



УДК 547.963.1.022:577.114.088

ХАРАКТЕРИСТИКА УГЛЕВОДНОГО КОМПОНЕНТА  
ТРОФОБЛАСТСПЕЦИФИЧЕСКОГО  $\beta_1$ -ГЛИКОПРОТЕИНА*Павленко А.Ф., Белогорцева Н.И., Мороз С.В.,  
Безнаев А.И., Оводов Ю.С.**Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВНЦ  
Академии наук СССР, Владивосток*

Методом метилирования показано, что трофобластспецифический  $\beta_1$ -гликопротеин (ТСГ) содержит N-гликозидносвязанные углеводные цепи N-ацетиллактозаминного типа. Метилирование фракций ТСГ, отличающихся способностью связываться с конканавалином А, свидетельствует о преимущественном содержании диантенных углеводных цепей по сравнению с три- и тетраантенными.

Трофобластспецифический  $\beta_1$ -гликопротеин (ТСГ) относится к белкам, специфическим для беременности, и является важным маркером беременности и патологий трофобласта [1]. Несмотря на широкое использование ТСГ в медицине, его строение и свойства практически остаются неизученными. В основном это обусловлено значительной гетерогенностью большинства препаратов ТСГ. Ранее [2] нами было проведено иммунохимическое исследование ТСГ, позволившее по-новому взглянуть на причины его гетерогенности и получить гомогенный препарат. Нами были изучены вторичная и третичная структура ТСГ и связь его пространственной организации с антигенной активностью [3].

Настоящая работа посвящена общей характеристике углеводных цепей ТСГ. Сейчас хорошо известно, что углеводные цепи гликопротеинов играют ключевую роль в процессах «узнавания» на клеточном и молекулярном уровнях, что обуславливает регуляцию различных биологических процессов. Установление строения углеводных цепей ТСГ представляет принципиальный интерес, поскольку может способствовать прояснению его биологической роли, которая до настоящего времени остается неясной.

ТСГ содержит ~30% углеводов, его качественный и количественный моносакхаридный состав приведен в табл. 1. Основные принципы построения углеводных цепей в гликопротеинах к настоящему времени хорошо установлены [4]. Моносакхаридный состав углеводных цепей ТСГ позволяет предположить, что они присоединены к белковой части N-гликозидной связью.

Для выяснения строения углеводных цепей ТСГ нами было проведено метилирование нативного ТСГ. Количественное соотношение полученных метиловых эфиров (рис. 1а) представлено в табл. 2. Результаты метилирования подтверждают, что ТСГ содержит N-гликозидносвязанные углеводные цепи N-ацетиллактозаминного типа (рис. 2.) Так, образование производных 2,4-ди-О-метил- и 3,4,6-три-О-метилманнозы, а также 3,6-ди-О-метил-2-деокси-2-N-метилацетиламиноглюкозы говорит о присутствии маннотриозидо-ди-N-ацетилхитобиозного кора (рис. 2). Относительно высокое содержание 2,4-ди-О-метил- и 3,4,6-три-О-метилманнозы свидетельствуют о том, что большая часть углеводных цепей ТСГ имеет диантенное построение (I). Однако наличие 3,6- и 3,4-ди-О-метилманнозы указывает на присутствие также и высокоразветвленных три- и тетраантенных цепей (II) и (III). Присутствие 2,4,6- и 2,3,4-три-О-метилгалактозы указывает на возможное связывание остатков нейраминной кислоты при C-3- и C-6-положениях остатков галактозы.

## Моносахаридный состав ТСГ

| Моносахарид | Содержание |               |
|-------------|------------|---------------|
|             | % по весу  | моль/моль Ман |
| Fuc         | 1,2        | 0,25          |
| Man         | 5,3        | 1,00          |
| Gal         | 8,8        | 1,66          |
| GlcNAc      | 11,9       | 1,83          |
| NeuNAc      | 3,2        | 0,35          |

Таблица 2

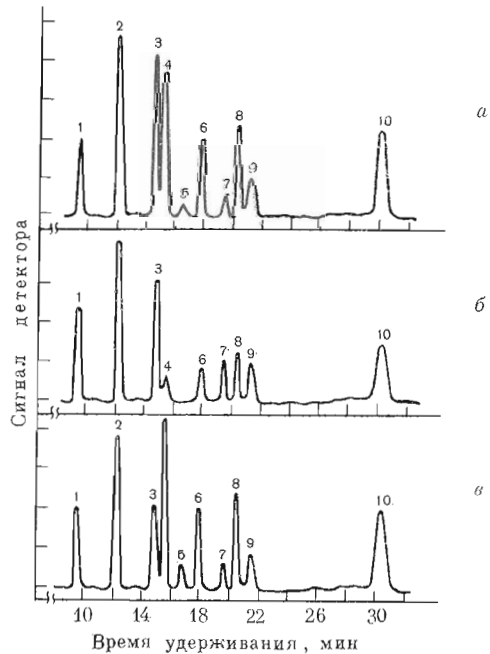
## Соотношение метилированных производных моносахаридов гидролизатов ТСГ и его фракций \*

| Моносахарид                   | Номер пика | ТСГ | ТСГ-1 | ТСГ-2 |
|-------------------------------|------------|-----|-------|-------|
| 2,3,4,6Me <sub>4</sub> Gal    | 2          | 2,4 | 4,5   | 2,2   |
| 2,3,4Me <sub>3</sub> Fuc      | 1          | 0,8 | 1,7   | 0,8   |
| 2,4,6Me <sub>3</sub> Gal      | 3          | 2,0 | 3,5   | 0,9   |
| 2,3,4Me <sub>3</sub> Gal      | 6          | 0,9 | 0,7   | 0,8   |
| 3,4,6Me <sub>3</sub> Man      | 4          | 1,9 | 0,4   | 2,6   |
| 2,3,6Me <sub>3</sub> Man      | 5          | 0,2 | —     | 0,3   |
| 3,6Me <sub>2</sub> Man        | 7          | 0,3 | 0,9   | 0,3   |
| 2,4Me <sub>2</sub> Man        | 8          | 1,0 | 1,0   | 1,0   |
| 3,4Me <sub>2</sub> Man        | 9          | 0,5 | 0,8   | 0,4   |
| 3,6Me <sub>2</sub> GlcN(Me)Ac | 10         | 2,3 | 2,4   | 1,9   |

\* Рассчитано относительно 2,4Me<sub>2</sub>Man. 3MeGlcN(Me)Ac обнаружен во фракциях в следовых количествах.

С целью более строгого определения соотношения ди-, три- и тетраацетных углеводных цепей в ТСГ мы использовали аффинную хроматографию на конканавалин-А-сефарозе [5], с помощью которой удалось разделить ТСГ на две основные фракции: ТСГ-1 и ТСГ-2, различающиеся по способности связываться с конканавалином А.

Рис. 1. Газожидкостная хроматография ацетатов полиолов метилированных моносахаридов: ТСГ (а), ТСГ-1 (б), ТСГ-2 (в). Полученные пики соответствуют 2,3,4 Me<sub>3</sub>Fuc (1); 2,3,4,6Me<sub>4</sub>Gal (2); 2,4,6Me<sub>3</sub>Gal (3); 3,4,6Me<sub>3</sub>Man (4); 2,3,6Me<sub>3</sub>Man (5); 2,3,4Me<sub>3</sub>Gal (6); 3,6Me<sub>2</sub>Man (7); 2,4 Me<sub>2</sub>Man (8); 3,4 Me<sub>2</sub>Man (9); 3,6Me<sub>2</sub>GlcN(Me)Ac (10)



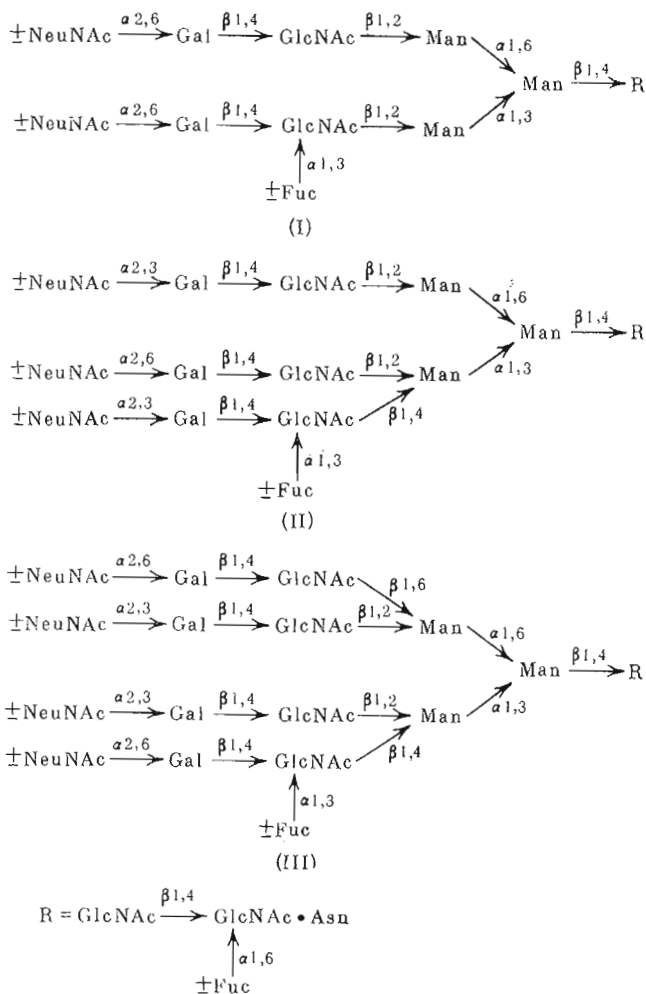


Рис. 2. N-Гликозидносвязанные углеводные цепи N-ацетиллактозаминного типа ди- (I), три- (II) и тетраантенного (III) строения [4]

Фракция ТСГ-1, не связывающаяся с конканавалин-А-сефарозой (~16%), по данным метилирования (рис. 1б, табл. 2), содержит три- и тетраантенные цепи. Соотношение диметилловых эфиров маннозы и 2,3,6-три-О-метилманнозы свидетельствует о преимущественном присутствии в этой фракции ТСГ тетраантенных углеводных цепей (III) (рис. 2).

Фракция ТСГ-2 (~80%) удерживалась на колонке с конканавалин-А-сефарозой. Полученные данные по метилированию этой фракции (рис. 1в, табл. 2) свидетельствуют о преимущественном наличии в ней диантенных углеводных цепей по сравнению с трех- и тетраантенными.

Для фракции ТСГ-1 характерно наличие большого количества 2,4,6-три-О-метилгалактозы. Ее присутствие может объясняться замещением остатков галактозы при С-3 нейраминовой кислотой, обычно обнаруживаемой в гликопротеинах такого типа [4]. Однако это не согласуется с высоким содержанием перметилированной галактозы, свидетельствующим о невысокой степени замещения концевых остатков галактозы. Другой причиной присутствия во фракции 1 сравнительно большого количества 2,4,6-три-О-метилгалактозы может явиться включение в состав углеводных цепей ТСГ повторяющегося олигосахаридного звена  $\text{GlcNAc1} \rightarrow 3\text{Gal}$ . Известно, что такое дисахаридное звено наиболее часто встречается в гликопротеинах, характерных для эмбрионального и злокачественного роста [6, 7].

Полученные данные позволяют считать, что молекула ТСГ содержит преимущественно диантенные углеводные цепи N-ацетиллактозаминного типа наряду с три- и тетраантенными.

### Экспериментальная часть

ТСГ получали как описано ранее [2]. Метилирование проводили по методу Хакомори [8]. Газожидкостную хроматографию ацетатов частично метилированных полиолов осуществляли на хроматографе Pye Unicam 104 (Англия) на стеклянных колонках, заполненных 3% QF-1 на Gas-Chrom Q (100—120 меш) при 130 → 210° С ( $\Delta$  3°/мин). Метилированные производные моносахаридов идентифицировали методом хромато-масс-спектрометрии на приборе ЛКВ 9000 (Швеция).

*Аффинная хроматография ТСГ на конканавалин-А-сефарозе.* 20,0 мг ТСГ растворяли в 20 мл 0,05 М трис-НСl-буфера, рН 7,6, содержащего 1 М NaCl, 2 мМ CaCl<sub>2</sub>, 2 мМ MgCl<sub>2</sub> и 2 мМ MnCl<sub>2</sub>, и наносили на колонку (1,5 × × 15 см) с конканавалин-А-сефарозой (Pharmacia Fine Chemicals, Швеция). Пропускали через колонку два объема буфера, собирали фракцию ТСГ-1. После этого через колонку пропускали объем стартового буфера, содержащего 0,1 М метил- $\alpha$ -D-глюкопиранозид, и собирали фракцию ТСГ-2. Белок регистрировали с помощью проточного денситометра Uvicord II (ЛКВ, Швеция). Собранные фракции диализовали и лиофилизовали. Выход: 2,8 мг ТСГ-1 и 14,2 мг ТСГ-2.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Татаинов Ю. С. // Успехи совр. биологии. 1983. Т. 95. № 1. С. 57—64.
2. Pavlenko A. F., Moroz S. V., Kuznetsov Yu. N., Ovodov Yu. S. // Tumor Biol. 1985. V. 6. № 5. P. 491—501.
3. Мороз С. В., Глазунов В. П., Вакорина Т. И., Павленко А. Ф., Одинокое С. Е., Оводов Ю. С. // Биоорганич. химия. 1987. Т. 13. № 4, с. 519—527.
4. Kornfeld R., Kornfeld S. // Annu. Rev. Biochem. 1985. V. 54. P. 631—664.
5. Bayard B., Kerckaert J.-P. // Biochem. and Biophys. Res. Commun. 1980. V. 95. № 2. P. 777—784.
6. Feizi T., Childs R. A. // Trends Biochem. Sci. 1985. V. 10. № 1. P. 24—29.
7. Feizi T. // Nature. 1985. V. 314. № 6006. P. 205—208.
8. Hakomori S. // J. Biochem. (Tokyo). 1965. V. 55. № 2. P. 205—208.

Поступила в редакцию  
7.VII.1986  
После доработки  
24.XI.1986

### CHARACTERISTICS OF THE CARBOHYDRATE COMPONENT OF TROPHOBLAST-SPECIFIC $\beta_1$ -GLYCOPROTEIN

PAVLENKO A. F., BELOGORTSEVA N. I., MOROZ S. V.,  
BEZNAEV A. N., OVODOV Yu. S.

*Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far East Science  
Centre, Academy of Sciences of the USSR, Vladivostok*

By use of the methylation method, trophoblast-specific  $\beta_1$ -glycoprotein (TSG, SP-1) has been shown to contain N-glycosidically linked oligosaccharide chains of the N-acetyl lactosamine type. Methylation analysis of TSG fractions which have various affinity to concanavalin A indicates that the diantennary carbohydrate chains prevail in the glycoprotein molecule.