



УДК 547.962

РИБОСОМАЛЬНЫЙ БЕЛОК L3

I. ПЕПТИДЫ ТРИПТИЧЕСКОГО ГИДРОЛИЗАТА

*Муранов А. В., Муранова Т. А., Маркова Л. Ф.**Институт белка Академии наук СССР, Пущино, Московская область*

Рибосомальный белок L3 гидролизали трипсином. Растворимую при pH 2,0 часть гидролизата фракционировали на катионите AG50 \times 4 с дальнейшей очисткой пептидов при помощи высоковольтного электрофореза и хроматографии на бумаге. Для разделения нерастворимых пептидов была использована ионообменная хроматография на анионите AG1 \times 2. Выделены 36 пептидов и 4 индивидуальные аминокислоты, составляющие в сумме 265 аминокислотных остатков. Установлена полная аминокислотная последовательность 34 и частичная двух пептидов. Количество аминокислотных остатков, входящих в состав неперекрывающихся пептидов, равно 218.

В настоящее время известно, что в состав рибосом (70S) входят 55 белков. Функция этих белков, их топография, взаимодействие с РНК представляют большой интерес в связи с исследованием механизма работы рибосомы. При этом особую важность приобретает знание первичной структуры рибосомальных белков. В настоящее время установлены аминокислотные последовательности 24 белков 70S-рибосом, в том числе в нашей лаборатории были определены аминокислотные последовательности белков L25, L32, L10 [1, 2, 3]. В развитие этих исследований нами проводится изучение первичной структуры одного из самых больших белков рибосомальной 50S-субчастицы — белка L3, который входит в число РНК-связывающих белков [4]. Этот белок обладает настолько большим сродством к РНК, что остается связанным с 23S-РНК после обработки 50S-субчастиц 6 M LiCl [5]. Как было установлено [6, 7], белок L3 специфически и независимо от других белков связывается с 3'-концевым 11S-фрагментом 23S-РНК. Показано также, что белок L3 имеет изоэлектрическую точку 9,7 [8], молекулярный вес 27000 [9, 10] и его N-концевой аминокислотой является Met [9]; около 15% аминокислотных остатков этого белка составляют основные аминокислоты [11].

Данная работа посвящена выделению пептидов, полученных после гидролиза белка L3 трипсином, и установлению их аминокислотной последовательности.

Белок L3 выделяли из 70S-рибосом *E. coli* MRE-600, как описано ранее [9], с выходом 50 мг из 10 г суммарного белка. Определение аминокислотного состава белка L3 дало следующие результаты (в мол. %): Asp 9,06; Thr 7,35; Ser 4,89; Glu 9,99; Pro 2,80; Gly 11,70; Ala 9,20; Val 11,68; Met 1,84; Ile 4,00; Leu 5,70; Tyr 0,69; Phe 3,61; His 1,52; Lys 9,94; Arg 5,95. Эти данные хорошо согласуются с литературными [11]. Определение аминокислотного состава гидролизата, полученного при обработке белка

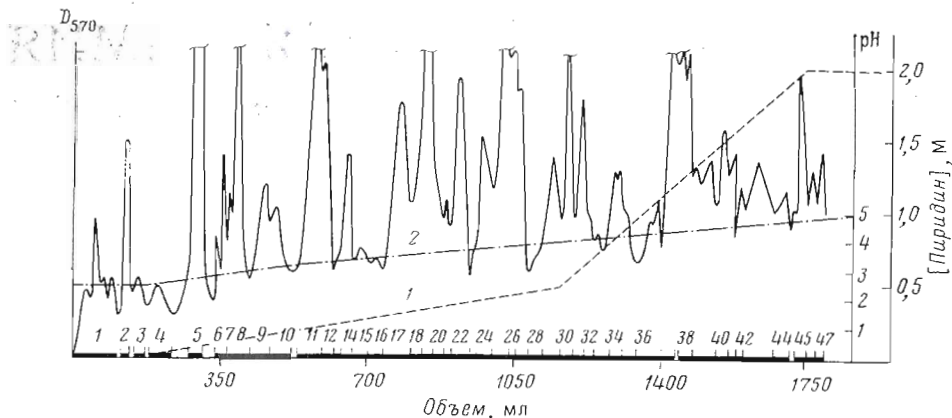


Рис. 1. Разделение растворимых триптических пептидов рибосомального белка L3 на катионите AG50 × 4. Утолщенная линия на оси абсцисс обозначает границы объединенных фракций. 1 — изменение молярности пиридин-ацетатного буфера; 2 — изменение pH пиридин-ацетатного буфера

L3 *n*-толуолсульфокислотой, показало, что содержание Trp в белке составляет 0,61 мол. %.

Гидролиз белка трипсином проводили в стандартных условиях [12] в течение 70 ч. Для отделения нерастворимых при кислых значениях pH пептидов гидролизат подкисляли ледяной уксусной кислотой до pH 2,0. Методом пептидных карт удалось выяснить, что в состав растворимой части гидролизата входит не менее 30 пептидов. Для фракционирования растворимой части триптического гидролизата белка L3 использовали ионообменную хроматографию на катионите AG50 × 4 в градиенте концентрации и pH пиридин-ацетатного буфера. В результате было получено 47 объединенных фракций (рис. 1). При анализе этих фракций методом высоковольтного электрофореза в тонком слое целлюлозы удалось не

Таблица 1

Данные о распределении триптических пептидов белка L3 по фракциям и их выделению

Пептид	Получен из фракции №	Дополнительная очистка с помощью ЭФ* при pH	Выход, мол. %	Пептид	Получен из фракции №	Дополнительная очистка с помощью ЭФ* при pH	Выход, мол. %
T1	2, 8	1, 9	5,5	T17	20	3,5; 6,5; 1,9	6,0
Ala	5	1, 9	28,7	T18	22, 23	3, 5	30,6
Gly	5	1, 9	8,0	T19	23, 28, 35	3, 5	42,0
T2	8	3, 5	8,5	T20	25	3, 5	27,0
T3	9		98,0	T21	25	3,5; 6,5	2,3
T4	11, 12	3, 5	37,0	T22	25, 26, 27	3, 5	55,0
T5	11	3,5; 6,5	6,3	Arg	26, 27	3, 5	29,0
T6	12	3,5; 6,5; BX**	5,8	T23	26, 27	3, 5	21,5
T7	13, 14	3,5; 6,5	17,2	T24	27, 28	3, 5	25,7
T8	13, 14	3,5; 6,5	8,3	T25	27	3, 5	6,7
T9	16	3,5; BX	4,3	T26	28	3, 5	1,7
T10	17, 18	3, 5	71,0	T27	31, 32	3, 5	24,0
T11	17, 18	3, 5	12,9	T28	32	3, 5	6,7
T12	17	3,5; 6,5	3,1	T29	33	3, 5	1,1
T13	18	3, 5	14,6	T30	37	3, 5	13,3
T14	18	3, 5	2,9	T31	37	3, 5	1,0
T15	19	3, 5	16,7	T32	39, 40	3, 5	6,6
Lys	19, 20	3, 5	40,0	T33	39	3, 5	16,7
T16	20, 21	3,5; 6,5	6,7	T34	43		21,0

* ЭФ — высоковольтный электрофорез на бумаге.

** BX — хроматография на бумаге.

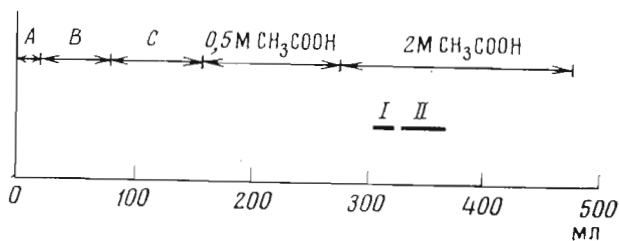


Рис. 2. Разделение нерастворимых триптических пептидов рибосомального белка L3 на анионите AG1 × 2. Над линией со стрелками указаны растворы, пропускаемые через смеситель (см. «Экспер. часть»). Черные прямоугольники соответствуют расположению фракций, содержащих пептиды. I — объединенная фракция, содержащая пептид T35; II — объединенная фракция, содержащая смесь пептидов T35 и T36

только ориентировочно определить число пептидов, входящих в состав каждой фракции, но и подобрать условия для дальнейшего разделения. В табл. 1 представлены данные о распределении триптических фрагментов белка L3 по фракциям. Порядок записи пептидов соответствует порядку выхода их с колонки при ионообменной хроматографии. Было установлено, что фракции 9, 22, 35, 43 содержат соответственно индивидуальные пептиды T3, T18, T19, T34. Большинство же фракций имело сложный состав и было подвергнуто далее высоковольтному электрофорезу на бумаге при различных значениях pH; в отдельных случаях была использована бумажная хроматография. Для детекции Tгр-содержащих пептидов все объединенные фракции были исследованы при помощи реактива Эрлиха. Tгр-содержащие пептиды были обнаружены только в двух фракциях (27 и 43), из которых в дальнейшем были выделены соответствующие пептиды T25 и T34. Таким образом, из растворимой при pH 2,0 части триптического гидролизата белка L3 было выделено 34 пептида, аминокислотный состав которых приведен в табл. 2, и четыре индивидуальных аминокислоты: Lys, Arg, Ala и Gly. Оценка гомогенности выделенных пептидов проводилась как хроматографически, так и определением их N-концевых аминокислотных остатков.

Для всех пептидов были определены полные аминокислотные последовательности (табл. 3). Необходимо отметить, что во время триптического гидролиза оказались частично или полностью нерасщепленными связи Lys-Val (пептид T20), Lys-Lys (пептид T30), Lys-Pro (пептиды T7, T19), Lys-Ala (пептид T32). С другой стороны, кроме специфического расщепления трипсином пептидных связей по остаткам Lys и Arg, наблюдался неспецифический гидролиз. Так, вследствие гидролиза по остатку Tгр в пептиде T34 появились фрагменты T28 и T25. Расщепление по остатку Asp привело к образованию пептида T5. Наконец, гидролиз по остатку Phe в пептиде T35 способствовал отщеплению его N-концевой части — пептида T1.

При исследовании нерастворимой при pH 2,0 части триптического гидролизата белка L3 в качестве N-концевых аминокислотных остатков входящих в ее состав пептидов были идентифицированы Leu и Ile, что дало возможность предположить наличие только двух пептидов в этой части гидролизата. Для их разделения использовали ионообменную хроматографию на анионите AG1 × 2 в градиенте pH пиридин-пиколин-N-этилморфолинового буфера (рис. 2). Детекцию пептидов осуществляли при помощи тонкослойной хроматографии и анализа N-концевых аминокислотных остатков. В результате ионообменной хроматографии был выделен пептид T35. Для выделения второго пептида, входящего в эту часть гидролизата (пептид T36), одна из фракций, полученных после ионообменной хроматографии, была подвергнута высоковольтному электрофорезу на бумаге.

Таблица 2

Характеристика пептидов триплического гидролизата белка L3

Пеп- тид	Аминокислотный состав													Количество остатков аминокислот в пептиде	N-Концевая аминокислота				
	Asp	Thr	Ser	Glu	Pro	Gly	Ala	Val	Met	Ile	Leu	Tyr	Phe			His	Lys	Arg	Trp
T1				2,65 (3)		1,85 (4)	1,35 (1)				1 (1)		0,95 (1)				7	Leu	
T2	1,03 (1)	0,97 (1)	0,94 (1)		1,11 (1)	2,78 (3)	2,41 (2)	1,80 (2)		0,56 (1)	0,94 (1)				1 (1)		14	Gly	
T3	0,94 (1)	1,04 (1)	0,92 (1)	1,91 (2)	1,64 (2)	1,95 (3)	1,22 (1)	1,22 (1)	1	1 (1)					0,89 (1)		13	Val	
T4		1,62 (2)		1,04 (1)		1,43 (1)	1,89 (2)	1,02 (1)	0,89 (1)						1 (1)		9	Ala	
T5	1,61 (2)	1,50 (2)		0,88 (1)		1 (1)	1,07 (1)										0,93 (1)	8	Thr
T6	1 (1)	1,30 (2)	0,97 (1)			1,17 (1)	2,94 (2)								1 (1)		8	Val	
T7	1,18 (1)	1,03 (1)	0,67 (1)		1,94 (2)	3,42 (3)	3,36 (3)	3,36 (3)	1 (1)		1 (1)				2,15 (2)		18	Gly	
T8	1,08 (1)	1,04 (1)	1 (1)	1,11 (1)				3,51 (3)			0,92 (1)					0,77 (1)	9	Val	
T9	0,62 (1)		1,62 (2)			1,60 (2)	1,06 (1)		2,04 (2)							1 (1)	9	Met	
T10		0,85 (1)	1 (1)					2,20 (2)							1 (1)		5	Val	
T11	2,65 (3)					1,10 (1)	1 (1)				1 (1)	0,82 (1)				1 (1)	8	Asp	
T12						1,74 (2)	1 (1)	1 (1)	0,55 (1)	0,78 (1)	0,91 (1)				1,17 (1)		7	Met	

Исп-тип	Аминокислотный состав													Кол-во остатков аминокислот в пептиде	N-Концевая аминокислота			
	Asp	Thr	Ser	Glu	Pro	Gly	Ala	Val	Met	Ile	Leu	Tyr	Phe			His	Lys	Arg
T13				0,93 (1)		1,75 (2)	1,77 (2)	1,10 (4)								1,06 (4)	7	Ala
T14	1 (1)						1 (1)	1,16 (4)							0,91 (1)		4	Ala
T15	0,70 (4)			1,10 (4)			1 (1)	0,97 (4)								1,06 (4)	5	Val
T16					0,89 (1)		1,10 (4)	1 (4)							1 (1)		4	Pro
T17	1 (1)							1,40 (4)		2,06 (3)					1,22 (1)		6	Asn
T18		0,92 (4)				1,51 (2)	1,10 (4)	1,24 (4)							0,93 (1)		7	Gly
T19		0,85 (4)		0,94 (4)	0,85 (4)	1,08 (4)	1,85 (2)	1,04 (4)				1 (4)	1 (4)	0,79 (4)	1,54 (2)		11	Val
T20	0,94 (1)	1,31 (4)	1 (4)			1,40 (4)		2,98 (2)							1,54 (2)		9	Lys
T21						0,98 (4)		1 (4)							1,05 (4)		3	Val
T22						1 (4)		1 (4)							0,92 (4)		2	Gly
T23		1 (4)				1,06 (4)		1,06 (4)								1 (4)	5	Val
T24	0,96 (4)						1 (4)								1,07 (4)		3	Ala
T25						1,17 (4)						1 (4)					3	Gly

Пеп- ТМД	АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ													Кол-во остат- ков амини- кислот в пептиде	N-Концевая амино- кислота					
	Asp	Thr	Ser	Glu	Pro	Gly	Ala	Val	Met	Ile	Leu	Tyr	Phe			His	Lys	Arg	Trp	
T26						1,05 (1)													2	Ala
T27							1 (1)												3	Val
T28				0,95 (1)									1,05 (1)						3	Glu
T29						1 (1)													2	Ala
T30											1 (1)								3	Gly
T31	0,92 (1)										1,27 (1)								4	Gly
T32	1 (1)					1 (1)													4	Lys
T33																			5	Ser
T34				0,98 (1)															6	Gly
T35	1,61	1,41	2,04	5,81															28	Leu
T36	1,86	1,76	1,66	3,04	1,0														21	Ile

Аминокислотные последовательности пептидов триптического гидролизата рибосомального белка L3

Пептид	Последовательность	Число остатков
T1	Leu-Ala-Glu-Gly-Glu-Glu-Phe	7
T2	Gly-Ala-Val-Pro-Gly-Ala-Thr-Gly-Ser-Asp-Leu-Ile-Val-Lys	14
T3	Val-Pro-Gly-Ser-Ile-Gly-Gln-Asp-Glu-Thr-Pro-Gly-Lys	13
T4	Ala-Ile-Gln-Val-Thr-Thr-Gly-Ala-Lys	9
T5	Thr-Gln-Asp-Ala-Thr-His-Gly-Asn	8
T6	Val-Asp-Val-Thr-Gly-Thr-Ser-Lys	8
T7	Gly-Ala-Val-Pro-Gly-Ala-Thr-Gly-Ser-Asp-Leu-Ile-Val-Lys-Pro-Ala-Val-Lys	18
T8	Val-Thr-Val-Gln-Ser-Leu-Asp-Val-Arg	9
T9	Met-Ala-Gly-Gln-Met-Gly-Asn-Glu-Arg	9
T10	Val-Thr-Gln-Val-Lys	5
T11	Asp-Leu-Ala-Asn-Asp-Gly-Tyr-Arg	8
T12	Met-Ile-Gly-Leu-Val-Gly-Lys	7
T13	Ala-Gly-Val-Glu-Ala-Gly-Arg	7
T14	Ala-Asp-Val-Lys	4
T15	Val-Asp-Ala-Glu-Arg	5
T16	Pro-Ala-Val-Lys	4
T17	Asn-(Leu)-Leu-Leu-Val-Lys	6
T18	Gly-Phe-Ala-Gly-Thr-Val-Lys	7
T19	Val-Thr-Lys-Pro-Glu-Ala-Gly-His-Phe-Ala-Lys	11
T20	Lys-Val-Asp-Val-Thr-Gly-Thr-Ser-Lys	9
T21	Val-Gly-Lys	3
T22	Gly-Lys	2
T23	Val-Gly-Met-Thr-Arg	5
T24	Ala-Asn-Arg	3
T25	Gly-Leu-Trp	3
T26	Ala-Lys	2
T27	Val-Phe-Lys	3
T28	Glu-Phe-Arg	3
T29	Ala-Arg	2
T30	Gly-Lys-Lys	3
T31	Gly-(Asx-Phe)-Arg	4
T32	Lys-Ala-Asn-Arg	4
T33	Ser-Leu-Ser-His-Arg	5
T34	Gly-Leu-Trp-Glu-Phe-Arg	6
T35	Leu-Ala-Glu-Gly-Glu-Glu-Phe-Glx-	28
T36	Ile-Phe-Thr-Glu-Asp-Gly-Val-X-Ile-Pro-Val-Thr-	21

Таким образом, из триптического гидролизата белка L3 были выделены 36 пептидов и 4 индивидуальные аминокислоты (табл. 1—3). Пептиды, перечисленные в таблицах, составляют в сумме 265 аминокислотных остатков. Количество аминокислотных остатков, входящих в состав неперекрывающихся пептидов, равно 218.

Экспериментальная часть

Получение 70S-рибосом. 70S-рибосомы *E. coli* MRE-600 получали при разрушении клеток бактериальной массы, выращенной на богатой среде, содержащей пептон, дрожжевой экстракт и глюкозу, и собранной на $2/3$ логарифмической фазы роста по методу, описанному ранее [9].

Выделение белка L3. 70S-рибосомы обрабатывали 67% уксусной кислотой [13] и получали суммарный рибосомальный белок, который далее разделяли при помощи ионообменной хроматографии на CM-целлюлозе (CM-32, Whatman, Англия) в условиях, описанных нами ранее [9]. Для очистки белка использовали гель-фильтрацию на сефадексе G-100 и ионообменную хроматографию на DEAE-целлюлозе (DE-32, Whatman, Англия) в условиях, описанных там же [9].

Триптический гидролиз. 85 мг белка (~ 3 мкмоль) растворяли в 5 мл воды, подкисленной уксусной кислотой до pH 3,0, и денатурировали нагреванием при 90° в течение 5 мин. После охлаждения до 37° pH раствора доводили триэтиламино до 8,0 и к суспензии прибавляли трипсин (ТРСК-обработанный, Worthington, США) при соотношении фермент — субстрат 1 : 50 (по весу). Трипсин добавляли двумя равными порциями. Вторая порция была добавлена через 4 ч после начала гидролиза. В ходе гидролиза (70 ч) pH среды 8,0 поддерживали с помощью титратора (Radiometer, Дания) насыщенным водным раствором триэтиламина. По окончании гидролиза смесь подкисляли до pH 2,0 ледяной уксусной кислотой. При этом выпал осадок, который отделяли центрифугированием на центрифуге К-24 (Janetzki, ГДР) при 16 000 об/мин в течение 10 мин. Супернатант лиофильно высушивали, осадок растворяли в водном растворе аммиака (pH 10,0) и также лиофильно высушивали.

Пептидные карты. Пептидные карты триптического гидролизата белка и смесей пептидов выполняли на пластинках $9,4 \times 8,4$ см с тонким слоем целлюлозы марки Whatman № 300. Первоначально использовали хроматографию в системе *n*-бутанол — пиридин — вода — уксусная кислота (1 : 1 : 1 : 0,18), pH 5,4 [14], во втором направлении — электрофорез в пиридин-ацетатном буфере при pH 3,5 в течение 15 мин (напряжение 1000 В, ток 30 мА). Пептиды обнаруживали опрыскиванием пластины 0,4% раствором нингидрина в ацетоне с последующим нагреванием до 40° . Для обнаружения Тгp-содержащих пептидов пептидные карты опрыскивали реактивом Эрлиха [15].

Препаративное разделение пептидов триптического гидролизата при помощи ионообменной хроматографии. Около 3 мкмоль лиофилизованного триптического гидролизата (растворимая при pH 2,0 часть) в 3 мл 0,01 М пиридин-ацетатного буфера (pH 2,5) наносили на колонку ($0,9 \times 60$ см) с ионообменной смолой AG50 \times 4, —400 меш (Bio-Rad, США). Элюирование проводили последовательно 150 мл 0,01 М пиридин-ацетатного буфера (pH 2,5), а затем в системе линейных градиентов концентрации и pH пиридин-ацетатного буфера: 200 мл 0,01 М, pH 2,5—200 мл 0,2 М, pH 3,2; 300 мл 0,2 М, pH 3,2—300 мл 0,5 М, pH 4,4; 300 мл 0,5 М, pH 4,1—300 мл 2,0 М, pH 5,0. В заключение через колонку пропускали 60 мл 2,0 М пиридина. Скорость элюции 30 мл/ч, объем фракции 3,5 мл. Анализ элюата проводили при помощи пептидного анализатора (Technicon, Ирландия).

Нерастворимую при pH 2,0 часть триптического гидролизата после лиофилизации растворяли в 5,0 мл водного раствора А (1,5% N-этилморфолина, 2% α -пиколина, 1% пиридина, pH 9,4) и наносили на колонку ($0,9 \times 30$ см) с ионообменной смолой AG 1 \times 2 (Bio-Rad, США). Элюцию проводили в градиенте pH, который создавали, пропуская последовательно через смеситель, заполненный 30 мл раствора А, 20 мл раствора А (pH 9,4), 60 мл раствора В (pH 8,4), 80 мл раствора С (pH 6,5). Растворы В и С получали титрованием раствора А уксусной кислотой до соответствующих значений pH. В заключение через смеситель пропускали последовательно 120 мл 0,5 М и 200 мл 2,0 М уксусной кислоты. Объем фракции 2,0 мл. Детекцию пептидов осуществляли следующим образом: из каждой второй фракции отбирали аликвоты по 0,1 мл и после трехкратного высушивания с водой исследовали при помощи тонкослойной хроматографии на целлюлозе. Параллельно отбирали аликвоты по 0,1 мл для определения N-концевых аминокислотных остатков.

Препаративное разделение пептидов триптического гидролизата на бумаге. Высоковольтный электрофорез проводили при pH 3,5 (пиридин — уксусная кислота — вода, 1 : 10 : 189), pH 6,5 (пиридин — уксусная кислота — вода, 25 : 1 : 224), pH 1,9 (уксусная кислота — муравьиная кислота — вода, 3 : 1 : 16) при напряжении 4000 В в течение 1 ч. Нисходящую хроматографию осуществляли на бумаге марки Whatman 3 мм (Whatman, Англия) в системе *n*-бутанол — пиридин — уксусная кисло-

та — вода (15 : 10 : 3 : 12). Пептиды обнаруживали после обработки узких полос хроматограммы или фореграммы нингидрином. Найденные пептиды элюировали с бумаги 10% уксусной кислотой или 1% аммиаком.

Аминокислотный анализ. Пробы белка или пептидов гидролизovali 5,6 н. HCl в течение 24 или 72 ч при 110°. Аминокислотный анализ проводили на аминокислотном анализаторе D-500 (Durrum, США). При определении содержания Тгр в белке проводили гидролиз белка *n*-толуолсульфокислотой по методу Лиу и Чанга [16].

Аминокислотные последовательности пептидов (0,02—0,05 мкмоль) определяли методом Эдмана в модификации Чена [17]. N-Концевые аминокислотные остатки пептидов определяли дансильным методом с идентификацией Dns -аминокислот с помощью тонкослойной хроматографии на силикагеле [18, 19].

Авторы выражают глубокую благодарность акад. Ю. А. Овчинникову за ценные замечания, постоянное внимание и помощь при выполнении данной работы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Dovgas N. V., Markova L. F., Mednikova T. A., Vinokurov L. M., Alakhov Yu. B., Ovchinnikov Yu. A. (1975) FEBS Lett., 53, 351—354.
2. Винокуров Л. М., Алахов Ю. Б., Голов Е. А., Овчинников Ю. А. (1976) Биоорганическая химия, 2, 1013—1017.
3. Dovgas N. V., Vinokurov L. M., Velmoga I. S., Alakhov Yu. B., Ovchinnikov Yu. A. (1976) FEBS Lett., 67, 58—61.
4. Garrett R. A., Müller S., Spierer P., Zimmermann R. A. (1974) J. Mol. Biol., 68, 553—557.
5. Spierer P., Zimmermann R. A., Mackie G. A. (1975) Eur. J. Biochem., 52, 459—468.
6. Chen-Schmeisser U., Garrett R. (1976) Eur. J. Biochem., 69, 401—410.
7. Giri L., Tam M. F., Hill W. E. (1976) Biochemistry, 15, 5188—5192.
8. Kaltschmidt E. (1971) Anal. Biochem., 43, 25—31.
9. Алахов Ю. Б., Медникова Т. А., Мотуз Л. П., Маркова Л. Ф., Довгас Н. В., Кашпаров И. А., Овчинников Ю. А. (1975) Биоорганическая химия, 1, 581—587.
10. Dzionara M., Kaltschmidt E., Wittmann H. G. (1970) Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 67, 1909—1913.
11. Kaltschmidt E., Dzionara M., Wittmann H. G. (1970) Mol. and Gen. Genet., 109, 292—297.
12. Smyth D. G. (1967) in Methods in Enzymology, XI, pp. 214—222, Acad. Press, N. Y.—London.
13. Kaltschmidt E., Wittmann H. G. (1972) Biochemie, 54, 167—175.
14. Schacher M., Zillig W. (1971) Eur. J. Biochem., 22, 513—519.
15. Бэйли Дж. (1965) Методы химии белков, с. 27, «Мир», М.
16. Liu T. Y., Chang Y. H. (1971) J. Biol. Chem., 246, 2842—2848.
17. Chen R. (1976) Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 357, 873—886.
18. Белецкий Б. Г., Ганкина Э. С., Нестеров В. В. (1967) Докл. АН СССР, 172, 91—93.
19. Белецкий Б. Г., Ганкина Э. С., Прянишникова С. Р., Эрастов Д. П. (1967) Молекулярная биология, 1, 184—189.

Поступила в редакцию
25.VIII.1977
После доработки
5.IX.1977

RIBOSOMAL PROTEIN L3. PEPTIDES OF THE TRYPTIC HYDROLYSATE

MURANOV A. V., MURANOVA T. A., MARKOVA L. F.

*Institute of Protein Research, Academy of Sciences
of the USSR, Pushchino*

The ribosomal protein L3 was subjected to tryptic hydrolysis. That part of the hydrolysate which was soluble at pH 2.0 was fractionated on AG50 × 4 resin with a following peptide purification by high-voltage electrophoresis and paper chromatography. Ion-exchange chromatography on AG1 × 2 was used to resolve the insoluble peptides. As a result, 36 peptides and 4 individual amino acids amounting in total to 265 amino acid residues were isolated. The complete and partial amino acid sequences were determined for 34 and 2 peptides, respectively. The non-overlapping peptides comprised 218 amino acid residues.