

### 3 残基ペプチドの合成 (4 回目)

#### 1 自動合成

15.603mol スケールで、WFG, WFA, GFW, FWG, AFW, LFP, IFP, FPP, MFP, PFP の 10 配列を自動合成する。

#### 2 脱保護

1. シリンジに、カラムを反対向きで口に当て、シールごと樹脂をシリンジに移す。

**補足** 続けて操作しない場合は、 $-20^{\circ}\text{C}$  で保存する。

2. エタノールを吸って 10 秒震盪し、溶媒を押し出すのを 5 回繰り返す。
3. カラムを真空システムに入れ、一晩乾燥させる。
4. 脱保護試薬を表 1 の組成で作成する。
5. シリンジにテフロンニードルを設置
6. 遠沈管からカクテルを脱保護試薬を 2mL 程度まで吸う。
7. テフロンニードルの先を遠沈管に差したまま、シリンジから空気を抜く。
8. 3 時間ドラフトシェーカーに放置する。

表 1: 脱保護試薬の組成

試薬	割合 (%)	実際量 (mL)
TFA	95	28.5
水	2.5	0.75
TIS	2.5	0.75

#### 3 ペプチド沈殿

1. 脱保護試薬が入っていた 50mL 遠沈管に、シリンジからペプチド溶液を出す。
2. 遠沈管に 20% ヘプタン-TBME 溶液で 10mL までメスアップする。
3. ボルテックス、上下攪拌で混合する。
4.  $-20^{\circ}\text{C}$  で一晩放置する。
5. 沈殿が得られなかったら、7-15 滴の水を添加し、ボルテックスして  $4^{\circ}\text{C}$  で数時間放置する。
6. 沈殿が得られたら、 $0^{\circ}\text{C}$ , 3000g で 10 分間遠心する。
7. 上清を捨て、20% ヘプタン-TBME 溶液を 10mL 加え、蓋をして混合し、 $-20^{\circ}\text{C}$  で 1 時間置く。
8. 再度遠心して沈殿物を集め、上澄は捨てる。
9. 蓋を開けて放置して溶媒を飛ばしてから、30% アセトニトリル-水溶液を 500L~2500L で溶解する。(500L から始めて溶けるまで加えていく。)
10.  $-78^{\circ}\text{C}$  以下で氷結させる。

## 4 凍結乾燥