



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 термолизинном. 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, Gln₂, 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,Pro₂,Ile, Leu, Phe)
2. Phe-(Arg, Asx₅, Thr, Ser₂, Glx₈, Pro₃, Gly₂, Ala₂, Val₃, Met, Ile₂, Leu₅, Tyr, Phe)-Arg
3. Gln-Val-Leu-(Thr, Ser, Gly, Ala)-Met-(Arg, Asx, Thr₂, Glx, Pro, Met, Phe₂)-Arg
4. Val-Gly-Leu-Leu-Val-(Lys, Asx, Ser₂, Glx, Pro₂, Ala₃, Ile)-Gly-Ala-Lys
5. His, Asx₃, Thr, Ser, Glx₂, Pro, Gly, Ala₂, Val, Ile₂, Leu, Phe₂
6. (Asx₂, Thr, Ser, Glx₃, Pro, Gly₂, Ala, Val, Ile, Leu₂, Phe)-Arg
7. Glx-Val-Thr-Glx-Gly-Ile-(Pro₂, Val₂, Ile, Leu₂)-Lys
8. Gly-Ser-Asx-Ala-Leu-(Ser, Glx₂, Gly)-Ile-Ser-Glx-Arg
9. Gly-Glu-Asp-(Ser, Pro, Ala₃, Val₂, Ile, Leu)-Lys
10. Ala-Ser-Phe-(Thr, Glx₃, 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-(Thr₂, Ser, Pro, Phe)-Lys
22. Met-(Thr₂, 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, Pro₂, 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 pH 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