

EDC

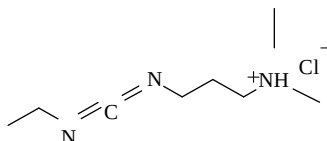
22980 22981 77149

0475.5

型号	产品描述
22980	EDC (1-乙基-3-[3-二甲氨基丙基]碳化二亚胺盐酸盐), 5g
22981	EDC, 25 g
77149	EDC, 10 mg

分子量: 191.7

CAS # 25952-53-8



储存: 收到产品后立即将产品 No. 22980 和 No. 22981 在-20℃下干燥保存。将 No. 77149 产品在 4℃ 条件下储存。EDC 使用常温运输。

简介

赛默飞世尔科技的 EDC 是一种将羧基与氨基相互交联的零长度的交联剂。EDC 首先与一个羧基基团反应形成一个可与氨基反应的 O-酰基异脲中间体, 该中间体能迅速与一个氨基基团反应形成一个酰胺键并且释放一个异脲副产物 (见附加信息部分)。中间体在水溶液中是不稳定的, 因此, 在两步法反应中需要依赖于 N-羟基琥珀酰亚胺进行稳定化^{1,2}。未与氨基反应的中间体会水解生成羧基和 N-取代尿素。对于位于蛋白疏水区的羧基一个常见的副反应是生成 N-酰基脲^{1,3}。

用 EDC 将半抗原偶联到载体蛋白上的流程

所需材料

- 载体蛋白: 2 mg 牛血清白蛋白 (BSA), 卵清蛋白 (OVA) 或匙孔血蓝蛋白 (KLH)
- 结合缓冲液: 0.1M MES (2-[N-吗啉代] 乙烷磺酸), pH 4.5-5 (产品号 28390)
- EDC: 10 mg
- 半抗原: 1-2 mg
- 赛默飞世尔科技 Zeba 离心脱盐柱 (产品号 89891) 或其他能截掉 5-6K 的分子量的凝胶过滤柱

流程

1. 在开瓶之前平衡 EDC 到室温。
2. 加 2 mg 冻干的 BSA, OVA 或 KLH 到 200 μ L 结合缓冲液中。如果使用的是赛默飞世尔科技的 Imject 载体蛋白, 就用超纯水复溶。
3. 溶解最多 2 mg 的多肽或半抗原到 500 μ L 的结合缓冲液中, 并将其加到 200 μ L 的载体蛋白溶液中。
4. 对于使用 BSA 或 OVA 的反应, 将 10 mg 的 EDC 溶解于 1 mL 的超纯水中, 并立即加 100 μ L 的该溶液到载体多肽溶液中。对于使用 KLH 的反应, 将 10 mg 的 EDC 溶解于 1 mL 的超纯水中并立即将 50 μ L 的该溶液加到载体多肽溶液中。如果产生沉淀则需进一步减少 EDC 的量。
5. 室温下反应 2 小时。
6. 用脱盐柱纯化交联产物。如果要将免疫原储存较长时间, 则将结合物进行过滤除菌并储存在无菌容器中于 4℃ 或 -20℃ 保存。

用 EDC 和 NHS 或者硫代 NHS 进行蛋白两步耦合交联的流程

下面的实验方案，是根据 Grabarek 和 Gergely 在文献中所描述的流程修改而来。该方案允许两个蛋白的按序交联并且其中第二个蛋白的羧基不会象一步法中因暴露于 EDC 中而受到影响。该流程中需要用一个含有硫醇基团的化合物对第一次反应进行淬火处理。

第一步 EDC 和硫代-NHS 的活化反应在 pH4.5-7.2 条件下效率最高；而第二步已 NHS 或硫代-NHS 活化的分子与伯胺的反应在 pH7-8 条件下效率最高。如下进行可以得到最好的结果，在 pH5-6 的 MES 缓冲液（或其他的无氨基，无羧酸盐的缓冲液中）进行第一次反应，然后在与含氨基分子反应之前立即用磷酸缓冲液（或其他无氨基缓冲液）中提高 pH 到 7.2-7.5。第一次反应中的过量活化试剂 可以用 2-巯基乙醇进行淬火处理，或者用脱盐柱除去（同时可以调整反应体系的 pH）。

所需材料

- 活化缓冲液：0.1 M MES，0.5 M NaCl，pH 6.0
- 结合缓冲液：磷酸盐缓冲液（PBS），100 mM 磷酸钠，150 mM NaCl；pH 7.2（产品号 28372）
- 蛋白 #1：以 1 mg/mL 的浓度储备在活化缓冲液中。
- 蛋白 #2：储备在结合缓冲液中。
- NHS 或 硫代-NHS（产品号分别为 24500 和 24510）
- 2-巯基乙醇（产品号 35600）
- （可选的）Zeba™ 离心脱盐柱（产品号 89891）或其他凝胶过滤柱
- 羟胺•HCl（产品号 26103）

流程

1. 在开瓶之前平衡 EDC 和 NHS 到室温。
2. 加 0.4 mg EDC（~2 mM）和 0.6 mg NHS 或 1.1 mg 硫代-NHS（~5 mM）到 1 mL 蛋白 #1 溶液，在室温下反应 15min。
3. 加 1.4 μ L 2-巯基乙醇（终浓度为 20 mM）对 EDC 进行淬火处理。
4. 可选的：用结合缓冲液（PBS）平衡过的脱盐柱将蛋白从过量的反应试剂中分离出来。
5. 将与蛋白#1 等摩尔的蛋白#2 加到活化的蛋白中，在室温下反应 2 小时。
6. 淬火处理反应：在反应中加入苯甲酰苯基酰胺使其终浓度为 10 mM。这种方法水解了蛋白#1 中的未反应的活化 NHS 并产生异羟肟酸。其他的淬火方法包括加 20-50 mM 的 Tris，赖氨酸，甘氨酸或乙醇胺；然而，这些含有伯胺的化合物会修饰蛋白#1 的羧基。
7. 用脱盐柱除去过量的淬火试剂。

附加信息

EDC 首先与一个羧基反应形成一个可与氨基反应的 O-酰基异脲中间体，该中间体能迅速与一个伯氨基团反应形成一个酰胺键并且释放一个异脲产物。(图 1).

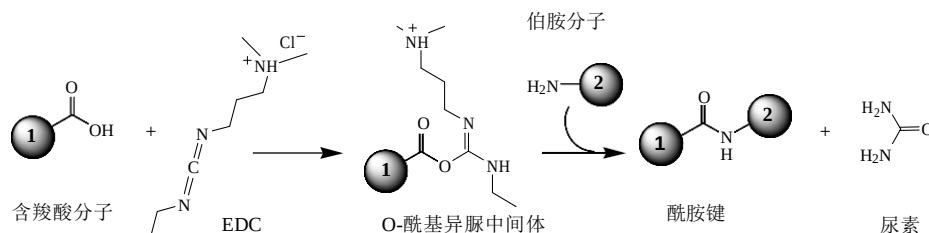


图 1. 含羧基和含氨基分子的一步 EDC 反应

来源于我们网站的信息

- 技术技巧 #15: 用 EDC 和生物素酰肼生物素化羧基基团
- 技术技巧#5: 将一种抗体交联到玻璃, 二氧化硅或石英表面
- 技术技巧#18: 封闭氨基基团来避免在制备多肽-载体蛋白交联复合物之时多聚体的形成
- 技术技巧#30: 修饰并标记寡聚核苷酸 5'磷酸基团
- 技术技巧#3: NHS-酯生物素化以及交联试剂的反应活性测定
- 技术技巧#46: 多肽 N-末端 α -氨基的选择性生物素化

相关的赛默飞世尔科技产品

24500	NHS (N-羟基琥珀酰亚胺), 25 g
24510	硫代-NHS (N-羟基硫琥珀酰亚胺), 500 mg
24525	硫代-NHS, 5 g
24520	硫代-NHS, 免称量包装, 8 × 2 mg 冻存管
20036	生物分子交联技术 (书), 1202 页, 平装本
89889	Zeba 离心脱盐柱, 2 mL, 5 个, 适用于 200-700 μ L 样品
89891	Zeba 离心脱盐柱, 5 mL, 5 个, 适用于 500-2000 μ L 样品
89893	Zeba 离心脱盐柱, 10 mL, 5 个, 适用于 700-4000 μ L 样品
22360	SMCC (琥珀酰亚胺基 4-[N-马来酰亚胺甲基]环己烷-1-羧化物), 50 mg
22322	硫代-SMCC (硫代琥珀酰亚胺基 4-[N-马来酰亚胺甲基]环己烷-1-羧化物), 50 mg
22622	硫代-SMCC, 非重量组成, 8 × 2 mg 冻存管
21555	DSS (二琥珀酰亚胺基辛二酸盐), 1 g
21655	DSS, 50 mg
21658	DSS, 免称量包装, 8 × 2 mg 冻存管
21580	BS ³ (双[硫代琥珀酰亚胺基]辛二酸盐), 50 mg
21585	BS ³ , 免称量包装, 8 × 2 mg 冻存管

参考文献

1. Grabarek, Z. and Gergely, J. (1990). Zero-length crosslinking procedure with the use of active esters. *Anal Biochem* **185**:131-5.
2. Staros, J.V., et al. (1986). Enhancement by N-hydroxysulfosuccinimide of water-soluble carbodiimide-mediated coupling reactions. *Anal Biochem* **156**:220-2.
3. Timkovich, R. (1977). Detection of the stable addition of carbodiimide to proteins. *Anal Biochem* **79**:135-43.

本产品功能可保证符合所公布的产品说明书，其在产品文档、说明书或随附文件中有详细描述。对由 FDA 监管的应用，其适用性没有明确保证。本产品提供的保修有效性仅适用于受过适当产品培训的个人。除非文件中另有说明，当产品进行正常的、适当的和符合预期的使用时，本保修期限限于从发货之日起的第一年。该保修范围除了产品的最初购买者（“买方”）外不会延伸至其他任何人。任何提供给买方的模型或样本仅是说明产品的一般类型和产品质量，并不代表所有产品都与这样的模型或样本一致。

其余没有任何其它形式的保证，不管是明示的还是暗示的，包括针对其它任何目的的无限制的、适销性的默示保证，或者未授权的行为。对于在保修期内不合格的产品，购买者的特有权利仅限于要求维修、更换或在卖方允许条件下进行退款。由于（i）事故、灾害或不可抗力事件，（ii）误用、过失或买方疏忽，（iii）产品的使用不按照所提供的方法，（iv）产品的保管不当和处理不当，我们没有义务维修、更换或者进行退款。

除了在产品上明确注明或在随附文件中明确标明的，本产品仅用于研究而不能用于其他任何目的，包括没有限制的、非授权的商业用途，体外诊断应用，体外或者体内的医疗用途，或者是任何应用于人类或者动物的治疗药物。

产品说明书可在 www.thermoscientific.com/pierce 上获取。若需传真复印件，请拨打 800-874-3723 或者联系当地代理经销商。

© 2013 赛默飞世尔科技有限公司。版权所有。Polytron 是 Kinematica AG 公司的注册商标。除非有特别说明，所有其他的商标均归赛默飞世尔科技有限公司及其子公司上所有。