



УДК 579.222'112

© 1990 г.

А. В. Родионов

ХАРАКТЕР ПОСТТРАНСЛЯЦИОННОЙ МОДИФИКАЦИИ
ОБЩЕВИДОВОГО БЕЛКА НАРУЖНОЙ МЕМБРАНЫ
*RICKETTSIA PROVAZEKII**Институт эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи АМН СССР, Москва*

Недавно обнаружено, что общевидовой белок наружной мембраны риккетсий Провачека (Rp-1-белок) подвергается посттрансляционной модификации [1].

Из гидролизата этого белка выделены три основных нингидринположительных соединения, условно обозначенные буквами X, Y и Z, и с целью выявить какое-то сходство этих соединений с обычными компонентами гидролизата изучены зависимости времени их удерживания (t_c) на колонке с ионообменником ВТС 2710 от температуры, состава и рН элюирующих буферов. Оказалось, что перечисленные факторы влияют на t_c соединения Z и аммиака одинаковым образом. В частности, замена натрий-цитратных буферов на литий-цитратные приводит к существенно-му и, что весьма важно, одинаковому по амплитуде смещению пиков, отвечающих аммиаку и соединению Z, практически из конца хроматограммы (они элюируются непосредственно перед аргинином) в область между пиками фенилаланина и лизина. Столь высокая степень сходства хроматографических характеристик аммиака и соединения Z, а также летучесть последнего (при лиофилизации его щелочного раствора в остатке Z не обнаруживается) свидетельствуют о том, что Z является, скорее всего, одним из простейших представителей алкиламинов.

Сравнительный анализ поведения Z и метиламина в различных условиях хроматографии на ионообменниках ВТС 2710 и DC 8-9 показал, что независимо от состава буферов, рН, температуры и режима элюирования эти соединения совпадают по времени удерживания. Кроме того, методом ТСХ на силикагеле в системах хлороформ — этилацетат — АсОН (50 : 3 : 1; 75 : 3 : 1; 50 : 5 : 1; 50 : 10 : 1) и хлороформ — АсОН (50 : 1) установлено, что неразличимы также и их дансилпроизводные.

Итак, соединение Z является метиламином. Очевидно, что образоваться он мог лишь при гидролизе входящих в состав Rp-1-белка аминокислотных остатков, несущих монометиламидные группы. Скорее всего, это остатки N^γ-метиласпарагина или (и) N^δ-метилглутамина, хотя отнюдь не исключено, что метиламидом может оказаться и остаток какой-то другой аминокислоты, но в таком случае он обязательно должен быть C-концевым.

Начальный этап процедуры идентификации соединения Y аналогичен описанному выше, однако теперь уже вполне естественно было предположить, что это соединение является метилпроизводным какой-то обычной аминокислоты, и тем самым сузить круг поисков. В итоге установлено, что по хроматографической подвижности на ионообменниках ВТС 2710 и DC 8-9 в любых условиях элюирования, а также на тонкослойных пластинках с целлюлозой в системе пропанол — конц. аммиак (7 : 3) соединение Y не отличается от N^ε-метиллизина. Кроме того, n-бутиловые эфиры этих соединений имеют одинаковую подвижность на силикагеле в системе хлороформ — метанол — конц. аммиак (160 : 40 : 1) и на целлюлозе в системе пропанол — конц. аммиак (17 : 3).

Точно таким же образом доказано, что компонент X идентичен N^ε-триметиллизину.

Согласно данным аминокислотного анализа, относительное содержание остатков N^ε-триметиллизина, N^ε-метиллизина и монометиламидов в Rр-1-белке из штамма Брейниль составляет соответственно 1,31, 1,26 и 1,38 нмоль на 1 нмоль гистидина.

Экспериментальная часть

Rр-1-белок получен в соответствии с методикой, описанной в работе [1]. Для выделения соединений X, Y и Z из гидролизата этого белка в качестве хроматографа использовали аминокислотный анализатор LC 5001 (Biotronik, ФРГ), работающий в режиме элюирования по укороченной на три первых шага программе Р-1 [2]. Обессоливание фракций осуществлено на колонке (3,5 × 300 мм) с ионообменником AG50W-X8 (H⁺) по аналогии с описанной процедурой [3] (единственное существенное отличие состояло в том, что для элюирования выделяемого соединения вместо аммиака применен триэтиламин).

Бутиловые эфиры получены путем выдерживания в течение 15—30 мин при 105° С раствора соответствующего соединения в 0,1—0,2 мл *n*-бутанола, содержащего 3 М HCl (такой раствор получается при смешивании *n*-бутанола и ацетилхлорида в соотношении 5 : 1).

N^ε-Триметиллизин синтезирован по следующей схеме: этерификация N^ε-диметиллизина *n*-бутанолом, трифторацетилирование полученного бутилового эфира ангидридом трифторуксусной кислоты в ацетонитриле (105° С, 20 мин), метилирование продукта подкистым метилом в ацетонитриле в присутствии карбоната серебра (20° С, 2 ч) и снятие защитных групп (2 н. HCl, 2 ч при 105° С).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Родионов А. В., Белоусова Л. С., Исачкова И. П., Плужникова Г. П., Дмитриев Б. А., Молокова Е. В. // Биоорганич. химия. 1990. Т. 16. № 4. С. 457—463.
2. Родионов А. В. // Биоорганич. химия. 1988. Т. 14. № 5. С. 581—588.
3. Родионов А. В., Трапезов Е. В., Дмитриев Б. А., Чагава О. В. // Биоорганич. химия. 1988. Т. 14. № 7. С. 944—951.

Поступило в редакцию
16.VII.1990

A. V. RODIONOV

THE NATURE OF THE POST-TRANSLATION MODIFICATION OF THE COMMON SPECIES-SPECIFIC OUTER MEMBRANE PROTEIN OF *RICKETTSIA PROWAZEKII*

*N. F. Gamaleyeva Institute for Epidemiology and Microbiology, Academy
of Medical Sciences of the USSR, Moscow*

The major outer membrane protein of *Rickettsia prowazekii* strain Brainl is revealed to contain residues of N^ε-methyllysine, N^ε-trimethyllysine, as well as monomethylamide groups probably belonging to asparagine or (and) glutamine residues.