



УДК 577.112.5

## ФРАГМЕНТЫ ПОЛИПЕПТИДНОЙ ЦЕПИ КАТАЛАЗЫ ГРИБА *PENICILLIUM VITALE*\*

Э. А. Козлов, Т. Л. Левитина, Н. М. Гусак,  
Н. В. Роднин, Л. В. Гудкова, М. Т. Кириленко, Р. Г. Дегтярь

В настоящем сообщении представлены аминокислотный состав в виде брутто-формулы, частичная или полная аминокислотная последовательность бромцианового фрагмента (1), триптических (2—4, 6—25, 27—55) и химотриптических (5, 26) пептидов каталазы. Фрагмент 1 получали гель-фильтрованием через сефадекс G-75 и ионообменной хроматографией на ДЭАЭ-сефадексе А25 продукта расщепления каталазы бромцианом. Фрагмент расщепляли трипсином и химотрипсином. Полученные пептиды разделяли, как описано [1]. Триптические пептиды субфрагментировали химотрипсином и термолизином. Субфрагменты разделяли высоковольтным электрофорезом и хроматографией на бумаге, как описано в работе [1]. Аминокислотный состав и последовательность аминокислотных остатков в пептидах определяли по [2]. Ниже приведено строение и аминокислотный состав уникальных фрагментов каталазы *P. vitale*.

1. Met-Phe-Glu-Pro-Gly-(Val, Ile)-His-Arg-Gly-Val-Asx-Phe-Thr-Glx-Asx-Pro-Leu-Leu-Gln-Gly-Arg-His-Gly-Pro-(Asn, Gln<sub>2</sub>, Pro, Ile,Leu)-Gly-Phe-Arg-Pro-(Asn,Pro)-Arg-Ala-Pro-Ile-His-Asx-Asx-Arg- Leu-Phe-Ser-Tyr-Leu-Asn-Thr-Glu-Leu-Asn-Arg-Asx-Gly-Ala-Gly-Glx-Met-(Asx,Pro<sub>2</sub>,Ile, Leu, Phe)
2. Phe-(Arg, Asx<sub>5</sub>, Thr, Ser<sub>2</sub>, Glx<sub>8</sub>, Pro<sub>3</sub>, Gly<sub>2</sub>, Ala<sub>2</sub>, Val<sub>3</sub>, Met, Ile<sub>2</sub>, Leu<sub>5</sub>, Tyr, Phe)-Arg
3. Gln-Val-Leu-(Thr, Ser, Gly, Ala)-Met-(Arg, Asx, Thr<sub>2</sub>, Glx, Pro, Met, Phe<sub>2</sub>)-Arg
4. Val-Gly-Leu-Leu-Val-(Lys, Asx, Ser<sub>2</sub>, Glx, Pro<sub>2</sub>, Ala<sub>3</sub>, Ile)-Gly-Ala-Lys
5. His, Asx<sub>3</sub>, Thr, Ser, Glx<sub>2</sub>, Pro, Gly, Ala<sub>2</sub>, Val, Ile<sub>2</sub>, Leu, Phe<sub>2</sub>
6. (Asx<sub>2</sub>, Thr, Ser, Glx<sub>3</sub>, Pro, Gly<sub>2</sub>, Ala, Val, Ile, Leu<sub>2</sub>, Phe)-Arg
7. Glx-Val-Thr-Glx-Gly-Ile-(Pro<sub>2</sub>, Val<sub>2</sub>, Ile, Leu<sub>2</sub>)-Lys
8. Gly-Ser-Asx-Ala-Leu-(Ser, Glx<sub>2</sub>, Gly)-Ile-Ser-Glx-Arg
9. Gly-Glu-Asp-(Ser, Pro, Ala<sub>3</sub>, Val<sub>2</sub>, Ile, Leu)-Lys
10. Ala-Ser-Phe-(Thr, Glx<sub>3</sub>, Val)-Trp-Gly-Ala-Lys
11. Leu-(Asx, Ser, Glx, Ala, Val, Leu, Trp, Phe)-Lys
12. Phe-Gly-Val-Asn-Gly-Phe-Val-His-Thr-Arg
13. Phe-Gly-Phe-Asp-(Pro, Leu)-Leu-Thr-Asp-Lys
14. Ala-Tyr-Ser-Asn-Thr-Gly-Pro-Asn-Lys
15. Gln-(Asn, Thr, Gln, Gly, Ala, Val)-Lys
16. Phe-Asn-(Thr, Ser, Gly, Gln, Val)-Lys
17. Gly-Phe-Phe-Thr-Ala-Pro-Glu-Arg
18. Phe-Ser-Thr-Val-Ser-Gly-Ala-Arg
19. Asp-Val-His-Gly-Phe-Ala-Thr-Arg
20. Gly-Ser-Ala-Asp-Thr-Ala-Arg
21. Gln-(Thr<sub>2</sub>, Ser, Pro, Phe)-Lys
22. Met-(Thr<sub>2</sub>, Glu, Pro, Phe)-Arg
23. Gly-(Ala, Val)-Leu-Gly-Lys
24. Trp-Gly-Leu-Glu-Gly-Lys
25. Asx-Ala-Phe-Met-Asx-Arg
26. Val-Ala-Ser -(Asx, Glx)-Phe
27. Gln-(Asx, Pro<sub>2</sub>, Leu)-Arg

\* Представлена членом редколлегии А. В. Ельской

28. Phe-Ala-Val-Asx-Glx
29. Leu-Asp-Leu-Gly-Lys
30. Thr-Ala-(Ser, Gly)-Lys
31. Gly-Leu-Gln-Gly-Lys
32. Gln-(Asn, Met, Leu)-Arg
33. Phe-Asp-Glu-His-Arg
34. Phe-(His, Pro, Leu)-Arg
35. Phe-(His, Ser, Trp)-Lys
36. Asn-(His, Pro, Ile)-Arg
37. (Asn, Gln, Val, Leu)-Arg
38. Gly-Ser-Pro-Lys
39. Val-Pro-Glu-Arg
40. Ser-Ser-Val-Arg
41. Phe-Asp-Leu-Arg
42. Phe-Ser-Thr-Arg
43. Val-(Ala, His)-Arg
44. Asp-Ile-Lys
45. Thr-Pro-Lys
46. Val-Ala-Lys
47. Ala-Leu-Lys
48. Leu-Val-Lys
49. Leu-Gln-Arg
50. Ile-Gln-Arg
51. Asn-Gln-Lys
52. Phe-Gly-Lys
53. Glu-Lys
54. His-Arg
55. Thr-Lys

55 фрагментов насчитывают в сумме 468 остатков аминокислот, что составляет 72 % всей полипептидной цепи каталазы. При сравнении этих фрагментов с известной первичной структурой каталазы печени быка и с «рентгеноструктурной» последовательностью самой каталазы *P. vitale* [3] мы не нашли пока явного сходства представленных здесь фрагментов с какими-либо участками названных первичных структур. Вероятно, степень сходства каталазы *P. vitale* с каталазой печени быка не превышает 30—35 % по предварительной оценке наших данных. Отсутствие сходства с «рентгеноструктурной» последовательностью каталазы *P. vitale*, очевидно, можно объяснить тем, что «рентгеноструктурная» последовательность получена с разрешением 0,2 нм, что в случае каталазы *P. vitale*, по-видимому, недостаточно для точной идентификации аминокислотных остатков. Дальнейшие исследования по выяснению полной аминокислотной последовательности каталазы *P. vitale* продолжаются.

#### POLYPEPTIDE CHAIN FRAGMENTS OF THE *PENICILLIUM VITALE* CATALASE

*E. A. Kozlov, T. L. Levitina, N. M. Gusak, N. V. Rodnin,  
L. V. Gudkova, M. T. Kirilenko, R. G. Degtyar*

Institute of Molecular Biology and Genetics,  
Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev  
A. V. Palladin Institute of Biochemistry,  
Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

#### S u m m a r y

Amino acid composition, partial or complete amino acid sequence of the *Penicillium vitale* catalase polypeptide chain fragments were determined. 55 unique fragments comprise 468 amino acid residues, and count 72 % of the catalase polypeptide chain.

1. Триптические пептиды каталазы гриба *Penicillium vitale*. 1. Разделение и аминокислотный состав растворимых пептидов / Э. А. Козлов, М. Т. Кириленко, Т. Л. Левитина и др. // Биополимеры и клетка. — 1987. — 3, № 5. — С. 240—245.

2. *Строение* некоторых триптических пептидов гранулина вируса гранулеза озимой совы, *Agrotis segetum* / Т. Л. Левитина, С. Б. Серебряный, Н. В. Роднин, Э. А. Козлов // Там же.— 1986.— 2, № 1.— С. 30—35.
3. *Three-dimensional structure of catalase from Penicillium citale at 2.0 Å resolution* / В. К. Vainshtein, W. R. Melik-Adamyam, V. V. Barynin et al. // J. Mol. Biol.— 1986.— 188, N 1.— P. 49—61.

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

Получено 24.03.87

УДК 581.1.085

## ПРОСТОЙ МЕТОД ВЫДЕЛЕНИЯ ГАПЛОИДНЫХ ПРОТОПЛАСТОВ ИЗ ФОРМ МНОЖЕСТВЕННЫХ ПОЧЕК РИСА

Хунг Суан Тхао, Чинь Ман Зунг, Нго Кэ Сьонг

С 1975 года получение гаплоидного риса стало шаблонным [1]. Гаплоидные растения в течение длительного времени могут сохраняться и размножаться в форме множественных почек. Природа множественных почек была объяснена впервые так называемым «эффектом многопобеговости» [2—4]. С тех пор был предпринят ряд серьезных усилий, направленных на изучение такой важной группы растений, как хлебные злаки, включая рис [5]. Тем не менее проблема все еще не решена, так как получить культуру протопластов непосредственно из растений риса очень трудно. Единственным источником протопластов у риса был каллус. Последующая регенерация растений из культуры протопластов показала, что этот путь не является осуществимым, поскольку тотипотентность каллусов, особенно пыльцевых, из которых выделяли протопласты, часто была утрачена [6]. Стремясь найти решение, мы использовали в качестве исходного материала множественные почки. Протопласты, изолированные непосредственно из проростков, являются более однородными, и из них легче осуществить регенерацию растений.

Проростки риса были получены при возделывании гаплоидных множественных почек на среде МС [7], дополненной 15% (по объему) кокосового молока, 1 г/л иптона (соевый ферментативный пептон), 15 мг/л тиаминхлорида, 0,2 мг/л нафтилуксусной кислоты и 0,3 М сахарозой. Величину рН устанавливали на уровне 5,8 с помощью 0,1 н. NaOH. Культуру содержали при 28°C и освещали флуоресцентными лампами в 2000 лк с чередованием 8 ч света и 16 ч темноты. Протопласты выделяли из молодых листьев одномесячных проростков, выращенных в стерильных условиях в колбах Эрленмейера объемом 0,5 л, содержащих 150 мл питательной среды. Одним из факторов, эффективно влияющих на рост проростков и массу листьев, пригодных для изоляции протопластов, являлась концентрация сахарозы (табл. 1).

В течение первой недели при нормальной концентрации сахарозы (0,1 М) наблюдался лучший результат, но наибольшего размера проростки достигали через 4 недели на среде с 0,3 М сахарозой. На этой же среде была получена и наибольшая масса листьев. Молодые листья затем измельчали и погружали в раствор, содержащий 2%

Таблица 1

*Влияние сахарозы на рост (см) полученных из множественных почек проростков риса и массу их листьев (мг)*

*Effects of sucrose on the growth of multishoots originated rice plantlets and leaf harvest*

Показатели	Концентрация сахарозы в среде, М			
	0,1	0,2	0,3	0,4
Возраст				
1 неделя	10	7	5	4
4 недели	18	25	30	20
Масса листьев в одной колбе	100	200	700	200