

В. А. ШИБНЕВ, Л. И. МАРЬЯШ, академик АН ТаджССР | К. Т. ПОРОШИН |

СИНТЕТИЧЕСКИЕ АНАЛОГИ ГИСТОНОВ

В настоящее время привлекают внимание проблемы, связанные с ролью гистонов и протаминов в биосинтезе белков. Кажется вероятным, что поскольк ДНК в комплексе с гистоном не могут служить затравкой при синтезе РНК, то они влияют на активность гена. Механизм репрессии РНК-полимеразы ядерными белками, к которым относятся гистоны и протамины пока остается неясным. Полагают, что степень подавления синтеза РНК гистонами зависит как от их характера (например, лизин или аргинин, богатые гистонами), так и от состава ДНК (от соотношения АГ/ГЦ) ⁽¹⁾.

При изучении гистонов и протаминов значительную трудность составляет их высокая гетерогенность и сложность выделения. Именно эти обстоятельства побудили исследователей применить в качестве близких аналогов гистонов или протаминов полиаминокислоты: полиаргинин, полилизин, а также некоторые олигопептиды лизина. Такие соединения использовались для получения комплексов с ДНК, термическая устойчивость которых сравнивалась с гистоновыми комплексами. Было показано, что эта устойчивость зависит от длины полипептидной цепи, боковых цепей аминокислотных остатков ⁽²⁾. Эти исследования в известной степени исчерпали ту информацию, которую могло принести использование гомоолигопептидов или гомополипептидов. Между тем как гистоны, так и протамины являются более сложными образованиями, что не позволяет представить их как простые гомополикатаны. Поэтому особый интерес вызывают такие олиго- или полипептиды, которые по своей первичной структуре были бы ближе природным ядерным белкам. Использование подобного рода полипептидов значительно расширяет наши возможности, поскольку позволяет с помощью подобных модельных соединений проанализировать возможные аминокислотные закономерности, заложенные в полипептидной цепи природных гистонов и протаминов. Получение таких полипептидов обеспечивается полимеризацией соответствующего мономера-пептида.

В предыдущих публикациях мы уже сообщали о синтезе регулярных полипептидов ⁽³⁾. Имеются также другие сообщения о получении регулярных полипептидов, включающих лизин и орнитин ⁽⁴⁾. В настоящей статье мы сообщаем о синтезе ряда политри- и политетрапептидов с последовательностью: — Ala — Ala — Lys —; — Lys — Lys — Ala —; Lys — Lys — Gly —; — Ala — Ala — Ala — Lys —; — Lys — Lys — Lys — Ala —; — Lys — Lys — Ala — Ala —; Lys — Lys — Gly — Gly —; — Orn — Orn — Ala — Ala —; Orn — Orn — Gly — Gly. Они были получены полимеризацией 2,4,5-трихлорфенилового эфира соответствующего пептида по ранее разработанному методу ⁽⁵⁾. Эти последовательности интересны тем, что в них регулярно чередуются остатки основных аминокислот и алифатических, в частности аланина, которого достаточно, например, в протамине. Отношение основных аминокислот к алифатическим меняется следующим образом: 1:2, 1:3, 2:2, 2:2, 3:1. Такие модели в дальнейшем могут быть использованы как для выяснения роли «насыщения» остатками лизина и орнитина, так и роли аланина и глицина. Синтез исходных мономеров (табл. 1) осуществлялся методом смешанных ангидридов, исходя из ВОС-аминокомпоненты и соответствующего галоидогидрата или трифторацетата активированной аминокислоты или пептида. Для защиты N^α-аминогруппы лизина, орнитина, аланина и глицина использовали ВОС-защиту.

Таблица 2

Полипептиды	Концентрация мономера в ДМФА, %	Эквивалент триэтиламина	Время полимеризации, сутки	Растворители для очистки полипептидов	Расход реактивов, нерастворимой в спирте, %	M_{cp}^*
H-[Lys(Cbo)-Ala-Ala-] _n -OH	67	1	10	ДМФА — CH ₃ OH	81	8960
H-[Ala-Lys(Cbo)-Ala-] _n -OH	64	2,5			70	3080
	64	1	12	ДМФА — CH ₃ OH	47,5	3280
	62	2,5			50	4240
H-[Ala-Ala-Lys(Cbo)-] _n -OH	67,5	1	10	ДМФА — C ₂ H ₅ OH	57	8000
	61	2,5			46	4540
H-[Lys(Cbo)-Lys(Cbo)-Ala-] _n -OH	65	1	10	ДМФА — CH ₃ OH	33	6000
H-[Lys(Cbo)-Lys(Cbo)-Gly-] _n -OH	80	1	10	ДМФА — CH ₃ OH	52	6100
	65	2,5			46	5000
H-[Ala-Ala-Ala-Lys(Cbo)-] _n -OH	80	1	10	C ₂ H ₅ OH — эфир	30	3500
		2,5			20	3600
H-[Lys(Cbo)-Lys(Cbo)-Lys(Cbo)-Ala-] _n -OH	65	1	12	ДМФА — CH ₃ OH	20	5300
	74	2,5			20	2500
H-[Lys(Cbo)-Lys(Cbo)-Ala-Ala-] _n -OH	60	1	10	ДМФА — CH ₃ OH	40	2600
H-[Lys(Cbo)-Lys(Cbo)-Gly-Gly-] _n -OH	57	1	10	ДМФА — CH ₃ OH	28	3200
H-[Orn-(Cbo)-Orn(Cbo)-Ala-Ala-] _n -OH	61	1	10	ДМФА — CH ₃ OH	35	3864
H-[Orn-(Cbo)-Orn(Cbo)-Gly-Gly-] _n -OH	64	1	10	ДМФА — CH ₃ OH	50	2000

* Средний молекулярный вес полипептидов по Ван-Слайку.

ВОС — Lys(Cbo) — Lys(Cbo) — COOH. К раствору ВОС — Lys(Cbo) — Lys(Cbo) — OCH₃ в ацетоне прибавляют 0,1N NaOH. Реакционную смесь выдерживают 2 часа. Затем экстрагируют этилацетатом. Водную фазу подкисляют при 0° лимонной кислотой до pH 3 и экстрагируют этилацетатом. Раствор сушат над Na₂SO₄ и упаривают. Выход маслообразного продукта 90%. $[\alpha]_D^{20} -7,1$ (C 2,5 спирт). $R_f(B) 0,72$, $R_f(V) 0,79$.

П о л и м е р и з а ц и я. 2,4,5-Трихлорфениловый эфир ВОС-пептида растворяют в абс. CF₃COOH. Выдерживают 70 мин. Затем добавляют абс. бензол и упаривают. Затем дважды пересаждают из спирта эфиром до легкого помутнения. Полученные продукты — аморфные порошки. Трифтороацетат соответствующего активированного эфира пептида растворяют в ДМФА (60—80%) и добавляют 1 экв. ТЭА. Через 10 дней прибавляют спирт. Нерастворимую в спирте фракцию отбирают и пересаждают дважды из ДМФА спиртом. Свойства полимеров приведены в табл. 2.

О т щ е п л е н и е к а р б о б е н з о к с и г р у п п ы. N^c-карбобензоксиполимер растворяют в абс. CF₃COOH и пропускают ток сухого HBr 45 мин. Затем добавляют абс. эфир, осадок промывают несколько раз эфиром. Полученный полипептид пропускают через колонку с сефадексом Г-25 (элюант — вода), а затем лиофильно высушивают.

Институт молекулярной биологии
Академии наук СССР
Москва

Поступило
16 IX 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ A. Skalka, *Federat. Proc.*, **23**, 526 (1964). ² D. E. Olins, A. L. Olins, P. H. von Hippel, *J. Mol. Biol.*, **33**, 265 (1968). ³ В. А. Шибнев, К. Т. Порошин, В. С. Гречишко, *Изв. АН СССР, сер. хим.*, **1966**, 283; Т. П. Чуваева, Л. В. Морозова и др., *Докл. АН ТаджССР*, **13**, № 9, 28 (1970). ⁴ В. Д. Давыдов, В. Г. Дебабов, *ЖОХ*, **37**, № 5, 1001 (1967); А. В. Закиров, В. Г. Дебабов, *Хим. природн. соед.*, № 4, 459 (1970); J. Jonson, J. Brian, *J. Chem. Soc.*, C, No 24, 3008 (1968). ⁵ В. А. Шибнев, Т. П. Чуваева и др., *Изв. АН СССР, сер. хим.*, **1969**, 637.