



生命科学前沿及应用生物技术

# 糖工程概论

焦庆才 主 编  
陈 群 赵帜平 曹稳根 副主编



科学出版社

生命科学前沿及应用生物技术大系·典藏版

# 糖工程概论

焦庆才 主 编  
陈 群 赵帜平 曹稳根 副主编

科学出版社

北 京

## 内 容 简 介

应用生物技术大系和现代生命科学前沿系列图书分别被列为“十一五”和“十二五”国家重点图书出版规划项目。本丛书针对生命科学领域前沿重点发展方向以及应用生物技术领域的新成果、新思路、新方法和新技术,全面展示了其最新的发展动态,涵盖了基础理论和主要技术方法,呈现了新的概念与理论、技术,在更深层次上阐明了生命的本质规律,给人们提供了新的认识生命本质的手段,也为生物技术服务于人类开辟了新的途径。涉及领域包括生物医药、干细胞技术、工业微生物学、蛋白质及蛋白质组、系统生物学、合成生物学、生物材料、农业生物技术、环境生物技术、海洋生物技术、生物资源与安全等。

### 图书在版编目(CIP)数据

生命科学前沿及应用生物技术大系:典藏版/舒红兵等编著. —北京:  
科学出版社, 2016

ISBN 978-7-03-047487-2

I. ①现… II. ①舒… III. ①生命科学—研究②生物工程—研究 IV. ①  
Q1-0②Q819

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2016)第 043876 号

责任编辑:王 静 李 悦

责任印制:张 伟 / 封面设计:刘新新

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>

北京厚诚则铭印刷科技有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2016年7月第一版 开本:787×1092 1/16

2016年7月第一次印刷 印张:2108

字数:49 985 000

定价:8900.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

## 序

自 1988 年牛津大学 Raymond Dwek 教授首次提出“糖生物学”(glycobiology)这一学术名词以来,这二十多年间糖生物学的研究不但受到欧、美、日等发达国家的重视,他们的政府不惜拨出巨额经费来开拓和发展糖生物学的研究,而且也得到像中国、印度、波兰等发展中国家政府的支持。取得了不少令人振奋的研究进展:发现和证实糖类作为信息分子在受精、发育、分化及维护神经系统和免疫系统的平衡中起着重要作用;在炎症、自身免疫疾病、细胞癌变、转移及植物与病原体互相作用等生理和病理过程中起着介导作用等研究成果。糖生物学已成为 21 世纪生命科学的前沿学科,需要我们继续去深入探索、研究和发现。同时,糖生物学研究的发展也推动了分子生物学、细胞生物学、免疫学及神经生物学等学科的发展。并将其推向产业化:如人工合成能识别白细胞表面的四糖 Sia-Le<sup>x</sup>,人工合成肝素分子中抗凝活性片段的五糖类似物等,“糖工程”这门学科也就应运而生。

糖基化工程是继基因工程和蛋白工程之后,在生物化学和分子生物学领域中具有独特应用前景的学科,也可以说是一种新的生物技术。其主要目标是人工操作蛋白质上的寡糖链,使之具有正常的生物学功能。早期由基因工程技术制造的一些细胞因子药物,如 EPO、GCSF、IFN 等。由于表达的蛋白质分子中无糖基化,与人体内源性的细胞因子有差别,因而在临床应用时,常发生发烧、过敏等副反应。而现在已通过基因表达系统的改变,在体外实现了蛋白质的糖基化,从而大大降低了这些药物的副反应。这就是糖基化工程带来的优点,也可以说是糖基化工程解决了这些基因工程药物存在的副反应。当然,糖基化工程的优点不仅只是降低蛋白质的异源性和抗原性。而且是一种能够改良蛋白质性质的生物技术:如增加糖蛋白的合成和分泌的效率;增加蛋白质的溶解度;延长蛋白质生物学半衰期;提高或增加蛋白质的生物活性以及帮助药物导向靶细胞等等。

多糖是生物高分子家族中的一个最丰富多彩的成员,广泛存在于各种植物、动物和微生物组织中,具有免疫调节、抗肿瘤、抗病毒、抗氧化、降血糖等多种生物活性。其最大优点是毒副作用小,来源广泛,资源丰富。尤其是来源于中草药的植物多糖,受到许多国家的重视。自 20 世纪 80 年代以来,我国在多糖研究领域,无论从糖化学、糖生物学到临床医学,还是从基础研究到应用开发,都取得了从无到有、从粗到精的研究成果和产品投产。有的已成为药物应用于临床;如香菇多糖、云芝多糖、猪苓多糖、灰树花多糖、裂褶菌多糖、黄芪多糖和牛膝多糖等。它们在抗肿瘤、抗病毒等疾病的治疗中显示出诱人的前景,为中药现代化和人类的健康事业做出了可喜的贡献。而且,多糖的应用还不仅仅在医学上,在食品、饲料、农药和化工等方面都有其广阔的应用前景。

糖工程是由糖化学与糖生物学交叉发展而形成的一门新兴学科。它涵盖了糖生物学和糖化学的基础理论和技术方法,也是将其转化为生产技术过程的一门学科。为了让读者能系统学习和掌握糖化学、糖生物学和糖工程的知识,该书既介绍了理解这一学科所必

需的基础知识,同时也综合评述了这一学科的最新进展和它的实际应用及发展前景,值得高等院校师生和科研院所同行的阅读和借鉴,不失为一本有价值的参考书。希望能为糖工程的发展和社会进步有一定的推动作用。

田庚元

中国科学院上海有机化学研究所

2010年8月于上海

## 前 言

糖(寡糖、多糖)是植物、动物、微生物的架构和功能材料,是生命体内另一类重要的信息物质,能够在微克级甚至纳克级下起作用,在细胞之间的相互识别、相互作用,癌症的发生和转移,机体的免疫和免疫抑制以及受精和细胞凝集等生物过程中都起着关键作用。由于单糖种类繁多、构型多变,每个单糖上含有多个羟基,形成糖苷键时又有多种连接方式,所以多糖、寡糖携带的信息量巨大。由于糖在生命科学中有如此重要的作用,各国都投入力量竞相研究,一些新的学科,如“糖生物学”、“糖工程学”也应运而生。以糖生物学和糖化学理论知识和基本技术为基础,研究糖链的修饰和工程化改造及其规模应用的学科,称为“糖工程”。

20世纪90年代以后,各种糖研究的国际合作、国际信息网络的技术与产品的交流更是蓬勃兴起。近30年来,多糖以及糖复合物的分离、纯化、组分测定和结构分析取得长足进步,糖的化学合成也取得较大进展,如复杂寡糖链合成工艺、多糖结构修饰工艺已趋成熟。目前,糖生物学及糖工程研究已成为继基因工程、蛋白质工程之后的第三大生物工程,是当今最前沿的生物学科之一,神经糖生物学、糖病理学、糖免疫学、糖的结构生物学、糖工程及药物开发、糖类空间结构的计算机模拟等都是糖研究的热点。

我国地大物博,糖类资源丰富,医药界对中药多糖的兴趣尤为浓厚,至今已报道了300多种具有免疫调节、抗肿瘤、抗病毒、抗辐射、延缓衰老、抗感染等多种生理活性的中药多糖,有的已成为临床上用于肿瘤、肝炎、心血管疾病辅助治疗和康复的药物。例如,中国科学院上海有机化学研究所田庚元教授领导的团队拥有多糖、寡糖分离、纯化和结构解析的技术领先优势,成功地开发出具有抗肿瘤、增强免疫功能的中药牛膝多糖、白术多糖、玄参多糖或寡糖,开发出具有脑缺血保护作用的元胡多糖,并对牛膝多糖进行硫酸化、磷酸化、羧甲基化、羟乙基化等系列结构修饰,衍生具有抗凝血、抗病毒新功能的多糖新产品。

随着人们环境保护意识的增强,回归自然已成为人们日常生活中的一种追求。而“亚健康状态”概念的提出、国家医疗制度改革政策的出台以及人民生活水平的提高,进一步促进了人们在观念上的转变,即由过去以治病为主的观念逐渐向防病为主的观念转变,这为天然多糖的应用开发提供了广阔的前景。

当前国内对多糖、寡糖的研究可谓方兴未艾。但是,有关糖工程的书籍难得一见,难以适应研究、开发和规模化生产的社会需求,已有的与糖有关的书籍多侧重于对基础理论研究的综述。本书重点介绍多糖结构的工程化改造及成功应用的背景知识,力求将糖生物学、糖化学的基础研究、技术开发和多糖、寡糖的功能与应用有机结合在一起。本书内容包括糖生物学与糖基化工程,天然多糖结构、功能及修饰和多糖的工程化应用三大块。本书作者长期工作在糖科研、教学和应用的第一线,撰写此部能反映糖工程化最新成果的学术专著,可以满足从事糖教学、科研及开发应用的广大学者和科技工作者的需求,对糖

的深入研究、开发应用作出贡献。

本书第一章、第八章和第十一章第四节焦庆才和刘茜编写,第二至第五章曹稳根编写,第六章刘均忠和郭丽云编写,第七章赵根海编写,第九章陈彦编写,第十章第一至第四节戴玲编写,第十章第五节赵帜平、许宝奎编写,第十一章第一至第三节王述声和沈业寿编写,第十二章陈群编写,第十三和第十四章吴环编写,第十五章邓呈逊编写。感谢上述同仁为本书所付出的宝贵时间和精力,同时因时间和水平所限,本书出现失误和错误也在所难免,欢迎广大读者批评指正。

焦庆才  
南京大学  
2010年夏于南京

# 目 录

## 第一部分 糖生物学与糖基化工程

第一章 糖生物学与糖工程概述	3
第一节 糖生物学成为生命科学的前沿领域	3
第二节 糖类研究的历史回顾	6
第三节 糖生物学与糖工程的关系	8
第四节 糖基化工程基础	11
第五节 糖类与生命科学研究进展	14
第二章 糖链组成和结构	17
第一节 单糖结构和性质	17
第二节 糖链中单糖及其衍生物组成	29
第三节 糖链组成和命名	35
第四节 糖链结构	37
第三章 糖链结构测定方法	43
第一节 糖链结构测定一般步骤	43
第二节 糖链结构化学测定法	47
第三节 糖链结构酶学测定法	50
第四节 糖链结构仪器测定法	54
第四章 糖链生物合成和降解	62
第一节 概述	62
第二节 <i>N</i> -糖链生物合成	63
第三节 <i>O</i> -糖链生物合成	71
第四节 糖链生物合成调控	75
第五节 糖链降解	77
第五章 糖链生物学功能	79
第一节 糖链影响糖蛋白的构象、转运和活性	79
第二节 糖链参与分子识别和细胞识别	82
第三节 糖链构成某些血型物质	90
第四节 糖链在神经系统中的作用	93
第五节 糖链与疾病	94
第六章 糖复合物糖链结构修饰与应用	105
第一节 糖蛋白糖链结构修饰与应用	105

第二节 蛋白聚糖糖链结构修饰与应用·····	109
第七章 糖基转移酶及工程化应用·····	118
第一节 糖基转移酶一般特征和命名分类·····	118
第二节 糖基转移酶研究方法·····	134
第三节 糖基转移酶工程化应用·····	136
第八章 糖工程及应用·····	143
第一节 糖基化工程及应用·····	143
第二节 天然产物糖基化修饰及其应用·····	151

## 第二部分 天然多糖结构、功能及修饰

第九章 天然多糖组成和结构·····	163
第一节 植物多糖·····	163
第二节 动物多糖·····	170
第三节 微生物多糖·····	180
第十章 天然多糖生物功能·····	189
第一节 多糖免疫增强与免疫调节作用·····	190
第二节 多糖抗肿瘤作用·····	207
第三节 多糖抗病毒作用·····	227
第四节 多糖抗氧化功能·····	240
第五节 多糖降血糖功能·····	249
第十一章 天然多糖结构修饰和意义·····	267
第一节 多糖酯化反应·····	267
第二节 多糖醚化反应·····	279
第三节 多糖氧化反应·····	283
第四节 多糖其他修饰·····	287

## 第三部分 多糖工程化应用

第十二章 多糖在医疗方面应用·····	301
第一节 多糖血液替代品·····	301
第二节 多糖控释制剂·····	304
第三节 多糖作为药物·····	326
第四节 多糖作为保健品·····	338
第五节 多糖其他医疗用途·····	345
第十三章 多糖在食品工业方面应用·····	353
第十四章 多糖在化妆品方面应用·····	369
第十五章 多糖在养殖业方面应用·····	380

## 第一部分 糖生物学与糖基化工程

糖生物学是糖的化学和生物学研究相结合而产生的一门新兴学科,主要研究糖复合物糖链的结构、生物合成和生物学功能,其研究领域包括糖化学、糖链生物合成、糖链在复杂生物系统中的功能和糖链分析操作技术。

糖链的结构具有惊人的多样性、复杂性和微观不均一性,其一级结构的内容不仅包括各糖基的排列顺序,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。6种单糖形成带分支的六糖有1012个异构体。糖链结构的复杂性给糖链的研究带来了很大的困难,同时也使它能携带巨大的生物信息。实际上,糖链的种间特异性、组织特异性以及发育特异性都很强,并且都来源于糖基转移酶不同时间和不同空间的表达。糖基化是糖基转移酶参与催化的一系列双糖、聚糖和糖复合物中糖链的合成或糖基和蛋白质或脂类的结合反应。



## 第一章 糖生物学与糖工程概述

20 世纪 60 年代发现在细胞表面密布着糖复合物,推测这些糖复合物糖链在生命过程中担负分子识别的功能。随着研究手段的进步、仪器分析方法的建立以及特异的内切和外切糖苷酶在结构测定中的应用等,糖的生物学功能正被不断揭示。

经过 20 多年的研究,已有证据表明糖链参与几乎所有真核生物的每一生命过程,其功能是复杂而多样的。在即将到来的后基因组学时代,糖生物学研究更是揭示生命本质所不可缺少的重要方面。已知糖链在细胞内可修饰调控蛋白质、脂类的结构与功能,在细胞外环境参与免疫应答、感染和癌症等过程中的细胞识别等。通过糖链对蛋白质功能的修饰及与蛋白质的识别来实现糖链生物学功能的研究将更加重要和迫切。

近 10 年来,随着仪器分析技术的进步和分子生物学的发展,糖链的研究也取得了巨大进展,并为相关疾病的治疗和糖蛋白及糖类药物的开发奠定了雄厚基础。可以预见,随着糖链在生命活动中的功能和调控机制研究的深入,必将极大地促进功能基因组学和蛋白质组学的研究,加快糖工程应用领域的发展。因此,糖生物学和糖组学是全面揭示生命本质不可缺少的分支,是 21 世纪生命科学研究的重要组成部分。

### 第一节 糖生物学成为生命科学的前沿领域

#### 一、糖生物学与糖基化工程定义

糖生物学是以生物大分子的组成部分——寡糖链或寡糖本身为研究对象,以糖化学、免疫学及分子生物学等学科为基础,研究寡糖链作为“生物信息分子”在多细胞的高层次生命中功能的学科。它是 20 世纪 90 年代发展起来的生物化学中最后一个重大前沿。

糖基化工程是指糖生物学中涉及寡糖链的研究方法和基本技术以及把对寡糖链的基础研究获得的知识进一步转化为生产技术的过程。

美国、日本、欧洲国家对糖生物学及糖基化工程研究非常重视,近几年研究进展非常快,现已确认寡糖链参与生物体受精、发育、分化、免疫、神经系统的识别与调控;在微生物与动物、微生物与植物的相互作用中担负重要作用;在衰老、癌症过程中也有寡糖链的参与。其研究手段及内容更是涉及现代分析化学、分子生物学、免疫学、社会科学、发育生物学等学科,反之,糖生物学的发展又必将推动这些学科的发展,同时也将伴随相关产业的形成。

#### 二、糖生物学的发展

糖生物学(glycobiology)这个名词的提出是在 1988 年。牛津大学 Dwek 教授在当年

的《生化年评》中撰写了以“糖生物学”为题的综述,这标志着糖生物学这一新的分支学科的诞生。同年牛津大学研制成功了 N-糖链的结构分析仪,并且实现商品化。

将糖生物学推向生命科学前沿的重大事件发生于 1990 年。有 3 家实验室几乎同时发现了血管内皮细胞-白细胞黏附分子 1(ELAM-1),后来改名为 E-选择素(E-selectin),这一位于内皮细胞表面的分子能识别白细胞表面的四糖 Sia-Le<sup>x</sup>。当组织受到损伤时,白细胞和内皮细胞黏附,并沿壁滚动,最终穿过血管壁,进入受损组织,以便杀灭入侵的异物。但是,过多的白细胞则引起炎症以及继发的病变。后来又发现了这一家族中的其他成员:P-选择素和 L-选择素。这一发现首次阐明了炎症过程有糖类和相关的糖结合蛋白参与。更令人吃惊的是,在肺癌和大肠癌细胞的表面也发现了 Sia-Le<sup>x</sup>。进入血液循环系统的癌细胞可能借助了类似于上述的机制穿过血管,进而导致肿瘤的转移。紧接着又出现了以这一基础研究成果为依据的开发和生产抗炎和抗肿瘤药物的热潮。以糖命名的药厂也应运而生。美国 Scripps 研究所的华裔科学家王启辉在这期间首先应用 3 种不同的糖基转移酶,酶促合成了 Sia-Le<sup>x</sup>。

### 1. 各国政府对糖生物学研究的支持

英国牛津大学生化系设 Glycobiology Unit,1992 年改称“糖生物学研究所”,1991 年牛津大学出版社创刊 *Glycobiology*,成为国际上唯一的糖生物学专业杂志(2008 年影响因子为 4.4)。

1989 年日本创刊了《糖科学与糖工程动态》(*Trends in Glyco Science and Glycotechnology*, TIGG)杂志。同年日本政府科学技术厅提出关于“糖工程基础与应用研究推进战略”的咨询,经过专家评议后成为详尽的战略方案,于 1991 年由科学技术厅、厚生省、农林水产省和通商产业省联合实施“糖工程前沿计划”,总投资百亿日元。该计划包括:糖工程和糖生物学。后者又分为糖分子生物学和糖细胞生物学。同时,成立了“糖工程研究协会”作为协调机构。该协会编辑出版了专著《糖工程学》。

美国能源部于 1986 年以上亿美元资助佐治亚大学创建了复合糖类研究中心(Complex Carbohydrate Research Center, CCRC),建立复合糖类数据库(Complex Carbohydrate Structure Data, CCSD),相关的计算机计划也称为糖库计划(Carbank Project)。1990 年底已收集了 6000 个糖结构数据,1992 年增加到 9200 个(包含在 20 000 份记录中),1992 年底有关的记录增加到 22 000 份,1996 年增加到 42 000 份。到 2000 年已储备超过 50 000 个数据。目前该数据库已移至 Glycominds ([www.glycominds.net](http://www.glycominds.net))。

2001 年美国政府正式启动“功能糖组学”研究计划,其目标是阐明由蛋白质-糖链相互作用所介导的细胞通讯机制。该项目由著名糖生物学家 Varki 组织,是一项多学科、多机构的国际性计划,参与的 41 位科学家来自多个国家的 27 个研究机构。

欧洲也不甘落后。欧盟 1994~1998 年的研究计划中有一项“欧洲糖类研究开发网络”计划(European Carbohydrate Platform)。其目的是协调欧洲各国的糖类研究和开发,以强化欧洲在糖类基础研究以及将研究成果转化为商品方面与美国、日本的竞争能力。

由于美国、日本、欧盟三方的重视。近年来在糖类研究方面已取得了不少进展。研究结果已证实:糖类作为信息分子在受精、发生、发育、分化,神经系统和免疫系统衡态的维

持等方面起重要作用;炎症和自身免疫疾病、老化、癌细胞的异常增殖和转换、病原体感染、植物和病原体相互作用、植物与根瘤菌共生等生理和病理过程都有糖类的介导。在此基础上,新兴的糖生物学正处在蓬勃发展的起点。糖生物学涉及许多生物学科,如分子生物学、细胞生物学、病理学、免疫学、神经生物学等。糖生物学研究的发展又推动了这些学科快速发展。21世纪生命科学的研究焦点是对多细胞生物的高层次生命现象的解释,因此,对生物体内细胞识别和调控过程的信息分子——糖类的研究是必不可少的。

## 2. 近年来糖生物学的突飞猛进

一门学科的发展情况最容易从大型国际会议和著名学者的言论中反映出来。最近美国每隔两年召开一次“糖工程”会议。在1993年首届“糖工程”会议上,著名的糖生物学家、会议的主持人 Hart 说,生物化学中最后一个重大的前沿——糖生物学时代正在加速来临。在第二届会议时,又说,糖生物学是生物化学和生物医学交叉点的前沿。

1996年在米兰召开的第十八届国际糖化学讨论会上,von Boeckel 等报道合成了肝素中抗凝活性碎片——五糖模拟物,其活性是天然产物的2倍,因此,他获得了以糖化学先驱 Whistler 命名的奖项。自1991年《结构生物学当代见解》(*Current Opinion Structure Biology*)杂志创刊以来,每年的第5期上都有“糖类和糖复合物”为题的专辑。1995年的主编 Feizi 为专辑加了个副标题“寡糖配体和糖结构数据库的时代已经来临”。这预示了一个新的转变:前几年是以选择素和细胞黏附分子等糖结合蛋白为主角,而今则是以这些蛋白质的配体寡糖链为重点,真正的糖类分子将在舞台上扮演主角。

1997年在苏黎世召开的第十四届糖复合物国际年会上,Hart 就他的发现做了专题报告,并因他的发现而获奖。报告的内容以综述的形式登载于1997年的《生化年评》上。他和合作者发现了在细胞质和核内特有的 *O-GlcNAc* 糖基化。这种糖基化仅在核质内的蛋白质上接上单个 *O-GlcNAc*,但可以发生这种修饰的蛋白质非常广泛,包括核孔蛋白、RNA 聚合酶、转录因子、染色体蛋白。而且这种糖基化是可逆的动态调节,可以和磷酸化发生置换。这些结果均提示,*O-GlcNAc* 糖基化具有和蛋白质磷酸化相似的生物学意义。在第十四届糖复合物国际年会上,还出现了“免疫糖生物学”、“神经糖生物学”和“植物糖生物学”等新的分支学科和新的前沿领域。

1998年5月在德国召开“国际糖生物工程讨论会”。这次讨论会下设3个分支:①糖生物学,包括糖蛋白和糖脂合成的分子生物学、糖基转移酶的分子生物学、细胞内的通路和投送受体、分化发育和基因治疗、免疫学和神经生物学、寄主和病原体的相互作用、糖基化和疾病;②糖化学,涉及的内容有化学合成、组合合成、酶法合成、分子间相互作用和结构分析、数据库和网络;③糖生物工程,有关的方面为发展糖药物的重组工具、表达系统、宿主和载体、宿主细胞的糖基化工程、糖蛋白生产系统、生物工程工序、药理学和诊断、重组和天然糖蛋白的糖信号及其在体内的命运和靶向性、质控和分子技术、法规条例。

其他国家也开始重视糖生物学,并竞相主办国际性会议。1997年在爱尔兰的 Galway 召开过皇家化学学会糖类春季讨论会,并在1999年召开了第十届欧洲糖讨论会。1997年在波兰华沙召开了鞘糖脂和鞘氨醇的结构、代谢和功能的国际讨论会。1999年1月在印度 Bangalore 主办第五届国际真核细胞表面生物大分子的生物功能讨论会。

### 3. 国内研究状况及存在的问题

我国目前尚未形成“糖生物学、糖化学及寡糖工程”相关的研究机构组织及研究战略。“八五”期间组织召开了数次相关的学术讨论会,1998年8月在国家科学技术部、中国科学院支持下以“糖生物学与糖工程的前景”为主题召开103次香山学术会,与会者主要从事化学及医学的学者为主,这次会议加速了我国糖工程及糖生物学的发展。1999年9月在香山召开“Xiangshan Science Conferences on Glycoconjugates and Human Health”会议。我国在该领域的研究起步并不晚,如中国科学院上海生化所在糖药物研究方面,中国科学院上海有机所及北京大学在寡聚糖链的化学合成方面,中国科学院大连化学物理研究所在寡糖结构研究、寡糖生物制备及其应用方面,中国科学院微生物所在蛋白质的糖基化及糖苷酶等方面,上海复旦大学在糖复合物与疾病的关系研究方面,上海交通大学在糖基化及糖研究的方法学方面,大连医科大学在糖免疫及微生态制剂等方面均取得一些令人欣喜的成绩,但总体发展速度较慢,从事相关研究的单位及学者相对较少,并且学科间渗透较差,缺乏交流。研究基础及方法手段落后,与日本、美国、欧洲发达国家相比差距较大,限制了研究工作的发展,亟待系统地建立一套糖分析、制备、分离、纯化、结构鉴定及生物过程中其活性研究的现代分析研究方法。在加大糖生物学基础研究的同时,加快糖工程产品开发是我国糖生物学和糖工程领域的发展方向。

## 第二节 糖类研究的历史回顾

糖类的研究已有百年的历史,许多研究成果表明,糖类是生物体内除蛋白质和核酸以外的又一类重要的生物大分子,尤其是一类重要的信息分子。

### 一、糖类和血型

众所周知,血型在输血、组织和器官的移植以及法医鉴定中是必须注意的。人类的主要血型是ABO型。这种血型是1900年Landsteiner发现的。这一发现在第一次世界大战期间对抢救伤员作出了重大贡献。Landsteiner因发现ABO血型而获得1930年诺贝尔生理和医学奖。血型为A型和B型的人,他们的红细胞表面分别具有A型和B型抗原,其血清中则分别存在着抗B和抗A的抗体。而O型血的人红细胞表面不存在A型和B型抗原,但是具有H血型物质(或H抗原),是A和B两种抗原的前体,在他们的血清中同时存在着抗A和抗B两种抗体。

经过许多免疫学家包括Landsteiner和Watkins等半个多世纪的研究,1960年Watkins确定了ABO(H)的抗原决定簇是糖类,并测定了有关糖类的结构。H抗原的前体是糖脂或糖蛋白中糖链非还原末端的二糖——半乳糖-N-乙酰氨基葡萄糖(*Gal-GlcNAc*)。由于这两个糖基的连接方式不同,又有1型和2型之分; $\beta 1 \rightarrow 3$ 连接而成的N-乙酰新乳糖是1型的基础; $\beta 1 \rightarrow 4$ 连接而成的N-乙酰乳糖则衍生出2型血型物质。在这两个二糖外侧的半乳糖上再连接有 $\alpha 1 \rightarrow 2$ 岩藻糖(*Fuc*),就产生了H1和H2抗原。在H抗原上进一步接上N-乙酰氨基半乳糖(*GalNAc*)或*Gal*之后,则H抗原就转变成A抗原或B抗原,同样有1型和2型之分。由此不难看出仅一个糖基的差异就改变了血型。在H抗原及

其前体二糖的 *GlcNAc* 上再接有 *Fuc*, 则产生另一类型的血型, 即 Lewis 血型。在 1 型前体接上  $\alpha 1 \rightarrow 4 \text{Fuc}$  就产生  $\text{Le}^a$  抗原。在 2 型前体接上  $\alpha 1 \rightarrow 3 \text{Fuc}$  就产生  $\text{Le}^b$  抗原。在 H1 抗原接上  $\alpha 1 \rightarrow 4 \text{Fuc}$  就形成  $\text{Le}^b$  抗原。在 H2 抗原接上  $\alpha 1 \rightarrow 3 \text{Fuc}$  就变成了  $\text{Le}^c$  抗原。以糖链为基础的抗原系统还有很多, 这里不一一列举了。

## 二、糖链和细胞表面的特征

在多细胞生物的细胞外表面覆盖着一层糖链, 通常也称为糖被。在日文中将其形象地描述为细胞的颜面。细胞表面的糖链也可比拟为大地表面的植被。糖蛋白上 *N*-糖链分支(分支数可为 2~5)则像树上粗大的树枝, *O*-糖链是细小的树枝; 膜糖蛋白的胞外肽链如树干, 穿越质膜的肽段和胞内肽段则是树根。糖蛋白根深而叶茂, 而糖脂的脂质位于脂双层的外层, 其糖链犹如小草。在细胞表面还包裹着一层作为细胞间质组分的蛋白聚糖。最近发现一些蛋白聚糖也能整合到质膜中。这些不同组成和结构的糖蛋白、糖脂和蛋白聚糖被统称为糖复合物。在细胞表面形成分支的糖链宛如天线, 正是它们在细胞间传递信息。这些糖链参与了细胞间的黏附作用, 如作为细菌、病毒等病原体的受体, 或是作为激素等信息分子的接受体。

常规验血时, 在一般显微镜下只能对红细胞和白细胞进行计数。但是, 在高倍显微镜下, 它们不只是一个小球, 而且能被清晰地观察到其细胞表面的糖被。在这些细胞表面存在着结构不同、数目不等的糖复合物。在红细胞表面数目较多的一种糖蛋白是载糖蛋白 A (glycophorin A, 又称血型糖蛋白 A)。据推算, 每个红细胞表面约有 50 万个这种糖蛋白。它的肽链由 131 个氨基酸组成, 含糖量约 60%, 在肽链 N 端的 15 肽上就带有 9 条 *O*-糖链, 红细胞表面 80% 的唾液酸 (Sia) 集中在这种糖蛋白的表面。载糖蛋白还与 MN 血型有关。在白细胞表面存在着另一种唾液酸含量极高的糖蛋白——唾液酸蛋白 (leukosialin), 它的唾液酸含量占白细胞唾液酸总量的 85%。其肽链含有 381 个氨基酸残基, N 端肽段中有 80 多个 *O*-糖链。这种糖蛋白在粒细胞、单核细胞和 T 细胞表面都有。表面携带着的大量唾液酸, 为这些血细胞表面提供了众多的负电荷, 从而避免了它们在血管中流动时可能发生的相互黏附以及与血管内皮细胞的黏附。

## 三、糖链和疾病

最近的研究结果表明, 糖复合物表面糖链结构的改变和很多疾病的发生是相伴随的, 有关的例子越来越多, 仅以两个例子说明。从方法学上看, 1975 年 Milstein 等创建的单克隆抗体技术, 不仅对免疫学研究作出了众多贡献, 而且也被越来越广泛地应用于糖链的检测和鉴定, 以及相关疾病的诊断。1985 年 Feizi 发表了题为“应用单克隆抗体确认糖蛋白和糖脂的糖链是癌发育抗原”的文章。后来在日本出版的《糖工程学》一书中有一章“糖链的免疫工程”详细介绍了单克隆抗体在糖链和疾病研究中的应用: ①过去 ABO(H) 血型和 Lewis 血型都是用多克隆抗体鉴定的。目前运用单克隆抗体鉴定的试剂也已普及。②各种自身免疫疾病均有相应的自身抗原。已知糖链作为自身抗原的疾病有自身免疫性甲状腺炎、红斑狼疮等, 甚至有人认为糖尿病也与此有关。③肿瘤标记物的鉴定。已知  $2 \rightarrow 3 \text{Sia-Le}^a$  主要是消化系统胰腺、肝脏、胃和大肠等肿瘤的标记性糖链抗原;  $2 \rightarrow 3 \text{Sia-Le}^a$

主要是肺和卵巢等肿瘤的标记性糖链抗原。国际癌发育生物学和医学会(ISOBM)举办了多次组织分化研讨会,1997年举行的第六届研讨会的主要对象是 Sia-Le<sup>a</sup> 单克隆抗体。对一系列单克隆抗体加以比较鉴定,以便能确定它们的相对价值,从中选出适用的单克隆抗体用于胰腺癌、肝癌和胃肠道癌症的监测。

免疫球蛋白 G(IgG)的糖链和类风湿病的关系是诸多糖链和疾病关系研究得较为透彻的一个例子。IgG 占总免疫球蛋白的 80%,其糖含量略大于 3%。IgG 在体液免疫中的功能早已阐明,但是其不多的糖链功能却鲜为人知。直至 1981 年,Deisenhofer 用 X 射线晶体衍射分析确定了糖基化位点以及糖链的结构,糖链是二天线的复杂型 N-糖链。1985 年,A. Kobata 发现类风湿患者 IgG 糖链中的半乳糖(Gal)低于正常人,据此提出了“糖病理学”的学科新分支,即研究糖链失常与疾病关系的学科。此后,他和英国著名的糖生物学家 Dwek 多年合作,终于确证了这种缺乏 Gal 的 IgG 发生了构象变化,被人体作为异物,而产生相应的抗体,在血管和关节等部位出现了免疫复合物的沉积,从而引发类风湿。糖链结构的改变在这种疾病中是病因而不是结果。

#### 四、糖链和多细胞生物的生命现象

20 世纪 60 年代发展起来的分子生物学,在核酸及其直接表达产物蛋白质水平上阐明生命现象,已取得突出的进展和重大的成就。例如,人类基因组和水稻基因组的研究已有了重大进展;酿酒酵母和美丽线虫等低等生物的基因组测定业已完成,但试图利用它们来阐明多细胞生物的生命现象还是远远不够的。原核单细胞(如大肠杆菌)的分裂,经过对数生长期,在几小时内就可达到每毫升  $10^8 \sim 10^9$  个细胞;而高等生物受精卵的分裂,不仅要相互结合,还必须保持合理的空间配置和时间进程。在不同的时期可以出现不同的生物分子,糖链的结构也在发育过程中发生变化,如在 8~16 细胞期出现了 Le<sup>a</sup> 抗原。为此,这类抗原被称为阶段特异胚抗原(stage-specific embryonic antigen, SSEA)。Le<sup>a</sup> 抗原也被称为 SSEA-1,它可能和桑葚期的致密过程有关。1985 年,Feizi 等首先提出了“糖分化抗原”的概念,即在发育过程中细胞糖蛋白和糖脂所携带的糖类抗原的改变是通过有序地逐个增加或减少糖残基而完成的。人类有 40 亿~50 亿个细胞,这些细胞又组成了许许多多的细胞集团。每个集团的细胞以不同的方式相互黏附,细胞和基质之间也存在着相互识别和相互作用,集团之间又相互识别、相互作用和相互制约,调节和控制着高等生物沿着固有的空间轴和时间轴井然有序的发展。在如此复杂的发展过程中所需的极其巨大的“生物信息”,只能由所含信息量比核酸和蛋白质大几个数量级的糖链分子来承担。这就导致了“糖生物学”的诞生。

### 第三节 糖生物学与糖工程的关系

怎样区分糖生物学和糖工程?目的是重要的区分标准。相似的研究行为可根据目的和动机不同而分别归为理论方向或技术方向。如果科学家对糖链转移唾液酸的生物系统感兴趣,那他们的研究行为应属于基础科学性质,他们可以致力于分离纯化酶,鉴定其底物专一性、最适 pH 范围,测定其热力学常数和二级、三级结构,并最终克隆表达出大量的