



## Introduction - Agents de Crosslinking

Les agents de Crosslinking sont présentés par catégories, comme décrites dans l'encadré technique ci-après.

Dans chaque catégorie, une description accompagne les crosslinkers importants, les classiques et plus innovants ou remarquables.

### Technical Tip

#### Types of classical Crosslinking agents

##### Crosslinkers Hétérobifonctionnels

**Heterobifunctional Crosslinkers** contain 2 different chemical reactive groups. They allow to target a defined reactive group on one molecule (i.e. SH or CHO) that is chosen for particular reasons, as localization on the peptidic chain, absence on other molecules, insertion of a terminal Cys residue... It is taken to good account to design oriented conjugates of 2 different molecules:

- Study of protein structure, and ligand/receptors complexes
- Reticulation of big biomolecules (stabilization, fixation for IHC...)
- Immobilization to supports (microplates, sheets, beads...)
- Antibody conjugates (immunoreagents, immunotoxins...)

##### Crosslinkers Homobifonctionnels

**Homobifunctional Crosslinkers** contain 2 identic chemical reactif groups. Dimers (but also some tri- and oligomers) are generally formed besides conjugates of same molecules, or different molecules. Homobifunctional Crosslinkers are dedicated mostly for coupling same molecules together or to immobilization, for production and special studies :

- Immobilization of ligands to supports (plates, gels, beads)
- Production of polymeres at big scale (antigens...)
- Reticulation of big molecules / complexes, and membranes
- Design of multimeres for the study of natural polymeres...

##### Crosslinkers Multi-fonctionnels

**Multi-fonctional Crosslinkers** contain 3 or more fonctional groups. They are used to prepare polymers, vaccines, branched probes...

### Technical Tip

#### Special chemical reactivities

**Photoreactive Crosslinkers** have the particularity that chemical reactivity is induced by illumination. They are original tools useful when cross-linking should occur in a defined site (organ, cell, compartment) or in a defined time, or when classic reactivities are not working. The reaction is effectively not specific, working with almost all molecules containing Hydrogens :

- physiological studies
- conjugates of difficult molecules (steroids...)

**MTS** reagents feature unique reactivity with sulfhydryles, and are usefull in structure studies of channels, receptors...:

- **Click chemistry** involve the reaction of an azide and an acetylene group, allowing bioorthogonal conjugations (very specific, controlled, with high yield). This include standard copper catalyzed reactions, and new copper-free reactions (DBCO, TCO, BCO, Tetrazine).
- **Hydrazonoe chemistry** involve the reaction of an azide and a HyNic group, allowing bioorthogonal conjugations (very specific, controlled, with high yield)
- **Staudinger** reactions form an amide bond between an azide containing molecule and an appropriately substituted triaryl phosphine .

##### Divers :

**Boronic acid** reactions are useful for sugars, amino acids, hydroxamic acids, etc.

### Technical Tip

#### By features or applications

Voir les Crosslinkers de PEGylation (page C51) :

**PEO/PEGylation crosslinker** and modifiers including a PolyEthyleneOxy structure arm, perfectly defined (PEO) or form purified PolyEthylenGlycos (PEG). These spacer confer to conjugates or modified compounds a hydrophilicity and correlated properties (see section 'Pegylation'). They are available with most of above chemical reactive groups, allowing to do for example standard conjugation, click chemistry, sylanisation.

Voir les Crosslinkers d'applications :

- **Dérivatisation** : acylation, alkyleation et silylation
- **Traitements de surface** : pour rendre inerte (sylanisation) ou hydrophile (PEGylation)
- **Immobilisation of biomolécules**

## Crosslinkers Hétérobifonctionnels standards (amine et thiol réactifs)

La gamme **Uptima** propose nombreux de ces réactifs standards ou spéciaux, à commencer par le SMCC, disponible en analogues améliorés (du GMBS au SMCC-plus, mais aussi et surtout les MAL-PEO-NHS qui ne sont pas simplement plus hydrophiles, mais confèrent l'hydrophilicité au conjugué, outre qu'il existe différentes longueurs de bras espaceur).

**Uptima** propose bien sûr les autres groupes fonctionnels classiques (plus de 800 crosslinkers). Nos autres spécialités sont fournies par **AAT Bioquest**, **Solulink** et d'autres fournisseurs.

### Aperçu de produits clés :

- Série des **MAL-PEO-NHS** (SM(PEG)) : crosslinkers réagissant sur amines et sulfhydryles via les groupes NHS et MAL, 'modernes' de par leur espaceur PEO qui améliore diverses performances (voir infra et section 'Pegylation'). Remplacent le classique SMCC dans la plupart des applications
- Série des **MPS/GMBS/EMCS/KMUS** : crosslinkers conventionnels réagissant sur amines et sulfhydryles aussi via les groupes NHS et MAL, mais à espaceurs alkyle linéaires (plus flexibles, moins immunogéniques, de 3 carbones (GMBS) à 10 carbones (KMUS)).
- Série des crosslinkers type **SMCC** et **MBS** : les plus populaires des crosslinkers réagissant aussi sur amines et sulfhydryles, mais contenant un espaceur cyclique (pour le SMCC, un cyclohexane contraint qui réduit l'hydrolyse du maléimide).
- Crosslinkers à réactivité différente pour les amines : groupes **PFP/TFP**, plus stables et fortement réactifs (un peu moins spécifiques).
- Crosslinkers à **espaceur clivable** : DPDP

Les Crosslinkers hétérobifonctionnels sont devenus les agents de couplage les plus utilisés parce qu'ils permettent un couplage orienté. Ils réagissent typiquement d'un côté avec les amines des biomolécules à coupler (protéines) et de l'autre avec les sulfhydryles d'une autre protéine (SH natifs, ou générés par voie chimique ou génétique).

### Technical tip

#### Espaceurs PEO

- Synthétiques donc parfaitement définis (contrairement au PEG),
- Hydrophiles,
- Flexibles,
- Longs de quelques à 95 angstroms - 80 atomes

## Crosslinkers Hétérobifonctionnels réactifs sur SH ← MAL – NHS → NH<sub>2</sub>

Les crosslinkers suivants réagissent sur les amines via leur groupe **succinimidyl ester**, et avec les sulfhydryles via leur groupe **maléimide**.

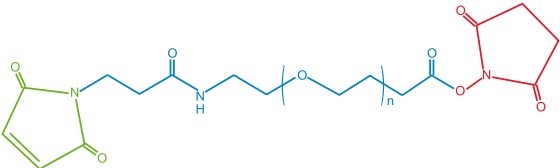
### Série des MAL-PEO-NHS - SM(PEG)x

Remplacent avantageusement le SMCC et crosslinkers apparentés :

- Réagissent avec les sulfhydryles (via le maléimide) à pH 6.5-7.5, et avec les amines (via le NHS) à pH 7-9
- Hydro-solubles en eau (et en solvants organiques: méthylène chloride, DMAC) corollaire : plus forts ratios de couplage possibles
- Confèrent l'hydrosolubilité au conjugué final, d'où
  - bio-stabilité accrue, minimisation de l'agrégation ou précipitation des conjugués, ou des complexes conjugués/ligand
  - réduction des fixations non spécifiques sur les surfaces,
- Bras flexible, améliorant la biodisponibilité des constituants du conjugué
- Longueur de bras espaceur ajustable
- Espaceur non immunogène

Les nouveaux crosslinkers sont idéaux pour les couplages covalents orientés, remplaçant avantageusement les SMCC, MBS, EMCS et apparentés.

Voir la section "Pegylation" pour plus de détails sur ces avantages et les anticorps antiPEG/PEO pour contrôle.

Produit	PM	Longueur du Spacer	Réf.	Qté (K,M)	Formule
MAL-PEO <sub>2</sub> -NHS	425.39	17.6 A (12 atomes)	BZ098A	100 mg	
MAL-PEO <sub>4</sub> -NHS	513.5	24.8 A (22 atomes)	AL6580	100 mg	
MAL-PEO <sub>6</sub> -NHS	601.60	32.5 A	RJ1851	100 mg	
MAL-PEO <sub>8</sub> -NHS	689.7	39.2 A (34 atomes)	BH9851	100 mg	
MAL-PEO <sub>12</sub> -NHS	865.9	53.3 A (46 atomes)	BH9861	100 mg	
MAL-PEO <sub>24</sub> -NHS	1394.5	95.2 A (80 atomes)	BM3011	100 mg	

MAL-PEOx-NHS sont aussi connus sous le nom SM(PEG)x.



### Série des MPS/GMBS/EMCS/KMUS

Le maléimide réagit sur les sulfhydryles (thiols) à pH 6.5-7.5.

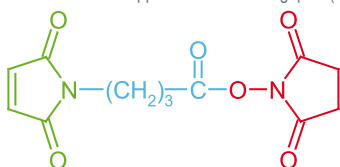
L'ester NHS réagit sur les amines à pH 7-9 très spécifiquement.

Voir la section "Crosslinkers à bras PEO/PEG" pour des versions à espaceur PEO (3 à 48 motifs) ou PEG (jusqu'à 100kDa).

Les crosslinkers hétérobifonctionnels apparentés à l'EMCS et au GMBS ont comme bras espaceur une chaîne alkyle linéaire, qui les rend préférés dans certaines applications. Ils sont plus flexibles et moins immunogènes que l'espaceur cyclohexane du SMCC ou chaîne aryle du MBS. Différentes versions arborent un bras espaceur de 3 à 12 carbones, avec un groupe sulfo pour plus d'hydrosolubilité en solutions aqueuses, et pour ne pas pénétrer et marquer dans les cellules (membrane-imperméable).

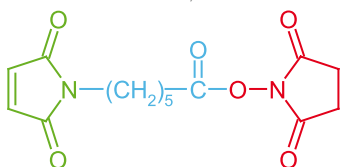
Produit	Réf.	Qté
GMBS (spacer 7,3 Å)	UP49608B	50 mg
	UP49608C	100 mg

m-MaleimidoButyryloxySuccinimide ester; CAS:80307-12-6; PM:280.3; (L)  
Meilleur que le MBS dans diverses applications immunologiques (non immunogène)



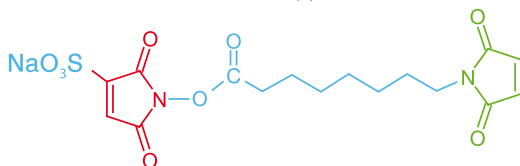
EMCS (spacer 9,4 Å)	UP19548B	50 mg
	UP19548A	100 mg

N-(6-Maleimidocaproyloxy)succinimideN-Succinimidyl-6-maleimidoheptanoate;  
CAS: 55750-63-5; PM:308.29



HMCS (spacer 7 C)	T31820	50 mg
-------------------	--------	-------

N-(8-MaleimidoCapryloxy)Succinimide  
PM:336.34 (K)



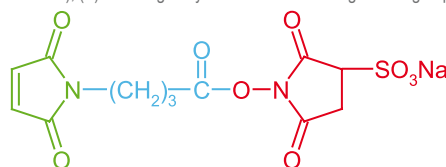
KMUS	T31950	50 mg
------	--------	-------

N-(11-MaleimidoUndecanoyloxy)Succinimide;  
PM: 378.43; (L)



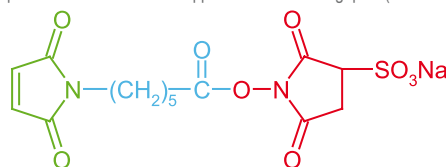
Produit	Réf.	Qté
Sulfo-GMBS	UP96999B	50 mg
	UP96999C	100 mg

m-MaleimidoButyryloxy-SulfoSuccinimide ester; CAS:103848-61-9; PM:362.28  
(+Na:382.28/Na); (K). L'analogue hydrosoluble du GMBS grâce au groupe sulfo.



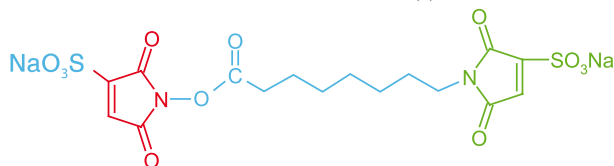
Sulfo-EMCS	UPL7729B	50 mg
	UPL7729A	100 mg

m-MaleimidoButyryloxySuccinimide ester; CAS:80307-12-6; PM:280.3; (L)  
Meilleur que le MBS dans diverses applications immunologiques (non immunogène)



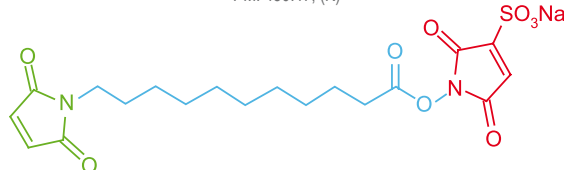
Sulfo-HMCS	T32940	50 mg
------------	--------	-------

N-(8-Maleimidocaproyloxy)sulfosuccinimide, sodium salt  
CAS: 211236-35-0 ; PM :438.39 (K)



Sulfo-KMUS (spacer 16,3 Å)	L7712A	50 mg
----------------------------	--------	-------

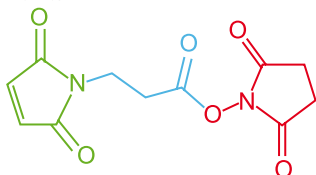
N-(11-MaleimidoUndecanoyloxy)Succinimide;  
PM: 480.47; (K)



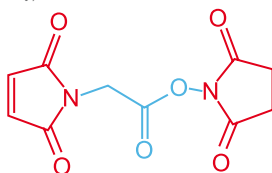


Uptima

Produit	Réf.	Qté
<b>MPS</b> (spacer 6,9 Å) N-(B-Maleimidopropoxy)-Succinimide Ester; CAS :55750-62-4; PM : 266.21; (L)	<b>L7726B</b>	250 mg

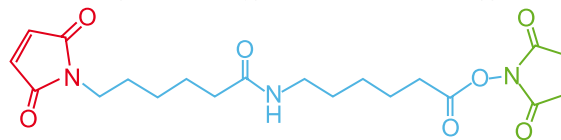


<b>AMAS</b> (spacer 4,4 Å)	<b>92161A</b>	25 mg
	<b>92161B</b>	50 mg
N-(Maleimidoacetoxy)Succinimide Ester; CAS:55750-61-3; PM:252.18; (L)		

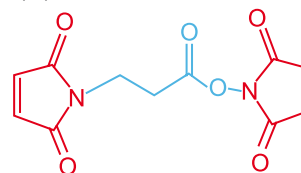


<b>SMPH</b> (spacer 14,2 Å) CAS :367927-39-7 ; PM:379.36; (L)	<b>L7740B</b>	50 mg
--	---------------	-------

Produit	Réf.	Qté
<b>LC-EMCS</b> (spacer 16,8Å : 12 C) 6-[N-(6-Maleimidocaproyl)]caproic acid NHS;PM : 421.45; (L)	<b>BI1221</b>	50 mg



<b>MPS</b> (BMPS)	<b>L7726C</b>	100 mg
3-Maleimidopropionic acid-NHS; PM:266.21; CAS:55750-62-4; (L)		



<b>LC-SMPH</b> (spacer 18,8 Å) PM:492.52; (L) Bras espaceur allongé (20 atomes)	<b>BI1251</b>	
--	---------------	--



### Série des SMCC et MBS

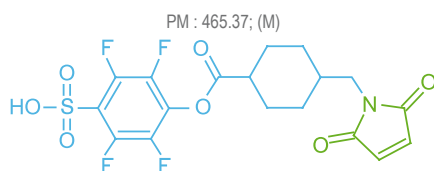
#### SMCC-Plus

Comparé au SMCC et au sulfo-SMCC, le SMCC-Plus est plus efficient en crosslinking grâce à :

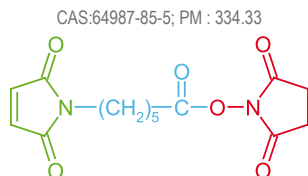
- Stabilité supérieure
- Solubilité en eau supérieure
- Réactivité plus forte avec les amines (STP ester\*)

Ces crosslinkers amino- et sulfhydryle-réactifs se distinguent des précédents (MAL-PEO-NHS et GMBS) par un bras espaceur non linéaire, à noyau cyclique voire aromatique, non clivable aussi. La tête de file est le SMCC, dont l'usage a été popularisé parce que le groupe maléimide est stabilisé comparé aux réactifs similaires (étant stériquement contraint par le groupe cyclohexane du bras espaceur, son rythme d'hydrolyse est réduit). Cette caractéristique n'est cependant pas forcément critique selon le mode opératoire et l'application. D'autres variants sont proposés: bras espaceur plus court du MBS, ou plus long avec le LC-SMCC, forme sulfonée pour accroître la solubilité dans l'eau et pour éviter de traverser les membranes biologiques. Voir l'alternative plus moderne: bras PEO.

Produit	Réf.	Qté
SMCC-Plus	JQ3870	5 mg

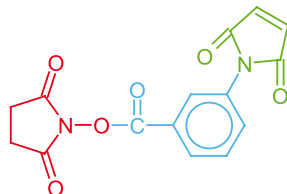


SMCC	UP34253A	50 mg
	UP34253B	100 mg



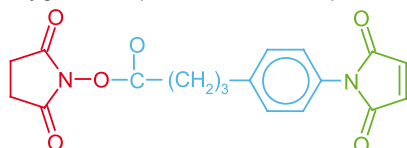
MBS	UP21608B	50 mg
	UP21608A	100 mg

m-maleimidoBenzoyl-N-hydroxySuccinimidyl ester; CAS:58626-38-3; PM : 314.2  
Bras espaceur court et rigide (7,3 Å)



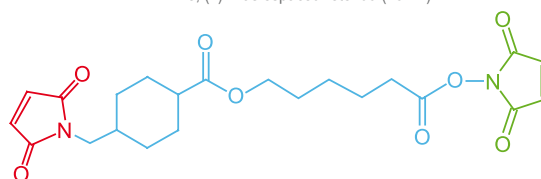
SMPB	UP28072B	50 mg
	UP28072A	100 mg

Succinimidyl-4-(p-MaleimidoPhenyl)-Butyrate; CAS:79886-55-8; PM : 356.33 ; Alternative au MBS, avec bras espaceur plus long (11.6Å).  
Conjugués montrés plus stables dans le sérum que le SPDP



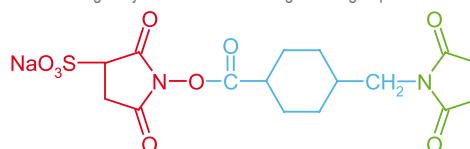
Produit	Réf.	Qté
LC-SMCC	L7739B	100 mg

PM:447.48; (L) Bras espaceur étendu (16.2Å).



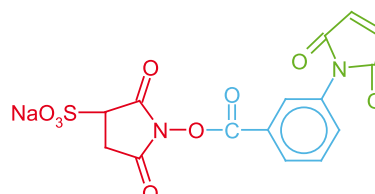
Sulfo-SMCC	UPL7729B	50 mg
	UPL7729A	100 mg

CAS:92921-24-9; PM: 436.4 ; (M)  
Analogue hydrosoluble du SMCC grâce au groupe sulfo.



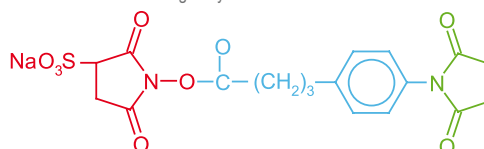
Sulfo-MBS	UP52444B	50 mg
	UP52444A	100 mg

m-MaleimidoBenzoyl-N-hydroxySulfoSuccinimidyl ester PM : 416.2; (L)  
Analogue hydrosoluble du MBS



Sulfo-SMPB	UP52757B	50 mg
	UP52757A	100 mg

SulfoSuccinimidyl-4-(p-maleimidophenyl)-butyrate; PM : 458.4; (M)  
Analogue hydrosoluble du SMPB





## Crosslinkers Hétérobifonctionnels réactifs sur SH ← MAL – Phenyl Est. → NH<sub>2</sub>

Les crosslinkers suivants réagissent sur les amines via leur groupe fluoro ou nitro phenyl ester, plus réactif que le NHS, et avec les sulfhydryles via leur groupe Maléimide.

Produit	Réf.	Qté
<b>MAL-PFP</b>	<b>BA0791</b>	100 mg

3-Maleimidopropionic acid-PFP ester ; PM:335.19; (L)  
 Longueur du bras espaceur: 6.9 Å.

Sulfhydryle and amino reactive.  
 Groupe partant fortement électrophile permet le marquage direct de la cytosine.

Produit	Réf.	Qté
<b>MAL-cap-NPSA</b>	<b>BI1241</b>	100 mg
	<b>BI1243</b>	1 g

6-Maleimidocaproic acid (2-nitro-4-sulfo) phenyl ester sodium salt ; PM:434.35; (L)

- Soluble dans l'eau
- Réaction quantitative avec les amines relarguant le 2-nitro 4-sulfo phenol.\*
- Utilisé pour pegyler l'IL-2 avec un PEG-maléimide.\*\*

\* Aldwin, L., Nitecki, D. (1987) Anal. Biochem. 164, 494.  
 \*\* Goodson, R. J., Katre, N. V. (1990) Bio/Technology 8, 343-346.

## Crosslinkers Hétérobifonctionnels réactifs sur SH ← PyridylThio – PFP → NH<sub>2</sub>

Les crosslinkers suivants réagissent très spécifiquement sur les amines via leur groupe succinimidyl ester, et avec les sulfhydryles via leur groupe **PyridylThiol**.

Le réactif SPDP et ses dérivés sont des analogues du SMCC mais la réactivité du groupe pyridithiol, bien que plus lente (échange), au contraire du maléimide, à l'avantage de relarguer la pyridine-2-thione qui permet de suivre la réaction de couplage. Surtout, le lien formé (disulfure) est clivable (par réduction). Ils peuvent aussi être utilisés comme agents de thiolation (réversible). Les analogues du SPDP présentent des bras espaceurs plus longs (NHS-Ic-SPD) et un groupe réactif plus hydrophile (SulfoNHS-Ic-SPDP).

### Applications :

Immuno-conjugués (anticorps-enzyme), sondes et support pour immunocapture, toxine-anticorps, drug carriers, immunisation carriers.

Produit	Réf.	Qté
<b>Ic-SPDP (spacer 15,7 Å, cleavable)</b>	<b>UP88622B</b>	50 mg
	<b>UP88622A</b>	100 mg

N-Succinimidyl-6-(3'-(2-pyridylthio)-propionamido)-hexanoate;  
 CAS:158913-22-5 ; PM:425.5

| **SPDP (NHS-PDP) (spacer 6,8 Å - cleavable)** | **UP79042B** | 50 mg |
|  | **UP79042A** | 100 mg |

N-Succinimidyl-3-(2-Pyridylthio)Propionate; CAS:68181-17-9; PM:312.4; (L)

Produit	Réf.	Qté
<b>Sulfo-NHS-Ic-SPDP</b>	<b>UP88621B</b>	50 mg
	<b>UP88621A</b>	100 mg

SulfoSuccinimidyl-6-(3'-(2-pyridylthio)propionamido)hexanoate;  
 CAS:169751-10-4; PM:527.6

Voir aussi la section "Crosslinkers à bras PEO/PEG"



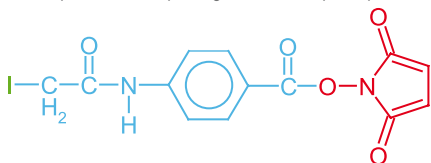
### Crosslinkers Hétérobifonctionnels réactifs sur SH ← Halides – NHS → NH<sub>2</sub>

#### Halogènes - Succinimidyl esters

Les crosslinkers suivants réagissent avec les sulfhydryles via leur groupe **halogène (Iodo, Bromo)**, et avec les amines à pH 7-9 via le groupe **succinimidyl ester** (ou son analogue polaire SulfoNHS, qui rend soluble en eau et empêche de traverser les membranes biologiques). Leur réactivité avec les amines inférieure à celle du maléimide et la liaison formée moins stable font souvent préférer par exemple le SMCC, mais ils restent utiles pour certaines applications.

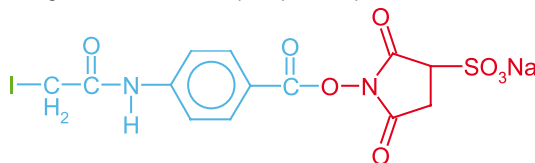
Produit	Réf.	Qté
SIAB (Iodoacetate)	UPG9906B	50 mg
	UPG9906A	100 mg

Succinimidyl-4-iodoacetyl-AminoBenzoate; CAS:39028-27-8; PM:402.2  
Bras espaceur aromatique long de 1.9 Å, marquée par l'iode



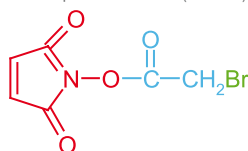
Produit	Réf.	Qté
Sulfo-SIAB	UP75036B	50 mg
	UP75036A	100 mg

SulfoSuccinimidyl-4-iodoacetyl-AminoBenzoate; CAS:144650-93-1; PM:504.2  
Analogue du SIAB soluble en tampon aqueux. Non perméant aux membranes.



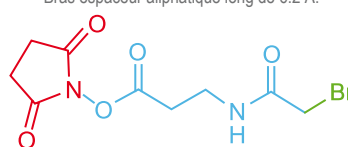
NHS-BA (Bromoacetate)	UPG9908A	1 g
-----------------------	----------	-----

N-hydroxySuccinimidyl-bromoacetate; CAS:42014-51-7; PM:236.0; (L)  
Bras espaceur très court (1 atome)



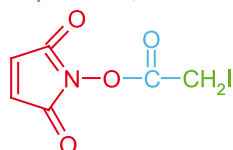
SBAP (Bromoacetate)	L7737A	100 mg
---------------------	--------	--------

Succinimidyl 3-[bromoacetamido]propionate; PM:307.10; (L)  
Bras espaceur aliphatique long de 6.2 Å.



NHS-IA (Iodoacetate)	UPG9907A	500 mg
	UPG9907B	1 g

N-hydroxySuccinimidyl-iodoacetate; CAS:39028-27-8; PM:283; (L)



Le groupe NHS réagit avec les amines à pH 7-9, tandis que le groupe Bromide réagit avec les sulfhydryles à pH>7,5, formant des liaisons amide et thioether proches, similaire à une liaison peptidique. Cette liaison est cependant plus sensible à l'hydrolyse acide.



## Autres Crosslinkers hétérobifonctionnels

A côté des crosslinkers classiques réagissant sur **Amines (NH<sub>2</sub>)** et **Sulfhydryles (SH)** décrits ci-avant, Interchim fournit d'autres hétérobifonctionnels combinant une réactivité sur les **Carbonyles (CH, COO)**, **Hydroxyle (OH)**, ou des **aminoacides** particuliers.

Crosslinkers	Carbonyle (CHO, COO)	Hydroxyle (OH)	Sulfhydryle SH	Amine NH <sub>2</sub>	Azide -N <sub>3</sub> H	Autres
MPITC (PMPI) UP88307A		OH	SH			
Carbodiimides: EDAC/DCC/DIC	Carbonyle			NH <sub>2</sub>		
BMPH/KMUH/MCH/MPS-EDA	Carbonyle		SH			
Silanes	x	OH	x	x	x	x

Les silanes sont présentés en section "Modification de surfaces"

### Stratégies de couplage sur les Hydroxyles (OH)

Quelques réactifs et stratégies utiles pour modifier et coupler les biomolécules via leurs hydroxyles.

#### Approches directes :

- Les hydroxyles font des réactions avec les Isothianates, mais peu spécifiques. Voir le réactif PMPI.
- Les réactions d'estérification avec les Phosphoramidites, donnant des phosphites esters, sont plus utiles, notamment en synthèse d'oligonucléotides. Voir la section "marquage fluorescent des acides nucléiques".

#### Approches indirectes :

- Les résidus N-terminaux non-acétylés de sérine et thréonine dans les peptides et protéines peuvent être oxydés par le périodate pour générer des aldéhydes, lesquels sont alors plus spécifiquement modifiables par une variété de réactifs, des hydrazines, hydroxyleamines ou composés aminés. Voir ci-dessous.
- La modification sélective de séquences d'acides aminés Ser-x-His, Thr-x-His et Tyr-x-His de peptides et protéines peut être réalisée avec des succinimidyl esters.
- Par ailleurs, il est possible de distinguer l'O-acylation de la N-acylation par traitement avec l'hydroxyleamine, qui clive les esters mais usuellement pas les amides.

Produit	Réf.	Qté
Potassium Periodate in 0.5 M potassium hydroxide	B44900-707018	1 flacon

Voir aussi les réactifs fluorescents réagissant avec les hydroxyles (section "Marquage fluorescent").

Les groupes hydroxy (alcools) sont abondants dans les biomolécules, sous forme de groupes hydroxyle aliphatiques dans les aminoacides sérine et thréonine, dans les chaînes aliphatiques cyclisées des carbohydrates (glycanes), ou sous forme aromatique (groupe phénol) comme dans la tyrosine, les phénols, les stérols, les flavonoïdes... Cependant, leur réactivité chimique en solution aqueuse est très faible, d'autant qu'ils sont en outre souvent estérifiés. Peu de réactifs sont disponibles pour être utilisés de façon assez sélective en présence d'eau et autres groupes nucléophiles tels les thiols et les amines.

Ainsi, il est aisé de modifier et coupler des molécules sur des groupes hydroxyle de biomolécules comme les protéines et les carbohydrates, sauf quand ils sont en position vicinale ou ils manifestent alors une réactivité particulière, dans certains carbohydrates, et dans certains résidus sérine, thréonine et tyrosine de sites actifs d'enzymes. Il reste aussi des approches plus faciles en synthèse organique, notamment leur estérification par des phosphoramidites.

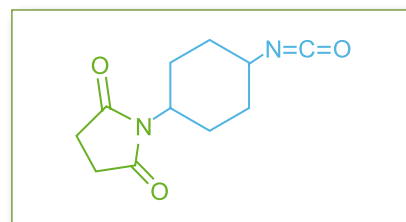
## Crosslinkers Hétérobifonctionnels réactifs sur hydroxyles (OH) et Sulfhydryle (SH) (PMPI)

Le MPITC est un crosslinker utile pour coupler une molécule contenant un sulfhydryle à une molécule contenant un hydroxyle. Une solution quand les autres stratégies échouent ou sont impossibles, comme avec des stéroïdes, vitamines...

- Le Maléimide réagit avec un groupe SH à pH 6,5-7,5, formant une liaison thioether stable
- L'isocyanate réagit avec un groupe OH, formant une liaison carbamate à pH 8,5
- L'espaceur mesure 8,7 Å de long

Produit	Réf.	Qté
MPITC (PMPI) N-[p-Maleimidophenyl]isocyanate ; PM.214.18; (K)	UP88307A	50 mg

Voir aussi la section "Crosslinkers à bras PEO/PEG"







Le **MPS-EDTA** est un crosslinker unique ! Son amine est neutralisée pour ne pas attaquer le maléimide. L'amine peut donc réagir sur un carbonyle activé (par NHS, PFP ou EDC) tandis que le maléimide se couplera sur un sulfhydryle.

### Crosslinkers Hétérobifonctionnels réactifs sur Carbonyle et SH (BMPH & co)

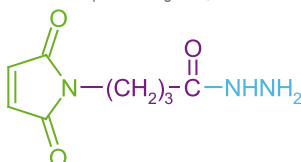
Les crosslinkers suivants sont réactifs envers les Carbonyles et Sulfhydryles. Leur groupe hydrazide réagit sélectivement avec les carbohydrates oxydés par le méta-périodate de sodium (ou les Carboxyles s'il est utilisé avec l'EDC). La seconde réaction crée une liaison avec les sulfhydryles (SH) via le groupe maléimide, pour le **BMPH/KMUH/MCH**, ou le groupe pyridylthiol pour le **PDPH** (par substitution).

Ces crosslinkers ont un espaceur, court (BMPH) ou long (KMUK), tandis que le populaire PDPH a un espaceur clivable par un agent réducteur (tel le TCEP **#UP242214** ou DTT **#UP284250**).

Le MPS-EDA fournit une autre approche de couplage originale, sur un Carbonyle activé par une amine protégée, puis sur un Sulfhydryle par son groupe maléimide.

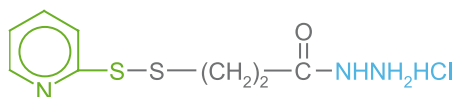
Produit	Réf.	Qté
<b>BMPH (MPH)</b> , HCl salt	<b>UPG9909A</b>	50 mg
<b>BMPH</b> (Maléimide-Hydrazide), TFA salt	<b>L7725A</b>	100 mg

PM:184.18(free), 220.64(HCl), 298(TFA); (L)  
Espaceur long de 8,1 Å



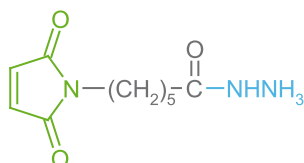
<b>PDPH</b>	<b>UP99648A</b>	50 mg
-------------	-----------------	-------

3-(2-pyridylthio)-propionic acid Hydrazide. PM:229.32(free), 265.8(HCl); (L) À réducteurs



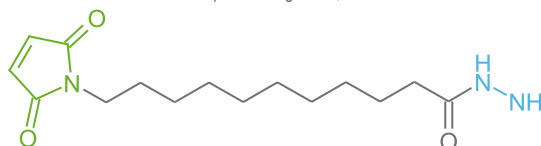
<b>MCH (EMCH)</b> , HCl salt	<b>UPG9910A</b>	50 mg
	<b>90038A</b>	50 mg

e-MaleimidoCaproic acid Hydrazide. PM:225.24(free), 261.71(HCl), 339.27(TFA); (L)



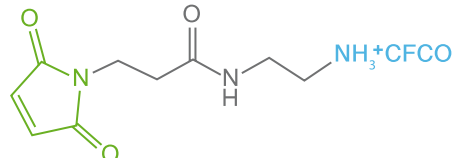
Produit	Réf.	Qté
<b>KMUH</b>	<b>UPL7722B</b>	50 mg
	<b>UPL7722A</b>	100 mg

PM:295.4(free), 409.41(TFA); (L)  
Espaceur long de 19,0 Å

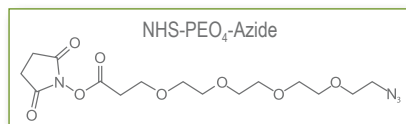


<b>MPS-EDA</b> , TFA salt	<b>BI0691</b>	100 mg
---------------------------	---------------	--------

CAS:11550-02-0; PM:325.24; (Z); Espaceur de 10 atomes long de 10.7 Å.  
Un crosslinker réactif sur Carbonyles et sulfhydryles, hautement soluble en eau.







### Crosslinkers Hétérobifonctionnels avec réactivité Azide (et autre)

Ces crosslinkers hétérobifonctionnels comportant un groupe réactif Azide sont utiles en chimie click, et pour des couples de carbohydrates.

- L'**Azide** réagit avec des alkynes (voir la section "Chimie Click") ou avec des phosphines (voir section "Ligation de Staudinger").
- Le 2<sup>ème</sup> groupe fonctionnel peut être, le **NHS** qui réagit spécifiquement avec des amines à pH 7-9 (tableau ci après), le **MAL** qui réagit avec les sulfhydryles ou d'autres réactivités ou groupes fonctionnels (**Amine, Carboxyle, TFP, Epoxy...** : voir la section "Chimie Click", et sur demande à [interbiotech@interchim.com](mailto:interbiotech@interchim.com)).

#### NHS-Azide crosslinkers

Produit	Nom chimique	Formule chimique	Poids Moléculaire	Longueur du bras espaceur	Forme	Réf.	Qté
NHS-Azide	N-hydroxysuccinimide ester ethane azide	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub>	198,14 g/mol	2,5 Å	Poudre blanche à blanchâtre	CDA95A	10 mg
NHS-PEO <sub>4</sub> -Azide	N-hydroxysuccinimide ester tetraoxapentadecane azide	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> N <sub>4</sub> O <sub>8</sub>	388,37 g/mol	18,9 Å	Liquide non coloré à jaunâtre	ZC6842	100 mg
NHS-PEO <sub>12</sub> -Azide	N-hydroxysuccinimide ester dodecaoxanonatriacontane azide	C <sub>31</sub> H <sub>56</sub> N <sub>4</sub> O <sub>16</sub>	740,79 g/mol	47,3 Å	Liquide non coloré à jaunâtre	JV7422	10 mg

### Crosslinkers Hétérobifonctionnels avec encore d'autres réactivités

- Crosslinkers contenant un groupe actif **Alkyne** (réagit avec un Azide)  
Voir la section "Chimie Click"
- Crosslinkers contenant un groupe actif **Phosphine** (réagit avec un Azide)  
Voir la section "Ligation de Staudinger"
- Crosslinkers contenant un groupe actif **PEO** (espaceur hydrophile)  
Voir la section "Crosslinkers à bras PEO"

### Crosslinkers hétérobifonctionnels (hors amine+thiol réactifs)

Contactez nos spécialistes pour vos projets à [interbiotech@interchim.com](mailto:interbiotech@interchim.com).

De nombreux autres crosslinkers sont disponibles sur demande : notamment avec des fonctions Amine, Carboxyle, mais aussi avec bien d'autres fonctions (époxy,...).

## Crosslinkers Homobifonctionnels

Les crosslinkers homobifonctionnels réagissent par leurs 2 extrémités sur le même type de groupe chimique (par ex des amines, ou alors des sulfhydryles). Ils ne permettent pas de faire des couplages orientés, et sont donc à présent utilisés surtout pour préparer des conjugués avec de grosses molécules devant porter de nombreuses petites molécules (carrier-antigènes), similairement pour fonctionnaliser des surfaces et supports aminés par des haptènes, et enfin pour de la réticulation ou fixation (supports, cellules) tel qu'avec le glutaraldéhyde.

### Crosslinkers Homobifonctionnels réactifs sur amines



Les crosslinkers suivants réagissent par leurs 2 extrémités avec les amines à pH 7-9 via le groupe **succinimidyl ester**. Ils forment des liaisons amide stables.

Le réactif le plus populaire est assurément le **DSS** et son analogue hydro-soluble le **BS3**, utilisé en particulier pour le couplage des protéines sur des supports activés (microplaques, gels,...). Son bras espaceur linéaire est très flexible et non clivable.

Vous trouverez ci après d'autres versions, à **espaceur clivable** par exposition à des agents réducteurs (le classique DSP, utilisé souvent comme agent pour la thiolation), ou par des oxydants (DST, BSOE) ou encore par des conditions alcalines douces (EGS).

Les analogues **sulfonés** sont hydro-solubles (BS3, Sulfo-EGS...), mais surtout ils sont utiles pour le marquage des protéines extracellulaires (non perméants aux membranes biologiques).

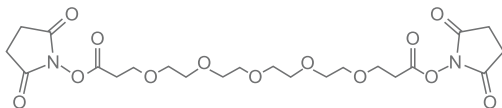
Les analogues **NHS-PEO-NHS** sont non seulement hydrosolubles, mais confèrent leur l'hydrophilicité, portée par le bras espaceur, au conjugué, pour plus d'avantages encore.

### Série des NHS-PEO-NHS - BS(PEG)x

Remplace avantageusement le SulfoDSS (BS3) :

Contient un bras espaceur PEO qui apporte des propriétés très appréciables:

- Réagit avec les amines (via le NHS) à pH 7-9
- Hydro-soluble en eau (et en solvants organiques: méthylène chloride, DMAC) corrolaire: plus forts ratios de couplage possibles
- Confère l'hydrosolubilité au conjugué final, d'où
  - Bio-stabilité accrue, minimisation de l'aggrégation ou précipitation des conjugués, ou des complexes conjugués/ligand
  - réduction des fixations non spécifiques sur les surfaces,
- Bras flexible, améliorant la biodisponibilité des constituants du conjugué
- Longueur de bras espaceur ajustable
- Espaceur non immunogène

Produit	Poids Moléculaire	Longueur du bras espaceur	Réf.	Qté	Structure
NHS-PEO <sub>5</sub> -NHS	532,50 g/mol	21,7 Å	BH8811	100 mg	
			BH8812	1 g	
NHS-PEO <sub>6</sub> -NHS	708,71 g/mol	35,8 Å	CQ2051	100 mg	
			CQ2052	1 g	



L'ester NHS réagit sur les amines à pH 7-9 très spécifiquement.

Voir aussi le BS3 deutéré (**CC7090**) dans la section "Marqueurs et crosslinkers deutérés", utile pour le marquage en vue d'analyse par MS.

Alternative au DSS/BS3 **#UP54940A**, voir NHS-PEO<sub>4</sub>-NHS.

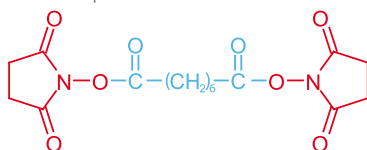
### Série des Crosslinkers amine bi-réactifs classiques (DSS/BS3 & co)

Le **DSS** et crosslinkers apparentés forment des liaisons amide stables avec les amines des protéines et autres composés aminés à pH 7-9. Différentes versions comportent un **espaceur clivable** mis à profit dans les techniques de purification. Le DST et BSOECS requièrent des conditions alcalines oxydantes utiles quand des conditions réductrices requises (par le DDP) doivent être évitées, par exemple avec la structure protéique dépendant de ponts -S-S-, ainsi que des conditions oxydantes qui interfèrent avec les chélates, ions métalliques, hèmes,... L'**EGS** est lui clivable en conditions encore plus douces, par ex à pH 8.5 avec l'hydroxylamine **#05965A**.

Les analogues sulfonés rendent le crosslinker soluble en eau (alternativement, voir les NHS-PEO<sub>x</sub>-NHS ci-dessus).

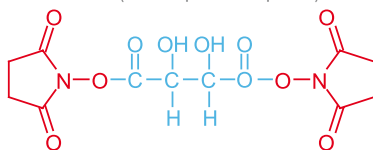
Produit	Réf.	Qté
DSS	UP28065A	1 g
	UP28065B	5 x 1 g

Dissuccinimidyl Suberate; CAS:68528-80-3; PM:368.35; (L).  
Bras espaceur linéaire et flexible de 11.4 Å.



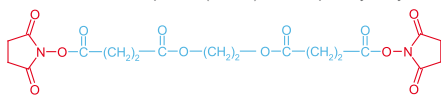
DSP	UP18971A	1 g
-----	----------	-----

DiSuccinimidyl Tartarate; PM:344.2; (L)  
Analogue du DSS avec bras espaceur (6.4 Å) clivable par des oxydants en condition alcaline (ex: avec périodate à pH11.6)



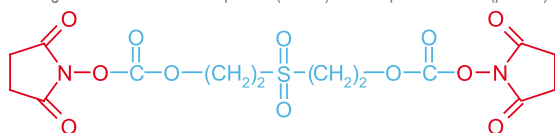
EGS	UP28067A	1 g
-----	----------	-----

EthylGlycol bis(SuccinimidylSuccinate); CAS:70539-42-3; PM:456.4; (L)  
Analogue du DSS avec bras espaceur (16,1 Å) clivable par l'hydroxylamine pH8.5.



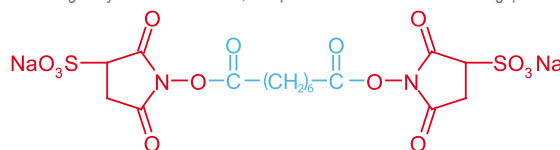
BSOCS	UP28069B	50 mg
	UP28069A	100 mg

Bis(2-(SuccinimidylOxyCarbonylOxy)-Ethyl)Sulfone; CAS:57683-72-4; PM:436.4  
Analogue du DSS avec bras espaceur (13.0 Å) clivable par des bases (pH11.6).



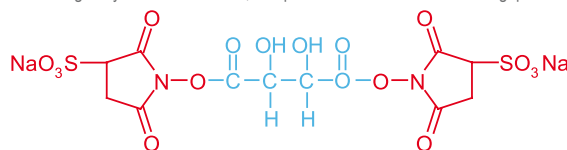
Produit	Réf.	Qté
Sulfo-DSS (BS3)	UP54940B	50 mg
	UP54940A	100 mg

Bis(Sulfosuccinimidyl) Suberate ester; CAS:82436-77-9; PM:572.43; (L)  
Analogue hydrosoluble du DSS, non perméant aux membranes biologiques.



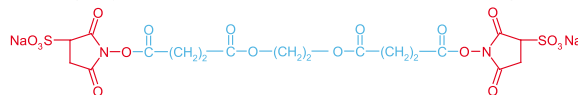
Sulfo-DST	UP24864B	50 mg
	UP24864A	100 mg

DiSulfoSuccinimidyl Tartarate; PM:584.32; (L)  
Analogue hydrosoluble du DST, non perméant aux membranes biologiques



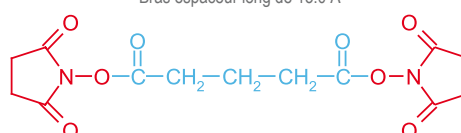
Sulfo-EGS	UP24455B	50 mg
	UP24455A	100 mg

EthylGlycol bis(SulfoSuccinimidylSuccinate); CAS:167410-92-6; PM:660.45; (M)  
Analogue hydrosoluble de l'EGS, non perméant aux membranes biologiques.



DSG (Spacer : 7,7 Å)	29859A	50 mg
----------------------	--------	-------

DiSuccinimidyl Glutarate; CAS:79642-50-5; PM:326.26  
Bras espaceur long de 13.0 Å



**Glutaraldéhyde: cross-linker homobifonctionnel réactif sur  $\text{NH}_2 \leftarrow \text{CHO} - \text{CHO} \rightarrow \text{NH}_2$**

Le Glutaraldéhyde est un crosslinker très économique, qui, en biochimie, reste utile pour la fonctionnalisation de surfaces aminées (incubé en excès), et pour certains couplages hétérologues: typiquement pour préparer des conjugués carier-peptides. Une grosse protéine (porteur type BSA ou KLH) est activée par le glutaraldéhyde à fort ratio (excès) puis dessalée. Les fonctions aldéhydes greffées réagissent alors sur de petites molécules (peptides, haptènes), qui peuvent ainsi être couplées en grand nombre en vue de leur présentation au système immunitaire.

Le Glutaraldéhyde réagit sur les amines. Son utilisation en tant que crosslinker ne permettant pas une conjugaison orientée si les amines sont portées par 2 molécules différentes, il sert donc surtout à la réticulation de supports protéiques pour les rendre plus stables. L'application principale est d'ailleurs la fixation des protéines d'échantillons biologiques avant transport/conservation ou analyse, notamment par microscopie (voir la section "IHC/IF" au chapitre Immunodétection). Il sert aussi pour la stérilisation et dans certains processus industriels.

Produit	Réf.	Qté
<b>GlutarAldéhyde, 50% solution</b>	<b>127551-0875</b>	100 ml
(Ingrédient actif) CAS : 111-30-8; PM: 100.11	<b>127552-0875</b>	500 ml
<b>GlutarAldéhyde, 50% solution in <math>\text{H}_2\text{O}</math></b>	<b>127554-M115</b>	100 ml
Proteomics grade	<b>127555-M155</b>	500 ml

**Crosslinkers Homobifonctionnel réactifs sur Sulfhydryles (SH) :**



Les crosslinkers suivants réagissent par leurs 2 extrémités avec les sulfhydryles. Les groupes thiol-réactifs incluent :

- **Maléimide** (ex. dans le BMOE) : réagit avec les groupes SH à pH 6.5-7.5.
- **Vinylsulfone** (ex. dans le HBVS) : réagit similairement au maléimide avec les groupes SH, mais sans hydrolyse potentielle et sans générer de stéréo-isomère.
- **Pyridyldithiol** (ex. dans le DPDPB) : réagit avec les groupes SH, formant un lien dissulfide, qui est clivable par réduction (avec des thiols, ex. DTT ou TCEP).

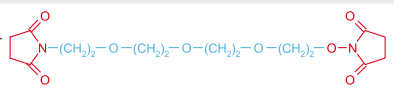
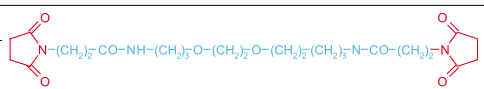
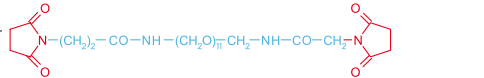
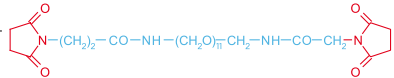
Trouvez ci après la description de ces crosslinkers classiques ou remarquables :

- Crosslinkers homobifonctionnels SH-réactifs standards : **BMOE et apparentés**
- Série des **MAL-PEO-MAL** : l'espaceur PEO confère de l'hydrophilicité et corollairement améliore diverses performances comparé aux crosslinkers standards type BMOE.

**Série des MAL-PEOx-MAL**

Remplacent avantageusement le BMOE contiennent un bras espaceur PEO qui apporte des propriétés très appréciables :

- Réagit avec les sulfhydryles (via le maléimide) à pH 6.5-7.5.
- Hydro-solubles en eau (et en solvants organiques: méthylène chloride, DMAC) corollaire : plus forts ratio de couplage possibles
- Confère l'hydrosolubilité au conjugué final, d'où
  - bio-stabilité accrue, minimisation de l'agrégation ou précipitation des conjugués, ou des complexes conjugués/ligand
  - réduction des fixations non spécifiques sur les surfaces,
- Bras flexible, améliorant la biodisponibilité des constituants du conjugué
- Longueur de bras espaceur ajustable
- Espaceur non immunogène

Produit	Réf.	Qté	Structure
<b>MAL-PEO<sub>2</sub>-MAL</b>	<b>L77359</b>	50 mg	
1,8-Bis-maleimido-diethyleneglycol, BM(PEG)2; PM:308.29; Espaceur long de 14.7 Å	<b>L7735A</b>	100 mg	
<b>MAL-PEO<sub>3</sub>-MAL</b>	<b>L77369</b>	50 mg	
1,11-Bis-maleimido-triethyleneglycol, BM(PEG)3; PM:352.34; (L); Espaceur long de 17.8 Å	<b>L7736A</b>	100 mg	
<b>MAL-PEO<sub>4</sub>-MAL</b>	<b>AZ4180</b>	50 mg	
BM(PEG)4; CAS: 756525-89-0; PM:522.55 ; Espaceur long de 28 atomes long de 30.0 Å	<b>AZ4182</b>	1 g	
<b>MAL-PEO<sub>11</sub>-MAL</b>	<b>1N4260</b>	50 mg	
1,11-Bis-maleimido-triethyleneglycol, BM(PEG)3; PM:352.34; (L); Espaceur long de 17.8 Å	<b>1N4262</b>	1 g	



### Crosslinkers homobifonctionnels réactifs sur Sulfhydryle: BMOE et apparentés

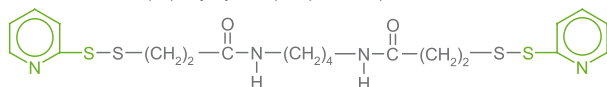
- **DPDPB** : réagit sur les SH via le pyridyldithiol, formant un pont dissulfure de 19,9 Å qui est clivable par réduction.
- **MAL-cap-NPSA** :
  - Hydrosoluble !
  - Relargue le 2-nitro 4-sulfo phenol, qui permet quantifier la réaction du **phenyl ester** avec les amines.<sup>1</sup>
  - Réagit à pH7-9 avec les SH via son groupe **maléimide**.<sup>2</sup>
- **BMOE** : réagit sur les SH via le Maléimide à pH 6.5-7.5. Bras espaceur de 8,0 Å.
- **HBVS (1,6-Hexane bis-vinylsulfone)** :
  - Le vinylsulfone, stable à l'hydrolyse, couple des sulfhydryles avec un espaceur de 14,7 Å
  - Contrairement au maléimide, la réaction du vinylsulfones (addition de Michael ) ne génère pas de stéréoisomères.

1. Aldwin, L., Nitecki, D. (1987) Anal. Biochem. 164, 494.

2. Goodson, R. J., Katre, N. V. (1990) Bio/Technology 8, 343-346.

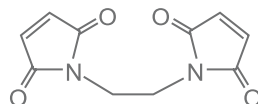
Produit	Réf.	Qté
DPDPB	UP09833B	50 mg
	UP09833A	100 mg

1,4-Di[(3'-(2'-Pyridyl)Dithio)-Propionamido]Butane; PM:482.7



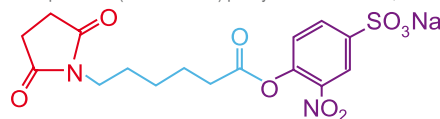
BMOE	L7730A	100 mg
------	--------	--------

1,2-bis-Maleimidoethane; PM:210.19



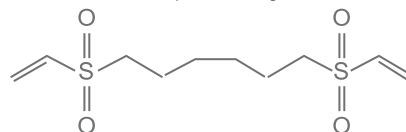
Produit	Réf.	Qté
MAL-cap-NPSA	BI1241	100 mg
	BI1243	1 g

6-Maleimidocaproic acid (2-nitro-4-sulfo) phenyl ester sodium salt; PM:434.35; (L)



HBVS (1,6-Hexane bis-vinylsulfone)	UPL7733A	50 mg
------------------------------------	----------	-------

PM:266.38; Spacer arm length: 14.7 Å





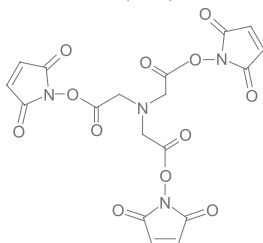
## Crosslinkers Multifonctionnels

Les crosslinkers multifonctionnels portent plusieurs groupes fonctionnels identiques ou différents, avec un bras espaceur ramifié. Les espaceurs PEO, disponibles avec des longueurs variables, sont hydrophiles.

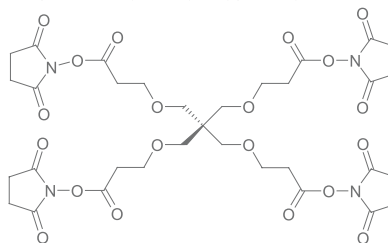
### Crosslinkers Multi NHS (Amines-réactifs)

Ces crosslinkers comportent 2 à 4 groupes NHS terminal qui réagissent très sélectivement avec les amines.

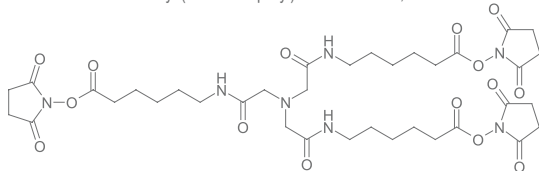
Produit	Réf.	Qté
<b>TSAT (NHS-3)</b>	<b>L7962A</b>	250 mg
tris-Succinimidyl aminotriacetate; (99+%); PM:482.36; Espaceur: 4.2 Å		



Produit	Réf.	Qté
<b>NHS-4</b>	<b>BU248A</b>	100 mg
tetrakis-(N-succinimidylcarboxypropyl)pentaerythritol; PM:812.69		



<b>LC-TSAT (lc-NHS-3)</b>	<b>BU243A</b>	50 mg
tris-Succinimidyl (6-aminocaproyl)aminotriacetate; PM:821.83		



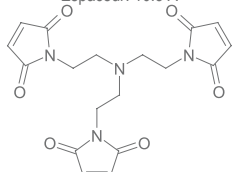
Des versions plus ramifiées (6 et 8 bras; homo et hétéro -NHS, -MAL, -NH<sub>2</sub>, ...) sont disponibles sur demande, jusqu'aux dendrimers

### Crosslinkers Multi MALéimide (Sulhydrides-réactifs)

Ces crosslinkers réactifs sur thiols incluent des tri- et tetra- maléimides, très utiles pour préparer des conjugués polymériques, notamment avec des peptides qui sont terminés avec une cystéine terminale utilisée comme site de fixation (ex: vaccins polypeptidiques, polymères "auto-réparateurs" (Wudl, F., et al. (2002) Science 295, 1698).

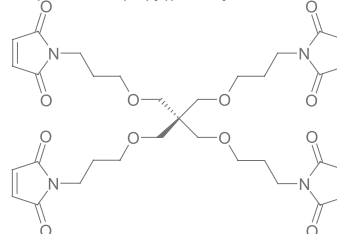
Produit	Réf.	Qté
<b>TMAE (Mal-3)</b>	<b>86685A</b>	50 mg

tris-(2-Maleimidoethyl)amine; PM:386.36; (K)  
Espaceur: 10.3 Å



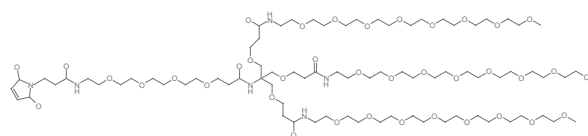
Produit	Réf.	Qté
<b>TKMA (Mal-4)</b>	<b>BU247A</b>	100 mg

tetrakis-(3-Maleimidopropyl)pentaerythritol ; PM:684.70 (L)



Produit	Réf.	Qté
Maléimide-PEO <sub>4</sub> -(PEO <sub>4</sub> -Methyl) <sub>3</sub> PM : 1303	<b>LV5640</b>	100 mg
Maléimide-PEO <sub>4</sub> -(PEO <sub>8</sub> -Methyl) <sub>3</sub> PM : 1832	<b>LV5650</b>	100 mg
Maléimide-PEO <sub>4</sub> -(PEO <sub>24</sub> -Methyl) <sub>3</sub> PM : 1303	<b>LV5660</b>	100 mg
MAL-PEG <sub>12</sub> -Tris(PEG <sub>12</sub> -Tris(PEG <sub>11/2</sub> )) <sub>3</sub> PM : 8323,87	<b>1L0570</b>	25 mg
MAL-PEG <sub>24</sub> -Tris(PEG <sub>24</sub> -Tris(PEG <sub>24/2/3</sub> )) <sub>3</sub> PM : 15592,45	<b>1L0570</b>	25 mg

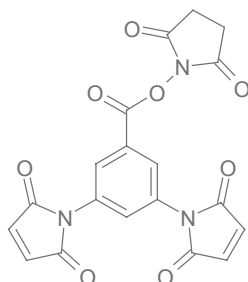
Maléimide-PEO<sub>4</sub>-(PEO<sub>4</sub>-Methyl)<sub>3</sub> PM : 1303



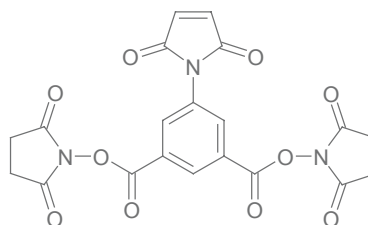


### Crosslinkers tri-fonctionnels réactifs sur Amine & sulfhydryle

Produit	Réf.	Qté
SDMB (Mal-NHS <sub>2</sub> ) PM : 409	BU245A	



Produit	Réf.	Qté
MDSI (Mal2-NHS) PM : 455,34	BU246A	



**DMSI** PM : 812,69  
Maleimido-3,5-Dissuccinimidyl Isophthalate  
**BU246A** 50 mg  
Réagit avec un SH par son groupe maléimide et sur 2 amines par ses groupes NHS ester.

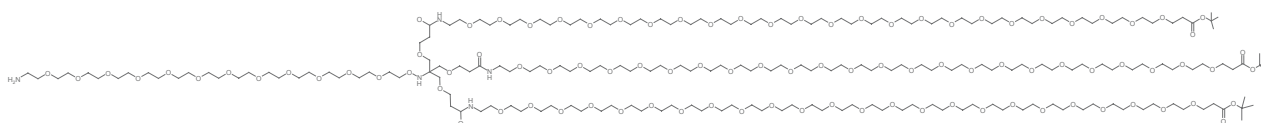
### Autres crosslinkers Multi-Fonctionnels

Contactez nos spécialistes à [interbiotech@interchim.com](mailto:interbiotech@interchim.com) pour d'autres crosslinkers multifonctionnels. Ne pouvant pas les présenter de manière exhaustive dans ce catalogue, voici quelques exemples des fonctions et structures réalisées selon les projets en cours ou à façon.

Crosslinkers à espaceur PEO fonctionnalisés avec des fonctions Amine, Carboxyle (autres fonctions sur demande)

Produit	Réf.	Qté
Amino-PEO <sub>12</sub> -Tris(-PEO <sub>24</sub> -acid) <sub>3</sub> PM : 4490,37	1L0420	25 mg
	1L0421	100 mg

Espaceur PEG de 126 atomes et long de 102,8 Å (moy)



Bis-MAL-PEO <sub>4</sub> -PEO <sub>12</sub> -Lysine-Tris(mPEO <sub>24</sub> ) <sub>3</sub>	1L0610	25 mg
Bis-MAL-PEO <sub>4</sub> -PEO <sub>12</sub> -Lysine-Tris(PEO <sub>24</sub> -COOH) <sub>3</sub> PM : 15592,45	1L0620	25 mg

- Crosslinkers à espaceur PEG (plus longs: 1 à 30KDa) fonctionnalisés avec des fonctions Amine, Carboxyle (autres fonctions sur demande) sont présentés en [section "PEGylation"](#).

Des versions plus ramifiées (6 et 8 bras ; homo et hétéro -NHS, -MAL, -NH<sub>2</sub>...) sont disponibles sur demande, jusqu'aux dendrimers (à 5 bras : voir [section "Drug delivery"](#) – tel le PEG-Pentamer-G1-(N3+4xBoc-NH) (DDN2030) )

Les **espacesurs PEO** sont synthétiques, donc parfaitement définis. Les **espacesurs PEG** sont plus longs, purifiés donc comportent une dispersivité de longueur. Voir à la section ["Pegylation"](#).



## Crosslinkers bifonctionnels Photoréactifs

Les crosslinkers "photoréactifs" réagissent sous activation par la lumière par divers groupes **aryl azide**, ou encore **diazirine**, et disposent d'un second groupe fonctionnel.

### Les groupes photoréactifs incluent :

- **DiAzirine** (tel que dans le SDA) : réagit spécifiquement avec les amines (plus efficacement que les Aryl- et Phenyl-Azides),
- **PhenylAzides** (tel que dans l'ABH, DTPA, HSAB) : réagissent par photolyse, non spécifiquement mais surtout avec les amines présentes :
  - **HydroxyPhenylAzide** (tel que dans l'ASBA, ASIB, NHS-ASA) : réagit sous irradiation UV 300 nm-370 nm (optimal à 320 nm)
  - **Nitrophenyl Azide** (tel que dans le SANPAH, SAPB) : réagit sous irradiation à 320 nm-350 nm

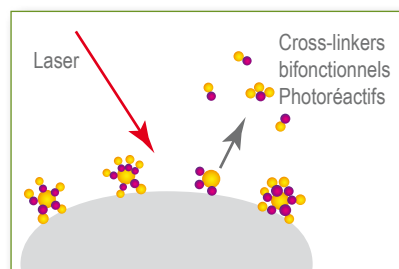
Tous les groupes phényles peuvent être radiomarqués à l'iode (iodation).

### La 2<sup>ème</sup> réactivité comprend :

- **NHS** et son analogue hydrosoluble Sulfo-NHS : réagissent avec les groupes amines à pH 7-9
- **Iodoacétamide** (tel que dans l'ASIB) : réagit avec des sulfhydryles libres (SH)
- **Pyridilthiol** : réagit avec les SH des protéines.
- **Hydrazide** (tel que dans l'ABH) : réagit avec les cis-diols des carbohydrates
- Un groupe **amine** (tel que dans l'ASBA), qui peut être utilisé pour coupler des Carbonyles (par amidation réductive médiée par les carbodiimides (EDC #UP52005), formant une liaison amide stable.

D'autres crosslinkers photoréactifs remarquables comportent un **bras espaceur clivable** (BASED, DTPA).

L'ASBA est lui unique par le fait qu'il peut coupler des Carbonyles (avec leur groupe amine) à des amines (avec leur groupe photoréactif). Les crosslinkers photoréactifs et SH-réactifs tels que l'APDP permettent des couplages in situ et SH-orientés de molécules contenant une Cystéine. Ils sont utiles pour étudier des sites actifs (enzymes, canaux, récepteurs) qui contiennent le résidu Cys, ou faire de couplages avec peptides contenant une cystéine.



Les **crosslinkers photoréactifs** réagissent de façon non spécifique sur tout hydrogène libre sous illumination. La réaction sur les amines reste prédominante avec les protéines. Ils sont utilisés pour des couplages localisés dans l'espace ou le temps. Par exemple, un ligand peut être couplé à son récepteur pendant une condition physiologique contrôlée. Ces crosslinkers sont aussi utiles pour les molécules difficiles à manipuler et coupler avec des procédures standards (NHS/MAL).

Les applications incluent notamment la biologie cellulaire (voir les sections "transfert de marquage" et "marquage métabolique").



### Crosslinkers photoréactifs à réactivité Diazirine

#### Crossinkers

#### Crosslinkers photoréactifs : Série du SDA (Succinimidyl-ester Diazirine)

##### Avantages

- **Hétérobifonctionnels** : le groupe succinimide ester réagit avec les amines primaires à pH 7-9 pour former des liaisons amides stables; le groupe diazirine réagit efficacement avec tout acide aminé (chaîne latérale)
- **Contrôlable** : couplage chimique en 2 étapes sous activation par exposition à la lumière UV (330-370 nm) (avec des lampes UV courantes au laboratoire)
- **Facile d'emploi** : ces crosslinkers sont photo-stables dans les conditions d'usage au laboratoire (par besoin d'opérer dans le noir)
- **Meilleurs que les azides arylés** : le groupe diazirine est plus efficacement activé aux UV de grande longueur d'onde que les groupes phenyl azide et autres groupes des crosslinkers photoréactifs classiques, et il est plus photostable.
- **Flexible** : 6 dérivés différents pour satisfaire les besoins expérimentaux :
  - Bras espaceur Court (3.9 Å) et long (12.5 Å)
  - Analogues membrane-perméant (NHS) et Imperméant (Sulfo-NHS)
  - Dérivés non-clivable et clivable (espaceur disulfure)

Les crosslinkers de type SDA se caractérisent par le groupe **DiAzirine** (cycle azipentanoate  $[-N=N-C]-$ ) qui réalise une photoréaction innovante très efficace avec virtuellement toute molécule (non spécifique). Ils associent une autre réactivité, spécifique d'un groupe fonctionnel (typiquement avec les amines) pour réaliser le couplage de toute molécule contenant une amine à toute autre molécule avec ce groupe fonctionnel. 6 réactifs crosslinkers sont proposés ci-après avec des bras espaceurs différents, la capacité de cliver l'espaceur après conjugaison des protéines, et la présence ou absence de charge ionique pour pouvoir traverser ou non les membranes biologiques.

Ces réactifs SDA étendent la gamme des **structures** des protéines et complexes formés que l'on peut étudier, et l'efficacité pour stabiliser les **interactions** protéine-protéine.

#### NHS Ester

(Membrane perméable, pour couplage intracellulaires)

Produit	PM	Espaceur
<b>NHS-Diazirine (SDA)</b> Succinimidyl 4,4'-azipentanoate	225,20	3,9 Å
<b>LC-SDA (NHS-LC-Diazirine)</b> Succinimidyl 6-(4,4'-azipentanamido)hexanoate	338,4	12,5 Å
<b>NHS-SS-Diazirine (SDAD)</b> Succinimidyl 2-([4,4'-azipentanamido]ethyl)-1,3'-dithiopropionate	388,5	13,6 Å

#### SulfoNHS Ester

(Membrane imperméable, pour couplage en surface des cellules)

Produit	PM	Espaceur
<b>Sulfo-NHS-Diazirine (Sulfo-SDA)</b> Sulfosuccinimidyl 4,4'-azipentanoate	327,3	3,9 Å
<b>Sulfo-LC-SDA (Sulfo-NHS-LC-Diazirine)</b> Sulfosuccinimidyl 6-(4,4'-azipentanamido)hexanoate	440,4	12,5 Å
<b>Sulfo-SDAD (Sulfo-NHS-SS-Diazirine)</b> Sulfosuccinimidyl 2-([4,4'-azipentanamido]ethyl)-1,3'-dithiopropionate	490,51	13,6 Å

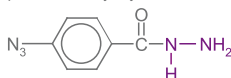


## Structure d'autres Crosslinkers - Photoréactifs et réactifs spécifiquement avec d'autres groupes

Les crosslinkers suivants sont photoréactifs (sur les amines des protéines majoritairement) et ont une autre réactivité spécifique, des **amines**, ou **sulfhydryles**, ou **Carbonyles & carbohydriques**, ou arginine (APG). Leur cycle aromatique est marquant à l'iode. Le crosslinker est clivable quand le pont disulfure (-S-) est présent.

Produit	Réf.	Qté
ABH	UP87750B	50 mg
	UP87750A	100 mg

p-AzidoBenzoyl Hydrazide ; PM : 177.2



Cross-linker **photoréactif** et **carbohydre** sélectif

L'hydrazide réagit avec les cis-diols des carbohydriques

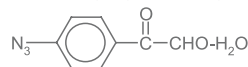
L'aryl azide réagit avec toute molécule par photolyse sous UV

Bras espaceur rigide de 11,9 Å . Hydrosoluble.

Applications : études et conjugués de glyco-protéines, d'immunoglobulines

APG	UP28071B	50 mg
	UP28071A	100 mg

p-AzidoPhenyl Glyoxal, monohydrate ; CAS : 96602-46-9 ; PM : 193.16 ; (L)



Cross-linker **photoreactif** et **arginine** sélective

Le phenylglyoxal réagit avec les résidus arginine à pH-8

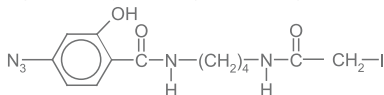
Le phenyl azide réagit par photolyse, majoritairement avec les amines

Bras espaceur rigide de 9.3 Å

Applications : études des interactions de ligands, spécialement avec radiomarquage

ASIB	UP672601	100 mg
------	----------	--------

1-(p-AzidoSalicylamido)-4-(Iodoacetamido)Butane ; PM : 417,3



Crosslinker **photoréactif** et **amine-réactif**, Iodinatable

L'iodoacétamide réagit spécifiquement avec les sulfhydryles

L'hydroxyPhenylAzide réagit avec les amines par photolyse sous UV longs

ANB-NOS	52219A	50 mg
---------	--------	-------

N-(5-Azido-2-NitroBenzoylOxy)-Succinimide ; PM : 305,2 ; (L)

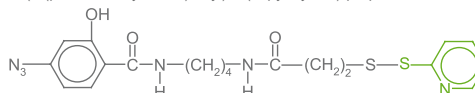
Masse ajoutée après couplage : 162

Crosslinker **photoréactif** et **amine-réactif**

Alternative recommandée : NHS-Diazirines (réactivité similaire mais plus efficace)

Produit	Réf.	Qté
ADBP	UP85267B	50 mg
	UP85267A	100 mg

N-(4-(p-Azidosalicylamido)butyl)-3-(2'-pyridylthio)-propionamide ; PM : 446.6



Cross-linker **photoréactif** et **SH** sélectif

Le pyridylthiol réagit spécifiquement avec les SH libres (Cys de protéines)

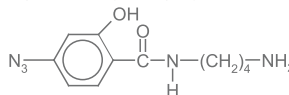
L'hydroxyphenyl azide réagit par photolyse sous UV avec majoritairement les amines

Bras espaceur rigide de 21,0 Å ; Hydrosoluble.

Applications : études in situ de sites actifs contenant de Cys

ASBA	UP66329B	50 mg
	UP66329A	100 mg

4-(p-AzidoSalicylamido)butylamine ; PM : 249.27 ; (L)



Un crosslinker **photoreactif** unique utile pour coupler des Carbonyles à des **amines**

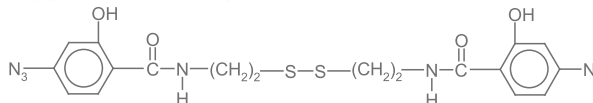
L' amine terminal réagit avec les Carbonyles en présence d'EDC (liaison formée amide)

L'hydroxyPhenylAzide réagit par photolyse, majoritairement avec les amines

Produit associé : EDC #UP52005

BASED	UP67018B	50 mg
	UP67018A	100 mg

Bis(b-(4-AzidoSalicylaminoEthyl)Disulfide ; PM : 474,52



Crosslinker homobifonctionnel **photoréactif** : réagit non-spécifiquement avec 2 biomolécules par photolyse.

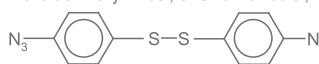
Bras espaceur étendu de 34,7 Å, clivable par les réducteurs (thiols)

Applications : Photocouplages non spécifiques

Sulfo-BASED >>> Sur demande

DTPA (spacer 2 atomes, thiol-cleavable)	UP63972A	100 mg
---	----------	--------

Dithio bis Phenyl Azide ; CAS : 37434-06-3 ; PM : 300,4 ; (L)



Crosslinker homobifonctionnel **photoréactif** à bras espaceur très court et clivable

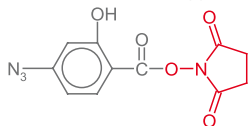
Application : comme le BASED et notamment pour les biomolécules difficiles à travailler



### Structure d'autres Crosslinkers - Photoréactifs et réactifs spécifiquement avec d'autres groupes (suite)

Produit	Réf.	Qté
NHS-ASA	UP42252A	50 mg
	UP42252B	100 mg

CAS : 96602-46-9276,21 ; (L) Bras espaceur rigide de 5,7 Å

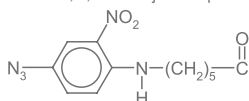


Le SulfoNHS réagit sur les amines à pH 6,5 - 9,5

L'hydroxyPhenylAzide réagit avec les amines par photolyse sous UV longs.

SANPAH	195920	50 mg
--------	--------	-------

PM : 492,4 ; Masse ajoutée après couplage : 247,09 ; (L)



Le SulfoNHS ester réagit spécifiquement avec les amines à pH 7 - 10

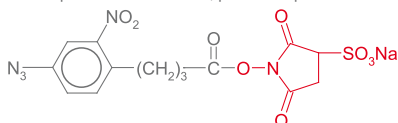
Le nitrophenyl azide réagit sur les amines par photolyse à 320 nm - 350 nm

Bras espaceur linéaire de 18,2 Å

Sulfo-SAPB	UP34514A	100 mg
------------	----------	--------

SulfoSuccinimidyl-4(p-azidophenyl)butyrate ; PM : 403,27

Bras espaceur de 4 C linéaire, plus court que le Sulfo-SANPAH ; Hydrosoluble

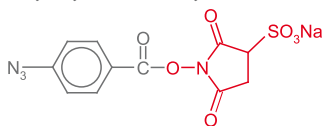


Le SulfoNHS réagit sur les amines à pH 6,5 - 9,5

Le nitrophenyl azide réagit sur les amines par photolyse

Sulfo-HSAB	UP05006B	100 mg
	UP05006A	50 mg

N-HydroxySulfo Succinimidyl-4-azido benzoate ; PM : 362,25 ; (M)

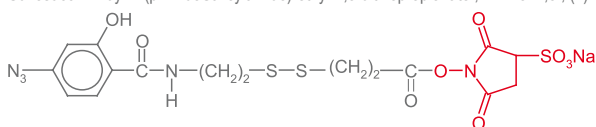


L'analogue hydrosoluble du HSAB (PLUS DISPO/036)

Alternative recommandée: SulfoNHS-Diazirine

SASD	UP40901B	100 mg
------	----------	--------

Sulfosuccinimidyl-2-(p-AzidoSalicylamido)-ethyl-1,3-dithiopropionate ; PM : 541,5 ; (L)



Crosslinker photoréactif et amine-réactif, iodatable et clivable

Le SulfoNHS réagit spécifiquement avec les amines à pH 6,5 - 9,5

L'hydroxyphenyl azide réagit par photolyse sous UV 265-275nm avec les amines

Bras espaceur de 13,9 Å, clivable par les réducteurs (thiols)

Ne traverse pas les membranes biologiques

Produit	Réf.	Qté
SulfoNHS-ASA	Analogue hydrosoluble du NHS-ASA	sur demande

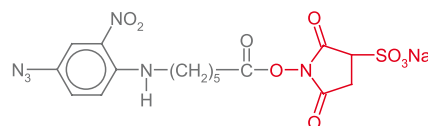
SulfoNHS-Ic-ASA	22372A	50 mg
-----------------	--------	-------

PM : 491 ; (M) - Bras espaceur rigide et long (18,0 Å)

Sulfo-SANPAH	UP09649B	50 mg
	UP09649A	100 mg

SulfoSuccinimidyl-6(4'-azido-2'-nitrophenylamino)hexanoate ; PM : 492,4 ; (J)

Bras espaceur étendu (18,2 Å) et flexible ; Hydrosoluble



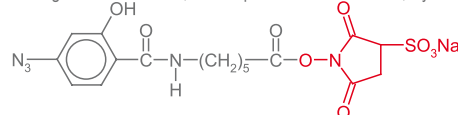
Le SulfoNHS réagit sur les amines à pH 6,5 - 9,5

Faible altération des biomolécules

Sulfo-SAH	UPG9975A	100 mg
-----------	----------	--------

SulfoSuccinimidyl-(4-azidoSalicylamido)hexanoate ; PM : 491,4

Analog to Sulfo-SANPAH ; Bras espaceur de 8 C linéaire ; Hydrosoluble



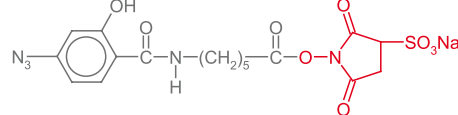
L'hydroxyphenyl azide réagit avec les amines par photolyse

Le SulfoNHS réagit sur les amines à pH 6,5 - 9,5 Iodatable

Sulfo-SAH	UPG9975A	100 mg
-----------	----------	--------

SulfoSuccinimidyl-(4-azidoSalicylamido)hexanoate ; PM : 491,4

Analog to Sulfo-SANPAH ; Bras espaceur de 8 C linéaire ; Hydrosoluble



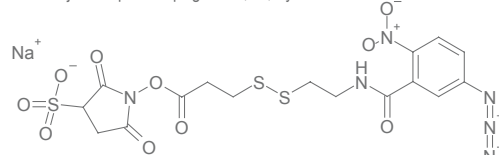
L'hydroxyphenyl azide réagit avec les amines par photolyse

Le SulfoNHS réagit sur les amines à pH 6,5 - 9,5 Iodatable

Sulfo-SAND	75035A	50 mg
------------	--------	-------

Sulfosuccinimidyl-2-(m-azido-o-nitrobenzamido)-ethyl-1,3'-propionate ; PM : 570,51 ; (L)

Masse ajoutée après couplage : 352,02 ; Hydrosoluble



Le SulfoNHS réagit spécifiquement sur les amines à pH 6,5 - 9,5

Le nitrophenyl azide réagit par photolyse sous UV 285 nm notamment avec les amines

Bras espaceur de 18,5 Å, clivable par les réducteurs (thiols)

Alternative recommandée: SulfoNHS-Diazirine



## Réactivités particulières (Crosslinkers)

Au-delà des crosslinkers conventionnels précédents, cette section donne un aperçu sur des crosslinkers ayant les réactivités suivantes :

Les **MTS** et **Vinyl Sulfones** sont des groupes chimiques réactifs avec les sulfhydryles remarquables.

Les **Hydrazides** (-NH-NH<sub>2</sub>) et **alkoxyamines** sont des groupes chimiques réactifs avec les aldéhydes (RCHO) et cétones (RCOR'), intéressants pour créer des sondes biomoléculaires, du marquage et couplage sur les Carbonyles, les glycoprotéines et les polysaccharides (carbohydrates oxydés).

Les **acide boroniques** acides permettent de modifier et coupler des sucres, amino acides, acide hydroxamique, etc.

Voir ci-après la section "Chimie aux acides Boroniques"

Les **crosslinkers photoréactifs** ne sont pas spécifiques de groupes chimiques cibles particulières.

Voir ci-après la section "Crosslinker Phtoréactifs", et plus loin encore leurs applications (transfert de marquage)

Voir le descriptif de ces crosslinkers hydrazide standards à la section "Crosslinkers hétérobifonctionnels, Carbonyle-réactifs".

MAL : Maléimide

PDT : Pyridyldithiol

HYD : hydrazide

## MTS reagents

Les réactifs MTS sont des outils puissants pour investiguer les sulfhydryles réactifs (SH) tels que ceux impliqués dans la structure et les fonctions des protéines, notamment les canaux ioniques membranaires.

Le MTS (**methanethiosulfonate**) est un réactif petit et polaire qui réagit très rapidement et spécifiquement avec les thiols (sulfhydryles), formant un pont disulfure.



Ils marquent très efficacement les résidus cystéine des protéines, et en particulier permettent la dérivation quantitative des protéines transmembranaires, dont en méthode dynamique. La modification des cystéines est montrée être sur ou proche de la surface des membranes plutôt qu'enfouie à l'intérieur des protéines ou des membranes. Les réactifs MTS marqués (par la biotine, un marqueur de spin, un fluorophore) permet de sonder de telles protéines. Les réactifs MTS électriquement chargés sont solubles dans l'eau et insolubles dans un environnement hydrophobes. Ils sont utilisés combinés à de la mutagenèse dirigée sur site (méthode SCAM) et du marquage de spin dirigé sur site (SDSL) en spectroscopie par résonance électronique de spin.

## Technical Tip

### Réactifs MTS et méthode SCAM

Les réactifs MTS (methanethiosulfonate) furent développés par le Dr Arthur Karlin et ses collègues pour sonder des structures et fonctions de protéines, en particulier les protéines membranaires telles que les canaux ioniques. La méthode dit SCAM (substituted-cysteine accessibility method) combine une approche chimique et une approche génétique. D'abord, le résidu cystéine est introduit systématiquement à des positions variées dans la protéine par mutagenèse dirigée sur site.

Les cystéines introduites sont évaluées par leur réactivité et accessibilité avec différents réactifs MTS, qui se fixent efficacement aux sulfhydryles. A détection peut aussi concerner l'effet de la cystéine modifiée sur la fonction de la protéine. En utilisant des réactifs de charge et taille différentes, la méthode SCAM peut renseigner sur la taille physique et le potentiel électrostatique de canaux aux anions, et sur le côté exposé sur la membrane et l'accessibilité (cachées ou exposée). Enfin les réactifs MTS avec marqueur de spin permettent la détection par méthode SDSL (voir la section "Marquage de Spin").





### MTS reagents (suite)

Produit	Réf.	Qté (K,M)	Formule
<b>MTSEA</b> 2-Aminoethyl MethaneThioSulfonate Hydrobromide CAS : 16599-33-0 ; PM 236,16 Soluble en Ethanol, Méthanol, Eau Demi-vie (pH 7,0 - 20°C) : env. 12 min, Demi-vie (pH 6,0 - 20°C) : env. 92 min, Demi-vie (1pH 7,0 - 4°C) : env. 116 min (Karlin 1998)	<b>996180</b> <b>996181</b>	100 mg 500 mg	Aussi disponible: MTSEA Na salt (#AM3720) - MTSEA Biotin (#R57520) 
<b>MTSES</b> Sodium (2-sulfonatoethyl) MethaneThioSulfonate CAS : 184644-83-5 ; PM 242,27 Soluble en DMF, DMSO, Ethanol chaud, Méthanol, Eau Demi-vie (pH 7,0 - 20°C) : env. 370 min (Karlin 1998)	<b>AM3720</b> <b>AM3721</b>	100 mg 250 mg	
<b>MTSET</b> [2-(trimethylammonium)ethyl]MethaneThioSulfonate bromide CAS : 91774-25-3 ; PM 278,24 Demi-vie (pH 7,0 - 20°C) : env. 11,2 min Demi-vie (pH 6,0 - 20°C) : env. 55 min (Karlin 1998)	<b>U03510</b> <b>U03511</b>	100 mg 500 mg	
<b>MTSPA</b> 3-Aminopropyl MethaneThioSulfonate Hydrobromide CAS 92953-13-4 ; PM 250,15 Soluble in DMSO, DMF, Water Demi-vie (pH 7,0 - 20°C) : env. 12 min, Demi-vie (pH 6,0 - 20°C) : env. 92 min, Demi-vie (pH 7,0 - 4°C) : env. 116 min (Karlin 1998)	<b>AM3731</b> <b>AM3732</b>	25 mg 100 mg	
<b>MMTS</b> Methyl MethaneThioSulfonate CAS : 2949-92-0 ; PM : 126,20	<b>417311</b>	100 mg	
<b>MTSEA Chloride</b> 2-aminoethyl methanethiosulfonate hydrochloride PM : 236,15	<b>BM3011</b>	U54990	

### Autres réactifs MTS disponibles sur demande :

#### ● Réactifs MTS chargés

Cys-MTS, <b>RQ0510</b>	MTSEA-Chloride, <b>U54990</b>	MTSPA, <b>AM3730</b>	MTSBS, <b>RW3110</b>	MTSPS, <b>RW3130</b>
MTS-TEAH, <b>RQ1890</b>	MTS-PtREA, <b>RW600</b>	MTSET 14C2, <b>RW6570</b>	TMA-ETS, <b>RW6590</b>	MTSMT, <b>RQ1900</b>

#### ● Réactifs MTS neutres

Allyl MTS, <b>RO8900</b>	MTSBn, <b>RR1620</b>	MTSCE, <b>CG2510</b>	MTS-Glucose, <b>RU5060</b>	MSTHE, <b>RO8240</b>
6-HH-MTS, <b>RP5700</b>	MTSAC, <b>RP3710</b>	MTS-DMPA, <b>RQ1000</b>	MTS-PEGs	MMTS, <b>417311</b>

#### ● Réactifs MTS à marqueur de Spin (MTSL)

proxyl-MTS, <b>RV9770</b>	MTSL, <b>BU2956</b>	MTSL-D15, <b>RV9790</b>	MTSL- 15N-D15, <b>RV9800</b>	MTS-4-Oxyl, <b>RV9810</b>
---------------------------	---------------------	-------------------------	------------------------------	---------------------------

#### ● Réactifs MTS Fluorescents

ABD-MTS, <b>FP-CP7020</b>	MTS-Dansyl, <b>FP-CP7030</b>	MTS-DB, <b>FP-RT4840</b>	MTS-4-Fluorescein, <b>FP59300</b>	MTS-1,5-EDANS,
<b>FP-RV1080</b>	MTS-EMCA, <b>RP-RR5040</b>	Pyrene-ACE-MTS, <b>FP-RQ1770</b>	Pyrene-1-MTS, <b>FP-RQ1780</b>	Pyrene-7-MTS, <b>FP-</b>
<b>RQ1790</b>	PDT-Bimane, <b>RQ1800</b>	MTSR, <b>FP-RW3650</b>	SR101-MTSEA, <b>FP-BF1970</b>	

#### ● Réactifs MTS Biotinylés

MTSEA-Biotin, <b>R57520</b>	MTSEA-X-Biotin, <b>AM3690</b>	PDTE-Biotin, <b>RO4700</b>	MTS-Biocytin, <b>RT4840</b>	MTS-PEO3-Biotin,
<b>BV5950</b>				

#### ● MTS Photoréactifs

ASAEPT, <b>RP1750</b>	ATFBC-MTS, <b>RQ0520</b>	BPCAC-MTS, <b>RS3780</b>	IAE, <b>RP2670</b>	MTS-1-MTS
-----------------------	--------------------------	--------------------------	--------------------	-----------

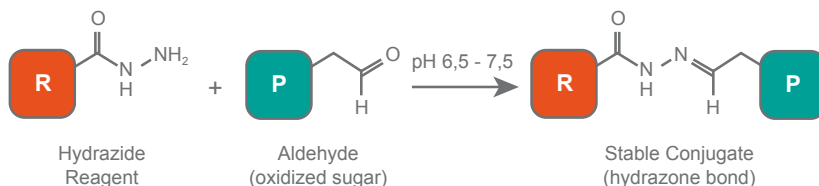
#### ● Crosslinkers MTS

MTS-1-MTS, <b>RQ6570</b>	MTS-2-MTS, <b>RQ5480</b>	MTS-3-MTS, <b>RQ5510</b>	MTS-5-MTS, <b>RQ5520</b>	MTS-6-MTS, <b>RQ5530</b>
MTS-8-PEO2-MTS, <b>U95040</b>	MTS-11-PEO3-MTS, <b>RP5710</b>	MTS-14-PEO4-MTS, <b>RP5720</b>	MTS-17-PEO5-MTS, <b>U95050</b>	MTS-3-NHS, <b>RQ1810</b>
MTS-PF, <b>BJ3200</b>	MTS-Resin, <b>BJ3210</b>			



## Crosslinkers à fonction Hydrazide (Carbonyle-réactifs)

Les Hydrazides sont réactifs avec les aldéhydes. La réaction consiste en une amination réductive via la formation d'une base de Schiff.



De nombreux réactifs hydrazide sont disponibles, dont voici une sélection dédiée aux couplages et en synthèse organique.

### • Crosslinkers classiques sur Sulfhydryle et Carbonyle :

Produits	Groupes réactifs 1 / 2	Bras espaceur (Å)	Clivable	HydroSoluble	Membrane perméant
BMPH	MAL / HYD	8,1 (court)	non	oui	oui
EMCH	"	11,8 (moyen)	non	oui	oui
MPBH	"	17,9 (long)	non	non	oui
KMUH	"	19,0 (long)	non	non	oui
PDPH	PDT / HYD	9,2 (court)	Oui/Thiols	oui	oui

Voir le descriptif de ces crosslinkers hydrazide standards à la section "Crosslinkers hétérobifonctionnels, Carbonyle-réactifs".

MAL : Maléimide  
PDT : Pyridyldithiol  
HYD : hydrazide

### • Autres réactifs Hydrazide (bras extra-long & hydrophile ; groupes protégés) :

Produit	Réf.	Qté
N-Fmoc-Amido-PEO <sub>4</sub> -t-boc-Hydrazide	FV0920	100 mg
	FV0922	1 g
NH <sub>2</sub> -PEO <sub>4</sub> -t-boc-Hydrazide	FV0890	100 mg
	FV0892	1 g
NH <sub>2</sub> -PEO <sub>8</sub> -t-boc-Hydrazide	FV0900	100 mg
	FV0892	1 g
<b>mPEG-Hydrazide</b>	<b>Réf.</b>	<b>Qté</b>
PM : 1000 Da	WU0060	1 g
	WU0061	5 g
PM : 2000 Da	WU0050	1 g
	WU0051	5 g
PM : 5000 Da	WU0040	1 g
	WU0041	5 g
PM : 10 000 Da	WU0070	1g
	WU0071	5 g
PM : 20 000 Da	WU0080	1g
	WU0081	5 g

Produit	Réf.	Qté
NH <sub>2</sub> -PEO <sub>12</sub> -t-boc-Hydrazide	FV0910	100 mg
	FV0912	1 g
NHS-PEO <sub>4</sub> -t-boc-Hydrazide	FV0930	1 g
	FV0932	1 g
PDP-Hydrazide, HCl	UP99648A	50 mg
SMCC-Hydrazide	BI1281	100 mg
<b>Hydrazide-PEG-Hydrazide</b>	<b>Réf.</b>	<b>Qté</b>
PM : 1000 Da	FV1080	1 g
	FV1081	5 g
PM : 2000 Da	LV4540	1 g
PM : 3400 Da	WU0420	1 g
PM : 5000 Da	WU0410	1 g
PM : 10 000 Da	WU0430	1 g
PM : 20 000 Da	WU0440	1 g



### Technical Tip

#### Crosslinkers Carbonyle-réactifs : le cas des aldéhydes

Les **Hydrazides** et **alkoxyamines** sont les plus importants des groupes réactifs sur les Carbonyles utilisés dans les réactifs de marquage et de conjugaison. Ils réagissent spontanément avec les aldéhydes.

Une autre classe de composés réactifs envers les aldéhydes sont les **amines (-NH<sub>2</sub>)**, cependant ces derniers, et en particulier les amines primaires naturelles des protéines (des N-terminaux des polypeptides et des chaînes latérales des lysines; R-C-NH<sub>2</sub>), sont moins nucléophiles que les alcoxamines: ils ne réagissent pas fortement ou de façon permanente avec les aldéhydes, sauf dans certaines conditions. Dans ces conditions, la réaction, appelée amination réductive, requiert des additifs pour stabiliser la liaison formée. Les aldéhydes fournissent alors une stratégie de conjugaison utile dans certaines applications (ex. immobilisation sur gel, carrier-antigène avec le glutaraldéhyde).

### Crosslinkers à fonction Hydrazide (Carbonyle-réactifs) (suite)

- **Marqueurs activés à l'hydrazide** sont aux sections correspondantes :

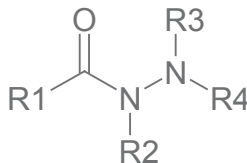
Exemples :

Biotin - Hydrazide > voir section "Biotinylation" (réf. **UP36466A**)

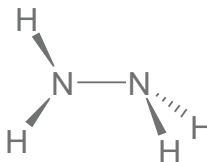
FluoProbes - Hydrazide > voir section "Marquage Fluorescent"

- **Crosslinkers comportant une hydrazine aromatique (HyNic)** : permettent des réactions plus stables avec les aldéhydes > voir section "Chimie Click-like à l'hydrazine"

Structure des hydrazides (hydrazine substituée avec un acyle (C=O))



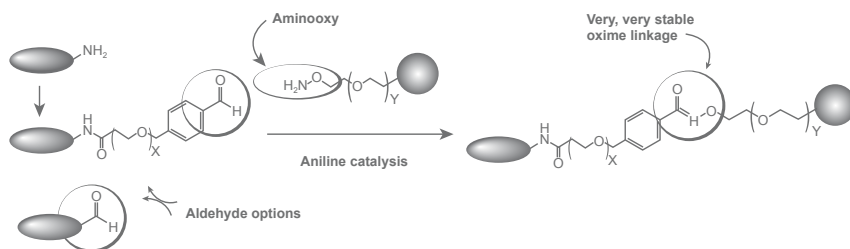
Structure de l'hydrazine





## Crosslinkers autres, carbonyles réactifs

### Réactifs à fonction AminoOxy (Carbonyle-réactifs)



Sont présentés ci-après des réactifs partenaires pour des couplages chimiques bioorthogonaux par formation de liaison oxime très stable :

- Réactifs Amino-Oxy, pour le couplage d'aldéhydes et cétones;
- Réactifs 4-formyl-benzamido ( 4-FB ), pour la dérivation avec des réactifs AminoOxy (ou HyNic : voir section "Chimie à l'Hydrazone").

- **Crosslinkers Amino - Oxy** : Les crosslinkers avec groupe Aminoxy disponibles comportent en 2<sup>ème</sup> fonctionnalité un groupe Carboxyle, amine, Carboxyle ou amine protégés, ou un groupe réactif NHS ester (amine réactif) ou azide (pour chimie click).

Produit	Réf.	Qté
<b>AminoOxy-PEO<sub>3</sub>-Azide</b> Syn : Aminoxy-TEG-Azide ; PM : 234,25 (L) Un crosslinker hétérofonctionnels unique pour introduire par chimie Click une fonction AminoOxy qui est réactive sur les Carbonyles	<b>FZ8700</b>	100 mg
<b>Fmoc-AminoOxy-PEO<sub>12</sub>-Acid</b> PM : 855,96 Incorpore un aminoxy terminal à un peptide avec un espaceur POE. On peut y coupler directement un aldéhyde !	<b>JV2290</b>	100 mg
	<b>JV2292</b>	1 g
<b>Amino-PEO<sub>11</sub>-AminoOxy-t-boc</b> PM : 660,79 Pour ajouter un espaceur PEO et une fonction un aminoxy (Carbonyle-réactif)	<b>JV2300</b>	100 mg
	<b>JV2302</b>	1 g
<b>PhthNO-PEO<sub>12</sub>-NHS ester</b> PM : 860,90. Agent de couplage pour amines utile pour introduire un groupe CHO, ou 4-FB-PEOs et introduire NHS.	<b>JV2310</b>	100 mg
<b>AminoOxy-PEO<sub>12</sub>-amido-PEO<sub>12</sub>-(mPEO<sub>11</sub>)<sub>3</sub></b> PM : 3045,60 Un crosslinker unique par sa réactivité Amino-Oxy et son bras espaceur PEO ramifié à 3 bras.	<b>JV2310</b>	100 mg

Voir aussi les marqueurs dérivés AminoOxy disponibles dans les sections correspondantes :  
Exemples :

Produit	
<b>Biotin-PEO<sub>11</sub>-oxyamine. HCl</b> PM : 823,43 Agent de biotinylation avec fonction amino-oxy (Carbonyle-réactif) et espaceur PEO (hydrophile).	Voir section "Biotinylation"
<b>CF dye - AminoOxy conjugates</b>	voir section "CF Dyes labing agents"
<b>Tags - AminoOxy conjugates</b>	voir section "Marquage par des tags"

Les réactifs contenant un groupe AminoOxy (-CO-NH) permettent de faire des chimies intéressantes :

- Condensation avec des aldéhydes ou les cétones (Carbonyles), formant des liaisons oximes (-CO-NH-) extrêmement stables (fig.1) – ce qui ouvre à des applications de ligation avec des crosslinkers portant une autre fonction ;
- Acylation de l'oxyamine terminal formant un acide hydroxamique (R-CO-HN-OH) qui porte l'autre fonctionnalité du crosslinker. L'acide hydroxamique est connu comme un mimétique utile des acides Carboxyliques. Cette méthode permet donc l'introduction d'une fonctionnalité tout en gardant une fonction acide comparable à l'acide Carboxylique original.

L'acylation du groupe oxyamine terminal du réactif FZ8700 permet d'introduire le groupe PEO-Azide, lequel permet un couplage par chimie click (avec un molécule portant un ethynyl ou hydrazine (HyNic)).

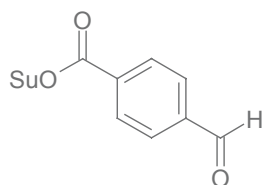
Les autres réactifs permettent l'introduction analogue d'un succinimidyl (NHS) pour coupler facilement des amines, ou d'une fonction Carboxyle ou amine pour d'autres chimies standards.

#### Références bibliographiques sur la chimie et application en chimie des Oximes, et à l'Hydrazone :

- Nucleophilic Catalysis of Oxime Ligation*, Anouk Dirksen, Tilman M. Hackeng, and Philip E. Dawson; *Angew. Chem. Int. Ed.* 2006, 45, 7581 – 7584
- Rapid Oxime and Hydrazonone Ligations with Aromatic Aldéhydes for Biomolecular Labeling*; Anouk Dirksen and Philip E. Dawson; *Bioconjugate Chem.* 2008, 19, 2543 – 2548
- Nucleophilic Catalysis of Hydrazonone Formation and Transimination: Implications for Dynamic Covalent Chemistry*, Anouk Dirksen, Sjoerd Dirksen, Tilman M. Hackeng, and Philip E. Dawson; *J. Am. Chem. So c.*, 2006, 128, 15602 - 15603
- High - efficiency labeling of sialylated glycoproteins on living cells*, Ying Zeng, T N C Ramya, Anouk Dirksen, Philip E Dawson, James C Paulson, *Nature Methods*, 2009, 6(3), 207 – 209



Structure de l'hydrazine



Voir les autres réactifs 4FB à la section "Chimie à l'Hydrazonée".

L'aniline agit comme un catalyseur efficace pour les réactions hydrazide-aldéhyde, accroissant considérablement les taux de couplage, ou requierrant moins d'hydrazide en réaction.

### Références pour la catalyse par l'aniline :

Byeon, J.Y., et al. (2010). Efficient bioconjugation of protein capture agents to biosensor surfaces using aniline-catalyzed Hydrazonée ligation. *Langmuir* 26(19):15430-5.

Dirksen, A., et al. (2006). Nucleophilic catalysis of Hydrazonée formation and transimination: implications for dynamic covalent chemistry. *J. Am. Chem. Soc.* 128(49):15602-3.

Dirksen, A., Dawson, P.E. (2008). Rapid oxime and Hydrazonée ligations with aromatic Aldéhydes for biomolecular labeling. *Bioconjug. Chem.* 19(12):2543-8.

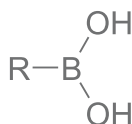
- **Réactifs partenaires pour AminoOxy : réactifs Aldéhyde** : Les réactifs suivants comportent tous une fonction 4FB, qui est un aldéhyde aromatique plus efficace que les aldéhydes aliphatiques pour les réactions de couplage. La 2<sup>ème</sup> fonctionnalité permet d'autres chimies (comme indiqué) ou azide (pour chimie click).

Produit	Réf.	Qté
<b>SFB (4FB-NHS)</b>	<b>M11770</b>	5 x 1 mg
Crosslinker comportant un Aldéhyde aromatique, et réactif sur les amines (via NHS)	<b>M11771</b>	10 mg
<b>SS-SFB (SS-S-4FB)</b>	<b>CP3992</b>	5 x 1 mg
Analogue du SFB avec bras espaceur étendu (6 atomes C) clivable par les thiols	<b>CP3991</b>	25 mg
<b>PEO<sub>4</sub>-SFB</b>	<b>CP3980</b>	1 mg
Analogue du SFB avec bras espaceur constitutivement hydrophile	<b>CP3981</b>	10 mg
<b>MTFB (Maléimide-4FB)</b>	<b>BZ0774</b>	5 x 1 mg
Crosslinker comportant un Aldéhyde aromatique, et réactif sur les sulfhydryles (via MAL)	<b>BZ0770</b>	10 mg

### ● Produits associés pour réaction avec AminoOxy/Aldéhyde

Produit	Réf.	Qté
<b>TurboLink catalyst buffer</b>	<b>HT1820</b>	1,5 ml
Aniline-based catalyst solution for Hydrazonée chemistry and AminoOxy/Aldéhyde reactions.		
<b>Aniline</b>		Sur demande

Structure des acides boroniques



En tant qu'acides de Lewis, ils sont capables de former des complexes covalents réversibles avec les sucres, les amino acides, l'acide hydroxamique, etc. Le pKa de l'acide boronique est ~9, mais par complexation en solutions aqueuses, ils forment des complexes boronates tétrahédriques avec un pKa ~7.

## Chimie aux acides Boroniques

Les acides boroniques comportent un atome de bore substitué par 2 hydroxyles (di-ol) et par une chaîne carbonée alkyle ou aryl (classe des organoboranes).

Leurs caractéristiques singulières permettent des applications en biosciences: il est possible de fixer des saccharides à des fluorophores (pour une détection par fluorescence), de modifier des saccharides en vie de leur transport sélectif à travers les membranes, ou de bloquer certains protéasomes. Les acides boroniques sont aussi utilisés en chimie organique comme briques en synthèse (building blocks (ex: couplage par réaction de Suzuki, trans-metallation de résidus organiques par des métaux de transition).

Contactez Interchim pour ce type de réactifs, par exemple des conjugués fluorescents avec le Dansyl (#FP-M1201A) ou l'Eosin (#FP-CJ0760).



## Crosslinkers à fonction Azide (pour chimies Click)

Le groupe Azide (ou azoture\*) réagit avec différents partenaires de chimies Click, les ethynyls (voir section "Chimie Click CuAAC"), les CycloOctynes (voir section "Chimie Click SPAAC/DBCO"), et les phosphines (voir section "Staudinger Ligation").

\*: Le terme exact en français est **azoture**, mais nous emploierons "Azide" dans ce catalogue par cohérence avec l'usage étendu de ce terme en bioconjugaisons.

- **Crosslinkers Azide et Amine réactifs** : Le groupe NHS réagit avec les amines très spécifiquement à pH 6,5 - 9,5.

Produit	Réf.	Qté
<b>NHS-Azide</b> PM : 198,14 ; (M) ; Espaceur long de 2,5 Å	<b>CDA95A</b>	10 mg
<b>NHS-PEO<sub>4</sub>-Azide</b> PM : 388,38 ; (M) ; Espaceur long de 18,9 Å	<b>ZC6842</b>	100 mg

- **Crosslinkers Azide et Sulphydryle-réactifs** : Le groupe maléimide réagit avec les amines très spécifiquement à pH 6,5 - 7,5.

Produit	Réf.	Qté
<b>Maléimide-PEO<sub>3</sub>-Azide</b> PM : 369,37 ; (M)	<b>DQP22A</b> <b>DQP22B</b>	5 mg 10 mg

- **Crosslinkers Azide et Carbonyle-réactifs** :

Produit	
<b>AminoOxy-PEO<sub>3</sub>-Azide</b>	voir section "Crosslinkers AminoOxy"

- **Voir aussi les réactifs Azide pour le marquage :**

### Azide - fluorophores

Exemple : FluoProbes™ 488 - Azide (347/448 nm) Réf. **FP-YE4970** ;  
Cyanine 5 - Azide Réf. **FP-CY5AZO** > voir la section "Marquage fluorescent",  
avec les FluoProbes, les CYanines...

### Azide - biotines

Exemple : Biotine - Hydrazide, Réf. **UP36466A** ; Desthiobiotines > voir la section "Biotinylation", dont avec espaceur PEOc, clivables (-SS-), la

### Azide - tags

> voir la section "Marquage par des tags"



## Crosslinkers et chimies Click (BioOrthogonales)

Plusieurs chimies bioorthogonales de couplage (dites Click) sont proposées :

### Applications des réactifs Click :

#### ... sur DNA

- Monitoring de synthèse d'ADN (prolifération cellulaire)
- Fonctionnalisation Click enzymatique de DNA

#### ... sur RNA

- Monitoring de synthèse de RNA
- Analyse dynamique de queue poly(A) (polyadénylation)
- Fonctionnalisation Click enzymatique de RNA

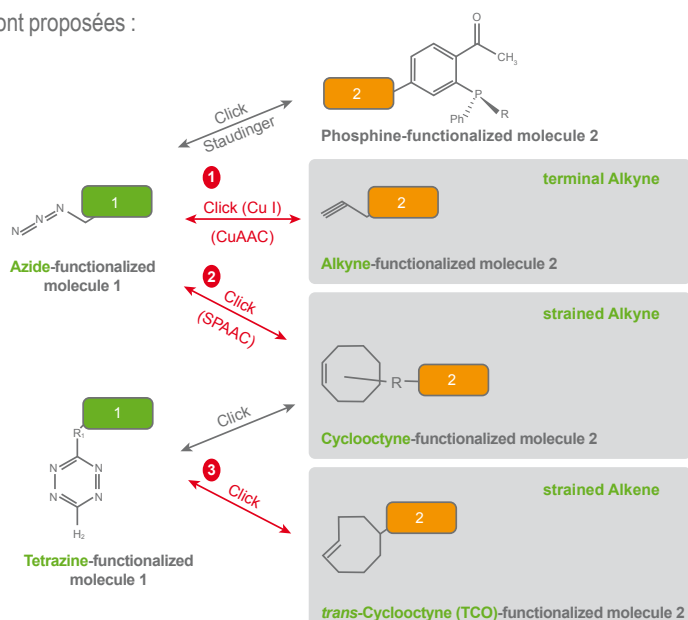
#### ... sur Protéines

- Monitoring de synthèse de protéines (sélectif de site, de résidu)
- Fonctionnalisation Click de protéines recombinantes
- Purification/Pull-down de protéines fonctionnalisées Click

#### ... en analyse des Modifications

##### Post-Translationnelles

- Phosphorylation
- AMPylation
- Glycosylation



### Réactifs pour Chimies Click

Type de Chimie	Groupes partenaires	Réactifs (ex. activé NHS)	Commentaires
Click Classique (CuAAP)	Azide Ethyne	Crosslinkers Azide (NHS-Azide) Crosslinkers Alkyne (NHS-Alkyne)	Requiert un catalyseur Cuivrique
Click SPAAP	Azide CycloOctyne contraints	Crosslinkers Azide Crosslinkers DBCO	
Click TAAP (TCO)	Tétrazine TransCycloOctynes	Crosslinkers Tétrazine Crosslinkers TCO	
Click-like Ligation de Staudinger	Azide Phosphine	Réactifs Azide Réactifs Phosphine	
Click-like Chimie à l'Hydrazine	Hydrazine Aromatique Aldéhyde Aromatique	Réactifs HyNic (SANH) Réactifs 4FB (SFB)	Cinétique accélérable par catalyseur

(TCO : Transcyclooctène) (DBCO : Dibenzocyclooctyne)

Aperçu des réactifs CLICK disponibles (décrits dans cette section ●, au catalogue ■ ou sur demande ✓)

	Azide	Alkyne	Dibenzo-cyclooctyne	Tétrazine	Trans - Cyclooctène
Crosslinkers Bifonctionnels	● / ✓	● / ✓	● / ✓	● / ✓	● / ✓
Crosslinkers Trifonctionnels	● / ✓				
Crosslinkers PEG	● / ✓		✓		
Réactifs de Biotinylation	□ / ✓	□ / ✓	□ / ✓	✓	
Fluorescent Dyes	□ / ✓	□ / ✓	□ / ✓	✓	
Quencher Dyes	✓				
Non - fluorescent Dyes	✓				
Nucléotides	✓	✓	✓		
Nucléosides	✓	✓			
Amino Acides	✓	✓			
CEPs		✓			
CPGs		✓			
Billes d'Agarose & Magnétiques	✓	✓	✓		



## Hydralink : Chimie à l'Hydrazine aromatique (réaction HyNic(hydrazine) - 4FB(aldéhyde) )

Le **système de conjugaison Hydralink** est une méthode privilégiée pour coupler et immobiliser des molécules variées, dont les protéines, peptides, carbohydrates et acides nucléiques. Il utilise une **chimie à l'hydrazine** protégée sous brevet\* , comportant une activation des molécules très stable par 2 groupes HyNic et 4FB, puis une réaction de couplage hautement sélective (spécifique et bioorthogonale) et douce, évitant le risque de couplage homologue ou mal orienté. La liaison formée (Hydrazone) est cinétiquement et métaboliquement stable, analogue à un pont cystéine.

La chimie à l'hydrazine est une alternative supérieure aux autres méthodes, qui requièrent des activations préalables pouvant compromettre l'état des molécules, de dessaler les molécules activées et devoir les utiliser rapidement, de purifier le conjugué de l'excès de réactifs, ou des méthodes d'ingénierie longues et coûteuses. Elle réalise des couplages plus reproductibles et contrôlables. Elle s'applique en solutions mais aussi à la phase solide.

### • Comparaison de méthodes de couplage (conjugaison) :

Caractéristiques	Affinité Avidine/Biotine	Chimie à 'NHS/MAL (type SMCC)	Chimie Click CuAAC	Chimie Click SPAAC	Chimie Click-like à l'hydrazine
Groupes partenaires impliqués	Avidine/Biotine	Succinimide/Maléimide	Azide/Ethynyl	Azide/DBCO	HyNic/Carbonyle
Groupes ciblés pour l'activation	Amine/Amine*	Amine/Sulfhydryles*	tout*	tout*	tout*
Stabilité des biomolécules activées	++	-	+++	+++	+++
Haute sélectivité	+++	+	++	+++	+++
Pas de réticulation	+	-	+++	+++	+++
Pas de modification covalente indésirable	+++	-	++	+++	+++
Pas de fixation non-spécifique du conjugué	+	++	+++	+++	+++
Pas besoin d'étape de réduction/réducteurs	+++	-	+++	+++	+++
Liaison covalente (stable)	(non cov)	+++	+++	+++	+++
Cinétique de réaction rapide	+++	++	++/+++ (catal.)	+++	++/+++
Convient à nombre de biomolécules & supports	+	+	+++	+++	+++
Adaptable en synthèse sur phase solide	++	+	+++	+++	+++
Ratio de couplage reproductible/ajustable	++	+	++	++	+++
Changement d'échelle facile	-	++	+++	+++	+++
pH range (optimum)	5 - 11	4 - 7,5	3 - (4,7) - 7		
Bioorthogonalité (pas d'interférence en matrices biolog.)	+	-	+	+++	+++

\*: US patent 5.206.370. 5.420.285. 5.753.520 & 5.769.778. & EU Patent 0.384.769

### Principe :

La méthode inclue une étape d'activation des amines, thiols, silanol ou autres, en fonctions aromatiques aldéhyde (4FB) ou hydrazine (HyNic) séparément pour les 2 molécules à coupler. Le niveau d'activation est contrôlable par réaction colorée quantitative avec les réactifs 4NBA (#BL9650 pour l'hydrazine, et 2HP #019022 pour les aldéhydes). Les molécules activées sont alors simplement mélangées pour former une liaison Hydrazone stable (contrairement aux Hydrazones instables issues d'acyl-hydrazines (hydrazides) et alkyle-hydrazines, dont il faut stabiliser la base de Schiff). La réaction peut être accélérée par le catalyseur aniline.

### Produits (kits et réactifs) : la technologie est idéale pour :

- Le couplage de protéines (à d'autres protéines, à des acides nucléiques) :  
 All-in-One Protein-Protein conjugation kit > Voir la section "Kits de conjugaison (crosslinking)"  
 Protein-Antibody conjugation kit > Voir la section "Kits de marquage des protéines"  
 Protein-Oligo conjugation kit (one shot,...) > Voir la section "Kits de marquage des protéines"
- Le marquage des biomolécules par des enzymes, fluorophores ou tags :  
 All-In-One Fluorescent, HRP, Biotin conjugation kits > Voir la section "Kits de marquage des protéines"  
 Peptides et ligands activés (HyNicTagging) > Voir la section "Marquage par des tags"
- L'immobilisation de peptides et acides nucléiques (sur microréseaux, microplaques) :  
 Crosslinkers HyNic et 4FB > Voir la section ci-dessous, et aussi la section "Immobilisation/Plaques et lames"
- La synthèse organique de peptides et acides nucléiques :  
 Crosslinkers HyNic et 4FB > Voir la section la section ci-dessous, et aussi la section "Synthèse organique"



### HyNic - agents modifiant/couplant avec une Hydrazine aromatique :

Produit	Réf.	Qté	Formule
<b>SANH (S-Hynic)</b> PM : 290,2 ; (M) Succinimidyl 4-Hydrazinonicotinate Acetone Hydrzonee; Utilisé pour convertir des amines primaires en groupe hydrazino-pyridine quand une protection d'hydrazine est requise. Le groupe protecteur est re-largué pendant la formation du conjugué hydrazine en présence d'un aldéhyde aromatique (4FB).	<b>BL9270</b> <b>996181</b>	10 mg 25 mg	
<b>C6-SANH</b> PM : 403,44 ; (M) C6-Succinimidyl 4-Hydrazinonicotinate Acetone Hydrzonee CAS : 184644-83-5 ; PM 242,27 Analogue du SANH avec un bras espaceur de 6 carbones	<b>BL9332</b> <b>BL9330</b>	5 x 1 g 10 mg	
<b>MHPH (MAL-HyNic)</b> PM : 204,2 ; (M) 5-Maleimido-2-hydraziniumpyridine hydrochloride Utilisé pour convertir des thiols en groupe hydrazinopyridine, UV-traçable. La molécule (protéine-SH) modifiée réagira avec un aldéhyde aromatique (4FB) pour former un conjugué stable.	<b>BL9400</b> <b>BL9401</b>	10 mg 25 mg	
<b>SHNH</b> PM : 286,68 ; (M) Succinimidyl Hydraziniumnicotinate Hydrochloride Utilisé pour convertir des amines primaires en groupe hydrazinopyridine. Par ailleurs il peut chélater le 99 mTc	<b>BL9360</b> <b>BL9361</b>	10 mg 25 mg	
<b>SHTH</b> PM : 313,7 ; (M) Succinimidyl 4-Hydrazidoterephthalate.Hydrochloride Utilisé pour convertir des amines primaires en groupe hydrazide aromatique.	<b>BL9370</b> <b>BL9371</b>	10 mg 25 mg	
<b>SATH</b> PM : 317,4 ; (M) Succinimidyl 4-hydrazidoterephthalate acetone Hydrzonee Utilisé pour incorporer un groupe 4-hydrazidoterephthalamide sur les protéines et autres composés aminés.	<b>Sur demande</b>		
<b>HyNic-Silane</b> PM : 399,56 ; (M) Utilisé pour incorporer un groupe HyNic sur matériaux SiO <sub>2</sub> (Verre)	<b>BL9420</b>	25 mg	



## 4FB - agents modifiant/couplant avec un Aldéhyde aromatique

Produit	Réf.	Qté	Formule
<b>SFB (4FB-NHS)</b> Comporte un Aldéhyde aromatique (partenaire pour chimie à l'hydrazine), et est réactif sur les amines (via NHS ; CAS : 60444-78-2 ; PM : 247,21 ; (X))	M11770 M11771 M11772	4 x 1 g 10 mg 100 mg	
<b>C6-SFB (C6-S-4FB)</b> Avec bras espaceur étendu (6 atomes C). PM : 336,35 ; (M)	BL9411 BL9412	5 x 1 g 25 mg	
<b>Sulfo-SFB</b> SulfoSuccinimidyl 4-formylbenzoate ; PM : 327,3 ; (M) Analogue hydrosoluble du SFB	BI1311	25 mg	
<b>SS-SFB (SS-S-4FB)</b> Analogue du SFB avec bras espaceur de 6 atomes C, clivable par les thiols ; PM : 410,47 ; (K)	CP3992 CP3991	5 x 1 mg 10 mg	
<b>PEO<sub>4</sub>-SFB</b> Analogue du SFB avec bras espaceur constitutivement hydrophile ; PM : 543,48 ; (K)	CP3980 CP3981	1 mg 10 mg	
<b>MTFB (Maléimide-4FB)</b> Réagit avec les sulfhydryles (via MAL) pour le convertir en Aldéhyde aromatique (partenaire pour chimie à l'hydrazine) ; PM : 503,56 ; (M)	BZ0774 BZ0770	5 x 1 mg 10 mg	
<b>A4FB-Phosphoramidite</b> Pour introduire un groupe 5'-4FB- (pour chimie à l'hydrazine) dans des oligonucléotides pendant leur synthèse en phase solide. PM : 524,63 ; (M)	FV7031	250 mg	

### Aussi disponible :

Produit	Réf.	Qté
<b>4FB-Carboxyle</b>	sur demande	
<b>4FB-Silane</b>	FV6971	
<b>4FB-DSPE</b> 4FB-Disteroyl-Phosphatidyl EthanolAmide; PM : 841,9 ; (X)	FK5671	
<b>Agarose-4FB</b>	sur demande	
<b>4FB Magnetic Beads Magnalink</b> , 2,8 µm, 10 mg/ml Voir section "Nanomatériaux/Billes magnétiques"	M-1004-010	1 ml
<b>4FB Magnetic Beads Nanolink</b> , 0,8 µm, 10 mg/ml	M-1001-010	1 ml

### • Produits associés pour réaction de chimie à l'hydrazine/Aldéhyde

L'aniline agit comme un catalyseur efficace pour les réactions hydrazide-aldéhyde, accroissant considérablement les taux de couplage, ou requérant moins d'hydrazide en réaction.

Produit	Réf.	Qté
<b>Aniline</b>	sur demande	
TurboLink catalyst buffer	HT1820	1,5 ml
Solution catalyseur pour chimie à l'Hydrazine et réaction AminoOxy/Aldéhyde.		

L'amine aromatique de l'aniline forme rapidement et efficacement une base de Schiff avec un aldéhyde, accroissant considérablement sa réactivité. Au final, l'aniline est remplacée facilement par l'hydrazide.

#### Références pour la catalyse par l'aniline:

Byeon, J.Y., et al. (2010). Efficient bioconjugation of protein capture agents to biosensor surfaces using aniline-catalyzed Hydrazonee ligation. *Langmuir* 26(19):15430-5.

Dirksen, A., et al. (2006). Nucleophilic catalysis of Hydrazonee formation and transimination: implications for dynamic covalent chemistry. *J. Am. Chem. Soc.* 128(49):15602-3.

Dirksen, A., Dawson, PE. (2008). Rapid oxime and Hydrazonee ligations with aromatic Aldéhydes for biomolecular labeling. *Bioconjug. Chem.* 19(12):2543-8.

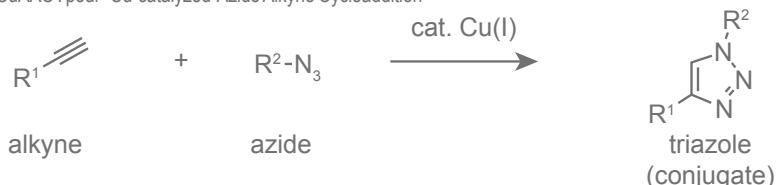


### CuAAC : Chimie Click Standard (réaction Azide / acétylène)

Une méthode de couplage chimique flexible et fiable et **bioorthogonale** pour conjuguer des molécules covalentement.

La chimie Click peut être utilisée pour synthétiser une variété de conjugués, avec virtuellement tout molécule. La réaction implique les groupes **azide** et **alkyne** (ou acétylène, ethynyl) formant une liaison Hydrazone stable

CuAAC : pour "Cu-catalyzed-Azide Alkyne Cycloaddition"



Note : les groupes azido et acétylène ne sont quasi jamais rencontrés dans les échantillons biologiques, mais la nécessité d'un catalyseur (Cu(I)) qui est cytotoxique limite son application in-cello et in-vivo. Voir les sections suivantes pour des variantes 100% biocompatibles ("bioorthogonales").

Cette chimie présente une tolérance et fiabilité sans précédent. Elle est indépendante du pH, peut être réalisée en eau et à température ambiante. Elle s'applique au couplage de biomolécules mais aussi à l'immobilisation sur phase solide. Il suffit de greffer les groupes partenaires (azide et alkyne) séparément sur les biomolécules à coupler, qui sont ensuite mises en contact.

#### Réactifs :

Interchim® propose nombreux réactifs contenant les 2 groupes partenaires de la chimie click. Les crosslinkers contenant le groupe Alkyne sont décrits ci-après, tandis que les crosslinkers comportant l'Azide sont décrits plus haut (voir section "Crosslinkers/Autres, crosslinkers avec Azide").

#### • Crosslinkers - Alkynes (réactifs sur amine, sulphydryles)

Les crosslinkers contenant un groupe Alkyne peuvent être utilisés pour

- introduire un **groupe fonctionnel** dans des molécules contenant un Azide (par réaction Click CuAAC);
- introduire un **groupe Alkyne** dans diverse molécules cibles, sur les amines par réaction NHS Ester ou sur les sulphydryle via réaction Maléimide, ou encore sur d'autres fonctions chimiques par chimie conventionnelle.

Produit	Réf.	Qté
<b>Alkyne-PEO<sub>4</sub>-Amine</b> PM : 231,29 ; (M) ; Soluble en Chloroforme, DCM, DMF, DMSO, THF ; (M)	<b>DQP610</b>	25 mg / 100 mg / 1 g
<b>Alkyne-PEO<sub>4</sub>-COOH</b> PM : 304,34 ; (M) ; Soluble en Chloroforme, DCM, DMF, DMSO, THF	<b>IOM320</b>	25 mg / 100 mg / 1 g
<b>Alkyne-PEG<sub>4</sub>-NHS ester</b>	<b>DQP630</b>	25 mg
<b>Alkyne-PEO<sub>4</sub>-NHS ester</b> PM : 401,42 ; (M) ; Soluble en Chloroforme, DCM, DMF, DMSO, THF.	<b>IOM330</b>	25 mg / 100 mg / 1 g
<b>Alkyne-PEO<sub>4</sub>-Maléimide</b> PM : 382,41 ; (M) ; Soluble en Chloroforme, DCM, DMF, DMSO, THF	<b>DQP640</b>	25 mg / 100 mg / 1 g
<b>Propargyl-NHS ester</b> PM : 252,2 ; (M) ; Soluble en Chloroforme, DCM, DMF, DMSO, THF.	<b>OJ830</b>	100 mg / 1 g
<b>Propargyl-Maléimide</b> PM : 135,12 ; (M) ; Soluble en Chloroforme, DCM, DMF, DMSO, THF	<b>MRU340</b>	100 mg / 1 g

#### • Conjugués Marqueurs – Alkynes (Fluorescents, Biotin)

Fluorescents – Alkynes > Voir section "Marquage fluorescent"

Biotine – Alkynes > Voir section "Biotinylation" dont desthiobiotin, espaceur clivable chimiquement ou par la lumière

D'autres composés dérivés avec un groupe Alkyne, et le groupe Propargyl (HC≡C-CH<sub>2</sub>-) sont disponibles. Demandez par exemple les dérivés pour la synthèse d'Acides Nucléiques avec dUTP, dCTP, EDU, 5-EU, CEPs (Cyanoethyl-N,N-diisopropyl Phosphoramidites).

● **Réactifs associés : catalyseur (Cuivre), réduction et stabilisation**

Les réactifs complémentaires pour la chimie Click CuAAC (Cu(I)) incluent :

Catalyseur	Agent de réduction	Agent de stabilisation du Cu(I)
CuSO <sub>4</sub>	Sodium	THPTA
	Ascorbate	
CuBr		TBTA

Produit	Réf.	Qté
<b>Protein Reaction Buffer Kit</b>	<b>MRU690</b>	
Contient : 2,5 ml Tampon de Réaction, Additif 1 , Additif 2 , Cuivre (II) Sulfate (20 mm), Agent Réducteur		
<b>Click Solvent</b> (DMSO / tert-Butanol, 3:1)	<b>ZC6950</b>	1 ml
	<b>ZC6951</b>	10 x 1 ml
<b>CuSO<sub>4</sub> - click chemistry grade</b>	<b>1H3690</b>	10 mg
	<b>1H3691</b>	5 x 10 mg
<b>CuBr - click chemistry grade</b>	<b>ZC6930</b>	5 mg
	<b>ZC6931</b>	10 x 5 mg
<b>Na-Ascorbate</b>	<b>10487F</b>	10 mg
	<b>10487G</b>	5 x 10 mg
<b>THPTA</b> (Tris(3-hydroxypropyltriazolylmethyl)amine)	<b>MRU020</b>	100 mg
	<b>MRU021</b>	500 mg
	<b>MRU022</b>	1 g
<b>TBTA-Ligand</b> (Tris[(1-benzyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl]amine)	<b>ZC6940</b>	5 mg
	<b>ZC6941</b>	10 mg

● **Autres Azides and Alkynes sur demande :**

Azide -Ferrocene, -DNP, -DABSYL, -Pyrene > **DQO50**

Azide -AminoOxy, -Folate, -Tocopherol... > **sur demande**



### Technical Tip

La chimie Click SPAAC est très rapide, opère à basse température et ne requiert pas de catalyseur Cu(I) (comme la chimie Click standard), ce qui permet une biocompatibilité complète en milieux biologiques (**100% bioorthogonale**). Les cyclooctynes sont thermostables et présentent une réactivité très fine et spécifique envers les azides, produisant avec haut rendement une liaison triazole très stable.

La méthode consiste à activer la molécule 1 à coupler avec un crosslinker DBCO (présentant ce groupe et également une fonction réactive sur des groupes présente sur la molécule 1, typiquement amine ou sulfhydryle), et à activer séparément l'autre biomolécule 2 avec un crosslinker Azide (présentant ce groupe et également une autre fonction réactive). Les 2 molécules activées sont mélangées pour former leur conjugué.

### SPAAC : Chimie Click basée sur les CycloOctynes (réaction Azide / DBCO)

La chimie Click sans catalyseur !

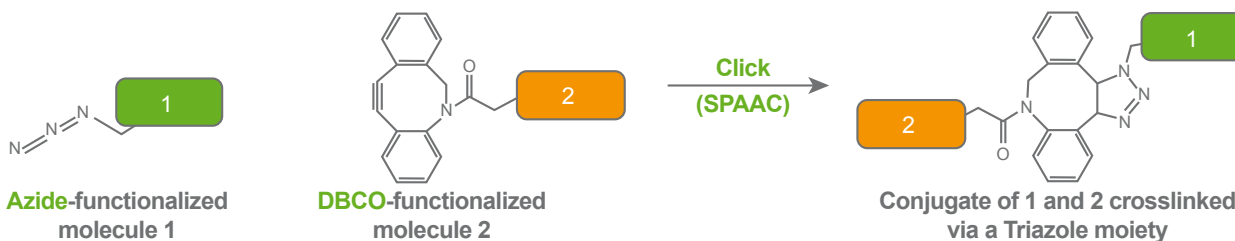
Cette chimie Click avancée est basée sur la réaction du groupe partenaire1 **cyclooctyne** (DBCO) avec le groupe partenaire2 **azide**, et est désignée par l'acronyme SPAAC (pour "Strain-Promoted Azide Alkyne Cycloaddition").

#### Caractéristiques et avantages

- **Biocompatibilité** - pas besoin de catalyseur (pas de Cu(I) qui est cytotoxique) - Idéal pour les applications *in-vivo*
- **Conditions douces** - les activations et le couplage ont lieu en tampon aqueux et à température ambiante
- **Stabilité** - les groupes DBCO et azide sont stables au long terme, et forment une liaison triazole très stable.
- **Efficace** - formation du conjugué en rendement quantitatif
- **Spécificité et Bioorthogonalité** - L'Azide réagit seulement avec le DBCO, même en présence de  $-NH_2$ ,  $-SH$ ,  $-COOH$  ou autres fonctionnalités (protéines). Pas d'interférence des biomolécules et réactions propres aux échantillons biologiques complexes et cellules/organismes vivants

DBCO (Dibenzocyclooctyne) est aussi connu sous les acronymes :

ADIBO (= Azadibenzocyclooctyne) et DIBAC (= Dibenzozacyclooctyne)



#### Les 3 étapes de la procédure (exemple pour une peptide-SF et protéine) :

- Etape 1 : Activation de la biomolécule #1 avec le crosslinker DBCO (ex.DBCO-MAL)
- Etape 2 : Activation of biomolécule #2 avec le crosslinker Azide (ex.Azide-NHS)
- Etape 3 : Mélanger les 2 molécules activées. Le conjugué se forme de suite.
- Etape 4 (optionnelle) : Bloquer/éliminer l'excès de réactif Azide et DBCO et les biomolécules activées azide et DBCO avec des agent neutralisant les groupes DBCO et azide (quencher, scavenger).

Le processus de la chimie click SPAAC est plus performante que les méthodes précédentes en ce qu'elle ne forme pas d'homo-polymères (molécule1-molécule1) et permet de mieux contrôler la formation du conjugué désiré. Le crosslinkers DBCO et azide sont disponibles avec des réactivités variées (sur les amines, thiols, et Carboxyles), et avec des bras espaceurs de longueurs variées.

#### Réactifs :

Interchim® propose de nombreux réactifs pour activer les molécules avant couplage en y introduisant les 2 groupes partenaires de la chimie Click SPAAC.

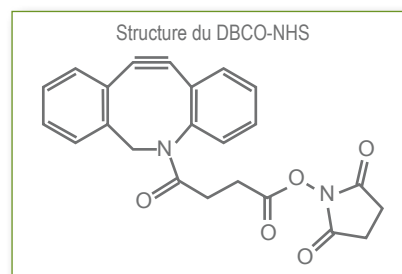
Les crosslinkers contenant le groupe Alkyne sont décrits ci-après, tandis que les crosslinkers comportant l'Azide sont décrits plus haut (voir section "Crosslinkers/Autres, crosslinkers avec Azide").



● **DBCO crosslinkers** permettent de :

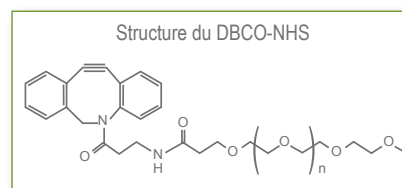
- Introduire un **groupe fonctionnel** dans des molécules contenant un Azide (par réaction Click SPAAC (Copper-free);
- Introduire un **groupe Alkyne** dans diverse molécules cibles, sur les amines par réaction NHS Ester ou sur les Sulfhydryles via réaction du Maléimide, ou encore sur d'autres fonctions chimiques par chimie conventionnelle.

Produit	Réf.	Qté
<b>DBCO-Amine</b> Dibenzylcyclooctyne-Amine ; PM : 276,34 ; (M)	<b>DQP590</b>	10 mg / 25 mg / 100 mg
<b>DBCO-Acid</b> Dibenzylcyclooctyne-Acid ; PM : 333,39 ; (M)	<b>DQP580</b>	10 mg / 25 mg / 100 mg
<b>DBCO-Ic-Acid</b> Dibenzylcyclooctyne-PEG4-Acid ; PM : 333,38 ; (M). Soluble en DCM, DMF, DMSO, THF	<b>IOJ780</b>	10 mg / 25 mg / 100 mg
<b>DBCO-NHS ester</b> Dibenzylcyclooctyne-NHS ester ; PM : 402,41 ; (M) for easy introduction of DBCO group specifically on amines, or for click reaction with azide to graft a NHS group	<b>MRV020</b>	10 mg / 25 mg / 100 mg
<b>DBCO-C6-NHS ester</b> Dibenzylcyclooctyne-NHS ester ; PM : 487,52 ; (M) for easy introduction of DBCO group specifically on amines, or for click reaction with azide to graft a NHS group	<b>DQP560</b>	10 mg / 25 mg / 100 mg
<b>DBCO-C6-NHS ester</b> Dibenzylcyclooctyne-NHS ester ; (M) for easy introduction of DBCO group specifically on amines, or for click reaction with azide to graft a NHS group	<b>IOT800</b>	10 mg / 25 mg / 100 mg
<b>Sulfo-DBCO-NHS ester</b> Sulfo-Dibenzylcyclooctyne-NHS ester analogue hydrosoluble du DBCO-NHS	<b>DPQ730</b>	10 mg / 25 mg / 100 mg
<b>Sulfo-DBCO-NHS ester, Na salt</b> PM : 532,51 ; (M)	<b>IOJ82</b>	10 mg / 100 mg
<b>DBCO-S-S-NHS ester</b> Dibenzylcyclooctyne-S-S-NHS ester ; analogue du DBCO-NHS avec un espaceur clivable par les thiols	<b>DQP570, sur demande</b>	
<b>DBCO-Maléimide</b> Dibenzylcyclooctyne-Maléimide ; PM : 427,46 ; (M) for easy introduction of DBCO group specifically on sulfhydryles, or for click reaction with azide to graft a NHS group	<b>DQP600</b>	10 mg / 25 mg / 100 mg



● **DBCO-containing hydrophilic spacers (PEO=PEG=TEG)**

Produit	Réf.	Qté
<b>DBCO-PEO<sub>4</sub>-Amine</b> Dibenzylcyclooctyne-PEG4-amine	<b>DQP510</b>	10 mg / 25 mg / 500 mg
<b>DBCO-PEO<sub>4</sub>-Acid</b> Dibenzylcyclooctyne-PEG4-Acid	<b>DQP490</b>	10 mg / 25 mg / 500 mg
<b>DBCO-PEO<sub>5</sub>-Acid</b> Dibenzylcyclooctyne-PEG5-Acid ; PM : 552,63 ; (M). Soluble en DCM, DMF, DMSO, THF	<b>MRU910</b>	10 mg / 25 mg / 500 mg
<b>DBCO-PEO<sub>4</sub>-Alcohol</b> Dibenzylcyclooctyne-PEG4-Alcohol	<b>DQP520</b>	10 mg / 25 mg / 500 mg
<b>DBCO-PEO<sub>4</sub>-NHS ester</b> Dibenzylcyclooctyne-PEG4-NHS ester ; PM : 649,7 ; (M)	<b>MRU900</b>	10 mg / 25 mg / 100 mg / 500 mg / 4 x 2 mg
<b>DBCO-PEO<sub>5</sub>-NHS ester</b> Dibenzylcyclooctyne-PEG5-NHS ester PM : 693,76 ; (M) ; Soluble en DMSO, DMF, DCM, THF, CHCl <sub>3</sub>	<b>DQP500</b>	10 mg / 25 mg / 500 mg / 4 x 2 mg
<b>DBCO-PEO<sub>4</sub>-Maléimide</b> Dibenzylcyclooctyne-PEG4-Maléimide; PM:427.66; (M)	<b>DQP600</b>	10 mg / 25 mg / 500 mg / 1 g
<b>DBCO-PEG-NHS Ester, PM 2 000 Da</b>	<b>1B9800</b>	20 mg
<b>DBCO-PEG-NHS Ester, PM 3 400 Da</b>	<b>1B9810</b>	20 mg
<b>DBCO-PEG-NHS Ester, PM 5 000 Da</b>	<b>1B9820</b>	20 mg
<b>DBCO-mPEG, 5 kDa</b>	<b>IOT810</b>	25 mg / 100 mg / 1 g
<b>DBCO-mPEG, 10 kDa</b>	<b>IOT820</b>	25 mg / 100 mg / 1 g
<b>DBCO-mPEG, 20 kDa</b>	<b>IOT830</b>	25 mg / 100 mg / 1 g
<b>DBCO-mPEG, 30 kDa</b>	<b>IOT840</b>	25 mg / 100 mg / 1 g



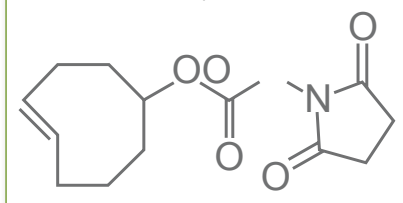
● **DBCO-containing hydrophilic spacers (PEO=PEG=TEG)**

- Conjugués Marqueurs Fluorescents – DBCO > Voir la section "Marquage fluorescent".  
 Conjugués Marqueurs Biotine – DBCO > Voir la section "Biotinylation"  
 Des nucléotides marqués DBCO sont aussi disponibles sur demande





Structure chimique du TCO-NHS



### StATC : Chimie Click basée sur la réaction Tétrazine / TransCycloOctènes (TCO)

La chimie Click sans catalyseur ultrarapide !

La chimie Click basée sur les Trans-CycloOctènes permet des couplages et marquages efficaces, avec :

- Cinétique de réaction exceptionnelle
- Sélectivité et biocompatibilité extrêmes (bioorthogonalité)
- Flexibilité des molécules à coupler

La réaction de cycloaddition de Diels-Alder par demande inverse d'électron des trans-Cyclooctènes (TCO) avec les Tétrazines forme une liaison dihydropyridazine stable. Elle opère en milieu aqueux avec une cinétique de réaction exceptionnelle ( $k > 800 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  – conjugué prêt en 30 min à 1 mg/ml) comparé aux autres chimies de couplage Click ou non, qui la rend pertinente en particulier pour former des conjugués avec des composé en très faibles concentrations.

Elle est parfaitement sélective et bioorthogonale (n'interfère pas avec les conditions biologiques). C'est une méthode puissante de bioconjugaison sans catalyseur en système biologiques riches en fonction, jusqu'à *l'in-vivo*.

**StATC : Strained-transAlkene Tétrazine Cyclo-addition**

#### ● Crosslinkers TCO

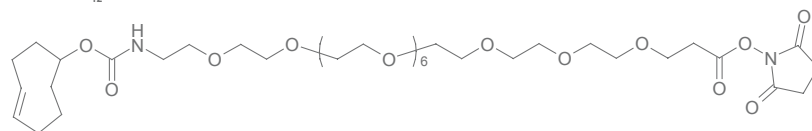
Ces crosslinkers bifonctionnels contiennent le groupe Trans-Cyclooctène et un autre groupe fonctionnel, ils permettent de :

- Introduire un **groupe fonctionnel** (ex.Amine ou NHS Ester) dans des molécules contenant un Tétrazine (par réaction Click STATC);
- Introduire un **groupe TCO** dans diverses molécules cibles, sur les amines par réaction NHS Ester ou sur les Sulfhydryles via réaction du Maléimide, ou encore sur d'autres fonctions chimiques par chimie conventionnelle.

Trans-Cyclooctene	Réf.	Qté
TCO-NHS ester	MRU26	25 mg / 100 mg / 1 g
TCO-PEG <sub>4</sub> -NHS ester	MRU99	10 mg / 100 mg
UV-Tracer™ TCO-NHS ester	MRU23	10 mg / 100 mg
TCO-PEG <sub>3</sub> -Maléimide	MRU18	10 mg / 100 mg
TCO-Amine	MRU27	25 mg / 100 mg / 1 g
TCO-PEG <sub>12</sub> -DBCO	MRU19	10 mg / 100 mg

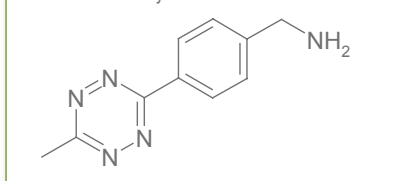
#### ● Crosslinkers Tétrazine

Produit	Réf.	Qté
Tétrazine-Amine	1N690	25 mg / 100 mg / 500 mg / 1 g
MethylTétrazine-Amine	1N691	25 mg / 100 mg / 500 mg / 1 g
TCO-Amine HCl Salt	1N692	25 mg / 100 mg / 500 mg / 1 g
Tétrazine-Acid	1N693	25 mg / 100 mg / 500 mg / 1 g
TCO-PEO <sub>12</sub> -NHS Ester	1N694	25 mg / 100 mg / 500 mg / 1 g

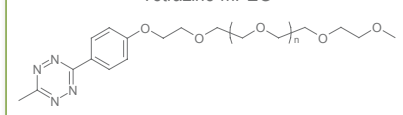


Tétrazine-mPEG, 5 kDa	1N695	25 mg / 100 mg / 500 mg / 1 g
Tétrazine-mPEG, 10 kDa	1N696	25 mg / 100 mg / 500 mg / 1 g
Tétrazine-mPEG, 20 kDa	1N697	25 mg / 100 mg / 500 mg / 1 g
Tétrazine-mPEG, 30 kDa	1N698	25 mg / 100 mg / 500 mg / 1 g

MethylTétrazine-Amine



Tétrazine-mPEG





### ● Marqueurs Tétrazine

Ces marqueurs conjugués au groupe Tétrazine permettent le marquage par la biotine ou des fluorophores par chimie click Cu(I)-free (TSAAP) sur des composés dérivés avec un cyclooctène (e.g. TCO)

- **Biotine contenant un groupe Tétrazine** : Le réactif Biotine-Tétrazine est un choix idéal quand une cinétique rapide de marquage est critique. La 6-Méthyl-Tétrazine est indiquée pour une stabilité améliorée[1]. Les 2 réactifs de biotinylation contiennent un espaceur PEO<sub>4</sub> (hydrophile, flexible) pour une solubilité accrue and une fixation améliorée de la streptavidine.

- **Agents Fluorescent contenant un groupe Tétrazine** : TCO – PEG<sub>4</sub>-NHS, fluorochromes. Ils permettent le marquage des molécules contenant un TCO (ex. protéine activées par NHS-TCO), par réaction Click StATC via leur groupe Tétrazine (pour un cinétique rapide) ou par le groupe 6-Méthyl-Tétrazine (stabilité accrue du lien formé).

#### Références :

[1] Karver et al. (2011) *Synthesis and Evaluation of a Series of 1,2,4,5-Tétrazines for Bioorthogonal Conjugations*. Am. Chem. Soc. 22:2263.

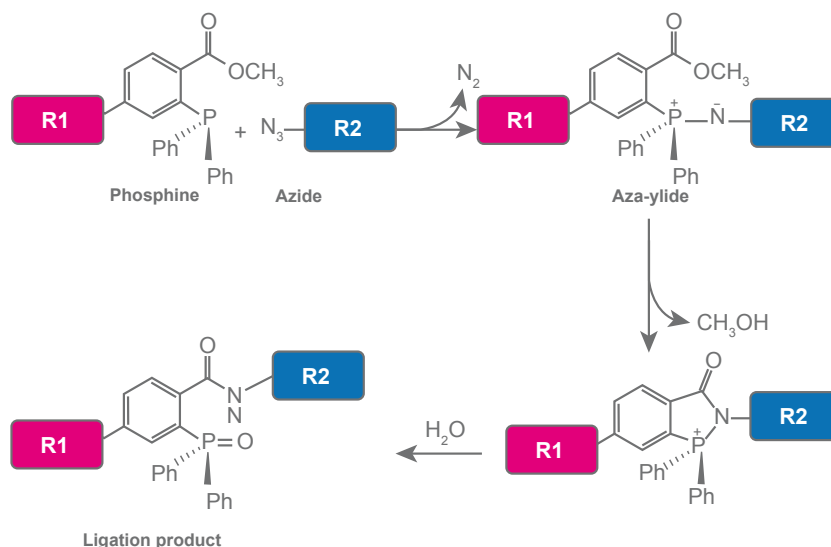
Couleur d'émission	Marqueur	Conjugué 6-Méthyl-Tétrazine	Conjugué Tétrazine
<b>Standard Dyes</b>			
vert	5-Fluoresceine (5-FAM)	<b>6-Méthyl-Tétrazine-5-FAM</b> WXS910-CLK-018-1 1 mg	<b>Tétrazine-5-FAM</b> MRV090-CLK-013-05 0,5 mg
	BDP-FL	<b>6-Méthyl-Tétrazine-BDP-FL</b> 1M0070-CLK-037-1 1 mg	<b>Tétrazine-BDP-FL</b> 1M0060-CLK-036-05 0,5 mg
jaune	5-TAMRA	<b>6-Méthyl-Tétrazine-5-TAMRA</b> WXS920-CLK-019-1 1 mg	<b>Tétrazine-5-TAMRA</b> WXS730-CLK-017-05 0,5 mg
	Cy3 / Sulfo-Cy3	<b>6-Méthyl-Tétrazine-Sulfo-Cy3</b> MRU940-CLK-1018-1 1 mg / 5 mg	<b>Tétrazine-Cy3</b> WXS720-CLK-014-05 0,5 mg
rouge	Cy5 / Sulfo-Cy5	<b>6-Méthyl-Tétrazine-Sulfo-Cy5</b> MRU950-CLK-1019-1 1 mg / 5 mg	<b>Tétrazine-Cy5</b> WXT333-CLK-015-05 0,5 mg
<b>Alternative Dyes</b>			
vert	ATTO 488	<b>6-Méthyl-Tétrazine-ATTO-488</b> WXT800-CLK-021-02 0,2 mg	<b>Tétrazine-ATTO-488</b> MRV100-CLK-010-02 0,2 mg
jaune- vert	ATTO 532	<b>6-Méthyl-Tétrazine-ATTO-532</b> WXS981-CLK-022-02 0,2 mg	<b>Tétrazine-ATTO-532</b> MRV110-CLK-011-02 0,2 mg
rouge	ATTO 647N	<b>6-Méthyl-Tétrazine-ATTO-647N</b> WST790-CLK-020-02 0,2 mg	<b>Tétrazine-ATTO-647N</b> MRV120-CLK-012-02 0,2 mg
<b>Biotin label</b>			
	Biotin	<b>6-Méthyl-Tétrazine-PEG<sub>4</sub>-Biotin</b> WXU300-CLK-028 25 mg WXU290-CLK-027 25 mg	<b>Tétrazine-PEG<sub>4</sub>-Biotin</b> WXU290-CLK-027 25 mg WXU370-CLK-026 100 mg



La réaction de Staudinger se réalise à température ambiante et en conditions physiologiques (pH, sans catalyseur), sans interférer avec d'autres groupes fonctionnels habituellement présents dans les échantillons biologiques.

### Crosslinkers pour chimie Click, Ligation de Stau Staudinger Ligation chemistry

La ligation de Staudinger, une modification de la réaction de Staudinger, fait réagir un azide sur une triaryl phosphine substituée qui le réduit pour former une liaison amide après hydrolyse d'un intermédiaire iminophosphorane (ou aza-ylide).



#### Avantages :

- 100% de réaction de couplage (phosphine-azide, en conditions modèles)
- Plus simple que la chimie Click classique CuAAC (sans catalyseur ; 2 (et non 5) réactifs ! ; pas de toxicité ni oxydation des protéines)
- Pas de réaction connue avec les tampons et détergents. Virtuellement 100% biocompatible.

#### Références :

Danielle H. Dube & Carolyn R. Bertozzi ; *Glycans in cancer and inflammation — potential for therapeutics and diagnostics* ; *Nature Reviews Drug Discovery* 4, 477-488 (June 2005)

Le processus de couplage nécessite donc une étape préalable d'activation des 2 molécules :  
 Amine-molécule1 + Phosphine-NHS => TriarylPhosphine-molécule2  
 Amine-molécule2 + Azide-NHS => TriarylPhosphine-molécule2  
 Azido-mlc1 + TriarylPhosphine-mlc2 => mlc1 – ligator – mlc2

Interchim® propose 2 crosslinkers phosphine réactifs sur amine pour préparer une variété de conjugués avec des protéines ou autres molécules ou supports aminés (aminoallyl-nucléotides, amino-silane, polymères), et une biotine-phosphine pour biotinylation par chimie de Staudinger. Ces réactifs facilitent les stratégies de crosslinking notamment pour l'étude des interactions entre protéines et mécanismes cellulaires.

Voir la section "Crosslinkers Azide" pour les réactifs d'activation azide.

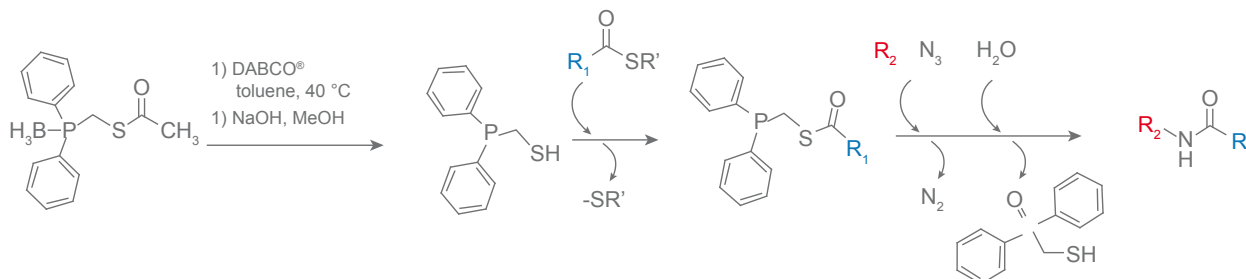


### > Crosslinkers Phosphine pour réaction de Staudinger

Le crosslinker NHS-Phosphine réagit spécifiquement sur les amines à pH 7-9 par son groupe NHS, tandis que le groupe phosphine (PPh<sub>2</sub>) réagit avec un azide par réaction de Staudinger bioorthogonale. La version avec groupe PFP est plus fortement réactif et un peu moins sélectif. Ils permettent :

- D'introduire un groupe phosphine sur des composés aminés qui pourront être couplés par chimie de Staudinger avec des molécules dérivées avec un azide.
- Alternativement, en faisant réagir en premier le phosphine sur un composé aminé, d'introduire un groupe NHS.

Produit	Réf.	Qté	Formule
<b>NHS-Phosphine</b> PM : 451,40 ; Doit être solubilisé d'abord en solvant organique. Vendu sous licence pour usage R&D seulement (US Patent 6,974,884) US 6,570,040, US 7,122,703, and US 7,838,665	FJ6760	10 mg	
<b>PFP-Phosphine</b> 2-(Diphenylphosphino)terephthalic acid 1-methyl 4-pentafluorophenyl diester ; PM : 530,38 ; (M) Permet d'introduire un groupe triaryl-phosphine sur des protéines par réaction du groupe PFP	1N6860 1N6861	25 mg 100 mg	
<b>N-Succinimidyl 3-(diphenylphosphino)propionate</b> C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> NO <sub>4</sub> ; Mp : 105-108 °C ; CAS : 170278-50-9 ; PM : 355,32 ; (I) Analogue diaryl du NHS-Phosphine FJ6760 avec un bras de 2 carbones. Pour la conversion d'azides en groupe diazo correspondant sous conditions douces Vendu sous licence pour usage R&D seulement (U.S. Patent Appl. 61/115474)	1N6850	5 g	
<b>Acetylthiomethyl-diphenylphosphine borane complex</b> ≥ 98,0% - ; C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> BOPS ; mp : 52-55 °C ; CAS : 446822-71-5 PM : 288,15 Ce réactif développé par Raines & al permet une ligation de Staudinger par réarrangement après déprotection douce du groupe borane stabilisateur de la phosphine Vendu sous licence pour usage R&D seulement (US Patent 6,974,884) Reference: Myers, E. L Raines, R. T. Angew. Chem. Int., Ed. 2009, 48, 2359.	1N6840 1N6841	250 mg 1 g	



### > Autres réactifs pour réactions de Staudinger !

- Voir section "Crosslinkers Azide", pour l'activation partenaire de l'activation phosphine
- \*Voir les marqueurs activés phosphine et azide, comme la biotine (Biotin-PEO3-Phosphine #CDA940 et Biotin-Azide #CDA95A en section "Biotinylation"), les fluorophores FluoProbes, CYanine,... en section "Marquage Fluorescent":

Contactez nos spécialistes pour vos projets à [interbiotech@interchim.com](mailto:interbiotech@interchim.com). De nombreux autres crosslinkers pour chimie click sont disponibles sur demande (à façon).



### Voir aussi :

- "Crosslinkers et Marqueurs Deutérés" (ex: BS3-d4 pour marquage avant spectrométrie de masse) sont en section marquage.
- "Crosslinkers Photoréactifs".
- Crosslinkers pour l'immobilisation de biomolécules et fonctionnalisation de surfaces: voir la section "Support activés et immobilisation" (Plaques et Lames, Gels et Résines, Nanomatériaux dont micro- et nano-billes, batonnets, poudres-).
- Réactifs de modification et traitement de surface: voir section "Modification de surfaces (Silanisation, Silylation, SAM)".

### Technical Tip

#### Des crosslinkers au Transfert de marquage et essais de Pull-down

De nombreux crosslinkers contiennent un groupe aromatique, par ex aryl azide, qui peut être marqué par l'iode radioactif ( $^{125}\text{I}$ ), typiquement selon la méthode à la chloramine T. De tels crosslinkers radiomarqués permettent ainsi de marquer des conjugués de biomolécules qu'ils ont couplés. Les conjugués formés [sonde: 1]-(espaceur radiomarqué)-[2: tag] pourront fixer le(s) ligand(s) de la sonde [la proie (prey)] dans des échantillons complexes: par ex fixation d'un facteur dans un sérum, ou d'un récepteur membranaire dans un extrait ou sur des cellules. Le radiomarquage de l'espaceur (ou le tag qui peut servir de marqueur) permet alors le suivi précis (et quantitatif!) après certains processus d'extraction ou fractionnement.

Et plus encore :

Le (radio)marquage peut être transféré du conjugué au ligand qui se sera fixé à la sonde. Mais le crosslinker peut aussi contenir un tag, qui sera capturé puis libéré par clivage de l'espaceur. Dans ces expériences de capture/purification/transfert de marquage (pull-down assay), on peut ainsi purifier par affinité des ligands inconnus [la proie (prey)] présents dans des échantillons complexes. Il faut préparer un conjugué avec une sonde affine [molécule 1 (bait)] couplée à un tag d'affinité [type polyHis, pour chromatographie IMAC] via un espaceur marqué et clivable : [sonde:1]-(espaceur marqué et clivable)-[2:tag d'affinité].

## Crosslinkers Spéciaux / Applications

Cette section aborde divers crosslinkers dédiés à des techniques ou applications particulières. Ces spécialités incluent :

- Les Crosslinkers pour le Transfert de Marqueur (Label Transfer), notamment pour la technique de Précipitation d'affinité/Purification (IP/pull-down).
- Des crosslinkers qui réalisent le crosslinking de gels électrophorèse (gélification).
- Des spécialités et crosslinker polymériques pour le développement de médicaments, vaccins ou biomatériaux.

Voir aussi, dans les sections "Marquage" :

- Marquage métabolique, qui utilise la capacité de synthèse et modifications des cellules vivantes avec des maillons marqués ou taggés pouvant réaliser un couplage in-situ (in-vivo): aminoacides (technique SILAC) ou carbohydrates radioactifs ou fonctionnalisés pour chimies click bioorthogonales
- FeBABE, ciseaux moléculaires pour SH-Cys, Réf. **UP994760**, qui comprennent un groupe fonctionnel particulier (clivant) : un outil unique pour étudier les structures tridimensionnelles !
- Couplage de ou marquage par des groupes fonctionnels chélatants (fixant des ions métalliques, de macromolécules (pour de la détection ou de la fonctionnalisation), ou de supports (pour la purification).

## Crosslinkers pour le Transfert de Marqueur (Label Transfer)

Les expériences de transfert de marquage et de pull-down assays (voir le technical tip) sont remarquables par leur capacité à identifier des protéines qui interagissent faiblement ou de façon transitoire avec une protéine d'intérêt connue.

- **Photoréactifs pour pull-down assays** : Les réactifs suivants, photoréactifs clivables et radiomarquables, peuvent être utilisés dans de telles expériences.

Produit	Réf.	Qté
<b>BASED</b>	<b>UP67018A</b>	
<b>DTPA</b>	<b>UP63972A</b>	100 mg
<b>SASD</b>	<b>UP40901B</b>	100 mg
<b>Sulfo-SAND</b>	<b>75035A</b>	50 mg

Voir leur description en section "Crosslinkers Photoréactifs".

- **Sulfo SBED** : ce réactif permet le processus complet de pull-down/co-I.Précipitation. Il permet de coupler une protéine1 qui servira de sonde, à une molécule2 qui servira de ligand d'affinité. Le conjugué capture par sa sonde un ligand proie inconnu dans un échantillon complexe, qui peut être purifié par affinité, puis clivé pour récupérer la proie alors marquée à la biotine. Aussi disponible en kit (**BF6701-33073**).

Produit	Réf.	Qté
<b>Sulfo-SBED</b>	<b>96745A</b>	10 mg
	<b>96745B</b>	8 x 1 mg

Sulfosuccinimidyl-2-[6-(biotinamido)-2-(p-azidobenzamido) hexanoamido]ethyl-1,3'-dithiopropionate ; PM : Bras espaceur long de : Biotin : 19,1 Å, Sulfo-NHS ester : 13,7 Å, Aryl azide : 9,1 Å

Alternativement au radiomarquage et techniques de transfert, voir section "Marquage métabolique", utilisant en culture cellulaire des aminoacides (technique SILAC) ou carbohydrates marqués par des tags radioactifs ou des groupes fonctionnels pour chimies click bioorthogonales.



## Crosslinkers pour électrophorèse : gélification

Le bis-Acrylamide est un des crosslinker le plus largement utilisé pour réticuler (crosslinker les chaînes d'acrylamide) des gels d'électrophorèse. Deux crosslinkers alternatifs sont disponibles pour rendre les gels plus flexibles et résistants, diminuer le bruit de fond dans certaines colorations de gels/protéines.

Produit	Réf.	Qté	Formule
<b>Bis-Acrylamide Solution 2%</b> N,N'-Methylene-Bis-Acrylamide Le crosslinker classique pour polymériser les gels d'électrophorèse en polyacrylamide. > Voir le descriptif et produits associés (catalyseur TEMED, tançons de migration,...) en section "Electrophorèse".	UP864965	500 ml	
<b>Piperazine Diacrylamide (PDA)</b> CAS : 6342-17-2 ; EC [261-277-3] ; CAS : [58477-85-3] ; PM : 157,17 194,23 ; () Polymérise les gels d'électrophorèse (PAGE, IEF, et séquençage de protéines) donnant une meilleure résolution séparative et moins de bruit de fond en coloration par l'argent. Accroît aussi la force en tension pour les faibles % T. S'utilise en remplacement direct du Bis-Acrylamide (même ratio).	1A5041	10 g	
<b>N-N' diallyltartardiamide (DATD)</b> CAS : 58477-85-3 ; PM : 228,25 ; () Un crosslinker utile pour préparer les gels d'électrophorèse en polyacrylamide. Référence : Kelkar RS, Mahen AA, Saoji AM, Kelkar SS. N-N' diallyltartardiamide (DATD) as a cross-linking agent for polyacrylamide gel disc electrophoresis of human serum proteins. J Postgrad Med [serial online] 1986 [cited 2013 Feb 14];32:27-31.	118221	50 g	

Produits associés > [voir la section "Electrophorèse"](#)



### Technical Tip

#### Développement de médicaments

Les protéines recombinantes, peptides synthétiques, Peptides Mimétiques d'ac. Nucléique (PNA), Vaccins... ont un haut potentiel comme actifs biopharmaceutiques grâce à leur spécificité et efficacité biologique, en dépit de leurs faibles propriétés pharmacocinétique due à leur faible taille, leur hydrophobicité éventuelle ou leur immunogénicité. Une approche majeure pour contourner ces inconvénients consiste à leur attacher des chaînes Poly(Ethylene Glycol) ("PEGs"), polymères linéaires ou ramifiés (Dendrons) qui améliorent considérablement leur biodisponibilité et biodistribution. D'autres fonctionnalisations intéressantes incluent des polymères d'acides aminés (acide Glutamique (PGA), Arginine, Ornithine ou sarcosine, Proline et Alanine). Ces technologies ouvrent la voie à une médecine personnalisée et aux thérapies combinées.

### Spécialités pour le développement de médicaments

Ci-après sont présentés quelques exemples de structures de crosslinkers polymériques utiles notamment pour le développement de médicaments, vaccins, et biomatériaux.

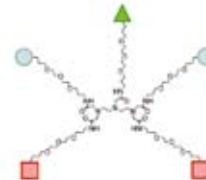
- Polymères ramifiés : **Dendrimers/Dendrons**,
- Polymères linéaires **Poly-Arginines, Poly-Ornithines, Poly-Sarcosines**
- Voir aussi la section "**PEGylation**" : Crosslinkers Mono- et Bi- fonctionnels PEGs, avec -Amines, -Carboxyles, -Thiols, -Maléimides, -Hydrazines, -Alkynes/Azides, -Epoxy,...
- Demander pour des structures à façon : Ex. : PEG-Guanidines, -Biotin, -Aspargyl, PEGs à espaceur hydrophobe, ou branchés; Base Polymères, Co-Polymères

PEGs (PEGylation)



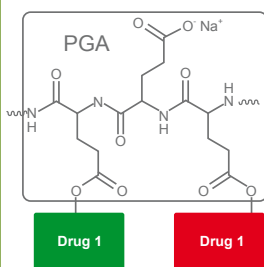
Réactifs de PEGylation (espaceur hydrophilique)

Dendrimers



Pentatrimères PEG multifonctionnels

#### PGA, PArg, POrn, PSar, PAS



Les polymères d'Acide Poly-Glutamique, d'Arginine, Ornithine ou Sarcosine, et ceux riches en séquences Proline/Alanine (PAS) sont une source de polymères modernes utiles pour créer des polymères biosimilaires multifonctionnels : pour transporter et délivrer des médicaments, l'ingénierie tissulaire, les senseurs, la catalyse, la nano-médecine, modifier le volume hydrodynamique en conditions physiologique ou non,...

#### Dendrons

Dendrimers basés sur le PEG multivalents avec 2 ou 3 fonctions réactives différentes, par ex. une fonction Click bioorthogonale, un Carboxyle (amine-réactif, avec l'EDC) et une amine protégée (nucléophile facile à activer/coupler), voire plus de valences.

Les Dendrimers sont des molécules dont la ramification est symétrique. Ces macromolécules monodisperses permettent de modifier les substances pour en améliorer ou ajuster les propriétés telles que la taille, la solubilité, la hydrophilicité/phobicité... Exemple: petites molécules telles que des biopharmaceutiques, pour contrer leur élimination par filtration rénale,

améliorer leur propriétés pharmacocinétiques ou leur immunogénicité; surfaces de matériaux non ou peu biocompatibles.

#### PEG-Pentrimers

Disponibles en combinant diverses fonctionnalités telles que: PEG-Pentatrimère-G1  $\text{NH}_2+4\text{xBocNH}$ ,  $\text{e-NH}+4\text{xBoc-NH}$ ,  $\text{TFA-NH}+4\text{xBoc-NH}$ ,  $\text{N}_3+4\text{xBoc-NH}$ ,  $\text{N}_3+4\text{xNH}_2$ ,  $\text{NH}_2+4\text{xN}_3$ ,  $\text{Boc-NH}+4\text{xN}_3$

Exemple : (DDN2030) PEG-Pentatrimère-G1- $(\text{N}_3+4\text{xBoc-NH})$

Dendron pentamère PEG d'ordre 1, avec 1 fonction azide et 4 fonctions amine protégées (t-butyloxyCarbonylamino); PM: 1831 g/mole





## ● Poly-Glutamic acids

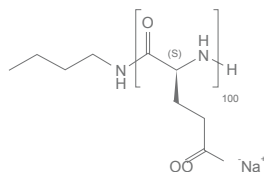
Les dérivés d'Acide Poly-Glutamique sont une source de polymères modernes utiles pour transporter et délivrer des médicaments, l'ingénierie tissulaire, les senseurs, la catalyse, la nano-médecine. Permettent de créer des polymères biosimilaires multifonctionnels.

Les polymères d'acide Glutamique (Poly(glutamic acid)) sont biocompatibles et biodégradables. Ils peuvent être conjugués par les Carboxyles des chaînes latérales de l'acide Glu. La qualité du polymère peut être critique, par exemple dû à la présence délétère de structures cycliques carbamates or isocyanates.

Disponibles avec divers groupes fonctionnels : Amine, NHS, MAL, Azide, Iodo, SH, Ethynyl,...

### nBu-PGA(n)

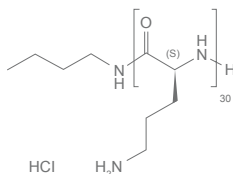
Disponibles avec n = 10 à 800 (PM : 1 500 à 120 000 Da)  
 Polydispersité D 1,1-1,2  
 Exemple: (n = 100 - PGA 1015) n-Butyl-poly(L-glutamic acid) sodium salt (PM 15 000 Da); CAS : 26247-79-0, PM : 15 100 Da



## ● Poly-Ornithines

### nBu-POR(n)\*HCl

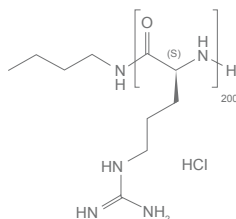
Disponibles avec n = 10 à 200 (PM : 1 500 à 30 100 Da)  
 Exemple : (n = 30 - POR1010) n-Butyl-poly-L-Ornithine hydrochloride (PM 4 500 Da) ; CAS : 26982-21-8 ; PM : 4 500 Da



## ● Poly-Arginines

### nBu-PArg(n)HCl

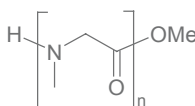
Disponibles avec n = 10 à 200 (PM : 1 900 à 35 500 Da)  
 Exemple : (n = 200 - PAR1050) : n-Butyl-poly-L-Arginine hydrochloride (PM 38 500 Da); CAS : 26982-20-7; PM : 38 500 Da



## ● Poly-Sarcosines

### H-PSar(n)-OMe

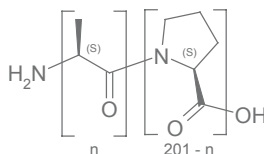
n = 14 (PSR1120) : Polysarcosine omega-methyl ester ;  
 PM : 1 100 Da



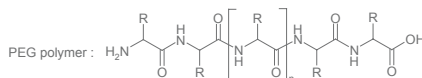
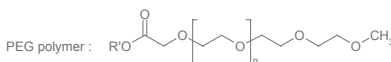
## ● PAS biopolymer

### PAS(n)

n = 201 (PAS1000) : Proline-alanine rich sequence (monodisperse polypeptide sequence of 201 amino acid units) ; PM : 16 126 Da  
 PAS-ylation® : the biological alternative to PEGylation



Composed of L-amino acids, they can be genetically encoded and fused with a therapeutic protein or peptide. The bulky random coil structure of PAS significantly increases the size of the resulting fusion protein, similar to chemical attachment of PEG. By this means the typically rapid clearance of the biologically active component via kidney filtration can be retarded by a factor 10 to 100 depending on the length of the PAS tag.





### Crosslinkers Deutérés

Les crosslinkers marquables par des éléments "lourds" ou "légers", tel que le deuterium, intègrent le couplage et le marquage mis à profit avec les techniques d'analyse par spectrométrie de masse pour caractériser la structure fine et le poids moléculaire des partenaires conjugués par toujours parfaitement connus. Les applications couvrent aussi notamment l'étude des interactions intra- et inter-moléculaires.

Produit	Réf.	Qté
<b>BS<sup>3</sup>-d<sub>0</sub></b> (Bis[Sulfosuccinimidyl] suberate-d0) ; PM : 572,43 ; Espaceur long de 11,4 Å	<b>CC7090</b>	10 mg
<b>BS<sup>3</sup>-d<sub>4</sub></b> (Bis[Sulfosuccinimidyl] 2,2,7,7-suberate-d4) ; PM : 576,45 ; Espaceur long de 11,4 Å	<b>CC7100</b>	10 mg
<b>BS<sup>2</sup>G-d<sub>0</sub></b> (Bis[Sulfosuccinimidyl] glutarate-d0) ; PM : 530,35 ; Spacer : 7,7 Å	<b>RJ1750</b>	10 mg
<b>BS<sup>2</sup>G-d<sub>4</sub></b> (Bis[Sulfosuccinimidyl] 2,2,4,4-glutarate-d4) ; PM : 534,38 ; Espaceur long de 7,7 Å	<b>RJ1760</b>	10 mg

Voir aussi la section d'agents pour faire des radiomarquages (iodination).

Demandez à [Interbiotech@interchim.com](mailto:Interbiotech@interchim.com) pour des protéines enrichies en isotopes (anhydases, ligands d'apoptose, calcium proteins, chimera proteins, copper proteins, heme proteins, matrix metalloproteinases, phosphatases, ubiquitins, synucleins).

Voir aussi la section MS&MALDI



## Pégylation: réactifs PEO/PEG/TEG

### Avantages de la technologie PEG/PEO

#### Les bras espaceurs PEG/PEO sont :

- Hydro-solubles en eau (et en solvants organiques: méthylène chloride, DMAC)  
corrolaires : solubilisation aisée, plus forts ratio de couplage possibles
- Confère l'hydrosolubilité au conjugué final, d'où
  - bio-stabilité accrue, minimisation de l'aggrégation ou précipitation des conjugués, ou des complexes conjugués/ligand
  - réduction des fixations non spécifiques sur les surfaces,
- Bras flexible, améliorant la biodisponibilité des constituants du conjugué
- Longueur de bras espaceur ajustable, linéaire ou ramifié
- Espaceur non immunogène
- Disponibles avec plus de 20 groupes fonctionnels !

### Caractéristiques de produits clés

La gamme **Uptima** propose nombreux de ces réactifs PEG, de ses productions maison et de plusieurs partenaires sélectionnés pour pouvoir proposer le plus grand choix possible :

- Bras espaceur de 160 à 100 000Da
- Linéaires ou branchés
- homo-, bi- ou multi-fonctionnels, avec
- plus de 20 groupes fonctionnels (réactifs, groupes chimiques moins réactifs ou protégés) (et aussi conjugués à des tags, marqueurs, lipides, bioligands,...)
- Qualité
- Produits catalogue en stock
- Productions à façon

Les réactifs de pegylation sont très diversifiés en structure et longueur de chaîne PEG, et aussi selon les fonctions chimiques greffées. Il n'est pas possible de les présenter dans ce catalogue, ni de façon exhaustive vu les nouveaux réactifs qui apparaissent continuellement dans ce domaine très actif de la biochimie et des biotechnologies.

Chercher ces composés sur le site [www.interchim.com](http://www.interchim.com) avec les **mots clés** des caractéristiques de chaîne PEG/PEO et des fonctions greffées listés ci-dessous (noms normalisés, et défaut, alternatifs) des fonctions. La plupart des combinaisons de groupes fonctionnels sont possibles, et souvent disponibles. N'hésitez pas à demander à Interchim®.

#### Nom et code des groupes fonctionnels principaux (Le code peut être suivi (accolé) du nombre de fonctions identique. Ex. "MAL4" signifie "(maléimide)4")

(fonction/réactivité)		(fonction/tags, marqueurs, lipides)
Succinimidyl Ester, NHS, SE, <sup>NS</sup>	Amine (-NH <sub>2</sub> ), NH <sub>2</sub> , <sup>AM</sup>	Silane (-SiO <sub>2</sub> ), SiO <sub>2</sub> , <sup>SL</sup>
Succinimidyl Carbonate, SCC, <sup>SC</sup>	Carboxyle (-COOH), COOH, <sup>CA</sup>	Biotine, Biotin, <sup>BN</sup>
Succinimidyl propionic acid, SCP, <sup>SM</sup>	Aldéhyde (-CHO), CHO, <sup>AL</sup>	Fluoresceine, Fluorescein, FITC, FC
	Hydroxyle (-OH), <sup>OH</sup>	Rhodamine, RB
Maléimide, MAL	Thiol, Sulfhydryle (-SH), <sup>TH</sup>	Cyanine, Cy3, Cy5, Cy7,
Ortho-pyridine disulfide, OPSS, OPS, <sup>OS</sup>		NPC=Nitrophenyl, NPC, <sup>NPC</sup>
IodoAcetyl, BromoAcetyl, HaloAcetal, <sup>IA</sup>	Fmoc-NH, <sup>FM</sup> (amine protégée fmoc)	
Vinylsulfone, VS	Boc-NH, tBoc, <sup>BC</sup> (amine protégée t-boc)	Lipoic acid, <sup>MA</sup>
		DSPE, <sup>DS</sup>
Azide (-N <sub>3</sub> ), AZI, <sup>AZ</sup>		DPPE, <sup>DP</sup>
Alkyne (-N=N <sub>3</sub> ), ALK, <sup>AK</sup>		DMPE, <sup>DM</sup>
Hydrazide, HYD, <sup>AZ</sup>		DLPE, <sup>DL</sup>
Acrylate, ACR, <sup>AR</sup>		Cholesterol, CLS, <sup>CS</sup>
Epoxide, EPO, <sup>EP</sup>		Folic Acid, <sup>FA</sup>
Isocyanate, ISC, <sup>IS</sup>		
Osyl, TOS, <sup>TS</sup>		
	mPEG, methoxy, methyl ether, methyl, R-O-CH <sub>3</sub>	
	ePEG : ethoxy	
	bPEG : butoxy	
		PolyLysine, PLY, <sup>PLY</sup>
		Dextran, <sup>DX</sup>

### Technical Tip

#### Terminologie : PEG ou PEO ?

La technologie dite de pegylation correspond à l'utilisation de chaînes ou bras espaceur désignés par les acronymes PEO ou PEG, en général, parfois dPEG ou TEG.

Les chaînes PEO (PolyEthylOxy) sont synthétiques, donc parfaitement définies. De longueurs i2 à 12 et au jusqu'à 48 motifs PEO (~kDa), ils sont présentés plus particulièrement ci-dessus dans les sections crosslinkers classiques, par réactivités (hetero, homo, multi-fonctionnels). Ils permettent de réaliser des couplage contrôlés de biomolécules ou fonctionnaliser des supports solides.

Les chaînes PEG (PolyEthyleneGlycol) sont plus longs, purifiés donc comportent une dispersivité de longueurs. Plus longs mais quand même économiques, ils s'adressent plus à la modification de surfaces ou particules.

Voir aussi les chaînes PEG ramifiées (dendrimers) à la section "Spécialités pour le développement de médicaments".

Recherche des produits PEG en ligne.



Tailles classiques des PEOs :

**x = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12, 24, 48**

Tailles classiques des PEGs :

MW 160 Da

MW 350 Da

MW 550 Da

MW 750 Da

MW 1000 Da (ou 1 kDa, 1 KD, 1 K, 1000)

MW 2000 Da (ou 2 kDa, 2 KD, 2 K, 2000)

MW 3400 Da (ou 3.4 kDa, 3.4 KD, 3400)

MW 5000 Da (ou 5 kDa, 5 KD, 5 K, 1000)

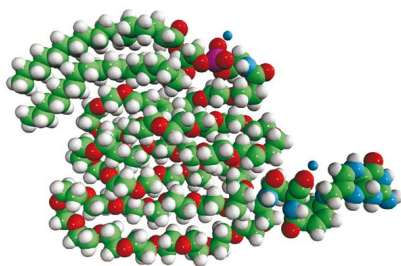
MW 10 kDa (ou 10000)

MW 12 kDa (ou 12000)

MW 20 kDa

MW 30 kDa

MW 40 kDa



## Recherche des produits PEG en ligne

### Caractéristiques recherchées

#### ● Chaîne PEG

Le **type** de PEG: PEG ou PEO

La **taille** s'exprime en Dalton pour les PEG (sans espace de milliers), ou nombre de motifs pour les PEO

### Mots clés

PEG **xxx** :

**xxx = 160 à 300 000**

**xxx = 1 kDa à 10 kDa**

**PEOx**: PEO1 à PEO48

#### ● Fonctionnalités chimiques

Les groupes chimiques fonctionnels (avec réactivité plus ou moins spécifique, groupes protecteurs, marqueurs) sont parfois désignés sous différents noms. Pensez à chercher pas ex. "Amin" (pour "Amino" et "Amine") et "NH2". La liste (non exhaustive !) des groupes est donnée ci-dessous.

**XXX=**

**NHS**

**Succinimid**

**MAL**

**Maleimid**

**N3**

**Azid**

**NH2**

**Amine**

**COOH**

**Carboxy**

**autres** page suivante

### Catégories de réactifs PEG/PEO

#### ● PolyEthylene Glycols (PEG) bruts :

leurs chaînes sont terminées par un groupe méthyl, d'où la désignation 3mPEG3. Associé la taille de l'espaceur

### Mots clés

**mPEG**

polyethylene glycol

#### ● Réactifs de pegylation fonctionnalisés:

Associer les caractéristiques de l'espaceur (type et taille PEG/PEO), des fonctions, et autres éventuelles (Multi)

les MonoFonctionnels :

les HomoBiFonctionnels :

les HétéroBiFonctionnels

les MultiFonctionnels, avec n bras identiques (4A ou 8A), multi-fonctionnels (>2 fonctions: X, Y, Z,...)

(PEG **xxx** ou PEO**x** )

**PEG xxx**

**PEG xxxx xxx**

**xxx PEG xxxx yyy**

**xxx PEG xxxx yyy zzz**

#### ● Gammes

Uptima, FluoProbes, Biotium...

Les **structures PolyEthyleneGlycol (PEG)** (ou **PolyEthylOxy : PEO**) sont des chaînes linéaires (ou éventuellement ramifiées) dont l'hydrophilicité constitutive et la flexibilité remplace souvent avantageusement les structures alkyle ou aryl utilisées comme bras espaceur dans les crosslinkers classiques.

Les PEG/PEO sont connectés à des groupes fonctionnels (ou molécules) par des liaisons amide (Amido-PEGs), carboxy (Carboxy-PEGs), et plus récemment ester, carbamate (-O-CO-N- ; de plus utilisée, pour les lipides par ex.), voire thioether (-CH<sub>2</sub>-S-CH<sub>2</sub>-) et thioester (-CO-). Les tailles de PEG utilisées le plus couramment vont de 2 000 à 5 000, mais peuvent aller de moins de 400 à plus de 40 000 (Da, ou g/mol).

Les PEG/PEO connaissent un développement considérable dans les applications biotechnologiques, des techniques de détection au développement des médicaments. L'hydrophilicité et flexibilité constitutive des espaceurs PEG/PEO confèrent leurs propriétés aux conjugués ou supports modifiés ou fonctionnalisés par chimies conventionnelles de couplage biologique (MAL/NHS) comme par chimies dites Click et Click-like et en chimie organique. Les espaceurs PEG/PEO sont par ailleurs disponibles avec des longueurs ajustables, des petites tailles obtenues par synthèse organique (structure chimique parfaitement définie qu'on désigne ici plus particulièrement par l'acronyme **PEO**, ou **PEG "discrets"** – et décrits à ce catalogue ci dessus à la section des crosslinkers), jusqu'à de très très grandes longueurs.

Cette section décrit plus particulièrement les moyens à très long espaceurs, qu'on désigne plus particulièrement par l'acronyme **PEG**. Ils sont obtenus par purification et présentent une structure chimique non rigoureusement identique bien que de très faible dispersivité (en général <1-2%). Leur longueur, réglée par purification (de façon virtuellement continue= non discrete), s'exprime en kilo Dalton (kDa) plus qu'en nombre de motifs PEO.

Pour de grands composés PEG à obtenir avec des fonctions peu communes, envisagez les versions mPEG mono- ou bi-fonctionnels avec une fonction Amine ou Carboxyle, moins onéreuses, et fonctionnalisez les vous-même avec des réactifs PEO (plus courts, disponibles avec plus de fonctions).

## Lipides Pégylés

### PEG - Lipides

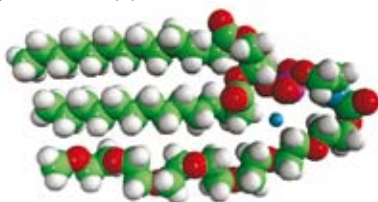
De nombreux lipides pégylés sont proposés, notamment des mPEG - phospholipides avec des poids moléculaires de 350 à 5 000 Da, ainsi que des PEG-céramides, des lipides pégylés et fonctionnalisés pour chimie conventionnelle et chimie click pour modification et crosslinking (DSPE) , des dérivés fluorescents.

Le tableau ci-après donne une sélection de produits et d'exemples de structures développées.

L'utilisation de dérivés PEG-Lipides sert à prolonger le temps de circulation in-vivo des liposomes et à évaluer la stabilisation stérique de polymères amphiphiles. Les systèmes de transport, ciblage et libération de médicaments restent la quête du Graal de la recherche en liposomes. Une avancée importante repose sur le couplage d'anticorps à des lipides pégylés et fonctionnalisés, jusqu'à inclure des bras espaceur clivables.

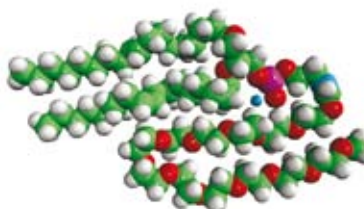
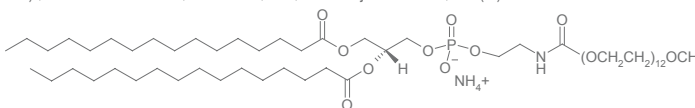
#### 14:0 PEG350 PE > Réf. **880410**

1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine-N-[methoxy(polyethylene glycol)-350] (ammonium salt); CAS:474922-82-2; PM:1019,287; Masse ajoutée:1018,668 (M)



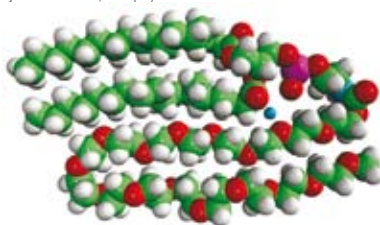
#### 16:0 PEG550 PE > Réf. **880500**

1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine-N-[methoxy(polyethylene glycol)-550] (ammonium salt); CAS : 474922-90-2; PM : 1347,731; Masse ajoutée :1346,893 (M)



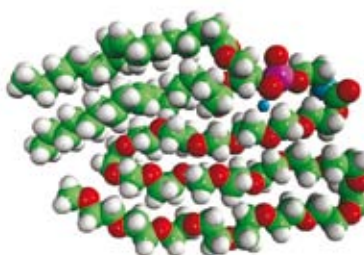
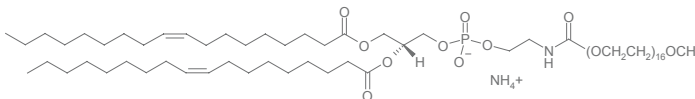
#### 18:0 PEG750 PE > Réf. **880620**

1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine-N-[methoxy(polyethylene glycol)-750] (ammonium salt); CAS : 474922-77-5; PM : 1573,973; Masse ajoutée : 1567,029 (M)



#### 18:1 PEG1000 PE > Réf. **880630**

1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine-N-[methoxy(polyethylene glycol)-1000] (ammonium salt); CAS : 474922-90-2; PM : 1788,757; Masse ajoutée : 1758,155 (M)

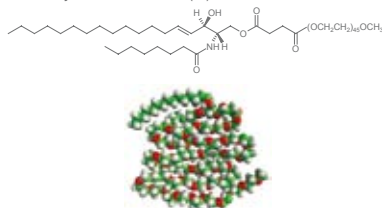


Pour commander, ajouter "P" à la référence pour le produit en poudre, ou "C" pour le produit en solution chloroforme - Quantités de 25 mg à 1 g.



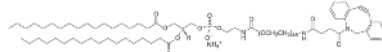
### C8 PEG2000 Ceramide > Réf. 880170

N-octanoyl-sphingosine-1-(succinyl[methoxy(polyethylene glycol)2000]); CAS : 212116-76-2 ; PM : 2522,15 ; Masse ajoutée : 2520,598 (M)



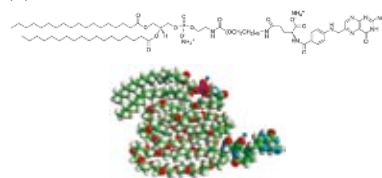
### DSPE-PEG(2000)-DBCO > Réf. 880229

1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine-N-[dibenzocyclooctyl(polyethylene glycol)-2000] (ammonium salt) PM : 3077,80 ; Masse ajoutée : 3075,89 ; (M)



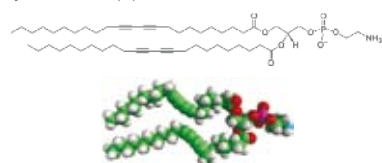
### DSPE-PEG(2000) Folate > Réf. 880124

1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine-N-[folate(polyethylene glycol)-2000] (ammonium salt) 1236288-25-7 ; PM : 3230,899 ; Masse exacte 3228,945 ; (M)



### 23:2 Diyne PE [DC(8,9)PE] > Réf. 790145

1,2-bis(10,12-tricosadiynoyl)-sn-glycero-3-phosphoethanolamine ; CAS : 144750-73-2 ; PM : 872,20 ; Masse ajoutée : 871,61 (M)



## Tableau des conjugués mPEG - Phospholipid

mPEG - PhosphoEthanolamine	14:0 PE	16:0 PE	18:0 PE	18:1 PE
PEG350 PE	880410	880400	880420	880430
PEG550 PE	880510	880500	880520	880530
PEG750 PE	880610	880600	880620	880630
PEG1000 PE	880710	880700	880720	880730
PEG2000 PE	880150	880160	880120	880130
PEG3000 PE	880310	880300	880320	880330
PEG5000 PE	880210	880200	880220	880230

mPEG Céramides	C8	C16
PEG750 Ceramide	880670	880680
PEG2000 Ceramide	880170	880180
PEG5000 Ceramide	880270	880280

Lipides PEGylés & Fonctionnalisés	(DSPE)
DSPE-PEG(2000)-DBCO	880229
DSPE-PEG(2000) Azide	880228
DSPE-PEG(2000) Succinyl	880121
DSPE-PEG(2000) Carboxyleic Acid	880125
DSPE-PEG(2000) Maléimide	880126
DSPE-PEG(2000) PDP	880127
DSPE-PEG(2000) Amine	880128
DSPE-PEG(2000) Biotin	880129
DSPE-PEG(2000) Cyanure	880122
DSPE-PEG(2000) Folate	880124
DSPE-PEG(5000) Folate	880123

Pour commander, ajouter "P" à la référence pour le produit en poudre, ou "C" pour le produit en solution chloroforme - Quantités de 25 mg à 1 g.

Lipides PEGylés Fluorescents	(DSPE)
18:0 PEG2000 PE CF	810120

Lipides Crosslinkés	(DSPE)
23:2 Diyne PC [DC(8,9)PC]	870016
23:2 Diyne PE [DC(8,9)PE]	790145
16:0-23:2 Diyne PC	790146
16:0-23:2 Diyne PE	790147

## Produit liés

### Anticorps anti-PEG

Des anticorps dirigés contre le motif Polyéthylène Glycol répété (PEG/PEOx) sont utiles pour détecter, contrôler, suivre ou capturer des conjugués faits avec des motifs PEG(poly-disperses) ou PEO(synthétiques). Les conjugués peuvent même être quantifiés avec une paire d'anticorps. L'anticorps biotinylé facilite la détection avec l'emploi de streptavidine marquée (voir chapitre "Immunodétection/Amplification/Streptavidines").

Cible de l'anticorps	Hôte	Clone	Application	Réf.	Qté	Gamme
PEG	IgG1 humain recombinant	E11	EL, WB, FC	Ab00116-10.0	100 µg	Absolute Antibody
PEG	IgG1 souris	B139M	EL	G01236M	100 µg	Meridian
PEG	IgG1 souris	B141M	EL	G01237M	100 µg	Meridian
PEG (biotinylated antibody)	IgG1 souris	B141M	EL	G01245B	50 µg	Meridian
PEG Antibody Pair (unconjugated + biotin conjugate)	Souris	Mab	EL	AP0002	2 x 100 µg	Abnova