

3 残基ペプチドの合成

1 自動合成

15.603mol スケールで、AWF, IPF の 2 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°C で保存する。
2. 脱保護試薬を表 1 の組成で作成する。
3. シリンジにテフロンニードルを設置
4. 遠沈管からカクテルを脱保護試薬を 2mL 程度まで吸う。
5. 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。
6. 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 | 81.5 | 24.45 |
| 水 | 10 | 3 |
| TIS | 1 | 0.3 |
| チオアニソール | 5 | 1.5 |
| EDT | 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 15% ヘプタン-TBME 溶液で 30mL までメスアップする。
3. −20°C で一晩放置する。
4. 沈殿が得られなかったら、少量の水を添加し、ボルテックスして 4°C で一晩放置する。
5. 沈殿が得られたら、0°C, 3000g で 10 分間遠心する。
6. 上清を捨て、蓋を開けて放置して乾燥させる。

4 凍結乾燥

3 残基ペプチドの合成(2回目)

1 自動合成

15.603mol スケールで、WYT, CGE の 2 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°C で保存する。
2. 脱保護試薬を表 1 の組成で作成する。
3. シリンジにテフロンニードルを設置
4. 遠沈管からカクテルを脱保護試薬を 2mL 程度まで吸う。
5. 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。
6. 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 | 82.5 | 8.25 |
| 水 | 5 | 0.5 |
| チオアニソール | 5 | 0.5 |
| フェノール | 5 | 0.5 |
| EDT | 2.5 | 0.25 |

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 15% ヘプタン-TBME 溶液で 30mL 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°C で一晩放置する。
5. 沈殿が得られなかったら、少量の水を添加し、ボルテックスして 4°C で一晩放置する。
6. 沈殿が得られたら、0°C, 3000g で 10 分間遠心する。
7. 上清を捨て、蓋を開けて放置して乾燥させる。

4 凍結乾燥

3 残基ペプチドの合成(3回目)

1 自動合成

15.603mol スケールで、WFG, WFA, LFP, IFP の 4 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°C で保存する。
2. 脱保護試薬を表 1 の組成で作成する。
3. シリンジにテフロンニードルを設置
4. 遠沈管からカクテルを脱保護試薬を 2mL 程度まで吸う。
5. 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。
6. 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 | 92.5 | 13.875 |
| 水 | 2.5 | 0.375 |
| TIS | 5.0 | 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 15% ヘプタン-TBME 溶液で 50mL 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°C で一晩放置する。
5. 沈殿が得られなかったら、少量の水を添加し、ボルテックスして 4°C で一晩放置する。
6. 沈殿が得られたら、0°C, 3000g で 10 分間遠心する。
7. 上清を捨て、蓋を開けて放置して乾燥させる。

4 凍結乾燥