



УДК 597.553.2.088:547.963.1.02:543.544

© 1992 г.

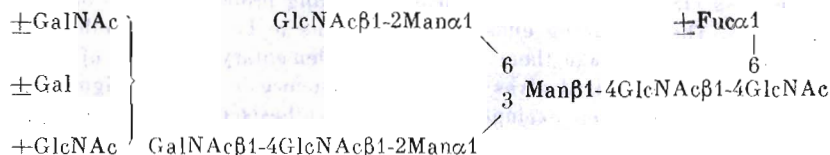
Г. А. Зенжевич, Н. П. Арбатский\*, В. П. Сланке,  
А. О. Желтова\*, В. А. Деревицкая\*

СТРУКТУРА УГЛЕВОДНЫХ ЦЕПЕЙ ДИМЕРНОЙ МОЛЕКУЛЫ  
И ОТДЕЛЬНЫХ СУБЪЕДИНИЦ ГОНАДОТРОПИНА  
РУССКОГО ОСЕТРА

Институт биологии Латвийской АН, Саласпилс;

\* Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского РАН, Москва

Проведен сравнительный анализ N-связанных углеводных цепей, содержащихся в  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединицах гонадотропного гормона (ГТН) из гипофиза русского осетра, а также углеводных цепей гормона, выделенного из самцов и самок. Фракционирование полученных из каждого образца олигосахаридов с помощью ВЭЖХ показывает, что гонадотропин самцов и самок не различается как по набору углеводных фрагментов, так и по их соотношению, тогда как различия в  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединицах имеют более выраженный характер. На основании хроматографического поведения олигосахаридов, их моносахаридного состава и литературных аналогий предполагается, что большинство углеводных цепей гонадотропина имеет следующую структуру:



Кроме того, в гонадотропине имеются углеводные цепи олигоманнозидного и/или гибридного типа, а также короткие фрагменты типа пентасахаридного кора. Главным отличием углеводных цепей ГТН рыб от углеводных цепей ГТН млекопитающих является низкая степень их сиадирования и сульфатирования.

Гонадотропный гормон (гонадотропин, ГТН) рыб, в частности гонадотропин русского осетра *Acipenser guldensstädti* Вг., являясь типичным представителем семейства гликопротеиновых гормонов, по ряду параметров молекулярного строения очень близок к гонадотропину млекопитающих [1]. Успехи, достигнутые в изучении структурно-функциональных свойств гонадотропинов млекопитающих, связаны главным образом с выяснением строения и биологической функции белковой части гетеродимерной молекулы, в то время как ковалентно связанный с нею весьма массивный и химически неоднородный углеводный компонент долгое время оставался гораздо менее исследованным. Этот пробел в значительной мере устранен благодаря исследованиям, проведенным в 80-х годах, в результате которых установлена структура углеводных цепей хориогонадотропина [2], лютропина [2-4] и фоллитропина [2, 3] животных и человека. При этом выявлена важная роль углеводов в гормон-рецепторных процессах и передаче гормонального сигнала в клетку [5-9], в сохранении функционально полноценной конформации [7, 8] и устойчивости молекулы гормона в кровотоке [2, 6, 8].

Значительно меньше внимания уделялось изучению гормонов других животных, в частности рыб. Тем не менее установлено [1, 10], что ГТН осетра содержит около 30% ковалентно связанных углеводов, большая

часть которых находится в  $\alpha$ -субъединице гормона ( $\alpha$ -ГТН). Путем частичного химического дегликозилирования димера и отдельных субъединиц было показано [10, 11], что углеводная часть гонадотропина осетра, как и гормона млекопитающих, имеет существенное значение в определении биологически эффективной конформации субъединиц и димерной молекулы и влияет на специфическую активность и иммунологические свойства гормона. Вместе с тем строение углеводного компонента гонадотропина осетра, как и других видов рыб, оставалось неизвестным, что препятствовало выяснению влияния отдельных элементов структуры молекулы, и в частности ее углеводного компонента, на биологические свойства гормона. В связи с этим основная цель данной работы состояла в выяснении структуры углеводных цепей как димерной молекулы, так и отдельных субъединиц ГТН русского осетра. Одновременно проводился поиск возможных различий в структуре углеводной части гонадотропина рыб разного пола.

Объектом исследования были хроматографически чистые биологически активные препараты гонадотропина самцов и самок (ГТН $\sigma$  и ГТН $\rho$ ) осетра, а также  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединицы гормона ( $\alpha$ -ГТН и  $\beta$ -ГТН), выделенного из смеси гипофизов рыб разного пола [12, 13]. Представленные в табл. 1 результаты анализа показывают (строки А), что углеводный состав исследуемых препаратов гормона и его субъединиц близок к установленному ранее [10, 11]. Расчет числа остатков моносахаридов на молекулу гликопротеина (табл. 1, Б) убеждает, что молекулы  $\beta$ -ГТН,  $\alpha$ -ГТН и ГТН содержат соответственно одну, две и три углеводные цепи, что согласуется с имеющимися данными относительно гонадотропина млекопитающих [2, 6]. Содержание нейраминной кислоты в данном случае не определяли, однако из полученных ранее результатов [10] следует, что в среднем на одну углеводную цепь гормона осетра ее приходится 0,1—0,2 остатка.

Углеводные цепи исследуемых препаратов ГТН отщепляли щелочным раствором LiВН<sub>4</sub> в водном *трет*-бутаноле [14]. Такая обработка позволяет получать недеградированные углеводные фрагменты N-гликопротеинов в виде восстановленных олигосахаридов, при этом каких-либо побочных реакций, например десалирования, не происходит. Из приведенных в табл. 1 результатов анализа (строки Г, Д) следует, что в расчете на образовавшийся глюкозаминитол из разных образцов ГТН получено от 40 до 90 нмоль смесей олигосахаридов. Отсутствие галактозаминитола во всех смесях убеждает в том, что ГТН осетровых не содержит O-цепей, которые, не являясь типичными для гормонов гипофиза, тем не менее имеются в хорионическом гонадотропине человека [2, 6]. Соотношение моносахаридов в полученных образцах несколько варьирует (табл. 1, строки Д), но несомненно указывает на наличие N-цепей, содержащих остатки N-ацетилгалактозамина.

При фракционировании сложных смесей олигосахаридов целесообразно сначала разделить углеводные фрагменты в зависимости от их молекулярной массы с помощью гель-хроматографии [15]. Поэтому смеси олигосахаридов, полученные из ГТН $\sigma$  и ГТН $\rho$ , были разделены на колонке с гелем TSK HW-40 на две фракции: более высокомолекулярную (фракция I) и более низкомолекулярную (фракция II). Далее каждую из фракций хроматографировали с помощью ВЭЖХ, которая с успехом применялась нами [15, 16] и другими авторами [17—19] для выделения и структурного анализа углеводных фрагментов различных гликопротеинов. Хроматографические свойства большого числа типичных для гликопротеинов углеводных фрагментов хорошо известны [18—20], однако данные о поведении N-олигосахаридов, содержащих остатки N-ацетилгалактозамина, отсутствуют. В настоящей работе использовалась хромато-



Моносахаридный состав углеводных цепей GTH, его  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц и полученных из них олигосахаридов

Препарат	Характеристика *	Man	Fuc	Gal	GlcNAc	GalNAc	GlcNAc-ol
GTH $\sigma$	A	870	110	107	712	205	0
	B	9,8	1,2	1,2	8,0	2,3	0
	B	3,3	0,4	0,4	2,7	0,8	0
	Г	418	83	48	388	122	93
	Д	4,5	0,9	0,5	4,2	1,3	1
GTH $\varphi$	A	1090	148	132	868	227	0
	B	11,0	1,5	1,3	8,7	2,2	0
	B	3,7	0,5	0,4	2,9	0,7	0
	Г	438	82	39	342	94	85
	Д	5,2	1,0	0,5	4,0	1,1	1
$\alpha$ -GTH	A	850	48	69	687	186	0
	B	6,9	0,4	0,6	5,6	1,5	0
	B	3,4	0,2	0,3	2,8	0,7	0
	Г	214	14	17	132	35	59
	Д	3,6	0,2	0,3	2,2	0,6	1
$\beta$ -GTH	A	392	118	64	385	153	0
	B	2,1	0,6	0,3	2,0	0,8	0
	B	2,1	0,6	0,3	2,0	0,8	0
	Г	127	34	26	140	52	44
	Д	2,9	0,8	0,6	3,2	1,2	1

\* А — количество нмоль моносахарида в исходных образцах; Б — рассчитанное число моносахаридных остатков на 1 моль гликопротеина; В — средний состав углеводной цепи с учетом того, что в GTH,  $\alpha$ -GTH и  $\beta$ -GTH имеется три, две и одна цепь соответственно; Г — количество нмоль в смеси олигосахаридов; Д — средний состав углеводной цепи в расчете на 1 моль GlcNAc-ol.

графия на колонке Ultrasphere-C18 в системе вода — метанол с УФ-детекцией при 200 нм.

На рис. 1а представлен результат разделения модельной смеси олигосахаридов из IgG [16], содержащей нейтральные нефукозилированные и фукозилированные биантенные цепи с различным числом концевых остатков галактозы. Эта смесь использовалась нами в качестве стандартной для калибровки колонки и возможной идентификации отдельных олигосахаридов. При этом важно подчеркнуть, что на Ultrasphere-C18 достигается эффективное разделение только нейтральных олигосахаридов, так как кислые олигосахариды (сиалированные или сульфатированные) на данном носителе слабо удерживаются. Так, например, сиалированный биантенный олигосахарид из фибриногена [21] элюируется с фронтом растворителя (рис. 1б), однако после десалирования (НСООН, pH 2,1, 80°С, 1 ч) время его элюции совпадает с таковым для аналогичного биантенного олигосахариды из IgG.

Хроматографирование исследуемых смесей олигосахаридов (30–50 нмоль) проводили в один прием, собирая все главные компоненты вручную, руководствуясь показаниями УФ-детектора. Профили полученных хроматограмм (рис. 1в–з) показывают, что гетерогенность углеводных цепей GTH очень велика: каждая смесь содержала не менее 10 олигосахаридов, причем большинство из них обнаруживаются во всех образцах. Фракции I и II, хотя и состоят в основном из одинаковых компонентов (ср. в, г и д, е), различаются по их соотношению. В высокомолекулярной фракции I доминирует олигосахарид 12 (ОС-12), тогда как во фракции II его содержание невелико. Напротив, ОС-5 содержится только во фракции II и, следовательно, имеет на один или несколько моносахаридных остатков

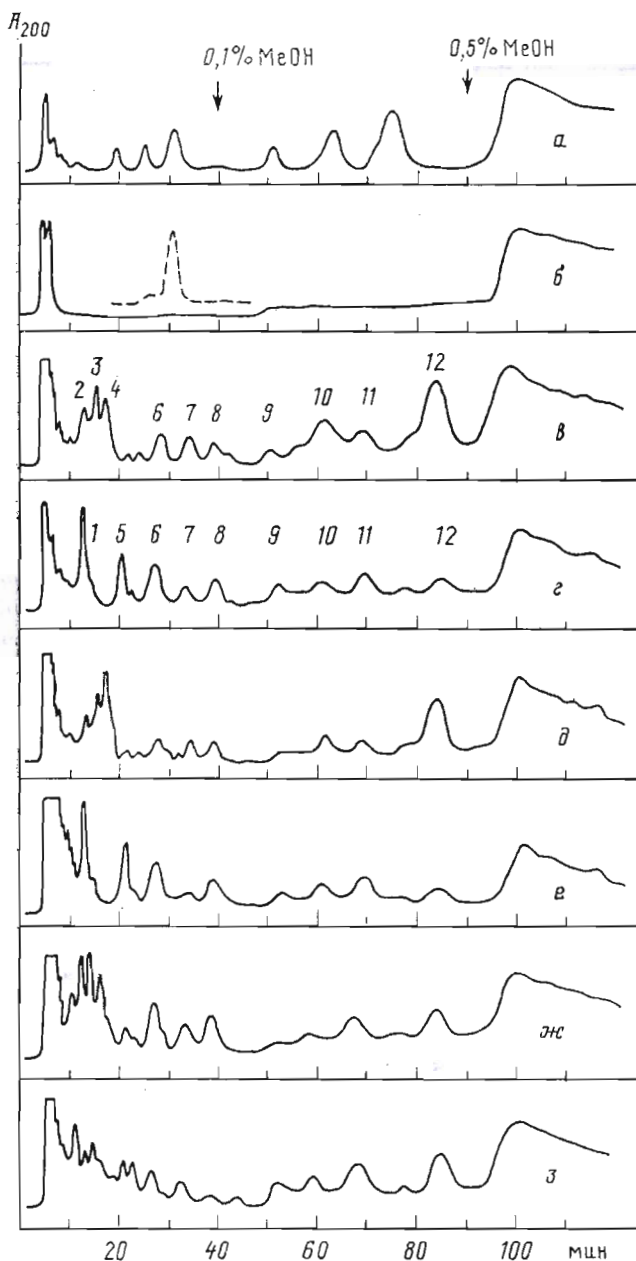


Рис. 1. ВЭЖХ смесей олигосахаридов на колонке Ultrasphere-C18 в градиенте вода-метанол. *a* – смесь биантенных олигосахаридов из IgG [16], содержащих 0, 1 и 2 концевых остатка галактозы; нефукозилированные цепи (первые три пика) и фукозилированные цепи (последние три пика); *b* – сialiрованный биантенный олигосахарид из фибриногена [21], штриховой линией изображено место элюции десалированного олигосахарид; *c*, *z* – олигосахаридные фракции I и II из GTH $\phi$ ; *d*, *e* – олигосахаридные фракции I и II из GTH $\psi$ ; *ж*, *з* – смеси олигосахаридов из  $\alpha$ -GTH и  $\beta$ -GTH соответственно. Цифрами обозначены олигосахариды, выделенные из всех исследуемых смесей (*e*–*з*), их моносахаридный состав приведен в табл. 2

Моносахаридный состав олигосахаридов

Таблица 2

Олигосахарид	Количество, нмоль	Man	Fuc	Gal	Glc-Nac	GalNac	GlcNac-ol
ОС-1	29	1,4	Следы	0	1,6	Следы	1
ОС-2	2,6	4,3	»	0,1	2,5	0,2	1
ОС-3	5,4	6,2	»	Следы	2,2	0,3	1
ОС-4	3,5	8,4	0	0,3	3,7	1,3	1
ОС-5	3,6	3,5	0,5	0,1	2,5	0,4	1
ОС-6	4,8	3,6	0,6	0,3	3,3	0,8	1
ОС-7	2,2	3,8	0,2	0,9	3,5	1,2	1
ОС-8	3,4	3,2	0,1	0,7	3,9	0,8	1
ОС-9	2,8	3,2	1,2	1,1	3,0	0,4	1
ОС-10	3,6	3,3	1,3	0,8	4,1	1,3	1
ОС-11	4,1	3,4	1,4	0,2	3,4	1,4	1
ОС-12	5,8	3,6	1,1	0,3	3,2	2,3	1

\* Приведено количество олигосахаридов, полученного после объединения фракций с одинаковым временем удерживания при ВЭЖХ из разных препаратов (рис. 1 в — з).

меньше, чем ОС-12. Особенно заметные различия в картине элюции наблюдаются у этих фракций в пределах 10–20 мин; в этой области фракция I содержит три близких по соотношению пика, а фракция II — один очень интенсивный компонент. Картина разделения аналогичных фракций из ГТН♂ и ГТН♀ (ср. в, д и г, е) методом ВЭЖХ не обнаруживает существенных различий между ними, что весьма убедительно показывает идентичность гонадотропина самцов и самок осетра как по составу содержащихся у них углеводных цепей, так и по их количественному соотношению.

Те же олигосахаридные компоненты обнаруживаются и в α-ГТН и β-ГТН (рис. 1 ж, з), хотя в этом случае гораздо заметнее различия в относительном количестве отдельных олигосахаридов. В качестве наиболее существенных различий следует отметить повышенное содержание в β-ГТН олигосахаридов, элюирующихся в интервале 50–85 мин, и малое содержание ОС-2, ОС-3, ОС-4, ОС-6 и ОС-8, тогда как в α-ГТН по сравнению с β-ГТН почти полностью отсутствуют олигосахариды ОС-9 и ОС-10.

В гидролизатах всех фракций, элюирующихся с фронтом растворителя (5–10 мин), обнаруживается небольшое количество (10–15% от взятого образца) нейтральных моносахаридов и аминокислот в соотношении, близком к таковому в исходных олигосахаридных смесях. Незначительное содержание глюкозаминита в гидролизатах этих фракций показывает, что они в основном состоят из гликопептидов, не полностью отделенных на катионите от олигосахаридов. Это позволяет сделать важный вывод, что в отличие от гонадотропина млекопитающих гормон осетровых содержит сравнительно мало кислых олигосахаридов, имеющих остатки нейраминной кислоты или сульфатные группы.

Ввиду сходства хроматограмм смесей олигосахаридов исследуемых гормональных препаратов и малого количества материала главные олигосахариды (ОС-1 — ОС-12) с совпадающими временами элюции, выделенные из разных препаратов (см. рис. 1), были объединены и подвергнуты анализу моносахаридного состава (табл. 2). В главном компоненте (или компонентах) ОС-1, на долю которого приходится не менее 20% углеводов, отсутствует фукоза, галактоза и галактозамин, а глюкозамин и маннозы содержится не более чем по два остатка. Учитывая хроматографические особенности компонента ОС-1 и то, что он получен из низкомолекулярной фракции II (рис. 1 г, е), можно предполагать, что ОС-1 пред-



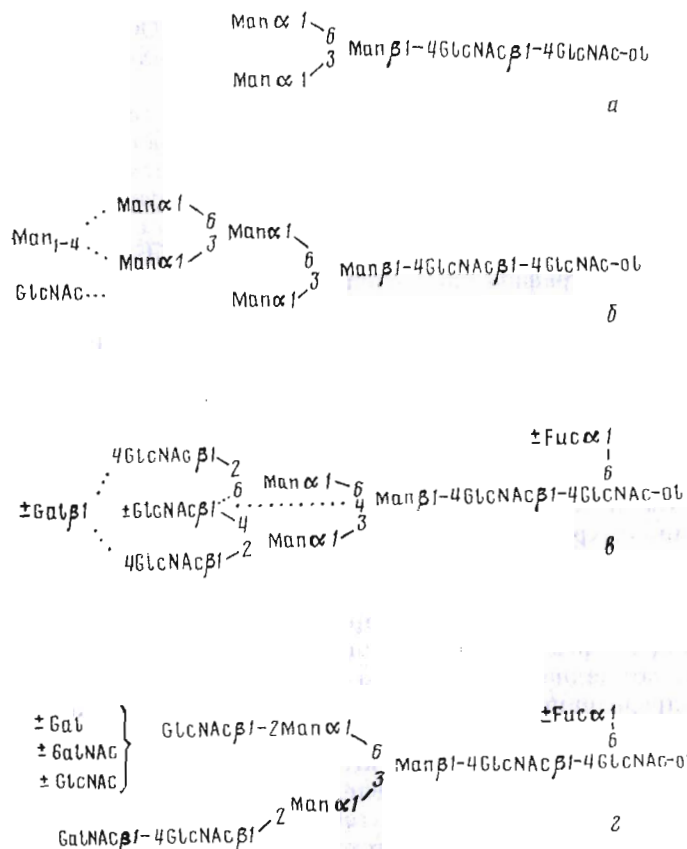


Рис. 2. Структура нейтральных углеводных фрагментов N-гликопротеинов. *a* – пентасахаридный кор; *b* – олигоманнозидная (Man) и гибридная (GlcNAc) цепи; *v* – комплексная цепь (в общем виде); *z* – наиболее характерный фрагмент структуры олигосахаридов ГТН млекопитающих [3, 4]

ставляет собой смесь коротких, близких к пентасахаридному кору (рис. 2*a*) фрагментов с общей формулой  $\text{GlcNAc}_n \text{Man}_m \text{GlcNAc}_l \text{GlcNAc-ol}$  ( $n=0, 1$  или  $2$ ;  $m=2$  или  $3$ ). Как уже отмечалось, олигосахариды ОС-2, ОС-3 и ОС-4 имеют относительно большой размер, поскольку они выделяются из высокомолекулярной фракции I. В них не обнаруживается фукоза и галактоза, а число остатков маннозы достигает восьми. Это показывает, что данные фрагменты являются олигоманнозидными и/или гибридными цепями (рис. 2*b*), что подтверждается и их хроматографическими свойствами, так как известно, что эти типы цепей элюируются именно в этой области [18, 20].

Моносахаридный состав остальных олигосахаридов типичен для обычных N-связанных комплексных цепей (рис. 2*v*), за исключением того, что во всех олигосахаридях, кроме ОС-5 и ОС-9, имеется дополнительный остаток N-ацетилгалактозамина, а ОС-12 содержит два таких остатка. Большинство из этих олигосахаридов содержит остатки маннозы, глюкозамина, галактозамина и глюкозаминитола в соотношении 3 : 3 : 1 : 1. Поскольку наиболее типичным и характерным элементом структуры углеводных цепей ГТН млекопитающих [2–4] является структура, представленная на рис. 2*z*, можно предположить, что этот же фрагмент составляет основу структуры выделенных нами олигосахаридов ОС-5–ОС-12. В таком случае различия между олигосахаридами заключаются лишь

в наличии дополнительных остатков галактозы (ОС-7—ОС-10), фукозы (ОС-9—ОС-12), глюкозамина (ОС-8, ОС-10) и галактозамина (ОС-12) (табл. 2).

Таким образом, олигосахариды комплексного типа в гонадотропине осетра имеют ту же самую характерную особенность, которая присуща N-цепям ГТН млекопитающих: в значительной части цепей один или оба остатка галактозы заменены на остатки N-ацетилгалактозамина. Такая замена в структуре олигосахаридов приводит, по-видимому, лишь к некоторому увеличению времени его элюции при ВЭЖХ. На это указывает сравнение хроматографической подвижности биантенных фукозилированных олигосахаридов из IgG, содержащих 1 и 2 концевых остатка галактозы (рис. 1а, два последних пика) и ОС-11 и ОС-12, имеющих соответственно 1 и 2 концевых остатка N-ацетилгалактозамина. Отмеченный факт расширяет круг установленных ранее закономерностей [18—20], связывающих особенности структуры олигосахаридов с его поведением при ВЭЖХ.

В последние годы для анализа углеводных фрагментов N-гликопротеинов, в том числе и ГТН млекопитающих, используется многоступенчатая аффинная хроматография на лектинах [3]. Этот подход весьма сложен в техническом отношении, и, кроме того, лектины не обладают достаточно строгой специфичностью к различным углеводным структурам, что может приводить к не вполне корректным выводам. Фракционирование олигосахаридов с помощью ВЭЖХ значительно проще в методическом отношении и, как видно из полученных нами результатов, позволяет прийти к вполне определенным выводам о типах углеводных цепей и их соотношении уже после однократной хроматографии.

Резюмируя полученные результаты, можно заключить, что в целом структура углеводных цепей исследованных препаратов гонадотропина осетра аналогична таковой для гормона млекопитающих, в частности лютропина овцы и крупного рогатого скота [2, 3]. В каждом из интактных препаратов гонадотропина осетра независимо от их половой принадлежности к коровому пентасахариду присоединено, как правило, одно звено GalNAc-GlcNAc, тогда как типичных для N-цепей звеньев Gal-GlcNAc содержится гораздо меньше. У ГТН $\sigma$  и ГТН $\rho$  на уровне проведенного исследования не выявлено достоверных различий в структуре углеводных компонентов, хотя необходимо заметить, что в данном случае не определялось наличие в гормонах сиаловых кислот, являющихся функционально значимым компонентом углеводной части гонадотропина [2, 6]. Из полученных нами данных следует, что содержание спалированных углеводных цепей в гонадотропине осетра, так же как и в лютропине быка и овцы [3], не превышает 10—15%.

Сопоставление соотношения отдельных типов углеводных цепей  $\alpha$ -ГТН осетра и  $\alpha$ -субъединицы лютропина овцы [4] показывает, что в обоих случаях велико содержание гибридных цепей, в то время как в  $\beta$ -субъединицах этих же гормонов преобладают фукозилированные цепи с большим числом остатков гексозаминов и двумя звеньями GalNAc-GlcNAc (ОС-12). По-видимому, и здесь, на уровне строения углеводных цепей комплементарных субъединиц ГТН, определенным образом проявляется характерная для  $\beta$ -ГТН повышенная гетерогенность и вариабельность молекулярной структуры, определяющая не только структурно-функциональные свойства  $\alpha$ -ГТН в гетеродимере, но и видовую специфичность молекулы гормона в целом.

Выявлены существенные различия гонадотропинов осетра и млекопитающих по степени сульфатирования их углеводных цепей. Если количество сульфатированных цепей в фоллитропине человека и быка состав-

ляет ~10%, а в лютропине овцы достигает 80% [3], то в исследованном нами гонадотропине осетра их содержание, по-видимому, очень незначительно. Стоит отметить также, что выделенные нами олигосахариды ОС-8 и ОС-10 содержат четыре остатка N-ацетилглюкозамина, т. е. являются триантенными или бисектными. Триантенные цепи найдены только в фоллитропине человека и овцы, а бисектные — в лютропине овцы и фоллитропине человека [3].

Как уже отмечалось,  $\alpha$ -ГТН и  $\beta$ -ГТН осетра содержат две и одну углеводные цепи соответственно. В то же время различия в степени гетерогенности и соотношении отдельных олигосахаридных фрагментов у них сравнительно невелики. Из этого можно заключить, что в каждом из трех сайтов гликозилирования гонадотропина осетра, как и у гонадотропинов млекопитающих [2, 4, 6], вероятно, имеется близкий набор олигосахаридных структур, но относительное содержание каждой из них несколько варьирует (сайт-специфическое распределение).

Имеющийся в настоящее время фактический материал, полученный различными авторами при исследовании углеводных цепей гонадотропинов млекопитающих животных и человека, ясно показывает, что характер и степень гликозилирования молекулы зависят от типа гормона и его видовой принадлежности [2–4]. Действительно, полученные нами данные также свидетельствуют о существовании определенных структурных особенностей как скелета углеводных цепей, так и характера их терминации, обусловленных видовой специфичностью гонадотропина осетра, однако при этом обнаруживается и несомненный параллелизм строения углеводной части ГТН рыбы и млекопитающих, свойственный всему семейству гликопротеиновых гормонов.

### Экспериментальная часть

Высокоочищенные препараты ГТН осетра получали из гипофизов по ранее описанной схеме [12], включающей в себя экстракцию желез, пересаживание, фракционирование и очистку гормона гель-хроматографией, ионообменной и аффинной хроматографией. Субъединицы гонадотропина выделяли из диссоциированного 8 М мочевиной гормона на ионообменной колонке с SE-сефадексом G-25 [13]. Все препараты после обессоливания лиофилизировали. Углеводные цепи гликопротеинов (образцы ~2 мг) отщепляли обработкой смесью 2 М  $\text{LiBH}_4$  — 5 мМ  $\text{LiOH}$  в 75% трет-бутиловом спирте [14]. После обессоливания на сефадексе G-15 смесь олигосахаридов и гликопептидов восстанавливали  $\text{NaBH}_4$  и разделяли на катионите AG-50X2 ( $\text{H}^+$ ). Восстановленные олигосахариды из ГТН $\sigma$  и ГТН $\rho$  разделяли на две фракции (I и II) с помощью гель-хроматографии на колонке с TSK HW-40 (вода) с детекцией по реакции с орцином и  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . ВЭЖХ смесей олигосахаридов проводили на хроматографе Bio Rad (США), используя колонку Ultrasphere-C18 (4,6×250 мм, Altex, США) и УФ-детекцию при 200 нм. Условия элюции: 0–40 мин, вода (0,4 мл/мин); 40–90 мин, 0,1% метанол (0,5 мл/мин); далее 0,5% метанол (1 мл/мин). Колонку калибровали олигосахаридами с известным строением, полученными из фибриногена и иммуноглобулина [16].

Моносахаридный состав исследуемых препаратов гонадотропина и олигосахаридных фракций определяли [15] с помощью анализатора Biotronic LC-2000 (ФРГ) после гидролиза в течение 16 ч 4 н.  $\text{HCl}$  при 100°С (аминокислоты, аминсахара) и в течение 6 ч 3 н.  $\text{CF}_3\text{COOH}$  при 100°С (нейтральные сахара).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зенкевич Г. А. // Успехи совр. биол. 1990. Т. 110. Вып. 2 (5). С. 256–266.
2. Bahl O. P., Reddy M. S., Kalyan N., Henner J. // J. Sci. and Ind. Res. 1980. V. 39. № 12. P. 734–744.



3. Green E. D., Baenziger J. U. // J. Biol. Chem. 1988. V. 263. № 1. P. 25-35, 36-44.
4. Weisshaar G., Hiyama J., Renwick A. G. C. // Eur. J. Biochem. 1990. V. 192. № 3. P. 740-751.
5. Kalyan N. K., Bahl O. P. // J. Biol. Chem. 1983. V. 258. № 1. P. 67-74.
6. Bahl O. P., Thotakura N. R., Anumula K. R. // Hormone Receptors in Growth and Reproduction. N. Y.: Raven Press, 1984. P. 165-183.
7. Keutmann H. T., Johnson L., Ryan R. J. // FEBS Lett. 1985. V. 185. № 2. P. 333-338.
8. Paulson J. C. // TIBS. 1989. V. 14. № 7. P. 272-276.
9. Browne E. S., Flasch M. V., Sairam M. R., Bhalla V. K. // Biochim. et biophys. acta. 1990. V. 1033. № 3. P. 226-234.
10. Зенкевич Г. А., Кирстукас И. П., Лаце З. М., Сланке В. П., Вальдман А. Р. // Докл. АН СССР. 1985. Т. 281. № 2. С. 473-475.
11. Зенкевич Г. А., Кирстукас И. П., Сланке В. П., Лаце З. М. // Изв. АН Латв.ССР. 1986. № 4. С. 87-91.
12. Зенкевич Г. А., Лаце З. М. // Вопр. ихтиологии. 1979. Т. 19. Вып. 5. С. 883-889.
13. Зенкевич Г. А., Кирстукас И. П., Лаце З. М., Сланке В. П. // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1985. № 4. С. 594-603.
14. Лихошерстов Л. М., Новикова О. С., Дерезицкая В. А., Кочетков Н. К. // Докл. АН СССР. 1984. Т. 274. № 1. С. 222-225.
15. Arbatsky N. P., Derevitskaya V. A., Zheltova A. O., Kochetkov N. K., Likhoshers-tov L. M., Senchenkova S. N., Yurtov D. V. // Carbohydr. Res. 1988. V. 178. № 1. P. 165-181.
16. Арбатский Н. П., Маргынова М. Д., Дерезицкая В. А., Кочетков Н. К. // Докл. АН СССР. 1987. Т. 297. № 4. С. 995-999.
17. Honda S. // Analyt. Biochem. 1984. V. 140. № 1. P. 1-47.
18. Tomiya N., Awaya J., Kurano M., Endo S., Arata Y., Takahashi N. // Analyt. Biochem. 1988. V. 71. № 1. P. 73-90.
19. Hase S., Ikenaka T. // Anal. Biochem. 1990. V. 184. № 1. P. 135-138.
20. Arbatsky N. P., Martynova M. D., Zheltova A. O., Derevitskaya V. A., Kochet-kov N. K. // Carbohydr. Res. 1989. V. 187. № 1. P. 165-171.
21. Debeire P., Montreuil J., Moczar F., van Halbeek H., Vliegenthart J. F. G. // Eur. J. Biochem. 1985. V. 151. № 2. P. 607-611.

Поступила в редакцию  
21.VI.1991

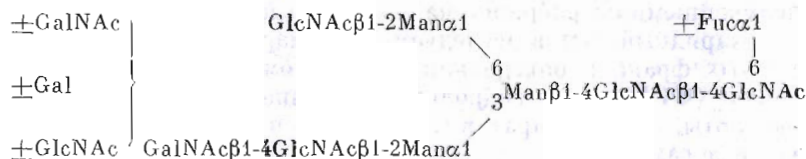
H. A. ZENKEVICH, N. P. ARBATSKY\*, V. P. SLANKE, A. O. ZHELTOVA\*,  
V. A. DEREVITSKAYA\*

### THE STRUCTURE OF THE CARBOHYDRATE CHAINS OF DIMERIC MOLECULE AND INDIVIDUAL SUBUNITS OF THE RUSSIAN STURGEON GONADOTROPIN

*Institute of Biology, Latvian Academy of Sciences, Salaspils;*

\* *N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences,  
Moscow*

Carbohydrate chains of gonadotropin from the Russian sturgeon hypophysis, as well as of  $\alpha$ - and  $\beta$ -subunits of the hormone, were split off and fractionated by gel-chromatography and HPLC. More than ten oligosaccharides released from the male and female hormones gave almost identical patterns, whereas differences between  $\alpha$ - and  $\beta$ -subunits were more noticeable. Basing on the chromatographic properties and monosaccharide compositions of the oligosaccharides isolated and the known structures of N-linked carbohydrates of mammalian hormones, the common carbohydrate chain of sturgeon gonadotropin is as follows:



Some oligomannosidic and/or hybrid chains and small oligosaccharides of the pentasaccharide core type were also found. Carbohydrate chains of fish gonadotropin have fewer sialic acid residues and significantly fewer (if any) sulphate groups than the mammalian hormones.