



УДК 579.222.7'124.5:579.842.14

## ВВЕДЕНИЕ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ОСТАТКОВ ГЕКСОЗ В О-СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ПОЛИСАХАРИДЫ САЛМОНЕЛЛ СЕРОГРУПП E, B, C<sub>2</sub> И C<sub>3</sub> С ПОМОЩЬЮ СИНТЕТИЧЕСКИХ НУКЛЕОТИДСАХАРОВ \*

*Дружинина Т. П., Гоголашвили Л. М., Шибасев В. Н.*

*Институт органической химии им. П. Д. Зелинского  
Академии наук СССР, Москва*

Исследована донорная специфичность гликозилтрансфераз, участвующих в сборке повторяющихся звеньев О-антигенов салмонелл серогрупп E<sub>1</sub>, E<sub>4</sub>, B, C<sub>2</sub> и C<sub>3</sub> и возможность химико-ферментативного синтеза модифицированных полисахаридов, исходя из нуклеотидсахаров с измененным остатком гексозы. Показано, что UDP-Tal не способна служить субстратом галактозилфосфаттрансферазы, а GDP-Tal не заменяет GDP-Man с маннозилтрансферазами из салмонелл. dTDP-L-Man служила субстратом рамнозилтрансферазы, маннозилтрансфераза использовала в качестве доноров остатка гексоз GDP-2dMan, GDP-3dMan, GDP-6dMan, GDP-Glc. Модифицированные олигосахаридные производные оказались способными вступать в реакцию ферментативной полимеризации.

В рамках осуществления химико-ферментативного синтеза О-специфических полисахаридов салмонелл мы продемонстрировали возможность получения природных полимеров и их модифицированных производных, вводя в ферментативные реакции синтетические акцепторы — полипрекилпирофосфатогликосахариды [1—4]. Использование модифицированных доноров гликозильных остатков, нуклеотидсахаров, открывает другой путь получения неприродных полисахаридов. Во всех случаях возможность применения синтетических субстратов ограничивается специфичностью необходимых ферментативных стадий, и выяснение характера этой специфичности позволяет отработать оптимальную схему введения модификации.

Таблица 1

Структура повторяющихся звеньев основных цепей О-антигенов салмонелл  
-X)-Man (φ1-4)-Rha (α1-3)-Gal (ψ1- \*

Микроорганизм (серогруппа)	Конфигурация		X
	φ	ψ	
<i>S. anatum</i> (E <sub>1</sub> )	β	α	6
<i>S. newington</i> (E <sub>2</sub> )	β	β	6
<i>S. senftenberg</i> (E <sub>4</sub> )	β	α	6
<i>S. bredeney</i> (B)	α	α	2
<i>S. typhimurium</i> (B)	α	α	2

В настоящей работе мы сообщаем результаты исследования чувствительности к структуре переносимого остатка сахара гликозилтрансфераз, участвующих в сборке повторяющихся звеньев О-антигенов салмонелл

\* Для *S. newport*, *S. kentucky* структура-4) Rha (β1-2)-Man(α1-2)-Man (α1-3)-Gal (β1-

\* Сообщение 10 серии «Специфичность ферментов биосинтеза О-антигенов салмонелл». Сообщение 9 см. [1].

Сокращения: Mrg — C<sub>55</sub>-полипренол из листьев шелковицы, Pre — C<sub>55</sub>-полипренол из бактерий, Gal, Man, Tal, Glc — остатки моносахаридов D-конфигурации, Rha — L-конфигурации; 2dMan — 2-дезоксид-D-арабино-гексоза, 3dMan — 3-дезоксид-D-арабино-гексоза, 6dMan — D-рамноза.

серогрупп Е, В, С<sub>2</sub> и С<sub>3</sub>, а также приводим данные о получении модифицированных полисахаридов.

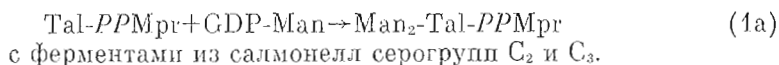
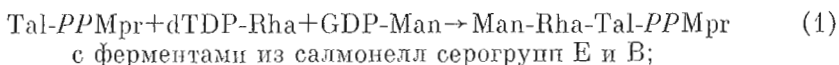
Повторяющиеся звенья основной цепи О-специфических полисахаридов салмонелл серогрупп Е, В, С<sub>2</sub> и С<sub>3</sub> построены из остатков *D*-галактозы, *D*-маннозы и *L*-рамнозы [5] (табл. 1). Донорами моносахаридных остатков при сборке повторяющихся звеньев служат UDP-Gal, dTDP-Rha и GDP-Man.

#### СИНТЕТИЧЕСКИЕ НУКЛЕОТИДСАХАРА — АНАЛОГИ UDP-Gal И dTDP-Rha

Для перечисленных штаммов продемонстрирован блочный тип биосинтеза О-антигенных полисахаридов [6—8], при котором повторяющееся звено собирается с участием гликозилтрансфераз на полипренольном акцепторе и далее полимеризуется. Сборка повторяющихся звеньев во всех этих штаммах начинается с образования полипренильного производного галактозы:  $UDP-Gal + PPre \rightarrow Gal(\alpha)-PPPre + UMP$  (Е — мембраносвязанные гликозилтрансферазы). Введение в систему биосинтеза повторяющегося звена вместо UDP-Gal ее эпимера по С-2 UDP-Tal позволяет выяснить, возможно ли ферментативное образование производного талозы Tal-PPPre (I) в реакции

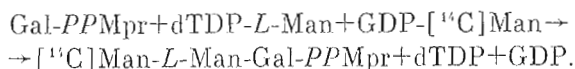


С использованием синтетических гликозилных производных морапренола (Mpr, растительный С<sub>55</sub>-полипренол) мы показали ранее [2, 9], что гликозилтрансферазы могут переносить второй моносахаридный компонент повторяющегося звена (остаток *L*-рамнозы в серогруппах Е и В и остаток *D*-маннозы в серогруппах С<sub>2</sub> и С<sub>3</sub>) и в том случае, если в состав полипренилфосфатсахара-акцептора вместо остатка *D*-галактозы входит остаток *D*-талозы:



UDP-Tal [10] и морапренилфосфат инкубировали с препаратами растворимых гликозилтрансфераз [11] с добавлением dTDP-Rha и GDP-[<sup>14</sup>C]Man для ферментов из салмонелл *S. anatum*, *S. senftenberg*, *S. bredeney*, *S. typhimurium* и с добавлением только донора [<sup>14</sup>C]маннозы с ферментами из *S. newport*, *S. kentucky*. Мерой протекания реакции (1) служило включение радиоактивности в органическую фазу после экстракции олигосахаридных производных полипренола. Было найдено, что радиоактивность органической фазы с изученными штаммами не превышала фоновых значений. Это свидетельствует о том, что UDP-Tal не могла служить донором остатка гексозы и, следовательно, определенная конфигурация у С-2 остатка гексозы нуклеотидсахара важна для галактозилфосфаттрансферазы из изучаемых штаммов.

Специфичность рамнозилтрансферазы по отношению к переносимому остатку сахара исследовали с помощью синтетического производного dTDP-*L*-Man [12], которое отличается от природного субстрата реакции — dTDP-Rha заменой СН<sub>3</sub>-группы при С-5 на СН<sub>2</sub>ОН-группу. Донорные свойства dTDP-*L*-Man в реакции маннозилрования ферментами из *S. anatum*, *S. bredeney*, *S. typhimurium*, *S. senftenberg* проверяли с помощью синтетического производного Gal(α)-PPMpr [13] по сумме реакций:



Как видно из табл. 2, рамнозилтрансфераза из использованных штаммов салмонелл способна переносить остаток *L*-маннозы вместо остатка *L*-рамнозы, а образующееся производное подвергалось далее ферментатив-

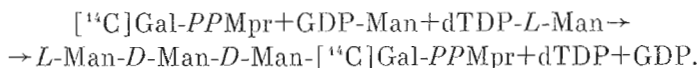
Донорные свойства dTDP-L-Man в сравнении с dTDP-Rha \*

Источник фермента	dTDP-Rha		dTDP-L-Man	
	Концентрация, мМ			
	0,25	0,75	0,25	0,75
<i>S. anatum</i>	6 200	18 000	700	3200
<i>S. newington</i>	7 100	19 200	600	4100
<i>S. senftenberg</i>	9 500	21 100	910	5300
<i>S. bredeney</i>	8 200	24 300	870	4800
<i>S. typhimurium</i>	10 200	28 100	950	5600

\* Приведена радиоактивность органической фазы (имп/мин).

ному маннозилрованию. Донорная эффективность, рассчитанная по образованию трисахаридного производного, при 0,75 мМ концентрации dTDP-L-Man составляла 18–25% от эффективности dTDP-L-Rha. После мягкого кислотного гидролиза полученное радиоактивное соединение анализировали с помощью хроматографии на бумаге в системе А\*. Продукт совпадал по подвижности с биосинтетическим трисахаридом [<sup>14</sup>C] Man-Man-Gal ( $R_{Gal}$  0,35), полученным с ферментами из *S. newport*.

Способность dTDP-L-Man служить субстратом рамнозилтрансферазы из *S. newport* и *S. kentucky* оценивали с использованием радиоактивного синтетического акцептора в реакции



О протекании реакции судили по содержанию радиоактивного вещества в зоне тетрасахарида при хроматографии на бумаге соединения, полученного после отщепления липидного компонента. Наблюдали образование радиоактивного продукта с подвижностью  $R_{Gal}$  0,2, что соответствует ожидаемой подвижности тетрасахарида Man<sub>3</sub>-Gal. Остаток L-Man включается последним, так как в отсутствие GDP-Man обнаруживается радиоактивность только в области галактозы. Как и с ферментами из серогрупп Е и В, эффективность включения остатка L-маннозы составляла 20% от эффективности включения остатка L-рамнозы.

Полученные результаты показывают, что для рамнозилтрансферазы из всех исследованных штаммов салмонелл замена СН<sub>3</sub>-группы при С-5 остатка сахара на СН<sub>2</sub>ОН-группу не лишает нуклеотидсахар донорных свойств, и, следовательно, возможно получение модифицированных олигосахаридных производных моралренола, содержащих остаток L-маннозы вместо остатка L-рамнозы.

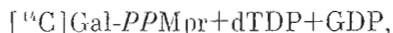
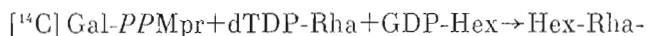
#### АНАЛОГИ GDP-Man

В салмонеллах серогрупп Е и В при сборке повторяющегося звена О-антигена маннозилрованию подвергается остаток рамнозы в дисахаридном предшественнике Rha-Gal-PPPre. В серогруппах С<sub>2</sub> и С<sub>3</sub> в сборке повторяющегося звена участвуют две маннозилтрансферазы: маннозилтрансфераза I маннозилрует остаток галактозы с образованием производного Man(α1-3)Gal-PPPre, которое превращается в диманнозное производное Man(α1-2)Man(α1-3)Gal-PPPre под действием маннозилтрансферазы II.

Специфичность маннозилтрансфераз из салмонелл серогрупп Е и В по отношению к структуре переносимого остатка сахара изучали с помощью аналогов GDP-Man [10, 14], содержащих вместо остатков D-маннозы остатки других гексоз и дезоксигексоз: 2-дезоксид-арабино-гексозы

\* См. «Экспериментальную часть».

(2dMan), 3-дезоксип-*D*-арабино-гексозы (3dMan), *D*-рамнозы (6dMan), *D*-глюкозы и *D*-галакты. Исследования проводили по схеме, аналогичной использованной для dTDP-*L*-Man с ферментами из *S. kentucky*, *S. newport*



где Hex — остаток *D*-маннозы или аналога. Продуктами реакции с аналогами GDP-Man являются морапренилпирофосфаттрисахариды, из которых были получены трисахариды с модифицированными остатками сахаров после отщепления липидного компонента. Эти трисахариды имели несколько различающиеся подвижности при хроматографии на бумаге в системе А (табл. 3). В продуктах кислотного гидролиза олигосахаридов 1 и 7 после восстановления  $\text{NaB}[\text{}^3\text{H}_4]$  и хроматографии в системе А обнаружены полиолы с подвижностью рамнита и дульцита, причем радиоактивность в зоне рамнита почти в 2 раза превышала радиоактивность в области дульцита. Аналогичное распределение радиоактивности обнаружили в случае олигосахаридов 2, 3, 5 и 6, что объясняется, очевидно, тем, что полиолы, образующиеся из рамнозы и дезоксирамнозы, имеют одинаковую подвижность в системе А. Из трисахаридов 4 образовались сорбит, рамнит и дульцит.

Ранее было показано, что GDP-3dMan и GDP-6dMan являются субстратами маннозилтрансферазы из *S. anatum* [15]. Как видно из данных табл. 4, эти производные служат донорами углеводного остатка и в случае маннозилтрансфераз из *S. senftenberg* и *S. typhimurium*. Способны служить субстратами в реакциях биосинтеза и другие аналоги GDP-Man — GDP-Glc и GDP-2dMan. Не наблюдается образования радиоактивного продукта с GDP-Tal.

Для определения конфигурации остатка глюкозы, включающегося вместо остатка маннозы с участием ферментов из *S. anatum*, с использованием UDP- $[^{14}\text{C}] \text{Gal}$  и GDP- $[^{14}\text{C}] \text{Glc}$  получили трисахаридное производное

Таблица 3

Хроматографическая подвижность (система А) олигосахаридных фрагментов, полученных с помощью аналогов GDP-Man

Номер соединения	Структура олигосахаридов	$R_{\text{Gal}}$
1	6dMan-Rha- $[^{14}\text{C}] \text{Gal}$	0,55
2	3dMan-Rha- $[^{14}\text{C}] \text{Gal}$	0,54
3	2dMan-Rha- $[^{14}\text{C}] \text{Gal}$	0,55
4	Glc-Rha- $[^{14}\text{C}] \text{Gal}$	0,45
5	3dMan- $[^{14}\text{C}] \text{Gal}$	0,58
6	3dMan-3dMan- $[^{14}\text{C}] \text{Gal}$	0,48
7	6dMan-6dMan- $[^{14}\text{C}] \text{Gal}$	0,50

Таблица 4

Донорные свойства аналогов GDP-Man в реакциях маннозилрования при биосинтезе О-антигенов сальмонелл \*

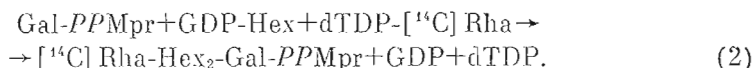
Штамм сальмонеллы	GDP-2dMan	GDP-3dMan	GDP-6dMan	GDP-Glc	GDP-Tal
<i>S. anatum</i>	15	30	48	20	<1
<i>S. senftenberg</i>	13	28	35	21	<1
<i>S. typhimurium</i>	17	26	32	9	<1
<i>S. bredeney</i>	Не исследовались			10	<1
<i>S. newport</i>	Не исследовались		54	73	<1
<i>S. kentucky</i>	»		45	60	<1

\* Приведена относительная эффективность (%), которую рассчитывали как отношение количества радиоактивного продукта маннозилрования с указанным донором к количеству продукта в пробе с GDP-Man.

[<sup>14</sup>C] Glc-Rha-[<sup>14</sup>C] Gal-PPMpr. Трисахаридный фрагмент этого продукта оказался устойчивым к действию α-глюкозидазы, а при обработке β-глюкозидазой превратился в дисахарид Rha-[<sup>14</sup>C] Gal ( $R_{Gal}$  0,95 в системе А). В нормальном трисахариде повторяющегося звена О-гантена *S. anatum* остаток маннозы имеет β-конфигурацию. Следовательно, маннозилтрансфераза катализирует перенос остатка глюкозы с образованием той же конфигурации при С-1, что и в случае природного субстрата.

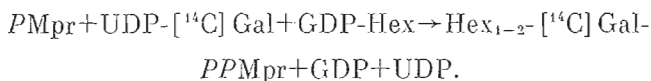
Таким образом, полученные результаты показывают, что для маннозилтрансфераз из изученных штаммов салмонелл правильная конфигурация в положении С-4 в остатке маннозы нуклеотидсахара имеет важное значение, тогда как присутствие ОН-группы у С-3, С-6 и С-2 и конфигурация у С-2 менее существенны.

Донорную специфичность маннозилтрансфераз I и II из *S. newport* и *S. kentucky* изучали с помощью аналогов GDP-Man, содержащих модифицированные остатки гексозы — GDP-3dMan, GDP-6dMan и GDP-Tal. В качестве радиоактивного субстрата применяли dTDP-[<sup>14</sup>C]Rha и за протеканием реакции следили по включению радиоактивности в липидолигосахариды:



Как видно из табл. 5, образование радиоактивного продукта происходило в случае GDP-3dMan и GDP-6dMan, а GDP-Tal не участвовала в реакциях сборки повторяющегося звена. Необходимо отметить, что в указанной системе образование трисахаридного производного отражает кроме донорной специфичности маннозилтрансфераз также акцепторную специфичность маннозилтрансферазы II и рамнозилтрансферазы.

Для идентификации продуктов реакции маннозилтрансфераз аналоги GDP-Man инкубировали с морапренилфосфатом, UDP-[<sup>14</sup>C] Gal и препаратом растворимых гликозилтрансфераз из *S. newport*:



Олигосахаридные фрагменты анализировали также, как с ферментами из серогрупп Е и В (табл. 3).

Полученные результаты дают возможность сказать, что маннозилтрансфераза I из *S. newport* и *S. kentucky* не имеет абсолютной специфичности по отношению к структуре переносимого остатка гексозы. «Правильная» D-конфигурация в положении С-4 остатка маннозы нуклеотидсахара имеет важное значение, а присутствие ОН-группы при С-3 и С-6 менее существенно. Образование трисахаридных производных, содержащих по два остатка дезоксиманнозы (табл. 3), свидетельствует о достаточно широкой специфичности маннозилтрансферазы II к структуре терминального остатка сахара в акцепторе.

Суммируя данные о донорной специфичности гликозилтрансфераз из салмонелл серогрупп Е, В, С<sub>3</sub> и С<sub>2</sub>, можно сказать, что отсутствие абсолютной субстратной специфичности у этих ферментов дает возможность

Таблица 5

Рамнозирование полипренилпирофосфатолигосахаридов, полученных из аналогов GDP-Man, с ферментами из *S. newport* и *S. kentucky* (реакция 2) \*

GDP-Hex (нмоль)	<i>S. newport</i>	<i>S. kentucky</i>
GDP-Man (25)	3200	4000
GDP-3dMan (50)	1800	1700
GDP-6dMan (50)	2400	2600
GDP-Tal (50)	300	200

\* Приведена радиоактивность органической фазы (имп/мин).



введения модифицированных остатков моносахаридов в состав полипре-  
 нилпирофосфатолигосахаридов, исходя из нуклеозиддифосфатсахаров.  
 Значительный интерес представляет также вопрос о том, может ли быть  
 использован далее этот подход для получения модифицированных полиса-  
 харидов, или узкая специфичность полимеразы не позволит вводить в  
 реакции полимеризации полипренилпирофосфатолигосахариды, содержа-  
 щие измененные моносахаридные остатки.

### Ферментативная полимеризация модифицированных олигосахаридных фрагментов

В качестве источников полимераз были использованы мембранные  
 препараты из соответствующих штаммов салмонелл. Липидолигосахари-  
 ды инкубировали с мембранными препаратами и продукты реакции ана-  
 лизировали с помощью хроматографии на бумаге в системе В (рис. 1) или  
 после выделения углеводного фрагмента — гель-фильтрацией на сефадексе  
 G-15 (рис. 2). Отношение суммарного количества всех продуктов полиме-  
 ризации, включая продукт со степенью полимеризации 2, к количеству  
 исходного три- или тетрасахаридного субстрата служило мерой протека-  
 ния ферментативной полимеризации.

Как видно из табл. 6, полимеразы не обладают абсолютной специфич-  
 ностью к структуре олигосахаридного повторяющегося звена, но выход поли-  
 мерных продуктов с модифицированными остатками моносахаридов ниже,  
 чем с природным субстратом. Не наблюдали образования полимерных  
 продуктов в том случае, когда модификация затрагивает группы, непосред-  
 ственно участвующие в образовании новой связи при полимеризации:  
 при замене остатка *D*-маннозы на остаток *D*-глюкозы в случае *S. typhimu-  
 rium*, где в полисахариде имеется связь Gal( $\alpha$ 1-2)Man, и когда *D*-рамноза  
 присутствует вместо *D*-маннозы в случае *S. anatum*, где должна образо-  
 ваться связь Gal( $\alpha$ 1-6)Man. Для полимера, содержащего остаток *D*-глю-  
 козы вместо остатка *D*-маннозы, полученного с ферментом из *S. anatum*,  
 были определены степень полимеризации и конфигурация при C-1 остат-  
 ка глюкозы. По данным хроматографии на бумаге в системе Б, получен-  
 ный продукт имел степень полимеризации больше 3 (подвижность  $(R_{Gal})$   
 Man-Rha-Gal равна 0,74 димера — 0,31, тримера — 0,08, полимера — 0,03).

Для более точного определения степени полимеризации в реакцию  
 полимеризации вводили трисахаридное производное, содержащее радиоак-  
 тивные остатки галактозы и глюкозы, полученные с препаратом раствори-

Таблица 6

Ферментативная полимеризация модифицированных  
 полипренилпирофосфатолигосахаридов с использованием мембранных препаратов  
 различных штаммов салмонелл

Субстрат полимеразы, R=PPMpr	Выход полимера, %		
	<i>S. anatum</i>	<i>S. senftenberg</i>	<i>S. typhimurium</i>
$[^{14}C]$ Man-Rha-Gal-R	90	90	90
Glc- $[^{14}C]$ Rha-Gal-R	23	4	<1
3dMan-Rha- $[^{14}C]$ Gal-R	15	Не исследо- вался	12
6dMan $[^{14}C]$ Rha-Gal-R	<1	»	13
$[^{14}C]$ Man-L-Man-Gal-R	60	»	
	<i>S. newport</i>	<i>S. kentucky</i>	
Rha-3dMan-3dMan- $[^{14}C]$ Gal-R	60	60	
Rha-6dMan-6dMan- $[^{14}C]$ Gal-R	35	30	
L-Man-Man-Man- $(^{14}C)$ Gal-R	25	25	

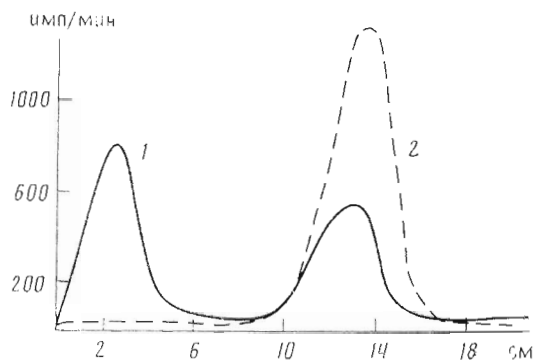


Рис. 1. Распределение радиоактивности при хроматографии на бумаге в системе В продукта полимеризации  $L$ -Ман- $D$ -Ман<sub>2</sub>- $[^{14}\text{C}]$ Gal-PPMpr с использованием фермента из *S. newport* (1); 2 — подвижность исходного производного

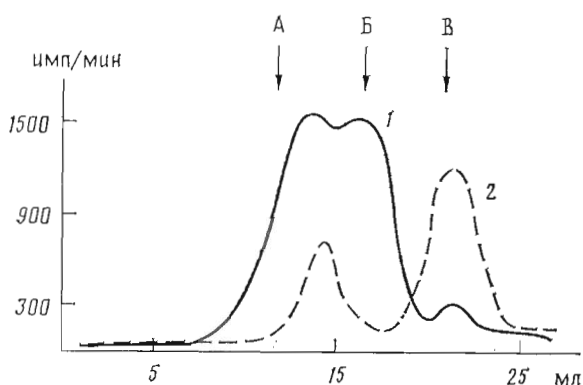
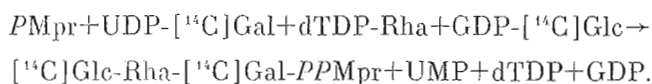


Рис. 2. Распределение радиоактивности при гель-хроматографии на сефадексе G-15 углеводных фрагментов продуктов полимеризации  $[^{14}\text{C}]$ Ман-Rha-Gal-PPMpr (1) и  $[^{14}\text{C}]$ Glc-Rha-Gal-PPMpr (2) в присутствии фермента из *S. anatum*. Стрелками указаны объемы выхода стандартов: А — голубой декстран, Б — гексасахарид (Ман-Rha-Gal)<sub>2</sub>, В — рафффиноза

мых гликозилтрансфераз по реакции



Полимерная фракция, выделенная при гель-хроматографии (12–15 мл, рис. 2), была подвергнута обработке  $\text{NaNH}_4$  с последующим кислотным гидролизом (2 н.  $\text{HCl}$ ,  $100^\circ\text{C}$ , 4 ч). Соотношение  $[^{14}\text{C}]$ галактоза —  $[^{14}\text{C}]$ дульцит оказалось равным 5, что соответствует полимеру, построенному из шести повторяющихся звеньев. Для определения конфигурации при С-1 остатка галактозы полимер подвергали частичному кислотному гидролизу для получения трисахаридного фрагмента  $[^{14}\text{C}]\text{Gal-}[^{14}\text{C}]\text{Glc-Rha}$  и далее выделенный с помощью хроматографии на сефадексе G-15 трисахарид обрабатывали  $\alpha$ - и  $\beta$ -галактозидазами. Как и следовало ожидать, галактоза в полисахариде имела  $\alpha$ -конфигурацию, так как после обработки  $\alpha$ -галактозидазой кроме галактозы обнаружен радиоактивный продукт в зоне дисахарида  $[^{14}\text{C}]\text{Glc-Rha}$ ,  $R_{\text{Gal}} 1,1$  (система А), а в случае  $\beta$ -галактозидазы трисахарид остался неизменным ( $R_{\text{Gal}} 0,45$ ).

Приведенные данные показывают, что полимеразы из изученных штаммов салмонелл не обладают абсолютной специфичностью по отношению к структуре липидолигосахаридов и демонстрируют возможность химико-ферментативного синтеза полимеров, содержащих модифицированные остатки сахаров.

## Экспериментальная часть

В работе использовали культуры штаммов *S. anatum* (O: 3,10; H: e, h, 1,6), *S. newington* (O: 3,15; H: e, h, 1,6), *S. senftenberg* (O: 1, 13, 19; H: g[s]t), *S. newport* (O: 6,8; H: e, h, 1,2), *S. kentucky* (O: 8; H: 1, Z<sub>6</sub>), *S. bredeney* (O: 1,4, 12,27; H: lv 1,7), *S. typhimurium* (O: 1, 4, 5, 12; H: i 2), полученные из музея Государственного института контроля и стандартизации медицинских и биологических препаратов им. Л. А. Тарасевича. Выращивание штаммов, получение мембран, растворимых гликозилтрансфераз, определение радиоактивных веществ проводили как описано ранее [11]. Использовали нуклеотидсахара GDP-Man (Calbiochem, США), UDP-[<sup>14</sup>C]Gal, GDP-[<sup>14</sup>C]Glc, GDP-[<sup>14</sup>C]Man (Amersham, Англия), dTDP-Rha и dTDP-[<sup>14</sup>C]Rha получали биосинтетически как описано [16]. Для хроматографии на бумаге Whatman 1 использовали системы *n*-бутанол – пиридин – вода, 6:4:3 (А), 4:6:3 (Б) и этанол – 1 М ацетат аммония (рН 7,5), 7:3 (В). Гель-фильтрацию полисахаридов проводили на колонке (34×15 см) с сефадексом G-15 в воде. Использовали α-глюкозидазу из конских бобов (Sigma, США), β-глюкозидазу из сладкого миндаля (Serva, ФРГ), α-галактозидазу из кофейных зерен, β-галактозидазу из *E. coli* (Boehringer, ФРГ). Определение степени полимеризации проводили как в работе [2]. Общая методика проведения ферментативного гликозилирования и полимеризации описана в работах [4, 17].

## ЛИТЕРАТУРА

1. Дружинина Т. Н., Гоголашвили Л. М., Сизова О. В., Шibaев В. Н. // Биоорган. химия. 1986. Т. 12. № 12. С. 1589–1596.
2. Дружинина Т. Н., Шibaев В. Н., Кочетков Н. К., Рожнова С. Ш., Килессо В. А. // Биоорган. химия. 1984. Т. 10. № 11. С. 1548–1552.
3. Торгов В. И., Дружинина Т. Н., Нечаев О. А., Шibaев В. Н. // Биоорган. химия. 1987. Т. 13. № 7. С. 947–957.
4. Кочетков Н. К., Шibaев В. Н., Дружинина Т. Н., Гоголашвили Л. М., Данилов Л. Л., Торгов В. И., Мальцев С. Д., Уткина Н. С. // Докл. АН СССР. 1982. Т. 262. № 6. С. 1393–1397.
5. Nikaido H. // Bacterial membranes and walls/Ed. Lieve L. N. Y.: Decker, 1973. P. 131–208.
6. Osborn M. J., Cynkin M. A., Müller G. J., Singh M. // Meth. Enzymol., Complex Carbohydrates. Part B. V. 288/Eds Colowick S. P., Kaplan N. O. N. Y.—L.: Acad. Press, 1972. P. 583–601.
7. Shibaev V. N., Druzhinina T. N., Popova A. N., Rozhnova S. Sh., Killesso V. A. // Eur. J. Biochem. 1979. V. 101. № 2. P. 309–316.
8. Шibaев В. Н. // Успехи биол. химии. 1982. Т. 23. С. 61–101.
9. Shibaev V. N., Danilov L. L., Druzhinina T. N., Gogilashvili L. M., Maltsev S. D., Kochetkov N. K. // FEBS Lett. 1982. V. 139. № 2. P. 177–180.
10. Шibaев В. Н., Елисеева Г. И., Краевская М. А., Кочетков Н. К. // Биоорган. химия. 1981. Т. 7. № 3. С. 376–380.
11. Шibaев В. Н., Кусов Ю. Ю., Дружинина Т. Н., Калинин Н. А., Кочетков Н. К., Килессо В. А., Рожнова С. Ш. // Биоорган. химия. 1978. Т. 4. № 1. С. 47–56.
12. Шibaев В. Н., Кусов Ю. Ю., Петренко В. А., Кочетков Н. К. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1976. № 11. С. 2587–2591.
13. Данилов Л. Л., Дружинина Т. Н., Шibaев В. Н., Кочетков Н. К. // Биоорган. химия. 1980. Т. 6. № 3. С. 468–470.
14. Kučar S., Zamocký J., Zemek J., Bauer S. // Chem. Zvěsti. 1978. V. 32. № 3. S. 414–419.
15. Шibaев В. Н., Дружинина Т. Н., Кочетков Н. К., Кучар Ш., Бауэр Ш. // Биоорган. химия. 1978. Т. 4. № 3. С. 410–414.
16. Шibaев В. Н., Кусов Ю. Ю., Петренко В. А., Дружинина Т. Н., Кочетков Н. К. // Биоорган. химия. 1978. Т. 4. № 2. С. 249–256.
17. Дружинина Т. Н., Гоголашвили Л. М., Елисеева Г. И., Шibaев В. Н. // Биоорган. химия. 1986. Т. 12. № 9. С. 1181–1184.

Поступила в редакцию 1.IV.1988

## THE INCORPORATION OF MODIFIED HEXOSYL RESIDUES INTO THE *Salmonella* serogroups E, B, C<sub>2</sub> AND C<sub>3</sub> O-SPECIFIC POLYSACCHARIDES USING SYNTHETIC NUCLEOTIDE SUGARS

DRUZHININA T. N., GOGILASHVILI L. M., SHIBAEV V. N.

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

A series of synthetic nucleotide sugars have been studied as monosaccharide donors in the biosynthetic assembly of the O-antigen repeating units of *Salmonella* serogroups E, B, C<sub>2</sub> and C<sub>3</sub>. UDP-Tal did not serve as a substrate of galactosyl phosphate transferase, and GDP-Tal did not substitute GDP-Man in mannosyltransferase reactions. dTDP-L-Man proved to be a substrate of rhamnosyl transferases; GDP-2dMan, GDP-3dMan, GDP-D-Rha and GDP-Glc served as substrates for mannosyltransferases. The modified tri- and tetrasaccharide derivatives can be converted into the modified O-specific polysaccharides after incubation with *Salmonella* membranes.