151.

蛋白和多肽的还原和变性试剂

AminoLink还原剂

366. Fries DM et al. (2003) *J Biol Chem* 278:22901–22907.
367. Kierszenbau AL et al. (2003) *Mol Biol Cell* 14:4628–4640.
368. Li H and Pajor AM (2003) *Am J Physiol Cell Physiol* 285:1188–1196.
369. Essler M et al. (2002) *Proc Natl Acad Sci USA* 99:2252–2257.
370. Assad FF et al. (2001) *J Cell Biol* 152:531–543.
371. Rossig L et al. (2001) *Mol Cell Biol* 21:5644–5657.
372. Zuk PA and Elferink LA (2000) *J Biol Chem* 275:26754–26764.

2-巯基乙醇盐酸盐

373. Yoshitake S et al. (1979) *Euro J Biochem* 101(2):395–399.

DTT

374. Sun M et al. (2005) *Bioconjug Chem* 16:1282–1290.
375. De Rosario R et al. (1990) *Bioconjug Chem* 1:51–59.
376. Zahler WL and Cleland WW (1964) *Biochemistry* 3:480–482.

TCEP

377. Sun M et al. (2005) *Bioconjug Chem* 16:1282–1290.
378. Irsch T and Krauth-Siegel RL (2004) *J Biol Chem* 279:22209–22217.
379. Schmidt H and Krauth-Siegel RL (2003) *J Biol Chem* 278:46329–46336.

盐酸胍, 8M盐酸胍

380. Tanaka S et al. (1985) *J Biochem* 97:1377–1384.
381. Wong KP et al. (1971) *J Biochem* 40:459–464.D

脲

382. Hames BD and Rickwood D, eds. (1984) *Gel Electrophoresis of Proteins: A Practical Approach*. Washington, D.C.: IRL Press.
383. Lacks SA et al. (1979) *Anal Biochem* 100:357–363.

蛋白和多肽的修饰试剂

AEDP

384. Schnaar RL et al. (1985) *Anal Biochem* 151:268–281.
385. Sayre LM et al. (1984) *J Med Chem* 27(10):1325–1335.

氨乙基化试剂

386. Schwartz WE et al. (1980) *Anal Biochem* 106:43–48.

柠檬酸酐

387. Klapper MH and Klotz IM (1972) *Methods Enzymol* 25:531–552.

乙二醇二盐酸盐

388. Hermanson GT (2008) *Bioconjugate Techniques* (2nd ed.). Academic Press. pp 114–118, 125.

盐酸羟胺

389. Duncan RJS et al. (1983) *Anal Biochem* 132:68–73.
390. Abdella P et al. (1979) *Biochem Biophys Res Commun* 87(3):732–742.

碘乙酸

391. Hermanson GT (2008) *Bioconjugate Techniques* (2nd ed.). Academic Press. pp 109–111.
392. Hall J et al. (1989) *Biochemistry* 28:2568–2571.

MMTS

393. Kirley TL (1989) *Anal Biochem* 180:231–236.
394. Smith DJ et al. (1975) *Biochemistry* 14:766–771.

偏高碘酸钠

395. Partis MD et al. (1983) *J Prot Chem* 2(3):263–277.

Sodium Meta-Periodate

396. Hermanson GT (2008) *Bioconjugate Techniques* (2nd ed.). Academic Press. pp 130–131.

Traut' s试剂

397. Stanisc DI et al. (2003) *Infec Immun* 71(10):5700–5713.
398. D' Oro U et al. (2002) *J Immunol* 169:6269–6278.
399. Newton DL et al. (2001) *Blood* 97:528–535.
400. Jue R et al. (1978) *Biochemistry* 17(25):5399–5405.
401. Traut RR et al. (1973) *Biochemistry* 12(17):3266–3273.

SATA, SATP

402. Fuji N et al. (1985) *Chem Pharm Bull* 33:362–367.
403. Duncan RJS et al. (1983) *Anal Biochem* 132:68–73.

SAT(PEG)₄

404. Hermanson GT (2008) *Bioconjugate Techniques* (2nd ed.). Academic Press.

用于蛋白质的聚乙二醇化试剂

BM(PEG)₃

405. Auclair J R et al. (2010) *Proc Natl Acad Sci USA* 107:21394–21399.
406. Kida Y et al. (2007) *J Cell Biol* 179:1441–1452.

CA(PEG)_n, MA(PEG)_n, MS(PEG)_n, n = 4, 8, 12, 24;

MM(PEG)₁₂; MM(PEG)₂₄; TMM(PEG)₁₂; TMS(PEG)₁₂

407. Hermanson GT (2008) *Bioconjugate Techniques* (2nd ed.). Academic Press.
408. Veronese F and Harris JM (2002) *Advanced Drug Delivery Review* 54(4):453–609.
409. Harris JM and Kozlowski A (2001) *J Control Release* 72:217–224.
410. Harris JM and Zalipsky S, eds. (1997) *ACS Symposium Series*, pp 680.

CL(PEG)₁₂; CT(PEG)₁₂; ML(PEG)₄; MT(PEG)₄

411. Lin P-C et al. (2006) *Small* 2(4):485–489.
412. Bentzen EL et al. (2005) *Bioconjug Chem* 16:1488–1494.
413. Verma A and Rotello VM (2005) *Chem Commun* 3:303–312.
414. Kidambi S et al. (2004) *J Am Chem Soc* 126:4697–4703.
415. Zheng M et al. (2003) *J Am Chem Soc* 125:7790–7791.
416. Prime KL and Whitesides GM (1991) *Science* 252:1164–1167.

BS(PEG)₅

417. Oppici E (2013) *Biochim Biophys Acta* 1832(12):2277–2288.

SM(PEG)₂

418. Tian B et al. (2017) *Front Immunol* 8:956.
419. Arigi E et al. (2012) *Glycoconj J* 29(1):1–12.

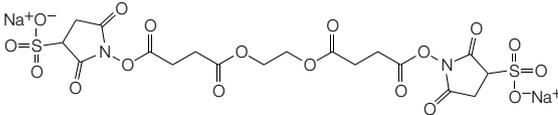
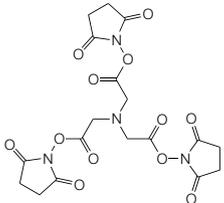
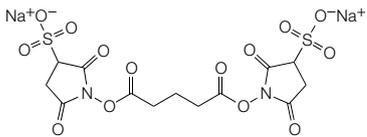
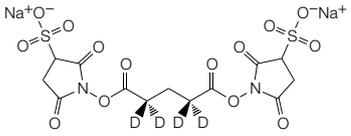
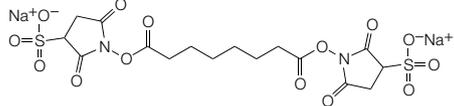
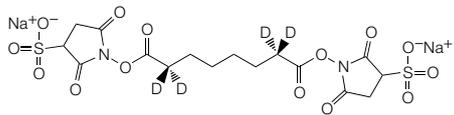
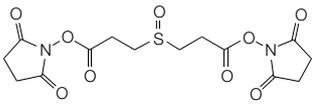
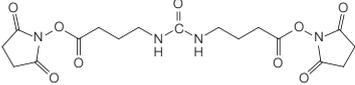
产品信息

同型双功能交联剂

订购信息 (续)

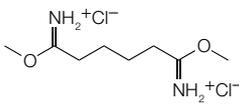
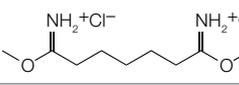
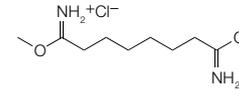
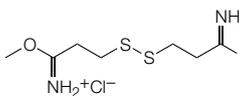
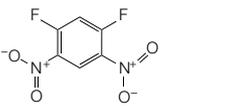
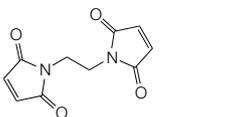
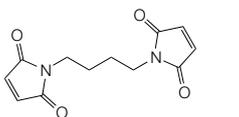
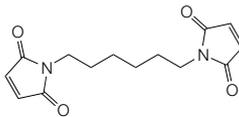
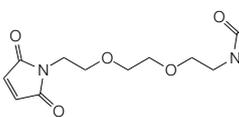
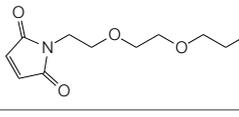
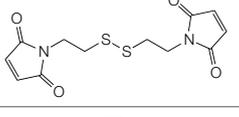
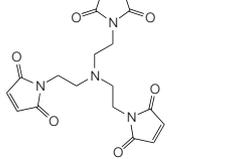
产品	分子量	间隔臂 (Å)	结构	数量	货号
氨基-氨基反应 (NHS酯)					
DSG (二琥珀酰亚氨基戊二酸酯)	326.26	7.7		50 mg	20593
Pierce DSG, No-Weigh形式				10 x 1 mg	A35392
DSS (二琥珀酰亚氨基辛二酸酯)	368.35	11.4		50 mg	21655
Pierce DSS, No-Weigh形式				1 g	21555
				10 x 2 mg	A39267
BS ³ (双(磺基琥珀酰亚氨基)辛二酸酯)	572.43	11.4		50 mg	21580
Pierce™ Premium (特优级) BS ³				1 g	21586
				100 mg	PG82083
Pierce BS ³ , No-Weigh形式				1 g	PG82084
				10 x 2 mg	A39266
BS (PEG) ₅ (聚乙二醇化双(磺基琥珀酰亚氨基)辛二酸酯)	532.50	21.7		100 mg	21581
Pierce BS (PEG) ₅ , No-Weigh形式				10 x 1 mg	A35396
BS (PEG) ₉ (聚乙二醇化双(磺基琥珀酰亚氨基)辛二酸酯)	708.71	35.8		100 mg	21582
DSP (二硫代双(琥珀酰亚氨基丙酸酯)), Lomant试剂	404.42	12.0		1 g	22585
Pierce Premium (特优级) DSP				50 mg	22586
				1 g	PG82081
Pierce DSP, No-Weigh形式				10 g	PG82082
				10 x 1 mg	A35393
DTSSP (3,3'-二硫代双(磺基琥珀酰亚氨基丙酸酯))	608.51	12.0		50 mg	21578
DST (酒石酸二琥珀酰亚胺酯)	344.24	6.4		50 mg	20589
BSOCOES (双(2-(琥珀酰亚氨基-氧羰基氧)乙基)砒)	436.35	13.0		50 mg	21600
EGS (乙二醇双(丁二酸 N-羟基琥珀酰亚胺酯))	456.36	16.1		1 g	21565

订购信息 (续)

产品	分子量	间隔臂 (Å)	结构	数量	货号
Sulfo-EGS (乙二醇双(磺基丁二酸 N-羟琥珀酰亚胺酯))	660.45	16.1		50 mg	21566
TSAT (Tris-(琥珀酰亚胺酯)氨基三乙酸)	482.36	4.2		50 mg	33063
氨基-氨基反应 (NHS酯), 氘代或MS可切割					
BS ² G-d ₀ (双(磺基琥珀酰亚氨基)戊二酸酯-d ₀)	530.35	7.7		10 mg	21610
BS ² G-d ₄ (双(磺基琥珀酰亚氨基)2,2,4,4-氘二酸酯-d ₄)	534.38	7.7		10 mg	21615
BS ³ -d ₀ (双(磺基琥珀酰亚氨基)辛二酸酯-d ₀)	572.43	11.4		10 mg	21590
BS ³ -d ₄ (双(磺基琥珀酰亚氨基)2,2,7,7-辛二酸酯-d ₄)	576.45	11.4		10 mg	21595
DSSO (二琥珀酰亚氨基亚砷)	388.35	10.1		10 x 1 mg	A33545
DSBU (二琥珀酰亚氨基二丁基脒)	426.38	12.5		10 x 1 mg	A35459

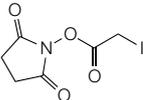
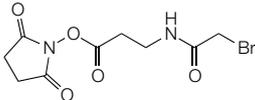
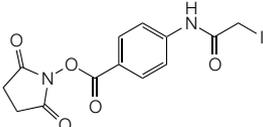
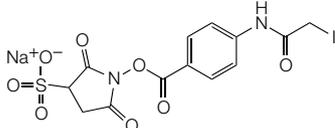
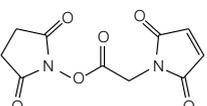
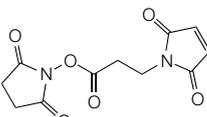
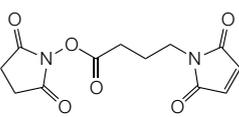
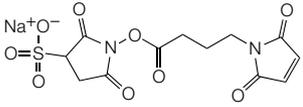
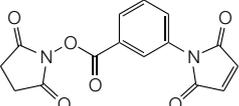
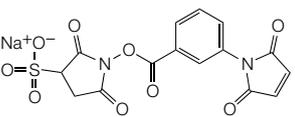
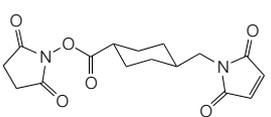
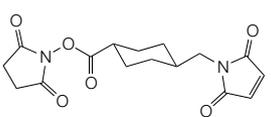
详情请访问 thermofisher.com/proteincrosslinking

订购信息 (续)

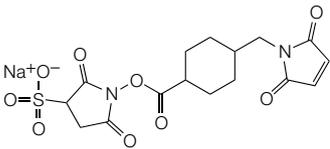
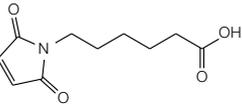
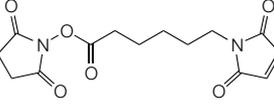
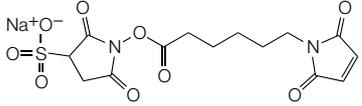
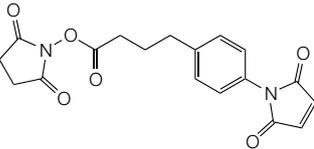
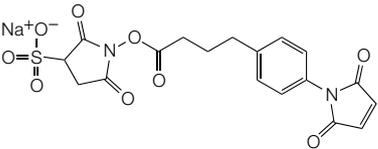
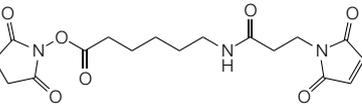
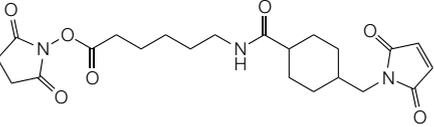
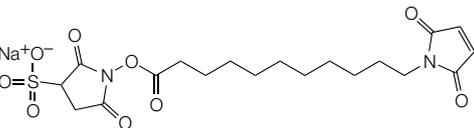
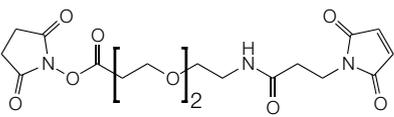
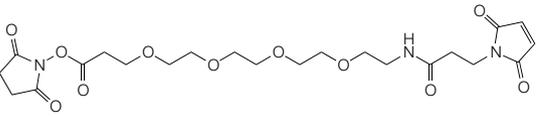
产品	分子量	间隔臂 (Å)	结构	数量	货号
氨基-氨基反应 (亚氨酸酯或二氟)					
DMA (己二酸二甲酯)	245.15	8.6		1 g	20660
MP (庚二亚氨酸二甲酯)	259.17	9.2		50 mg	21666
				1 g	21667
DMS (二甲基辛二硝酸)	273.20	11.0		1 g	20700
DTBP (Wang and Richard's 试剂)	309.28	11.9		1 g	20665
DFDNB (1,5-二氟-2,4-二硝基苯)	204.09	3.0		50 mg	21525
巯基-巯基反应 (马来酰亚胺)					
BMOE (双马来酰亚胺乙烷)	220.18	8.0		50 mg	22323
BMB (1,4-双马来酰亚胺丁烷)	248.23	10.9		50 mg	22331
BMH (双马来酰亚胺己烷)	276.29	16.1		50 mg	22330
BM (PEG) ₂ (1,8-双马来酰亚胺-二乙二醇)	308.29	14.7		50 mg	22336
BM (PEG) ₃ (1,11-双马来酰亚胺-三乙二醇)	352.34	17.8		50 mg	22337
DTME (二硫代马来酰亚胺乙烷)	312.37	13.3		50 mg	22335
TMEA (tris (2-马来酰亚氨基乙基) 胺)	386.36	10.3		50 mg	33043

异型双功能交联剂

订购信息 (续)

产品	分子量	间隔臂 (Å)	结构	数量	货号
氨基-巯基反应 (NHS-卤代乙酰基)					
SIA (碘代乙酸琥珀酰亚胺酯)	283.02	1.5		50 mg	22349
SBAP (琥珀酰亚胺基3-(溴乙酰基)丙酸酯)	307.10	6.2		50 mg	22339
SIAB (N-琥珀酰亚胺基(4-碘乙酰基)氨基苯甲酸甲酯)	402.14	10.6		50 mg	22329
Sulfo-SIAB (磺基琥珀酰亚胺基(4-碘乙酰基)氨基苯甲酸甲酯)	504.19	10.6		50 mg	22327
氨基-巯基反应 (NHS-马来酰亚胺)					
AMAS (N-α-马来酰亚胺乙酸琥珀酰亚胺酯)	252.18	4.4		50 mg	22295
BMPS (N-β-马来酰亚胺丙酸琥珀酰亚胺酯)	266.21	5.9		50 mg	22298
GMBS (N-γ-马来酰亚胺基丁酸琥珀酰亚胺酯)	280.23	7.3		50 mg	22309
Sulfo-GMBS (N-γ-马来酰亚胺基丁酸磺基琥珀酰亚胺酯)	382.28	7.3		50 mg	22324
MBS (m-马来酰亚胺氨基苯酰基-N-羟基琥珀酰亚胺酯)	314.25	7.3		50 mg	22311
Sulfo-MBS (m-马来酰亚胺氨基苯酰基-N-羟基磺基琥珀酰亚胺酯)	416.30	7.3		50 mg	22312
SMCC (4-(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷-1-羧酸琥珀酰亚胺酯)	334.32	8.3		50 mg	22360
Pierce SMCC, No-Weigh形式				10 x 1 mg	A35394

订购信息 (续)

产品	分子量	间隔臂 (Å)	结构	数量	货号
Sulfo-SMCC (磺基琥珀酰亚氨基-4-(N-马来酰亚胺甲基)环己烷-1-羧酸酯)				50 mg	22322
Pierce Premium (特优级) Sulfo-SMCC	436.37	8.3		1 g	22122
				100 mg	PG82085
				1 g	PG82086
Pierce Sulfo-SMCC, No-Weigh形式				10 x 2 mg	A39268
Pierce EMCA (N-ε-马来酰亚胺己酸)	211.21	9.4		1 g	22306
EMCS (ε-马来酰亚胺己酸N-羟基琥珀酰亚胺酯)	308.29	9.4		50 mg	22308
Sulfo-EMCS (ε-马来酰亚胺己酸N-羟基磺基琥珀酰亚胺酯)	410.33	9.4		50 mg	22307
SMPB (4-(p-马来酰亚胺氨基苯基)丁酸琥珀酰亚胺酯)	356.33	11.6		50 mg	22416
Sulfo-SMPB (磺基琥珀酰亚氨基-4-(N-马来酰亚胺氨基苯基)丁酸酯)	458.38	11.6		50 mg	22317
SMPH (6-(β-马来酰亚胺基丙酰氨基)己酸琥珀酰亚胺酯)	379.36	14.2		50 mg	22363
LC-SMCC (4-(N-马来酰亚胺甲基)环己烷-1-羧琥珀酰亚胺酯-(6-氨基己酸酯))	447.48	16.2		50 mg	22362
Sulfo-KMUS (N-κ-马来酰亚胺-十一酰胺磺基琥珀酰亚胺酯)	480.46	16.3		50 mg	21111
SM (PEG) ₂ (聚乙二醇化SMCC交联剂)				100 mg	22102
	425.39	17.6		1 g	22103
Pierce SM (PEG) ₂ , No-Weigh形式				10 x 1 mg	A35397
SM (PEG) ₄ (聚乙二醇化SMCC交联剂)				100 mg	22104
	513.5	24.6		1 g	22107

订购信息 (续)

产品	分子量	间隔臂 (Å)	结构	数量	货号
SM (PEG) ₆ (聚乙二醇化长链SMCC交联剂)	601.6	32.5		100 mg	22105
SM (PEG) ₈ (聚乙二醇化长链SMCC交联剂)	689.71	39.2		100 mg	22108
SM (PEG) ₁₂ (聚乙二醇化长链SMCC交联剂)	865.92	53.4		100 mg	22112
Pierce SM (PEG) ₁₂ , No-Weigh形式				1 g	22113
				10 x 1 mg	A35398
SM (PEG) ₂₄ (聚乙二醇化长链SMCC交联剂)	1394.55	95.2		102 mg	22114
氨基-巯基反应性 (NHS-吡啶二巯基)					
SPDP (3-(2-吡啶二硫代)丙酸-琥珀酰亚胺酯)	312.37	6.8		50 mg	21857
Pierce™ Premium (特优级) SPDP				100 mg	PG82087
				1 g	PG82088
LC-SPDP (琥珀酰亚胺基6-(3-(2-吡啶二硫代)丙酰氨基)己酸)	425.52	15.7		50 mg	21651
Sulfo-LC-SPDP (磺基琥珀酰亚胺基6-(3'-(2-吡啶二硫代)丙酰氨基)己酸)	527.57	15.7		50 mg	21650
SMPT (4-琥珀酰亚胺氧基羰基-α-甲基-α-(2-吡啶二硫代)甲苯)	388.46	20.0		50 mg	21558
PEG ₄ -SPDP (聚乙二醇化长链SMCC交联剂)	559.17	25.7		100 mg	26128
PEG ₁₂ -SPDP (聚乙二醇化长链SMCC交联剂)	912.07	54.1		100 mg	26129
羧基-氨基反应性 (碳二亚胺加NHS酯)					
EDC (1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐)				10 mg	77149
				5 g	22980
				25 g	22981
	191.70	0		1 g	PG82079
Pierce Premium (特优级) EDC				25 g	PG82073
				500 g	PG82074
Pierce EDC, No-Weigh形式				10 x 1 mg	A35391

订购信息 (续)

产品	分子量	间隔臂 (Å)	结构	数量	货号
NHS (N-羟基琥珀酰亚胺)	115.09	NA		25 mg	24500
Sulfo-NHS (N-羟基硫代琥珀酰亚胺)	217.13	NA		500 mg	24510
Pierce Premium (特优级) Sulfo-NHS				5 g	24525
				500 mg	PG82071
				10 g	PG82072
Pierce Sulfo-NHS, No-Weigh形式				10 x 2 mg	A39269

巯基-碳水化合物或-羧基 (马来酰亚胺、吡啶二硫基/酰肼或异氰酸酯)

BMPH (N-β-马来酰亚胺基丙酸酰肼)	297.19	8.1		50 mg	22297
EMCH (N-ε-马来酰亚胺基己酸酰肼)	225.24	11.8		50 mg	22106
MPBH (4-(4-N-马来酰亚胺基苯基)丁酸酰肼)	309.75	17.9		50 mg	22305
KMUH (N-κ-马来酰亚胺基十一酸酰肼)	295.38	19.0		50 mg	22111
PDPH (3-(2-吡啶二硫代)丙酰肼)	229.32	9.2		50 mg	22301
PMPI (p-马来酰亚胺苯基异氰酸酯)	214.18	8.7		50 mg	28100

光反应性 (NHS酯和芳香叠氮化物、苯基叠氮化物、双苄丙啶或补骨脂素)

ANB-NOS (N-5-叠氮基-2-硝基苯甲酸琥珀酰亚胺直)	305.20	7.7		50 mg	21451
Sulfo-SANPAH (磺基琥珀酰亚胺基6-(4'-叠氮基-2'-硝基苯氨基)己酸酯)	492.40	18.2		50 mg	22589
Pierce Sulfo-SANPAH, No-Weigh形式				10 x 1 mg	A35395

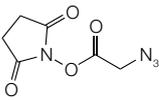
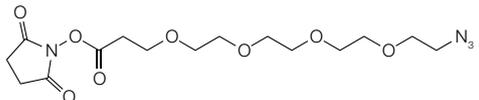
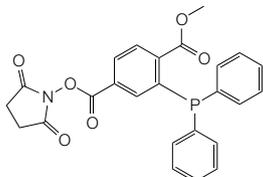
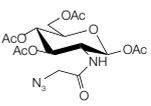
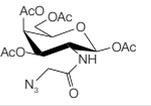
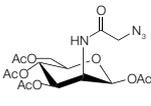
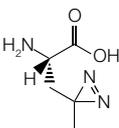
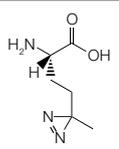
订购信息 (续)

产品	分子量	间隔臂 (Å)	结构	数量	货号
SDA (NHS-双吡丙啶) (琥珀酰亚氨基 4,4'-叠氮戊酰胺)	225.20	3.9		50 mg	26167
Sulfo-SDA (Sulfo-NHS-双吡丙啶) (磺基琥珀酰亚氨基 4,4'-叠氮戊酰胺)	327.25	3.9		50 mg	26173
LC-SDA (NHS-LC-双吡丙啶) (琥珀酰亚氨基6-(4,4'-叠氮戊酰胺)己酸酯)	338.36	12.5		50 mg	26168
Sulfo-LC-SDA (Sulfo-NHS-LC-二嗪) (磺基琥珀酰亚氨基6-(4,4'-叠氮戊酰胺)己酸酯)	440.40	12.5		50 mg	26174
SDAD (NHS-SS-双吡丙啶) (琥珀酰亚氨基2-((4,4'-叠氮戊酰胺)乙基)-1,3'-二硫代丙酸酯)	388.46	13.5		50 mg	26169
Sulfo-SDAD (Sulfo-NHS-SS-双吡丙啶) (磺基琥珀酰亚氨基2-((4,4'-叠氮戊酰胺)乙基)-1,3'-二硫代丙酸酯)	490.51	13.5		50 mg	26175
SPB (琥珀酰亚氨基-(4-(补骨脂素-8-基氧基))-丁酸酯)	385.32	8.6		50 mg	23013
Sulfo-SBED生物素标记转移试剂	879.97	19.1 13.7 9.1		10 mg	33033
Pierce Sulfo-SBED生物素标记转移试剂, No-Weigh形式				10 x 1 mg	A39260

化学选择性连接 (NHS酯和叠氮化物-磷或炔烃)

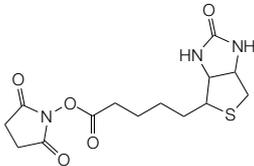
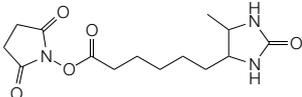
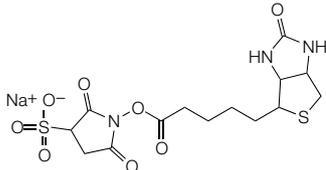
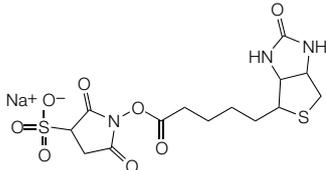
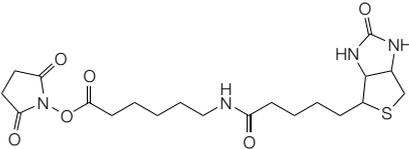
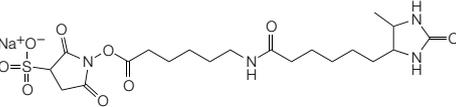
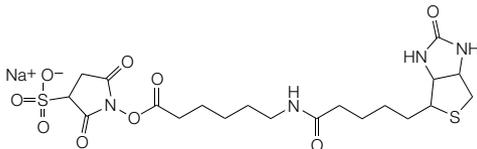
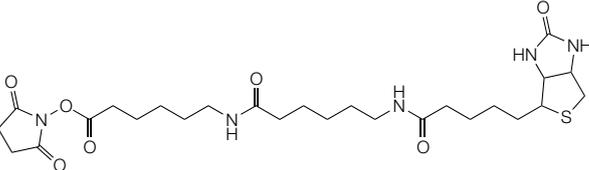
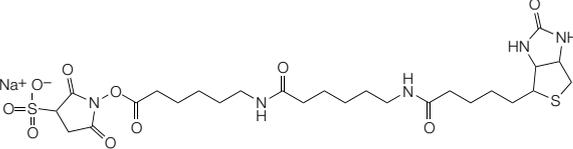
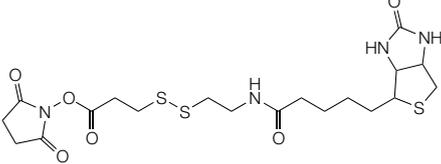
详情请访问 thermofisher.com/proteincrosslinking

订购信息 (续)

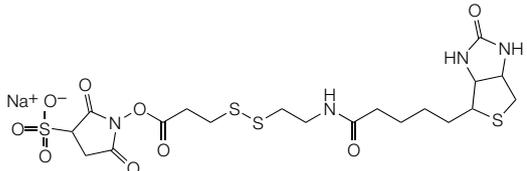
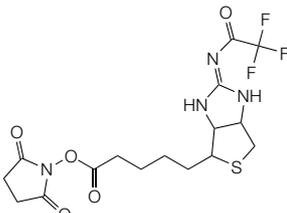
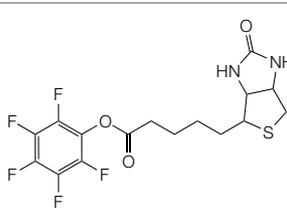
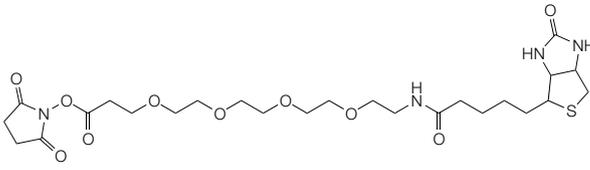
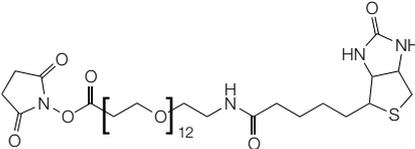
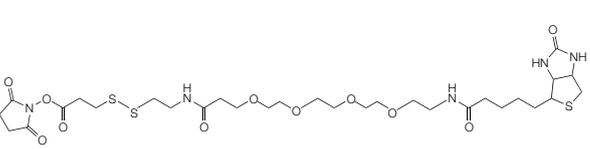
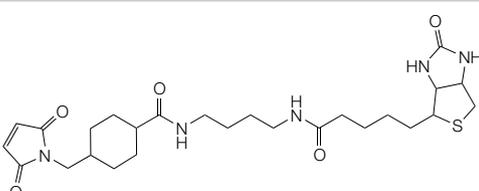
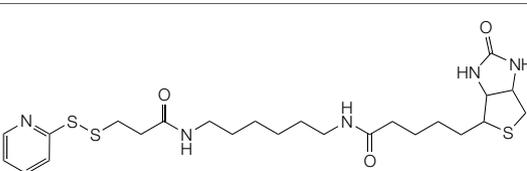
产品	分子量	间隔臂 (Å)	结构	数量	货号
叠氮-NHS酯	198.14	2.5		10 mg	88902
叠氮-PEG ₄ -NHS	388.37	18.9		100 mg	26130
NHS-磷	461.40	5.4		10 mg	88900
炔烃, 琥珀酰亚胺酯 (3-炔丙氧基丙酸, 琥珀酰亚胺酯)	225.20	7.7	$\text{CH} \equiv \text{CCH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2 - \text{C}(=\text{O}) - \text{O} - \text{N} \begin{matrix} \diagup \text{O} \\ \diagdown \text{O} \end{matrix} \text{C} \begin{matrix} \diagup \text{O} \\ \diagdown \text{O} \end{matrix}$	1 mg	A10279
碘乙酰胺炔烃	223.01	7.8	$\text{ICH}_2 - \text{C}(=\text{O}) - \text{NHCH}_2\text{C} \equiv \text{CH}$	1 mg	I10189
Click-iT AHA (L-叠氮基高丙氨酸)	258.16	NA	$\text{N}^+ \equiv \text{N}^- = \text{NCH}_2\text{CH}_2 - \underset{\text{NH}_2}{\text{CH}} - \text{C}(=\text{O})\text{OH}$ •CF ₃ COOH	5 mg	C10102
Click-iT HPG (L-高炔丙基甘氨酸)	127.14	NA	$\text{CH} \equiv \text{CCH}_2\text{CH}_2 - \underset{\text{NH}_2}{\text{CH}} - \text{C}(=\text{O})\text{OH}$	5 mg	C10186
化学选择性连接					
GlcNAz (N-叠氮乙酰氨基葡萄糖, 四酰基化)	430.37	NA		5 mg	88903
GalNAz (N-叠氮乙酰半乳糖胺, 四酰基化)	430.37	NA		5 mg	88905
ManNAz (N-叠氮乙酰甘露糖胺, 四酰基化)	430.37	NA		5 mg	88904
光反应性氨基酸					
L-Photo-亮氨酸	143.15	0		100 mg	22610
L-Photo-甲硫氨酸	157.17	0		100 mg	22615

生物素和脱硫生物素标记试剂

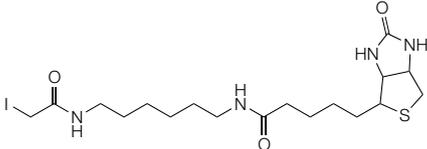
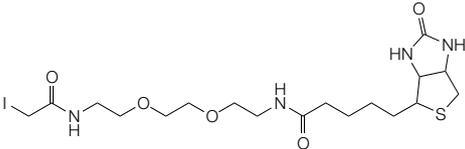
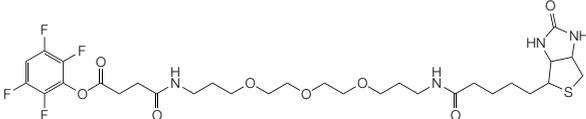
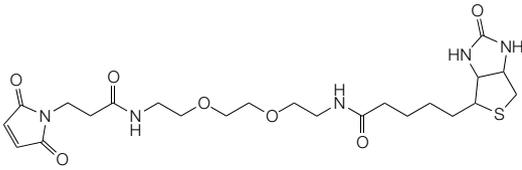
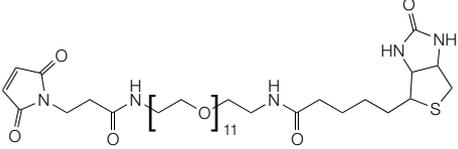
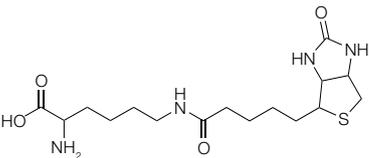
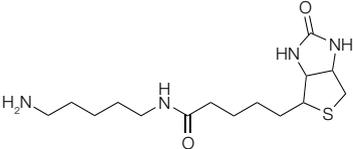
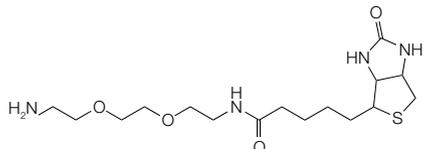
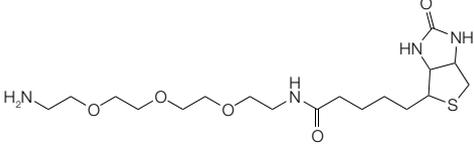
订购信息 (续)

Product	MW	Spacer arm (Å)	Structure	Quantity	Cat. No.
氨基反应性					
EZ-Link NHS-生物素	341.38	13.5		100 mg	20217
EZ-Link NHS-脱硫生物素	311.33	9.7		50 mg	16129
EZ-Link Sulfo-NHS-生物素	443.43	13.5		50 mg	21217
EZ-Link Sulfo-NHS-生物素, No-Weigh形式				10 x 1 mg	A39256
EZ-Link NHS-LC-生物素	454.54	22.4		50 mg	21336
EZ-Link Sulfo-NHS-LC-脱硫生物素, No-Weigh格式	526.54	17.3		5 x 1 mg	A39265
EZ-Link Sulfo-NHS-LC-生物素				100 mg	21335
Pierce Premium (特优级) Sulfo-NHS-LC-生物素	556.59	22.4		100 mg	PG82075
				1 g	PG82076
EZ-Link Sulfo-NHS-LC-生物素, No-Weigh形式				10 x 1 mg	A39257
EZ-Link NHS-LC-LC-生物素	567.70	30.5		50 mg	21343
EZ-Link Sulfo-NHS-LC-LC-生物素	669.75	30.5		50 mg	21338
EZ-Link Sulfo-NHS-LC-LC-生物素, No-Weigh形式				10 x 1 mg	A35358
EZ-Link NHS-SS-生物素	504.65	24.3		50 mg	21441

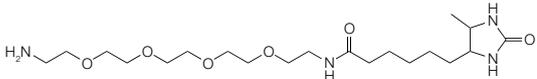
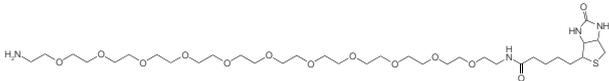
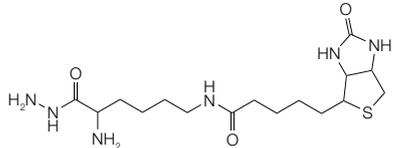
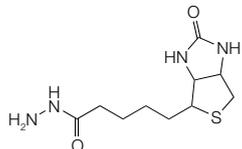
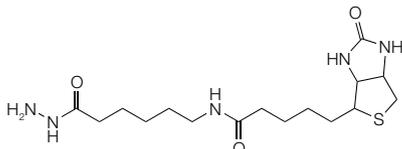
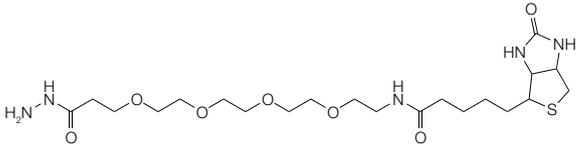
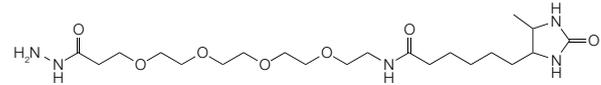
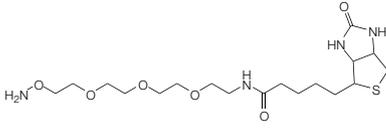
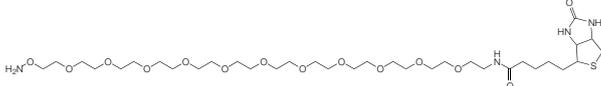
订购信息 (续)

产品	分子量	间隔臂 (Å)	结构	数量	货号
EZ-Link Sulfo-NHS-SS-生物素				100 mg	21331
Pierce Premium (特优级) Sulfo-NHS-SS-生物素	606.69	24.3		100 mg	PG82077
EZ-Link Sulfo-NHS-SS-生物素, No-Weigh形式				1 g	PG82078
				10 x 1 mg	A39258
EZ-Link NHS-亚氨基生物素	436.41	13.5		100 mg	21117
EZ-Link PFP-生物素	410.36	9.6		50 mg	21218
EZ-Link NHS-PEG ₄ -生物素				25 mg	21330
	588.67	29.0		50 mg	21362
EZ-Link NHS-PEG ₄ -生物素, No-Weigh形式				1 g	21363
				10 x 2 mg	A39259
EZ-Link NHS-PEG ₁₂ -生物素				25 mg	21312
	941.09	56		500 mg	21313
EZ-Link NHS-PEG ₁₂ -生物素, No-Weigh形式				10 x 1 mg	A35389
EZ-Link NHS-SS-PEG ₄ -生物素	751.94	37.9		50 mg	21442
巯基反应性					
EZ-Link BMCC-生物素	533.68	32.6		50 mg	21900
EZ-Link HPDP-生物素				50 mg	21341
	539.78	29.2			
EZ-Link HPDP-生物素, No-Weigh形式				10 x 1 mg	A35390

订购信息 (续)

产品	分子量	间隔臂 (Å)	结构	数量	货号
EZ-Link 碘乙酰基-LC-生物素	510.43	27.1		50 mg	21333
EZ-Link 碘乙酰基-PEG ₂ -生物素	542.43	24.7		50 mg	21334
EZ-Link TFP-PEG ₃ -生物素	694.74	32.6		50 mg	21219
EZ-Link 马来酰亚胺-PEG ₂ -生物素	525.62	29.1		50 mg	21901BID
EZ-Link 马来酰亚胺-PEG ₂ -生物素, No-Weigh形式				10 x 2 mg	A39261
EZ-Link 马来酰亚胺-PEG ₁₁ -生物素	922.09	59.1		25 mg	21911
羧基反应性					
EZ-Link 生物胞素	372.48	20.1		100 mg	28022
EZ-Link 戊胺-生物素	328.47	18.9		50 mg	21345
EZ-Link 氨基-PEG ₂ -生物素	374.50	20.4		50 mg	21346
EZ-Link 氨基-PEG ₃ -生物素	418.55	22.9		50 mg	21347

订购信息 (续)

产品	分子量	间隔臂 (Å)	结构	数量	货号
EZ-Link 氨基-PEG ₄ -脱硫生物素, No-Weigh形式	432.55	28.8		5 x 1 mg	A39263
EZ-Link 氨基-PEG ₁₁ -生物素	770.97	53.2		100 mg	26136
羰基反应性					
EZ-Link 酰肼-生物胞素	386.51	19.7		25 mg	28020
EZ-Link 酰肼-生物素	258.34	15.7		100 mg	21339
EZ-Link 生物素-LC-酰肼	371.50	24.7		50 mg	21340
EZ-Link 酰肼-PEG ₄ -生物素	505.63	31.3		50 mg	21360
EZ-Link 酰肼-PEG ₄ -脱硫生物素, No-Weigh形式	475.58	31.2		5 x 1 mg	A39262
EZ-Link 烷氧基胺-PEG ₄ -生物素	434.22	27.0		50 mg	26137
EZ-Link 烷氧基胺-PEG ₁₂ -生物素	786.97	55.4		50 mg	26139

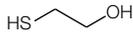
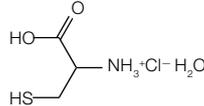
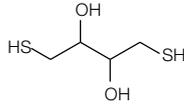
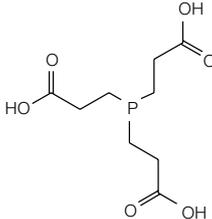
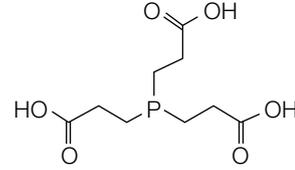
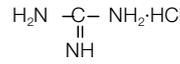
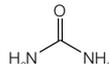
详情请访问 thermofisher.com/biotinlabeling

订购信息 (续)

产品	分子量	间隔臂 (Å)	结构	数量	货号
光反应性或化学选择性					
EZ-Link 补骨脂素-PEG ₃ -生物素	688.79	36.9		5 mg	29986
EZ-Link TFPA-PEG ₃ -生物素	663.69	33.4		25 mg	21303
EZ-Link 磷-PEG ₄ -脱硫生物素, No-Weigh形式	778.87	30.6		5 x 1 mg	A39264

用于蛋白质还原和变性的修饰试剂

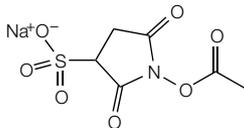
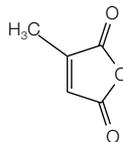
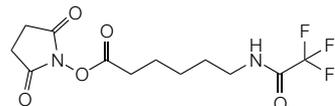
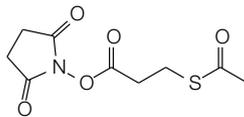
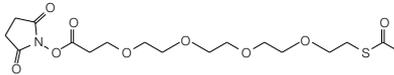
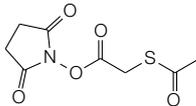
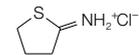
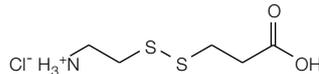
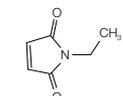
订购信息 (续)

产品	分子量	间隔臂 (Å)	结构	数量	货号	Cat. No.
二硫键还原						
Pierce 2-巯基乙醇/(β-巯基乙醇)	78.13	不适用	硫醇		10 x 1 mL	35602
Pierce 巯基乙胺盐酸盐 (2-巯基乙胺盐酸盐(2-MEA))	78.13	不适用	硫醇		6 x 6 mg	20408
Pierce 盐酸半胱氨酸	175.63	不适用	硫醇		5 g	44889
Pierce DTT, Cleland's试剂/二硫苏糖醇	154.25	不适用	硫醇		5 g	20290
Pierce DTT, No-Weigh形式					48 x 7.7 mg	A39255
Bond-Breaker TCEP溶液, 中性pH	286.25	不适用	磷		5 mL	77720
Pierce TCEP-HCl					1 g	20491
					10 g	20490
Pierce Premium (特优级) TCEP-HCl	286.65	不适用	磷		1 g	PG82080
					10 g	PG82089
						PG82090
席夫碱还原为烷基胺键						
AminoLink还原剂 (氰基硼氢化钠)	62.84	不适用	氰基硼氢化物	$N \equiv B H_3 \cdot Na^+$	2 x 1 g	44892
蛋白质变性剂和离液剂						
盐酸胍	95.53	不适用	不适用		500 g	24110
盐酸胍 (8 M溶液)					200 mL	24118
尿素	60.06	不适用	不适用		1 kg	29700

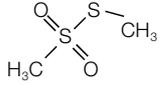
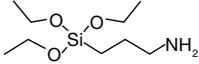
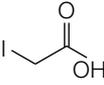
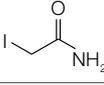
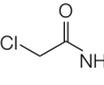
详情请访问 thermofisher.com/proteinmodification

蛋白和多肽的修饰试剂

订购信息 (续)

产品	分子量	间隔臂 (Å)	结构	数量	货号	Cat. No.
不可逆地封闭伯胺						
Pierce Sulfo-NHS-乙酸盐 (Sulfo-N-羟基磺基琥珀酰亚胺乙酸盐)	259.17	不适用	NHS酯		100 mg	26777
可逆地封闭伯胺						
Pierce 柠康酸酐 (2-甲基马来酸酐)	112.08	不适用	不适用		100 g	20907
保护和扩增伯胺						
Pierce TFCS (N-(三氟乙酰基)琥珀酰亚胺酯)	324.25	7.7	NHS酯/三氟乙酰基保护的-NH ₂		50 mg	22299
修饰伯胺以含有受保护的巯基基团						
Pierce SATP (N-琥珀酰亚胺基S-乙酰硫代丙酸酯)	245.25	4.1	NHS酯		50 mg	26100
Pierce SAT (PEG) 4 (N-琥珀酰亚胺基S-乙酰基(硫代四乙二醇))	421.46	18.3	NHS酯/乙酰化巯基(受保护)		100 mg	26099
Pierce SATA (N-琥珀酰亚胺基S-乙酰硫代乙酸酯)	231.23	2.8	NHS酯		50 mg	26102
修饰伯胺以含有游离巯基基团						
Traut's 试剂 (2-亚氨基硫烷)	137.63	8.1	亚氨基硫烷		500 mg	26101
在蛋白质或表面添加氨基或羧酸功能基团						
Pierce AEDP (3-(2-(2-氨基乙基)二硫代)丙酸盐)	217.74	不适用	氨基/羧酸		50 mg	22101
不可逆地封闭巯基基团						
Pierce NEM (N-乙基马来酰亚胺)	125.13	不适用	马来酰亚胺		25 g	23030

订购信息 (续)

产品	分子量	间隔臂 (Å)	反应基团	结构	数量	货号
可逆地封闭巯基基团						
Pierce MMTS (甲基硫代磺酸甲酯)	126.20	不适用	不适用		200 mg	23011
通过硅烷化将伯胺添加到玻璃和硅胶表面						
Pierce APTS (3-氨基丙基三乙氧基矽烷)	221.37	不适用	不适用		100 g	80370
氧化碳水化合物以还原胺化						
Pierce 偏高碘酸钠	213.89	不适用	碘酸		25 g	20504
烷基化物还原半胱氨酸						
Pierce 碘乙酸	185.95	不适用	碘乙酰基		500 mg	35603
Pierce 碘乙酰胺, No-Weigh形式	184.96	不适用	碘乙酰基		30 x 9.3 mg	A39271
Pierce 氯乙酰胺, No-Weigh形式	93.51	不适用	氯乙酰基		10 x 1 mg	A39270
去保护SATA修饰的分子						
Pierce 盐酸羟胺	69.49	不适用	不适用	Cl ⁻ H ₃ N ⁺ -OH	25 g	26103

用于蛋白质的聚乙二醇化 (PEG标记) 试剂

订购信息 (续)

产品	分子量	间隔臂 (Å)	反应基团	结构	数量	货号
蛋白质或表面的氨基反应性线性聚乙二醇化, 以甲基基团封端						
MS (PEG) ₄ (甲基-PEG ₄ -NHS酯)	333.33	16.4	NHS酯		100 mg NHS酯	22341 22342
MS (PEG) ₈ (甲基-PEG ₈ -NHS酯)	509.40	30.8	NHS酯		100 mg	22509
MS (PEG) ₁₂ (甲基-PEG ₁₂ -NHS酯)	685.71	44.9	NHS酯		100 mg 1 g	22685 22686
MS (PEG) ₂₄ (甲基-PEG ₂₄ -NHS酯)	1,214.39	88.2	NHS酯		100 mg	22687
蛋白质或表面的氨基反应性支链聚乙二醇化, 以甲基基团封端						
TMS (PEG) ₁₂ ((甲基-PEG ₁₂) ₃ -PEG ₄ -NHS酯)	2,420.80	77.5	NHS酯		1 g	22424
蛋白质或表面的巯基反应性支链聚乙二醇化, 以甲基基团封端						
MM (PEG) ₁₂ (甲基-PEG ₁₂ -马来酰亚胺)	710.81	51.9	马来酰亚胺		100 mg	22711
MM (PEG) ₂₄ (甲基-PEG ₂₄ -马来酰亚胺)	1,239.44	95.3	马来酰亚胺		100 mg	22713
蛋白质或表面的聚乙二醇化, 以羧酸或伯胺封端						
CA (PEG) ₄ (羧基-(4-乙二醇)乙胺)	265.30	18.1	胺/羧酸		100 mg 1 g	26120 26121
CA (PEG) ₈ (羧基-(8-乙二醇)乙胺)	441.51	33.6	胺/羧酸		100 mg 1 g	26122 26123
CA (PEG) ₁₂ (羧基-(12-乙二醇)乙胺)	617.72	46.8	胺/羧酸		100 mg 1 g	26124 26125
CA (PEG) ₂₄ (羧基-(24-乙二醇)乙胺)	1,146.35	89.8	胺/羧酸		100 mg 1 g	26126 26127

详情请访问 thermofisher.com/pegylation

订购信息 (续)

产品	分子量	间隔臂 (Å)	反应基团	结构	数量	货号
金、银或金属表面的聚乙二醇化, 以羧酸或甲基基团封端						
CL (PEG) ₁₂ 羧基-PEG-脂酰胺化合物	806.03	55.5	羧酸/双齿硫醇		100 mg	26135
CT (PEG) ₁₂ 羧基-PEG-硫醇化合物	634.77	47.8	羧酸/硫醇		100 mg	26133
ML (PEG) ₄ 甲基-PEG-硫醇化合物	395.58	23.6	双齿硫醇		100 mg	26134
蛋白质或惰性材料表面的聚乙二醇化, 以甲基基团封端						
MT (PEG) ₄ 甲基-PEG-硫醇化合物	224.32	15.8	硫醇		100 mg	26132
蛋白质、氧化碳水化合物或表面的聚乙二醇化, 以甲基基团封端						
MA (PEG) ₄ (甲基-(4-乙二醇)乙胺)	207.27	15.5	胺	MA(PEG) ₄ MW 207.27	Spacer Ar	100 mg
					n =	1 g
MA (PEG) ₈ (甲基-(8-乙二醇)乙胺)	383.48	29.7	胺			100 mg
						1 g
MA (PEG) ₁₂ (甲基-(12-乙二醇)乙胺)	559.69	43.9	胺			100 mg
						1 g
MA (PEG) ₂₄ (甲基-(24-乙二醇)乙胺)	1,088.32	86.1	胺			100 mg
						1 g

荧光标记试剂和试剂盒

订购信息 (续)

产品	Ex/Em	发光颜色	数量	货号
氨基反应性				
Alexa Fluor 350 NHS酯 (琥珀酰亚胺酯)	346/442	蓝色	5 mg	A10168
Alexa Fluor 350抗体标记试剂盒	346/442	蓝色	1盒	A20180
Alexa Fluor 405 NHS酯 (琥珀酰亚胺酯)	402/421	蓝色	1 mg	A30000
			5 mg	A30100
Pacific Blue琥珀酰亚胺酯	410/455	蓝色	5 mg	P10163
7-二乙氨基香豆素-3-羧酸, 琥珀酰亚胺酯	375/470	蓝色	25 mg	D1412
BODIPY 493/503 NHS酯 (琥珀酰亚胺酯)	500/506	绿色	5 mg	D2191
BODIPY FL NHS酯 (琥珀酰亚胺酯)	505/513	绿色	5 mg	D2184
荧光素-5-异硫氰酸酯 (FITC “异构体”)	494/518	绿色	1 g	F143
Alexa Fluor 488 TFP酯	495/519	绿色	3 x 100 µg	A37570
			25 mg	A37563
Alexa Fluor 488 NHS酯 (琥珀酰亚胺酯)	495/519	绿色	1 mg	A20000
			5 mg	A20100
Alexa Fluor 488蛋白标记试剂盒	495/519	绿色	1盒	A10235
Alexa Fluor 488微量蛋白标记试剂盒	495/519	绿色	1盒	A30006
Alexa Fluor 488抗体标记试剂盒	495/519	绿色	5次反应/盒	A20181
APEX Alexa Fluor 488抗体标记试剂盒	495/519	绿色	1盒	A10468
Zip Alexa Fluor 488快速抗体标记试剂盒	495/519	绿色	1盒	Z11233
pHrodo iFL Green STP酯 (氨基反应性)	505/520	绿色	3 x 100 µg	P36012
			1 mg	P36013
pHrodo iFL Green微量蛋白标记试剂盒	505/520	绿色	1盒	P36015
Oregon Green 488羧酸, 琥珀酰亚胺酯, 6-异构体	495/524	绿色	5 mg	O6149
Oregon Green 488羧酸, 琥珀酰亚胺酯, 5-异构体	495/524	绿色	5 mg	O6147
Oregon Green 514羧酸, 琥珀酰亚胺酯	511/530	黄色	5 mg	O6139
Alexa Fluor 514 NHS酯 (琥珀酰亚胺酯)	517/542	黄色	1 mg	A30002
Alexa Fluor 430 NHS酯 (琥珀酰亚胺酯)	434/539	黄色	5 mg	A10169
BODIPY R6G NHS酯 (琥珀酰亚胺酯)	528/550	橙色	5 mg	D6180
Pacific Orange琥珀酰亚胺酯, 三乙铵盐	400/551	橙色	1 mg	P30253
Alexa Fluor 532 NHS酯 (琥珀酰亚胺酯)	531/554	橙色	1 mg	A20001
			5 mg	A20001MP
BODIPY 530/550 NHS酯 (琥珀酰亚胺酯)	534/554	橙色	5 mg	D2187
Alexa Fluor 555 NHS酯 (琥珀酰亚胺酯)	555/565	橙色	3 x 100 µg	A37571
			1 mg	A20009
			5 mg	A20109
			25 mg	A37564
Alexa Fluor 555蛋白标记试剂盒	555/565	橙色	1盒	A20174
Alexa Fluor 555微量蛋白标记试剂盒	555/565	橙色	1盒	A30007
Alexa Fluor 555抗体标记试剂盒	555/565	橙色	5次反应/盒	A20187
APEX Alexa Fluor 555抗体标记试剂盒	555/565	橙色	1盒	A10470
Zip Alexa Fluor 555快速抗体标记试剂盒	555/565	橙色	1盒	Z11234
BODIPY 558/568 NHS酯 (琥珀酰亚胺酯)	558/569	橙色	5 mg	D2219
BODIPY TMR-X NHS酯 (琥珀酰亚胺酯)	542/574	橙色/红色	5 mg	D6117
Alexa Fluor 546 NHS酯 (琥珀酰亚胺酯)	556/575	橙色/红色	1 mg	A20002
			5 mg	A20102
Alexa Fluor 546蛋白标记试剂盒	556/575	橙色/红色	1盒	A10237
Alexa Fluor 546抗体标记试剂盒	556/575	橙色/红色	1盒	A20183
BODIPY 576/589 NHS酯 (琥珀酰亚胺酯)	576/590	红色	5 mg	D2225
pHrodo iFL Red STP酯 (氨基反应性)	566/590	红色	3 x 100 µg	P36011
			1 mg	P36010
Alexa Fluor 568 NHS酯 (琥珀酰亚胺酯)	578/603	红色	1 mg	A20003
			5 mg	A20103
Alexa Fluor 568抗体标记试剂盒	578/603	红色	5次反应/盒	A20184
APEX Alexa Fluor 568抗体标记试剂盒	578/603	红色	1盒	A10494
Alexa Fluor 568蛋白标记试剂盒	578/603	红色	1盒	A10238
Alexa Fluor 568蛋白标记试剂盒				

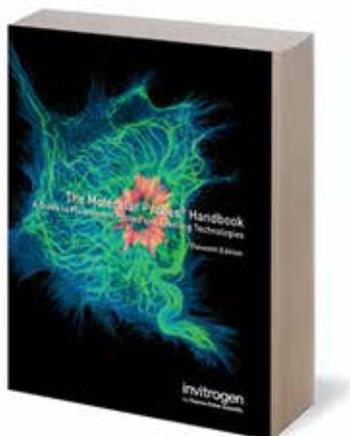
订购信息 (续)

产品	Ex/Em	发光颜色	数量	货号
氨基反应性				
BODIPY TR-X NHS酯 (琥珀酰亚胺酯)	589/617	红色	5 mg	D6116
Alexa Fluor 594 NHS酯 (琥珀酰亚胺酯)	590/617	红色	3 x 100 µg	A37572
			1 mg	A20004
Alexa Fluor 594 NHS酯 (琥珀酰亚胺酯)	590/617	红色	5 mg	A20104
			25 mg	A37565
Alexa Fluor 594蛋白标记试剂盒	590/617	红色	1盒	A10239
Alexa Fluor 594微量蛋白标记试剂盒	590/617	红色	1盒	A30008
Alexa Fluor 594抗体标记试剂盒	590/617	红色	1盒	A20185
APEX Alexa Fluor 594抗体标记试剂盒	590/617	红色	1盒	A10474
BODIPY 630/650-X NHS酯 (琥珀酰亚胺酯)	625/640	远红	5 mg	D10000
Alexa Fluor 633 NHS酯 (琥珀酰亚胺酯)	632/647	远红	1 mg	A20005
			5 mg	A20105
Alexa Fluor 633蛋白标记试剂盒	632/647	远红	5次反应/盒	A20170
BODIPY 650/665-X NHS酯 (琥珀酰亚胺酯)	646/660	远红	5 mg	D10001
Alexa Fluor 647 NHS酯 (琥珀酰亚胺酯)	650/668	远红	3 x 100 µg	A37573
			1 mg	A20006
			5 mg	A20106
			25 mg	A37566
Alexa Fluor 647蛋白标记试剂盒	650/668	远红	1盒	A20173
Alexa Fluor 647微量蛋白标记试剂盒	650/668	远红	1盒	A30009
Alexa Fluor 647抗体标记试剂盒	650/668	远红	5次反应/盒	A20186
APEX Alexa Fluor 647抗体标记试剂盒	650/668	远红	1盒	A10475
Zip Alexa Fluor 647快速抗体标记试剂盒	650/668	远红	1盒	Z11235
Alexa Fluor 680 NHS酯 (琥珀酰亚胺酯)	679/702	远红	3 x 100 µg	A37574
			1 mg	A20008
			5 mg	A20108
			25 mg	A37567
Alexa Fluor 680蛋白标记试剂盒	679/702	远红	1盒	A20172
Alexa Fluor 680抗体标记试剂盒	679/702	远红	5次反应/盒	A20188
Alexa Fluor 700 NHS酯 (琥珀酰亚胺酯)	702/723	NIR	1 mg	A20010
			5 mg	A20110
Alexa Fluor 790 NHS酯 (琥珀酰亚胺酯)	702/723	NIR	100 µg	A30051
Alexa Fluor 790抗体标记试剂盒	702/723	NIR	5次反应/盒	A20189
巯基反应性				
Alexa Fluor 350 C ₆ 马来酰亚胺	346/442	蓝色	1 mg	A30505
BODIPY FL马来酰亚胺 (BODIPY FL N- (2-氨基乙基) 马来酰亚胺)	410/455	蓝色	1 mg	B10250
荧光素-5-马来酰亚胺	505/513	绿色	25 mg	F150
Alexa Fluor 488 C ₆ 马来酰亚胺	494/518	绿色	1 mg	A10254
Oregon Green 488马来酰亚胺	495/519	绿色	1 mg	O6034
Alexa Fluor 532 C ₅ 马来酰亚胺	495/524	绿色	1 mg	A10255
Alexa Fluor 555 C ₂ 马来酰亚胺	531/554	绿色	1 mg	A20346
BODIPY TMR C ₅ 马来酰亚胺	555/565	橙色	1 mg	B30466
Alexa Fluor 546 C ₆ 马来酰亚胺	542/574	橙色/红色	1 mg	A10258
四甲基罗丹明-5-马来酰亚胺, 单一异构体	556/575	橙色/红色	1 mg	T6027
罗丹明红C2马来酰亚胺	555/580	橙色/红色	1 mg	R6029
Alexa Fluor 568 C ₆ 马来酰亚胺	570/590	红色	1 mg	A20341
德克萨斯红C ₂ 马来酰亚胺	580/605	红色	1 mg	T6008
Alexa Fluor 594 C ₆ 马来酰亚胺	595/615	红色	1 mg	A10256
Alexa Fluor 633 C ₆ 马来酰亚胺	590/617	红色	1 mg	A20342
Alexa Fluor 647 C ₂ 马来酰亚胺	632/647	远红	1 mg	A20347
Alexa Fluor 680 C ₂ 马来酰亚胺	650/668	远红	1 mg	A20344
Alexa Fluor 750 C ₅ 马来酰亚胺	679/702	NIR	1 mg	A30459

订购信息 (续)

产品	Ex/Em	发光颜色	数量	货号
羧基反应性				
Alexa Fluor 350酰肼	346/442	蓝色	5 mg	A10439
Alexa Fluor 350羟胺	346/442	蓝色	1 mg	A30627
5-FAM (5-羧基荧光素), 单一异构体	494/518	绿色	100 mg	C1359
荧光素-5-氨基硫脲	494/518	绿色	100 mg	F121
荧光素尸胺	494/518	绿色	25 mg	A10466
Alexa Fluor 488酰肼	495/519	绿色	1 mg	A10436
Alexa Fluor 488羟胺	495/519	绿色	1 mg	A30629
Alexa Fluor 488尸胺	495/519	绿色	1 mg	A30676
Qdot 525 ITK羧基化量子点	405/525	绿色	250 µL	Q21341MP
Qdot 545 ITK羧基化量子点	405/545	黄色	250 µL	Q21391MP
Qdot 565 ITK羧基化量子点	405/565	橙色	250 µL	Q21331MP
Alexa Fluor 555酰肼	555/565	橙色	1 mg	A20501MP
Alexa Fluor 555尸胺	555/565	橙色/红色	1 mg	A30677
5-TAMRA (5-羧基四甲基罗丹明), 单一异构体	555/580	橙色/红色	10 mg	C6121
Qdot 585 ITK羧基化量子点	405/585	红色	250 µL	Q21311MP
Qdot 605 ITK羧基化量子点	405/605	红色	250 µL	Q21301MP
5-ROX (5-羧基-X-罗丹明, 三乙铵盐), 单一异构体	580/605	红色	10 mg	C6124
德克萨斯红酰肼, >90%单一异构体	595/615	红色	5 mg	T6256
德克萨斯红尸胺 (德克萨斯红C5)	595/615	红色	5 mg	T2425
Qdot 625 ITK羧基化量子点	405/625	红色	250 µL	A10200
Qdot 655 ITK羧基化量子点	405/655	远红	250 µL	Q21321MP
Qdot 705 ITK羧基化量子点	405/705	NIR	250 µL	Q21361MP
Qdot 800 ITK羧基化量子点	405/800	NIR	250 µL	Q21371MP
化学选择性				
SiteClick抗体叠氮修饰试剂盒	不适用		1盒	S20026
用于抗体标记的Click-iT Alexa Fluor 488 sDIBO炔烃	494/518	绿色	各1个	C20027
Alexa Fluor 488叠氮	494/518	绿色	0.5 mg	A10266
Alexa Fluor 488炔烃	494/518	绿色	0.5 mg	A10267
Click-iT Alexa Fluor 488 sDIBO炔烃	494/518	绿色	0.5 mg	C20020
Click-iT Plus Alexa Fluor 488吡啶甲基叠氮化物工具包	494/518	绿色	1盒	C10641
SiteClick Qdot 525抗体标记试剂盒	405/525	绿色	1盒	S10449
SiteClick Qdot 565抗体标记试剂盒	405/565	橙色	1盒	S10450
Alexa Fluor 555叠氮	555/565	橙色/红色	0.5 mg	A20012
Alexa Fluor 555炔烃	555/565	橙色/红色	0.5 mg	A20013
Click-iT Alexa Fluor 555 sDIBO炔烃	555/565	橙色/红色	0.5 mg	C20021
用于抗体标记的Click-iT Alexa Fluor 555 sDIBO炔烃	555/565	橙色/红色	各1个	C20028
Click-iT Plus Alexa Fluor 555吡啶甲基叠氮化物工具包	555/565	橙色/红色	1盒	C10642
SiteClick Qdot 585抗体标记试剂盒	405/585	橙色/红色	1盒	S10450
SiteClick R-PE抗体标记试剂盒	565/578	橙色/红色	1盒	S10467
四甲基罗丹明 (TAMRA) 叠氮化物	555/580	红色	0.5 mg	T10182
四甲基罗丹明 (TAMRA) 炔烃	555/580	红色	0.5 mg	T10183
用于抗体标记的Click-iT pHrodo iFL Red sDIBO炔烃	566/590	红色	1盒	C20034
SiteClick Qdot 605抗体标记试剂盒	405/605	红色	1盒	S10469
Alexa Fluor 594叠氮	590/617	红色	0.5 mg	A10270
Alexa Fluor 594炔烃	405/625	红色	0.5 mg	A10275
SiteClick Qdot 655抗体标记试剂盒	405/655	远红	1盒	S10453
Alexa Fluor 647叠氮	650/668	远红	0.5 mg	A10277
Alexa Fluor 647炔烃	650/668	远红	0.5 mg	A10278
Click-iT Alexa Fluor 647 sDIBO炔烃	650/668	远红	0.5 mg	C20022
用于抗体标记的Click-iT Alexa Fluor 647 sDIBO炔烃	650/668	远红	1盒	C20029
Click-iT Plus Alexa Fluor 647吡啶甲基叠氮化物工具包	650/668	远红	1盒	C10643
SiteClick Qdot 705抗体标记试剂盒	405/705	NIR	1盒	S10454
SiteClick Qdot 800抗体标记试剂盒	405/800	NIR	1盒	S10455

相关手册和资源

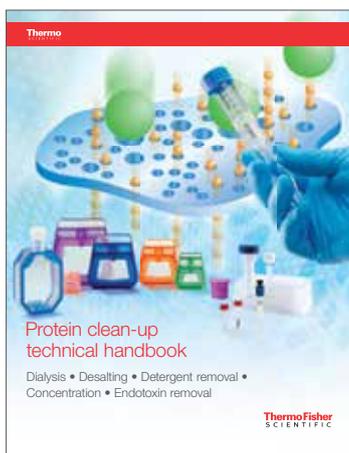


Molecular Probes手册

Molecular Probes手册提供最完整的荧光标记和检测参考资料,它是荧光探针和标记技术指南,包含3000多种试剂和试剂盒的信息,展示了我们的各种标记和检测产品。第11版拥有广泛的参考资料,其内容经过了重新组织,并加入新的技术说明和产品亮点。

需免费下载手册,请访问

thermofisher.com/molecular-probes-the-handbook



蛋白质纯化技术手册

从这本48页的手册中提到的各种Thermo Scientific™蛋白质生物学工具中,你可以了解如何有效去除小分子杂质,进行缓冲液更换,或者对2 μ L至250 mL的蛋白质样本进行浓缩。使用Slide-A-Lyzer™透析卡和装置安全透析蛋白质样本。使用Zeba™脱盐离心柱和96孔板快速进行样本脱盐,同时保证高蛋白回收率。使用针对去垢剂或内毒素优化的树脂进行有效去除。使用Pierce™蛋白质浓缩管快速浓缩稀释的蛋白质样本。

如需下载免费手册,请访问 thermofisher.com/proteincleanuphandbook

详情请访问 thermofisher.com/bioconjugation



赛默飞
官方微信



赛默飞
生命科学官方微信

免费服务电话: 800 820 8982/400 820 8982

信息咨询邮箱: cnbidmarketing@thermofisher.com

Thermo Fisher
S C I E N T I F I C