



УДК 547.962.02

**ТРИПТИЧЕСКИЕ ФРАГМЕНТЫ МАЛЕИЛИРОВАННОГО БЕЛКА ТЕЛ  
ВКЛЮЧЕНИЙ ВИРУСА ЯДЕРНОГО ПОЛИЭДРОЗА  
ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА****II. АМИНОКИСЛОТНАЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ФРАГМЕНТОВ*****Козлов Э. А., Левитина Т. Л., Кауцман М. С.,  
Гусак Н. М., Овандер М. Н., Серебряный С. Б.****Институт молекулярной биологии и генетики  
Академии наук УССР, Киев*

Установлена аминокислотная последовательность 14 триптических фрагментов полипептидной цепи малеил-белка тел включений вируса ядерного полиэдроза тутового шелкопряда. Три пары фрагментов представляют собой фрагменты с перекрывающимися последовательностями. 11 фрагментов с неперекрывающимися последовательностями содержат 244 остатка аминокислот, что составляет полную полипептидную цепь белка.

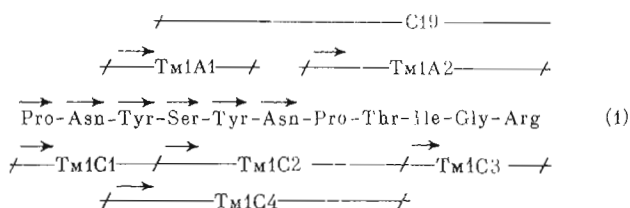
В предыдущем сообщении [1] мы описали выделение, аминокислотные составы и N-концевые остатки 14 триптических фрагментов полипептидной цепи малеилированного белка тел включений тутового шелкопряда. В настоящем сообщении мы приводим данные по установлению полной аминокислотной последовательности всех фрагментов Тм1 — Тм11. Для выяснения аминокислотной последовательности фрагментов Тм1, содержащие лизин (Тм2, Тм3, Тм3', Тм4, Тм6, Тм7, Тм10, Тм11), расщепляли трипсином. Полученные пептиды (обозначены так же, как триптические пептиды немодифицированного белка [2]) разделяли электрофорезом и хроматографией на бумаге. Аминокислотный состав триптических пептидов немодифицированного белка сопоставляли с аминокислотным составом триптических пептидов, полученных из фрагментов малеилированного белка. Аминокислотную последовательность определяли только для тех пептидов, строение которых не было установлено ранее [2]. Первичную структуру фрагментов выясняли, анализируя последовательность триптических пептидов и пептидов химо триптического и частичного кислотного гидролиза [3].

Фрагмент Тм1 не содержит остатков лизина. Соответствующий ему триптический пептид немодифицированного белка не был обнаружен. Проведено 6 стадий деградации по Эдману. Фрагмент расщепляли химо трипсином (6 ч) и 0,03 н. HCl (6 ч). Получены пептиды Тм1С1, Тм1С2,

Сокращения: Т — триптические пептиды, Тм — триптические пептиды из малеил-белка, С — химо триптические пептиды, А — пептиды частичного гидролиза 0,03 н. HCl, Th — термолитические пептиды, → над последовательностью — метод Эдмана в сочетании с дактилированием, → под последовательностью — действие лейцинаминопептидазы, ← действие карбоксипептидазы.

Тм1С3, Тм1С4 и Тм1А1, Тм1А2. Аминокислотные составы этих пептидов приведены в табл. 1.

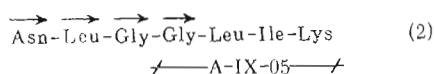
Схему выяснения последовательности аминокислотных остатков во фрагменте Тм1 можно представить, сопоставляя полученные данные с известной частичной последовательностью пептида С19 [3]:



*Фрагмент Тм2'.* Asn-Ala-Lys-Arg. Фрагмент получен с небольшим выходом. Последовательность определена с помощью метода Эдмана.

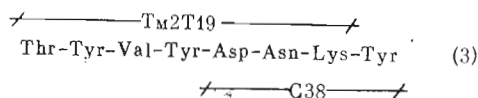
*Фрагмент Тм2.* При расщеплении фрагмента трипсином получены пептиды Тм2Т3, Тм2Т6, Тм2Т13, Тм2Т15' и Тм2Т19. Сумма аминокислотных составов этих пептидов соответствует аминокислотному составу фрагмента (табл. 2).

*Пептид Тм2Т13.* Частью последовательности этого пептида является пептид А-IX-05, полученный при гидролизе белка 0,03 н. HCl [3]. Поэтому пептиду Тм2Т13 можно приписать строение:

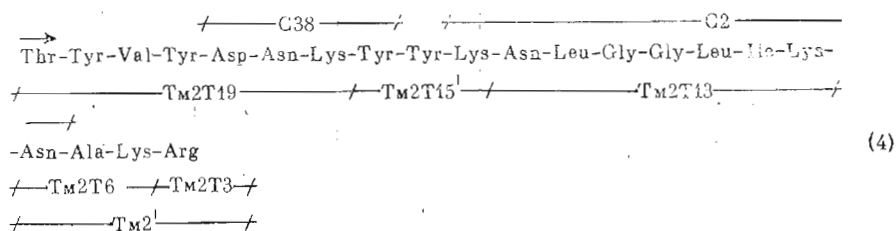


*Пептид Тм2Т15'.* Tyr-Tyr-Lys. Карбоксипептидаза N отщепляет от пептида лизин.

*Пептид Тм2Т19.* Частичная аминокислотная последовательность пептида Т19 была определена ранее [2]. Полную последовательность Тм2Т19 можно установить, сопоставляя пептид Т19 с химогриптическим пептидом С38 [3]:



Так как N-концевой аминокислотой во фрагменте Тм2 является треонин, то пептид Тм2Т19 занимает в этом фрагменте N'-концевое положение. Очевидно, что фрагмент Тм2' (см. выше) — часть фрагмента Тм2. Он располагается в С-концевом участке Тм2. Схемы выяснения последовательности фрагмента Тм2 можно представить следующим образом:



*Фрагмент Тм3'* не содержит остатка аргинина. Лейцинаминопептидаза за 20 ч отщепляет гистидин и лейцин в равных количествах. При рас-

Таблица 1

**Аминокислотный состав пептидов химотриптического и  
частичного кислотного гидролиза фрагмента Тм1**

Аминокислота	Тм1С1	Тм1С2	Тм1С3	Тм1С4	Тм1А1	Тм1А2
Arg			1,1(1)			1,0(1)
Asp	1,2(1)	1,2(1)		1,1(1)		
Thr		0,9(1)		0,9(1)		0,9(1)
Ser		0,9(1)		1,2(1)	0,8(1)	
Pro	0,8(1)	0,9(1)		0,9(1)		1,2(1)
Gly			0,9(1)			1,0(1)
Ile			1,0(1)			0,9(1)
Tyr	1,0(1)	1,0(1)		2,0(2)	2,1(2)	
Всего	3	5	3	6	3	5
N-Конец	Pro	Ser	Ile	Tyr	Tyr	Pro

Таблица 2

**Аминокислотный состав триптических пептидов фрагмента Тм2**

Аминокислота	Тм2Т3	Тм2Т6	Тм2Т13	Тм2Т15'	Тм2Т19	Тм2
Lys		1,0(1)	1,0(1)	1,1(1)	1,1(1)	4
Arg	(1)					1
Asp		0,9(1)	1,0(1)		2,0(2)	4
Thr					0,9(1)	1
Gly			2,2(2)			2
Ala		1,1(1)				1
Val					1,0(1)	1
Ile			1,0(1)			1
Leu			2,0(2)			2
Tyr				2,0(2)	2,0(2)	4
Всего	1	3	7	3	7	21
N-Конец		Asn	Asn	Tyr	Thr	

Таблица 3

**Аминокислотный состав триптических пептидов фрагмента Тм3'**

Аминокислота	Тм3'Т7	Тм3'Т16''	Тм3'Т25'	Тм3'Т25''
Lys	0,9(1)	2,1(2)	1,0(1)	1,0(1)
His		1,5(2)		
Asp	0,9(1)		3,7(4)	3,5(4)
Glu	1,1(1)	5,3(5)	1,4(1)	2,5(2)
Pro			2,0(2)	1,7(2)
Gly			2,3(2)	2,3(2)
Ala			1,2(1)	1,1(1)
Val			1,2(1)	1,3(1)
Met			1,1(1)	(1)
Ile		1,2(1)		
Leu		1,2(1)	2,6(3)	2,9(3)
Tyr			1,2(1)	1,0(1)
Phe			1,2(1)	1,0(1)
Trp		+ (1)		+ (1)
Всего	3	12	18	20
N-Конец	Asn	His	Asp	Gln

щеплении ТмЗ' трипсином получены пептиды ТмЗ'Т7, ТмЗ'Т16", ТмЗ'Т25', ТмЗ'Т25", аминокислотный состав которых приведен в табл. 3.

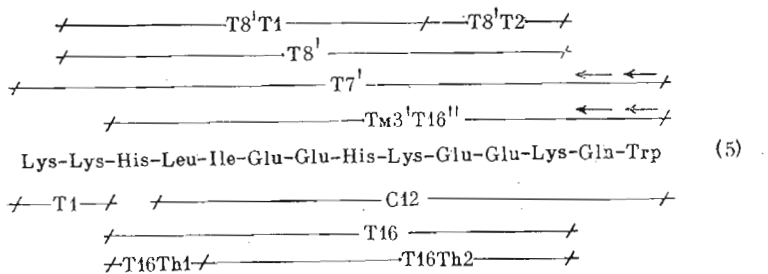
*Пептид ТмЗ'Т16."* Карбоксипептидаза А отщепляет за 24 ч триптофан и глутамин в равных количествах. Аминокислотный состав пептида ТмЗ'Т16" отличается от состава пептида С12, строение которого было установлено ранее [3], одним остатком гистидина. Следовательно, гистидин занимает N-концевое положение в ТмЗ'Т16".

Сопоставляя аминокислотный состав пептидов ТмЗ'Т16", С12 и ранее описанных Т7', Т8' и Т16 [2], можно сделать вывод, что они происходят из одного участка полипептидной цепи белка. Чтобы доказать это, мы исследовали полученные из немодифицированного белка пептиды Т7', Т8' и Т16, выделение и очистка которых описаны ранее [2,4]. Наибольший из них (Т7') содержит на один остаток лизина, глутамина и триптофана больше, чем Т8'. Карбоксипептидаза А отщепляет от Т7' глутамин и триптофан в равных количествах. Ясно, что N-концевое положение в пептиде Т7' занимает лизин.

*Пептид Т8'* дополнительно расщепляли трипсином 24 ч. Было выделено 2 пептида: Т8'Т1 и Т8'Т2. Состав первого: Lys (2,2), His (1,6), Glu (1,6), Ile (0,8), Leu (0,8); второго: Lys (1,0), Glu (2,0). Сопоставление с пептидом С12 показывает, что Т8'Т1 занимает N-концевое, а Т8'Т2 — С-концевое положение в пептиде Т8'. N-Концевым остатком Т8' является лизин, так как пептид Т8' содержит на один остаток лизина больше, чем Т16.

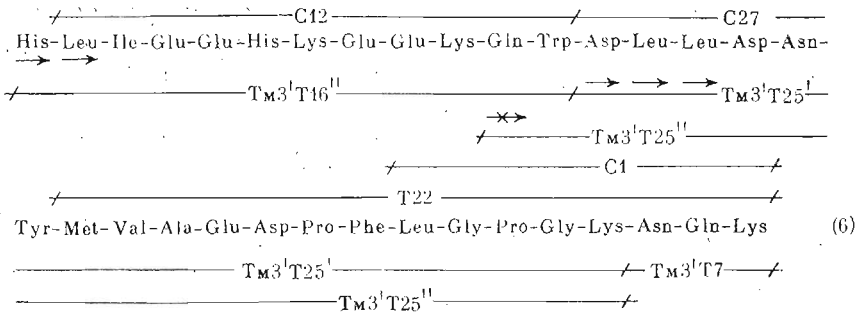
*Пептид Т16* расщепляли термолизином. Было выделено 2 пептида: Т16Th1 и Т16Th2. Состав первого: His (0,9), Leu (1,0); второго: Lys (1,8), His (1,4), Glu (3,9), Ile (1,3). Из сопоставления с пептидом С12 ясно, что Т16Th2 занимает С-концевое, а Т16Th1 — N-концевое положение в Т16.

Схема выяснения аминокислотной последовательности участка полипептидной цепи, включающего вышеперечисленные пептиды, представлена ниже:

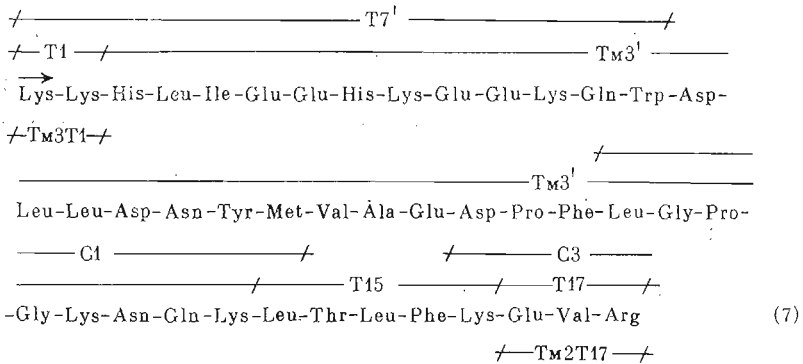


*Пептиды ТмЗ'Т25' и ТмЗ'Т25"*. Аминокислотный состав пептида ТмЗ'Т25' равен сумме аминокислотных составов пептидов Т22 и С27, строение которых было установлено ранее [2,3]. Приписанное ранее [2] пептиду Т25' строение оказалось неточным. Результаты определения N-концевой последовательности пептида ТмЗ'Т25' говорят о том, что пептид С27 действительно часть пептида ТмЗ'Т25' (см. схему 6). Аминокислотный состав пептида ТмЗ'Т25" на один остаток глутаминовой кислоты и остаток триптофана больше, чем ТмЗ'Т25'. Пептид ТмЗ'Т25" не окрашивается нингидрином. N-Конец его дансил-методом определить не удастся. Можно предполагать, что на N-конце ТмЗ'Т25" находится глутамин. Аминокислотную последовательность этого пептида можно установить, сопоставляя пептиды ТмЗ'Т25', Т22, С27 и С1 [3].

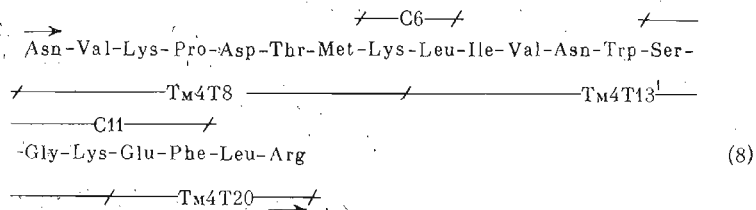
Схему выяснения аминокислотной последовательности фрагмента ТмЗ' можно представить следующим образом:



**Фрагмент Тм3.** Аминокислотный состав фрагмента равен сумме составов фрагмента Тм3' [1] и триптических пептидов Т1, Т15 и Т17 [2]. Чтобы доказать это, фрагмент Тм3 расщепляли трипсином. Электрофорезом при рН 6,5 было получено только 2 пептида: сильноосновной Тм3Т1 Lys-Lys и нейтральный Тм3Т17 с составом Arg (0,8), Glu (1,2), Val (0,9). Очевидно, что Тм3Т1 занимает N-концевое положение во фрагменте, так как в состав Тм3 должен входить пептид Т7' (см. схему 5). Это подтверждается тем, что химотриптические пептиды С1 и С3 [3] соединяют пептиды Т7', Т15 и Т17. Схема установления аминокислотной последовательности фрагмента Тм3 представлена ниже:



**Фрагмент Тм4.** При его расщеплении трипсином получено три пептида (Тм4Т8, Тм4Т13', Тм4Т20), сумма аминокислотных составов которых соответствует аминокислотному составу фрагмента (табл. 4). N-Концевой остаток фрагмента — Asx. Следовательно, пептид Тм4Т8 занимает во фрагменте N-концевое положение. Схема установления аминокислотной последовательности фрагмента приведена ниже:



**Фрагмент Тм5.** Glu-Thr-Trp-Thr-Arg. Этот фрагмент идентичен триптическому пептиду Т18 [2]. Число остатков триптофана определяли с помощью лейцинаминопептидазы.

**Фрагмент Тм6.** Его расщепляли трипсином. При этом получены пептиды Тм6Т26, Тм6Т9. Аминокислотный состав их приведен в табл. 5.

Таблица 4

## Аминокислотный состав триптических пептидов фрагмента Тм4

Аминокислота	Тм4Т8	Тм4Т13'	Тм4Т20	Тм4
Lys	1,9(2)	0,9(1)		3
Arg			1,0(1)	1
Asp	2,0(2)	1,3(1)		3
Thr	1,0(1)			1
Ser		1,0(1)		1
Glu			1,1(1)	1
Pro	1,2(1)			1
Gly		1,5(1)		1
Val	1,0(1)	0,6(1)		2
Met	0,5(1)			1
Ile		0,6(1)		1
Leu		0,7(1)	1,0(1)	2
Phe			0,9(1)	
Всего	8	7	4	19
N-Конец	Asn	Leu	Gly	

Таблица 5

## Аминокислотный состав триптических пептидов фрагмента Тм6

Аминокислота	Тм6Т26	Тм6Т9	Тм6
Lys		1,0(1)	1
Arg		2,1(2)	2
Asp	3,8(4)	1,9(2)	6
Thr		1,0(1)	1
Ser	0,8(1)		1
Glu	3,0(3)		3
Pro	1,2(1)	2,1(2)	3
Ala		1,1(1)	1
Val	4,8(5)	0,9(1)	6
Met	1,0(1)		1
Ile	1,0(1)		1
Leu		1,9(2)	2
Tyr	1,1(1)		1
Phe	2,0(2)		2
Всего	19	12	31
N-Конец	Phe	Leu	

*Пептид Тм6Т26.* Частичная аминокислотная последовательность участка полипептидной цепи, включающего пептид Т26, была установлена ранее [3]. Карбоксипептидаза А при pH 7,8 за 18 ч отщепляет от пептида Тм6Т26 Tyr (1,0), Val (1,0). При последующем снижении pH до 5,6 (18 ч) и повышении pH до 7,8 (18 ч) карбоксипептидаза А отщепляет Tyr (1,0), Val (2,3), Asp (1,0), Met (0,7). При дальнейшем снижении pH до 5,6 за 18 ч отщепляется дополнительно Glu (0,4) и амид (0,2).

Кроме этого на пептид С13в, выделение и частичное строение которого описаны ранее [3], действовали карбоксипептидазой А при pH 7,8 (18 ч) и pH 5,6 (18 ч). При этом отщепляются Met (1,0), Val (1,4), Glu (1,0), амид (0,6), Asp (0,3). Для идентификации амидов смесь отщепившихся аминокислот подвергали электрофорезу при pH 6,5. Нейтральные аминокислоты элюировали с электрофореграммы и гидролизovali 5,7 н. HCl. Состав смеси: Met (0,5), Val (1,0), Asp (0,2), Glu (0,4). Следовательно, карбоксипептидаза А отщепляет от пептида С13в по одному остатку амидов аспарагиновой и глутаминовой кислоты.

Пептид Тм6Т26 расщепляли термוליзином 5 ч. Электрофорезом при pH 1,9 было получено 3 пептида. Состав Тм6Т26Тh1: Val(1,0), Tyr (1,0). Состав Тм6Т26Тh2: Asp (1,1), Ser (0,9), Glu (1,0), Pro (1,0), Val (1,1), Phe (1,9). Состав Тм6Т26Тh3: Asp (3,3), Glu (2,1), Val (2,1), Met (0,7), Ile (0,8). На пептиде Тм6Т26Тh3 методом Эдмана в сочетании с дансированием определяли последовательность четырех остатков аминокислот.

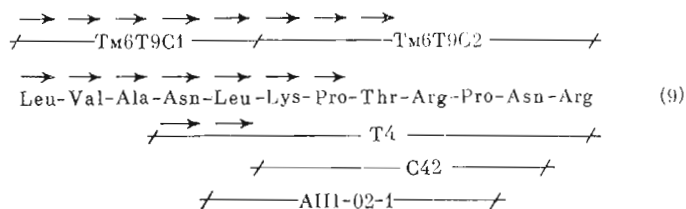
Результаты описанных исследований проиллюстрированы ниже на схеме 10.

*Пептид Тм6Т9.* Проводили 7 стадий деградации. Пептид расщепляли химотрипсином 4 ч. Было получено 2 пептида: Состав Тм6Т9С1: Asp (1,0) Ala (0,9), Val (1,0), Leu (2,0). Leu-Val-Ala-Asn-Leu. Состав Тм6Т9С2: Lys (0,9), Arg (2,2), Asp (0,9), Thr (0,8), Pro (2,2). Lys-Pro-Thr-(Arg, Asp, Pro)-Arg.

Сопоставляя аминокислотные составы пептидов Тм6Т9 и Т4 из немодифицированного белка [2], можно сделать вывод, что Т4 происходит из участка полипептидной цепи, включающего пептид Тм6Т9. На пептиде Т4, выделение которого было описано [4], проводили две стадии деградации по методу Эдмана в вычитательной модификации [5]:

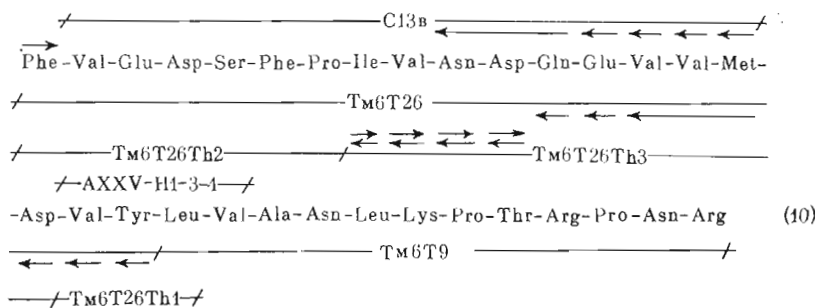
состав:	Lys (1,1),	Arg (1,9),	Asp (1,8),	Thr (0,9),	Pro (2,0),	Leu (1,0)
I ст.	1,0	1,9	1,2	0,6	1,8	1,0
II ст.	1,2	2,0	1,0	1,0	1,8	0,2

Сопоставляя перечисленные выше данные с известными последовательностями пептидов C42 и АIII-02-1 [3], схему выяснения аминокислотной последовательности пептида Тм6Т9 можно записать следующим образом:

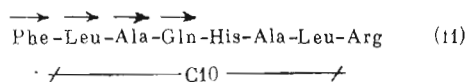


Как видно из схемы, пептид Т4 образовался в результате расщепления связи Ala-Asn немодифицированного белка. Вероятно, эта связь в белке расщепляется протеазой тел включений [6].

Схему выяснения аминокислотной последовательности фрагмента Тм6 можно представить следующим образом:

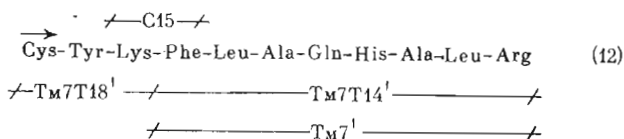


*Фрагмент Тм7'.* Проведено 4 стадии деградации. Химотриптический пептид C10 с известным строением [3] является частью фрагмента. Следовательно, фрагменту Тм7' можно присписать строение



*Фрагмент Тм7.* При расщеплении фрагмента трипсином получено 2 пептида. Состав Тм7Т18': Lys (1,0), Tyr (0,7), Cys(Cm) (0,5). Состав Тм7Т14': His (0,9), Arg (1,1), Glu (1,0), Ala (2,0), Leu (1,9), Phe (0,8).

Так как N-концевая аминокислота во фрагменте — Cys(Cm), то последовательность его может быть представлена таким образом:



*Фрагмент Тм8.* Нингидрином не окрашивается. Дансил-методом N-концевая аминокислота обнаружена не была. Лейцинаминопептидаза

Таблица 6

## Аминокислотный состав триптических пептидов фрагмента Тм10

АМИНО- КИСЛОТА	Тм10Т11	Тм10Т12	Тм10Т17"	Тм10
Lys		1,2(1)	0,9(1)	2
His			0,8(1)	1
Arg	1,0(1)			1
Asp	1,1(1)		2,1(2)	3
Thr			0,9(1)	1
Ser		0,8(1)	2,7(3)	4
Glu			2,4(2)	2
Pro			1,0(1)	1
Gly			3,2(3)	3
Ala		1,0(1)		1
Cys(Cm)			0,6(1)	1
Val	0,9(1)			1
Met			0,9(1)	1
Ile		0,9(1)	2,1(2)	3
Leu		1,0(1)		1
Tyr			1,1(1)	1
Phe			1,9(2)	2
Всего	3	5	21	29
N-Конец	Val	Ile	Lys	

на фрагмент не действует. Применение акрилонитрила не дало возможности выяснить N-концевую аминокислоту. Можно предположить, что N-концевой аминокислотой фрагмента является глутамин, который циклизуется при выделении фрагмента электрофорезом при pH 1,9. При расщеплении Тм8 химотрипсином получено 4 пептида: Тм8С1, Тм8С2, Тм8С3 и Тм8С4.

*Пептид Тм8С1.* Gln-Asn-Asp-Tyr. Состав: Asp (2,0), Glu (1,1), Tyr (1,0). Пептид нингидринотрицательный. Очевидно, что он занимает N-концевое положение во фрагменте. Карбоксипептидаза А за 24 ч отщепляет при pH 7,8 Tyr (1,0), а при последующем снижении pH за 24 ч — Asp.

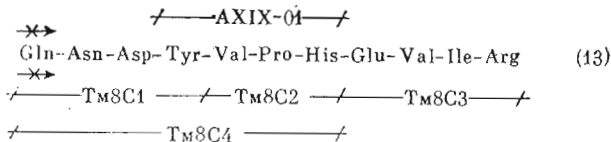
*Пептид Тм8С2.* Val-Pro-His. Состав: His (1,2), Pro (0,9), Val (0,9).

*Пептид Тм8С3.* Glu-Val-Ile-Arg. Состав: Arg (1,0), Glu (1,1), Val (0,9), Ile (0,9).

*Пептид Тм8С4.* Состав: His (1,0), Asp (2,0), Glu (1,0), Pro (1,0), Val (1,0), Tyr (1,0).

*Пептид АХІХ-01,* полученный при гидролизе белка 0,03 н. HCl [3], является частью последовательности Тм8.

Схема выяснения аминокислотной последовательности фрагмента может быть представлена следующим образом:

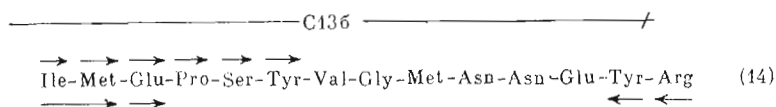


Амид во втором положении определен по подвижности пептида при электрофорезе при pH 6,5 (пептид нейтральный).

*Фрагмент Тм9.* Лейцинаминопептидаза за 24 ч отщепляет Ile (1,0), Met (1,0), Glu (1,0). Смесь карбоксипептидаз А и В отщепляет за 4 ч Arg (1,0), Tyr (0,4). Так как химотриптический пептид С136, частичное строе-



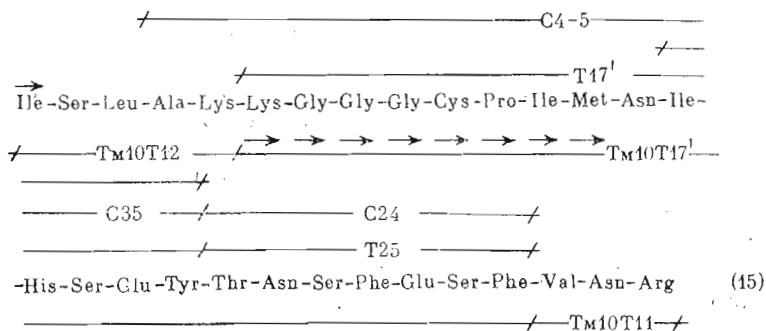
ние которого установлено ранее [3], получен из того же участка белка, что и Тм9, то фрагменту Тм9 можно приписать строение



*Фрагмент Тм10.* В результате расщепления трипсином фрагмента получено 3 пептида (Тм10Т11, Тм10Т12, Тм10Т17"), сумма аминокислотных составов которых равна аминокислотному составу фрагмента (табл. 6).

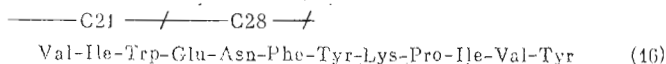
*Пептид Тм10Т17".* Проведено 8 стадий деградации. Аминокислотный состав Тм10Т17" равен сумме аминокислотных составов триптических пептидов немодифицированного белка Т17' и Т25 [2]. Пептид Т25 идентичен химотриптическому пептиду С24, последовательность которого установлена ранее [3]. Пептид С35 с известным строением [3] является частью последовательности пептида Т17'. Исходя из имеющихся данных, пептиду Т10Т17" можно приписать строение, приведенное на схеме 15.

Так как N-концевая аминокислота во фрагменте — Ile, пептид Тм10Т12 занимает в этом фрагменте N-концевое положение. Схема установления аминокислотной последовательности фрагмента Тм10 приведена ниже:



*Фрагмент Тм11.* Фрагмент расщепляли трипсином. При этом получены пептиды Тм11Тн', Тм11Т10, Тм11Т24, Тм11Т24'. Аминокислотный состав их приведен в табл. 7.

*Пептид Тм11Тн'.* N-Концевой остаток — Val. Аминокислотный состав пептида равен аминокислотным составам триптических пептидов немодифицированного белка Т21' и Тн, частичная аминокислотная последовательность которых была установлена ранее [2]. Сопоставляя последовательность пептида Т21" с последовательностью пептидов С21 и С28 [3], пептиду Т21" можно приписать строение:



Для выяснения полной аминокислотной последовательности пептида Тн фрагмент Тм11 расщепляли химотрипсином и электрофорезом при pH 6,5 выделяли сильноокислый пептид Тм11С1 с составом: Asp (1,3), Thr (1,1), Ser (1,2), Glu (4,8), Gly (1,1), Ala (1,0), Val (0,7), Ile (2,3), Leu (1,1). Методом Эдмана в сочетании с дансированием на этом пептиде удастся определить последовательность только двух остатков аминокислот.

Пептид Тм11С1 расщепляли термолизином (6 ч). Составы и N-концы полученных пептидов (Тн1, Тн2, Тн3, Тн4, Тн5, Тн6, Тн7, Тн8) приведены в табл. 8. Пептид Тм11С1 расщепляли 0,03 н. HCl (6 ч). Было получено 4 пептида. Состав Тм11С1А1: Gly (1,1), Ile (0,9). Состав Тм11С1А2:

Таблица 7

## Аминокислотный состав триптических пептидов фрагмента Тм11

Аминокислота	Тм11Тн'	Тм11Т10	Тм11Т24	Тм11Т24'
Lys	2,4(2)	1,0(1)		1,1(1)
Asp	1,8(2)		1,1(1)	1,0(1)
Thr	0,9(1)		1,1(1)	0,9(1)
Ser	1,5(2)			
Glu	5,4(6)		1,1(1)	1,2(1)
Pro	0,7(1)		3,2(3)	3,0(3)
Gly	1,2(1)		1,1(1)	1,1(1)
Ala	1,4(1)		2,7(3)	2,5(3)
Val	2,5(4)			
Ile	3,5(5)	1,0(1)		1,0(1)
Leu	1,8(2)		1,0(1)	1,1(1)
Tyr	1,6(2)		1,0(1)	1,2(1)
Phc	1,8(2)		1,9(2)	2,1(1)
Trp	+ (1)			
Всего	32	2	14	16
N-Конец	Val	Ile	Glu	Ile

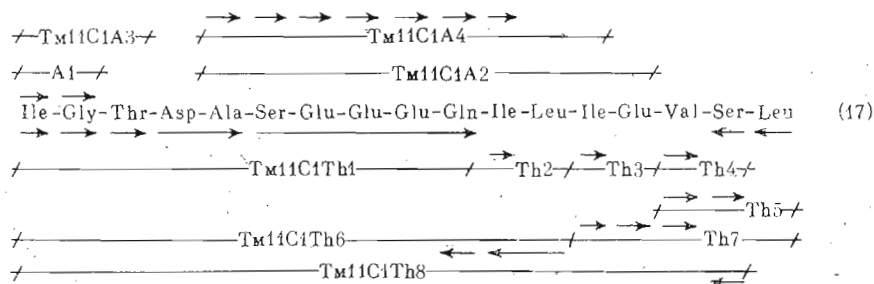
Таблица 8

## Аминокислотный состав пептидов, полученных расщеплением термолизом пептида Тм11С1

Аминокислота	Th1	Th2	Th3	Th4	Th5	Th6	Th7	Th8
Asp	1,1(1)					1,0(1)		1,1(1)
Thr	0,7(1)					0,8(1)		0,8(1)
Ser	0,7(1)			0,9(1)	0,8(1)	0,9(1)	0,8(1)	1,0(1)
Glu	4,4(4)		1,1(1)			4,4(4)	1,3(1)	4,8(5)
Gly	1,1(1)					1,1(1)		1,2(1)
Ala	0,9(1)					1,0(1)		0,9(1)
Val				1,1(1)	1,2(1)		0,8(1)	1,0(1)
Ile	0,9(1)	0,9(1)	0,9(1)			1,8(2)	1,1(1)	2,7(3)
Leu		1,1(1)			1,1(1)	1,0(4)	1,0(1)	1,0(1)
Всего	10	2	2	2	3	12	5	15
N-Конец	-	Ile	Ile	Val	Val	-	Ile	-

Ser (0,7), Glu (4,8), Ala (0,8), Ile (1,7), Leu (0,9). Состав Тм11С1А3: Thr (0,9), Gly (0,9), Ile (1,0). Тм11С1А4: Ala-Ser-Glx-Glx-Glx-Glx-Ile-(Ile, Leu). Состав: Ser (0,9), Glu (4,0), Ala (1,1), Ile (1,9), Leu (0,9).

Схему установления аминокислотной последовательности пептида Тм11С1 можно представить следующим образом:



Для выяснения числа амидов на пептид Тм11С1 действовали 6 ч лейцинаминопептидазой. Состав пептида: Ile (1,0), Gly (0,6), Thr (0,4), Asp



*N*-Концевую последовательность аминокислот устанавливали методом Эдмана с последующей идентификацией аминокислот в виде дансил-производных. Дегградацию производили по Грэю [8] в модификации Виноградовой и др. [9]. Дансил-аминокислоты идентифицировали на пластинках с полиамидом [10].

*C*-Концевые аминокислоты определяли с помощью карбоксипептидаз А и В (Worthington, США) и карбоксипептидазы N (фермент любезно предоставлен Т. С. Пасхиной) в 0,2 н.  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  или в пиридин-ацетатном буфере (рН 5,6).

Аминокислотный состав определяли на анализаторе аминокислот (ВС-200, Biocal, ФРГ, Hd 1200E, СССР, ААА-881, СССР). Пробы гидролизуют в течение 24 ч при  $105^\circ$  в вакууме с добавкой фенола. Триптофан определяли реакцией Эрлиха [11] и с помощью лейцинаминопептидазы. Амиды определяли по подвижности пептида при электрофорезе при рН 6,5 и с помощью карбоксипептидазы и лейцинаминопептидазы.

Авторы благодарят С. Н. Веремейченко за выполнение анализов на аминокислотных анализаторах.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Козлов Э. А., Левитина Т. Л., Кацман М. С., Серебряный С. Б. (1978) Биоорг. химия, 4, 1029—1035.
2. Левитина Т. Л., Козлов Э. А., Серебряный С. Б. (1976) Биохимия, 41, 228—236.
3. Кацман М. С., Козлов Э. А., Левитина Т. Л., Гусак Н. М., Овандер М. Н., Серебряный С. Б. (1977) Биоорг. химия, 3, 1455—1466.
4. Козлов Э. А., Левитина Т. Л., Согуляева В. М., Серебряный С. Б. (1973) Биохимия, 38, 1215—1220.
5. Konigsberg W., Hill R. J. (1962) J. Biol. Chem., 237, 2547—2561.
6. Kozlov E. A., Sidorova N. M., Serebryani S. B. (1975) J. Invert. Pathol., 25, 97—101.
7. Kozlov E. A., Levitina T. L., Sidorova N. M., Radavski Y. L., Serebryani S. B. (1975) J. Invert. Pathol., 25, 103—107.
8. Gray W. (1967) Methods Enzymol., 11, 469—475.
9. Виноградова Е. И., Фейгина М. Ю., Алданова Н. А., Овчинников Ю. А. (1973) Биохимия, 38, 3—21.
10. Woods K., Wang K. (1967) Biochim. et biophys. acta, 133, 369—375.
11. Easley C. N. (1965) Biochim. et biophys. acta, 107, 386—390.

Поступила в редакцию  
14.II.1978

#### TRYPTIC FRAGMENTS OF THE MALEYLATED INCLUSION BODY PROTEIN OF THE SILKWORM NUCLEAR POLYHEDROSIS VIRUS. II. AMINO ACID SEQUENCE OF TNE FRAGMENTS

KOZLOV E. A., LEVITINA T. L., KATSMAN M. S., GUSAK N. M.,  
OVANDER M. N., SEREBRYANY S. B.

*Institute of Molecular Biology and Genetics,  
Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev*

Amino acid sequences of the 14 tryptic fragments of the maleylated inclusion body protein of the nuclear polyhedrosis virus were determined. Out of this number, 11 peptides have non-overlapping sequences and embrace 244 residues, thereby accounting for the complete amino acid sequence of the protein.