



## Istruzioni per risospendere i peptidi

I peptidi possono essere generalmente conservati a  $-20^{\circ}\text{C}$  per diversi anni. Prima di aprire la provetta, lasciarla qualche minuto a temperatura ambiente, al fine di evitare problemi dovuti alla condensa.

I peptidi contenenti Gln e Asn sono suscettibili a deaminazione e devono essere conservati a  $-70^{\circ}\text{C}$ . Peptidi contenenti Gln all'estremità N-terminale possono ciclicizzare in piro-glutammato in condizioni acide diluite.

Per i peptidi sensibili all'ossidazione, che contengono cisteine, metionine o triptofani è consigliato l'utilizzo di acqua disaerata (acqua flussata con azoto, elio o argon) ed il congelamento essiccato. Se risospesi devono essere conservati a  $-70^{\circ}\text{C}$ .

Evitare di risospendere in soluzioni basiche o DMSO i peptidi che contengono cisteine o metionine (ossidazione dei tioli)

### Come risospendere i peptidi

La procedura descritta di seguito fornisce un metodo per eseguire una prova di solubilità per determinare il miglior solvente per un peptide sintetico.

Si raccomanda di sciogliere una quantità minima di peptide, piuttosto che l'intero campione. Come regola generale i peptidi con meno di 5 residui devono prima essere sciolti in acqua distillata o acqua sterile. Per ogni peptide devono essere scelte le migliori condizioni per solubilizzarlo, basandosi sulla sequenza peptidica.

Prima di sciogliere il vostro peptide, si prega di leggere le guida qui sotto ed eseguire un test di solubilità:

1. Assegnare un valore di -1 per ciascun residuo acido. I residui acidi sono Asp (D), Glu (E), e l'estremità C-terminale  $-\text{COOH}$ . Assegnare un valore di +1 a ciascun residuo basico. I residui basici sono Arg (R), Lys (K), His (H), e l'N-terminale  $-\text{NH}_2$ .

2. Calcolare la carica complessiva del peptide.

- Se la carica complessiva è positiva, cercare di sciogliere il peptide in acqua. Se il peptide non si scioglie, provare aggiungendo una soluzione di acido acetico concentrata fra il 10 ed il 30%. Se il peptide ancora non si scioglie, aggiungere TFA ( $<50\ \mu\text{l}$ ) per solubilizzare il peptide e diluire alla concentrazione desiderata.
- Se la carica complessiva del peptide è negativa, cercare di sciogliere il peptide in acqua. Se il peptide non si scioglie, aggiungere  $\text{NH}_4\text{OH}$  ( $<50\ \mu\text{l}$ ) e diluire alla concentrazione desiderata.



**Bio-Fab**  
research  
Servizi di Supporto alla Ricerca



Azienda certificata  
UNI EN ISO 9001:2008

- Se il peptide contiene cisteina, non utilizzate soluzioni basiche ma provate il metodo elencato al punto 3

3. Se la carica complessiva del peptide è pari a zero, è necessario aggiungere solventi organici. Provare aggiungendo un po' di aceto nitrile, metanolo o isopropanolo. Per peptidi molto idrofobi provare sciogliendo il peptide in una quantità molto piccola di DMSO, e diluire con acqua alla concentrazione desiderata. Per peptidi contenenti Cys, utilizzare DMF invece di DMSO. Per peptidi che tendono ad aggregarsi, aggiungere 6 M guanidina HCl o 8 M urea, e quindi procedere con la diluizione necessaria.

Nota:

1. Si raccomanda di mantenere la diluizione dello stock fra 1-2 mg/ml, per evitare la precipitazione del peptide mantenendo comunque lo stesso molto concentrato in modo tale da prelevarne di volta in volta piccole aliquote (<100 µl) per gli esperimenti
2. I peptidi liofilizzati possono essere conservati a -20° C e sono stabili per più di 1 anno. Una volta disciolti possono essere aliquotati e conservati a -20° C. Si raccomanda di conservare i peptidi contenenti residui di metionina, cisteina o triptofano in atmosfera contenente O<sup>-1</sup> per evitarne l'ossidazione.