

СИНТЕЗ СОЕВЫХ ПЕПТИДНЫХ ЭЛИСИТОРОВ DHPRGGNY И DLPRGGNY

Е.М.Ермола, Ю.А.Соколов, В.П.Мартинovich, В.П.Голубович

Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Республика Беларусь,
ermola.e@tut.by

Применение различных элиситоров для защиты растений постепенно становится одним из эффективных приёмов растениеводства, которое не сказывается отрицательно на экологии, безопасно для человека [1, 2]. Относительно небольшая стоимость и очень низкие нормы расхода элиситоров делают их применение экологически и экономически выгодным. Но самое главное состоит в том, что элиситоры действуют не на патогена или вредителя, а на растение и позволяют ему полнее реализовать свой генетический потенциал устойчивости, в результате чего растение справляется с инфекцией и вредителями с помощью собственных метаболитов, включая летучие вещества для привлечения их естественных врагов. Большинство идентифицированных до сих пор элиситоров относятся к олигосахаридам и полисахаридам, белкам и олигопептидам, гликопротеидам, липидам и гликолипидам, брассиностероидам, а также некоторым другим классам соединений. Основное внимание в проводимых исследованиях уделяется элиситорам олигосахаридной природы – хитозану, глюканам. В значительно меньшей степени исследованы пептидные элиситоры, так как их начали идентифицировать сравнительно недавно. Они обладают рядом особенностей и поэтому интерес к ним в самое последнее время значительно вырос.

Поиск пептидных элиситоров в различных видах растений привёл к обнаружению нескольких семейств пептидов, связанных с защитой. Так, в частности, из листьев сои были выделены и идентифицированы два пептида [3], которые в наномолярных концентрациях способны к алкализации (ощелачиванию) среды клеточной суспензии - отклику, который в целом ассоциируется с защитными пептидами. Эти пептиды были названы GmPep914 (DHPRGGNY) и GmPep890 (DLPRGGNY). Они активируют экспрессию известных связанных с патогенезом защитных PR- генов, таких как *CYP93A1*, *CHIB1-1*, *GMACHS*, *PDR12* [4, 5], вовлечённых в выработку различных фитоалексинов и другие защиты растений. Эти пептиды являются самыми маленькими по размерам, найденными к сегодняшнему дню среди пептидных элиситоров.

Целью настоящей работы являлся разработка схемы синтеза соевых эндогенных пептидных элиситоров DHPRGGNY и DLPRGGNY. Также был проведен синтез DLPRGGNY и оформлен лабораторный технологический регламент.

Схема синтеза октапептидов общей формулы H-Asp-Xaa-Pro-Arg-Gly-Gly-Asn-Tyr-OMe включает 12 стадий и представлена ниже, где Xaa - His или Leu. Заключительной стадией является гидрирование защищенных пептидов над катализатором – палладиевой чернью, в растворе уксусной кислоты. Пептиды получают классическими методами пептидного синтеза, с использованием водородолабильных защит для блокирования боковых функциональных групп аминокислот: бензильной – для β -карбоксила аспарагиновой кислоты и нитрогруппы – для гуанидиновой группы аргинина. Пептидные цепи создаются последовательным присоединением N^{α} -третбутилоксикарбониламинокислот или дипептидов к C-концевым фрагментам. В качестве конденсирующих агентов при образовании пептидной связи используются дициклогексилкарбодиимид и диизопропилкарбодиимид, в качестве противорацемической добавки – 1-оксибензотриазол. Отщепление третбутилоксикарбонильной защиты проводится обработкой пептидов 3,5 – 5,0 н. раствором HCl в этилацетате.

Чистота и структура синтезированных пептидов и промежуточных соединений с защитными группами подтверждаются методами масс-спектрометрии, ТСХ, ВЭЖХ. Оптическое вращение пептидов измеряется на спектрополяриметре J-20 (Jasco, Япония).

Масс-спектры с химической ионизацией соединений при атмосферном давлении регистрируются на масс-хроматографе Accela LCQ Fleet (Thermo Scientific, США).

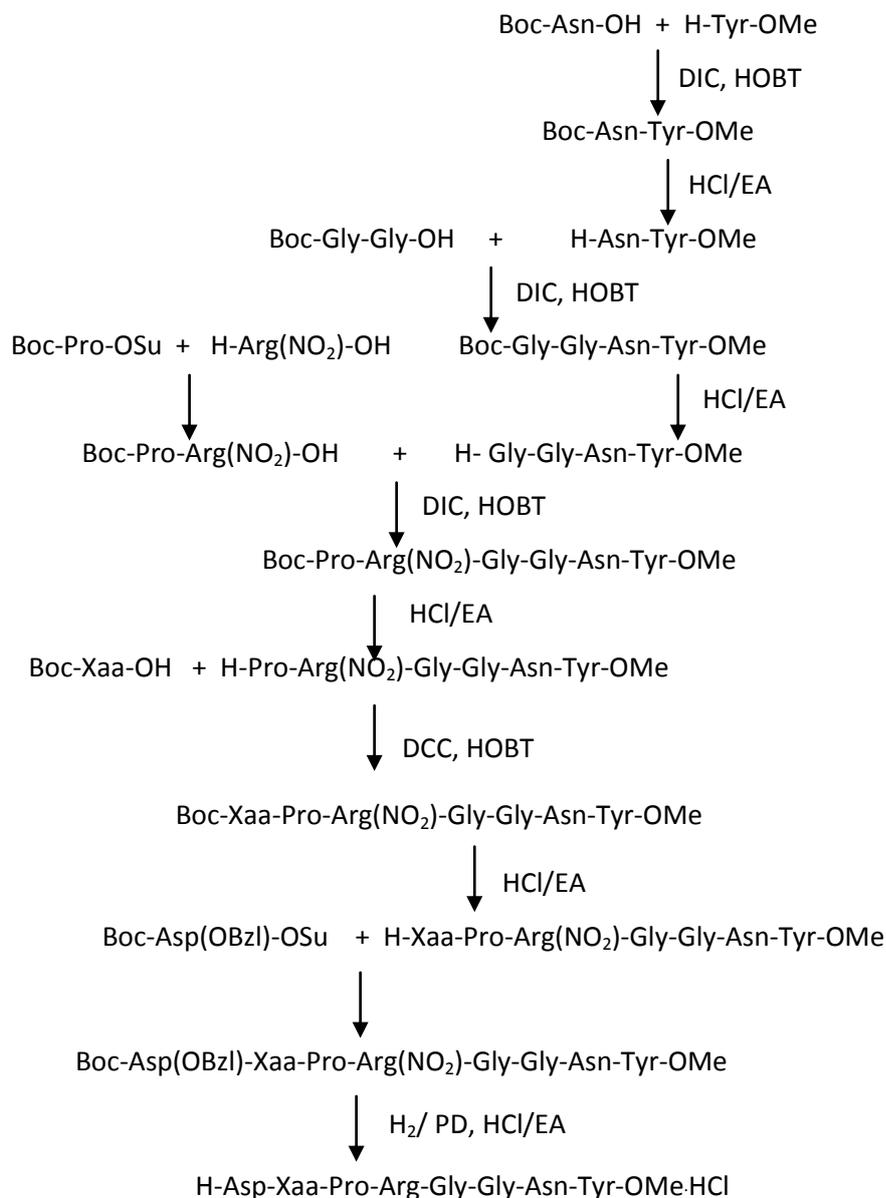


Схема синтеза соевых эндогенных пептидных элиситоров DHPRGGNY и DLPRGGNY

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Mackey D., et al. Arabidopsis RIN4 is a target of the type III virulence effector AvrRpt2 and modulates RPS2-mediated resistance // *Cell*. 2003, 112, 379-389.
- [2] Howe G. A. Jasmonates as signals in the wound response // *J. Plant Growth Regul.* 2004, 23, 223-237.
- [3] Yamaguchi Y., et al. GmPep914, an eight-amino acid peptide isolated from soybean leaves, activates defense-related genes // *Plant Physiol.* 2011, 156, 932-942.
- [4] Pearce G., et al. A subtilisin-like protein from soybean contains an embedded, cryptic signal that activates defense-related genes // *PNAS USA*. 2010, 107, 14921-14925.
- [5] Suzuki G., et al. Induction of a novel cytochrome P450 (CYP93 family) by methyl jasmonate in soybean suspension-cultured cells // *FEBS Lett.* 1996, 383, 83-86.

SYNTHESIS OF PEPTIDE SOYBEAN ELICITOR DHPGGNY and DLPRGGNY
Y.M.Ermola, Y.A. Sokolov, V.P. Martsinovich, V.P. Golubovich

Summary

The schemes of synthesis of soybean endogenous peptide elicitors DHPGGNY and DLPRGGNY developed. Classical methods of peptide synthesis by the sequential addition of N^α-protected amino acids or di-peptides to the C-terminal fragment obtained oktapeptide DLPRGGNY.