文章编号:1673-1689(2007)06-0001-05

功能性糖与糖组学

金征宇, 李学红

(江南大学食品学院, 江苏无锡 214122)

摘要: 随着对糖链生物学功能的揭示与认识, 糖生物学成为生命科学一个新的研究前沿。作者对功能性糖、糖簇分子和糖组学等糖生物学中重要领域的研究进展进行简要介绍。

关键词: 功能性糖; 糖簇; 糖组学

中图分类号: Q 53

文献标识码: A

Frontier Research on Functional Carbohydrate and Glycomics

JIN Zheng-yu, LI Xue-hong

(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: The glycobiology has become a new frontier in the field of biotechnology research along with the deep understanding to biology function of sugar chains. This manuscript briefly described the advance in functional carbohydrate, glycocluster and glycomics as viewed from glycobiology.

Key words: functional carbohydrate; glycocluster; glycomics

碳水化合物是构成有机生物体的重要组成, 在自然界中分布最广泛、含量最丰富。随着对糖链结构、合成及生物功能等方面的深入研究, 碳水化合物工程已成为继基因工程和蛋白质工程之后的最引人注目的新生物技术学科, 而糖生物学则正处于这一新学科的前沿^[1-4]。下面主要从糖生物学角度对目前糖类研究的前沿领域进行简要介绍。

1 功能性低聚糖

功能性低聚糖具有调节和恢复肠道内微生态平衡、促进机体矿物质的吸收和维生素的合成等一系列保健功能。目前功能性低聚糖的生产多是通过天然多糖的水解以及利用酶催化的糖基转移反

应进行合成。因为酶法合成低聚糖具有位置和立体特异性, 被认为是大规模生产功能性低聚糖的有效途径^[5-8]。

通过克隆和基因表达等技术提高微生物糖基转移酶活性, 可以实现功能性低聚糖的大量生产; 利用基因工程技术开发哺乳动物糖基转移酶以及新型微生物糖基转移酶, 有助于实现更多种类功能性低聚糖的工业化生产。此外, 以纤维素为初始材料转化制备系列功能性低聚糖也是一个广受关注的研究领域^[9-13]。

近年来, 分子生物学技术的发展极大推动了糖苷酶合成低聚糖的研究。将糖苷酶催化中心亲核体氨基酸定点突变为非亲核体氨基酸, 可以使酶原

收稿日期: 2007-05-30.

基金项目: 国家自然科学基金项目(20436020); 国家 863 计划项目(2006AA10Z333).

作者简介: 金征宇(1960-), 男, 江苏扬州人, 工学博士, 教授, 博导, 主要从事功能性碳水化合物研究.

Email: zjin@jiangnan.edu.cn

有的水解活性丧失,而只具有糖苷键合成反应催化活性,从而产生了一类新酶——糖苷合成酶(glycosynthases)。该酶应用于低聚糖的生产,可使产量提高到95%以上。糖苷合成酶的高通量筛选可利用双质粒系统和酵母三杂交系统进行,通过亲核体氨基酸位点不同氨基酸取代、其他位点氨基酸突变、反应条件优化等方法对其活性进行改进,其区域选择性的改变或增强可通过改变糖基受体分子达到。糖苷合成酶作为一种新型高效的生物催化剂,对功能性低聚糖的工业化生产有着重要意义。

2 功能性多糖

近几年关于非淀粉多糖的研究主要集中在多糖的结构及其构效关系方面。研究表明:多糖的生物活性与其结构有着密切的关系,其中包括多糖的物理性质(溶解度、黏度和相对分子质量)、一级结构(糖基的组成与糖苷键的类型、支链的长度、取代基的位置、种类和取代度)和空间结构。越来越多的事实证明,糖类物质对疾病的发生、发展和预后有着重要的作用,有可能成为重要的治疗药物^[14-17]。

多糖生物活性的作用机制主要表现为:(1)免疫调节作用。多糖作为一种免疫调节剂,主要通过诱导多种细胞因子及促进干扰素和白细胞介素等的产生,激活巨噬细胞、自然杀伤细胞和T、B淋巴细胞等免疫细胞,激活网状内皮系统和补体系统,促进抗体产生等多种途径和层面来提高机体特异性和非特异性免疫功能,从而发挥其对免疫功能的多方面调节作用。(2)诱导肿瘤细胞凋亡。这其中包括调控癌基因、线粒体途径、端粒酶途径、DNA拓扑酶途径、钙离子浓度途径以及改变膜流动性等多种方式对癌基因表达进行抑制,促使癌细胞的凋亡。(3)降血糖作用。有些多糖是 β 受体激动剂,通过第二信使将信息传递到线粒体,使糖的氧化利用加速,引起血糖降低;此外,由于糖类药物口服后在肠道内吸水膨胀占据肠道空间并形成膜覆盖住肠道,减缓食物的吸收速度,可以控制餐后血糖的上升。(4)抗病毒作用。一些多糖含有硫酸根阴离子,对各种病毒如艾滋病病毒(HIV-1)、单纯疱疹病毒、巨细胞病毒、流感病毒等有抑制作用。(5)抗辐射作用。动物实验表明,多糖能刺激造血干细胞、粒细胞-巨噬细胞集落和骨髓中造血细胞的产生,具有抗辐射以及升高白细胞等作用^[18-20]。

多糖开发为药物具有毒性低、不良反应少等优点。利用先进的仪器分析手段并结合计算机科学、

生物化学、免疫学等,通过对多糖的结构分析、结构改造、合成机理及控制、药理作用、构效关系等各个方面研究,必将推动多糖类新药的产生。

3 糖簇分子

糖生物学研究表明,生物体内蛋白质与糖之间的相互作用是多个蛋白质与糖分子协同作用的结果。细胞表面的糖蛋白和糖脂上存在多个糖链,受体的表面存在的凝集素上则有多个结合位点,当多分子糖链与凝集素结合时会产生协同效应,即“簇效应”,增加两者的结合能力和结合特异性。因此如果对功能性糖进行分子簇状设计,则可以提高其生物活性,且有助于理解蛋白质与糖的相互作用。

目前通过对糖簇分子的设计,可以得到一类结构明确、新颖并具有生理活性的化合物。其生理作用主要有:(1)抑制病毒、细菌及毒素的粘附作用。例如甘露糖簇分子可抑制大肠杆菌,多元唾液酸可抑制病毒血凝素(HA)等。(2)多元半乳糖和N-乙酰氨基半乳糖糖簇分子的肝靶向作用。(3)糖簇分子作为激动剂,应用于疫苗与免疫治疗。目前最成功的就是MUC1肿瘤疫苗。(4)应用于异种器官移植^[21-25]。

随着化学合成及结构解析技术的进步,对多元糖簇分子结构和功能之间的关系研究会不断深入,新的靶点也会被不断发现,这样就可以对多元糖簇分子进行更合理的设计,使其能更符合药物设计的需要,为药物创新、临床诊断和治疗提供新的途径^[24]。

4 糖组和糖组学

聚糖是继核酸和蛋白质之后的第三类生物信息大分子,被认为是“DNA-mRNA-蛋白质”信息流的延续,在生物机体生命过程中发挥重要的作用。由于糖的结构多样性且不是基因的直接产物,所以很难对糖的生物功能进行系统分析与研究,为此,糖生物学家在20世纪末提出了糖组和糖组学的概念^[25-27]。

糖组是指单一生物体中的整套聚糖,其可进一步分解为不同的小组,例如对高等动物的糖组可分为糖蛋白组、蛋白聚糖组和糖脂组。而糖组学则是研究糖组的产生、结构与功能,包括糖组的结构鉴定、编码糖蛋白的基因和蛋白质糖基化的机制和功能等。在糖组的产生中,糖链的形成和改变都离不开糖基转移酶,因此对糖基转移酶及其对应的基因编码和表达的研究举足轻重。另外,糖分子多以糖

蛋白或其它结合物形式存在于细胞某一部位,糖链通过和糖结合蛋白(其中一些被称为凝集素)的相互作用能介导细胞间相互反应的基本过程,如细胞的增值、吸附、识别和免疫等功能。所以,糖组学即是系统高通量地研究人体糖基化和糖结合蛋白糖组学,其与蛋白质组学、基因组学的研究是密不可分的^[28-31]。

4.1 糖组学研究的基本策略及内容

糖组学主要关注的是聚糖蛋白,为了更好地与蛋白质组学相关联,将研究对象锁定为糖肽。研究策略主要包括:分析单物种生物所产生的所有聚糖;以糖肽为研究对象确认编码糖蛋白的基因;结合有效的理化和生化性质,研究糖肽的特征性质。糖组学研究应主要解决4方面问题:(1)基因编码糖蛋白,即基因信息;(2)可能糖基化位点中实际被糖基化的位点,即糖基化位点信息;(3)聚糖结构,即结构信息;(4)糖基化功能,即功能信息^[32-33]。

4.2 糖组学研究中的方法

4.2.1 糖捕捉法 主要步骤包括:凝集素亲和层析分离糖蛋白;将分离得到的糖蛋白用 *Achromaobacter* 菌的蛋白酶 I 消化成糖肽;凝集素亲和层析分离糖肽;HPLC 纯化糖肽;序列分析、质谱和解离常数测定,以对糖肽进行鉴定;数据库搜索和聚糖结构分析,以获得相关遗传和糖基化信息;使用不同的凝集素柱进行第二和第三次循环,捕集其它类型的糖肽,以对某个细胞进行较全面的糖组学研究^[34-35]。

4.2.2 糖微阵列技术 糖微阵列技术是生物芯片

中的一种,是将带有氨基的各种聚糖共价连接在被有化学反应活性表面的玻璃芯片上,一块芯片上可排列 200 种以上的不同糖结构,几乎涵盖了全部末端糖的主要类型。因为糖蛋白通常只能识别糖链中的最后几个末端糖残基,推测天然存在的末端序列大约有 500 种左右。糖微阵列技术已成功用于糖结合蛋白(凝集素)的筛选和表征^[36-37]。

4.2.3 化学选择糖印迹技术 主要步骤包括将联有苯胺类似物基团的高聚物试剂与糖蛋白消化液充分混合,以捕集聚糖;离心过滤,从混合物中收集高聚物;将聚糖从高聚物中释放出来,并对目的聚糖作 MALDI-TOF 质谱或 MALDI-LIFT-TOFPTOF 双质谱分析^[38]。

4.3 蛋白聚糖的表征

传统的聚糖结构表征只涉及共价结构和连接方式,但在糖组学研究中糖结合蛋白聚糖结构的表征必须包含以下的信息:质谱的系统高通量聚糖分析技术获取聚糖或糖肽的精确质量信息;二维、三维分离分析得到准确的化学结构信息;柱前亲和层析测定聚糖对一系列凝集素的亲和常数^[39]。

糖组学是继基因组学和蛋白质组学后的新兴研究领域,其研究结果直接关系到是否能够阐明基因功能及细胞功能。此外,由于糖基化改变普遍存在于肿瘤的发生、发展过程中,分析糖基化修饰对于深入研究肿瘤的机制及诊断治疗至关重要,通过糖组学的方法分析肿瘤细胞与正常细胞之间所表现出来的糖蛋白的差异,对肿瘤的预防、诊治具有一定的参考价值^[41-43]。

参考文献(References):

- [1] 王璋,许时婴,汤坚. 食品化学[M]. 北京:中国轻工业出版社,1999.
- [2] 蒋秋燕,乔旭光. 生命科学的新领域—糖生物学[J]. 山东农业大学学报:自然科学版,2003,(2):294-298.
JIANG Qiu-yan, QIAO Xu-guang. The new field of life science-glycobiology[J]. *Journal of Shandong Agricultural University: Natural Science Edition*, 2003, (2):294-298. (in Chinese)
- [3] Knight P. The carbohydrate frontier[J]. *Bio Technology*, 1989, 7:35-40.
- [4] 金城. 糖生物学:基因组学和蛋白质组学的延伸[J]. 世界科技研究与发展,2001,23(02):31-34.
JIN Cheng. Glycobiology: the extension of genomics and proteomics[J]. *World Sci-tech R & D*, 2001, 23(02):31-34. (in Chinese)
- [5] 林海霞,张桂,王丹兵. 功能性糖的生理功效[J]. 中国食品工业,2006,(06):53-54.
LIN Hai-xia, ZHANG Gui, WANG Dan-bing. The bioactivities of functional saccharide[J]. *China Food*, 2006, (06):53-54.
- [6] 岳振峰,赵谋明,彭志英. 功能性低聚糖研究进展[J]. 食品科学,1999,(09):21-25.
YUE Zhen-feng, ZHAO Mou-ming, PENG Zhi-ying. Progress review on functional oligosaccharides[J]. *Food Science*, 1999, (09):21-25. (in Chinese)
- [7] 尤新. 我国低聚糖生产技术研究进展[J]. 食品工业科技,2002,23(04):4-7.
YOU Xin. Progress review on the production technology of oligosaccharides[J]. *Science and Technology of Food Industry*,

- 2002, 23(04) :4-7. (in Chinese)
- [8] Sears P, Wong C H. Toward automated synthesis of oligosaccharides[J]. *Science*, 2001, 291: 2344-2350.
- [9] Crout D H, Vic G. Glycosidase and glycosyl transferases in glycoside and oligosaccharide Synthesis[J]. *Curr opi in Chem Bio*, 1998, 2 :98-111.
- [10] Hansson T, Adlercreutz P. Optimization of galactooligosaccharide production from lactose using beta -glycosidases from hyperthermophiles[J]. *Food Biotechnology*, 2001, 15(2) :79-97.
- [11] Marco M, Antonio T, Mosé R. Glycosynthases; new enzymes for oligosaccharide synthesis[J]. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 2001, 11(4-6) :155-163.
- [12] Giuseppe P, Antonio T, Mosé R, et al. Oligosaccharide synthesis by glycosynthases[J]. *Trends in Biotechnology*, 2004, 22(1) :31-37.
- [13] Mayer C, Jakeman D L, Mah M, et al. Directed evolution of new glycosynthases from *Agrobacterium* beta-glucosidase; a general screen to detect enzymes for oligosaccharide synthesis[J]. *Chem Biol*, 2001, 8(5) :437-43.
- [14] 张姗姗, 王长云, 魏晓蕾, 等. 海洋微生物胞外多糖结构与生物活性研究进展[J]. *微生物学通报*, 2007, 34(01) :153-156.
- ZHANG Shan-shan, WANG Chang-yun, WEI Xiao-lei, et al. Progress of the research on the structure and bioactivities of marine microbial exopolysaccharide[J]. *Microbiology*, 2007, 34(01) :153-156.
- [15] 李尔春. 天然植物多糖的结构及活性研究进展[J]. *食品工程*, 2007, (01) :44-46.
- LI Er-chun. Research progress on natural plant polysaccharide structure and biological activity[J]. *Food Engineering*, 2007, (01) :44-46. (in Chinese)
- [16] 孙群, 阚健全, 赵国华, 等. 活性多糖构效关系研究进展[J]. *广州食品工业科技*, 2004, 20(1) :104-106.
- SUN Qun, KAN Jian-quan, ZHAO Guo-hua. The studying on structure-activity relationship of active polysaccharides[J]. *Guangzhou Food Science and Technology*, 2004, 20(1) :104-106.
- [17] Daniel B W, Peter H S. Carbohydrates as the next frontier in pharmaceutical research[J]. *Chemistry—A European Journal*, 2005, 11(11) : 3194-3206.
- [18] Arthur O T. Polysaccharide immunomodulators as therapeutic agents; structural aspects and biologic function[J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2000, 13(4) :523-533.
- [19] Tzianabos A O, Kasper D L, Onderdonk A B. Structure and function of *Bacteroides fragilis* capsular polysaccharides; relationship to induction and prevention of abscesses[J]. *Clin Infect Dis*, 1995, 20 :S132-40.
- [20] 刘锐. 多糖类物质的研究进展[J]. *安徽农业科学*, 2005, 33(9) :1722-1725.
- LIU Rui. Research progress on the polysaccharides[J]. *Journal of Anhui Agri Sci*, 2005, 33(9) :1722-1725. (in Chinese)
- [21] 张晓茹, 李英霞, 褚世栋, 等. 糖簇分子和糖树状分子的合成进展[J]. *有机化学*, 2004, 24(2) :119-126.
- ZHANG Xiao-ru, LI Ying-xia, CHU Shi-dong, et al. Progress in the synthesis of glycocluster and glycodendrimer[J]. *Chinese Journal of Organic Chemistry*, 2004, 24(2) :119-126. (in Chinese)
- [22] Bertozzi C R, Kiessling L L. Chemical glycobiology[J]. *Science*, 2001, 291: 2357-2364.
- [23] 卢伟伸, 张晓茹. 糖簇分子和糖树状分子及其生物学活性[J]. *化学进展*, 2005, 17(6) :1054-1059.
- LU Wei-shen, ZHANG Xiao-ru. The bioactivity of glycocluster and glycodendrimer[J]. *Progress in Chemistry*, 2005, 17(6) :1054-1059. (in Chinese)
- [24] Andre S. Glycocluster design as tool to obtain galectin inhibitors[J]. *Trends Glycoscience Glycotechnology*, 2004, 16 : S28.
- [25] 王川. 糖组学:破解生命信息的第3种途径[J]. *生物学通报*, 2005, (05) :8-9.
- WANG Chun. Glycomics; the third approach for discovery of the life information[J]. *Bulletin of Biology*, 2005, (05) :8-9. (in Chinese)
- [26] 周永达, 时春娟, 张剑波, 等. 糖类的生物信息学资源[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2006, 22(03) :184-189.
- ZHOU Yong-da, SHI Chun-mei, ZHANG Jian-bo, et al. Bioinformatics on carbohydrates[J]. *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2006, 22(03) :184-189. (in Chinese)
- [27] Feizi T, Mulloy B. Carbohydrates and glycoconjugates. Glycomics; the new era of carbohydrate biology[J]. *Curr Opin Struct Biol*, 2003, 13(5) :602-604.
- [28] 王克夷, 杜昱光. 糖组和糖组学[J]. *医学分子生物学杂志*, 2004, 1(05):261-264.
- WANG Ke-yi, DU Yu-guang. Glycome and glycomics[J]. *Foreign Medical Sciences*, 2004, 1(05) :261-264.

- [29] Peak I R, Grice I D, Isabelle F, et al. Towards understanding the functional role of the glycosyltransferases involved in the biosynthesis of *Moraxella catarrhalis* lipooligosaccharide[J]. **FEBS Journal**, 2007, 274(8): 2024–2037.
- [30] Hirabayashi J. Lectin-based structural glycomics: glycoproteomics and glycan profiling[J]. **Glycoconjugate Journal**, 2004, 21(1–2): 35–40.
- [31] 杨璐, 蔡绍哲, 邹全明. 糖组学研究技术及其进展[J]. 生物化学与生物物理进展, 2005, 32(01): 9–13.
YANG Jun, CAI Shao-xin, ZHOU Quan-ming. Advances in analysis techniques of glycomics[J]. **Prog Biochem Biophys**, 2005, 32(01): 9–13. (in Chinese)
- [32] 郭丽娜, 王洪荣, 李宪臻. 糖组学研究策略及前沿技术研究进展[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2006, 22(09): 685–690.
GUO Li-na, WANG Hong-rong, LI Xian-zhen. Progress in strategy and technologies at the frontier for glycomics[J]. **Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology**, 2006, 22(09): 685–690. (in Chinese)
- [33] 孙兴权, 李静, 耿美玉, 等. 糖组学研究中糖蛋白糖链结构分析技术[J]. 化学进展, 2007, 19(01): 130–135.
SUN Xing-quan, LI Jing, GENG Mei-yu, et al. Analysis techniques of glycoprotein glycan structure for the glycomics study[J]. **Progress in Chemistry**, 2007, 19(01): 130–135.
- [34] 张倩, 杨振, 张艳贞, 等. 蛋白质糖基化修饰的研究方法及其应用[J]. 生物技术通报, 2006, (01): 46–49.
ZHANG Qian, YANG Hu, ZHANG Yan-zhen, et al. Detection of protein glycosylation modifications and its applications [J]. **Biotechnology Bulletin**, 2006, (01): 46–49. (in Chinese)
- [35] Hirabayashi J, Ken-ichi K. Separation technologies for glycomics[J]. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, 2002, 771(1–2, 5): 67–87.
- [36] Feizi T, Fazio F, Chai W, et al. Carbohydrate microarrays—a new set of technologies at the frontiers of glycomics[J]. **Curr Opin Struct Biol**, 2003, 13(5): 637–45.
- [37] Comelli E M, Head S R, Gilmartin T, et al. A focused microarray approach to functional glycomics: transcriptional regulation of the glycome[J]. **Glycobiology**, 2006, 16(2): 117–131.
- [38] Nishimura S I, Niikura K, Kuroguchi M, et al. High-throughput protein glycomics: combined use of chemoselective glycoblotting and MALDI-TOF/TOF mass spectrometry[J]. **Angew Chem Int Ed**, 2005, 44(1): 91–96.
- [39] Raman R, Raguram S, Venkataraman G, et al. Glycomics, an integrated systems approach to structure-function relationships of glycans[J]. **Nature Methods**, 2005, 2(11): 817–824.
- [40] von der Lieth C W. Bioinformatics for glycomics: status, methods, requirements and perspectives[J]. **Briefings in Bioinformatics**, 2004, 5(2): 164–178.
- [41] Turnbull J E, Field R A. Emerging glycomics technologies[J]. **Nat Chem Biol**, 2007, 3(2): 74–77.
- [42] Bedford C, Cass T, François I, et al. Glycomics, from glycobiology to diagnostics and therapeutics[J]. **Drug News Perspect**, 2006, 19(3): 163.
- [43] Delanghe, Contreras R. Noninvasive diagnosis of liver cirrhosis using DNA sequencer-based total serum protein glycomics[J]. **Nature Medicine**, 2004, 10: 429–434.

(责任编辑:朱明)