



УДК 577.114.5.088.53 : 579.841.11

© 1994 Н. А. Парамонов, А. С. Шашков, Ю. А. Книрель,  
М. А. Солдаткина\*, И. Я. Захарова \*

**АНТИГЕННЫЕ ПОЛИСАХАРИДЫ БАКТЕРИЙ**  
**39\*. СТРОЕНИЕ О-СПЕЦИФИЧЕСКИХ ПОЛИСАХАРИДОВ**  
*Pseudomonas ceracia* СЕРОГРУПП С, I, O1 и O4

Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского РАН, Москва;

\*Институт микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного АН  
Украины, Киев

Ключевые слова: *Pseudomonas ceracia*; полисахариды О-специфические; спектроскопия <sup>1</sup>H- и <sup>13</sup>C-ЯМР; компьютерный анализ <sup>13</sup>C-ЯМР-спектров.

Показано, что, как и некоторые исследованные ранее О-серогруппы *Pseudomonas ceracia*, серогруппы С, I (Nakamura), O1 и O4 (Heidt) характеризуются наличием у липополисахаридов клеточной оболочки по меньшей мере двух различных по структуре О-антигенных полисахаридных цепей. На основании кислотного гидролиза, метилирования и <sup>1</sup>H- и <sup>13</sup>C-ЯМР-спектроскопии, включая компьютерный анализ <sup>13</sup>C-ЯМР-спектров, установлены полные структуры преобладающих полисахаридов серогрупп I (I), С и O4 (III), минорных полисахаридов серогрупп I (II) и O1 (V) и подтверждена независимо установленная ранее (Cox A. D., Wilkinson S. G. // Carbohydr. Res. 1990. V. 195. № 2. P. 295—301) структура преобладающего полисахарида серогруппы O1 (IV).

→ 3)-α-D-Fucp-(1 → 4)-β-D-GalpNAc-(1 →	I
→ 3)-α-D-Fucp-(1 → 2)-α-L-Rhap-(1 →	II
<i>P. ceracia</i> I	
→ 3)-α-D-Galp-(1 → 3)-β-D-Galp-(1 → 3)-β-D-GalpNAc-(1 →	III
<i>P. ceracia</i> С ≡ O4	
→ 4)-α-D-Glcp-(1 → 3)-α-L-GlcpNAc-(1 →	IV
→ 4)-α-D-Glcp-(1 → 3)-α-L-Rhap-(1 →	V
<i>P. ceracia</i> O1	

Микроорганизм *Pseudomonas ceracia* — широко распространенный представитель псевдомонад, гетерогенный по серологической О-специфичности штаммов [2—5], химические и иммунохимические исследования липополисахаридов которого, ставящие своей целью создание молекулярной основы для отсутствующей

\* Сообщение 38 см. [1].

Адрес для переписки: 117913, Москва, Ленинский проспект, д. 47, Институт органической химии, Книрелю Ю. А.

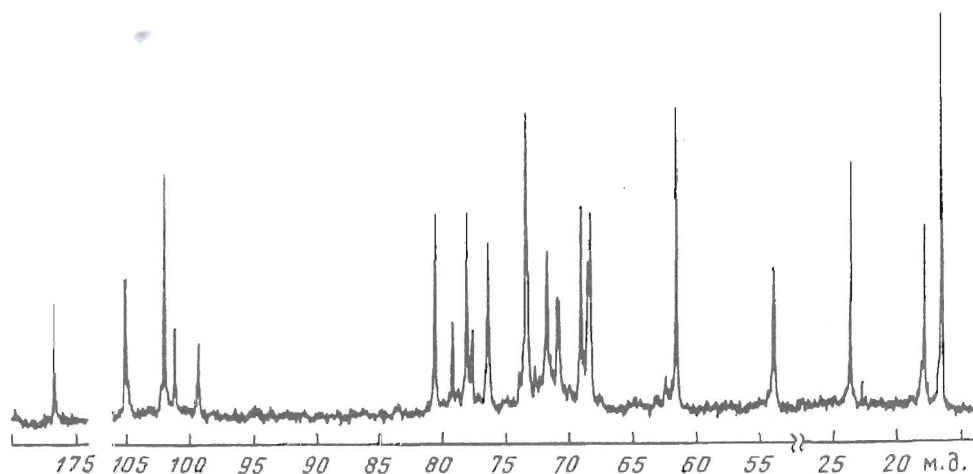


Рис. 1.  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектр О-специфических полисахаридов *P. seracia* I

до сих пор единой классификации этого вида, привели к установлению строения О-специфических полисахаридных цепей большинства О-серогрупп *P. seracia* [6—15].

Настоящая работа посвящена изучению строения О-антигенов четырех серогрупп *P. seracia*: С, I (классификация Nakamura [4]), O1 и O4 (классификация Heidt [2]). Липополисахарид серогруппы O1 был исследован ранее [15]; было показано, что он имеет две различные по структуре полисахаридные цепи, и была установлена полная структура преобладающего полисахарида и частичная структура полисахарида, присутствующего в меньшем количестве. В данной работе нами подтверждено независимыми методами строение основного полисахарида и установлено полное строение минорного полисахарида этой серогруппы. Липополисахариды серогрупп С, I и O4, также являющиеся неоднородными по О-антигенам, ранее не исследовались.

Липополисахариды были выделены экстракцией водным фенолом [16]. О-Специфические полисахариды были получены расщеплением липополисахаридов разбавленной уксусной кислотой с последующей гель-хроматографией водорастворимой фракции на сефадексе G-50.

### Строение О-специфических полисахаридов серогруппы I

Кислотный гидролиз полисахаридной фракции с последующим анализом полных ацетатов полиолов методом ГЖХ привел к идентификации рамнозы, фукозы и галактозамина в соотношении 1 : 1,5 : 1. Анализ ГЖХ ацетилированных (S)-2-октилгликозидов [17, 18] показал, что фукоза имеет D-, а рамноза — L-конфигурацию. D-Конфигурация галактозамина была установлена при анализе химических сдвигов  $^{13}\text{C}$  (см. ниже).

В  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектре полисахаридной фракции (рис. 1) присутствовали две серии сигналов с соотношением интегральных интенсивностей в среднем ~2 : 1, принадлежащие двум различающимся по составу и строению повторяющимся звеньям (рис. 1). Отсутствие в спектре сигналов неаномерных углеродных атомов сахаров в более слабом поле, чем 82 м. д., показало, что все моносахаридные компоненты находятся в пиранозной форме [19].

Основную серию спектра составляли сигналы двух аномерных атомов углерода при 101,7 и 104,5 м. д., одного углеродного атома, связанного с азотом (C2 галактозамина), при 53,5 м. д., одной 6-дезоксигруппы (C6 фукозы [19]) при 16,4 м. д., одной гидроксиметильной группы (C6 галактозамина) при 61,5 м. д.,

Химические сдвиги в  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектрах полисахаридов (м. д.)\*

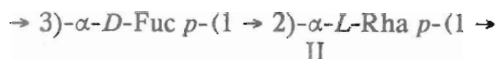
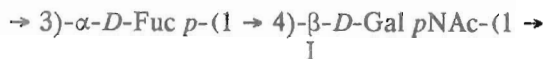
Моносахаридный остаток	C1	C2	C3	C4	C5	C6
Серогруппа I						
Полисахарид I						
→ 3)- $\alpha$ -D-Fucp-(1 →	101,7 (101,3)	68,8 (68,4)	80,4 (80,6)	73,0 (72,7)	68,2 (67,8)	16,4 (16,5)
→ 4)- $\beta$ -D-GalpNAc-(1 →	104,5 (104,4)	54,0 (53,5)	71,8 (72,2)	78,3 (77,7)	76,1 (76,6)	61,5 (61,5)
Полисахарид II						
→ 3)- $\alpha$ -D-Fucp-(1 →	99,1 (98,7)	68,4 (68,4)	78,8 (78,5)	73,0 (73,0)	68,2 (67,8)	16,3 (16,5)
→ 2)- $\alpha$ -L-Rhap-(1 →	100,7 (101,0)	77,5 (77,6)	70,9 (71,3)	73,3 (73,5)	70,5 (70,4)	17,8 (18,0)
Серогруппа C						
Полисахарид III						
→ 3)- $\alpha$ -D-Galp-(1 →	96,9 (96,8)	68,6 (68,9)	80,2 (80,4)	70,6 (70,3)	71,7 (72,2)	62,3 (62,4)
→ 3)- $\beta$ -D-Galp-(1 →	106,0 (106,2)	70,5 (70,2)	78,6 (78,9)	66,2 (66,3)	76,0 (76,3)	62,3 (62,2)
→ 3)- $\beta$ -D-GalpNAc-(1 →	104,1 (104,4)	52,5 (52,3)	81,5 (81,2)	69,2 (69,2)	76,0 (76,4)	62,3 (62,2)
Серогруппа O1						
Полисахарид IV						
→ 4)- $\alpha$ -D-Glcp-(1 →	104,4 (104,4)	72,9 (72,7)	72,9 (72,7)	78,2 (78,4)	72,3 (72,1)	61,2 (60,9)
→ 3)- $\alpha$ -L-GlcpNAc-(1 →	98,7 (98,5)	54,6 (54,7)	80,0 (79,2)	69,6 (70,1)	73,4 (73,3)	61,6 (61,9)
Полисахарид V						
→ 4)- $\alpha$ -D-Glcp(1 →	96,9 (96,7)	72,9 (72,7)	72,9 (72,7)	78,8 (78,9)	72,2 (72,6)	61,6 (61,7)
→ 3)- $\alpha$ -L-Rhap-(1 →	101,7 (101,6)	68,5 (68,3)	77,2 (76,8)	71,7 (71,8)	70,4 (70,4)	17,8 (18,0)

\* Химические сдвиги сигналов N-ацетильных групп 23,3—23,6 м. д. (Me) и 175,4—176,4 м. д. (CO). В скобках приведены данные, рассчитанные по методу [20, 21].

семи других сигналов сахаров в области 68,2—80,4 м. д. и одной N-ацетильной группы ( $\text{CH}_3$  при 23,5 м. д., CO при 176,4 м. д.). Таким образом, преобладающий полисахарид построен из дисахаридных повторяющихся звеньев, содержащих по одному остатку D-фукозы и N-ацетил-D-галактозамина.

В минорную серию спектра входили сигналы двух аномерных атомов углерода при 99,1 и 100,7 м. д., двух 6-дезоксигрупп при 16,3 м. д. (C6 фукозы [19]) и 17,8 м. д. (C6 рамнозы [19]) и восьми других сигналов сахаров в области 68,2—78,8 м. д. (два из них при 68,2 и 73,0 м. д. совпадали с сигналами основной серии). Из этих данных следовало, что присутствующий в меньшем количестве полисахарид также построен из дисахаридных повторяющихся звеньев, которые содержат по одному остатку D-фукозы и L-рамнозы. Завышенное количество рамнозы в гидролизате полисахарида (Fuc : Rha 1,5 : 1 вместо ожидаемого ~3 : 1), очевидно, связано с тем, что рамноза присутствует также в коре липо-полисахарида [20].

Для установления строения повторяющихся звеньев обоих полисахаридов был проведен компьютерный анализ их  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектров по методу [21, 22]. В каждом из случаев расчет привел к единственной структуре, удовлетворяющей экспериментальному спектру. Структуры I для преобладающего и II для минорного полисахаридов характеризовались суммами квадратичных отклонений химических сдвигов расчетного и экспериментального спектров на один моносахаридный остаток  $S = 0,8$  и  $0,4$  соответственно, тогда как для всех других теоретически возможных структур величина  $S$  составляла 1,9 или более. Сделанное на основании расчета отнесение сигналов в спектрах полисахаридов приведено в табл. 1.



Компьютерный анализ показал также, что галактозамин в полисахариде I имеет *D*-конфигурацию, так как ни одна из возможных структур с *L*-конфигурацией галактозамина не удовлетворяла экспериментальному  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектру (действительно, при различных абсолютных конфигурациях фукозы и галактозамина сигнал C1 аминсахара находился бы, например, вблизи 100 м. д. [21, 23], а не при 104,5 м. д., как это имеет место в экспериментальном спектре).

Линейный характер обоих полисахаридов и положения замещения остатков 6-дезоксисахаров были подтверждены при анализе метилированием, в результате которого были идентифицированы методом ГЖХ в виде частично метилированных ацетатов полиолов 2,4-ди-*O*-метилфукоза и 3,4-ди-*O*-метилрамноза.

#### Строение *O*-специфических полисахаридов серогрупп С и О4

При кислотном гидролизе полисахаридной фракции серогруппы С были идентифицированы галактоза, рамноза и галактозамин в соотношении 1,7 : 1 : 1,7. Анализ по методу [17, 18] показал, что галактоза имеет *D*-, а рамноза — *L*-конфигурацию. *D*-Конфигурация галактозамина была установлена при анализе химических сдвигов  $^{13}\text{C}$  (см. ниже).

В  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектре полисахаридной фракции (рис. 2) присутствовали интенсивные сигналы трех аномерных атомов углерода при 96,9, 104,1 и 106,0 м. д., одного углеродного атома, связанного с азотом (C2 галактозамина), при 52,5 м. д., трех гидроксиметильных групп (C6 галактозы и галактозамина) при 62,3 м. д., 11 других сигналов сахаров в области 66,2—81,5 м. д. и одной *N*-ацетильной группы (CH<sub>3</sub> при 23,6 м. д., CO при 176, 4 м. д.). Отсутствие в спектре сигналов неаномерных углеродных атомов сахаров в более слабом поле, чем 82 м. д., показало, что все основные моносахаридные компоненты находятся в пиранозной форме [19]. Таким образом, в липополисахариде серогруппы С имеется полисахаридная цепь, построенная из трисахаридных повторяющихся звеньев, включающих два остатка *D*-галактозы и один остаток *N*-ацетил-*D*-галактозамина.

Кроме того, в спектре присутствовали сигналы с заметно меньшей интенсивностью, отвечающие минорному полисахариду, который, по-видимому, включает остатки рамнозы (сигналы C6 при 18,1 и 18,3 м. д.) и галактозамина (сигналы C2 при 49,6 и 52,4 м. д.), что соответствует приведенным выше данным анализа моносахаридного состава. Из-за многочисленных совпадений сигналов минорной серии с сигналами основной серии определить размер повторяющегося звена второго полисахарида было затруднительно.

Компьютерный анализ  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектра основного полисахарида [21, 22] привел к структуре III, характеризующейся наименьшей величиной  $S$  (0,4). Еще для двух структур, отличающихся от структуры III только положением замещения остатка  $\alpha$ -галактозы, величины  $S$  были заметно большими (0,9 и 1,0 для замещения в положение 2 или 4 соответственно). Ни одна из возможных структур с

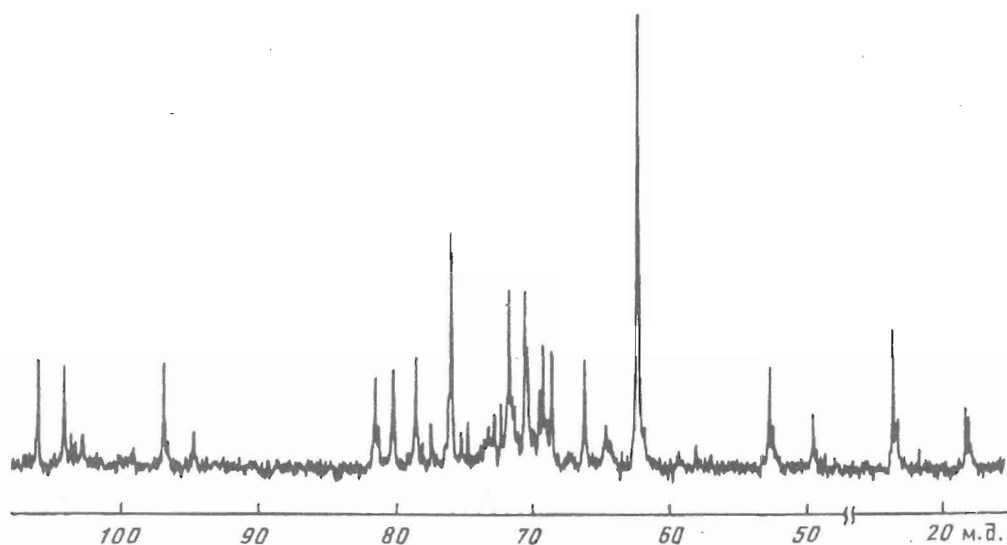


Рис. 2.  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектр О-специфических полисахаридов *P. seracia* С

*L*-конфигурацией галактозамина не удовлетворяла экспериментальному  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектру, и, следовательно, этот аминсахар имеет *D*-конфигурацию (при различных абсолютных конфигурациях  $\beta$ -галактозы и галактозамина сигнал С1  $\beta$ -галактозы находился бы, например, вблизи 101 м. д. [21, 23], а не при 106,0 м. д., как в экспериментальном спектре). Сделанное на основании расчета отнесение сигналов для структуры III приведено в табл. 1.



Попытка подтвердить структуру III методом метилирования не удалась из-за нерастворимости исследуемого препарата в диметилсульфоксиде, однако устойчивость основного полисахарида к периодатному окислению показывала, что он линейен и что оба остатка галактозы замещены в положение 3.

$^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектр полисахаридной фракции серогруппы О4 практически совпадал с описанным выше спектром и также содержал сигналы основной и минорной серий. Отсюда был сделан вывод, что преобладающий О-специфический полисахарид серогруппы О4 также имеет структуру III. Строение минорного полисахарида серогрупп С и О4, относительное содержание которого варьировалось от препарата к препарату и, по-видимому, зависело от условий выращивания клеток, в рамках настоящей работы осталось невыясненным.

### Строение О-специфических полисахаридов серогруппы О1

Кислотный гидролиз полисахаридной фракции этой серогруппы показал присутствие глюкозы, глюкозамина и рамнозы в соотношении 4,6 : 3,1 : 2,0. На основании данных окисления *D*-глюкозооксидазой было установлено, что глюкоза имеет *D*-конфигурацию. *L*-Конфигурация глюкозамина была установлена при анализе химических сдвигов  $^{13}\text{C}$  (см. ниже).

В  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектре полисахаридной фракции присутствовали две серии сигналов с соотношением интегральных интенсивностей в среднем  $\sim 3 : 1$ , принадлежащие двум различающимся по составу и строению повторяющимся звеньям. Отсутствие в спектре сигналов неаномерных углеродных атомов сахаров в более слабом поле, чем 82 м. д., показывало, что все моносахаридные компоненты находятся в пиранозной форме [19].

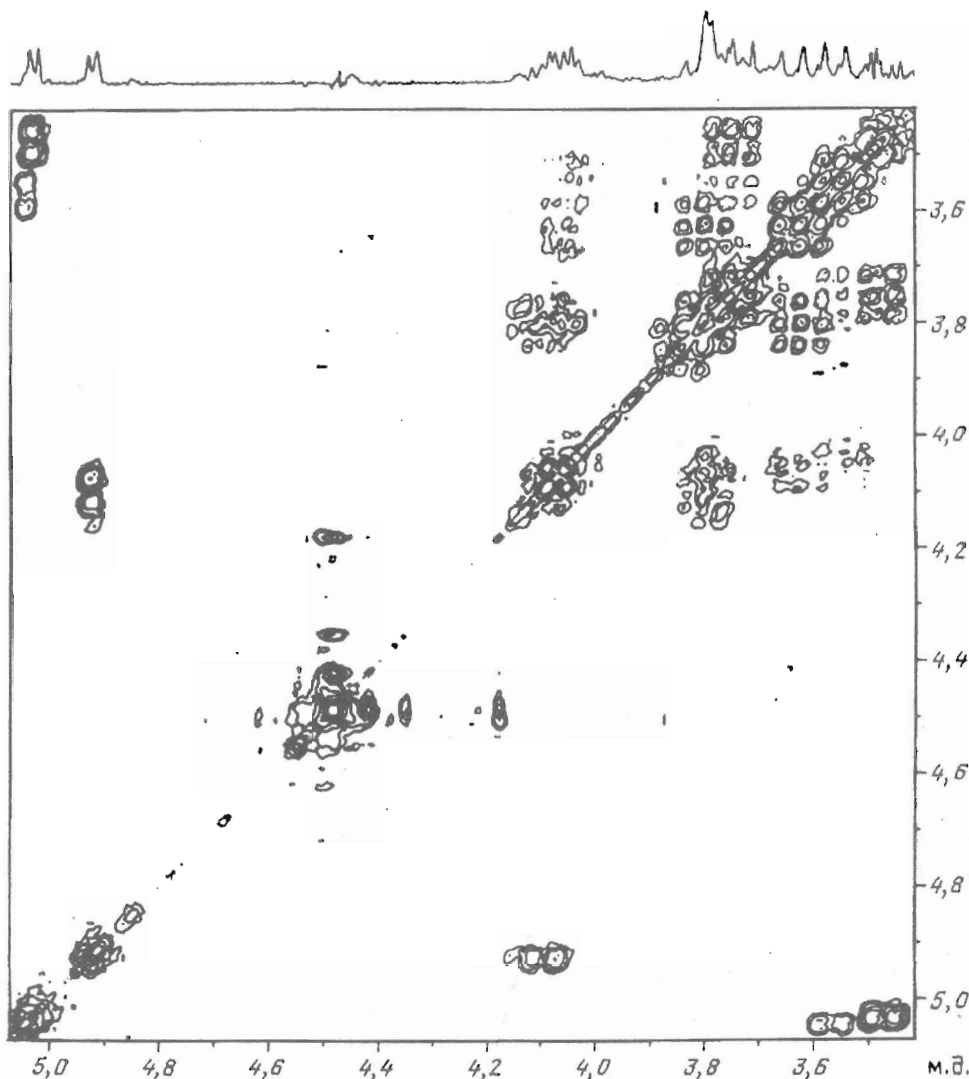


Рис. 3. Двумерный ЯМР-спектр COSY O-специфических полисахаридов *P. seracia* O1. Соответствующая часть  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектра приведена вдоль горизонтальной оси

В основной серии присутствовали сигналы двух аномерных атомов углерода при 100,4 и 98,7 м. д., одного углеродного атома, связанного с азотом (C2 глюкозамина), при 54,6 м. д., двух гидроксиметильных групп (C6 глюкозы и глюкозамина) при 61,2 и 61,6 м. д., семи других сигналов сахаров в области 69,6—80,0 м. д. и одной N-ацетильной группы ( $\text{CH}_3$  при 23,3 м. д., CO при 175,4 м. д.). Таким образом, преобладающий полисахарид построен из дисахаридных повторяющихся звеньев, содержащих по одному остатку *D*-глюкозы и *N*-ацетил-*L*-глюкозамина.

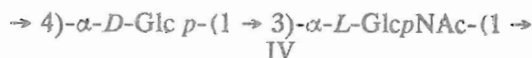
Установление строения этого полисахарида было проведено с помощью компьютерного анализа  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектра [21, 22], в результате которого была выявлена единственная структура IV, удовлетворяющая экспериментальному спектру ( $S = 0,6$ ). Для всех других теоретически возможных структур, в том числе всех структур с различной абсолютной конфигурацией глюкозы и глюкоз-

Данные  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектра основного полисахарида (IV) серогруппы O1 \*

Моносахаридный остаток	Протон	Химический сдвиг, м. д.	КССВ, Гц
→ 4)- $\alpha$ -D-Glcp(1 →	H1	5,09	$J_{1,2}$ 4
	H2	3,52	$J_{2,3}$ 10
	H3	3,81	$J_{3,4}$ 10
	H4	3,60	$J_{4,5}$ 10
	H5	4,11	
→ 3)- $\alpha$ -L-GlcpNAc(1 →	H1	4,98	$J_{1,2}$ 4
	H2	4,15	$J_{2,3}$ 11
	H3	3,86	$J_{3,4}$ 10
	H4	3,68	$J_{4,5}$ 10
	H5	4,12	$J_{5,6}$ 3,5
	H6	3,85	

\* Химический сдвиг сигнала N-ацетильной группы 2,06 м. д.

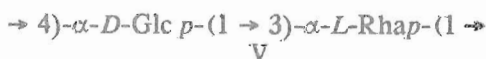
амин, величина  $S$  была не менее 2. Таким образом, основной полисахарид серогруппы O1 содержит N-ацетил-L-глюкозамин и имеет структуру IV:



Структура IV была независимо подтверждена с помощью двумерной корреляционной ЯМР-спектроскопии.  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр основного полисахарида был расшифрован с помощью метода COSY (рис. 3) и гомоядерного двойного резонанса в модифицированном разностном варианте [24] (табл. 2). Величины КССВ  $J_{1,2}$  4 Гц для сигналов H1 остатков глюкозы и глюкозамина свидетельствовали об  $\alpha$ -конфигурации остатков обоих моносахаридов [25]. В двумерном спектре ЯЭО во вращающейся системе координат (ROESY) присутствовали корреляционные пики H1 Glc/H3 GlcNAc и H1 GlcNAc/H4 Glc, подтверждающие положенные замещения моносахаридов, показанные в формуле IV. Результаты расшифровки  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектра полисахарида, проведенной с помощью метода  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$  COSY, хорошо согласовывались с данными, полученными при компьютерном анализе спектра (табл. 1).

Структура IV была установлена ранее, в основном химическими методами, при анализе полисахарида серогруппы O1, и абсолютная конфигурация N-ацетил-L-глюкозамина, до сих пор не найденного ни в одном другом природном объекте, была определена независимыми способами [15]. В этой же работе было показано, что минорный полисахарид серогруппы O1 имеет дисахаридное повторяющееся звено, включающее 4-замещенный остаток глюкозы и 3-замещенный остаток рамнозы, однако его полная структура осталась невыясненной.

Сигналы H1 основной и минорной серий в полученном нами  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектре попарно совпадали, однако в двумерном спектре COSY корреляционные пики H1/H2 были расположены отдельно для каждой из серий (рис. 3). Это позволило определить химические сдвиги для сигналов H1 остатков глюкозы и рамнозы минорного полисахарида как 5,10 м. д. (дублет  $J_{1,2}$  4 Гц) и 4,97 м. д. (уширенный синглет) соответственно и сделать на основании этих данных вывод об  $\alpha$ -конфигурации обоих моносахаридных остатков [26]. Следовательно, минорный полисахарид серогруппы O1 имеет структуру V:



Компьютерный анализ по методу [21, 22] сигналов  $^{13}\text{C}$  минорной серии спектра, часть которых совпадала с сигналами основной серии (табл. 1), подтвердил структуру V и показал, что входящая в состав минорного полисахарида рамноза имеет L-конфигурацию. Действительно, если структура V характеризовалась величиной  $S = 0,3$ , то для всех остальных теоретически возможных структур, в том числе всех структур с одинаковой абсолютной конфигурацией глюкозы и рамнозы, эта величина была 1,8 или более. Кроме того, на основании данных [21, 22], сигнал C1 D-глюкопиранозы, присоединенной  $\alpha$ -1,3-связью к D-рамнопиранозе, находился бы вблизи 101 м. д., а не при 96,9 м. д., как это наблюдается в экспериментальном спектре.

Таким образом, все изученные в настоящей работе полисахариды имеют типичные для *P. cepacia* состав и строение: они содержат широко распространенные гексозы, 6-дезоксигексозы и N-ацетилгексозамины и построены из линейных ди- или трисахаридных повторяющихся звеньев. В то же время имеющий L-конфигурацию N-ацетилглюкозамин является уникальным компонентом полисахарида серогруппы O1. Из других моносахаридных компонентов D-фукоза найдена в O-антигенах различных псевдомонад (*P. cepacia* [10], *P. syringae* [27, 28], *Xanthomonas campestris* [29]), но практически не встречается в O-специфических полисахаридах микроорганизмов других семейств. Присутствие липополисахаридов с различными по структуре полисахаридными цепями или цепями, построенными из различных олигосахаридных звеньев, отмечается в последнее время как у некоторых других серогрупп *P. cepacia* [12, 13], *P. solanacearum* [30] и *P. pseudomallei* [31], так и у ряда энтеробактерий (*Klebsiella pneumoniae* [32, 33], *Serratia marcescens* [34]).

#### Экспериментальная часть

$^1\text{H}$ -ЯМР-спектры сняты на приборе Bruker WM-250 в  $\text{D}_2\text{O}$  при  $50^\circ\text{C}$ .  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектры получены на приборе Bruker AM-300 в  $\text{D}_2\text{O}$  при  $60^\circ\text{C}$ . Внутренним стандартом служил ацетон ( $\delta_{\text{H}}$  2,225 м. д.,  $\delta_{\text{C}}$  31,45 м. д.). Для двумерной спектроскопии использовали стандартные методики Bruker.

ГЖХ проводили на приборе Hewlett-Packard 5890 на стеклянной капиллярной колонке (0,2 мм  $\times$  25 м) со стационарной фазой OV-1. ГЖХ/масс-спектрометрия выполнена на приборе Varian MAT 311.

Выращивание микроорганизмов *P. cepacia* O1, O4, C и I (штаммы ИМВ 4200, 4203, 4209 и 4215 соответственно), выделение липополисахаридов и O-специфических полисахаридов проводилось как описано ранее [6, 7].

Полисахариды гидролизовали 2 М трифторуксусной кислотой 1 ч при  $121^\circ\text{C}$ , моносахариды превращали, как обычно, в полностью ацетилированные полиолы и исследовали методом ГЖХ. Метилирование полисахаридов осуществляли по методу [35].

*Распад по Смуту.* Полисахарид серогруппы C (2 мг) окисляли 0,1 М метаперйодатом натрия (1 мл) 48 ч в темноте при обычной температуре, добавляли этиленгликоль (каплю), затем восстанавливали натрийборгидридом (10 мг, 2 ч), подкисляли конц. уксусной кислотой, обессоливали гель-фильтрацией на геле TSK HW-40, гидролизовали и анализировали ГЖХ, как описано выше.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шашков А. С., Кочарова Н. А., Кириель Ю. А., Варбанец Л. Д., Москаленко Н. В., Здохлий А. В. // Бιοорган. химия. 1993. Т. 19. № 11. С. 1089—1094.
2. Heidt A., Monteil H., Richard C. // J. Clin. Microbiol. 1983. V. 18. № 3. P. 738—740.
3. Monteil H., Richard C., Heidt A. // Med. Malad. Infect. 1981. V. 11. № 10. P. 544—547.
4. Nakamura Y., Hyodo S., Chonan E., Shigeta S., Yabuuchi E. // J. Clin. Microbiol. 1986. V. 24. № 1. P. 152—154.



5. *Werneburg B., Monteil H.*//Res. Microbiol. 1989. V. 140. P. 17—20.
6. *Солдаткина М. А., Кширель Ю. А., Танатар Н. В., Захарова И. Я.*//Микробиол. журн. 1989. Т. 51. № 2. С. 32—38.
7. *Кширель Ю. А., Шашков А. С., Дмитриев Б. А., Кочетков Н. К., Касянчук Н. В., Захарова И. Я.*//Биоорган. химия. 1980. Т. 6. № 12. С. 1851—1859.
8. *Кширель Ю. А., Дмитриев Б. А., Кочетков Н. К., Танатар Н. В., Захарова И. Я.*//Биоорган. химия. 1985. Т. 11. № 4. С. 536—538.
9. *Кширель Ю. А., Танатар Н. В., Солдаткина М. А., Шашков А. С., Захарова И. Я.*//Биоорган. химия. 1988. Т. 14. № 1. С. 77—81.
10. *Кширель Ю. А., Шашков А. С., Солдаткина М. А., Парамонов Н. А., Захарова И. Я.*//Биоорган. химия. 1988. Т. 14. № 9. С. 1208—1213.
11. *Кширель Ю. А., Шашков А. С., Солдаткина М. А., Захарова И. Я.*//Биоорган. химия. 1988. Т. 14. № 10. С. 1413—1418.
12. *Кширель Ю. А., Солдаткина М. А., Шашков А. С., Танатар Н. В., Парамонов Н. А., Захарова И. Я.*//Биоорган. химия. 1988. Т. 14. № 12. С. 1678—1683.
13. *Кширель Ю. А., Танатар Н. В., Солдаткина М. А., Захарова И. Я.*//Биоорган. химия. 1988. Т. 14. № 12. С. 1684—1689.
14. *Cox A. D., Wilkinson S. G.*//Carbohydr. Res. 1989. V. 195. № 1. P. 123—130.
15. *Cox A. D., Wilkinson S. G.*//Carbohydr. Res. 1990. V. 195. № 2. P. 295—301.
16. *Westphal O., Jann K.*//Meth. Carbohydr. Chem. 1965. V. 5. P. 83—91.
17. *Leontin K., Lindberg B., Lönngren J.*//Carbohydr. Res. 1978. V. 62. № 2. P. 350—362.
18. *Gerwig G. J., Kamerling J. P., Vliegthart J. F. G.*//Carbohydr. Res. 1979. V. 77. № 1. P. 1—7.
19. *Bock K., Pedersen C.*//Adv. Carbohydr. Chem. Biochem. 1983. V. 41. P. 27—65.
20. *Wilkinson S. G.*//Surface Carbohydrates of Prokaryotic Cell/Ed. I. W. Sutherland. L.: Acad. Press, 1988. P. 97—175.
21. *Lipkind G. M., Shashkov A. S., Knirel Y. A., Vinogradov E. V., Kochetkov N. K.*//Carbohydr. Res. 1988. V. 175. № 1. P. 59—75.
22. *Кочетков Н. К., Виноградов Е. В., Кширель Ю. А., Шашков А. С., Липкин Г. М.*//Биоорган. химия. 1992. Т. 18. № 1. С. 116—125.
23. *Shashkov A. S., Lipkind G. M., Knirel Y. A., Kochetkov N. K.*//Magn. Org. Reson. 1988. V. 26. № 7. P. 735—747.
24. *Kocharova N. A., Knirel Y. A., Shashkov A. S., Kochetkov N. K., Pier G. B.*//J. Biol. Chem. 1988. V. 263. № 23. P. 11291—11295.
25. *Altona C., Haasnoot C. A. G.*//Org. Magn. Reson. 1980. V. 13. № 6. P. 417—429.
26. *Bebault G. M., Choy J. M., Dutton G. G. S., Funnell N., Steffen A. M.*//J. Bacteriol. 1973. V. 113. P. 1345—1347.
27. *Кширель Ю. А., Здоровенко Г. М., Шашков А. С., Мамян С. С., Яковлева Л. М., Соляник Л. П., Захарова И. Я.*//Биоорган. химия. 1988. Т. 14. № 1. С. 82—91.
28. *Кширель Ю. А., Здоровенко Г. М., Шашков А. С., Губанова Н. И., Яковлева Л. М., Гвоздяк Р. И.*//Биоорган. химия. 1988. Т. 14. № 1. С. 92—99.
29. *Hickman J., Ashwell G.*//J. Biol. Chem. 1966. V. 241. № 6. P. 1424—1428.
30. *Kocharova N. A., Knirel Y. A., Shashkov A. S., Nifan'ev N. E., Kochetkov N. K., Varbanets L. D., Moskalenko N. V., Brovskaya O. S., Muras V. A., Young J. M.*//Carbohydr. Res. 1993. V. 250. P. 275—287.
31. *Knirel Y. A., Paramonov N. A., Shashkov A. S., Kochetkov N. K., Yarullin R. G., Farber S. M., Efremenko V. I.*//Carbohydr. Res. 1992. V. 233. P. 185—193.
32. *Kol O., Wieruszkeski J.-M., Strecker G., Fournet B., Zalisz R., Smets P.*//Carbohydr. Res. 1992. V. 236. P. 339—344.
33. *Whitfield C., Perry M. B., MacLean L. L., Sai Hung Yu*//J. Bacteriol. 1992. V. 174. № 15. P. 4913—4919.
34. *Oxley D., Wilkinson S. G.*//Carbohydr. Res. 1989. V. 193. P. 241—248.
35. *Ciucanu I., Kerek F.*//Carbohydr. Res. 1984. V. 131. № 2. P. 209—217.

N. A. Paramonov, A. S. Shashkov, Yu. A. Knirel,  
M. A. Soldatkina\*, I. Ya. Zakharova\*

ANTIGENIC POLYSACCHARIDES OF BACTERIA  
39. STRUCTURE OF O-SPECIFIC POLYSACCHARIDES  
OF *Pseudomonas cepacia* SEROGROUPS C, I, O1, AND O4

N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow;

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

Key words: *Pseudomonas cepacia*; polysaccharides O-specific; NMR  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$ ;  
computer-assisted  $^{13}\text{C}$ -NMR-based analysis.

Like some *Pseudomonas cepacia* serogroups studied earlier, serogroups C, I (Nakamura), O1 and O4 (Heidt) are characterized by the presence of at least two structurally different O-antigenic polysaccharide chains in cell-wall lipopolysaccharides. On the basis of acid hydrolysis, methylation,  $^1\text{H}$ - and  $^{13}\text{C}$ -NMR spectroscopy, including computer-assisted  $^{13}\text{C}$ -NMR-based analysis, the complete structures of the predominant polysaccharides of serogroups I (I), C and O4 (III) and the minor polysaccharides of serogroups I (II) and O1 (V) were established, and the structure of the predominant polysaccharide of serogroup O1 (IV) established earlier (Cox A. D., Wilkinson S. G.//Carbohydr. Res. 1990. V. 195. № 2. P. 295—301) was confirmed.

$\rightarrow 3)\text{-}\alpha\text{-D-Fucp-(1}\rightarrow 4)\text{-}\beta\text{-D-GalpNAc-(1}\rightarrow$	I
$\rightarrow 3)\text{-}\alpha\text{-D-Fucp-(1}\rightarrow 2)\text{-}\alpha\text{-L-Rhap-(1}\rightarrow$	II
<i>P. cepacia</i> I	
$\rightarrow 3)\text{-}\alpha\text{-D-Galp-(1}\rightarrow 3)\text{-}\beta\text{-D-Galp-(1}\rightarrow 3)\text{-}\beta\text{-D-GalpNAc-(1}\rightarrow$	III
<i>P. cepacia</i> C $\equiv$ O4	
$\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-D-Glcp-(1}\rightarrow 3)\text{-}\alpha\text{-L-GlcpNAc-(1}\rightarrow$	IV
$\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-D-Glcp-(1}\rightarrow 3)\text{-}\alpha\text{-L-Rhap-(1}\rightarrow$	V
<i>P. cepacia</i> O1	

Address: Yu. A. Knirel. Institute of Organic Chemistry, Leninsky prospekt, 47, Moscow, Russian Federation.