



УДК 547.963.1.05:578.832.1.088.2

**СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ УГЛЕВОДНЫХ ЦЕПЕЙ Н1  
ГЕМАГГЛЮТИНИНА ВИРУСОВ ГРИППА А/КИЕВ/59/79  
И Х/ЛЕНИНГРАД/54/1 С ПОМОЩЬЮ ОЛИГОСАХАРИДНЫХ  
КАРТ****Арбатский Н. П., Желтова А. О., Сенченкова С. Н.,  
Юртов Д. В., Деревицкая В. А., Кочетков Н. К.***Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского  
Академии наук СССР, Москва*

Разработан метод сравнительного изучения углеводных цепей N-гликопротеинов с помощью олигосахаридных карт, основанный на хроматографической идентификации углеводных фрагментов. Из гемагглютинина двух вариантов вируса подтипа Н1N1 выделено большое число олигосахаридов и установлен их моносахаридный состав. Показано, что оба варианта гемагглютинина Н1 очень похожи по структуре углеводных цепей и значительно отличаются от гемагглютинина подтипа Н3. Полученные результаты указывают на зависимость характера гликозилирования от штамма вируса, т. е. в конечном счете от структуры полипептидной цепи гемагглютинина.

Гемагглютинин (НА) вируса гриппа содержит N-связанные углеводные цепи, число которых (5–8) и местоположение обусловлено количеством и расположением потенциальных сайтов гликозилирования, т. е. первичной структурой полипептидной цепи гемагглютинина, а тип углеводных цепей зависит от ряда причин, в том числе от особенностей системы гликозилирования клетки-хозяина [1–6]. Предполагается, что углеводы играют важную роль в формировании и поддержании необходимой пространственной структуры НА, в защите его от действия протосолитических ферментов и, следовательно, необходимы для сохранения (возможно, маскировки) его антигенной специфичности и других видов активности как в составе вириона, так и самого по себе [1, 7–9]. Это обстоятельство заслуживает серьезного внимания в связи с попытками экспрессии гена гемагглютинина в клетках бактерий и эукариот [10] с целью создания противогриппозной вакцины методами генной инженерии. С учетом этого изучение особенностей гликозилирования различных подтипов гемагглютинина представляет существенный интерес как с теоретической, так и с практической точек зрения.

Установление строения углеводных цепей гемагглютинина встречает ряд трудностей, связанных в первую очередь с малой доступностью высокоочищенного исходного материала. По этой причине данные о структуре углеводных фрагментов гемагглютинина и их вариациях очень немногочисленны [11–14]. Вместе с тем для решения ряда вопросов иногда достаточно установить моносахаридный состав и основные черты структуры углеводных цепей (тип цепи, разветвленность) или даже сам факт изменения характера гликозилирования в зависимости, например, от штамма вируса или действия какого-либо агента. Такие изменения могут быть обнаружены на хроматографическом уровне, что позволяет, используя минимальное количество исходного материала, проводить сравнительный анализ различных образцов гликопротеинов.

В данной работе на примере гемагглютинина вирусов гриппа А/Киев/59/79 и Х/Ленинград/54/1 (оба Н1N1), а также ранее изученного нами [13–15] А/Ленинград/385/80 (Н3N2) показана возможность сравнительного изучения углеводных цепей гемагглютинина с помощью олигосахаридных карт, полученных с использованием ВЭЖХ. Такой подход

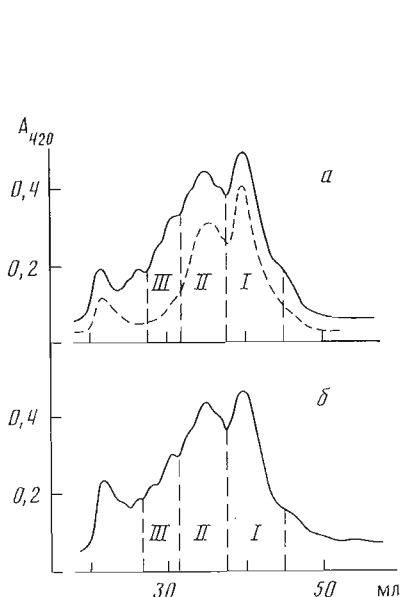


Рис. 1

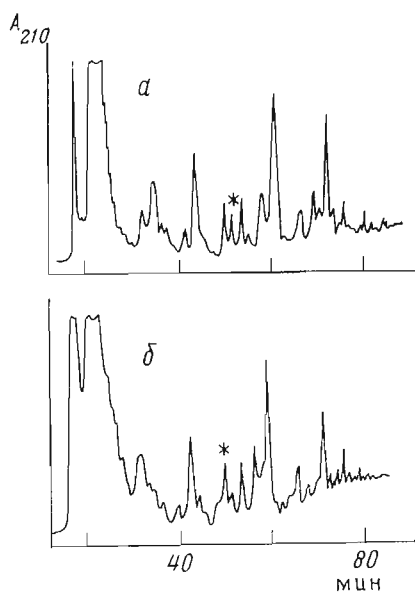


Рис. 2

Рис. 1. Гель-хроматография олигосахаридных фракций из HA-K (а) и HA-X (б) на колонке (1×82 см) с биогеелем Р-6 (-400 мш); элюент - 0,1 н.  $\text{CH}_3\text{COOH}$ . Приведено поглощение в реакции с ордином и  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Пунктиром обозначена кривая элюции олигосахаридов, полученных из HA-LI [15]

Рис. 2. ВЭЖХ на колонке Ultrasphere-C8 олигосахаридных фракций II (см. рис. 1) из HA-K (а) и HA-X (б). Условия элюции: 0-15 мин, вода (0,5 мл/мин); 15-35 мин, вода (1 мл/мин); 35-55 мин, вода → 2,5% метанол (2 мл/мин); 55-85 мин, водный метанол 2,5 → 25% (2 мл/мин)

позволяет получить данные о соотношении углеводных цепей различного типа и их вероятной структуре.

Первичная структура полипептидной цепи гемагглютинина вируса А/Киев/59/79 (HA-K) и рекомбинантного штамма X/Ленинград/54/1 (HA-X) установлена исходя из нуклеотидной последовательности ДНК-копии гена гемагглютинина [16, 17]. Эти варианты различаются лишь заменой 6 аминокислотных остатков (все в тяжелой цепи  $\text{HA}_1$ ), а в остальном (число и положение остатков цистеина и сайтов гликозилирования) полностью идентичны. В тяжелой ( $\text{HA}_1$ ) и легкой ( $\text{HA}_2$ ) цепях гемагглютинина имеется 8 и 2 потенциальных сайта гликозилирования соответственно, причем некоторые из них (аспарагин-94, -158, -163, -212) по своему положению не имеют аналогов среди гликозилированных сайтов гемагглютинина подтипа H3 [2]. В связи с этим представляет интерес сравнение углеводных цепей этих двух вариантов гемагглютинина подтипа H1 между собой и с гемагглютинином подтипа H3 вируса гриппа А/Ленинград/385/80 (HA-LI), изучавшегося нами ранее [13-15].

Выделение гемагглютинина обоих вариантов вируса проводилось с помощью расщепления вирионов бромелаином аналогично описанному ранее [18]. Следует отметить, однако, что в отличие от HA-LI восстановление выделенных гель-хроматографией на сефарозе CL-6B образцов гемагглютинина (особенно HA-K) приводило к образованию наряду с цепями  $\text{HA}_1$  и  $\text{HA}_2$  небольшого количества продуктов с промежуточной подвижностью при электрофорезе в ПААГ. Это свидетельствует о дополнительных разрывах полипептидной цепи гемагглютинина и может быть связано с неизбирательностью действия бромелаина в случае гемагглютининов подтипа H1.

Для отщепления углеводных цепей образцы HA-K и HA-X подвергали восстановительному расщеплению  $\text{LiBH}_4$  в водном *трет*-бутаноле аналогично описанному ранее [15, 19]. В обоих случаях выход олигосахаридов с глюкозаминитом на «восстанавливающем» конце составил ~70%.

Относительное содержание моносахаридов в олигосахаридных фракциях  
I—III гемагглютининов НА-К, НА-Х и НА-Л  
моль/3 моль маннозы

Моносахариды	НА-К			НА-Х			НА-Л [15]		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
GlcNAc	2,3	3,6	4,4	1,8	3,3	4,6	1,3	3,4	5,4
Man	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Fuc	0,4	0,9	1,3	0,3	1,1	1,2	0,3	1,3	2,3
Gal	1,5	2,4	3,7	1,2	2,8	4,1	0,6	2,5	4,1

Таблица 2

Моносахаридный состав олигосахаридов \*

Олигосахарид **	Номер	GlcNAc	Man	Fuc	Gal	Олигосахарид	Номер	GlcNAc	Man	Fuc	Gal
K/I : 25-55	1	1	8,4	0	0	X/I : 25-54	1	1	8,1	0	0
K/I : 26-49	2	1	7,2	0	0	X/I : 26-48	2	1	6,9	0	0,1
K/I : 29-45	3	1	5,9	0	0						
K/I : 32-39	4	1	4,6	0	0,1	X/I : 32-40	4	1	5,3	0	0
K/I : 39-33	5	2,8	3	0	0						
K/I : 42-37	6	3,3	3	0	1,1	K/II : 41-39	6	3,4	3	0,2	1,3
X/I : 43-38	6	2,9	3	0,2	0,8						
K/I : 44-36	7	2,2	3	0	0,7						
K/I : 44-44	8	3,2	3	0,1	2,3	K/II : 43-44	8	3,2	3	0	2,6
						X/II : 44-46	8	3,4	3	0,1	1,9
K/I : 54-42	9	4,4	3	0,1	0						
K/I : 56-33	10	2,6	3	0,8	0,1	X/I : 57-34	10	3,4	3	0,7	0,3
K/II : 32-38	11	3,7	3	0,1	0,3						
K/II : 32-46	12	3,7	3	0,2	1,3						
K/II : 32-55	13	3,9	3	0	2,2						
K/II : 34-63	14	4,2	3	0	3,1						
K/II : 49-46	15	3,8	3	0,8	1,6						
K/II : 49-59	16	4,0	3	1,1	2,3						
K/II : 51-70	17	5,2	3	1,2	3,9	K/III : 51-69	17	4,9	3	1,1	4,2
X/II : 50-70	17	5,6	3	1,1	3,6						
K/II : 53-55	18	4,4	3	1,7	2,8	K/III : 53-53	18	4,3	3	1,2	2,8
X/II : 54-52	18	4,7	3	1,4	3,0	X/III : 53-51	18	4,2	3	1,3	3,1
K/II : 53-62	19	4,3	3	0,1	3,1						
K/II : 55-35	20	4,3	3	1,2	0,2						
X/II : 57-39	21	3,6	3	0,7	0,8	K/III : 57-41	21	3,6	3	1,3	1,4
K/II : 58-41	21	3,7	3	1,0	1,2						
K/II : 57-71	22	5,3	3	0,1	3,0	K/III : 57-70	22	5,3	3	0,4	3,2
X/II : 59-45	23	4,4	3	1,1	3,1	K/III : 59-46	23	4,1	3	1,3	2,7
K/II : 60-46	23	4,2	3	1,2	2,8						
K/II : 66-56	24	4,9	3	1,4	3,2	K/III : 65-54	24	5,0	3	1,1	3,4
X/II : 66-55	24	5,2	3	0,8	2,8						
K/II : 69-46	25	4,3	3	0,9	1,0	K/III : 69-46	25	4,4	3	1,4	1,2
K/II : 69-59	26	5,1	3	1,2	1,8						
K/II : 71-68	27	5,5	3	1,3	2,9	K/III : 71-70	27	4,7	3	0,9	2,7
X/II : 71-70	27	5,6	3	0,7	3,2						
K/II : 75-45	28	4,1	3	0,7	1,8						

\* Определение N-ацетилглюкозаминита, находящегося на восстановленном конце олигосахаридов, не проводилось.

\*\* Цифр олигосахаридов включает букву К или Х (для НА-К и НА-Х), после косой линии — номер фракции на биогеле Р-6, после двоеточия через дефис — время элюции (мин) на колонках 1 и 2 соответственно. Одинаковые или близкие по хроматографическим свойствам олигосахариды, выделенные из различных фракций, расположены на одной горизонтали.

Полученные смеси олигосахаридов фракционировали на биогеле Р-6 (рис. 1). Уже на этой стадии разделения олигосахаридов видно, что по соотношению углеводных цепей различного типа оба гемагглютинина Н1 близки, но заметно отличаются от НА-Л (НЗ) повышенным содержанием олигосахаридов с более высокой молекулярной массой (фракция III). Кроме того, моносахаридный состав фракций I (табл. 1) показывает, что

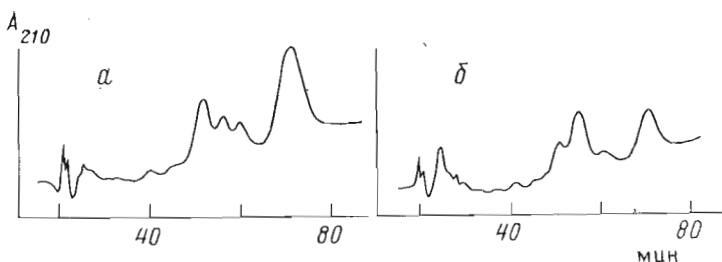


Рис. 3. ВЭЖХ фракций олигосахаридов, полученных из НА-К (а) и НА-Х (б) (рис. 2, отмечены звездочкой) с временами удерживания 51 и 50 мин соответственно на колодке Ultrasphere-NH<sub>2</sub>; элюент — 75% водный метанол (0,8 мл/мин)

образцы НА-К и НА-Х содержат значительно меньше олигоманнозидных цепей, чем НА-Л [15].

Ранее для выделения индивидуальных олигосахаридов из смеси нами с успехом использовалась ВЭЖХ на обращенной фазе и аминофазе [15]. Эта же комбинация колонок применялась и в данном случае. Олигосахаридные фракции I—III хроматографировали сначала на колонке Ultrasphere-C8 (колодка 1) в градиенте вода → метанол. Затем каждый из полученных компонентов хроматографировали на колонке Ultrasphere-NH<sub>2</sub> (колодка 2) в 75% водном метаноле, при этом в ряде случаев происходило дополнительное разделение олигосахаридов, элюируемых одним пиком на колонке 1. В качестве примера на рис. 2 приведена хроматография на колонке 1 фракций II из образцов НА-К и НА-Х, а на рис. 3 — последующее разделение одного из полученных компонентов на колонке 2.

Результаты такого последовательного разделения олигосахаридных фракций I—III из препаратов НА-К и НА-Х представлены в виде карт, где координатами пятна соответствующего олигосахаридов является его хроматографическая подвижность на колонках 1 и 2 (рис. 4).

Сравнение олигосахаридных карт, расположенных по вертикали рис. 4, показывает, что каждая из олигосахаридных фракций имеет довольно характерный набор олигосахаридов, хотя некоторые олигосахариды обнаруживаются одновременно в двух соседних фракциях (особенно в II и III). Это объясняется недостаточно полным разделением исходной смеси олигосахаридов на биогеле Р-6 (рис. 1). Из сравнения карт, полученных для аналогичных фракций образцов НА-К и НА-Х, видно, что эти гемагглютинины содержат очень близкий набор олигосахаридов. Наблюдаемые небольшие вариации в положении отдельных олигосахаридов объясняются, по-видимому, неконтролируемыми изменениями условий элюции, различиями в составе и концентрации смесей, «старением» колонки и т. п. Как мы убедились в ходе работы, эти отклонения во времени элюции, как правило, не превышают 1–2 мин на колонке 1 и 2–3 мин на колонке 2.

Несомненно, наиболее надежным доказательством хроматографической идентичности двух олигосахаридов явилась бы элюция их в виде одного пика при совместном анализе (на обеих колонках), однако в случае большего числа олигосахаридов это очень трудоемкая процедура. Наличие в смеси олигосахаридов с близкими хроматографическими характеристиками также затрудняет идентификацию. Например, довольно сложно установить: олигосахарид X/I: 43-38 (6) \* идентичен олигосахаридам K/I: 42-37 (6) или K/I: 44-36 (7) или отличается от них? Более того, даже полное совпадение по положению на карте двух олигосахаридов, полученных из различных образцов, еще не означает их структурную идентичность. Определение в таких «спорных» случаях моносакхаридного состава олигосахаридов часто позволяет решить этот вопрос.

Данные о моносакхаридном составе для большинства выделенных олигосахаридов приведены в табл. 2. Как и ожидалось, все «хроматографиче-

\* Шифровку олигосахаридов см в примечании к табл. 2.

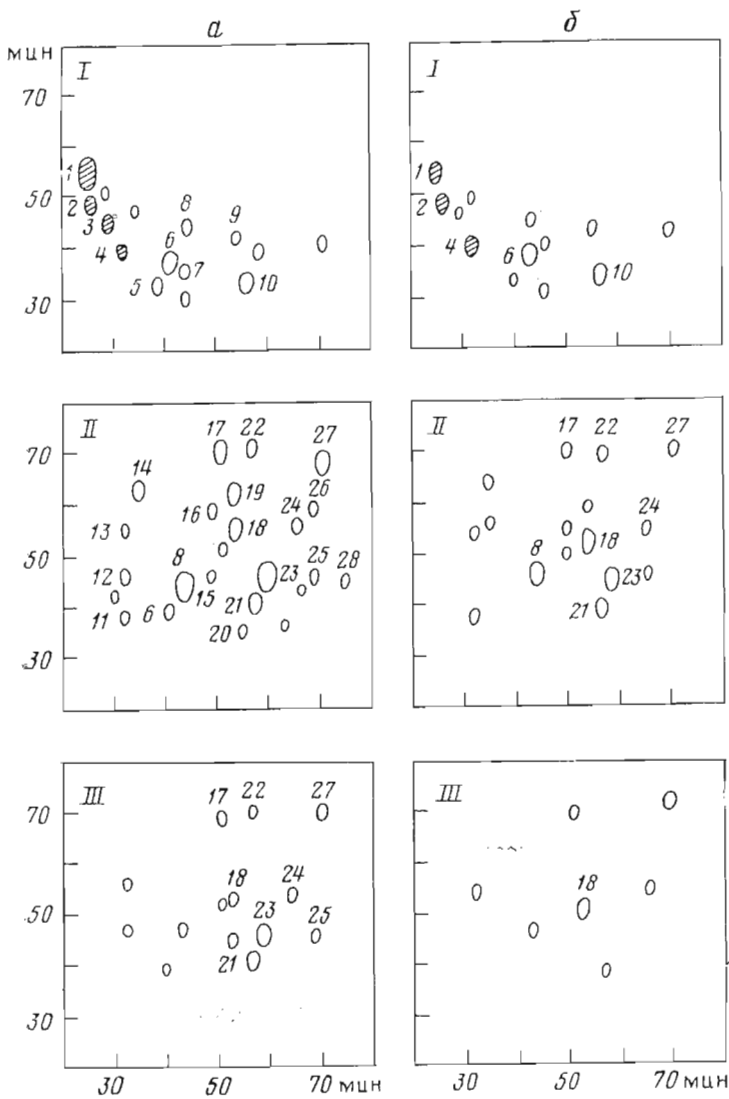


Рис. 4. Олигосахаридные карты, полученные для фракций I—III из НА-К (а) и НА-Х (б). По оси абсцисс и ординат — время элюции олигосахарида (в мин) на колонке Ultrasphere-C8 (ср. рис. 2) и Ultrasphere-NH<sub>2</sub> (ср. рис. 3). Размер пятна отражает относительное содержание олигосахарида, количество которого определено с помощью ВЭЖХ и углеводного анализа. Пронумерованы олигосахариды, охарактеризованные моносахаридным составом (табл. 2). Заштрихованы фрагменты олигоманнозидного типа

ски подобные» олигосахариды имеют одинаковый моносахаридный состав, что подтверждает правильность интерпретации олигосахаридных карт (рис. 4). Таким образом, большая часть выделенных из образца НА-К олигосахаридов, в том числе все главные, идентичны по составу и хроматографическим свойствам соответствующим олигосахаридам из НА-Х.

На основании данных о моносахаридном составе можно заключить, что олигосахариды, выделенные из фракции I, представляют собой олигоманнозидные цепи и наиболее низкомолекулярные олигосахариды, соответствующие, по-видимому, промежуточным продуктам биосинтеза комплексных углеводных цепей гликопротеинов (ср. [20, 21]). Следует подчеркнуть, что олигоманнозидные фрагменты 3, 2 и 1 (рис. 4) оказались полностью идентичными по хроматографическим свойствам и составу олигосахаридам, выделенным ранее из гемоглобина НА-П и содержащим 6, 7 и 8 остатков маннозы (ОС-4, ОС-5 и ОС-6) [15], строение которых установлено [13]. Интересно, что олигосахарид, содержащий 9 остат-

ков маннозы, не обнаружен среди углеводных фрагментов обоих вариантов гемагглютинина Н1.

Судя по соотношению глюкозамина и маннозы, олигосахариды, составляющие фракции II и III, соответствуют ди-, три- и тетраантенным комплексным цепям, причем каждый тип цепи представлен серией олигосахаридов, различающихся числом остатков галактозы и фукозы. Большинство главных олигосахаридов содержит 4 остатка глюкозамина и, следовательно, как и в случае НА-Л [14, 15], триантенные цепи преобладают в обоих типах гемагглютинина Н1. Три главных олигосахаридов (8, 18 и 23), обнаруженные в НА-К и НА-Х, были довольно близки по хроматографическим свойствам и составу главным олигосахаридам (ОС-13, ОС-16 и ОС-19 соответственно), выделенным ранее из НА-Л [14, 15]. Однако более тщательное сравнение этих трех пар олигосахаридов показало, что только олигосахарид 23 можно считать идентичным ОС-19, тогда как две другие пары различаются.

Особенно большие различия между гемагглютинидами подтипов Н1 и Н3 обнаруживаются в содержании олигосахаридов, имеющих 5 остатков глюкозамина (олигосахариды 17, 22, 24, 26, 27). Такие олигосахариды, характерные для гемагглютининов НА-К и НА-Х (олигосахариды 17, 22, 24, 26, 27 (табл. 2)) и практически отсутствующие в гемагглютине НА-Л подтипа Н3 [14, 15], судя по моносахаридному составу (табл. 2), соответствуют тетраантенным комплексным цепям.

Таким образом, в результате проведенного исследования разработан и опробован подход к сравнительному анализу углеводных цепей гликопротеинов с помощью олигосахаридных карт. Можно рассчитывать, что дальнейшее развитие его сделает возможной прямую идентификацию олигосахаридных фрагментов с заведомыми структурами на основании идентичности их хроматографического поведения и состава.

В настоящем исследовании этим методом установлено, что для препаратов НА-К и НА-Х характерна более высокая по сравнению с НА-Л степень гетерогенности углеводных цепей. В целом оба варианта гемагглютинина подтипа Н1 имеют весьма похожий набор олигосахаридов олигоманнозидного и комплексного типов. В то же время обнаружены значительные различия в относительном количестве и строении углеводных цепей гемагглютининов подтипов Н1 и Н3: Н1-подтипу отвечает меньшее содержание олигоманнозидных цепей и гораздо большее — высоковетвленных комплексных цепей. Идентичными из большого числа углеводных цепей гемагглютининов обоих подтипов оказались лишь несколько олигосахаридных структур.

Поскольку все три штамма вируса выращены в одной и той же системе (куриные эмбрионы), различия в характере гликозилирования гемагглютининов подтипов Н1 и Н3 свидетельствуют о существенной роли в этом процессе первичной структуры гликозилируемого белка. Существование зависимости структуры углеводной цепи от пространственного окружения сайта гликозилирования, т. е. от вторичной и третичной структуры синтезируемого гликопротеина, широко обсуждается в последнее время [22—27]. Можно предположить, что для конкретного сайта гемагглютинина каждого подтипа существует своя «оптимальная» структура (или структуры) углеводной цепи и значительные отклонения в ней могут приводить к изменению активности и других свойств гемагглютинина. В предельном случае, когда углеводные цепи вообще отсутствуют (подавление гликозилирования), часто наблюдается снижение иммуногенности, стабильности и даже изменение антигенных свойств гемагглютинина [7, 9].

Для выяснения особенностей строения такой «оптимальной» для каждого сайта углеводной цепи необходим широкий скрининг большого числа вариантов гемагглютининов, в том числе выяснение степени допустимой вариабельности углеводной цепи в каждом конкретном сайте. Большую помощь в этом может оказать предлагаемый нами подход к сравнительному изучению углеводных цепей гликопротеином с помощью олигосахаридных карт.

## Экспериментальная часть

Образцы НА-К и НА-Х получены обработкой суспензии вирионов бромеланином как описано ранее [18]. Из ~400 мг (по белку) вируса А/Киев/59/79 и ~120 мг вируса Х/Ленинград/54/1 получено 58 мг гемагглютинина НА-К и 23 мг НА-Х соответственно. Углеводные цепи гемагглютинина отщепляли с помощью LiBH<sub>4</sub> и после отделения гликопептидов на катионите олигосахариды фракционировали на биогеле Р-6 аналогично описанному [15, 19]. Олигосахариды выделяли ВЭЖХ на хроматографе Bio-Rad (США) с использованием колонок (10×250 мм) Ultrasphere-C8 и Ultrasphere-NH<sub>2</sub> (10 мкм) (Beckman, США); детекция при 210 нм; условия хроматографии см. рис. 2, 3. Моносахаридный состав олигосахаридов определяли с помощью углеводного анализатора Biotronik LC-2000 (ФРГ) [15].

### ЛИТЕРАТУРА

1. *Compans R. W., Nakamura K., Roth M. G., Holloway W. L., Kemp M. C.* // Structure and variation in influenza virus / Eds Laver W. G., Air G. M. N. Y.: Elsevier, 1980. P. 223-232.
2. *Skehel J. J., Stevens D. J., Daniels R. S., Douglas A. R., Knossow M., Wilson I. A., Wiley D. C.* // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1984. V. 81. № 6. P. 1779-1783.
3. *Wilson I. A., Skehel J. J., Wiley D. C.* // Nature. 1981. V. 289. № 5796. P. 366-373.
4. *Ward C. W., Dopheide T. A.* // Biochem. J. 1981. V. 193. № 3. P. 953-962.
5. *Nakamura K., Compans R. W.* // Virology. 1979. V. 95. № 1. P. 8-23.
6. *Klenk H.-D., Kiel W., Niemann H., Geyer R., Schwartz R. T.* New Develop. Diagn. Virol. Berlin e. a., 1983. P. 247-257.
7. *Зайдес В. В., Березин В. Э., Жданов В. М.* // Вопр. вирусологии. 1986. Т. 31. № 2. С. 133-148.
8. *Харитоненков И. П.* // Вопр. вирусологии. 1981. Т. 26. № 3. С. 262-271.
9. *Wilson I. A., Ladner R. C., Skehel J. J., Wiley D. C.* // Biochem. Soc. Trans. 1983. V. 11. № 2. P. 145-147.
10. *Герцинг М.-Дж., Сэмбрук Д.* // Генетика вирусов гриппа / Ред. Пейлиз П., Кингсбери Д. У. М.: Медицина, 1986. С. 161-185.
11. *Matsumoto A., Yoshida H., Kobata A.* // Biochemistry. 1983. V. 22. № 1. P. 188-196.
12. *Niemann H., Dabrowski J., Dabrowska U., Geyer R., Kiel W., Klenk H.-D., Stirm S.* // Eur. J. Biochem. 1985. V. 146. № 3. P. 523-532.
13. *Арбатский Н. П., Шашков А. С., Желтова А. О., Юртов Д. В., Деревицкая В. А., Кочетков Н. К.* // Биоорган. химия. 1985. Т. 11. № 11. С. 1556-1561.
14. *Арбатский Н. П., Желтова А. О., Юртов Д. В., Деревицкая В. А., Кочетков Н. К.* // Биоорган. химия. 1986. Т. 12. № 8. С. 1111-1117.
15. *Арбатский Н. П., Желтова А. О., Лихошерстов Л. М., Сенченкова С. Н., Юртов Д. В., Деревицкая В. А., Кочетков Н. К.* // Биоорган. химия. 1985. Т. 11. № 6. С. 837-844.
16. *Беклемышев А. Б., Блинов В. М., Василенко С. К., Головин С. Я., Каргинов В. А., Мамаев Л. В., Негесов С. В., Петров Н. А., Сафронов П. Ф., Фролов И. В.* // Биоорган. химия. 1986. Т. 12. № 3. С. 375-381.
17. *Беклемышев А. Б., Блинов В. М., Василенко С. К., Головин С. Я., Гуторов В. В., Каргинов В. А., Мамаев Л. В., Микрюков Н. Н., Негесов С. В., Петренко В. А., Петров Н. А., Сандахчиев Л. С.* // Биоорган. химия. 1984. Т. 10. № 11. С. 1535-1543.
18. *Арбатский Н. П., Лихошерстов Л. М., Медведев С. А., Новикова О. С., Сенченкова С. Н., Юртов Д. В., Деревицкая В. А., Кочетков Н. К.* // Докл. АН СССР. 1983. Т. 271. № 5. С. 1257-1260.
19. *Лихошерстов Л. М., Новикова О. С., Деревицкая В. А., Кочетков Н. К.* // Докл. АН СССР. 1984. Т. 274. № 1. С. 222-225.
20. *Kornfeld S., Li E., Tabas I.* // J. Biol. Chem. 1978. V. 253. № 24. P. 7774-7778.
21. *Fuhrmann U., Bause E., Ploegh H.* // Biochim. et biophys. acta. 1985. V. 825. P. 95-110.
22. *Anderson D. R., Grimes W. J.* // J. Biol. Chem. 1982. V. 257. № 24. P. 14858-14864.
23. *Mellis S. J., Baenziger J. U.* // J. Biol. Chem. 1983. V. 258. № 19. P. 11546-11556.
24. *Hsiegh P., Rosner M. R., Robbins P. W.* // J. Biol. Chem. 1983. V. 258. № 4. P. 2548-2554.
25. *Swiedler S. J., Freed J. H., Tarentino A. L., Plummer T. H., Jr., Hart G. W.* // J. Biol. Chem. 1985. V. 260. № 7. P. 4046-4054.
26. *Brown P. H., Hickman S.* // J. Biol. Chem. 1986. V. 261. № 6. P. 2575-2582.
27. *Chaney W., Stanley P.* // J. Biol. Chem. 1986. V. 261. № 23. P. 10551-10557.

Поступила в редакцию

15.I.1987

После доработки

18.II.1987

COMPARATIVE STUDY OF CARBOHYDRATE CHAINS OF H1  
HEMAGGLUTININS OF INFLUENZA VIRUSES A/KIEV/59/79 AND  
X/LENINGRAD/54/1 USING OLIGOSACCHARIDE MAPS

ARBATSKY N. P., ZHELTOVA A. O., SENCHENKOVA S. N., YURTOV D. V.,  
DEREVITSKAYA V. A., KOCHETKOV N. K.

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

For comparative study of carbohydrate chains of N-glycoproteins, method of «oligosaccharide maps» has been developed. It consists in fractionation of reduced oligosaccharide fragments by gel-chromatography and HPLC on reverse phase and amino columns. Using two HPLC retention time values for each oligosaccharide, two-dimensional maps for both variants of H1 hemagglutinin were constructed. The monosaccharide composition of the majority of oligosaccharides isolated was also elucidated. The carbohydrate chain's patterns for the H1 hemagglutinin variants were found to be similar but to differ considerably from those for H3 hemagglutinin. The data obtained show that the glycosylation pattern depends on virus strain, i. e. on the structure of the polypeptide chain of hemagglutinin.