

Isolation and Characterization of CNBr Derived Peptides of the $\alpha 1$ (III) Chain of Pepsin-Solubilized Calf Skin Collagen

Jürgen RAUTERBERG, Hartmut ALLMANN, Werner HENKEL and Peter P. FIETZEK

Institut für Arterioskleroseforschung and
Max-Planck-Institut für Biochemie
Martinsried

(Received 29 June 1976)

Summary: Fetal calf skin was solubilized by limited pepsin digestion and type III collagen separated from type I collagen by fractional salt precipitations. Cleavage of the type III collagen with CNBr gave rise to ten peptides, which were isolated by molecular sieve and ion exchange chromatography. The peptides were characterized by determination of their molecular weights and amino acid compositions. Together they account for all the amino acids and total molecular weight of the $\alpha 1$ (III) chain. Six of the peptides

contain more hydroxyproline than proline residues. The two cysteinyl residues of the $\alpha 1$ (III) chain which provide sites for interchain disulfide bonding were localized in the C-terminal CNBr peptide. In addition to the ten CNBr peptides, three double peptides were isolated which still contained one methionine residue. About 0.1 residue Gal-Hyl monosaccharide and 0.8 Glc-Gal-Hyl residue disaccharide were found per $\alpha 1$ (III) chain. Almost all hydroxylysine-bound carbohydrate was located on peptide 7.

Isolierung und Charakterisierung der BrCN-Peptide der $\alpha 1$ (III)-Kette aus mittels Pepsin gelöstem Kalbskollagen

Zusammenfassung: Durch limitierten Pepsinabbau wurde das Kollagen fetaler Kalbshäute in Lösung gebracht und das Typ-III-Kollagen durch fraktionierte NaCl-Fällung vom Typ-I-Kollagen getrennt. Nach Spaltung des Typ-III-Kollagens mit BrCN entstehen 10 Peptide, die mittels Molekularsieb und Ionenaustauscherchromatographie getrennt wurden. Die Peptide wurden durch Bestimmung ihrer Molekulargewichte und Aminosäurezusammensetzung charakterisiert. Alle zusammen entsprechen der Aminosäurezusammensetzung und dem Molekulargewicht der $\alpha 1$ (III)-

Kette. Sechs der Peptide enthalten mehr Hydroxyprolin- als Prolinreste. Die zwei Cysteinreste der $\alpha 1$ (III)-Kette, die für die Ausbildung von Interkettendisulfidbrücken verantwortlich sind, wurden im C-terminalen BrCN Peptid lokalisiert. Zusätzlich zu den 10 BrCN-Peptiden wurden drei Doppelpeptide isoliert, welche noch einen Methioninrest enthalten. Etwa 0.1 Reste Monosaccharid (Gal-Hyl) und 0.8 Reste Disaccharid (Glc-Gal-Hyl) wurden pro Kette gefunden. Fast alle hydroxylysingebundenen Zucker wurden am Peptid 7 lokalisiert.

Enzyme: Pepsin A (EC 3.4.23.1)

Abbreviations: CNBr = Cyanogen bromide; CB = Cyanogen bromide derived peptides; CM = Carboxymethyl.