



УДК 597.553.2'114.7.088:577.175.329'13

© 1994 Г. А. Зенкевич, Н. П. Арбатский*, А. О. Желтова*,
В. П. Сланке, З. М. Лаце

ХАРАКТЕРИСТИКА УГЛЕВОДНЫХ ЦЕПЕЙ СВЯЗЫВАЮЩЕЙСЯ И НЕ СВЯЗЫВАЮЩЕЙСЯ С КОНКАНАВАЛИНОМ А ФОРМ ГОНАДОТРОПНОГО ГОРМОНА ГОРБУШИ

Институт биологии Латвийской АН, Саласпилс;

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

Ключевые слова: гормон гонадотропный, гликопротеины, углеводы.

Проведен сравнительный анализ углеводных цепей двух форм гонадотропного гормона (ГТН, гонадотропин) горбуши, различающихся по способности связываться с лектином ConA-сефарозы (L). Установлено, что не связывающаяся с лектином «белковая» форма ГТН (L-ГТН) несколько отличается от связывающейся (гликозилированной) формы ГТН (L⁺-ГТН) по аминокислотному составу и содержит почти в 3 раза меньше углеводов. По данным ВЭЖХ, основными углеводными цепями L⁺-ГТН являются сиалирированные биантенные цепи, в значительно меньшем количестве содержатся бисектные цепи, причем степень фукозилирования цепей обоих типов мала (~ 20%). С L-формой ГТН связаны олигосахариды такого же типа, а кроме того, углеводные цепи с большей антенностью — три- и тетраантенные. Выделенные отдельно из гипофизов самцов и самок горбуши соответствующие L⁺- и L-формы ГТН неотличимы ни по типам углеводных цепей, ни по их соотношению. Полученные результаты демонстрируют также принципиальное различие структуры углеводных цепей ГТН горбуши и осетра.

Многочисленные исследования структурно-функциональных свойств ГТН млекопитающих животных и человека достаточно убедительно показали, что углеводные цепи ГТН придают конформационную устойчивость димерной гликопротеиновой молекуле гормона [1—3], способствуя тем самым ее специфическому взаимодействию с мембранными рецепторами, образованию функционально-эффективного гормон-рецепторного комплекса и передаче гормонального сигнала в клетку [4—8]. Структура углеводных цепей ГТН млекопитающих довольно хорошо изучена. Показано, что они очень гетерогенны и видо- и гормонспецифичны [8—10]. Значительно меньше имеется данных о структуре углеводных цепей гонадотропинов низших животных, в частности рыб [11, 12].

В конце 70-х годов в Канаде из гипофиза кеты были получены гликозилированная и «белковая» формы гормона, обнаружившие весьма четкое различие биологических функций [13—15]. Было показано, что белковая форма у лососевых и некоторых других видов рыб в основном стимулирует процесс вителлогенеза, в то время как гликозилированная влияет на конечные стадии роста и созревания

Аминокислотный и углеводный состав исследуемых образцов ГТН горбуши и ГТН осетра [11, 12] в моль/моль белка

Аминокислота, моносахарид	Молекулярные формы ГТН горбуши				ГТН осетра
	L ⁻ -ГТН [♂]	L ⁻ -ГТН [♀]	L ⁺ -ГТН [♂]	L ⁺ -ГТН [♀]	
Asx	17,1	14,4	16,3	14,6	12,9
Thr	6,4	7,8	9,5	9,6	9,6
Ser	14,4	14,6	12,5	11,4	11,2
Glx	22,3	21,1	16,2	16,0	14,6
Gly	11,4	11,7	10,1	9,8	10,6
Ala	8,3	7,9	5,5	5,1	6,0
Val	5,1	6,4	9,0	10,6	7,8
Ile	1,7	2,0	3,5	3,9	5,3
Leu	8,1	8,3	7,2	7,6	11,4
Tyr	1,8	2,1	4,2	6,3	3,8
Phe	2,5	2,6	3,8	4,6	5,5
Lys	8,2	8,5	8,8	7,4	12,0
His	2,7	2,4	3,4	3,1	5,3
Man	1,7	1,6	6,2	6,7	9,8
Fuc	0,1	0,1	0,2	0,4	1,2
Gal	2,1	2,3	4,5	4,9	1,2
GlcNAc	3,8	4,0	9,4	8,7	8,0
GalNAc	1,1	0,7	0,8	0,9	2,3

* Поскольку точная молекулярная масса ГТН еще не установлена и определялись не все аминокислоты, мольное содержание отдельных аминокислот и моносахаридов рассчитано на 110 определяемых аминокислот (без учета Pro, Cys, Met и Arg), что примерно соответствует содержанию этих аминокислот в молекуле ГТН осетра и севрюги [12].

ооцитов [14, 15]. Нам также удалось выделить две аналогичные молекулярные формы ГТН горбуши с помощью аффинной хроматографии на ConA-сефарозе [16, 17], причем было установлено, что не связывающаяся с сорбентом форма (L⁻-ГТН), условно названная «белковой», отличается от связывающейся (гликозилированной) формы (L⁺-ГТН) по электрофоретическим, иммунологическим и гормональным свойствам. Можно было предполагать, что эти две формы гонадотропина горбуши различаются также по специфической направленности их физиологического действия и по молекулярному строению.

Цель настоящей работы — выяснение различий в аминокислотном и углеводном составе L⁻- и L⁺-форм ГТН горбуши и особенностей структуры их углеводных цепей, а также сравнение полученных данных с имеющимися для ГТН осетра [11].

Выделенные отдельно из гипофизов самцов и самок горбуши препараты ГТН (L⁻-ГТН[♂], L⁺-ГТН[♂], L⁻-ГТН[♀] и L⁺-ГТН[♀]) анализировали на содержание аминокислот и углеводов. Сопоставление полученных результатов (табл. 1) показывает, что соответствующие препараты из гипофизов самцов и самок различаются незначительно. Гораздо более выраженные различия обнаруживаются между L⁻-ГТН и L⁺-ГТН, обладающими различным сродством к лектину. Так, препараты L⁺-ГТН по сравнению с L⁻-ГТН содержат заметно больше Thr, Val, Ile, Tyr и Phe, но меньше Glu и Ala, что указывает на возможную неидентичность строения полипептидных цепей этих форм ГТН как у самцов, так и у самок.

При сравнении L⁺-ГТН горбуши с ГТН осетра, изученным нами ранее [11],

Соотношение моносахаридов (в расчете на 3 остатка маннозы) в исходных образцах GTH (А) и полученных из них олигосахаридных фракциях (Б)

Моносахарид	L ⁻ -GTH♂		L ⁻ -GTH♀		L ⁺ -GTH♂		L ⁺ -GTH♀	
	А	Б	А	Б	А	Б	А	Б
Man	3	3	3	3	3	3	3	3
Fuc	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,1	0,1	0,2	0,3
Gal	3,7	3,5	4,3	4,4	2,2	2,4	2,2	1,8
GlcNAc	6,7	5,4	7,5	6,0	4,5	3,6	3,9	3,1
GalNAc	2,0	1,1	1,3	1,2	0,4	0,6	0,4	0,5
GlcNAc-ol	—	0,7	—	0,8	—	0,9	—	0,6

видно (табл. 1), что содержание углеводов в расчете на 1 моль белка у них примерно одинаково и, по-видимому, L⁺-форма GTH горбуши, так же как и GTH осетра, имеет три углеводные цепи — две в α - и одну в β -субъединице. Однако по относительному содержанию отдельных моносахаридов эти два гормона заметно различаются: L⁺-GTH горбуши независимо от пола рыбы содержит меньше Man и GalNAc, но гораздо больше Gal. Эти особенности моносахаридного состава L⁺-GTH свидетельствуют о том, что в отличие от GTH осетра, у которого главные углеводные цепи содержат хотя бы один остаток GalNAc или являются олигоманнозидными (возможно, гибридными) [11], в L⁺-GTH горбуши преобладают обычные для N-гликопротеинов лактозаминные цепи.

Оба препарата L⁻-GTH содержат в расчете на молекулу белка почти в 3 раза меньше основных моносахаридов (Man, Gal и GlcNAc) по сравнению с L⁺-GTH (табл. 1), т. е. на $\alpha \cdot \beta$ -димер L⁻-GTH приходится в среднем одна углеводная цепь. Трудно допустить, однако, что наряду с молекулами гормона, у которых гликозилированы обе субъединицы (как в L⁺-GTH), имеются молекулы, содержащие углеводную цепь только в α - или только в β -субъединице. Более вероятным кажется другой вариант объяснения наличия в препаратах L⁻-GTH небольшого количества углеводов: основная часть (~70%) молекул в L⁻-GTH вообще не содержит углеводов, т. е. является чистым белком, а около 30% молекул имеют, как обычно, три углеводные цепи, структура которых такова, что эти гликоформы GTH не связываются с лектином.

Для более детального выяснения различий в структуре углеводных цепей исследуемых форм GTH горбуши их подвергали расщеплению щелочным раствором LiNH₄ с выделением олигосахаридных фракций по описанной ранее процедуре [8, 11]. Анализ этих фракций показывает (табл. 2), что соотношение моносахаридов в них осталось почти таким же, как и в исходных образцах, за исключением того, что один из остатков GlcNAc исчез, а вместо него появился остаток глюкозаминитола. Различия в углеводном составе препаратов GTH самцов и самок, а также в соответствующих олигосахаридных фракциях невелики, в то время как между L⁻-GTH и L⁺-GTH они вполне определены: «средняя» углеводная цепь L⁻-GTH содержит на 1—2 остатка Gal и GlcNAc больше. Этот результат вполне объясним, если учесть специфичность лектина ConA, который гораздо эффективнее связывает биантенные и бисектные цепи, чем три- и тетраантенные [18]. Поэтому можно предположить, что углеводные фрагменты в L⁻-GTH более разветвлены, т. е. содержат на 1—2 лактозаминных звена больше, чем олигосахариды из L⁺-GTH.

Как следует из литературных данных [8—10] и результатов проведенного нами изучения GTH осетра [11], углеводные цепи гликопротеиновых гормонов очень гетерогенны, поэтому выводы относительно основных типов олигосахаридов

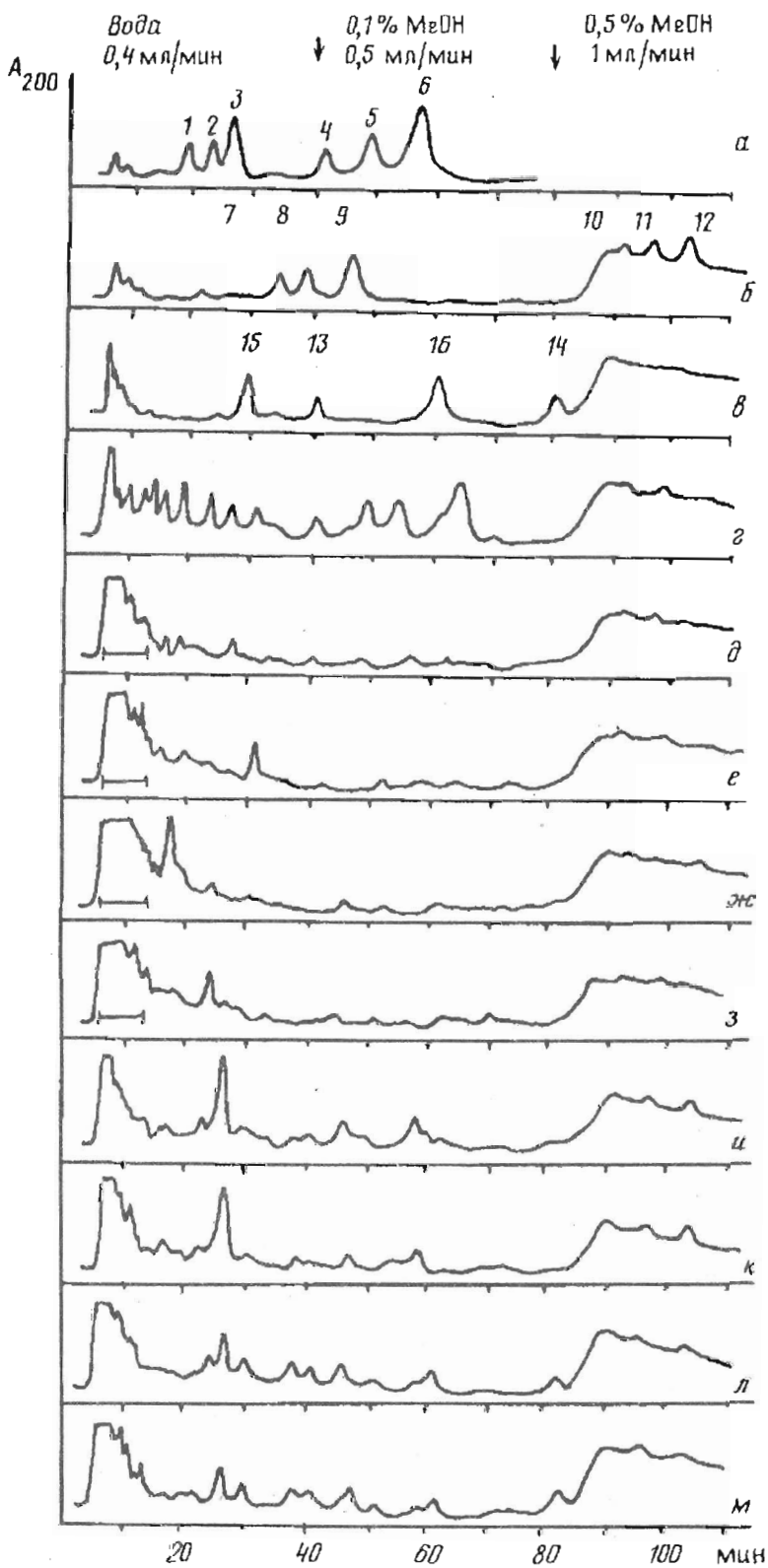
в L⁺-GТН и L-GТН, сделанные на основании моносахаридного состава, носят лишь предварительный характер.

Более подробная характеристика углеводных фрагментов гликопротеина может быть получена при аффинной или высокоэффективной хроматографии олигосахаридов. С этой целью смеси олигосахаридов из четырех исследуемых образцов GТН горбуши фракционировали на колонке Ultrasphere-C18 в условиях, позволяющих разделять и идентифицировать различные N-связанные олигосахариды [19, 20]. На рисунке приведены профили элюции используемых для калибровки колонки «стандартных» нейтральных олигосахаридов (см. схему) из различных гликопротеинов, а также олигосахаридов из GТН осетра и исследуемых смесей олигосахаридов из GТН горбуши. Следует отметить, что заряженные (например, кислые) олигосахариды элюируются в этих условиях с фронтом растворителя. Профили элюции свидетельствуют о том, что число не имеющих заряда олигосахаридных фрагментов в каждом из четырех образцов очень велико (рисунок, *д — з*), но все они, за небольшим исключением, содержатся в весьма малом количестве. Поскольку компоненты смеси, преобладающие в каком-либо из образцов, отсутствуют в остальных и лишь отдельные из них совпадают по времени элюции со «стандартными» олигосахаридами, их более детальный анализ не проводился.

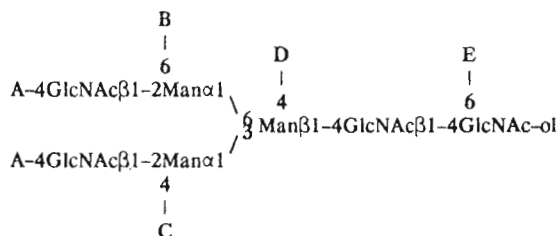
Как выяснилось, основная часть углеводов (> 80%) содержится во фракциях, выходящих с фронтом растворителя (рисунок, *д — з*). По этому свойству олигосахариды из GТН горбуши резко отличаются от олигосахаридов из GТН осетра, при хроматографии которых в аналогичных условиях лишь 10—15% углеводов выходило с фронтом колонки, т. е. были кислыми (рисунок, *з*). Таким образом, по соотношению кислых и нейтральных олигосахаридов GТН горбуши очень близок к GТН млекопитающих [8—10], у которых 70—80% углеводных цепей сиалированы или сульфатированы. Предполагая, что элюирующиеся с фронтом компоненты представляют собой сиалированные олигосахариды, соответствующие фракции (рисунок, *д — з*) десиалировали (НСООН, рН 2,1, 80° С, 1 ч) и повторно хроматографировали в тех же условиях. Мягкий кислотный гидролиз (рисунок, *и — м*) приводит во всех случаях к образованию нейтральных олигосахаридов, при этом количество углеводов в элюирующихся с фронтом растворителя фракциях уменьшилось в 5—10 раз. Эти факты убеждают в том, что действительно большая часть олигосахаридов из L⁺-GТН и L-GТН содержит остатки сиаловой кислоты.

Все четыре исследуемых образца GТН содержат практически одни и те же олигосахариды (рисунок, *и — м*), хотя и в различном соотношении, причем большинство из них могут быть идентифицированы по хроматографической подвижности сравнением со «стандартными» олигосахаридами. Среди олигосахаридов из L⁺-GТН^а и L⁺-GТН^б (рисунок, *и, к*) основными являются ОС-3 (время элюции 27 мин) и ОС-6 (58 мин), соответствующие нефукозилированной и фукозилированной биантенным цепям (см. схему). В значительно меньшем количестве содержатся бисектные олигосахариды (—Fuc и +Fuc): ОС-9 (46 мин) и ОС-12 (103 мин). Правильность такой интерпретации была подтверждена результатами анализа моносахаридного состава этих олигосахаридов. Кроме того, в образцах L⁺-GТН имеются в очень небольших количествах биантенные и бисектные олигосахариды, не содержащие одного из двух концевых остатков Gal: ОС-2 (23 мин), ОС-8 (39 мин) и ОС-11 (98 мин).

Указанные выше олигосахариды найдены и в обоих образцах L-GТН (рисунок, *л, м*), однако в этом случае они содержатся в соизмеримых количествах. Важная особенность препаратов L-GТН — присутствие в них минорных олигосахаридов с временами элюции 30, 41, 61 и 82 мин. По времени элюции эти компоненты соответствуют три- и тетраантенным олигосахаридам (ОС-13 — ОС-16, рисунок, *в*). Учитывая моносахаридный состав L-GТН и олигосахаридных фракций из них (табл. 1), указывающий на вероятность наличия такого типа олигосахаридов,



Структура использованных в работе олигосахаридов из иммуноглобулина, α_1 -кислого гликопротеина и фетуина [19]



A	B	C	D	E	Шифр олигосахарида
Gal β 1-	Gal β 1- 4GlcNAc β 1-	GlcNAc β 1-	GlcNAc β 1-	Fuc α 1-	
биантенные цепи					
—	—	—	—	—	1
+	—	—	—	—	2
++	—	—	—	—	3
—	—	—	—	+	4
+	—	—	—	+	5
++	—	—	—	+	6
бисектные цепи					
—	—	—	+	—	7
+	—	—	+	—	8
++	—	—	+	—	9
—	—	—	+	+	10
+	—	—	+	+	11
++	—	—	+	+	12
триантенные цепи					
++	—	+	—	—	13
++	—	+	—	+	14
тетраантенные цепи					
++	+	+	—	—	15
++	+	+	—	+	16

а также специфичность ConA, можно с достаточной уверенностью заключить, что образцы L⁻-GTH имеют повышенное по сравнению с L⁺-GTH содержание три- и тетраантенных цепей. Поскольку анализ индивидуальных олигосахаридов из образцов L⁻-GTH не проводился, а для смесей олигосахаридов из L⁻-GTH σ и L⁻-GTH φ характерно повышенное по сравнению с олигосахаридами из L⁺-GTH содержание GalNAc (табл. 2), нельзя исключить, что некоторые из олигосахаридов могут содержать остаток GalNAc.

Таким образом, хроматографический анализ олигосахаридов показал, что углеводные цепи GTH самцов и самок горбуши (как и ранее исследованных GTH самцов и самок осетра [11]) не имеют выраженных различий ни по содержанию обнаруженных углеводных фрагментов, ни по их соотношению. Однако между углеводными цепями L⁻-GTH и L⁺-GTH имеются заметные различия

ВЭЖХ на колонке Ultrasphere-C18 смесей стандартных и исследуемых олигосахаридов: биантенные (а), бисектные (б), три- и тетраантенные (в) олигосахариды [19]; олигосахариды из GTH осетра (г) [11], олигосахариды из GTH горбуши (д — з, L⁺-GTH σ , L⁺-GTH φ , L⁻-GTH σ и L⁻-GTH φ соответственно), десиалированные олигосахариды из GTH горбуши (и — м, L⁺-GTH σ , L⁺-GTH φ , L⁻-GTH σ и L⁻-GTH φ соответственно)

и состоят они в основном в повышенном содержании в L⁻-GTH более разветвленных (три- и тетраантенных) олигосахаридов. Вместе с тем полученные к настоящему времени данные о количестве и структуре углеводных цепей в L⁺-GTH и L⁻-GTH не позволяют однозначно утверждать, является ли L⁻-форма GTH негликозилированным или лишь не полностью гликозилированным белком (одна углеводная цепь вместо трех). Возможно, решить этот вопрос удастся после выделения и анализа углеводных фрагментов в изолированных α - и β -субъединицах, полученных из L⁻-GTH.

Наиболее ярко в данной работе выявились различия в структуре углеводных цепей GTH осетра и L⁺-формы GTH горбуши. Как уже отмечалось, GTH осетра содержит в основном нейтральные биантенные цепи, отличающиеся от обычных N-цепей гликопротеинов тем, что вместо остатка (или остатков) Gal в большинстве случаев находится остаток GalNAc [11]. Углеводные цепи GTH горбуши, напротив, как правило, кислые (сиалированные), не содержат остатка GalNAc и фукозилированы в небольшой степени. Таким образом, по структуре углеводных цепей GTH осетра более близок к лютропину (за исключением очень низкого уровня сульфатирования GTH осетра), а GTH горбуши — к фоллитропину [8]. Лютропин и фоллитропин млекопитающих значительно различаются по содержанию углеводных цепей, имеющих концевые фрагменты SO₃H-GalNAc и NeuAc-Gal: в лютропине быка соотношение олигосахаридов с такими терминальными звеньями равно 67:0, а в фоллитропине — 12:55. Очевидно, заключительные стадии биосинтеза углеводных цепей лютропина (как и GTH осетра) идут по пути присоединения остатков GalNAc с последующим их сульфатированием, а фоллитропина (как и GTH горбуши) — по пути последовательного присоединения остатков Gal и NeuAc. Вполне возможно, что гормоны, различающиеся терминацией углеводных цепей, имеют в составе полипептидной цепи некие «маркеры», которые узнаются лишь определенной гликозилтрансферазой, вследствие чего биосинтез углеводной цепи направляется преимущественно по одному из двух вероятных путей [21]. Можно думать, что у животных различных видов факторы, влияющие на структуру углеводных цепей гонадотропных гормонов, еще более многообразны, что в известной мере и подтверждают установленные нами особенности гликозилирования GTH осетра и горбуши.

Выявленные в данной работе количественные и качественные различия химического строения углеводных цепей исследованных молекулярных форм GTH горбуши в совокупности с полученными ранее данными относительно различия их иммунологических и гормональных свойств [16, 17] позволяют утверждать, что в гипофизе этих рыб независимо от пола продуцируются две (или несколько) форм гонадотропина, биологическая специфичность которых обусловлена рядом факторов, в том числе и своеобразием строения углеводных компонентов их молекул. Дальнейшее углубленное исследование структурно-функциональных и эндокринологических свойств двух гликоформ гонадотропина может иметь принципиальное значение для понимания особенностей молекулярного механизма гормональной регуляции процессов гаметогенеза у лососевых рыб.

Экспериментальная часть

Выделение связывающихся и не связывающихся с ConA-сефарозой (Pharmacia, Швеция) форм GTH из гипофизов самцов и самок горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* и их характеристика описаны нами ранее [16]. Углеводные цепи гликопротеинов отщепляли обработкой смесью 2 M LiBH₄ — 5 mM LiOH в 75% *трет*-бутиловом спирте [22]. Восстановленные олигосахариды разделяли и идентифицировали с помощью ВЭЖХ 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); 41 — 80 мин — 0,1% метанол (0,5 мл/мин); далее 0,5% метанол (1 мл/мин). Колонку калибровали десилированными олигосахаридами известного строения, полученными из иммуногло-

булина, α_1 -кислого гликопротеина и фетуина [19]. Аминокислотный и углеводный состав GTN и полученных из них углеводных фрагментов определяли на анализаторе Biotronik LC-2000 (ФРГ) после гидролиза 4 н. HCl (100° С, 16 ч) и 3 н. CF₃COOH (100° С, 6 ч) соответственно.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Manjunath P., Sairam M. R.*//J. Biol. Chem. 1983. V. 258. № 6. P. 3554—3558.
2. *Sairam M. R., Linggen J., Bhargavi G. N.*//Biosci. Rep. 1988. V. 8. № 3. P. 271—278.
3. *Paulson J. C.*//Trends Biochem. Sci. 1989. V. 14. № 7. P. 272—276.
4. *Bahl O. P., Reddy M. S., Kalyan N., Henner J.*//J. Sci. Industr. Res. 1980. V. 39. № 12. P. 734—744.
5. *Sairam M. R., Manjunath P.*//Mol. Cell. Endocrinol. 1982. V. 28. № 2. P. 139—150.
6. *Sairam M. R., Bhargavi G. N.*//Science. 1985. V. 229. № 4708. P. 65—67.
7. *Smith P. L., Baenziger J. U.*//Science. 1988. V. 242. № 4880. P. 930—933.
8. *Green E. D., Baenziger J. U.*//J. Biol. Chem. 1988. V. 263. № 1. P. 25—35, 36—44.
9. *Wieshaar G., Hiyama J., Renwick A. G. C.*//Eur. J. Biochem. 1990. V. 192. № 3. P. 740—751.
10. *Amano J., Nishimura R., Sato S., Kobata A.*//Glycobiology. 1990. V. 1. № 1. P. 45—50.
11. *Зенкевич Г. А., Арбатский Н. П., Сланке В. П., Желтова А. О., Деревицкая В. А.*//Биоорганическая химия. 1992. Т. 18. № 2. С. 226—236.
12. *Зенкевич Г. А.* Гонадотропный гормон рыб. Получение и свойства. Рига: Зинатне, 1992.
13. *Idler D. R., Bazar I. S., Hwang S. J.*//Endocrine Res. Commun. 1975. V. 2. № 3. P. 237—249.
14. *Idler D. R., Ng T. B.*//Gen. Compar. Endocrinol. 1979. V. 38. № 4. P. 421—440.
15. *Ng T. B., Idler D. R.*//Gen. Compar. Endocrinol. 1979. V. 38. № 4. P. 410—420.
16. *Зенкевич Г. А., Сланке В. П., Лаце З. М., Кирстукас И. П.*//Изв. АН ЛатвССР. 1986. № 9. С. 106—112.
17. *Зенкевич Г. А., Лаце З. М., Сланке В. П., Кирстукас И. П.*//Вопр. ихтиологии. 1985. Т. 25. С. 333—342.
18. *Osawa T., Tsuji T.*//Ann. Rev. Biochem. 1987. V. 56. P. 21—42.
19. *Арбатский Н. П., Мартынова М. Д., Деревицкая В. А., Кочетков Н. К.*//Докл. АН СССР. 1987. Т. 297. № 4. С. 995—999.
20. *Arbatsky N. P., Martinova M. D., Zheltova A. O., Derevitskaya V. A., Kochetkov N. K.*//Carbohydr. Res. 1989. V. 187. № 1. P. 165—171.
21. *Smith P. L., Baenziger J. U.*//Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1990. V. 87. № 18. P. 7275—7279.
22. *Лихошерстов Л. М., Новикова О. С., Деревицкая В. А., Кочетков Н. К.*//Докл. АН СССР. 1984. Т. 274. № 1. С. 222—225.

Поступила в редакцию
13.V.1993

После доработки
6.IX.1993

H. A. Zenkevich, N. P. Arbatsky*, A. O. Zheltova*, V. P. Slanke,
Z. M. Latze.

CHARACTERIZATION OF CARBOHYDRATE CHAINS OF TWO FORMS OF
HUNCHBACK SALMON GONADOTROPIC HORMONE HAVING
DIFFERENT AFFINITY TO CONCANAVALIN A

Institute of Biology, Latvian Academy of Sciences, Salaspils;

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

A comparative analysis of carbohydrate chains of two forms of hunchback salmon gonadotropin that bind or not with ConA-Sepharose was carried out. It was found that unbound, «protein», ConA⁻-form contains three times less carbohydrates and has slightly different amino acid composition as compared to the bound, normally glycosylated ConA⁺-form. HPLC fractionation showed the oligosaccharides released from both hormone forms to be mainly sialylated. The major oligosaccharides identified in ConA⁺-form are biantennary, fucosylated (~ 20%) or nonfucosylated; minor bisected chains are also present. In ConA⁻-form the same oligosaccharides and also oligosaccharides with a higher degree of branching (tri- and tetraantennary) were detected. These two hormone forms isolated from pituitary glands of male or female fish differed neither in the type of oligosaccharides nor in their ratio. Essential structural differences in carbohydrate chains of hunchback salmon and sturgeon gonadotropins were distinctly demonstrated.