



УДК 579.222.7'124.5 : 547.366'118.057 : 579.842.14

**СПЕЦИФИЧНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ БИОСИНТЕЗА О-АНТИГЕНА
SALMONELLA ANATUM К ПРОИЗВОДНЫМ ПОЛИПРЕНОЛОВ
РАЗНОЙ ДЛИНЫ ЦЕПИ И НАСЫЩЕННОСТИ ****Калиничук Н. А., Данилов Л. Л., Дружшина Т. Н.,
Шибанов В. Н., Кочетков Н. Б.**Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского
Академии наук СССР, Москва*

Осуществлен химический синтез фосфатов ряда полипренолов с разной длиной цепи взаимодействием соответствующих полипренолов с *o*-фениленхлорфосфатом. Изучена способность полученных соединений, а также фосфатов нескольких долихоллов (полипренолов с α -насыщенным изопреновым звеном) участвовать в реакциях биосинтеза *O*-специфического полисахарида *Salmonella anatum*. Обнаружено, что в реакциях сборки повторяющегося звена полисахарида производные полипренолов с короткой цепью столь же эффективны, как и ундекапревилфосфат — нормальный субстрат реакции, а для производных с большей длиной цепи наблюдается некоторое уменьшение эффективности. Ферменты, участвующие в сборке повторяющегося звена полисахарида, используют производные долихоллов заметно хуже, чем аналогичные по длине цепи производные полипренолов. Для реакции полимеризации повторяющегося звена первостепенное значение имеет длина полипренольной цепи; ее уменьшение приводит к заметному снижению эффективности соответствующих производных как субстратов реакции.

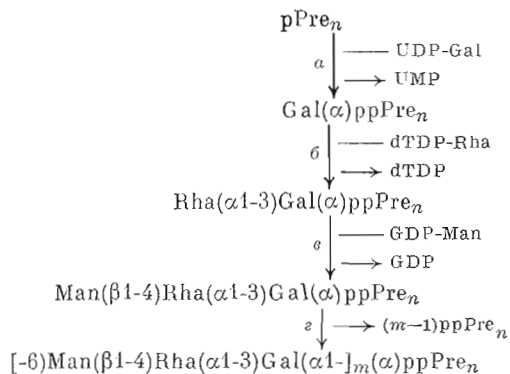
Полипревилфосфосахара играют важную роль в биосинтезе полисахаридов бактериальной клеточной поверхности и углеводных цепей гликопротеинов в клетках эукариот (см. обзоры [2, 3]). У бактерий в состав этих соединений входит остаток ундекапренола общей формулы $\omega t_2 c_s\text{-OH}^{**}$, эукариотические системы используют в биосинтетических реакциях производные долихола, полипренола с насыщенным α -концевым изопреновым звеном, содержащего 17–21 изопреновых звеньев.

По современным представлениям о биосинтезе углеводных цепей биополимеров липидный фрагмент полипревилфосфосахаров выступает в качестве гидрофобного якоря, удерживающего растущую углеводную цепь в клеточной мембране, что необходимо для правильной пространственной организации биосинтетического процесса. Возможно, что присутствие такого фрагмента существенно для переноса растущей углеводной цепи через мембрану. Вопрос о том, насколько существенны тонкие детали структуры полипренола для нормального функционирования биосинтетических систем, систематически не изучался. Однако на ряде ферментных систем установлено, что длина цепи полипренола и насыщенность его α -концевого изопренового звена влияет на эффективность образования полипревилцирофосфат- или -монофосфатсахаров из полипревилфосфатов и нуклеозиддифосфатсахаров, хотя ферменты и не обладают абсолютной специфичностью к структуре бактериального ундекапренола [4] или долихола эукариот [4–9], и даже такой отдаленный «аналог» долихолфосфата, как фенилфосфат, оказался способным служить акцептором для переноса остатка маннозы с GDP-Man [10].

* Сообщение 7 серии «Специфичность ферментов биосинтеза *O*-антигена салмонелл». Сообщение 6 см. [1].

** В формулах полипренолов сокращение ω означает ω -концевое изопреновое звено, t — внутреннее *E*-изопреновое звено, c — внутреннее *Z*-изопреновое звено, s — α -дигидроизопреновое звено (см. [2]). Использованы следующие сокращения для остатков полипренолов: Pre_n — полипренол со степенью полимеризации n , DoI_n — α -дигидрополипренол со степенью полимеризации n , Cit — цитронеллол (DoI_2), Far — фарнезол (Pre_3), Mpr — морапренол (Pre_{10-12}).

В системе биосинтеза гликопротеинов дрожжей было показано, что ферменты, катализирующие последовательные стадии процесса, предъявляют различные требования к структуре остатка полипренола [7]. В случае биосинтеза бактериальных полисахаридов вопрос о том, одинакова ли специфичность к структуре остатка полипренола для ферментов, ответственных за протекание разных стадий биосинтетического цикла, остается невыясненным. Цель настоящей работы состоит в изучении этого вопроса для системы биосинтеза O-специфического полисахарида *Salmonella anatum* (схема). В этом случае сборка повторяющегося трисахаридного звена полимера (реакции *a—e*) состоит в последовательном переносе на остаток ундекапренилфосфата остатков α -D-галактопиранозилфосфата с UDP-Gal, α -L-рамнопиранозы с dTDP-Rha и β -D-маннопиранозы с GDP-Man. Процесс завершается полимеризацией трисахаридных звеньев (реакция *z*). Ранее нами было показано [11, 12], что морепренол (ωt_3c_6-s -OH, полипренол из листьев шелковицы) эффективно заменяет бактериальный ундекапренол в этих реакциях.



В настоящей работе исследованы субстратные свойства ряда производных полипренолов, сильно различающихся по длине углеродной цепи (от C_{10} до C_{100}), и нескольких α -дигидрополипренолов. Часть материала, включенного в работу, была ранее опубликована в предварительном сообщении [13] и представлена на конференциях [14, 15].

Гексапренол (Pre_6 -OH) был получен химическим синтезом [16], а пренолы со степенью полимеризации 7, 11, 16 и 20 — из растительных источников [17]. Для их фосфорилирования было использовано действие *o*-фениленхлорфосфата в варианте, ранее описанном для получения морепренилфосфата [18]. Из табл. 1 можно видеть, что использованный метод имеет общий характер и дает хорошие результаты при получении полипренилфосфатов с весьма различной длиной углеродной цепи. DoI_{11} -OH и DoI_{21} -OH превращали в соответствующие фосфаты с использованием POCl_3 , как было ранее описано Даниловым и Хойнацким [19]; этот метод был применен и для получения цитронеллилфосфата, выделенного с выходом 67%.

Ферменты, катализирующие сборку повторяющегося трисахаридного звена O-специфического полисахарида *S. anatum* (реакции *a—e* на схеме), были переведены в раствор при действии неионового детергента [11]. С полученным препаратом «растворимых гликозилтрансфераз» были проведены две серии опытов с использованием фосфатов различных полипренолов и долихолов (табл. 2). В одной из них фосфат инкубировали с препаратом фермента, солью магния и UDP-[6- ^3H]Gal, образование радиоактивных полипренилпирофосфатсахаров позволяло судить об эффективности различных полипренилфосфатов как субстратов реакции *a*. В другой серии в состав инкубационной смеси входили UDP-Gal, dTDP-Rha и GDP-[^{14}C]Man, включение радиоактивной маннозы в состав продукта реакции отражало эффективность протекания реакций *a—e*. Условия инкубации соответствовали оптимальным условиям для образования полипренилпирофосфатсахаров, найденным ранее [12]. Поскольку использованные полипренилфосфаты сильно различались по длине цепи и по растворимо-

Синтез полипренилфосфатов и их свойства

Исходный полипренол *	Количество, взятое в реакцию **, мкмоль	Полипренилфосфат		Pge/P, моль/моль
		Выход, %	$R_f(A)$	
Far-OH	80	62	0,20	0,92
Pge ₆ -OH	37	35	0,35	1,04
Pge ₇ -OH	14	44	0,40	1,10
Pge ₁₁ -OH	26	54	0,50	0,98
Pge ₁₆ -OH	25	40	0,57	1,02
Pge ₂₀ -OH	6,2	58	0,62	1,01

* Структуры остатка полипренола см. в табл. 2.
 ** Синтез с участием *o*-фениленхлорфосфата [18].

Таблица 2

Эффективность фосфатов полипренолов и долихоллов как субстратов ферментативных реакций сборки трисахаридного звена *O*-специфического полисахарида

Полипренилфосфат	Структура остатка полипренола	Эффективность реакции, % от реакции с морапренилфосфатом	
		реакция <i>a</i>	реакции <i>a</i> — <i>в</i>
pFar	Смесь изомеров	14	7,6
pPre ₆	$\omega t_2 c_3$	99	102
pPre ₇	$\omega t_2 c_4$	100	100
pPre ₁₁	$\omega t_3 c_7$	100	100
pPre ₁₆	$\omega t_3 c_{12}$	93	40
pPre ₂₀	$\omega t_3 c_{16}$	80	36
pCit	ωs	3	Не образует
pDol ₁₄	$\omega t_3 c_6 s$	61	39
pDol ₂₁	$\omega t_2 c_{17} s$	42	Не образует

сти, для оценки их акцепторных и субстратных свойств были применены четыре различных метода выделения их радиоактивных продуктов в реакциях *a*—*в*. Для полипренолов со степенью полимеризации 11 и выше радиоактивные продукты реакций *a*—*в* выделяли с помощью смеси хлороформ — метанол, как и в предыдущих работах [11, 12]. В случае производных с более короткой цепью экстракция была неполной и для выделения продуктов реакции *a* с участием фосфатов цитронеллола, фарнезола, гептапренола использовали фильтрацию инкубационной смеси через гидробоную колонку SEP-PAK C₁₈ (Millipore). Для выделения продуктов сборки трисахаридного звена на этих же полипренолах использовали хроматографию на сефадексе G-15 продуктов мягкого кислотного гидролиза инкубационной смеси. Кроме того, для разделения продуктов реакций *a*—*в* использовали электрофорез на бумаге: гликозильные производные полипренолов оставались вблизи точки нанесения и хорошо отделялись от пуклеотидсахаров. Образование галактозилпирофосфатполипренолов в инкубационной смеси подтверждали для каждого полипренола с помощью ТСХ.

Как можно видеть из табл. 2, все исследованные полипренилфосфаты оказались способными в той или иной степени заменять производные ундекапренола в реакциях сборки трисахаридного повторяющегося звена полисахарида.

Представленные результаты показывают, что в реакции *a*, катализируемой галактозилфосфаттрансферазой, полипренилфосфаты с длиной цепи C₃₀—C₈₀, содержащие изопреновое звено на α -конце, практически одинаково эффективны как акцепторы остатка галактозилфосфата. Некоторое уменьшение скорости реакции наблюдается в случае производного Pge₂₀. Только при переходе к фарнезолу видно резкое падение скорости

реакции. В ряду производных долихолов зависимость скорости реакции от длины углеродной цепи акцептора выражена более отчетливо и степень полимеризации 11 является оптимальной.

Меньшая эффективность производных долихолов сохраняется и при исследовании скорости образования полипренилпирофосфаттрисахаридов в реакциях *a—в*. В этом случае и в ряду α -ненасыщенных полипренолов можно видеть значительное ухудшение субстратных свойств как с увеличением степени полимеризации полипренола, так и с ее уменьшением — при переходе к производному фарнезола.

Таким образом, ферменты, участвующие в сборке трисахаридного повторяющегося звена O-специфического полисахарида *S. anatum*, проявляют явное предпочтение к производным полипренолов, содержащим ненасыщенное α -концевое звено и не превышающим заметно ундекапренол по длине углеродной цепи. Аналогичные заключения были сделаны ранее Маньковским и сотр. [4] при изучении галактозилфосфаттрансферазной реакции с препаратом мембран из *S. typhimurium*. Эти авторы наблюдали также заметное ухудшение субстратных свойств у производных декапренола по сравнению с производными ундекапренола. В нашем случае чувствительность ферментов к укорочению цепи липидного фрагмента заметно ниже: производные гекса- и гептапренолов не уступают по эффективности нормальному субстрату реакции, а резкое падение эффективности наблюдается только для производных фарнезола.

Для исследования влияния структуры полипренола на ферментативную полимеризацию трисахаридных звеньев (реакция *г* на схеме) в качестве источника фермента был использован препарат бактериальных мембран. Полипренилпирофосфаттрисахариды — субстраты реакции — в случае ундекапренола и более высокомолекулярных пренолов получены с помощью препарата растворимых гликозилтрансфераз, как описано выше, выделены экстракцией органическим растворителем и использованы для полимеризации. Для производных полипренолов с более короткой цепью препаративное выделение полипренилпирофосфаттрисахаридов оказалось невозможным. Для фарнезола и гексапренола получение трисахаридного производного было осуществлено с препаратом мембран, исходя из химически синтезированных галактозилпирофосфатпренолов, dTDP-Rha и GDP-[¹⁴C]-Man; в этой же системе происходила полимеризация трисахаридного звена, т. е. реакции *б—г* (схема).

Для анализа продуктов полимеризации после их отщепления от остатка полипренилпирофосфата в условиях мягкого кислотного гидролиза была использована гель-фильтрация на сефадексе G-15. В применяемых условиях [20] происходило разделение продуктов на три фракции: 1) исходный трисахарид, 2) гексасахарид — димер повторяющегося звена, 3) продукты с более высокой степенью полимеризации.

Полученные результаты (табл. 3) показывают, что трисахаридные производные почти всех исследованных полипренолов способны вступать в ферментативную полимеризацию. Выход продуктов полимеризации несколько снижается при переходе к производному гексапренола, а в случае производного фарнезола полимерные продукты вообще не образуются. С использованным препаратом бактериальных мембран эффективность полимеризации невысока, основным продуктом во всех случаях является гексасахарид. Доля димерного продукта увеличивается (и, следовательно, доля более высокомолекулярных продуктов уменьшается) при переходе от производного ундекапренола к производным с большей длиной углеродной цепи и долихола-11. Для производного же гексапренола распределение продуктов по степени полимеризации, по-видимому, не отличается от случая ундекапренола.

Таким образом, ферменты, участвующие в биосинтезе O-специфического полисахарида *S. anatum*, не проявляют строгой специфичности ни к длине углеродной цепи остатка полипренола, ни к присутствию на ее α -конце ненасыщенного изопренового звена. Природный ундекапренилфосфат является предпочтительным субстратом, однако все реакции цикла могут быть осуществлены с производными Pre₆, Pre₁₆, Pre₂₀ и Dol₁₁. По

Влияние структуры остатка полипренола на выход и состав продуктов ферментативной полимеризации трисахаридных звеньев

Остаток полипренола	Выход продуктов полимеризации, %	Доля гексасахаридов в продуктах полимеризации, %
Реакция б - з с GalppPre		
Far	0	—
Pre ₆	72	53
Реакция з с Man-Rha-GalppPre		
Pre ₁₁	83	53
Pre ₁₆	84	75
Pre ₂₀	88	71
Dol ₁₁	92	81

мере роста углеводной цепи, связанной с остатком полипренола, увеличивается и минимальная длина липидного фрагмента, необходимая для эффективного протекания ферментативной реакции. Так, фарнезилфосфат резко отличается по эффективности от ундекапренилфосфата уже на первой стадии биосинтеза, в последующих реакциях сборки повторяющегося звена субстратные свойства его производных еще хуже, и в реакцию полимеризации соответствующее трисахаридное производное не вступает.

Рассматриваемые ферментативные реакции, включающие взаимодействие амфифильного и гидрофильного субстратов (при сборке повторяющегося звена) или двух амфифильных субстратов (при полимеризации), должны, вероятно, протекать на поверхности раздела между липидной фазой биологических мембран и водной фазой. Для эффективного участия в реакции амфифильного субстрата, по-видимому, имеет значение не только специфическое взаимодействие фрагментов его молекулы с ферментом, катализирующим реакцию, но и способность гидрофобного фрагмента субстрата достаточно прочно удерживаться в липидной фазе. Можно предположить, что C₁₅-фрагмент производных фарнезола не обеспечивает надежного связывания с мембраной трисахаридного производного, хотя в случае моносахаридного и дисахаридного производных его гидрофобность является достаточной. Предпочтительное участие в ферментативных реакциях производных полипренолов по сравнению с производными долихолов можно, вероятно, объяснить участием концевой изопренового звена в специфических взаимодействиях с соответствующими ферментами. Одна из возможных причин пониженной реакционной способности производных полипренолов с высокой степенью полимеризации заключается в том, что полипренилфосфаты и их производные вводят в реакцию в виде смешанных мицелл с детергентом и применявшиеся в работе стандартные условия солюбилизации этих производных, которые оптимальны для ундекапренилфосфата, могут быть менее эффективными для производных полипренолов с C₁₀₀ и выше.

Особый интерес представляет тот факт, что производные гексапренола обладают достаточной гидрофобностью для эффективного протекания всех стадий изучаемого процесса. Поскольку этот пренол можно синтезировать химически, открываются возможности детального исследования связи структуры и субстратных свойств в этом ряду соединений.

Экспериментальная часть

Определение фосфора и полипренолов проводили как в работе [21], радиоактивных веществ — как в [11] с использованием счетчика радиоактивности СВС-2 (СССР) и Delta-300 (Tracor, Нидерланды). ТСХ проводили на пластинках с силикагелем 60 (Merck, ФРГ) в системах: хлороформ — метанол — вода, 60:25:4 (А), 60:30:6 (Б), электрофорез — на бумаге Whatman 1 (Англия) в 0,05 М триэтиламмонийбикарбонате, рН 8,0 (длина бумаги 40 см).

Использованный в работе фарнезол — препарат фирмы Sigma (США). Цитронеллол предоставлен Л. В. Волковой (МИТХТ им. М. В. Ломоносова), синтетический гексапренол — А. М. Моисеенковым (ИОХ АН СССР), растительные полипренолы — проф. Т. Хойнацким (Институт биохимии и биофизики Польской АН). Авторы выражают глубокую благодарность этим исследователям. Происхождение растительных полипренолов: Pre₇-ОН — из *Betula verrucosa*, Pre₁₁-ОН из *Rhus typhina*, Pre₁₆-ОН — из *Abies alba*, Pre₂₀-ОН — из *Prunus avium*.

Нуклеотидсахара UDP-Gal и GDP-Man — препараты фирмы Calbiochem (Швейцария), dTDP-Rha получена согласно [22]. UDP-[6-³H]Gal, полученная как описано в работах [11, 12], разбавлена нерадиоактивным нуклеотидсахаром до уд. акт. 20 Ки/моль, UDP-[¹⁴C]Gal, GDP-[¹⁴C]Man (Amersham, Англия) — до 10 Ки/моль.

Получение бактериальных мембран (22–30 мг белка/мл) и растворимых гликозилтрансфераз (1,1–2 мг/мл) из клеток *S. anatum* описано в работе [11].

Фосфорилирование полипренолов о-фениленхлорфосфатом проводили по методике, аналогичной описанной для получения мораренилфосфата (процедура Б в работе [18]), для обессоливания продуктов после ионообменной хроматографии использовали гель-фильтрацию на сефадексе LH-20 (см. [21]). Выходы и свойства полученных соединений приведены в табл. 1.

Цитронеллилфосфат. Фосфорилирование 135 мкмоль цитронеллола действием 1 ммоль POCl₃ и 1 ммоль триэтиламина в гексане проводили как описано в работе [19]. Выход фосфата 67%, R_f 0,10 (А), 0,40 (Б), отношение общий фосфор — полипренол 1,0 : 1,1.

Гексапренилпирофосфат-α-D-галактопиранозу получали из 2,5 мкмоль гексапренилфосфата и 5 мкмоль триоктиламмониевой соли α-D-галактопиранозилфосфата по общей методике синтеза полипренилпирофосфатсахаров [21] (пирофосфатный синтез вели 16 ч при 37°С). Выход 52%, R_f 0,18 (Б), отношение кислотный фосфор — полипренол 2,0 : 1,2. После деградации водным фенолом [21] галактозилпирофосфат идентифицирован электрофорезом на бумаге.

Фарнезилпирофосфат-α-D-галактопираноза. Получали аналогично из 3,0 мкмоль фарнезилфосфата. Выход 28%, R_f 0,12 (Б), отношение кислотлабильный фосфор — полипренол 2,0 : 1,25.

Исследование полипренилфосфатов как субстратов реакции (α). Полипренилфосфат (50 нмоль) солиubilizировали в 10 мкл метанола и 15 мкл 0,5% водного раствора твина-85 при энергичном встряхивании, вводили 5 мкмоль трис-ацетата (рН 8,5), 1 мкмоль MgCl₂, 25 нмоль UDP-[6-³H]Gal или UDP-[¹⁴C]Gal и 25 мкл препарата растворимых гликозилтрансфераз. Инкубационную смесь (общий объем 0,1 мл) выдерживали 30 мин при 20°С и обрабатывали по одной из следующих методик:

А — для производных полипренолов со степенью полимеризации 11 и выше. Реакцию останавливали добавлением 2 мл смеси хлороформ — метанол (2 : 1), экстрагировали полипренилпирофосфатсахара и определяли их радиоактивность, как описано в работе [11].

Б — для производных цитронеллола, фарнезола, гекса- и гептапренолов. Реакцию останавливали добавлением 0,2 мл этанола, наносили смесь на бумагу полосой 1,5 см. Проводили электрофорез до тех пор, пока пробег свидетеля (пикриновой кислоты) не достигал 18–20 см. Высушенную электрофореграмму разрезали на полоски размером 2×1 см и определяли радиоактивность в толуольном сцинтиляторе. Полипренилпирофосфатсахара локализованы в области с E_f 0–6 см (считая за 0 линию нанесения), нуклеотидсахара и продукты их распада — 12–20 см.

В — для производных цитронеллола, фарнезола и гептапренола. Всю инкубационную смесь наносили на колонку с 1 мл гидрофобной фазы SEP-PAK C₁₈ (Millipore), предварительно активированной метанолом и хлороформом. Колонку промывали последовательно 10 мл воды, 15 мл метанола и 15 мл смеси хлороформ — метанол (2 : 1). В элюатах с помощью диоксанового сцинтиллятора определяли радиоактивность. В водной про-

мывке находили нуклеотидсахар, а в метанольном элюате — [^{14}C]GalppPre (контроль ТСХ в системе Б, свидетели — синтетические образцы GalppPre_n).

В каждой серии опытов параллельно проводили опыт с морапренилфосфатом и определяли отношение количества образовавшейся [$6\text{-}^3\text{H}$]-GalppPre или [^{14}C]GalppPre к количеству радиоактивного производного морапренилфосфата (см. табл. 2).

Исследование полипренилфосфатов как субстратов реакций а-в. Инкубационная смесь содержала 25 нмоль UDP-Gal (нерадиоактивную), 12,5 нмоль dTDP-Rha и 12,5 нмоль GDP-[^{14}C]Man. Реакцию проводили 1 ч при 20°С и обрабатывали по процедуре А для фосфатов pPre₁₁, pPre₂₀, pDoI₁₁ и pDoI₂₁. Для производных цитронеллола, фарнезола и бетулапренола реакционную смесь гидролизовали в 1 мл уксусной кислоты 30 мин при 100°С и выделяли трисахарид гель-фильтрацией на колонке (57×1,2 см) с сефадексом G-15. Выход продуктов реакции определяли по отношению количества радиоактивности в зоне трисахарида к количеству радиоактивности в той же зоне для продукта реакции с морапренилфосфатом (результаты см. в табл. 2).

Исследование трисахаридных производных полипренолов как субстратов реакции г. Полипренилпирофосфаттрисахариды, содержащие остаток [^{14}C]Man, получали как при исследовании реакций а-в и выделяли по процедуре А. Органическую фазу упаривали, к остатку добавляли 20 мкл 0,5% водного раствора твина-85, 15 мкл 2 М трис-малеата (рН 6,0) 10 мкл 0,1 М MgCl₂ и 20 мкл препарата мембран и выдерживали 1,5 ч при 25°С. Добавляли 1 мл 0,5 М уксусной кислоты, нагревали 30 мин при 100°С, осадок удаляли центрифугированием и надосадочную жидкость фракционировали на колонке (30×1,4 см) с сефадексом G-15. Выход продуктов в элюатах контролировали по радиоактивности. Колонка была прокалбрована декстраном T-10 (V_e 11 мл), гексасахаридом (V_e 16 мл) и трисахаридом (V_e 20 мл). Выход полимерных продуктов (табл. 3) определяли из отношения количества радиоактивных продуктов, смытых с колонки в интервале V_e 10–17 мл, к общему возврату радиоактивности, а долю гексасахаридов в полимерных продуктах — как отношение радиоактивности в 14–17 и 10–17 мл.

Исследование GalppFar и GalppPre₆ как субстратов реакций б-г. К 4 нмоль полипренилпирофосфатгалактозы добавили 15 мкл 0,5% водного раствора твина-85 и далее 5 мкмоль трис-ацетата (рН 8,5), 1 мкмоль MgCl₂, 7,5 нмоль dTDP-Rha, 12,5 нмоль GDP-[^{14}C]Man и 20 мкл препарата мембран, общий объем 0,1 мл. Выдерживали 30 мин при 37°С и обрабатывали как в предыдущей методике.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шибасв В. Н., Елисеева Г. И. Биоорган. химия, 1983, т. 9, № 5, с. 684–687.
2. Шибасв В. Н. В сб.: Успехи биол. химии/Ред. Степаненко Б. Н. М.: Наука, 1976, т. 17, с. 187–216.
3. Parodi A. J., Leloir L. F. Biochim. et biophys. acta, 1979, v. 559, № 1, p. 1–37.
4. Mańkowski T., Sasak W., Janczura E., Chojnacki T. Arch. Biochem. and Biophys., 1977, v. 181, № 2, p. 393–401.
5. Bergman A., Mańkowski T., Chojnacki T., De Luca L. M., Peterson E., Dallner G. Biochem. J., 1978, v. 172, № 1, p. 123–127.
6. Pless D. D., Palamarczyk G. Biochim. et biophys. acta, 1978, v. 529, № 1, p. 21–28.
7. Palamarczyk G., Lehle L., Mańkowski T., Chojnacki T., Tanner W. Eur. J. Biochem., 1980, v. 105, № 3, p. 517–523.
8. Lehle L., Haselback A., Tanner W. Biochim. et biophys. acta, 1983, v. 757, № 1, p. 77–83.
9. Rössler H. H., Schneider-Seelbach E., Malati T., Risse H. J. Mol. and Cell. Biochem., 1981, v. 34, № 2, p. 65–72.
10. Kato S., Tsiji M., Nakanishi Y., Suzuki S. J. Biochem., 1980, v. 87, № 3, p. 929–939.
11. Шибасв В. Н., Кусов Ю. Ю., Дружинина Т. Н., Калинин Н. А., Кочетков Н. К., Кулессо В. А., Рожнова С. Ш. Биоорган. химия, 1978, т. 4, № 1, с. 47–56.
12. Кусов Ю. Ю., Киселева Е. В., Данилов Л. Л., Шибасв В. Н., Кочетков Н. К., Рожнова С. Ш., Кулессо В. А. Биоорган. химия, 1979, т. 5, № 12, с. 1863–1872.
13. Данилов Л. Л., Калинин Н. А., Дружинина Т. Н., Шибасв В. Н., Полуниин Е. В., Новикова В. А., Торгова С. И., Моисеевков А. М., Кочетков Н. К. Докл. АН СССР, 1983, т. 271, № 2, с. 357–361.

14. Калинин Н. А., Дружинина Т. Н. VII Всесоюз. конф. «Химия и биохимия углеводов». Тез. докл. Пущино, 1982, с. 28–29.
15. Гогилашвили Л. М., Калинин Н. А., Дружинина Т. Н., Шибеев В. Н. VII Советско-индийский симпозиум по химии природных соединений. Тез. докл. и сообщ. Тбилиси, 1983, с. 23.
16. Moiseenkov A. M., Polunin E. V., Semenovskiy A. V. *Tetrahedron Lett.*, 1981, v. 22, № 34, p. 3309–3312.
17. Chojnacki T., Jankowski W., Mańkowski T., Sasak W. *Anal. Biochem.*, 1975, v. 69, № 1, p. 114–119.
18. Вергунова Г. И., Глухобед И. С., Данилов Л. Л., Елусеева Г. И., Кочетков Н. К., Троицкий М. Ф., Усов А. И., Шашков А. С., Шибеев В. Н. *Биоорган. химия*, 1977, т. 3, № 11, с. 1484–1492.
19. Danilov L. L., Chojnacki T. *FEBS Lett.*, 1981, v. 131, № 2, p. 310–312.
20. Кочетков Н. К., Шибеев В. Н., Дружинина Т. Н., Гогилашвили Л. М., Данилов Л. Л., Торгов В. И., Мальцев С. Д., Уткина Н. С. *Докл. АН СССР*, 1982, т. 262, № 6, с. 1393–1397.
21. Danilov L. L., Maltsev S. D., Shibaev V. N., Kochetkov N. K. *Carbohydr. Res.*, 1981, v. 88, № 2, p. 203–211.
22. Шибеев В. Н., Уткина Н. С., Данилов Л. Л., Елусеева Г. И. *Биоорган. химия*, 1980, т. 6, № 12, с. 1778–1781.

Поступила в редакцию
10.VIII.1984

SPECIFICITY OF ENZYMES OF O-ANTIGEN BIOSYNTHESIS IN *SALMONELLA ANATUM* TOWARDS POLYPRENYL DERIVATIVES OF DIFFERENT CHAIN-LENGTH AND SATURATION

KALINCHUK N. A., DANILOV L. L., DRUZHININA T. N.,
SHIBAEV V. N., KOCHETKOV N. K.

*N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Academy of Sciences
of the USSR, Moscow*

Polyprenyl phosphates of different structure were prepared and their ability to serve as sugar acceptors in the biosynthesis of O-specific polysaccharides of *Salmonella anatum* was investigated. It was demonstrated that C₃₀–C₈₀-polyprenyl phosphates with unsaturated α -isoprene unit were as active as natural acceptor (undecaprenyl phosphate) in this enzymic system. C₁₅- and C₁₀₀-polyprenyl phosphates of this series were less effective in O-antigen repeating unit formation. Citronellyl and dolichyl phosphates (derivatives of C₁₀- and C₁₀₅-polyprenols, respectively, with saturated α -isoprene unit) were poor substrates. For polymerization of repeating units, the polyprenol chain-length is of utmost importance: its shortening results in a marked drop in the efficiency of respective compounds as substrates.