



ИЗЪЕМ РЕДАКТОРУ

УДК 547.962.04

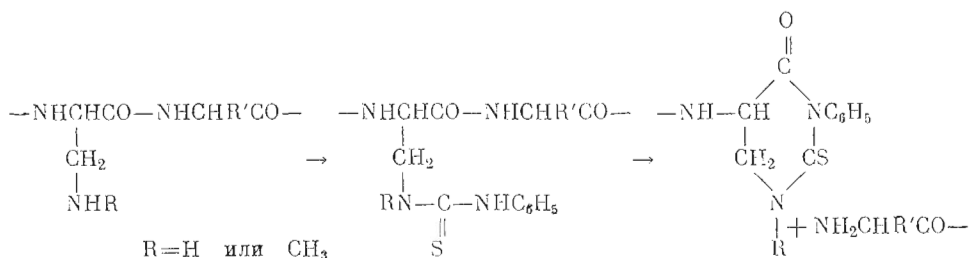
НОВЫЙ МЕТОД СПЕЦИФИЧЕСКОГО РАСЩЕПЛЕНИЯ ПЕПТИДНЫХ СВЯЗЕЙ

Назарова Т. И., Курилова С. А., Аваева С. М.

Межфакультетская лаборатория биорганической химии
Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова

В результате модификаций ряда аминокислотных остатков в белках появляются остатки диаминопропионовой и N^β-метилдиаминопропионовой кислот. Последняя аминокислота, как было установлено ранее одним из нас, возникает при обработке белков растворами метиламина и щелочи за счет реакции с остатками цистина, фосфосерина и O-гликозидных производных серина [1—4]. Диаминопропионовая кислота получается перегруппировкой гидроксаматов функционально важного остатка аспарагиновой кислоты, предварительно превращенного в ацилфосфат или эфир [5—8].

Мы предположили, что обработка белков, содержащих остатки диаминопропионовой или N^β-метилдиаминопропионовой кислот, фенилизотиоцианатом в условиях деградации по Эдману, должна приводить к расщеплению пептидной связи, образованной карбоксильной группой этих диаминокислот:



В отличие от α-аминокислот, превращающихся в тиогидантоилы, производные β-аминокислот образуют замещенные тетрагидропиримидины. Возникающие фрагменты полипептидной цепи могут быть далее разделены и структура их изучена обычными методами. Но в случае невысокого содержания диаминопропионовой кислоты в белках наиболее привлекательным кажется проведение реакции с фенилизотиоцианатом непосредственно в секвенаторе, что позволяет считывание не только N-концевой последовательности, но и последовательности, следующей за модифицированным остатком. При известной первичной структуре это дает возможность лока-

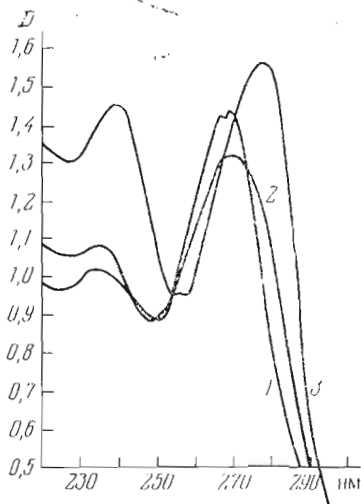
Использованы сокращения аминокислот в соответствии с рекомендациями IUPAC — IUB; Ala (βNH₂) — диаминопропионовая кислота, Ala (βNHCH₃) — N^β-метилдиаминопропионовая кислота.

лизовать модифицируемый остаток в полипептидной цепи. Интерпретация полученных результатов упростится, если в белке до его обработки метиламином и щелочью закрыть α -аминогруппу реакцией ацилирования, динитрофенилирования и т. д.

Справедливость сделанного предположения о деградации пептидных связей показана в реакциях аминокислот и пептидов. В качестве модельных соединений использованы саркозин, β -аланин и N -метил- β -аланин. Обработка этих соединений фенилизотиоцианатом в обычных условиях реакции [9] приводит к 2-метил-3-фенилтиогидантоину, 2-тио-3-фенилтетрагидропиримидинону-4 и 1-метил-2-тио-3-фенилтетрагидропиримидинону-4 соответственно. УФ-спектры этих соединений, приведенные на рисунке, подобны и имеют вид, характерный для всех фенилтиогидантоинов. Измерение констант скорости образования циклических производных показало, что фенилтиокарбамильное производное β -аланина циклизуется сравнительно медленно. Однако метилирование аминогруппы приводит к ускорению реакции и делает ее сравнимой по скорости с образованием фенилтиогидантоинов (таблица).

Применимость предлагаемой реакции продемонстрирована на примере $\text{Glu}^1\text{—Ala}(3\text{NHCH}_3)\text{—Gly}$ и антибиотика виомицина. Трипептид был получен реакцией окисленного глутатиона с метиламином в щелочной среде [1, 2]. Последний обрабатывали фенилизотиоцианатом и далее исследовали поведение полученного фенилтиокарбамильного производного в реакции циклизации. В ходе реакции проходило расщепление пептидной связи с освобождением глицина с константой скорости k , равной $8,1 \cdot 10^{-2} \text{ мин}^{-1}$. Антибиотик виомицин имеет на N -конце β -лизин [10], и его фенилтиокарбамильное производное также вступает в реакцию циклизации с расщеплением пептидной связи. Однако в данном случае, как и в случае свободных аминокислот, реакция протекает значительно медленнее, и ее константа скорости на порядок ниже, чем для трипептида, содержащего N^β -метилдиаминопропионовую кислоту (см. таблицу). Из полученных данных следует, что реакционная способность аминогруппы в пептидах значительно выше, чем в свободной аминокислоте.

Таким образом, в настоящей работе предложен новый метод специфического расщепления пептидных связей, образованных остатками неприродных α , β -диаминопропионовой и N^β -метилдиаминопропионовой кислот.



УФ-спектры 2-метил-3-фенилтиогидантоина (1), 2-тио-3-фенилтетрагидропиримидинона-4 (2) и 1-метил-2-тио-3-фенилтетрагидропиримидинона-4 (3)

Константы скорости реакции циклизации фенилтиокарбамильных производных

Соединение	$k \cdot 10^2, \text{ мин}^{-1}$	$\tau_{1/2}, \text{ мин}$
Ala	1,1	63
β Ala	0,2	315
Me β Ala	1,3	53
$\text{Glu}^1\text{—Ala}(3\text{NHCH}_3)\text{—Gly}$	8,1	8,6
Виомицин	0,8	86,5

Авторы выражают благодарность сотруднику химического факультета МГУ Г. С. Катрухе за любезно предоставленный образец виомицина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Колесникова В. Ю., Скляпкина В. А., Аваева С. М. (1973) Вестн. МГУ. Сер. хим., 3, 380—381.
2. Колесникова В. Ю., Скляпкина В. А., Баратова Л. А., Назарова Т. И., Аваева С. М. (1974) Биохимия, 39, 287—293.
3. Лебедева З. И., Аваева С. М. (1975) Биоорганич. химия, 1, 416—418.
4. Лебедева З. И., Баратова Л. А., Аваева С. М., Медведева И. В., Мирзалипова М. Н., Хорлин А. Я. (1975) Биоорганич. химия, 1, 923—927.
5. Suzuki F., Fukunishi K., Takeda G. (1969) J. Biochem., 66, 767—774.
6. Suzuki F. (1971) Biochemistry, 10, 2707—2710.
7. Brevet A., Roustan C., Desvages G., Pradel L. A., Thoai N. (1973) Eur. J. Biochem., 39, 141—147.
8. Erlanger B. F., Vratsanos S. M., Wasserman N. H., Cooper A. G. (1966) Biochem. and Biophys. Res. Commun., 23, 243—247.
9. Edman R. (1950) Acta chem. scand., 4, 277—282.
10. Lechowski L. (1969) Tetrahedron Lett., 10, 585—592.

Поступила в редакцию
22.VI.1976