



УДК 547.458.7+582.232.5

ВЫДЕЛЕНИЕ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА И ГЛЮКОПРОТЕИНА
ИЗ СИНЕЗЕЛЕННОЙ ВОДОРОСЛИ *SPIRULINA PLATENSIS*
(GOM.) GEITLERY

Яроцкий С. В., Рабовский А. Б., Усов А. И.

Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского Академии наук СССР, Москва

Нефедова Е. Л., Мелешко Г. И.

Институт медико-биологических проблем, Москва

Синезеленые водоросли (цианобактерии) относятся к прокариотам и являются древнейшими фотосинтезирующими организмами. По имеющимся далеко не полным сведениям, для них характерно наличие в клеточных стенках своеобразных липополисахаридов [1–5]; резервным углеводом может служить гликокан типа крахмала, локализованный в виде гранул в цитоплазме [6, 7].

Данная работа посвящена изучению углеводсодержащих полимеров синезеленой водоросли *Spirulina platensis*. Этот организм можно культивировать в крупных масштабах для использования в пищевых целях [8, 9]; известно, что содержание углеводов, главным образом полисахаридов, составляет около 15% биомассы [10], причем моносахаридный состав этих полисахаридов достаточно сложен [11].

Для извлечения полисахаридов мы применили экстракцию водоросли горячей водой после предварительной обработки смесью хлороформ — метанол, 2 : 1, для удаления липидов и пигментов. Из водного экстракта была получена фракция липополисахарида (ЛПС) с выходом 10%, считая на обезжиренную биомассу. Этот препарат нагреванием с 10% уксусной кислотой был расщеплен на углеводную и липидную части; в продуктах омыления последней были найдены насыщенные и ненасыщенные высшие жирные кислоты и оксикислоты. Полисахаридная часть ЛПС была гомогенной по данным гель-фильтрации на сефадексе G-100. В ее составе найдены *D*-галактоза, *D*-глюкоза, *L*-рамноза, галактуроновая и глюкуроновая кислоты и меньшие количества маннозы, ксилозы и арабинозы; кроме того, полисахарид содержал *O*-метилированные сахара, в числе которых, по данным ГЖХ, масс-спектров ацетатов полиолов [12] и деметилирования действием BCl_3 , идентифицированы 2-*O*-метилрамноза, 3-*O*-метилрамноза и 2,3-ди-*O*-метиларабиноза.

Остаток водоросли после водной экстракции обрабатывали 1 н. NaOH 1 ч при 20° С, а затем снова экстрагировали горячей водой. Из экстракта с выходом 35% была получена основная фракция (ОФ), содержащая около 45% белка и дающая при полном кислотном гидролизе единственный моносахарид — глюкозу. В смеси веществ, образующихся в резуль-

гате полного метилирования ОФ с последующим гидролизом, восстановлением и ацелированием методом хромато-масс-спектрометрии были идентифицированы ацетаты 2,3,4,6-тетра-, 2,3,6-три- и 2,3-ди-О-метилсорбита в соотношении 1,7 : 3,6 : 1. Соотношение продуктов метилирования говорит о том, что остатки глюкозы в ОФ образуют короткие цепочки со связями 1→4 и 1→6 (в разветвлениях). При обработке ОФ папайном был получен единственный углеводсодержащий фрагмент, выделенный препаративной ВХ и электрофорезом на бумаге и представляющий собой олигогликозид серина. Этот фрагмент давал только глюкозу и серин при полном кислотном гидролизе и при действии амилоглюкозидазы; последний факт доказывает принадлежность к *D*-ряду и α -конфигурацию гликозидных центров для всех остатков глюкозы, входящих в его состав. Очевидно, ОФ является гликопротеином, в котором разветвленные цепочки из 6—7 остатков глюкозы, аналогичные по структуре участкам полисахаридных молекул типа гликогена, присоединены α -связями к гидроксильным группам остатков серина, входящих в пептидную цепь. Такой вывод находится в соответствии с результатами расщепления ОФ под действием щелочи в присутствии боргидрида натрия в условиях β -элиминирования щелочелавильных О-гликозидных связей в гликопротеинах [13]. При этом был получен олигогликозилсорбит, содержащий около 6 остатков глюкозы на остаток сорбита.

Таким образом, изученная водоросль содержит на поверхности клеток липополисахарид сложного состава, а в качестве резервного материала — необычный гликопротеин, углеводные цепи которого сходны с участками молекулы гликогена и связаны с остатками серина в пептидной цепи О-гликозидными связями.

Экспериментальная часть

Водоросль *Spirulina platensis* выращивали в условиях непрерывного непроточного автотрофного культивирования на модифицированной среде Заррука в реакторе ротационного типа при круглосуточном освещении и непрерывном барботировании газовой смеси [14]. Продуктивность культуры в этих условиях составляла до 6 г/л в сутки.

ВХ выполняли на бумаге Filtrak FN-11 и Whatman 3ММ в системах растворителей *n*-бутанол — пиридин — вода, 6 : 4 : 3, и *n*-бутанол — муравьиная кислота — вода, 75 : 15 : 10. ГЖХ проводили на приборе Pye-104 с пламенно-ионизационным детектором на колонке с 3% ECNSS-M на газхроме Q; хромато-масс-спектрометрию — на приборе Varian MAT III, снабженном аналогичной колонкой. Электрофорез на бумаге выполняли в 0,2 М пиридин-ацетатном буфере, pH 4,3. Ионнообменную хроматографию сахаров проводили на анализаторе углеводов Technicon SC-2; идентификацию и количественное определение аминокислот — на анализаторе аминокислот BC-200.

Полное метилирование препарата ОФ достигнуто последовательными обработками диметилсульфатом и водной щелочью в мягких условиях по методу Хеурса [15] и иодистым метилом с гидридом натрия в диметилформамиде [16].

ЛИТЕРАТУРА

1. Cardemil L., Wolk C. P. (1976) *J. Biol. Chem.*, 251, 2967—2975.
2. Weise G., Drews G., Jann B., Jann K. (1970) *Arch. Microbiol.*, 71, 89—98.
3. Weckesser J., Katz A., Drews G., Mayer H., Fromme I. (1974) *J. Bacteriol.*, 120, 672—678.
4. Katz A., Weckesser J., Drews G., Mayer H. (1977) *Arch. Microbiol.*, 113, 247—256.
5. Tharanathan R. N., Mayer H., Weckesser J. (1978) *Biochem. J.*, 171, 403—408.
6. Chao L., Bowen C. C. (1971) *J. Bacteriol.*, 105, 331—338.
7. Weber M., Woeber G. (1975) *Carbohydr. Res.*, 39, 295—302.
8. Clement G. (1971) *Rev. Inst. Pasteur Lyon*, 4, 103—114.

9. Gradowa W. (1977) Postepy Mikrobiol., 16, 85-107.
10. Quillet M. (1976) Ann. nutr. et alim., 29, 553-561.
11. Оводова Р. Г., Михайская Л. В. (1977) Тезисы докладов VI Всесоюзной конференции по химии и биохимии углеводов, с. 74, «Наука», М.
12. Björndal H., Hellerqvist C. G., Lindberg B., Svensson S. (1970) Angew. Chem., Intern. Ed., 9, 610-619.
13. Готтшалк А. (1969) в сб.: Гликопротеины, т. 1, пер. с англ. под ред. В. А. Деревицкой, с. 288-293, «Мир», М.
14. Лебедева Е. К., Мелешко Г. И., Антоян А. А. (1977) Тезисы докладов Всесоюзного симпозиума «Медико-биологические аспекты проблемы пищевого белка», Ташкент.
15. Репман А., Rees D. A. (1973) J. Chem. Soc., Perkin Trans. I, 2182-2188.
16. Брямакомбе Д. С. (1975) в сб.: Методы исследования углеводов, пер. с англ. под ред. А. Я. Хорлина, с. 287-288, «Мир», М.

Поступило в редакцию
11.III.1979

LIPOPOLYSACCHARIDE AND GLUCOPROTEIN ISOLATION FROM THE BLUE-GREEN ALGA *SPIRULINA PLATENSIS* (GOM.) GEITLERY

YAROTSKY S. V., RABOVSKY A. B., USOV A. I.,
NEFEDOVA E. L., MELESHKO G. I.

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

A lipopolysaccharide isolated from the blue-green alga *Spirulina platensis* was shown to be a complex polymer consisting of lipid and polysaccharide moieties. The polysaccharide part contains *D*-glucose, *D*-galactose, *L*-rhamnose, glucuronic and galacturonic acids, xylose, arabinose and *O*-methyl sugars identified as 2-*O*-methyl and 3-*O*-methyl rhamnose and 2,3-di-*O*-methyl arabinose. The glucoprotein was shown to have a short branched chains of 6-7 glucose residues built like a glycogen molecule fragments and attached to the serine residues of the peptidic chain.