



УДК 547.458.02+576.851.42.097.1

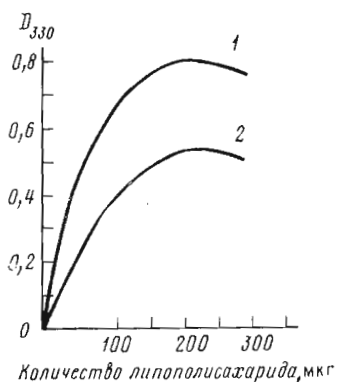
**2-О-МЕТИЛ-*D*-РАМНОЗА В СОСТАВЕ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА
*BACTERIUM FAECALIS ALCALIGENES*****Здоровенко Г. М.***Институт микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного
Академии наук УССР, Киев*

В составе липополисахарида *Bacterium faecalis alcaligenes*, штамм 6, представителя малоизученного в настоящее время вида условно-патогенных микроорганизмов неопределенного таксономического положения, химическими и физико-химическими методами (БХ, ГЖХ, ИК-спектроскопия, масс-спектрометрия и др.) идентифицирован липофильный моносахарид (2-О-метил-*D*-рамноза), не обнаруженный ранее в липополисахаридах грамотрицательных бактерий. Кроме 2-О-метил-*D*-рамнозы в соотношении 2:2:9:7 найдены галактоза, глюкоза, *D*-ксилоза, *L*-рамноза, 3,4% глюкозамина, следы гептоз и не обнаружена 2-кето-3-дезоксикетонная кислота. Структурно-иммунохимическими исследованиями (периодатное окисление, метилирование, выделение олигосахаридов, торможение реакций преципитации и гемагглютинации) установлена иммунодоминантная роль 2-О-метил-*D*-рамнозы и *D*-ксилозы в молекуле липополисахарида и обнаружены две детерминантные группы, определяемые этими моносахаридами.

Как известно, разнообразие липополисахаридов (ЛПС) у различных родов и видов микроорганизмов определяется главным образом вариабельностью моносахаридного состава и структуры О-специфических боковых цепей в макромолекуле [1]. Среди механизмов, обеспечивающих это разнообразие, важное место занимает биосинтез культурами необычных моносахаридов, характерных чаще всего для ЛПС лишь ограниченных групп микроорганизмов. Такими сахарами в составе ЛПС грамотрицательных бактерий являются так называемые липофильные сахара, представляющие собой производные основных сахаров, содержащие в своем составе одну или несколько гидрофобных групп.

Эти сахара могут служить одним из таксономических признаков при классификации некоторых бактерий [2-4], они обладают иммунодоминантными свойствами [5-7], определяя липофильный характер молекулы ЛПС, играют определенную роль в патогенности культур [6, 8], а благодаря частому параллельному обнаружению их в составе ЛПС и продуцируемого микроорганизмом антибиотика предполагается важная роль таких сахаров в устойчивости культур к антибиотикам [9, 10].

В связи с неустойчивостью при кислотном гидролизе и других обработках содержание липофильных сахаров в конечном продукте часто мало, и поэтому активное изучение их началось сравнительно недавно, с появлением методов исследования углеводов. В настоящее время представители липофильных сахаров все чаще обнаруживаются у различных групп микроорганизмов.



Количественная преципитация препаратов ЛПС *Bacterium faecalis alcaligenes*, полученных методами Вестфала (1), Фуллера (2), гомологичной антисывороткой (0,25 мл) к живой культуре

Ранее в составе ЛПС *Bacterium faecalis alcaligenes*, штамм 6, представителя малоизученного в настоящее время вида условно-патогенных бактерий неопределенного таксономического положения, мы обнаружили и выделили препаративно липофильный сахар неизвестной химической природы [11]. Данное сообщение посвящено идентификации и изучению иммунологической роли этого моносахарида и других сахаров в молекуле ЛПС.

Из сухой бактериальной массы ЛПС выделяли экстракцией горячим фенолом либо (для препаративного получения липофильного сахара) малотрудоемким методом Фуллера. Полученные различными методами препараты были серологически активны в гомологичной реакции количественной преципитации с антисывороткой к живой (рисунок) и гретой культурам, идентичны по качественному моносахаридному составу и содержали неизвестный липофильный сахар с $R_{\text{Rha}} 1,2$ (система А). Моносахарид обнаруживался при обработке хроматограммы кислым анилинфталатом (коричневая окраска), периодат-бензидиновым реактивом, слабо окрашивался щелочным раствором азотнокислого серебра и реактивом Моргана — Элсона на N-ацетилгексозамины; не давал окраски с хлористым трифенилтетразолием.

При экспериментально подобранных оптимальных условиях выделения и кислотного гидролиза (1 н. H_2SO_4 , 100°C , 2 ч) в составе ЛПС по данным БХ (система А), ГЖХ и ионообменной хроматографии идентифицированы галактоза, глюкоза, D-ксилоза, L-рамноза и липофильный сахар в молярном соотношении 2:2:9:7:1. С увеличением срока гидролиза ЛПС (до 4 ч) снижалось содержание липофильного сахара и сохранялось приведенное соотношение других сахаров. Методами БХ (система А) и ионообменной хроматографии в гидролизате обнаружен глюкозамин (3,4%). В препарате ЛПС обнаруживались только следы гептоз, 2-кето-3-дезоксиктоновая кислота не выявлена.

Для идентификации и изучения иммунологической роли липофильного сахара проводили его препаративное получение из смеси моносахаридов гидролизата [11]. По данным БХ в системах растворителей А, Б, В и электрофореза препарат не содержал примеси других сахаров, а при ГЖХ в виде ацетата полиола моносахарид идентичен неизвестному сахару в гидролизате ЛПС.

Для снятия ИК- и масс-спектров препарат дополнительно очищали в виде ацетата полиола методом препаративной ГЖХ. ИК-спектр неизвестного моносахарида в отличие от контрольного образца N-ацетилглюкозамина не содержал характерного для амидной группы пика при длине волны 1670 см^{-1} , чем исключалась возможность отнесения его к N-ацетилированным аminosахарам, несмотря на слабopоложительную реакцию Моргана — Элсона.

Масс-спектр ацетата полиола неизвестного сахара [m/e : 87 (13), 99 (17), 117 (100), 129 (12), 275 (2)], в скобках приведена интенсивность

в процентах к максимальной] был идентичен спектру 2-О-метил-6-дезоксигексозы [12] и масс-спектру контрольного образца синтетической 2-О-метилфукозы. При восстановлении исследуемого моносахарида бордейтеридом натрия в масс-спектре уменьшалась интенсивность пика с m/e 117 и появлялся интенсивный пик с m/e 118 при неизменившемся пике с m/e 275, что также свидетельствовало о принадлежности неизвестного сахара к 2-О-метил-6-дезоксигексозам.

При деметилировании 2-О-метил-6-дезоксигексозы в реакционной смеси методами ВХ и электрофореза в боратном буфере обнаруживалось единственное пятно с подвижностью и окраской рамнозы, неидентичное продукту деметилирования контрольного образца синтетической 2-О-метилфукозы.

Как исходный, так и деметилированный моносахарид давал положительную реакцию на 6-дезоксигексозы с тиогликолевой и серной кислотами, что также подтверждало вывод о принадлежности его к производным 6-дезоксигексоз.

Неизвестная 6-дезоксигексоза идентифицировалась путем исключения известных 6-дезоксигексоз по хроматографической, электрофоретической подвижности и времени удерживания при ГЖХ. На основании известных данных по хроматографической и электрофоретической подвижности отдельных 6-дезоксигексоз [13, 14] были исключены 6-дезоксиальтроза, 6-дезоксидоза, 6-дезокситалоза и 6-дезоксигалактоза.

Исключение 6-дезоксигексоз, сходных между собой и с исследуемой по хроматографической подвижности, проводилось путем сравнения ацетата полиола неизвестной 6-дезоксигексозы с контрольными образцами ацетатов полиолов 6-дезоксиаллозы, 6-дезоксигулозы, 6-дезоксиглюкозы и 6-дезоксиманнозы (рамнозы) по времени удерживания при ГЖХ (табл. 1). Методом исключения неизвестная 6-дезоксигексоза идентифицирована как рамноза. По отрицательному оптическому вращению исходного моносахарида ($[\alpha]_D^{20} - 7,2^\circ$) остатку рамнозы приписана *D*-конфигурация.

Таким образом, впервые обнаруженный нами в составе ЛПС *Bacterium faecalis alcaligenes*, штамм 6, липофильный сахар оказался редко встречающимся в природе моносахаридом — 2-О-метил-*D*-рамнозой. Следует отметить, что О-метилированные сахара редко встречаются в составе бактериальных полисахаридов. Чаще всего они обнаруживаются у микобактерий [15, 16] и представителей семейства Rhodospirillaceae [3, 17], очень редко встречаются у других бактерий [5, 18—21]. Наименее распространены у грамтрицательных микроорганизмов 2-О-метилвые эфиры сахаров. По имеющимся у нас данным, 2-О-метил-*D*-рамноза впервые обнаружена нами в составе ЛПС грамтрицательных бактерий. Известны только два случая обнаружения ее у бактерий: в типоспецифическом гликолипиде бычьего штамма *Mycobacterium tuberculosis* [22] и в экзоцеллюлярном гликапе из *Mucobacterium* 402 [23].

Дальнейшие исследования посвящены изучению иммунологической роли этого моносахарида. С этой целью провели сравнительное определение роли отдельных моносахаридов в молекуле ЛПС путем торможения реакции преципитации.

Как следует из приведенных данных (табл. 2), липофильный сахар и *D*-ксилоза активнее других моносахаридов тормозят гомологичную реакцию преципитации, которая, однако, не абсолютно специфична, так как активны в ней, хотя и в меньшей мере, и другие моносахариды молекулы ЛПС. Поэтому для подтверждения вывода об иммунодоминантной роли указанных моносахаридов проводились некоторые структурно-иммунохимические исследования ЛПС.

При окислении ЛПС иодной кислотой разрушаются 2-О-метил-*D*-рамноза и *D*-ксилоза, а ЛПС полностью теряет серологическую активность (табл. 3), т. е. результаты этих исследований подтверждают полученный ранее вывод о важной иммунологической роли этих моносахаридов.

Таблица 1

Хроматографическая характеристика 6-дезоксигексоз

Моносахариды	R*Rha	Время удерживания **	
		колонка А	колонка В
6-Дезокси-L-глюкоза	0,97	1,5	
6-Дезокси-D-аллоза	1,0	1,0	0,9
6-Дезокси-D-гулоза	1,01	1,5	
Неизвестная			
6-Дезоксигексоза	1,0	1,0	1,0

* Система А.

** ГЖХ в виде ацетатов полиолов, относительно пентаацетата рамнита.

Таблица 2

Торможение гомологичной реакции преципитации моносахаридами, входящими в состав молекулы ЛПС

Сахар-ингибитор	Количество ингибитора, мкмоль	Торможение, %	Сахар-ингибитор	Количество ингибитора, мкмоль	Торможение, %
Липофильный	11	43	D-Глюкоза	11	18,7
L-Рамноза	12	15	D-Галактоза	11	17
D-Ксилоза	13	39	D-Глюкозамин	9	15

Таблица 3

Результаты периодатного окисления

ЛПС	Моносахаридный состав, мольное отношение					Серологическая активность *
	Gal	Glc	Xyl	Rha	2-O-Me-Rha	
Неокисленный	2	2	9	7	1	0,64
Окисленный	1,6	0,35	0	7	0	0

* Максимальное поглощение при 330 нм (микробиуретовая реакция) в реакции количественной преципитации.

Из данных периодатного окисления также следовало терминальное положение 2-О-метил-D-рамнозы в молекуле ЛПС и возможность такового для D-ксилозы. Терминальное положение D-ксилозы было окончательно доказано исследованием метилированного ЛПС, в гидролизате которого методом ГЖХ и ГЖХ-масс-спектрометрии идентифицирована 2,3,4-три-О-метилксилоза. Однако при этом нам не удалось обнаружить 2,3,4-три-О-метилрамнозу, что, вероятно, объясняется легкостью потери 2-О-метил-D-рамнозы при обработках, а также малым содержанием ее в исходном ЛПС.

Терминальное положение D-ксилозы и 2-О-метил-D-рамнозы также в определенной мере говорит о важной иммунологической роли этих моносахаридов.

Далее, мягким кислотным гидролизом ЛПС был получен ряд серологически активных олигосахаридов, среди которых обнаружено вещество (R_{Xyl} 0,46), тормозящее гомологичную реакцию гемагглютинации в концентрации 2 мкг/мл, в составе которого ионообменной хроматографией выявлена только 2-О-метил-D-рамноза. Учитывая данные периодатного окисления, можно заключить, что выделенное вещество представляет собой производное 2-О-метил-D-рамнозы с неуглеводной группой.

Кроме указанного вещества выделен олигосахарид ($R_{\text{хв1}} 0,28$), тормозящий реакцию гемагглютинации в концентрации 4 мкг/мл, в составе которого ионообменной хроматографией обнаружены рамноза и ксилоза, т. е. в полимерной цепи обнаружены две детерминантные группы, определяемые различными моносахаридами, занимающими терминальное положение в молекуле ЛПС. Этими исследованиями окончательно доказана иммунодоминантная роль 2-О-метил-*D*-рамнозы и *D*-ксилозы в специфическом полисахариде *Bacterium faecalis alcaligenes*, штамм 6.

Таким образом, в ЛПС исследуемой культуры обнаружены необычные для энтеробактерий, к которым часто относят вид *Bacterium faecalis alcaligenes*, и даже грамотрицательных бактерий, моносахариды *D*-ксилоза и 2-О-метил-*D*-рамноза, причем установлено, что именно этими необычными моносахаридами определяются детерминантные группы в молекуле ЛПС исследуемой культуры. Характерные для многих энтеробактерий моносахариды 2-кето-3-дезоксиктоновая кислота и гептозы не обнаружены.

Экспериментальная часть

Объектом исследований была культура *Bacterium faecalis alcaligenes*, штамм 6, полученная из музея живых культур ГИСК им. Л. А. Тарасевича. Штамм был типичен по культурально-морфологическим и биохимическим свойствам [24], что постоянно проверялось при получении субкультур. Условия выращивания и получения бактериальной массы приведены в работе [11].

Для получения ЛПС сухую бактериальную массу (ацетоновый порошок) повторно экстрагировали горячим фенолом [25], а объединенные водные экстракты для удаления фенола диализовали против дистиллированной воды и подвергали гель-фильтрации на сефадексе G-150, как описано в работе [26]. Из этой же культуры параллельно проводили экстракцию ЛПС горячим формамидом по методу Фуллера [27]. Получаемый этим методом препарат очищали диализом против дистиллированной воды.

ЛПС (0,5% раствор в 1 н. H_2SO_4) гидролизовали 2 ч при 100° С. Гидролизаты нейтрализовали сухим углекислым барием либо амберлитом IRA-401 (HCO_3^- -форма) и упаривали в вакууме при температуре не выше 40° С.

Нейтральные сахара идентифицировали методом восходящей хроматографии на бумаге FN15 в системах растворителей: *n*-бутанол — пиридин — вода, 6 : 4 : 3 (А), *n*-бутанол — вода, 95 : 5 (Б), этанол — вода, 95 : 5 (В). Обнаруживали сахара щелочным раствором азотнокислого серебра, кислым апилинтагалатом, периодат-бензидиновым реагентом, как описано в методике [28]. Ионообменную хроматографию моносахаридов проводили на анализаторе углеводов «Technicon SC-2» и на анализаторе аминокислот BC-200. ГЖХ сахаров в виде ацетатов полиолов проводили на приборе «Pye Unicam», серия 104, на колонках с ECNSS-M (колонка А), SE-30 (колонка Б) и NGA (колонка В). Хромато-масс-спектрометрию выполняли на приборе «Varian Mat 111 Gnom» с использованием колонки Б. Условия ГЖХ и хромато-масс-спектрометрии приведены в работе [29].

Качественное определение 6-дезоксигексоз проводили реакцией с тиогликолевой и серной кислотами с использованием в качестве контроля *L*-рамнозы, *L*-фукозы, *D*-галактозы, *D*-глюкозы, *D*-маннозы и *D*-ксилозы [30].

Количественное содержание отдельных моносахаридов определяли реакцией с фенол-серной кислотой [31] после элюции с бумажной хроматограммы соответствующих зон разведенным этанолом, используя стандартные кривые, построенные для каждого моносахарида, а также методами ГЖХ и ионообменной хроматографии, используя в качестве внутреннего стандарта известное количество определенного моносахарида. Гептозы определяли реакцией с цистеин-серной кислотой [32], 2-кето-3-дезоксик-

тоновую кислоту — с тиобарбитуровой кислотой [33], аминсахара — модифицированным методом Моргана — Элсона [34].

Олигосахариды получали гидролизом ЛПС 1 н. H_2SO_4 (1 ч, $100^\circ C$). Нейтральный гидролизат пропускали через колонку с целлюлозой (система В) для отделения моносахаридов, а затем смесь олигосахаридов делили методом ВХ в системе А с последующей препаративной элюцией соответствующих зон водой.

Условия препаративного получения неизвестного сахара путем разделения гидролизата ЛПС на колонке с целлюлозой приведены в работе [11].

Оптическое вращение водных растворов липофильного сахара (c 0,63), рамнозы (c 0,37), ксилозы (c 0,56) определяли на поляриметре «Perkin-Elmer», модель 141, при $20^\circ C$.

Электрофорез на бумаге проводили в 0,05 М боратном буфере с pH 10 при 40 В/см.

ИК-спектры снимали на приборе UR-10 в прессовке с KBr.

Деметилировали липофильный сахар (1–2 мг) при $-78^\circ C$ треххлористым бором в абсолютном хлористом метиле [35].

ЛПС окисляли метапериодатом натрия при $48^\circ C$ в темноте в течение 90 ч [36]. За расходом метапериодата натрия следили спектрофотометрически, определяя поглощение при 222,5 нм. Окисленный полисахарид восстанавливали боргидридом натрия с последующим удалением его избытка 50% уксусной кислотой, диализовали 3 сут против дистиллированной воды и сушили липофильно.

Метилирование ЛПС проводили по методу Хакомори [38] и подвергали формолизу (2 ч, 85% муравьиная кислота, $100^\circ C$), а затем гидролизу (12 ч, 0,3 н. HCl, $100^\circ C$).

Антисыворотки к живой и гретой (2,5 ч в аппарате Коха) культуре *Bacterium faecalis alcaligenes*, штамм 6, получали пятикратной внутривенной иммунизацией кроликов возрастающими дозами взвеси микробных тел от 500 млн. до 10 млрд. в 0,5 мл физиологического раствора с интервалами между инъекциями 3–4 сут. Через 7 сут после последней инъекции животных обескровливали путем сердечной пункции.

Количественную преципитацию проводили смешиванием 0,2–0,25 мл неразведенной сыворотки с 10–300 мкг ЛПС в 0,5 мл физиологического раствора согласно методике [38]. Торможение реакции преципитации различными моносахаридами выполняли следующим образом. К 0,1 мл неразведенной сыворотки прибавляли различные количества (1–4 мг) соответствующего моносахарида в 0,25 мл физиологического раствора. После тщательного перемешивания реакционную смесь ставили на 1–2 ч в термостат при $37^\circ C$. Затем в каждую пробирку прибавляли эквивалентное (50 мкг) количество ЛПС в 0,5 мл физиологического раствора, активно перемешивали и оставляли при $4^\circ C$ на 48 ч. Преципитаты промывали повторно (2–3 раза) холодным физиологическим раствором и определяли в них количество белка.

Торможение реакции гемагглютинации проводили различными олигосахаридами в концентрациях 1–256 мкг/мл согласно методике [39]. В реакции использовали бараньи эритроциты, сенсibilизированные ЛПС исследуемой культуры, обработанным щелочью по методике [36].

Все основные исследования по идентификации неизвестного сахара, а также по метилированию ЛПС и хромато-масс-спектрометрическому анализу продуктов метилирования проводились в лаборатории химии углеводов Института органической химии АН СССР.

Выражаю глубокую благодарность Н. К. Кочеткову за предоставленную возможность выполнения работы, Б. А. Дмитриеву, О. С. Чижову, Л. В. Бакиновскому и Ю. А. Книрелю за постоянные консультации, помощь в работе и в трактовке полученных данных.

Выражаю также глубокую благодарность д-ру Х. Кауфману и д-ру Т. Райхштайну (Швейцария) за любезно присланный образец 6-О-метил-*D*-гулозы и Л. В. Бакиновскому за любезно предоставленные образцы 6-дезоксигулозы и 6-дезоксиаллозы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Nikaido H. (1973) in: *Bacterial Membranes and Walls* (Leive L., ed.), vol. 1, pp. 131–208, Dekker, N. Y.
2. Kita H., Nikaido H. (1973) *J. Bacteriol.*, **113**, 672–679.
3. Mayer H., Flamberg K., Weckesser J. (1974) *Eur. J. Biochem.*, **44**, 181–187.
4. Azuma I., Takeda K., Yamamura Y., Yanagihara Y., Mifuchi I. (1976) *J. Bacteriol.*, **128**, 492–494.
5. Westphal O., Lüderitz O. (1960) *Angew. chem.*, **72**, 881–891.
6. Lüderitz O., Staub A. M., Westphal O. (1966) *Bacteriol. Rev.*, **30**, 192–253.
7. Stellner K., Lüderitz O., Westphal O., Staub A. M., Leluc B., Coynoeult C., Le Minor L. (1972) *Ann. Inst. Pasteur*, **123**, 43–54.
8. Hickmann J., Ashwell H. (1966) *J. Biol. Chem.*, **241**, 1424–1428.
9. Salton M. K. J. (1965) *Ann. Rev. Biochem.*, **34**, 143–148.
10. Hanessian S. (1966) *Adv. Carbohydr. Chem.*, **21**, 143–201.
11. Лаушник Г. М. (1976) *Ж. микробиол.*, **1**, 71–74.
12. Jansson P.-E., Kenne L., Liedgren H., Lindberg B., Lönngren J. (1976) *Chem. Commun.*, **8**, 1–75.
13. MacLennan A. P., Randall H. M., Smith D. W. (1959) *Analyt. Chem.*, **31**, 2020–2022.
14. MacLennan A. P., Randall H. M., Smith D. W. (1961) *Biochem. J.*, **1**, 309–318.
15. MacLennan A. P. (1962) *Biochem. J.*, **82**, 394–400.
16. Ville C., Gastambide-Odier M. (1970) *Carbohydr. Res.*, **12**, 4213–4218.
17. Weckesser J., Mayer H., Fromme I. (1973) *Biochem. J.*, **135**, 293–297.
18. Hurlbert R. E., Weckesser J., Mayer H., Fromme I. (1976) *Eur. J. Biochem.*, **68**, 365–371.
19. Kennedy L. D. (1976) *Carbohydr. Res.*, **52**, 259–261.
20. Kennedy L. D., Bailey R. W. (1976) *Carbohydr. Res.*, **49**, 451–454.
21. Brown F., Neal D. J., Wilkinson S. G. (1977) *Biochem. J.*, **163**, 173–175.
22. Demarteu-Ginsburg H., Lederer E. (1963) *Biochim. et biophys. acta*, **70**, 442–45.
23. Morrison I. M., Young R., Perry M. B., Adams G. A. (1967) *Can. J. Chem.*, **45**, 987–990.
24. Рашба О. Я., Лаушник Г. М. (1964) *Микробиол. ж.*, **26**, 22–27.
25. Westphal O., Lüderitz O., Bister F. (1952) *Z. Naturforsch.*, **7b**, 148–155.
26. Скрипник С. И., Лаушник Г. М., Захарова И. Я. (1976) *Микробиол. ж.*, **38**, 235–239.
27. Fuller A. T. (1938) *Brit. J. Exp. Pathol.*, **19**, 130–139.
28. Мацек К. (1962) в кн.: *Хроматография на бумаге* (Хайс И. М., Мацек К., ред.), с. 719–729, Изд-во иностр. лит., М.
29. Dmitriev B. A., Knirel Yu. A., Kochelkov N. K., Hofmann I. L. (1976) *Eur. J. Biochem.*, **66**, 559–566.
30. Дише З. (1967) в сб.: *Методы химии углеводов* (Кочетков Н. К., ред.), с. 42–44, «Мир», М.
31. Dubois M., Gilles K. A., Hamilton I. K., Robers P. A., Smith F. (1956) *Anal. Chem.*, **28**, 350–356.
32. Osborn M. J. (1963) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **50**, 499–506.
33. Dröge W., Lehmann V., Lüderitz O., Westphal O. (1970) *Eur. J. Biochem.*, **14**, 175–184.
34. Good T. A., Bessmann S. P. (1964) *Analyt. Biochem.*, **9**, 253–262.
35. Bonner T. J., Bourne E. J., McNally S. (1960) *J. Chem. Soc.*, 2929–2934.
36. Wheat R. W., Berst M., Ruschmann E., Lüderitz O., Westphal O. (1967) *J. Bacteriol.*, **94**, 1366–1380.
37. Nakomori S. (1964) *J. Biochem. (Tokyo)*, **55**, 205–208.
38. Staub A. M., Combes R. (1951) *Ann. Inst. Pasteur*, **80**, 21–39.
39. Lindberg A. A., Holme T. (1968) *J. Gen. Microbiol.*, **52**, 55–65.

Поступила в редакцию
28.II.1980

После доработки
19.V.1980

2-O-METHYL-D-RHAMNOSE AS A CONSTITUENT OF LIPOPOLYSACCHARIDE
OF *BACTERIUM FAECALIS ALCALIGENES*

ZDOROVENKO G. M.

*D. K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, Academy
of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev*

An unknown lipophilic sugar has been detected as a constituent of the lipopolysaccharide of *Bacterium faecalis alcaligenes*, strain 6. It was isolated after acid hydrolysis followed by chromatography on cellulose and identified as 2-O-methyl-D-rhamnose on the basis of physico-chemical analyses. Galactose, glucose, D-xylose, L-rhamnose in a 2:2:9:7 ratio, and glucosamine (3,4%) were also found to be constituents of the lipopolysaccharide. No 2-keto-3-deoctonate and only a trace amount of heptose were detected. Chemical and immunochemical studies (periodate oxidation, methylation, partial acid hydrolysis, inhibition of precipitin and hemagglutination reactions) indicated that 2-O-methyl-D-rhamnose and xylose play an immunodominant role, and allowed to find two respective determinant groups in the molecule of lipopolysaccharide.