**Биосинтез белков**

Каковы же основные формы связи аминокислот в сложной молекуле белка? Ещё в 1891 г. А. Я. Данилевский высказал предположение, что это амидные связи, образованные карбоксилом одной молекулы аминокислоты и аминогруппой другой (поликонденсация типа “голова – хвост”), например:

-H2O

H2N-CH2-C=O +HNHCH2COOH--🡪

\

OH

🡪 H2N-CH2-**CO-NH**-CH2-COOH

(пептидная связь)

Амидные связи этого типа называются пептидными связями,а низкомолекулярные соединения, в которых аминокислоты соединены друг с другом пептидными связями, принято называть пептидами (или полипептидами).

Пептиды образуются при частичном гидролизе белков. Пептидная теория строения белка была развита Э. Фишером и Гофмейстером и в настоящее время окончательно подтверждена.

В зависимости от числа аминокислотных остатков, входящих в молекулу полипептида, различают дипептиды, трипептиды, тетрапептиды и т. д. . Характерную для пептидов группировку

-CO-NH- называют *пептидной*.

Названия полипептидов производят от названий остатков аминокислот, прореагировавших своими карбоксильными группами, и от названия аминокислоты, реагирующей своей аминогруппой и сохраняющей свободную карбоксильную группу:

H2N-CH2-CO-NH-CH(CH3)-COOH

глицилаланин(H-гли-ала-OH)

NH2-CH(CH3)-CO-NH-NH2-CO-NH-CH2-COOH

Аланилглицилглицин(H-ала-гли-гли-OH)

К настоящему времени разработано много методов превращения а-аминокислот в пептиды и синтезированы простейшие природные белки –инсулин, рибонуклеаза, вазопрессин, окситоцин и др.

Для того чтобы соединить две аминокислоты пептидной связью, необходимо: а) закрыть (защитить) карбоксильную группу глицина и аминогруппу аланина, чтобы не произошло нежелательных реакций по этим группам; б) образовать пептидную связь; в) снять защитные группы. Защитные группы должны надёжно закрывать аминную и карбоксильную группы в процессе синтеза и потом легко сниматься без разрушения пептидной связи.

Защита аминогруппы наиболее просто проводится ацилированием:

-HCl

R-COCl+H2N-CH-COOH--🡪R-CO-NH-CH-COOH

| |

CH2 CH3

###### Карбоксильную группу для защиты превращают в сложноэфирную:

-HOH

H2N-CH2-COOH+HOR--🡪 H2N-CH2-COOR

Для образования пептидной связи или активируют карбоксильную группу N-ацилаланина, превращая его в хлорангидрид, или проводят конденсацию в присутствии сильных водоотнимающих веществ (дициклогексилкарбодиимид, этоксиацетилен):

-H2O

R-CO-NH-CH-COOH+HNHCH2-COOR--🡪

|

CH3 гидролиз

🡪 R-CO-NH-CH-CO-NH-CH2-COOR----🡪

|

CH3

🡪 H2N-CH-CO-NH-CH2-COOH

|

CH3

Затем снимают защитные группы в таких условиях, чтобы не затрагивалась пептидная связь. Таким образом можно синтезировать не только ди-, но и три-, и тетрапептиды и т. д. .

Очень перспективный метод синтеза пептидных связей предложил в 1960 г. Мерифильд (США). Этот метод потом получил название *твёрдофазного синтеза пептидов*. Первая аминокислота с защищённой аминогруппой присоединяется к твёрдому носителю – ионнообменной смоле, содержащей первоначально группы –CH2Cl (1-ая стадия), с образованием так называемой “якорной” связи, которая обозначена жирной линией: (1)-NaCl

Смола-CH2Cl+NaOOC-CHR-NHCOR’🡪Смола- -CH2O-C-CHR-NHCOR’🡪Смола-CH2O-C-CHR-

|| ||

O O

+HOOC-CHR’’-NHOR(3)

-NH2-----------🡪Смола-CH2O-C-CHR-

||

(4) O

-NHCO-CHR’’-NHCOR’🡪Смола-CH2O-C-CHR--NHCO-CHR’’-NH2 и т. д. ||

O

Затем наращивают пептидную цепь, пропуская через смолу растворы соответствующих реагентов. Для этого сначала убирают группу, защищающую конечную NH2 – группу (2-ая стадия). Пропуская через смолу раствор другой аминокислоты с защищённой аминогруппой в присутствии водоотнимающих реагентов, образуют пептидную связь между первой и второй аминокислотой (3-я стадия). Если затем убрать защитную группу (4-ая стадия), синтез пептида можно вести далее. После наращивания пептидной цепи до нужной величины гидролизуют “якорную” сложноэфирную связь и смывают полипептид со смолы:

HBr

Смола-CH2O-CO-CHR-NH…CO-CHR’NH2---🡪

🡪Смола-CH2OH+HOOCCHRNH…COCHR’NH2

Полипептид

Метод Мерифильда прост в техническом оформлении, что позволяет полностью автоматизировать процесс. Поэтому, хотя вышеупомянутые белки инсулин(51 аминокислота) и рибонуклеаза(124 аминокислоты) были синтезированы классическими методами, метод Мерифильда позволяет значительно сократить затраты труда и времени на синтез белков. Так, рибонуклеаза была синтезирована Мерифильдом в 1968 г. менее чем за месяц, хотя синтез включал 369 последовательных реакций.

# Чеботарёв А. 11п1