



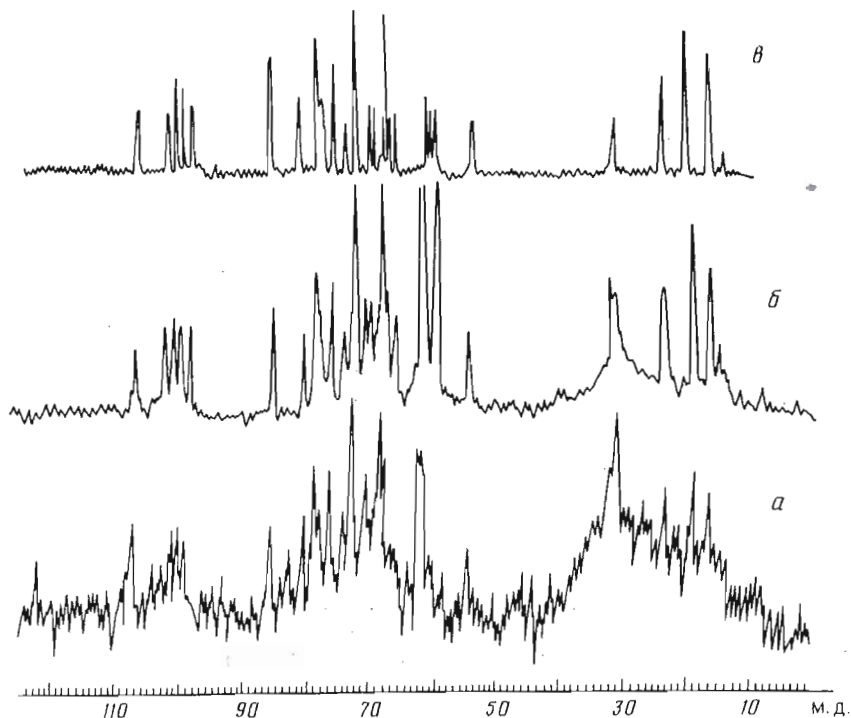
УДК 547.458.02 : 543.422.23

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СПЕКТРОВ  $^{13}\text{C}$ -ЯМР ЛИПОПОЛИСАХАРИД-БЕЛКОВЫХ КОМПЛЕКСОВ ДЛЯ УСТАНОВЛЕНИЯ СТРОЕНИЯ О-СПЕЦИФИЧЕСКИХ ПОЛИСАХАРИДОВ

Красикова Н. Н., Исаков В. В., Федорева Л. И.,  
Соловьева Т. Ф., Оводов Ю. С.

Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВНЦ  
Академии наук СССР, Владивосток

Спектроскопия  $^{13}\text{C}$ -ЯМР широко используется для установления структуры регулярных полисахаридов. Особое место среди них занимают О-специфические полисахариды — фрагменты липополисахаридов, входящих в состав клеточной стенки грамотрицательных бактерий. ЛПС дают спектры ЯМР низкого разрешения, что, вероятно, связано с их агрегацией в водных растворах [1]. Качество спектра улучшается в присутствии веществ, влияющих на агрегацию ЛПС, таких, как додецилсульфат натрия, этилендиаминтетрауксусная кислота или триэтиламин [2], а также при нагревании и щелочных значениях pH раствора биополимера [3]. При использовании дезагрегирующих добавок встает вопрос об их удалении, поскольку они мешают последующему химическому исследованию



Спектры  $^{13}\text{C}$ -ЯМР липополисахарида (а), липополисахарид-белкового комплекса (б) и О-специфического полисахарида (в) из *Yersinia pseudotuberculosis* IV. Спектры записаны на приборе Bruker Physik WM-250 (53 мг ЛПС и 70 мг ЛПБК соответственно) и Bruker Physik HX-360 (О-специфический полисахарид [4]) в  $\text{D}_2\text{O}$

Сокращения: ЛПС — липополисахарид, ЛПБК — липополисахарид-белковый комплекс.

ЛПС, а длительное нагревание в присутствии щелочных агентов приводит к деградации изучаемого вещества. О-Специфические полисахариды в изолированном состоянии дают спектры высокого разрешения [4], однако их выделение требует мягкого кислотного гидролиза, при этом возможна потеря некоторых кислотолабильных элементов структуры [3].

Эти трудности могут быть устранены, если для изучения структуры углеводного фрагмента ЛПС методом спектроскопии ЯМР использовать их комплексы с белком. Известно [5], что такие комплексы присутствуют в клеточной стенке грамотрицательных бактерий диких штаммов и достаточно легко извлекаются различными способами [6, 7]. ЛПБК обычно лучше, чем ЛПС, растворимы в воде, образуя агрегаты меньших размеров [1]. На рисунке б представлен спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР ЛПБК из *Yersinia pseudotuberculosis* IV-серовара. Для сравнения приведены спектры О-специфического полисахарида и ЛПС из этого же микроорганизма, полученные в одинаковых условиях.

Как видно из рисунка, спектры ЛПБК и О-специфического полисахарида практически идентичны (для отнесения сигналов в спектрах см. работу [4]). Исключение составляют сигналы при 14 и 30 м.д. ( $\text{CH}_3$ - и  $(\text{CH}_2)_n$ -группы соответственно), обусловленные присутствием в ЛПБК жирных кислот ( $>10\%$ ). Их низкая интенсивность и полное отсутствие сигналов от белковой части комплекса, по-видимому, является следствием того, что гидрофобные участки молекулы находятся в иммобилизованном состоянии. С другой стороны, как видно из сравнения спектров ЛПС и ЛПБК, подвижность углеводных цепей в присутствии белка становится выше. Полученные результаты согласуются с данными [8] о том, что ассоциация белка с ЛПС уменьшает упорядоченность углеводных цепей в бактериальной мембране. Есть основания предполагать, что подвижность углеводных цепей зависит от количества белка в комплексе. Действительно, комплексы с низким содержанием белка (7% против 21% в ЛПБК, представленном на рисунке) имеют спектры, не отличающиеся от спектра ЛПС.

Таким образом, на примере ЛПБК из *Y. pseudotuberculosis* показано, что использование последних для установления структуры углеводного фрагмента ЛПС методом спектроскопии ЯМР имеет определенные преимущества и может найти широкое применение.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Ермак И. М., Дроздов А. П., Соловьева Т. Ф., Оводов Ю. С. // Биол. мембраны. 1986. Т. 3. № 1. С. 52—59.
2. Strain S. M., Armitage I. M. // J. Biol. Chem. 1983. V. 258. № 5. P. 2906—2910.
3. Gorshkova R. P., Kalmykova E. N., Isakov V. V., Ovodov Yu. S. // Eur. J. Biochem. 1986. V. 156. № 2. P. 391—397.
4. Исаков В. В., Горшкова Р. П., Томшич С. В., Оводов Ю. С., Шашков А. С. // Биооргани. химия. 1981. Т. 7. № 4. С. 559—562.
5. Соловьева Т. Ф., Оводов Ю. С. // Биооргани. химия. 1983. Т. 9. № 6. С. 725—733.
6. Boivin A., Mesrobian L. // Compt. Rend. Soc. Biol. 1933. V. 113. № 21124. P. 490—492.
7. Morrison D. C., Leive L. // J. Biol. Chem. 1975. V. 250. № 8. P. 2911—2919.
8. Gouglin R. T., Haug A., Groarty E. J. // Biochim. et biophys. acta. 1983. V. 729. № 1. P. 161—166.

Поступило в редакцию  
26.II.1987

#### APPLICATION OF $^{13}\text{C}$ -NMR SPECTRA OF LIPOPOLYSACCHARIDE-PROTEIN COMPLEXES FOR ELUCIDATION OF O-SPECIFIC POLYSACCHARIDE STRUCTURES

KRASIKOVA I. N., ISAKOV V. V., FEDOREEVA L. I., SOLOV'YEVA T. F.,  
OVODOV Yu. S.

*Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far East Science Centre,  
Academy of Sciences of the USSR, Vladivostok*

Lipopolysaccharide—protein complexes are shown to be useful for elucidation of O-specific polysaccharide structures. This approach may be especially useful in studying polysaccharides with labile linkages in the molecule.