



УДК 547.454'913.3'118 + 577.15.08

© 1991 г.

Т. Н. Дружинина, Г. М. Стрешинская\*, М. Ш. Гошадзе,  
В. Н. Шубаев, И. Б. Наумова\*

АНАЛИЗ СОСТАВА ОБЛАСТИ СВЯЗИ ТЕЙХОЕВОЙ КИСЛОТЫ  
С ПЕПТИДОГЛИКАНОМ В КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКЕ  
*STREPTOMYCES CHRYSOMALLUS* SP. 2  
И БИОСИНТЕЗ ЕЕ ТЕТРАСАХАРИДНОГО ФРАГМЕНТА

Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского АН СССР, Москва;  
\* Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова

Описаны выделение и анализ структуры области связи тейхоевой кислоты с пептидогликаном клеточной стенки *Streptomyces chrysomallus* sp. 2. Показано, что тетрасахаридный фрагмент области связи содержит остатки N-ацетилглюкозамина, N-ацетилгалактозамина, N-ацетилхиновозамина и N-ацетилфурокозамина. Осуществлен ферментативный синтез полипренилпрофосфаттетрасахарида с использованием биосинтетических и синтетических уридиндифосфатаминоксоз. На восстанавливающем конце тетрасахарида идентифицирован остаток N-ацетилглюкозамина. Синтетические производные QuiNac-PPMrg и FucNac-PPMrg не включались в ферментативные реакции сборки тетрасахаридного фрагмента.

Различные типы тейхоевых кислот в стенке грамположительных микроорганизмов связаны с гликановыми цепями пептидогликана через олигомер, называемый областью связи [1]. Строение области связи было изучено в клеточных стенках ряда грамположительных бактерий — представителей бацилл, микрококков и стафилококков. Было показано, что область связи обычно содержит олигомер из остатков глицерофосфата к которому присоединен дисахарид Glc(β1-4)GlcNac [2—4] или ManNac(β1-4)GlcNac [5, 6], непосредственно связанный с пептидогликаном через остаток фосфорной кислоты.

Как было установлено ранее [7, 8], рибитейхоевая кислота представителя актиномицетов *Streptomyces chrysomallus* sp. 2 соединена с остатком мурамовой кислоты пептидогликана посредством области связи, также содержащей глицерофосфатный олигомер и олигосахарид, представляющий собой тетрамер, состоящий из остатков N-ацетилглюкозамина, N-ацетилгалактозамина, N-ацетилхиновозамина и N-ацетилфурокозамина.

В настоящей работе мы описываем более подробно выделение и анализ области связи тейхоевой кислоты *Streptomyces chrysomallus* sp. 2, а также сообщаем о результатах исследования биосинтеза фрагмента из четырех N-ацетилгексозаминов, входящих в ее состав, с использованием синтетических и биосинтетических уридиндифосфатсахаров.

Для выделения олигосахаридного фрагмента области связи использовали подход, ранее примененный в такого рода исследованиях [4]. Был проведен мягкий кислотный гидролиз препарата клеточной стенки для расщепления гликозилфосфатной связи между олигосахаридом области связи и остатком мурамовой кислоты пептидогликана. При такой обработке в раствор переходит тейхоевая кислота, включая область связи.

Полимерную фракцию после очистки ионообменной хроматографией подвергали обработке разбавленной щелочью (см. «Экспериментальную часть»). Нейтральный олигосахарид выделяли из продуктов расщепления

Использованы сокращения: Mrg — морапренил, Prg — полипренил, QuiN — хиновозамин (2-амино-2,6-дидезоксиглюкоза).

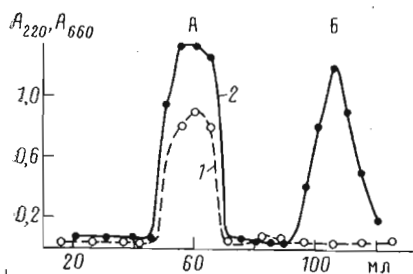


Рис. 1

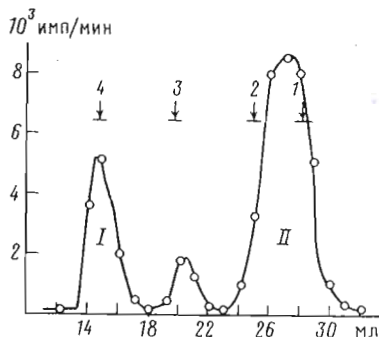


Рис. 2

Рис. 1. Распределение фосфора (I) и поглощение при 220 нм (2) во фракциях при хроматографии на колонке (1 × 40 см) с гелем TSK HW-40 продуктов щелочного гидролиза фрагмента клеточной стенки *S. chryso-mallus* sp. 2, содержащего тейхоевую кислоту с областью связи

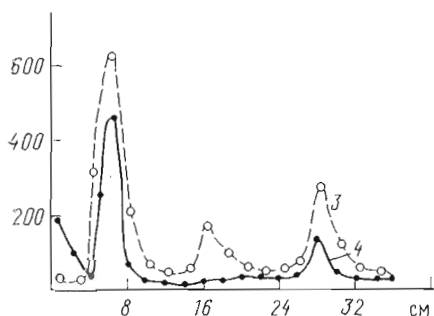
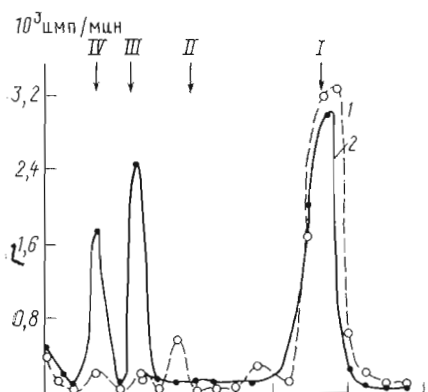


Рис. 3

Рис. 2. Распределение радиоактивности при хроматографии на колонке (1 × 40 см) с гелем TSK HW-40 углеводного фрагмента липид-олигосахарида, полученного при инкубации мембран из клеток *S. chryso-mallus* sp. 2 с UDP-[<sup>14</sup>C]GlcNAc, UDP-[<sup>14</sup>C]-GalNAc, UDP-[<sup>14</sup>C]FucNAc и UDP-[<sup>14</sup>C]-QuiNAc. Стрелками обозначены зоны выхода GlcNAc (1), хитобиозы (2), хитотриозы (3) и хитотетраозы (4)

Рис. 3. Распределение радиоактивности при хроматографии на бумаге олигосахаридных фрагментов, выделенных из инкубационных смесей опытов 2 (1), 7 (2), 10 (3) и 11 (4). Стрелками обозначены подвижности GlcNAc (I), хитобиозы (II), хитотриозы (III) и хитотетраозы (IV)

с помощью гель-хроматографии на колонке с TSK HW-40 (рис. 1, фракция Б) или препаративного электрофореза на бумаге. В продуктах жесткого кислотного гидролиза элюатов с колонки или с бумаги после электрофореза хроматографией на бумаге обнаружили четыре аминсахара с подвижностью глюкозамина, галактозамина, хиновозамина и фукозамина. Набор тех же аминсахаров идентифицировали в гидролизате на аминокислотном анализаторе с соотношением GlcN—GalN—FucN—QuiN 0,88 : 0,95 : : 0,78 : 1,0, что соответствует структуре тетрасахарида или кратного тетрасахарида олигомера. Олигосахарид при хроматографии на колонке с гелем TSK HW-40 элюировали в зоне выхода хитотетраозы, что позволяет выбрать для него структуру тетрасахарида.

В гидролизате тетрасахарида, предварительно восстановленного  $\text{NaBH}_4$ , на анализаторе аминокислот обнаружено значительное уменьшение количества глюкозамина и появление глюкозаминитола. Этот результат указывает на то, что на восстанавливаемом конце тетрасахарида находится остаток GlcNAc, который, очевидно, и соединен фосфодиэфирной связью с остатком мурамовой кислоты пептидогликана.

Малые количества доступного олигосахарида области связи не позволяют исследовать его структуру с помощью стандартных методов. Допол-

нительная информация по этому вопросу была получена в процессе биосинтетических исследований.

Известно, что донорами остатков N-ацетилглюкозамина и N-ацетилгалактозамина в ферментных системах сборки олигосахаридов обычно служат нуклеотидсахара UDP-GlcNAc и UDP-GalNAc [9]. Активированными формами 2-N-ацетиламино-2,6-дидезоксигексоз в исследуемом штамме, очевидно, также являются производные уридиндифосфата: образование UDP-FucNAc и UDP-QuiNAc мы продемонстрировали при инкубации UDP-GlcNAc с NAD<sup>+</sup>, NADPH и экстрактом клеток *S. chrysomallus* sp. 2 [10]. В поисках путей биосинтеза олигосахаридного фрагмента области связи мы обнаружили также, что мембранный препарат из этого микроорганизма катализирует образование и UDP-GlcNAc и UDP-GalNAc полипренилпирофосфатдисахарида, содержащего остатки обеих N-ацетиламиногексоз [11].

В настоящей работе мы исследовали включение остатков 2-ацетиламино-2,6-дидезоксигексоз в состав полипренилпирофосфатолигосахаридов. Для этой цели смесь радиоактивных нуклеотидсахаров, полученную с ферментами из *S. chrysomallus* sp. 2 [10] и содержащую UDP-[<sup>14</sup>C]GlcNAc, UDP-[<sup>14</sup>C]GalNAc, UDP-[<sup>14</sup>C]FucNAc и UDP-[<sup>14</sup>C]QuiNAc, инкубировали с препаратом мембран, как описано [11], и фракцию липид-олигосахаридов анализировали после отщепления липидного компонента хроматографией на колонке с гелем TSK HW-40 (рис. 2). (Параллельно анализировали аналогичную пробу, содержащую в качестве радиоактивного компонента только UDP-[<sup>14</sup>C]GlcNAc). Основная радиоактивность обнаруживалась в зоне выхода хитотетраозы (13—15 мл, фракция I) и N-ацетилглюкозамина (фракция II), небольшая радиоактивность обнаружена в области хитотриозы.

При хроматографии на бумаге радиоактивное вещество фракции I также совпадало по подвижности с хитотетраозой, а вторая фракция содержала два компонента с подвижностью хитобиозы и N-ацетилглюкозамина. Радиоактивность фракции, совпадающей по времени выхода с хитотриозой, оказалась недостаточной для дальнейшего анализа.

Для определения моносахаридного состава фракции I и II подвергали жесткому кислотному гидролизу с последующей хроматографией на бумаге. В гидролизате фракции II обнаружили GlcN и GalN в соотношении 1,7 : 0,9, а в гидролизате фракции I радиоактивность распределилась в четырех зонах, соответствующих по подвижности GalN, GlcN, FucN и QuiN с соотношением 1,0 : 1,3 : 1,2 : 1,0. Моносахаридный состав фракций I и II соответствует тому, что во фракции I элюируется тетрасахарид, содержащий по одному остатку GlcNAc, GalNAc, FucNAc и QuiNAc, а фракция II оказалась смесью N-ацетилглюкозамина и дисахарида, построенного из остатков GlcNAc и GalNAc.

Можно предположить, что обнаруженные моно-, ди- (три-) и тетрасахаридные фрагменты представляют собой последовательные стадии сборки тетрасахарида. Из этих же результатов, следует, что на восстанавливаемом конце олигосахарида узла связи должен находиться остаток GlcNAc, на который переносятся остаток N-ацетилгалактозамина и далее остатки 2-амино-2,6-дидезоксигексоз.

Для более четкой идентификации моносахарида на восстанавливаемом конце олигосахарида фракции I обрабатывали NaBH<sub>4</sub> и после жесткого кислотного гидролиза сравнивали методом хроматографии на бумаге мономерный состав восстановленного и невосстановленного олигосахаридов. Единственный радиоактивный компонент с подвижностью  $R_{GlcNAc}$  0,91, отличающейся от подвижности аминсахаров, соответствовал по подвижности глюкозаминитолу. Следовательно, на восстанавливаемом конце тетрасахарида находится остаток N-ацетилглюкозамина. Появление нового компонента с подвижностью глюкозаминитола наиболее четко видно при анализе олигосахарида, содержавшего радиоактивность только в остатке N-ацетилглюкозамина.

Использование биосинтетических нуклеотидсахаров позволило осуществить *in vitro* биосинтез полипренилпирофосфатного производного тет-



Относительная радиоактивность основных продуктов при хроматографии на бумаге углеводных фрагментов липидолигосахаридов, полученных с мембранами из *Streptomyces chrysomallus* sp.2

Номер пробы	Субстраты инкубационной смеси	Доля радиоактивности (в % от суммарной радиоактивности всей хроматограммы) в зонах с подвижностью $R_{GlcNAc}$				
		1,0	0,92	0,48	0,3	0,2
1	UDP-[ <sup>14</sup> C]GlcNAc	85	0	0	0	0
2	UDP-[ <sup>14</sup> C]GlcNAc, UDP-GalNAc	75	0	10	0	0
3	UDP-[ <sup>14</sup> C]GlcNAc, UDP-QuiNAc	74	0	0	0	0
4	UDP-[ <sup>14</sup> C]GlcNAc, UDP-FucNAc	74	0	0	0	0
5	UDP-[ <sup>14</sup> C]GlcNAc, UDP-GalNAc, UDP-QuiNAc	18	0	11	36	0
6	UDP-[ <sup>14</sup> C]GlcNAc, UDP-GalNAc, UDP-FucNAc	75	0	7	0	0
7	UDP-[ <sup>14</sup> C]GlcNAc, UDP-GalNAc, UDP-FucNAc, UDP-QuiNAc	45	0	0	23	17
8	UDP-[ <sup>14</sup> C]GalNAc, UDP-GlcNAc, UDP-FucNAc	0	15	51	0	0
9	UDP-[ <sup>14</sup> C]GalNAc, UDP-GlcNAc, UDP-QuiNAc	0	8	0	42	0
10	UDP-[ <sup>14</sup> C]GalNAc, UDP-GlcNAc, UDP-FucNAc, UDP-QuiNAc	0	12	16	0	41
11	GlcNAc-PPMpr, UDP-[ <sup>14</sup> C]GalNAc, UDP-FucNAc, UDP-QuiNAc	0	10	0	0	52
12	GalNAc-PPMpr, UDP-[ <sup>14</sup> C]GlcNAc, UDP-FucNAc, UDP-QuiNAc	60	0	0	0	0

\* В системе *n*-амиловый спирт — пиридин — вода (1 : 1 : 0,8) GalNAc имеет подвижность  $R_{GlcNAc}$  0,92, хитобиоза — 0,48, хитотриоза — 0,30, хитотетраоза — 0,2.

расахарида, входящего в состав области связи, определить мономерный состав олигосахарида и природу остатка моносахарида на восстанавливаемом конце цепи. Эти выводы согласуются с данными анализа структуры фрагмента области связи, выделенной из клеточной стенки *S. chrysomallus* sp. 2 (см. выше).

В описанной выше серии экспериментов использовали смесь биосинтетических нуклеотидсахаров, из которой не удается получить отдельно UDP-QuiNAc и UDP-FucNAc, что необходимо для выяснения порядка присоединения 2-N-ацетиламино-2,6-дидезоксигексоз. Для решения этого вопроса мы использовали UDP-*D*-QuiNAc и UDP-*D*-FucNAc, синтезированные в нашей лаборатории [12]. Мембраны из *S. chrysomallus* sp. 2 инкубировали с UDP-аминогексозами в различных комбинациях (таблица) и олигосахаридные компоненты фракции липид-олигосахаридов анализировали хроматографией на бумаге.

Во всех пробах, содержащих UDP-[<sup>14</sup>C]GlcNAc (пробы 1—8), большая доля радиоактивности приходится на зону GlcNAc, дисахаридный фрагмент появляется при добавлении UDP-GalNAc (рис. 3, таблица). Для образования трисахаридного производного необходимо дополнительное присутствие UDP-QuiNAc, но не UDP-FucNAc; при наличии четырех нуклеотидсахаров образуется тетрасахаридное производное. Данные таблиц согласуются с моносахаридной последовательностью в тетрасахаридно-производном: FucNAc-QuiNAc-GalNAc-GlcNAc.

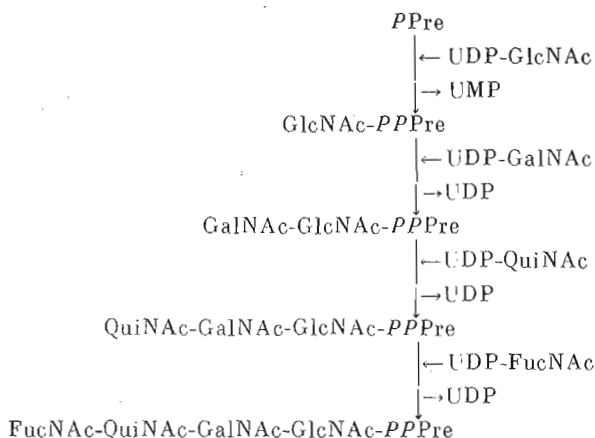
Сравнение количества мономерной фракции в пробах с UDP-[<sup>14</sup>C]GlcNAc и UDP-[<sup>14</sup>C]GalNAc показывает, что соединение GalNAc-PPPre образуется в гораздо меньшем количестве, чем производное GlcNAc-PPPre. Соответственно синтетическое производное GlcNAc-PPMpr могло участвовать в реакциях сборки тетрасахарида, а производное GalNAc-PPMpr было неспособно служить акцептором остатков гексозаминов (пробы 11 и 12). Возможность образования в мембранном препарате из *S. chrysomallus* sp. 2 производного GalNAc-PPPre, отмеченная нами ранее [11], по-видимому, отражает отсутствие абсолютной донорной специфичности трансферазы, катализирующей образование GlcNAc-PPPre, с которого начинается сборка тетрасахаридного производного.

Мы имели возможность охарактеризовать акцепторную специфичность GalNAc-трансферазы, используя синтетические производные FucNAc-

*PPMrg* и *QuiNAc-PPMrg* [12] в сравнении с хорошим акцептором — *GlcNAc-PPMrg*. Оказалось, что ни одно из указанных производных не служило акцептором остатка *GalNAc*, что свидетельствует об определенных требованиях *GalNAc*-трансферазы к структуре остатка гексозамина в акцепторе, а именно: необходимо наличие ОН-группы при С6 и «правильная» конфигурация при С4 остатка гексозамина.

Использование гликозилтрансферазами синтетических нуклеотидсахаров с *D*-конфигурацией 2-амино-2,6-дидезоксигексоз позволяет приписать *D*-конфигурацию остаткам *N*-ацетилфукозамина и *N*-ацетилхинозамина в биосинтетических нуклеотидсахарах и тетрасахаридном фрагменте области связи. *D*-Конфигурация остатков *N*-ацетилглюкозамина и *N*-ацетилгалактозамина также следует из того, что донорами этих аминогексоз служат *UDP-D-GlcNAc* и *UDP-D-GalNAc* соответственно.

Суммируя полученные данные, а также представленные ранее характеристики образующихся липидных производных *GlcNAc-PPPre* и *GalNAc-GlcNAc-PPPre* [11], можно предположить такую последовательность ферментативных реакций при сборке тетрасахаридной части области связи тейхоевой кислоты *S. chrysomallus* sp. 2:



Полипренол, на котором происходит сборка олигосахаридной цепи, по данным ТСХ, хроматографии на DEAE-целлюлозе и устойчивости к кислоте [11] можно отнести к  $C_{55}$ -полипренолу. Сборка всех описанных к настоящему времени областей связи тейхоевых кислот включает в себя образование полипренольных предшественников, при этом в качестве первого промежуточного соединения во всех случаях было идентифицировано производное *GlcNAc-PPPre* [13–16].

### Экспериментальная часть

Выращивание культуры *S. chrysomallus* sp. 2, получение мембран, определение образования липидсвязанных сахаров, счет радиоактивности описаны ранее [11]. Для сборки тетрасахаридного звена использовали смесь уридиндифосфатсахаров, полученных с клеточным экстрактом *S. chrysomallus* sp. 2 и выделенных хроматографией на бумаге, как описано в работе [10], использовали также синтетические нуклеотидсахара *UDP-D-FucNAc* и *UDP-D-QuiNAc* [12]. Гель-хроматографию олигосахаридов проводили на колонке (1 × 40 см) с TSK HW-40 в воде, скорость элюции 1 мл/мин. Стандарты для калибровки (хитобиоза, хитотриоза и хитотетраоза) были любезно предоставлены Н. А. Тиуновой (Институт биохимии им. А. Н. Баха АН СССР). Хроматографию на бумаге проводили на FN-13 (Filtrak, ГДР), для разделения аминсахаров — в системе этилацетат — пиридин — уксусная кислота — вода, 5 : 5 : 1 : 3, а для разделения олигосахаридов — в системе *n*-амиловый спирт — пиридин — вода, 1 : 1 : : 0,8. Для препаративного электрофореза в пиридин-ацетатном буфере, рН 5,5, бумагу промывали 2М уксусной кислотой.

Аминосакхара идентифицировали на анализаторе аминокислот ВС-200 (ФРГ) на смоле Сhromех-8 (колонка 0,9 × 20 см) при 60° С в 0,35 М Na-цитратно-солянокислом буфере, рН 5,28. Гидролизат восстановленного олигосахарида анализировали в боратном буфере, рН 7,24 [17] при 81° С. Фосфор во фракциях определяли по методу [18]. Жесткий кислотный гидролиз олигосахаридов проводили в 4 н. HCl 4 ч при 100° С.

*Выделение тейхоевой кислоты с областью связи.* Лиофилизованную клеточную стенку (около 2 г), полученную из 24-часового мицелия *S. chrysomallus*, как описано [19], обрабатывали 2 раза 50 мМ HCl-глициновым буфером, рН 2,5 (по 30—40 мл) [4] в течение 30 мин при 90° С. Остатки клеточной стенки удаляли центрифугированием, экстракты объединяли, диализовали против дистиллированной воды и лиофилизовали. Выход составлял 500 мг.

100 мг лиофилизованного препарата растворяли в 50 мМ трис-HCl-буфере, рН 7,2, и хроматографировали на колонке (9,4 × 54 см) с DEAE-Toyopearl 650M (Тоуо Soda) в том же буфере в линейном градиенте концентрации NaCl (0—0,5 М, общий объем 700 мл) со скоростью 50 мл/ч, собирая фракции по 4 мл. Фракции, содержащие фосфор, элюировались одним пиком при концентрации NaCl 0,25 М. Эти фракции лиофилизовали, диализовали против воды и дополнительно обессоливали на сефадексе G-50. Выход 50 мг.

*Выделение олигосахаридного фрагмента области связи.* Обессоленный препарат тейхоевой кислоты с областью связи обрабатывали 30 мин 0,5 н. NaOH при 37° С, нейтрализовали 0,5 М CH<sub>3</sub>COOH и проводили электрофоретическое разделение продуктов гидролиза или хроматографию на TSK HW-40.

Электрофорез проводили 3—5 ч при градиенте потенциала 20В/см в пиридин-ацетатном буфере, рН 5,5. Зону нейтральных веществ (идентифицирована по подвижности глицерина) элюировали водой, раствор лиофилизовали. Выход 4 мг.

При другом варианте разделение продуктов щелочного гидролиза проводили на колонке (11,5 × 80 см) с TSK HW-40 в воде со скоростью 1 мл/мин, во фракциях определяли фосфор и поглощение при 220 нм. Кривая разделения представлена на рис. 1. Фракцию Б упаривали досуха. Выход 5 мг.

В инкубационную смесь для ферментативного синтеза полипренилпирофосфатолигосахаридов вносили по 25 нмоль каждого нуклеотидсахара, 15 мкл 0,2 М MgCl<sub>2</sub>, 10 мкл 50 мМ трис-HCl-буфера, рН 7,8, с 5 мМ MgCl<sub>2</sub> и 1 мМ EDTA, 100 мкл мембран *S. chrysomallus*. Инкубацию проводили 1 ч при 30° С и смесь обрабатывали как описано [11].

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ward J. B. // Microbial Rev. 1984. V. 45. № 2. P. 211—243.
2. Heptinstall J., Coley J., Ward P. J., Archibald A. R., Baddiley J. // Biochem. J. 1978. V. 169. № 2. P. 329—336.
3. Kaya Sh., Yokoyama K., Araki Y., Ito E. // Biochem. and Biophys. Res. Commun. 1983. V. 111. № 1. P. 312—318.
4. Kaya Sh., Araki Y., Ito E. // Eur. J. Biochem. 1985. V. 147. № 1. P. 41—46.
5. Sasaki Y., Araki Y., Ito E. // Eur. J. Biochem. 1983. V. 132. № 1. P. 207—213.
6. Kojima N., Araki Y., Ito E. // J. Biol. Chem. 1983. V. 258. № 19. P. 9043—9045.
7. Стрешинская Г. М., Дружинина Т. Н., Наумова И. Б., Шibaев В. Н. // Тез. докл. II Всесоюз. конф. «Результаты и перспективы научных исследований микробных полисахаридов». Л.: Ленинградский хим.-фармацевт. ин-т, 1984. С. 21, 22.
8. Streshinskaya G. M., Naumova I. B. // 6th Intern. Symp. Biol. Actinomycetes. 1985. P. 168. Debrecen. Hungary.
9. Шibaев В. Н. // Успехи биол. химии. 1982. Т. 23. С. 61—101.
10. Дружинина Т. Н., Гошадзе М. Ш., Стрешинская Г. М., Шibaев В. Н. // Биоорган. химия. 1988. Т. 14. № 12. С. 1690—1694.
11. Стрешинская Г. М., Дружинина Т. Н., Наумова И. Б., Шibaев В. Н. // Биоорган. химия. 1987. Т. 13. № 1. С. 102—108.
12. Мальцев С. Д., Данилов Л. Л., Шibaев В. Н. // Биоорган. химия. 1991. Т. 17. № 4. С. 540—545.
13. Yokoyama K., Miyashita T., Araki Y., Ito E. // Eur. J. Biochem. 1986. V. 161. № 2. P. 479—489.
14. Yokoyama K., Araki Y., Ito E. // Eur. J. Biochem. 1987. V. 165. № 1. P. 47—53.



15. Yokoyama K., Mizuguchi H., Araki Y., Kaya Sh., Ito E. // J. Bacteriol. 1989. V. 171. № 2. P. 940—946.
16. Murazumi N., Sasaki Y., Okada J., Araki Y., Ito E. // Biochem. and Biophys. Res. Commun. 1981. V. 99. № 2. P. 504—509.
17. Yagushi M., Perry M. B. // Can. J. Biochem. 1970. V. 48. № 3. P. 386—388.
18. Hess H. H., Derr J. E. // Anal. Biochem. 1975. V. 63. № 2. P. 607—613.
19. Стрешинская Г. М., Наумова И. Б., Панина Л. И. // Микробиология. 1979. Т. 48. № 5. С. 814—819.

Поступила в редакцию  
16.VIII.1990

T. N. DRUZHININA, G. M. STRESHINSKAYA\*, M. Sh. GOSHADZE,  
V. N. SHIBAEV, I. B. NAUMOVA\*

**STRUCTURAL STUDIES ON THE LINKAGE UNIT BETWEEN TEICHOIC  
ACID AND PEPTIDOGLYCAN IN CELL WALL OF *STREPTOMYCES  
CHRYSOMALLUS* SP. 2 AND BIOSYNTHESIS OF ITS TETRASACCHARIDE  
FRAGMENT**

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

*\* M. V. Lomonosov Moscow State University*

The linkage unit in ribitol teichoic acid of *Streptomyces chrysomallus* sp. 2 was purified and found to contain a tetrasaccharide, composed of GlcNAc, GalNAc, FucNAc and QuiNAc residues. The enzymic synthesis of polyprenyl pyrophosphate tetrasaccharide was performed using biosynthetic and synthetic uridine diphosphate aminohexoses. N-acetylglucosamine residue was identified at the reducing end of the tetrasaccharide. The synthetic derivatives QuiNAc — PPMpr and FucNAc — PPMpr could not serve as intermediates in the enzymic synthesis of the tetrasaccharide fragment.