

唾液酸的结构特征、修饰及其分析方法的进展

赵晨皓

武汉工程大学 湖北武汉 430205

摘要: 唾液酸是一类在脊椎动物、某些无脊椎动物、真菌和细菌中广泛存在的9-碳羧基化单糖。唾液酸的三种主要结构类型包括N-乙酰神经氨酸 (Neu5Ac)、N-羟乙酰神经氨酸 (Neu5Gc) 和酮基-脱氧壬酮糖酸 (KDN), 它们中的O-乙酰化是一种常见的化学修饰。用于唾液酸分析的常规策略包括1, 2-二氨基-4, 5-甲基二氧苯 (DMB) 衍生化结合液相色谱-荧光检测或液相色谱-质谱 (LC-MS), 但DMB在对某些O-乙酰化唾液酸进行色谱分辨时表现不佳。过去几十年中, 科学家们已经开发了多种方法以提高唾液酸的色谱分离效率和检测灵敏度, 展望未来, 这一领域还有进一步发展的趋势和需求。

关键词: 唾液酸; O-乙酰化; 衍生化方法; 液相色谱-质谱 (LC-MS)

一、唾液酸的主要种类和生物学功能

唾液酸 (Sialic Acid, SA), 是一种自然存在的碳水化合物, 作为大脑中唾液粘蛋白或糖脂在温和酸水解后的产物^[1], 唾液酸不仅是9-碳单糖的一种衍生物, 也是神经氨酸中氨基氢或羟基氢被取代的一系列衍生物的总称^[2]。唾液酸在脊椎动物体组织中的广泛存在^[3], 以及在真菌和细菌中的少量存在^[4], 表明唾液酸具有广泛的生物学意义。在生物体内, 唾液酸可以以游离状态存在, 或常作为糖缀合物末端的一部分, 通过特定的键型, 如 α -2, 3 或 α -2, 6 键连接到半乳糖或N-乙酰氨基半乳糖单元上^[17]。

唾液酸的分子多样性主要由其结构中碳原子的不同取代基团决定, 目前, 已经鉴定出超过80种不同的唾液酸, 根据C5位置上的取代基团的差异, 可将其分为以下三类: N-乙酰神经氨酸 (Neu5Ac, N-Acetylneuraminic acid)、N-羟乙酰神经氨酸 (N-glycolylneuraminic acid, Neu5Gc) 和酮基-脱氧壬酮糖酸 (Keto-deoxy-Nonulosonic Acid, KDN), 见图1-1。除此之外, 其他位置的取代基团包括乙酰基、磺酸基、乳酰基、甲基和磷酸基等, 能够衍生出众多唾液酸的变体^[5]。

Neu5Ac是一种在人体内广泛存在的唾液酸类型, 它在末端糖位置上的存在对多种生理过程至关重要, 这些

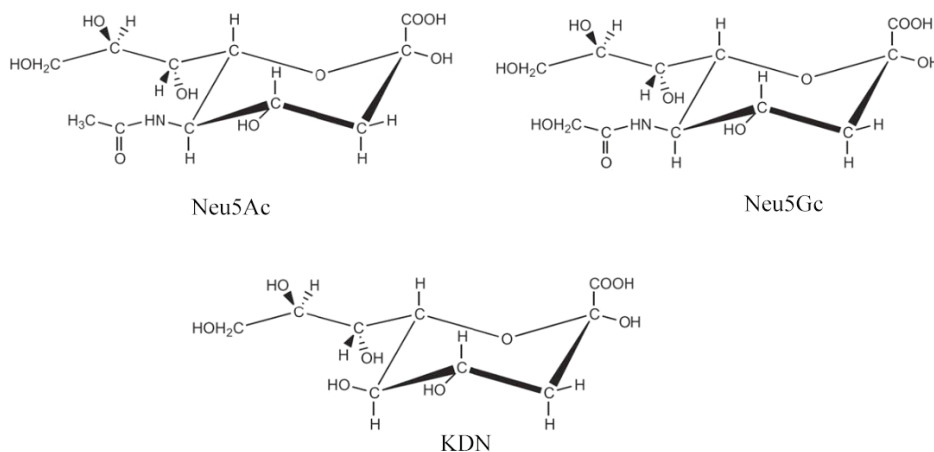


图1-1 常见的3种唾液酸结构

Fig.1-1 The 3 common structures of sialic acids

作者简介: 赵晨皓 (1999.01-), 男, 汉族, 山东威海人, 硕士研究生, 研究方向: 生物分析化学。

过程包括细胞间通讯、免疫反应的调节以及细胞粘附,突显了其在维持生物体内部平衡中的作用^[6]。

Neu5Gc是一种存在于人类以外哺乳动物中的唾液酸类型,对于人类而言,Neu5Gc的生成受到限制,原因是CMP-Neu5Ac羟化酶(CMAH)基因发生了突变,导致了该酶活性缺失^[7]。尽管人类体内不能自产Neu5Gc,但通过食物摄入,这种唾液酸仍然可以在人体内被检测到。实际上,某些肉类和乳制品是Neu5Gc的主要外源性来源^[8]。

KDN则是一种独特的唾液酸,KDN最初在虹鳟鱼卵的皮质肺泡多唾液酸糖蛋白中被识别。随后的研究进一步扩展了我们对KDN存在范围的认识,它不仅存在于某些脊椎动物,也存在于鲑鱼鱼卵中^[9]。与其他类型的唾液酸相比,如Neu5Ac和Neu5Gc,KDN的表达水平普遍较低^[11]。

唾液酸作为一种关键的生物分子,在人体的多种生理和病理过程中发挥着至关重要的作用^[12]。特别是在神经组织中,唾液酸不仅占据核心地位,还被认为是大脑快速生长期不可或缺的营养素之一。鉴于唾液酸在多种生物相互作用中所展现出的重要功能,它已成为当前生物学研究领域的重点关注对象^[13]。

在疾病学领域,特别是在肿瘤生物学中,唾液酸的作用尤为显著。由于抗Neu5Gc免疫反应,人体组织中Neu5Gc的表达增强了炎症反应,可能影响炎症诱导的癌症和癌症相关炎症的发展。在喉癌研究中,游离KDN的存在可能指示着更具侵袭性的恶性肿瘤,因此它可能成为早期诊断和预后评估的敏感指标。这种发现对于了解肿瘤的生物学特性及其临床治疗具有重要意义^[48]。

二、唾液酸中O-乙酰化修饰

在研究糖类生物学时,对神经氨酸的化学修饰进行了深入探讨,特别关注了它们在生物功能中的作用。Neu5Ac含有N-乙酰基,而Neu5Gc则含有N-羟乙酰基。在CMP-Neu5Ac酶的催化下,Neu5Ac能转化成Neu5Gc,这一过程是单向的。神经氨酸中的多个羟基常常被O-乙酰基替换,这种现象被称为O-乙酰化。乙酰化神经氨酸不仅是病原体生存的关键因素,也是许多病毒的关键受体,它在胚胎发育和免疫反应中扮演着重要角色。

三、唾液酸的O-甲基化修饰

唾液酸分子的结构多样性不仅来源于O-乙酰化等常见修饰,而且还包括O-甲基化,一种相对较少的修饰形式。唾液酸分子侧链的羟基经O-甲基化处理后,形成了所谓的O-甲基化唾液酸,对比于O-乙酰化,O-甲基

化修饰在自然界的存在更为罕见,迄今为止,这种特殊的修饰形式仅在一些特定的棘皮动物和脊索动物中被发现。在海星的神经节苷脂中,研究人员首次识别到了这种独特的O-甲基化唾液酸,发现其O-甲基化修饰特异性地位于C8位点。此外,在海星的性腺组织中,研究还发现了O-甲基化的Neu5Gc,以及同时被O-乙酰化和O-甲基化修饰的Neu5Gc。

四、唾液酸的检测与分析

唾液酸由于其位于糖缀合物糖链末端的特殊位置,结构复杂且稳定性相对较弱。因此,在进行唾液酸的检测分析时,首先需将其从糖链末端释放,并采用化学衍生化方法将其转化为稳定的结构,以便于后续的检测与分析。随着现代分析仪器技术及方法的不断进步和完善,唾液酸的检测分析方法也在不断地革新。

在化学衍生化方法中,4,5-亚甲二氧基-1,2-苯二胺(DMB)衍生化方法被认为是经典且有效的^[3]。然而,这类试剂可能发生副反应,在LC-MS分析中,这种情况可能会引起较大的信号响应偏差,并且由于不同唾液酸之间的离子化效率存在显著差异,进而影响到定量分析的准确性。因此,研发一种可靠的衍生化方法对于实现唾液酸分析的精确性至关重要。

五、本文的研究目的和意义

唾液酸在疾病的发生中也发挥着重要作用。一些炎症和特定的微生物是通过识别宿主细胞表面的唾液酸而侵入宿主细胞的,所以对于唾液酸的研究分析是十分必要的,这种机制的发现对于理解病毒如何进入宿主细胞以及如何设计有效的抗病毒策略具有重要意义,因此对唾液酸的研究和分析至关重要。

参考文献

- [1]ZHOU X, YANG G, GUAN F. Biological Functions and Analytical Strategies of Sialic Acids in Tumor [J]. Cells, 2020, 9(2): 273.
- [2]BHIDE G P, COLLEY K J. Sialylation of N-glycans: mechanism, cellular compartmentalization and function [J]. Histochem Cell Biol, 2017, 147(2): 149-174.
- [3]GU é RARDEL Y, CHANG L Y, FUJITA A, et al. Sialome analysis of the cephalochordate Branchiostoma belcheri, a key organism for vertebrate evolution [J]. Glycobiology, 2012, 22(4): 479-491.
- [4]KLEIN A, DIAZ S, FERREIRA I, et al. New sialic

acids from biological sources identified by a comprehensive and sensitive approach: liquid chromatography–electrospray ionization–mass spectrometry (LC–ESI–MS) of SIA quinoxalinones [J]. *Glycobiology*, 1997, 7(3): 421–432.

[5]NIE H, LI Y, SUN X L. Recent advances in sialic acid–focused glycomics [J]. *J Proteomics*, 2012, 75(11): 3098–3112.

[6]YU H, CHOKHAWALA H A, HUANG S, et al. One–pot three–enzyme chemoenzymatic approach to the synthesis of sialosides containing natural and non–natural functionalities [J]. *Nat Protoc*, 2006, 1(5): 2485–2492.

[7]BIAN D, WANG X, HUANG J, et al. Maternal Neu5Ac Supplementation During Pregnancy Improves Offspring Learning and Memory Ability in Rats [J]. *Front Nutr*, 2021, 8: 641027.

[8]TANGVORANUNTAKUL P, GAGNEUX P, DIAZ S, et al. Human uptake and incorporation of an immunogenic nonhuman dietary sialic acid [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100(21): 12045–12050.

[9]DECLOQUEMENT M, VENUTO M T, COGEZ

V, et al. Salmonid polysialyltransferases to generate a variety of sialic acid polymers [J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 15610.

[10]WANG F, XIE B, WANG B, et al. LC–MS/MS glycomic analyses of free and conjugated forms of the sialic acids, Neu5Ac, Neu5Gc and KDN in human throat cancers [J]. *Glycobiology*, 2015, 25(12): 1362–1374.

[11]FORERO–RODR í GUEZ J, ZIMMERMANN J, TAUBENHEIM J, et al. Changes in Bacterial Gut Composition in Parkinson's Disease and Their Metabolic Contribution to Disease Development: A Gut Community Reconstruction Approach [J]. *Microorganisms*, 2024, 12(2): 325.

[12]GOPAUL K P, CROOK M A. Sialic acid: a novel marker of cardiovascular disease? [J]. *Clin Biochem*, 2006, 39(7): 667–681.

[13]MAKATSORI E, ALETRAS A, KARAMANOS N K, et al. Analysis of N–acetyl and N–glycolylneuraminic acid in rat serum and tissues with Walker 256 carcinoma by high–performance liquid chromatography [J]. *Biomed Chromatogr*, 1999, 13(1): 57–60.