



УДК 579.841.91.088 : 579.222/114.013

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ГЕТЕРОГЕННОСТЬ  
ЛИПОПОЛИСАХАРИДА *ALCALIGENES FAECALIS*

Здоровенко Г. М., Воцелко С. К., Скрипник С. И.

Институт микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного  
Академии наук УССР, Киев

У *Alcaligenes faecalis*, представителя вида условно-патогенных бактерий с неопределенным таксономическим положением, обнаружены два типа молекул ЛПС, обладающих О-специфической активностью, со следующими седиментационными характеристиками:  $s_{20, w} 1,25 \cdot 10^{-13}$  с,  $D_{20, w} 9,7 \cdot 10^{-7}$  см<sup>2</sup>/с,  $M$  8000 и  $s_{20, w} 2,5 \cdot 10^{-13}$  с,  $D_{20, w} 5 \cdot 10^{-7}$  см<sup>2</sup>/с,  $M$  23 000–30 000. «Легкая» и «тяжелая» формы не отличаются друг от друга по моносахаридному составу и структурной организации О-цепи, а также по жирнокислотному составу липида А.

Липополисахариды (ЛПС) — важный структурный компонент наружной мембраны грамотрицательных бактерий, в значительной мере определяющий многие физико-химические и биологические характеристики клеточной оболочки и микробной клетки в целом [1, 2].

Многочисленными исследованиями, выполненными на различных бактериях, установлено, что молекула ЛПС — сложный биополимер, включающий в себя три ковалентно связанных между собой функционально различных компонента: О-цепь, состоящую из олигосахаридных звеньев, содержащих различное число моносахаридных остатков; центральную, или кóровую, область — нерегулярную последовательность ряда моносахаридных остатков; сложный липидный компонент — липид А.

В настоящее время у представителей многих видов грамотрицательных бактерий хорошо изучен моносахаридный состав и структурная организация О-цепи (обычно после расщепления молекулы ЛПС уксусной кислотой) и менее изучены кóровая и липидная части, которым принадлежит особо важная роль в определении физико-химических свойств макромолекулы [3].

Недостаточной изученностью кóрово-липидной части объясняется отставание в изучении степени гомогенности молекул с О-специфической активностью в микробной клетке, их физико-химических свойств и макромолекулярной организации.

В связи с этим проводилось изучение ряда физико-химических свойств, химического состава и общих черт структурной организации О-цепи двух форм молекул ЛПС с О-специфической активностью у не исследованного ранее в подобном аспекте грамотрицательного микроорганизма *Alcaligenes faecalis*, различающихся поведением при ультрацентрифугировании.

При очистке ультрацентрифугированием (105 000 *g*) водной фазы, получаемой при экстракции ЛПС водным фенолом по Вестфалу, до 70% вещества с О-специфической активностью выявлялось в супернатанте.

Факт распределения при ультрацентрифугировании части вещества с О-специфической активностью в супернатант известен в литературе [4–7] и наблюдался нами у целого ряда грамотрицательных бактерий (различные штаммы видов *Pseudomonas syringae*, *P. fluorescens* и др.\*). Однако до настоящего времени нет единого мнения о химической природе и причинах неосаждения этого вещества. Одни авторы считают, что ЛПС супер-

\* Данные не опубликованы.

патапта идентичен таковому, содержащемуся в осадке, но отсутствие седиментации обусловлено избытком примеси нуклеиновых кислот [4]; авторы работы [5] полагают, что неосаждаемое вещество *Rhodospseudomonas gelatinosa* является низкомолекулярным штаммоспецифичным гаптенном полисахаридной природы из-за низкого (до 1,0%) содержания в нем жирных кислот [5]; для *Proteus mirabilis* [6] и *Leptotrichia buccalis* [7] предположено, что это ЛПС, характеризующийся относительно низким содержанием липида А.

Чтобы определить химическую природу О-специфического вещества, распределяющегося в супернатант, у исследуемого нами микроорганизма ЛПС супернатанта (ЛПС-с) изучали параллельно с ЛПС осадка (ЛПС-о). Выяснилось, что ЛПС-с не приобрел способности к осаждению при ультрацентрифугировании и после удаления избытка примеси нуклеиновых кислот, что противоречит выводам работы [4].

В составе ЛПС-о аналитическим ультрацентрифугированием обнаруживалось два компонента с различными коэффициентами седиментации (табл. 1). Определяемая величина коэффициента седиментации зависит от концентрации вещества. Это согласуется с данными литературы [8, 9] и объясняется тем, что при повышении концентрации увеличивается вязкость растворителя вблизи макромолекул, снижающая скорость их движения под действием центробежной силы [10].

Выявленная гетерогенность может быть истинной, т. е. отражающей наличие в растворе разных индивидуальных молекул, либо определяться тенденцией ЛПС к образованию полидисперсных агрегатов в водных растворах. Силами, вовлекающими молекулы ЛПС в самоассоциацию, при этом могут быть гидрофобные взаимодействия, водородные связи, а также ионные взаимодействия, выражающиеся в том, что дивалентные катионы и полиамины, обычно нейтрализующие кислые группы в составе молекулы ЛПС, образуют межмолекулярные ионные связи [2, 11, 12]. Мы показали, что в случае солиubilизации в 0,4% SDS гетерогенность при аналитическом ультрацентрифугировании не выявляется и, таким образом, в водных растворах она определяется способностью ЛПС к ассоциации. В составе гомогенного в 0,4% SDS препарата выявляется только более «легкий» компонент с коэффициентом седиментации 2,0–1,6S в зависимости от концентрации вещества (0,25–0,5%). Однако при повышении концентрации ЛПС (0,75–1,0%) в 0,4% SDS, очевидно, из-за недостатка детергента снова наблюдается неоднородность вещества (рис. 1).

В отличие от ЛПС-о водный раствор ЛПС-с был гомогенным, по данным аналитического ультрацентрифугирования, и характеризовался очень низким коэффициентом седиментации (1,2–1,3S). В табл. 2 представлены результаты расчета сравнительных седиментационных характеристик исследуемых препаратов.

Согласно полученным данным, «легкий» компонент гетерогенного в водном растворе ЛПС-о не идентичен ЛПС-с по гидродинамическим параметрам. Определяемая молекулярная масса гомогенного в растворе 0,4% SDS ЛПС-о составляла (с учетом возможного завышения ее за счет связанного детергента [11]) 23 000–30 000 и, таким образом, находилась в пределах величины, определяемой для макромолекулы ЛПС, согласно данным [2]. Молекулярная масса ЛПС-с (8000) хорошо совпадает с таковой, определяемой для субъединицы ЛПС по литературным данным [2]. Обнаруженная кратность числового значения молекулярной массы ЛПС-с относительно таковой ЛПС-о давала основания предположить, что ЛПС-с в определенных условиях может быть конструктивным ингредиентом более сложной структуры, выявляемой в ЛПС-о.

Таким образом, у исследуемого микроорганизма обнаружены два типа молекул с О-специфической активностью, различающихся по определяемой седиментационным анализом молекулярной массе и другим гидродинамическим параметрам.

С целью изучения природы ЛПС-с проводился сравнительный анализ моносахаридного состава препаратов ЛПС-с и ЛПС-о. Ранее [13] методами БХ, ГЖХ, масс-спектрометрии, а также специфическими реакциями на

## Седиментационные свойства ЛПС-о (водный раствор)

Концентрация ЛПС-о, %	$s_{20,w} \cdot 10^{-13}$ , с
0,25	2,0; 13,0
0,50	1,8; 12,0
0,75	1,75; 10,0
1,0	1,5; 8,0

\* Приведены коэффициенты седиментации двух обнаруживаемых компонентов.

Таблица 2

## Сравнительные физико-химические характеристики исследуемых препаратов

Препарат (растворитель)	$s_{20,w}^{\circ} \cdot 10^{-13}$ , с	$D_{20,w}^{\circ} \cdot 10^7$ , см <sup>2</sup> /с <sup>-1</sup>	$M_r$
ЛПС-с (вода)	1,2	9,7	$8 \cdot 10^3$
ЛПС-о (вода)	2,22		
ЛПС-о (0,4% SDS)	14,23 2,5	5,0	$(23-30) \cdot 10^3$

Таблица 3

## Моносахаридный состав препаратов

Препарат	Моносахариды (% к сумме площадей пиков при ГЖХ)						
	Rha	Xyl	Glc	Gal	Man	2MeRha	GlcN **
ЛПС-с	54,5	35,7	5,45	1,7	Сл. *	2,5	1,2
ЛПС-о [13]	55,0	35,6	3,3	3,3	1,0	1,7	3,4

\* Сл. — следы.

\*\* % к сухому весу препарата.

отдельные сахара в составе ЛПС-о были идентифицированы рамноза, ксиллоза, глюкоза, галактоза, манноза, глюкозамин, 2-О-метил-*D*-рамноза и не обнаружено 2-кето-3-дезоксиктоновой кислоты (KDO) и гептоз. Мы показали, что ЛПС-с не отличается от ЛПС-о по качественному составу сахаров и лишь незначительно отличается по их количественным соотношениям (табл. 3).

Нами был также проведен сравнительный анализ <sup>13</sup>C-ЯМР-спектров образцов полисахаридов (ПС), полученных после деградации ЛПС 1% уксусной кислотой. В спектре ПС осадка (ПС-о) присутствовали (рис. 2) сигналы в области 101–105 м. д. пяти аномерных атомов углерода, метильных групп трех остатков 6-дезоксисахара (рамнозы) при 17,9 (двойной интегральной интенсивности) и 18,1 м. д. и СН<sub>2</sub>-групп двух остатков пентопиранозы (ксиллозы) при 66,2 и 66,4 м. д. Эти данные указывают на наличие пентасахаридного повторяющегося звена, включающего три остатка рамнозы и два остатка ксиллозы. <sup>13</sup>C-ЯМР-спектр ПС супернатанта (ПС-с) содержит все сигналы ПС-о, и, таким образом, оба исследуемые препарата имеют идентичную структуру повторяющегося олигосахаридного звена полисахаридной цепи. Однако в спектре ПС-с присутствовали также дополнительные сигналы в области 62–63 м. д. (СН<sub>2</sub>ОН-группы остатков гексопираноз), а также менее интенсивные сигналы вблизи 20, 23,

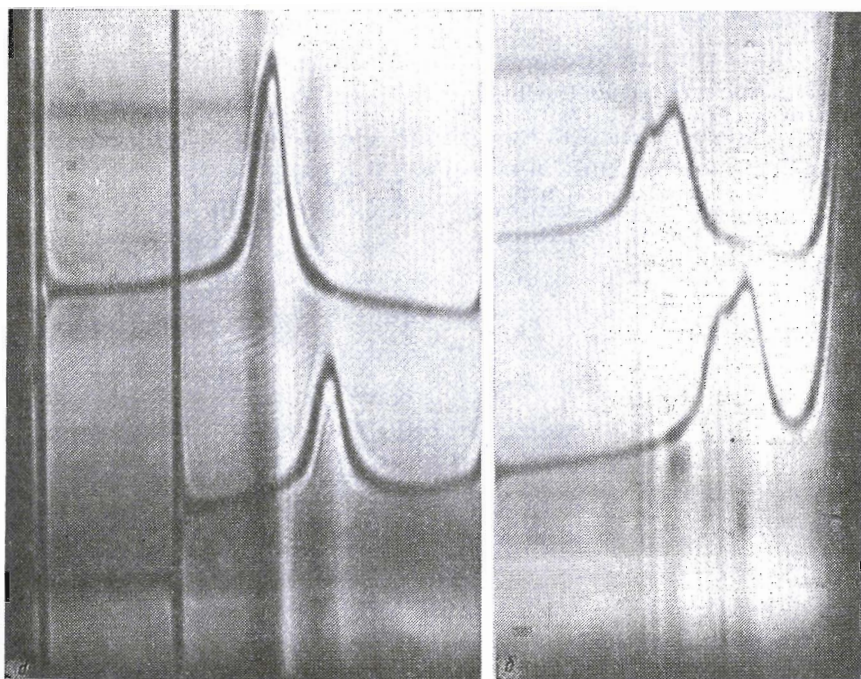


Рис. 1. Седиментограммы ЛПС-о (раствор в 0,4% SDS) при концентрации: а — 0,25 (низ) — 0,5% (верх); б — 0,75 (верх) — 0,1% (низ)

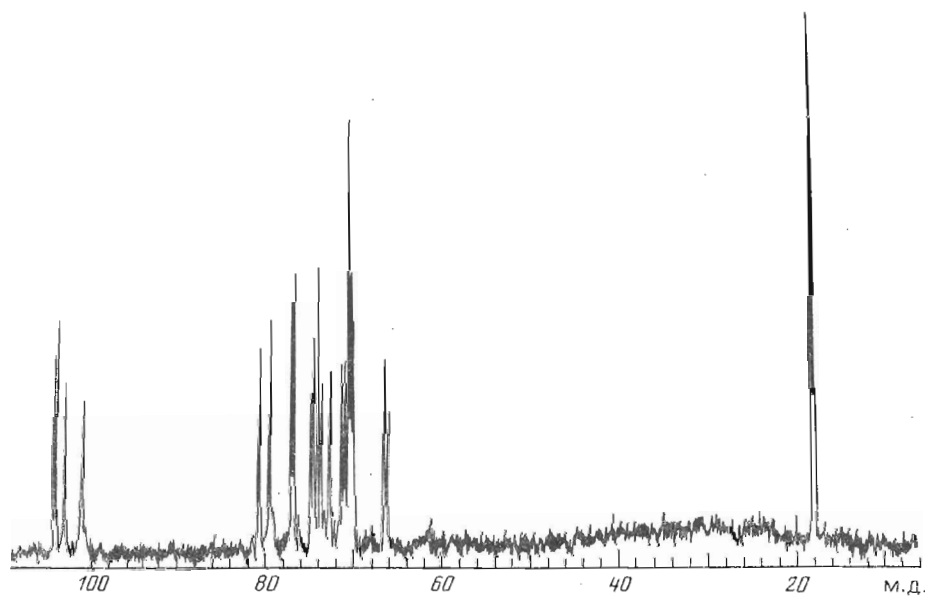


Рис. 2.  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектр ЛПС-о

68, 99 м. д. и в «неаналитической» области 70–80 м. д., что, возможно, объясняется наличием небольшого количества примесей.

При идентичном моносахаридном составе и структуре повторяющегося звена полисахаридной цепи препараты ЛПС-с и ЛПС-о различались по О-специфической активности (рис. 3). Более низкая серологическая активность ЛПС-о по сравнению с ЛПС-с может быть результатом сближения О-цепей мономеров в ЛПС-о при их ассоциации, которое, согласно литературным данным [1], может препятствовать доступу специфических антител к части детерминантных участков на молекуле ЛПС. Этот факт наряду с другими данными может свидетельствовать в пользу более сложной макромолекулярной организации ЛПС-о по сравнению с ЛПС-с.

Рис. 3. Количественная преципитация ЛПС-с (1) и ЛПС-о (2) гомологичной О-сывороткой (0,25 мл)

Рис. 4. ГЖХ-хроматограммы метиловых эфиров жирных кислот в составе ЛПС-о (а) и ЛПС-с (б). Объяснение пиков 1–5 см. в тексте

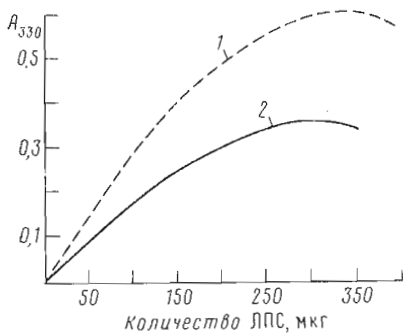


Рис. 3

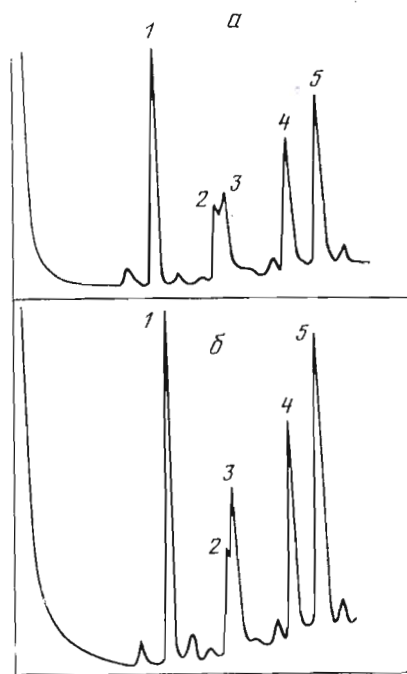


Рис. 4

Дальнейшим этапом исследований, направленных на определение природы вещества супернатанта, было решение вопроса о наличии в молекуле липидного компонента. Анализ методом ГЖХ доказал наличие липидного компонента в составе обоих исследуемых препаратов. Препараты были идентичны по качественному составу жирных кислот (рис. 4). В них обнаруживались не менее пяти метиловых эфиров жирных кислот (пики 1–5). Пик 1 сравнением с заводским образцом идентифицирован как  $C_{11:1}$ -жирная кислота. При трифторацетилировании метиловых эфиров жирных кислот наблюдались сдвиги пиков 2–5. Следовательно, эти пики

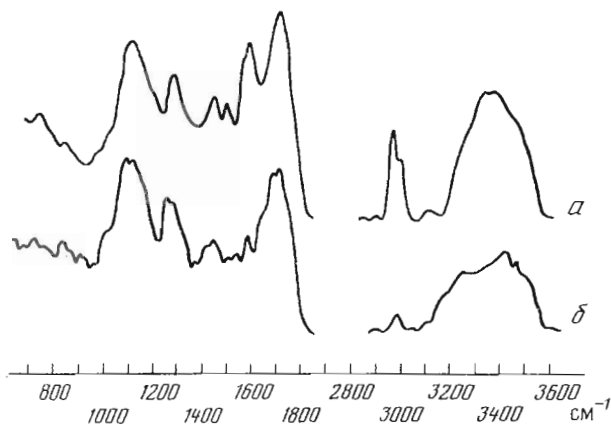


Рис. 5. ИК-спектры ЛПС-о (а) и ЛПС-с (б)

принадлежат гидроксикислотам. В составе препаратов отсутствует 3-гидрокси- $C_{14:0}$ -кислота, а пик 4, вероятно, отвечает 3-гидрокси- $C_{12:0}$ -кислоте.

Так как гидроксикислоты являются характерными компонентами липида А, ЛПС исследуемого штамма подобен ЛПС других грамотрицательных бактерий, а О-специфическое вещество ЛПС-с имеет липополисахаридную природу, не отличается от ЛПС-о по качественному жирнокислотному

составу и лишь незначительно отличается по количественному соотношению жирных кислот (рис. 4). При сравнительном количественном определении с использованием внутреннего стандарта (данные не приводятся) мы также не обнаружили существенных различий по суммарному содержанию жирных кислот в ЛПС супернатанта и осадка.

Вывод о липополисахаридной природе вещества супернатанта подтверждался и данными ИК-спектроскопии. Супернатант и осадок содержали все зоны поглощения, обнаруживаемые и в контрольном образце ЛПС кишечной палочки, различаясь между собой лишь по интенсивности некоторых зон поглощения (рис. 5). Наиболее существенными являются различия в интенсивности зоны поглощения при  $2900-3100\text{ см}^{-1}$  и вблизи  $1600\text{ см}^{-1}$ .

Проводилось также сравнительное исследование ЛПС-с и ЛПС-о методом электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ) в присутствии детергента (SDS).

Препараты ЛПС при электрофорезе в ПААГ в присутствии SDS обычно проявляют гетерогенность, которая определяется значительной варибельностью О-цепей [14]. В их составе обнаруживаются молекулы, не содержащие О-цепей и обладающие наибольшей подвижностью (R-ЛПС), а также содержащие одно (SR-ЛПС) и более (до 40) повторяющихся олигосахаридных звеньев в О-цепи (S-ЛПС) с относительно низкой подвижностью.

Распределение компонентов ЛПС-о и ЛПС-с при электрофорезе в ПААГ с SDS было идентичным. В составе препаратов обнаруживались две основные углеводные зоны, I и II (рис. 6), которые, согласно изложенным представлениям, можно интерпретировать как S-ЛПС и R-ЛПС соответственно.

Так как после отщепления липида А, согласно данным [15] и наблюдениям авторов (данные не приводятся), ПС не должен мигрировать в геле при электрофорезе в ПААГ, подвижность электрофоретических зон свидетельствует о том, что вещество супернатанта не является ПС (гаптен), как это было предложено авторами работы [5]. Кроме того, отсутствие углеводной зоны, не мигрирующей в гель, свидетельствует об отсутствии в препарате примеси специфического ПС, а также возможной, исходя из метода получения [4], примеси полимеров типа глюкана либо галактана. Обнаружение в составе препарата ЛПС-с формы R-ЛПС (рис. 6, зона II) — наиболее богатой липидом А макромолекулы ЛПС, отрицает предполагаемую [6, 7] возможность неосаждения ЛПС-с из-за относительно низкого содержания липида в макромолекуле. С другой стороны, если в супернатант распределяется не только S-ЛПС, но и R-ЛПС, не содержащий О-цепей, значит, неспособность к седиментации должна определяться особенностями кóрово-липидной части макромолекулы ЛПС, что согласуется и с выявленными нами различиями ИК-спектров препаратов.

Таким образом, данные электрофореза, ИК-спектроскопии, результаты сравнительных исследований моносахаридного и жирнокислотного состава, а также структуры О-цепи говорят о липополисахаридной природе О-специфического вещества, распределяющегося как в осадок, так и в супернатант при ультрацентрифугировании. Идентичная подвижность основных углеводных зон в составе сравниваемых препаратов при электрофорезе в ПААГ в сочетании с идентичностью их химической природы могут, по данным [16], свидетельствовать об идентичной молекулярной массе ЛПС-с и ЛПС-о. Это, однако, противоречит данным аналитического ультрацентрифугирования. Так как условия солиubilизации проб при электрофорезе в ПААГ были более жесткие, чем при аналитическом ультрацентрифугиро-

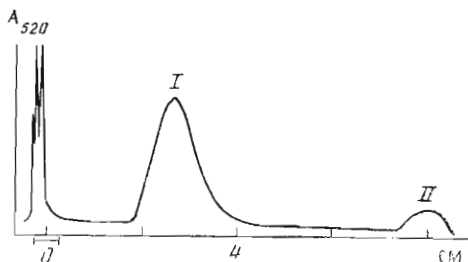


Рис. 6. Депситограмма ПААГ-электрофореза ЛПС-о. I, II — углеводные зоны, выявляемые в геле реактивом Шиффа

вании, можно было предположить, что в первом случае происходит не только дезагрегация мицелл, но и более глубокое нарушение определенной макромолекулярной структуры. Действительно, при солиubilизации проб для электрофореза в фосфатно-молибдатном буфере в присутствии 0,1–0,4% SDS без нагрева ЛПС-с воспроизводимо отличается от ЛПС-о более высокой подвижностью ( $E_f$  0,3 и 0,24 соответственно). Эти данные наряду с обнаруженной кратностью численного значения определяемой молекулярной массы ЛПС-с по отношению к молекулярной массе ЛПС-о и с практически полной идентичностью их моносакхаридного и жирнокислотного состава, а также структурной организации повторяющегося звена О-цепи могут свидетельствовать в пользу наличия у *A. faecalis*, штамм 6, двух форм молекулы ЛПС: мономера с определяемой молекулярной массой 8000 и, вероятнее всего, ее олигомера, состоящего из трех субъединиц, что согласуется с данными работы [17]. Ассоциация субъединиц возможна за счет связей, устойчивых в 0,4% SDS, — например, за счет повышенно устойчивых ионных или гидрофобных взаимодействий [18–21].

Итак, в результате проведенных исследований показано, что ЛПС *A. faecalis* сходен по общей архитектонике макромолекулы (содержит О-цепь, кор, липид А), а также по седиментационным и другим свойствам с биополимерами этого класса у других изученных в настоящее время грамотрицательных бактерий. У исследуемого штамма выявлены как тип гетерогенности ЛПС, распространенный у различных бактерий (определяемый наличием агрегатов, диссоциирующих в присутствии детергентов и не замещенных О-цепями коровых субъединиц), так и реже наблюдаемая форма гетерогенности (наличие седиментирующей и не обладающей такой способностью форм молекулы).

### Экспериментальная часть

Объект исследований — *Alcaligenes faecalis*, штамм 6, полученный из музейных культур НИИ стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л. А. Тарасевича. Штамм использовался в S-форме, что постоянно контролировалось при получении субкультур.

Условия выращивания культуры и получения бактериальной массы описаны в работе [22].

ЛПС выделяли экстракцией 45% горячим фенолом согласно методике [4]. Водную фазу диализовали против воды для удаления фенола, освобождали от незначительной примеси нерастворимых веществ центрифугированием (5000 об/мин) и сушили лиофильно. 3% водный раствор этого ЛПС подвергали повторному центрифугированию (3×4 ч) при 105 000 *g* для удаления примеси нуклеиновых кислот. Выход осадка составлял ~1,0%.

Получаемые при ультрацентрифугировании супернатанты объединяли, лиофилизировали и очищали от примеси нуклеиновых кислот цетавлоном, как описано в методике [4]. Соль РНК и цетавлона, согласно этой методике, выпадает в осадок из 0,3 М раствора хлористого натрия. Выход ЛПС-с в 2–2,5 раза превышал выход ЛПС-о.

Гидродинамические параметры определяли методом скорости седиментации (коэффициент седиментации при  $n$  48 000 об/мин, коэффициент диффузии при  $n$  4000 об/мин) с использованием ячеек капиллярного и клапанного типа для создания искусственной границы на аналитических ультрацентрифугах Spinco E и MOM 31-70. Значения коэффициентов седиментации ( $s_{20, w}$ ) рассчитывали графически по интегральной форме; значения коэффициентов диффузии ( $D_{20, w}$ ) — по методу площадей [23]. Коэффициенты седиментации ( $s_{20, w}^{\circ}$ ) и диффузии ( $D_{20, w}^{\circ}$ ) получали путем экстраполяции полученных значений к нулевому разведению.

Молекулярную массу рассчитывали исходя из значений констант седиментации и диффузии по первому уравнению Сведберга [23], используя значение удельного парциального объема, равное 0,6 [24].

Электрофорез в полиакриламидном геле в системе с SDS (0,1–2,0% в электрофорезном буфере) проводили на приборе OE-110 (Reanal, Венгрия) с использованием реактивов этой же фирмы при 4 мА на трубку в 5,6% геле в трис-ацетатном (pH 7,2) [25] либо фосфатно-молибдатном (pH 7,0) [26] буфере. Образцы (100–200 мкг) растворяли в фосфатно-молибдатном буфере при 20° С либо в солиubilизирующем растворе [15], содержащем в 10 мМ трис-HCl-буфере (pH 8) 1 мМ EDTA, 4,0% SDS, 30,0% сахарозу, 2,5% дитиотреит. Солиubilизацию проводили 5 мин при 100° С. Фиксацию углеводных зон выполняли изопропиловым спиртом и уксусной кислотой как описано в работе [25], а окрашивание углеводных зон после окисления ЛПС иодной кислотой — реактивом Шиффа по схеме, приведенной в работе [26]. Денситограммы гелей снимали на приборе Chromoscan 200 (Youse-Loebl, Англия) при 520 нм, ИК-спектры — на приборе UR-10 в таблетках с KBr.

Моносахаридный состав препаратов и их серологическую активность исследовали как описано в работе [13].

Деградацию ЛПС проводили 1,0% уксусной кислотой (1,5 ч, 100°С, на 100 мг ЛПС 10 мл кислоты). Реакционную смесь подвергали центрифугированию (2000 об/мин, 30 мин) для удаления липида А, а затем ультрацентрифугированию (105 000 g, 3 ч) для удаления возможной примеси педеградированного ЛПС. Высушенный лиофильно или на ротаторном испарителе супернатант после растворения в минимальном объеме пиридин-ацетатного буфера пропускали через колонку с сефадексом G-50 и собирали элюирующуюся со свободным объемом фракцию O-специфического полисахарида.

<sup>13</sup>C-ЯМР-спектры снимали на приборе Bruker WM-250 в D<sub>2</sub>O при 60°С, внутренний стандарт — метанол (с 50,15).

Для определения жирнокислотного состава препаратов освобожденный, как описано в работе [27], от возможной примеси свободных липидов образец ЛПС (10–20 мг) обрабатывали 3 ч в ампуле 1,5–2 М HCl в метаноле (4,5 мл) при 100°С [28]. Метилловые эфиры жирных кислот экстрагировали гексаном (3×10 мл). Объединенные экстракты сушили досуха в токе азота и анализировали методом ГЖХ на приборе Chrom-5 на колонке (3 мм×3 м) с 1,0–5,0% SE-30 на Chromaton N-LW, 0,2–0,25 мм при режиме хроматографии 125–250°С, 3°/мин.

Наличие оксикислот в составе липидного компонента определяли по изменению времени удерживания (сдвиг соответствующих пиков) после обработки метиловых эфиров трифторуксусным ангидридом, согласно методике [29].

Авторы выражают глубокую благодарность д-ру хим. наук А. С. Шашкову (ИОХ АН СССР) за снятие и интерпретацию <sup>13</sup>C-ЯМР-спектров.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Luderitz O., Westphal O., Staub A. M., Nikaido H. In: Microbial toxins/Eds Kadiss S., Weinbaum G., Ajl S. J. N. Y.—L.: Acad. Press, 1971, v. 4, p. 145–233.
2. Galanos C., Luderitz O., Rietschel O., Westphal O. In: Int. Rev. Biochem./Ed. Goodwin T. W. Baltimore: Univ. Park Press, 1977, v. 14, p. 242–335.
3. Wright A., Kanegasari Sh. *Physiol. Revs.*, 1971, v. 51, № 4, p. 748–784.
4. Вестфаль О., Ян К. В кн.: Методы химии углеводов/Ред. Кочетков Н. К. М.: Мир, 1965, с. 325–331.
5. Weckesser J., Mayer H., Drews G., Fromme J. J. *Bacteriol.*, 1975, v. 123, № 2, p. 456–462.
6. Birkeland N. K., Hofstad T. *Acta path. microbiol. immunol. scand., Sect. B*, 1982, v. 90, № 2, p. 435–440.
7. Gmeiner J. *Eur. J. Biochem.*, 1975, v. 58, № 2, p. 621–626.
8. Hannecart-Pokorny E., Dokegel D., Depuydt F. *Eur. J. Biochem.*, 1973, v. 38, № 1, p. 6–13.
9. Ермак Н. М., Соловьева Т. Ф., Судник Ю. М., Оводов Ю. С. *Биофизика*, 1984, т. 29, № 6, с. 945–948.
10. Фрайфельдер Д. *Физическая химия*. М.: Мир, 1980, с. 292–302.
11. Olins A. L., Warner R. C. *J. Biol. Chem.*, 1967, v. 242, № 21, p. 4994–5001.
12. Luderitz O., Freudenberg M. A., Galanos C., Lehmann V., Rietschel E. T., Shaw D. H. In: *Curr. Top. Membr. Transp.*, 1982, v. 17, № 1, p. 79–151.
13. Здорovenko Г. М. *Биоорг. химия*, 1981, т. 7, № 1, с. 103–110.
14. Nowotny A. In: *Handbook of Endotoxin/Ed. Rietschel E. T. Elsevier Sci. Publ., B. V.*, 1984, v. 1, p. 308–338.
15. Jann B., Reske K. *Eur. J. Biochem.*, 1975, v. 60, № 1, p. 239–246.
16. Munford R. S., Hall C. L., Rick P. D. *J. Bacteriol.*, 1980, v. 144, № 2, p. 630–640.
17. Malchov D., Luderitz O., Kickhofen B., Westphal O. *Eur. J. Biochem.*, 1969, v. 7, № 1, p. 239–246.
18. Muhlradt P. F., Wray V., Lehman V. *Eur. J. Biochem.*, 1977, v. 81, № 1, p. 193–203.
19. Rosner M. R., Tang J.-Y., Barzilay J., Khorona H. G. *J. Biol. Chem.*, 1979, v. 254, № 3, p. 5906–5917.
20. Rosner M. R., Khorona H. G., Satterthwait A. C. *J. Biol. Chem.*, 1979, v. 254, № 13, p. 5918–5925.
21. Galanos C., Luderitz O. In: *Handbook of Endotoxin/Ed. Rietschel E. T. Elsevier Sci. Publ. B. V.*, 1984, v. 1, p. 46–58.
22. Скрипник С. И., Здорovenko Г. М., Захарова И. Я. *Микробиол. журн.*, 1976, т. 38, вып. 1, с. 9–11.
23. Шпикитер О. В кн.: *Современные методы в биохимии*. Т. 1/Ред. Орехович В. Н. М.: Медицина, 1964, с. 5–37.
24. McIntire F. C., Sievert H. W., Barlow G. H., Finley K. A., Lee A. Y. *Biochemistry*, 1967, v. 6, № 8, p. 2363.
25. Fairbanks G., Steck T. L., Wallach D. F. *Biochemistry*, 1971, v. 10, № 13, p. 2606–2617.
26. Dirienzo J. M., Deneke C. F., MacLeod R. A. *J. Bacteriol.*, 1978, v. 136, № 1, p. 148–157.
27. Kanfer J., Kennedy E. P. *J. Biol. Chem.*, 1963, v. 238, № 10, p. 2919–2921.
28. Yamakuwa T., Ueta N. *Jap. J. Exp. Med.*, 1964, v. 34, № 6, p. 361–374.
29. Moss C. W., Samuels S. B., Lidde J., McKinney R. M. *J. Bacteriol.*, 1973, v. 114, № 3, p. 1018–1024.

Поступила в редакцию

16.VII.1985

После доработки

7.IV.1986



PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES AND HETEROGENEITY OF THE  
LIPOPOLYSACCHARIDE *ALCALIGENES FAECALIS*

ZDOROVENKO G. M., VOTSELKO S. K., SKRIPNIK S. I.

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

Two species of O-antigenic molecules with following sedimentation characteristics  $s_{20, w}^{\circ} 1,25 \cdot 10^{-13}$  s,  $D_{20, w}^{\circ} 9,7 \cdot 10^{-7}$  cm<sup>2</sup>/s,  $M$  8000 and  $s_{20, w}^{\circ} 2,5 \cdot 10^{-13}$  s,  $D_{20, w}^{\circ} 5 \cdot 10^{-7}$  cm<sup>2</sup>/s,  $M$  23 000–30 000 were detected in the cell wall of the strain *Alcaligenes faecalis*, a representative species of conditionally pathogenic microorganisms with unidentified taxonomic position. «Light» and «heavy» types of molecules have a lipopolysaccharide nature and show no differences in the monosaccharide composition of the polysaccharide moiety, structural organization of O-chain, or lipid A fatty-acid composition.