

## TCEP 溶液(0.5M,pH6.8)

### 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  $C_9H_{15}O_6P \cdot HCl$ , 分子量为 286.65, CAS 号 51805-45-9。本产品为 0.5M TCEP 溶液, 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。

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 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 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。

TCEP 的特点有: 无气味—与 DTT 和  $\beta$ -巯基乙醇不同, TCEP 是无异味的, 有助于创造更加健康的实验室环境; 高效—5 到 50mM 的 TCEP 在数分钟内即可完全还原大多数多肽或蛋白的二硫键(与 DTT 等效); 特异性—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 的条件下, 不到五分钟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; 通用性—可在广泛 pH 范围、盐、去垢剂、温度条件下还原多肽和蛋白; 兼容性—不含巯基, 因此在多数应用中不必去除还原试剂。

**组成:**

TCEP 溶液(0.5M,pH6.8)      1ml/10ml      -20℃

**操作步骤(仅供参考):**

1. 在不含 DTT 或  $\beta$ -ME 的 2X SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(100mM Tris, 20% 甘油, 4% SDS, 0.005% 溴酚蓝, pH6.8)中加入本产品, 至 TCEP 终浓度为 50mM, 吹打或振荡混匀。
2. 将等体积的上述 2X SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液与蛋白提取液加入到新的离心管中并混匀, 沸水浴中煮 5min。
3. 样品冷却后, 在离心机中瞬离, 然后取上层溶液进行 Western blot 实验。

**注意事项:**

- 1、本产品用于蛋白变性时, 建议 95℃ 水浴或 PCR 仪加热 5 分钟, 温度过高(如 100℃)或时间过长(如超过 15 分钟), 有可能会 导致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 20mM EDTA 有助于防止巯基被二价金属离子氧化, 如  $Zn^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$  和  $Mg^{2+}$  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、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。

10、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 个月有效。



源叶生物