



УДК 577.152.321\*6.02

ИССЛЕДОВАНИЕ ТРАНСГЛИКОЗИЛИРУЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ  
ЭНДО-1,3-β-ГЛЮКАНАЗ  
V. СПЕЦИФИЧНОСТЬ РЕАКЦИИ ТРАНСГЛИКОЗИЛИРОВАНИЯ,  
КАТАЛИЗИРУЕМОЙ ЭНДО-1,3-β-ГЛЮКАНАЗОЙ  $L_0$   
ИЗ *CHLAMYS ALBIDUS*, С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ В КАЧЕСТВЕ  
АКЦЕПТОРА ГЛИЦЕРИНА

Безукладников П. В., Елякова Л. А., Миргородская О. А.\*

Тихоокеанский институт биоорганической химии Дальневосточного отделения  
Академии наук СССР, Владивосток;

\* Научно-техническое объединение Академии наук СССР,  
Ленинград

Изучено протекание реакции деградации 1,3(1,6)-β-глюкана и образование различных монозамещенных производных глицерина при действии эндо-1,3-β-глюканазы  $L_0$  из морского моллюска *Chlamys albidus* на водный раствор смеси ламинарин — глицерин. Показано, что наличие глицерина в реакционной смеси увеличивает число оборотов фермента по сравнению с гидролитической реакцией. Продуктами реакции трансгликозилирования являются глицерилолигозиды, содержащие различное число глюкозных остатков. С помощью периодатного окисления выделенных фракций глицерилолигозидов и анализа полученных продуктов методом масс-спектрометрии ЭРИАД установлено, что во фракциях содержатся олигозиды, связанные с остатком глицерина через его как α-, так и β-гидроксильную группу.

Способность к переносу остатков субстрата на разнообразные гидроксил-содержащие акцепторы — одна из наиболее любопытных особенностей действия гидролитических ферментов на поли- и олигосахариды в растворе. Если перенос является лимитирующей стадией ферментативной реакции, то добавление в реакционную смесь акцептора, более специфичного, чем вода, может увеличивать число оборотов фермента по сравнению с гидролитической реакцией.

Как было показано ранее [1, 2], эндо-1,3-β-глюканаза  $L_0$  (КФ 3.2.1.6) из *Chlamys albidus* катализирует реакцию трансгликозилирования, когда субстратом является 1,3(1,6)-β-глюкан — ламинарин, а акцепторами глюкозных остатков — арилглюкозиды. При этом в присутствии акцептора возрастает число оборотов фермента, а среди продуктов переноса существуют олигозиды, содержащие β-1,4-связь [4].

Нами было показано [5], что эндо-1,3-β-глюканазы из морских моллюсков способны также катализировать перенос остатков субстрата на метанол, этанол и глицерин.

В настоящей работе изучены протекание реакции деградации ламинарина в водно-глицериновом растворе при действии  $L_0$  и структура синтезированных de novo соединений.

Хроматографический анализ продуктов реакции показал (рис. 1), что в присутствии глицерина возрастает скорость ферментативной деградации ламинарина, оцениваемая при данном времени реакции по уменьшению доли площади пика высокомолекулярной фракции, выходящей со свободным объемом при гель-фильтрации на колонке с биогелем Р-2, от суммарной площади всех пиков на хроматограмме. Одновременно наличие глицерина в реакционной смеси приводит к уменьшению скорости образования восстанавливающих сахаров — продуктов гидролиза. Так, если в отсутствие глицерина глубина гидролиза, определенная как отношение (%)

Сообщения I–IV см. [1–4]. Предварительное сообщение см. [5].

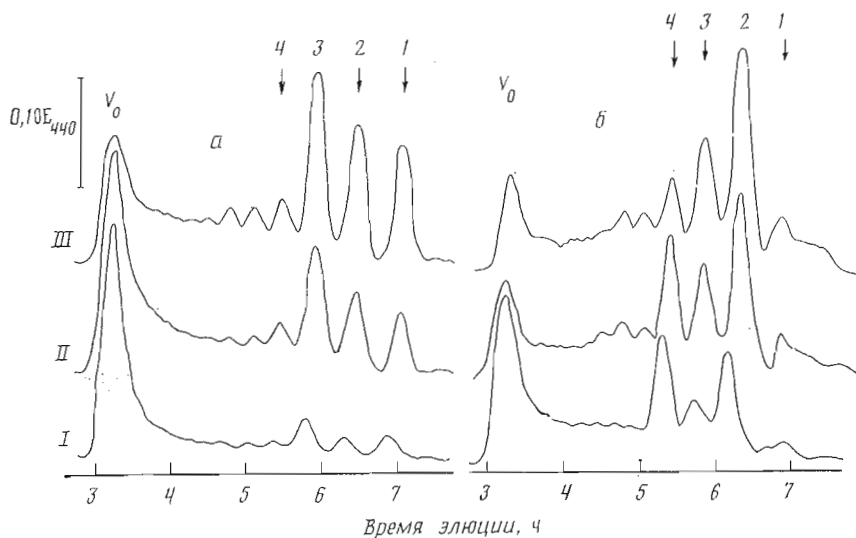


Рис. 1. Гель-фильтрация на колонке с биогелем Р-2 продуктов ферментативной трансформации ламинарина (а) и ламинарина в присутствии 10% глицерина (б). Профиль элюции по данным орцип-сервокислотного метода [1]. Пики 1-4... соответствуют местам выхода глюкозы, биозы, триозы, тетраозы и т. д.  $V_0$  — свободный объем. Время реакции 20 (I), 50 (II), 90 мин (III)

числа восстанавливающих сахаров к общему количеству глюкозных остатков в пробе, через 20, 50 и 90 мин реакции составила 6, 11 и 17% соответственно, то в его присутствии — 2,6; 3,8 и 5%.

Существенным образом при добавлении глицерина меняется картина распределения низкомолекулярных продуктов. В начале реакции при уменьшении пика 1 (глюкозы) в сравнении с контролем наблюдается преимущественное возрастание пиков 2 и 4 (рис. 1б). Далее основной продукт накапливается в пике 2.

Таким образом, одновременное увеличение общей скорости ферментативной реакции и уменьшение количества продуктов гидролиза позволяет предположить, что глицерин выступает акцептором в реакции трансглицозилирования, катализируемой глюкоканазой  $L_0$ . Увеличение числа оборотов  $L_0$ , наблюдаемое при добавлении паранитрофенилглюкозида [2] и глицерина, видимо, свидетельствует о том, что скоростьюлимитирующей стадией ферментативной реакции является присоединение акцептора.

Если акцепторную специфичность глицерина ( $Gro$ )  $K_{Gro}^{OTH}$  определить аналогично [6] как

$$K_{Gro}^{OTH} = \frac{v_T}{v_r} \frac{[H_2O]}{Gro},$$

где  $v_T$  и  $v_r$  — скорости реакции трансглицозилирования и гидролиза,  $[H_2O]$  и  $[Gro]$  — концентрация воды и глицерина в реакционной смеси, то при вычислении в реакции с  $^{14}C$ -глицерином (см. «Экспериментальную часть») получаем  $K_{Gro}^{OTH} = (0,5 \pm 0,3) \cdot 10^2$ .

Для установления причины резкого изменения картины распределения низкомолекулярных продуктов, в частности заметного увеличения пиков 2 и 4 (рис. 1б), вещества, составляющие эти пики, были выделены и проанализированы методом масс-спектрометрии ЭРМАД\* [7]. Из двух фракций, на которые разделился при хроматографии пик 4, для дальнейшего анализа использовалась фракция, граничившая с пиком 5.

Какующаяся степень полимеризации, определенная как отношение в пике содержания сахара (как глюкозный эквивалент) к их восстанавливающей способности, для пика 2 была равна 26, а для выделенной фракции пика 4 составляла 170. Такая большая разница между реальной сред-

\* Экстракция растворенных ионов при атмосферном давлении.

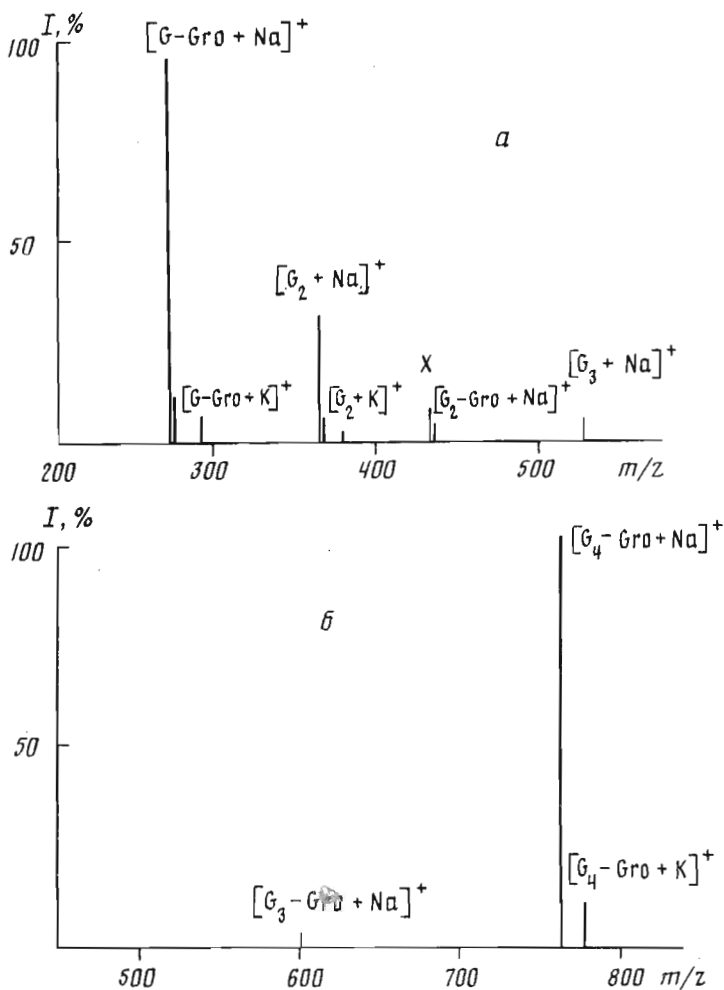


Рис. 2. Масс-спектр продуктов ферментативной деградации ламинарина в 10% глицерине: *a* – фракция 2, *б* – фракция 4.  $G_2$  и  $G_3$  – ламинарибиоза и -триоза;  $G-Gro$ ,  $G_2-Gro$  и  $G_4-Gro$  – глюкозилглицерин, ламинарибиозилглицерин и ламинаритетраозилглицерин. X – неидентифицированный пик

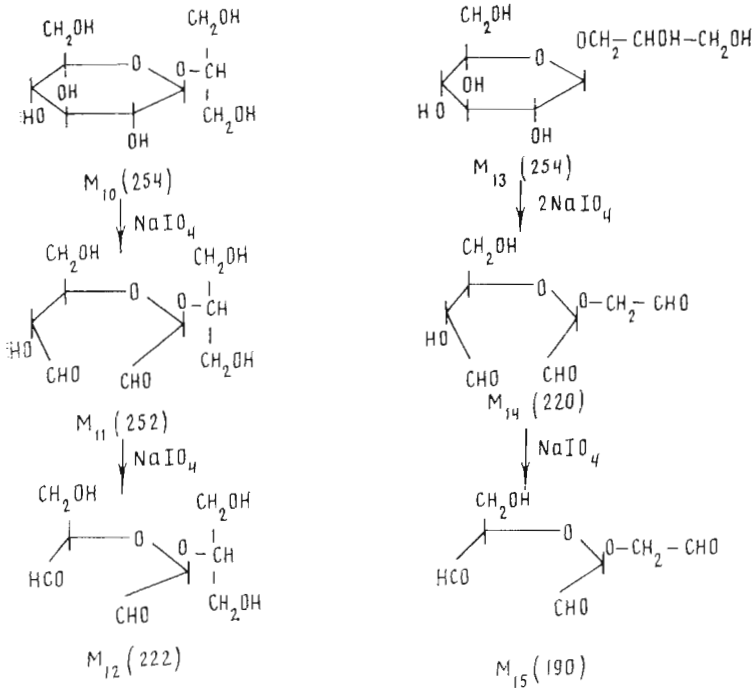
ней степенью полимеризации олигозидов, значение которой не должно сильно отличаться от номера пика, и полученной кажущейся свидетельствует о высоком содержании невосстанавливающих ламинариолигозилглицеринов при больших глубинах реакции и требует более глубокого изучения кинетики реакции.

Результаты масс-спектрометрического анализа представлены на рис. 2*a* и *б*.

Как было показано в работах [7, 8], метод масс-спектрометрии ЭРИАД позволяет регистрировать нейтральные углеводы в виде их квазимолекулярных ионов с катионами щелочных металлов. Пики фрагментных ионов с  $m/z > 200$  почти не наблюдаются в масс-спектре. Таким образом, из полученных результатов следует, что в пик 2 основной вклад дает глюкозилглицерин ( $G-Gro$ ), который в масс-спектре присутствует в виде квазимолекулярного иона с  $Na^+$  и  $K^+$ .

В меньших количествах присутствует ламинарибиоза ( $G_2$ ) и в качестве примесей ламинарибиозилглицерин ( $G_2-Gro$ ) и ламинаритриоза ( $G_3$ ). Основной компонент фракции 4 – ламинаритетраозилглицерин ( $G_4-Gro$ ), что подтверждает вывод о преимущественном накоплении гликозилглицеринов на поздних стадиях реакции.

Имеющиеся данные позволяют предположить объяснение изменения картины распределения низкомолекулярных продуктов ферментативной



Периодатное окисление  $\beta$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-глицерина ( $M_{10}$ ) и  $\beta$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 1)-глицерина ( $M_{13}$ )

реакции наряду с возможным изменением специфичности действия  $L_0$  на ламинарин в 10% (по объему) водном глицерине. Заметное уменьшение скорости накопления глюкозы по сравнению с контрольной реакцией по абсолютной величине (данные не приведены), а также уменьшение ее пика на хроматограмме по сравнению с пиками 2–4 (рис. 1) связано с преимущественным образованием вместо глюкозы глюкозилглицерина. Глюкозилглицерин вместе с ламинарибиозой и частично ламинарибиозилглицерином образует пик 2. В результате без изменения специфичности фермента (например, увеличения вероятности отщепления димера и тетрамера) пик глюкозы должен быть меньше в 4–5 раз пика 2 при данной концентрации глицерина.

В действительности разница примерно в 2 раза больше, т. е. глицерин меньше влияет на выход ламинарибиозы, чем на выход глюкозы.

Относительный рост пика 4 объясняется не только вкладом в него триозилглицерина, но и с попаданием в его состав вследствие особенностей деления на биогеле Р-2 заметно большей части тетраозилглицерина, чем в пик 2 — биозилглицерина (см. рис. 2а, б).

В связи с возможным образованием двух типов глицерилолигозидов в результате переноса остатка субстрата в разные положения в глицерине, глюкозилглицерин и ламинаритетраозилглицерин, выделенные из фракций 2 и 4, для установления строения были подвергнуты периодатному окислению и продукты окисления проанализированы с помощью масс-спектрометрии ЭРИАД.

На схеме 1 представлены возможные продукты окисления двух типов глюкозилглицерина и в скобках значения их молекулярных масс. Поскольку альдегидные группы в окисленных соединениях способны обратимо реагировать с водой и спиртом [9, 10], для каждой из окисленных форм возможно образование дополнительных продуктов, что продемонстрировано на схеме 2. Продукты, образуемые в результате присоединения молекул растворителя, характеризуются массами, увеличенными на массу присоединенного растворителя, и для других исходных окисленных форм будут далее иметь обозначения, аналогичные продуктам на схеме 2.

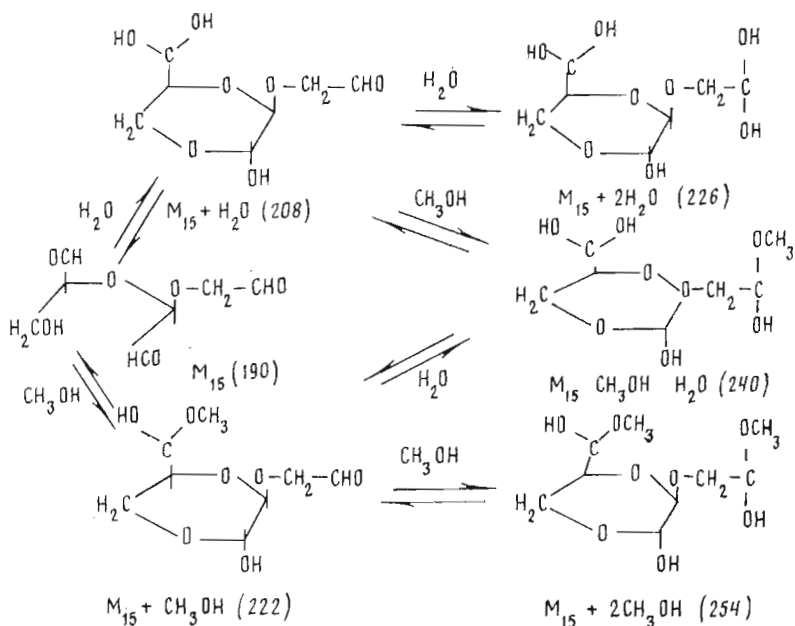


Схема 2. Продукты взаимодействия  $M_{15}$  с растворителем

Из схемы 1 видно, что продукты окисления двух изомерных глюкозил-глицеринов различаются на группу  $CH_2O$ . В стандартном варианте метода регистрации углеводов МС ЭРИАД [7] в качестве растворителя применяется водный метанол и нельзя отличить, например,  $M_{12}^*$  от  $M_{15} + CH_3OH$ ,  $M_{11}$  от  $M_{14} + CH_3OH$  и т. п. Чтобы устранить возникшую неоднозначность, для дальнейших анализов продуктов окисления в качестве растворителя использовался водный этанол. Результаты масс-спектрометрической детекции для окисленной фракции 2 в разных растворителях в соответствии с обозначениями на схемах 1 и 2 представлены в табл. 1 и 2. Детекция проводилась в диапазоне массовых чисел 200–400 а. е. м., учитывались пики с интенсивностью ( $I$ ) более 3%.

Оказалось (табл. 1, 2), что основными продуктами реакции являются соединения  $M_{15}$  и  $M_{12}$ , представленные в спектре несколькими формами. Об этом однозначно свидетельствует наличие пиков с  $m/z$  245, 263 и 291 для  $M_{12}$  и 259 и 305 для  $M_{15}$ . Хотя масс-спектрометрический метод не позволяет осуществлять строго количественные измерения, но, поскольку соединения близки по массам и имеют сходное строение, можно провести оценку соотношения между двумя формами присоединения глицерина к глюкозе. Такую оценку целесообразнее проводить по результатам масс-спектрометрической детекции из растворителя, где мы имеем минимальное перекрытие масс. Кроме того, из сравнения табл. 1 и 2 следует, что исходные формы соединений практически отсутствуют и линии в спектре с  $m/z$  277 могут быть отнесены к соответствующим окисленным формам. С учетом таких допущений отношение во фракции 2 продуктов присоединения к С-1 в глицерине будет в 1,5–2 раза больше, чем продуктов, присоединенных к С-2, что примерно соответствует большей концентрации НО-групп в положении 1 и, по-видимому, указывает в данном случае на незначительную специфичность фермента по отношению к этим гидроксилам акцептора. Отметим также, что в спектрах присутствует ряд неидентифицированных линий, которые в таблицах обозначены знаками X.

Аналогичным образом была окислена периодатом и проанализирована масс-спектрометрически фракция 4 (табл. 3). Следует отметить, что у ламинаритетраозилглицерина окислению будет подвергаться только остаток глюкозы, находящийся на псевдосоставляющем конце, давая продук-

\* Первая цифра нижнего индекса соответствует числу глюкозидных звеньев в соединении, вторая – номеру соединения в схеме.

**Результаты масс-спектрометрической детекции в водно-метанольной смеси  
продуктов периодатного окисления фракции 2**

Номер пика	$m/z$	I, %	Регистрируемые соединения в виде ионов *	
			[M+Na] <sup>+</sup>	[M+K] <sup>+</sup>
1	221	14	X <sub>1</sub> M <sub>12</sub> , M <sub>15</sub> +CH <sub>3</sub> OH M <sub>12</sub> +H <sub>2</sub> O, M <sub>15</sub> +CH <sub>3</sub> OH+H <sub>2</sub> O M <sub>11</sub> , M <sub>14</sub> +CH <sub>3</sub> OH M <sub>10</sub> , M <sub>13</sub> , M <sub>12</sub> +CH <sub>3</sub> OH, M <sub>15</sub> +2CH <sub>3</sub> OH M <sub>14</sub> +H <sub>2</sub> O	X <sub>1</sub>
2	237	4		
3	245	10		
4	263	33		
5	275	6		
6	277	100		
7	279	4		
8	291	4		
9	293	15		
10	307	5		

\* X<sub>1</sub> — неидентифицированный пик; M<sub>11</sub> и M<sub>12</sub> — продукты окисления β-D-гликопиранозил-(1→2)-глицерина, M<sub>14</sub> и M<sub>15</sub> — продукты окисления β-D-гликопиранозил-(1→1)-глицерина.

Таблица 2

**Результаты масс-спектрометрической детекции в водно-этанольной смеси  
продуктов периодатного окисления фракции 2**

Номер пика	$m/z$	I, %	Регистрируемые соединения в виде ионов *	
			[M+Na] <sup>+</sup>	[M+K] <sup>+</sup>
1	221	46	X <sub>1</sub> M <sub>12</sub> M <sub>15</sub> +C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH M <sub>12</sub> +H <sub>2</sub> O M <sub>10</sub> , M <sub>13</sub> , M <sub>15</sub> +C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH+H <sub>2</sub> O M <sub>14</sub> +C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH M <sub>12</sub> +C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH M <sub>15</sub> +2C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH M <sub>11</sub> +C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH X <sub>2</sub> M <sub>14</sub> +2C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH X <sub>3</sub>	X <sub>1</sub>
2	237	4		
3	245	9		
4	259	6		
5	263	4		
6	277	30		
7	289	3		
8	291	88		
9	305	100		
10	321	24		
11	333	12		
12	335	18		
13	351	3		
14	363	4		
15	365	4		

\* X<sub>1</sub>—X<sub>3</sub> — неидентифицированные пики.

ты такие же, как для глюкозилглицерина, представленные на схемах 1 и 2, но имеющие дополнительно три звена глюкозы.

В этом случае массовые числа квазимолекулярных ионов продуктов будут увеличены на 486 по сравнению с глюкозилглицеринами. Используя обозначения, предложенные в схемах 1 и 2, и заменяя индекс 1, соответствующий исходному содержанию звеньев глюкозы, на 4, рассмотрим результаты масс-спектрометрической детекции продуктов окисления в водно-этанольной смеси. Видно, что и для тетраозилглицерина наблюдается образование продуктов двух типов присоединения к глицерину, причем примерно с тем же соотношением, что и для глюкозилглицерина, как и следовало ожидать, поскольку эти соединения — одни из предшественников глюкозилглицерина.

Характерными пиками для идентификации в этом случае являются пики с  $m/z$  777 для M<sub>42</sub> и  $m/z$  791 для M<sub>45</sub>.

Результаты масс-спектрометрического анализа из водно-этанольной смеси продуктов периодатного окисления фракции 4

Номер пика	$m/z$	$I, \%$	Регистрируемые соединения в виде ионов	
			$[M+Na]^+$	$[M+K]^+$
1	731	11	$M_{42}$	
2	745	14	$M_{45}+C_2H_5OH$	
3	761	18		$M_{15}+C_2H_5OH$
4	763	73	$M_{45}+C_2H_5OH+H_2O, M_{50}, M_{43}$	
5	777	100	$M_{42}+C_2H_5OH$	
6	779	23	$M_{41}+H_2O$	$M_{15}+C_2H_5OH+H_2O, M_{50}, M_{43}$
7	791	90	$M_{45}+2C_2H_5OH$	
8	793	60	$M_{44}+C_2H_5OH+H_2O$	$M_{42}+C_2H_5OH$
9	807	60	$M_{41}+C_2H_5OH$	
10	821	6	$M_{41}+2C_2H_5OH$	

Аналогичные выводы о структуре исходных глицеринсодержащих соединений (данные не приведены) вытекают из масс-спектрометрического анализа продуктов восстановления боргидридом натрия окисленных фракций.

Таким образом, эндо-1,3-β-глюкапаза  $L_0$  катализирует при деградации ламинарина в водном глицерине трансгликозилирование как на α-, так и на β-гидроксил глицерина. Продукты переноса на α-гидроксил преобладают в реакционной смеси.

### Экспериментальная часть

Эндо-1,3-β-глюкапазу  $L_0$  выделяли из кристаллического стебелька *Chlamydomonas albidus* по методу [11]. Ламинарин получали из *Laminaria cichorioides* по методу [12]. [ $^{14}C$ ]Глицерин — препарат фирмы Amersham с удельной радиоактивностью 1200 Бк/нмоль = 72 000 расп/(мин·нмоль). Остальные реактивы были марки х. ч.

Реакционные смеси содержали 8 мг/мл ламинарина, 10% по объему глицерина (1,35 М) и 0,02 ед. акт./мл  $L_0$  в 0,02 М натрий-ацетатном буфере (рН 5,2) с 0,1 М NaCl. В контрольной реакции вместо глицерина добавляли буфер. Реакцию проводили при 25°С. Через определенные интервалы времени отбирали пробы и останавливали реакцию в них кипячением. В пробах определяли содержание восстанавливающих сахаров — продуктов гидролиза методом Нельсона [13] и глюкозы — глюкозооксидазным методом [14]. Жидкостную хроматографию проводили на колонке с биогеом Р-2 (−400 меш, 0,6×100 см, 55°С, скорость элюции 4 мл/ч, элюент — 0,2 М натрий-ацетатный буфер, рН 5,2) углеводного анализатора Jeol JLC-6АН [1].

Для прямого определения  $v_T$  к 20 мкл реакционной смеси, содержащей 750 нмоль [ $^{14}C$ ]глицерина, добавляли 5 мкл фермента и аликвоты по 4 мкл изымали через определенные интервалы времени и наносили с быстрым высущиванием на старт хроматограммы (бумага Whatman 3). Делали три восходящих прогона на 10, 15 и 25 см в системе *n*-бутанол — пиридин — вода, 6 : 4 : 3 ( $R_f^{Gro} = 0,68, R_f^{Glc} = 0,44$ ). Радиоактивность обнаруживали с помощью автордиографии. Радиоактивность измеряли сначала с помощью газоразрядного сканера Berthold LB 2722-2 (Австрия), затем, вырезав участки с меткой по автордиограмме, — на счетчике Mark III в толуольном сцинтилляторе. Оба метода дали согласующиеся результаты. В контрольной реакционной смеси, не содержащей радиоактивности, через те же интервалы времени определяли содержание восстанавливающих сахаров. Для определения  $K_{Gro}^{OTH}$  в качестве  $v_T/v_c$  использовалось определенное для каждой аликвоты отношение [радиоактивность продуктов реакции (расп/мин)]/(72 000 расп·мин<sup>−1</sup>·нмоль<sup>−1</sup>)·(количество восстанавливающих сахаров [нмоль]).

Препаративное выделение веществ, образующих пики 2 и 4 при жидкостной хроматографии (см. рис. 1), проводилось на колонке с биогедемом Р-2 (—400 меш, 2×120 см, 55° С, элюент — вода, скорость элюции 14 мл/ч), загрузка 10 мл реакционной смеси (2 ч реакции), собирались фракции по 3,5 мл. Колонку тестировали фенолсерноокислотным методом [15]. Фракции, соответствующие пикам 2 и 4, были упарены и рехроматографированы дважды в тех же условиях, причем для второй рехроматографии была взята более высокомолекулярная часть пика 4. Масс-спектры ЭРИАД были сняты так, как описано в работе [7]. Каждый спектр записывался не менее 3 раз.

Окисление проводили в водном растворе 3-кратным (моль/моль) избытком  $\text{NaIO}_4$  при 20° С параллельно на свету и в темноте. Масс-спектры и тех и других реакционных смесей были записаны через 1,5; 6 ч и 1 сут после добавления периодата. Принципиальных различий между масс-спектрами не было обнаружено. Восстановление проводили в водном растворе 3-кратным избытком боргидрида натрия после пропускания смеси, содержащей полиальдегид, через анионообменную смолу IRA-400 (Serva) в  $\text{CH}_2\text{COO}^-$ -форме. Масс-спектры реакционной смеси до пропускания через анионообменник и после в основном совпадали.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Назарова Н. И., Елякова Л. А. // Биоорг. химия. 1982. Т. 8. № 9. С. 1189—1196.
2. Звягинцева Т. Н., Назарова Н. И., Елякова Л. А. // Биоорг. химия. 1984. Т. 10. № 10. С. 1342—1346.
3. Звягинцева Т. Н., Евтушенко Е. В., Елякова Л. А. // Биоорг. химия. 1989. Т. 15. № 9. С. 1206—1214.
4. Назарова Н. И., Елякова Л. А. // Биоорг. химия. 1989. Т. 15. № 9. С. 1215—1223.
5. Безукладников П. В., Шевченко Н. М., Елякова Л. А., Миргородская О. А. // VI Всесоюз. симпоз. по инженерной энзимологии. Тез. докл. Вильнюс, 1988. С. 112.
6. Rupley J. A., Gates V., Bilbrey R. // J. Amer. Chem. Soc. 1968. V. 90. № 20. P. 5633—5635.
7. Александров М. Л., Безукладников П. В., Грачев М. А., Елякова Л. А., Звягинцева Т. Н., Кондратов В. М., Куснер С., Миргородская О. А., Фридлянский Г. В. // Биоорг. химия. 1986. Т. 12. № 12. С. 1689—1692.
8. Безукладников П. В., Звягинцева Т. Н., Елякова Л. А., Миргородская О. А. // Химия природ. соед. 1989. № 1. С. 54—59.
9. Несмеянов А. Н., Несмеянов Н. А. Начала органической химии. Т. 1. М.: Химия, 1969. С. 137—139.
10. Державец А. А., Миргородская О. А., Полегаева Л. В., Попанов П. Н. // Химия природ. соед. 1988. № 5. С. 687—695.
11. Privalova N. M., Elyakova L. A. // Comp. Biochem. and Physiol. 1978. V. 60B. № 1. P. 225—228.
12. Elyakova L. A., Zvyagintseva T. N. // Carbohydr. Res. 1974. V. 34. № 2. P. 241—248.
13. Nelson N. J. // Biol. Chem. 1944. V. 153. № 1. P. 375—381.
14. Keston A. // Abstr. Paper 129 Meeting Amer. Chem. Soc. 1956. P. 31.
15. Dubois M., Gilles K. A., Hamilton J. R., Robers P. A., Smith F. // Analyt. Chem. 1956. V. 28. P. 350—356.

Поступила в редакцию  
21.X.1988  
После доработки  
27.II.1989

#### A STUDY ON TRANSFER ACTIVITY OF ENDO-(1→3)- $\beta$ -D-GLUCANASES. V. SPECIFICITY OF TRANSGLYCOSYLATION REACTIONS CATALYSED BY ENDO-(1→3)- $\beta$ -GLUCANASE $L_0$ FROM *CHLAMYDYS ALBIDUS* USING GLYCEROL AS ACCEPTOR

BEZUKLADNIKOV P. W., ELYAKOVA L. A., MIRGORODSKAYA O. A.\*

Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far-East Division, Academy  
of Sciences of the USSR, Vladivostok;

\* Institute of Analytical Instrumentation, Academy of Sciences  
of the USSR, Leningrad

The degradation of laminarin and the formation of various monosubstituted derivatives of glycerol under the action of glucanase  $L_0$  on the aqueous solution of the mixture laminarin/glycerol have been studied. The enzyme is shown to catalyse the formation of both (1→1)- and (1→2)-bound (oligo)glucosylglycerols. The rate of laminarin degradation increased in the presence of glycerol.