



УДК 579.842.14:579.222.7'124.5

## БИОСИНТЕЗ О-СПЕЦИФИЧЕСКОГО ПОЛИСАХАРИДА *SALMONELLA BREDENEY*

*Дружинина Т. Н., Гоголашвили Л. М., Шибазев В. Н.*

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

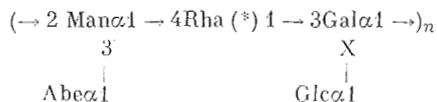
*Рожнова С. Ш., Килессо В. А.*

*Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии  
Министерства здравоохранения СССР, Москва*

Показано, что биосинтез основной цепи О-специфического полисахарида *Salmonella bredeney* протекает аналогично биосинтезу изученных ранее полисахаридов *S. anatum*, *S. typhimurium*, *S. senftenberg* и включает в себя сборку повторяющегося трисахаридного звена на полипрениольном акцепторе. Процесс гликозилирования протекает через образование полипренилмонофосфатглюкозы, с которой остаток сахара переносится на полипренилпирофосфаттрисахарид с образованием тетрасахаридного производного. Продемонстрирована ферментативная полимеризация полипренилпирофосфатов три- и тетрасахаридов. Показано, что синтетические гликозильные морфпренилпирофосфатные производные *D-Gal*, *L-Rhaα1→3-D-Gal* или *L-Rhaα1→3-D-Gal6←1α-D-Glc* способны участвовать в реакциях биосинтеза О-специфического полисахарида *S. bredeney*.

Одним из иммунодоминантных остатков моносахаридов в О-специфических полисахаридах салмонелл серогрупп А, В, D и Е является находящийся в боковых цепях остаток глюкозы. Во всех случаях он связан с остатком галактозы основной цепи полисахарида и в зависимости от места присоединения обуславливает проявление различных серологических факторов [1]. Гликозилирование остатка галактозы по С-6 приводит к появлению фактора 1, как, например, в О-специфическом полисахариде *S. senftenberg* (серогруппа E<sub>4</sub>) или в некоторых штаммах *S. bredeney* (серогруппа В); полисахарид из *S. typhimurium* (серогруппа В), как и полисахариды других микроорганизмов с С-4-гликозилированным остатком галактозы, обладает серологической специфичностью фактора 12<sub>2</sub>.

Биосинтез гликозилированных полисахаридов был изучен ранее на примере *S. anatum* ε<sup>15</sup>ε<sup>34</sup> [2], *S. typhimurium* [3] и *S. senftenberg* [4]. Во всех случаях продемонстрирован одинаковый механизм образования основной цепи полисахарида, а в процессе гликозилирования выявились некоторые различия. Чтобы выяснить, связаны ли эти различия с присоединением глюкозы к различным углеродным атомам остатка галактозы, или они отражают разные свойства ферментных систем из разных микроорганизмов, мы провели в настоящей работе исследование биосинтеза О-специфического полисахарида представителя серогруппы В — *S. bredeney*, в котором остаток галактозы гликозилирован по С-6. Основная цепь этого полимера построена из трисахаридных *D*-маннозил-*L*-рамнозил-*D*-галактозных звеньев, как и в случае полимера из *S. typhimurium*:



X=4 в полисахариде *S. typhimurium* (0 : 4, 5, 12), 6 в полисахариде *S. bredeney* (0 : 1, 4, 12). Конфигурация гликозидного центра остатка рамнозы (\*) обсуждена ниже.

Принятые сокращения: Mpr — C<sub>50</sub>-C<sub>60</sub>-полипрепол из листьев шелковицы, Gal, Glc, Man — остатки сахаров *D*-конфигурации, Rha — *L*-конфигурации.

Включение радиоактивности в органическую фазу после инкубации нуклеотидсахаров и морапренилфосфата с препаратом растворимых трансфераз из *S. bredeney*

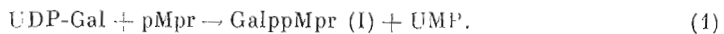
Номер опыта	Состав нуклеотидсахаров инкубационной смеси	Радиоактивность органических фаз, имп/мин
1	UDP-[ <sup>14</sup> C]Gal	5180
2	dTDP-[ <sup>14</sup> C]Rha	400
3	GDP-[ <sup>14</sup> C]Man	270
4	UDP-Gal, dTDP-[ <sup>14</sup> C]Rha	7280
5	UDP-Gal, GDP-[ <sup>14</sup> C]Man	527
6	UDP-Gal, dTDP-Rha, GDP-[ <sup>14</sup> C]Man	16 137
7	UDP-[ <sup>14</sup> C]Glc	3451

Изучение пути биосинтеза О-специфического полисахарида *S. bredeney* проводили с использованием препаратов растворимых гликозилтрансфераз и клеточных мембран, аналогично тому, как это описано нами ранее для *S. senftenberg* [4].

Как известно, характерной стадией биосинтеза О-специфического полисахарида в *S. typhimurium* [5], как и в ряде штаммов сальмонелл других серогрупп [4, 6], является сборка повторяющегося звена главной цепи полисахарида на полипренольном акцепторе; выяснение пути биосинтеза основной цепи О-специфического полисахарида *S. bredeney* мы начали со стадии сборки повторяющегося звена.

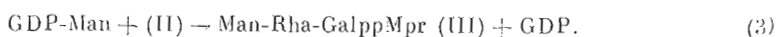
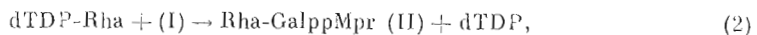
Биосинтез повторяющегося звена основной цепи О-специфического полисахарида *S. bredeney*. Мерой протекания первых стадий биосинтеза служил перенос меченых остатков сахара из соответствующих нуклеотидсахаров на липидный акцептор. В качестве экзогенного липидного акцептора был использован морапренилфосфат (фосфат C<sub>50</sub>-C<sub>60</sub>-полипренола из листьев шелковицы), который, как было продемонстрировано с другими штаммами, эффективно заменяет фосфат бактериального полипренола в реакциях биосинтеза О-специфического полисахарида [4, 7].

Результаты опытов по образованию липидсахаров при инкубации различных нуклеотидсахаров с морапренилфосфатом (табл. 1, опыты 1-3) показали, что заметное включение радиоактивности в органическую фазу, содержащую липидсахара, происходит лишь при использовании UDP-[<sup>14</sup>C]Gal. Таким образом, можно предположить, что сборка повторяющегося звена начинается с переноса остатка галактозилфосфата из UDP-Gal на липидный акцептор:



Производное (I) определяли по включению [<sup>14</sup>C]Gal в органическую фазу. Радиоактивный продукт реакции был идентичен заведомому синтетическому образцу морапренилпирофосфат- $\alpha$ -D-галактопиранозы [8] по данным ТСХ (*R*, 0,24). Наличие пирофосфатной связи в продукте реакции было подтверждено также результатами его хроматографии на DEAF-целлюлозе (рис. 1). Полученный продукт элюировался с колонки в зоне элюирования заведомых образцов липидпирофосфатсахаров (концентрация AcONH<sub>4</sub>, 0,21 M).

Включение остатка рамнозы из dTDP-[<sup>14</sup>C]Rha в состав липидсахаров происходило только после предварительного переноса остатка галактозы (ср. опыты 2 и 4 табл. 1), а перенос остатка маннозы из GDP-[<sup>14</sup>C]Man — после включения остатков галактозы и рамнозы (ср. опыты 3, 5, 6 табл. 1).



Выделенный из инкубационной смеси продукт реакций 1-3 при мягком кислотном гидролизе дал олигосахарид, идентичный по хроматогра-

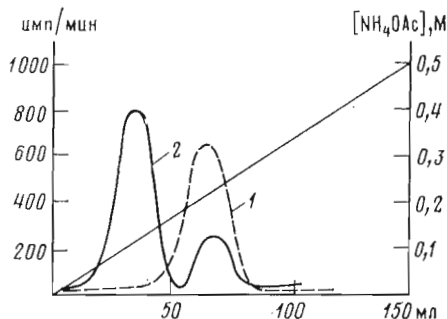


Рис. 1

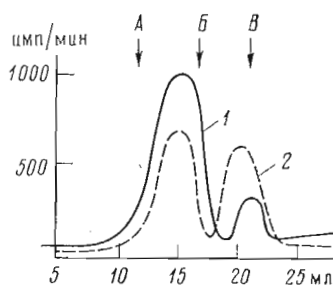


Рис. 2

Рис. 1. Ионообменная хроматография на DEAE-целлюлозе продуктов, полученных с помощью препарата растворимых гликозилтрансфераз из *S. bredeney* из морапрепилфосфата и UDP-[<sup>14</sup>C]Gal (1) или UDP-[<sup>14</sup>C]Glc (2)

Рис. 2. Гель-фильтрация полимерных продуктов, полученных с помощью мембранного препарата *S. bredeney* из трисахаридного производного (III) (1) или тетрасахаридного производного (VIII) (2). Стрелками обозначены объемы выхода стандартов: А — [<sup>14</sup>C]GlcNAc<sub>2</sub>Man<sub>9</sub>Glc<sub>3</sub>, В — (Man-Rha-Gal)<sub>2</sub>, В' — Man-Rha-Gal

фической подвижности на бумаге в системе А ( $R_{Gal}$  0,45) синтетическому трисахариду  $Man\alpha 1 \rightarrow 4Rha\alpha 1 \rightarrow 3Gal$  [9], соответствующему структуре повторяющегося звена основной цепи О-специфического полисахарида *S. bredeney*. При обработке  $\alpha$ -маннозидазой этот трисахарид полностью расщеплялся, давая в качестве единственного радиоактивного продукта маннозу. Как показано ниже, образующийся в результате реакций 1–3 липид-олигосахарид является предшественником О-специфического полисахарида этого микроорганизма.

Для подтверждения структуры нормальных предшественников повторяющегося звена биополимеров в системе биосинтеза О-специфического полисахарида *S. bredeney* мы исследовали возможность использования в качестве акцепторов гликозильных остатков синтетических морапрепилфосфатсахаров:  $Gal\alpha 1ppMpr$  (IV),  $Rha\alpha 1 \rightarrow 3Gal\alpha 1ppMpr$  (V),  $Rha\beta 1 \rightarrow 3Gal\alpha 1ppMpr$  (VI).

Синтетическое производное (IV) оказалось хорошим субстратом в системе образования трисахаридного производного (III) в результате реакций 2 и 3 (табл. 2, опыт 2). С помощью хроматографии на бумаге в системе А было подтверждено образование после мягкого кислотного гидролиза липид-олигосахарид (III) трисахарида [<sup>14</sup>C]Man → Rha → Gal ( $R_{Gal}$  0,45).

Введение дисахаридных производных морапревола (V) и (VI) в систему биосинтеза О-специфического полисахарида *S. bredeney* дало возможность изучить требования маннозилтрансферазы, катализирующей реакцию 3, к конфигурации остатка рамнозы в акцепторе маннозильного

Таблица 2

**Образование морапрепилфосфатолигосахаридов из синтетических производных (IV)–(VI) и (IX) в присутствии растворимого ферментного препарата из *S. bredeney***

Номер опыта	Состав инкубационной смеси *	Радиоактивность органических фаз, имп/мин
1	pMpr (50), UDP-Gal, dTDP-Rha, GDP-[ <sup>14</sup> C]Man	5800
2	IV (2), dTDP-Rha, GDP-[ <sup>14</sup> C]Man	7701
3	V (11), GDP-[ <sup>14</sup> C]Man	7500
4	VI (11), GDP-[ <sup>14</sup> C]Man	150
5	IX (4), GDP-[ <sup>14</sup> C]Man	2300

\* Нуклеотидсахара взяты в количестве 25 нмоль, для полипренольных производных количество (в нмолях) указано в скобках.

остатка. Как видно из табл. 2, только производное (V), содержащее остаток  $\alpha$ -рамнозы, может вступать в реакцию образования производного (III) (ср. опыты 3 и 4 табл. 2), что позволяет сделать вывод о том, что в промежуточных олигосахаридных продуктах биосинтеза (II) и (III) остаток рамнозы имеет  $\alpha$ -, но не  $\beta$ -конфигурацию; следовательно, такая же конфигурация должна быть и в O-специфическом полисахариде *S. bredeney*. При установлении структуры этого полисахарида остатку рамнозы была приписана  $\beta$ -конфигурация [10], как и в полисахариде из *S. typhimurium* [11]. В более поздних работах с *S. typhimurium* было показано, что остаток рамнозы в O-специфическом полисахариде этого штамма имеет  $\alpha$ -конфигурацию [12], и этот вывод был распространен на все штаммы серогруппы В [13]. Полученные нами данные являются первым прямым доказательством  $\alpha$ -конфигурации остатка рамнозы в полисахариде *S. bredeney*.

**Процесс гликозилирования.** Непосредственным донором глюкозы при биосинтезе O-специфических полисахаридов во всех изученных ранее штаммах салмонеллы [4, 14, 15] служит не UDP-Glc, а полипренилмонофосфатглюкоза. Образование липидсвязанной глюкозы в системе из *S. bredeney* наблюдали в условиях, аналогичных описанным ранее для *S. senftenberg* [4], при инкубации препарата растворимых трансфераз с UDP- $^{14}\text{C}$ Glc и морапренилфосфатом (табл. 1). Образование морапренилмонофосфатглюкозы (VII) было доказано с помощью ТСХ ( $R_f$  0,45 для (VII) совпадает с подвижностью синтетической Glc $\beta$ 1pMpr [16]) и ионообменной хроматографии на DEAE-целлюлозе (рис. 1). Полученный продукт элюировался с колонки позже, чем нейтральные липидсахара, но раньше, чем липидпирофосфатсахара (при концентрации  $\text{AsONH}_4$  0,11 M, что соответствует монофосфатному производному), его подвижность ( $R_f$  0,9, система Б) характерна для нерасщепленного полипренилмонофосфатсахара.

Приведенные данные показывают, что препарат растворимых трансфераз из *S. bredeney* содержит фермент, катализирующий следующую реакцию:

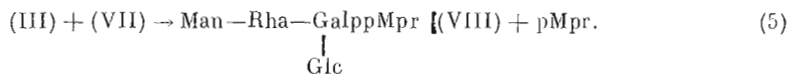


Далее мы проверяли, возможно ли в системе из *S. bredeney* гликозилирование повторяющегося звена O-специфического полисахарида до его полимеризации подобно тому, как это наблюдалось ранее в системе биосинтеза из *S. senftenberg* [4]. С этой целью радиоактивное соединение (VII) инкубировали с морапренилфосфатом, немечеными нуклеотидсахарами, необходимыми для сборки трисахаридного повторяющегося звена, и препаратом растворимых трансфераз. Полученный липид-олигосахарид после отщепления липидного фрагмента анализировали хроматографией на бумаге. Радиоактивное соединение имело подвижность, соответствующую подвижности синтетического тетрасахарида  $\text{Man}\beta 1 \rightarrow 4\text{Rha}\alpha 1 \rightarrow 3\text{Gal}\beta \leftarrow 1\alpha\text{Glc}$  [17] ( $R_{\text{Gal}}$  0,34, система А). Поскольку в инкубационной смеси единственным глюкозосодержащим соединением была морапренилмонофосфат- $^{14}\text{C}$ глюкоза, можно сделать вывод, что именно это производное служило донором остатка глюкозы в реакции гликозилирования производного трисахаридного звена.

Образование радиоактивного тетрасахаридного производного наблюдали и в том случае, если в реакцию с препаратом растворимых гликозилтрансфераз вводили радиоактивное производное (VII) и трисахаридное производное (III), полученное в отдельной пробе. На уровне дисахаридного производного включения остатка глюкозы не происходит, так как при инкубации в той же системе производного (VII) и синтетического производного (V) (11 нмоль) единственным радиоактивным продуктом оказывается глюкоза, образования трисахаридного производного не наблюдали.

Таким образом, мы продемонстрировали, что с препаратом растворимых гликозилтрансфераз из *S. bredeney* возможно гликозилирование одиночного трисахаридного фрагмента и получение разветвленного оли-

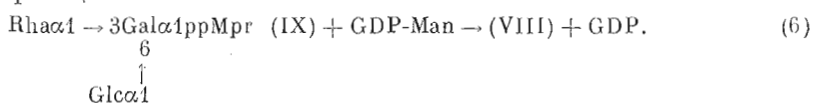
госахаридного производного, т. е. имеет место реакция



Из изложенных данных следует, что минимальным олигосахаридным фрагментом, гликозилируемым системой из *S. bredeney*, является трисахарид.

Мы осуществили далее встречный ферментативный синтез полипренилпирофосфаттетрасахарида (VIII). С этой целью мы использовали синтетический морапренилпирофосфаттрисахарид (IX) [18]. При его инкубации с GDP- $^{14}\text{C}$ Man и препаратом растворимых гликозилтрансфераз из *S. bredeney* (табл. 2, опыт 5) наблюдается включение радиоактивности в липид-олигосахаридную фракцию. Тетрасахарид, образующийся после мягкого кислотного гидролиза продукта, был идентичен при хроматографии на бумаге ( $R_{\text{Gal}}$  0,34, система А) продукту расщепления липид-олигосахарида, полученного по реакции 5.

Таким образом мы продемонстрировали возможность протекания с препаратом растворимых гликозилтрансфераз *S. bredeney* следующей ферментной реакции:



Эта реакция не имеет значения при нормальном ходе биосинтеза, так как гликозилирование полипренилпирофосфатдисахарида (V), как показано выше, не имеет места. Однако продемонстрированная реакция интересна в том отношении, что показывает нечувствительность маннозилтрансферазы к замещению у С-6 остатка галактозы в акцепторе маннозильного остатка. Производное (VIII), полученное с помощью реакции 6, оказалось чрезвычайно полезным для выяснения вопроса о возможности ферментативной полимеризации разветвленного повторяющегося звена.

*Полимеризация линейных и гликозилированных повторяющихся звеньев.* В качестве источника полимеразы был использован мембранный препарат из клеток *S. bredeney*. В реакцию полимеризации вводили трисахаридное производное (III), полученное из нуклеотидсахаридов с препаратом растворимых гликозилтрансфераз, и разветвленное тетрасахаридное производное (VIII), полученное в реакции 6. Исследование ферментативной полимеризации производных (III) и (VIII) позволило оценить влияние замещения в остатке галактозы на процесс полимеризации. Для оценки выхода полисахарида из продуктов ферментативной реакции гидролизом разбавленной уксусной кислотой выделяли углеводный компонент и анализировали его гель-фильтрацией на калиброванной колонке сефадекса G-15 (рис. 2). Отношение суммарного количества гексасахаридов и олигосахаридов с более высокой степенью полимеризации к количеству три-(тетра)-сахарида служило мерой протекания ферментативной полимеризации субстрата. Как можно видеть, в случае линейного трисахаридного производного (III) наблюдается эффективная полимеризация, а выход полимерных продуктов составлял около 80%. В случае производного разветвленного тетрасахарида (VIII) выход полимерных продуктов несколько ниже (50%), однако сам факт протекания ферментативной полимеризации после гликозилирования повторяющегося звена не вызывает сомнений.

Полученные в настоящей работе результаты показывают, что биосинтез О-специфического полисахарида *S. bredeney* протекает аналогично тому, как это наблюдалось в случае *S. senftenberg* [4], и включает в себя следующие основные этапы:

а) сборку линейного повторяющегося звена полисахарида на полипренольном акцепторе — образование полипренилпирофосфаттрисахарида, причем в качестве моносахарида — инициатора роста цепи — выступает остаток галактозы;

б) образование полипренилмонофосфатглюкозы из UDP-Glc и полипренилфосфата;

в) глюкозилирование полипрениллипрофосфаттрисахарида с образованием производного глюкозилированного повторяющегося звена;

г) полимеризацию глюкозилированных повторяющихся звеньев; эта реакция протекает и с линейным трисахаридным производным.

Помимо данных по биосинтезу O-специфического полисахарида *S. senftenberg* имеются данные о биосинтезе двух других глюкозилированных O-специфических полисахаридов — полимеров из *S. anatum*  $\epsilon^{15}\epsilon^{34}$  [2] и *S. typhimurium* [3]. В этих случаях этапы «а» и «б» биосинтеза одинаковы со случаем полимеров из *S. senftenberg* и *S. bredeney*, однако введение глюкозилированных боковых цепей происходит лишь после полимеризации линейных повторяющихся звеньев. Наши результаты показывают возможность введения остатков глюкозы до стадии ферментативной полимеризации и последующей полимеризации глюкозилированных звеньев (этапы «в» и «г») по крайней мере для O-специфических полисахаридов, в которых остаток глюкозы присоединен по С-6 остатка галактозы повторяющегося звена, как это имеет место в O-специфических полисахаридах *S. senftenberg* и *S. bredeney*.

Нужно отметить, что возможность глюкозилирования линейного полисахарида в этих штаммах осталась до сих пор не исследованной и не исключено, что оба варианта введения глюкозных разветвлений — до и после ферментативной полимеризации — могут иметь место.

### Экспериментальная часть

В работе использовали культуру штамма *S. bredeney* (0 : 1, 4, 12, 27, N : ew, 1, 7), полученную из музея Государственного института контроля и стандартизации медицинских и биологических препаратов им. Л. А. Тарасевича. Микробная взвесь штаммов выращивалась на пептонной воде с дрожжевым экстрактом [19] в течение 18 ч при 37° С.

Препараты мембран и растворимых глюкозилтрансфераз получали как описано нами ранее [4, 6]. Количество белка в ферментных препаратах, определенное по Лоури [20], составило для препарата мембран 20—30 мг/мл, для препаратов растворимых трансфераз 2—3 мг/мл.

**Нуклеотидсахара.** Использовали следующие нерадиоактивные нуклеотидсахара: UDP-Gal, GDP-Man (Calbiochem, Швейцария), UDP-Glc (Merck, ФРГ), dTDP-Rha, полученную по методике [21]. Радиоактивные препараты UDP-[<sup>14</sup>C]Gal (234 Ки/моль), GDP-[<sup>14</sup>C]Man (184 Ки/моль), UDP-[<sup>14</sup>C]Glc (320 Ки/моль; Amersham, Англия) разбавляли соответствующими нерадиоактивными нуклеотидсахарами до удельной радиоактивности 10 Ки/моль, dTDP-[<sup>14</sup>C]Rha получили по методике [22].

**Полипренилфосфаты.** В работе в качестве липидных акцепторов использовали морапренилфосфат, полученный по методу [23], и синтетические морапренилфосфатсахара [8, 18, 24].

**Аналитическая техника.** Техника радиоактивного счета описана ранее. Для хроматографии на бумаге использовали системы: *n*-бутанол — пиридин — вода, 6 : 4 : 3 (система А), 3 М аммиак в 80% этаноле (система В). Использовали бумагу FN-11 (Filtrak, ГДР) или Whatman 1. Хроматографию в тонком слое проводили на силикагеле Kieselgel G-60 (Merck, ФРГ) в системе хлороформ — метанол — вода, 65 : 25 : 4.

**Гель-фильтрацию** полисахаридов осуществляли на колонке (34×1,5 см) с сефадексом G-15 в воде.

Ионообменную хроматографию проводили на колонке (16,5×1,8 см) с DEAE-целлюлозой DE-52 (Whatman, Англия). Перед анализом колонку промывали 100 мл уксусной кислоты, 100 мл метанола и таким же объемом смеси хлороформ — метанол (2 : 1). После нанесения анализируемой пробы колонку промывали 20 мл смеси хлороформ — метанол (2 : 1) и 20 мл метанола. Далее элюировали полипренилфосфатсахара раствором ацетата аммония в метаноле (линейный градиент 0 → 0,5 М, по 75 мл).

Общие методики проведения ферментативных реакций с использованием препарата растворимых гликозилтрансфераз и препарата мембран были аналогичны описанным ранее для *S. senftenberg* [4]. Для случаев использования синтетических полипренилпирофосфатсахаров (IV)–(VI), (IX) их количество в реакционной смеси указано в табл. 2.

Продолжительность инкубации при 25° С составила 25 мин для реакций типа 1 (опыты 1–3, табл. 1) и 60 мин для всех остальных реакций. После окончания инкубации добавляли смесь хлороформ – метанол (2 : 1) и экстрагировали полипренилпирофосфатсахара как описано [7].

*Идентификация полипренилпирофосфатполисахаридов.* Для отщепления морапренилфосфата проводили мягкой кислотный гидролиз (0,01 н. HCl в 50% пропаноле, 100° С, 15 мин). HCl удаляли упариванием с водой (0,3 мл×5). Продукты гидролиза анализировали с помощью хроматографии на бумаге в системе А.

*Полимеризация.* Аликвоту раствора радиоактивного полипренилпирофосфатполисахарида упаривали, остаток растворяли в 30 мкл 0,2% водного раствора твина-85, добавляли 45 мкл 2 М трис-малеата (рН 6,0), 15 мкл 0,1 н. MgCl<sub>2</sub>, 30 мкл (600 мкг белка) препарата мембран. Смесь инкубировали 1 ч при 25° С и анализировали с помощью гель-фильтрации на сефадексе G-15 после отщепления липидного фрагмента (0,5 н. уксусная кислота, 30 мин, 100° С) и после обработки щелочной фосфатазой как описано [4].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Lüderitz O., Westphal O., Staub A. M., Nikaido H. In: Microbial Toxins / Eds Weinbaum G., Kadis S., Ajl S. I. New York – London: Acad. Press, 1971, v. 4, p. 145–234.
2. Sasaki T., Uchida T., Kurahashi K. J. Biol. Chem., 1974, v. 249, № 3, p. 761–772.
3. Nikaido H., Nikaido K., Nakae T., Mäkelä P. H. J. Biol. Chem., 1971, v. 246, № 12, p. 3902–3911.
4. Шибеев В. Н., Дружинина Т. Н., Попова А. Н., Кочетков Н. К., Рожнова С. Ш., Килессо В. А. Биоорган. химия, 1979, т. 5, № 7, с. 1071–1082.
5. Kent J. L., Osborn M. J. Biochemistry, 1968, v. 7, № 12, p. 4409–4418.
6. Wright A., Dankert M., Robbins P. A. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1965, v. 54, № 1, p. 235–241.
7. Шибеев В. Н., Кусов Ю. Ю., Дружинина Т. Н., Калинин Н. А., Кочетков Н. К., Килессо В. А., Рожнова С. Ш. Биоорган. химия, 1978, т. 4, № 1, с. 47–56.
8. Danilov L. L., Maltsev S. D., Shibaev V. N., Kochetkov N. K. Carbohydr. Res., 1981, v. 88, № 2, p. 203–211.
9. Торгов В. И., Шибеев В. Н., Шашков А. С., Кочетков Н. К. Биоорган. химия, 1980, т. 6, № 12, с. 1860–1871.
10. Hellerqvist C. G., Larin O., Lindberg B., Holme T., Lindberg A. A. Acta chem. scand., 1960, v. 23, № 7, p. 2217–2222.
11. Hellerqvist C. G., Lindberg B., Svensson S., Holme T., Lindberg A. A. Carbohydr. Res., 1969, v. 9, № 2, p. 237–241.
12. Kita H., Nikaido H. J. Bacteriol., 1973, v. 113, № 2, p. 672–679.
13. Ericksson V., Lindberg A. A. J. Gen. Virol., 1977, v. 34, № 1, p. 207–221.
14. Nikaido K., Nikaido H. J. Biol. Chem., 1971, v. 246, № 12, p. 3912–3919.
15. Wright A. J. Bacteriol., 1971, v. 105, № 3, p. 927–936.
16. Данилов Л. Л., Дружинина Т. Н., Шибеев В. Н., Кочетков Н. К. Биоорган. химия, 1980, т. 6, № 3, с. 468–470.
17. Kochetkov N. K., Malysheva N. N., Torgov V. I., Klimov E. M. Carbohydr. Res., 1977, v. 54, № 2, p. 269–274.
18. Данилов Л. Л., Уткина Н. С., Шибеев В. Н., Кочетков Н. К. Биоорган. химия, 1981, т. 7, № 11, с. 1718–1722.
19. Мейкелл Дж., Мейкелл Э. В кн.: Экспериментальная микробиология. М.: Мир, 1967, с. 63.
20. Lowry O. H., Rosenbrough N. I., Farr A. L., Randall R. L. J. Biol. Chem., 1951, v. 193, № 1, p. 265–275.
21. Шибеев В. Н., Уткина Н. С., Данилов Л. Л., Елисеева Г. И. Биоорган. химия, 1980, т. 6, № 12, с. 1778–1781.
22. Bernstein B. L., Robbins Ph. W. J. Biol. Chem., 1965, v. 237, № 1, p. 391–397.
23. Вергунова Г. И., Глухобед Н. С., Данилов Л. Л., Елисеева Г. И., Кочетков Н. К., Троицкий М. Ф., Усов А. И. Биоорган. химия, 1977, т. 3, № 11, с. 1484–1492.
24. Шибеев В. Н., Данилов Л. Л., Чекуничиков В. И., Кусов Ю. Ю., Кочетков Н. К. Биоорган. химия, 1979, т. 5, № 2, с. 308–309.

BIOSYNTHESIS OF O-SPECIFIC POLYSACCHARIDE IN *SALMONELLA*  
*BREDENEY*

DRUZHININA T. N., GOGILASHVILI L. M., SHIBAEV V. N.,  
ROZHNOVA S. Sh., KILESSO V. A.

*N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Academy of Sciences  
of the USSR, Moscow; Central Research Institute of Epidemiology,  
Health Ministry of the USSR, Moscow*

A block mechanism with intermediate formation of polyprenyl pyrophosphate oligosaccharides was shown to operate in the biosynthesis of the O-specific polysaccharide in *Salmonella bredeney*. The oligosaccharide derivatives thus formed contain *D*-galactose residue at the reducing end of the chain. Consecutive transfer of *D*-galactosylphosphate, *L*-rhamnose and *D*-mannose residues from UDP-Gal, dTDP-Rha and GDP-Man onto a polyprenyl phosphate acceptor was demonstrated. The glycosylation pathway of the O-specific polysaccharide includes formation of polyprenyl monophosphate *D*-glucose followed by transfer of glucosyl residue onto the polyprenyl pyrophosphate trisaccharide to give rise to the polyprenyl pyrophosphate tetrasaccharide. The enzymic polymerization both of tri- and tetrasaccharide derivatives was demonstrated. The synthetic glycosyl derivatives of polyprenyl pyrophosphates with *D*-Gal, *L*-Rha $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 3-*D*-Gal or *L*-Rha $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 3-*D*-Gal (6 $\rightarrow$ 1 $\alpha$  Glc) served as intermediates in the biosynthesis of O-specific polysaccharide.