



УДК 547.96

ПЕПТИДЫ ЧАСТИЧНОГО КИСЛОТНОГО И ХИМОТРИПТИЧЕСКОГО  
ГИДРОЛИЗА ПОЛИЭДРЕННОГО БЕЛКА ВИРУСА ЯДЕРНОГО  
ПОЛИЭДРОЗА ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА *WOMBUX MORI*

*Кацман М. С., Козлов Э. А., Левитина Т. Л.,  
Гусак Н. М., Овандер М. Н., Серебряный С. В.*

*Институт молекулярной биологии и генетики  
Академии наук УССР, Киев*

Выяснена аминокислотная последовательность 18 пептидов частичного кислотного и 17 пептидов химотриптического гидролиза полиэдренного белка вируса ядерного полиэдроза тутового шелкопряда. Приведены последовательности 42 химотриптических пептидов, описанных в настоящем сообщении и ранее опубликованных. Из них — 28 пептидов с неперекрывающимися последовательностями, включающими 216 аминокислот. Последовательности описанных пептидов сопоставляются с последовательностями триптических пептидов, опубликованных ранее.

Полипептидная цепь полиэдренного белка вируса ядерного полиэдроза тутового шелкопряда имеет  $M \sim 28\ 000$  [1] и должна содержать 240—250 остатков аминокислот [2]. В предыдущих работах нами была опубликована аминокислотная последовательность 27 химотриптических и 28 триптических пептидов, содержащих соответственно 170 и 240 остатков аминокислот [3, 4].

Вероятно, часть химотриптических пептидов не была выделена: до полного аминокислотного состава полипептидной цепи не хватало 70—80 аминокислот.

В настоящем сообщении приведены результаты исследования первичной структуры химотриптических пептидов, ранее не выделенных, а также аминокислотная последовательность пептидов, полученных путем расщепления белка 0,03 н. соляной кислотой.

*Пептиды частичного кислотного гидролиза ПБ ВЯП.* Смесь пептидов частичного кислотного гидролиза белка разделяли ионообменной хроматографией на колонке с дауэксом  $1 \times 2$  (рис. 1, условия разделения см. в «Экспериментальной части»). Полученные фракции подвергали очистке высоковольтным электрофорезом и хроматографией на бумаге. Аминокислотный состав пептидов дан в табл. 1.

*Пептид III-02-1*

Leu-Lys-Pro-Thr-Arg-Pro

→ → → →

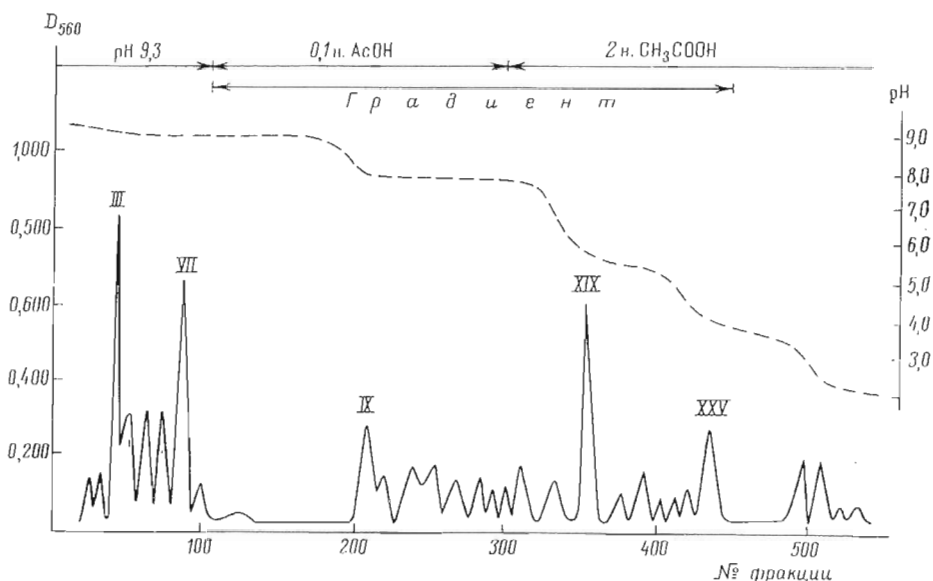
Сокращения: ПБ ВЯП — полиэдренный белок вируса ядерного полиэдроза тутового шелкопряда; См — карбоксиметил-; → — деградация по Эдману в сочетании с дансильрованием; — — гидролиз лейциламинопептидазой; ← — гидролиз карбоксипептидазой; Т — пептиды триптического гидролиза; С — пептиды химотриптического гидролиза; А — пептиды частичного кислотного гидролиза.

Таблица 1

## Аминокислотный состав пептидов частичного кислотного гидролиза ПШ ВЯП

Пептид	Lys	His	Arg	Asp	Thr	Ser	Glu	Pro	Gly	Ala	Val	Met	Ile	Leu	Tyr	Phe	Всего
III-02-1 *	1,0(1)		1,0(1)		1,1(1)	4,1(1)	1,0(1)	1,8(2)	1,0(1)	1,0(1)				1,1(1)			6
III-03-4	1,5(2)		0,8(1)				1,0(1)							1,0(1)	0,7(1)		10
V-02-1	1,0(1)														4,0(1)		2
VII-03-1			0,9(1)								4,0(1)						2
VII-04-1			1,0(1)								4,0(1)			1,0(1)			3
IX-05-4-1	1,0(1)								1,0(1)					1,0(1)			4
IX-05-3-3	1,0(1)																3
XIX-01-1		0,9(1)															3
XIX-01-2		1,0(1)			0,9(1)	1,0(1)							1,1(1)				2
XIX-01-3		0,9(1)											1,0(1)				3
XIX-01-4-2		1,1(1)					1,1(1)				1,1(1)				1,1(1)		4
XIX-H2-1-1					0,9(1)		1,1(1)	1,0(1)			1,6(2)	1,0(1)			1,0(1)		10
XIX-H2-1-2							1,0(1)		1,0(1)		2,0(2)			1,0(1)			2
XIX-H2-3-2		1,0(1)	0,9(1)		0,9(1)		1,0(1)	1,1(1)	0,6					1,4(2)			10
XVIII-H2-8									1,0(1)					1,1(1)			3
XXV-Н1-3-1											1,0(1)				1,8(2)		3
XXXIV-Н1-2					0,9(1)				1,0(1)		1,1(1)			1,1(1)	1,0(1)		4
					0,9(1)						1,1(1)			1,1(1)	1,1(1)		3

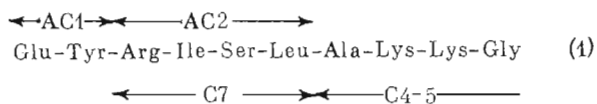
\* В обозначение пептидов входит стадия очистки. Например: III-01-Н1 — третья фракция с даунксом, 01 — основной, Н1 — нейтральный пептид при электрофорезе с рН 6,5 с порядковым номером на электрофореграмме, последняя арабская цифра — порядковый номер пептида на хроматограмме.



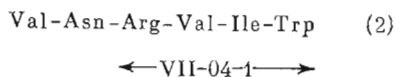
Разделение пептидов частичного кислотного гидролизата ПБ ВЯП на колонке с дауэксом  $1 \times 2$  (см. «Экспер. часть»)

Аминокислотная последовательность определена деградацией по Эдману в сочетании с дансильрованием, как описано в «Экспериментальной части». Последовательность остатков 5 и 6 установлена сопоставлением с пептидом С42 (см. ниже).

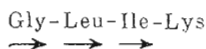
Пептид III-03-4 расщепляли химотрипсином. Из гидролизата были выделены два пептида: кислый АС1 состава Glu (1,0) и Tyr (0,8) и основной АС2 состава Arg (1,0), Ser (0,7), Ile (0,9), Leu (0,7). Состав пептида АС2 совпадает с составом пептида С7, структура которого выяснена нами ранее [3]. Сопоставлением триптического пептида Т12 [4] и химотриптического пептида С4-5 [3] установлена последовательность остатков 7—10 в пептиде III-03-4:



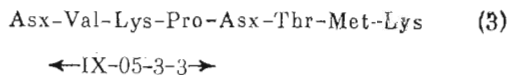
Пептид VII-04-1 (аминокислотный состав его см. в табл. 1), по-видимому, является частью последовательности пептида С21 [3]:



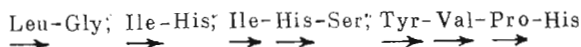
Пептид IX-05-4-1



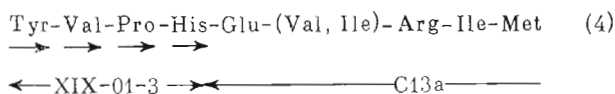
Пептид IX-05-3-3, очевидно, представляет собой часть последовательности пептида Т8 [4]:



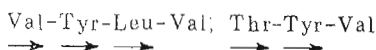
Пептиды XIX-H2-1-1, XIX-01-1, XIX-01-2, XIX-01-3:



Пептид XIX-01-4-2, по-видимому, охватывает последовательность пептида XIX-01-3 и N-концевую последовательность химотриптического пептида C13a (см. ниже):

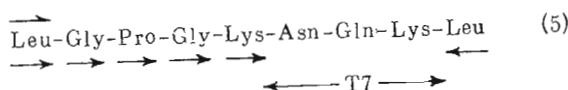


Пептиды XXV-H1-3-1, XXV-H1-2:

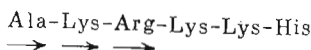


*Химотриптические пептиды.* Условия получения См-ПБ ВЯП, его гидролиза химотрипсином, разделения и очистки пептидов описаны нами ранее [5]. Ниже мы обсуждаем выяснение строения пептидов, ранее не выделенных или структуру которых следовало уточнить. В табл. 2 дан аминокислотный состав этих пептидов.

Пептид C1. Лейцинаминопептидаза отщепляет от пептида Leu (0,6), а карбоксипептидаза — также Leu (0,7). Последовательность пептида установлена деградацией Эдмана в сочетании с дансилированием и сопоставлением с пептидом T7 [4]:

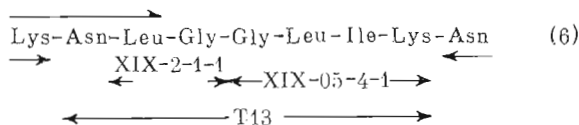


Пептид C1a

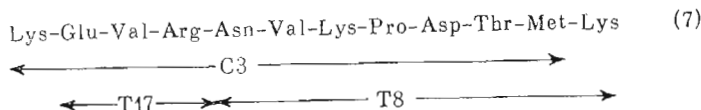


Гистидин локализован в С-концевом положении, исходя из специфичности химотрипсина.

Пептид C2. Лейцинаминопептидаза отщепляет от него Lys, Asn, Leu в равных количествах, а карбоксипептидаза — Asn (0,5). Последовательность пептида C2, очевидно, охватывает последовательности пептидов XIX-H2-1-1, IX-05-4-1 (см. выше) и триптического пептида T13 [4]:

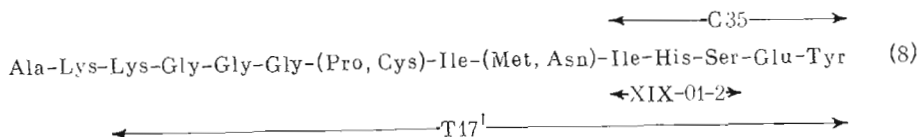


Пептид C3. Ранее было опубликовано его частичное строение [3]. Полная аминокислотная последовательность выяснена сопоставлением этого пептида с триптическими пептидами T8 и T17 [4]:



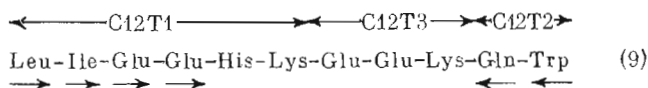


*Пептид С4-5.* Его частичная последовательность была также опубликована ранее [3]. В С-концевом участке пептида был определен остаток глицина. Проверка аминокислотного состава пептида показала, что он содержит три остатка глицина (см. табл. 2). Выяснение последовательности пептида Т17', в который также входят три остатка глицина, показало, что все остатки глицина локализованы в N-концевом участке. Частичное строение пептида С4-5 выяснено сопоставлением с пептидами Т17', XIX-01-2 (см. выше) и С35 (см. ниже):

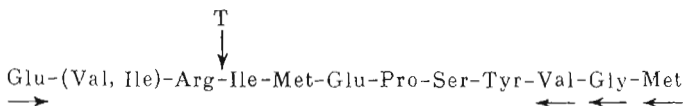


*Пептид С12.* Лейцинаминопептидаза за 30 мин отщепляет от него Leu (1,0), Ile (0,5), а за 1 ч — Leu (1,0), Ile (0,8), Glu (0,7). Карбоксипептидаза за 30 мин отщепляет Trp (1,0), Gln (0,8). Пептид гидролизовали 24 ч трипсином. Из гидролизата были выделены три пептида: два нейтральных С12Т1 состава Lys (1,0), His (0,9), Glu (1,8), Ile (1,0), Leu (0,9) и С12Т2 состава Glu (1,0), Trp (1,0) (гидролиз лейцинаминопептидазой), а также кислый пептид С12Т3 состава Lys (1,0), Glu (2,0).

Схема выяснения строения пептида С12:

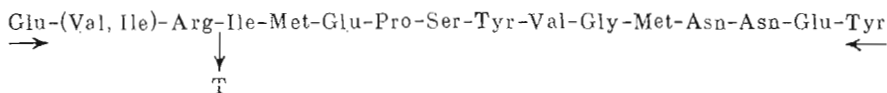


*Пептид С13а*



Карбоксипептидаза за 4 ч отщепляет от пептида Met (0,8), Gly (0,5), Val (0,3). Триптический гидролиз С13а дал два пептида: нейтральный С13аТ1 состава Arg (1,0), Glu (1,0), Val (0,8), Ile (0,8) и кислый С13аТ2 состава Ser (0,9), Glu (1,1), Pro (1,0), Gly (1,1), Met (1,8), Val (1,0), Ile (1,0), Tyr (0,9). Очевидно, что пептид С13аТ2, содержащий остатки метионина, является С-концевым участком исходного пептида. Строение пептида С13а выяснено сопоставлением с пептидом Т24'' [4] (см. схему 10).

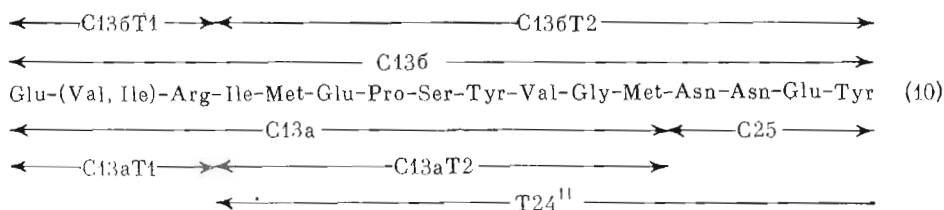
*Пептид С13б*



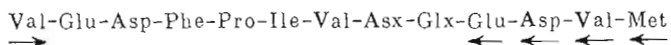
Карбоксипептидаза за 4 ч отщепляет от него Tyr (0,8). Гидролиз трипсином дал два пептида: нейтральный С13бТ1 состава Arg (1,0), Glu (1,0), Val (0,8), Ile (0,7) и кислый С13бТ2 состава Asp (2,1), Ser (1,0), Glu (2,0), Pro (1,2), Gly (1,1), Met (1,5), Val (1,0), Ile (1,0), Tyr (2,0).

Пептиды С13а и С13б различаются тем, что последний содержит больше на два остатка аспарагиновой кислоты и по одному остатку глутаминовой кислоты и тирозина. Аминокислотный состав пептидов С13а и С13б, а также наличие в них одинакового N-концевого фрагмента после триптического гидролиза дает основание полагать, что эти пептиды произошли из

одного и того же участка полипептидной цепи белка вследствие неполноты расщепления химотрипсином пептидной связи по метионину. Фрагмент, состоящий из двух остатков аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты и тирозина, занимающий в пептиде С13б С-концевое положение, представляет собой известный пептид С25 [3]. Очевидно, что аминокислотная последовательность пептида С13б включает в себя последовательность пептида Т24' [4]. Участок полипептидной цепи белка, включающий пептиды С13а и С13б, можно представить таким образом:

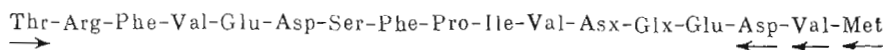


*Пептид С13в*



Карбоксипептидаза при рН 8,6 с последующим снижением рН до 5,6 и дальнейшим повышением рН до 8,6 отщепляет Met (1,0), Val (1,0), Asp (0,7), Glu (0,5). Строение этого пептида установлено сопоставлением с известным пептидом Т26 [4] (см. схему 11).

*Пептид С13г*

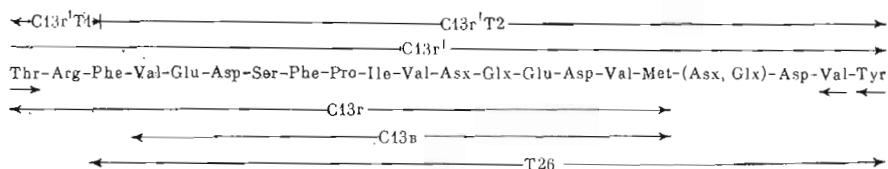


Гидролиз этого пептида карбоксипептидазой проводили так же, как для пептида С13в. При этом отщепились Met (0,8), Val (0,6), Asp (0,4). Из сопоставления аминокислотных составов и С-концевых последовательностей ясно, что последовательность пептида С13в представляет собой часть последовательности пептида С13г.

*Пептид С13г'.* Карбоксипептидаза за 4 ч отщепляет от пептида Tyr (0,9) и Val (0,5). Триптический гидролиз дал два пептида: С13г'Т1 состава Arg (1,0) и Thr (0,9) и С13г'Т2 состава Asp (5,0), Ser (1,0), Glu (4,0), Pro (1,0), Val (3,8), Met (1,0), Ile (1,0), Tyr (0,9), Phe (1,9).

Аминокислотный состав пептидов С13в, С13г и С13г', наличие в пептидах С13г и С13г' одной и той же N-концевой последовательности, а в пептидах С13в и С13г одинаковой С-концевой последовательности дают основание полагать, что эти пептиды произошли из одного и того же участка полипептидной цепи, из которого образуется также пептид Т26 [4]. Строение этого участка полипептидной цепи белка можно представить схемой 11:

С х е м а 11



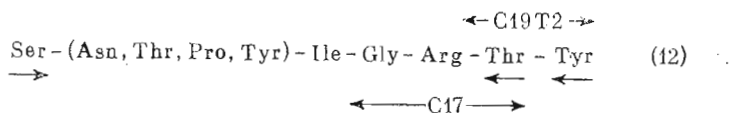
*Пептид С16:* Met-Val-Ala-Glu-Asp-Pro-Phe. Его частичное строение было опубликовано ранее [3]. Сопоставляя пептид с последовательностью

пептида T22, структура которого установлена, можно полагать, что пептид C16 является N-концевым участком пептида T22.

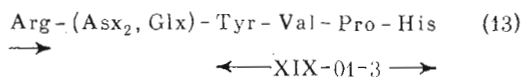
*Пептид C19.* Ранее опубликованная последовательность этого пептида ошибочна, что вытекает из сопоставления его последовательности со строением триптического пептида T19 [4]. Для уточнения химического строения пептида C19 из его триптического гидролизата нами был выделен пептид C19T2 состава Thr (1,0), Tyr (1,0), представляющий собой C-концевой участок исследуемого пептида. Очевидно, что пептид C19T2 соответствует N-концевой последовательности пептида T19 [4].

Пептид C17 [3], вероятно, образовался при расщеплении неспецифичных для химотрипсина связей Pe-Gly и Thr-Tyr.

Частичную последовательность этого пептида можно представить схемой 12:

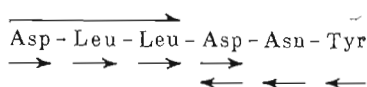


*Пептид C23.* Карбоксипептидаза А на него не действует. Пептид XIX-01-3 (см. выше), вероятно, представляет собой C-концевой участок пептида C23:



*Пептид C24:* Thr-Asn-Ser-Phe-Glu-Ser-Phe. Полная аминокислотная последовательность установлена сопоставлением частичных последовательностей ранее опубликованных химотриптического пептида C24 [3] и триптического пептида T25 [4].

*Пептид C27*



Лейцинаминопептидаза за 30 мин отщепляет от него Asp (1,0), Leu (1,9). Карбоксипептидаза за 18 ч отщепляет Tyr (1,0), Asn (0,5), а при снижении рН до 5,6 — аспарагиновую кислоту.

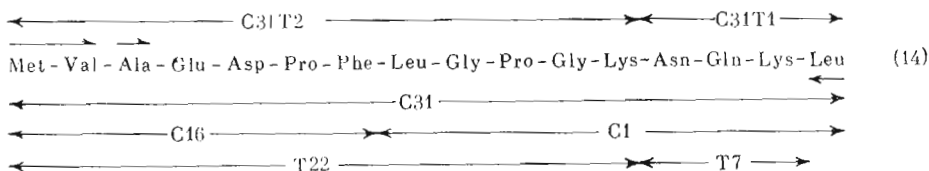
*Пептид C29:* Asp-Tyr. В ранее опубликованном сообщении [3] была допущена опечатка.

*Пептид C31.* Лейцинаминопептидаза за 4 ч отщепляет от него Met (1,0), Val (1,0), Ala (0,9). Карбоксипептидаза за 6 ч отщепляет Leu (0,5). После триптического гидролиза было выделено два пептида: основной C31T1 состава Lys (1,0), Asp (1,0), Glu (1,0), Leu (0,9) и кислый C31T2 состава Lys (1,0), Asp (0,9), Glu (1,0), Pro (1,9), Gly (1,8), Ala (1,0), Val (0,9), Met (0,7), Leu (0,8), Phe (0,9). По аминокислотному составу пептид C31T1 идентичен пептиду T7 [4] (за исключением лейцина), а пептид C31T2 — пептиду T22 [4].

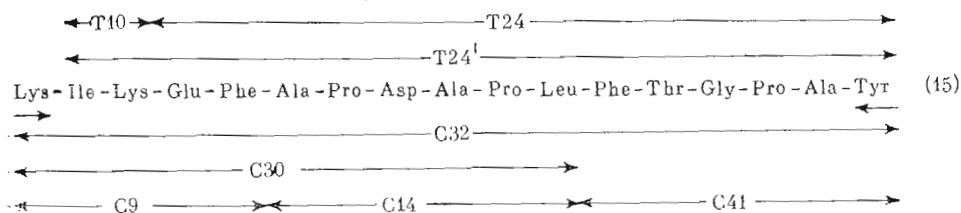
Пептиды C1 и C16 (см. выше) образовались из-за неполноты гидролиза химотрипсином связи Phe-Leu.

Схему выяснения строения пептида C31 можно представить следующим образом:





*Пептид C32.* Карбоксипептидаза отщепляет от него Tyr (0,6). Аминокислотный состав пептида равен сумме составов пептидов C9, C14 и C41. Последовательность пептида C32, очевидно, охватывает последовательность химотриптического пептида C30 и триптических пептидов T10, T24 и T24' [3, 4]. В последовательности пептида C14, опубликованного ранее, остаток аспарагиновой кислоты занимает 3-е положение, а не 5-е, что было показано в нашей лаборатории на триптическом пептиде малеилированного белка. Строение этого участка полипептидной цепи можно представить следующим образом:

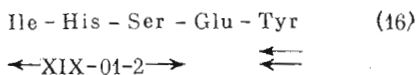


*Пептид C33*

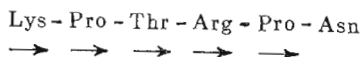


Последовательность установлена методом Эдмана в сочетании с дансильрованием. Карбоксипептидаза отщепляет от пептида Leu (0,6).

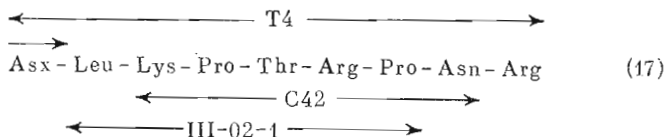
*Пептид C35.* Карбоксипептидаза отщепляет от пептида Tyr (0,7). N-Концевая последовательность установлена сопоставлением с пептидом частичного кислотного гидролиза XIX-01-2 (см. выше):



*Пептид C42*



Последовательность этого пептида перекрывается с последовательностью пептида частичного кислотного гидролиза III-02-1 (см. выше), и, по-видимому, последовательности обоих пептидов входят в последовательность триптического пептида T4, структура которого ранее не была выяснена. На основании строения этих пептидов и аминокислотного состава пептида T4 можно полагать, что последний имеет следующее строение:



**Химотриптические пептиды ПБ ВЯП**  
 Подчернутые пептиды входят в состав других пептидов

Пептид	Последовательность
C1	Leu-Gly-Pro-Gly-Lys-Asn-Gln-Lys
C1a	Ala-Lys-Arg-Lys-Lys-His
C2	Lys-Asn-Leu-Gly-Gly-Leu-Ile-Lys
C3	Lys-Glu-Val-Arg-Val-Lys-Pro-Asp-Thr-Met
C4-5	Ala-Lys-Lys-Gly-Gly-Gly-(Pro, Cys)-Ile-(Met, Asn)-Ile-His-Ser-Glu-Tyr
C6	Lys-Leu
C7	Arg-Ile-Ser-Leu
C8	Lys-Pro-Ile-Val-Tyr
C9	Lys-Ile-Lys-Glu-Phe
C10	Leu-Ala-Gln-His-Ala-Leu
C11	Ser-Gly-Lys-Glu-Phe
C12	Ile-Leu-Glu-Glu-His-Lys-Glu-Glu-Lys-Gln-Trp
C13a	Glu-(Val, Ile)-Arg-Ile-Met-Glu-Pro-Ser-Tyr-Val-Gly-Met
C13b	Glu-(Val, Ile)-Arg-Ile-Met-Glu-Pro-Ser-Tyr-Val-Gly-Met-Asn-Asn-Glu-Tyr
C13в	Val-Glu-Asp-Ser-Phe-Pro-Ile-Val-Asx-Glx-Glu-Asp-Val-Met
C13г	Thr-Arg-Phe-Val-Glu-Asp-Ser-Phe-Pro-Ile-Val-Asx-Glx-Glu-Asp-Val-Met
C13г'	Thr-Arg-Phe-Val-Glu-Asp-Ser-Phe-Pro-Ile-Val-Asx-Glx-Glu-Asp-Val-Met-(Asx, Glx)-Asp-Val-Tyr
C14	Ala-Pro-Asp-Ala-Pro-Leu
C15	Lys-Phe
C16	Met-Val-Ala-Glu-Asp-Pro-Phe
C17	Gly-Arg-Thr
C19	Ser-(Asn, Thr, Pro, Tyr)-Ile-Gly-Arg-Thr-Tyr
C21	Val-Asn-Arg-Val-Ile-Trp
C22	Leu-Arg-Glu-Thr-Trp
C23	Arg-(Asx <sub>2</sub> , Glx)-Tyr-Val-Pro-His
C24	Thr-Asn-Ser-Phe-Glu-Ser-Phe
C25	Asn-Asn-Glu-Tyr
C26	Glu-Ser-Phe
C27	Asp-Leu-Leu-Asp-Asn-Tyr
C28	Glu-Asn-Phe
C29	Asp-Tyr
C30	Lys-Ile-Lys-Glu-Phe-Ala-Pro-Asp-Ala-Pro-Leu
C31	Met-Val-Ala-Glu-Asp-Pro-Phe-Leu-Gly-Pro-Gly-Lys-Asn-Gln-Lys-Leu
C32	Lys-Ile-Lys-Glu-Phe-Ala-Pro-Asp-Ala-Pro-Leu-Phe-Thr-Gly-Pro-Ala-Tyr
C33	Leu-Val-Ala-Asn-Leu
C35	Ile-His-Ser-Glu-Hyr
C37	Arg-Cys-Tyr
C38	Asp-(Asn, Lys)-Tyr
C39	Val-Phe
C40	Thr-Leu-Phe
C41	Phe-Thr-Gly-Pro-Ala-Tyr
C42	Lys-Pro-Thr-Arg-Pro-Asn

Химотриптические пептиды, представленные в настоящем сообщении и опубликованные ранее, приведены в табл. 3. Из химотриптического гидролизата белка выделены 42 пептида, включающих 320 аминокислот, 14 из них — фрагменты других пептидов, образуются вследствие неполноты гидролиза химотрипсином некоторых специфичных для него связей. Пептиды с неперекрывающимися последовательностями включают 216 аминокислот.

По данным электрофореза в полиакриламидном геле, молекулярный вес ПБ ВЯП равен 28 000 [1], что должно соответствовать полипептидной цепи длиной в 240—250 остатков. Неперекрывающиеся триптические пеп-

тиды включают 240 остатков аминокислот. Среди исследованных химотриптических пептидов недостает, по-видимому, пептидов, включающих последовательности триптических пептидов Тн и части пептида Т9 [4]. Однако основной причиной, мешающей реконструировать полипептидную цепь белка на основании триптических, химотриптических и пептидов частичного кислотного гидролиза, является расщепление в нескольких местах одних и тех же связей трипсином и химотрипсином, а также наличие среди химотриптических пептидов пептидов с N-концевыми остатками лизина и аргинина. Для реконструирования полипептидной цепи ПБ ВЯП нами исследуются крупные фрагменты, полученные расщеплением малеилированного белка трипсином.

### Экспериментальная часть

ПБ ВЯП и его См-производное получали, как описано ранее [5, 6]. Для расщепления белка 0,03 н. соляной кислотой 400 мг белка растворяли и гидролизовали под вакуумом 72 ч при 110°. Смесь пептидов наносили на колонку с дауэксом 1 × 2 (2,5 × 160 см), как описано в работе [7]. Для хроматографии использовали следующие буферные растворы: 1) рН 9,3 (1% пиридин, 1% коллидин, доведенный до рН 9,3 уксусной кислотой); 2) рН 3,5 (0,1 н. уксусная кислота); 3) рН 2,5 (2 н. уксусная кислота).

Колонку заполняли ионообменником в  $\text{CH}_3\text{COO}^-$ -форме и уравнивали буферным раствором 1. Элюцию проводили градиентом, полученным последовательным пропусканием буферных растворов 2 и 3 через смеситель емкостью 1 л, заполненный раствором 1, и окончательно промывали раствором 3. Скорость элюции 26 мл/ч, а с 460-й фракции — 52 мл/ч, температура 38°, объем фракций 5—7 мл. Нингидриновую реакцию проводили после щелочного гидролиза [8].

Расщепление ПБ ВЯП химотрипсином и разделение пептидов на сефадексе G-15 описано ранее [5]. Дополнительное разделение и очистку пептидов из фракций, полученных хроматографией на дауэксе 1 × 2, проводили высоковольтным электрофорезом на приборе, сконструированном в нашей лаборатории [9], и хроматографией на бумаге (Whatman 3ММ, Англия; Filtrak FN 17, ГДР). Для электрофореза использовали пиридин-ацетатные буферные растворы с рН 6,5; 5,0; 3,5 и 8% муравьиную кислоту с рН 1,9, а для хроматографии — систему *n*-бутанол — пиридин — уксусная кислота — вода (15 : 10 : 3 : 12).

Аминокислотный состав пептидов, а также аминокислоты, отщепляющиеся в результате действия экзопептидаз, определяли на анализаторах аминокислот ААА-881 (ЧССР) и ВС-200 (ФРГ). Амиды дикарбоновых кислот определяли по подвижности пептидов при электрофорезе рН 6,5, а также после гидролиза пептидов лейцинаминопептидазой и карбоксипептидазой.

N-Концевую последовательность пептидов выясняли деградацией Эдмана с последующей идентификацией аминокислот в виде дансилпроизводных по методу Грея [10] в модификации Виноградовой и сотр. [11]. Дансиламинокислоты идентифицировали хроматографией на пластинках (6 × 6 см) с тонким слоем полиамида по Вуду и Вэнгу [12] в модификации Решетова и сотр. [13]. Определение N-концевой последовательности с помощью лейцинаминопептидазы (Serva, ФРГ) проводили в 0,2 н. N-этилморфолиновом буфере с рН 8,6 при 37°.

C-Концевую последовательность определяли с помощью карбоксипептидазы А (Serva, ФРГ) в аммоний-ацетатном буфере с рН 8,6 при 30°. В тех случаях, когда предполагалось наличие дикарбоновой кислоты в C-концевой последовательности, рН раствора снижали до 5,6 [14].

Для дополнительного расщепления пептидов использовали трипсин (Serva, ФРГ), термолизин (Seikagaku, Япония), а также проводили частичный кислотный гидролиз 0,03 н. HCl в течение 18 ч при 110°. Ферментатив-

ный гидролиз осуществляли в аммоний-ацетатном буфере с рН 8,5 в течение 5—7 ч при 37°. Смесь пептидов после расщепления разделяли электрофорезом и хроматографией в указанных выше системах.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Kozlov E. A., Sidorova N. M., Serebryani S. B. (1975) *J. Invert. Pathol.*, 25, 97—101.
2. Kozlov E. A., Levitina T. L., Sidorova N. M., Radavski Y. L., Serebryani S. B. (1975) *J. Invert. Pathol.*, 25, 103—107.
3. Кацман М. С., Кавсан В. М., Серебряный С. Б. (1974) *Биохимия*, 39, 543—551.
4. Левитина Т. Л., Козлов Э. А., Серебряный С. Б. (1976) *Биохимия*, 41, 228—235.
5. Кацман М. С., Кавсан В. М., Серебряный С. Б. (1973) *Биохимия*, 38, 971—975.
6. Кавсан В. М., Кацман М. С., Чернухша Л. А., Серебряный С. Б. (1972) *Укр. біохім. ж.*, 44, 429—433.
7. Ljouve M., Jamada M., Akaboshi E., Tsugita A. (1970) *J. Biol. Chem.*, 245, 3455—3488.
8. Moor S., Stein W. (1954) *J. Biol. Chem.*, 211, 907—913.
9. Кавсан В. М., Мороз Л. В., Серебряный С. Б. (1968) *Укр. біохім. ж.*, 40, 104—106.
10. Gray W. R. (1967) *Methods in Enzymol.* (Hirs C. H. W., ed.), v. XI, pp. 469—475, Acad. Press, N. Y.
11. Виноградова Е. И., Фейгина М. Ю., Алданова Н. А., Липкин В. М., Смирнов Ю. В., Потапенко И. А., Абдулаев И. Т., Киселев А. П., Егоров Ц. А., Овчинников Ю. А. (1973) *Биохимия*, 38, 3—21.
12. Woods K., Wang K. (1967) *Biochim. et biophys. acta*, 133, 369—371.
13. Решетов П. Д., Честухина Г. Г., Махмудов С., Пышкина А. С. (1971) *Химия природы. соед.*, 1, 66—68.
14. Пугачева И. Б., Степанов В. М., Амирханян М. Н. (1971) *Биохимия*, 36, 993—1000.

Поступила в редакцию  
5.III.1977

После доработки  
24.V.1977

#### PEPTIDES OF PARTIAL ACID AND CHYMOTRYPTIC HYDROLYSES OF POLYHEDRAL PROTEIN OF NUCLEAR POLYHEDROSIS VIRUS OF *BOMBYX MORI*

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

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

The amino acid sequences have been determined of 18 peptides of partial acid hydrolysis and 17 chymotryptic peptides of polyhedral protein of nuclear polyhedrosis virus of *Bombyx mori*. The sequences of 42 chymotryptic peptides described herein as well as those published previously are given, of which 28 peptides have non-overlapping sequences comprising 216 amino acid residues. A sequence comparison is presented for the above peptides and tryptic peptides which have been described earlier.