



УДК 547.915.5:543.51

АНАЛИЗ СТРУКТУРЫ ГАНГЛИОЗИДА NeuAc-LacCer И ЕГО АНАЛОГОВ МЕТОДОМ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ С БОМБАРДИРОВКОЙ УСКОРЕННЫМИ АТОМАМИ

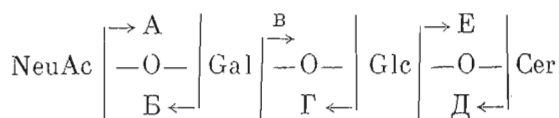
Розынов В. В., Меримсон В. Г., Королева А. Б., Дятловицкая Э. В.

Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина Академии наук СССР, Москва

Проведен анализ ганглиозидов NeuAc-LacCer, NeuGc-LacCer, NeuLac-Sph и NeuAc-LacSphAc методом масс-спектрометрии с бомбардировкой ускоренными атомами. Показано, что этот метод дает важную информацию об углеводных и жирнокислотных фрагментах молекулы ганглиозида при использовании микрограммовых количеств образца.

Ганглиозиды (гликофинголипиды, содержащие остатки сиаловых кислот) — универсальные компоненты плазматических мембран всех эукариотических клеток. Многочисленными исследованиями установлено, что они участвуют в процессах клеточного узнавания, рецепции гормонов, вирусов, токсинов, в регуляции роста и дифференцировки клеток, являются иммуномодуляторами [1, 2]. Структура ганглиозидов крайне разнообразна, поскольку они содержат различные жирнокислотные остатки и разные олигосахаридные цепи. При исследовании строения ганглиозидов часто применяют масс-спектрометрию [3]. В последние годы используют метод масс-спектрометрии с бомбардировкой ускоренными атомами [4—6]. Этим методом мы провели сравнительный анализ ганглиозида NeuAc-LacCer, выделенного из печени человека, и его аналогов NeuGc-LacCer из тимуса теленка, а также дезацелированного производного Neu-LacSph и продукта его ацелирования NeuAc-LacSphAc с целью установления различий и общности в их фрагментации.

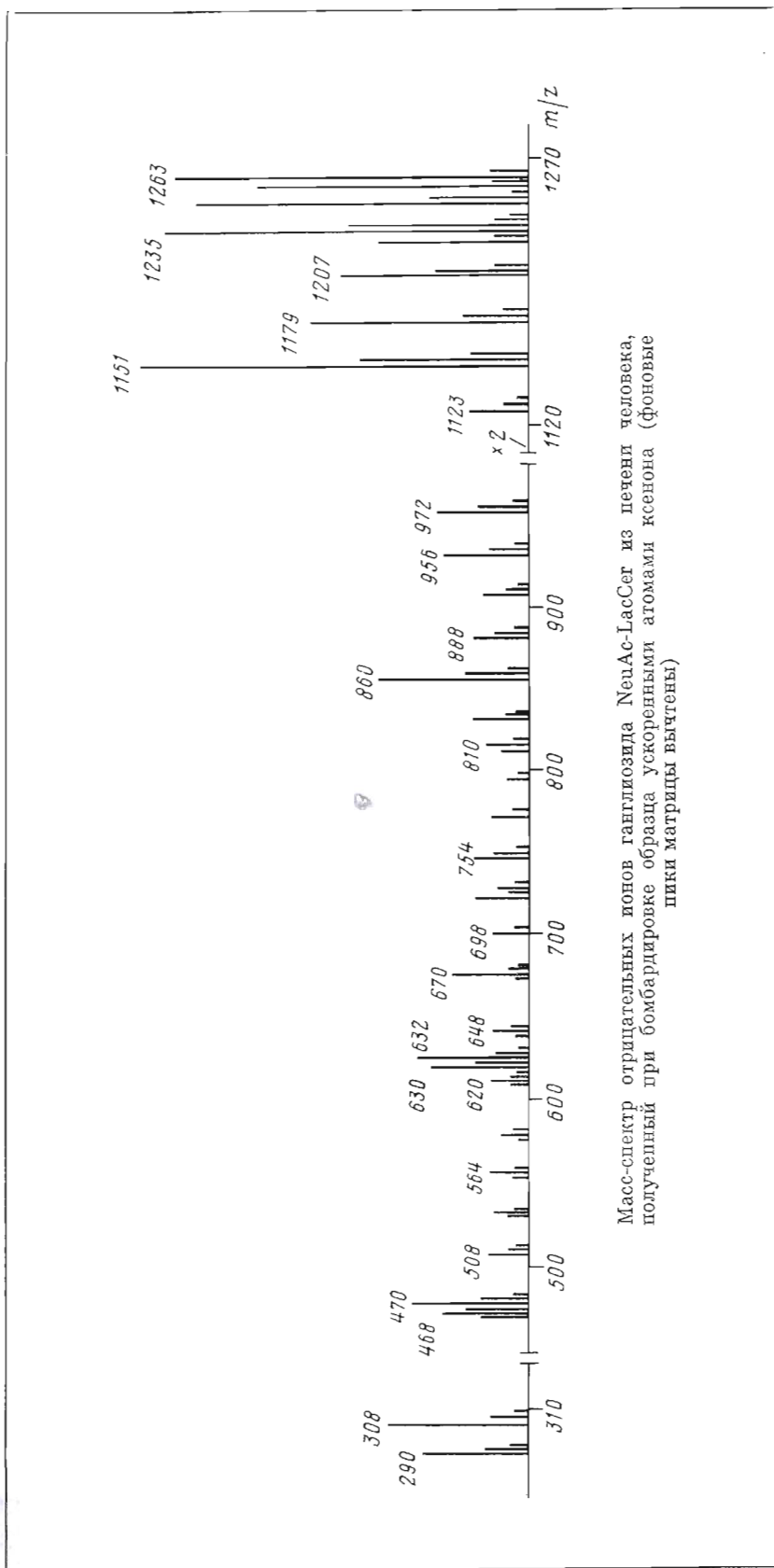
Фрагментация ионов ($M-H$)⁻ происходит в результате разрыва гликозидных связей, как показано на схеме



Относительные интенсивности и массовые числа ионов приведены в таблице. На рисунке в качестве примера представлен масс-спектр ганглиозида NeuAc-LacCer. Поскольку в природном ганглиозиде аминогруппа сфингозинового основания ацилирована остатками различных насыщенных жирных кислот, содержащих 14—24 С-атома, в масс-спектре наблюдается группа гомологичных молекулярных ионов ($M-H$)⁻ с m/z 1123, 1151, 1179, 1207, 1235, 1263. Кроме того, в спектре присутствуют достаточно интенсивные пики молекулярных ионов соединений с m/z 1233 и 1261, в которых атом азота сфингозина ацилирован ненасыщенными жирными кислотами $C_{22:1}$ и $C_{24:1}$.

В масс-спектре ганглиозида NeuGc-LacCer пики ионов Б, Г и Д находятся при массовых числах, на 16 а.е. больших, чем в случае NeuAc-LacCer (таблица), что отвечает разнице между массами ацетильной и гликолилльной групп. Массовые числа ионов А, В и Е в обоих случаях одинаковы.

Сокращения даны в соответствии с рекомендацией номенклатурной комиссии IUPAC — IUB: NeuAc и NeuGc — N-ацетил- и N-гликолиллейраминаовая кислоты, Gal — галактоза, Glc — глюкоза, LacCer — лактозилцерамид, Cer — N-ацилсфингозин, Sph — сфингозин.



Масс-спектр отрицательных ионов ганглиозда NeuAc-LacSes из печени человека, полученный при бомбардировке образца ускоренными атомами ксенона (фонные пики матрицы вычтены)

Частичные масс-спектры ганглиозида NeuAc-LacCer и его аналогов
(m/z (I , %))

Соединения	($M-H$) ⁻	А	Б	В	Г	Д	Е
NeuAc-LacCer	1123 (18)	832 (9)		670 (15)			508 (12)
	1151 (100)	860 (8)		698 (13)			536 (15)
	1179 (52)	888 (7)		726 (11)			564 (10)
	1207 (48)	916 (13)	308 (16)	754 (9)	470 (7)	632 (9)	592 (13)
	1235 (89)	944 (16)		782 (13)			620 (9)
	1263 (95)	972 (15)		810 (14)			648 (9)
NeuGc-LacCer	1139 (3)	832 (5)		670 (2,5)			508 (7)
	1167 (100)	860 (10)		698 (3,5)			536 (10)
	1195 (25)	888 (3,5)		726 (7)			564 (5)
	1223 (2,5)	916 (1,5)	324 (15)	754 (3)	486 (8)	648 (8)	592 (4,5)
	1251 (24)	944 (7)		782 (2,5)			620 (1,5)
	1279 (31)	972 (20)		810 (1,5)			648 (8)
Neu-LacSph	871 (100)	622 (15)	266 (9)	460 (9)	428 (3,5)	590 (2,5)	298 (35)
NeuAc-LacSphAc	955 (100)	664 (11)	308 (15)	502 (15)	470 (22)	632 (13)	340 (2,5)

Масс-спектры продуктов дезацилирования ганглиозидов NeuAc-LacCer и NeuGc-LacCer одинаковы. В них отсутствуют группы гомологичных ионов А, В и Е, но имеются соответствующие ионы с единственным значением массового числа (см. таблицу). При ацетилировании этого соединения в молекулу входят два ацетильных остатка и массовое число иона ($M-H$)⁻ увеличивается на 84 а.е. Массовые числа ионов А, В и Е, полученные при масс-спектрометрии NeuAc-LacSphAc, увеличиваются на 42 а.е., что указывает на присоединение одного ацетильного остатка к сфингозиевому основанию.

Таким образом, в масс-спектрах изученных ганглиозидов присутствуют две серии ионов, по пикам которых можно судить об их строении. Углеродная часть молекулы характеризуется пиками ионов Б, Г и Д, а керамид (и входящие в него жирнокислотные остатки) — пиками ионов А, В и Е. Результаты проведенной работы свидетельствуют о том, что изменение строения амидных фрагментов в молекуле однотипных ганглиозидов не влияет на фрагментацию последних при их бомбардировке ускоренными атомами ксенона.

Экспериментальная часть

Ганглиозиды NeuAc-LacCer и NeuGc-LacCer были выделены из печени человека и тимуса теленка по методу [7]. Дезацилирование ганглиозидов проводили согласно методу [8]. Продукт дезацилирования ацетилировали уксусным ангидридом в водном растворе $NaHCO_3$.

Использовали масс-спектрометр MS 50TC (Kratos, Великобритания) с системой обработки Квест. Применяли метанольные растворы ганглиозидов в концентрации 1 нмоль/мкл. Для записи масс-спектра брали 10 мкл раствора. Вещество помещали в жидкую матрицу и мишень подвергали бомбардировке ускоренными атомами ксенона с энергией 6—8 кэВ. В качестве матрицы для получения масс-спектров отрицательных ионов применяли тиоглицерин, триэтаноламин или их смесь (1 : 1). Масс-спектр записывали от 3 до 5 раз при скорости сканирования 30 с на декаду масс.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Nakomori S. // Amer. Rev. Biochem. 1981. V. 50. P. 733—764.
2. Curatolo W. // Biochim. et biophys. acta. 1987. V. 906. № 1. P. 137—160.
3. Karlsson K.-A. // Progr. Chem. Fats and Other Lipids. 1978. V. 16. P. 207—230.
4. Arita M., Iwamori M., Higuchi T., Nagai Y. // J. Biochem. 1983. V. 94. № 1. P. 249—256.
5. Egge H., Peter-Katalinic J., Reuter G., Schauer R., Ghidoni R., Sonnino S., Tettaman-
ti G. // Chem. and Phys. Lipids. 1985. V. 37. № 2. P. 127—141.
6. Domon B., Costello C. E. // Biochemistry. 1988. V. 27. № 5. P. 1534—1543.
7. Дягловицкая Э. В., Ахмед-Заде А. // Прикл. биохимия и микробиолог. 1983. Т. 19.
№ 3. С. 399—402.

8. *Sonnino S., Kirschner G., Ghidoni R., Acquotti D., Tettamanti G.* // *J. Lipid Res.* 1985. V. 26. № 2. P. 248-257.
9. *Perkins H. R.* // *Biochem. J.* 1969. V. 111. № 2. P. 195.

Поступила в редакцию
29.VII.1988

**ANALYSIS OF THE GANGLIOSIDE NeuAc-LacCer AND ITS
ANALOGUES BY FAST ATOM BOMBARDMENT MASS SPECTROMETRY**

ROSYNOV B. V., MERIMSON V. G., KOROLEVA A. B., DYATLOVITSKAYA E. V.

*M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry,
Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

Gangliosides NeuAc-LacCer, NeuGc-LacCer, NeuLac-Sph and NeuAc-LacSphAc were analysed by FAB mass spectrometry in the negative ion mode. It is shown that this method gives valuable information on the structure of carbohydrate chains and fatty acid residues of the ganglioside molecules taking only micrograms of substances.