



УДК 547.458'418'363.07+576.851.49

УЧАСТИЕ АЛКИЛФОСФАТОВ β -D-ГЛЮКОПИРАНОЗЫ И МОРАПРЕНИЛФОСФАТГЛЮКОЗЫ В РЕАКЦИЯХ ГЛЮКОЗИЛИРОВАНИЯ С ФЕРМЕНТНЫМИ СИСТЕМАМИ ИЗ *SALMONELLA SENFTENBERG* И ПРОГОСТКОВ КЛЕВЕРА *TRIFOLIUM PRATENSE*

*Дружинина Т. Н., Данилов Л. Л., Шибяев В. Н.,
Кочетков Н. К.*

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

Шанкрешита А. Н.

Калининский государственный университет

Себякин Ю. Л., Волкова Л. В., Евстигнеева Р. П.

Московский институт тонкой химической технологии им. М. В. Ломоносова

Исследовано взаимодействие ряда фосфодиэфирных производных β -D-глюкопиранозилфосфата – аналогов полипренилмонофосфатсахаров с ферментными системами, катализирующими реакции глюкозилирования. В число изученных соединений входили производные нормальных алифатических спиртов C₁₀–C₁₆, пергидроретинола и морапренола, C₅₀–C₆₀-полипренола из листьев шелковицы. В системе синтеза O-специфического полисахарида *Salmonella senftenberg* эти соединения могут заменить нормальный субстрат в реакции глюкозилирования полипренолфосфаттрисахарида, их эффективность падает при изменении природы радикала в следующем ряду: морапренил > пергидроретинол \approx гексадецил > пентадецил > тридецил > децил. С ферментной системой из проростков клевера продемонстрировано образование липидолигосахаридов, содержащих остатки глюкозы и маннозы, при инкубации ферментного препарата с гуаозиндифосфатманнозой и морапренилмонофосфатглюкозой. В этой реакции производные морапренола могут быть эффективно заменены производными пергидроретинола и гексадецилового спирта, производное пентадецилового спирта несколько менее эффективно, а производные тридецилового и децилового спиртов практически не эффективны.

В настоящее время надежно установлена важная роль липидфосфосахаров как промежуточных соединений в биосинтезе бактериальных полисахаридов и углеводных цепей гликопротеинов (обзоры – см. [1–3]). Эти соединения могут играть роль акцепторов моносахаридных остатков при ферментативном синтезе повторяющихся звеньев бактериальных полисахаридов или уникальных олигосахаридных последовательностей, входящих в состав гликопротеинов с N-гликозидной связью, а в некоторых случаях служить донорами моносахаридных остатков. Прокариоты и эукариоты различаются по структуре липидного фрагмента, входящего в сос-

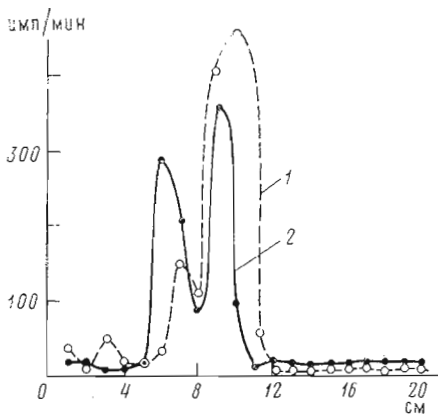


Рис. 1

Рис. 1. Распределение радиоактивности при хроматографии на бумаге олигосахаридов, полученных из продуктов реакции $[^{14}\text{C}]\text{Man-Rha-GalppMrg}$ с соединениями (1) (I) или (VI) (2) в присутствии ферментного препарата из *S. senftenberg*

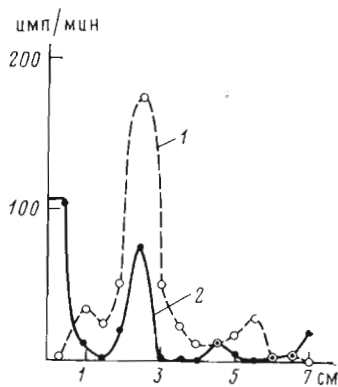


Рис. 2

Рис. 2. Распределение радиоактивности при тонкослойной хроматографии продуктов, присутствующих во фракции липидносахаридов (1) или липидолигосахаридов (2) после инкубации $[^{14}\text{C}]\text{GlcPmrg}$ и GDP-Man с ферментным препаратом из проростков клевера

тав этих промежуточных соединений: в первом случае природным субстратом служат обычно производные C_{35} -полипренола, во втором — производные долихола, α -дигидрополипренола с большей длиной цепи (C_{80} — C_{90} в клетках дрожжей, C_{80} — C_{105} в печени свиньи). В ряде тканей животных продемонстрировано также образование липидфосфосахаров — производных ретинола.

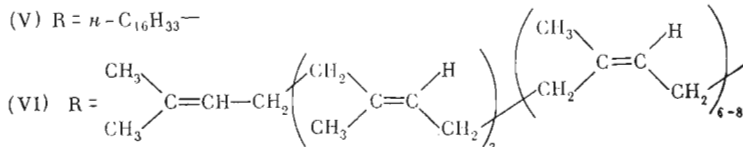
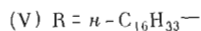
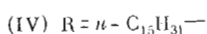
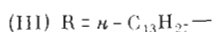
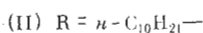
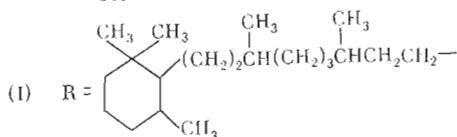
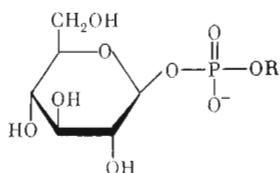
Использование аналогов природных липидных акцепторов позволило установить влияние углеводородной цепи, степени насыщенности, а также соотношения *цис*- и *транс*-изопреновых звеньев на акцепторные свойства полипренолфосфатов. В этих исследованиях обнаружались определенные различия в требованиях к структуре липидного акцептора гликозилтрансфераз из клеток эукариотов и прокариотов. С ферментами из печени крыс хорошими акцепторами глюкозы, галактозы, маннозы, *N*-ацетилглюкозамина служил целый ряд аналогов долихолфосфата с различной длиной углеводородной цепи и степенью ненасыщенности [4, 5]. При этом оказалось, что оптимальной была длина цепи C_{85} , а производные с разной степенью насыщенности по эффективности составили ряд: α -ненасыщенные полипренолы < пергидрополипренолы < α -дигидрополипренолы. В этом же объекте эндогенный ретинолфосфат может быть эффективно заменен пергидромоноенретинолфосфатом в качестве акцептора маннозы [6]. Недавно удалось показать, что в этой же системе, а также в ряде тканей куриного зародыша акцептором маннозы вместо долихолфосфата может служить такое сильно отличающееся по структуре соединение, как фенилфосфат [7]. Для системы растворимых гликозилтрансфераз из дрожжей наличие α -насыщенного звена в остатке полипренола оказалось необходимым для образования липидных производных хитобиозы и мапозы [8].

Гликозилтрансферазы из микроорганизмов *Salmonella typhimurium* и *Shigella flexneri* в противоположность ферментам из эукариотов предпочитают полипренолфосфаты — акцепторы с α -ненасыщенными звеньями [5].

Структурные требования к липиду в реакциях, где углеводное производное полипренолфосфата выступает в роли донора остатка сахара, исследованы менее полно. Показано, что при переносе на белок остатков маннозы и *N*-ацетилглюкозамина в системе из дрожжей специфичность

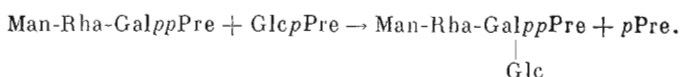
ферментов к структуре липидного фрагмента более узкая, чем при образовании липидных производных этих сахаров [9]. Так, α -ненасыщенные производные вообще не участвовали в реакциях гликозилирования при биосинтезе маннопротеина.

Недавно был разработан удобный метод синтеза фосфодиэффиров, производных β -D-глюкопиранозилфосфата [10], и с его помощью получены аналоги липидмонофосфатглюкозы, содержащие в качестве липидного фрагмента остатки пергидроретинола (I) [11], спиртов с нормальными алкильными радикалами C_{10} , C_{13} , C_{15} и C_{16} (II)–(V) [11], а также мораренола (IV) [12], C_{50} – C_{60} полипренола из листьев шелковицы, отличающегося от бактериального ундекапренола соотношением *цис*- и *транс*-изопреновых звеньев [13]. Это дает возможность получить первые данные о требованиях к структуре остатка липида, предьявляемых ферментами, катализирующими реакции гликозилирования с участием липидмонофосфатглюкозы.



В настоящей работе мы исследовали субстратные свойства этих аналогов в реакции гликозилирования с двумя ферментными системами: из клеток *S. senftenberg* (представитель прокариотов) и из проростков клевера *Trifolium pratense* (пример эукариота).

Ферментный препарат из *S. senftenberg* содержал глюкозилтрансферазу, катализирующую перенос остатка глюкозы с полипренилфосфатглюкозы на полипренилпирофосфаттрисахарид в реакции [14]:



Природными субстратами этой реакции являются производные бактериального полипренола, однако ранее было найдено, что производные мораренола способны эффективно в ней участвовать [14].

Препараты мембран из целого ряда растений при инкубации с GDP-[^{14}C]Man и UDP-[^{14}C]Glc катализируют сложную цепь реакций, приводящих к образованию полипренилмонофосфатгексоз, полипренилпирофосфатолigosахаридов и углеводовсодержащих полимеров, являющихся главным образом гликопротеинами [2]. Как пример системы гликозилирования из эукариотов нами была выбрана подобная система из проростков клевера: было изучено влияние производных (I)–(IV) на образование

полипренилпирофосфатолигосахаридов и полимеров, содержащих остатки маннозы и глюкозы.

Глюкозилирование с ферментной системой из бактерий. В качестве акцептора моносахаридного остатка в этой системе служил [^{14}C]маннозил-рамнозил-галактозил-пирофосфорилморепренол ([^{14}C]Man-Rha-GalppMpp), полученный в ферментативной реакции с синтетической морепренилпирофосфатгалактозой [15], dTDP-Rha и GDP-[^{14}C]Man в условиях, аналогичных использованным при изучении биосинтеза O-специфического полисахарида *S. senftenberg* [14]. При инкубации выделенного морепренилпирофосфаттрисахарида с синтетическими производными (I) — (VI) и препаратом мембран из *S. senftenberg* происходило ферментативное глюкозилирование радиоактивного акцептора с образованием производного тетрасахарида. После отщепления олигосахаридов от морепренилпирофосфатных производных и хроматографии на бумаге в системе А во всех пробах обнаружили два основных пика радиоактивности с R_{Gal} 0,35 и 0,5 (рис. 1). В контрольной пробе, не содержащей эфиров глюкозофосфатов, присутствовал единственный радиоактивный пик, соответствующий по подвижности синтетическому трисахариду [16]. Радиоактивное вещество с R_{Gal} 0,35 соответствует тетрасахариду, что следует из анализа пробы, содержащей вместо синтетического производного глюкозы морепренилфосфат и UDP-Glc. В такой смеси, как было показано ранее [14], с ферментным препаратом из *S. senftenberg* образуется тетрасахаридное производное морепренилпирофосфата. Поскольку концентрации добавленных производных (I) — (VI) были одинаковы и 95% всей радиоактивности сосредоточено в зонах три- и тетрасахаридов, для сравнения глюкозилирующей способности этих соединений использовали отношение радиоактивности в зоне тетрасахарида к сумме радиоактивности в зонах три- и тетрасахаридов (табл. 1). Высота пика радиоактивности в зоне тетрасахарида оказалась максимальной в пробе с производным морепренола (VI) и по соотношению пиков степень глюкозилирования в применявшихся условиях составила 63%. Синтетические аналоги (I) — (V) являлись менее эффективными донорами остатка глюкозы.

В этом ряду наиболее эффективным оказалось производное пергидроретинола (I), соединение, наиболее близкое по структуре к одному из природных липидных переносчиков в биосинтезе гликопротеинов — ретинолфосфату.

Для этого соединения был проверен стимулирующий эффект при концентрации, в 5 раз меньшей стандартной. Степень глюкозилирования в этом случае изменилась незначительно (табл. 1) — очевидно, выбранные концентрации находятся в области насыщения глюкозилтрансферазы донором глюкозильного остатка. Продемонстрированный факт включения в бактериальную ферментную систему производного ретинола представляется довольно неожиданным, так как для прокарриотов до сих пор не было показано участия таких производных в реакциях гликозилирования.

В группе аналогов с простыми алкильными радикалами (II) — (V) ясно проявляется увеличение эффективности по мере роста длины углеводородной цепи: для C_{16} -производного (V) она близка к эффективности производного пергидроретинола, однако даже C_{10} -производное (II) в заметной степени участвует в реакции глюкозилирования.

Глюкозилирование с ферментной системой из проростков клевера. С мембранным препаратом из клевера определяли включение радиоактивного сахара из GDP-[^{14}C]Man во фракции липидмоносахаридов (экстрагируемую смесью хлороформ — метанол, 2 : 1), липидолигосахаридов (экстрагируемую смесью хлороформ — метанол — вода, 10 : 10 : 3) и в полимер, нерастворимый в смеси хлороформ — метанол — вода.

При добавлении синтетических производных наблюдается ярко выраженная стимуляция включения [^{14}C]Man во фракции липидолигосахаридов и полимера (табл. 2).

Таблица 1

Эффективность производных β -D-гликопиранозилфосфата как субстратов при гликозилировании в ферментной системе из *S. senftenberg*

Соединение	Концентрация, мкМ	Доля радиоактивности в зоне тетрасахарида, %	Соединение	Концентрация, мкМ	Доля радиоактивности в зоне тетрасахарида, %
(I)	400	35	(IV)	400	30
	80	29	(V)	400	34
(II)	400	20	(VI)	400	63
(III)	400	28			

Таблица 2

Влияние производных β -D-гликопиранозилфосфата на реакции гликозилирования, катализируемые ферментной системой из проростков клевера *

Соединение	Радиоактивность во фракциях, тыс. имп/мин		
	липидмоносахариды	липидолигосахариды	полимеры
Без добавок **	0,46	15,4	7,9
(I)	0,46	26	16
(II)	0,48	14,1	11,1
(III)	0,39	16,4	11,7
(IV)	0,45	21,2	15,3
(V)	0,45	27,5	21,8
(VI)	0,5	28,5	18,4

* В качестве донора радиоактивного сахара использовали GDP-[14 C]Man.

** Опыт в отсутствие производных β -D-гликопиранозилфосфата отражает перенос радиоактивности на эндогенные липиды.

Наиболее эффективными стимуляторами процесса оказались производные морапренола (VI), пергидроретинила (I) и гексадецилового спирта (V). При уменьшении длины цепи алкильного радикала стимулирующий эффект на включение [14 C]Man во фракцию липидолигосахаридов падает: он еще заметен для C_{15} -производного (IV), но практически отсутствует для производных C_{13} (III) и C_{10} (II). В последних случаях можно, однако, отметить небольшое стимулирование включения радиоактивности в полимерную фракцию.

Вследствие сложности процесса, протекающего под действием мембранного препарата из проростков клевера, и недостаточно определенных данных о структуре продуктов реакции, однозначная интерпретация полученных результатов затруднительна. Прежде всего необходимо было установить, зависит ли наблюдаемое стимулирование включения радиоактивности из нуклеотидсахара в липидолигосахариды от включения в олигосахаридную цепь этих соединений остатка глюкозы, переносимого с добавленных аналогов полипренолмонофосфатглюкозы, или действие этих соединений на мембранную ферментную систему связано просто с их детергентным эффектом.

Для выяснения этого вопроса был проведен эксперимент с использованием нерадиоактивной GDP-Man и морапренилфосфат-[14 C]глюкозы, полученной ферментативным синтезом с помощью ферментов из *S. senftenberg*. После инкубации этих субстратов с препаратом мембран из проростков клевера значительная часть радиоактивности переходит во фракцию липидолигосахаридов. Анализ этой фракции, а также фракции липидмо-

носахаридов с помощью ТСХ (рис. 2) показывает превращение части исходного радиоактивного вещества (R , 0,35) в продукт с малой хроматографической подвижностью, что соответствует свойствам полипренилпирофосфатолигосахаридов. Этот результат позволяет заключить, что реализуется первая возможность, т. е. происходит включение остатков глюкозы, переносимых с соединения (VI), в состав олигосахаридных цепей, растущих на эндогенном акцепторе в присутствии GDP-Man.

Образование такого рода промежуточных соединений при биосинтезе гликопротеинов в тканях животных было убедительно показано [2, 3], однако в препаратах из растений этот процесс ранее не наблюдался.

Таким образом, проведенные эксперименты показали, что мембраносвязанные ферменты, катализирующие глюкозирование с участием липиднофосфатглюкозы, проявляют довольно широкую специфичность к структуре липидного остатка. Ферментные системы как из прокариотов, так и из эукариотов способны с заметной эффективностью использовать в этой реакции производные не только C_{50} — C_{60} -полипренола, морапренола, но и дигидроретинола и даже C_{15} — C_{16} -алифатических спиртов нормального ряда. В этом ряду эффективность падает по мере уменьшения длины углеводородного радикала. С ферментной системой из бактерий эффективность заметно падает при переходе от производного полипренола к фосфодиэффирам, содержащим насыщенные радикалы. Дальнейшее падение эффективности по мере уменьшения длины цепи не очень значительно, и реакцию глюкозилирования удается продемонстрировать даже с производными C_{13} - и C_{10} -спиртов. С ферментативной системой из проростков клевера производные пергидроретинола и гексадецилового спирта не уступают по эффективности производному морапренола, а падение эффективности при уменьшении длины углеводородной цепи выражено более отчетливо.

Экспериментальная часть

В работе использовали щелочную фосфатазу (КФ 3.1.3.4) из кишечника цыплят (Calbiochem, США), радиоактивные нуклеотидсахара: GDP- ^{14}C Man, 146 Ки/моль, UDP- ^{14}C Glc, 260 Ки/моль (Amersham, Англия), и немеченые нуклеотидсахара: UDP-Gal (Calbiochem, США), UDP-Glc (Merck, ФРГ), GDP-Man (Sigma, США), dTDP-Rha, синтезированную по методу [16]. Нуклеотид- ^{14}C сахара разбавляли немечеными препаратами до удельных радиоактивностей: 10 и 1 Ки/моль для GDP- ^{14}C Man, 20 и 10 Ки/моль для UDP- ^{14}C Glc. Синтез алкилфосфатов β -D-глюкопиранозы (соединения I—V) описан ранее [11].

Морапренилфосфат, морапренилфосфатглюкозу и морапренилпирофосфатгалактозу синтезировали по описанным методикам [12, 13, 15]. Морапренилфосфат- ^{14}C глюкозу получали при инкубации препарата растворимых гликозилтрансфераз из клеток *S. senftenberg* с морапренилфосфатом (50 нмоль) и UDP- ^{14}C Glc (25 нмоль) [14]. Акцептор для реакции ферментативного глюкозилирования — ^{14}C Man-Rha-GalppMrg получали при инкубации морапренилпирофосфатгалактозы (2 нмоль), dTDP-Rha (25 нмоль), GDP- ^{14}C Man (25 нмоль, 10 Ки/моль) с препаратом растворимых гликозилтрансфераз из *S. senftenberg* [14]. Растворы липидных производных в смеси хлороформ — метанол (2:1) упаривали в токе азота непосредственно перед проведением опыта.

Разделение свободных ^{14}C олигосахаридов проводили хроматографией на бумаге FN-15 (Filtrak, ГДР) в системе бутанол — пиридин — вода, 6:4:3 (А), в течение 96 ч. Стандарты — галактозу и трисахарид малнозилрамнозил-галактозу [16] — обнаруживали кислым фталатом анилина [18].

^{14}C -Меченые гликолипиды разделяли ТСХ на пластинках с закрепленным слоем силикагеля G60 (Merck, ФРГ) в системе хлороформ — метанол — вода, 60:25:4 (Б).

Для определения радиоактивности хроматограммы разрезали на полоски 2×1 см (для пластинок после ТСХ — 0,5×0,5 см) и считали в 5 мл толуольного сцинтиллятора [13].

Ферментный препарат из *S. senftenberg*, содержащий систему глюкозилрования, получали как описано ранее [14]. Препарат мембран из проростков клевера получали по методике, описанной для проростков маша *Phaseolus aureus* [19].

Инкубационная смесь для исследования способности синтетических производных служить донором остатков глюкозы в бактериальной системе содержала: 0,25 нмоль [¹⁴C] Man-Rha-GalppMpr (4000 нмп/мин); 8 или 40 нмоль аналогов (I—VI); 30 мкл 0,2% твина-85; 5 мкл 1 М трис-ацетата (рН 8,5); 10 мкл 0,1 MgCl₂ и 40 мкл препарата растворимых гликозилтрансфераз (50 мкг белка). Контрольная проба не содержала производного глюкозы. После инкубации в течение 70 мин при 25° С реакцию останавливали добавлением 2 мл смеси хлороформ — метанол (2:1) и далее выделяли олигосахаридные компоненты мягким фенольным гидролизом (45% фенол, 5 мин, 70° С) и последующей обработкой щелочной фосфатазой (100 мкг, 0,01 М трис-HCl, рН 8,5), как описано ранее [3]. Для определения подвижности глюкозилрованного трисахарида анализировали аналогичную пробу, содержащую вместо синтетических аналогов UDP-Glc (25 нмоль) и морапренилфосфат (50 нмоль).

С препаратом мембран из проростков клевера в инкубационную смесь вносили: липидное производное (I) — (VI) (60 нмоль), 0,2% твин-85 (5 мкл), трис-HCl, рН 7,4 (5 мкл), 0,1 М MgCl₂ (20 мкл); 9 мМ GDP-[¹⁴C]Man (1 Ки/моль, 10 мкл) и препарат мембран (40 мкл). Инкубацию проводили при 37° С в течение 30 мин. Реакцию останавливали добавлением 2 мл смеси хлороформ — метанол (2:1), отделяли осадок центрифугированием при 3000 об/мин (5 мин) и далее выделяли липид-олигосахаридную фракцию (экстракция смесью хлороформ — метанол — вода, 10:10:3) и нерастворимую в этой смеси полимерную фракцию, как описано ранее [20]. Инкубационная смесь с радиоактивным гликолипидом содержала 0,35 нмоль (4500 нмп/мин) морапренилфосфат-[¹⁴C]глюкозы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шубас В. П. Полипренолфосфосахара в биосинтезе углеводсодержащих биополимеров. — Успехи биол. хим., 1976, т. 47, с. 187—215.
2. Elbein A. D. The role of lipid-linked saccharides in the biosynthesis of complex carbohydrates. — Ann. Rev. Plant. Physiol., 1979, v. 30, p. 239—272.
3. Schachter H. The Glycoconjugates. (Horowitz M. I., Pigman W., eds). London. — N. Y.: Acad. Press, 1978, v. 11, p. 114—121.
4. Bergman A., Mańkowski T., Chojnacki T., De Luca L. M., Peterson E., Dallner G. Glycosyl transfer from nucleotide sugars to C₈₅- and C₅₅-polyprenyl and retinyl phosphates by microsomal subfractions and Golgi membranes of rat liver. — Biochem. J., 1978, v. 172, p. 123—127.
5. Mańkowski T., Sasak W., Janczura E., Chojnacki T. Specificity of polyprenyl phosphates in vitro formation of lipid-linked sugars. — Arch. Biochem. and Biophys., 1977, v. 181, № 2, p. 393—401.
6. De Luca L. M., Frot-Coutaz J. P., Silverman-Jones C. S., Roller P. R. Chemical synthesis of phosphorylated retinoids. Their mannosyl acceptor activity in rat liver membranes. — J. Biol. Chem., 1977, v. 252, № 8, p. 2575—2579.
7. Kato Sh., Tsuji M., Nakanishi Y., Suzuki S. Phenyl phosphate as a water-soluble analog of dolichyl phosphate in microsomal mannosyltransferase systems. — J. Biochem., 1978, v. 87, № 3, p. 929—939.
8. Palamarczyk G., Lehle L., Mańkowski T., Chojnacki T., Tanner W. Specificity of solubilized yeast glycosyl transferases for polyprenyl derivatives. — Eur. J. Biochem., 1980, v. 105, № 3, p. 517—523.
9. Pless D. D., Palamarczyk G. Comparison of polyprenyl derivative in yeast glycosyl transfer reactions. — Biochim. et biophys. acta, 1978, v. 529, № 1, p. 21—23.
10. Данилов Л. Л., Волокова Л. В., Евстигнеева Р. П. Исследования в области углеводсодержащих фосфолипидов. Синтез β-D-глюкопиранозил-1-цитронеллилфосфата. — Ж. общ. химии, 1977, т. 47, с. 2137—2139.
11. Себякин Ю. Л., Волкова Л. В., Маркин В. С., Евстигнеева Р. П. Алкилфосфаты β-D-глюкопиранозы — новый вид детергентов анионного типа. — Биоорг. химия, 1979, т. 5, № 12, с. 1816—1818.

12. Данилов Л. Л., Дружинина Т. Н., Шибает В. Н., Кочетков Н. К. Химический синтез промежуточных соединений биосинтеза O-антигена *Salmonella senftenberg*.— Биоорган. химия, 1980, т. 6, № 3, с. 468—469.
13. Вергунова Г. И., Глухоед И. С., Данилов Л. Л., Елисеева Г. И., Кочетков Н. К., Троицкий М. Ф., Усов А. И., Шапков А. С., Шибает В. Н. Структура морапrenoла и синтез морапренолфосфата.— Биоорган. химия, 1977, т. 3, № 11, с. 1484—1492.
14. Шибает В. Н., Дружинина Т. Н., Попова А. Н., Кочетков Н. К., Рожнова С. Ш., Килессо В. А. Биосинтез O-специфического полисахарида *Salmonella senftenberg*.— Биоорган. химия, 1979, т. 5, № 7, с. 1071—1082.
15. Шибает В. Н., Данилов Л. Л., Чекуничков В. Н., Кусов Ю. Ю., Кочетков Н. К. Новый синтез полипептирофосфатсахаров.— Биоорган. химия, 1979, т. 5, № 2, с. 308—309.
16. Kochetkov N. K., Dmitriev V. A., Malysheva N. N., Chernyakh A. Ya., Klimov E. M., Bayramova N. E., Torgov V. I. Synthesis of O- β -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-O- α -L-rhamnosyl-(1 \rightarrow 3)-D-galactopyranose, the trisaccharide repeating-unit of the O-specific polysaccharide from *Salmonella anatum*.— Carbohydr. Res., 1975, v. 45, p. 283—290.
17. Шибает В. Н., Елисеева Г. И., Кусов Ю. Ю., Петренко В. Н., Мищенко С. С., Кочетков Н. К. Синтез β -L-рамиозилирофосфатных эфиров тимидина, уридина и 2'-дезоксиридина.— Изв. АН СССР. Сер. хим., 1976, с. 2584—2587.
18. Хайс И. М., Мацек К. Хроматография на бумаге. М.: Изд. иностр. лит., 1962, с. 268—269.
19. Heller J. S., Villemez C. L. Solubilization of a mannose-polymerizing enzyme from *Phaeococcus aureus*.— Biochem. J., 1972, v. 128, № 2, p. 243—252.
20. Forsee W. T., Elbein A. D. Biosynthesis of lipid-linked oligosaccharides in cotton fibers. Stimulation by acceptor lipids from pig liver.— J. Biol. Chem., 1975, v. 250, № 24, p. 9283—9293.

Поступила в редакцию
23.X.1980

INTERACTION OF β -D-GLUCOPYRANOSYL ALKYL PHOSPHATES AND MORAPRENYLPHOSPHATEGLUCOSE WITH GLUCOSYLATION ENZYME SYSTEMS FROM *SALMONELLA SENFTENBERG* AND SEEDLINGS OF RED CLOVER *TRIFOLIUM PRATENSE*

DRUZHININA T. N., DANILOV L. L., SHIBAEV V. N., KOCHETKOV N. K.,
PANKRUSHINA A. N., SEBYAKIN Yu. L., VOLKOVA L. V., EVSTIGNEEVA R. P.

*N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Academy of Sciences
of the USSR, Moscow; Kalinin State University, Kalinin;
M. V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technology, Moscow*

Phosphodiester derivatives of β -D-glucopyranosyl phosphate were tested as analogs of polyprenyl monophosphate glucose, a substrate for glucosylation enzymes participating in biosynthesis of bacterial polysaccharides and carbohydrate chains of plant biopolymers. The compounds studied include derivatives of normal alkanols C₁₀—C₁₆, perhydroretinol and moraprenol (C₅₀—C₆₀ polyprenol from mulberry leaves). The derivatives may serve as substrate analogs for glucosyl transferase of *Salmonella senftenberg* which catalyzes glucosylation of polyprenyl pyrophosphate trisaccharide in biosynthesis of O-antigenic polysaccharide, their efficiency decreasing in the sequence: moraprenyl > perhydroretinyl \approx hexadecyl > pentadecyl > tridecyl > decyl derivatives. Formation of lipid — oligosaccharides which contained mannose and glucose residues was demonstrated after incubation of red clover membrane preparations with guanosine diphosphate mannose and moraprenyl monophosphate glucose. In this reaction the moraprenyl derivative may be efficiently substituted by the perhydroretinyl and hexadecyl derivatives. The pentadecyl derivative was less efficient substrate, while the tridecyl and decyl derivatives did not react.