

## TCEP 溶液(0.5M,pH6.8)

### 产品简介

TCEP 即 TCEP-HCl, 全称 Tris(2-carboxyethyl) phosphine hydrochloride, 中文名为三(2-羧乙基)膦盐酸盐, 分子式为  $C_9H_{15}O_6P HCl$ , 分子量为 286.65, CAS 号 51805-45-9。

TCEP 溶液(0.5M,pH6.8)为 TCEP-HCl 的水溶液配制而成, 用 NaOH 调节 pH 值至 6.8, 常作为 DTT 的替代物用于蛋白上样缓冲液和其它还原试剂的配制。在 SDS-PAGE 电泳中, 一般终浓度在 25mM 左右的 TCEP 即可足够还原蛋白样品。TCEP 有如下优点:

无味——与 DTT 和  $\beta$ -巯基乙醇不同, TCEP 无异味, 助于创造健康的实验环境;

高效——5 到 50mM 在数分钟内可还原大多数多肽或蛋白的二硫键(与 DTT 等效);

特异——选择性的完全还原甚至最稳定水溶液中的烷基化二硫键;

快速——在室温和 pH5.0 的条件下, 五分钟内即可还原蛋白的二硫键;

稳定——耐空气氧化, 无挥发性, 与蛋白的其它功能基团不反应;

通用——可在广泛 pH 范围、盐、去垢剂、温度条件下还原多肽和蛋白;

兼容——不含巯基, 在多数应用中不必去除还原试剂。

TCEP 对还原二硫键选择性极强, 除半胱氨酸外, 几乎不会与其它氨基酸有反应, 并且能在更宽的 pH 值范围包括酸性条件下使用, 从而有效减少酰胺键的水解。TCEP 的反应活性温和、易溶、毒性小, 且更容易操作, 在酸性、碱性溶液中的稳定性都很好。

TCEP 是一种高效、无异味、不含硫醇基的水溶性还原剂, 可选择性还原多肽或蛋白质中的二硫键。TCEP 具有更佳稳定性、更广的兼容性、更强的还原性、更好的选择性, 而且由于不含巯基, 因此在多数应用中不必去除, 从而广泛应用于生物化学和分子生物学中, 特别是在蛋白质化学、蛋白质组学中, 是公认的 DTT 的良好替代物。

TCEP 使用范围广泛, 无论是普通的 SDS-PAGE 中蛋白的还原, 还是一些特殊的实验如固相金属离子亲和层析(IMAC)、质谱、Ni 柱纯化等其它需要还原二硫键的实验, 也特别适用于组氨酸标记蛋白纯化、马来酰亚胺偶联半胱氨酸残基反应, 它能够预防半胱氨酸残基形成二硫键, 但不像 DTT 或  $\beta$ -巯基乙醇本身易与马来酰亚胺反应。

该试剂仅用于科研领域, 不适用于临床诊断或其他用途。

### 产品组成

名称	编号	ADS308C0	ADS308C1	Storage
	TCEP 溶液(0.5M,pH6.8)		1ml	10ml
使用说明书		1 份		

## 操作步骤(仅供参考)

请根据实际实验需要配制相关溶液，并完成相关操作。

## 注意事项

- 1、本产品用于蛋白变性时，建议 95°C 水浴或 PCR 仪加热 5 分钟，温度过高(如 100°C)或时间过长(如超过 15 分钟)，有可能会造成蛋白降解或上样缓冲液中指示剂的颜色异常。
- 2、本产品在磷酸盐缓冲液中，尤其在中性或碱性磷酸盐缓冲液中很不稳定。因此若实验过程需将本产品配制在 PBS 缓冲液中使用，必须现配现用。
- 3、大多数蛋白无需变性剂即可高效还原，但加入盐酸胍等变性剂有助于将内部二硫键暴露而易于和 TCEP 发生反应。
- 4、不建议使用尿素作为变性剂，避免形成氰酸酯并与巯基反应。
- 5、尽量防止金属接触 TCEP 溶液，否则会一定程度降低 TCEP 活性。在还原过程中向样品缓冲液中加入 5 至 20mMEDTA 有助于防止巯基被二价金属离子氧化，如 Zn<sup>2+</sup>、Cu<sup>2+</sup> 和 Mg<sup>2+</sup> 等。
- 6、还原后样品应尽快使用，长时间放置后会重新生成二硫化物。
- 7、本产品在溶液中带电荷，因此不适用于等电聚焦(IEF)实验。
- 8、TCEP 对人体有害，操作时请小心，并注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。
- 9、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**有效期：**12 个月。低温运输，-20°C 保存。

**附：**TCEP 与 DTT 主要特点的比较：

特点	TCEP	DTT
气味	无	轻微的臭味
水溶性(g/L)	310	50
还原性	2~3 周	3~7 天
稳定性	无挥发性，耐空气氧化，基本不受金属离子影响，与蛋白的其它功能基团不反应	挥发性弱，尽量减少暴露在空气中的时间，在 Ni <sup>2+</sup> 存在下，快速氧化
pH 工作范围	1.5~8.5	6.5~9.0
工作浓度(mM)	5-50(大多数体系)	1-100
Ni <sup>2+</sup> 柱纯化 His 标签的蛋白	适用	不适用
马来酰亚胺标记蛋白反应	标记前不需要去除	标记前需要去除