



УДК 547.962.05

ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА НЕКОТОРЫХ ПЕПТИДОВ  
ШЕЛКОТДЕЛИТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА  
*BOMBYX MORI* L.

Горленко В. А., Никитина И. Л., Грошева М. П.,  
Филиппович Ю. Б.

Московский государственный педагогический  
институт им. В. И. Ленина

Из фенольных и трихлоруксусных экстрактов шелкоотделительной железы тутового шелкопряда *Bombyx mori* L. выделено восемь пептидных фракций, охарактеризованы их аминокислотный состав и для двух соединений установлена аминокислотная последовательность (Glu-Cys-Gly, Glu-Gly). Обсуждается биологическая роль выделенных пептидов.

В настоящее время внимание многих исследователей направлено на изучение химии и биохимии свободных пептидов в живых организмах и в особенности на выяснение их функциональной роли и механизмов участия в процессах жизнедеятельности [1, 2].

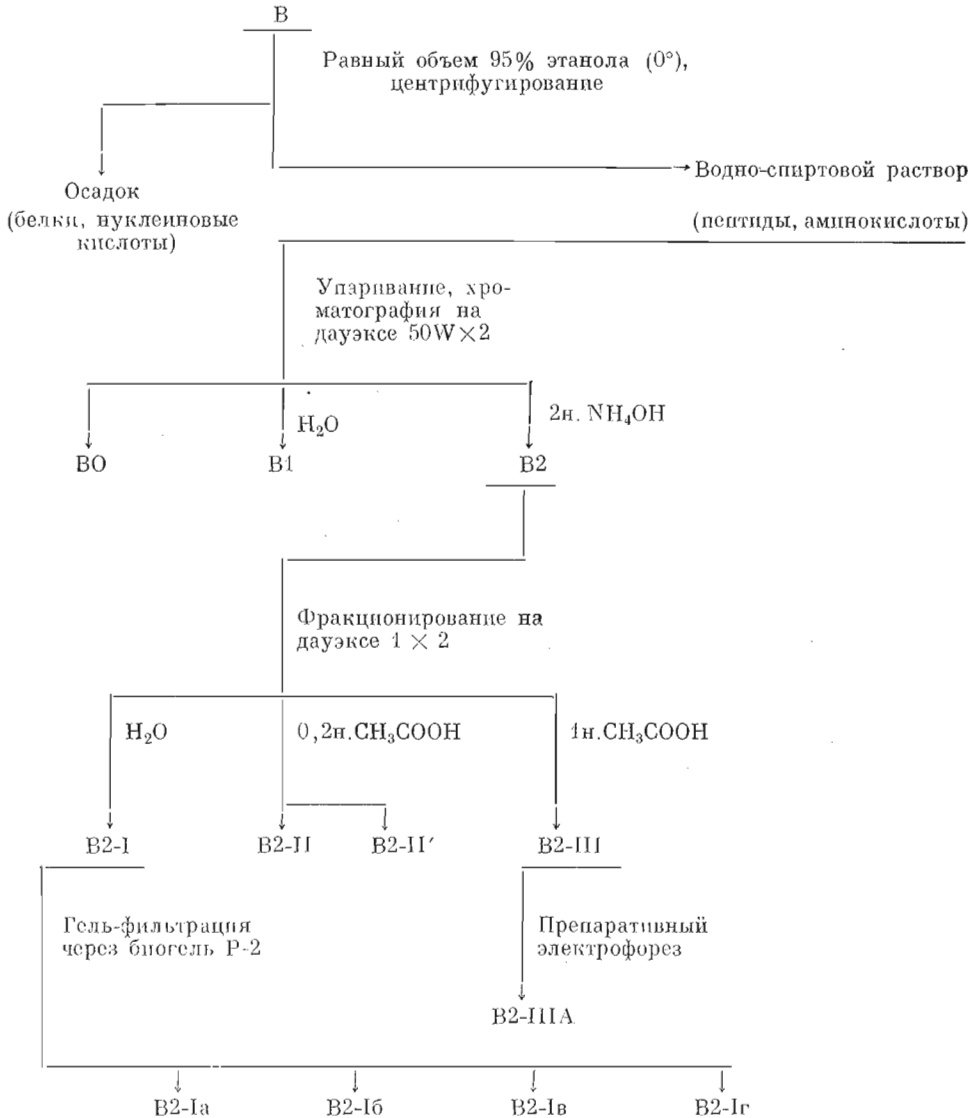
Рассмотрение литературы, касающейся изучения свободных пептидов, показывает, что пептидный фонд насекомых изучен в гораздо меньшей степени, чем у млекопитающих [2]. Для тутового шелкопряда, в частности, выявлены заметные различия в составе суммарной пептидной фракции в зависимости от пола [3]; из личинок и куколок выделено несколько индивидуальных пептидов [4, 5], в том числе из шелкоотделительной железы — полиглутаминовой кислота [6]. Ввиду большого народнохозяйственного значения тутового шелкопряда познание биохимических закономерностей его развития, открывающее возможности регулирования процессов шелкообразования и повышения продуктивности, представляет важную и интересную задачу.

Цель данной работы — выделение и более детальная характеристика пептидной фракции тутового шелкопряда. В наших ранних работах было показано, что в организме тутового шелкопряда присутствуют разнообразные по аминокислотному составу и величине молекул пептиды. Сопоставление суммарного состава пептидной фракции на различных этапах развития насекомого несомненно свидетельствует об участии пептидов в различных биохимических процессах. Пептиды на куколичной фазе развития были изучены нами более подробно как по составу, так, в отдельных случаях, и по строению (Glu-Gly-Gly, Clu-Gly, Asp-Gly, глутатион в окисленной и восстановленной форме и, возможно, Glu-Phe) [7, 8].

Дальнейшим развитием наших работ в этой области является изучение пептидных фракций отдельных тканей тутового шелкопряда. В первую очередь мы обратились к поискам свободных пептидов в шелкоотделительной железе насекомого, поскольку именно в этом органе в течение

Схема 1

Фракционирование водной фазы (В) фенольного экстракта шелкоотделительной железы тутового шелкопряда



непродолжительного периода осуществляется интенсивный синтез специфических белков шелка (фиброина и серицина), но отсутствует корреляция между аминокислотным составом этих белков и концентрацией свободных аминокислот в фиброиновом и серициновом отделах железы [9]. Кроме того, в железе был обнаружен специфический пептидный фонд, метаболически связанный с биосинтезом белков шелка [10]. При этом динамика накопления выделенного из пептидной фракции железы полиглутамата наводила на мысль о возможном осуществлении этими пептидами каталитической или регуляторной роли в процессе интенсивного биосинтеза специфических белков шелка [6].

Для экстракции пептидного материала из шелкоотделительной железы тутового шелкопряда мы использовали фенольный реагент, а также 10% раствор трихлоруксусной кислоты (см. «Экспериментальную часть»). Анализ пептидного состава фонда связанных аминокислот шелкоотдели-

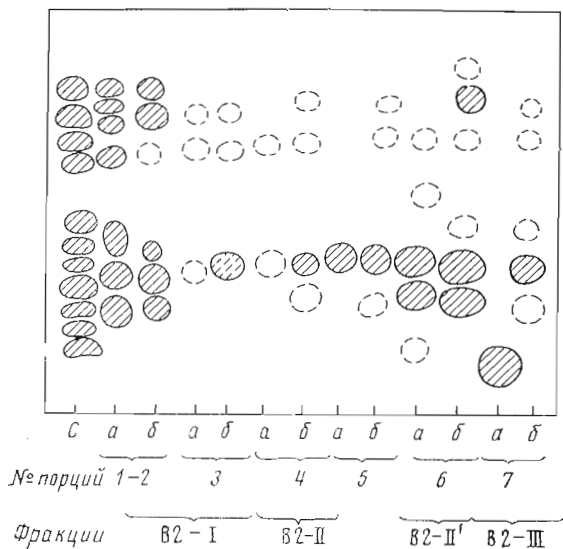


Рис. 1. ТСА в системе А фракций, полученных при хроматографии образца В2 на даузке  $1 \times 2$ , до (а) и после (б) кислотного гидролиза. С — стандартная смесь аминокислот (см. «Экспер. часть»)

тельной железы проводили, основываясь на разработанном нами ранее достаточно простом и относительно быстром методе фракционирования пептидно-аминокислотных смесей, который включает колоночную хроматографию на ионообменных смолах, гель-фильтрацию, препаративный электрофорез и хроматографию на бумаге [7, 8]. Для обнаружения пептидов в получаемых фракциях подвергали тонкослойной хроматографии их аликвоты до и после гидролиза, сравнивая общее содержание и изменения в распределении окрашиваемого нингидрином материала.

В результате фракционирования водной фазы фенольного экстракта на ионообменниках (см. схему 1 и «Экспер. часть») мы получили четыре фракции (В2-I, В2-II, В2-II' и В2-III), которые, как показал ТСХ-контроль, содержали пептиды (рис. 1). В остальных фракциях распределение обнаруживаемых нингидрином соединений в тонком слое целлюлозы не изменялось после гидролиза или содержание их было незначительно. При этом только в двух фракциях (В2-I и В2-III) количество пептидного материала оказалось достаточным для осуществления дальнейшего разделения. Для отделения пептидного материала от загрязняющих его в значительной мере свободных аминокислот фракцию В2-I подвергали гель-фильтрации через биогель Р-2, в результате были получены образцы пептидсодержащего материала В2-Ia и В2-Iб, охарактеризованные по аминокислотному составу (см. таблицу). Очистка фракции В2-III с использованием препаративного электрофореза на бумаге позволила выделить соединение пептидной природы В2-IIIA (рис. 2 и таблица). Определение N-концевой аминокислоты дансильным методом (ею оказалась глутаминовая кислота) подтвердило индивидуальность полученного пептида.

Из фенольной фазы экстракта в результате ряда последовательных операций, включающих колоночную хроматографию на катионо- и анионообменниках (схема 2), удалось выделить пептидные фракции Ф1-I и Ф1-II, которые были охарактеризованы по аминокислотному составу (таблица).

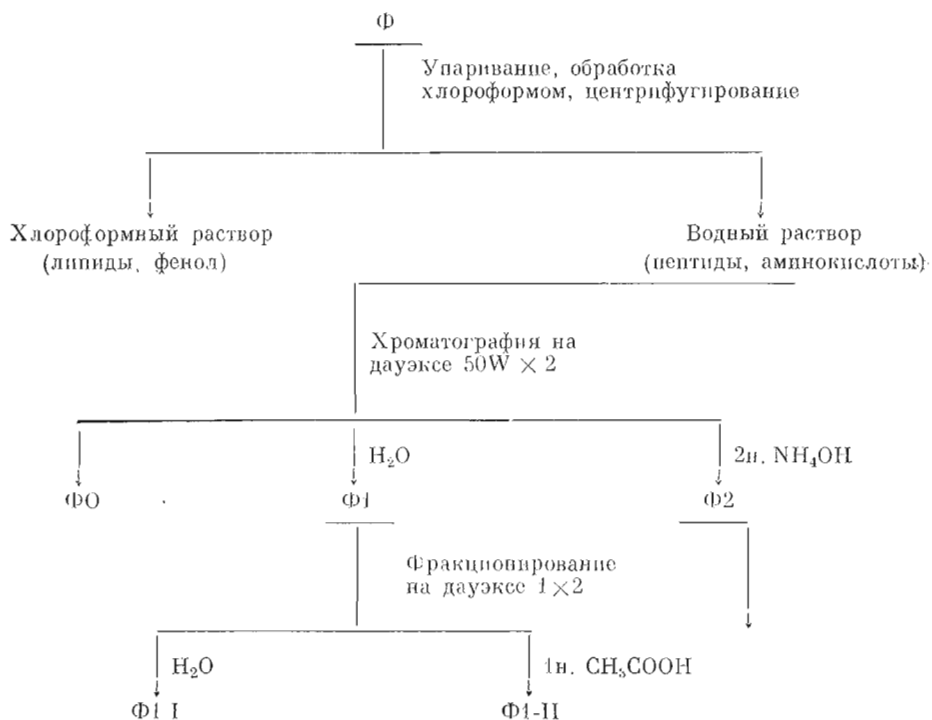
Ряд пептидных фракций был получен в результате хроматографического разделения трихлоруксусных экстрактов с помощью методов, описанных выше (см. схему 3). Качественный и количественный состав фракций определили в трех образцах: Т2а, Т2б и Т2г (рис. 3, таблица).

**Аминокислотный состав (мол.%) пептидных фракций (схемы 1-3), выделенных из шелкоотделительной железы тутового шелкопряда**

Аминокислоты	T2a	B2-1a	B2-1б	Ф1-1	T2б	T2г	B2-IIIa	Ф1-II
Cys (SO <sub>3</sub> H)			6,65		9,92	22,6	21,54	8,49
Met(0)		26,68				18,77		
Asp	7,15		31,60	33,46	13,76			
Thr	25,29				7,23	10,8		
Ser								
Glu	16,38		8,02	20,76		9,18	35,13	37,82
Pro		37,87	6,96					
Gly	21,97					6,85	38,03	53,69
Ala	7,03		7,08		33,46			
Cys-Cys					6,69			
Val	7,90	11,49	10,62		15,55			
Met						31,80		
Ile					9,30			
Leu	5,55			9,37				
Tyr								
Phe								
Lys								
His			12,35					
Arg								
Положение негидр. образца на кривой выхода с колонки анализатора	Asp-Glu		Ser-Thr	Thr-Ser		Met(0)	Ser-Asp	Cys (SO <sub>3</sub> H)
N-Концевая аминокислота							Glu	Glu

С х е м а 2

**Фракционирование фенольной фазы (Ф) экстракта шелкоотделительной железы тутового шелкопряда**



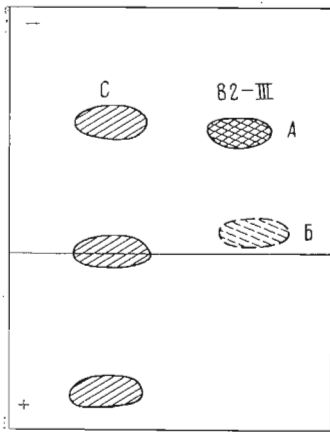


Рис. 2

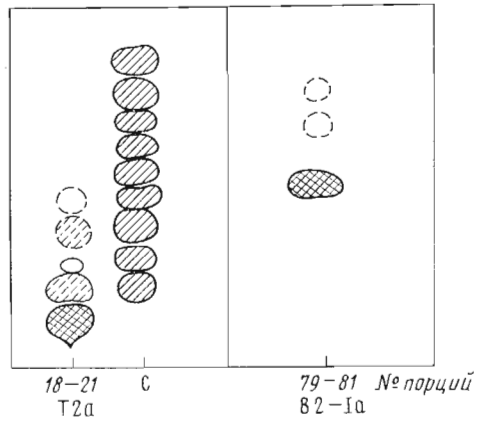


Рис. 4

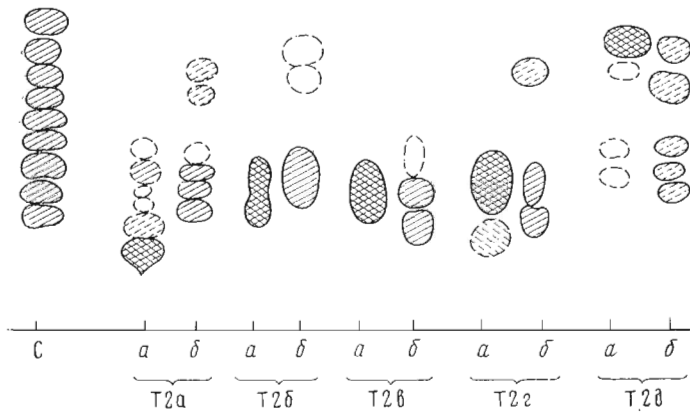


Рис. 3

Рис. 2. Электрофорез на бумаге FN-11 фракции B2-III (пиридин-ацетатный буфер, pH 4,6; 20 В/см, 4 ч)

Рис. 3. ТСХ в системе А фракций, полученных после гель-фильтрации образца T2 через биогель P-2, до (а) и после (б) их кислотного гидролиза

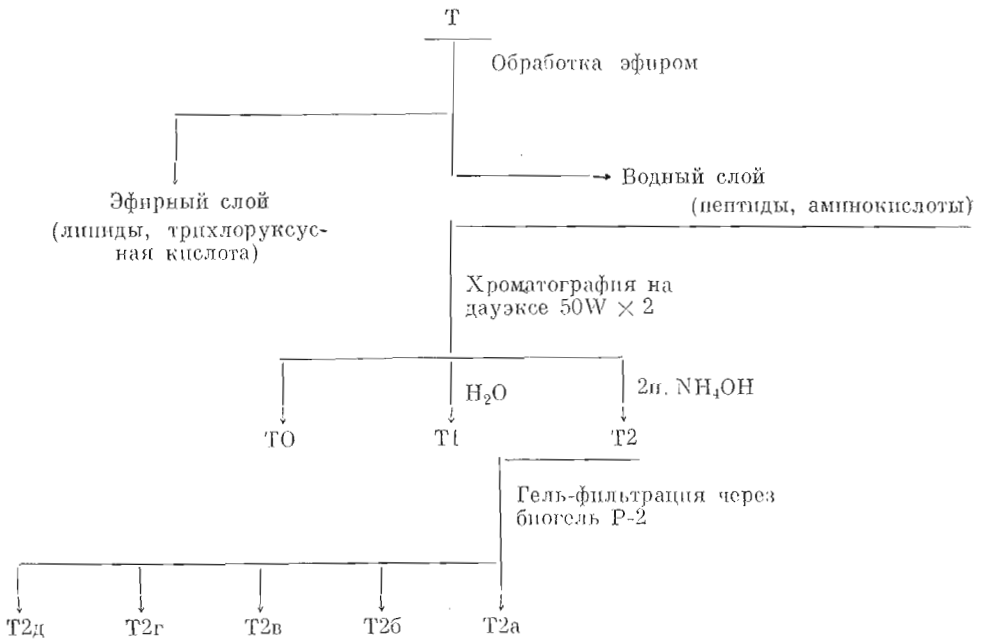
Рис. 4. Качественный состав проявляемых нингидрином соединений при ТСХ в системе А фракций T2a и B2-1a, выходящих в ходе гель-фильтрации образцов T-2 и B2 через биогель P-2 до основной массы аминокислот

Таким образом, в результате проведенного исследования было выделено восемь пептидных фракций (см. таблицу), которые в соответствии с аминокислотным составом и молекулярной массой можно подразделить на три основные группы.

В первую группу входят крупные пептиды, имеющие молекулярную массу не менее 2000 дальтон, поскольку эти соединения выходят при элюции с биогеля P-2 в свободном объеме колонки (см. рис. 4 и таблицу, фракция T2a). Особенностью аминокислотного состава этих пептидов является высокое содержание нейтральных и оксиаминокислот (Gly, Val, Thr), умеренное количество кислых (Glu, Asp) и практически полное отсутствие основных, серосодержащих и ароматических аминокислот. Пептидные соединения близкого аминокислотного состава и молекулярной массы, представляющие собой, по-видимому, группу гомологичных пептидов, были обнаружены нами и ранее в трихлоруксусных экстрактах куколок тутового шелкопряда [8].

Схема 3

Фракционирование трихлоруксусного (Т) экстракта шелкоотделительной железы тутового шелкопряда



Функциональная роль подобных соединений остается неизвестной. Интересно, однако, что в различных живых объектах было обнаружено присутствие групп родственных пептидов, близких по величине и характерному аминокислотному составу найденной нами фракции крупных пептидов (работы Пигмана и сотр. [11, 12]). Независимость состава обнаруженных пептидов от вида организма или ткани дала основание Пигману и сотр. рассматривать подобные соединения в качестве метаболитов в биосинтезе белка по механизму, не укладывающемуся в типичную матричную схему, а также предполагать, что подобный механизм носит общий характер и обеспечивает быстрый и легкий путь новообразования некоторых белков. Однако прямые доказательства предполагаемого механизма в работах указанных авторов отсутствуют.

Тем не менее имеются факты, свидетельствующие об использовании некоторых пептидов в качестве исходного фонда для построения специфических белков [2]. Не исключено, однако, что обсуждаемая группа пептидов представляет собой осколки структурных белков клеточных мембран, учитывая относительную лабильность последних. В этой связи можно отметить, что фенольные экстракты шелкоотделительной железы в отличие от трихлоруксусных не содержат подобных фрагментов (ср. качественный состав доаминокислотных фракций, рис. 4).

Вторая группа выделенных нами из шелкоотделительной железы тутового шелкопряда соединений, включающая фракции В2-1а, В2-1б, Ф1-1, Т2б и Т2г, представлена, по-видимому, олигопептидами, поскольку они содержат ограниченный набор аминокислот или выходят при элюции с колонки (биогель Р-2) за свободным объемом перед выходом основной массы свободных аминокислот или вместе с ними. Характерная особенность состава этих пептидных фракций — значительное содержание кислых (Asp и/или Glu), а также нейтральных аминокислот (Pro, Gly, Ala, Val, Ile и др.). Лишь во фракции В2-1б обнаружен гистидин.

Широкая распространенность аспартил- и в особенности глутамилпептидов в составе пептидного фонда различных организмов известна. В ряде

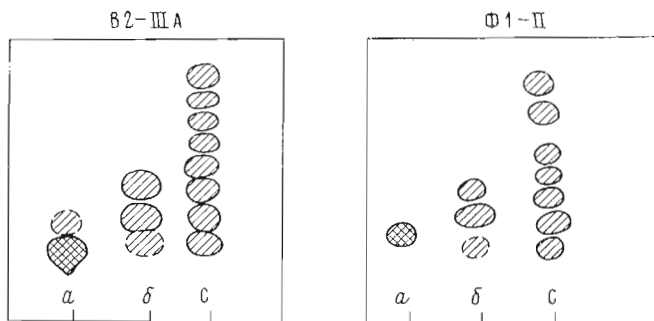


Рис. 5. ТСХ в системе А образцов В2-III А и Ф1-II (а) и их гидролизатов (б), полученных в условиях кратковременного кислотного гидролиза (20% HCl, 105°, 3 ч)

случаев несомненна регуляторная роль подобного рода пептидов (брадикининпотенцирующие факторы [13], пептиды из желудочного сока шелкопряда, усиливающие терапевтический эффект витамина В<sub>12</sub> [14]). Пептиды близкого аминокислотного состава, обнаруженные у микроорганизмов, по всей вероятности, участвуют в процессах, связанных с их ростом [15].

Две из полученных фракций (В2-1б и Т2г) содержат довольно необычную аминокислоту — метионинсульфоксид, частично в связанном, но в основном в свободном состоянии (по данным аминокислотного анализа образцов до и после гидролиза). Обнаружение метионинсульфоксида в связанном состоянии в тканях насекомых — явление довольно редкое [16]. Биологическая роль подобных соединений неизвестна. Что касается свободного метионинсульфоксида, то возможной функцией этого соединения в организме насекомых, по данным Чена [17], является его участие в репродуктивных процессах. Некоторые исследователи склонны объяснять присутствие метионинсульфоксида в пептидах окислением содержащихся в их составе метионина в процессе выделения пептидов. Однако проведенная нами предварительная проверка не подтвердила данного предположения.

В ходе выделения материала пептидной природы из шелкоотделительной железы тутового шелкопряда нам удалось получить два индивидуальных соединения, которым на основании количественного определения аминокислотного состава и N-концевых аминокислот в их составе (таблица) можно приписать такие последовательности:



Строение соединения В2-III А подтверждено совпадением его хроматографической подвижности в тонком слое целлюлозы с подвижностью синтетического глутатиона. Определенным свидетельством в пользу  $\gamma$ -типа связи остатка глутаминовой кислоты в этих пептидах служит их лабильность в условиях кратковременного кислотного гидролиза (см. рис. 5).

Распространенность  $\gamma$ -глутамильных пептидов, как выяснилось сравнительно недавно, довольно широка [18—21]. Подобного же рода низкомолекулярные пептиды были обнаружены нами ранее в трихлоруксусных экстрактах куколок тутового шелкопряда [7—8]. Аналогичные пептиды с  $\alpha$ -глутамильными связями также встречаются, но гораздо реже. Физиологическая роль  $\gamma$ -глутамилпептидов в большинстве случаев туманна, и ее объяснение находится на стадии гипотез.

Нам представляется возможным трактовать роль подобных низкомолекулярных пептидов в обмене веществ у тутового шелкопряда с точки

зрения их участия в активном транспорте аминокислот через клеточные мембраны с помощью  $\gamma$ -глутамилтрансферазных реакций в соответствии с гипотезой, выдвинутой Майстером [22]. В этом отношении довольно показательно обнаружение нами в составе шелкоотделительной железы заметных количеств глутатиона, являющегося донором  $\gamma$ -глутамильных остатков.

Не исключено также, что такие пептиды могут служить для создания в организме насекомых фонда отдельных аминокислот в виде  $\gamma$ -глутамилпептидов с целью интенсивного использования этих аминокислот в периоды активной перестройки организма, как показано, в частности, на примере  $\gamma$ -глутамилфенилаланина из личинки домашней мухи [21]. Можно предположить, что и глутамилглицин играет роль запасного вещества в шелкоотделительной железе, являясь депо глицина, который в огромных количествах идет на синтез белков шелка, отличающихся крайне высоким (до 40%) содержанием этой аминокислоты.

Известны, однако, и иные функции  $\gamma$ -глутамилпептидов [23]. Разноречивость вышеуказанных данных не предоставляет пока возможности однозначно трактовать роль  $\gamma$ -глутамилпептидов у тутового шелкопряда. Для подтверждения предположений, высказанных выше по этому поводу, необходимо изучить динамику содержания этих пептидов на различных фазах развития насекомого, а также провести исследования  $\gamma$ -глутамилтрансферазных реакций в организме шелкопряда, что представляет предмет наших дальнейших исследований.

### Экспериментальная часть

Материалом для работы служила шелкоотделительная железа тутового шелкопряда *Bombyx mori* L., которую выделяли из живых личинок конца V возраста непосредственно перед экстракцией.

Полученные из шелкоотделительной железы экстракты, содержащие пептиды и аминокислоты, подвергали фракционированию на ионообменниках дауэкс 50W  $\times$  2 и 1  $\times$  2, а также гель-фильтрации на биогеле Р-2.

Для обнаружения пептидов в получаемых фракциях осуществляли хроматографию их аликвот в тонком слое целлюлозы марки MN-300 в системе А: пиридин — *n*-бутанол — уксусная кислота — вода (63 : 94 : 19 : 75) и сравнивали общее содержание и изменения в распределении окрашиваемого нингидрином материала до и после кислотного гидролиза (20% HCl, 24 ч, 110°) образцов (см. рис. 1—6; С — стандартный раствор, получаемый смешением равных объемов 0,1 М растворов следующих аминокислот: Cys, Cys, Lys, His, Arg, Ser, Asp, Gly, Glu, Thr, Ala, Tyr, Pro, Val, Met, Leu, Ile, Phe \*.

Количественный аминокислотный состав пептидов определяли с помощью автоматического аминокислотного анализа на приборе KLA-3B (Hitachi, Япония). Разделение кислых, нейтральных и ароматических аминокислот проводили на колонке (0,9  $\times$  50 см) с ионообменной смолой № 2612 по 4-часовой программе цитратными буферами со значениями рН 3,25 и 4,25 с автоматической сменой буфера через 40 мин после начала анализа. Соединения основного характера разделяли на колонке (0,6  $\times$  10 см) со смолой № 2611 при элюции цитратным буфером с рН 5,28 в течение 1 ч.

*Фенольная экстракция.* Растертую в жидком азоте ткань встряхивали с 10-кратным по отношению к весу железы объемом смеси водонасыщенного фенола с буферным раствором (1 : 1), содержащим 0,001 М этилендиаминтетрауксусную кислоту, 0,15 М бензоат натрия, 0,36 М *n*-аминосалициловую кислоту и 0,5% додецилсульфат натрия, в течение 1 ч при

\* Различия в хроматографическом поведении смеси С, полученные на рис. 1—6, связаны с погрешностями эксперимента.



20°. Смесь центрифугировали при 6000—7000 g и получали водную (В) и фенольную (Ф) фазы, которые далее обрабатывали отдельно; полученный осадок отбрасывали.

*Обработка водной фазы (В) фенольного экстракта шелкоотделительной железы тутового шелкопряда (схема 1).* К водной фазе экстракта добавляли на холоду равный объем охлажденного до 0° 96% этанола и центрифугировали. Осадок, содержащий белки, нуклеиновые кислоты, отбрасывали. Надосадочную жидкость упаривали, остаток растворяли в минимальном объеме (5—10 мл) воды и доводили pH раствора до 6 разбавленной (1 : 1) HCl. Раствор несколько раз промывали эфиром для удаления остатков фенола и водный слой пропускали через колонку с дауэксом 50W × 2 (2 × 14 см) порциями, содержащими ~1 г сухого вещества. Адсорбированный материал каждой порции затем элюировали водой (40 мл) и 2 н. NH<sub>4</sub>OH (40 мл). Получали три фракции — ВО (свободный объем), В1 и В2, — качественный состав нингидринположительного материала в которых определяли с помощью ТСХ (рис. 6).

Далее исследовали наиболее перспективную с точки зрения содержания пептидов фракцию В2. Содержимое фракции упаривали досуха, остаток (1—1,5 г) растворяли в ~5 мл воды, доводили pH раствора до 6 ледяной уксусной кислотой и наносили на колонку (2 × 19 см) с дауэксом 1 × 2 (СН<sub>3</sub>СОО<sup>-</sup>-форма). Элюцию материала с колонки проводили водой (180 мл) и ступенчатым градиентом уксусной кислоты (по 120 мл 0,2; 1 и 8 н. СН<sub>3</sub>СООН) и, наконец, 1 н. HCl (120 мл) со скоростью 60 мл/ч. Собирали порции по 60 мл и анализировали их аликвоты на присутствие пептидов, сравнивая распределение нингидринположительного материала в тонком слое целлюлозы до и после кислотного гидролиза образцов. ТСХ-контроль показал, что пептидсодержащими являются порции 1—4, 6 и 7 (ср. со стандартом аминокислот, рис. 1). В остальных порциях качественный состав соединений, обнаруживаемых нингидрином, не изменялся после гидролиза. Однако только во фракциях В2-I (порции 1—3; 160 мг) и В2-III (порция 7; 20 мг) количество пептидного материала оказалось достаточным для осуществления дальнейшего разделения. Фракцию В2-I, в значительной степени загрязненную свободными аминокислотами, подвергали далее гель-фильтрации на колонке (1,5 × 50 см) с биогелем Р-2, элюируя материал 10% водным раствором изопропанола в условиях, описанных нами ранее [24]. Собирали порции по 2,5 мл и анализировали их состав с помощью ТСХ, как описано выше. Пептидный материал был обнаружен во фракциях В2-Ia (порции 79—81) и В2-Iб (порции 90—92). Качественный аминокислотный состав пептидов указанных фракций определяли с помощью автоматического аминокислотного анализа (анализатор аминокислот KLA-3B, фирма Hitachi), исследуя состав высушенных образцов до и после их кислотного гидролиза (таблица).

Фракцию В2-III очищали с помощью препаративного электрофореза на приборе УЭФ на бумаге FN-11 (ширидин-ацетатный буфер, pH 4,6, при 13—20 В/см, 3—4 ч — рис. 2). Зону В2-IIIa элюировали с бумаги 10% изопропанолом и после высушивания раствора получили пептид, индивидуальность которого, кроме данных ТСХ и автоматического аминокислотного анализа до и после гидролиза, подтвердило и определение N-концевой аминокислоты дансильным методом, который позволил обнаружить после осуществления стандартной процедуры только дансилглутаминовую кислоту.

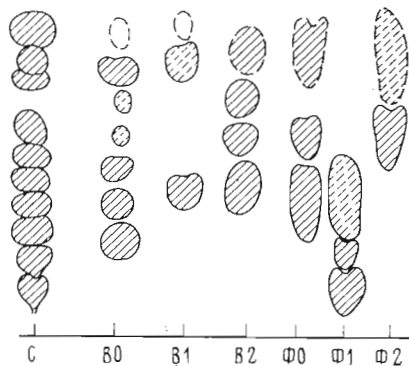


Рис. 6. ТСХ в системе А фракций, полученных при хроматографии водной (В) и фенольной (Ф) фаз фенольных экстрактов на дауэксе 50W × 2

Обработка фенольной фазы (Ф) экстракта шелкоотделительной железы тутового шелкопряда (схема 2). Фенольную фазу экстракта упаривали в вакууме примерно наполовину, подкисляли разбавленной (1 : 1) HCl до pH 6—7 и экстрагировали хлороформом. Образующуюся эмульсию разбивали центрифугированием при 6000—7000 g в течение 10 мин. Полученный водный слой упаривали до небольшого объема (~ 10 мл) и проверяли на присутствие белка с помощью электрофореза в полиакриламидном геле в стандартных условиях [25]. Проверка показала отсутствие белка в экстракте. Далее водный раствор подвергали ионообменной хроматографии на даэксе 50W × 2 в условиях, приведенных выше, и получали три фракции (Ф0, Ф1 и Ф2), качественный состав нингидринположительного материала в которых представлен на рис. 6. Две из этих фракций (Ф1 и Ф2) далее фракционировали на даэксе 1 × 2, как описано выше. Анализ на присутствие пептидного материала с помощью ТСХ позволил обнаружить его во фракциях Ф1-I (порция 3) и Ф1-II (порция 7). Количественный аминокислотный состав пептидов указанных фракций был определен с помощью автоматического аминокислотного анализа (см. таблицу). Образцы, полученные фракционированием Ф2, содержали пептидный материал в малых количествах, не позволяющих осуществить дальнейший их анализ.

Экстракция трихлоруксусной кислоты (Т) шелкоотделительной железы тутового шелкопряда (схема 3). Экстракцию проводили перемешиванием на холоду в течение 30 мин свежевыделенной, растертой в жидком азоте ткани (30 г) в 10-кратном (по объему) избытке 10% трихлоруксусной кислоты. Осадок удаляли фильтрованием. Фильтрат несколько раз промывали эфиром для удаления трихлоруксусной кислоты, эфирный слой отбрасывали, а водную фазу упаривали в вакууме до небольшого объема.

Полученный экстракт фракционировали на даэксе 50W × 2, как описано выше, и собирали три фракции: свободной объем (Т0), водный (Т1) и аммиачный (Т2) элюаты. Аммиачный элюат упаривали досуха, остаток (165 мг) растворяли в минимальном объеме воды и после доведения pH раствора до 6 с помощью ледяной уксусной кислоты подвергали гель-фильтрации через биогель Р-2 с использованием двух последовательно соединенных колонок (1,5 × 80 см) в приведенных выше условиях, собирая порции по 5 мл. ТСХ-контроль обнаружил присутствие пептидного материала во фракциях Т2а (порции 18—21), Т2б (порции 22—26), Т2в (порции 27—28), Т2г (порции 29—30) и Т2д (порции 48—49) (см. рис. 3). Количественный состав связанных аминокислот удалось определить для фракций Т2а, Т2б и Т2г (см. таблицу).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Sano I. (1970) *Int. Rev. Neurobiol.*, 12, 235—263.
2. Никитина И. Л., Горленко В. А., Филиппович Ю. Б. (1976) Уч. зап. МГПИ им. В. И. Ленина, вып. XVIII, 6—81.
3. Kondo J. (1957) *J. Sericult. Sci. Jap.*, 23, 341—344.
4. Спсакян Н. М., Вейнова М. К. (1962) *Биохимия*, 27, 173—179.
5. Краснова С. Н. (1972) Канд. дис. «Нуклеотидпептиды в организме тутового шелкопряда», М.
6. Клунова С. М., Филиппович Ю. Б. (1970) Уч. зап. МГПИ им. В. И. Ленина, вып. XIII, 148—153.
7. Никитина И. Л., Горленко В. А., Филиппович Ю. Б. (1974) Тезисы докл. III Всес. симпоз. по химии пептидов и белков, с. 107, Киев.
8. Никитина И. Л. (1974) Канд. дис. «Пептиды в организме тутового шелкопряда (методы выделения и фракционирования, структура и возможное биологическое значение)», М.
9. Клунова С. М., Филиппович Ю. Б. (1970) Уч. зап. МГПИ им. В. И. Ленина, вып. XIII, 100—104.
10. Клунова С. М., Филиппович Ю. Б. (1970) Уч. зап. МГПИ им. В. И. Ленина, вып. XIII, 154—160.
11. Help A., Liska M., Payza N., Pigman W., Vittek J. (1970) *FEBS Lett.*, 6, 321.

12. Moschera J., Mound R., Payza N., Pigman W., Weiss M. (1970) FEBS Lett., 6, 326.
13. Ferreira S. H., Bartlet D. C., Green L. J. (1970) Biochemistry, 9, 2583—2593.
14. Heathcote J. D., Washington R. J. (1970) Int. J. Prot. Res., 2, 117—126.
15. Grunberger D., Cerna J., Sorm F. (1960) Collect. Czech. Chem. Commun., 25, 2800—2806.
16. Henry S. M., Block R. J., Cook T. W. (1964) Adv. Chemistry, 44, 85—95.
17. Chen P. S. (1963) J. Insect Physiol., 9, 453—462.
18. Kanazawa A., Kakimoto Y., Nakajima T., Shimizu H., Takisada M., Sano I. (1965) Biochim. et biophys. acta, 97, 460—464.
19. Sano I., Kakimoto Y., Kanazawa A., Nakajima T., Shimizu H. (1966) Neurochem., 13, 711—719.
20. Morris C. J., Thompson J. F. (1962) Biochemistry, 1, 706.
21. Levenbook L., Bodnaryk R. P., Spande T. F. (1969) Biochem. J., 113, 837—841.
22. Meister A. (1973) Science, 180, 33—39.
23. Lonnett P. E., Roberts R. J., Strominger Y. L. (1974) J. Biol. Chem., 249, 2437—2506.
24. Никитина И. Л., Горленко В. А., Филиппович Ю. Б. (1974) Уч. зап. МГПИ им. В. И. Ленина, вып. XVII, 116—124.
25. Щеголева Л., Филиппович Ю. Б. (1969) Уч. зап. МГПИ им. В. И. Ленина, вып. XI, 161—176.

Поступила в редакцию  
8.VII.1976

После доработки  
15.XI.1976

#### ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF SOME PEPTIDES FROM *BOMBYX MORI* L. SILKWORM SILK-GLAND

GORLENKO V. A., NIKITINA I. L.,  
GROSHEVA M. P., PHILIPPOVICH Yu. B.

*V. I. Lenin State Pedagogical Institute, Moscow*

Eight peptide fractions have been isolated from the phenol and trichloroacetic acid extracts of the *Bombyx mori* L. silkworm silk-gland. The amino acid composition of these peptide fractions and the amino acid sequences of two individual compounds (Glu-Cys-Gly; Glu-Gly) were determined. The biological role of the isolated peptides is discussed.