



УДК 577.112.083.3:573.6:591.147.7

АНАЛИТИЧЕСКАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ РЕКОМБИНАНТНЫХ ПЕПТИДОВ И БЕЛКОВ. II. КОНТРОЛЬ ПЕРВИЧНОЙ СТРУКТУРЫ ГИБРИДНОГО БЕЛКА, СОДЕРЖАЩЕГО ЧЕЛОВЕЧЕСКИЙ ПРОИНСУЛИН, И ОПТИМИЗАЦИЯ ЕГО ПРОТЕОЛИЗА ТРИПСИНОМ

© 2000 г. Н. В. Сергеев, Н. С. Глухова, И. В. Назимов[#],
В. А. Гуляев, И. А. Донецкий, А. И. Мирошников

*Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
117871, г. Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10*

Поступила в редакцию 13.01.2000 г. Принята к печати 13.03.2000 г.

С использованием комплекса аналитических микрометодов разделения (микроколоночная оф-ВЭЖХ) и качественной идентификации (масс-спектрометрия, аминокислотное секвенирование) изучена кинетика протеолиза трипсином гибридного белка (ГБ), включающего в свой состав проинсулин человека. Показано, что начальной стадией гидролиза является расщепление ГБ на лидерный фрагмент и проинсулин, который далее подвергается трансформации в ди-Arg^{B31}-Arg^{B32}-инсулин через отщепление С-пептида. Исследовано влияние температуры на выход побочного продукта дез-Thr^{B30}-инсулина. Методом пептидного картирования подтверждена структура ГБ и выявлено отсутствие N-концевого метионина в лидерном фрагменте.

Ключевые слова: проинсулинсодержащий гибридный белок, анализ; обращенно-фазовая ВЭЖХ; масс-спектрометрия; пептидное картирование; биотехнология аналитическая; инсулин.