



ПИСЬМА РЕДАКТОРУ

УДК 577.152.31*273:577.112.5

ПЕРВИЧНАЯ СТРУКТУРА РИБОНУКЛЕАЗЫ C₂ *ASPERGILLUS CLAVATUS*

Безбородова С. И., Ходова О. М., Степанов В. М.

*Всесоюзный научно-исследовательский институт генетики
и селекции промышленных микроорганизмов, Москва*

Рибонуклеаза C₂ *Aspergillus clavatus* является гуанилспецифичной РНКазой (КФ 3.1.27.3), родственной рибонуклеазе T₁ *Asp. oryzae* [1]. Недавно проведено кристаллографическое изучение пространственной структуры РНКазы C₂ с разрешением в 5 Å [2]. Для дальнейшего исследования фермента необходимо определение его первичной структуры.

РНКазу C₂ выделяли из фильтрата культуральной жидкости трехсуточной культуры *Asp. clavatus* и очищали до гомогенного состояния, используя опубликованный ранее способ очистки [3] с некоторыми модификациями.

Фермент карбоксиметилировали после восстановления в 8 М мочевице или 8 М хлоргидрате гуанидина [4]. Избыток реагентов, денатурант и низкомолекулярные продукты реакции удаляли гель-фильтрацией или исчерпывающим диализом.

СМ-РНКазу гидролизовали трипсином (Serva, ФРГ) при 40° С 4 ч в 0,06 М ТЕАВ, рН 8,05, и отношении фермент — субстрат 1 : 25, затем гидролизат лиофильно высушили. Из трипсинового гидролизата выделили пептиды хроматографией на хромобедсе при 37° С и на QAE-сефадексе А-50 при 20° С, а также ТСХ на целлюлозе в системе пиридин — бутанол — вода — уксусная кислота, 10 : 15 : 12 : 3.

Аминокислотный состав белка и пептидов определяли на анализаторе Durrum D-500 после гидролиза в 5,7 н. НСl в течение 24 ч при 106° С.

С-Концевые аминокислоты анализировали с помощью карбоксипептидаз А, В, Y (Worthington, США; Олайне). N-Концевые аминокислоты определяли дансильным методом [5].

1	5	10	15
Asp-Cys-Asp-Tyr-Thr-Cys-Gly-Ser-His-Cys-Tyr-Ser-Ala-Ser-Ala-			
	20	25	30
-Val-Ser-Asp-Ala-Gln-Ser-Ala-Gly-Tyr-Gln-Leu-Glu-Ser-Ala-Gly-			
	35	40	45
-Gln-Ser-Val-Gly-Arg-Ser-Arg-Tyr-Pro-His-Gln-Tyr-Arg-Asn-Tyr-			
	50	55	60
-Glu-Gly-Phe-Asn-Phe-Pro-Val-Ser-Gly-Asn-Tyr-Tyr-Glu-Trp-Pro-			
	65	70	75
-Ile-Leu-Ser-Ser-Gly-Ser-Thr-Tyr-Asn-Gly-Gly-Gly-Pro-Gly-Ala-			
	80	85	90
-Asp-Arg-Val-Val-Phe-Asn-Asp-Asn-Asp-Glu-Leu-Ala-Gly-Leu-Ile-			
	95	100	
-Thr-His-Thr-Gly-Ala-Ser-Gly-Asp-Gly-Phe-Val-Ala-Cys-Tyr			

Рис. 1. Аминокислотная последовательность РНКазы C₂

6. Edman P., Begg G. Eur. J. Biochem., 1967, v. 1, № 1, p. 80-91.
7. Tarr G. E., Beecher J. F., Bell M., McKean D. J. Anal. Biochem., 1978, v. 84, № 2, p. 622-627.
8. Takahashi K. J. Biochem., 1971, v. 70, № 4, p. 617-634.
9. Watanabe H., Ohgi K., Irie M. J. Biochem., 1982, v. 91, № 5, p. 1495-1509.
10. Sato S., Uchida T. Biochem. J., 1975, v. 145, № 2, p. 353-360.
11. Mauguen Y., Hartley R. W., Dodson E. J., Dodson G. G., Bricogne G., Chotia S., Jack A. Nature, 1982, v. 297, № 5862, p. 162-164.

Поступила в редакцию
23.III.1983

PRIMARY STRUCTURE OF RIBONUCLEASE C₂ FROM *ASPERGILLUS CLAVATUS*

BEZBORODOVA S. I., KHODOVA O. M., STEPANOV V. M.

*Institute of Genetics and Selection of Industrial
Microorganisms, Moscow*

The complete amino acid sequence has been determined for RNase C₂, a guanyl specific ribonuclease of molecular mass about 11 000. A sequence comparison for RNase C₂ and low molecular weight RNases revealed that they belong to the same protein family.