



УДК 577.154 + 547.854

СПЕЦИФИЧНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ БИОСИНТЕЗА  
О-АНТИГЕНА САЛМОНЕЛЛ1. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ УРИДИН-  
И 2'-ДЕЗОКСИУРИДИНДИФОСФАТРАМНОЗЫ  
С РАМНОЗИЛТРАНСФЕРАЗОЙ *SALMONELLA ANATUM*Шибает В. Н., Кусов Ю. Ю., Петренко В. А.,  
Дружанина Т. Н., Кочетков Н. К.Институт органической химии им. П. Д. Зелинского  
Академии наук СССР, Москва

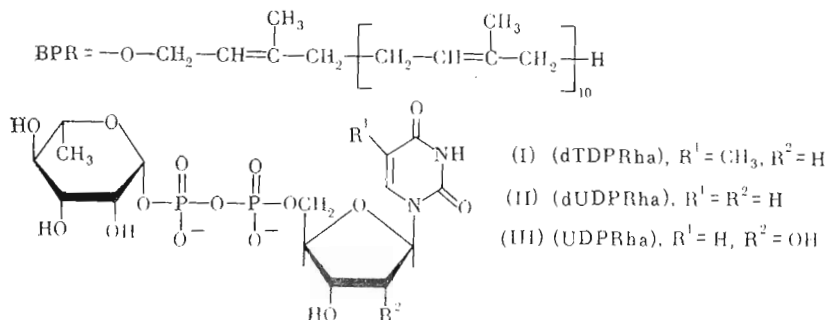
Рамнозилтрансфераза, участвующая в биосинтезе О-специфического полисахарида *Salmonella anatum*, способна использовать в качестве донора рамнозильного остатка не только тимидиндифосфатрамнозу, но и аналогичные производные уридина и 2'-дезоксидифосфат уридина. Природным субстратом реакции является, по-видимому, производное тимидина, так как не удалось продемонстрировать образования уридиндифосфатрамнозы из уридиндифосфатглюкозы в экстрактах микроорганизма. Первая реакция биосинтеза О-специфического полисахарида, субстратом которой служит уридиндифосфатгалактоза, заметно ингибируется под действием уридиндифосфатрамнозы.

Специфичность взаимодействия липополисахаридов грамотрицательных бактерий с антителами определяется, как правило, структурой О-специфических полисахаридных цепей этих полимеров. Одной из наиболее хорошо исследованных систем такого рода является система О-специфических полисахаридов салмонелл, для которой иммунохимическими методами было показано наличие более 60 типов О-антигенов [1] и в целом ряде случаев установлена структура О-специфических цепей и детерминантных участков, ответственных за связывание с антителами определенной специфичности [2]. Для *Salmonella anatum* — микроорганизма, относящегося к серологической группе E<sub>1</sub>, трисахаридное повторяющееся звено О-специфической цепи образуется путем последовательного присоединения остатков α-D-галактопиранозилфосфата (Gal-p), α-L-рамнозы (Rha) и β-D-маннозы (Man) к остатку бактериального полипренилфосфата (p-BPR); донорами остатков фосфата сахара или моносахарида служат уридиндифосфатгалактоза (UDPGal), тимидиндифосфатрамноза (dTDP-Rha), (I) и гаунозиндифосфатманноза (GDPMan) [3].

По современным представлениям [4], специфичность построения сложных углеводных цепей в биополимерах определяется главным образом специфичностью участвующих в реакции гликозилтрансфераз к типу образуемой гликозидной связи и структурам донора и акцептора гликозильных остатков. Конкретные механизмы реализации такой специфичности остаются пока невыясненными. О специфичности ферментов, участвующих в биосинтезе О-специфических полисахаридных цепей, практически ничего не известно. Исследование этого вопроса представляет

значительный интерес как в связи с выяснением общих закономерностей фермент-субстратного узнавания для гликозилтрансфераз, так и для разработки биосинтетических методов получения модифицированных O-антигенов.

Настоящая работа открывает серию сообщений о специфичности ферментов биосинтеза O-антигена салмонелл. Ее объектом является рамнозилтрансфераза из *S. anatum*, фермент, катализирующий реакцию



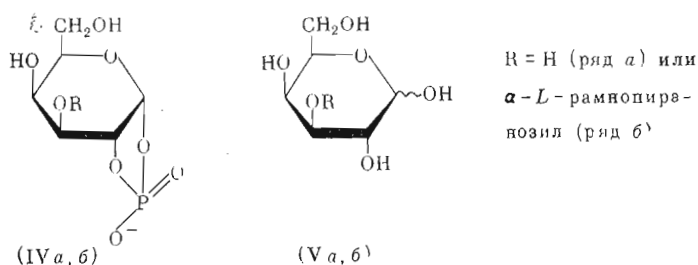
С целью выяснения вопроса о способности фермента различать производные тимидина и уридина как доноры гликозильного остатка было изучено взаимодействие рамнозилтрансферазы с аналогами dT DPRha—dUD PRha (II) и UD PRha (III), синтезированными в нашей лаборатории [5].

Способность dT DPRha участвовать в биосинтезе O-антигена салмонелл хорошо известна [6—10]; принято считать, что именно этот нуклеотидсахар является природным субстратом рамнозилтрансферазы. Однако UD PRha была обнаружена также в ряде природных объектов (обзор, см. [11]). В частности, было описано ее выделение наряду с dT DPRha из одного из штаммов салмонелл [12]. Была показана способность UD PRha выступать в качестве донора остатка рамнозы в реакциях гликозилирования [13]; для растительной рамнозилтрансферазы, участвующей в биосинтезе рутина, UD PRha является предпочтительным субстратом по сравнению с dT DPRha, а для рамнозилтрансфераз, участвующих в биосинтезе рамнолипида из *Pseudomonas aeruginosa*, — малоэффективным, но приемлемым субстратом. Данные о донорной специфичности рамнозилтрансфераз салмонелл в литературе отсутствовали.

Для исследования способности аналогов dT DPRha выступать в качестве донора рамнозильных остатков при взаимодействии с рамнозилтрансферазой *S. anatum* были проведены три серии опытов. Источником рамнозилтрансферазы в работе служил препарат гликозилтрансфераз, полученный из мембраны штамма *S. anatum* A1, дефектного по UDPGal-4-эпимеразе (см. [14]). Для проверки активности рамнозилтрансферазы в этом препарате и отработки оптимальных условий разделения продуктов реакции первоначально были проведены опыты с dT DPRha-[<sup>14</sup>C], которая была получена биосинтетически из dTDPGlc-[<sup>14</sup>C] по методу [15] с некоторыми модификациями. Трудная доступность нуклеотидсахаров с радиоактивной меткой в остатке рамнозы вынудила нас во всех случаях использовать нерадиоактивные аналоги dT DPRha и разработать специальные методы для анализа продуктов рамнозилтрансферазной реакции. В первой серии опытов в качестве субстрата реакции была использована полипренилпирофосфатгалактоза, содержащая радиоактивную метку в остатке галактозы (Gal-[<sup>14</sup>C]-pp-BPR), полученная ферментативно при взаимодействии бактериального полипренилфосфата с UDPGal-[<sup>14</sup>C] с помощью препарата солиобилизованных гликозилтрансфераз. После

протекания рамнозилтрансферазной реакции можно было ожидать превращения этого соединения в полипренилпирофосфатдисахарид с радиоактивной меткой Rha  $\rightarrow$  Gal-[ $^{14}\text{C}$ ]-pp-BPR.

Были исследованы различные методы расщепления образующихся полипренилпирофосфатсахаров и анализа их углеводных фрагментов. Необходимость такого исследования вызвана тем обстоятельством, что в данном случае вследствие высокой лабильности гликозидной связи дезоксисахара в кислой среде и неустойчивости 1,3-связанного дисахарида в щелочной среде могут быть применимы только наиболее мягкие методы расщепления. Расщепление полипренилпирофосфатсахаров в хроматографической системе, содержащей аммиак, до циклических фосфатов (IVa, б) [16] протекает гладко, однако в данной системе не происходит разделения циклофосфатов моно- (IVa) и дисахарида (IVб). Более удачным оказался метод, основанный на превращении полипренилпирофосфатсахаров в восстанавливающие сахара (Va, б):



Это расщепление протекает при кратковременном нагревании полипренилпирофосфатсахаров с водным фенолом и последующей обработке водорастворимых продуктов щелочной фосфатазой [16]. Специальными опытами были подобраны условия, обеспечивающие количественное превращение полипренилпирофосфатсахаров в дисахариды (Va, б). Разделение последних с помощью хроматографии на бумаге, условия для которого были подобраны с помощью синтетического образца дисахарида (Vб) [17], позволяет определить соотношение полипренилпирофосфатгалактозы и полипренилпирофосфатдисахарида — продукта реакции в инкубационной смеси. Предварительные результаты, полученные с помощью этой методики (см. «Экспериментальную часть»), указывают на образование значительного количества производного дисахарида при использовании в качестве субстратов реакции как dTDP Rha, так и dUDP Rha и UDP Rha.

В опытах второй серии труднодоступный бактериальный полипренилфосфат был заменен на фосфат морапренола (полипренола из листьев шелковицы) [18], который, как было показано нами ранее [14], является аналогом природного субстрата реакции, способным достаточно эффективно заменять его при биосинтезе O-специфического полисахарида. Морапренилпирофосфатгалактоза-[ $^{14}\text{C}$ ] была получена инкубацией морапренилфосфата с UDPGal-[ $^{14}\text{C}$ ] и препаратом гликозилтрансфераз и без выделения из инкубационной смеси использована как субстрат рамнозилтрансферазы. Анализ полученных полипренилпирофосфатсахаров проводился как описано выше, результаты типичного опыта представлены на рис. 1. Можно видеть, что во всех случаях основное количество радиоактивности сосредоточено в зоне, отвечающей по подвижности дисахариду (Vб), и, таким образом, dUDP Rha и UDP Rha являются эффективными субстратами рамнозилтрансферазы.

Этот вывод был подтвержден в опытах третьей серии, в которой для определения продукта рамнозилтрансферазной реакции использовали его способность служить субстратом для третьей реакции цикла биосинтеза

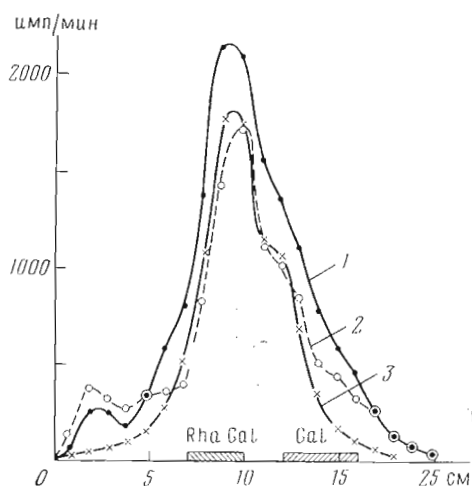


Рис. 1

Рис. 1. Распределение радиоактивности на бумажной хроматограмме при анализе восстанавливающих сахаров, полученных после расщепления морапрецилпирофосфатдисахаридов. Инкубация в присутствии: 1 — dTDP Rha, 2 — dUDP Rha, 3 — UDP Rha

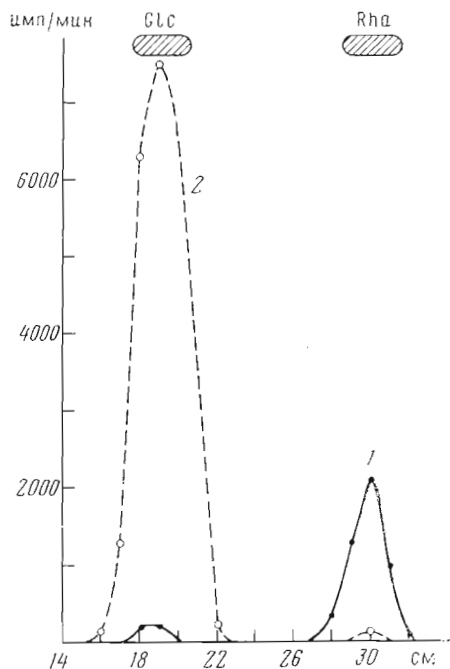
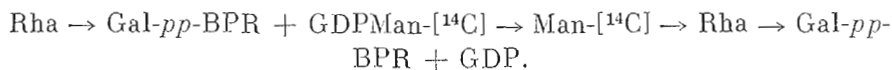


Рис. 2

Рис. 2. Распределение радиоактивности на бумажной хроматограмме при анализе моносахаридов, полученных из нуклеотидсахаров, обработанных в условиях превращения dTDP Glc в dTDP Rha. 1 — субстрат dTDP Glc-<sup>14</sup>C, 2 — субстрат UDP Glc-<sup>14</sup>C

O-антигена — синтез производного трисахарида:



Инкубационная смесь содержала препарат растворимых трансфераз, морапрецилпирофосфат, UDPGal, dTDP Rha или ее аналоги и GDPMan-<sup>14</sup>C]. О протекании реакции судили по включению радиоактивной маннозы во фракцию морапрецилпирофосфатсахаров, извлекаемую органическим растворителем. Результаты, представленные в табл. 1, показывают, что эффективность dUDP Rha и UDP Rha как доноров рамнозы в рамнозилтрансферазной реакции немного уступает эффективности dTDP Rha, и, следовательно, этот фермент не способен различать нуклеотидсахара — производные уридина и тимидина.

Таким образом, существует принципиальная возможность функционирования UDP Rha как природного донора рамнозилных остатков при биосинтезе O-антигена салмонелл. Однако такая возможность представляется маловероятной по следующим причинам. Во-первых, в исследуемом штамме салмонелл не удалось продемонстрировать биосинтез UDP Rha из UDP Glc. В условиях, когда под действием бесклеточного экстракта микроорганизма происходит интенсивное образование dTDP Rha из dTDP Glc, аналогичной реакции с UDP Glc практически не происходит, как можно видеть из анализа моносахаридов, полученных после гидролиза выделенных нуклеотидсахаров (рис. 2). Во-вторых, как видно из сопоставления опытов 5—7 в табл. 1, при одновременном присутствии dTDP Rha и UDP Rha происходит заметное ингибирование процесса

Таблица 1

Включение Ман-[<sup>14</sup>C] из GDP-Ман-[<sup>14</sup>C] в мораренилпирофосфаттри-сахарид в присутствии различных доноров рамнозы

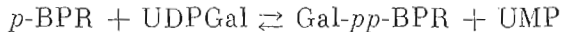
№ опыта	Донор рамнозы (содержание в инкубационной смеси, нмоль)	Радиоактивность в органической фазе, имп/мин
1	—	400
2	dTDPPrha (50)	30 000
3	dUDPrha (50)	19 300
4	UDPrha (50)	11 000
5	dTDPPrha (75)	33 000
6	dTDPPrha (75) + UDPrha (75)	16 700
7	dTDPPrha (75) + UDPrha (300)	11 100

Таблица 2

Влияние dTDPPrha и UDPrha на образование полипренилпирофосфатгалактозы

Нуклеотидсахара в инкубационной смеси (содержание, нмоль)	Радиоактивность в органической фазе, имп/мин
UDPGal-( <sup>3</sup> H) (25)	15 600
UDPGal-[ <sup>3</sup> H] (25) + dTDPPrha (25)	18 000
UDPGal-[ <sup>3</sup> H] (25) + UDPrha (25)	9000

биосинтеза производного трисахарида. Механизм этого ингибирования не вполне ясен. Частично это явление может быть объяснено функционированием UDPrha как ингибитора первой реакции биосинтетического цикла:



за счет сходства его с нормальным субстратом реакции — UDPGal. Данные, приведенные в табл. 2, показывают правомерность этого предположения. В присутствии dTDPPrha наблюдается увеличение образования полипренилпирофосфатсахаров, содержащих меченую галактозу, за счет сдвига равновесия галактозилфосфаттрансферазной реакции под влиянием последующей рамнозилтрансферазной реакции. В присутствии UDPrha этот эффект также должен иметь место, поскольку UDPrha является субстратом рамнозилтрансферазы, однако он перекрывается эффектом ингибирования. Возможно, что последний обусловлен конкуренцией UDPrha и UDPGal за активный центр галактозилфосфаттрансферазы.

Суммируя полученные данные, можно заключить, что природным донором рамнозильного остатка при биосинтезе O-специфической цепи липополисахарида *S. anatum* является, как и предполагалось ранее, dTDPPrha. При этом рамнозилтрансфераза, участвующая в этом процессе, не способна различать нуклеотидсахара — производные тимидина и уридина, но такая способность характерна для галактозилфосфаттрансферазы, которая ингибируется под действием UDPrha.

### Экспериментальная часть

Выращивание микроорганизмов, получение препарата растворимых гликозилтрансфераз и определение радиоактивных веществ проводили как описано в предыдущей работе [14]. Для хроматографии на бумаге использованы системы: 3 М аммиак в 80% этаноле (А), *n*-бутанол — пиридин — вода, 6 : 4 : 3 (Б), этилацетат — НСООН — СН<sub>3</sub>СООН — вода, 18 : 1 : 3 : 4 (В), для электрофореза на бумаге — 0,05 М триэтиламмонийбикарбонат, рН 7,5, и 0,1 М триэтиламмонийацетат, рН 4,8. Нерадио-

активные углеводы обнаруживали на хроматограммах с помощью анилинфталата, белок определяли по Лоури [19].

Бактериальный полипренилфосфат, морапренилфосфат,  $\alpha$ -*L*-рамнопиранозил(1 → 3)галактопиранозу получали согласно методам, описанным в работах [14], [18] и [17] соответственно.

В работе использовали препараты UDPGal и GDPMan (Calbiochem, США),  $\alpha$ -*D*-глюкопиранозилфосфата-[ $^{14}$ C], UDPGal-[ $^{14}$ C], UDPGlc-[ $^{14}$ C] и GDPMan-[ $^{14}$ C] (Amersham, Англия). dTDPPrha и ее аналоги получены в соответствии с работой [5], UDPGal-6-[ $^3$ H] — согласно [14]. dTDPGlc-[ $^{14}$ C] получена по описанной ранее модификации фосфоморфолидного метода [20] из 5 мкмоль триэтиламмониевой соли тимидин-5'-фосфоморфолида и 15 мкмоль триэтиламмониевой соли  $\alpha$ -*D*-глюкопиранозилфосфата-[ $^{14}$ C] (1,55 мКи/ммоль) в 0,15 мл диметилсульфоксида (72 ч при 20°). Продукт выделен электрофорезом на бумаге (рН 4,8) и дополнительно очищен электрофорезом при рН 7,5, выход 55%.

Получение dTDPPrha-[ $^{14}$ C] проводили по методу [15] в следующем варианте. 1,4 г клеток *S. anatum* суспендировали в 14 мл 0,02 М Трис-НСl (рН 7,5), обрабатывали в ультразвуковом дезинтеграторе при 22 кГц 4 раза по 4 мин при температуре от -6 до +10°, лизат центрифугировали 30 мин при 80 000g. Смесь, содержащую 2,2 мкмоль dTDPGlc-[ $^{14}$ C], 3 мкмоль NADP, 20 мкмоль глюкозо-6-фосфата, 1 мкмоль EDTA, 0,05 мл 1 М Трис-НСl (рН 7,8), 0,01 мл суспензии глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, КФ 1.1.1.49 (Serva, ФРГ) и 1 мл лизата (общий объем смеси 2,17 мл), инкубировали 19 ч при 20°. Нуклеотидсахара выделяли препаративным электрофорезом на бумаге в 0,2 М триэтиламмонийбикарбонате, рН 8,1, зону элюировали водой при 4°, элюат лиофилизировали. Выход 2,44 мкмоль (89%), удельная радиоактивность 0,7 мКи/ммоль (снижение удельной активности по сравнению с исходным веществом связано, очевидно, с присутствием нуклеотидсахаров в препарате фермента). Для анализа препарата аликвоту раствора перед лиофилизацией подвергали мягкому кислотному гидролизу (0,1 н. НCl, 100°, 20 мин), радиоактивные сахара анализировали хроматографией на бумаге в системе Б (см. рис. 2).

Попытка превращения UDPGlc-[ $^{14}$ C] в UDPPrha-[ $^{14}$ C] проведена аналогично с заменой dTDPGlc-[ $^{14}$ C] на UDPGlc-[ $^{14}$ C] (0,084 мкмоль, 320 мКи/ммоль) (см. рис. 2).

Общая методика приготовления инкубационных смесей при исследовании реакций с гликозилтрансферазами. При проведении реакций в объеме 0,25 мл фосфат полипренола суспендировали в смеси 10 мкл метанола и 10 мкл 0,5% водного раствора Твина-85, добавляли 20 мкл 1 М Трис-ацетата (рН 8,5), 2 мкмоль MgCl<sub>2</sub>, нуклеотидсахара и фермент. При проведении реакций в объеме 0,1 мл для суспендирования фосфата полипренола использовали 10 мкл метанола и 15 мкл 0,5% водного раствора Твина-85, смесь содержала 5 мкл 1 М Трис-ацетата и 1 мкмоль MgCl<sub>2</sub>.

Получение полипренилпирофосфатгалактозы-[ $^{14}$ C] (Gal-[ $^{14}$ C]-pp-BPR). При 25° инкубировали 30 мин 8 идентичных смесей, каждая из которых содержала в объеме 0,25 мл 17 нмоль бактериального полипренилфосфата, 25 нмоль UDPGal-[ $^{14}$ C] (50 мКи/ммоль) и фермент (50 мкг белка). К каждой пробе добавляли 4 мл смеси хлороформ — метанол (2 : 1), перемешивали до гомогенности. Через 10 мин добавляли 0,8 мл верхней фазы по Фольчу [21] (смесь 15 мл хлороформа, 240 мл метанола, 235 мл воды и 1,83 г KCl), нижний слой отделяли и промывали еще 2 раза 0,8 мл верхней фазы. Органические фазы объединили и упарили. Выход (определен по радиоактивности) 10 нмоль (7,3%).

Получение полипренилпирофосфат(рамнозил-[ $^{14}$ C]-галактозы) (Rha-[ $^{14}$ C] → Gal-pp-BPR). Смесь, содержащую в 0,1 мл 17 нмоль бактериального полипренилфосфата, 25 нмоль UDPGal и 25 нмоль dTDPPrha-[ $^{14}$ C] (5,2 мКи/ммоль) и фермент (50 мкг белка), инкубировали 30 мин при 37°. Добавляли 2 мл смеси хлороформ — метанол (2 : 1), перемешивали до

гомогенности, затем вводили 0,4 мл верхней фазы по Фольчу, отделяли нижний слой и дважды промывали его 0,4 мл верхней фазы. Выход (определен по радиоактивности) 0,9 нмоль.

*Расщепление полипренилпирофосфатсахаров.* а) Инкубировали при 20° в течение 30 мин Gal-[<sup>14</sup>C]-pp-BPR и Rha-[<sup>14</sup>C] → Gal-pp-BPR с системой А, наносили раствор на бумагу и хроматографировали в системе А. Единственный радиоактивный продукт в обоих случаях обладал подвижностью  $R_{cal}$  0,92. б) К раствору полипренилпирофосфатсахаров добавляли 50 мкл 80% водного фенола и упаривали растворитель при 40°. К остатку добавляли 0,1 мл 80% фенола и 0,1 мл воды, выдерживали 5 мин при 70°. Фазы разделяли после центрифугирования (3000 об/мин, 5 мин), фенольный слой промывали водой (2 × 0,1 мл). К водному раствору добавляли 0,1 мл (1 мг/мл) раствора щелочной фосфатазы (КФ 3.1.3.1) из кишок цыплят (Венгрия) в 0,1 М Трис-НСl (рН 8,0), выдерживали 20 ч при 20°.

*Взаимодействие dTDP Rha, dUDP Rha и UDP Rha с рамнозилтрансферазой.* 1) Смесь, содержащую в 0,1 мл 1,5 нмоль Gal-[<sup>14</sup>C]-pp-BPR (100 000 имп/мин), 25 нмоль dTDP Rha, dUDP Rha или UDP Rha и фермент (60 мкг белка), инкубировали 30 мин при 37°. После экстракции полипренилпирофосфатсахаров и их расщепления, описанного в методе «б», продукты анализировали в системе В. Наблюдаемая картина аналогична показанной на рис. 1.

2) Смесь, содержащую в 0,1 мл 80 нмоль морапренилфосфата UDP-Gal-[<sup>14</sup>C] и фермент (100 мкг белка), выдерживали 30 мин при 20°. Вносили в объеме 10 мкл 25 нмоль dTDP Rha, dUDP Rha или UDP Rha и выдерживали 25 мин при 37°. После экстракции полипренилпирофосфатсахаров и их расщепления (метод «б») продукты анализировали в системе В (см. рис. 1).

3) Смесь, содержащую в 0,1 мл 30 нмоль морапренилфосфата, фермент (80 мкг белка), 25 нмоль UDP Gal, 25 нмоль GDP Man-[<sup>14</sup>C] (10 мКи/нмоль) и количества доноров рамнозы, указанные в табл. 1, инкубировали 20 мин при 37°. После экстракции полипренилпирофосфатсахаров определяли радиоактивность в остатке после упаривания органической фазы (см. табл. 1).

*Влияние dTDP Rha и UDP Rha на образование Gal-[<sup>14</sup>C]-pp-BPR* (табл. 2). Смесь, содержащую в 0,1 мл 17 нмоль бактериального полипренилфосфата, фермент (25 мкг белка) и нуклеотидсахара, указанные в табл. 2, инкубировали 60 мин при 25°. Обработывали как в предыдущем опыте.

Авторы глубоко благодарны студентке Калининского государственного университета А. Н. Поповой за проведение эксперимента по превращению UDP Glc в UDP Rha, а также С. Ш. Рожновой (ЦНИИЭ Минздрава СССР) за выращивание бактерий, Л. Л. Данилову за предоставление морапренилфосфата и А. Я. Черняку за предоставление образца синтетической рамнозилгалактозы.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Kauffman F. (1972) Serological diagnosis of Salmonella species, Munksgaard, Copenhagen.
2. Luderitz O., Westphal O., Staub A. M., Nikaido H. (1971) in Microbial Toxins (Weinbaum G., Kadis S., Aje S. J., eds.), vol. 4, pp. 145—233, Acad. Press, N. Y.—London.
3. Robbins P. W., Wright A. (1971) in Microbial Toxins (Weinbaum G., Kadis S., Aje S. J., eds.), vol. 4, pp. 351—368, Acad. Press, N. Y.—London.
4. Roden L., Schwartz M. B. (1975) in MTP Intern. Rev. Sci. Biochem., Ser. 1, vol. 5, Biochemistry of Carbohydrates (Whelan W. J., ed.), pp. 95—152, Butterworths, London University Park Press, Baltimore.
5. Шибаев В. Н., Елисеева Г. И., Кусов Ю. Ю., Петренко В. А., Мищенко С. С., Кочетков Н. К. (1976) Изв. АН СССР. Сер. хим., 2584—2587.

6. Robbins P. W., Wright A., Bellows J. L. (1964) Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 52, 1302—1309.
7. Zeleznick L. D., Rosen S. M., Salmarsh-Andrew M., Osborn M. J., Horecker B. L. (1965) Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 53, 207—214.
8. Nikaido H. (1965) Biochemistry, 4, 1550—1561.
9. Weiner I. M., Higuchi T., Rothfield L., Salmarsh-Andrew M., Osborn M. J., Horecker B. L. (1965) Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 54, 228—235.
10. Wright A., Dankert M., Robbins P. W. (1965) Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 54, 235—241.
11. Kochetkov N. K., Shibaev V. N. (1973) Adv. Carbohydr. Chem. Biochem., 28, 307—399.
12. Ginsburg V. (1966) J. Biol. Chem., 241, 3750—3753.
13. Barber G. A. (1963) Arch. Biochem. and Biophys., 103, 276—282.
14. Шibaев В. Н., Кусов Ю. Ю., Дружинина Т. Н., Калинин Н. А., Кочетков Н. К., Килессо В. А., Рожнова С. Ш. (1978) Биоорг. химия, 4, 47—56.
15. Bernstein R. L., Robbins P. W. (1965) J. Biol. Chem., 240, 391—397.
16. Garcia R. C., Recondo E., Dankert M. (1974) Eur. J. Biochem., 43, 93—105.
17. Дмитриев Б. А., Черняк А. Я., Байрамова Н. Э. (1975) Изв. АН СССР. Сер. хим., 142—148.
18. Вергунова Г. И., Глухоед И. С., Данилов Л. Л., Елисеева Г. И., Кочетков Н. К., Троицкий М. Ф., Усов А. И., Шашков А. С., Шibaев В. Н. (1977) Биоорг. химия, 3, 1484—1492.
19. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. (1951) J. Biol. Chem., 193, 265—275.
20. Кочетков Н. К., Будовский Э. И., Шibaев В. Н., Лебедева К. С. (1969) Изв. АН СССР. Сер. хим., 897—903.
21. Folch J., Lees M., Sloane-Stanly G. H. (1957) J. Biol. Chem., 226, 497—509.

Поступила в редакцию  
21.VI.1977

**SPECIFICITY OF ENZYMES OF O-ANTIGEN BIOSYNTHESIS  
IN SALMONELLA. 1. INTERACTION OF URIDINE-5'  
AND 2'-DEOXYURIDINE-5'-DIPHOSPHATE RHAMNOSE  
WITH RHAMNOSYLTRANSFERASE FROM *SALMONELLA ANATUM***

SHIBAEV V. N., KUSOV Yu. Yu., PETRENKO V. A., DRUZHININA T. N.,  
KOCHETKOV N. K.

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

Uridine and 2'-deoxyuridine diphosphate rhamnoses may serve as substrates for rhamnosyltransferase which takes part in the *Salmonella anatum* O-antigen biosynthesis. The native substrate of the enzyme seems to be thymidine diphosphate rhamnose because no conversion of UDPGlucose to UDPRhamnose could be detected using crude enzyme preparations. The first reaction of O-antigen biosynthesis where UDPGalactose serves as a substrate is markedly inhibited in the presence of UDPRhamnose.