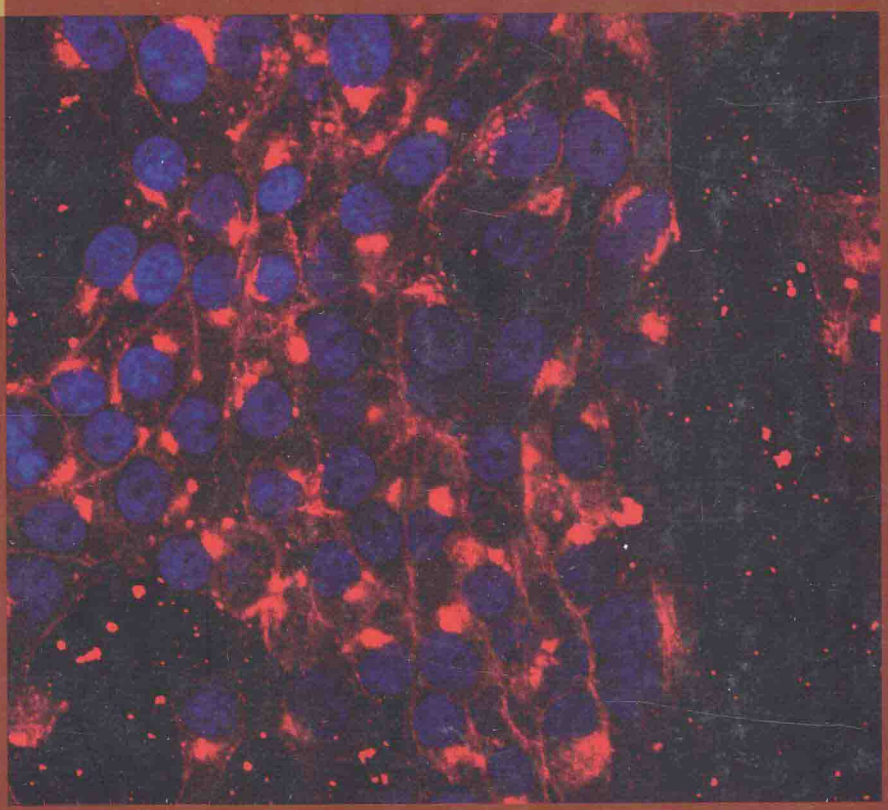
国家科学技术学术著作出版基金资助

糖组学研究技术

李 铮 编著

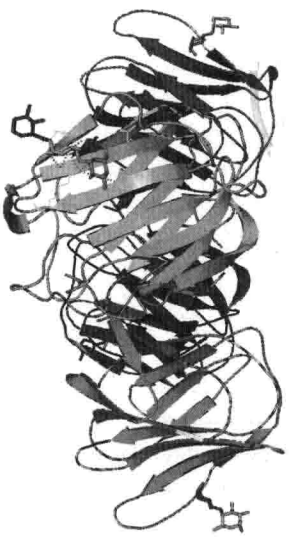


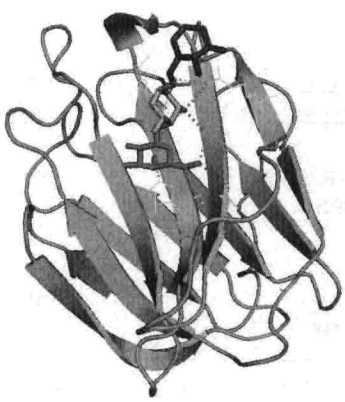
高等教育出版社

国家科学技术学术著作出版基金资助

糖组学研究技术

李 铮 编著





高等教育出版社·北京

TANGZUXUE YANJIU JISHU

内容简介

本书集实验教学的实用性和科学研究的前瞻性于一体，是国内第一部糖组学研究技术专著，因其权威性和创新性获得2013年度国家科学技术学术著作出版基金资助。本书共分为16章，介绍了糖组学研究常用技术和近年来编者实验室发明的新的研究技术（部分已经申请发明专利）。本书第一章重点叙述糖组学研究内容和技术应用，第二章至第十三章分别讲述各类糖组学实验技术，第十四章讲述糖组学数据统计分析方法，第十五章讲述用于糖组学研究的生物信息学技术，第十六章列举了国际上糖组学研究常用的数据库。本书既适合研究生教学，也可作为参考书籍供生命科学研究各领域的相关人员使用。

图书在版编目（CIP）数据

糖组学研究技术 / 李铮编著. -- 北京：高等教育出版社，2015.1

ISBN 978-7-04-037676-0

Ⅰ. ①糖… Ⅱ. ①李… Ⅲ. ①碳水化合物-研究 Ⅳ. ①Q53

中国版本图书馆CIP数据核字(2014)第024086号

策划编辑 孟 丽　　责任编辑 单冉东　　封面设计 张 楠　　责任印制 张泽业

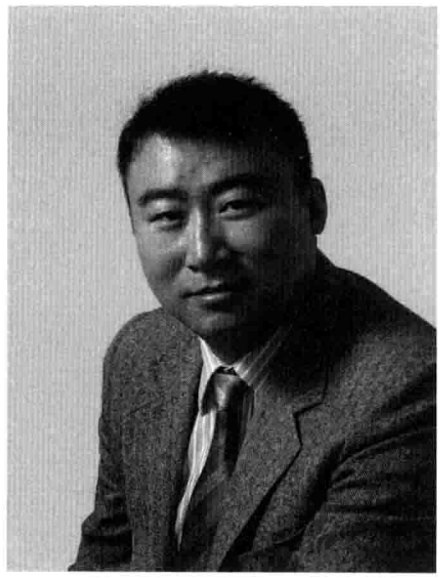
出版发行 高等教育出版社
社　　址 北京市西城区德外大街4号
邮政编码 100120
印　　刷 中国农业出版社印刷厂
开　　本 787mm×1092mm 1/16
印　　张 19.75
插　　页 14
字　　数 398千字
购书热线 010-58581118

咨询电话 400-810-0598
网　　址 http://www.hep.edu.cn
http://www.hep.com.cn
网上订购 http://www.landraco.com
http://www.landraco.com.cn

版　　次 2015年1月第1版
印　　次 2015年1月第1次印刷
定　　价 48.00元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题，请到所购图书销售部门联系调换
版权所有 侵权必究
物 料 号 37676-00

作者简介



李铮，1967 年 12 月出生。1991 年毕业于陕西师范大学化学系，获理学学士学位。1996 年毕业于陕西师范大学化学系分析化学专业，获理学硕士学位。2000 年毕业于西安交通大学生命科学与技术工程系，获博士学位。2001 年获德国学术交流中心（DAAD）特别生物科学计划奖学金，在德国癌症研究中心（DKFZ）从事博士后工作。2004 年就职于西北大学生命科学学院，开始从事糖组学相关技术的研究工作，目前已建立了一套进行糖组学研究的技术和方法；近三年在 *Journal of Proteome Research*、*Journal of Proteomics*、*Proteomics* 和 *PLoS ONE* 等期刊以通讯作者发表论文 22 篇；申请发明专利 16 项，其中已授权 9 项，获得计算机软件著作权 2 项；主持科技部国际科技合作计划、国家“863 计划”和国家自然科学基金等 11 项国家级和省部级科研项目。

序

现代仪器分析技术的快速发展促进了各种组学技术的发展和广泛应用，糖组学正在成为现代生命科学的前沿研究领域之一。糖类物质同核酸一样是重要的生物信息分子，而且是基因信息的延续。目前，我国糖组学研究总体发展较慢，主要原因是相关研究技术和方法落后，涉及此领域的科研人员较少。基于这种情况，有必要编纂一部能用于糖组学研究的实验技术教材。

本书以糖组学科研和教学实践为基础，融入了近年来编者发明的糖组学新技术和已经使用的方法。主要特点是每个实验都融入了编者在实践中的自身体会和经验，详细阐明了每个实验的影响因素，在不同条件下如何改进实验方法，提出了可能出现的问题和解决策略。本书还列举了许多具体实例，同时提供了大量可供参考的图片资料，具有较强的指导性。

科学技术的发展是建立在知识积累的基础之上，《糖组学研究技术》一书的出版为读者面临现代生命科学前沿研究领域的机遇与挑战提供了重要的技术指导，必将促进我国糖生物学研究的发展，也是培养我国糖组学研究青年学者的良好教材。

中国科学院生物物理研究所
蛋白质组学技术实验室主任
质谱首席技术专家、研究员

此为试读，需要完整PDF请访问：www.ertongbook.com

前　言

随着基因组学、蛋白质组学技术的迅猛发展以及现代仪器分析技术的突飞猛进和广泛应用，糖组学正在成为现代生命科学的前沿研究领域之一，并逐步渗透到生命科学研究的每一个领域。

糖组学是从分析和破解一个生物或一个细胞全部糖类所含信息的角度入手，研究糖类的分子结构、微观不均一性、表达调控、与识别分子的相互作用和功能多样性以及与疾病之间关系的科学。糖类物质同核酸一样是重要的生物信息分子，而且是基因信息的延续，在基因组学和蛋白质组学发展的同时，对糖组学的研究也显得非常迫切。随着分子生物学及细胞生物学的发展，糖类物质的其他诸多生物功能不断被认识，糖类物质不仅可以以多糖或游离寡糖的形式直接参与生命过程，而且可以作为糖复合物，如糖蛋白、蛋白多糖及糖脂等参与许多重要的生命活动。此外，糖复合物还与许多疾病，如癌症、细菌和病毒感染等有着密切的关系。糖组学的研究工作与蛋白质和核酸的研究工作相比，在我国总体发展速度较慢，研究技术及方法手段与美国、欧洲、日本等发达国家和地区相比差距较大。基于这种情况，有必要编纂一部能用于糖组学研究的实验技术专著。

由于糖组学技术的快速发展，人们很难在短时间内灵活掌握和应用这些技术，因此研究者急需一本既简单明了又具有指导性的参考书。一本好的实验技术书既不能单纯介绍理论知识，也不能仅仅介绍实验操作步骤，而应该具有举一反三的实用性和指导性，不仅能让读者知道采用哪些实验方法解决哪些实验问题，更重要的是知道在实验中出现了问题如何去解决。本书作为一部研究生用糖组学实验技术专著，编写宗旨立足于既注重研究生糖组学基本技能点培训的需要，又兼顾广大科研工作者研究的需要，力求简明和实用。本书编者为本书涉及的糖组学研究技术发明者或使用者，在介绍实验方法时从研究实际出发，提出研究中常见的问题和解决问题的手段，尽可能使初学者减少实验选择失误和操作失误。

本书的主要特点是每个实验都融入了编者在实践中的自身体会和经验，详细阐明了每个实验的影响因素，在不同条件下如何改进实验方法，提出了实验中可能出现的问题和解决策略。同时还列举了具体实验实例，并给出了大量可供参考的图片，使每个实验具有可操作性及指导性。

在本书编写过程中，有很多同仁无私地参与其中，他们是：于汉杰、刘晨和秦棪楠（第二章）；秦棪楠、朱珉之和简强（第三章）；秦棪楠、钟耀刚和于汉杰（第四章）；杨刚龙、马恬然、王晔、王婷和陈巧玲（第五章）；杨刚龙和王晔（第六章）；杨刚龙和马恬然（第七章）；孙士生和王秦哲（第八章）；赵菲（第九章）；杨刚龙和马恬然（第十章）；党刘毅和南刚（第十一章）；孙秀璇、储玮和陈卓（第十二章）；兀瑞（第十三章）；颜桦（第十四章）；王秦哲和王然（第十五章）；陈闻天（第十六章）。陈卓做了大量的稿件整理和校对工作。美国约翰霍普金斯大学病理系副教授张会博士给予了相应的技术指导。在此一并表示最衷心的感谢。

本书为我国第一部糖组学研究技术专著，由于糖组学涉及的科学和技术问题众多，相关学科交叉广泛，编者在语言表述和见解上都存在一定的差异，疏漏之处在所难免，希望广大读者在使用、实践中提出宝贵意见，并对不足之处给予批评指正。

李　铮

2014 年 2 月

郑重声明

高等教育出版社依法对本书享有专有出版权。任何未经许可的复制、销售行为均违反《中华人民共和国著作权法》，其行为人将承担相应的民事责任和行政责任；构成犯罪的，将被依法追究刑事责任。为了维护市场秩序，保护读者的合法权益，避免读者误用盗版书造成不良后果，我社将配合行政执法部门和司法机关对违法犯罪的单位和个人进行严厉打击。社会各界人士如发现上述侵权行为，希望及时举报，本社将奖励举报有功人员。

反盗版举报电话　(010)58581897　58582371　58581879

反盗版举报传真　(010)82086060

反盗版举报邮箱　dd@hep.com.cn

通信地址　北京市西城区德外大街4号　高等教育出版社法务部

邮政编码　100120

目　录

第一章　糖组学技术应用策略 …… 1
第一节　糖组学研究概述 …… 1
第二节　糖组学研究技术 …… 7
参考文献 …… 13

第二章　糖基因芯片技术 …… 17
第一节　糖基因芯片的制备 …… 18
第二节　应用实例 …… 26
实例一　糖基因芯片在肝癌细胞中的应用研究 …… 26
实例二　糖基因芯片在肝癌患者外周血中的应用研究 …… 28
参考文献 …… 30

第三章　凝集素芯片技术 …… 31
第一节　凝集素芯片制备技术 …… 31
第二节　应用实例 …… 36
实例一　凝集素芯片检测 TGF-β1 诱导肝星状细胞活化前后糖蛋白糖链谱 …… 36
实例二　凝集素芯片检测肝癌患者和健康志愿者唾液糖蛋白糖链谱 …… 39
参考文献 …… 41

第四章　凝集素组织化学技术与应用 …… 42
第一节　凝集素组化技术 …… 42
第二节　应用实例 …… 48
实例一　凝集素组化技术用于分析人肝癌组织、肝硬化组织、癌旁组织糖链表达 …… 48
实例二　凝集素组化技术用于分析小鼠纤维化肝糖链表达 …… 51
实例三　凝集素组化技术用于分析 TGF-β1 诱导肝星状细胞糖链表达 …… 53

参考文献 …… 54

第五章　基于凝集素磁性微粒复合物的糖蛋白及其糖链的分离纯化技术 …… 56
第一节　凝集素磁性微粒的制备 …… 57
第二节　应用实例 …… 71
实例一　凝集素 Con A 磁性微粒复合物应用于血清中糖蛋白的分离纯化及鉴定 …… 71
实例二　凝集素磁性微粒复合物应用于细胞中糖蛋白的分离纯化及鉴定 …… 80
实例三　凝集素磁性微粒复合物应用于活细胞表面膜糖蛋白的分离纯化及鉴定 …… 87
参考文献 …… 93

第六章　凝集素－磁性微粒复合物分离及其非标记的蛋白质质谱定量技术 …… 94
参考文献 …… 108

第七章　滤膜辅助凝集素分离糖肽及其糖基化位点分析技术 …… 109
参考文献 …… 124

第八章　酰肼化学法分离纯化糖蛋白/糖肽技术 …… 125
第一节　酰肼化学法分离纯化糖蛋白/糖肽 …… 125
第二节　酰肼功能化磁性微粒分离纯化糖蛋白/糖链 …… 131
第三节　应用实例 …… 133
实例　酰肼树脂法分离纯化肝癌病人与健康志愿者血清糖蛋白、糖肽、末端唾液酸化糖肽 …… 133
参考文献 …… 134

第九章　亲水亲和分离纯化糖蛋白技术 …… 135
第一节　亲水亲和分离技术 …… 135
第二节　应用实例 …… 138
实例　亲水亲和技术分离纯化健康志愿者唾液糖蛋白 …… 138
参考文献 …… 145

第十章　滤膜辅助糖蛋白糖链的分离纯化及其结构质谱解析技术 …… 146
第一节　滤膜辅助全糖蛋白 *N* - 连接糖链的分离 …… 148
第二节　滤膜辅助糖蛋白 *O* - 连接糖链的分离 …… 152
第三节　滤膜辅助的凝集素分离糖蛋白 *N* - 连接糖链 …… 155
参考文献 …… 159

第十一章　糖芯片制备技术 …… 161
第一节　糖芯片基本原理与操作 …… 161
第二节　应用实例 …… 166
实例一　凝集素 RCA120 的结合特异性分析 …… 166
实例二　糖芯片在 TGF-β1 诱导下人肝星状细胞研究中的应用 …… 169
参考文献 …… 173

第十二章　糖结合蛋白分离纯化技术 …… 174
第一节　羟基化磁粒的制备 …… 174
第二节　糖链 - 磁粒复合物的制备 …… 176
第三节　糖结合蛋白的分离纯化 …… 178
第四节　糖结合蛋白的鉴定方法 …… 180
第五节　应用实例 …… 188
实例　肝癌患者和健康志愿者血清中甘露糖结合蛋白的分离纯化与鉴定 …… 188
参考文献 …… 200

第十三章　糖结合蛋白基因芯片技术 …… 201
第一节　糖结合蛋白基因芯片制备技术 …… 201
第二节　应用实例 …… 209
实例　糖结合蛋白基因芯片在肝癌研究中的应用 …… 209
参考文献 …… 211

第十四章　糖组学数据统计分析方法 …… 213
第一节　引言 …… 213
第二节　图像采集 …… 214
第三节　数据预处理 …… 219

此为试读，需要完整PDF请访问：www.ertongbook.com

第四节　寻找表达差异基因、蛋白质或糖链…… 222
第五节　聚类分析…… 224
第六节　统计分析软件及专家系统…… 230
参考文献…… 232

第十五章　用于糖组学研究的生物信息学技术…… 233
第一节　糖基化位点预测与鉴定方法…… 233
第二节　糖结合蛋白预测及分类…… 244
参考文献…… 257

第十六章　糖组学数据库…… 258
第一节　糖组学相关数据库…… 258
第二节　糖组学研究主要网络平台…… 266
参考文献…… 280

附录…… 282
一　糖基因列表…… 282
二　凝集素列表…… 295
三　缩略语…… 300
四　生物信息学相关数据库…… 303

彩版

第一章　糖组学技术应用策略

随着基因组计划的提出和实施以及后基因组时代的到来，人们发现在复杂的细胞生物学过程中，除核酸与蛋白质扮演了绝对关键的角色外，糖类物质同样起着相当重要的作用。糖类物质与蛋白质、脂质和核酸一样，是组成细胞的重要成分之一，其不但是细胞能量的主要来源，而且在细胞的构建、细胞的生物合成和细胞生命活动的调控中均扮演着重要的角色。2000 年以来，现代糖生物学研究，尤其是糖组学的出现，成为继核酸、蛋白质之后探索生命奥秘的第三个里程碑[1-5]。与基因组学和蛋白质组学的研究相比，糖组学的研究还处于起步阶段，阻碍糖组学迅速发展的主要原因是研究技术的限制和糖类物质本身结构的复杂性。在糖组学发展过程中，分析技术的进步始终是直接的推动力。正是由于现代仪器分析技术的突飞猛进和广泛应用最终导致了糖组学研究的出现，为包括糖组学在内的许多学科的发展注入了新的活力。

第一节　糖组学研究概述

一、糖组学和糖组概念

糖组学（glycomics）是研究细胞或生物体内糖类物质的分子结构、微观不均一性、表达调控、与识别分子的相互作用、功能多样性以及与疾病之间关系的科学[6-8]；糖组（glycome）则是指细胞或生物体在某一时期或某一情况下所具有的整套糖链。为什么在这种情况下产生这样一套糖组？在这种情况下，生物体是怎样产生这样一套糖组的？这套糖组又有什么功能？这些功能又是怎样得以完成的？糖组学研究的内容正是为了回答这些问题。细胞中存在着多种糖复合物，包括糖蛋白、糖脂和蛋白聚糖等，这些糖复合物上的糖链发挥着至关重要的生物学功能。在细胞中，组成聚糖的单糖组分包括甘露糖、半乳糖和 *N* - 乙酰葡萄糖胺等十几种，然而就是这些为数不多的单糖组分，由于糖苷键、分支结构以及单糖数目的不同，组成了种类为天文数字的糖链。这些糖链包含了庞大的重要生物信息。可以认为，蛋白质 - 糖类是基因信息

传递的延续和放大。在基因及编码的蛋白质被鉴定后，糖组学的研究将揭示蛋白质如何发挥它们在细胞或生物体中的各种重要的生物学功能。

在真核生物中，蛋白质糖基化通常是指将糖链共价连接于丝氨酸、苏氨酸或天冬酰胺残基上。糖基化蛋白几乎存在于所有的细胞内组分中。复杂型糖链主要连接在分泌蛋白和细胞表面蛋白上，但并不与多肽随意连接或解离。相反地，*O* - 连接的 *N* - 乙酰葡糖胺（*O*-GlcNAc）则快速地与很多核蛋白和细胞质基质蛋白上的丝氨酸或苏氨酸残基连接或解离。通过细胞生物学鉴定糖链数量、结构和功能曾是一项令人望而却步的工作，但近几年随着新技术发展以及对糖链结构认识的加深，这一任务已经逐渐变得简单[9]。

一般认为超过 50% 的蛋白质被糖链共价修饰，共价连接到蛋白质和脂质上的糖链代表的不仅是一种常见的翻译后修饰，也是目前为止最多样和最复杂的结构[10,11]。虽然术语“糖基化”常被认为与其它翻译后修饰如磷酸化、乙酰化、泛素化和甲基化一样，仅为划分蛋白翻译后修饰的一种糖链修饰，但这一观点并不准确，因为如果仅仅考虑原核和真核生物中连接在多肽上的第一个糖残基，就有至少 13 种不同的单糖和 8 种不同的氨基酸涉及糖 - 蛋白的连接，总共至少 41 种不同的化学键可以将糖链连接到蛋白质上[12]。更为重要的是，糖 - 蛋白连接不论是在结构上还是功能上都与蛋白质的甲基化和乙酰化明显不同。当然，这种修饰也不仅仅关系到单独的连键。当把多个寡糖组成的分支结构多样性和糖链复杂的末端结构多样性，如岩藻糖或唾液酸（已知大约有 50 种不同的唾液酸[13,14]）考虑进去，蛋白质连接糖链的分子多样性和功能多样性就立刻以指数增加。

二、蛋白质糖基化类型与特点

蛋白质的糖基化是一种最常见的蛋白质翻译后修饰，是在糖基转移酶作用下将糖类物质转移至蛋白质，使之与蛋白质上特殊的氨基酸残基形成糖苷键的过程。研究表明，70% 的人类蛋白质包含一个或多个糖链，1% 的人类基因组参与了糖链的合成和修饰。哺乳动物中蛋白质的糖基化类型主要可分为三种：*N* - 糖基化、*O* - 糖基化和 GPI 糖基磷脂酰肌醇锚[15,16]。

（1）*N* - 糖基化：糖链通过与蛋白质的天冬酰胺的自由 NH_2 基共价连接。*N* - 连接的糖链合成起始于内质网（ER），完成于高尔基体。*N* - 糖链合成的第一步是将一个 14 糖的核心寡聚糖添加到新形成多肽链的特征序列为 Asn-X-Ser/Thr（X 代表任何一种氨基酸）的天冬酰胺上。核心寡聚糖是由两分子 *N* - 乙酰葡萄糖胺、九分子甘露糖和三分子葡萄糖依次组成，第一位 *N* - 乙酰葡萄糖胺与 ER 双脂层膜上的磷酸多萜醇的磷酸基结合，当 ER 膜上有新多肽合成时，整个糖链一起转移。寡聚糖转移

到新生肽以后，在 ER 中进一步加工，依次切除三分子葡萄糖和一分子甘露糖。在 ER 形成的糖蛋白具有相似的糖链，由顺面进入高尔基体后，在各膜囊之间的转运过程中，原来糖链上的大部分甘露糖被切除，但又由多种糖基转移酶依次加上了不同类型的糖分子，形成了结构各异的寡糖链。

（2）*O* - 糖基化：糖链与蛋白质的丝氨酸或苏氨酸的自由 OH 基共价连接。*O* - 糖基化位点没有保守序列，糖链也没有固定的核心结构，组成既可以是一个单糖，也可以是巨大的磺酸化多糖，因此与 *N* - 糖基化相比，*O* - 糖基化分析会更加复杂。*O* - 连接的糖基化在高尔基体中进行，通常第一个连接上去的糖单元是 *N* - 乙酰半乳糖，连接的部位为 Ser、Thr 或 Hyp 的羟基，然后逐次将糖残基转移上去形成寡糖链，糖的供体同样为核苷糖，如 UDP - 半乳糖。

（3）GPI 糖基磷脂酰肌醇锚：是蛋白与细胞膜结合的唯一方式，不同于一般的脂质修饰成分，其结构极其复杂。许多受体、分化抗原以及一些具有生物活性的蛋白都被证实是通过 GPI 结构与细胞膜结合的。GPI 的核心结构由乙醇胺磷酸盐、三个甘露糖苷、葡糖胺以及纤维醇磷脂组成[17]。GPI 锚定蛋白质的 C 末端是通过乙醇胺磷酸盐桥接于核心聚糖上的，该结构高度保守，另有一个磷脂结构将 GPI 锚连接在细胞膜上。核心聚糖可以被多种侧链所修饰，例如乙醇胺磷酸盐基团，甘露糖，半乳糖，唾液酸或者其他糖基。

糖基化修饰使不同的蛋白质打上不同的标记，导致糖链的功能多种多样，如：改变多肽的构象，从空间上调节蛋白质的空间结构和正确折叠，保护多肽链不被蛋白酶水解，增加蛋白质的稳定性；屏蔽抗原表位，防止其与抗体识别；细胞内定位；细胞 - 细胞黏附和结合病原体等。在糖脂相关研究中已经证明了血型的决定物质是糖链，在神经组织及大脑中更是存在大量的糖脂，但对其生理意义仍了解不多。细胞表面糖蛋白和糖脂上的糖链是功能信息的承担者，发挥着细胞 - 细胞和细胞 - 胞外基质信息传递的作用。近年来的研究表明：糖链在人类疾病中发挥着重要作用，直接参与几乎所有的生物学过程[18]。组织培养细胞的遗传研究结果发现，特殊的复杂糖链结构并不是单个细胞生长必不可少的，表明复杂糖链的大多数功能是在多细胞水平上。然而，存在于哺乳动物核蛋白和细胞质基质蛋白上的 *O*-GlcNAc 在单个细胞水平上发挥着不可替代的功能[12]。

三、糖基因和糖酶

糖链的结构具有多样性、复杂性和微观不均一性，其一级结构的内容不仅包括糖基的排列顺序，还包括各糖基的环化形式、各糖基本身异头体的构型、各糖基间的连接方式以及分支结构的位点和分支糖链的结构。糖链结构的复杂性给其结构表征带

来了巨大的困难，目前要解决的问题仍然以方法学研究为主。另外，人们已经认识到，生物体内的糖链、特别是功能性糖链的合成过程，往往在蛋白质合成的同时在内质网上进行，其合成速度不仅与糖基因（指编码糖基转移酶、糖苷酶和磺基转移酶的糖类物质相关基因）表达有关，也与催化糖链形成的糖酶（糖基转移酶、糖苷酶和磺基转移酶）的活性有关，由此合成的糖链存在着明显的种间特异性、组织特异性和发育特异性，因此催化天然糖链结构形成的糖酶和编码糖酶的糖基因是糖组学研究的内容之一。糖蛋白的空间结构决定了可以和哪一种糖基转移酶结合，从而发生特定的糖基化修饰。在参与糖基化形成的过程中，糖基转移酶和糖苷酶扮演了重要的角色。糖基转移酶是一类负责合成二糖、寡聚糖和多聚糖的酶，它们催化核苷酸糖（糖基供体）上的单糖基团转移到糖基受体分子上形成糖苷键。目前已研究清楚多种糖基转移酶的结构以及编码它们的糖基因，并认为糖链的合成没有特定的模板，而是通过糖基转移酶将糖基由其供体转移到受体上。尽管如此，糖基转移酶具有严格的底物和受体专一性，如 α－1,6 岩藻糖转移酶只催化二磷酸鸟苷－岩藻糖，将 *L*－岩藻糖残基转移至 *N*－糖链五糖核心的第一个 *N*－乙酰葡糖胺上形成 α－1,6 糖苷键。一个寡糖结构可以被一个或几个糖基转移酶识别，不同比例的糖基转移酶竞争的结果就形成不同的糖苷键[19]。糖苷酶是作用于各种糖苷或寡糖使其糖苷键水解的酶的总称，又称糖苷水解酶。磺基转移酶是一类可以将供体分子的硫酸根基团转移到醇或胺等分子的转移酶。

四、糖结合蛋白

近十年来，人们已经认识到细胞表面糖链与蛋白质的相互作用促进了细胞与细胞间的黏附，参与了脊椎动物胚胎发育。这种与糖链相互作用的蛋白质被称为糖结合蛋白（glycan-binding proteins，GBPs）。GBPs 通过和糖蛋白糖链或糖脂糖链的相互作用调控细胞识别、信号传递、细胞内吞以及细胞生长、分化和凋亡等生物学过程[20]。从糖链的生物合成，糖链行使它们的生物功能，到最终被生物降解，每一个环节都离不开糖链和蛋白质的相互作用。广义地说，GBPs 的范围包括：①糖基转移酶，与其作用的底物即为糖链；②糖苷酶，可以降解糖链；③以糖链为抗原诱导产生的抗糖类抗体；④转运糖蛋白和糖脂的蛋白质等。狭义的 GBPs 通常和凝集素是同一概念。凝集素是自然界广泛存在的一大类非免疫来源的无糖酶活性的多价 GBPs。凝集素在 100 多年前就已经在植物中首次被发现，但到现在才知道它们也存在于动物和微生物中。动物 GBPs 按同源性可分为 5 类：①C 类：识别糖链时需要 Ca^{2+}，包括选凝素（L－选凝素、E－选凝素、P－选凝素）和胶原凝素；②S 类：在稳定其结构时需要“游离的”硫醇，主要是半乳凝素；③P 类：识别 Man-6-P；④I 类：专一识别唾液酸

(Siglec),包括 Siglec 家族;⑤正五角蛋白类。

目前已经解析出了 100 多个糖 - 蛋白质复合物的晶体结构,这些复合物的共同特点是:糖结合位点小(跨越 ~2.5 糖残基);糖与蛋白质的相互作用包括与羟基形成氢键和疏水性相互作用;糖链在水溶液中以最低能量或接近最低能量的构象与蛋白质结合。对蛋白质与糖链分子相互作用细节上认识的进展,有可能有助于合成一些能模拟糖链的结合位点化合物,因此可能研制出新型药物,这些重要的信息都来源于糖链和 GBPs 相互作用的研究。近年来对于 GBPs 的研究和对 GBPs 与糖蛋白糖链或糖脂糖链相互作用机理的解析已成为蛋白质组学、糖组学研究的又一热点[21-24]。在肝细胞 GBPs 的研究方面已发现了一些有重要意义的 GBPs,其中有代表性的是位于肝细胞表面的去唾液酸糖蛋白受体和肝的 Gal/GalNAc 受体,通过该受体蛋白与糖链的相互识别和特异性结合,将去唾液酸糖蛋白运入细胞内[25]。肿瘤发生时,蛋白质和脂分子糖基化的异常导致糖链发生了结构和数量的改变,相应地和这些糖链相互作用的 GBPs 的表达也发生异常改变。目前对多数肿瘤发生和发展过程中发生异常的相关 GBPs 种类和数量还了解不多,主要原因是现有的常规研究 GBPs 与糖相互作用的技术和方法缺乏系统化、规模化的研究能力,无法对蛋白质与糖链之间相互识别、相互作用进行系统地研究。因此,利用新技术和新方法开展肿瘤相关 GBPs 的研究,寻找和发现新的肿瘤标志物和靶点,对于阐明肿瘤发生和发展的分子机制,开展肿瘤早期诊断和分子靶向治疗都具有非常重要的意义。

五、糖链生物标志物

糖链肿瘤标志物是一类诊断并刻画人类肿瘤细胞特征的重要标志物。许多已经存在的癌症生物标志物都是糖蛋白,比如人类绒膜促肾上腺激素 -β、甲胎蛋白、癌胚抗原(CEA)、前列腺特异抗原(PSA)等。糖类抗原唾液酸化路易斯 a(SLea)作为一种诊断和预后跟踪的血清肿瘤标志物,在多种人类癌症中都可被检测出来。这种抗原的过表达常常与预后不良和肿瘤复发密切相关。血清蛋白 Apo-J 上(β1 - 4)三天线 *N* - 糖链的减少可作为肝癌诊断的潜在依据。另有研究表明唾液酸化和岩藻糖化的增加与结肠癌和腺癌的发生关系密切[26,27]。

虽然癌症临床诊断标志物多数是糖蛋白,但现行的诊断方法仍是检测多肽的表达。显而易见,既然人们早认识到糖基化的变化与癌症密切相关,检测某个蛋白的特殊糖型将使早期诊断癌症具有更高地灵敏性和特异性[28]。因此,糖组学和糖蛋白质组学的融合是发现癌症早期诊断标志物的关键[9]。2005 年美国食品药物管理局已同意 α - 岩藻糖化甲胎蛋白作为原发性肝癌的诊断标志物。另外,岩藻糖化触珠蛋白也可能成为更好的胰腺癌标志物,这比简单地检测触珠蛋白多肽的表达要准确得

此为试读,需要完整PDF请访问: www.ertongbook.com