



【コラム vol.3】ペプチド合成がうまくいかないときはどうするか

Feb 14, 2019
Elizabeth Denton

それは決して失敗しません。ペプチド配列は中程度のアミノ酸配列の長さであり、論文上では比較的簡単に見えますので、反応条件はあまり考えずに合成を始めます。合成が終了し、分析 HPLC を実行しますが、生成物はどこにも見つかりません(ごく少量)。それでは、何が間違っていたのだろうか。

また、粗収率と純度を高めるためには、どのような方法をとることができるでしょうか。

これは頻繁に出てくる質問のうちの一つで、残念ながら答えは、次のとおりです。でも焦らないでください!これからお話しするいくつかの戦略はあなたのペプチド合成を一步踏み出すため、さらに粗収率と純度を改善するのに役立ちます。今日の投稿では、ペプチド合成が失敗した後の道筋について提案します。

合成がうまくいかないときに最初に行うべき最も重要なことは、サンプル中に存在する主要な化合物を同定することです。メインに生成された欠損配列を見えていますか? 目的の配列は存在しているが、ペプチドの切り出し反応や放置した状況(メチオニンの酸化を考えます)の結果として、誤って修飾されたのではないのでしょうか? この分析が完了したら、まず試したい戦略がいくつかあります。それらについて以下に概説します。

・明白でない配列を識別するため配列予測ツールを使用しても、特定の配列を特定することは難しいかもしれません。

ペプチドを「困難な」配列とする特徴がありますが、その多くは全体的な合成効率の改善により克服することができます。合成の失敗は多くの場合、配列内の疎水性のために分子内または分子間の凝集や二次構造形成を引き起こすことが原因になります。これらの相互作用は [Milton](#) らによって明確に定義され、以来、[オンライン](#) で容易に利用可能な予測ツールを作成するために使用されています(特に [この1つ](#))。

- ・溶媒の変更を検討してください

DMF は固相ペプチド合成に用いられる最も一般的な溶媒ですが、変更することもできます。私が日常的に研究している多くのグループは、特に疎水性アミノ酸を含む長いペプチドの合成のためには [NMP](#) を選んでいます。NMP は、DMF のようにジメチルアミンに分解せず、また、アミノ酸および成長するペプチド鎖の両方へ DMF よりも大きな範囲で溶媒和を形成します。もし、固相ペプチド合成の結果を改善するために、NMP があなたのグループにとってよい選択肢でないならば、[溶媒](#)の混合物もうまく使用されてきました。

- ・異なるレジンタイプを使用してください

ここ数年の間に Fmoc アミノ酸を用いたペプチド合成のためにいくつかの新しいレジンが導入されました。従来のポリスチレンベースのレジンは、ほとんどのペプチドで期待された期待通りの結果を発揮しますが、レジンポリマーの疎水性外球は、レジン上でのペプチド凝集を促進することがあります。さらに近年、PEG(ポリエチレングリコール)ベースのレジンは、特に、より大きなまたは高い疎水性アミノ酸を含む長いペプチドに対して、高いローディング量においてより大きな収率および粗純度を有するペプチドを[生成できる](#)ことを実証しました。

- ・反応条件を変えます

これは、直ちに採用できる最も容易な戦略の 1 つであるかもしれませんが、見通しが最も難しくなります。ダブルカップリング戦略（シングルの場合も）に加え、カップリング試薬を変更し、反応時間(または温度)を増やしたり、脱保護の構成を変えたりすることさえ ([deprotection solution](#)) この戦略は、ペプチド配列中のすべてのアミノ酸のカップリング反応を基本的に最適化することになるので、上述した中で最も時間のかかる戦略の 1 つになります。

ペプチド合成の結果を改善するために展開できる戦略の簡単なリストにすぎませんが、これらはすべて合成の結果を改善することが証明されています。既知のペプチド配列中の 1 個のアミノ酸でさえ変化すると、合成の結果に重大な影響を及ぼす可能性があり、これらの戦略のうち 1 つ(またはそれ以上)が必要とされることを忘れないでほしいです。

失敗したペプチド合成をトラブルシューティングするための第一選択は何か。

Holistic Peptide Workflow

About Biotage

Biotage is a global Life Science company that develops innovative and effective solutions for separation within organic and analytical chemistry, as well as for industrial applications.

[Go To Biotage Japan Web site ...Click here](#)

