

ЛІПОПОЛІСАХАРИД *PANTOEA AGGLOMERANS* 9649: ХІМІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ТА БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ

Булигіна Т.В., Варбанець Л.Д., Пасічник Л.А.

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, 03143, Україна,
e-mail: tati20@ukr.net*

Мета. Виділити ліпополісахарид (ЛПС) із бактеріальних клітин штаму *Pantoea agglomerans* 9649, провести хімічну ідентифікацію, дослідити його біологічну активність, а також встановити серологічні взаємозв'язки з іншими штамми даного виду. **Методи:** Кількісно вміст вуглеводів визначали методом Дюбуа; нуклеїнових кислот – Спіріна; білка – Лоурі; 2-кето-3-дезоксикетонної кислоти – Осборна. Моносахаридний та жирнокислотний склад аналізували на хромато-маспектрометричній системі Agilent 6890N/5973 inert. Чутливість мікробних культур *P. agglomerans* до поліміксину В визначали диско-дифузійним методом. Антигенну активність ЛПС досліджували методом подвійної імунодифузії в агарі за Оухтерлоні, а адгезивну активність – експрес-методом по Брилісу. **Результати та висновки:** З клітин *P. agglomerans* 9649 був виділений та хімічно охарактеризований ліпополісахарид. У вуглеводній частині переважали такі моносахариди, як рамноза (36,47 %), маноза (20,17 %), гептоза (14,87 %) та глюкоза (13,57 %). У складі ліпідної частини досліджуваного ЛПС були ідентифіковані насичені, мононенасичені та гідроксикислоти із довжиною ланцюга від C_{12} до C_{16} . Оскільки штам *P. agglomerans* 9649 чутливий до поліміксину В, можна зробити припущення, що ЛПС не містить у структурі ліпиду А такий замісник, як 4-аміно-4-дезоксид-арабінозу. Результати термометрії показали, що досліджуваний ЛПС проявляє пірогенну дію. Антисироватка до досліджуваного штаму, крім гомологічного ЛПС, реагувала із ЛПС штаму ПІа, що вказує на наявність у них спільних антигенних детермінант та приналежність даних штамів до однієї серогрупи. Досліджуваний ЛПС знижує індекс адгезивності, що свідчить про можливу конкуренцію між молекулами *P. agglomerans* 9649 та адгезинами *E. coli* F-50, які задіяні на еритроцитах кроля.

Ключові слова: *Pantoea agglomerans*, ліпополісахарид, моносахаридний та жирнокислотний склад, 4-аміно-4-дезоксид-арабіноза, серологічна та адгезивна активність.

Незважаючи на те, що ліпополісахариди (ЛПС) – основні компоненти зовнішньої мембрани грамнегативних бактерій, були відкриті більш, ніж 100 років тому, і на сьогодні вони викликають інтерес вчених різних спеціальностей, що обумовлено особливостями їх структури та біологічної активності. Так ЛПС, як ніякі інші біополімери клітини, є поліфункціональними: виконують загальнобіологічну захисну функцію, беруть участь у адгезії клітин, проявляють мітогенну активність, протипухлинну дію, є маркерами при ідентифікації штамів. Відомо [10], що специфічні структурні особливості ЛПС з успіхом були використані в хемотаксономії ряду видів грамнегативних бактерій, таких, як *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri*, *Pseudomonas aeruginosa*,

Pseudomonas syringae та ін. Що стосується *P. agglomerans*, то його представників протягом багатьох років відносили до різних родів та видів бактерій: *Enterobacter agglomerans*, *Erwinia herbicola*, *Erwinia milletiae*. І тільки в 1989 [8] представники *Enterobacter agglomerans* [7], *Erwinia herbicola* і *Erwinia milletiae* були рекласифіковані як *P. agglomerans* та *P. dispersa*.

Оскільки до теперішнього часу в літературі відомості щодо виділення і характеристики ліпополісахаридів фітопатогенних представників *P. agglomerans* вкрай обмежені [4], метою даної роботи було ізолювати ЛПС з *P. agglomerans* 9649, виділеного з листків пшениці, провести його хімічну ідентифікацію, вивчити біологічні властивості, а також встановити серологічні взаємозв'язки з іншими штамми цього виду.

Матеріали і методи дослідження. Об'єктом досліджень був штам *P. agglomerans* 9649 з колекції відділу фітопатогенних бактерій ІМВ НАН України, ізольований з пшениці (Київська обл., Україна). Бактерії вирощували на картопляному агарі протягом 36 год при 28–30°C. Клітини збирали центрифугуванням (20 хв, 5000 g), висушували обробкою ацетоном і ефіром.

Виділення ЛПС. Ліпополісахариди екстрагували з висушених клітин 45% -м водним розчином фенолу при 65–68°C. Отримані водні фракції діалізували проти водогінної, а потім дистильованої води для видалення фенолу [23]. ЛПС очищали від нуклеїнових кислот ультрацентрифуванням (104 000 g, 4 год), а також їх осадженням 50%-м розчином трихлороцтової кислоти. Супернатант концентрували упарюванням у вакуумі та ліофільно висушували.

Визначення вмісту вуглеводів, нуклеїнових кислот, білка, 2-кето-3-дезоксиктонової кислоти (КДО). Кількість нейтральних вуглеводів визначали методом Dubois [6]. Оцінку результатів здійснювали за зміною забарвлення при реакції фенолу з сірчаною кислотою на спектрофотометрії при 490 нм. Вміст вуглеводів визначали у відповідності зі стандартними калібрувальними кривими, попередньо побудованими по глюкозі. Вміст нуклеїнових кислот (НК) оцінювали за методом Спіріна [21], білків – Лоурі з використанням реактиву Фоліна [12], КДО – за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [13]

Ідентифікацію нейтральних моносахаридів проводили після гідролізу препаратів в 2 М HCl (5 год, 100 °C). Моносахариди аналізували у вигляді ацетатів поліолів [18] на хромато-мас-спектрометричній системі Agilent 6890N/5973 inert. Моносахариди ідентифікували, порівнюючи час утримування ацетатів поліолів досліджуваних зразків зі стандартами, а також використовуючи комп'ютерну базу даних ChemStation. Кількісні співвідношення окремих моносахаридів виражали у % від загальної суми площ піків.

Визначення жирнокислотного складу здійснювали після гідролізу зразка в 1,5%-му розчині хлористого ацетилю в метанолі (100 °C, 4 год). Метиллові ефіри жирних кислот аналізували на хромато-мас-спектрометричній системі Agilent 6890N/5973 inert. Ідентифікацію жирних кислот проводили за допомогою бази даних персонального комп'ютера, а також стандартної суміші метилових ефірів жирних кислот. Кількісні співвідношення окремих жирних кислот виражали у % від загальної суми площ піків [1].

Визначення чутливості бактерій *P. agglomerans* до поліміксину В проводили диско-дифузійним методом [16]. При обліку результатів вимірювали зони затримки росту бактеріальної культури навколо диска з антибіотиком.

Пірогенність досліджували на кролях (вагою 2,0–3,5 кг) шляхом внутрішньовенного введення мінімальної пірогенної дози $7,5 \cdot 10^{-3}$ мкг/мл, яка була встановлена в серії розведень ЛПС, з подальшою термометрією тварин протягом 3-х годин. ЛПС вважали не пірогенним, якщо сума підвищення температур у трьох кролів була меншою або дорівнювала $1,4 \text{ }^{\circ}\text{C}$; якщо ця сума перевищувала $2,2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ – пірогенним [2].

Участь ЛПС в процесах адгезії досліджували при впливі різних концентрацій ЛПС *P. agglomerans* 9649 на адгезію клітин *Escherichia coli* F-50 до нативних еритроцитів кроля (розгорнутий метод Бріліса і співавт.) [3], яку виражали в індексах адгезивності (ІАМ) – середня кількість мікробних клітин, адгезованих на одному еритроциті, який бере участь в адгезивному процесі. Цей показник визначали на п'ятдесяти еритроцитах, переглядаючи все предметне скло.

Імунологічні дослідження. О-антисироватки отримували до прогрітих (2,5 год, кипляча водяна баня) клітин *P. agglomerans*. Кролів імунізували внутрішньовенно п'ятикратно, з інтервалом 4 дні, концентрація клітин становила 2×10^9 /мл (від 0,1 до 1 мл). Антигенну активність ЛПС досліджували методом подвійної імунодифузії в агарі за Оухтерлоні [15].

Результати. Хімічна ідентифікація очищеного препарату ліпополісахариду показала, що він характеризувався наявністю вуглеводів (45,0 %), а також незначною кількістю білка і нуклеїнових кислот (табл. 1). Усі ЛПС, незалежно від їх бактеріального походження, містять щонайменше один залишок КДО або його похідне. Вміст КДО в молекулі досліджуваного ЛПС складав 0,27 %, що менше, ніж в молекулі ЛПС типових штамів *P. agglomerans* 8674 і *Pragia fontium* 20125 DRL.

Необхідно відзначити, що вихід ЛПС у досліджуваного штаму *P. agglomerans* 9649 не перевищував середніх показників, характерних для інших представників родини *Enterobacteriaceae* (5%), але був меншим, ніж у типового штаму даного виду.

Таблиця 1

Біополімерний склад ліпополісахаридів представників ентеробактерій

Штами	Вихід ЛПС, % до сухої маси клітин	Вміст, %			
		Вуглеводи	Білок	НК	КДО
<i>Pantoea agglomerans</i> 9649	5	45	сліди	2,7	0,27
<i>Pantoea agglomerans</i> 8674 (типовий)	6,8	42,0	сліди	7,7	0,4
<i>Rahnella aquatilis</i> 33071 (типовий)	13,0	67,2	0,6	6,8	0,24
<i>Pragia fontium</i> 20125 DRL (типовий)	10,4	78,7	0,9	6,5	1,02

Аналіз показав, що переважаючими моносахаридами були рамноза (36,47 %), маноза (20,17 %), гептоза (14,87 %) та глюкоза (13,57 %) (рис. 1). Також були ідентифіковані галактоза (7,28 %), рибоза (4,07 %) та фукоза (3,57 %). Виділений ліпополісахарид за моносахаридним складом схожий на досліджені нами раніше ЛПС штамів *P. agglomerans* 7960a, 7969, 8488 та 8490 [22].

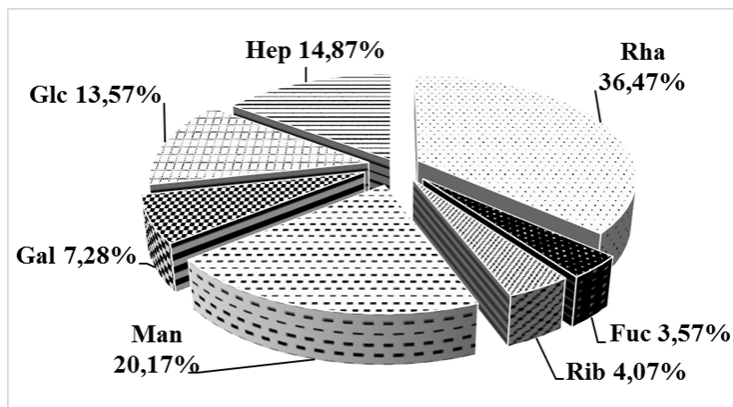


Рис. 1. Моносахаридний склад ЛПС *Pantoea agglomerans* 9649.

Примітки: Rha - рамноза, Fuc - фукоза, Rib - рибоза, Man - маноза, Gal - галактоза, Glc - глюкоза, Hep - гептоза

Оскільки особливості складу жирних кислот ліпиду А можуть бути використані як додатковий хемотаксономічний критерій, було досліджено жирнокислотний склад ЛПС *P. agglomerans* 9649 (рис. 2). У складі ліпідної частини ЛПС були ідентифіковані насичені, мононенасичені та гідроксикислоти із довжиною вуглеводневого ланцюга від C_{12} до C_{16} . Домінуючою була 3-ОН- $C_{14:0}$, яка є своєрідним маркером для всієї родини ентеробактерій. Виділений ліпополісахарид за жирнокислотним складом був схожий на досліджені нами раніше ЛПС штамів *P. agglomerans* 7960a, 8456, 8606 та 8674 [22].

У ліпідах А деяких бактерій можуть бути присутні замісники, які змінюють біологічні властивості не тільки ЛПС, але і всієї бактеріальної клітини. Так, відомо [10], що, за наявності при $C4'$ молекули глюкозаміну II 4-аміно-4-дезоксид-арабінози в молекулі ліпиду А, клітини бактерій набувають резистентності до деяких полікатіонних антибіотиків, зокрема поліміксину В. Оскільки досліджуваний штам *P. agglomerans* 9649 виявився чутливим до дії поліміксину В, що виражається в значній зоні затримки росту ($d = 18$ мм), то можна зробити припущення, що ліпополісахарид, екстрагований з цієї бактерії, не містить у складі ліпиду А такий замісник, як 4-аміно-4-дезоксид-арабінозу.

Відомо [9, 17], що ліпід А є ендотоксичним центром, який відповідає за всі види біологічної активності, включаючи токсичність і пірогенність. Для оцінки пірогенних характеристик була встановлена мінімальна пірогенна доза ЛПС, яка становила $7,5 \cdot 10^{-3}$ мкг/мл апірогенного ізотонічного розчину. Результати термометрії (рис. 3) показали підвищення температури через годину після введення препарату у експериментальних тварин більше, ніж на $0,5^\circ C$, що становить межу фізіологічної норми здорових

тварин. Підвищення температури було вище, ніж при введенні Пірогеналу (ліпополісахарид, виділений з клітин *Salmonella typhi*), але значно нижче, ніж при введенні розчинів ЛПС типових штамів *P. fontium* 20125, *R. aquatilis* 33071 та *P. agglomerans* 8674, які були взяті нами для порівняння.

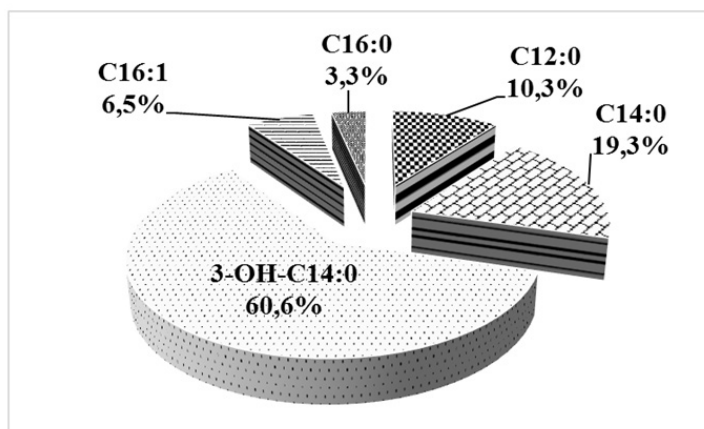


Рис. 2. Жирнокислотний склад ліпиду А ЛПС *P. agglomerans* 9649.

Примітки: C_{12:0} – додеканова кислота, C_{14:0} – тетрадеканова кислота, 3-ОН-C_{14:0} – 3-гідрокситетрадеканова кислота, C_{16:0} – гексадеканова кислота, C_{16:1} – цис-9-гексадеканова кислота

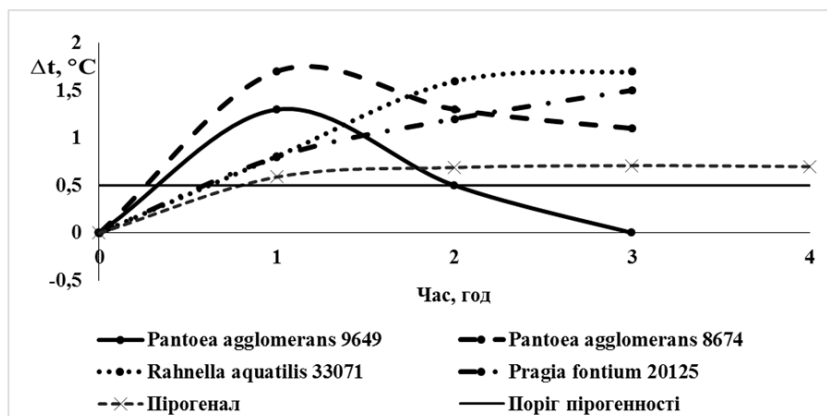


Рис. 3. Пірогенна дія ЛПС *P. agglomerans* 9649

У літературі є дані щодо залежності пірогенності ЛПС від кількості жирних кислот, їх розміщення, довжини ланцюга та стереохімії. Але нам таку залежність встановити не вдалося, оскільки ЛПС, між якими проводилась порівняльна характеристика, значно відрізнялися один від одного за жирнокислотним складом та пірогенною дією.

Відомо, що тонкі варіації в структурі О-ланцюгів ліпополісахаридів визначають серологічну специфічність грамнегативних бактерій, а також використовуються як молекулярна основа для розробки серологічних класифікаційних схем. При проведенні серологічних досліджень як антитіла використовували поліклональні О-антисироватки, а антигенами слугували ЛПС *P. agglomerans*.

Дослідження серологічної активності ЛПС *P. agglomerans* 9649 реакцією подвійної імунодифузії в агарі за Оухтерлоні свідчить про те, що в гомологічній системі він проявляє активність антигену (рис. 4).

Як один з підходів в класифікації різних бактерій можуть бути використані перехресні серологічні реакції. Так, нами було встановлено (рис. 4), що антисироватка до *P. agglomerans* 9649 реагує тільки з ЛПС одного штаму П1а з 13 досліджуваних. Це свідчить про наявність у них спільних антигенних детермінант і про приналежність даних штамів до однієї серогрупи.

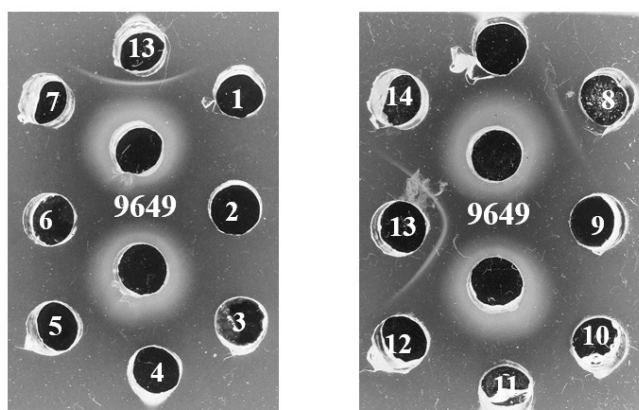


Рис. 4. Реакція подвійної імунодифузії в агарі за Оухтерлоні між О-антисироваткою до *Pantoea agglomerans* 9649 та препаратами ЛПС *P. agglomerans* 7960 (1), 7969 (2), 8456 (3), 8488 (4), 8490 (5), 8606 (6), 8674 (7), П1а (8), П324 (9), 7460 (10), 7604 (11), 9637 (12), 9649 (13), 9668 (14)

Отримані результати свідчать про імунохімічну гетерогенність досліджуваного виду *P. agglomerans*.

Оскільки ліпополісахариди є основними адгезинами грамнегативних бактерій, нами було досліджено вплив їх різних концентрацій на адгезію клітин *E.coli* F-50 до нативних еритроцитів кроля. Виявлено (рис. 5), що досліджуваний ЛПС *P. agglomerans* 9649 знижував індекс адгезивності: чим вища концентрація ліпополісахариду в реакційній суміші, тим менше вдалих взаємодій між поверхневими структурами еритроцитів і клітинами *E.coli*. Індекс адгезивності мікроорганізму при концентрації ЛПС в реакційній суміші 3 мг/мл становив 2,42.

Досліджуваний ЛПС проявив таку ж інгібуючу дію на процес адгезії, як і ЛПС штаму *P. fontium* 27480 DRL, виділеного з води із водогону (Чехія) [19].

Обговорення. Раніше [22] нами з 7 штамів *P. agglomerans*, ізольованих з різних рослин, були виділені і охарактеризовані ЛПС, вихід яких склав від 5,2 до 14,0%. Вихід ЛПС *P. agglomerans* 9649 був дещо меншим (5%), ніж у інших штамів цього виду. Цей показник, поряд з даними, отриманими з ідентифікації моносахаридного та жирнокислотного складів, дає нам підстави припустити, що виявлені відмінності є штамовими, а не характерними тільки для представників виду *P. agglomerans*.

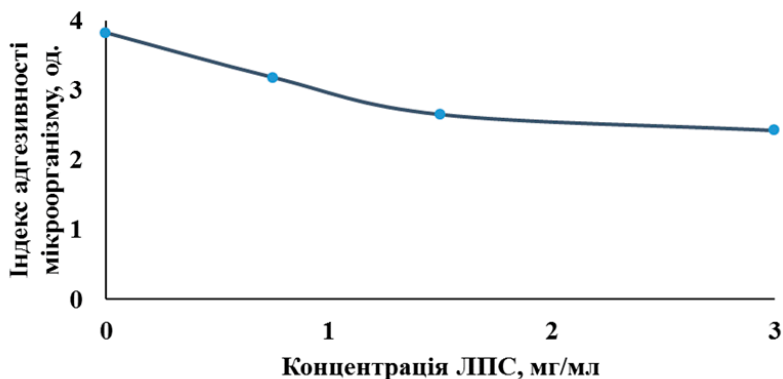


Рис. 5. Вплив різних концентрацій ліпополісахаридів *P. agglomerans* 9649 на процес адгезії

Незважаючи на загальну структурну консервативність, ліпід А характеризується значною мікрогетерогенністю, яка залежить від різних чинників, включаючи бактеріальну адаптацію до мінливих умов навколишнього середовища, незакінченість біосинтезу, хімічну модифікацію, що виникає при ізолюванні ліпідів А. Так, фосфатні групи можуть бути заміщені полярними або іншими групами. Найбільш загальними полярними замісниками фосфатних груп, які зазвичай присутні в нестехіометричних кількостях, є вторинний фосфат (з утворенням дифосфатної групи), водень, гептози, галактуронова кислота, фосфоетаноламін, а також 4-аміно-4-дезоксид-*L*-арабіноза (*L*-Ara4N) [9, 20]. Ці замісники змінюють біологічні властивості не тільки молекули ЛПС, але й всієї бактеріальної клітини. Встановлено, що замісники при 4'-фосфаті глюкозаміну II є відповідальними за резистентність бактерій до деяких полікатіонних антибіотиків, зокрема поліміксину В. Якщо ОН-група при 4'-фосфаті глюкозаміну II не заміщена, до неї може приєднуватись поліміксин, і такі бактерії будуть чутливими до нього. Якщо ОН-група має такий замісник, як 4-аміно-4-дезоксид-*L*-арабіноза, то поліміксин не може приєднатися до молекули ліпиду А, і така бактерія буде резистентною до поліміксину. Оскільки досліджений штам *P. agglomerans* 9649 виявився чутливим до дії поліміксину В, то можна зробити висновок, що ліпополісахарид, екстрагований з цього штаму, не містить в складі ліпиду А такий замісник, як 4-аміно-4-дезоксид-*L*-арабінозу. Оскільки з 14 досліджених штамів тільки 1 проявив стійкість до поліміксину В, можна також зробити припущення, що структура ліпиду А також є властивістю, характерною для певного штаму.

ЛПС *P. agglomerans* 9649, як і інші представники *Enterobacteriaceae* – *P. fontium* 20125 і *R. aguatilis* 33071, виявляв помірну пірогенну дію [14, 19].

Результати перехресних серологічних реакцій свідчать про імунохімічну гетерогенність виду *P. agglomerans*.

Досліджуваний ЛПС проявив такий же інгібуючий вплив на процес адгезії, як і ЛПС вивчених нами раніше [22] штамів *P. agglomerans*.

Таким чином, вперше виділений і хімічно охарактеризований ліпополісахарид *P. agglomerans* 9649, ізольований з насіння пшениці. За моно-

сахаридним та жирнокислотним складом досліджуваний ЛПС схожий з раніше нами вивченим ЛПС штаму *P. agglomerans* 7960a (ізолюваний з яблуні – Умань, Україна). Непрямим методом було встановлено, що ліпополісахарид не містить в складі ліпиду А такий замісник, як 4-аміно-4-дезоксид-*L*-арабінозу.

ЛПС досліджуваного штаму був більш пірогенним, ніж пірогенал, але значно менш пірогенним, ніж ЛПС типових штамів *P. agglomerans* 8674, *P. fontium* 20125 та *R. aguatilis* 33071. Антисироватка до *P. agglomerans* 9649 реагувала з ЛПС тільки одного штаму П1а, що свідчить про наявність у них спільних антигенних детермінант і належність до однієї серогрупи. Ці дані можуть бути використані при розробці серологічної класифікаційної схеми.

Досліджуваний ЛПС *P. agglomerans* 9649 знижував кількість адгезованих клітин *E. coli* F-50 на еритроцитах кроля шляхом конкуренції за зв'язування з їх поверхневими структурами.

ЛИПОПОЛИСАХАРИД *PANTOEA AGGLOMERANS* 9649: ХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

Булыгина Т.В., Варбанец Л.Д., Пасичник Л.А.

*Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины,
ул. Академика Заболотного, 154, Киев, 03143, Украина*

Резюме

Цель. Выделить липополисахарид (ЛПС) из бактериальных клеток штамма *Pantoea agglomerans* 9649, провести химическую идентификацию, исследовать его биологическую активность, а также установить серологические взаимосвязи с другими штаммами данного вида. **Методы.** Количественное содержание углеводов определяли методом Дюбуа; нуклеиновых кислот – Спирина; белка – Лоури; 2-кето-3-дезоксидоктоновой кислоты – Осборна. Моносахаридный и жирнокислотный состав анализировали на хромато-масс-спектрометрической системе Agilent 6890N/5973 inert. Чувствительность микробных культур *P. agglomerans* к полимиксину В определяли диско-диффузионным методом. Антигенную активность ЛПС исследовали методом двойной иммунодиффузии в агаре по Оухтерлони. Адгезивную активность определяли экспресс-методом по Брилису. **Результаты и выводы.** Из *P. agglomerans* 9649 был выделен и химически охарактеризован ЛПС. Его преобладающими моносахаридами были рамноза (36,47%), манноза (20,17%), гептоза (14,87%) и глюкоза (13,57%). В составе липидной части исследуемого ЛПС были идентифицированы насыщенные, мононенасыщенные и гидроксикислоты с длиной цепи от C₁₂ до C₁₆. Поскольку штамм *P. agglomerans* 9649 чувствителен к полимиксину В, можно предположить, что ЛПС не содержит в структуре липида А такой заместитель, как 4-амино-4-дезоксид-*L*-арабинозу. Результаты термометрии показали, что исследуемый ЛПС проявлял пирогенное действие. Антисыворотка к исследуемому штамму, кроме гомологичного ЛПС, реагировала с ЛПС штамма П1а, что свидетельствует о наличии у них общих антигенных детерминант и принадлежности данных штаммов к одной серогруппе. Исследуемый ЛПС снижает индекс адгезивности, что свидетельствует о

возможной конкуренции между молекулами ЛПС *P. agglomerans* 9649 и адгезинами *E. coli* F-50, которые задействованы на эритроцитах кролика.

Ключевые слова: *Pantoea agglomerans*, липополисахарид, моносахаридный и жирнокислотный состав, 4-амино-4-дезоксид-*L*-арабиноза, серологическая и адгезивная активность.

LIPOPOLYSACCHARIDE OF *PANTOEA AGGLOMERANS* 9649: CHEMICAL IDENTIFICATION AND BIOLOGICAL ACTIVITY

Bulyhina T.V., Varbanets L. D., Pasichnyk L.A.

*Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, NAS of Ukraine,
154 Akad. Zabolotny Str., Kyiv, 03143, Ukraine*

Summary

The **goal** of the present work was isolation, chemical characterization of the lipopolysaccharide (LPS) of *Pantoea agglomerans* 9649, investigation its biological activities and also to establish serological relationships with other strains of this species.

Methods. The amounts of the following components were determined: carbohydrates by the Dubois method; nucleic acids by the method of Spirin; protein by the Lowry method; 2-keto-3-deoxyoctulosonic acid by the Osbourne method. Monosaccharide and fatty acid composition was analyzed on an Agilent 6890N/5973 inert chromatomass spectrometric system. The sensitivity of microbial cultures of *P. agglomerans* to polymyxin B was determined by disco-diffusion method. The antigenic activity of LPS was studied by the method of double immunodiffusion in agar according to Ouchterlony. Adhesive activity was determined by Express-method for Briles. **Results and conclusions.** Lipopolysaccharide of *P. agglomerans* 9649 was purified and characterized chemically. The predominant monosaccharides were rhamnose (36.47%), mannose (20.17%), heptoses (14.87%) and glucose (13.57%). In the lipid part of the LPS studied were identified saturated, monounsaturated and hydroxy acids with chain lengths from C12 to C16. Since the studied strain of *P. agglomerans* were resistant to polymyxin B, it can be assumed that the LPS contain in the structure of Lipid A, such a substitute as 4-amino-4-deoxy-*L*-arabinose. The results of thermometry showed that the investigated LPS display a pyrogenic effect. The antisera against to the tested strain reacted with LPS strain of IIIa, indicating the presence of the common antigenic determinants belonging to one of the same serogroup. The studied LPS reduces the index of adhesiveness, suggesting a possible competition between molecules of *P. agglomerans* 9649 LPS and *E. coli* F-50 adhesin, involved in the erythrocytes of the rabbit.

Keywords: *Pantoea agglomerans*, lipopolysaccharide, monosaccharide and fatty acid composition, 4-amino-4-deoxy-*L*-arabinose, serological and adhesive activity.

1. Albershein P, Nevis DJ, English P D, Karr A. A method for analysis of sugars in plant cell-wall polysaccharides by gas-liquid chromatography. Carbohydr Res. 1976; 3: 340-345.
2. Bennett IL. A study of the relationship between the fevers caused by bacterial pyrogens and by the intravenous injection of the sterile exudates of acute inflammation. J Exp Med. 1948; 88(3): 279-284.

3. Brilis V, Briline T, Lencner H, Lencner A. Metodika izucheniya adgezivnogo processa mikroorganizmov. Laboratornoe delo. 1968; 4: 210-212. Russian.
4. Cimmino A, Marchi G, Surico G, Hanuszkiewicz A, Evidente A, Holst O. The structure of the O-specific polysaccharide of the lipopolysaccharide from *Pantoea agglomerans* strain FL1. Carbohydrate Research. 2008; 343(2): 392-396.
5. Down JM, Newman MA, von Roepenack A. The induction and modulation of plant defense responses by bacterial lipopolysaccharides. Ann Rev Phytopathology. 2000; 38: 241-261.
6. Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal Chem. 1956; 28(3): 350-356.
7. Ewing WH, Fife MA. *Enterobacter agglomerans* (Beijerinck) comb. nov. (the herbicola-lathyri bacteria). Int J Syst Bacteriol. 1972; 22: 4-11.
8. Gavini F, Mergert J, Beji A, Mielcarek C, Izard D, Kersters K, et al. Transfer of *Enterobacter agglomerans* (Beiernick 1888) Ewing and Fife 1972 to *Pantoea* gen. nov. as *Pantoea agglomerans* comb. nov. and description of *Pantoea dispersa* sp. nov. Int J Syst Bacteriol. 1989; 39: 337-345.
9. Holst O, Molinaro A. Microbial Glycobiology: Structures Relevance and Applications. San Diego: Elsevier. 2009: 565p.
10. Knirel YA, Valvano MA, Wien NY. Structure, Chemical Synthesis, Biogenesis and Interactions with Host Cells. Springer Verlag. 2011: 433p.
11. Leben C. Epiphytic microorganisms in relation to plant disease. Annu Rev Phytopathol. 1965; 3: 209-230.
12. Lowry OH., Rosenbrough NJ, Farr AL, Randal RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem. 1951; 193(5): 265-275.
13. Osborn MJ. Studies on the gram-negative cell wall. I. Evidence for role of 2-keto-3-deoxyoctonate in the lipopolysaccharide of *Salmonella typhimurium*. Proc Nat Acad Sci USA. 1963; 50(3): 499p.
14. Ostapchuk AN, Varbanets LD. [Biological activity of native and modified lipopolysaccharides *R. aquatilis*] Mikrobiol Z. 2004; 66(6): 31-36. Ukrainian.
15. Ouchterlony O. Diffusion in gel methods for immunological analysis. Prog Allergy. 1962; 6: 3-15
16. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Fifteenth Informational Supplement. Clinical and Standarts Institute. 2005; 25(1): 87-151.
17. Rietschel ET, Kirikae T, Schade FU, Mamat U, Schmidt G. Bacterial endotoxin: molecular relationships of structure to activity and function. FASEB J. 1994; 8 (2): 217-225.
18. Sawardeker JS, Sloneker JH, Jeans A. A quantitative determination of monosaccharides as their alditol acetates by gas liquid chromatography. Anal. Chem. 1965; 37(5): 1602-1603.
19. Shubchynskyy VV, Varbanets LD, Brovarskaya OS. [Endotoxic activity lipopolysaccharide *Pragia fontium*]. Modern toxicology problems. 2007; 4: 35-38. Ukrainian.
20. Silipo A, Molinaro A. Bacterial Lipopolysaccharides. Structure, Chemical Synthesis, Biogenesis and Interactions with Host Cells. Springer Verlag. 2011: 433p.

21. Spirin AS. [Spectrophotometric determination of total nucleic acids]. *Biokhimiia*. 1958; 23(5): 656-62. Russian.
22. Varbanets LD, Brovanskaya OS, Bulyhina TN, Garkavaya EG, Zhitkevich NV. Characterisation of *Pantoea agglomerans* lipopolysaccharide. *Microbiology*. 2014; 83(6): 754-763.
23. Westphal O, Jann K. Bacterial lipopolysaccharide – extraction with phenol. *Methods Carbohydr Chem*. 1965; 5: 83-91.

Отримано 28. 08. 2017