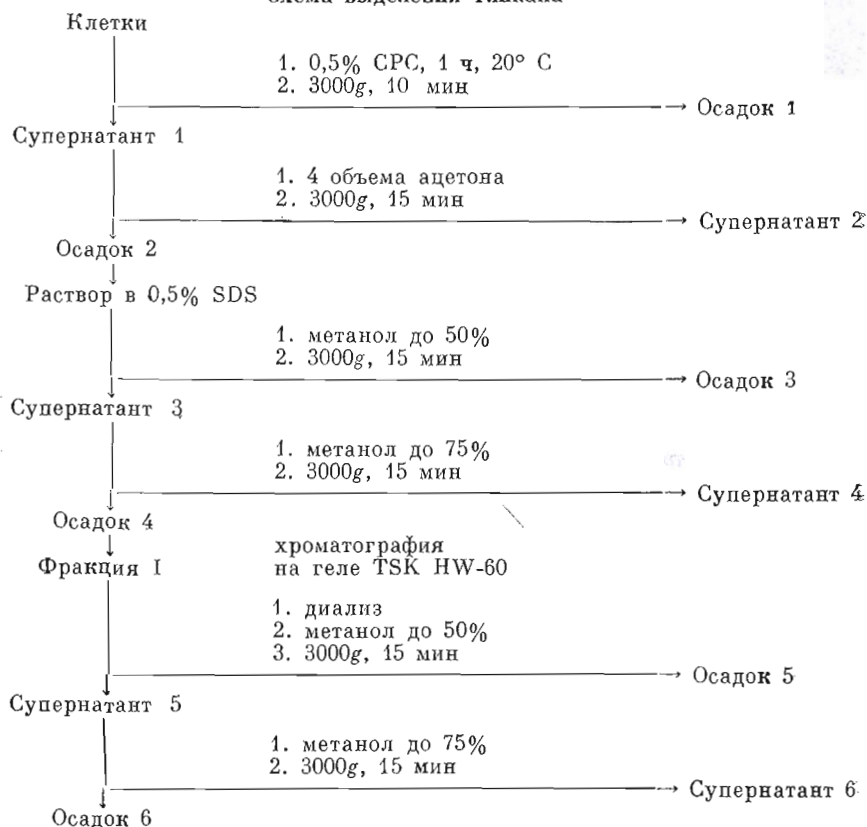




### Схема выделения гликана



держачие компоненты осаждаются в основном в 75% метаноле. Мольное соотношение аминокислот и углеводов во фракциях, осаждающихся в 50 и 75% метаноле, и фракции, растворимой в 75% метаноле, составляет ~52 : 1, 1 : 1 и 26 : 1 соответственно.

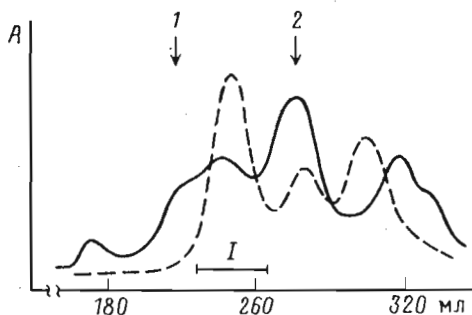
Обогащенную углеводами фракцию (осадок 4), содержащую соответственно около 1 и 14% исходного количества белка и углеводов, далее хроматографировали на колонке с TSK HW-60 в 0,3% растворе SDS с детекцией по поглощению при 280 нм и по цветной реакции на углеводы (рис. 1). Как оказалось, эта фракция представляет собой гетерогенную смесь белков и углеводсодержащих полимеров, причем основное количество углеводов содержалось во фракции I, соответствующей по размеру бел-

Таблица 1

Содержание аминокислот и углеводов во фракциях

Фракция	Аминокислоты		Углеводы	
	мкмоль	%	мкмоль	%
Клетки	21 700	100	1230	100
Супернатант 1	6 100	28	420	34
Осадок 1	14 100	65	750	61
Супернатант 2	440	2	15	1
Осадок 2	5 200	24	360	29
Супернатант 3	1 240	6	270	22
Осадок 3	3 650	17	70	6
Супернатант 4	1 030	5	40	3
Осадок 4	180	1	168	14
Фракция I, рис. 1 (после диализа)	26	0,1	76	6
Осадок 5	12	0,05	9	0,7
Супернатант 6	5	0,02	4	0,3
Осадок 6	2	0,01	22	2

Рис. 1. Очистка гликана на колонке ( $2,6 \times 86$  см) с гелем TSK HW-60. Элюент —  $0,01$  н. NaCl +  $0,3\%$  SDS. Детекция при  $280$  нм (сплошная кривая) и по реакции с орцином и серной кислотой (штриховая кривая). 1 и 2 — место элюции белков с  $M \sim 40$  и  $5$  кДа (электрофорез в геле). Показаны границы выделения фракции I — гликана



жу с  $M \sim 15$  кДа (электрофорез в геле). Для дальнейшей очистки фракции I проводилось (после диализа) повторное осаждение белка и полисахаридов метанолом (схема). Полученный в результате этого продукт (осадок 6) практически не содержал белка; мольное соотношение углеводов и аминокислот составляло  $>10 : 1$ , причем среди аминокислот не было преобладающей. Моносахаридный анализ показал, что в состав полимера входят рамноза, манноза, фукоза и ксилоза в соотношении, близком к эквимолярному ( $1,2 : 1,0 : 0,8 : 0,9$ ). Эти моносахариды вместе с небольшим количеством глюкозы, глюкозамина и рибозы составляют не менее  $70\%$  от веса фракции. Кроме того, в полученном образце содержатся аминокислоты ( $\sim 5\%$ ), жирные кислоты ( $1-2\%$ ) и фосфат ( $0,7\%$ ); идентифицированы также этаноламин и инозит. Таким образом, судя по составу неуглеводных компонентов, выделенный гликан является, вероятно, гликофосфолипидом, состоящим из полисахаридной цепи и гидрофобного «якорного» участка типа фосфатидилинозита.

Спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР гликана оказался типичным для регулярно построенного полисахарида, за исключением того, что имеется группа сигналов небольшой интенсивности с  $\delta \sim 24, 31-32$  и  $41,5$  м. д., а также сигналы с  $\delta 69,053$  и  $70,888$  м. д. (рис. 2), которые, очевидно, связаны с наличием неуглеводного компонента. В области резонанса аномерных атомов углерода имеется четыре сигнала ( $\delta 97,66; 97,92; 103,14; 104,30$  м. д.), а в области резонанса C6-атомов 6-дезоксисахаров — два сигнала ( $16,38$  и  $17,71$  м. д.). АРТ\* [9] показал две —  $\text{OCH}_2$ -группы с химическими сдвигами  $63,7$  и  $61,4$  м. д. Общее число сигналов (с учетом кратной интенсивности одного из них) составляет 23. Следовательно, полисахаридная цепь полимера состоит из повторяющихся звеньев, включающих в себя четыре моносахаридных остатка, два из которых являются 6-дезоксисахарами (рамноза и фукоза), один — гексозой (манноза) с незамещенной  $\text{CH}_2\text{OH}$ -группой ( $61,4$  м. д.) и один — пентозой (ксилоза). Отсутствие сигналов в области  $80-85$  м. д. показывает, что все сахара находятся в пиранозной форме [10].

В  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектре гликана в сильном поле имеются два трехпротонных дублета с  $\text{KCCB} \sim 6,5$  Гц и химическими сдвигами  $1,21$  м. д. (H6 рамнопиранозы) и  $1,13$  м. д. (H6 фукопиранозы), а в области резонанса аномерных протонов видны три сигнала: уширенные синглеты при  $5,05$  и  $4,89$  м. д. и дублет с  $J_{1,2} \sim 3,5$  Гц и  $\delta 4,94$  м. д. Первые два сигнала, очевидно, принадлежат сахарам с маннопиранозной конфигурацией (малая  $\text{KCCB } J_{1,2} < 2$  Гц), имеющим, судя по величине химических сдвигов,  $\alpha$ -конфигурацию гликозидного центра. Последний сигнал с  $J_{1,2} 3,5$  Гц принадлежит пиранозе с  $\alpha$ -глюко- или  $\alpha$ -галакто-конфигурацией. С помощью гомоядерного двойного резонанса (разностный вариант) были найдены положения сигналов H5 6-дезоксисахаров:  $4,1$  м. д. для H5 рамнопиранозы и  $3,87$  м. д. для H5 фукопиранозы; они оказались типичными для моносахаридных остатков с  $\alpha$ -конфигурацией гликозидных центров [11, 12]. Таким образом, фукопираноза имеет  $\alpha$ -конфигурацию и сигнал при  $4,94$  м. д. принадлежит H1 именно этого остатка. Сигнал четвертого ано-

\* АРТ — тест на присоединенные протоны.



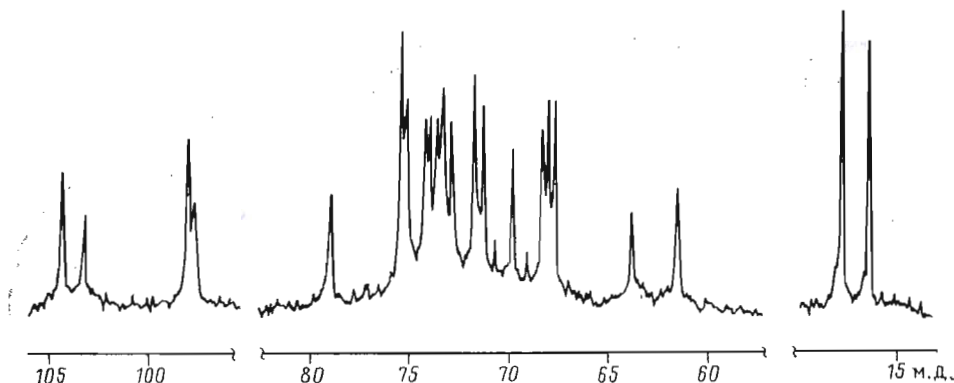


Рис. 2.  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектр гликана

мерного протона (H1 ксилозы), по-видимому, скрыт под пиком HDO (4,5 м. д.). Поскольку область 4,90—4,50 м. д. свободна от сигналов, H1 ксилопиранозы имеет  $\delta < 4,5$  м. д., что характерно для  $\beta$ -конфигурации аномерного центра.

Таким образом, данные ЯМР-спектроскопии подтвердили моносахаридный состав гликана, показали регулярность его полисахаридной цепи и позволили установить размеры циклов (все пиранозы) и относительную конфигурацию моносахаридных остатков:  $\alpha$ -конфигурацию для маннозы, рамнозы и фукозы и  $\beta$ -конфигурацию для ксилозы.

Строение гликана изучали далее с помощью метилирования, частичного гидролиза и деградации по Смитсу. В результате метилирования, последующего гидролиза, восстановления и ацетилирования получена смесь ацетатов частично метилированных полиолов, которую анализировали методом хроматомасс-спектрометрии. Четыре главных продукта реакции идентифицированы как 2,3,4-три-О-метил-1,5-ди-О-ацетил-6-дезоксигексит, 2,4-ди-О-метил-1,3,5-три-О-ацетил-6-дезоксигексит, 2,6-ди-О-метил-1,3,4,5-тетра-О-ацетилгексит и 2,3-ди-О-метил-1,4,5-три-О-ацетилпентит. Следовательно, в состав гликана входят концевая 6-дезоксипираноза, О3-замещенная 6-дезоксипираноза, 3,4-дизамещенная гексопираноза (манноза) и О4-замещенная пентоза (ксилоза). Таким образом, гликан является разветвленным регулярным полисахаридом, причем в узле разветвления находится манноза, а на невозстанавливаемом конце боковой цепи — 6-дезоксигексоза.

Предварительные опыты по кинетике гидролиза гликана показали, что он чрезвычайно кислотолабилен. Так, при гидролизе 0,1 н.  $\text{CF}_3\text{COOH}$  выход рамнозы достигает максимума уже через  $\sim 2$  ч при  $100^\circ\text{C}$ , несколько медленнее нарастает выход ксилозы и фукозы (максимум через  $\sim 4$  ч) и еще медленнее накапливается манноза: через 2 ч лишь  $\sim 50\%$  от максимального количества. Исходя из этого, с целью выделения небольших олигосахаридных фрагментов был проведен частичный гидролиз гликана в 0,05 н.  $\text{CF}_3\text{COOH}$  ( $100^\circ\text{C}$ , 30 мин). Продукты деградации разделяли на колонке с TSK HW-50 с детекцией при 200 нм и по цветной реакции на углеводы (рис. 3).

Углеводный анализ показал, что фракция III содержит моносахариды, преимущественно рамнозу. Судя по месту элюции, фракции II и I представляют собой главным образом моно- и димерное повторяющееся звено (тетра- и октасахариды соответственно). По моносахаридному составу эти фракции оказались практически одинаковыми и содержали все четыре моносахарида в соотношении, близком к эквимолярному. Анализ их после восстановления  $\text{NaBH}_4$  показал, что при восстановлении резко уменьшается количество фукозы, в то время как содержание других сахаров изменяется незначительно. Отсюда следует, что на восстанавливаемом конце моно- и димерного повторяющегося звена находится фукоза. Таким образом, учитывая данные метилирования, фукоза, так же как и манноза, находится в основной цепи и замещена в положение О3, а легкогидроли-

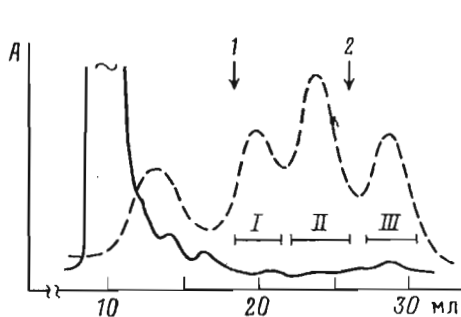


Рис. 3

Рис. 3. Разделение продуктов частичного гидролиза гликана на колонке (0,8 × 53 см) с гелем TSK HW-50 в воде. Детекция при 200 нм (сплошная кривая) и по реакции с орцином и серной кислотой (штриховая кривая). 1 и 2 — место элюции олигосахаридов (Galβ1-4GlcNAcβ1-2Manα1-3,6)<sub>2</sub>Manβ1-4GlcNAcβ1-4(Fucα1-6)GlcNAc-ol и Galα1-3(Fucα1-2)Gal. Отмечены границы объединения фракций

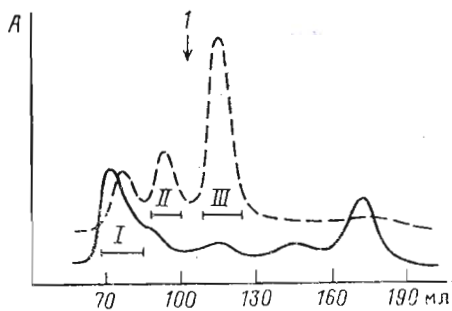


Рис. 4

Рис. 4. Разделение продуктов деградации гликана по Смитсу на колонке (1,5 × 98 см) с септадексом G-15 в воде. Детекция при 205 нм (сплошная кривая) и по реакции с орцином и серной кислотой (штриховая кривая). 1 — место элюции олигосахарида Galα1-3(Fucα1-2)Gal

зубая рамноза занимает концевое положение в боковой цепи. Стоит отметить также, что олигосахаридные фрагменты, содержащиеся во фракции II, не содержат фосфора и, следовательно, фосфатная группа не входит в состав повторяющегося звена гликана.

Для дальнейшего выяснения последовательности моносахаридных остатков в повторяющемся звене была проведена деградация гликана по Смитсу. Можно было ожидать, что если ксилоза находится в боковой цепи, основная цепь из 3-замещенных остатков фукозы и 3,4-дизамещенных остатков маннозы не будет расщепляться периодатом, а если 4-замещенная ксилоза находится в основной цепи, полисахарид будет деполимеризоваться с образованием фрагментов, содержащих фукозу и маннозу. Результаты хроматографии продуктов деградации гликана по Смитсу приведены на рис. 4. Основным углеводным фрагментом (фракция III) оказался, судя по месту элюции и углеводному анализу, дисахарид, содержащий в равном количестве фукозу и маннозу. Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР (табл. 2) подтвердил, что дисахарид включает в себя остатки α-маннопиранозы и α-фукопиранозы [13]. Для установления последовательности моносахаридных звеньев в дисахариде проведено его окисление и восстановление с последующим полным гидролизом. Анализ продуктов реакции показал, что манноза полностью окисляется, а фукоза сохраняется и, следовательно, дисахарид имеет строение: Manα1-3Fucα1-2Gro, где 2Gro — остаток 2-замещенного глицерина, образующийся в результате деградации остатка ксилозы. Таким образом, ксилоза находится в главной цепи гликана, а последовательность моносахаридных остатков в полимере такова: ...Man-Fuc-Xyl ...

Следует заметить, что гидролиз окисленного и восстановленного гликана проводился очень мягкий (1% CH<sub>3</sub>COOH, 100° С, 1 ч) с тем, чтобы сохранить фукозидную связь. При этом деполимеризация полисахаридной цепи по остатку ксилозы проходила, по-видимому, неполностью и оставалось небольшое количество димера (фракция II, рис. 4). Доказательством того, что фракция II представляет собой димер повторяющегося линейного звена, является размер этого фрагмента (больше трисахарида) и его моносахаридный состав (содержит в равном количестве маннозу и фукозу). Строение димерного фрагмента можно представить в виде Man1-3Fuc1-R-3(4)Man1-3Fuc1-2Gro (R — окисленный и восстановленный остаток ксилозы), при этом находящийся внутри цепи остаток маннозы замещен деградированным остатком ксилозы либо по O3, либо по O4 (при условии исходного замещения этого остатка рамнозой). Окисление и восстановление этого фрагмента (фракция II), последующий полный гидролиз и анализ показали, что и в димере манноза полностью окисляется. Значит,

Данные  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектра олигосахаридов (фракция III рис. 4)

Звено	Протон	Химический сдвиг, м.д.	Наблюдаемая мультиплетность *	КССВ, Гц
Манра	H1	5,07	д	$J_{1,2}$ 1,8
	H2	4,04	дд	$J_{2,3}$ 3,5
	H3	3,88	дд	$J_{3,4}$ 9,5
	H4	3,63	т	$J_{4,5}$ 9,5
	H5	~3,7	м	
-3Fucpa	H1	5,06	д	$J_{1,2}$ 3,6
	H2	3,88	дд	$J_{2,3}$ 9,8
	H3	3,98	дд	$J_{3,4}$ 3,6
	H4	4,93	уд	$J_{4,5}$ ~2
	H5	4,20	ук	$J_{5,6}$ 6,5
	H6	1,17	д	

\* д — дублет, дд — дублет дублетов, т — триплет, м — мультиплет, уд, ук — уширенные дублет и кватрлет.

Таблица 3

Отнесение сигналов в  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектре олигосахаридов

Звено	C1	C2	C3	C4	C5	C6
Литературные данные						
Манра [14]	95,3	71,5	71,5	68,2	74,2	62,3
Fucpa [15]	99,3	69,2	70,4	73,0	67,4	16,7
С учетом эффектов гликозилирования [14]						
Манра	103,6	71,5	71,5	68,2	74,2	62,3
-3Fucpa	>95	68,5	78,5	72,6	67,9	16,7
Экспериментальные данные						
Манра	103,65	71,7 *	71,4 *	68,2	74,7	62,4 *
-3Fucpa	99,4	68,9	78,6	72,95	68,2	16,5
-2Gro	62,8 *	80,1	61,7 *			

\* Отнесение неоднозначно.

манноза замещена остатком ксилозы по O4 (но не по O3), и, таким образом, последовательность моносахаридных остатков в главной цепи выглядит так: -4Man1-3Fuc1-4Xyl-, а остаток рамнозы в боковой цепи замещает маннозу по O3.

С учетом полученных данных о строении дисахаридов оказалось возможным однозначно отнести все сигналы в его  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектре (табл. 3). Хорошее совпадение экспериментальных химических сдвигов с расчетными (учитывая эффекты гликозилирования [14, 15]) подтверждает последовательность моносахаридов в дисахариде и тип замещения остатка фукозы. Из спектральных данных вытекает также, что манноза и фукоза имеют различные абсолютные конфигурации. Окончательный выбор из двух вариантов структуры ( $\alpha$ -L-Man- $\alpha$ -D-Fuc-Gro или  $\alpha$ -D-Man- $\alpha$ -L-Fuc-Gro) был сделан исходя из величины удельного оптического вращения дисахаридов ( $-120^\circ$ ), которая очень близка к рассчитанной по правилу Кляйна для второй структуры ( $-118^\circ$ ).

Информация об абсолютной конфигурации двух оставшихся моносахаридных остатков (Xyl и Rha) была получена из  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектра гликана. Отнесение сигнала C5 (63,75 м. д.) замещенного по C4 остатка ксилопиранозы не вызывает сомнения [16] — он соответствует  $\beta$ -ксилопиранозе. Легко подсчитать  $\beta$ -эффект гликозилирования ксилопиранозы  $\alpha$ -L-фукопиранозой ( $-2,35$  м. д., ср. [13]). Большой отрицательный  $\beta$ -эффект гликозилирования указывает на различную абсолютную конфигурацию остатков





## Экспериментальная часть

Спектры  $^1\text{H}$ -ЯМР сняты на приборе Bruker WM-250 (ФРГ) в  $\text{D}_2\text{O}$  при  $70^\circ\text{C}$  (гликан) и  $60^\circ\text{C}$  (олигосахарид). Величины химических сдвигов даны относительно 4,4-диметил-4-силапентан-1-сульфоната натрия (0 м. д.). Отнесение сигналов в спектре олигосахаридов выполнено с помощью методики двойного гомоядерного резонанса в разностном варианте. Спектры  $^{13}\text{C}$ -ЯМР сняты для растворов олиго- и полисахарида в  $\text{D}_2\text{O}$  при  $30^\circ\text{C}$  на приборе Bruker AM-300 (ФРГ), в качестве внутреннего стандарта использовали метанол,  $\delta_c$  50,15 м. д. Инозит (в виде полного ацетата) идентифицировали методом ГЖХ на хроматографе Hewlett-Packard 5890 А с использованием колонки Ultra-1 (25 м) и градиента температуры  $175 \rightarrow 290^\circ\text{C}$  (10 град/мин). Содержание углеводов и аминокислот (а также этаноламина) определяли с помощью анализатора Biotronik LC-2000 (ФРГ) после гидролиза 1 н.  $\text{CF}_3\text{COOH}$  ( $100^\circ\text{C}$ , 3 ч) или 4 н.  $\text{HCl}$  ( $100^\circ\text{C}$ , 15 ч) соответственно. Фосфор (общий) анализировали по методу [18]. Суммарные жирные кислоты определяли колориметрически по методу [19]. Электрофорез по Леммли проводили в 15% полиакриламидном геле. Оптическое вращение олигосахаридов измеряли в воде при  $20^\circ\text{C}$  на поляриметре DIP-360 (Jasco). Метилирование гликана проводили по методу [20], частично метилированные ацетаты полиолов идентифицировали с помощью хроматомасс-спектрометра GC/MS Finnigan-MAT INCOS 50, используя капиллярную колонку RSL-200 ( $0,25 \times 30$  мм), градиент температуры  $50 \rightarrow 220^\circ\text{C}$  (5 град/мин).

**Выделение гликана.** Культивирование *C. oncopelti* проводили в ферментерах объемом 45 л при  $24\text{--}25^\circ\text{C}$ , используя пептонную среду [21]. Биомассу собирали в стационарной фазе роста культуры (на 5-е сут), отделяли от культуральной жидкости сепарированием, осадок трижды отмывали водой, центрифугируя каждый раз при  $3000g$ , полученный осадок ( $\sim 20$  г) суспендировали в 200 мл 0,6% раствора CPC и перемешивали 1 ч при  $20^\circ\text{C}$ . Смесь центрифугировали (см. схему), к супернатанту приливали при перемешивании 4 объема ацетона и полученный осадок растворяли при нагревании ( $50\text{--}60^\circ\text{C}$ ) в 20 мл 0,5% раствора SDS. К раствору приливали при перемешивании равный объем метанола, смесь оставляли на 16 ч при  $5^\circ\text{C}$  и центрифугировали. К супернатанту снова приливали равный объем метанола, осадок отделяли центрифугированием, полученный продукт (осадок 4) растворяли в 2 мл 0,5% раствора SDS и хроматографировали порциями на колонке ( $2,6 \times 86$  см), с гелем TSK HW-60 в 0,3% растворе SDS, содержащем 0,01 н.  $\text{NaCl}$ , с УФ-детекцией при 280 нм. Содержание углеводов во фракциях (4 мл) определяли по реакции с орцином и серной кислотой (рис. 1). Фракцию I диализовали, концентрировали и повторяли осаждение гликана 75% метанолом как описано выше. Результаты анализа получаемых в процессе выделения гликана фракций приведены в табл. 1.

**Частичный гидролиз гликана** (5 мг) осуществляли в 2 мл 0,05 н.  $\text{CF}_3\text{COOH}$  ( $100^\circ\text{C}$ , 30 мин), раствор упаривали и продукт хроматографировали на колонке ( $0,8 \times 53$  см) с гелем TSK HW-50 в воде с УФ-детекцией при 200 нм. Для калибровки колонки использовали олигосахариды с известным строением, выделенные нами ранее [22]. Кривую элюции олигосахаридов строили, определяя суммарное содержание углеводов в собранных фракциях (0,5 мл) в реакции с орцином и серной кислотой, после чего фракции объединяли, как показано на рис. 3. Фракция III содержала моносахариды: полный гидролиз давал лишь незначительный прирост моносахаридов. Из олигосахаридных фракций I и II отбирали по две аликвоты (30 мкл). Одну из аликвот каждой фракции восстанавливали  $\text{NaBH}_4$  и все пробы далее гидролизовали 1 н.  $\text{CF}_3\text{COOH}$  3 ч при  $100^\circ\text{C}$  и проводили количественный анализ моносахаридов. Для обеих фракций результаты анализа близки: без восстановления фракции I и II содержат рамнозу, маннозу, фукозу и ксилозу в соотношении, близком к эквимолярному; после восстановления количество рамнозы, маннозы и ксилозы практически не изменяется, а количество фукозы уменьшается на 60 и 90% соответственно.



Дегградация по Смитчу. Гликан (20 мг) окисляли в 3 мл 0,05 М NaIO<sub>4</sub> (20° С, 40 ч, в темпоте), восстанавливали ~70 мг NaBH<sub>4</sub>, через 4 ч раствор подкисляли уксусной кислотой, упаривали несколько раз с метанолом и уксусной кислотой, продукт деионизовали на колонке (98 × 1,5 см) с сефадексом G-15 в воде и гидролизовали 1% CH<sub>3</sub>COOH 1 ч при 100° С. Гидролизат упаривали, хроматографировали на той же колонке с анализом фракций по реакции с орцином и серной кислотой (рис. 4) и во фракциях I—III определяли содержание сахаров. Во всех фракциях обнаружены только манноза и фукоза в примерно равных количествах. Для дисахарида (2,1 мг), содержавшегося во фракции III, сняты <sup>1</sup>H- и <sup>13</sup>C-ЯМР спектры и измерено оптическое вращение:  $[\alpha]_D^{20} - 120^\circ$  (с 0,21; вода). Олигосахаридные фрагменты (фракции II и III) окисляли NaIO<sub>4</sub> и восстанавливали NaBH<sub>4</sub> как описано выше, полученные продукты деионизовали на колонках с AG-50 (H<sup>+</sup>) и AG-1 (CH<sub>3</sub>CO<sup>-</sup>), гидролизовали 1 н. CF<sub>3</sub>COOH 2 ч при 100° С и определяли моносахаридный состав. В обоих случаях обнаружена только фукоза.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Host-Parazite Cellular and Molecular Interaction in Protozoal Infections. V. 11 / Eds Chang K.-P., Snary D. NATO ASI Series, Series H.: Cell Biology. Heidelberg: Springer-Verlag, 1987.
2. Current Topics in Microbiology and Immunology. 1985. Berlin — Heidelberg: Springer-Verlag, 1985. V. 117.
3. Сухарева Н. Н. // Простейшие — новые объекты биотехнологии. Л.: Наука, 1989. С. 3—78.
4. Ferguson M. A. J., Williams A. F. // Ann. Rev. Biochem. 1988. V. 57. P. 285—320.
5. Ferguson M. A. J. // Science. 1988. V. 239. № 4841. P. 753—759.
6. Schmitz B., Klein R. A., Duncan I. A. // Biochem. and Biophys. Res. Commun. 1987. V. 146. № 3. P. 1055—1063.
7. Rosen G., Pahlsson P., Londner M. V., Westerman M. E., Nilsson B. // J. Biol. Chem. 1989. V. 264. № 18. P. 10457—10463.
8. Turco S. J., Orlandi P. A., Jr., Homans S. W., Ferguson M. A. J., Dwek R. A., Rademacher T. W. // J. Biol. Chem. 1989. V. 264. № 12. P. 6711—6715.
9. Patt S. L., Shoolery J. N. // J. Magnet. Reson. 1982. V. 46. P. 535—542.
10. Gorin P. A. J., Mazurek M. // Carbohydr. Res. 1976. V. 48. № 2. P. 171—186.
11. Shashkov A. S., Knirel Yu. A., Tanatar N. V., Kochetkov N. K. // Carbohydr. Res. 1986. V. 146. № 2. P. 346—349.
12. Книрель Ю. А., Шашков А. С., Солдаткина М. А., Парамонов Н. А., Захарова И. Я. // Биооргани. химия. 1988. Т. 14. № 9. С. 1208—1213.
13. Altona C., Haasnoot C. A. G. // Org. Magn. Reson. 1980. V. 13. № 6. P. 417—423.
14. Lipkind G. M., Shashkov A. S., Knirel Yu. A., Vinogradov E. V., Kochetkov N. K. // Carbohydr. Res. 1988. V. 175. № 1. P. 59—75.
15. Bock K., Pedersen C. // Adv. Carbohydr. Chem. Biochem. 1983. V. 41. P. 27—66.
16. Kovac P., Hirsch J., Shashkov A. S., Usov A. I., Yarotsky S. V. // Carbohydr. Res. 1980. V. 85. № 2. P. 177—185.
17. Mendelzon D. H., Parodi A. J. // J. Biol. Chem. 1986. V. 261. № 5. P. 2129—2133.
18. Hess H. H., Derr J. E. // Anal. Biochem. 1975. V. 63. № 2. P. 607—613.
19. Snyder F., Stephen N. // Biochim. et biophys. acta. 1959. V. 34. № 1. P. 244—245.
20. Конрад Г. Е. // Методы исследования углеводов / Ред. Хорлин А. Я. М.: Мир, 1975. С. 276—278.
21. Сухарева Н. Н., Зеленева Р. Н., Силаев А. Б., Доронина Л. А. // Вестн. МГУ. Сер. биол., почвоведение. 1969. № 3. С. 3—10.
22. Арбатский Н. П., Мартынова М. Д., Деревуцкая В. А., Кочетков Н. К. // Докл. АН СССР. 1987. Т. 297. № 4. С. 995—999.

Поступила в редакцию  
24.VII.1990

