



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 1. С. 44–50

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2024, vol. 24, iss. 1, pp. 44–50

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-44-50>, EDN: AJKDRB

Научная статья

УДК 579.64:661.162.66

Изменение химических, физико-химических и биологических свойств липополисахарида *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 при O-деацелировании



Ю. А. Филиппьева¹✉, Е. Н. Сигида¹, О. В. Ткаченко², Г. Л. Бурьгин^{1,2,3}

¹Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН» (ИБФРМ РАН), Россия, 410049, г. Саратов, пр. Энтузиастов, д. 13

²Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н. И. Вавилова, Россия, 410012, г. Саратов, пр. им. П. Столыпина, д. 4

³Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

Филиппьева Юлия Анатольевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории генетики микроорганизмов, ljuche@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3182-1007>

Сигида Елена Николаевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биохимии, si_elena@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9223-4589>

Ткаченко Оксана Викторовна, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры «Растениеводство, селекция и генетика», oktkachenko@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8327-6763>

Бурьгин Геннадий Леонидович, кандидат биологических наук, ¹старший научный сотрудник лаборатории иммунохимии; ²доцент кафедры «Растениеводство, селекция и генетика»; ³доцент кафедры органической и биорганической химии, burygingl@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8031-9641>

Аннотация. Липополисахариды – соединения бактериального происхождения, обладающие биологической активностью в отношении растений, животных и человека. Представлена информация о получении и характеристике свойств модифицированных производных липополисахарида ризосферной бактерии *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2. Деацелирование проводили с помощью щелочного гидролиза с последующим хроматографическим разделением фракций. О-деацелирование О-полисахарида приводило к увеличению в 2 раза экстинкции продуктов фенол-серноокислотной реакции. Жирнокислотный состав липида А при щелочном гидролизе не изменялся. Сравнение надмолекулярных частиц в водной среде нативной и деацелированной форм липополисахарида методом динамического рассеяния света выявило, что в результате модификации происходило снижение размеров мицелл с 65 до 35 нм и повышение значения их отрицательного дзета-потенциала с –22 до –30 мВ. Установлено, что нестехиометрическое ацелирование липополисахарида *O. cytisi* IPA7.2 не влияло на взаимодействие со специфическими антителами, но являлось важным для проявления рост-стимулирующей активности в отношении микрорастений картофеля.

Ключевые слова: липополисахарид, *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2, ацелирование, динамическое рассеяние света, надмолекулярные частицы, картофель, *in vitro*

Благодарности. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект №22-26-00293, <https://rscf.ru/project/22-26-00293/>).

Для цитирования: Филиппьева Ю. А., Сигида Е. Н., Ткаченко О. В., Бурьгин Г. Л. Изменение химических, физико-химических и биологических свойств липополисахарида *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 при O-деацелировании // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 1. С. 44–50. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-44-50>, EDN: AJKDRB
Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Changes in the chemical, physical-chemical and biological properties of *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 lipopolysaccharide during O-deacylation

Yu. A. Filip'icheva¹✉, E. N. Sigida¹, O. V. Tkachenko², G. L. Burygin^{1,2,3}

¹Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Saratov Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences (IBPPM RAS), 13 Prospekt Entuziastov, Saratov 410049, Russia

²Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N. I. Vavilov, 4 Prospekt Stolypina, Saratov 410012, Russia

³Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia



Yuliya A. Filip'echeva, ljuche@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3182-1007>

Elena N. Sigida, si_elena@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9223-4589>

Oksana V. Tkachenko, oktkachenko@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8327-6763>

Gennadiy L. Burygin, burygingl@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8031-9641>

Abstract. Lipopolysaccharides are compounds of bacterial origin that have biological activity against plants, animals and humans. This work provides information on the preparation and characterization of the properties of modified lipopolysaccharide derivatives of the rhizosphere bacterium *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2. Deacylation has been carried out using alkaline hydrolysis, followed by chromatographic separation of the fractions. O-deacylation of O-polysaccharide led to a 2-fold increase in the extinction of the products of the phenol-sulfuric acid reaction. The fatty acid composition of lipid A did not change during alkaline hydrolysis. A comparison of supramolecular particles in an aqueous medium of native and deacylated forms of lipopolysaccharide using dynamic light scattering revealed that, as a result of modification, the size of micelles decreased from 65 nm to 35 nm and their negative zeta potential increased from -22 mV to -30 mV. It has been found that non-stoichiometric acetylation of lipopolysaccharide *O. cytisi* IPA7.2 did not affect the interaction with specific antibodies but was important for the manifestation of growth-stimulating activity towards potato microplants.

Keywords: lipopolysaccharide, *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2, acetylation, dynamic light scattering, supramolecular particles, potato, *in vitro*

Acknowledgements: This work was supported by the Russian Science Foundation (project no. 22-26-00293, <https://rscf.ru/project/22-26-00293/>).

For citation: Filip'echeva Yu. A., Sigida E. N., Tkachenko O. V., Burygin G. L. Changes in the chemical, physical-chemical and biological properties of *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 lipopolysaccharide during O-deacylation. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 1, pp. 44–50 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-44-50>, EDN: AJKDRB

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

Поверхность клеток грамотрицательных бактерий образована наружной мембраной клеточной стенки, мажорным компонентом которой являются молекулы липополисахарида (ЛПС) [1]. В связи с этим именно структура ЛПС во многом определяет активность взаимодействия бактерий с объектами окружающей среды, в том числе с клетками животных и растений [2]. ЛПС являются амфифильными молекулами, содержащими гидрофобную часть в виде липида А и гидрофильные олигосахаридный кор и О-полисахарид (ОПС) [3]. При этом ОПС бактерий могут содержать остатки дезоксисахаров и различные гидрофобные функциональные группы (метильные, ацетильные и другие). Присутствие модификаций моносахаридных остатков в составе ОПС могут значительно изменять химические и физико-химические свойства, приводящие и к изменениям биологических свойств ЛПС [4].

Одной из групп микроорганизмов, имеющих широкий биотехнологический потенциал, являются бактерии рода *Ochrobactrum*, широко распространенные в природе. Штаммы этого рода часто выделяются из почвы, сточных вод, растений и клинических образцов [5]. В частности, бактерии *Ochrobactrum* spp. часто выделяются из корней картофеля в разных географических точках и поэтому рассматриваются в качестве перспективных объектов в технологии повышения эффективности культивирования растений картофеля [6].

Структура и свойства ЛПС бактерий рода *Ochrobactrum* относительно мало изучены. На сегодняшний день охарактеризованы химические структуры О-полисахаридов (ОПС) лишь 5 штаммов данной группы бактерий. Ранее нами из корней картофеля был выделен бактериальный штамм *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 [6], для которого была описана структура повторяющегося олигосахаридного звена ОПС и показана рост-стимулирующая активность ЛПС этого штамма в отношении микрорастений картофеля [7]. Остаток *N*-ацетилглюкозамина в ОПС штамма *O. cytisi* IPA7.2 был ацетилирован в положении 3 и нестехиометрически ацетилирован в положении 6. В работе [4] было показано, что ацетилирование ЛПС значительно влияет на успешность бактериальной колонизации корней растений. В связи с этим целью данной работы являлось получение деацелированного препарата ЛПС штамма *O. cytisi* IPA7.2 и изучение его химического состава, физико-химических и антигенных свойств, а также влияния на рост микрорастений картофеля.

Материалы и методы

Объектом данного исследования являлся ЛПС штамма *O. cytisi* IPA7.2, для которого ранее была описана структура повторяющегося звена и активность по отношению к микрорастениям картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Кондор.

В данной работе был проведен щелочной гидролиз препарата ЛПС штамма IPA7.2 при действии 12% NH_4OH в течение 16 ч при 37 °С.



Образовавшийся дезацелированный липополисахарид (ДЛПС) обессоливали на колонке TSK HW-40 (S) в 1 %-ном водном растворе уксусной кислоты с последующей лиофилизацией. Выход препарата ДЛПС составил около 60% от использованного для гидролиза препарата ЛПС.

Растворы глюкозы (25 мкг/мл), ЛПС и ДЛПС (75 мкг/мл) объёмом 0,5 мл смешивали с 0,5 мл 5%-ного водного раствора фенола и 2,5 мл концентрированной серной кислоты [8]. После охлаждения растворов до комнатной температуры проводили измерение спектров с шагом 0,5 нм в диапазоне длин волн 400–600 нм с помощью спектрофотометра Spеcord S300 (Analytik Jena, Германия). Полученные спектры сравнивали со спектрами ОПС и дезацелированного ОПС (ДПС), препараты которых были получены в работе [7].

Препараты ЛПС и ДЛПС были исследованы на взаимодействие со специфическими антителами к О-антигену штамма *O. cytisi* IPA7.2 с помощью метода двойной радиальной иммунодиффузии в агарозном геле [9].

Качественное и количественное определение содержания остатков жирных кислот в составе препаратов ЛПС и ДЛПС было проведено посредством анализа метиловых эфиров жирных кислот, как было описано в [10] с помощью газового хроматографа GC-2010 (Shimadzu, Япония) на колонке EQUITY-1 (30 м × 0,32 мм) (Sigma-Aldrich, США). Была использована следующая температурная программа: 110 °С 5 мин с последующим повышением до 290 °С со скоростью 5 °С/мин, конечное время элюции составило 30 мин; в качестве газа-носителя был использован гелий со скоростью потока 1,3 мл/мин. Жирные кислоты были идентифицированы с использованием стандартной смеси метиловых эфиров жирных кислот (Sigma Aldrich, США).

Для водных растворов ЛПС и ДЛПС с концентрацией 2,0 мг/мл было проведено измерение размера надмолекулярных частиц и их дзета-потенциала методом динамического рассеяния света с помощью дзета-сайзера Malvern Nano-ZS (Malvern, Великобритания) при температуре 37°С. Измерения проводили как было описано ранее [11]. Использовали показатели для воды как растворителя и углеводов как исследуемых макромолекул; фокусное расстояние – центр кюветы. Для определения дзета-потенциала использовали установки программы DTS (Malvern, Великобритания) по умолчанию. Проводили по 10 измерений каждого из параметров.

Статистическая обработка результатов. Во всех случаях количественных измерений проводили не менее трех независимых экспериментов как минимум в трех повторностях. Результаты обрабатывали с использованием пакета Microsoft Office Excel 2010; доверительные интервалы определяли для уровня значимости 95% ($P = 0,05$).

Результаты и их обсуждение

Результаты измерения методом динамического рассеяния света распределения по размеру надмолекулярных частиц (мицелл), формируемых в водной среде препаратами ЛПС и ДЛПС, показали, что в результате щелочного гидролиза происходит снижение среднего диаметра частиц почти в два раза (с 65 до 35 нм) (рис. 1, а). Столь сильное изменение размеров мицелл может быть связано как с удалением примесных фосфолипидов и, соответственно, снижением гидрофобного ядра мицелл, так и удалением ацетильных групп О-полисахарида, приводящих к снижению гидрофобных взаимодействий между углеводными частями формируемых частиц с распадом на отдельные мицеллы. Кроме того, установлено, что О-дезацелирование ЛПС изменяет дзета-потенциал надмолекулярных частиц с –22 до –30 мВ (см. рис. 1, б). Повышение отрицательного значения дзета-потенциала мицелл ДЛПС может быть связано с увеличением доступности карбоксильных групп остатков *N*-ацетилманнуриновой кислоты в составе О-полисахарида.

Анализ результатов фенол-сернокислотной реакции (рис. 2) показал, что спектральные характеристики всех исследованных препаратов сходны между собой и со спектром глюкозы. Это наблюдение свидетельствует о том, что из трёх моносахаридных остатков в составе повторяющегося звена ОПС окрашенные продукты реакции образует только остаток глюкозы. При этом дезацетилизация ОПС приводило к двукратному увеличению экстинкции продуктов фенол-сернокислотной реакции при сохранении спектральных характеристик для препаратов ДПС, что может свидетельствовать об участии в реакции остатка *N*-ацетилглюкозамина после его полного дезацетилирования, происходящего в результате последовательных кислотного и щелочного гидролиза. При этом отдельно кислотный (препарат ОПС) или щелочной (препарат ДЛПС) гидролиз не приводил к подобному эффекту.

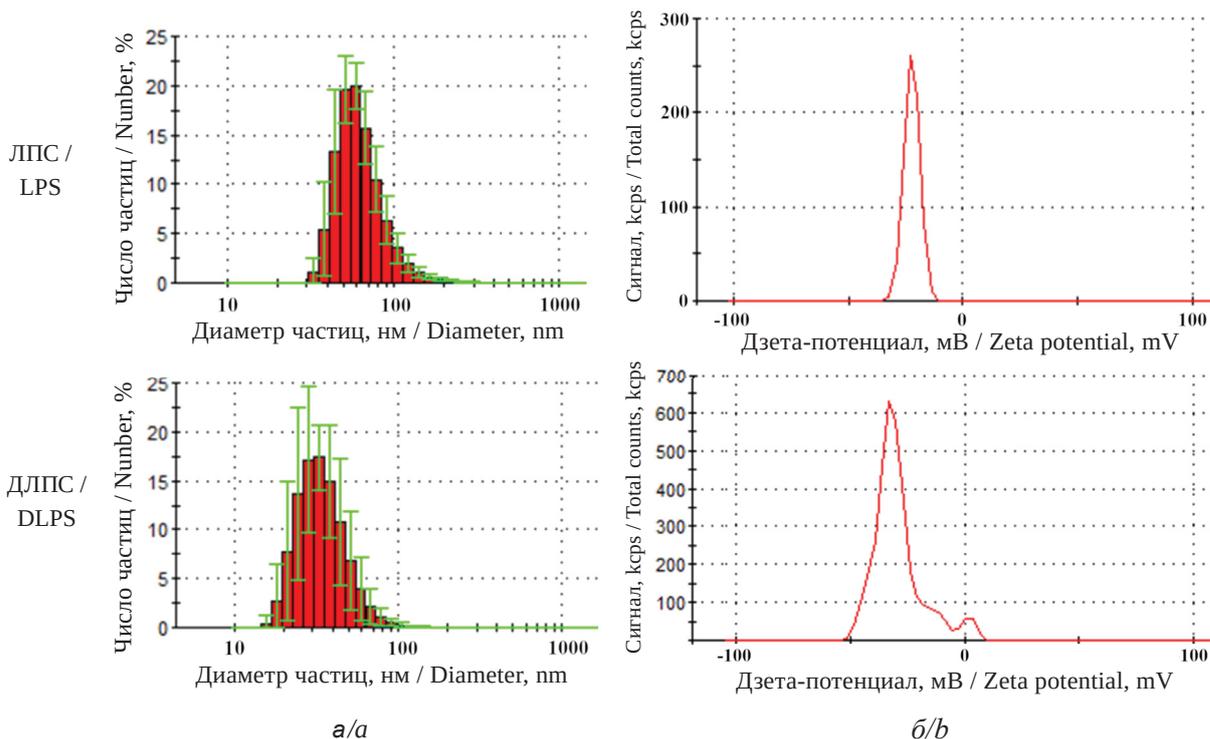


Рис. 1. Результаты измерения размера (а) и дзета-потенциала (б) надмолекулярных частиц, образуемых препаратами ЛПС и ДЛПС ризобактерии *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 в водной среде при концентрации 2 мг/мл. Погрешности показывают стандартные отклонения для 10 измерений

Fig. 1. Results of measuring the size (a) and zeta potential (b) of LPS and DLPS micelles from bacterium *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 in an aqueous medium at a concentration of 2 mg/ml. Bars show standard deviations (\pm SD) for 10 measurements

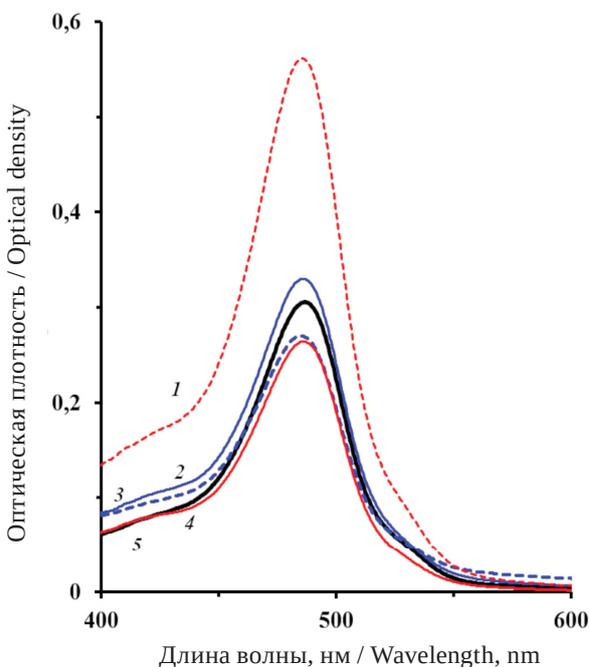


Рис. 2. Спектры продуктов фенол-сернокислотной реакции препаратов: 1 – ДПС; 2 – ЛПС; 3 – ДЛПС; 4 – ОПС; 5 – в сравнении со спектром глюкозы

Fig. 2. Spectra of the products of the phenol-sulfuric acid reaction for: 1 – DPS; 2 – LPS; 3 – DLPS; 4 – OPS; 5 – glucose

Анализ состава жирных кислот в препаратах ЛПС и ДЛПС показал преобладание остатков 3-гидрокситетрадекановой [14:0(3-ОН)], 3-гидроксигексадекановой [16:0(3-ОН)], 11,12-метилен-октадекановой [19с:0] и 27-гидроксиоктакозановой [28:0(27-ОН)] кислот. Жирнокислотный состав препаратов был качественно идентичен. Из чего был сделан вывод, что при щелочном гидролизе липид А не изменяется, что свидетельствует о химической устойчивости липида А из-за соединения жирных кислот четырьмя устойчивыми к щелочному гидролизу амидными связями (в положениях 2, 3, 2' и 3' обоих остатков 2,3-диамино-D-глюкозы (GlcN3N) липида А, как это ранее было показано для липида А типовых штаммов *Ochrobactrum anthropi* LMG 3301 [12] и *Phyllobacterium trifolii* ПЕТР02 [13].

Также провели изучение иммунохимических свойств полученных препаратов с использованием антител к клеткам *O. cytisi* IPA7.2 с помощью иммунодиффузионного анализа. Было обнаружено, что ДЛПС и ЛПС одинаково взаимодействуют с антителами. Таким образом, ацетильные группы, удалённые при щелочном гидролизе из полисахаридной части, не влияют



на взаимодействие с антителами. Это может быть объяснено структурой биологического звена О-полисахарида (рис. 3). Поскольку наибольший вклад во взаимодействие с антителами вносит терминальный и субтерминальные остатки моносахаридов [14, 15], которые в составе ОПС штамма *O. cytisi* IPA7.2 неацетилированы, аффинность антител, специфичных к нативному ОПС,

остаётся высокой. Удаление же ацетильной группы у третьего с терминального конца моносахаридного остатка не влияет на взаимодействие с антителами. Показано также, что препараты ОПС и ДПС не образуют полос преципитации с антителами в агарозном геле, что может быть связано с образованием растворимых иммунных комплексов.

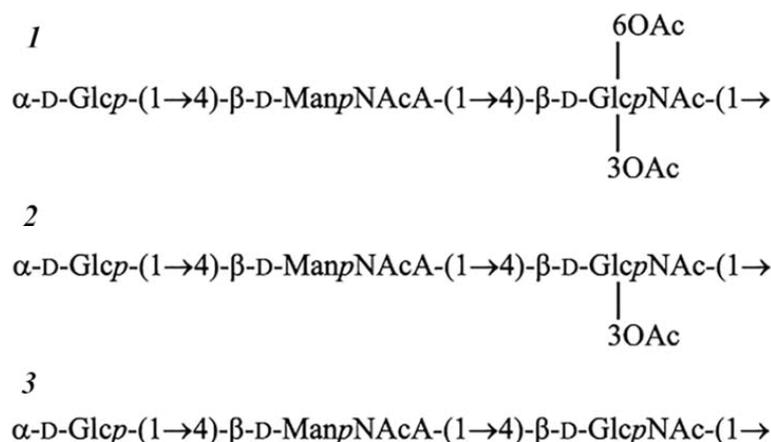


Рис. 3. Структуры терминальных олигосахаридных звеньев в составе ЛПС (1, 2) и ДЛПС (3). Нестехиометрическое ацетилирование О-полисахарида делает возможным ацетилирование остатка N-ацетилглюкозамина по положениям 3 и 6 (1) или только по положению 3 (2)

Fig. 3. Structures of terminal oligosaccharide repeats of LPS (1, 2) and DLPS (3). Non-stoichiometric acetylation of the O-polysaccharide makes it possible to acetylate the N-acetylglucosamine residue at positions 3 and 6 (1) or only at position 3 (2)

Был проведён эксперимент по изучению влияния полученного препарата ДЛПС на рост микрорастений картофеля в условиях *in vitro*. К 7-суточным микрорастениям картофеля были

добавлены препараты ЛПС и ДЛПС до конечной концентрации в среде культивирования 10 мкг/мл. Через 14 дней были измерены морфометрические показатели микрорастений (таблица).

Морфометрические параметры 21-суточных микрорастений картофеля сорта Кондор, обработанных препаратами ЛПС и ДЛПС штамма *O. cytisi* IPA7.2

Table. Morphometric parameters of 21-day-old potato microplants (cultivar Kondor) treated with LPS and DLPS of *O. cytisi* strain IPA7.2

Вариант	Длина побега, см	Кол-во корней, шт.	Длина корней, см	Сухая масса, мг	
				побега	корней
Контроль	10,78	6,70 a	11,0 a	339	172 a
ЛПС	9,50	7,75 b	14,7 b	313	198 b
ДЛПС	9,50	6,30 a	9,40 a	326	182 a
$F_{\text{факт}}$	1,09	4,87*	5,99*	1,23	4,74*
$\text{НСР}_{0,05}$	–	0,86	2,65	–	12

Примечание. * Показывает присутствие достоверных различий для исследуемого параметра по данным однофакторного дисперсионного анализа ($F_{\text{факт}} > F_{\text{теор}}$). Различные латинские буквы (a и b) указывают на статистическую значимость различий между вариантами при ранжировании средних по тесту Дункана.

Note. * Indicates the presence of significant differences for the studied parameter according to one-way ANOVA ($F_{\text{факт}} > F_{\text{теор}}$). Different Latin letters (a and b) indicate the statistical significance of the differences between the variants by ranking the means using the Duncan test.



Установлено, что препарат ЛПС достоверно повышал количество (+16%) и среднюю длину корней (+13%) микрорастений картофеля, а также увеличивал сухую массу корней на 15% относительно микрорастений контрольного варианта. При этом микрорастения, выращенные на среде с добавлением препарата ДЛПС, не отличались от контрольных. Таким образом, ацелирование полисахаридной части молекул ЛПС является важным для проявления биологической активности в отношении растений.

Заключение

Полученные данные свидетельствуют о том, что нестехиометрическое ацелирование ОПС *O. cytisi* IPA7.2 не оказывает существенного влияния на взаимодействие со специфическими антителами, но является важным для взаимодействия молекул ЛПС с растениями.

Список литературы

1. Raetz C. R., Whitfield C. Lipopolysaccharide endotoxins // *Ann. Rev. Biochem.* 2002. Vol. 71, iss. 1. P. 635–700. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.71.110601.135414>
2. Kagan J. C. Lipopolysaccharide detection across the kingdoms of life // *Trends Immunol.* 2017. Vol. 38, iss. 10. P. 696–704. <https://doi.org/10.1016/j.it.2017.05.001>
3. Valvano M. A. Genetics and biosynthesis of lipopolysaccharide // *Molecular medical microbiology* / eds. Y.-W. Tang, M. Sussman, D. Liu, I. Pexton, J. Schwartzman. 2nd ed. Academic Press, 2015. P. 55–89. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397169-2.00004-4>
4. Vanacore A., Vitiello G., Wanke A., Cavasso D., Clifton L. A., Mahdi L., Campanero-Rhodes M. A., Solís D., Wuhler M., Nicolardi S., Molinaro A. Lipopolysaccharide O-antigen molecular and supramolecular modifications of plant root microbiota are pivotal for host recognition // *Carbohydr. Polym.* 2022. Vol. 277. Article number 118839. P. 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118839>
5. Ryan M. P., Pembroke J. T. The genus *Ochrobactrum* as major opportunistic pathogens // *Microorganisms.* 2020. Vol. 8 (11). Article number 1797. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8111797>
6. Burygin G. L., Kargapolova K. Yu., Kryuchkova Ye. V., Avdeeva E. S., Gogoleva N. E., Ponomaryova T. S., Tkachenko O. V. *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 promotes growth of potato microplants and is resistant to abiotic stress // *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2019. Vol. 35, iss. 4. Article number 55. P. 1–12. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2633-x>
7. Sigida E. N., Kargapolova K. Y., Shashkov A. S., Zdorovenko E. L., Ponomaryova T. S., Meshcheryakova A. A., Tkachenko O. V., Burygin G. L., Knirel Y. A. Structure, gene cluster of the O antigen and biological activity of the lipopolysaccharide from the rhizospheric bacterium *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 // *Int. J. Biol. Macromol.* 2020. Vol. 154. P. 1375–1381. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.017>
8. DuBois M., Gilles K. A., Hamilton J. K., Rebers P. T., Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances // *Anal. Chem.* 1956. Vol. 28, iss. 3. P. 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
9. Bailey G. S. Ouchterlony double immunodiffusion // *The protein protocols handbook.* 1996. P. 749–752. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-259-9_135
10. Zdorovenko E. L., Kadykova A. A., Shashkov A. S., Varbanets L. D., Bulyhina T. V., Knirel Y. A. Lipopolysaccharide of *Pantoea agglomerans* 7969: Chemical identification, function and biological activity // *Carbohydr. Polym.* 2017. Vol. 165. P. 351–358. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.02.053>
11. Tkachenko O. V., Burygin G. L., Evseeva N. V., Fedonenko Y. P., Matora L. Y., Lobachev Y. V., Shchyogolev S. Y. Morphogenesis of wheat calluses treated with *Azospirillum* lipopolysaccharides // *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 2021. Vol. 147, iss. 1. P. 147–155. <https://doi.org/10.1007/s11240-021-02114-2>
12. Velasco J., Moll H., Knirel Y. A., Sinnwell V., Moriyón I., Zähringer U. Structural studies on the lipopolysaccharide from a rough strain of *Ochrobactrum anthropi* containing a 2,3-diamino-2,3-dideoxy-D-glucose disaccharide lipid A backbone // *Carbohydr. Res.* 1998. Vol. 306, iss. 1–2. P. 283–290. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(97\)10029-5](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(97)10029-5)
13. Zamlynska K., Komanięcka I., Zebracki K., Mazur A., Sroka-Bartnicka A., Choma A. Studies on lipid A isolated from *Phyllobacterium trifolii* PETP02^T lipopolysaccharide // *Antonie Van Leeuwenhoek.* 2017. Vol. 110. P. 1413–1433. <https://doi.org/10.1007/s10482-017-0872-0>
14. Wang J., Villeneuve S., Zhang J., Lei P.S., Miller C. E., Lafaye P., Nato F., Szu S. C., Karpas A., Bystricky S., Robbins J. B. On the antigenic determinants of the lipopolysaccharides of *Vibrio cholerae* O: 1, serotypes Ogawa and Inaba // *J. Biol. Chem.* 1998. Vol. 273, iss. 5. P. 2777–2783. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.5.2777>
15. Haji-Ghassemi O., Blackler R. J., Martin Young N., Evans S. V. Antibody recognition of carbohydrate epitopes // *Glycobiology.* 2015. Vol. 25, iss. 9. P. 920–952. <https://doi.org/10.1093/glycob/cwv037>

References

1. Raetz C. R., Whitfield C. Lipopolysaccharide endotoxins. *Ann. Rev. Biochem.*, 2002, vol. 71, iss. 1, pp. 635–700. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.71.110601.135414>
2. Kagan J. C. Lipopolysaccharide detection across the kingdoms of life. *Trends Immunol.*, 2017, vol. 38, iss. 10, pp. 696–704. <https://doi.org/10.1016/j.it.2017.05.001>



3. Valvano M. A. Genetics and biosynthesis of lipopolysaccharide. In: Tang Y.-W., Sussman M., Liu D., Pexton I., Schwartzman J., eds. *Molecular medical microbiology*. 2nd ed. Academic Press, 2015, pp. 55–89. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397169-2.00004-4>
4. Vanacore A., Vitiello G., Wanke A., Cavasso D., Clifton L. A., Mahdi L., Campanero-Rhodes M. A., Solís D., Wuhner M., Nicolardi S., Molinaro A. Lipopolysaccharide O-antigen molecular and supramolecular modifications of plant root microbiota are pivotal for host recognition. *Carbohydr. Polym.*, 2022, vol. 277, article number 118839, pp. 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118839>
5. Ryan M. P., Pembroke J. T. The genus *Ochrobactrum* as major opportunistic pathogens. *Microorganisms*, 2020, vol. 8 (11), article number 1797. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8111797>
6. Burygin G. L., Kargapolova K. Yu., Kryuchkova Ye. V., Avdeeva E. S., Gogoleva N. E., Ponomaryova T. S., Tkachenko O. V. *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 promotes growth of potato microplants and is resistant to abiotic stress. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 2019, vol. 35, iss. 4, article number 55, pp. 1–12. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2633-x>
7. Sigida E. N., Kargapolova K. Y., Shashkov A. S., Zdorovenko E. L., Ponomaryova T. S., Meshcheryakova A. A., Tkachenko O. V., Burygin G. L., Knirel Y. A. Structure, gene cluster of the O antigen and biological activity of the lipopolysaccharide from the rhizospheric bacterium *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2020, vol. 154, pp. 1375–1381. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.017>
8. DuBois M., Gilles K. A., Hamilton J. K., Rebers P. T., Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, 1956, vol. 28, iss. 3, pp. 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
9. Bailey G. S. Ouchterlony double immunodiffusion. *The protein protocols handbook*, 1996, pp. 749–752. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-259-9_135
10. Zdorovenko E. L., Kadykova A. A., Shashkov A. S., Varbanets L. D., Bulyhina T. V., Knirel Y. A. Lipopolysaccharide of *Pantoea agglomerans* 7969: Chemical identification, function and biological activity. *Carbohydr. Polym.*, 2017, vol. 165, pp. 351–358. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.02.053>
11. Tkachenko O. V., Burygin G. L., Evseeva N. V., Fedonenko Y. P., Matora L. Y., Lobachev Y. V., Shchyogolev S. Y. Morphogenesis of wheat calluses treated with *Azospirillum* lipopolysaccharides. *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, 2021, vol. 147, iss. 1, pp. 147–155. <https://doi.org/10.1007/s11240-021-02114-2>
12. Velasco J., Moll H., Knirel Y. A., Sinnwell V., Moriyón I., Zähringer U. Structural studies on the lipopolysaccharide from a rough strain of *Ochrobactrum anthropi* containing a 2,3-diamino-2,3-dideoxy-D-glucose disaccharide lipid A backbone. *Carbohydr. Res.*, 1998, vol. 306, iss. 1–2, pp. 283–290. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(97\)10029-5](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(97)10029-5)
13. Zamlynska K., Komanięcka I., Zebracki K., Mazur A., Sroka-Bartnicka A., Choma A. Studies on lipid A isolated from *Phyllobacterium trifolii* PETP02^T lipopolysaccharide. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2017, vol. 110, pp. 1413–1433. <https://doi.org/10.1007/s10482-017-0872-0>
14. Wang J., Villeneuve S., Zhang J., Lei P.S., Miller C. E., Lafaye P., Nato F., Szu S. C., Karpas A., Bystricky S., Robbins J. B. On the antigenic determinants of the lipopolysaccharides of *Vibrio cholerae* O: 1, serotypes Ogawa and Inaba. *J. Biol. Chem.*, 1998, vol. 273, iss. 5, pp. 2777–2783. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.5.2777>
15. Haji-Ghassemi O., Blackler R. J., Martin Young N., Evans S. V. Antibody recognition of carbohydrate epitopes. *Glycobiology*, 2015, vol. 25, iss. 9, pp. 920–952. <https://doi.org/10.1093/glycob/cwv037>

Поступила в редакцию 11.12.2023; одобрена после рецензирования 19.12.2023; принята к публикации 23.12.2023
The article was submitted 11.12.2023; approved after reviewing 19.12.2023; accepted for publication 23.12.2023