

CHROM. 5459

Gelchromatographie von Tyrosin- und Tryptophan-Peptiden an Sephadex G-10 und G-15

In Fortführung unserer Untersuchungen über das Verhalten einfacher strukturisomerer Peptide bei der Gelchromatographie an Sephadex G-10 und G-15^{1,2} möchten wir an dieser Stelle über die unterschiedlichen Adsorptionsaffinitäten der Peptide Gly-Tyr, Tyr-Gly, Gly-Try sowie Try-Gly berichten.

Methodik

Für die Versuche wurde ein Chromatographierohr mit den Abmessungen 32×1.5 cm bis zu einer Höhe von 30 cm mit in 0.2 M Essigsäure gequollenem Sephadex G-10 bzw. G-15 gefüllt. Die Versuche wurden mit folgenden Elutionsmitteln nach entsprechender Equilibrierung in der angegebenen Reihenfolge durchgeführt: (A) 0.2 M Essigsäure; (B) 0.2 M Essigsäure mit 0.1 M NaCl; (C) 0.2 M Essigsäure mit 0.5 M NaCl; (D) 0.01 M NaOH; (E) 0.01 M NaOH mit 0.5 M NaCl; (F) 0.1 M Na-phenolat; (G) 0.2 M Essigsäure, nachdem die Säule mit dest. Wasser neutral gewaschen und anschliessend mit 300 ml 1 M Pyridinlösung behandelt worden war³. Das restliche Pyridin wurde anschliessend mit 0.2 M Essigsäure von der Säule eluiert. Jeweils 1 μ Mol Aminosäure oder Peptid wurden in 0.5 ml Elutionsmittel gelöst und in bekannter Weise auf die Säule gegeben⁴. Die Elutionsgeschwindigkeit betrug 20 ml/Std. Das Eluat wurde in 1 ml-Fraktionen aufgefangen, mit

TABELLE I

K_{av} -WERTE VON AMINOSÄUREN UND PEPTIDEN AN SEPHADEX G-10 UND G-15

Säulenparameter, 30×1.5 cm; Gesamtvolumen (V_t), 50 ml; äusseres Volumen (V_0), 18 ml bei G-10 und 19 ml bei G-15. Elutionsmittel: (A) 0.2 M Essigsäure; (B) 0.2 M Essigsäure mit 0.1 M NaCl; (C) 0.2 M Essigsäure und 0.5 M NaCl; (D) 0.01 M NaOH; (E) 0.01 M NaOH mit 0.5 M NaCl; (F) 0.1 M Na-phenolat, (G) 0.2 M Essigsäure, nachdem die Säule mit 300 ml 1 M Pyridinlösung gewaschen wurde.

Sephadex	Elutionsmittel						
	A	B	C	D	E	F	G
G-15							
Glycin	0.46	0.48	0.50	0.29	0.42	0.32	0.48
Tyrosin	1.01	1.14	1.23	0.20	0.42	0.23	1.03
Tryptophan	2.42	2.90	3.26	1.13	2.38	1.47	2.40
Gly-Tyr	0.95	1.40	1.61	0.13	0.37	0.21	0.98
Tyr-Gly	0.87	1.18	1.27	0.16	0.42	0.21	0.82
Gly-Try	2.19	3.34	4.01	0.86	1.71	1.08	2.00
Try-Gly	1.76	2.55	3.03	0.84	2.19	1.27	1.71
G-10							
Glycin	0.31	0.33	0.36	0.18	0.25	0.19	0.26
Tyrosin	0.81	1.02	1.14	0.08	0.22	0.13	0.70
Tryptophan	2.16	2.96	3.50	0.87	2.29	1.34	1.94
Gly-Tyr	0.75	1.36	1.62	0.08	0.19	0.11	0.55
Tyr-Gly	0.59	1.00	1.46	0.06	0.22	0.13	0.42
Gly-Try	1.81	4.25	5.31	0.75	1.56	0.89	1.25
Try-Gly	1.44	2.78	3.38	0.75	1.98	1.22	0.94

2,4,6-Trinitrobenzolsulfonsäure umgesetzt und die Extinktionen bei 420 nm photometrisch bestimmt. Als Elutionsparameter wurden die K_{av} -Werte nach LAURENT UND KILLANDER berechnet⁵.

Das mit der entsprechenden Menge Wasser ausgemessene Gesamtvolumen V_t betrug 50 ml. Das äussere Volumen V_0 wurde mit Lysozym als Testsubstanz bei Sephadex G-10 zu 18 ml und bei Sephadex G-15 zu 19 ml bestimmt.

Diskussion

Im Einklang mit den bereits früher gemachten Beobachtungen zeigten die Peptide bei Verwendung eines sauren Elutionsmittels (System A) unterschiedliche Affinitäten zur Gelphase. So wurden die Peptide mit N-terminalem Glycin stärker adsorbiert, als die mit C-terminalem Glycin. Durch Salzzugabe zum Elutionsmittel (System B, C) wurden diese Affinitätsunterschiede besonders deutlich, wobei die Peptide Gly-Tyr und Gly-Try sogar bedeutend stärker als die entsprechenden Aminosäuren Glycin, Tyrosin und Tryptophan retardiert wurden. Bei der Verwendung eines alkalischen Elutionsmittels (System D) wurden Tyrosin und die Tyrosinpeptide, bedingt durch die leicht ionisierbare phenolische OH-Gruppe, praktisch von der Gelphase ausgeschlossen.

Bei Salzzugabe (System E) zum alkalischen Elutionsmittel wurden dagegen die Peptide mit C-terminalem Glycin stärker an die Gelmatrix gebunden als die Peptide mit N-terminalem Glycin. Besonders deutlich ist das bei den Tryptophanpeptiden zu erkennen. Damit konnten wir die schon an Gly-Phe und Phe-Gly gemachte Beobachtung bestätigen².

Nach der Behandlung des Gels mit 1 M Pyridinlösung³ und anschliessender Gelchromatographie mit 0.2 M Essigsäure, wurden wiederum nur bei Sephadex G-10 kleinere Elutionsvolumina als vor der Pyridinbehandlung bestimmt.

Staatliches Institut für Immunpräparate und Nährmedien,
112 Berlin (D.D.R.)

P. ZISKA

1 P. ZISKA, *J. Chromatogr.*, 48 (1970) 544.

2 P. ZISKA, *J. Chromatogr.*, 53 (1970) 385.

3 D. EAKER UND J. PORATH, *Separ. Sci.*, 2 (1967) 507.

4 H. DETERMANN, *Gelchromatographie*, Springer Verlag, Berlin, 1967.

5 T. C. LAURENT UND J. KILLANDER, *J. Chromatogr.*, 14 (1964) 317.

Eingegangen am 17. Mai 1971

J. Chromatogr., 60 (1971) 139-140