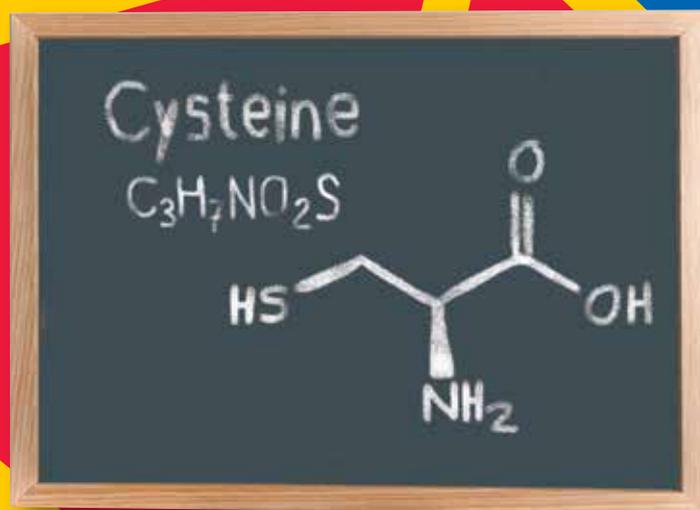


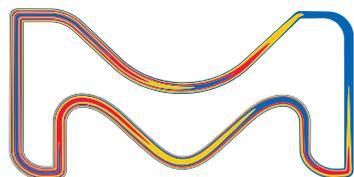
Novabiochem® NEWS

特集：
システイン含有
ペプチドの合成



CONTENTS

1. イントロダクション.....	2
2. システインのチオール保護基.....	2
3. 保護システイン誘導体を用いたFmoc SPPS.....	2
4. システイン含有ペプチドの合成.....	4
5. スルフヒドリルペプチドの取扱い.....	5
6. システイン含有ペプチドの酸化によるジスルフィド結合形成.....	5
7. 保護されたシステイン含有ペプチドの酸化によるジスルフィド結合形.....	6
8. ジスルフィド結合の還元.....	7



1. イントロダクション

システインを含有するペプチドでは、還元されたスルフヒドリル基または酸化されたペプチド鎖内・鎖間ジスルフィド結合が存在しています。システインを含有するペプチドの効率的な合成技術は、ペプチド合成者にとっては不可欠です。正しいシーケンスのペプチドを良好な収率で合成するためには、合成戦略を慎重に計画することが必要です。最適なスルフヒドリル保護基の選択は、ペプチド合成やその後のジスルフィド結合形成の際に発生する問題を回避できる可能性が高いため、極めて重要です。

本ニュースレターで紹介されている方法は様々なシーケンス合成に対して有効な指針を与えるものですが、シーケンスによっては反応条件の最適化が必要になることでしょう。システイン含有ペプチドに関する議論は、[1]の文献が参考になるでしょう。



2. システインのチオール保護基

Fmoc SPPS(Solid Phase Peptide Synthesis)用のシステインには、多種多様なチオール保護基の選択肢があります。適切な保護基の選択は合成するペプチドのシーケンスや合成戦略により異なるでしょう。Fmoc SPPSで一般的に使用されるチオール保護基をTable 1にまとめます。

フリーのチオール基を持つシステイン含有ペプチドを合成する場合、トリチル基はTFAによる切出し時に除去可能のため、特に推奨されます。ペプチドは還元された単量体として得られますが、酸化により二量体または環状ジスルフィド結合型とすることができます。

チオール基のレジン選択的修飾またはレジンのジスルフィド形成には、STmp および Mmt が最も有用です。これらはFmoc SPPSで使用される一般的な側鎖保護基の脱保護反応条件で除去することが可能です。

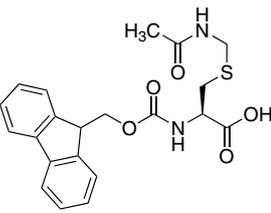
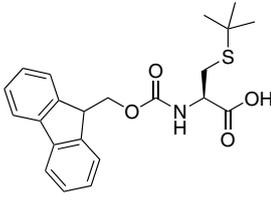
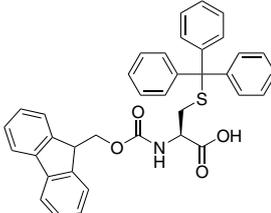
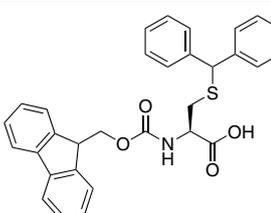
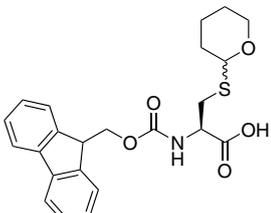
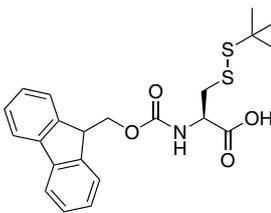
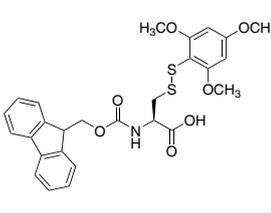
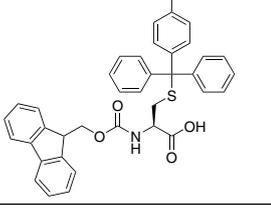
選択的ジスルフィド結合形成に対する保護基の選択は簡単ではなく、最適な組合せを見出すためには多くの実験を要するかもしれません。この問題に関する詳細は「位置選択的ジスルフィド結合形成」の節にて議論されています。

3. 保護システイン誘導体を用いた Fmoc SPPS

他のFmoc保護アミノ酸と比較して、Fmoc保護システイン誘導体は一般的な縮合反応条件下でラセミ化が進行しやすい傾向にあります。ラセミ化の問題は、HBTU/DIPEAのような塩基を介した方法がカルボキシル活性化に使用される場合、特に深刻です。マイクロ波による加熱や活性化は問題を更に悪化させる場合があります。幸い、ラセミ化の問題は形成された無水物[2]やOPfpエステル[3]の使用、または、DIPCDI/HOBtやDIPCDI/Oxyma活性化により酸性/中性条件下で行われる縮合反応では無視することができます。

広範囲のエピマー化[4]およびβ-ピペリジニルアラニン形成[5]はペプチド鎖伸長中に起こりうるため、C末端Cys残基を含むペプチド酸の合成において特に注意する必要があります。これらの副反応は、Cys残基がWang型レジンの場合にも最も問題となります。幸い、2-クロロトリチルレジン、NovaSyn TGTレジン、NovaPEGトリチルレジンのようなトリチル型レジンの使用により、これらの問題を許容できるレベルまで抑えることができるため[6]、C末端システインを含むペプチド酸合成には推奨されます。

Table 1: Cysteine protecting groups

Product number	Structure	Protecting group	Cleavage reagent	Comments
852006		Acm	Hg ²⁺ , Ag ⁺ , I ₂ , Tl ³⁺ , RSCl, PhSOPh-CH ₃ SiCl ₃	Stable to TFA. Enables peptide to be purified in a protected form prior to liberation of the easily oxidizable thiol groups. Removal of Acm and simultaneous disulfide bond formation can be carried out by treatment with I ₂ or Tl ³⁺ .
852007		tBu	Hg(II), HF(20 °C), TFA/DMSO, PhSOPh-CH ₃ SiCl ₃	Stable to TFA and iodine oxidation. Treatment with MeSiCl ₃ /PhSOPh removes t-Bu and cyclizes in one step without scrambling existing disulfide bonds. Treatment with DPDS in acid leads to direct formation of Cys(Pys) in the presence of existing disulfide bridges and Cys(Acm).
852008		Trt	Hg ²⁺ , Ag ⁺ , I ₂ , Tl ³⁺ , TFA, I ₂ , Tl ³⁺	Useful derivative for routine use in Fmoc SPPS as it generates the sulfhydryl peptide directly from the TFA cleavage reaction.
852417		Dpm	Hg ²⁺ , Ag ⁺ , I ₂ , Tl ³⁺ , TFA, I ₂ , Tl ³⁺	Useful derivative for routine use in Fmoc SPPS as it generates the sulfhydryl peptide directly from the TFA cleavage reaction. Useable in combination with Mmt group as Dpm does not bleed during Mmt removal with 2% TFA.
852419		Thp	Hg ²⁺ , Ag ⁺ , I ₂ , Tl ³⁺ , TFA, I ₂ , Tl ³⁺	Useful derivative for routine use in Fmoc SPPS as it generates the sulfhydryl peptide directly from the TFA cleavage reaction. Alternative to Trt group. Its uses gives rise to less racemisation and β -elimination than Trt.
852022		StBu	RSH, R ₃ P	Stable to TFA providing thiol scavengers are not used. Has been used in combination with Acm for selective formation of two disulfide bonds. However, removal is sluggish and STmp is preferred for on-resin deprotection.
852373		STmp	RSH, R ₃ P	Stable to TFA providing thiol scavengers are not used. Has been used in combination with Mmt for selective on-resin formation of two disulfide bonds.
852031		Mmt	2% TFA in DCM, Hg ²⁺ , Ag ⁺ , I ₂ , Tl ³⁺	Can be selectively removed whilst the peptide remains attached to the solid phase. Ideal for on-resin disulfide bond formation or modification of Cys side-chain.
n/a	n/a	Npys	RSH, R ₃ P	Stable to TFA providing thiol scavengers are not used. Activates thiol groups towards disulfide bond formation. Useful for the selective preparation of mixed disulfides.

4. システイン含有ペプチドの合成

Cys(Trt)/Cys(Thp)/Cys(Dpm)の反応

フリーのスルフヒドリル基を含有するペプチド合成において、Fmoc-Cys(Trt)-OHの使用は、費用対効果が高い方法として推奨されます。トリチル基はTFAに対して不安定であり、通常の切出し反応条件にて除去可能です。

トリチルカチオンの高い安定性およびチオール基の強い求核性のため、この反応は可逆性があります。従って、完全な脱保護のためには切出し反応の条件に対して注意を払う必要があります。Cys(Trt)残基の不完全な脱保護に伴う問題は、TIS (triisopropylsilane) を用いる切出し反応[7a]により克服することが出来ます。この試薬はトリチルカチオンを不可逆的にトリフェニルメタンに変えるため非常に効果的です。トリエチルシランでも代替は可能ですが、シラン化合物はインドールの還元を引き起こすことが知られているため、保護されていないトリプトファンを含有するペプチドの場合は注意する必要があります。

複数のCys(Trt)残基を含むペプチドでは、ペプチドをTFAによる切出しカクテルからジエチルエーテルで沈殿させた場合に最良の結果が得られます。切出しカクテルへ2.5%エタンジチオールを添加すると、ペプチドの還元状態が維持され、チオール基のアルキル化による副生成物発生を最小限に抑えることができます。この際、切断されるペプチドに対して十分な量の切出しカクテルを使用することが不可欠です。通常、30ml/0.5mmolで十分でしょう(約16当量のEDT/Cys残基)。しかしながら、ペプチドが複数のCys残基および多くのt-ブチル保護基を含む場合は、確実性を増すためにEDTの濃度を上げるか、切出しカクテルの使用量を増やす必要があります。

近年、Fmoc-Cys(Trt)-OHの代替として、スルフヒドリル基がテトラヒドロピラニル(Thp)基で保護されているFmoc-Cys(Thp)-OHの有用性が報告されています [7b]。Fmoc-Cys(Thp)-OHを用いることで、S-Trt基、S-Dpm基、S-Acm基およびS-StBu基保護体より優れた結果が得られると示されています。長期間のピペリジン処理中にWangレジンに結合したC末端Cys

残基において、ラセミ化やβ-ピペリジルアラニン形成の大幅な低減がみられました。Fmoc-Cys(Thp)-OHのDIPCDI/Oxyrna Pureによる縮合反応時のラセミ化がたった0.74%であったのに対して、Fmoc-Cys(Trt)-OHでは3.3%、Fmoc-Cys(Dpm)-OHでは6.8%という結果でした。Thp基は、TFA/水/TIS=95.2/2.5/2.5の切出しカクテルで処理することで完全に除去できました。Thp基はDCM中の1%TFAに対して安定であり、2-クロロトリチルレジンまたはHMPBレジン上での保護ペプチドフラグメント合成を容易にします。[7b]の報告はまた、S-Thp保護ペプチドがTrt保護ペプチドよりも溶解度が高いことも示唆しています。

Fmoc-Cys(Dpm)-OHもまた、Fmoc SPPSにおいてCys残基導入の誘導体として、Fmoc-Cys(Trt)-OHの代替となり得る化合物です[7c]。2つのジスルフィド架橋を含む環状ペプチドの位置選択的合成は、DpmとMmtのスルフヒドリル保護基の組合せを用いて容易に達成することが可能です。S-Dpm保護基は1-3%TFAで安定な一方で、S-Trt保護基はこの条件でも徐々に脱保護反応が進みます。これらの特性の違いにより、固相上において希釈TFAを用いることでS-Dpm保護基を残したまま、S-Mmt保護基を除去することが可能です。フリーのスルフヒドリル基は酸化されてジスルフィド架橋を形成します。その後、TFA/DMSO/アニソール切出しカクテルによる処理により、S-Dpm保護基を除去して一工程でS-Dpm保護していた場所にジスルフィド架橋を形成します。

Cys(Acm)およびCys(tBu)の反応

Acm保護基およびt-Bu保護基もまた、システイン含有ペプチドを調整するために用いることが可能です。しかしながら、現在は一般的には使用されなくなってきました。Acm保護基およびt-Bu保護基は、他の全ての側鎖保護基の除去に必要な条件に対して安定です。つまり、これらのシステイン保護基脱離の前に、ペプチド合成の途中で精製が可能となります。これらの保護基の除去には、酢酸水銀(II)またはトリフルロメタンスルホン酸銀で処理することにより可能です。後者の場合、システイン含有ペプチドの銀塩をHCl-DMSO水溶液で処理することで、直接ジスルフィド結合が形成されます[8]。

Cys(t-butylthio)およびCys(STmp)の反応

配列へのCys(tButthio)[12]またはCys(STmp)[13]残基の導入は、固相上のチオール基の選択的脱保護を可能にし、Cys残基の修飾またはレジン上でのジスルフィド架橋形成のいずれかを可能にします。

チオールが切出し反応においてスカベンジャーとして作用しない限り、t-ブチルチオ基はTFAに対して安定であり、チオール[12]またはトリアルキルホスフィン[14,15]のいずれかの還元により除去されます。最近、Góngora-Benítezら[16]は、固相でt-ブチルチオ基を除去するために、DMF中の20%β-メルカプトエタノール、0.1M NMM(N-メチルモルホリン)を併用することでの有効性を実証しました。しかしながら、実際には、固体支持体上のt-ブチルチオ基を除去することは極めて困難である場合が多くあります。こうした背景から、Albericioらは、最近STmpを用いています[13]。Albericioらは、5%メルカプトエタノールを含むDMF中のNMMを5分間で3回処理するだけで、固体支持体から4つのSTmp基を除去できることを報告しています。STmp基は温和な条件で極めて容易に除去出来るようです。

Cys(Mmt)の反応

2%TFA DCM溶液を用いたCys(Mmt)残基のレジン上での脱保護は、バッチ操作またはフロー操作にて行うことが可能です。後者の場合、トリチルカチオンの脱離を460nmで検出しトレースすることができます。バッチ操作の場合、切出しを促進するためにTISまたはTESなどのトリチルスカベンジャーを反応に用いる選択肢が挙げられます。反応はDCMの揮発を防ぐために密閉環境で行われることが理想的であり、また、ろ過反応は、真空ではなく窒素ガスにより圧をかけて行われることが推奨されます。

5. スルフヒドリルペプチドの取扱い

スルフヒドリルペプチドは大気中の酸素によって容易に酸化されるため、切出し後は直ちに凍結乾燥し、アルゴン雰囲気下で乾燥保存する必要があります。酸化を最小限に抑えるために、システイン含有ペプチドは酸性(0.1%TFA)脱気バッファーで処理する必要があります。分析においては、HPLC緩衝液はヘリウムパーズによる脱気処理が必要です。複数のCys残基を含むペプチドは、切出し後に還元が必要になるかもしれません。

6. システイン含有ペプチドの酸化によるジスルフィド結合形成

スルフヒドリルペプチドのランダム酸化

ジスルフィド架橋を形成するための最も簡単な方法は、フリーのスルフヒドリルペプチドのランダム酸化によるものです。2つ以上のCys残基を有するペプチドの場合、生成物の組成は、酸化が熱力学的制御の下で進行するか、反応速度論的制御の下で進行するかによって異なります。

熱力学的反応制御

熱力学的な反応方法の中で、最も簡単な方法は大気中での酸化であり、熱力学的に最も安定な生成物が得られます。この方法は、揮発性緩衝液中でペプチドの水溶液を大気中にさらした後、凍結乾燥によってペプチドを単離する方法を含みます。小さな単環式ペプチドは、中間体スルフヒドリルペプチドを精製することなく、Cys(Trt)のTFA切出しの直後に空気酸化を行うことにより容易に調整することができます。この方法の欠点は、反応が非常に遅くなることです。活性炭を用いることで、このプロセスを効果的に触媒することが知られています[17]。

反応速度論的な酸化

速度論的に最も好ましい生成物を得るために、ジスルフィド架橋の迅速な形成を目指して、様々な酸化剤が試されてきました。例えばフェリシアン化カリウム[18]、ヨウ素[19]、DMSO[20,21]、N-クロロスクシンイミド(NCS)[22]、およびDPDS(2,2'-ジチオピリジン)[23]が挙げられます。

ヨウ素による酸化は非常に迅速です。拡販したペプチド溶液に対して、恒久的に黄色着色が残るまで、ヨウ素溶液を滴下します。

DMSOによる酸化はpH3~8にて非常に穏やかに進行します。副反応が起こりやすい残基(Met, Trp, Tyr)においても、副反応は報告されていません。

NCSのDMF溶液は固相上でのスルフヒドリル基の酸化に使用されており、15分の反応時間で酸化に使用されるのは2当量程度です[22]。この反応条件は、メチオニンの酸化を引き起こす可能性があり、注意が必要です。

7. 保護されたシステイン含有ペプチドの酸化によるジスルフィド結合形成

ヨウ素酸化によるジスルフィド結合形成

Cys(Acm)/Cys(Trt)残基を含むペプチドをヨウ素で処理した場合、スルフィドリル保護基が除去されジスルフィド結合が形成されます。単一のCys残基を含むペプチドの場合は対称二量体が形成され、複数のCys残基を含むペプチドの場合は、溶媒及び濃度に応じて環状モノマーと多量体の混合物が生成されます。反応速度は溶媒に依存し、Cys(Try)とCys(Acm)の間である程度選択性があります。例えば、メタノール水溶液や酢酸水溶液中では反応はすばやく進行しますが、DCMやCHCl₃の場合、Cys(Acm)の酸化は非常に遅くなります[24]。

この反応方法の最も一般的な用途は、2つのCys(Acm)残基を含む側鎖脱保護ペプチドの環状ジスルフィド架橋モノマーへの変換でしょう。トリチル保護基はTFA切出し中に除去されてしまうため、使用が適切ではありません。反応は通常、希釈されたメタノール水溶液あるいは酢酸水溶液で行いますが、適切な溶媒の選択は合成するペプチドのシーケンスによります。反応はメタノール溶液中ですばやく進行しますが、Tyr, His, Trpを含有するペプチドの場合、これらの残基に由来する副反応を制限するので、酢酸水溶液が望ましいとされています。

溶液中の保護ペプチドフラグメントのヨウ素酸化においては、ジスルフィド架橋を形成する2つのCys残基の内、一方をAcm基で保護し、他方をTrt基で保護することが推奨されています。この方法は、多量体の形成を制限し、保護されたペプチドフラグメントの溶解を促進するTFE/CHCl₃のような非極性溶媒混合物の使用を可能にします。フリーのN α -アミノ基を持つCys残基を含有するペプチドのヨウ素酸化の場合、スルホニウム中間体の形成を阻害するアミノ基条の正電荷の影響で、反応の進行が非常に遅いことが知られています。

CysからGln [25a]残基およびSer/Thr [25b]残基の側鎖へAcm基が移る現象は、ヨウ素およびタリウム(III)酸化反応中に報告されています。

トリフルオロ酢酸タリウム酸化

ヨウ素酸化と同様に、Tl(CF₃CO₂)₃は複数のCys(Acm)残基を含むペプチドをジスルフィド架橋システインペプチドに変換します[28]。溶液中では、これはフリーおよび保護ペプチドの両方にとって優れた溶媒であるため、この反応は一般にTFA中で行われてきました。固相上にて直接ジスルフィド結合を形成するために、溶媒としてDMFを使用し、レジンの膨潤を化膿しています。Met, Trpは酸化されやすい残基のため、Tl(CF₃CO₂)₃での反応中は保護する必要があります。そのため、Met(O)やTrp(Mts), Trp(Boc)保護体が、t-Boc[28]やFmoc[29,30]合成でそれぞれ用いられてきました。

位置選択的ジスルフィド結合形成

選択的架橋形成による複数のジスルフィド含有ペプチドの合成は大きな課題です。生理活性がある異性体が一般的に最も熱力学的に安定であるため、複数のジスルフィド結合を持つペプチドの合成において、しばしばランダム酸化により最良の結果が得られることがあります。しかしながら、あるペプチド合成に対して成功した方法が、必ずしも他のペプチド合成において上手くいくとは限りません。2つの架橋は問題なく形成するものの、3つ目の架橋形成が困難なこともあります。加えて、架橋形成の順番が重要な場合があります。1つ目の架橋の選択的生成により、他の架橋をランダム酸化により形成する際の最適な順番を探る第一歩となります。いずれにせよ、こうした方法はかなり時間のかかる作業です。

2つのジスルフィド結合の選択的生成のためには、TrtとAcm、またはSTmpとAcm保護のいずれかの組合せが考えられます。最初のジスルフィド結合はTrtまたはSTmp保護の選択的除去後に形成されます。続いて、第二のジスルフィド結合は、Acm保護ペプチドをヨウ素またはトリフルオロ酢酸タリウムによる酸化により単一工程で形成されます。あるいは、TrtおよびAcmを用いて、当量のヨウ素を用いたジスルフィドリルペプチドの高速酸化、さらに、続いてAcm保護チオール酸化のために過剰のヨウ素および水の添加により反応を進めることで、ワンポット反応を行うことも可能です。

STmpとMmtの組合せは固相上の2つの架橋の選択的生成を可能にします[22]。STmp基をメルカプトエタノールで除去し、最初の架橋をNCSでの酸化により形成します。2%TFA DCM溶液によりMmt基を除去し、続いてNCSを用いて第二の架橋を形成します。

Table 2 多重ジスルフィド結合の選択的合成のための保護基組合せ

First	Second	Third	Comments
Trt	Acm		1: bridge by air oxidation or stoichiometric I ₂ oxidation. 2: by excess I ₂ oxidation.
tBu	MeBzl		Temperature controlled oxidation with DMSO/TFA.
STmp	Mmt		On-resin formation of both bridges with NCS oxidation.
Mmt	Dpm		On-resin formation of one bridge. Second bridge formed in solution by air oxidation.
STmp	Acm		1: On-resin with NCS oxidation. 2: with solid or solution phase I ₂ oxidation.
STmp	Mmt	Acm	1 & 2: On-resin formation of both bridges with NCS oxidation. 3: I ₂ oxidation in solution.
STmp	Mmt	tBu	1 & 2: On-resin formation of both bridges with NCS oxidation. 3: DMSO/TFA or MeSiCl ₃ /Ph ₂ SO in solution.
Trt	Acm	tBu	1: bridge by air oxidation or stoichiometric I ₂ oxidation. 2: by excess I ₂ oxidation. 3: TFA/DMSO or MeSiCl ₃ /Ph ₂ SO.
Trt	tBu	MeBzl	1: bridge by air oxidation or stoichiometric I ₂ oxidation. 2 & 3: by temperature controlled oxidation with TFA/DMSO.

t-ブチル保護基は、MeSiCl₃/Ph₂SOにより一段階反応での切出しおよび環化と組合わせ、3番目のジスルフィド架橋を形成することでα-コトキシリンとインスリンを選択的に合成しています[31]。同様に、t-ブチルとMeBzlシステイン保護基の組み合わせは、α-コトキシリンSIの2つのジスルフィド結合の位置選択的ワンポット形成に用いられています[32]。第一のジスルフィド結合は、t-ブチル基の切出しおよびTFA/DMSO/アニソールによる酸化反応により形成されています。続いて70℃に加熱するとMeBzl基が脱離し、第二のジスルフィド架橋が形成されています。多重架橋ペプチドの合成におけるこのアプローチ方法の例については、参考文献[33]~[36]をご参照下さい。

不斉ジスルフィド

S-Npys保護ペプチドは広範囲のpH域でチオールと反応し、混合ジスルフィドを形成します[37]。この保護基を用いることは、2つのペプチド鎖がジスルフィド架橋で繋がれているペプチド-タンパク質複合体やペプチドを生成する場合に有効です[38-41]。しかしながら、Fmoc SPSSにおいてピペリジンに対してNpys基が不安定なために、Cys(Npys)残基は、通常、Boc-Cys(Npys)-OHを用いてペプチドのN末端に導入します。あるいは別な方法として、5当量の2,2'-ジチオビス-(5-ニトロピリジン)を標準的なTFA/TIS/水(9.5:2.5:2.5)の切出しカクテルに加えることによって、Npys基を任意のTrt保護Cys残基に付加することが報告されています[42]。

8. ジスルフィド結合の還元

DTTによる還元

W.W. Clelandによる報告以降[44]、DTT (Calbiochem製品番号 233153) がシステイン含有ペプチドの還元試薬のスタンダードになりました。この試薬はほとんど無臭に近く、水溶性が高く、pH8域の水溶性溶媒中で定量的にジスルフィドを還元します。

TCEPによる還元

TCEPは、広範囲のpH域(1.5~9.0)でジスルフィドを還元する水溶性ホスフィン化合物です[45]。チオール系還元剤とは異なり、TCEPは酸素に対して安定で、脱気のための特別なプロセスは必要ありません。反応は不可逆的に速度論的に制御されており、熱力学的に制御されたDTTの反応とは異なります[42]。TCEPが有効なのは、DTTによる還元条件であるpH8では可溶でないペプチドの還元を用いることが望ましいでしょう。なお、過剰のTCEP存在下ではペプチドのシステイン残基の脱硫を引き起こす可能性がある点には注意が必要です。

エルマン検定[46, 47]

5,5'-ジチオビス(2-ニトロ安息香酸) (DTNB, Calbiochem型番 322123)は、脂肪族スルフィド基と定量的に反応して黄色アニオンを生成します。この反応は空気酸化の進行をトレースするために用いることが可能です。反応混合物から時間間隔においてサンプルを採取し、チオール含量が確認できます。



かんたん検索で、PDFのダウンロードや
カタログ請求も一括で行えます。



Novabiochem® カタログは製品紹介にとどまらず、詳細な実験プロトコル、アプリケーション例、実用的なアドバイスも併記されています。また、カタログの技術情報が日本語化された「固相合成ハンドブック」は、ペプチド合成における「バイブル」として、研究者の皆様にご覧いただいております。

ダウンロードはこちらから
<https://bit.ly/2U5aX8A>



9. 製品一覧

Cat.No.	Product	Contents
8520060005		5 g
8520060025	Fmoc-Cys(Acm)-OH	25 g
8520060100		100 g
8520070005		5 g
8520070025	Fmoc-Cys(tBu)-OH	25 g
8520070100		100 g
8520220005		5 g
8520220025	Fmoc-Cys(tButhio)-OH	25 g
8524170005		5 g
8524170025	Fmoc-Cys(Dpm)-OH	25 g
8520310001		1 g
8520310005	Fmoc-Cys(Mmt)-OH	5 g
8520310025		25g
8523730001		1 g
8523730005	Fmoc-Cys(STmp)-OH	5 g
8524190005		5 g
8524190025	Fmoc-Cys(Thp)-OH	25 g
8520080025		5 g
8520080100	Fmoc-Cys(Trt)-OH	25 g
8520080250		100 g

10. 参考文献

- a) F. Albericio, et al. in "Fmoc solid phase peptide synthesis: a practical approach", W. C. Chan & P. D. White (Eds.), *Oxford University Press*, Oxford, **2000**, pp. 77; b) F. Shabanpoor, et al. in "Peptide Synthesis & Applications", K. J. Jensen, et al. (eds), *Methods in Molecular Biology*, **Vol. 1047**, Human Press, 2013, pp. 81; c) M. Akcam & D. J. Craik in "Peptide Synthesis and Applications", K. J. Jensen, et al. (eds), *Methods in Molecular Biology*, **Vol. 1047**, Human Press, 2013, pp. 89.
- T. Kaiser, et al. (1996) *Tetrahedron Lett.*, **37**, 1187.
- Y. X. Han, et al. (1997) *J. Org. Chem.*, **62**, 4307; Y. M. Angell, et al. (2002) *J. Peptide Res.*, **60**, 292.
- J. Lukszo, et al. (1996) *Let. Pept. Sci.*, **3**, 157.
- E. Atherton, et al. in "Peptides 1990, Proc. 21st European Peptide Symposium, E. Giralt & D. Andreu (Eds), **1991**, *Escom, Leiden*, pp. 243.
- Y. Fujiwara, et al. (1994) *Chem. Pharm. Bull.*, **42**, 724.
- a) D. A. Pearson, et al. (1989) *Tetrahedron Lett.*, **30**, 2739; b); I. Ramos-Tomillero, et al. (2015) *Org. Lett.*, **17**, 1680; c) M. Gongora-Benitez, et al. (2012) *Org. Lett.*, **14**, 5472.
- H. Tamamura, et al. (1995) *Int. J. Pept. Protein Res.*, **45**, 312.
- U. Weber & P. Hartter (1970) *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, **351**, 1384.
- T. M. Postma, et al. (2012) *Org. Lett.*, **14**, 5468.
- U. T. Ruegg & H. G. Gattner (1975) *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, **356**, 1527.
- N. J. C. M. Beekman, et al. (1997) *J. Pept. Res.*, **50**, 357.
- M. Gongora-Benitez, et al. (2011) *Biopolymers*, **96**, 69.
- R. Volkmer-Engert (1998) *J. Pept. Res.*, **51**, 365.
- S. N. McCurdy (1989) *Pept. Res.*, **2**, 147.
- M. Pohl, et al. (1993) *Int. J. Peptide Protein Res.*, **41**, 362.
- A. Otaka, et al. (1991) *Tetrahedron Lett.*, **32**, 1223.
- J. P. Tam, et al. (1991) *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 6657.
- T. M. Postma & F. Albericio (2013) *Org. Lett.*, **15**, 616.
- K. Maruyama, et al. (1999) *Peptides*, **20**, 881.
- B. Kamber, et al. (1980) *Helv. Chim. Acta*, **63**, 899.
- a) H. Lamthanh, et al. (1993) *Int. J. Peptide Protein Res.*, **41**, 85; b) H. Lamthanh, et al. (1995) *Pept. Res.*, **8**, 316.
- N. Fujii, et al. (1987) *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 2339.
- M. C. Munson, et al. (1993) *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 10203.
- F. Albericio, et al. (1991) *Int. J. Peptide Protein Res.*, **37**, 4024.
- K. Akaji et al (1993) *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 11384.
- A. Cuthbertson & B. Indrevoll (2000) *Tetrahedron Lett.*, **41**, 3661.
- E. Atherton, et al. (1985), *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1*, 2065;
- a) Y. Yang, et al. (1994) *Protein Sci.*, **3**, 1267; b) K. Akaji et al (1993) *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 11384; c) T. J. Zamborelli, et al. (2000) *J. Pept. Res.*, **55**, 359.
- H.G. Ihlenfeldt, et al. in "Peptides 1994, Proc. 23rd European Peptide Symposium", H. Maia (Ed.), *ESCOM*, Leiden, **1994**, pp. 369.
- J. S. Nielsen, et al. (2004) *J. Pept. Sci.*, **10**, 249.
- R. Matsueda & K. Aiba (1978) *Chem. Lett.*, **951**.
- J. W. Drijfhout, et al. (1988) *Int. J. Peptide Protein Res.*, **29**, 161.
- F. Albericio, et al. (1987) *Int. J. Peptide Protein Res.*, **34**, 124.
- O. Ploux, et al. (1987) *Int. J. Peptide Protein Res.*, **29**, 162.
- R.G. Simmonds, et al. (1994) *Int. J. Peptide Protein Res.*, **43**, 363.
- A. K. Ghosh & E. Fan (2000) *Tetrahedron Lett.*, **41**, 165
- W. W. Cleland (1964) *Biochemistry*, **3**, 480.
- J. A. Burns, et al. (1991) *J. Org. Chem.*, **56**, 2648.
- G. L. Ellman (1959) *Arch. Biochem. Biophys.*, **82**, 70.
- G. L. Ellman, et al. (1961) *Biochem. Pharmacol.*, **7**, 68.



本紙記載の製品は試験・研究用です。ヒト、動物への治療、もしくは診断目的として使用しないようご注意ください。掲載価格は希望販売価格(税別)です。実際の価格は弊社製品取扱販売店へご確認ください。なお、品目、製品情報、価格等は予告なく変更される場合がございます。予めご了承ください。記載内容は2020年6月時点の情報です。Merck, the vibrant M, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources. ©2020 Merck KGaA, Darmstadt, Germany. All rights reserved.

メルク株式会社

ライフサイエンス リサーチ事業部

〒153-8927 東京都目黒区下目黒 1-8-1 アルコタワー 5F

製品の最新情報はこちら www.merckmillipore.com/solvent

E-mail: jpts@merckgroup.com Tel: 03-4531-1140