

СОСТАВ И МИТОГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛИСАХАРИДА ИЗ *Solanum tuberosum* L.

© 2023 г. Е.А. Генералов*, **, #, Л.В. Яковенко*

*Физический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова,
Ленинские горы, 1/2, Москва, 119991, Россия

#E-mail: generals1179@gmail.com

**Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский университет), Трубецкая ул., 8/2, Москва, 119991, Россия

Поступила в редакцию 30.03.2023 г.

После доработки 30.03.2023 г.

Принята к публикации 07.06.2023 г.

Полисахарид STP был выделен из водного экстракта *Solanum tuberosum* L. и очищен с помощью ионообменной хроматографии и гель-фильтрации. Его молекулярную массу определяли с помощью гельпроникающей хроматографии и высокоэффективной жидкостной хроматографии, а его моносахаридный состав анализировали методами высокоэффективной жидкостной хроматографии и газовой хроматографии с использованием пламенно-ионизационного детектора и капиллярной колонки. Было показано, что полисахарид STP состоял из галактозы и арабинозы в количествах 37.5% и 23.5% соответственно, а также уруновых кислот (9.7%), остатков моносахарида глюкозы (15%) и белков (не менее 9%). Молекулярная масса STP составляла 70 кДа. Для структурного анализа STP использовали метод ИК-Фурье-спектроскопии. Митогенная активность экстрагированного полисахарида сравнима с активностью липополисахарида.

Ключевые слова: *Solanum tuberosum*, полисахариды, моносахаридный состав, митогенная активность.

DOI: 10.31857/S0006302923050034, EDN: PGFGEA

Solanum tuberosum L. (картофель) относится к семейству пасленовых. Это всемирно известное культурное растение, дающее высокие урожаи ценных в питательном отношении продуктов питания в виде клубней. Сырой картофель, картофельный сок и ткани использовались в качестве лекарственного средства [1, 2] для лечения желудочно-кишечных дисфункций и в качестве противомоскитного средства [3–6]. Существуют хорошо известные способы экстракции клеточных стенок картофеля и исследования их состава и структуры содержащихся в них полисахаридов [7–9]. К сожалению, нет данных по растворимым полисахаридам картофельного сока. В настоящем исследовании мы экстрагировали, выделили и очистили полисахаридные компоненты из *Solanum tuberosum*, определили их молекулярные массы, а также их моносахаридный состав для дальнейшего изучения механизма их действия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Стандарты (моносахариды, уруновые кислоты, производные моносахаридов, декстраны) бы-

ли приобретены у Sigma (США), DEAE-целлюлоза и сефадекс G-100 – у Whatman (Великобритания) и Pharmacia LKB Biotechnology AB (Швеция) соответственно. Содержание углеводов в различных фракциях элюата контролировали с использованием фенол-сернокислотного метода с помощью спектрофотометра UV-1800 UV-Vis (Shimadzu Corporation, Япония).

Растительный материал. Полисахариды были экстрагированы из клубней картофеля сортов Жуковский Ранний и Red Scarlet, отобранных в Московской сельскохозяйственной академии им. К.А. Тимирязева. Использовали клубни технической спелости.

Приготовление экстрактов. Клубни картофеля промывали под проточной водой и высушивали на воздухе. Затем 1 кг клубней гомогенизировали в 1 л ледяной деионизированной воды, содержащей 1 мМ фенилметилсульфонилфторида, в охлажденном блендере для измельчения. После шнекового прессования гомогената оставшуюся выжимку снова смешивали с 1 л ледяной деионизированной воды, содержащей 1 мМ фенилметилсульфонилфторида, и перемешивали при 40°C. Полученную суспензию снова отжимали и цен-

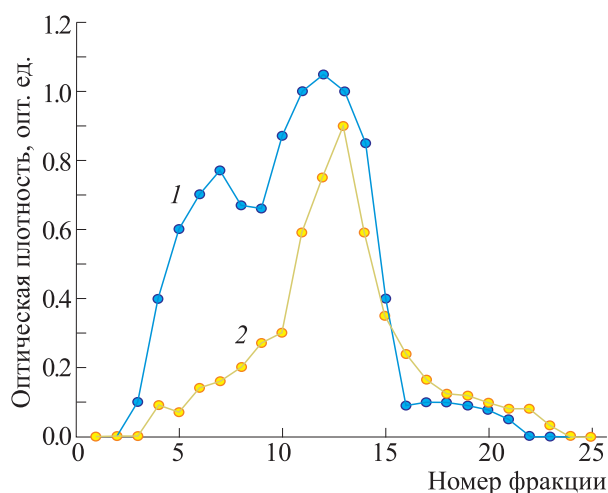


Рис. 1. Кривые элюирования при 490 нм (1) и 220 нм (2) на ДЭАЭ-целлюлозе.

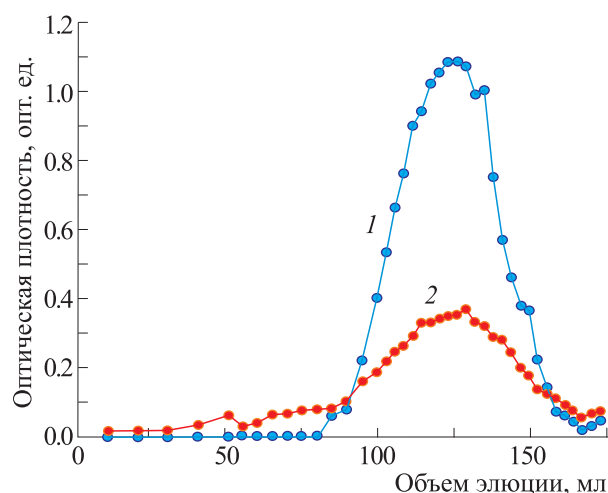


Рис. 2. Кривые элюирования объединенных фракций 11–14 при 490 нм (1) и 220 нм (2) на ДЭАЭ-целлюлозе.

трифугировали при 4°C/20000 g в течение 30 мин. Супернатанты объединяли и фракционировали методом ультрафильтрации на системе Slice Crossflow System (Sartorius Stedim Biotech, США). Фракции с молекулярной массой 10–100 кДа собирали с помощью соответствующих кассет Sartoson Slice Cassettes. Концентрат нагревали до 100°C при постоянном перемешивании. Затем экстракт охлаждали до комнатной температуры и центрифугировали при 4°C/15000 g в течение 10 мин. Полученный супернатант подвергали сублимационной сушке для фракционирования и дальнейшего анализа.

Выделение и очистка. Лиофилизированную фракцию растворяли в цитратном буфере (0.01 M, pH 6.6) до концентрации 1% (вес.), центрифугировали при 5000 g в течение 20 мин и подвергали хроматографии на колонке с ДЭАЭ-целлюлозой (650 S TSK (2.6 × 35 см) с элюированием дистиллированной водой и ступенчатым градиентом хлорида калия (0.1–1 M). На рис. 1 представлены кривые элюирования при 220 нм и 490 нм. На кривой элюирования при 490 нм видны три пика, поэтому для дальнейшего анализа были выбраны фракции 11–14, которые объединили, концентрировали и лиофилизировали. Затем смесь подвергали колоночной хроматографии с ДЭАЭ-целлюлозой. Содержание углеводов во фракциях контролировали фенол-сернокислотным методом [14]. На рис. 2 представлены кривые элюирования объединенных фракций 11–14. Далее этот материал подвергали хроматографии на колонке с сефадексом G-100 (5.0 × 100 см) с элюированием дистиллированной водой и контролем фенол-сернокислотным методом. Соответствующая кривая элюции показана на рис. 3. Фракции с объемом элюции 600–800 мл были объединены,

сконцентрированы и в дальнейшем обозначены как фракция STP.

Определение молекулярной массы. Молекулярную массу фракции STP рассчитывали с использованием калибровочной кривой, на которой логарифм молекулярной массы стандартов декстрана в диапазоне от 1 до 100 кДа откладывался в зависимости от коэффициента распределения для гель-фазы K_{av} :

$$K_{av} = \frac{V_e - V_0}{V_c - V_0},$$

где V_e – объем элюирования; V_0 – свободный объем в колонке (определяется с использованием синего декстрана) и V_c – объем колонки.

Метод ВЭЖХ-ГПХ. Была использована система ВЭЖХ серии Prominence (Shimadzu Corpora-

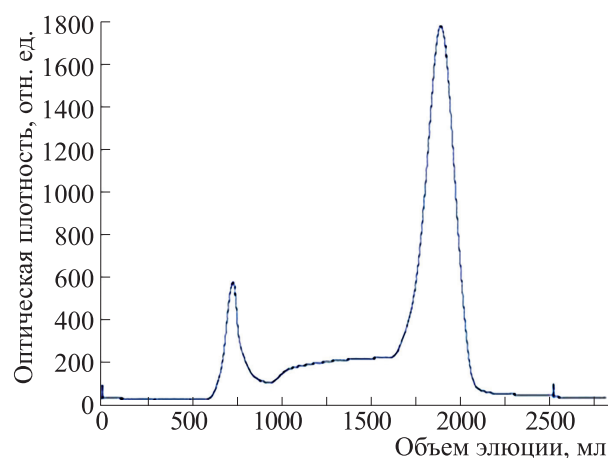


Рис. 3. Кривая элюирования STP на колонке с сефадексом G-100.

tion, Япония) с детектором на фотодиодной матрице (для детектирования был выбран диапазон 220 нм) и колонкой TSKgel G4000PW из нержавеющей стали (7.5×300 мм) (Tosoh Bioscience GmbH, Германия). Хроматографию проводили в обычном режиме с использованием буферного раствора 0.1 М Na_2HPO_4 с 0.1 М NaCl (pH 6.8) при постоянной скорости потока 1 мл/мин при температуре окружающей среды. Обычно 10 мкл 1%-го раствора образца растворяли в подвижной фазе и вводили в колонку.

Анализ моносахаридного состава. Гидролиз полисахаридов проводили 2 М трифторуксусной кислотой с дальнейшим восстановлением моносахаридов до соответствующих полиолацетатов [10, 11]. После гидролиза образцы центрифугировали при 6000 g в течение 5 мин и фильтровали через шприц-фильтр 0.22 мкм (Millipore, США). Конечные полиолацетаты анализировали методом ГХ-ПИД.

Перед анализом ГХ-ПИД для метанолиза полисахаридов использовали 0.5 М HCl в метаноле (4 ч при 85°C) и триметилсилил для дериватизации [12]. Затем состав определяли путем калибровки со стандартными моносахаридами/уроновыми кислотами и количественно определяли с использованием внутреннего стандарта сциллоинозитола.

Гидролиз полисахаридов проводили с помощью 2 М трифторуксусной кислоты [10, 11]. После гидролиза образцы центрифугировали при 6000 g в течение 5 мин и фильтровали через шприц-фильтр 0.22 мкм. Окончательное разделение моносахаридов проводили с помощью ВЭЖХ. Затем состав определяли путем калибровки стандартными моносахаридами/уроновыми кислотами и количественно определяли с использованием внутреннего стандарта мальтита.

Метод ВЭЖХ. Были использованы ВЭЖХ-система Prominence Series (Shimadzu Corporation, Япония) с матричным фотодиодным детектором (для детектирования была выбрана полоса 190 нм), колонка Shodex Asahipak NH2P-50 4E (4.6×250 мм) (Showa Denko America, Inc., США) и защитная колонка NH2P-50G 4A (4.6×10 мм) (Showa Denko America, Inc., США). Хроматографию проводили в низкоградиентном режиме при 50°C с использованием в качестве элюента ацетонитрила и смеси 3% H_3PO_4 (75/25%). Скорость потока — 1 мл/мин, объем ввода — 5 мкл.

Метод ГХ-ПИД. В этом методе систему Shimadzu GC-2014 GC-FID (Shimadzu Corporation, Япония) с колонкой ZB5-ms (30 м, внутр. диаметр 0.25 мм, толщина пленки 0.25 мкм) (Phenomenex Inc., США) и Shimadzu Split/Splitless FocusLiner, инжектор с внутренним диаметром 3.4 мм был установлен на 300°C , вводили 1 мкл, детектор был установлен на 300°C . Программа печи: 140°C , вы-

держка 2 мин, подъем до 250°C ($5^\circ\text{C}/\text{мин}$), выдержка 10 мин, подъем до 265°C ($15^\circ\text{C}/\text{мин}$), выдержка 5 мин.

ИК-Фурье-спектроскопия. Инфракрасные спектры образца/таблетки KBr регистрировали на спектрометре Spectrum 100 FT-IR (Shimadzu Corporation, Япония) при комнатной температуре в диапазоне $4000\text{--}400\text{ см}^{-1}$.

Животные. Мыши ($F_1(\text{CBA} \times \text{C57Bl}/6)$, самцы, возраст 8 недель) были получены из филиала Института биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН в Пущино (Московская область). Животных помещали в карантин на 2 недели. Селезенки собирали асептическим методом.

Забор селезенки и выделение клеток. Удаленные у мышей селезенки собирали в стерильный сбалансированный солевой раствор Хэнка (Millipore, Sigma-Aldrich, Supelco) в стерильную центрифужную пробирку объемом 15 мл на льду. С помощью стерильных пинцетов и марли селезенки промокали для удаления лишней жидкости и взвешивали. После регистрации веса селезенки промывали примерно в 5 мл среды RPMI с добавками в стерильной культуральной чашке. Среда RPMI с добавками содержала 10% эмбриональной телячьей сыворотки (Hyclone, США), 1% пенициллина/стрептомицина (Cambrex, США) и 1% L-глутамина (Cambrex, США). Предметные стекла микроскопа стерилизовали пламенем и их охлажденные концы использовали для гомогенизации селезенки. Изолированные спленоциты оставляли на льду до тех пор, пока не были выделены все образцы, а затем центрифугировали при 400 g в течение 20 мин. Осажденные спленоциты ресуспендировали в 2 мл среды RPMI с указанными добавками. Лимфоциты подсчитывали и определяли жизнеспособность каждого образца путем исключения трипанового синего на гемцитометре. Количество и жизнеспособность регистрировали и использовали для нормализации количества лимфоцитов во время посева клеток для анализа иммунной функции.

Митогенная активность. Митогенную активность исследовали с использованием метода Эрне—Нордина [13]. В этих экспериментах использовали мышей линий $F_1(\text{CBA} \times \text{C57Bl}/6)$ — самцов с массой тела 18–20 г. В качестве антигена для иммунизации использовали эритроциты барана.

Субстанцию STP растворяли в 0.9% NaCl , фильтровали через фильтр 0.22 мкм и вводили мышам внутрибрюшинно в дозах 100 мкг/мышь или 500 мкг/мышь однократно в 0.5 мл раствора.

Мышей умерщвляли на пятые сутки после иммунизации путем смещения шейных позвонков и извлекали селезенки. Селезенки помещали в сре-

ду RPMI, содержащую глутамат (4 мл на одну селезенку).

Эритроциты дефибринированной бараньей крови трижды промывали центрифугированием в 50-кратном объеме раствора Хэнка, затем ресуспендировали в том же растворе. Контрольным мышам вводили эритроциты барана (2×10^6), опытным мышам вводили эритроциты барана (2×10^6) и STP в количестве 100 или 500 мкг/мышь, мышам из группы положительного контроля вводили эритроциты барана (2×10^6) и 10 мкг/мл липополисахарида (LPS из *E. coli* 0127:B8, Sigma-Aldrich, США) внутривенно. Каждая группа состояла из десяти подопытных животных. Уровень иммунного ответа у мышей F_1 (СВАхС57Bl/6), иммунизированных эритроцитами барана, определяли по количеству антигенообразующих клеток, выявляемых в селезенке по количеству зон лизиса в агаре и клеточности селезенки прямым подсчетом клеток через пять суток после иммунизации. Эксперимент был повторен три раза.

Для формирования агарозного слоя 150 мг 3% агарозы растворяли в 48 мл раствора PBS:RPMI (1:2 по объему) на кипящей водяной бане в течение часа. Доводили pH до диапазона 6.9 ± 0.5 и раствор помещали на кипящую баню на 5 мин. Горячую агарозу термостатировали при 47°C в течение 10 мин и добавляли предварительно промытые эритроциты до 20% конечного объема. Полученный раствор тщательно перемешивали и аликвотами по 3 мл разливали в чашки Петри ($d = 8.5$ см), нагретые до 47°C , встряхивая для равномерного распределения раствора. Агарозному слою давали остыть на равновесном столе, после чего его накрывали крышкой и термостатировали в течение 90 мин при 37°C в инкубаторе с CO_2 . Раствор комплемента (1 ампула объемом 1 мл сухого комплемента на 10 мл стерильного изотонического разового фосфатно-солевого буфера) медленно добавляли по 0.5 мл вдоль стенки, покрывая слой агарозы, после чего инкубировали в течение 15 мин – 1 ч (в зависимости от активности реакции комплемента для предотвращения полного лизиса) и подсчитывали зоны лизиса. Количество зон лизиса соответствует количеству антигенообразующих клеток. Рассчитывали количество антигенообразующих клеток на селезенку и коэффициент стимуляции.

Клетки селезенки суспендировали в 3 мл среды RPMI с добавками в концентрации 4×10^6 клеток/мл. Для анализа бляшек по Эрне–Нордину среда с добавками содержала инактивированную нагреванием эмбриональную телячью сыворотку (Hyclone, США), 1% пенициллина/стрептомицина (Cambrex, США), 1% L-глутамин (Cambrex, США), 0.09% 55 mM 2-меркаптоэтанола (Gibco,

США), 1% 100 mM пирувата натрия (Cambrex, США) и 0.5% гентамицина (Gibco, США). Эритроциты барана (1% клеток в среде по объему) (Colorado Serum, США) промывали и суспендировали в среде RPMI с добавками и добавляли в соответствующие лунки 48-луночного планшета. Каждый образец иммунизировали эритроцитами барана в двух повторностях. Среду, не содержащую эритроцитов, использовали для неиммунизированных контрольных лунок для каждого образца. Клетки инкубировали в течение четырех суток при 37°C в 5% CO_2 . После иммунизации клеток селезенки их промывали и ресуспендировали в среде с указанными добавками. Раствор 0.8% агарозы (SeaPlaque, Cambrex, Rockland, ME) в среде $2 \times \text{RPMI}$ (Gibco, США) нагревали до 43°C в стеклянных пробирках. В пробирки добавляли эритроциты барана и клетки селезенки, затем распределяли на предметные стекла микроскопа, покрытые агарозой, и инкубировали лицевой стороной вниз на специальных лотках для предметных стекол во влажном пластиковом боксе при 37°C в течение 1 ч.

Комплемент морской свинки (Colorado Serum, США) разбавляли 1:20 в фосфатно-солевом буфере Дульбекко, содержащем Ca^{2+} и Mg^{2+} (Sigma-Aldrich, США), и нагревали до 37°C на водяной бане. Предметные стекла заливали разбавленным комплементом после инкубации в течение 1 ч. Предметные стекла извлекали из инкубатора и хранили в холодном 0.85% растворе хлорида натрия. Лизис эритроцитов барана определяли количественно путем подсчета бляшек на газоне «эритроциты барана/агар» с использованием препаровального микроскопа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В нашем способе приготовления картофельного сока мы применили мягкое разрушение мякоти картофеля, что позволяет сохранить структуру пектина из клеточных стенок. Клубни картофельного пюре гомогенизировали в деионизированной воде с фенолметилсульфонилфторидом. После шнекового прессования гомогената, последующего повторного смешивания с деионизированной водой с фенолметилсульфонилфторидом и центрифугирования полученные супернатанты объединяли и фракционировали ультрафильтрацией. Собранные фракции с молекулярной массой 10–100 кДа повторно центрифугировали и полученный супернатант лиофилизировали для фракционирования и дальнейшего анализа.

После окончательной хроматографической очистки выделяли и концентрировали фракцию с молекулярной массой ~70 кДа (STP-фракцию). Молекулярную массу (MW) STP-фракции рас-

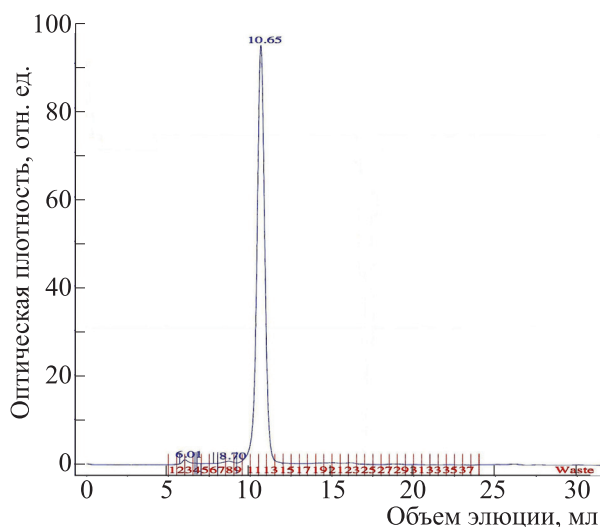


Рис. 4. Хроматограмма STP, полученная методом ВЭЖХ-ГПХ.

считывали на основе калибровочной кривой для декстрана, описываемой уравнением $\lg(MW) = 5.0354 - 0.7553K_{av} - 3.6489K_{av}^2$, где K_{av} — коэффициент распределения для гелевой фазы) [15].

Далее фракцию STP подвергали ВЭЖХ-ГПХ-хроматографии. На хроматограмме, приведенной

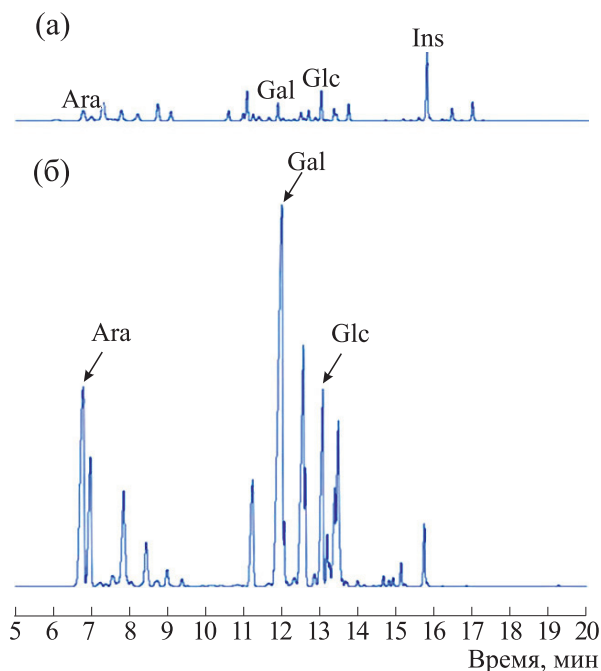


Рис. 5. Анализ методом ГХ-ПИД: (а) — смешанные стандарты: арабиноза, рамноза, фукоза, ксилоза, манноза, галактоза, глюкоза, глюкуроновая кислота, галактурановая кислота, N-ацетилглюкозамин и N-ацетилгалактозамин; (б) — STP после кислотного гидролиза с последующей дериватизацией.

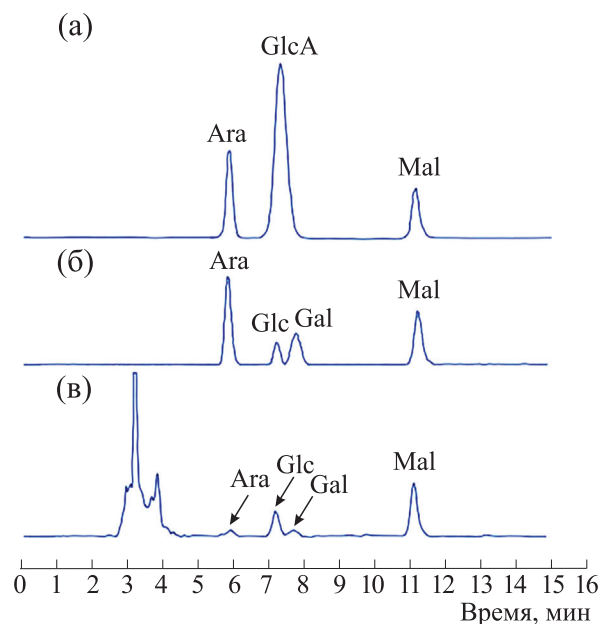


Рис. 6. Анализ методом ВЭЖХ: (а) — смешанные стандарты (арабиноза, глюкуроновая кислота, мальтит); (б) — смешанные стандарты (арабиноза, галактоза, глюкоза, мальтит); (в) — гидролизат STP.

на рис. 4, наблюдался симметричный пик, что указывает на гомогенность полисахаридного компонента. Молекулярную массу STP (70 кДа) рассчитывали на основе калибровочной кривой для декстрана: $\lg(MW) = -3.1086 + 1.8812RT - 0.1103 RT^2$ (RT — время удерживания).

Анализ моносахаридного состава проводили методом ГХ-ПИД. Хроматограмма, представленная на рис. 5, показывает, что STP в основном состоит из галактозы и арабинозы — 39.7–41.9% и 27.1–28.3% соответственно, а также остатков моносахаридов глюкозы (8.5–9.2%), других веществ, идентифицированных колориметрическим методом с 3,5-диметилфенолом с использованием d-галактурановой кислоты в качестве стандарта [16] как урановые кислоты (9.2–10.1%), и белков, определенных методом Бредфорда с использованием бычьего сывороточного альбумина в качестве стандарта [13] (не менее 9%).

ВЭЖХ-хроматограмма на рис. 6 показывает присутствие галактозы и арабинозы (37.5% и 23.5% соответственно), а также остатков моносахаридов глюкозы и глюкуроновой кислоты.

Пики на ИК-Фурье-спектре представлены на рис. 7 и перечислены в табл. 1. Пики при 3442, 3377 и 3130 см^{-1} соответствуют —C—N групп CH_2 . Растягивающие колебания C—O, C—C и кольцевых структур доминируют в области 1200–800 см^{-1} .

Было обнаружено, что изгибные колебания (деформации) групп CH_2 полезны для идентифи-

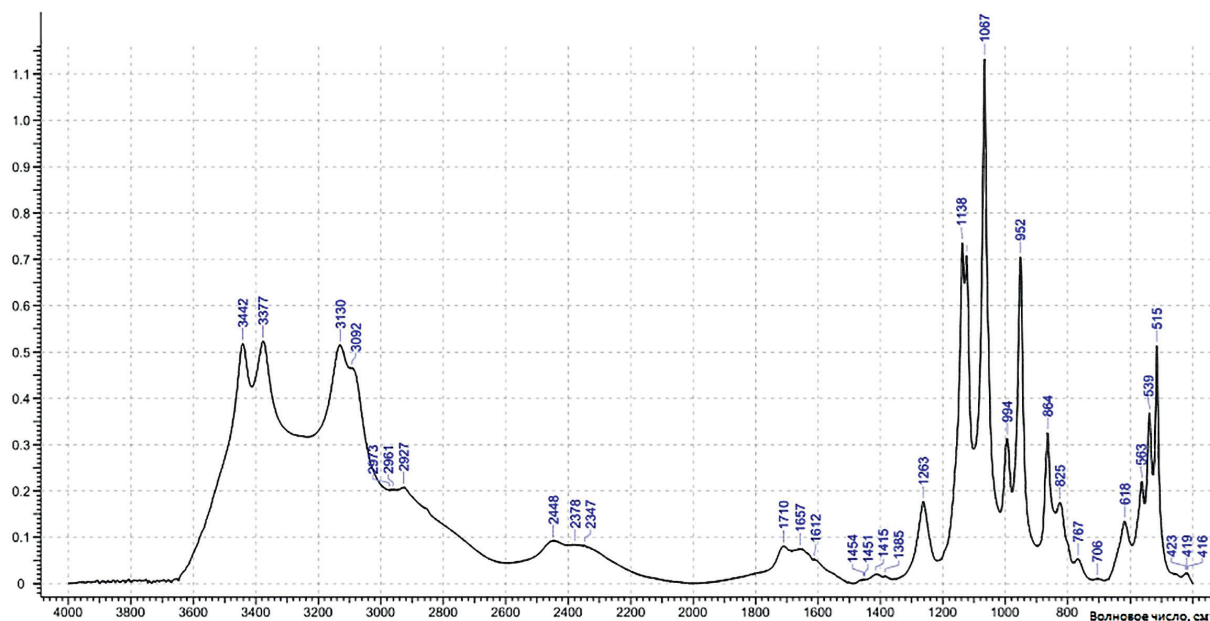


Рис. 7. ИК-Фурье-спектр STP.

кации полисахаридов. Сообщалось, что полосы при 1138, 1124 и 1067 см^{-1} являются основными областями поглощения уроновых кислот. Полоса поглощения в диапазоне 1100–1030 см^{-1} с максимумом при 1067 см^{-1} может быть отнесена к галактозе [17, 18]. В ИК-спектрах представлены общие для всех углеводов пики [10, 11, 19].

Результаты анализа митогенной активности представлены в табл. 2. STP статистически значимо стимулирует как количество клеток селезенки, так и зоны лизиса в чашке с агаром. Таким образом, можно сделать вывод, что STP проявляет митогенную активность.

Была выделена одна значимая по биологической активности фракция с молекулярной массой 70 кДа, установлен ее моносахаридный состав и некоторые оптические свойства.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сочетание различных методов экстракции (ультрафильтрация) и очистки (гель-фильтрация, ионообменная хроматография) позволило получить гомогенную высокоочищенную полисахаридную фракцию. Данные ИК-Фурье-спектроскопии свидетельствовали о наличии уроновых кислот и галактозы в структуре соединения. Данные ВЭЖХ-ГПХ и ГХ-ПИД позволяют заклю-

Таблица 1. Данные ИК-Фурье-спектроскопии STP

Метод анализа	Пики (см^{-1})
ИК-Фурье	3442, 3377, 3130, 2448, 1710, 1415, 1263, 1138, 1124, 1067, 994, 952, 864, 825, 618, 563, 539, 515, 419

Таблица 2. Данные анализа митогенной активности STP в селезенке мышей

	Количество клеток селезенки, млн	Количество антителообразующих клеток на селезенку
Контроль	102,4±11,3	70,5±9,1
LPS (10 мкг/мл)	223,9±14,8*	69,4±8,9
STP 100 мкг/мышь	216,0±22,5*	102,3±13,9*
STP 500 мкг/мышь	240,7±17,7*	144,0±12,1*

Примечание. Приведены средние значения ± средние квадратичные отклонения; * $p < 0.05$ – статистически значимое отклонение от контроля.

чить, что данная молекула полисахарида, возможно, относится к группе арабиногалактана. Данный полисахарид показал высокую биологическую активность у мышей — митогенную активность, что, скорее всего, связано с его структурой.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает благодарность компании GlycoMar Limited, в частности доктору Ч.Д. Бэвингтону и доктору Д.С. Томсону за проведение анализа STP методом ГХ-ПВД, SGS Testing & Control Services Singapore Pte Ltd, в частности С. Рагупати и Ч. М. Э. Орзалес за ИК-спектроскопию STP.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Статья не содержит каких-либо исследований с участием людей в экспериментах, выполненных кем-либо из авторов, в отношении использованных в исследовании животных были соблюдены применимые стандарты исследований.

ДОСТУПНОСТЬ ОБРАЗЦОВ

Образцы соединений *Solanum tuberosum* L. доступны по запросу.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. M. E. Camire, S. Kubow, and D. J. Donnelly, Crit. Rev. Food Sci. Nutr., **49** (10), 823 (2009).
2. M. Kujawska, A. Olejnik, G. Lewandowicz, et al., Nutrients, **10** (2), 259 (2018).
3. J. E. Vlachojannis, M. Cameron, and S. Chrubasik, Phytother. Res., **24** (2), 159 (2010).
4. H. Chen, J. Sun, J. Liu, et al., Int. J. Biol. Macromol., **131**, 484 (2019).
5. S. Chrubasik, T. Boyko, Y. Filippov, and T. Torda, Phytomedicine, **13** (8), 596 (2006).
6. M. G. Basilicata, G. Pepe, S. F. Rapa, et al., Int. J. Mol. Sci., **20** (23), 6087 (2019).
7. W. G. Jardine, C. H. L. Doeswijk-Voragen, I. M. R. MacKinnon, et al., J. Sci. Food Agric., **82** (8), 834 (2002).
8. D. T. Do, J. Singh, I. Oey, and H. Singh. Food Hydrocolloids, **108**, 105972 (2020).
9. M. C. Jarvis, M. A. Hall, D. R. Threlfall, J. Friend, Planta, **152** (2), 93 (1981).
10. A. I. Usov, M. I. Bilan, and N. G. Klochkova, Botanica Marina, **38**, 43 (1995).
11. M. M. Bradford, Anal. Biochem., **72** (1–2), 248 (1976).
12. R. Hori and J. Sugiyama, Carbohydr. Polym., **52** (4), 449 (2003).
13. N. K. Jerne, A. A. Nordin, Science, **140** (3565), 405 (1963).
14. W. S. York, A. G. Darvill, M. McNeil, et al., in *Methods in Enzymology*, vol. 118, Plant Molecular Biology, Ed. by A. Weissbach and H. Weissbach (Acad. Press, London, New York, San Diego, 1986), pp. 3–40.
15. C. C. Sweeley, R. V. P. Tao, in *Methods in Carbohydrate Chemistry*, Ed. by R. L. Whistler (Acad. Press, London, New York, San Diego, 1972), pp. 23–25.
16. C. C. Sweeley, R. Bentley, M. Makita, and W. W. Wells, J. Am. Chem. Soc., **85** (16), 2497 (1963).
17. M. DuBois, K. A. Gilles, J. K. Hamilton, et al., Anal. Chem., **28** (3), 350 (1956).
18. K. Wilson, and J. Walker, *Principles and Techniques of Practical Biochemistry* (Cambridge University Press, Cambridge, 2000).
19. M. Černá, A. S. Barros, A. Nunes, et al., Carbohydr. Polym., **51** (4), 383 (2003).

Composition and Mitogenic Activity of Polysaccharide from *Solanum tuberosum* L.

E.A. Generalov*,** and L.V. Yakovenko*

*Department of Physics, Lomonosov Moscow State University, Leninskiye Gory, 1/2, Moscow, 119991 Russia

**I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), Trubetskaya ul. 8/2, Moscow, 119991 Russia

Solanum tuberosum polysaccharide (STP) was isolated from the water extract of *Solanum tuberosum* L. and purified by ion-exchange and gel-filtration chromatography. Its molecular weight was determined by using gel permeation chromatography method and high performance liquid chromatography technique and its monosaccharide composition was analyzed using high performance liquid chromatography and gas chromatography with a flame ionization detector and a capillary column. It was shown that STP was consisted of galactose (Gal) and arabinose (Ara) (37.5 and 23.5%, respectively), along with uronic acids (9.7%), glucose monosaccharide residues (15%) and proteins (no less than 9%). The molecular weight of STP was 70 kDa. The Fourier-transform infrared technique was used for structural analysis of STP. The mitogenic activity of extracted polysaccharide is comparable to that of lipopolysaccharide.

Keywords: *Solanum tuberosum*, polysaccharides; monosaccharide composition, mitogenic activity