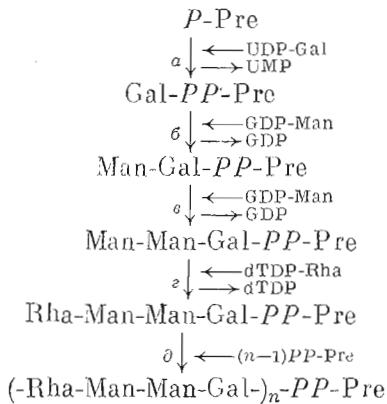




му) и последующую полимеризацию.



Pre-P — остаток бактериального полипренола.

При этом в процессе сборки участвуют четыре фермента: галактозил-фосфаттрансфераза осуществляет перенос остатка галактозил-1-фосфата с UDP-Gal на липидный акцептор (реакция  $\alpha$ ); две маннозилтрансферазы, переносящие остатки маннозы в первом случае на остаток галактозы (маннозилтрансфераза I, реакция  $\beta$ ) и во втором случае — на остаток маннозы (маннозилтрансфераза II, реакция  $\sigma$ ), и рамнозилтрансфераза, достраивающая трисахарид до тетрасахарида, путем переноса остатка рамнозы (реакция  $\varepsilon$ ).

Целью настоящей работы было исследование акцепторной специфичности гликозилтрансфераз, участвующих в сборке повторяющегося звена. При этом основное внимание было уделено маннозилтрансферазам I и II.

Был использован ряд синтетических производных полипренилпирофосфатсахаров, полученных путем химического синтеза в нашей лаборатории [4–9]. Как и в предыдущих работах, мы применяли производные морапренилфосфата, который может успешно заменять бактериальный полипренилфосфат [10].

Были исследованы акцепторные свойства следующих моносахаридных и дисахаридных производных морапренилпирофосфата:

Gal( $\alpha$ )-PP-Mpr (I)	Man( $\alpha$ 1-3)Gal( $\alpha$ )-PP-Mpr (VIII)
Gal( $\beta$ )-PP-Mpr (II)	Man( $\beta$ 1-3)Gal( $\alpha$ )-PP-Mpr (IX)
Glc( $\alpha$ )-PP-Mpr (III)	Man( $\alpha$ 1-3)Glc( $\alpha$ )-PP-Mpr (X)
Man( $\alpha$ )-PP-Mpr (IV)	Man( $\alpha$ 1-6)Glc( $\alpha$ )-PP-Mpr (XI)
Tal( $\alpha$ )-PP-Mpr (V)	Man( $\alpha$ 1-4)Glc( $\alpha$ )-PP-Mpr (XII)
Fuc( $\alpha$ )-PP-Mpr (VI)	Man( $\alpha$ 1-2)Glc( $\alpha$ )-PP-Mpr (XIII)
4dGlc( $\alpha$ )-PP-Mpr (VII)	

Соединения (I)–(VII) были ранее использованы при исследовании специфичности ферментов биосинтеза полисахаридов салмонелл серогрупп В и Е [11, 12], а соединения (X)–(XIII) — при исследовании биосинтеза О-антигенного полисахарида *E. coli* O9 [13].

#### Акцепторная специфичность маннозилтрансфераз I из *S. newport* и *S. kentucky*

Мы изучали субстратную специфичность маннозилтрансфераз I по отношению к структуре терминального остатка сахара акцептора. Для исследования специфичности данного фермента к конфигурации при С-1 остатка сахара были использованы синтетические 1 $\alpha$ - и 1 $\beta$ -морапренилпирофосфаты галактозы (I) и (II). Об их акцепторных свойствах судили по переносу радиоактивного остатка маннозы от GDP-[<sup>14</sup>C]Man на липидное производное при инкубации с препаратом растворимых гликозилтрансфераз [10] (табл. 1).

Включение [ $^{14}\text{C}$ ]маннозы из  $\text{GDP-}^{14}\text{C}\text{Man}$  в морапренилпирофосфатолигосахарид при использовании в качестве акцептора синтетических моносахаридных производных морапренилпирофосфата

Hex-PP-Mpr		Концентрация, мкМ	Радиоактивность органической фазы, имп/мин	
номер соединения	Hex		Источник ферментов	
			<i>S. newport</i>	<i>S. kentucky</i>
I	Gal( $\alpha$ )	20	16 800	36 000
II	Gal( $\beta$ )	120	500	Не исследовано
Контроль 1*			632	556
I	Gal( $\alpha$ )	20	8700	8025
III	Glc	250	257	383
IV	Man	250	436	379
V	Tal	250	4898	3393
VI	Fuc	120	3100	4151
VII	4dGlc	120	2843	Не исследовано
Контроль 2*			469	412

\* Система в отсутствие морапренилфосфата сахара; контроль I — для первых двух опытов, контроль 2 — для остальных.

Как следует из данных табл. 1, в случае использования в качестве субстрата синтетического производного с остатком  $\alpha$ -галактозы происходило образование радиоактивных полипренилпирофосфатолигосахаридов. После мягкого кислотного гидролиза полученных полипренилпирофосфатолигосахаридов и анализа образующихся при этом продуктов с помощью хроматографии на бумаге\* было обнаружено образование двух радиоактивных соединений с  $R_{\text{Gal}}$  0,42 и 0,60, что соответствует ожидаемой подвижности трисахарида [ $^{14}\text{C}$ ]Man-[ $^{14}\text{C}$ ]Man-Gal и дисахарида [ $^{14}\text{C}$ ]Man-Gal. Полученные данные свидетельствуют о том, что синтетический 1-морапренилпирофосфат  $\alpha$ -D-галактозы (I) может служить субстратом для маннозилтрансферазы I, а образующееся дисахаридное производное — далее для маннозилтрансферазы II из *S. newport* и *S. kentucky*.

Синтетическое производное (II) с остатком  $\beta$ -галактозы не является акцептором остатка маннозы (ср. с контрольным опытом). Тот факт, что 1-морапренилпирофосфат  $\beta$ -D-галактозы не включается в систему биосинтеза O-антигенного полисахарида сальмонеллы серогрупп  $\text{C}_2$  и  $\text{C}_3$ , указывает на высокую чувствительность маннозилтрансферазы I к конфигурации при C-1 остатка сахара акцептора.

Следующим этапом работы было исследование специфичности маннозилтрансферазы I к структуре акцепторного остатка сахара. Для выяснения этого вопроса использовали синтетические аналоги морапренилпирофосфатгалактозы — производные (III) — (VII).

Включение [ $^{14}\text{C}$ ]маннозы в органическую фазу наблюдали с производными, содержащими остатки талозы, фукозы или 4-дезоксигалактозы, производные маннозы и глюкозы не служили акцепторами остатка маннозы (табл. 1).

Анализ радиоактивных соединений, полученных после мягкого кислотного гидролиза продуктов ферментативного гликозилирования, с помощью хроматографии на бумаге для всех акцепторов показал образование как дисахаридных, так и трисахаридных производных. В случае реакции с соединением (V) были обнаружены продукты с  $R_{\text{Gal}}$  0,62 и 0,45, с соединением (VI) — 0,66 и 0,49, с соединением (VII) — 0,68 и 0,50.

Как видно из данных табл. 1, маннозилтрансферазы I, содержащиеся в препаратах растворимых гликозилтрансфераз, выделенных из клеток *S. newport* и *S. kentucky*, предъявляют определенные требования к струк-

\* Здесь и далее приведена подвижность в системе А (см. «Экспериментальную часть»).

туре углеводного компонента акцептора. Эффективно маннозилируются производные *D*-галакты (V), *D*-фукозы (VI) и 4-дезоксид-*D*-глюкозы (VII), а производные *D*-глюкозы (III) и *D*-маннозы (IV), отличающиеся от галактозы конфигурацией у С-4, в реакцию маннозилирования не вступают. Способность производного 4-дезоксид-*D*-ксилогексозы (VII) служить субстратом реакции показывает, что для взаимодействия с ферментом существенно не столько присутствие аксиальной ОН-группы при С-4, сколько отсутствие у него экваториальной ОН-группы. Кроме того, для взаимодействия фермента с субстратами не имеет существенного значения и наличие ОН-группы у С-6 остатка гексозы (см. опыт с производным (V)), а также конфигурация у С-2-атома.

Интересно, что маннозил- и рамнозилтрансферазы из сальмонелл серогрупп В и Е, исследованные в нашей лаборатории ранее [11, 12], предъявляют аналогичные требования к структуре сахара акцептора.

Исходя из полученных результатов, можно заключить, что маннозилтрансферазы I из *S. newport* и *S. kentucky* не обладают абсолютной специфичностью по отношению к структуре остатка сахара акцептора. Нами показано образование морапренилпирофосфатолигосахаридов, в которых остаток галактозы заменен на остаток моносахарида, нехарактерного для полимеров этих бактерий.

### Акцепторная специфичность маннозилтрансфераз II из *S. newport* и *S. kentucky*

Далее мы изучали субстратную специфичность маннозилтрансфераз II к структуре субтерминального остатка сахара дисахаридного акцептора, к типу связи в дисахариде и к конфигурации при С-1 терминального маннозного остатка.

Как видно из табл. 2, дисахаридное производное морапренола с концевым остатком  $\alpha$ -маннозы (VIII) служит акцептором для переноса второго остатка маннозы. Хроматографическая подвижность углеводного фрагмента, полученного после отщепления липидного компонента путем мягкого кислотного гидролиза продукта, соответствовала подвижности трисахарида [ $^{14}\text{C}$ ]Man-Man-Gal ( $R_{\text{Gal}} 0,42$ ). Для установления конфигурации при С-1 перенесенного остатка маннозы полученный трисахарид обрабатывали  $\alpha$ -маннозидазой. После ферментативного гидролиза был обнаружен единственный радиоактивный продукт, соответствующий по под-

Таблица 2

#### Образование морапренилпирофосфат[ $^{14}\text{C}$ ]Man-содержащих олигосахаридов из синтетических дисахаридных производных морапренилфосфата (VIII)–(XIII)

Номер соединения	Акцептор *	Концентрация, мкМ	Радиоактивность органической фазы, имп/мин	
			Источник ферментов	
			<i>S. newport</i>	<i>S. kentucky</i>
I	Gal( $\alpha$ )-R	20	14 150	Не исследовано
		500		
VIII	Man( $\alpha$ 1-3)Gal-R	20	1 300	Не исследовано
		100	4 169	
		250	11 560	
IX	Man( $\beta$ 1-3)Gal-R	100	516	Не исследовано
		1000	782	
X	Man( $\alpha$ 1-3)Glc-R	250	8 690	20 400
		1000	12 140	Не исследовано
XI	Man( $\alpha$ 1-6)Glc-R	1000	150	198
XII	Man( $\alpha$ 1-4)Glc-R	1000	278	290
XIII	Man( $\alpha$ 1-2)Glc-R	1000	308	262
	Контроль		632	556

\* R=PP-Mpr.

вижности маннозе. Таким образом, присоединившийся в результате ферментативного маннозилрования остаток маннозы имеет  $\alpha$ -конфигурацию при C-1.

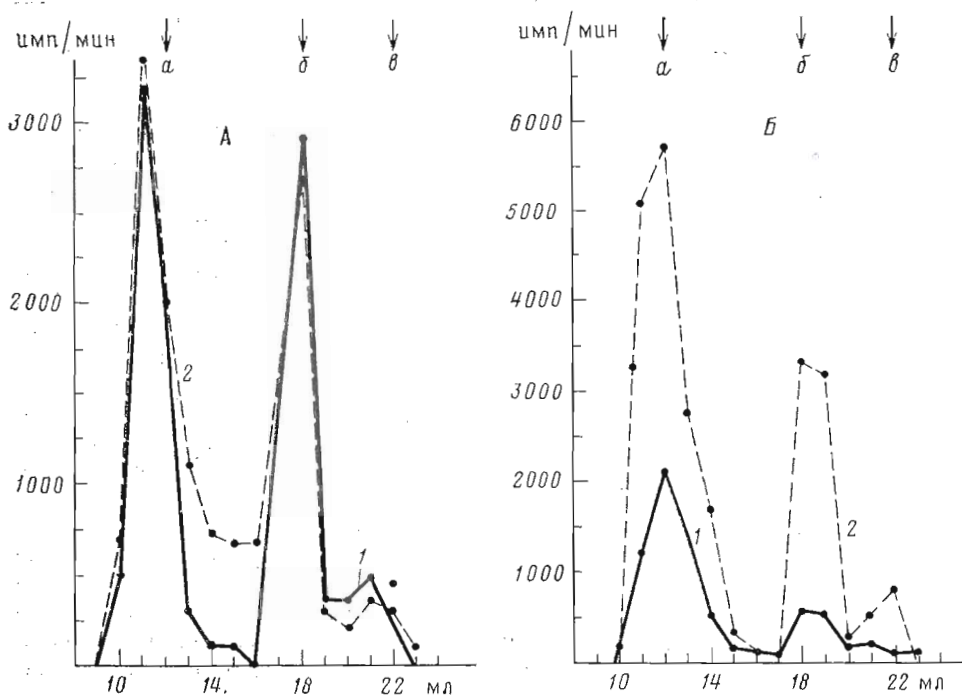
Дисахаридное производное морапренола с остатком  $\beta$ -маннозы (IX) оказалось способным служить субстратом для маннозилтрансфераз II из *S. newport* и *S. kentucky*. Следовательно, только соответствующее природному предшественнику производное  $\alpha$ -D-маннозилгалактозы (VIII) является субстратом для ферментов из обоих штаммов микроорганизмов, причем введение в реакционную смесь большего количества дисахаридного производного значительно увеличивает выход трисахаридного продукта (табл. 2). Суммируя полученные данные, можно сделать вывод, что маннозилтрансферазы II из *S. newport* и *S. kentucky*, так же как и маннозилтрансферазы I, крайне чувствительны к конфигурации при C-1 остатка конечного сахара акцептора.

Как уже упоминалось, при исследовании специфичности маннозилтрансфераз I к структуре остатка сахара в полипренилпирофосфатмоносахаридах мы обнаружили, что в результате реакции синтетических акцепторов с GDP-[ $^{14}$ C]Man образуются кроме дисахаридных также и трисахаридные производные, т. е. маннозилтрансфераза II переносит второй остаток маннозы на полипренилпирофосфатдисахариды, содержащие в субтерминальном положении измененный остаток сахара. Образование производного трисахарида удалось наблюдать и при введении в систему биосинтеза *S. newport* и *S. kentucky* синтетического дисахаридного производного (X), в котором в субтерминальном положении вместо природного остатка галактозы находится остаток глюкозы (табл. 2). Полученный в результате ферментативного маннозилрования трисахаридный продукт идентифицирован хроматографически после мягкого кислотного гидролиза ( $R_{Gal}$  0,42).  $\alpha$ -Конфигурация образовавшейся маннозидной связи подтверждена обработкой  $\alpha$ -маннозидазой. Эти результаты показывают, что маннозилтрансферазы II из сальмонелл серогрупп C<sub>2</sub> и C<sub>3</sub> малочувствительны к изменениям в структуре субтерминального моносахаридного остатка акцептора.

Может сложиться представление, что маннозилтрансферазы II «узнают» только остаток моносахарида, непосредственно участвующий в образовании связи со вторым остатком маннозы. Однако, как уже отмечалось, моносахаридное производное маннозы (IV) не маннозилируется и, следовательно, для маннозилтрансферазы II необходим дисахаридный акцептор, т. е. этот фермент узнает кроме терминального моносахаридного остатка некоторый дополнительный фрагмент полипренилпирофосфатсахара.

Далее исследовали чувствительность маннозилтрансферазы II к типу связи между остатками сахаров дисахаридного акцептора при помощи синтетических дисахаридных производных морапренола (XI)–(XIII) с  $\alpha$ 1-6-,  $\alpha$ 1-4- и  $\alpha$ 1-2-связями между остатками маннозы и глюкозы. Инкубация этих производных с препаратами растворимых гликозилтрансфераз из *S. newport* и *S. kentucky* и GDP-[ $^{14}$ C]Man не привела к включению радиоактивной метки в органическую фазу. Это указывает на то, что данные производные (XI)–(XIII) не являются субстратами для маннозилтрансфераз II, т. е. маннозилтрансферазы II из обоих штаммов крайне чувствительны к типу связи между терминальным и субтерминальным остатками и способны использовать в качестве субстрата только соединения с  $\alpha$ 1-3-связью.

Суммируя полученные данные о требованиях маннозилтрансфераз из серогрупп C<sub>2</sub> и C<sub>3</sub> к структуре моносахаридного фрагмента акцептора, можно сказать, что субстратная специфичность этих ферментов не абсолютна и дает возможность синтезировать с помощью химико-ферментативного метода полипренилпирофосфатолигосахариды, в которых остаток моносахарида, участвующего в образовании гликозилфосфатной связи, изменен. Нами были получены производные, содержащие вместо остатка D-галактозы остатки D-галактозы, D-фукозы, 4-дезоксид-D-ксило-гексозы и D-глюкозы. Ферменты проявляют высокую чувствительность по отно-



Распределение радиоактивности при гель-фильтрации на TSK HW40 углеводного фрагмента продуктов ферментативной полимеризации Rha- $^{14}\text{C}$ Man- $^{14}\text{C}$ Man-GalPP-Mpr (A) Rha- $^{14}\text{C}$ Man-Man-GlcPP-Mpr (Б) для *S. newport* [1] и *S. kentucky* [2]. Стрелками отмечены объемы выхода стандартов (а — декстран, б — раффиноза, в — глюкоза)

шению к конфигурации при С-1 концевого остатка олигосахаридной цепи акцептора и типу связи между терминальным и субтерминальным остатками. Напротив, специфичность к структуре субтерминального остатка сахара более широка.

#### Преобразование полипренилпирофосфаттрисахаридов в полисахариды

Получение производных модифицированных трисахаридов открывает путь к ферментативному синтезу модифицированных полисахаридов. Для получения полисахаридов необходимо осуществить стадии *г* и *д* по схеме, т. е. рамнозилрование и полимеризацию.

Перед нами стояла цель изучить, позволяет ли специфичность ферментов провести эти реакции с измененными против природных производными. Но первоначально надо было проверить возможность этих реакций с синтетическими производными, отвечающими структуре основной цепи полисахарида. Объектами исследования были морапсенилпирофосфаттрисахариды, полученные на основе соответствующих производных *D*-галакты (V), *D*-фукозы (VI), маннозилгалактозы (VIII) и маннозилглюкозы (X). Для рамнозилрования в реакционную смесь, содержащую  $^{14}\text{C}$ Man-трисахаридное производное, добавляли dTDP-Rha и препарат растворимых гликозилтрансфераз. После инкубации и освобождения полученного продукта от липидного акцептора хроматографически обнаруживали наличие двух радиоактивных продуктов. Подвижность одного из них соответствует подвижности тетрасахарида в данной системе ( $R_{\text{Gal}} 0,32$ ). Второй продукт был идентифицирован как исходный трисахарид ( $R_{\text{Gal}} 0,50$  — для производного с остатком фукозы, 0,45 — для остальных производных), что указывает на неполноту рамнозилрования.

Полученные полипренилпирофосфаты  $^{14}\text{C}$ тетрасахаридов были подвергнуты далее ферментативной полимеризации. Содержание полисахарида в смеси определяли, анализируя смесь с помощью хроматографии на бумаге (система Б) или гель-фильтрации на TSK HW40 после отщепления липидного фрагмента. Анализ хроматографией на бумаге показал,

что основные продукты, полученные после ферментативной полимеризации, имели низкую подвижность ( $R_f$  0,04), тогда как тетрасахаридное производное имеет подвижность  $R_f$  0,6. Согласно анализу гель-фильтрацией на TSK HW40, основными продуктами после ферментативной полимеризации являются полимер и тетрасахарид (рисунок, А и Б). При полимеризации тетрасахаридного производного Rha- $^{14}\text{C}$ Man-Man-Gal-PP-Mrg, соответствующего природному предшественнику, выход полимера в случае *S. newport* составил 47%, а в случае *S. kentucky* — 51%. При использовании в качестве субстрата для полимеразы модифицированного тетрасахаридного производного Rha- $^{14}\text{C}$ -Man-Man-Glc-PP-Mrg выход полимера в случае *S. newport* составил 67%, а в случае *S. kentucky* — 63%. Полимеризация Rha- $^{14}\text{C}$ Man- $^{14}\text{C}$ Man-Gal-PP-Mrg дает выход полимера 45% (*S. newport*) и 50% (*S. kentucky*).

Полученные результаты показывают, что специфичность рамнозилтрансферазы и полимеразы к структуре моносахаридного остатка на восстанавливаемом конце цепи из салмонеллы серогрупп  $\text{C}_2$  и  $\text{C}_3$  такова, что дает возможность синтезировать модифицированные полисахариды.

В заключение важно отметить, что ранее химико-ферментативный синтез был продемонстрирован только на примере близкородственных O-специфических полисахаридов салмонеллы серогрупп В и Е [14]. Результаты работы показывают, что этот подход (в том числе и получение модифицированных полисахаридов) может быть распространен и на другие O-специфические полисахариды.

### Экспериментальная часть

В работе использовали культуры штаммов *S. newport* (O: 6,8; H: e, h 1,2) и *S. kentucky* (O: 8; H: 1; Z<sub>6</sub>), полученные из музея Государственного института контроля и стандартизации медицинских и биологических препаратов им. Л. А. Тарасевича Министрства здравоохранения СССР. Микробная взвесь штаммов выращивалась на чистой воде с 0,5% дрожжевым экстрактом при 37°С в течение 18 ч. Клетки собирали центрифугированием при 5000 об/мин (15 мин) и промывали 0,9% NaCl. Получение препаратов мембран и растворимых гликозилтрансфераз, освобождение препарата мембран от эндогенного гаптена и определение радиоактивных веществ проводили как описано ранее [10, 15, 16].

Использовали препараты UDP-Gal, GDP-Man (Calbiochem, США), GDP- $^{14}\text{C}$ Man (Amersham, Англия); dTDP-Rha получены биосинтетически по методу [17] в модификации [18].

Для хроматографии на бумаге использовали системы *n*-бутанол — пиридин — вода, 6:4:3 (А) и этанол — 1 М ацетат аммония, рН 7,5; 7:3 (Б) и бумагу Whatman № 1. Нерadioактивные углеводы обнаруживали на бумаге с помощью нитрата серебра со щелочью.

Гель-фильтрацию полисахаридов осуществляли на колонке (49×1 см) с TSKHW40 (Toyo Soda Co, Japan) в воде.

Полисахарид от липидного фрагмента отщепляли гидролизом в течение 30 мин в 0,5 н. уксусной кислоте при 100°С. Для отщепления морапренилфосфата от продуктов ферментативного гликозирования упаренную органическую фазу выдерживали 15 мин при 100°С в смеси *n*-пропанол — 0,04 н. HCl (1:1), добавляли 0,5 мл хлороформа и фазы разделяли после центрифугирования (3000 об/мин, 5 мин). Органический слой промывали водой (2×0,2 мл). Объединенную водную фазу упаривали и анализировали.

Гидролиз с помощью  $\alpha$ -маннозидазы (из конских бобов — Sigma, США) проводили следующим образом: аликвоту анализируемого продукта упаривали досуха, добавляли 200 мкл 0,1 М  $\text{CH}_3\text{COONa}$  (рН 5), 10 мкл суспензии маннозидазы, 20 мкл 0,003 М  $\text{ZnCl}_2$ , перемешивали и инкубировали 40 ч при 37°С.

Общая методика проведения ферментативных реакций была аналогична описанной ранее в работах [10, 14]. Аликвоту раствора морапренилпирофосфата сахара или олигосахарида суспендировали в 20 мкл 0,5% водного раствора твина-85, добавляли 5 мкмоль трис-ацетата (рН 8,5), 1 мкмоль хлористого магния, 25 нмоль GDP- $^{14}\text{C}$ Man (10 мКи/ммоль, 400 000 имп/мин), 15 нмоль dTDP-Rha и препарат фермента. Общий объем 0,1 мл. После инкубации в течение 2 ч при 37°С добавляли смесь

хлороформ — метанол (2:1) и экстрагировали полипренилпирофосфатогосахариды согласно [10]. Количество образовавшегося продукта определяли по включению [<sup>14</sup>C]маннозы из GDP-[<sup>14</sup>C]Man в органическую фазу. Для ферментативной полимеризации аликвоту раствора, содержащего полипренилпирофосфат [<sup>14</sup>C]тетрасахарида, упаривали. Остаток суспендировали в 30 мкл 0,5% водного раствора твина-85, добавляли 90 мкмоль трис-малеата (рН 6,0), 1,5 мкмоль хлористого магния и препарат мембран, обработанный холатным буфером для удаления эндогенного гаптена [16]. Общий объем 0,12 мл. После инкубации в течение 1 ч при 37° С содержание полисахарида в смеси определяли с помощью хроматографии на бумаге и гель-фильтрации как долю радиоактивности в зоне полимера от общей радиоактивности.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Дружинина Т. Н., Гоголашвили Л. М., Елисеева Г. И., Шibaев В. Н. Биоорганическая химия, 1986, т. 12, № 9, с. 1181—1184.
2. Helleqvist C. C., Hoffman G., Lindberg B., Svensson S. Acta chem. scand., 1972, v. 26, № 8, p. 3282—3286.
3. Shibaev V. N., Oruzhinina T. N., Popova A. N., Rozhnova S. Sh., Kileso V. A. Eur. J. Biochem., 1979, v. 101, № 2, p. 309—316.
4. Данилов Л. Л., Дружинина Т. Н., Шibaев В. Н., Кочетков Н. К. Биоорганическая химия, 1980, т. 6, № 3, с. 468—470.
5. Данилов Л. Л., Уткина Н. С., Шibaев В. Н., Кочетков Н. К. Биоорганическая химия, 1981, т. 7, № 11, с. 1718—1722.
6. Данилов Л. Л., Мальцев С. Д., Шibaев В. Н., Кочетков Н. К. Биоорганическая химия, 1982, т. 8, № 1, с. 109—113.
7. Мальцев С. Д., Юрченко П. Н., Данилов Л. Л., Шibaев В. Н. Биоорганическая химия, 1983, т. 9, № 8, с. 1097—1100.
8. Торгов В. И., Папосян К. А., Смелянский А. Т., Шibaев В. Н. Биоорганическая химия, 1985, т. 11, № 1, с. 83—90.
9. Торгов В. И., Шibaев В. Н., Кочетков Н. К. Биоорганическая химия, 1984, т. 10, № 7, с. 945—953.
10. Шibaев В. Н., Кусов Ю. Ю., Дружинина Т. Н., Калинин П. А., Кочетков Н. К., Килессо В. А., Рожнова С. Ш. Биоорганическая химия, 1978, т. 4, № 1, с. 47—56.
11. Дружинина Т. Н., Шibaев В. Н., Кочетков Н. К., Рожнова С. Ш., Килессо В. А. Биоорганическая химия, 1984, т. 10, № 11, с. 1548—1551.
12. Shibaev V. N., Danilov L. L., Druzhinina T. N., Gogilashvili L. M., Maltsev S. D., Kochetkov N. K. FEBS Lett., 1982, v. 139, № 2, p. 177—180.
13. Jann K., Pillat M., Weisberger Ch., Shibaev V. N., Torgov V. I. Eur. J. Biochem., 1985, v. 151, № 2, p. 393—397.
14. Кочетков Н. К., Шibaев В. Н., Дружинина Т. Н., Гоголашвили Л. М., Данилов Л. Л., Торгов В. И., Мальцев С. Д., Уткина Н. С. Докл. АН СССР, 1982, т. 262, № 6, с. 1393—1397.
15. Osborn M. J., Cynkin M. A., Gilbert J. M., Müller G. L., Singh M. Meth. Enzymol., 1972, v. 28, p. 583—601.
16. Калинин П. А., Дружинина Т. Н., Шibaев В. Н. Докл. АН СССР, 1985, т. 283, № 2, с. 481—482.
17. Bernstein R. L., Robbins P. W. J. Biol. Chem., 1965, v. 240, № 1, p. 391—397.
18. Шibaев В. Н., Кусов Ю. Ю., Петренко В. А., Дружинина Т. Н., Кочетков Н. К. Биоорганическая химия, 1978, т. 4, № 2, с. 249—256.

Поступила в редакцию  
31.III.1986

#### ACCEPTOR SPECIFICITY OF MANNOSYL TRANSFERASES FROM *SALMONELLA* SEROGROUPS C<sub>2</sub> AND C<sub>3</sub>

DRUZHININA T. N., GOGILASHVILI L. M., SIZOVA O. V., SHIBAEV V. N.  
N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Academy of Sciences  
of the USSR, Moscow

Synthetic mono- and disaccharide derivatives of moraprenyl pyrophosphate were studied as mannose acceptors during the assembly of the repeating unit Rha-Man-Man-Gal of the *Salmonella newport* (serogroup C<sub>2</sub>) and *S. kentucky* (serogroup C<sub>3</sub>) O-antigens. Mannosyl transferases revealed strict specificity towards the configuration of terminal monosaccharide residue at C1 as well as to the type of linkage between monosaccharide residues in the disaccharide acceptor. The specificity of mannosyl transferases towards the structure of subterminal monosaccharide was not absolute.  $\alpha$ -D-Glucose and  $\alpha$ -D-mannose derivatives were found not to serve as mannosyl residue acceptors, whereas those of  $\alpha$ -D-talose,  $\alpha$ -D-fucose, 4-deoxy-D-xylo-hexose and Man( $\alpha$ 1-3)glucose were substrates in enzymatic mannosylation with formation of polyprenyl pyrophosphate trisaccharides. These derivatives could serve as substrates for two subsequent enzymatic reactions: rhamnosylation and polymerization of the repeating units, yielding 40—60% of the polysaccharides.