

## Выяснение первичной структуры каталазы гриба *Penicillium vitale*. 1. Триптические пептиды немодифицированной каталазы

Н. М. Гусак, Т. Л. Левитина, М. Т. Бобровская, Л. В. Гудкова<sup>1</sup>, Э. А. Козлов

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины  
252143, Киев, ул. Академика Заболотного, 150

<sup>1</sup>Институт биохимии им. А. В. Палладина НАН Украины  
252030, Киев, ул. Леонтовича, 9

Выяснено строение 76 триптических пептидов каталазы *P. vitale*. 63 пептида содержат неперекрывающиеся аминокислотные последовательности, включающие 584 остатка аминокислот. Это составляет 83 % длины полипептидной цепи, установленной с помощью рентгеноструктурного анализа [1].

**Введение.** Каталаза (КФ 1.11.1.6) — фермент, катализирующий деградацию перекиси водорода, обнаружена практически во всех микроорганизмах и тканях растительного и животного происхождения. Ряд уникальных каталитических и биологических свойств этого фермента объясняет не только научный, но и практический интерес к структурно-функциональным исследованиям каталаз. Модификация каталаз с известными аминокислотными последовательностями методами геной инженерии может дать положительные результаты не только для исследования не выясненного полностью механизма действия каталазы, но и для изменения «протекторных» и других биологических свойств каталаз, нашедших широкое применение в медицине [2].

Каталаза *P. vitale* по сравнению с другими 20 каталазами с известными аминокислотными последовательностями [3] представляет особый научный интерес. Только две из этих каталаз, *P. vitale* [1] и *Escherichia coli* [4], содержат соответственно 670 и 753 остатка аминокислот, в то время как остальные — около 500. Как показали рентгеноструктурные исследования каталаз печени быка и *P. vitale* [1], последняя имеет дополнительный С-концевой

«флаводоксинаподобный» домен, содержащий около 170 остатков, роль которого в каталазе *P. vitale* неясна.

Исследование первичной структуры каталазы *P. vitale* проводили параллельно в Институте молекулярной биологии и генетики, Институте биохимии НАН Украины (химические исследования), Институте кристаллографии АН России и лабораториях молекулярной биологии (Германия) и Purdue University (США) (рентгеноструктурный анализ). Наиболее вероятная аминокислотная последовательность каталазы *P. vitale*, выясненная рентгеноструктурным анализом с разрешением 2 Å, была опубликована в 1986 г. [1].

Нами опубликовано несколько работ по строению триптических пептидов немодифицированной [5] и модифицированной по остаткам лизина [6] каталазы *P. vitale*, бромциановых фрагментов [7] и пептидов, полученных расщеплением каталазы протеиназой из *Staphylococcus aureus* V8 [8]. Однако большая часть из опубликованных пептидов и фрагментов содержит нерасшифрованные аминокислотные последовательности и неидентифицированные остатки амидов дикарбоновых аминокислот. Кроме того, опубликованные данные не содержат достаточного числа пептидов с перекрывающимися последовательностями («мостиковые» пептиды), необходимых для реконструкции аминокислотной

последовательности полипептидной цепи каталазы. Мы продолжили исследование структуры пептидов всех перечисленных групп. В результате получены новые пептиды, раскрыты скобки, определены амиды дикарбоновых аминокислот и в нескольких местах внесены исправления в последовательности ранее опубликованных пептидов. Некоторые данные в совокупности с ранее опубликованными позволили нам оформить окончательные результаты в виде серии из пяти статей под общим названием, посвященных строению триптических пептидов модифицированной и немодифицированной каталазы, пептидов, полученных расщеплением каталазы протеиназой V8 и бромцианом. На основании всех этих данных в последней (пятой) статье описывается реконструкция полной аминокислотной последовательности полипептидной цепи каталазы *P. vitale* и дается сравнение с аминокислотными последовательностями других каталаз.

Настоящее сообщение посвящено выяснению строения триптических пептидов немодифицированной каталазы *P. vitale*. Расщепление каталазы трипсином и методы получения индивидуальных пептидов описаны ранее [9, 10]. Способ получения новых пептидов мы не приводим в настоящем сообщении, поскольку он представляет собой заключительный этап очистки высоковольтным электрофорезом известных ранее фракций или дополнительную очистку уже описанных пептидов [5].

**Материалы и методы.** Очистка каталазы, получение апофермента, расщепление его трипсином и разделение пептидов описаны нами ранее [9—11]. В работе использовали химотрипсин («Sprofa», Чехословакия), термолизин («Seriva», Германия), дансилхлорид («Seriva»), бумагу FN17 для высоковольтного электрофореза («Filtrak», Германия). Реактивы отечественного производства квалификации х. ч. и ос. ч. применяли без очистки или с дополнительной очисткой по стандартным методикам.

Расщепление пептидов химотрипсином и термолизинном проводили в 0,2 н. бикарбонате аммония, рН 8,0, при 37 °С в течение 4—6 ч.

Окисление пептида осуществляли по методу Хирса [12].

Высоковольтный электрофорез на бумаге проводили в электролитах с рН 6,5 и 1,9, как описано [13].

N-концевую последовательность аминокислотных остатков определяли с помощью секвенатора 890 С («Beckman», США) с последующей идентификацией фенилтиогидантоин-производных аминокислот в системе ВЭЖХ («Pharmacia», Швеция) либо ручным методом Эдмана [14] с идентифика-

цией аминокислот в виде Dns-производных. N-концевую аминокислоту в пептидах определяли Dns-методом [15]. Dns-аминокислоты идентифицировали на пластинках с полиамидом [16]. В некоторых случаях для раскрытия пирролидонкарбонового кольца N-концевого пирроглутамила в пептидах применяли методику, предложенную Мурановой [17]. Для предотвращения циклизации остатка глутамина в середине пептида при деградации использовали метод, описанный Винтер [18].

Аминокислотный состав определяли на анализаторах аминокислот ВС-200 («Biocal», Германия) и ААА-339 (Чехословакия). Остатки глутаминовой, аспарагиновой аминокислот и их амидов идентифицировали в виде фенилтиогидантоин-производных по методу [19] или по подвижности пептида при высоковольтном электрофорезе при рН 6,5. Триптофан определяли реакцией Эрлиха [20].

**Результаты и обсуждение.** В таблице приведено строение всех триптических пептидов (Т). В нее включены новые, дополненные и исправленные пептиды (обозначены подчеркиванием пройденных стадий деградации), а также пептиды с установленным ранее строением [5]. Некоторые пептиды требуют пояснения способа установления их строения, помимо деградации по Эдману с идентификацией N-концевых остатков Dns-методом.

**Пептиды T1, T23, T36, T47.** Аминокислотный состав T1 равен сумме аминокислотных составов пептидов T1<sub>a</sub><sup>1</sup> и T1<sub>a</sub><sup>2</sup> с той лишь разницей, что сумма не содержит остатка аланина, но содержит дополнительный остаток аргинина. Мы полагаем, что препараты каталазы, получаемые нами из культуральной среды промышленного производства [11], были микрогетерогенны. По-видимому, препарат содержит полипептидные цепи с аминокислотными заменами в некоторых местах. Это обнаружено нами при исследовании строения и других групп пептидов. В случае T-пептидов, кроме T1, — это пептиды T23, T29, T36, T47. Исходя из вышеуказанного предположения мы ввели следующие обозначения. Пептиды, отличающиеся между собой заменой одного остатка, обозначены индексом «а». Пептиды с перекрывающимися последовательностями указаны под одним и тем же номером. Пептиды, входящие в состав другого пептида с тем же номером, обозначены степенью.

**Пептид T2.** Последовательность этого пептида полностью определяли с помощью секвенатора аминокислот. Последовательность всех остальных пептидов, приведенных в этом сообщении, выясняли ручным методом.

**Пептиды T3, T11.** В пептиде T3 стадии деградации 3—7 не подчеркнуты. Это означает, что на

Строение триптических пептидов каталазы *P. vitale*

№ п/п	Пептид	Строение
1	T1	<u>Met-Phe-Thr-Val-Val-Gly</u> -(Asp <sub>3</sub> , Ser <sub>2</sub> , Glu <sub>3</sub> , Gly, Ala, Val, Leu, Tyr)-Ala-Asp-Phe-Asp-Ala-Ala-Ala-
2	T1 <sup>1</sup>	<u>Met-Phe-Thr-Val-Val-Gly</u> -(Asp <sub>3</sub> , Ser <sub>2</sub> , Glu <sub>3</sub> , Gly, Ala, Val, Leu, Tyr)-Arg
3	T1 <sup>2</sup>	<u>Asp-Phe-Asp-Ala-Ala-Ala-Gly-Lys-Lys</u>
4	T2	<u>Gly-Thr-Gly-Ala-His-Gly-Thr-Phe-Leu-Ser-Tyr-Glu-Asp-Trp-Ser-Asn-Val-Thr-Ala</u> -(Ser <sub>2</sub> , Glu, Gly, Phe)-Lys
5	T3	<u>Gly-Val-Leu-Leu-Ala-Ser-Val-Asn-Lys-Pro-Ala-Ser-Ile-Ala-Gln-Gly-Ala-Lys</u>
6	T4	<u>Ala-Ile-Gly-Val-Glu-Ala-Pro-Lys-Pro-Asn</u> -(Asp <sub>2</sub> , Thr <sub>2</sub> , Ser <sub>2</sub> , Glu, Pro, Gly <sub>2</sub> , Ala <sub>2</sub> , Val, Ile, Tyr, Phe <sub>2</sub> )
7	T5	<u>His-Gly-Pro-Asn-Ile-Gln-Gln-Leu-Gly-Phe-Asn-Arg-Pro-Pro-Arg</u>
8	T6	<u>Asp-Gly-Ala-Gly-Glu-Met-Ile-Asp-Leu-Pro-Pro-Phe-Ala-Ser-Phe-Val-Glu-Thr-Gln-Glu-Trp-Gly-Ala</u>
9	T6 <sup>1</sup>	<u>Asp-Gly-Ala-Gly-Glu-Met</u> -(Asp, Pro <sub>2</sub> , Ile, Leu, Phe)
10	T6 <sup>2</sup>	<u>Ala-Ser-Phe-Val-Glu-Thr-Gln-Glu-Trp-Gly-Ala-Lys</u>
11	T7	<u>Gln-Thr-Ala-Val-Gly-Gln-Asn-Lys</u>
12	T8	<u>Gly-Val-Asp-Phe-Thr-Glu-Asp-Pro-Leu-Leu-Gln-Gly-Arg</u>
13	T9	<u>Phe-Ala-Val-Gln-Asp</u>
14	T10	<u>Gly-Asp-Ser-Leu-Ala-Gln-Gly-Ser-Gln-Ile-Ser-Ser-Glu-Arg</u>
15	T11	<u>Glu-Val-Thr-Gln-Gly-Ile-Ile-Pro-Leu-Val-Pro-Val-Leu-Lys</u>
16	T12	<u>Gly-Ser-Ala-Asp-Thr-Ala-Arg</u>
17	T13	<u>Ala-Tyr-Ser-Asn-Thr-Glu-Pro-Asn-Lys</u>
18	T15	<u>Thr-Tyr-Gly-Pro-Leu-Gly-Ala-Ala-Ser-Arg</u>
19	T15 <sup>1</sup>	<u>Gly-Pro-Leu-Gly-Ala-Ala-Ser-Arg</u>
20	T16	<u>Asp-Ile-Lys</u>
21	T17	<u>Leu-Asp-Leu-Gly-Lys</u>
22	T18	<u>Thr-Ala-Ser-Gly-Lys</u>
23	T19	<u>Gly-Val-Ala-Leu-Gly-Lys</u>
24	T20	<u>Phe-Asn-Ser-Ser-Glu-Val-Thr-Lys</u>
25	T21	<u>Gly-Ser-Pro-Lys</u>
26	T22	<u>Gly-Leu-Gln-Gly-Lys</u>
27	T23 <sub>a</sub>	<u>Ala-Pro-Ile-His-Asn-Asn-Asn-Arg</u>
28	T23 <sub>a</sub> <sup>1</sup>	<u>Ala-Arg</u>
29	T23 <sup>2</sup>	<u>Ile-His-Asn-Asn-Asn-Arg</u>
30	T24	<u>Glu-Lys</u>
31	T25	<u>Ala-Leu-Lys</u>
32	T26	<u>Val-Pro-Glu-Arg</u>
33	T27	<u>Phe-Gly-Phe-Asp-Leu-Pro-Asp-Leu-Thr-Asp-Arg</u>
34	T28	<u>Asn-Ala-Phe-Met-Asp-Arg</u>
35	T29	<u>Phe-Thr-Pro-Glu-Met-Thr-Arg</u>
36	T29 <sub>a</sub>	<u>Phe-Thr-Pro-Glu-Ser-Thr-Lys</u>
37	T30	<u>Gly-Phe-Phe-Thr-Ala-Pro-Glu-Arg</u>

Продолжение таблицы

№ п/п	Пептид	Строение	Число ос- татков
43	T36	<u>Gln-Leu-Asn-Met-Arg</u>	5
44	T36 <sub>a</sub>	<u>Gln-Leu-Asn-Pro-Arg</u>	5
45	T37	<u>Leu-Val-Thr-Asp-Asn-Gly-Lys</u>	7
46	T38	<u>Leu-Ala-Lys</u>	3
47	T39	<u>Asp-Val-His-Gly-Phe-Ala-Thr-Arg</u>	8
48	T40	<u>His-Arg</u>	2
49	T41	<u>Leu-Val-Lys</u>	3
50	T42	<u>Thr-Lys</u>	2
51	T43	<u>Phe-Leu-Asp-Arg</u>	4
52	T44	<u>Phe-Asp-Gln-Glu-His-Arg</u>	6
53	T45	<u>Leu-Gln-Arg</u>	3
54	T46	<u>Ile-Gln-Arg</u>	3
55	T47	<u>Phe-Gly-Val-Asn-Gly-Phe-Val-His-Thr-Arg</u>	10
56	T47 <sub>a</sub> <sup>1</sup>	<u>Phe-Gly-Lys</u>	3
57	T47 <sub>b</sub> <sup>2</sup>	<u>Asn-Gly-Phe-Val-His-Thr-Arg</u>	7
58	T47 <sub>c</sub> <sup>2</sup>	<u>Lys-Phe-Gly-Val-Asn-Gly-Phe-Val-His-Thr-Arg</u>	11
59	T48	<u>Ser-Phe-Arg</u>	3
60	T49	<u>Phe-His-Leu-Pro-Arg</u>	5
61	T50	<u>Phe-Ser-His-Trp-Lys</u>	5
62	T51	<u>Gly-Gln-Gln-Lys-Lys</u>	5
63	T52	<u>Ala-Ala-Gln-Phe-Glu-Gln-Gly-Lys</u>	8
64	T53	<u>Tyr-Gly-Val-Pro-Glu-Gly-Asn-Thr-Lys</u>	9
65	T54	<u>Ala-Val-His-Ala-Arg</u>	5
66	T55	<u>Thr-Phe-Arg</u>	3
67	T56	<u>Phe-Gln-Leu-Met-Gln-Val-Gly-Asn-Ile-(Glu<sub>3</sub>, Leu)-Arg</u>	14
68	T57	<u>Asp-Val-Ile-Ile-Glu-Pro-Thr-Leu-Met-Ala-Leu-His-(Asp, Glu, Pro<sub>2</sub>, Ala, Lys, Arg)</u>	19
69	T58	<u>Ile-Ser-Asp-Asn-Leu-Thr-Ala-Arg</u>	8
70	T59	<u>Phe-Gln-Gln-Asp-Pro-Asn-Arg</u>	7
71	T60	<u>Lys</u>	1
72	T61	<u>Arg</u>	1
73	Tn1	<u>Asn-Ile-Gln-Met-Leu-Phe-Asn-Glu-Val-Ile-(Glu, Pro, Gly<sub>2</sub>, Ala, Val, Met, Ile, Phe, His)-Arg</u>	21
74	Tn2-1	<u>Gln-Phe-Gln-Cys-Ser-Asn-His-Trp-Gln-Pro-Leu-Gln-Gly-Phe-Ile-Asp-Leu-Gly-(Glu<sub>2</sub>, Ala, Val, Trp)-Arg</u>	24
75	Tn2-1 <sup>1</sup>	<u>Gln-Pro-Leu-Gln-Gly-Phe-Ile-Asp-Leu-Gly-(Glu<sub>2</sub>, Ala, Val, Trp)-Arg</u>	16
76	Tn3	<u>Phe-Pro-Glu-Glu-Gly-(Asp<sub>5</sub>, Thr, Ser<sub>3</sub>, Glu<sub>8</sub>, Gly<sub>2</sub>, Ala, Val<sub>2</sub>, Met, Ile<sub>2</sub>, Leu<sub>5</sub>, Tyr, Phe<sub>2</sub>)-Arg-Glu-Arg</u>	41

этих стадиях деградации N-концевые остатки не определяли. Их определение возобновляли с 8-й стадии. Аминокислотную последовательность пептида T11 выясняли аналогичным образом. Последовательность неподчеркнутых стадий установлена ранее [5].

*Пептид T5.* В строение этого пептида внесена поправка. Его расщепляли химотрипсином. Высоковольтным электрофорезом выделены три пептида, определены их N-концевые остатки, состав или строение (Ch — химотриптические пептиды): T5Ch1 — His-(Asp, Glu<sub>2</sub>, Pro, Gly, Ile, Leu);

T5Ch2 — Gly-Phe; T5Ch3 — Asn-Arg-Pro-Pro-Arg. На основании этих данных в ранее установленное строение внесено изменение.

*Пептиды T6<sup>1</sup>, T6<sup>2</sup>.* Предпосылкой образования этих пептидов, по-видимому, могло послужить расщепление каталазы либо в процессе выделения, либо при хранении. Подобное явление хорошо известно для каталаз. Вероятно, эта точка расщепления каталазы является наиболее чувствительной для действия протеаз, поскольку выход пептида T6 очень низок, в то время как выходы T6<sup>1</sup> и T6<sup>2</sup> равны таковым специфических для трипсина пептидов.

*Пептид T10* расщепляли термолизинном. С помощью высоковольтного электрофореза был выделен C-концевой аргининсодержащий пептид T10Th1. Его строение: Ile-Ser-Ser-Glu-Arg.

*Пептид T14<sup>1</sup>.* Вероятно, этот пептид образовался из каталазы с предварительно расщепленной связью Asn-Pro, что могло произойти во время ее обработки при удалении гема [1].

*Пептид T15<sup>1</sup>.* Этот пептид, скорее всего, образовался таким же образом, что и пептиды T6<sup>1</sup> и T6<sup>2</sup>. Однако можно предположить, что он возник вследствие расщепления связи Tyr-Gly при переварке каталазы трипсином, так как выход этого пептида очень низок в отличие от выходов пептидов T6<sup>1</sup> и T6<sup>2</sup>. Вообще нами практически не обнаружено расщепления трипсином неспецифических для него связей. Кроме T6<sup>1</sup>, T6<sup>2</sup> и T15<sup>1</sup>, обнаружены еще три пептида — T47<sup>2</sup>a, T57 и Tн2-1. Последнее было возможным только при исследовании триптических пептидов малеил-каталазы.

*Пептид T25.* Этот пептид отличается своим поведением при высоковольтном электрофорезе при pH 6,5. Так же, как и пептид T38, он выделен из двух фракций. Но в отличие от T38, который при высоковольтном электрофорезе (pH 6,5) заряжен положительно, пептид T25 из обеих фракций после высоковольтного электрофореза обнаруживается среди нейтральных пептидов. По-видимому, остаток лизина в T25 модифицирован, что и позволило разделить пептиды T25 и T38 в отличие, например, от пар пептидов T45, T46 и T48, T55, строение которых пришлось устанавливать на смесях этих пар. Интересно отметить, что поведение при электрофорезе, аналогичное T25, было обнаружено при исследовании триптического пептида Tm2 из малеил-каталазы. После снятия защитных групп и расщепления пептида Tm2 трипсином пептиды Val-Ala-Lys и Leu-Ala-Lys были обнаружены при высоковольтном электрофорезе в положительно заряженной (мажорный выход) и нейтральной (минорный выход) фракциях.

*Пептид T32.* После расщепления химотрипсином и разделения высоковольтным электрофорезом были выделены четыре пептида. T32Ch1 — Gln-Val-Asp-(Thr<sub>2</sub>, Ser, Glu, Gly, Ala, Met<sub>2</sub>, Leu, Phe<sub>2</sub>); T32Ch2 — Arg-Pro-Thr-Ser-Arg; T32Ch3 — Gln-Val-Asp-(Ser, Gly, Ala, Met<sub>2</sub>, Leu); T32Ch4 — Phe-Glu-Thr-Thr-Phe.

*Пептиды Tн2-1.* Ранее полученный пептид Tн2 [10] окисляли и разделяли высоковольтным электрофорезом. Были получены два пептида. Их аминокислотные составы: Tн2-1 — CysSO<sub>3</sub>H, Asp<sub>2</sub>, Ser, Glu<sub>6</sub>, Pro, Gly<sub>2</sub>, Ala, Val, Ile, Leu<sub>2</sub>, Phe<sub>2</sub>, Trp(+), His, Arg и Tн2-1<sup>1</sup> — Asp, Glu<sub>4</sub>, Pro, Gly<sub>2</sub>, Ala, Val, Ile, Leu<sub>2</sub>, Phe, Trp(+), Arg. На этих пептидах проведены соответственно 8 и 10 стадий деградации по Эдману. Триптофан в N-концевой последовательности пептида Tн2-1 определен при исследовании секвенатором аминокислотной последовательности триптического пептида Tm1 из малеил-каталазы. При сопоставлении аминокислотных составов Tн2-1 и Tн2-1<sup>1</sup> видно, что второй пептид входит в первый, так как аминокислотный состав Tн2-1 равен сумме аминокислотного состава Tн2-1<sup>1</sup> и состава N-концевой последовательности семи остатков Tн2-1. Очевидно, что пептид Tн2-1<sup>1</sup> образовался в результате расщепления связи Tyr-Gln. По-видимому, триптофан, определяемый окрашиванием Tн2-1<sup>1</sup> реактивом Эрлиха, представляет собой второй остаток триптофана в Tн2-1, который вынесен в скобки в C-конце. Это предположение было подтверждено в дальнейшем при исследовании пептидов, полученных расщеплением каталазы протеиназой V8.

*Пептид Tн3.* Состав: Asp<sub>5</sub>, Thr, Ser<sub>3</sub>, Glu<sub>11</sub>, Pro, Gly<sub>3</sub>, Ala, Val<sub>2</sub>, Met, Ile<sub>2</sub>, Leu<sub>5</sub>, Tyr, Phe<sub>3</sub>, Arg<sub>2</sub>. После расщепления химотрипсином и разделения высоковольтным электрофорезом были получены семь пептидов. Tн3Ch1 — Arg-Glu-Arg; Tн3Ch2 — Asn-Asn-Asp-Leu; Tн3Ch3 — Ser-Met-Ser-Phe; Tн3Ch4 — Val-Ala-Glu-Asn-Leu-Phe; Tн3Ch4<sup>1</sup> — Val-Ala-Glu-Asn; Tн3Ch5 — Phe-Glu-Ser-Ile-Glu-Leu-Leu; Tн3Ch6 — Leu-Thr-Val-Gly-Asp-Glu-Glu-(Ser, Glu<sub>2</sub>, Ile, Leu, Met). Поскольку Tн3 содержит один остаток метионина, то ясно, что этот остаток в пептидах Tн3Ch3 и Tн3Ch6 общий. Очевидно, пептид Tн3Ch1 занимает C-концевое положение в Tн3. Кроме того, исходя из содержания остатков серина, лейцина, фенилаланина и N-концевой последовательности Tн3, можно реконструировать из химотриптических пептидов Tн3Ch3, Tн3Ch4, Tн3Ch5, Tн3Ch6 внутренний фрагмент, входящий в скобку Tн3 (таблица): Val-Ala-Glu-Asn-Leu-Phe-Glu-Ser-Ile-Glu-Leu-Leu-Thr-Val-Gly-Asp-Glu-Glu (Glu<sub>2</sub>, Ile, Leu)-Ser-Met-Ser-Phe. Эта реконструк-

ция подтверждается исследованием триптического пептида Tm9 и пептидов, полученных при расщеплении каталазы протеиназой V8.

Таким образом, нами выделены из триптической переварки немодифицированной каталазы 76 пептидов, содержащих 703 остатка аминокислот. Из них 63 пептида содержат уникальные неперекрывающиеся последовательности, насчитывающие в сумме 584 остатка. Это составляет 83 % длины полипептидной цепи белка, установленной согласно данным рентгеноструктурного анализа [1]. Из 584 остатков 63 находятся в скобках.

*Н. М. Гусак, Т. Л. Левитина, М. Т. Бобровская, Л. В. Гудкова, Е. А. Козлов*

Вияснення первинної структури каталази гриба *Penicillium vitale*. 1. Триптичні пептиди немодифікованої каталази

Резюме

Вияснено будову 76 триптичних пептидів каталази *P. vitale*. 63 пептиди містять амінокислотні послідовності, які не перекриваються. Ці послідовності включають 584 залишки амінокислот. Це складає 83 % довжини поліпептидного ланцюга, яку виявлено за допомогою рентгеноструктурного аналізу.

*N. M. Gusak, T. L. Levitina, M. T. Bobrovskaya, L. V. Gudkova, E. A. Kozlov*

Investigation of the primary structure of *Penicillium vitale* catalase. 1. Tryptic peptides of nonmodified catalase

Summary

The amino acid sequence of 76 *Penicillium vitale* catalase tryptic peptides was determined. 63 peptides have non-overlapping amino acid sequences comprising 584 amino acid residues, which make up 83 % of the polypeptide chain based on the X-ray analysis data [1].

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Vainshtein B. K., Melik-Adamyants W. R., Barinin V. V. et al. Three-dimensional structure of catalase from *Penicillium vitale* at 2.0 Å resolution // *J. Mol. Biol.*—1986.—188.—P. 49—61.
- Мирошникенко О. С. Биогенез, физиологическая роль и свойства каталазы // *Биополимеры и клетка.*—1992.—8, № 6.—С. 3—25.
- Von Ossowski I., Hausner G., Loewen P. C. Molecular evolutionary analysis based on the amino acid sequence of catalase // *J. Mol. Evol.*—1993.—37.—P. 71—76.
- Von Ossowski, Mulvey M. R., Leco P. A. et al. Nucleotide sequence of *Escherichia coli* katE, which encodes catalase HPII // *J. Bacteriol.*—1991.—173.—P. 514—520.
- 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.
- Левитина Т. Л., Бобровская М. Т., Гусак Н. М. и др. Триптические пептиды малеил-каталазы гриба *Penicillium vitale*. 2. Строение пептидов // Там же.—№ 3.—С. 42—45.
- Козлов Э. А., Левитина Т. Л., Бобровская М. Т. и др. Дополнительное исследование бромциановых фрагментов каталазы гриба *Penicillium vitale* // Там же.—1994.—10, № 2.—С. 45—48.
- Бобровская М. Т., Латышко Н. В., Левитина Т. Л. и др. Строение некоторых пептидов, полученных расщеплением каталазы гриба *Penicillium vitale* стафилококковой протеиназой // Там же.—С. 49—51.
- 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.
- Кириленко 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.—1988.—4, № 1.—С. 40—43.
- Гудкова Л. В., Кириленко М. Т., Левитина Т. Л., Козлов Э. А. Исследование субъединичной структуры каталазы *Penicillium vitale* // Там же.—1985.—57, № 4.—С. 29—33.
- Hirs C. H. W. Determination of cysteine as cystic acid // *Meth. Enzymol.*—1967.—11.—P. 59—62.
- Левитина Т. Л., Гусак Н. М., Роднин Н. В. и др. Бромциановые фрагменты каталазы гриба *Penicillium vitale* // *Биополимеры и клетка.*—1989.—5, № 5.—С. 55—63.
- Gray W. R. Sequence degradation plus dansylation // *Meth. Enzymol.*—1967.—2.—P. 469—475.
- Gray W. R. End-group analysis using dansyl chloride // *Ibid.*—1972.—25.—P. 121—128.
- Решетов П. Д., Честухина Т. Г., Махмудов С., Пышкина А. С. Хроматография в тонком слое полиамида // *Химия природ. соединений.*—1971.—№ 1.—С. 66—68.
- Муранова Т. А., Муранов А. В. Использование метиламина для раскрытия пирролидинового кольца N-концевого пирролглютамина в пептидах // *Биоорг. химия.*—1979.—5, № 7.—С. 1007—1010.
- Практическая химия белка.* Пер. с англ.—М.: Мир, 1989.—621 с.
- Алахов Ю. Б., Бундулис М. А., Бундулис Ю. П. Первичная структура фактора элонгации G из *E. coli*. IV. Структура пептидов бромцианового расщепления молекулы G-фактора // *Биоорг. химия.*—1983.—9, № 3.—С. 304—314.
- Easley C. W. Combination of specific colour reactions useful in the peptide mapping techniques // *Biochim. et biophys. acta.*—1965.—107.—P. 386—388.

Поступила в редакцию 25.03.97