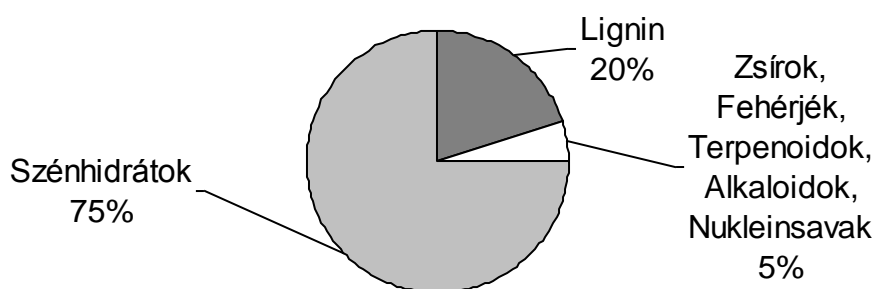


A szénhidrátkód

Somsák László
az MTA doktora
Debreceni Egyetem Szerves Kémiai Tanszék
somsak@tigris.unideb.hu

A Földön évente újratermelő biomassza mintegy 200 milliárd tonna/év tömegűnek becsülhető (Lichtenthaler, 2004). Ennek az anyagmennyiségnek közel 75 %-át szénhidrátok, azaz szénből, hidrogénből és oxigénből felépülő cukorszármazékok teszik ki (1. ábra).



1. ábra: A biomassza összetétele

A legnagyobb arányban a cellulóz és a hozzá hasonló, a növények vázanyagát alkotó óriásmolekulák vannak jelen, de számottevő a növényi tápanyag-raktározást szolgáló keményítő is. Ezek a makromolekulák (poliszacharidok) az egyszerű cukrok (monoszacharidok) legelterjedtebb képviselője, a D-glükóz (szőlőcukor) molekuláinak egymáshoz kapcsolódásával épülnek föl. A D-glükóz a fotoszintézis elsődleges terméke, az élő szervezetek többségében pedig az egyik közvetlen energiaforrás, de ha koncentrációja a vérünkben túllépi a szokásos szintet, az cukorbetegséghez vezet. Az egyéb poliszacharidok az élővilág legnagyobb részében (baktériumok, gombák, növények, ízeltlábúak) a sejtfalak alapvető alkotórészei. A szénhidrátok legismertebb, „közkézen forgó” képviselője a (kristály)cukorként megszokott mindennapi édesítőszer, a szacharóz nevű összetett cukor (D-glükózból és D-fruktózból [gyümölcs-cukor] álló diszacharid), melyet a mérsékelt égövön cukorrépából, a (szub)tropusokon pedig cukornádból nyernek ki igen nagy tisztasággal. Mintegy négyötöd részben szénhidrátok keveréke (D-fruktóz ~38 %, D-glükóz ~31 %, maltóz ~7 %, szacharóz ~1–2 %) az ősidők óta ismert és használt méz, amely a fő alkotókon kívül közel 180 egyéb komponenst tartalmaz. A szénhidrátok közvetlen felhasználása, illetve átalakításaik több évszázados, gyakran évezredek múltja tekinthetnek vissza, hogy csak a nagyszámú élelmiszerkészítési eljárást, sörfőzést és borkészítést, papírgyártást, viszkózműselyem-előállítás, szerkezeti- és tüzelőanyagként való felhasználást említsük példaként. Ez a néhány példa mutatja, hogy a különböző szénhidrátszármazékok környezetünkben és az élő szervezetekben milyen elterjedtek, és milyen alapvető szerepet töltenek be.

Gazdag ismereteink vannak a szénhidrátok élő szervezeten belüli átalakulásairól (metabolizmusáról), például a glükóz és más cukrok felépítéséről, lebontásáról, részvételükről az energiatermelő és -átalakító folyamatokban, a

poliszacharidok szintéziséről és degradációjáról, számos szervezettípusban betöltött kulcsszerepükről (Nelson – Cox, 2005). A szénhidrátok változatos vegyületekké kapcsolódnak össze más molekulatípusokkal is, így alkotva a glikokonjugátumok igen népes csoportját:

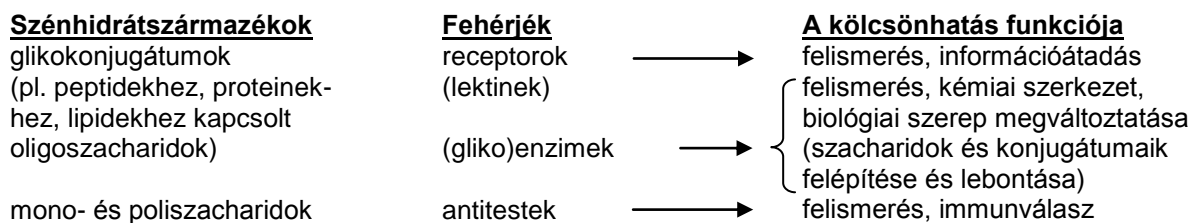
- a glikoproteinek fehérjék polipeptidláncához kapcsolódó néhány monoszacharidból álló szénhidrát egysége(ke)t (oligoszacharido(ka)t) tartalmaznak (a hasonló szerkezetű glikopeptidek között értékes antibiotikumokat találunk);
- a peptidoglikánok, melyekben poliszacharid láncokat oligopeptidek kapcsolnak össze, a baktériumok sejt falának alkotói;
- a proteoglikánok igen nagyszámú glikozaminoglikán típusú poliszacharidot tartalmazó fehérjék, melyek a sejten kívüli tér és a kötőszövetek fő alkotói számos élő szervezetben;
- a glikolipidek egyszerű cukrok és zsírok, a lipopoliszacharidok zsírok és poliszacharidok kapcsolódásával épülnek fel, és a sejtmembránok alkotórészei.

A szénhidrátok, elsősorban a glikokonjugátumok biológiai szerepével, bioszintézisével és átalakulásaival foglalkozó tudományterület, a glikobiológia a cukorszármazékokra vonatkozó sokrétű ismeretanyag fényében akár meglehetősen tradicionális diszciplínának is tekinthető (Roseman, 2001). Maga a megnevezés az 1980-as évek végén keletkezett, és kezdett elterjedni, amikor az elválasztástechnikai és szerkezetvizsgálati módszerek fejlődése lehetővé tette az élő sejtekből igen kis mennyiségben izolált glikokonjugátumok szerkezetének pontos megállapítását. Ez megnyitotta az utat a biológiai molekulák működésének és szerepének részletes feltárása előtt. Hasonlóan más „omika” (például: genomika, proteomika) területekhez, ma már egy sejt vagy szervezet teljes szénhidrát- (glikán) állományának (a glikomnak) szisztematikus tanulmányozása a glikomika tárgyköre (Turnbull – Field, 2007).

A glikobiológia számos alapvető biológiai folyamatban (így például a megtermékenyítésben (az ivarsejtek egymásra találásában), az embrionális sejt differenciálódásban és szövetfejlődésben, a sejtadhézióban, a sejtosztódás kontakt gátlásában, az immunválasz kialakulásában, a vírusreplikációban, a parazitafertőzésekben, a gyulladási folyamatokban, hormonok, toxinok sejteken történő megkötődésében) mutatta ki a szénhidrátszármazékok, mindeneke előtt a glikoproteinek és a glikolipidek kulcsszerepét (Varki, 1993; Dwek, 1996). Ezekben a jelenségekben közös, hogy lényegüket tekintve felismerési folyamatok, és olyan kölcsönhatások révén jönnek létre, melyekben a sejtek felszínén található, akár 140 nm vastagságot is elérő, szénhidrátokat tartalmazó (takaró)réteg (a glikokalix) cukormolekulái vesznek részt. A glikokalix egyed-, sőt sejt szinten jellegzetesen eltérő kémiai szerkezetű cukorszármazékokat tartalmaz, és ezáltal – mintegy azonosítóként – lehetővé teszi a szervezet számára a különbségtételt a saját, egészséges és az idegen vagy beteg sejtek között.

A glikokonjugátumokban a szénhidrát részek kovalens kötéssel (nagy energiájú, elsődleges kémiai kötőerők révén) kapcsolódnak a fehérjéhez, zsírhoz, stb. Az említett felismerési folyamatokban a szénhidrát-molekulák, illetve a glikokonjugátumok cukorrészei a kovalens kötéseknel lényegesen gyengébb, másodlagos kötőerők segítségével alakítanak ki kapcsolatokat fehérjékkel. A felismerés során az egyik partner, például a sejt szénhidrát-azonosítója kerül kölcsönhatásba a másik résztvevő, például sejt, vírus, baktérium szénhidrát-felismerésre szakosodott receptorával (lektinjével), ahol a szénhidrát rész hordozza

az információt, jelenti a kódot, míg a fehérje a kód megfejtésére, kiolvasására szolgáló eszköz (2. ábra). Széles körben alkalmazzák ezekre a kölcsönhatásokra az Emil Fischer által javasolt kulcs (szénhidrát) és zár (lektin) analógiát is, ami a kapcsolatba kerülő molekularészletek alakjának kiegészítő jellegére, egymásba illeszkedésére (komplementaritására) utal (Gabiuss et al., 2004). Ha a kölcsönhatásban résztvevő fehérje a felismerés után kémiai át is alakítja a cukorkomponenst (enzimaktivitása van), megváltozik vagy megszűnik az adott szénhidráthoz kapcsolható információ. Ezek a kémiai átalakítások alapvetőek a glikokonjugátumok és a glikánok felépítésében és lebontásában. Az antiszénhidrát-antitestek cukrot (is) tartalmazó antigének felismerésére, és a megfelelő immunválasz kiváltására specializálódtak (Pazur, 1998).



2. ábra: Szénhidrátok és fehérjék kölcsönhatásai

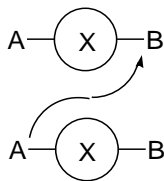
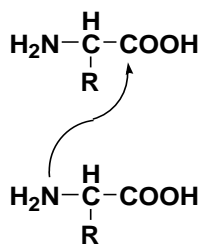
Az élő szervezetekben a biológiai funkciók megvalósulása a fehérjék működéséhez kötődik. A fehérjék elsődleges szerkezete, az aminosavak sorrendje egyértelműen rögzítve van a dezoxiribonukleinsav (DNS) kettős hélixében. Ennek a tervrajznak szigorú szabályok szerint kivitelezett megvalósítása a fehérjeszintézis. Azonban, az így elkészült fehérjék túlnyomó többsége még nem képes biológiai szerep betöltésére. Többféle utólagos módosítás szükséges a biológiai működőképesség eléréséhez, melyek közül a foszforiláció mellett az egyik leggyakoribb a fehérjék mintegy 90%-át érintő glikozilezés, azaz szénhidrát egység(ek) hozzákapcsolása. A glikozilezés azonban nincs a DNS-ben kódolva, ezért eltérő körülmények között ez eltérő módon valósulhat meg, ami azonos fehérje eltérő működését is eredményezheti. A glikozilezéssel az adott fehérjekészlet (proteom) kémiai és funkcionális diverzitása nagyságrendekkel növekszik anélkül, hogy ez újabb lényeges mennyiségű genetikai információ tárolását és felhasználását igényelné (csak a glikoenzimek szerkezete van kódolva a DNS-ben). Mindez a szénhidrátkészlet (a glikom) kémiai és szerkezeti sokféleségének köszönhető (Turnbull – Field, 2007).

Vizsgáljuk meg, mi teszi alkalmassá a szénhidrátokat ennek a diverzitásnak a létrehozására, miért váltak ezek a molekulák a sejtspecifikus információk hordozóivá. A peptidek/fehérjék kialakulása során tetszőleges számú aminosav (monomer) két funkciós csoportja (NH₂ és COOH, stilizáltan A és B) kapcsolódhat össze, és alkothat CONH- (A–B) kötést (3. ábra). Nem lehetséges A–A és B–B kapcsolat, és A–B = B–A. A szerkezetet kizárólagosan a monomerek kapcsolódási sorrendje szabja meg. Az oligoszacharidok képződésekor az egyik monoszacharid kitüntetett hidroxilcsoportja, az ún. glikozidos OH (E) kapcsolódhat a másik monomer bármely csoportjához (E–A,

E–B, stb), ráadásul E kétféle szerkezetben, ún. anomer konfigurációban teheti mindezt. Ennek következtében már két azonos monoszacharid is tizenegy féle diszacharidot alkothat. A monomerek számának növekedésével az elágazások lehetősége tovább növeli a diverzitást, ami az OH-csoportok biológiai környezetben igen gyakori kémiai módosításával további nagyságrendekkel fokozható (Laine, 1997).

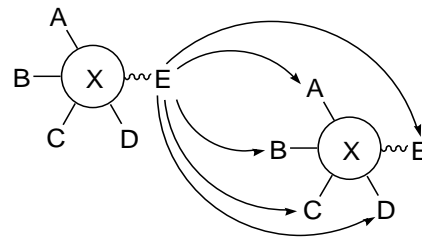
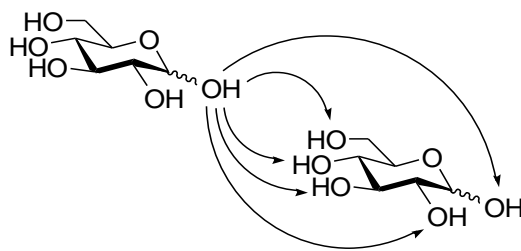
<u>Monomer összetétel</u>	<u>Termék</u>	<u>Eltérő szerkezetek (izomerek) száma</u>	
		Peptidek	Szénhidrátok
X ₂	Dimer	1	11
X ₃	Trimer	1	176
XYZ	Trimer	6	1056

Aminosavak összekapcsolódása peptidekké

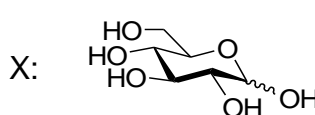


Eltérés lehetséges az R szerkezetében, például
X: R = H (glicin),
Y: R = CH₃ (alanin)

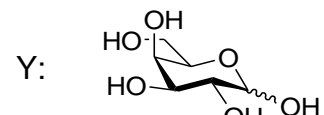
Monoszacharidok összekapcsolódása diszacharidokká



Eltérés lehetséges a monoszacharid szerkezetében, például



D-glükóz



D-galaktóz

A szerkezetet meghatározza:

A kapcsolódás sorrendje (XYZ szekvencia)

A kapcsolódás sorrendje (XYZ szekvencia)
A kapcsolódás helye (E–A, E–B, E–C, E–D, stb)
Az anomer konfiguráció (E kétféle térhelyzetben fordul elő)
Elágazások (legalább két, E-től különböző helyre kötődik másik cukor)
További módosítások (az OH-csoportok kémiai átalakításai)

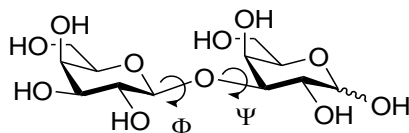
3. ábra: Aminosavak és szénhidrátok kapcsolódási lehetőségei

A 4. ábra a fontos biológiai makromolekulák monomerjeiből (a nukleinsavakat felépítő négyféle nukleotid, húszféle fehérjealkotó aminosav, illetve tízféle gyakori monoszacharid kétféle anomer konfigurációban) felépíthető oligomerek számát foglalja össze (Werz et al., 2007). A szénhidrátok az OH-csoportok kémiai módosítása nélkül is nagyságrendekkel többféle szerkezet kialakítására képesek, mint a nukleotidok és a peptidek. Ez akkora kódolási kapacitást rejt, amely mindenképpen alkalmas lehet a sejtspecifikus információk tárolására és megjelenítésére.

Oligomer mérete	Eltérő szerkezetek (izomerek) száma		
	Nukleotid	Peptid	Szacharid
1	4	20	20
2	16	400	1360
3	64	8000	126 080
4	256	160 000	13 495 040
5	1024	3 200 000	1 569 745 920
6	4096	64 000 000	192 780 943 360

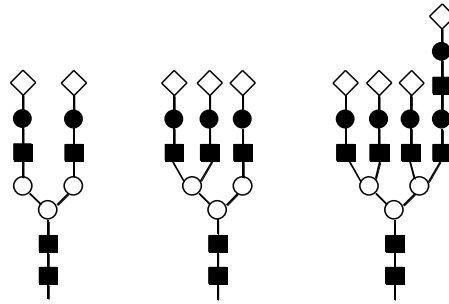
4. ábra: Biológailag fontos oligomerek sokfélesége

Az információhordozó kapacitás tovább növekszik a harmadik dimenzióban (5. ábra). A monoszacharidokat összekapcsoló Φ és Ψ kötések mentén a cukoregységek elfordulhatnak (szabatosan a Φ és Ψ az elfordulás során változó diéderes vagy torziós szögeket jelöli). Az így létrejövő téralkatok (konformerek) között azonban több, kb. azonos energiatartalmú kitüntetett elrendeződés is található, amelyek eltérő alakját más és más lektin képes felismerni. Ily módon ugyanaz a szénhidrátkulcs több zárat is nyithat (Gabiús et al., 2004).



5. ábra: A téralkat (konformáció) változása a glikozidos kötés mentén

Az ismert információhordozó oligoszacharidok jelentős hányada tartalmaz legalább egy elágazást, de nem ritka a 2–4 elágazási pont sem (Werz et al. 2007). Ennek eredményeként ezek a vegyületek a sejt felszínén mintegy „antenna” formájában jelennek meg (6. ábra). Mivel a lektinreceptorokhoz való kötődésben elsősorban a láncok végén helyet foglaló cukoregységek vesznek részt, ennek a többértékűségnek (multivalenciának) a következménye a kölcsönhatás 10–100 000-szeres erősödése az önmagában kötődő monoszacharidhoz képest (glikozid klaszter vagy kelát effektus) (Lundquist – Toone, 2002).



6. ábra: Az oligoszacharid antennák (az egyes alakzatok különböző monoszacharid egységeket jelképeznek)

Gyakran felmerülő kérdés, hogy a genom és a proteom, mint az élő szervezetek alapvető információs és funkcionális molekuláinak összessége, tanulmányozásában elért impozáns áttörések mellett miért szerényebbek a glikom kutatásának eredményei. „Az egyszerű válasz az, hogy a glikokonjugátumok sokkal bonyolultabbak és változatosabbak a fehérjéknél és nukleinsavaknál, és vizsgálatuk jóval nehezebb.”¹ (Roseman, 2001) A szerkezeti és funkcionális sokféleség felderítésére számos vizsgáló módszer összehangolt alkalmazása szükséges. A természetes forrásokból való elkülönítés és szerkezetmeghatározás legfontosabb eszközei a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia, illetve ennek tömegspektrometriával kapcsolt változatai (HPLC/MS), mágneses magrezonancia spektroszkópia (NMR), szénhidrátokat kötő fehérje array-k, szénhidrát-array-k, a molekulamodellzés (Pilobello – Mahal, 2007). Szükséges a megismert szerkezetek sejt- és szövetkönyvtárakba/adatbázisokba rendezése és informatikai kezelése (Turnbull – Field, 2007). Mindezek mellett és után – mivel az izolálható anyagmennyiségek általában nem elegendőek a funkció tanulmányozására – a szintetikus szénhidrátkémia feladata

- a természetes vegyülettípusok (például oligoszacharidok, glikoproteinek, glikolipidek), és/vagy lényegi alkotóelemeik (például *N*- és *O*-glikozilezett aminosavak, peptidek) előállítására célszerűen automatizált módszerekkel, amelyek fejlettsége jelenleg jóval elmarad a fehérjék és nukleinsavak esetében rutinszerűen alkalmazottaktól;
- mimetikumok (a természetben található anyagokkal szerkezetükben és/vagy hatásukban analóg vegyületek: például *C*-glikozil származékok) készítése (Bernardi – Cheshev, 2008);
- inhibitorok tervezése és szintézise, melyek a természetes folyamatokba való beavatkozás lehetőségét adhatják.

A szénhidrátkód megismerésének része a glikán–fehérje kölcsönhatások funkcionális feltérképezése, melynek során a fehérje-krisztallográfia, NMR-spektroszkópia, felületi plazmonrezonancia, kalorimetria, változatos számítási kémiai módszerek szinergisztikus alkalmazása szükséges (DeMarco – Woods, 2008). A funkcionális glikomika és lektinomika ezek után szénhidrát-alapú vakcinák (Seeberger – Werz, 2007), diagnosztikumok és gyógyszerek előállítását alapozhatja meg (Turnbull – Field, 2007); lehetővé tehet szinte mellékhatások nélküli sejt- vagy szövetspecifikus terápiás módszereket (Davis, 2000); igen pontos hatóanyag-célbajuttatást (Gabiuss, 2000); hozzájárulhat az antibiotikum-rezisztencia

¹ „The simple answer is that glycoconjugates are much more complex, variegated, and difficult to study than proteins or nucleic acids.”

leküzdéséhez (Ritter and Wong 2001). A gyógyszerkémiail szemlélet változását is maguk után vonhatják a glikomika meggyőző eredményei: manapság a szénhidrátok jószerivel kívül esnek e terület érdeklődési körén a vegyületek bonyolultsága, a várható technológiai nehézségek és a hidrofil jelleg miatt korlátozott biológiai hozzáférhetőség okán.

A vázolt nehézségek és komplexitás dacára már ma is léteznek szénhidrát-alapú, vagy szénhidrátokat utánzó szerkezetű gyógyszerek, melyek megalkotásában (legalábbis részben) már a glikobiológia és glikomika eredményei is fontos szerepet játszottak. Így a cukorbetegség kezelésében alkalmazott Glucobay™ (Acarbose) pszeudo-tetraszacharid szerkezetű, míg a Glyset™ (Miglitol) és a Basen® (Voglibose) glikomimetikumnak tekinthető enzimgátlók. Szintén glikoenzim (neuraminidáz) gátlók az influenza ellen alkalmazható Relenza® (Zanamivir; módosított monoszacharid) és Tamiflu® (Oseltamivir; glikomimetikum) is. A véralvadásgátló heparin szintetikus helyettesítője az Arixtra® (Fondaparinux; pentaszacharid), melyet nagyipari módszerekkel készítenek.

A szénhidrátkód megfejtése és működésének megértése a nukleinsavak és fehérjék funkcióinak ismerete mellett, illetve azokkal együtt adhatja kezünkbe azokat az eszközöket, melyekkel az életjelenségeket a mainál magasabb szinten magyarázhatjuk, és szükség esetén értően és tudatosan befolyásolhatjuk. Ezek az információk új irányokat szabhatnak számos betegség terápiás megközelítésében és a gyógyszerfejlesztésben is (Wong, 2003).

Kulcsszavak: cukrok; glikokonjugátumok; glikobiológia; glikomika; sejtspecifikus felismerés; szénhidrát gyógyszerek.

- Bernardi, Anna – Cheshev, Pavel (2008). Interfering with the Sugar Code: Design and Synthesis of Oligosaccharide Mimics. *Chemistry-A European Journal*. **14**, 7434–7441.
- Davis, Benjamin G. (2000). Hand in Glove. *Chemistry & Industry*. 134–138.
- Demarco, Mari L. – Woods, Robert J. (2008). Structural Glycobiology: A Game of Snakes and Ladders. *Glycobiology*. **18**, 426–440.
- Dwek, Raymond A. (1996). Glycobiology: Toward Understanding the Function of Sugars. *Chemical Reviews*. **96**, 683–720.
- Gabius, Hans-Joachim (2000). Biological Information Transfer beyond the Genetic Code: The Sugar Code. *Naturwissenschaften*. **87**, 108–121.
- Gabius, Hans-Joachim – Siebert, H. C. – André, S. – Jiménez-Barbero, J. – Rüdiger, H. (2004). Chemical Biology of the Sugar Code. *Chembiochem*. **5**, 741–764.
- Laine, Roger A. (1997). Information Capacity of the Carbohydrate Code. *Pure and Applied Chemistry*. **69**, 1867–1873.
- Lichtenthaler, Frieder W. (2004). *Carbohydrates As Raw Materials for Chemical Industry. Collection of Lectures of the Summer Schools on Green Chemistry. Green Chemistry Series*. (Tundo, Pietro ed.) Venice, 105–127.
- Lundquist, Joseph J. – Toone, Eric J. (2002). The Cluster Glycoside Effect. *Chemical Reviews*. **102**, 555–578.
- Nelson, David L. – Cox, Michael M. (2005). *Lehninger Principles of Biochemistry*. W. H. Freeman and Company, New York
- Pazur, John H. (1998). Anti-Carbohydrate Antibodies with Specificity for Monosaccharide and Oligosaccharide Units of Antigens. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*. Academic Press, **53**, 201–261.

- Pilobello, Kanoelani T. – Mahal, Lara K. (2007). Deciphering the Glycocode: The Complexity and Analytical Challenge of Glycomics. *Current Opinion in Chemical Biology*. **11**, 300–305.
- Ritter, Thomas K. – Wong, Chi-Huey H. (2001). Carbohydrate-Based Antibiotics: A New Approach to Tackling the Problem of Resistance. *Angewandte Chemie-International Edition*. **40**, 3509–3533.
- Roseman, Saul (2001). Reflections on Glycobiology. *Journal of Biological Chemistry*. **276**, 41527–41542.
- Seeberger, Peter H. – Werz, Daniel B. (2007). Synthesis and Medical Applications of Oligosaccharides. *Nature*. **446**, 1046–1051.
- Turnbull, Jeremy E. – Field, Robert A. (2007). Emerging Glycomics Technologies. *Nature Chemical Biology*. **3**, 74–77.
- Varki, Ajit (1993). Biological Roles of Oligosaccharides: All of the Theories Are Correct. *Glycobiology*. **3**, 97–130.
- Werz, Daniel. B. – Ranzinger, R. – Herget, S. – Adibekian, A. – von der Lieth, C. W. – Seeberger, P. H. (2007). Exploring the Structural Diversity of Mammalian Carbohydrates ("Glycospace") by Statistical Databank Analysis. *ACS Chemical Biology* **2**, 685–691.
- Wong, Chi-Huey (2003). *Carbohydrate-Based Drug Discovery*. Wiley-VCH, Weinheim, <http://books.google.hu/books?id=hxYCMWAV9CsC&hl=en>