



# Immobilized TCEP Disulfide Reducing Agarose Beads

货号: QS01194

## 一、产品概述

本产品是将三(2-羧乙基)膦盐酸盐 (TCEP · HCl) 通过稳定的酰胺键共价固定于 4% 交联珠状琼脂糖载体上制备而成的固相还原剂, 专门用于蛋白质、多肽及其他含二硫键分子的二硫键还原反应。

与传统可溶性还原剂 (DTT、 $\beta$ -巯基乙醇) 相比, 本产品无需后续凝胶过滤、透析等繁琐步骤即可实现还原样品与还原剂的完全分离, 且无异味、稳定性高、不干扰后续巯基反应 (如马来酰亚胺交联、碘乙酸标记等), 是蛋白质组学、抗体工程、多肽合成等领域的理想工具。

## 二、产品特性

- **高载量:** 有效功能性 TCEP 浓度 > 8 $\mu$ mol/mL 沉降凝胶
- **宽适用范围:** pH 4.0-9.0, 温度 0-95 $^{\circ}$ C
- **兼容性好:** 兼容大多数缓冲液及变性剂 (盐酸胍、SDS 等)
- **无残留:** 完全无游离还原剂污染, 不干扰后续实验
- **操作简便:** 支持批量法、离心柱法、重力流柱法多种操作形式
- **稳定性优异:** 4 $^{\circ}$ C密封保存可稳定 12 个月

## 三、技术参数

参数	规格
基质	4% 交联珠状琼脂糖
粒径	45-165 $\mu$ m
有效 TCEP 载量	$\geq$ 8 $\mu$ mol/mL 沉降凝胶
偶联方式	羧基 - 氨基共价酰胺键
游离 TCEP 残留	< 0.01mM
还原效率	$\geq$ 95% (1mM 胱氨酸, 25 $^{\circ}$ C孵育 15 分钟)
储存条件	4 $^{\circ}$ C避光密封保存, 严禁冷冻
有效期	12 个月
适用范围	蛋白质、多肽及其他含二硫键分子的还原

## 四、储存与处理

### 4.1 储存

- 收到产品后立即置于 4 $^{\circ}$ C冰箱避光保存, **严禁冷冻**



- 产品为 50% (v/v) 超纯水悬浮液, 含 10mM EDTA 作为稳定剂
- 避免频繁开盖, 防止微生物污染和氧化
- 严禁使用金属器具接触凝胶, 应使用塑料或玻璃器具

#### 4.2 使用前准备

- 使用前将凝胶充分颠倒混匀, 使悬浮液均匀
- 根据实验规模取适量凝胶, 剩余凝胶立即密封放回 4°C 保存
- 如需更换缓冲液, 可通过离心或抽滤方式洗涤凝胶

### 五、操作步骤

#### 5.1 批量法 (适用于 20-750 $\mu$ L 样品)

1. 向微量离心管中加入 **1-2 倍样品体积**的混匀凝胶悬浮液
2. 1000 $\times$ g 离心 1 分钟, 弃去上清液
3. (可选) 用样品缓冲液洗涤凝胶 2-3 次: 加入缓冲液, 短暂涡旋重悬, 1000 $\times$ g 离心 1 分钟, 弃上清
4. 加入蛋白质 / 多肽样品, 涡旋混匀, 室温孵育相应时间 (见表 1)
5. 1000 $\times$ g 离心 1 分钟, 收集上清液即为还原后的样品
6. (可选) 用少量缓冲液洗涤凝胶 1 次, 合并上清液以提高回收率

**表 1 室温下还原蛋白质的推荐孵育时间**

样品浓度	孵育时间
< 0.1mg/mL	15 分钟
0.1-0.5mg/mL	30 分钟
0.5-0.9mg/mL	45 分钟
> 1mg/mL	60 分钟

#### 5.2 离心柱法 (适用于 50-750 $\mu$ L 样品, 推荐)

1. 向离心柱中加入 **1-2 倍样品体积**的混匀凝胶悬浮液
2. 50 $\times$ g (约 1000rpm) 离心 30 秒, 弃去流出液
3. (可选) 用样品缓冲液洗涤凝胶 2-3 次: 加入缓冲液, 50 $\times$ g 离心 30 秒, 弃流出液
4. 将样品加到凝胶顶部, 轻轻混匀, 室温孵育相应时间 (见表 1)
5. 将离心柱转移至新的收集管中, 50 $\times$ g 离心 1 分钟
6. 收集的流出液即为还原后的样品

**注:** 对于 300-750 $\mu$ L 样品, 先按批量法在离心管中孵育, 再将凝胶 / 样品混合物转移至离心柱中离心收集。

#### 5.3 重力流柱法 (适用于 > 250 $\mu$ L 样品)



1. 选择合适尺寸的层析柱，加入**至少 2 倍样品体积**的凝胶悬浮液
2. 待凝胶自然沉降后，移除底部堵头，排干保存液
3. (可选) 用 2 倍柱体积的样品缓冲液洗涤凝胶
4. 上样，待样品完全进入凝胶床后，盖上底部堵头
5. 室温孵育相应时间 (多肽仅需 15 分钟)
6. 移除底部堵头，用样品缓冲液洗脱，收集 0.5-1 倍柱体积的馏分
7. 通过 280nm 吸光度测定确定含蛋白质的馏分

## 六、注意事项

1. **金属离子禁忌**:  $Zn^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$ 、 $Fe^{3+}$  等二价金属离子会不可逆失活 TCEP，所有试剂均需用超纯水配制，严禁使用金属器具
2. **缓冲液选择**:
  - 推荐使用 Tris-HCl、HEPES、MES 等非磷酸盐缓冲液
  - **避免使用磷酸盐缓冲液 (PBS)**，磷酸盐会加速 TCEP 氧化
  - 如必须使用 PBS，应现配现用并加入 10mM EDTA
3. **变性剂使用**: 大多数蛋白质无需变性剂即可充分还原；对于含内部二硫键的蛋白质，可加入 6M 盐酸胍提高还原效率
  - **严禁使用尿素**，尿素会分解产生氰酸盐，与还原生成的巯基反应
4. **抗氧化措施**: 还原后的巯基易重新氧化，应立即进行后续实验；样品缓冲液中加入 5-20mM EDTA 可有效防止氧化
5. **一次性使用**: 固定化 TCEP 反应后转化为无活性的磷氧化物，无法再生，建议单次使用后丢弃

## 七、常见问题与解决方案

问题	可能原因	解决方案
样品还原不完全	凝胶用量不足	增加凝胶用量至样品体积的 2 倍
	孵育时间不足	延长孵育时间，或 37°C 孵育
	二硫键无法接触	在缓冲液中加入 6M 盐酸胍
	凝胶活性下降	检查产品有效期，避免金属接触和氧化
样品回收率低	使用了批量法	改用离心柱法
	凝胶非特异性结合	提高缓冲液盐浓度 (0.1-0.5M NaCl)，或加入 10-30% DMSO
	洗脱不充分	增加洗脱体积，或分多次洗脱



问题	可能原因	解决方案
凝胶流速慢	柱床中有气泡	重新装柱，避免气泡产生
	样品中有沉淀	上样前离心去除沉淀
后续实验受干扰	有游离 TCEP 残留	增加洗涤次数，确保彻底去除未偶联的 TCEP
	缓冲液中含有巯基化合物	使用不含巯基的缓冲液

## 八、订购信息

**公司名称：**江苏千株松生物科技有限公司

**联系电话：**17302508337（微信同号）

**官方网站** [www.qianzhusong.com](http://www.qianzhusong.com)

### 免责声明

本产品仅供科研使用，不得用于临床诊断、治疗或人类及动物食用。本公司保证产品在有效期内符合所公布的技术指标。对于因使用不当或超出适用范围导致的任何损失，本公司不承担责任。

© 2026 江苏千株松生物科技有限公司 保留所有权利