

Study of Glycoproteins Extracted
from TCM

中药糖蛋白研究

主编 薛慧清 冯前进



科学出版社

中药糖蛋白研究

Study of Glycoproteins Extracted from TCM

主 编 薛慧清 冯前进

副主编 王永辉 刘 晔

编 委 (按姓氏笔画排序)

王永辉 冯前进 刘 晔 任晋宏

李 敏 栾志华 薛慧清 魏砚明

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

在生物科学研究中,糖生物学(glycobiology)是一个新兴的并且正在蓬勃发展的领域,而糖蛋白研究在糖生物学中无疑占有非常重要的地位。近几年来,有关糖蛋白的研究,特别是糖蛋白作为药物的研究已经取得了很大进展,其中关于中药糖蛋白的研究,特别是基于中医药学的新一代糖蛋白药物的研究方兴未艾,日益展现出广阔的开发前景。本书以国内外中药糖蛋白类药物研究为基础,结合本课题组多年在黄芪糖蛋白药物研究方面的最新成果,全面介绍中药糖蛋白的研究历史、实验方法、医学应用和最新进展;并对中药糖蛋白的分离纯化、理化性质鉴定和空间结构解析技术以及药理学研究等方面对中药糖蛋白的研究进行了比较系统地论述。

本书可供从事中药糖蛋白类药物研发、教学及生产的科技人员阅读。

图书在版编目(CIP)数据

中药糖蛋白研究 / 薛慧清, 冯前进主编. —北京: 科学出版社, 2018.3

ISBN 978-7-03-057022-2

I. ①中… II. ①薛… ②冯… III. ①中药学-糖蛋白-研究 IV. ①R28

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2018) 第 055613 号

责任编辑: 刘 亚 曹丽英 / 责任校对: 张凤琴

责任印制: 张欣秀 / 封面设计: 北京图阅盛世文化传媒有限公司

版权所有, 违者必究。未经本社许可, 数字图书馆不得使用

科 学 出 版 社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

北京建宏印刷有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2018 年 5 月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

2018 年 5 月第一次印刷 印张: 10 1/2

字数: 218 000

定价: **88.00 元**

(如有印刷质量问题, 我社负责调换)

前 言

糖蛋白是一类由寡糖链与肽链中的一些氨基酸残基以糖苷键共价连接而成的含糖蛋白质，普遍存在于动物、植物及微生物中，其种类繁多，功能复杂，是生命活动的重要物质之一，广泛参与到分泌、免疫调节、物质转运、信息传递、生长及分化的调节等生物过程中。目前，用于临床并具有高效的免疫活性的药用蛋白制剂大都是糖蛋白。存在于植物体内的糖蛋白，不仅对于植物本身具有重要的生理生化功能，而且对于人体亦具有极大的利用价值，能够调节免疫、抑制肿瘤、降血糖、降血脂、抗氧化、抗疲劳等。

近年来，对植物及其他天然产物来源的糖蛋白研究在很多领域受到高度重视，有关中药糖蛋白的研究方兴未艾，研究者从人参、丹参、天麻、升麻、山茱萸、白头翁、枸杞、山药等中药材中分离得到了组成、性质各不相同的糖蛋白，并对其分离纯化方法、工艺及药理活性进行了很多研究。黄芪是山西省最具有代表性的道地产中药之一，素以“补气诸药之最”著称，是一种常用补气固表中药材，李时珍赞其为“补药之长”，以黄芪为君药配伍的各种剂型中药不胜枚举。山西中医药大学冯前进教授、薛慧清教授研究团队在对山西道地药材黄芪的系统研究中发现，黄芪中存在一种具有免疫抑制活性的糖蛋白，并将这一新发现的物质命名为“黄芪糖蛋白”。

《中药糖蛋白研究》一书，依托科技部国家国际科技合作专项项目“黄芪糖蛋白中试纯化和类风湿关节炎治疗作用及分子机制（项目编号：2013DFA30700）”而著，是山西中医药大学以冯前进、薛慧清教授为首的黄芪糖蛋白研究团队聚集多年科研成果、阅读大量学术文献、融会贯通成的一部全方位介绍中药糖蛋白的学术专著。第一章是中药糖蛋白的概述，基础知识以及研究意义；第二章讲解中药糖蛋白的提取、分离纯化技术，此章节介绍的技术是基于生物化学基础，对于所有蛋白质的分离纯化都有指导意义；第三章着重介绍糖蛋白的理化性质检测和结构分析，此章由浅入深，技术手段从传统的蛋白质氨基酸组分测定过渡到采用 MALDI-TOF/TOF-MS、FT-ICR-MS 及 X 射线晶体衍射等现代技术对糖蛋白初级结构及三维空间结构的解析；第四章尤为重要，介绍了中药糖蛋白类药物的各种生物活性，包括在临床医学、营养、保健等方面的应用，此章对于临床医师和药物研发工作者的工作方向具有前瞻性的指导。

《中药糖蛋白研究》一书不但详尽介绍了蛋白质化学基础理论知识，还有大量的第一手黄芪糖蛋白课题组的实验数据和方法。本书可作为中药学研究生的参考用书。同时，作者们还参考了大量最新文献，对于国内外的重要糖蛋白研究做了详细的综述和总结，对中药科研和开发工作者也有指导意义。本书有全面的英文译文，既可以作为中文读者学习专业英文的良好工具，也可以让英文读者有一个了解中国中药研究的窗口。

当前，全球公共卫生安全挑战日益增多，人类健康面临新的威胁，中医药大有可为。相信随着本书的出版，能够让更多的科研人员了解中药糖蛋白的基础知识、技术手段和

发展方向，进而促进整个中药领域的进一步发展壮大，以中华瑰宝传统中医药为依托，开发出更加安全、有效、有益于人民健康的新型药物。

限于作者的能力和经历，且受时间、人力、实验条件所限，书中难免存在一些纰漏和不足之处，尚需进一步深入研究和探索，敬请广大读者批评指正，以便改进。

编 者

2018 年 01 月

目 录

第一章 中药糖蛋白概述	1
第一节 中药糖蛋白的研究意义	1
第二节 中药糖蛋白的组成、结构	2
第三节 中药糖蛋白代谢	8
第四节 中药糖蛋白生物学功能	11
第二章 中药糖蛋白提取、分离纯化技术	14
第一节 中药糖蛋白提取技术	14
第二节 中药糖蛋白分离纯化技术	16
第三节 亲和色谱在中药糖蛋白分离纯化中的应用	19
第四节 尺寸排阻色谱在中药糖蛋白分离纯化中的应用	23
第三章 糖蛋白理化性质检测和结构分析	34
第一节 糖蛋白的鉴定	34
第二节 糖蛋白的外观、溶解度、pH、水分及灰度测定	38
第三节 糖蛋白中糖含量、蛋白含量、分子量、纯度及等电点测定	38
第四节 糖蛋白糖肽键特征、单糖及氨基酸组分分析及摩尔比测定	42
第五节 糖蛋白的结构分析	43
第四章 中药糖蛋白类药物的生物活性	54
第一节 中药糖蛋白的抗肿瘤活性	54
第二节 中药糖蛋白的免疫调节作用	56
第三节 中药糖蛋白的抗氧化、抗衰老作用	61
第四节 中药糖蛋白的血脂调节作用	62
第五节 中药糖蛋白的降血糖作用	63
第六节 中药糖蛋白与细胞凋亡	64
第七节 中药糖蛋白的抗凝、抗血栓作用	65
第八节 中药糖蛋白对学习和记忆的影响	65

Contents

Chapter One	An Overview of TCM Glycoproteins	69
1	Significance of TCM Glycoprotein Studies	69
2	The Composition of TCM Glycoproteins	70
3	Metabolism of TCM Glycoproteins	79
4	The Biological Functions of TCM Glycoproteins	83
Chapter Two	Techniques to Extract, Separate and Purify Glycoprotein from the Traditional Chinese Medicine	86
1	Techniques to Extract Glycoprotein from the Traditional Chinese Medicine (TCM)	87
2	Techniques to Separate and Purify Glycoprotein from TCM	90
3	The Application of Affinity Chromatography in the Separation and Purification of TCM Glycoproteins	94
4	The Application of Size Exclusion Chromatography in the Separation and Purification of TCM Glycoproteins	99
Chapter Three	Physicochemical Characterization of Glycoprotein	112
1	Identification of Glycoprotein	112
2	Determination of the Morphology, Solubility, pH, Water and Ash Contents of the Glycoprotein	118
3	Determination of Carbohydrate Content, Protein Content, Molecular Weight, Purity and Isoelectric Point of Glycoprotein	119
4	Characteristics of Glycopeptide Bonds, Analysis of Monosaccharide and Amino Acid Component, and the Molar Ratio of Glycoprotein	124
5	Structural Analysis of Glycoprotein	126
Chapter Four	Bioactivity of Glycoprotein in Traditional Chinese Medicines	140
1	Anticarcinoma Activity of Glycoprotein in Traditional Chinese Medicine	141
2	Immunomodulation Function of Glycoprotein of Traditional Chinese Medicines	143

3	Antioxidant and Anti-aging Effects of Glycoprotein of Traditional Chinese Medicine	150
4	Hypolipidemic Effect of Glycoprotein of Traditional Chinese Medicine	152
5	Hypoglycemic Effect of Glycoprotein of Traditional Chinese Medicine	153
6	Glycoprotein of Traditional Chinese Medicine and Apoptosis	154
7	Anticoagulant and Antithrombotic Effect of Glycoprotein of Traditional Chinese Medicine	155
8	Effect of Chinese Medicine Glycoprotein on Learning and Memory	156

第一章 中药糖蛋白概述

引言

糖蛋白为生物体内重要生物大分子之一，广泛存在于动植物和微生物中，甚至在单细胞有机体和病毒中也有发现，其以各种形式、种类分布于生物体的细胞内外液及组织中，构成生物体内的多种活性物质。近年来，植物和其他天然来源的糖蛋白，在很多领域受到高度重视，特别是存在于中药中的糖蛋白。本章分别从糖蛋白的组成（氨基酸、单糖）、结构、生物学功能等方面进行介绍。

第一节 中药糖蛋白的研究意义

糖蛋白（glycoprotein）是由寡糖链和多肽链共价连接而形成的复合大分子，主链较短，在大多数情况下，糖的含量小于蛋白质。同时，糖蛋白还是一种结合蛋白质，是由短寡糖链与蛋白质共价相连构成的分子，其分子质量大小悬殊，糖含量一般占 1%~85%^[1]。糖蛋白广泛存在于动物、植物及微生物中，种类繁多，功能广泛。许多研究报道，糖蛋白具有显著的药用功效和保健功能，能够调节免疫、抑制肿瘤、降血糖、降血脂、抗氧化、抗疲劳、抗辐射等。目前，用于临床并具有高效免疫活性的药用蛋白制剂大多都是糖蛋白，其功能多样性也是目前糖生物学研究最活跃的领域。

20 世纪 70 年代，国内外科研工作者对天然糖蛋白的研究产生了浓厚的兴趣，该领域的研究成为继多糖之后生物活性成分研究的又一热点。人们先后对许多动物、植物、菌类（如小球藻、灵芝、香菇、松口蘑等）以及海洋生物（海带、扇贝、海蜇等）的糖蛋白进行了较为深入的研究。目前，在植物糖蛋白中已经鉴定得到了多个重要的糖蛋白家族，如富含羟脯氨酸糖蛋白（与植物诱抗相关）、阿拉伯半乳糖蛋白（在被子植物受精过程中起作用）等。

近年来，植物和其他天然来源的糖蛋白，在很多领域受到高度重视，特别是存在于中药中的糖蛋白。人们相继从人参、丹参、枸杞子、山茱萸、黄芪、天麻、灵芝、土鳖虫等常用中药材中分离得到了组成、性质各不相同的糖蛋白，并对其分离纯化、组成结构、药理活性及保健功能进行了大量的研究，取得了一系列重要的成果。

第二节 中药糖蛋白的组成、结构

一、中药糖蛋白中单糖的种类

糖蛋白是一种复合糖，其主链较短，糖含量也因糖蛋白种类而异。在糖蛋白中，糖的组成常比较复杂，构成糖蛋白糖链的单糖种类却不多，最常见的是甘露糖、半乳糖、岩藻糖、葡糖胺、半乳糖胺、木糖、葡萄糖等^[2]。糖链的存在可以提高糖蛋白的亲水性，并且可与其他糖链或蛋白质形成共价键或氢键，起到结构支架或转移糖基的作用。

二、中药糖蛋白中氨基酸的种类

糖蛋白中肽链含有几乎所有氨基酸种类，其中苏氨酸、丝氨酸、羟脯氨酸、天冬酰胺和羟赖氨酸等含量较高^[3]。糖蛋白中所含的氨基酸种类似乎与糖的含量有一定的关系：糖含量高的糖蛋白，往往含有较多的脂肪族氨基酸，而芳香族氨基酸、碱性氨基酸和含硫氨基酸则较少^[4]。

三、中药糖蛋白糖肽键的类型

糖蛋白中连接糖链和多肽链的共价键称为糖肽键，主要连接方式有 *N*-糖苷键型、*O*-糖苷键型、*S*-糖苷键型、酯糖苷键型 4 种，其中以 *N*-糖苷键型和 *O*-糖苷键型糖蛋白最为常见^[5]。

(一) *N*-糖苷键型

N-糖苷键型 (*D*-GlcNAc β -Asn)，又称 I 型糖肽键，是寡糖链 (GlcNAc 的 β -羟基) 与天冬酰胺 (Asn) 的酰胺基、*N*-末端的 α -氨基、Lys 或 Arg 的 ω -氨基相连 (图 1-1)。由糖链还原端的 β -*D*-GlcNAc 残基 C₁-OH 基与多肽链 Asn 残基侧链酰胺-NH₂ 间缩合，形成 *C-N* 糖苷键，广泛分布于许多糖蛋白中。以肽链 *N* 端-NH₂ 为连接点形成的 *N*-糖肽键迄今仅见于血红蛋白 Alc。人们还研究发现，在 *N*-糖肽键连接的糖蛋白中，其 Asn 经常处于 Asn-X-Thr/Ser (X 为除 Pro 外的任一氨基酸) 的顺序子 (Seguon) (称为天冬酰胺顺序子) 中。处于顺序子中的 Asn 更容易发生糖基化，这可能是因为顺序子中 Thr 和 Ser 的羟基与 Asn 侧链的羰基形成氢键，从而产生有利于糖基化的构象^[6]。

(二) *O*-糖苷键型

O-糖苷键型是寡糖链 (GalNAc 的 α -羟基) 与 Ser、Thr 和羟基赖氨酸、羟脯氨酸的羟基相连。由糖链还原端与含羟基的氨基酸侧链-OH 间形成 *C-O* 糖苷键 (图 1-1)。又可分为

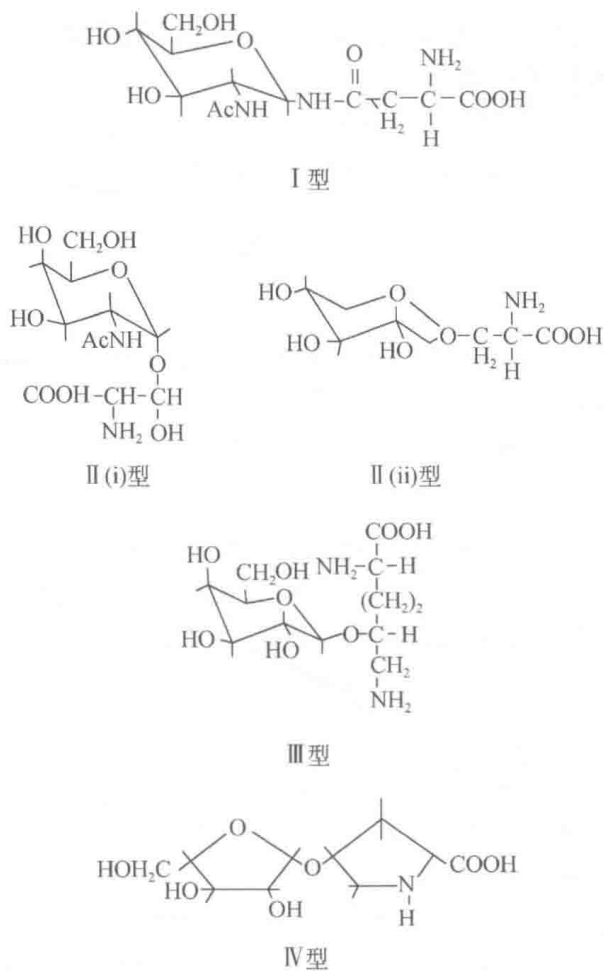


图 1-1 糖蛋白中 *N*-糖苷键型和 *O*-糖苷键型

I 型：4-*N*-(2-乙酰氨基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-L-天冬酰胺；II (i) 型：3-*O*-(2-乙酰氨基-2-脱氧-α-D-吡喃半乳糖基)-L-丝氨酸 (R=H) 和苏氨酸 (R=CH₃)；II (ii) 型：3-*O*-β-D-吡喃木糖-L-丝氨酸 (R=H)；III 型：5-*O*-β-D-吡喃半乳糖-5-羟基-L-赖氨酸；IV 型：4-*O*-β-D-吡喃阿拉伯糖基-4-羟基-反-L-脯氨酸

- (1) D-GalNAc α-Ser/Thr，又称 II (i) 型糖-肽键，分布广泛。
 - (2) D-Xyl β-Ser/Thr，又称 II (ii) 型糖-肽键，主要存在于一些蛋白聚糖中。
 - (3) D-Gal β-Hyl，又称 III 型糖-肽键，主要存在于胶原和丝心蛋白中。
 - (4) D-Ara β-Hyp，仅见于高等植物中的一些糖蛋白。
- 以丝氨酸或苏氨酸残基为连接点的 *O*-糖肽键是黏液糖蛋白的特征键。黏液糖蛋白中糖基化的程度高，平均大约每隔两个残基就出现一个糖基化的苏氨酸或丝氨酸。*O*-糖肽键连接的糖蛋白中，苏氨酸或丝氨酸残基附近的氨基酸顺序无规律。
- 以羟赖氨酸残基为连接点的 *O*-糖肽键，是胶原的特征结构，其 Lys 通常存在于 X-Lys-Gly 的顺序子中 (X 可代表许多氨基酸)，所以甘氨酸紧随在糖基化羟赖氨酸之后出现的情况可能是胶原赖氨酸羟化酶对底物的特异要求，进一步研究此底物的特异性将有助于了解胶原中羟赖氨酸的糖基化机理^[7]。
- 以羟脯氨酸残基为连接点的 *O*-糖肽键，是迄今为止仅在高等植物物中发现的一种

常见 *O*-糖肽键，主要存在于绿色植物和绿藻所含的细胞壁糖蛋白中，但在动物中尚未发现此糖肽键，其原因尚不清楚。

在一个糖蛋白分子中，通常可以同时存在许多条糖链，既可以是 *N*-糖肽键，也可以是 *O*-糖肽键，但对植物糖蛋白而言，尚未发现两种类型的糖肽键同时存在于同一糖蛋白中。

(三) *S*-糖苷键型

以半胱氨酸为连接点的糖肽键。在人尿中和红细胞膜中还存在由半胱氨酸 (Cys) 残基为连接点的 Gal-*S*-Cys 这种 *S*-糖肽键^[7]。

(四) 酯糖苷键型

以天冬氨酸、谷氨酸的游离羧基为连接点。此外，还有一种十分罕见的糖肽连接方式，迄今为止仅在血红蛋白 A_{1C} 中发现 (患糖尿病时其含量增加)，它既不是 *N*-连接，也不是 *O*-连接，而是肽链 *N*-末端氨基酸与糖的醛基先缩合而生成 Schiff 碱，然后再经重排形成糖肽键 (图 1-2)^[8]。

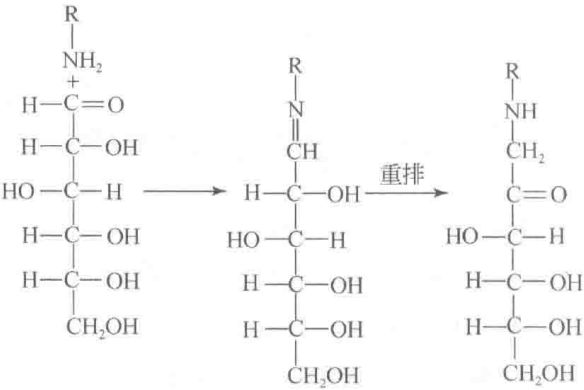


图 1-2 Schiff 碱经过重排形成糖肽键

四、糖蛋白中糖肽链的鉴定

(一) *N*-糖肽键的确定

N-糖肽键即 D-GlcNAc β-Asn，又称 I 型糖肽键，其天冬酰胺 (Asn) 总出现在多肽链中的 Asn-X-Thr/Ser 顺序中。因此，确定了糖蛋白中肽链的氨基酸连接顺序，即可初步判定 *N*-糖肽键的连接位点。采用生物酶解或化学方法释放与天冬酰胺连接的糖链，特异地使 *N*-糖肽键断裂，从而证明该糖蛋白为 *N*-糖肽键类型。

(二) *O*-糖肽键的确定

O-糖肽键 (II 型、III 型、IV 型糖苷键) 在温和条件下，采用稀碱水解糖蛋白，即可将与肽链上丝氨酸或苏氨酸羟基相连的糖链或单糖水解下来。水解后，肽链上的丝氨酸

和苏氨酸分别转变为氨基丙烯酸和氨基丁烯酸,而后者于紫外光 240nm 处有明显的吸收峰。因此,可根据糖蛋白水解前后吸光度的变化来判定糖蛋白中 *O*-糖肽键的存在情况。

五、中药糖蛋白中糖链的结构

糖蛋白中糖链的存在可以提高糖蛋白的亲水性,并且可与其他糖链或蛋白质形成共价键或氢键,起到结构支架或转移糖基的作用。由于糖蛋白中的糖链变化较大,含有丰富的结构信息,寡糖链往往是受体、酶类的识别位点,因此糖链结构具有复杂性。

根据寡糖与蛋白质的连接方式,可将糖链分成以下两类:一类是以 *N*-糖肽键相连接的 *N*-连接糖链,简称 *N*-糖链;另一类是以 *O*-糖肽键相连接的 *O*-连接糖链,简称 *O*-糖链。现将这两类糖链的结构特征分述如下:

(一) *N*-连接糖链

许多糖蛋白特别是血浆糖蛋白含有 *N*-连接糖链。*N*-糖链通常都有 1 个共同的五糖核心结构,它含有 3 个甘露糖和两个 *N*-乙酰葡萄糖胺,其核心结构可表示为



根据核心五糖中两个 α -Man 上连接的糖基, *N*-聚糖,可分为 3 种类型:高甘露糖型、复杂型和杂合型^[7]。

高甘露糖型:寡糖链只含有甘露糖和 *N*-乙酰氨基葡萄糖,而且只有甘露糖连接在五糖核心区上,如卵蛋白。

复杂型:寡糖链除含有甘露糖和 *N*-乙酰氨基葡萄糖外,还有半乳糖、果糖和唾液酸等,甚至木糖,外层链含有二糖 $\text{Gal}\beta(1,4)\text{GlcNAc}$,核心结构上一般附有 2~4 条以唾液酸-半乳糖-*N*-乙酰葡萄糖胺为基础的侧链,这种侧链称为天线或触角,具有接受信息的功能。根据触角数目的不同,复杂型糖链可进一步分为复杂二触角型、复杂三触角型和复杂四触角型。

杂合型(混合型):介于高甘露糖和复杂型之间,既有高甘露糖链,又有 *N*-乙酰氨基半乳糖链连在五糖核心结构上,其中甘露糖分布在外层链的一个臂上,而二糖 $\text{Gal}\beta(1,4)\text{GlcNAc}$ 出现于其他的一个或几个臂上。

这 3 种类型都具有相同的五糖核心结构,它们的区别主要在外周链。图 1-3 表示的是糖蛋白中糖链结构类型示意图。图 1-4 表示的是 *N*-连接糖链 3 种类型实例。

(二) *O*-连接糖链

O-连接的糖链存在多种形式, *O*-糖链含有半乳糖、岩藻糖、*N*-乙酰葡萄糖胺、*N*-乙酰半乳糖胺,有时还含有唾液酸,但不含甘露糖。*O*-糖链一般较短,往往呈分枝状,其链的长短变化很大,少则仅由单个糖残基组成,多则可含有 20 个单糖残基。此情况与合成方式有关, *O*-糖链不是预先装配成与类脂相连接的一种糖链前体,然后再加工为成熟

的糖链，而是每次转移一个糖残基逐步延伸而成。

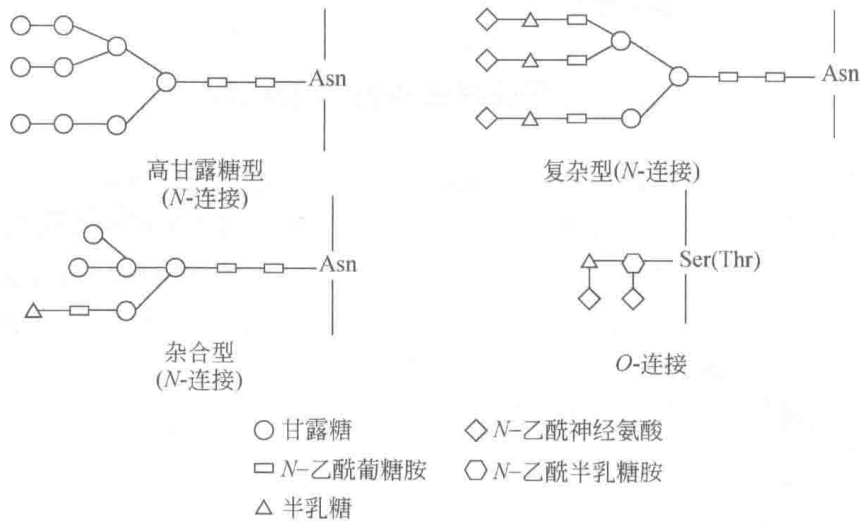


图 1-3 糖蛋白中糖链结构类型示意图

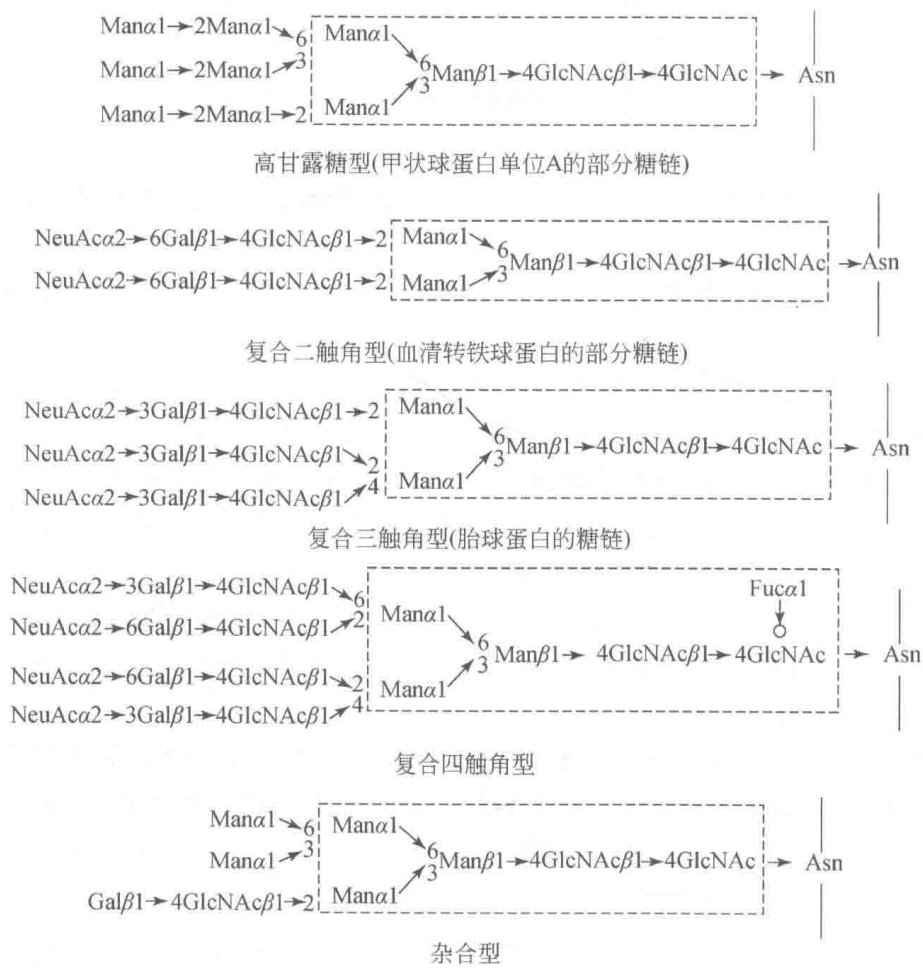


图 1-4 N-连接糖链 3 种类型实例

(虚线框内为五糖核心)

O-连接的糖链结构共同点是由一种或少数几种单糖与某些含羟氨基酸连接，不存在共有的五糖核心结构。如：人血纤维蛋白溶酶原、人免疫球蛋白 IgA。但在 *O*-乙酰半乳糖胺（*O*-GalNAc）连接的糖链中已发现有 4 种核心结构。研究最多的是粘蛋白血浆蛋白和膜蛋白^[9]。*O*-糖链的结构示意图见图 1-5，根据其核心结构的不同，可将 *O*-糖链分为 4 个亚型，见图 1-5。表 1-1 为不同类型的 *O*-糖链。

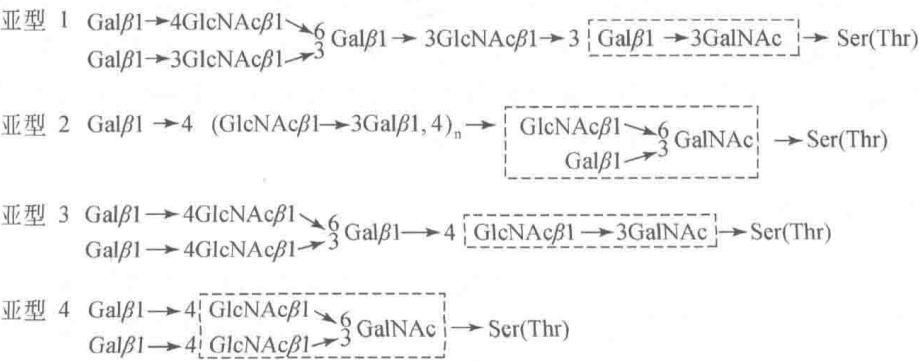


图 1-5 *O*-连接糖链的 4 种亚型（虚线框内为核心结构）

表 1-1 一些不同类型的 *O*-糖苷键连接的糖链

肽链中的有关残基	糖链的还原端糖基	存在情况
Ser/Thr	GalNAc	黏蛋白、血型物质等
Ser	Xyl(-Gal-)	蛋白聚糖
Ser	L-Fuc	组织纤溶酶原激活剂
Ser	Glc(-Xyl-Xyl)	一些凝血因子
Ser	Man	酵母糖蛋白
Ser/Thr	GalNAc	许多细胞质和核中的糖蛋白
Hyls	Glc(-Gal)	胶原
Hypro	L-Ara	一些植物糖蛋白
Tyr	Glc	糖原

O-糖链的结构比 *N*-糖链简单，但连接形式比 *N*-糖链的多。糖蛋白中的糖链结构具有惊人的复杂性和多样性，其一级结构不仅包括各糖基的排列顺序，还包括糖基的环化形式，糖基本身异头体的构成和糖基的连接方式以及分支结构的位点和分支糖链的结构，其结构远比 20 种氨基酸组成的蛋白质和 4 种碱基组成的核酸复杂得多。因此相比核酸和蛋白质而言，糖链所含的信息量十分巨大，潜在的研究与应用价值十分惊人。

六、中药糖蛋白中糖链的生物学功能

糖蛋白中蛋白质是生理功能的主要负担者，而糖链则对蛋白质的功能起到修饰作用，糖链对蛋白质的作用是极其多样的。糖链在糖蛋白中的作用主要分为两大类，即分

子内作用：如蛋白质的正确折叠、细胞内定位、生物活性、抗原性、生物半衰期、蛋白酶敏感性等。分子间作用：如趋靶于溶酶体、组织、细胞黏附病原体等^[10]。糖蛋白中的糖链究竟起什么作用，至今都没有定论，这也给了我们更多的研究空间。

1. 标记功能

特殊的带有物种标记的糖链（无论结构、数量还是分布等方面）在进化等级上均存在较大差异。糖链结构可以直接影响肽链构象及由构象决定的所有功能。参与细胞与细胞、细胞与基质相互作用的主要细胞黏附分子绝大多数为含 N-糖链的糖蛋白，但糖链在细胞识别黏附分子中的作用目前还未完全阐明。

2. 细胞免疫功能

膜糖蛋白的糖链结构变化传递出细胞衰老死亡的调控信息。如小鼠胸腺细胞膜糖蛋白的岩藻糖化是这类细胞衰老死亡的重要信号之一。大量岩藻糖化的糖蛋白的出现可提供细胞免疫的特征信息，并参与和促进两种细胞间的膜粘连作用，进而介导膜融合，引发巨噬细胞对将死亡或已死亡胸腺细胞的吞噬作用。

3. 改善蛋白质的水溶性

糖分子水溶性极高，其与蛋白质或脂肪大分子结合，可大大提高这类分子的亲水性，并改善分子的疏水亲水平衡点，更重要的是改善蛋白质的功能以及其他理化性能，如分子表面的电荷分布、酸碱性能、分子黏度和分子构型等。基因工程中，真核细胞的表达产物大多数都含有水溶性较好的糖链成分，并且具有高的活性，由此提示亲水性寡糖链是改善蛋白质溶解度和提高生物活性的一个重要方面。

4. 稳定蛋白构象，保护肽链不被酶解

糖链分子上的酸性糖基（如唾液酸等）对蛋白质具有保护构象稳定，延长半衰期的作用，在一定范围内可降低或免除水解酶对肽链的降解或阻止抗体的识别^[11]。此外，蛋白质糖基化后，糖基阻止酶与底物的相互接近，而且糖基引起的底物构型变化也不利于酶-底物复合物的形成，使得酶解不易发生，对糖蛋白起到保护作用^[12]。

第三节 中药糖蛋白代谢

一、糖蛋白的生物合成

糖蛋白肽链的生物合成包括多肽链的合成和多肽链的糖基化作用，糖多肽链的合成受基因控制，但多肽链的糖基化作用不受基因调控，而是由糖基转移酶将糖基转运至肽链上。就蛋白质部分而言与一般分泌蛋白质相同，在粗面内质网进行。糖链的生物合成在肽链延长的同时和（或）以后进行，合成没有模板。糖链生物合成是糖基的受体、糖

基的供体和糖基转移酶这三类分子协调完成的,缺一不可,其中又以糖基转移酶占主导地位。糖基转移酶将糖基供体上活化的糖基转移到糖基受体上,糖基转移酶对糖基的供体和受体都有较高的专一性。因此,每个糖苷连接键为一个糖基转移酶催化的产物,即一种糖苷键对应一种糖基转移酶。

(一) 糖基的供体

游离的单糖不能作为糖基转移酶所用的糖基供体,一定要经过活化。最常见的糖基活化方式有两种:一是核苷酸的形式,另一是磷酸长萜醇的形式。有报道认为维生素 A 类也可和糖基结合,成为糖基的活化形式。长萜醇(Dol)是聚异戊二烯的衍生物,在它的一端有一个羟基,长萜醇二磷酸葡萄糖的结构见图 1-6。一些常见单糖的活化形式如下:以 UDP 活化方式的单糖有 Glc、GlcNAc、葡萄糖醛酸(GlcUA)、Gal、GalNAc、半乳糖醛酸(GalUA)、木糖(Xyl)、L-阿拉伯糖(Ara)、L-艾杜糖醛酸(IduUA)等;以 GDP 活化方式的单糖有 Man、甘露糖醛酸(ManUA)、L-岩藻糖(Fuc)等;以 DolPP 活化方式的单糖有 Man、Glc、GlcNAc 等。只有 NeuAc 和革兰阴性菌的脂多糖核心部分的脱氧辛酮酸(KDO)是以单磷酸衍生物方式活化。

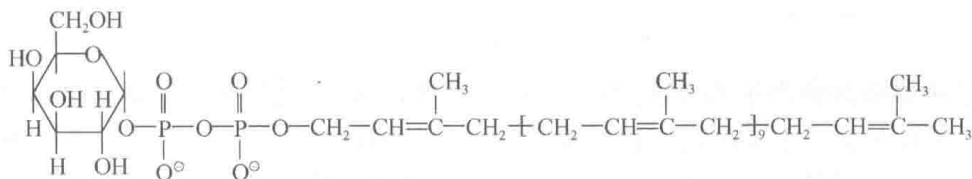


图 1-6 长萜醇二磷酸葡萄糖的结构

(二) 糖基的受体

糖蛋白的肽链在糖基化过程中,第一个糖基的受体通常是肽链中特定位置的氨基酸残基。此后糖链延伸时,糖基的受体则是新接上的糖基。糖链不仅能以直连形式延伸,也能产生分支,即在某些糖基的几个羟基上都作为糖基的受体。蛋白质的肽链上有很多氨基酸可以作为糖基化的位点。*N*-糖链是接在天冬酰胺侧链的酰胺氮上。在一些丝氨酸或苏氨酸残基侧链的羟基氧上可接上 *O*-糖链。肽链中的某些赖氨酸和脯氨酸可以被羟化,引进的羟基氧也是糖基化的位点。

(三) 糖链的合成过程

N-连接糖链,不管是高甘露糖型、复合型还是杂合型,它们都具有共同的核心结构,提示它们有着共同的生物合成机制,表现为 *N*-连接糖链生物合成的第一阶段均是合成一种叫做焦磷酸多萜醇寡糖的脂质中间体,这种寡糖脂质中间体具有 $(\text{Glc})_3(\text{Man})_9(\text{GlcNAc})_2$ 的结构。毒性很强的衣霉素就是干扰这一反应,从而阻止糖链合成而发挥作用。首先合成含有 3 个 Glc、9 个 Man 和两个 GlcNAc 残基的焦磷酸多萜醇寡糖脂质中间体,并将其转移到新生多肽糖基化位点 Asn-X-Ser/Thr 顺序子中的 Asn 上,再从转移到新生多肽