

5. *Wettstein F. D., Staechelin T., Noll H.* Ribosomal aggregate engaged in protein synthesis characterization of the ergosomes // *Nature*.—1963.—197, N 4866.—P. 430—437.
6. *Laemmli U. K.* Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // *Nature*.—1970.—227, N 5259.—P. 680—685.
7. *Schreiber S. S., Oratz M., Rothschild M. A.* Post ischemic reperfusion and anoxic perfusion in the isolated heart: alteration in distribution of radionuclides and in protein synthesis // *J. Physiol.*—1980.—76, N 7.—P. 777—784.
8. *White F. P., White S. R.* Isoproterenol induced myocardial necrosis is associated with stress protein synthesis in rat heart and thoracic aorta // *Cardiovasc. Res.*—1986.—20, N 7.—P. 512—515.
9. *Currie R. W.* Effect of ischemia and perfusion temperature on the synthesis of stress-induced (heat shock) proteins in isolated and perfused rat hearts // *J. Mol. and Cell. Cardiol.*—1987.—18, N 8.—P. 795—808.
10. *Havre P. A., Hammond G. L.* Isolation of a translation-inhibiting peptide from myocardium // *Amer. J. Physiol.*—1988.—255, N 5.—P. H1024—H1031.
11. *Prashkevichius A., Maskoliunas R., Stapulionis R. et al.* Protein biosynthesis machinery under myocardial ischemia // *Exp. Biol.*—1990.—N 1.—P. 47—55.

Каунас. мед. академия, Литовская Республика

Получено 05.05.92

УДК 577.112.5

Э. А. Козлов, Л. В. Гудкова, Т. Л. Левитина,  
М. Т. Кириленко, О. С. Мирошниченко

### ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТРИПТИЧЕСКИХ ПЕПТИДОВ КАТАЛАЗЫ ГРИБА PENICILLIUM VITALE

Дополнительно к ранее опубликованным пептидам из триптического гидролизата каталазы гриба *P. vitale* выделено 26 пептидов, включающих 364 остатка аминокислот. Установлено их полное или частичное строение. Всего из каталазы выделено 68 пептидов, насчитывающих в сумме 630 остатков. 65 пептидов имеют уникальные последовательности и включают 595 остатков (86% полипептидной цепи белка).

**Введение.** Ранее [1, 2] нами был выделен ряд пептидов из триптического гидролизата каталазы гриба *P. vitale* и установлено полное или частичное строение 43 пептидов [3], насчитывающих в сумме 305 остатков аминокислот. Мы продолжили работу по выделению и изуче-

Таблица 1

Аминокислотный состав триптических пептидов каталазы

Аминокислота	T 1	T 2	T 4	T 5	T 6	T 11	T 16	T 17	T 22	T 23	T 29	T 36
Lys	0,8(1)	1,0(1)	2,0(2)	—	1,0(1)	—	2,0(2)	—	1,0(1)	1,0(1)	—	—
His	—	0,7(1)	1,2(2)	0,8(1)	—	—	—	—	—	—	—	—
Arg	—	—	—	2,0(2)	—	1,0(1)	—	1,0(1)	—	—	1,0(1)	2,0(2)
Asp	4,9(5)	2,1(1)	2,7(3)	1,9(2)	2,1(2)	0,9(1)	—	—	1,0(1)	1,8(2)	1,0(1)	0,8(1)
Thr	0,9(1)	2,7(3)	2,5(3)	—	0,9(1)	—	1,8(2)	—	0,9(1)	—	—	3,0(3)
Ser	1,6(2)	3,4(4)	2,3(3)	—	0,7(1)	3,3(4)	0,7(1)	0,8(1)	0,7(1)	0,8(1)	—	1,5(2)
Glu	3,2(3)	1,9(2)	3,2(3)	2,1(2)	4,1(4)	2,9(3)	1,1(1)	—	1,2(1)	—	1,0(1)	2,1(2)
Pro	—	—	2,6(3)	3,0(3)	2,1(2)	—	1,0(1)	1,1(1)	1,0(1)	1,0(1)	1,0(1)	1,0(1)
Gly	2,6(3)	3,8(4)	3,1(3)	2,2(2)	3,2(3)	1,7(2)	—	2,1(2)	—	1,2(1)	—	1,1(1)
Ala	5,1(5)	4,1(4)	4,2(4)	—	3,1(3)	1,1(1)	—	2,0(2)	—	—	—	1,2(1)
1/2 Cys	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Val	2,5(3)	—	1,5(2)	—	1,0(1)	—	—	—	1,0(1)	—	—	0,5(1)
Met	0,8(1)	—	—	—	0,8(1)	—	—	—	—	—	—	1,2(2)
Ile	—	—	1,7(2)	1,0(1)	1,0(1)	1,0(1)	—	—	—	—	—	—
Leu	1,1(1)	3,1(3)	—	1,0(1)	1,0(1)	1,0(1)	—	1,0(1)	—	—	1,0(1)	0,5(1)
Tyr	0,9(1)	0,8(1)	0,6(1)	—	—	—	—	0,8(1)	—	—	—	—
Phe	1,7(2)	1,8(2)	2,0(2)	1,1(1)	1,9(2)	—	0,9(1)	—	0,7(1)	—	—	1,6(2)
Trp	—	+(1)	—	—	-(1)	—	—	—	—	—	—	—
Всего	28	28	33	15	24	14	8	9	8	6	5	19

нию строения триптических пептидов. Результаты этих исследований, изложенные в данном сообщении, вместе с результатами проводимых в настоящее время в нашей лаборатории исследований по триптическим пептидам малеил-каталазы, бромциановым фрагментам и пептидам, полученным из гидролизата каталазы стафилококковой протеиназой, помогут нам реконструировать полипептидную цепь каталазы гриба *P. vitale*, включающую около 700 остатков аминокислот [4].

**Материалы и методы.** Методы выделения пептидов из триптического гидролизата каталазы описаны нами ранее [1—3]; выяснение первичной структуры пептидов осуществляли по [3].

**Результаты и обсуждение.** Методом высоковольтного (в/в) электрофореза и хроматографии на бумаге, а также пептидным картированием мы продолжили выделение триптических пептидов из ранее полученных фракций триптического гидролизата каталазы [1, 2]. Кроме того, известные пептиды Т6, Т23, Т41, Т42, Т55, Т56 и Т57 [3] были дополнительно очищены или разделены хроматографией на бумаге. Таким образом, выделены 53 пептида, у 26 из которых аминокислотный состав либо не имел аналогов, либо отличался на один — два аминокислотных остатка. Аминокислотные составы этих пептидов приведены в табл. 1. Нумерация пептидов соответствует опубликованной ранее [3], и по ней можно судить, состав или строение каких пептидов исправлен, а какие пептиды были выделены заново. 26 пептидов включают 364 остатка аминокислот. У семи пептидов определен только N-концевой остаток аминокислоты. Строение 17 пептидов выясняли прямым ручным секвенированием. Два пептида подвергали субфрагментации химотрипсином с последующим разделением субфрагментов в/в электрофорезом, хроматографией на бумаге и секвенированием субфрагментов.

Пептид Т5. После расщепления химотрипсином выделен один пептид. Его строение Arg-Pro-Pro-Asn-Arg.

Пептид Т36. После расщепления химотрипсином, в/в электрофорезом и хроматографией было получено три пептида и установлено их строение: Asn-Gly-(Thr, Ser, Ala, Met)-Met; Gln-Val-Leu-(Asn, Thr<sub>3</sub>, Ser, Glu, Gly, Ala, Met<sub>2</sub>, Phe)-Phe и Arg-Pro-Ser-Arg. Сумма аминокислотных составов второго и третьего пептида равна аминокислотному составу Т36 (см. табл. 1). Ясно, что первые два пептида перекрываются, а третий — занимает C-концевое положение в Т36.

Т 41	Т 52	Т 55	Т 56	Т 57	Т 60	Т 61	Т 62	Т 63	Т 64	Т 65	Тн 1	Тн 2	Тн 3
1,0(1)	—	2,0(2)	1,0(1)	1,0(1)	—	—	—	1,0(1)	1,0(1)	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	0,7(1)	0,8(1)	—	—	0,6(1)	—	—
—	1,0(1)	—	—	—	1,0(1)	1,0(1)	1,0(1)	1,0(1)	—	(1)	1,0(1)	1,0(1)	2,0(2)
1,9(2)	—	—	—	—	—	1,0(1)	2,9(3)	0,8(1)	2,0(2)	—	2,2(2)	0,9(1)	4,8(5)
0,9(1)	—	—	—	—	0,8(1)	—	0,9(1)	0,8(1)	—	—	—	—	0,9(1)
—	0,7(1)	—	—	—	—	—	2,4(3)	—	—	—	—	0,6(1)	2,3(3)
—	—	3,0(3)	2,0(2)	1,0(1)	—	5,3(5)	3,1(3)	—	—	—	3,1(3)	4,1(4)	10,1(10)
—	—	—	—	—	—	—	2,0(2)	—	—	—	1,0(1)	1,0(1)	2,0(2)
1,2(1)	—	—	—	2,1(2)	—	1,1(1)	2,2(2)	2,2(2)	—	—	2,1(2)	1,2(1)	3,1(3)
—	—	—	2,1(2)	—	—	—	2,1(2)	—	—	—	1,0(1)	1,5(2)	0,9(1)
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,6(1)	—	—	—	1,0(1)	—	1,2(2)	2,2(3)	2,0(2)	—	—	1,2(2)	1,0(1)	1,9(2)
—	—	—	—	—	—	0,7(1)	—	—	—	—	1,3(2)	—	0,9(1)
—	—	—	—	—	—	1,5(2)	1,0(1)	—	—	—	2,2(3)	1,3(2)	1,9(2)
0,6(1)	—	—	—	—	—	1,4(2)	1,5(2)	—	—	—	1,0(1)	2,1(2)	4,1(4)
—	—	—	—	0,7(1)	—	—	0,9(1)	—	—	—	—	—	0,5(1)
—	0,8(1)	—	0,9(1)	—	0,9(1)	0,8(1)	2,2(2)	1,9(2)	—	—	1,9(2)	1,5(2)	2,6(3)
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+(1)	+(1)
7	3	5	6	6	3	16	27	11	3	1	21	19	41

Таблица 2  
Строение триптических пептидов каталазы

Пептид	Строение	Число остатков
T1	Met-Phe-Thr-Gly-(Asx <sub>3</sub> , Ser <sub>2</sub> , Glx <sub>3</sub> , Gly <sub>2</sub> , Ala <sub>5</sub> , Val <sub>3</sub> , Leu, Tyr, Phe)-Lys	28
T2	Gly-Thr-Gly-Ala-(Asx <sub>2</sub> , Thr <sub>2</sub> , Ser <sub>4</sub> , Glx <sub>2</sub> , Gly <sub>2</sub> , Ala <sub>3</sub> , Leu <sub>3</sub> , Tyr, Phe <sub>2</sub> , Trp, His)-Lys	28
T3	Val-Gly-Leu-Leu-Ala-Ser-Val-Asn-Lys-(Ser, Pro, Ala, Ile)- Gln-Gly-Ala-Ala-Lys	18
T4	Ala-Ile-Gly-Val-Glu-(Asx <sub>3</sub> , Thr <sub>3</sub> , Ser <sub>3</sub> , Glx <sub>2</sub> , Pro <sub>3</sub> , Gly <sub>2</sub> , Ala <sub>3</sub> , Val, Ile, Tyr, Phe <sub>2</sub> , Lys, His <sub>2</sub> )-Lys	33
T5	His-Gly-Pro-Asn-Ile-Gln-Gln-Leu-Gly-Phe-Arg-Pro-Pro- Asn-Arg	15
T6	Asp-Gly-Ala-Gly-Glu-Met-(Asx, Pro <sub>2</sub> , Ile, Leu, Phe)-Ala- Ser-Phe-(Thr, Glx <sub>3</sub> , Val)-Trp-Gly-Ala-Lys	24
T7	Gln-(Asn, Thr, Gln, Gly, Ala, Val)-Lys	8
T8	Asp-Gly-Ala-Gly-Glu-Met-(Asx, Pro <sub>2</sub> , Ile, Leu, Phe)	12
T9	Gly-Val-Asx-Phe-Thr-Glx-Asx-Pro-Leu-Leu-Gln-Gly-Arg	13
T10	Phe-Ala-Val-Asp-Gln	5
T11	Gly-Asn-Ser-Leu-Ala-(Ser, Glx <sub>2</sub> , Gly)-Ile-(Ser <sub>2</sub> , Glx)-Arg	14
T12	Glu-Val-Thr-Gln-Gly-Ile-(Pro <sub>2</sub> , Val <sub>2</sub> , Ile, Leu <sub>2</sub> )-Lys	14
T13	Gly-Ser-Ala-Asp-Thr-Ala-Arg	7
T14	Ala-Tyr-Ser-Asn-Thr-Glu-Pro-Asn-Lys	9
T15	Ala-Ser-Phe-(Thr, Glx <sub>3</sub> , Val)-Trp-Gly-Ala-Lys	12
T16	Lys-Pro-Glu-(Thr <sub>2</sub> , Ser, Phe)-Lys	8
T17	Tyr-(Ser, Pro, Gly <sub>2</sub> , Ala <sub>2</sub> , Leu)-Arg	9
T18	Asp-Ile-Lys	3
T19	Leu-Asp-Leu-Gly-Lys	5
T20	Thr-Ala-(Ser, Gly)-Lys	5
T21	Gly-(Ala, Val)-Leu-Gly-Lys	6
T22	Phe-Asn-(Thr, Ser, Gln, Pro, Val)-Lys	8
T23	Gly-(Asp, Asn, Ser, Pro)-Lys	6
T24	Gly-Ser-Pro-Lys	4
T25	Gly-Leu-Gln-Gly-Lys	5
T26	Ala-Pro-Ile-His-Asx-Asx-Asx-Arg	8
T27	Gln-Lys	2
T28	Thr-Pro-Lys	3
T29	Gln-(Asn, Pro, Leu)-Arg	5
T30	Val-Pro-Glu-Arg	4
T31	Phe-Gly-Phe-Asp-Leu-Pro-Leu-Asp-Thr-Lys	10
T32	Asx-Ala-Phe-Met-Asx-Arg	6
T33	Met-(Thr <sub>2</sub> , Glu, Pro, Phe)-Arg	7
T34	Gly-Phe-Phe-Thr-Ala-Pro-Glu-Arg	8
T35	Val-Ala-Lys	3
T36	Gln-Val-Leu-Asn-Gly-(Thr, Ser, Ala, Met)-Met-(Thr <sub>2</sub> , Glu, Phe)-Phe-Arg-Pro-Ser-Arg	19
T37	Ser-Ser-Val-Val-Arg	5
T38	Phe-Ser-Thr-Val-Ser-Gly-Ala-Arg	8
T39	Leu-Phe-Ser-Tyr-Leu-Asp-Thr-Gln-Leu-Asn-Arg	11
T40	Gln-(Asn, Met, Leu)-Arg	5
T41	Leu-Val-Thr-Asp-Asn-Gly-Lys	7
T42	Leu-Ala-Lys	3
T43	Asp-Val-His-Gly-Phe-Ala-Thr-Arg	8
T44	His-Arg	2

Пептид	Строение	Число остатков
T45	Leu-Val-Lys	3
T46	Thr-Lys	2
T47	Phe-(Asp, Leu)-Arg	4
T48	Phe-Asp-(Glu, His)-Arg	5
T49	Leu-Gln-Arg	3
T50	Ile-Gln-Arg	3
T51	Phe-Gly-Val-Asn-Gly-Phe-Val-His-Thr-Arg	10
T52	Phe-Ser-Arg	3
T53	Phe-(His, Pro, Leu)-Arg	5
T54	Phe-Ser-His-Trp-Lys	5
T55	Gln-Gln-Gln-Lys-Lys	5
T56	Ala-(Gln <sub>2</sub> , Ala, Phe)-Lys	6
T57	(Glu, Gly <sub>2</sub> , Val, Tyr)-Lys	6
T58	Ala-Val-His-Ala-Arg	5
T59	Phe-Gly-Lys	3
T60	Thr-Phe-Arg	3
T61	Phe-(Asx, Glx <sub>3</sub> , Gly, Val <sub>2</sub> , Met, Ile <sub>2</sub> , Leu <sub>2</sub> )-Arg	16
T62	(Asx <sub>3</sub> , Thr, Ser <sub>3</sub> , Glx <sub>3</sub> , Pro <sub>2</sub> , Gly <sub>2</sub> , Ala <sub>2</sub> , Val <sub>3</sub> , Ile, Leu <sub>2</sub> , Tyr, Phe <sub>2</sub> , His)-Arg	27
T63	Lys-Phe-Gly-Val-Asn-Gly-Phe-Val-His-Thr-Arg	11
T64	Asn-Asn-Lys	3
T65	Arg	1
Tn1	Asn-(Asx, Glx <sub>3</sub> , Pro, Gly <sub>2</sub> , Ala, Val <sub>2</sub> , Met <sub>2</sub> , Ile <sub>3</sub> , Leu, Phe <sub>2</sub> , His)-Arg	21
Tn2	Gln-(Asx, Ser, Glx <sub>3</sub> , Pro, Gly, Ala <sub>2</sub> , Val, Ile <sub>2</sub> , Leu <sub>2</sub> , Phe <sub>2</sub> , Trp)-Arg	19
Tn3	Phe-Pro-Glu-Gln-(Asx <sub>5</sub> , Thr, Ser <sub>3</sub> , Glx <sub>3</sub> , Pro, Gly <sub>3</sub> , Ala, Val <sub>2</sub> , Met, Ile <sub>2</sub> , Leu <sub>4</sub> , Tyr, Phe <sub>2</sub> , Trp, Arg)-Arg	41

Пептид T6. Из сопоставления его аминокислотного состава (см. табл. 1) и N-концевой последовательности шести остатков с аминокислотным составом и строением пептидов T8 и T15 следует, что два последних входят в пептид T6, и пептид T8 занимает N-концевое положение в T6. Строение пептидов T8 и T15 было выяснено ранее [3].

Таким образом, включая ранее опубликованные результаты [3], из триптического гидролизата каталазы гриба *P. vitale* было выделено 68 пептидов, насчитывающих в сумме 630 остатков аминокислот. Частичное или полное строение их приведено в табл. 2. У 24 пептидов стрелками указано количество стадий, пройденных ручным методом. Строение остальных пептидов было установлено ранее [3]. Пептиды T8 и T15, как упоминалось выше, перекрываются с пептидом T6, а пептид T51 — с пептидом T63. 65 уникальных пептидов включают 595 остатков аминокислот, что составляет 86 % всей полипептидной цепи каталазы, насчитывающей, по данным рентгеноструктурного анализа [4], 670 остатков.

Summary. 26 peptides containing 364 amino acid residues were isolated from tryptic hydrolyzate of the *Penicillium vitale* catalase. Partial or complete amino acid sequence of these peptides was determined. The total number of peptides described herein as well as those published previously is 68. 65 peptides have non-overlapping sequences comprising 595 amino acid residues (86 % of catalase polypeptide chain).

Список литературы см. на с. 81

Пептид	Будова	Число залишків
T45	Leu-Val-Lys	3
T46	Thr-Lys	2
T47	Phe-(Asp, Leu)-Arg	4
T48	Phe-Asp-(Glu, His)-Arg	5
T49	Leu-Gln-Arg	3
T50	Ile-Gln-Arg	3
T51	Phe-Gly-Val-Asn-Gly-Phe-Val-His-Thr-Arg	10
T52	Phe-Ser-Arg	3
T53	Phe-(His, Pro, Leu)-Arg	5
T54	Phe-Ser-His-Trp-Lys	5
T55	Gln-Gln-Gln-Lys-Lys	5
T56	Ala-(Gln <sub>2</sub> , Ala, Phe)-Lys	6
T57	(Glu, Gly <sub>2</sub> , Val, Tyr)-Lys	6
T58	Ala-Val-His-Ala-Arg	5
T59	Phe-Gly-Lys	3
T60	Thr-Phe-Arg	3
T61	Phe-(Asx, Glx <sub>5</sub> , Gly, Val <sub>2</sub> , Met, Ile <sub>2</sub> , Leu <sub>2</sub> )-Arg	16
T62	(Asx <sub>3</sub> , Thr, Ser <sub>3</sub> , Glx <sub>3</sub> , Pro <sub>2</sub> , Gly <sub>2</sub> , Ala <sub>2</sub> , Val <sub>3</sub> , Ile, Leu <sub>2</sub> , Tyr, Phe <sub>2</sub> , His)-Arg	27
T63	Lys-Phe-Gly-Val-Asn-Gly-Phe-Val-His-Thr-Arg	11
T64	Asn-Asn-Lys	3
T65	Arg	1
Tn1	Asn-(Asx, Glx <sub>3</sub> , Pro, Gly <sub>2</sub> , Ala, Val <sub>2</sub> , Met <sub>2</sub> , Ile <sub>3</sub> , Leu, Phe <sub>2</sub> , His)-Arg	21
Tn2	Gln-(Asx, Ser, Glx <sub>3</sub> , Pro, Gly, Ala <sub>2</sub> , Val, Ile <sub>2</sub> , Leu <sub>2</sub> , Phe <sub>2</sub> , Trp)-Arg	19
Tn3	Phe-Pro-Glu-Gln-(Asx <sub>5</sub> , Thr, Ser <sub>3</sub> , Glx <sub>8</sub> , Pro, Gly <sub>3</sub> , Ala, Val <sub>2</sub> , Met, Ile <sub>2</sub> , Leu <sub>4</sub> , Tyr, Phe <sub>2</sub> , Trp, Arg)-Arg	41

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Козлов Э. А., Кирилленко М. Т., Левитина Т. Л. и др. Триптические пептиды каталазы гриба *Penicillium vitale*. 1. Разделение и аминокислотный состав растворимых пептидов // Биополимеры и клетка.— 1987.— 3, № 5.— С. 240—245.
2. Кирилленко М. Т., Левитина Т. Л., Гудкова Л. В. и др. Триптические пептиды каталазы гриба *Penicillium vitale*. 2. Разделение и аминокислотный состав нерастворимых пептидов // Там же.— № 6.— С. 318—324.
3. Гусак Н. М., Левитина Т. Л., Атепалихина С. А. и др. Триптические пептиды каталазы гриба *Penicillium vitale*. 3. Строение некоторых пептидов // Там же.— 1989.— 5, № 1.— С. 45—51.
4. 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.

Ін-т молекуляр. біології і генетики АН України, Київ  
Ін-т біохімії ім. О. А. Палладіна АН України, Київ

Одержано 06.07.92