

УДК 547.455:547.466.1:547.963

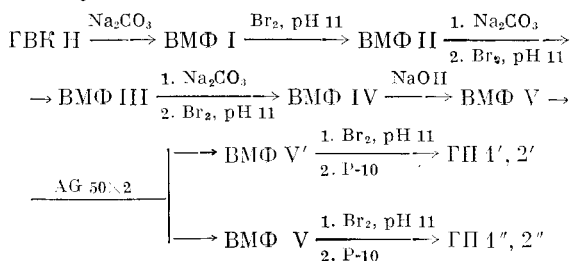
БИОХИМИЯ

Л. М. ЛИХОШЕРСТОВ, М. Д. МАРТЫНОВА, Е. А. КОШЕЛЕВА,
В. А. ДЕРЕВИЦКАЯ, член-корреспондент АН СССР Н. К. КОЧЕТКОВ

ГЛИКОПЕПТИДЫ ИЗ ГРУППОВОГО ВЕЩЕСТВА КРОВИ С N-ГЛИКОЗИЛАМИДНОЙ СВЯЗЬЮ

Ранее нами (¹) из продуктов деградации группового вещества крови (ГВК) был выделен узел гликозиламидной углевод-пептидной связи 2-ацетамидо-4-(β-аспартамидо)-1,2-дидезокси-β-D-глюкоза, что указывало на возможное присутствие в ГВК наряду с основным O-гликозидным типом также связей через остатки аспарагиновой кислоты.

Данная работа посвящена выделению из ГВК (из слизистой желудка свиньи) серологически активных гликопептидов (ГП) с N-гликозиламидной углевод-пептидной связью. С этой целью ГВК подвергали многократной щелочной деградации с последующим расщеплением пептидной цепи по енаминным группировкам, которые образуются в результате β-элиминирования углеводных цепей с остатков серина и треонина. Обработка проводилась по следующей схеме:



ГВК Н (30 г) обрабатывали 0,05 M раствором Na₂CO₃ (4 часа, 70°) и высокомолекулярную фракцию ВМФ I отделяли от низкомолекулярных продуктов распада (²) на биогеде Р-4 в 0,1 N уксусной кислоте. ВМФ I расщепляли по енаминным группировкам бромом с последующим подщелачиванием раствора до pH 11 (^{3, 4}). Выделенную из продуктов распада высокомолекулярную фракцию ВМФ II, выходящую с фронтом растворителя при гель-фильтрации на биогеде Р-6, снова обрабатывали раствором Na₂CO₃, а затем бромом и получили ВМФ III, из которой повторной аналогичной обработкой выделили 3 г ВМФ IV. Для более полного расщепления оставшихся O-гликозидных углевод-пептидных связей ВМФ IV обрабатывали в более жестких условиях 0,1 N NaOH (75 мин., 100°). Высокомолекулярную фракцию ВМФ V отделяли от продуктов распада на биогеде Р-4, а затем на биогеде Р-6. ВМФ V разделяли далее на колонке с катионитом АГ 50×2 (Н⁺) на две фракции, одна из которых (ВМФ V') вымывалась водой, а вторая (ВМФ V'') — 0,2 M пиридин-ацетатным буфером pH 5,1. Обе фракции после расщепления по енаминным группировкам подвергались гель-фильтрации на биогеде Р-10 и из полученных фракций ГП, близких по составу, для дальнейшего изучения была взята фракция ГП 1'' (15 мг), выходящая близко к фронту растворителя на Р-10 (рис. 1). Эта фракция имела следующий состав (в расчете на 1 моль аспарагиновой кислоты): Асп 1,0, Тре 0,25, Сер 0,33, Глук 0,69, Про 0,47, Гли 1,0, Ала 0,61 *, ГлН 22,8,

* Содержание прочих аминокислот менее 0,2 M.

ГалN 0,58, Фук 13,2, Гал 25,2, Ман 3,4, т. е. молярное соотношение основных компонентов Асп: Ман: ГлN: ГалN: Фук: Гал составляет 1:3:23:0,6:13:25. Эта фракция отличалась наименьшим содержанием N-ацетилгалактозамина, серина и треонина и наибольшим содержанием маннозы — моносахарида, характерного для ГП с N-гликозиламидным типом связи⁽³⁾. Следует отметить, что в групповых веществах крови манноза ранее не была обнаружена, что можно объяснить, вероятно, тем, что гликозиламидные связи являются минорами в ГВК и содержание маннозы соответственно очень мало. Периодатное окисление ГП 1'' приводило к полному окислению фукозы и частичному окислению галактозы и глюкозамина; существенно, что галактозамин при этом окисляется на 60% и, следовательно, его незначительное содержание (0,6 моля) в ГП 1'' обусловлено, по-видимому, небольшой примесью ГВК А, в котором присутствует концевой N-ацетилгалактозамин.

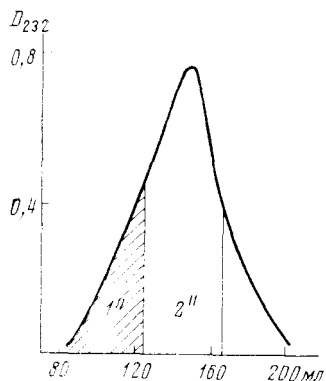


Рис. 1. Гель-фильтрация на биогеле Р-10 (колонка 2×91 см) фракции ВМФ V'' (оптическая плотность при 232 нм)

Расчет молекулярного веса ГП 1'' по приведенному составу (~11 000) соответствует оценке молекулярного веса этой фракции (~12 000) по данным гель-фильтрации (калибровка колонки с биогелем Р-10 по декстранам Т-10 и Т-20).

Все полученные гликопептидные фракции обладали серологической активностью Н, причем фракция ГП 1'' превышала по своей активности исходное ГВК Н (минимальное количество ГП 1'', вызывающее полное торможение гемагглютинации, составляет 0,78 мкг, для ГВК Н — 1,55 мкг). Это свидетельствует о том, что выделенные ГП являются частью структуры ГВК.

Таким образом, впервые из ГВК выделены фракции серологически активных высокомолекулярных гликопептидов, углеводные цепи которых связаны с пептидным скелетом N-гликозиламидными связями.

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

Поступило
28 VIII 1975

ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. А. Деревицкая, Л. М. Лихошерстова и др., Изв. АН СССР, сер. химич., 1974, 461.
- ² N. K. Kochetkov, V. A. Derevitskaya et al., Carbohydrate Res., v. 12, 437 (1970).
- ³ A. Patchornik, M. Sokolovsky, J. Am. Chem. Soc., v. 86, 4206 (1964).
- ⁴ В. А. Деревицкая, С. Г. Кара-Мурза, Н. К. Кочетков, Хим. природн. соед., т. 4, 271 (1966).
- ⁵ Y. C. Lee, J. R. Scocca, J. Biol. Chem., v. 247, 18, 5753 (1972).