

Glycoproteïnen: structuur, functie en toepassingen

Eiwitten worden meestal ingedeeld op basis van de werking van het polypeptidegedeelte. Veel eiwitten bevatten echter koolhydraten. De koolhydraatketens hebben hun eigen specifieke fysico-chemische en biologische functies.

J. H. Vliegthart en J. P. Kamerling

Glycoproteïnen zijn eiwitten waarin covalent gebonden koolhydraatketens voorkomen. Deze verbindingen komen wijdverbreid voor in vrijwel alle levende organismen, zowel in oplosbare als in membraan-gebonden vormen. Vrijwel alle eiwitten die aanwezig zijn in bloedserum en in kippe-eiwit zijn glycoproteïnen. De koolhydraatketens kunnen op twee manieren aan het eiwit gebonden zijn. Als het eiwit vastzit aan de zijketens van een asparagine, heet het N-glycosidisch. Dit type suikerketens heeft meestal een gemeenschappelijke kern-structuur bestaande uit twee N-acetylglucosamine- en drie mannose-residuen (zie kader 1). Uitbreiding van de kern kan op vele manieren plaatsvinden, waardoor een grote variatie aan structuren ontstaat die verschillen in samenstelling, chemische bindingen en lengte.

Als het koolhydraatgedeelte verbonden is met de zijketens van serine, hydroxylysine of hydroxyproline, noemt men ze O-glycosidisch (zie kader 1). Dit type ketens vertoont eveneens een grote variabiliteit in structuur. In een glycoproteïne kunnen koolhydraatketens van zowel N- als O-glycosidisch type naast elkaar voorkomen, variërend in grootte en aantal. Het gehalte aan koolhydraat kan hierdoor uiteenlopen van 0,5 tot 99%.

Indien eiwitten worden geklassificeerd volgens hun biologische activiteit, dan komt men tot groepen verbindingen zoals: enzymen, hormonen, membraanbestanddelen, structuureiwitten. Deze indeling is tot stand gekomen uitsluitend



Prof. dr. J. F. G. Vliegthart (1930) studeerde chemie aan de RU-Utrecht. Promotie in 1967 (Prof. dr. J. F. Arens, promotor). Thans hoogleraar Bio-Organische Chemie aan de RU-Utrecht, President-elect van de International Carbohydrate Organization, voorzitter van het Organizing Committee van het XIIth International Carbohydrate Symposium, en lid van de IUPAC and IUB committees on Biochemical Nomenclature.



Dr. J. P. Kamerling (39) studeerde organische chemie aan de RU Utrecht. Promotie in 1972. Sinds 1969 verbonden aan Werkgroep Organische Chemie van de RU Utrecht. Thans wetenschappelijk hoofdmedewerker. Secretaris Organizing Committee XIIth International Carbohydrate Symposium.

Structuuroopbouw van koolhydraatketens

De opbouw van koolhydraatketens wordt gekarakteriseerd door een veel groter aantal structurele parameters dan die van nucleïnezuur- en eiwitketens. Het theoretisch mogelijk aantal isomeren voor een saccharide van het type XX is 11 (X in D-pyranose ringvorm), terwijl het type XXX reeds aanleiding geeft tot 176 mogelijkheden. In beide gevallen bedraagt het aantal isomeren voor een peptide nog slechts 1. Een trimeer XYZ geeft aanleiding tot 6 isomere peptiden, maar al tot 1056 isomere sacchariden. De verschillende koppelmogelijkheden tussen monosacchariden onderling is hiervoor verantwoordelijk. De volgende parameters definiëren de primaire structuur van de koolhydraatketens van glycoproteïnen:

- (i) de aard en het aantal van de monosacchariden;
- (ii) sequentie en ringvorm van de monosacchariden;
- (iii) positie en configuratie van de bindingen;
- (iv) type koolhydraat-peptide-binding, positie en aard van het betrokken aminozuur in de polypeptide ketens.

Ter illustratie geeft Schema 1 een uitwerking van de pentasaccharide kernstructuur, zoals deze veelvuldig in N-glycosidisch gebonden koolhydraatketens van eiwitten voorkomt. Vele uitbreidingen van deze kernstructuur zijn inmiddels bekend geworden.

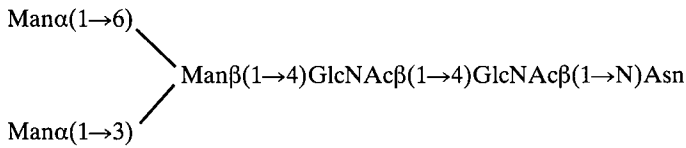
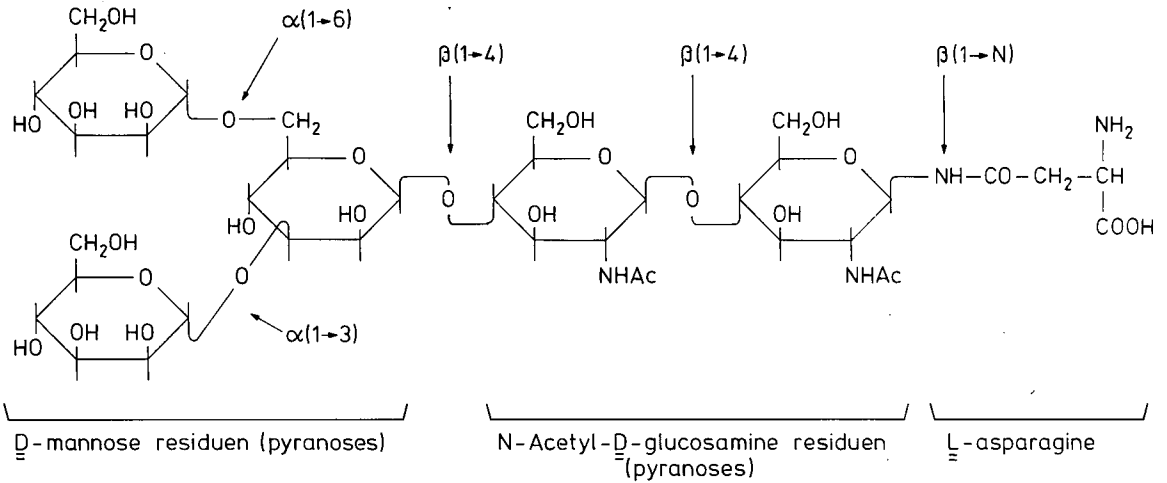
Een illustratie van een O-glycosidisch gebonden koolhydraatketen van een mucine-type glycoproteïne is weergegeven in Schema 2.

Voor de analyse van de primaire structuur van de koolhydraatketens van glycoproteïnen wordt een combinatie van diverse nat-chemische en analytische technieken toegepast. In vergelijking tot het onderzoek van de primaire structuur van nucleïnezuren en eiwitten bepaald geen hooggeautomatiseerde routinematige bezigheid. Aangezien in glycoproteïnen verschillende daarvoor in aanmerking komende aminozuurresiduen met koolhydraatketens covalent kunnen zijn gebonden, en er bovendien per glycosyleringsplaats (micro)heterogeniteit in deze ketens kan voorkomen, moeten vóór de aanvang van het eigenlijke structuuronderzoek specifieke degradatie- en zuiveringstechnieken worden toegepast. De degradaties moeten er toe leiden dat zuivere oligomeren worden verkregen, die geschikt zijn voor analyse.

N-Glycosidisch gebonden koolhydraatketens kunnen als glycopeptiden, geïsoleerd na uitvoerige pronase-digestie, worden onderzocht, maar ook als oligosacchariden verkregen na chemische afsplitsing met hydrazine of na enzymatische afsplitsing met glycopeptidasen.

O-Glycosidisch gebonden koolhydraatketens kunnen het beste als oligosacchariden worden geanalyseerd, bereid door een chemische afsplitsing met alkalische borohydride. Voor de zuivering van de verkregen mengsels van koolhydraatketens wordt gebruik gemaakt van diverse kolomchromatografische procedures, waaronder HPLC en FPLC. De structuuranalyse van de gezuiverde oligomere producten vindt plaats m.b.v. nat-chemische degradatie en derivatiseringsprocedures in combinatie met capillaire GLC, GLC-MS, FAB-MS, 500-MHz ¹H-NMR en ¹³C-NMR. eenmaal de primaire structuur bekend, dan kan m.b.v. geavanceerde NMR-technieken tevens informatie worden verkregen omtrent de ruimtelijke structuur van deze ketens. Ook diverse rekenprogramma's worden hierbij gebruikt. Is weinig zuiver materiaal beschikbaar voor deze conformatieanalyses, dan ligt in principe de weg open om ze tevens via organische synthese te verkrijgen. De geschetste informatie is van belang bij het leren begrijpen van allerlei biologische processen, maar ook voor de controle van biotechnologisch via recombinant-DNA bereide glycoproteïnen. De researchgroep 'Structuuranalyse en synthese van complexe koolhydraten' van de auteurs van dit artikel is gespecialiseerd in het hier beschreven type onderzoek.

Schema 1



Schema 2

