

М. Т. Бобровская, Н. В. Латышко, Т. Л. Левитина,  
О. С. Мирошниченко, Л. В. Гудкова, Э. А. Козлов

## СТРОЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ПЕПТИДОВ, ПОЛУЧЕННЫХ РАСЩЕПЛЕНИЕМ КАТАЛАЗЫ ГРИБА *PENICILLIUM VITALE* СТАФИЛОКОККОВОЙ ПРОТЕИНАЗОЙ

*Установлено строение 38 пептидов, полученных из продукта расщепления каталазы гриба *P. vitale* стафилококковой протеиназой. Пептиды включают в сумме 467 остатков аминокислот. Из 38 пептидов 16 имеют полностью или частично перекрывающиеся последовательности. Неперекрывающиеся аминокислотные последовательности насчитывают 334 остатка аминокислот.*

**Введение.** В предыдущем сообщении опубликованы результаты разделения и получения индивидуальных пептидов из продукта гидролиза каталазы *P. vitale* стафилококковой протеиназой (Sp) [1]. Там же приведены аминокислотные составы и N-концевые остатки Sp-пептидов. В настоящей работе описан метод установления строения некоторых из этих пептидов.

**Материалы и методы.** Пептиды, содержащие по несколько остатков основных аминокислот (Lys и Arg), субфрагментировали трипсином, как описано [2]. Субфрагменты разделяли высоковольтным электрофорезом на бумаге FN17 («Filtrak», Германия) в электролитах ЭФ1 и ЭФ2. Условия электрофореза и электролиты приведены в работе [3]. Аминокислотный состав определяли на анализаторе аминокислот ААА-339 (Чехословакия). Пептиды гидролизовали в вакууме в 5,7 н. HCl с добавкой фенола в течение 24 ч. N-концевую последовательность аминокислотных остатков выясняли ручным методом Эдмана по [4].

**Результаты и обсуждение.** В таблице представлено строение Sp-пептидов. На некоторых из них проводили несколько стадий (указано стрелками) деградации по Эдману ручным методом. Для установления полной аминокислотной последовательности Sp-пептиды расщепляли трипсином. Аминокислотные составы триптических пептидов сравнивали с таковыми триптических пептидов каталазы *P. vitale* [2, 5], строение которых было известно ранее [5]. Аминокислотную последовательность выписывали при идентичности сравниваемых аминокислотных составов. Расположение триптических пептидов в каждом Sp-пептиде определяли, исходя из данных по N-концевой последовательности Sp-пептида и общего положения о том, что триптический пептид, не содержащий остатков Lys и Arg, расположен в C-концевой части Sp-пептида. Аминокислотный состав реконструированных таким путем Sp-пептидов сравнивали с аминокислотным составом опубликованных ранее Sp-пептидов [1]. В некоторых случаях состав, выведенный из строения, отличался в пределах допустимых ошибок от такового, полученного гидролизом пептидов.

Всего выяснено строение 38 пептидов, включающих в сумме 467 остатков аминокислот. 12 пептидов (подчеркнуты в таблице сплошной линией) входят в состав больших и имеют перекрывающиеся с ними последовательности. Четыре пептида (подчеркнуты пунктиром) имеют частично перекрывающиеся последовательности. У 22 пептидов уникаль-

Пептид	Строение	Число остатков
Sp1	His-Arg-Phe-Ser-His-Trp-Lys-Phe-Gly-Val-Asn-Gly-Phe-Val-His- Thr-Arg-Asn-Asp-Asp-Asn-Val-Thr-His-Ala-Arg-Gly-Phe-Phe-Thr- Ala-Pro-Glu	33
Sp2	Arg-Gln-Gln-Gln-Lys-Lys-Arg-Ala-Val-Ala-Asp	11
Sp3	Gly-Ser-Pro-Lys-Ala-Tyr-Ser-Asn-Thr-Glu-Pro-Asp	12
Sp4	Arg-Ala-Val-His-Ala-Arg-Gly-Thr-Gly-Ala-His-Gly-Thr-Phe-Leu- Ser-Tyr-Gly-Asp-Trp-Ser-Asn-Leu-Thr-Ala-Ala-Ser-Phe-Leu-Ser- Ala-Glu	32
Sp6	Lys-Leu-Ala-Lys-Leu-Asp	6
Sp12	Gly-Ala-Arg-Gly-Ala-Thr-Leu-Leu-Gln-(Asx, Thr, Leu <sub>2</sub> , Phe)-Glu-	15
Sp13	Gly-Val-(Glx <sub>5</sub> , Val, Ile, Leu)-Arg-Phe-Gly-Phe-Asp-Leu-Pro- Leu-Asp-Thr-Lys-Gln-Val-Leu-Asn-Ser-Ala-Met-Gly-Met-Phe-Glu	28
Sp14	Leu-Pro-Leu-Asp-Thr-Lys-Gln-Val-Leu-Asn-Ser-Ala-Met-Glu-Met- Phe-Glu	17
Sp15	Trp-Gly-Ala-Lys-Gln-(Asn, Thr, Gln, Gly, Ala, Val)-Lys-Asp- Ile-Lys-Phe-Asp-Glu	18
Sp16	Ala-Pro-Ile-His-Asn-Asp-Asp-Arg-Asp-Gly-Ala-Gly-Glu-Met-Ile- Asp	16
Sp17	Met-Ile-Asp	3
Sp18	Phe-Ala-Val-Asp-Gln	5
Sp20	Val-Ile-Ile-Glu-Thr-Leu-Met-Ala-His-Ala-Lys-Glu	12
Sp21	Ile-Gln-Ser-Met-(Asn <sub>2</sub> , Ser, Phe)-Asp-Arg-Glu	11
Sp22	Ile-Gln-Ser-Met-(Asn <sub>2</sub> , Ser, Phe)-Asp	9
Sp23	Leu-Gly-Val-Glu	4
Sp24	Leu-Pro-Leu-Asp	4
Sp25	Ser-Ile-Glu	3
Sp26	Gly-Gln-Ala-Asn-Ser-Asp-Glu	7
Sp27	Met-Ile-Asp-Leu-Pro-Pro-Phe	7
Sp28	Ala-Val-Asp-Glu	4
Sp30	Ala-Asn-Ser-Val-Asn-Glu	6
Sp31	Ile-Glu-Met-Leu-Phe-Asp-Glu	7
Sp32	Asp-Leu-Phe-Glu-Ser-Ile-Glu	7
Sp33	Gln-Gly-Pro-Glu-Leu-Gly-Val-Glu-Asp-Leu-Phe-Glu-Ser-Ile-Glu- Ala-Val-Asp-Glu-Gly-(Thr, Glx, Leu, Tyr)-Glu-Ile-Gln-Ser-Met- (Asx <sub>2</sub> , Ser, Phe)-Asp	34
Sp34	Leu-Gly-Val-Glu-Asp-Leu-Phe-Glu-Ser-Ile-Glu-Ala-Val-Asp-Glu- Gly-(Thr, Glx, Leu, Tyr)-Glu	21
Sp35	Thr-Gln-Glu	3
Sp36	Ala-Trp-Arg-Phe-Pro-Glu-Gln-Gly-Pro-Glu	10
Sp37	Ala-Trp-Arg-Phe-Pro-Glu-Gln-Gly-Pro-Glu-Leu-Gly-Val-Glu- Asp-Leu-Phe-Glu-Ser-Ile-Glu	21
Sp39	Ser-Asp	2
Sp40	Met-Gln-Val-Asn-Ala-Asp	6
Sp41	Gly-(Thr, Glx, Leu, Tyr)-Glu-Ile-Gln-Ser-Met-(Asn <sub>2</sub> , Ser, Phe)- Asp-Arg-Glu	17
Sp42	Ile-Lys-Phe-Asp-Glu	5
Sp43	Thr-Ala-Arg-Asp-Val-His-Gly-Phe-Ala-Thr-Arg-Phe-Tyr-Val-Asp- Glu	16
Sp44	Leu-Ala-Gln-Gly-Ser-Gln-Ile-Ser-Ser-Gln-Arg-(Lys, His, Arg, Gly <sub>2</sub> , Ala, Val, Leu)-Met-Phe-Thr-Glu	23
Sp45	Asp-Ile-Phe-Ala-Phe-Asp-Arg-Glu	8
Sp46	Arg-Val-Pro-Glu	4
Sp47	Leu-Gly-Lys-Phe-Ser-Arg-Phe-Glu-Leu-Met-Gln-Asp-Gly-Val-(Val, Ile)-Glu	17

ное строение, они насчитывают в сумме 321 остаток. Все уникальные аминокислотные последовательности в Sr-пептидах включают в сумме 334 остатка аминокислот, что составляет 50 % длины полипептидной цепи каталазы по данным рентгеноструктурного анализа [6].

*М. Т. Бобровська, Н. В. Латишко, Т. Л. Левітіна,  
О. С. Мірошніченко, Л. В. Гудкова, Е. А. Козлов*

#### ПОБУДОВА ДЕЯКИХ ПЕПТИДІВ, ОТРИМАНИХ РОЗЩЕПЛЕННЯМ КАТАЛАЗИ ГРИБА *PENICILLIUM VITALE* СТАФІЛОКОКОВОЮ ПРОТЕІНАЗОЮ

##### Резюме

Розщепленням трипсином і ручним методом секвенування встановлено побудову 38 пептидів, що містять в сумі 467 залишків амінокислот. 16 пептидів мають послідовності, що повністю або частково перекриваються. Амінокислотні послідовності, що не перекриваються, нараховують 334 залишки.

*M. T. Bobrovskaya, N. V. Latischko, T. L. Levitina,  
O. S. Miroshnichenko, L. V. Gudkova, E. A. Kozlov*

#### THE STRUCTURE OF SOME PEPTIDES OBTAINED BY MEANS OF CLEAVAGE OF *PENICILLIUM VITALE* CATALASE BY *STAPHYLOCOCCUS* PROTEINASE

##### Summary

The structure of 38 peptides was determined by means of tryptic hydrolysis of the peptides and sequencing by manual Edman degradation method. 38 peptides include 467 amino acid residues. 16 peptides have completely or partially overlapping amino acid sequences. Non-overlapping sequences of the peptides comprise 334 amino acid residues.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Латишко Н. В., Левитина Т. Л., Мірошніченко О. С. і др. Выделение и аминокислотный состав пептидов, образовавшихся при расщеплении каталазы гриба *Penicillium vitale* стафилококковой протеиназой // Биополимеры и клетка.— 1993.— 9, № 3.— С. 38—42.
2. Козлов Э. А., Кириленко М. Т., Левитина Т. Л. и др. Триптические пептиды каталазы гриба *Penicillium vitale*. 1. Разделение и аминокислотный состав растворимых пептидов // Там же.— 1987.— 3, № 5.— С. 240—245.
3. Левитина Т. Л., Гусак Н. М., Родник Н. В. и др. Бромциановые фрагменты каталазы гриба *Penicillium vitale* // Там же.— 1989.— 5, № 5.— С. 555—563.
4. Гусак Н. М., Овандер М. Н., Дробот Л. Б., Серебряный С. Б. Определение структуры пептидов комбинированным методом дансил-Эдман // Методы молекуляр. биологии.— К.: Наук. думка, 1979.— С. 142—154.
5. Козлов Э. А., Гудкова Л. В., Левитина Т. Л. и др. Дополнительное исследование триптических пептидов каталазы гриба *Penicillium vitale* // Биополимеры и клетка.— 1993.— 9, № 1.— С. 22—25.
6. Vainshtein B. K., Melik-Adamyants W. R., Barynin V. V. et. al. Three-dimensional structure of catalase from *Penicillium vitale* at 2 Å resolution // J. Mol. Biol.— 1986.— 188, N 1.— P. 49—61.

Ин-т молекуляр. биологии и генетики АН Украины, Киев  
Ин-т биохимии им. А. В. Палладина АН Украины, Киев

Получено 20.10.93