

# TCEP

A **TCEP (tris(2-karboxietil)foszfin)** egy tiolmentes (-SH atomcsoportot nem tartalmazó), szagtalan, stabil, hatékony diszulfidkötés redukálószer. Gyakran alkalmazzák biokémiai és molekuláris biológiai laboratóriumi munkák során.

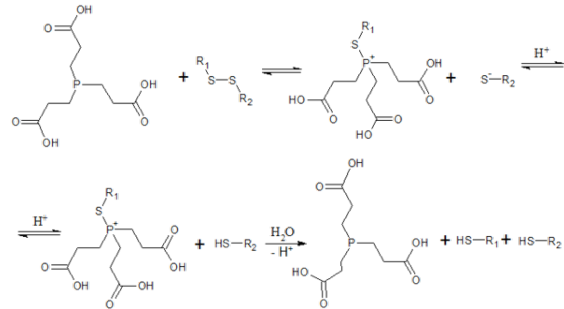
## 1 Előnyei

A fehérjékben és peptidekben található diszulfid kötések redukciójára használják, a DTT, DTE, és  $\beta$ -merkapto-etanol redukálószeréhez hasonlóan. A többiekhez képest a TCEP stabilabb, hatékonyabb és alkalmazható alacsonyabb pH tartományban is. A közel 100%-os hatásához szobahőmérsékleten néhány perc is elég. Képes redukálni még a legstabilabb vízdoldható alkil-diszulfidokat is. A levegő oxigénjével nem lép reakcióba, nem illékony és a fehérjékben található egyéb funkciók csoportokkal nem reagál. Ezen kívül a TCEP-nek az is előnye, hogy nem tud bejutni a fehérjék hidrofób magjába, így csak a felszínen található, a levegő oxigénje által összeoxidált diszulfid hidakat redukálja.

Általában hidrokloridjával dolgoznak (TCEP-hidroklorid), ami nagyon jól oldódik vízben és pufferekben. Mivel erősen hidrofil, nagyon rosszul oldódik szerves oldószerekben, valamint etanolban és metanolban is korlátozottan oldódik. A TCEP-hidrokloridból 100-200 mM koncentrációjú törzsoldatot készítenek, amit megfelelő oldattal vagy pufferrel alkalmazás előtt 10-100-szorosan hígítanak. Minden vizes alapú pufferoldatban használható, azonban foszfát-pufferekben nem túl stabil. A törzsoldat pH értéke savas (2 és 3 között van), ezért használat előtt (5M koncentrációjú) NaOH oldattal közel semlegesre állítják a pH-ját. A törzsoldat  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on sokáig (évekig) eltartható. Kihígított puffer oldata több napig is eltartható anélkül, hogy elbomlana vagy reagálna a levegő oxigénjével.

## 2 Általános reakció mechanizmusa diszulfid kötést tartalmazó vegyületekkel

A reakció első lépéseként a TCEP foszforatomjának nemkötő elektronpárja (ami részlegesen negatív töltésű) nukleofil támadást indít az alkil-szulfid kénatomja ellen. Ennek hatására felszakad a kén-kén kötés, egy negatív töltésű alkil-szulfid távozócsoport, és egy pozitív töltésű



TCEP reacts with disulfide bridge

alkil-szulfid-foszfin kation keletkezik.

A reakció második lépésében a szulfid csoportot tartalmazó negatív töltésű anion támadja meg a pozitív töltésű foszfin származékot. A redukálószer irreverzibilisen elreagál, így biztosítani kell, hogy a fehérje / polipeptidlánc koncentrációjához képest feleslegben legyen. Tömény fehérje oldatokban magasabb, 5-50 mM koncentrációban kell használni.

## 3 Alkalmazása

- Biokémiai és molekuláris biológiai pufferekben a fehérjékben található cisztein oldalláncok oxidációjának a megakadályozására, és a nem megfelelő intra- és intermolekuláris S-S kötések felszakítására. A fehérjék biológiai aktivitásához megfelelő harmadlagos és negyedleges szerkezetre van szükség. Ennek létrejöttében nagy szerepet töltenek be a megfelelő helyen lévő diszulfidhidak, amelyeknek kialakulása a sejten belül biztosított. *In vitro* körülmények között levegőn létrejönnek olyan diszulfidhidak, amelyek gátolják a fehérje biológiai funkcióját; ezeket redukcióval szét kell választani.
- Ciszteinek jelölése malein-imidekkel. A TCEP nem lép reakcióba a reagenssel, ellentétben a DTT és a  $\beta$ -merkapto-etanol redukálószerekkel.
- Gélelektroforézis (SDS-PAGE) során a mintafelvívő pufferben redukálószerként. Ugyanakkor nem használható izoelektromos fókuszáláshoz, mivel vizes közegben töltéssel rendelkezik.
- A DTT-vel, DTE-vel és a  $\beta$ -merkapto-etanolal ellentétben használható fém affinitás kromatográfiában.

## **4 Források**

- Angol Wikipédia
- Német Wikipédia

## 5 Text and image sources, contributors, and licenses

### 5.1 Text

- **TCEP** *Forrás:* <https://hu.wikipedia.org/wiki/TCEP?oldid=17874600> *Közreműködők:* Max von O, Edgar181, Fausto, Sepeti, B.Zsoltbot, TurkászBot, Takcs99attila és Névtelen: 1

### 5.2 Images

- **Fájl:TCEP.png** *Forrás:* <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/8d/TCEP.png> *Licenc:* Public domain *Közreműködők:* A feltöltő saját munkája *Eredeti művész:* Edgar181
- **Fájl:TCEPreakcio.png** *Forrás:* <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/54/TCEPreakcio.png> *Licenc:* CC BY-SA 4.0 *Közreműködők:* A feltöltő saját munkája *Eredeti művész:* Takcs99attila

### 5.3 Content license

- Creative Commons Attribution-Share Alike 3.0