



УДК 547.963.1.02:578.832.1:578.112.853.088.5

© 1990 г.

*Н. П. Арбатский, А. О. Желтова, Д. В. Юртов,
И. Г. Харитоненков*, Ю. П. Абашев*, В. А. Деревицкая,
Н. Б. Кочетков*

СТРУКТУРА УГЛЕВОДНЫХ ЦЕПЕЙ ГЕМАГГЛЮТИНИНА И НЕЙРАМИНИДАЗЫ ВИРУСА ГРИППА В/ЛЕНИНГРАД/179/86

Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского АН СССР, Москва;

**Институт вирусологии им. Д. И. Ивановского АМН СССР, Москва*

Из вируса гриппа В/Ленинград/179/86 действием бромелаина выделен главный поверхностный гликопротеин — гемагглютинин (НА). Установлен аминокислотный и углеводный состав НА и нейраминидазы (НА), выделенной ранее обработкой того же вируса трипсином. Показано, что НА и НА имеют 8—10 и 2 углеводные цепи соответственно. Углеводные фрагменты обоих гликопротеинов отщепляли с помощью щелочного LiBH_4 и восстанавливали $\text{NaB}^{10}\text{H}_6$. С помощью последовательной ВЭЖХ на двух колонках проведено фракционирование меченых олигосахаридов. Сравнением с немечеными олигосахаридами известного строения идентифицированы главные углеводные фрагменты НА и НА.

Вирус гриппа В человека в последние годы привлекает все большее внимание, поскольку с 80-х годов число заболеваний, вызванных этим вирусом, значительно увеличилось. В то же время структура и антигенные вариации белков вируса гриппа В остаются пока еще слабо изученными по сравнению с белками вирусов гриппа А. По своей структурной организации вирион гриппа В мало отличается от вириона гриппа А; он также содержит два поверхностных гликопротеина — гемагглютинин (НА) и нейраминидазу (НА). В результате определения нуклеотидных последовательностей соответствующих генов установлена первичная структура полипептидных цепей НА [1—3] и НА [4, 5] нескольких штаммов вируса гриппа В. Полученные данные показывают, что последовательности аминокислот в гликопротеинах вирусов гриппа А и В значительно различаются (гомология 30—40%), чем и обусловлены большие различия в их антигенных свойствах. В то же время высокая консервативность в локализации остатков цистеина и пролина позволяет предполагать, что пространственные структуры НА и НА вирусов гриппа А и В в общих чертах близки [2, 3, 6, 7].

В настоящее время все больше проявляется роль углеводных цепей в формировании и стабилизации пространственной структуры гликопротеинов, что находится в прямой связи с биологическими и антигенными свойствами этих биополимеров [5, 8—10]. Для некоторых штаммов вируса гриппа В известна локализация потенциальных сайтов гликозилирования в НА [1—3, 11] и НА [4, 5, 7], однако данные о действительном числе углеводных цепей и их строении отсутствуют. Имеются лишь единичные работы, в которых описано выделение поверхностных гликопротеинов вируса В/Lee/40 и приведен аминокислотный и углеводный состав НА [12] и НА [13].

Данная работа посвящена выделению обоих поверхностных антигенов вируса гриппа В/Ленинград/179/86 и изучению структуры их углеводных цепей.

Как известно, для выделения поверхностных гликопротеинов вируса гриппа используют два подхода. Один из них заключается в солибили-

зации обоих гликопротеинов каким-либо детергентом с последующим разделением HA и NA с помощью аффинной хроматографии [14] или электрофореза на ацетате целлюлозы [12, 15]. Другой подход основан на избирательном протеолитическом отщеплении одного из гликопротеинов; второй при этом, в зависимости от подтипа вируса и используемой протеиназы, либо не подвергается действию фермента, либо расщепляется ею [16, 17]. Из вируса гриппа В гемагглютинин получают с помощью первого подхода [12], а нейраминидазу, как правило, обработкой вирионов трипсином [13, 18].

Ранее для получения HA различных подтипов вируса гриппа А нами успешно использовался протеолиз вирионов бромелаином [16], а в случае вируса А/Краснодар/101/59 (H2N2) последовательным действием бромелаина в невосстанавливающих и восстанавливающих условиях нам удалось избирательно отщепить сначала HA, а затем NA [19]. Эту методику мы применили и для получения гликопротеинов из вируса гриппа В/Ленинград/179/86.

В результате обработки вирионов бромелаином в отсутствие восстановителя и последующей хроматографии на ультрагеле А6 был получен гемагглютинин, который при электрофорезе в невосстанавливающих условиях проявлялся одной полосой с $M \sim 65$ кДа, а в восстанавливающих условиях — в виде двух полос с $M \sim 45$ и 25 кДа, что соответствует молекулярной массе тяжелой и легкой цепи HA. Следовательно, бромелаин в отсутствие активатора-восстановителя способен отщеплять HA и от вируса гриппа В так же, как это показано нами для вирусов А подтипа H1 и H2 [19]. Выделить NA из оставшегося после удаления HA кора вируса В действием активированного бромелаина в данном случае не удалось. По-видимому, как и в случае вируса А подтипа H1 и H3, нейраминидаза вируса гриппа В при действии бромелаина подвергается значительной деструкции.

В данной работе использовалась NA, полученная ранее избирательным протеолизом вирионов трипсином [20]. NA в виде тетрамерной «головки» обладала нейраминидазной активностью, давала соответствующую полосу при электрофорезе в геле и кристаллизовалась с образованием характерных пластинок или кубов [20]. При диссоциации этого тетрамера NA под действием додецилсульфата натрия и последующей хроматографии на ультрагеле А6 получены две фракции (УФ-детекция при 279 нм). Более высокомолекулярная фракция, элюирующаяся несколько позже HA, проявлялась при электрофорезе в виде одной полосы с M 45 кДа, т. е. представляла собой мономер NA. Это соответствует данным, согласно которым разрыв полипептидной цепи NA вируса В/Lee/40 трипсином происходит по Lys-69 [18], вследствие чего образуемая остатками Cys-54 межмономерная дисульфидная связь остается в N-концевых пептидах, связанных с мембраной вириона. Четыре полипептидные цепи в отщепленной трипсиной «головке» NA, таким образом, остаются связанными в тетрамере исключительно за счет нековалентных взаимодействий, но после обработки детергентом дают мономер NA.

Более низкомолекулярная белковая фракция, выделенная с ультрагеля А6, состояла, как показал гель-электрофорез, из полипептидов с M 5—20 кДа. Вероятно, под действием трипсина все же происходит в некоторой степени неспецифическое расщепление пептидной цепи NA. Для дальнейшей работы использовалась только высокомолекулярная фракция NA.

Оставшиеся после избирательного отщепления NA трипсином вирионы содержат HA и в принципе могут служить исходным материалом для его получения. Чтобы проверить это, вирионы подвергали обработке бромелаином в невосстанавливающих условиях. При хроматографии на ультрагеле А6 солиобилизованный продукт (после отделения вирионов центрифугированием) элюировался в том же объеме, что и HA, отщепленный бромелаином от нативного вируса, и не отличался от него электрофоретически (в невосстанавливающих условиях). Однако при электрофорезе в восстанавливающих условиях этот образец NA (NA') кроме тяжелой

**Аминокислотный * и углеводный состав гемагглютинина и нейраминидазы **
вируса гриппа В/Ленинград/179/86**

Остатки	Гемагглютинин		Нейраминидаза	
	А	Б	А	Б
Asx	432	58,1	58	36,8
Thr	345	46,5	41	26,0
Ser	307	41,3	97	61,6
Glx	314	42,4	103	65,2
Pro	86	11,6	21	13,2
Gly	410	55,3	67	42,4
Ala	323	43,5	43	27,2
Val	241	32,5	32	20,4
Pe+Leu	535	72,1	69	43,6
Tyr	122	16,4	19	12,0
Phe	138	18,6	20	12,8
Lys	318	42,8	34	21,6
His	140	18,9	27	17,2
Всего аминокислот	3711	500	631	400
GlcNAc	243	32,7	10,3	6,8
GalNAc	Следы	—	1,8	1,2
Man	317	42,7	7,4	4,8
Fuc	78	10,5	Следы	—
Gal	306	41,2	21,0	13,2
Всего сахаров	944	127,1	40,5	26,0

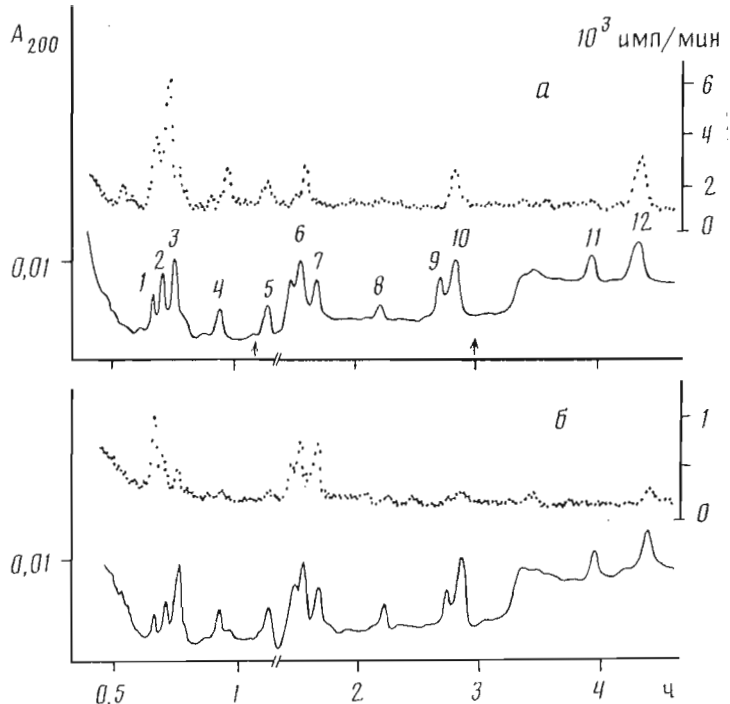
* Полуколичественный анализ, Cys, Met, Arg не определяли.

** А — содержание аминокислот и углеводов в образце (нмоль), Б — число остатков в молекуле НА и NA (принято, что НА и NA состоят из 500 и 400 остатков аминокислот соответственно).

и легкой цепей давал дополнительные полосы. По-видимому, при обработке вирионов трипсином НА подвергался частичному неспецифическому расщеплению, хотя и оставался включенным в состав вириона. Эти разрывы пептидной цепи в НА' носят ограниченный характер, поскольку в невозстанавливающих условиях мономеры НА и НА' электрофоретически неотличимы.

Таким образом, из вируса гриппа В/Ленинград с помощью бромелаина выделены два образца гемагглютинина: один из нативных вирионов, а другой (НА') — из вирионов, в которых предварительной обработкой трипсином удалена NA. Возможность выделения NA и НА вируса гриппа В последовательным действием трипсина и бромелаина показана нами впервые.

Аминокислотный и углеводный составы полученных образцов НА и NA (таблица) значительно различаются. В молекулу НА в расчете на 500 аминокислотных остатков [2, 3] входит около 130 остатков моносахаридов. Исходя из того, что N-связанная углеводная цепь обычно содержит в среднем 10—12 моносахаридных остатков, можно заключить, что в НА вируса В/Ленинград имеется ~10 углеводных цепей. Это число хорошо согласуется с количеством потенциальных сайтов гликозилирования в НА вируса В/Lee/40 и В/Singapore/222/79 [4—3]. Аналогичный расчет для NA, молекула которой (после отщепления трипсином) состоит из 400 аминокислот [7, 13] и 26 моносахаридных остатков, показывает, что полученная нами NA содержит две углеводные цепи, что соответствует литературным данным для NA вируса В/Lee/40, выделенной с помощью трипсина [13], и числу потенциальных сайтов гликозилирования (Asn-144 и Asn-284) [7]. Однако следует обратить внимание на большие различия в соотношении отдельных моносахаридов в образцах NA, полученных из вирусов В/Ленинград и В/Lee [13]. Главное отличие — низкое содержание в выделенной нами NA маннозы и более высокое содержание галактозы (таблица). Из этого можно заключить, что NA из вируса В/Ленинград содержит в отличие от NA вируса В/Lee в основном углеводные цепи комплексного типа.



ВЭЖХ смеси олигосахаридов из НА (а) и НА (б) на колонке Ultrasphere-C18. Стрелками обозначено время изменения условий элюции (см. «Экспер. часть»). Цифрами отмечены пики, соответствующие углеводным цепям: 1–5 — олигоманнозидные, содержащие 8, 9, 7, 6 и 5 остатков маннозы, 6 и 10 — комплексные диантенные (– и + Fuc соответственно); 7 и 8 — тетра- и триантенные (–Fuc); 9 и 12 — бисектные (– и +Fuc); 11 — бисектная (+Fuc) с одним концевым остатком галактозы

Информация о структуре и гетерогенности углеводных цепей НА и НА была получена с помощью разработанного нами метода идентификации олигосахаридов на основании их хроматографического поведения при ВЭЖХ [21, 22]. Этот метод, позволяющий работать с наномольными количествами гликопротеина, широко использовался нами при изучении углеводных фрагментов НА различных подтипов вируса гриппа А [23, 24], в том числе в варианте анализа меченных ^3H олигосахаридов [25]. Углеводные цепи отщеплялись от НА и НА с помощью щелочного LiBH_4 в водном трет-бутиловом спирте, как описано ранее [26], и восстанавливались $\text{NaB}[^3\text{H}]_4$ [25].

Для анализа полученной смеси меченых олигосахаридов с одновременной идентификацией отдельных структур ранее нами проводилась последовательная ВЭЖХ на колонках Ultrasphere-C8 и Ultrasil-NH₂ [23] или Zorbax-NH₂ [24]. Однако разделение некоторых олигосахаридов, особенно олигоманнозидного типа, в использовавшихся ранее условиях обращенно-фазовой ВЭЖХ было недостаточным, поэтому вместо колонки Ultrasphere-C8 в данной работе применялась колонка Ultrasphere-C18. В результате предварительных опытов по разделению смесей заведомых олигосахаридов были подобраны условия хроматографии, при которых олигосахариды элюировались последовательно водой, 0,5 и 1,5% метанолом. Разрешение отдельных групп олигосахаридов при этом заметно улучшилось, хотя время анализа увеличилось с 70 мин до 4,5 ч.

Смесь меченых олигосахаридов из НА и НА разделяли в выбранных условиях, причем к каждой смеси перед хроматографией добавляли в качестве внутреннего стандарта смесь немецких олигосахаридов известной структуры, выделенных ранее из различных гликопротеинов [21, 22]. Это позволяло вести детекцию элюата одновременно по УФ-поглощению и радиоактивности (в аликвотах собираемых фракций), т. е. регистрировать исследуемые олигосахариды на фоне стандартных (рисунок). После просчета радиоактивности фракции, соответствующие главным пикам,

объединяли и каждый компонент далее хроматографировали на колонке Zorbax-NH₂, снова проводя двойную детекцию элюата — по УФ и радиоактивности. Практически во всех случаях исследуемый меченый олигосахарид элюировался совместно с немеченым (внутренним стандартом), что подтверждало их идентичность.

Результаты ВЭЖХ смеси олигосахаридов из НА показали, что главные углеводные фрагменты комплексного типа — это диантенные и бисектные цепи (пики 6 и 9), причем большая часть их фукозилирована (пики 10 и 12). В очень небольшом количестве присутствуют триантенные цепи (пик 8). Обнаружены также олигоманнозидные цепи (пики 1—5), среди которых преобладают структуры, содержащие 7—9 остатков маннозы.

Анализ олигосахаридов из НА с помощью ВЭЖХ показал несколько иное, чем в НА, распределение углеводных цепей. Среди олигосахаридных структур главными оказались ди- и тетраантенные нефукозилированные цепи (пики 6 и 7), а также, в небольшом количестве, комплексные цепи, строение которых пока не удалось установить. Значительно меньше, чем в НА, олигоманнозидных фрагментов, и главным среди них является олигосахарид, содержащий 7 остатков маннозы.

Таким образом, анализ олигосахаридных фрагментов НА и NA не выявил каких-либо принципиальных различий в строении и степени гетерогенности углеводных цепей поверхностных гликопротеинов вируса гриппа А и В. Во всех случаях, в том числе в гемагглютининах вируса А подтипов Н1, Н2 и Н3, обнаружены олигоманнозидные и комплексные цепи. Оба типа этих цепей представлены большим набором структур, соотношение которых специфично для каждого типа НА и NA. Так, главные комплексные цепи НА вируса А/Киев/59/79 (Н1N1) и А/Чили/1/83/25 (Н1N1) — диантенные и «бисектные» цепи, причем большая их часть фукозилирована [23, 24]. В НА вируса А/Краснодар/101/59 (Н2N2) основные углеводные фрагменты имеют такое же строение, но в этом случае они редко содержат фукозу [25]. Наиболее типичными для НА вируса А/Ленинград/385/80 (Н3N2) оказались недостроенные триантенные цепи [27, 28], тогда как НА вируса Х/31 (Н3N2) содержал преимущественно олигоманнозидные цепи [29]. Гемагглютинин вируса В/Ленинград/179/86 по соотношению структур комплексного типа ближе всего к НА вируса А подтипа Н1.

Поскольку данные о структуре углеводных цепей НА крайне ограничены, делать какие-либо заключения об особенностях ее гликозилирования пока трудно. Можно лишь отметить, что НА вируса В содержит гораздо меньше олигоманнозидных цепей, чем ранее изучавшаяся нами NA из вируса А/Краснодар/101/59 (Н2N2) [25]. Другое отличие касается соотношения комплексных цепей: в НА вируса А (подтипа N2) преобладали нефукозилированные диантенные цепи, тогда как в НА вируса В наряду с диантенной идентифицирована нефукозилированная тетраантенная цепь.

Гликопротеины различных типов и подтипов вирусов гриппа А [30] и В [1, 4, 7] значительно различаются по числу и локализации углеводных цепей. Некоторые из цепей занимают постоянное положение относительно высококонсервативных остатков цистеина в большинстве штаммов вируса и, вероятно, выполняют общую функцию, участвуя в формировании главных особенностей конформации НА и NA. Положение других углеводных фрагментов специфично для гликопротеинов каждого подтипа вируса; эти цепи, по-видимому, вносят определенный вклад в создание небольших локальных различий в структуре и соответственно модулируют антигенные свойства вирусов. Учитывая отсутствие принципиальных различий в структуре и гетерогенности углеводных фрагментов в гликопротеинах вирусов гриппа А и В, антигенные свойства которых совершенно различны, можно предположить, что главным для нормального биосинтеза и функционирования гликопротеина является сам факт наличия углеводной цепи в данной точке белка, а строение ее имеет второстепенное значение. В то же время можно полагать, что разно-

образии углеводных структур в составе гликопротеина (в том числе в одном сайте) придает ему большую вариабельность с точки зрения как богатства пространственных форм (эпитопов), так и функциональных возможностей (рецепторные свойства).

Таким образом, в результате проведенного исследования из вируса гриппа В/Ленинград/179/86 получены оба поверхностных гликопротеина — гемагглютинин и нейраминидаза. Показано, что НА может быть получен обработкой бромеланином (в невосстанавливающих условиях) как нативных вирионов, так и вирионов, в которых действием трипсина удалена НА. Впервые получены данные о структуре основных типов углеводных цепей в этих гликопротеинах. Показано, что для изучения структуры и гетерогенности углеводных фрагментов N-гликопротеинов используемыми нами методами достаточно, чтобы исследуемый образец содержал в сумме 1 нмоль олигосахаридов.

Экспериментальная часть

НА из вируса гриппа В/Ленинград/179/86 выделяли как описано для НА из вируса А/Краснодар/101/59 (H2N2) [19]. НА, полученную по методу [20], дополнительно очищали хроматографией на ультрагеле А-6. Чистоту выделенных гликопротеинов контролировали с помощью электрофореза в полиакриламидном геле (15%) по Лэмбли. Аминокислотный и углеводный состав гликопротеинов определяли на анализаторах Т-339 (ЧССР) и Biotronik LC-2000 (ФРГ) после гидролиза 4 н. HCl (100° С, 16 ч) и 3 н. CF₃COOH (100° С, 6 ч) соответственно. Углеводные цепи НА и NA отщепляли обработкой гликопротеинов 2 М LiBH₄ — 0,005 М LiOH в водном *трет*-бутиловом спирте [26]. После отделения гликопептидов и пептидов на колонке с АГ 50 × 2 олигосахариды восстанавливали NaB[³H]₄ с удельной активностью 3 мКи/мкмоль [25] и очищали хроматографией на биоеле Р-6 [26]. ВЭЖХ смеси олигосахаридов проводили на хроматографе Bio-Rad (США) с использованием колонок Ultrasphere-C18 (10 × 250 мм, 10 мкм, Beckman, США) и Zorbax-NH₂ (4,6 × 250 мм, 5 мкм, Dupont Instrument, США), детекция при 200 нм. Условия элюции на колонке Ultrasphere-C18: 0—80 мин, вода (0,4 мл/мин); 80—180 мин, 0,5% метанол (1 мл/мин); 180—280 мин, 1,5% метанол (1 мл/мин); на колонке Zorbax-NH₂: 75% метанол (0,2 мл/мин). Для калибровки колонок в качестве внутреннего стандарта использовали олигосахариды известного строения [21, 22]. Радиоактивность во фракциях измеряли, применяя сцинтилляционную жидкость Брея (ЖС-7) и сцинтилляционный счетчик Delta-300 (Tracker, Голландия).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Verhoeyen M., van Rompuy L., Jou W. M., Huylebroeck D., Fiers W. // Nucl. Acids Res. 1983. V. 11. № 14. P. 4703—4712.
2. Krystal M., Elliot R. M., Benz E. W., Jr., Young J. F., Palese P. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1982. V. 79. № 15. P. 4800—4804.
3. Krystal M., Young J. F., Palese P., Wilson I. A., Skehel J. J., Wiley D. C. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1983. V. 80. № 14. P. 4527—4531.
4. Shaw M. W., Lamb R. A., Erickson B. W., Briedis D. J., Chappin P. W. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1982. V. 79. № 22. P. 6817—6821.
5. Bootman J. S., Robertson J. S. // Virology. 1988. V. 166. № 1. P. 271—274.
6. Warghese J. N., Laver W. G., Colman P. M. // Nature. 1983. V. 303. № 5912. P. 35—40.
7. Colman P. M., Ward C. W. // Current Topics of Microbiol. and Immunol. 1985. V. 114. P. 178—255.
8. Robertson J. S., Naeye C. W., Webster R. G. // Virology. 1985. V. 143. P. 166—174.
9. Skehel J. J., Stevens D. J., Daniels R. S., Douglas A. R., Knossow M., Wilson I. A., Willey D. C. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1984. V. 81. № 6. P. 1779—1783.
10. Deem C. M., Schulze I. T. // J. Biol. Chem. 1985. V. 260. № 27. P. 14774—14774.
11. Yamashita M., Krystal M., Fitch W. M., Palese P. // Virology. 1988. V. 163. № 1. P. 112—122.
12. Laver W. G., Baker N. // J. Gen. Virol. 1972. V. 17. № 1. P. 61—68.
13. Allen A. K., Skehel J. J., Yuferov V. // J. Gen. Virol. 1977. V. 37. № 2. P. 625—628.

14. Bucher D. J. // *Biochim. et biophys. acta*. 1977. V. 482. № 2. P. 393—399.
15. Laver W. G. // *J. Mol. Biol.* 1964. V. 9. P. 109—124.
16. Арбатский Н. П., Лихошерстов Л. М., Медведев С. А., Новикова О. С., Сенченкова С. Н., Юртов Д. В., Деревицкая В. А., Кочетков Н. К. // Докл. АН СССР. 1983. Т. 271. № 5. С. 1257—1260.
17. Wrigley N. G., Skehel J. J., Chalwood P. A., Brand C. M. // *Virology*. V. 51. № 2. P. 525—529.
18. Bassart P. J., Cook W. J., Babu J. S., Laver W. G., Air G. M. // *J. Biol. Chem.* 1988. V. 263. № 13. P. 6421—6423.
19. Арбатский Н. П., Желтова А. О., Юртов Д. В., Деревицкая В. А., Кочетков Н. К. // Докл. АН СССР. Сер. хим. 1989. Т. 306. № 6. С. 1490—1493.
20. Синяков М. С., Абашев Ю. П., Гительман А. К., Харитоненков И. Г. // *Вопр. вирусол.* 1989. Т. 34. № 5. С. 606—608.
21. Арбатский Н. П., Мартынова М. Д., Деревицкая В. А., Кочетков Н. К. // Докл. АН СССР. Сер. хим. 1987. Т. 297. № 4. С. 995—999.
22. Arbatsky N. P., Martynova M. D., Zheltova A. O., Derevitskaya V. A., Kochetkov N. K. // *Carbohydr. Res.* 1989. V. 187. № 1. P. 165—171.
23. Арбатский Н. П., Желтова А. О., Сенченкова С. Н., Юртов Д. В., Деревицкая В. А., Кочетков Н. К. // *Биоорган. химия*. 1987. Т. 13. № 11. С. 1542—1549.
24. Арбатский Н. П., Желтова А. О., Сенченкова С. Н., Юртов Д. В., Деревицкая В. А., Кочетков Н. К. // *Биоорган. химия*. 1989. Т. 15. № 2. С. 181—186.
25. Арбатский Н. П., Желтова А. О., Юртов Д. В., Деревицкая В. А., Кочетков Н. К. // *Биоорган. химия*. 1989. Т. 15. № 12. С. 1641—1648.
26. Арбатский Н. П., Желтова А. О., Лихошерстов Л. М., Сенченкова С. Н., Юртов Д. В., Деревицкая В. А., Кочетков Н. К. // *Биоорган. химия*. 1985. Т. 11. № 6. С. 837—844.
27. Арбатский Н. П., Желтова А. О., Юртов Д. В., Деревицкая В. А., Кочетков Н. К. // *Биоорган. химия*. 1986. Т. 12. № 8. С. 1111—1117.
28. Arbatsky N. P., Derevitskaya V. A., Zheltova A. O., Kochetkov N. K., Likhosherstov L. M., Senchenkova S. N., Yutrov D. V. // *Carbohydr. Res.* 1988. V. 178. № 1. P. 165—181.
29. Matsumoto A., Yochima H., Kobata A. // *Biochemistry*. 1983. V. 22. № 1. P. 188—196.
30. Kiel W., Niemann H., Schwarz R. T., Klenk H.-D. // *Virology*. 1984. V. 133. № 1. P. 77—91.

Поступила в редакцию
2.X.1989

N. P. ARBATSKY, A. O. ZHELTOVA, D. V. YURTOV, I. G. KHARITONENKOV *,
Yu. P. ABASHEV *, V. A. DEREVITSKAYA, N. K. KOCHETKOV

THE STRUCTURE OF CARBOHYDRATE CHAINS OF
HEMAGGLUTININ AND NEURAMINIDASE OF INFLUENZA
VIRUS B/LENINGRAD/179/86

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

** D. I. Ivanovsky Institute of Virology, Academy of Medical Sciences
of the USSR, Moscow*

The main surface glycoprotein, hemagglutinin (HA), was obtained by treatment of influenza virus B/Leningrad/179/86 with bromelain. Amino acid and monosaccharide compositions of HA and neuraminidase (NA, earlier isolated from the same virus) were determined, thus showing HA and NA to contain 8—10 and 2 carbohydrate chains, respectively. The carbohydrate fragments were cleaved off by the alkaline LiBH_4 treatment, the oligosaccharides released were reduced with NaB^3H_4 and fractionated by two-step HPLC on Ultrasphere-C18 and Zorbax-NH₂ columns. Some higher mannose and complex oligosaccharides were identified in both cases by comparison with nonlabelled oligosaccharides of the known structure. The data obtained show that surface glycoproteins of influenza virus A and B are rather similar with regard to structure and heterogeneity of their carbohydrate chains.