

0.5M TCEP 溶液(pH6.8, Adjusted with NaOH)

产品编号	产品名称	包装规格
NBS0461-10ml	0.5M TCEP 溶液(pH6.8, Adjusted with NaOH)	10ml

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 $C_9H_{15}O_6P \cdot HCl$, 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。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 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 β -巯基乙醇本身易与马来酰亚胺反应。

保存条件:

-20°C或 4°C保存, 至少 1 年有效。

本产品仅用于生命科学研究, 不得用于医学诊断及其它用途!

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 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. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

产品使用:

1. 在不含 DTT 或 β -ME 的 2×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, 吹打或斡旋混匀。
2. 将等体积的上述 2×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。