



SMCC

1. 产品介绍

SMCC (全称: N-(4-carboxycyclohexylmethyl)maleimide N-hydroxysuccinimide ester)

CAS NO.: 64987-85-5

分子式: $C_{16}H_{18}N_2O_6$

分子量: 334.32 g/mol

化学结构式:

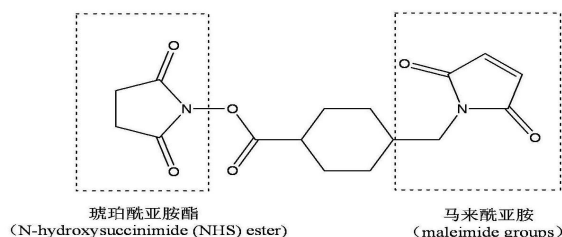


图 1. Sulfo-SMCC 化学结构示意图

SMCC 是一类含有 N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)活性酯和马来酰亚胺的双功能偶联剂。可以将分别含有巯基和氨基的化合物键接在一起。NHS 活性酯与伯胺在 pH7-9 的环境形成酰胺键。马来酰亚胺与巯基在 pH6.5-7.5 的环境下形成稳定的硫醚键。在水溶液中，NHS 活性酯的水解是（与氨基的反应）个竞争反应。马来酰亚胺比 NHS 稳定，但是在 pH 大于 7.5 时，马来酰亚胺会慢慢水解，失去与巯基反应的特异性。因而，在使用 SMCC 时通常是在 pH7.2-7.5 的环境下进行，并且先让 NHS 发生反应。SMCC 结构里的环己烷环可以降低马来酰亚胺的水解速率。这使得蛋白质在用 SMCC 修饰之后可以冻干存放一段时间。很多蛋白质都选用该试剂来进行马来酰亚胺修饰。

用 SMCC 来制备抗体-酶或者半抗原载体的蛋白质，经常采用两步合成法。首先，含有氨基的蛋白质与几倍的偶联剂反应，反应结束后通过脱盐柱或者透析的方法除掉没有反应完的 SMCC。然后，再与含有巯基的蛋白质反应。在实际操作中要注意的是，SMCC 怕潮湿，存放时要和干燥剂一起存放。并且使用中从冰箱拿出来时要先在室外放置一段时间平衡温度，以免立刻开启，空气中水分遇冷凝结，破坏 SMCC 结构。

两步法交联流程示意图如下：

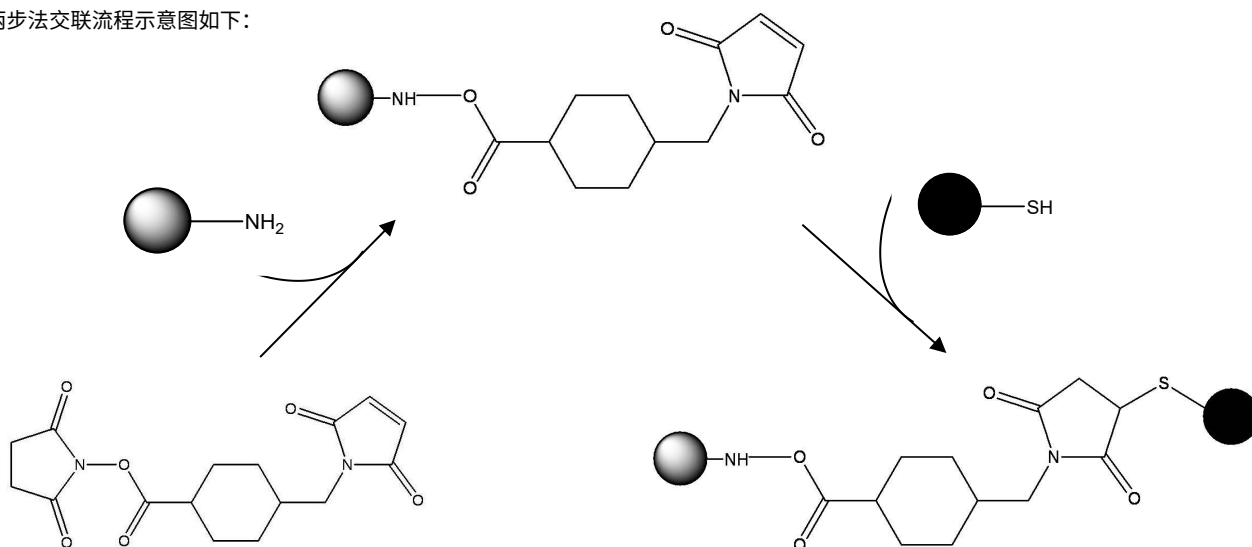


图 2. 交联流程示意图

2. 注意事项

- 1) 在偶联过程中，不能使用含有氨基的缓冲液（如 Tris 或者 glycine），或者含有巯基的缓冲液。如果反应体系中含有相关组分，建议透析到适合的缓冲液中，如 PBS 缓冲液。
- 2) 与马来酰亚胺 (maleimide groups) 基团反应的蛋白必须保证含有自由的巯基，如果形成二硫键，需要使用还原剂（如 DTT, TCEP 等）打断二硫键，还原出自由的巯基。



3) SMCC 极易受潮。打开瓶盖使用前必须平衡至室温，避免试剂受潮而失效。试剂保证现用现配，剩余的试剂应当丢弃，不得倒回原瓶中。

3. 操作流程

一般推荐交联剂的摩尔数是含有氨基蛋白的 10-50 倍，以保证充分的活化含有氨基的蛋白。

3.1 材料准备

- 1) 偶联液：磷酸盐缓冲液（PBS = 100 mM sodium phosphate, 150 mM sodium chloride, pH 7.2）或者其他不含氨基或者巯基的缓冲液 pH 6.5-7.5。建议添加 1-5 mM 的 EDTA，减少二硫键的形成；
- 2) 脱盐柱；
- 3) 需要偶联的目标分子：含有氨基的蛋白和含有巯基的蛋白。

3.2 操作流程

- 1) 使用偶联液溶解含有氨基的蛋白，或者将含有氨基的蛋白透析至偶联液中。
- 2) 向蛋白溶液中加入合适量的交联剂，交联剂和蛋白安排一定摩尔比进行反应，推荐使用量如下：
当蛋白浓度小于 1 mg/ml 时，交联剂与蛋白的摩尔比为 40-80；
当蛋白浓度为 1-4 mg/ml 时，交联剂与蛋白的摩尔比为 20；
当蛋白浓度为 5-10 mg/ml 时，交联剂与蛋白的摩尔比为 5-10。
- 3) 混合均匀，室温下孵育反应 30 min，或者 4℃ 下孵育反应 2 h。
- 4) 反应结束后，使用脱盐柱去除未反应的交联剂，使用偶联液进行平衡。
- 5) 将含有巯基的蛋白加入到活化的蛋白溶液中，含有巯基蛋白的加入量根据两个蛋白需要偶联的比例或蛋白上巯基和活泼氨基的数量定。
- 6) 混合均匀，室温下孵育反应 30 min，或者 4℃ 下孵育反应 2 h。
- 7) 反应结束后，完成蛋白的交联实验。
- 8) 通过 SDS-PAGE 电泳鉴定两种蛋白的偶联效果。

4. 订购信息及相关产品

| 名称 | 货号 | 规格 |
|------|----------|--------|
| SMCC | SLR00301 | 100 mg |
| | SLR00302 | 500 mg |
| | SLR00303 | 1 g |