

糖蛋白富集及糖链结构分析的新方法研究

赵士丰

(厦门大学, 福建 厦门 361005)

摘要 糖蛋白作为一种含有寡糖链的蛋白质, 能够完成特定细胞或者分子的生物识别, 在临床疾病诊疗等方面发挥着关键性作用。为持续提升糖蛋白富集效率, 实现糖链结构的精准分析, 掌握其生物活性和化学属性, 文章运用文献资料研究法, 通过分析比较亲和层析法、电泳法等技术方案的短板不足, 从可操作性、实用性、高效性等维度出发, 调整技术思路, 整合现有技术资源, 提出切实可行的糖蛋白富集方法和糖链结构分析方案, 旨在通过技术方案的优化升级, 满足新时期细胞生命周期、信号转导、疾病诊断等实践活动开展要求。

关键词 糖蛋白; 富集; 糖链结构

中图分类号: Q53

文献标识码: A

文章编号: 2097-3365(2024)04-0007-03

1 前言

糖蛋白是一类在生物体内广泛存在的重要生物分子, 它们在细胞信号传导、细胞黏附、免疫应答等生物过程中发挥着关键的作用。糖蛋白的功能和特性与其糖链结构密切相关, 糖链的长度、分支、修饰和排列方式会对糖蛋白的功能产生重要影响^[1]。因此, 研究糖蛋白的糖链结构对于理解其功能和生物学过程具有重要意义。

然而, 由于糖蛋白的复杂性和多样性, 研究其糖链结构一直是一项具有挑战性的任务。传统的糖蛋白富集和糖链结构分析方法存在一些限制, 如低灵敏度、复杂操作、费时费力等问题, 制约了对糖蛋白糖链结构的深入研究。

在过去的几十年里, 为了研究糖蛋白糖链结构, 研究人员开发了许多糖蛋白富集和糖链结构分析的方法。然而, 这些方法存在一些局限性, 如低灵敏度、样品需求量大、分析时间长等。

因此, 开发新的糖蛋白富集和糖链结构分析方法成为当前研究的热点。

本文旨在探讨糖蛋白富集及糖链结构分析的新方法, 解决现有方法的局限性, 并提高研究糖蛋白糖链结构的效率和精确性。通过引入新的富集策略和分析技术, 我们希望能够实现对糖蛋白糖链结构的高效、准确、全面的分析, 从而为疾病诊断、药物研发和生物技术应用等领域提供有力的支持。

通过本论文的研究, 我们期望能够为糖蛋白糖链结构的分析提供新的方法和技术, 推动糖蛋白糖链结构研究的发展, 并为生物医学和生物技术领域的应用提供新的思路和支持。

2 糖蛋白结构概述

本文将系统梳理糖蛋白糖结构特点, 引导技术人员形成正确思维认知, 把握富集与分离技术关键节点, 为后续观念调整和技术创新提供方向性引导。

2.1 糖蛋白结构组成

从结构组成层面来看, 糖蛋白主要由多肽链和糖两部分组成, 多数情况下, 糖蛋白内糖类含量较小, 蛋白质含量较高, 二者之间借助 N-糖苷键、O-糖苷键、S-糖苷键等方式进行连接。具体来看, 糖的半缩醛羟基和含羟基的氨基酸(丝氨酸、苏氨酸、羟基赖氨酸等)以 O-糖苷键结合。糖的半缩醛羟基和天冬酰胺的酰胺基以 N-糖苷键结合。糖链对糖蛋白结构的稳定性和理化属性的维持有着最为直接的作用, 使得糖蛋白保持其生物活性, 影响抗水解属性、抗热属性、抗寒属性^[2]。同时糖链结构多样, 保留大量生物信息, 通过对糖链结构进行提取、分析、评估, 可以掌握不同生物的组织特点, 为生物科学发展以及诊疗技术创新奠定坚实的基础。

2.2 糖蛋白主要类型

从存在方式的角度来看, 糖蛋白在生物体内广泛存在, 涵盖可溶性糖蛋白、膜结合糖蛋白和结构糖蛋白三种。不同类型的糖蛋白在生物学、分子学层面有着明显差异。例如, 可溶性糖蛋白主要存在于细胞内液、腔道腺体内, 有着较强的润滑、保护作用, 能够直接参与生物体的反应催化、调节等生命进程; 膜结合糖蛋白主要分布于细胞内膜, 其参与细胞识别, 可以作为特定细胞的识别标志, 增强目标细胞识别能力; 结构糖蛋白主要存在于细胞外基质中, 作为不溶性大

分子,对细胞结构产生了较强的支撑和连接作用,深度参与细胞识别、粘着、增殖等进程。

3 糖蛋白富集与糖链结构分离技术现状

本文将全面总结糖蛋白富集与糖链结构分离技术主要类型,明确现有技术方案的短板,强化糖链结构技术创新能力,全方位发挥技术优势,保障糖蛋白识别质效。

3.1 糖蛋白富集技术分析

经过相关技术团队多年的探索,糖蛋白富集与糖链结构分离技术逐步完善,技术团队通过亲和层析法、电泳法等技术,完成了糖蛋白富集。具体来看,亲和层析法的原理在于,利用生物分子之间的亲和力,能够将糖蛋白等大分子物质快速分离出来,实现糖蛋白的分离、提纯和富集。现阶段,技术团队根据实际情况,选择吸附层析、凝胶过滤层析、离子交换层析等多种亲和层析手段,完成糖蛋白的富集^[3]。电泳法技术在特定电场环境下,将糖蛋白向特定电极方向进行泳动,利用相应的频谱记录手段,获取图谱信息,在整个操作过程中,技术人员要按照点样、电泳、染色、含量测定等基本流程,开展糖蛋白浓度测算,掌握糖蛋白浓度信息。

虽然糖蛋白富集技术已经取得了一定的进展,但仍然存在一些挑战和限制。例如,亲和剂的选择和结合条件的优化仍然需要进一步研究;质谱富集中的样品处理和蛋白质定量等问题也需要解决。因此,未来的研究应该着重于开发更加高效和灵敏的糖蛋白富集技术,以满足对糖蛋白结构和功能的深入研究需求。

3.2 糖链结构分析技术

糖链结构中含有大量的羟基,基于这种组成特点,技术人员在反相高效液相色谱和多孔石墨化碳色谱等技术支持下,开展糖链结构分析。在实际操作中,往往倾向于使用反相高效液相色谱法,将糖链中的羟基进行固定,并通过衍生反应,测定糖链结构组成方式。目前,该结构分析技术被广泛应用于N-糖苷键、O-糖苷键的检测中,从实际应用效果来看,衍生后的糖链在MS条件下的电离效率明显提高,效果更为显著,串联质谱可以获得更丰富、更为全面的碎片信息,实现对糖链结构的准确鉴定。多孔石墨化碳色谱技术能够完成不同糖链立体异构的分离,并且其环境适应能力更强,对酸碱度容错率较高,有着更为广泛的用途。从实际应用情况来看,现有糖蛋白富集和糖链结构分析技术存在明显的技术短板,整个技术流程中间环节

较多,操作步骤繁琐,增加了糖蛋白富集和糖链结构分析的时间成本,产生额外经济支出。同时,整个研究过程中存在交叉反应,影响了糖蛋白检测分析结果的精准性,对于后续理论研究、生物医疗等活动的稳步开展产生了消极影响。

4 糖蛋白富集与糖链结构分析创新的主要思路

糖蛋白富集与糖链结构分析技术创新中,技术人员应当发挥主观能动性,总结经验,遵循规律,形成完备的技术创新思路,消除认知盲区,推动富集与结构分析技术创新活动有序开展。

亲和富集是一种常用的糖蛋白富集方法。它利用糖蛋白与特定配体之间的特异性相互作用进行富集。这些配体可以是糖链结构的识别分子,如花生四烯酸结合蛋白(PNA)和麦芽糖结合蛋白(ConA)。通过与这些配体的结合,糖蛋白可以被选择性地捕获和富集^[4]。

传统的糖链结构分析方法主要包括质谱分析、核磁共振、色谱分析等。然而,这些方法存在一些局限性,如分析时间长、样品需求大、分辨率低等。因此,研究人员应不断探索新的糖链结构分析方法,以提高分析效率和准确性。研究人员可以采用高通量分析技术,利用微流控芯片和自动化分析系统,实现对大量样品的快速分析。这种方法可以提高分析效率,适用于大规模糖链结构分析,例如在疾病标志物筛查和药物研发中的应用。

此外,也可以基于传统的糖链结构分析方法进行改进和扩展。可以结合质谱和色谱技术,将质谱和色谱技术相结合,实现对糖链结构的更准确和全面的分析。例如,利用离子迁移法结合质谱技术,可以对糖链的离子特性进行分析,从而得到更准确的结构信息。

糖蛋白富集与糖链结构分析方法的创新过程中,针对已有技术在复杂长度、结果精准度等方面暴露出的问题,技术人员在富集方法改进和结构分析方法优化环节,需要坚持科学性、实用性、高效性的基本要求,不断提升糖蛋白富集、糖链结构分析方法的应用效果,满足各类糖蛋白分析检测要求。具体来看,糖蛋白结构较为复杂,分布较为离散,在检测分析环节,相关技术方法极易受到各类因素的影响,出现检测错误,导致糖蛋白富集效果不佳,糖链结构分析不准等问题。这就要求技术人员在糖蛋白富集与糖链结构分析方法创新中,借助理论成果的转化和技术资源的运用,全方位提升富集与结构分析方法的容错率,增强环境适应能力,排除干扰因素的影响^[5]。对于选用的糖蛋白

富集与糖链结构分析方法,技术人员要在保障检测分析结果准确度的前提下,合理压缩富集流程,简化结构分析步骤,减少仪器设备使用,通过这种方式,保证糖蛋白富集与糖链结构分析活动的高效性,集约时间成本,快速完成检测分析任务。同时,通过方法创新,减少不必要的经费投入,提高资源利用效率,保证糖蛋白富集与糖链结构分析的实用属性。

5 糖蛋白富集与糖链结构分析方法创新路径

糖蛋白富集与糖链结构分析方法的创新,要求技术人员坚持技术导向,坚持方法协同,综合科学性、实用性、高效性总体技术思路,改进技术方法,创新技术举措,构建完备的技术体系。

5.1 糖蛋白富集方法创新路径

生物体细胞内 50% 以上的蛋白质都需要借助糖基化修饰,进而完成生物表达。基于糖蛋白在蛋白质分选、细胞分裂、信号转导等方面的作用,通过借助糖蛋白富集与纯化,掌握细胞状态,完成疾病诊断。为更好地完成糖蛋白的科学、高效富集任务,部分技术团队提出了糖蛋白伴刀豆凝集修饰磁性纳米粒子的解决方案。该技术方案优势在于,纳米磁性粒子以球形结构分布,有着加强分散性,对目标对象之间的结合效率较高,能够大面积地实现在微量样品的富集。并且纳米磁性粒子来源较为广泛,成本较低,实用性较为突出,同时为了降低外界因素对糖蛋白富集过程的干扰,可以使用氧化钝化、聚合物包裹等方式,对纳米磁性粒子进行修饰,保证生物兼容性,降低交叉反应发生概率^[6]。在实际操作中,技术人员需要做好缓冲液配置,选用浓度为 20mmol/L 的 Tris-HCl 的缓冲液 (pH=7.4) 以及浓度为 150mmol/L 的 NaCl、1mmol/L 的 CaCl₂、1mmol/L 的 MnCl₂ 进行充分混合,缓冲剂制备完成后,技术人员在磁分离条件下,洗涤缓冲液重复洗涤三次,去除表面非特异性吸附的蛋白,之后用 0.2mL 的洗脱缓冲液洗脱特异性结合的糖蛋白,重复三次。完成上述工作后,进行糖蛋白富集,同时利用质谱分析技术,对获取到的数据进行分析,掌握检测对象中糖蛋白的浓度信息。

5.2 糖链结构分析方法创新路径

糖链结构分析方法创新环节,技术人员要借鉴过往经验,遵循方法创新基本要求和整体思路,调整分析思路,完善分析方法,提出新型促红细胞生成素糖基化修饰结构分析方法,弥补过往糖链结构分析方法存在的不足与短板。与传统的结构分析方法相对比,新型促红细胞生成素糖基化修饰结构分析方法有着更

广泛的实用性,延长了糖蛋白在血清中的半衰期,减少了药剂使用频率。实际操作中,技术人员要做好实验条件的控制,根据要求制作中性毛细管涂层层柱,并进行蛋白酶切,在此基础上开展糖链的荧光衍生,通过这种方式,准确获取糖链结构,整个结构分析操作简单,流程较短,实用性较强,满足了不同场景下的糖链结构分析工作的使用要求,在实践中得到了广泛应用与推广。

6 结语

富集与糖链结构分析技术在糖蛋白检测环节中的合理化运用,对生物学、医药等行业的发展产生了深远影响。文章从实践角度出发,着眼糖蛋白基础特点,立足技术发展现状,把握技术不足与短板,以科学性、实用性和高效性为基本框架,调整分析技术流程,优化分析技术方法,兼顾糖蛋白富集的效率性和糖链结构分析结果的精准性,满足新时期糖蛋白检测分析要求。

在未来的研究中,我们可以利用新的富集方法和分析技术,实现更高效、准确、全面的糖蛋白富集和糖链结构分析。这将为研究人员提供更多的数据和信息,有助于揭示糖蛋白的功能机制,发现新的生物标志物,以及开发新的药物靶点。

总之,糖蛋白富集和糖链结构分析的新方法研究具有重要的科学意义和应用价值。未来的研究将进一步推动糖蛋白领域的发展,并为生命科学和医药领域的研究提供新的思路和方法。

参考文献:

- [1] 李月悦,彭叶,陆豪杰.N-糖链唾液酸连接异构体的质谱分析方法研究进展[J].化学学报,2021(06):705-715.
- [2] 刘璐瑶,秦洪强,叶明亮.完整糖基化肽段的富集与质谱解析新技术研究进展[J].色谱,2021(10):1045-1054.
- [3] 向媛娜,王文林,宋海云,等.去糖基化对水溶澳洲坚果糖肽结构和抗氧化性的影响[J].食品与发酵工业,2021(11):98-103.
- [4] 王蒙蒙.血清糖蛋白糖基化分析技术研究及其在原发性肝癌诊断中的应用[D].上海:中国人民解放军海军军医大学,2018.
- [5] 封常宁,褚晓,杨亚靖,等.北极海洋真菌 *Aspergillus jensenii* 胞外多糖的结构及抗氧化活性研究[J].中国海洋药物,2023(01):1-6.
- [6] 欧阳浩森,赵光亚,解明明,等.N-糖链加工影响里氏木霉形态发生并提高木质纤维素降解能力[J].微生物学通报,2021(10):3432-3448.