



β -N-乙酰氨基己糖苷酶及其合成寡糖的研究进展

陈晓迪^{1,3}, 王凤山^{2,3}, 肖敏^{1,2*}

¹ 山东大学微生物技术国家重点实验室, 山东 济南 250100

² 国家糖工程技术研究中心, 山东省糖化生物学省级重点实验室, 山东 济南 250100

³ 山东大学药学院, 山东 济南 250100

摘要: β -N-乙酰氨基己糖苷酶(EC.3.2.1.52)是一类重要的糖苷水解酶, 在自然界中催化简单的 β -N-乙酰氨基己糖苷或复杂的寡糖链、多糖链中末端 N-乙酰己糖苷键的水解, 在微生物、植物和动物中广泛分布, 具有重要的生物学功能。某些种类的 β -N-乙酰氨基己糖苷酶在一定的人为条件下水解 β -N-乙酰氨基己糖苷键的同时还具有转糖基作用, 能将 β -N-乙酰氨基己糖基转移到不同的羟基化合物上, 合成 β -N-乙酰氨基己糖苷化合物, 在糖链合成上具有应用的潜力。本文综述了 β -N-乙酰氨基己糖苷酶的结构和催化机制、酶的生物学功能以及酶在 β -N-乙酰氨基己糖苷化合物合成中的应用, 以促进 β -N-乙酰氨基己糖苷酶的进一步研究和开发应用。

关键词: β -N-乙酰氨基己糖苷酶, 催化机制, 生物学功能, 转糖基作用, 寡糖合成

β -N-乙酰氨基己糖苷酶(β -N-acetylhexosaminidase, EC.3.2.1.52)是一类重要的糖苷水解酶, 在自然界中催化简单的 β -N-乙酰氨基己糖苷或复杂的寡糖链、多糖链中末端 N-乙酰半乳糖苷键或 N-乙酰葡萄糖苷键的水解。20 世纪 70 年代, Matsushima 等首先从高峰淀粉酶(Takadiastase)中分离出了 β -N-乙酰氨基己糖苷酶, 并在水解底物特异性和抑制剂等方面进行了系统研究, 揭示了该类酶的催化特性^[1]。近年来, 随着对 β -N-乙酰

氨基己糖苷酶的深入研究, 人们发现了某些种类的 β -N-乙酰氨基己糖苷酶在一定的人为条件下水解 β -N-乙酰氨基己糖苷键的同时, 还可以通过转糖基或逆水解作用将 β -N-乙酰氨基己糖基转移到不同的羟基化合物上, 合成 β -N-乙酰氨基己糖苷化合物, 用于合成多种功能性寡糖, 具有重要的应用前景^[2]。本文综述了 β -N-乙酰氨基己糖苷酶的结构和催化机制、酶的生物学功能以及酶在 β -N-乙酰氨基己糖苷化合物合成中的应用研究进展。

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(国家“973 计划”)(2012CB822102); 国家自然科学基金(31670062)

*通信作者。Tel: +86-531-88365128; Fax: +86-531-88363002; E-mail: minxiao@sdu.edu.cn

收稿日期: 2017-03-30; 修回日期: 2017-05-21; 网络出版日期: 2017-05-25

1 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶的结构和催化机制

通过对 CAZY 数据库(<http://www.cazy.org/Glycoside-Hydrolases.html>)分析,目前 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶(EC.3.2.1.52)有 141 种,主要分布在糖苷酶家族 GH3、GH20 和 GH84 中,而在 GH116 家族仅有一例 β -*N*-乙酰氨基葡萄糖苷酶的报道^[3]。大量的 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶的晶体结构研究结果显示,该类酶的催化结构域均为 $(\beta/\alpha)_8$ 桶状结构,由 8 个重复的 β 折叠/loop 环/ α 螺旋单位组成,8 个 β 折叠组成了催化域的 β 桶。

β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶有两种不同的催化机制,一是糖苷酶通用的构型保持酶的双置换机制,即首先通过亲核体氨基酸 Asp/Glu 直接对底物进行攻击从而形成酶-底物复合物中间体,酸碱催化氨基酸 Asp-His/Asp 先提供质子,促使离去基团离去,然后进行碱催化,激活受体分子,促使受体分子攻击酶-底物复合物,当受体为水时发生水解反应,当受体为糖时发生转糖基反应(图 1-A 和 B)^[3-4]。二是底物辅助型的催化机制,发挥亲核作用的是底物分子中的 HexNAc 而非氨基酸,即 HexNAc 的 2 位乙酰氨基极化并被去质子化的 Asp 辅助放置于利于酸碱催化氨基酸 Asp/Glu 进行反

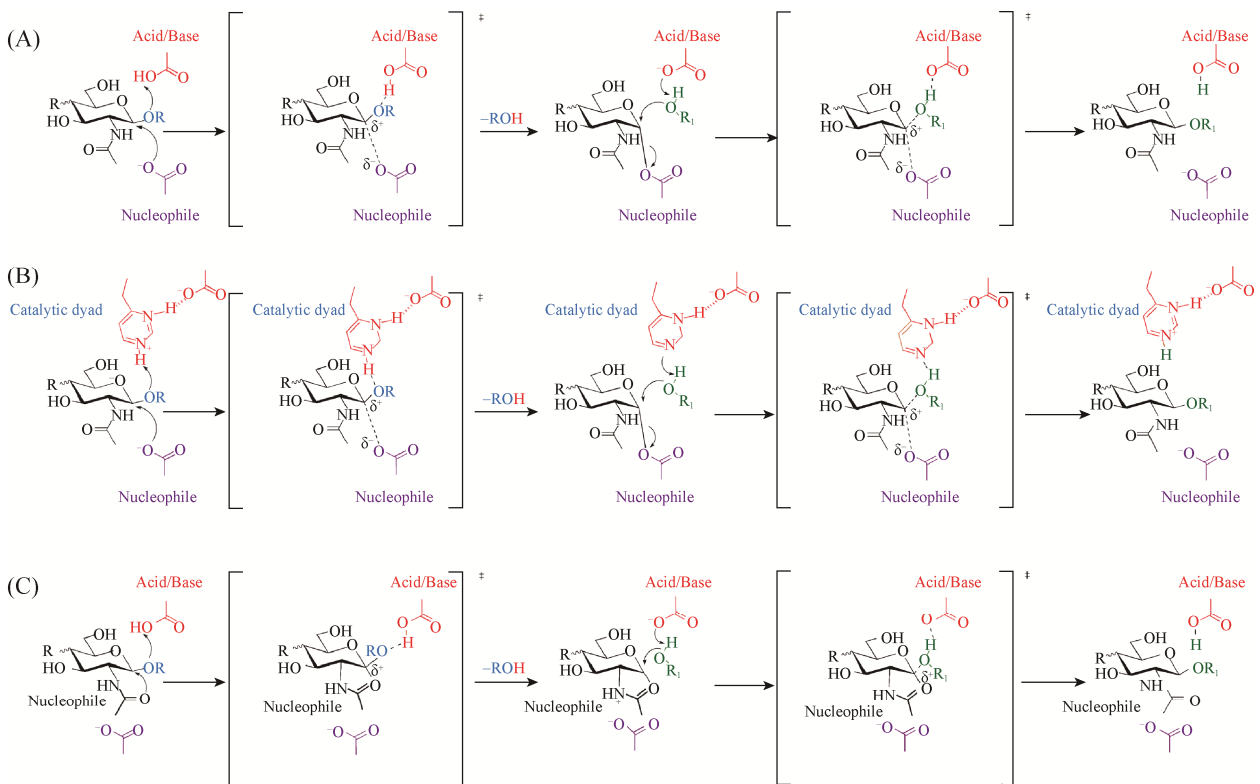


图 1. β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶的催化机制

Figure 1. Catalytic mechanisms for β -*N*-acetylhexosaminidases. A: Putative double-displacement retaining mechanism utilized by GH116. B: Double-displacement retaining mechanism utilized by GH3. A histidine is proposed to act as the general acid/base. C: Double-displacement retaining mechanism of GH20 and GH84. The nucleophile is not provided by the enzyme but by the substrate 2-acetamido group, leading to the formation of an oxazoline intermediate.

应的位置, 乙酰氨基对异头碳进行亲核攻击形成恶唑啉中间体, Asp/Glu 提供质子, 促使离去基团离去, 随后进行碱催化, 激活受体分子, 促使受体分子攻击中间体, 受体为水时发生水解反应, 受体为糖时发生转糖基反应(图 1-C)^[2]。迄今为止, 多种来自 GH3、GH20 和 GH84 三个家族的 β -N-乙酰氨基己糖苷酶的晶体结构已经得到解析, 而仅有一例 β -N-乙酰氨基葡萄糖苷酶的 GH116 家族的酶尚未发现晶体结构解析的报道。

1.1 GH3 家族 β -N-乙酰氨基己糖苷酶

GH3 家族中归于 β -N-乙酰氨基己糖苷酶的有关 18 种来源于细菌^[4-8], 仅 1 种来源于真菌^[9], 该家族的 β -N-乙酰氨基己糖苷酶专一性水解 β -N-乙酰氨基葡萄糖苷键, 为 β -N-乙酰氨基葡萄糖苷酶。第 1 种得到蛋白质晶体结构解析的是 2007 年报道的霍乱弧菌(*Vibrio cholerae*) β -N-乙酰氨基己糖苷酶 VcNagZ^[5], 之后又有 4 种细菌源的 β -N-乙酰氨基己糖苷酶晶体结构陆续得到解析。2015 年, Qin 等报道了至今该家族中仅有的一种真菌米黑根毛霉(*Rhizomucor miehei*)来源的 β -N-乙酰氨基己糖苷酶的晶体结构^[9](表 1)。2010 年, Litzinger 等对来自枯草杆菌的 β -N-乙酰氨基葡萄糖苷酶 BsNagZ 的晶体以及 BsNagZ 与过渡态模拟抑制剂 PUGNAc 的共晶体进行了结构解析(表 1), 是第一个报道的具有双结构域的 β -N-乙酰氨基己糖苷酶, 其 N 端结构域为典型的糖苷酶(β/α)₈ 桶状结构催化结构域, 亲核体氨基酸 Asp 和酸碱催化对 Asp-His 相距约 6.3Å, 分别位于第 5 和第 7 个 β 折叠的末端(图 2-B)^[4]; C 端结构域为 $\alpha\beta\alpha$ 三明治结构, 与底物或抑制物的结合位点无关。该报道首次阐明了 GH3 家族的 β -N-乙酰氨基葡萄糖苷酶催化机制为双置换反应机制(图 1-B)^[4], 与糖苷酶

一般以 Glu 作为酸碱催化氨基酸不同的是该家族以 Asp-His 作为酸碱催化对, 其中 His 主要行使酸碱催化功能, 其与 Asp 形成氢键, 组成了 Asp-His 催化对(图 2-A 和 B)。与枯草杆菌的 β -N-乙酰氨基葡萄糖苷酶 BsNagZ 不同的是, 霍乱弧菌(*Vibrio cholerae*)和沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*)的 β -N-乙酰氨基葡萄糖苷酶 VcNagZ 和 StNagZ 是单结构域, 即只有 1 个(β/α)₈ 桶状的催化结构; 而 2 个来自热袍菌属的海栖热袍菌(*Thermotoga maritima*)和新阿波罗栖热袍菌(*Thermotoga neapolitana*)的 β -N-乙酰氨基葡萄糖苷酶 NagA 和 CbsA, 具有 N 端催化结构域和 C 端结构域双结构域酶, 但与已报道的该家族细菌源单结构域和双结构域 β -N-乙酰氨基葡萄糖苷酶晶体结构均为单体蛋白不同的是, NagA 和 CbsA 为二聚体蛋白。GH3 家族仅有的一种真菌米黑根毛霉(*R. miehei*) RmNag 的晶体结构与细菌源 β -N-乙酰氨基葡萄糖苷酶有很大不同, 是一个双功能酶, 由 4 个不同的结构域组成, 分别为 N 端的 A 和 B 结构域以及 C 端的 C 和 D 结构域。N 端为双结构域 β -N-乙酰氨基葡萄糖苷酶, 其中 A 结构域为(β/α)₈ 桶状的催化结构, B 结构域为 $3\alpha/6\beta/3\alpha$ 的三明治结构; C 端为双结构域的乙酰转移酶, 包含 2 个结构上保守的 GCN5 相关乙酰转移酶结构域 C 和 D。

1.2 GH20 家族 β -N-乙酰氨基己糖苷酶

GH20 家族中归于 β -N-乙酰氨基己糖苷酶的有关 64 种来源于真核生物, 53 种来源于细菌, 为数量最多的 β -N-乙酰氨基己糖苷酶家族。该家族的酶对 β -N-乙酰氨基葡萄糖苷和 β -N-乙酰氨基半乳糖苷都有水解活性, 为双功能酶。GH20 家族共有 14 种酶的晶体结构得到解析(表 1)^[10-18], 自 1996 年首例细菌粘质沙雷氏菌源的 β -N-乙酰氨基己糖

表 1. β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶的晶体结构
Table 1. Three dimensional structures of β -*N*-acetylhexosaminidases

GH family	Enzyme	PDB	Carbohydrate ligands	Enzyme source	Ref
3	BsNagZ	3BMX		<i>Bacillus subtilis</i>	[4]
		3NVD	PUGNAc		
	N318D	3LK6			
	N318D	4GYJ	GlcNAc-MurNAc		
	N318D	4GYK	GlcNAc-MurNAc		
3	StNagZ	4GVF	GlcNAc	<i>Salmonella typhimurium</i>	[6]
		4GVG			
		4GVH	5-fluoro-GlcNAc		
		4GVI	GlcNAc-1,6-anhMurNAc		
		4HVM	C1		
3	NagA	3WO8		<i>Thermotoga maritima</i>	[7]
3	CbsA	5BZA		<i>Thermotoga neapolitana</i>	[8]
		5C0Q			
3	VcNagZ	1TR9		<i>Vibrio cholerae</i>	[5]
		1Y65	GlcNAc		
		2OXN	PUGNAc		
		3GS6	<i>N</i> -butyryl-PUGNAc		
		3GSM	<i>N</i> -Valeryl-PUGNAc		
3	RmNag	4ZM6		<i>Rhizomucor miehei</i>	[9]
20	AAur_4089	3RCN		<i>Paenarthrobacter aurescens</i>	unpublished
20	Hex1- Δ C	3GH4		<i>Paenibacillus</i> sp.	[10]
		3GH5	GlcNAc		
		3GH7	GalNAc		
		3SUR	NAG-thiazoline		
		3SUS	GalNAG-thiazoline		
		3SUT	PUGNAc		
		3SUU	GalPUGNAc		
		3SUV	NHAc-DNJ		
		3SUW	NHAc-CAS		
20	SmGH20A	1QBA		<i>Serratia marcescens</i>	[11]
		1QBB	di- <i>N</i> -acetyl- β - <i>D</i> -glucosamine		
	D539A	1C7S	di- <i>N</i> -acetyl- β - <i>D</i> -glucosamine		
	E540D	1C7T	di- <i>N</i> -acetyl- β - <i>D</i> -glucosamine		
20	GcnA	2EPK		<i>Streptococcus gordonii</i>	[12]
		2EPL			
		2EPM			
		2EPN			
		2EPN			
20	StrH	3RPM	GlcNAc	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	[13]
20	GH20C	5A69	Gal-PUGNAc	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	[14]
		5A6A	NGT		
		5A6B	PUGNAc		
		5A6K	Gal-NGT		
		5AC4	GalNAc		
		5AC5	GlcNAc		

(待续)

(续表 1)

20	StrH	2YL6 2YL8 2YLL 4AZ5 4AZ6 4AZ7 4AZB 2YL5 2YL9 2YLA 4AZC 4AZG 4AZH 4AZI	GlcNAc-Man PUGNAc LOGNAC PUGNAc GlcNAc-Man-Man-GlcNAc GlcNAc-Man-Man-GlcNAc PUGNAc LOGNAC PUGNAc	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	[15]
20	ScGH20	4C7D 4C7F 4C7G	 6-acetamido-6-deoxy-castanospermine GlcNAc-oxazolinium ion	<i>Streptomyces coelicolor</i>	[16]
20	SpHex	1HP4 1HP5 1JAK 1M01 1M03 1M04 5FCZ 5FD0	 NAG- thiazoline C2 GlcNAc GlcNAc GlcNAc Thio-NAGlucal NAGlucal	<i>Streptomyces plicatus</i>	[17–18]
20	HexA	2GJX 2GK1	 NAG-thiazoline	<i>Homo sapiens</i>	[19]
	HexB	1NOU 1NOW 1NP0 1O7A 3LMY 5BRO	 GalNAc-isofagomine NAG-thiazoline Pyrimethamine	<i>Homo sapiens</i>	[20]
20	OfHex1	3NSM 3NSN 3OZO 3OZP V327G 3S6T 3WMB 3WMC	 TMG-chitotriomycin NAG-thiazoline PUGNAc PUGNAc naphthalimide derivative Q1 naphthalimide derivative Q2	<i>Ostrinia furnacalis</i>	[21]
84	CpNagJ	2J62 2V5C 2V5D 2VUR 2WB5 2X0Y D298N D298N D298N D298N	 C3 GlcNAcstatin Diprophylline hOGA-derived O-GlcNAc peptide p53-derived O-GlcNAc peptide TAB1-derived O-GlcNAc peptide C4	<i>Clostridium perfringens</i>	[22]
84	NagJ	2CBI 2CBJ 2XPK	DIHYDROFURAN-2(3H)-ONE PUGNAC GlcNAcstatin F	<i>Clostridium perfringens</i>	[23]

C1: N-[(3S,4R,5R,6R)-4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)piperidin-3-yl]butanamide; C2: (2R,3R,4S,5R)-2-acetamido-3,4-dihydroxy-5-hydroxymethyl-piperidinium chloride; C3: 2-deoxy-2-[[[(2-hydroxy-1-methylhydrazino)carbonyl]amino]-beta-D-glucopyranose; C4: Drosophila HCF-derived Thr-O-GlcNAc peptide.

(A)	AAN79850.1	GHGAVTADSHKETPCDPRPQAEIRAKDM	RQELGFDGVIFSDLSMEGAA
	AAC74191.1	GHGAVTADSHKETPCDPRPQAEIRAKDM	RQELGFDGVIFSDLSMEGAA
	AAQ05801.1	GQGVDERDQILLASVNTMSVEEWDSSFG	RDRLGFNGLVVSSTTMAGLA
	BAC56177.1	GHGDTEVDSHGLPLSLNHDNLRLKSTEL	RDEMGYKGVIIITDLEMQAIS
	AAA64351.1	GHGDTDVDSHYGLPLVSHGQERLREVEL	RQEMGFNGVIVTDALNMKATA
GH20	AAK98861.1	--KTMDLKNEEAMNFVKALIGKYMDFFA--GKTKIFNFGTDEYANDATSAQGWYYLK		
	AAB03808.1	NRQSYLNPCLDSSQRFVDKVIQEAQMHKEAGQPIKTWHFGGDEAKNIRLGA-GYTDKA		
	BAI63641.1	-GYSTLMPRAEITYQFVEDVISELAAIS-----PSPYIHLGGDESNAATSA--DYDYFF		
	CAB87223.1	-GFSTLCVDKDVTYDFVDDVLGELAALT-----PGRYLHIGGDEAHSTPQA--DFVAFM		
	AAC38798.3	-GFSSLCVDKDVTYDFVDDVLGELAALT-----PGRYLHIGGDEAHSTPKA--DFVAFM		
GH84	BAC99989.1	VDLKSKLKQVIDQGVQVAILADDFANPFGGELGL-----RLVNDITNWLENEVK		
	ABG84519.1	NHLITKAESLYDMGVRSFATYWDIQQKSAK-----HAQVLRNRFN		
	BAB80940.1	NHLIKAESLYDMGVRSFATYWDIQQKSAK-----HAQVLRNRFN		
	CAP80500.1	DATVAKFNQLRDFGVSNFYIALDDIPLFHCADADKKKWPKTNDDEWIADAQTFYLRNVQ		

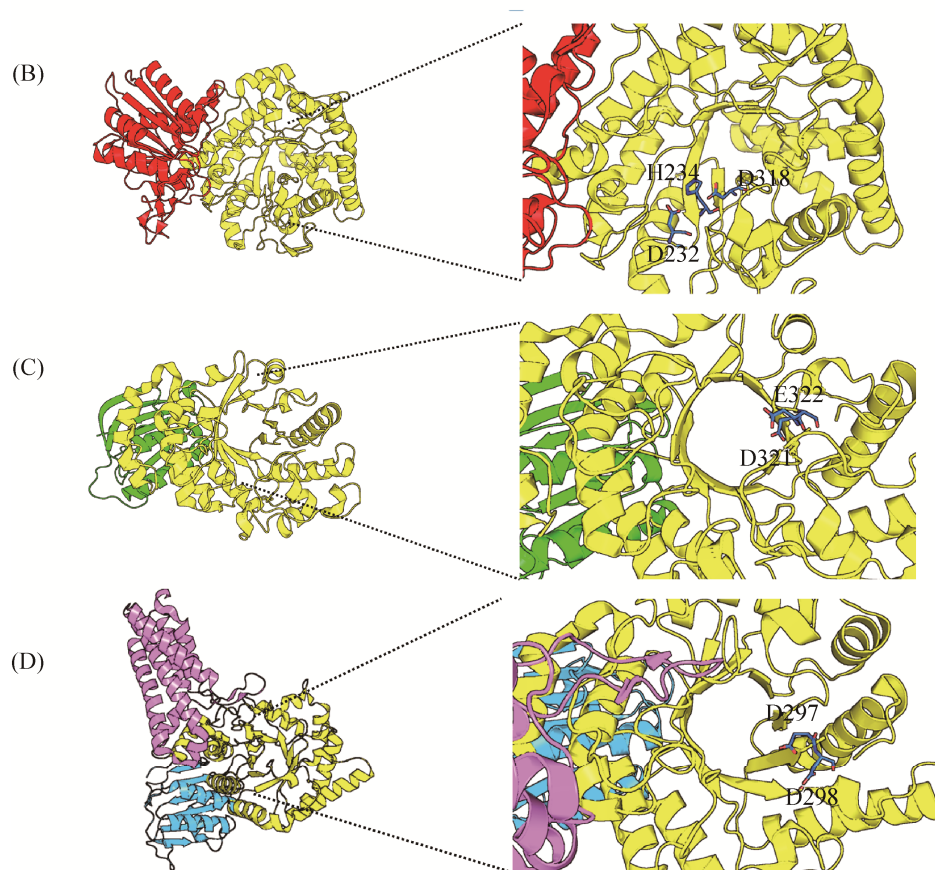


图 2. β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶的催化位点及催化机制

Figure 2. Catalytic mechanisms for β -*N*-acetylhexosaminidases. A: Partial result of multiple alignments of β -*N*-acetylhexosaminidases. The catalytic residues are colored. B: Protein structure and catalytic residues of GH3 β -*N*-acetylhexosaminidases. C: Protein structure and catalytic residues of GH20 β -*N*-acetylhexosaminidases. D: Protein structure and catalytic residues of GH84 β -*N*-acetylhexosaminidases. Catalytic domains are shown in yellow.

苷酶晶体结构的报道以来, 目前共有 10 种来自于细菌, 而真核生物中只有人源的 β -*N*-乙酰氨基己

糖苷酶 HexA($\alpha\beta$)^[19]和 HexB($\beta\beta$)^[20]、昆虫^[21]以及米曲霉来源的 4 种酶的晶体结构解析。GH20 家族

β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶采用底物辅助型的反应机制(图 1-C), 该家族的酶都有一对高度保守的催化氨基酸对 Glu-Asp, Glu 为酸碱催化氨基酸, Asp 为底物辅助氨基酸, 这 2 个氨基酸位于同一个 loop 结构上(图 2-A 和 C)。大多数酶蛋白具有由芳香族氨基酸组成的疏水作用腔, 可能用以把底物放置于活性位点处。2009 年, Sumida 等对来自类芽孢杆菌 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶 Hex1 的 C 端缺失蛋白(Hex1- Δ C)与底物乙酰氨基葡萄糖(GlcNAc)和乙酰氨基半乳糖(GalNAc)等的共晶体进行了结构解析, Hex1- Δ C 由 2 个结构域组成, 分别是 N 端结构域和催化域, N 端结构域包含 2 个长的 α 螺旋和 7 个 β 折叠, 催化域为(β/α)₈ 桶状的催化结构(图 2-C)。在催化域中, Trp352、Trp370 和 Trp441 被认为可以将 β -GlcNAc 放置在活性位点处, Glu321 与 β -GlcNAc 和 β -GalNAc 的 O1 形成氢键, 推测 Glu321 为酸碱催化氨基酸, Asp322 和 Tyr395 决定了 2 位乙酰氨基的方向, Trp410 与糖环有堆叠的相互作用^[10]。

对 GH20 家族的蛋白晶体结构分析发现, 该家族中细菌源的 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶结构上具有丰富的多样性, 具有 2-4 个结构域。天蓝色链霉菌(*Streptomyces coelicolor*)和灰色链霉菌(*Streptomyces plicatus*)的 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶 ScGH20 和 SpHex 均具有双结构域, 即 N 端结构域和催化域; 肺炎双球菌(*Streptococcus pneumoniae*)和格氏链球菌(*Streptococcus gordonii*)的 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶 GH20C 和 GcnA 均具有 3 个结构域, 分别是 N 端结构域、催化域和 C 端结构域。粘质沙雷氏菌(*Serratia marcescens*)的 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶具有 4 个结构域, 其中结构域 III 为催化结构域。GH20 家族细菌源的 β -*N*-

乙酰氨基己糖苷酶的结构有一个共同的特征, 即催化域均不在 N 端, 这一特征与 GH3 家族的 β -*N*-乙酰氨基葡萄糖苷酶的催化域大多在 N 端是不同的。真核生物来源的 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶均为二聚体, 且每个亚基都为由 N 端结构域和催化域组成双结构域蛋白。如人源 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶 HexA 为异质二聚体, 由拓扑结构相似的 α 亚基和 β 亚基组成; HexB 为同质二聚体, 由 2 个 β 亚基组成; 玉米螟(*Ostrinia furnacalis*)的 OfHex1 为同质二聚体, 也由 2 个亚基组成。

1.3 GH84 家族 β -*N*-乙酰氨基葡萄糖苷酶

GH84 家族中归于 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶的有 3 种来源于细菌, 1 种来源于真菌, 均专一性水解 β -*N*-乙酰氨基葡萄糖苷键, 其中有 2 种酶的晶体结构得到解析, 均来自产气荚膜梭菌(表 1)^[22-23]。与 GH20 家族相似, GH84 家族也采用底物辅助型的反应机制(图 1-C), 催化腔内有催化氨基酸对 Asp-Asp, 分别作为酸碱催化氨基酸和底物辅助氨基酸(图 2-A 和 D)。2006 年, 来自产气荚膜梭菌(*Clostridium perfringens*)的 β -*N*-乙酰氨基葡萄糖苷酶 NagJ 的晶体结构及酶与过渡态模拟抑制剂 PUGNAc 的共晶体得到解析, 该酶具有 3 个结构域, 分别是 N 端结构域、催化域和 C 端结构域。N 端结构域由 6 个 β 折叠和 3 个 α 螺旋组成, 2 个 α 螺旋在 β 折片的一侧, 1 个 α 螺旋在另一侧形成三明治结构; 催化域为(β/α)₈ 桶状结构, 但缺少第 7 个螺旋; C 端结构域是由 5 个螺旋组成的细长的螺旋束(图 2-D)^[23]。另一个来自产气荚膜梭菌的 CpNagJ 与 NagJ 结构相同。分析发现, GH84 家族的催化域与 GH20 家族相同, 均不在 N 端, 与 GH3 家族的 β -*N*-乙酰氨基葡萄糖苷酶的催化域大多在 N 端不同。

2 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶的生物学功能

β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶广泛存在于原核生物和真核生物中, 2014年 Ferrara 等首次发现了古菌来源的 GH116 家族的 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶^[3]。

β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶在原核生物和真核生物的生理活动中发挥了重要的生物学功能。细菌细胞壁是由肽聚糖交联而成的, GH3 家族霍乱弧菌(*V. cholerae*)和大肠杆菌(*Escherichia coli*)等来源的 β -*N*-乙酰氨基葡萄糖苷酶可以水解肽聚糖中 *N*-乙酰葡萄糖胺和 *N*-乙酰胞壁酸之间的糖苷键, 参与细菌细胞壁的循环利用。酶水解产生的 1,6-无水-*N*-乙酰胞壁酸酯短肽可以诱导 β -内酰胺酶表达, 水解 β -内酰胺类抗菌药物, 使得细菌产生对 β -内酰胺类抗生素的抗性, 基于此科学家们致力于研究细菌 β -*N*-乙酰氨基葡萄糖苷酶的抑制剂^[5,24-25]; GH20 家族放线杆菌(*Actinobacillus actinomycetemcomitans*)来源的 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶 Dispersin B 参与水解造成人类牙周炎的放线杆菌菌膜, 该菌膜由 β -1,6 键型的 *N*-乙酰葡萄糖胺线型聚合物组成^[26-27], Dispersin B 的水解可以导致细胞从菌膜上脱离, 从而使菌膜可以扩散到口腔的其他表面; GH84 家族人类病原菌酿脓链球菌(*Streptococcus pyogenes*)来源的 β -*N*-乙酰氨基葡萄糖苷酶 Spy1600 与人类的 β -*N*-乙酰氨基葡萄糖苷酶的 N 端结构域相似并且能高效地对人类 O-GlcNAc 修饰的糖蛋白进行去糖基化, 推测 Spy1600 通过该水解活性改变宿主细胞的功能^[28]。真菌来源的 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶在真菌细胞壁的几丁质分解体系中发挥了重要的作用, 该体

系包含几丁质酶和 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶, 这两个酶共同作用调控细胞壁几丁质的降解^[29-30]。古菌来源的 β -*N*-乙酰氨基葡萄糖苷酶目前只有一例报道, 该酶属于 GH116 家族, 推测其可能参与糖蛋白或胞外聚合物的降解和循环利用^[3]。植物中的 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶在大米和玉米的种子发芽过程中活性升高, 水解种子贮藏蛋白上的寡糖片段, 推测该类酶参与了植物种子的萌发^[31-32]。昆虫细胞表达了大量 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶, 该类酶在昆虫不同的生理活动中都发挥了重要的作用, 如在几丁质外骨骼的水解过程中, 几丁质首先由几丁质酶降解为寡聚糖, 然后 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶再将寡聚糖降解为 β -*N*-乙酰氨基己糖^[33]。

科学家们对于 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶在哺乳动物中的生物学功能研究集中在人类, 该类酶的正常与影响人类健康的疾病如神经退行性疾病和癌症等密切相关。哺乳动物细胞有 2 种不同功能的 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶, 溶酶体的 HexA 和 HexB 以及细胞核与细胞质的 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶。溶酶体 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶属于 GH20 家族, 是由两个单体 α 和 β 组成的二聚体, 这 2 个单体可以组成 3 种不同的二聚体: HexA($\alpha\beta$)、HexB($\beta\beta$)和 HexS($\alpha\alpha$), 这 3 种同工酶都可以水解 β 键型的 *N*-乙酰氨基葡萄糖和 *N*-乙酰氨基半乳糖, 其中 HexA 可以水解呈负电性的 GM2, HexB 只能水解中性糖苷, 其突变伴随着神经元溶酶体中 GM2 神经节苷脂水平的升高, 进而引发严重的甚至致命的神经退行性病变, 如 Tay-Sachs 和 Sandhoff 疾病^[34-36]。细胞核与细胞质的 β -*N*-乙酰氨基葡萄糖苷酶属于 GH84 家族, 可以专一性水解 β -*N*-乙酰氨基葡萄糖。O-GlcNAc 糖基化是 β -*N*-

乙酰氨基葡萄糖以 β 键连接到蛋白的 Ser 或 Thr 上, 已经证实 O-GlcNAc 糖基化/磷酸化系统能够调节信号传导、蛋白表达、降解和靶向作用。目前, 科学家们认为 O-GlcNAc 糖基化参与了对原癌基因及抑癌基因所编码蛋白质的修饰^[37-40], 显示了 O-GlcNAc 糖基化异常与肿瘤增殖和转移可能有关。同时还发现 O-GlcNAc 糖基化在大脑中含量丰富, 存在于神经纤丝、微管相关蛋白和网格蛋白等蛋白中, 这些蛋白的 O-GlcNAc 糖基化的异常与一些神经退行性疾病的发生有关, 推测人脑中 O-GlcNAc 糖基化水平的降低可能是导致阿尔茨海默症的主要原因^[41-42]。因此, 科学家们希望可以利用 β -N-乙酰氨基葡萄糖苷酶的选择性抑制剂, 使得 O-GlcNAc 糖基化水平升高而磷酸化水平降低, 为减缓阿尔茨海默症病情的发展提供了新的思路^[43-44]。

3 β -N-乙酰氨基己糖苷酶合成寡糖的应用

糖类物质参与包括血型识别、细胞间相互作用、癌症的发生和转移、免疫应答以及细菌或病毒的粘附和入侵等多种生命活动^[45-46], 在这些生命过程中, 寡糖与糖结合蛋白间的特异识别起着核心的作用。N-乙酰氨基己糖苷在微生物、植物和动物中均有分布, 并且发挥了重要的作用。它们存在于神经节苷脂、N-糖链、O-糖链、血型相关抗原、肿瘤相关糖链、人乳寡糖和几丁质上^[47-48]。目前主要通过 3 条途径获取重要的寡糖: 从生物体中提取^[49]、化学法合成^[50]和酶法合成^[51]。从天然物质中提取糖类化合物受到原料来源的限制, 而且通常目标化合物的含量很低, 故而合成寡糖

引起了科学家们的关注。化学法合成糖链通常需要多步保护和去保护步骤, 最终目标化合物的得率不高, 且非环境友好型。酶法合成糖类化合物具有反应条件温和、步骤简单、绿色环保和产量相对较高的优势, 尤为重要, 酶法合成糖类具有立体选择性(stereoselectivity)和区域选择性(regioselectivity)。在糖类合成中有两类酶被广泛应用, 即糖基转移酶和糖苷酶^[52]。糖基转移酶可以催化转糖基的反应, 特异性地把糖基从糖基供体上转移到受体分子上合成具有特定糖苷键的糖类化合物。根据不同的供体, 糖基转移酶催化的反应途径可以分为 Leloir 途径和非 Leloir 途径。非 Leloir 途径是以磷酸化的糖为供体进行转糖基反应, 其应用受到一定限制。Leloir 途径是以核苷酸化的糖为供体进行转糖基反应, 如 UDP-葡萄糖, 目前针对该类型的酶研究较多。但糖基转移酶通常来源有限, 不容易分离纯化和异源表达, 反应需要的供体 UDP-糖苷价格昂贵(糖苷酶底物 pNP- β -GlcNAc, RMB¥473/100 mg; 糖基转移酶底物 UDP-GlcNAc, RMB¥2200/100 mg; Sigma)且制备困难, 无法大量获得, 反应体系需要多种辅助底物。另外该类酶催化的合成反应具有高度专一性, 为“一酶一键”的反应模式, 因此糖基转移酶对供体和受体具有很高的选择性, 使得它在合成糖类化合物的实际应用中受到一定的限制。而某些糖苷酶具有转糖基活性或逆水解合成糖苷的活性, 催化反应简单, 底物特异性广泛、价格便宜且容易获取, 可以以非保护的糖作为底物, 不需要其他辅助因子, 另外糖苷酶法合成化合物还可以使用修饰的供体或受体得到其他方法较难得到的糖结构, 因此被广泛用于糖类化合物的合成。

3.1 真菌源的 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶在寡糖合成中的应用

虽然 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶在自然界广泛分布,但是用于糖苷合成的酶大多来源于真菌,其中多数来源于曲霉属(*Aspergillus*)^[53-58],利用酶的转糖基活性催化的合成反应报道的较多,产率也高于少数利用酶的逆水解反应催化的合成反应。在转糖基活性催化的合成反应方面,1995年,Singh等以 *p*NP- β -GalNAc 为供体,以 GlcNAc 为受体,利用米曲霉(*A. oryzae*)来源的酶催化反应合成 GalNAc β 1-4GlcNAc 和 GalNAc β 1-6GlcNAc,最高产率分别是 72%和 33%^[53];同年,该课题组以 *p*NP- β -GlcNAc 为供体,以(GlcNAc β 1-4)₃为受体,利用米曲霉(*A. oryzae*)来源的酶催化合成(GlcNAc β 1-4)₃GlcNAc,该化合物是参与固氮细菌和豆科植物共生的结瘤因子的核心糖链^[54];2003年,Uzawa等以 6 位硫酸根修饰的 *p*NP-6-sulfo- β -GlcNAc 为供体,以修饰的糖苷为受体,如 Glc α -OAll、Gal α -OAll 和 GlcNAc-OAll 等,利用米曲霉(*A. oryzae*)来源的酶催化反应合成硫酸化二糖衍生物,如 6-sulfo-GlcNAc β 1-4Glc α -OAll、6-sulfo-GlcNAc β 1-3/1-6Gal α -OAll 和 6-sulfo-GlcNAc β 1-4GlcNAc-OAll 等,产率在 17%以上,硫酸化糖是选择素、细菌和病毒以及其他糖受体蛋白识别结构的关键组成部分^[55];2004年,Aboitiz等可分别以 *p*NP- β -GalNAc 和 *p*NP- β -GlcNAc 为供体,以 GlcNAc β 1-4ManNAc 为受体,利用米曲霉(*A. oryzae*)来源的酶催化反应分别合成 GalNAc β 1-4GlcNAc β 1-4ManNAc 和 GlcNAc β 1-4GlcNAc β 1-4ManNAc,产率分别是 41%和 36%,显示是该酶一种双功能 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶,该研究探索了橡胶蛋白对产物的结合模式^[56];2004年,

Rauvolfová 等以 *p*NP- β -GlcNAc 为供体,以乳糖为受体,利用黄叉曲霉(*Aspergillus flavofurcatis*)来源的酶催化反应合成 Gal β 1-4Glc β 1-1GlcNAc 和 Gal β 1-4Glc α 1-1GlcNAc,产率分别是 10%和 9%,该研究旨在合成稀有的非还原性糖^[57];2005,Lakshmanan 等以 *p*NP- β -GlcNAc 为供体,以 GlcNAc β NHAc 为受体,利用米曲霉(*A. oryzae*)来源的酶催化反应合成 GlcNAc β 1-4GlcNAc β NHAc,产率为 17%,产物可作为 *N*-glycan 的模拟寡糖^[58]。其他真菌源的还有踝节菌属(*Talaromyces*)^[59-60]、青霉菌属(*Penicillium*)^[61-62]和木霉属(*Trichoderma*)^[63]的 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶。2011年,Bojarová 等以 6 位修饰的 *p*NP- β -GlcNAc 为供体,以 GlcNAc 为受体,利用黄色蠕形霉(*Talaromyces flavus*)来源的酶催化合成非还原端 6 位修饰的 GlcNAc β 1-4GlcNAc,产率为 23%和 33%,合成的产物用以研究其在免疫反应中的作用^[59];2010年,Slámová 等以 4 位脱氧的 *p*NP-4-deoxy- β -GlcNAc 为供体,以 GlcNAc 为受体,利用黄色蠕形霉(*T. flavus*)来源的酶催化合成非还原端 4-deoxy-GlcNAc β 1-4GlcNAc、4-deoxy-GlcNAc β 1-6GlcNAc 和 4-deoxy-GlcNAc β 1-6-4-deoxy-GlcNAc- β -*p*NP,产率分别为 7%、6%和 14%,阐明了脱氧供体对 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶催化的转糖基反应的影响并探索了酶法合成脱氧二糖的方法^[60]。2001年,Hušáková 等以 6 位乙酰化的 *p*NP-6-acetyl- β -GlcNAc 为供体,以 GlcNAc 为受体,利用巴西青霉(*Penicillium brasilianum*)来源的酶催化生成乙酰化修饰的 6-acetyl-GlcNAc β 1-4GlcNAc,产率为 21%^[61];2003年,Weignerová 等以 *p*NP- β -GalNAc 为供体,以 GlcNAc 或 GalNAc 为受体,利用草酸青霉(*Penicillium oxalicum*)来源的酶催化合成 GalNAc β 1-6GalNAc、

GalNAc β 1-6GlcNAc 和 GalNAc β 1-4GlcNAc, 产率分别为 87%、19%和 26.5%^[62]; 2004 年, Nieder 等发现哈茨木霉(*Trichoderma harzianum*)来源的酶可分别以 *p*NP- β -GalNAc 和 *p*NP- β -GlcNAc 为供体, 以 UDP-GlcNAc 为受体, 催化反应分别合成 GalNAc β 1-4GlcNAc α 1-UDP 和 GlcNAc-GlcNAc-UDP(键型没鉴定), 产率分别是 22%和 1.9%, 显示是一种双功能 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶, 该研究拓展了酶法合成的核苷糖的方法^[63]。

在逆水解活性催化的合成反应方面, 2003 年 Matsuo 等将米曲霉(*A. oryzae*)来源的 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶以 GlcNAc 和乳糖为底物, 逆水解反应 4 d 合成 GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc 和 GlcNAc β 1-6Gal β 1-4Glc, 产率分别为 0.36%和 0.72%, 产物为重要的 *N*-乙酰氨基己糖苷化的乳糖^[64]; 2004 年, Rauvolfova 等将绳状青霉(*Penicillium funiculosum*)来源的酶以 GlcNAc 为底物, 逆水解反应 8 d 合成 GlcNAc β 1-3GlcNAc、GlcNAc β 1-4GlcNAc 和 GlcNAc β 1-6GlcNAc, 产率分别为 3.8%、1.7%和 10.0%^[65]; 2005 年, Lakshmanan 等将米曲霉(*A. oryzae*)来源的酶以 GlcNAc 为供体, 以 GlcNAc β NHCOCH₃ 和 GlcNAc β NHCOCH₂CH₃ 为受体, 逆水解反应 4 d 合成 GlcNAc β 1-6GlcNAc β NHCOCH₃ 和 GlcNAc β 1-6GlcNAc β NHCOCH₂CH₃, 产率分别为 13%和 8%, 产物可作为 *N*-glycan 的模拟寡糖^[58]。

目前只有 2 例分别来自真菌米曲霉(*A. oryzae*)和哈茨木霉(*T. harzianum*)的双功能 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶, 可以 *p*NP- β -GalNAc 和 *p*NP- β -GlcNAc 为供体转糖基进行 *N*-乙酰氨基己糖苷化的乳糖的合成; 真菌源的 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶都以离去基团较易离去的 *p*NP- β -GalNAc 或 *p*NP- β -GlcNAc 为供体进行转糖基反应; β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶

催化的转糖基反应合成产物的产量大都大于逆水解合成产物的产量, 且逆水解反应合成糖苷的时间一般都在 4 d 以上。

3.2 细菌源的 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶在寡糖合成中的应用

根据文献报道, 目前只有 4 种细菌来源的 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶具有转糖基活性, 分别为粘质沙雷氏菌(*S. marcescens*)YS-1^[66]、诺卡氏菌(*Nocardia orientalis*)^[67-68] 和 双歧杆菌 (*Bifidobacterium bifidum*)^[69]。来自 *S. marcescens* 的 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶以 *p*NP- β -GlcNAc 为供体, 以不同醇类为受体, 进行转糖基反应, 转糖基效率在 2.2%–26.7%, 这些糖苷可能会作为功能性寡糖添加到食品中^[66]。另外 3 种细菌来源的酶均以 *p*NP- β -GalNAc 或/和 *p*NP- β -GlcNAc 为供体, 以乳糖或乳糖衍生物为受体, 合成一类重要的化合物 *N*-乙酰氨基己糖苷乳糖/乳糖衍生物。

N-乙酰氨基己糖苷乳糖具有重要的生物学功能, 如 GalNAc β 1-3Lac 与 P 血型抗原糖链相似, P 血型抗原糖链可以抑制呼吸道病原菌^[70-71]。GlcNAc β 1-3Lac 是肿瘤相关糖链的组成元件, 比如 KH-1 腺癌抗原、N3 胃肠癌抗原以及急性白血病抗原^[72-73], 这使得 GalNAc β 1-3Lac 和 GlcNAc β 1-3Lac 具有作为生物标记和靶向治疗的潜在应用价值。另外, GlcNAc β 1-3Lac 还是人乳寡糖的核心糖链, 可以作为受体合成人乳寡糖^[74], 作为益生元广泛应用。目前, 3 种细菌源的 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶可以进行该类寡糖或其衍生物的合成: *N. orientalis* 来源的 2 种 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶以 GlcNAc₂ 为供体, 分别以 Gal β 1-4Glc-OMe、Gal β 1-4Glc- β -*p*NP 和 Gal β 1-4GlcNAc- β -*p*NP 为受体, 催化转糖基反应合成 GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc-OMe、GlcNAc β 1-3Gal β 1-

4Glc- β -*p*NP 和 GlcNAc β 1-3Gal β -4GlcNAc- β -*p*NP, 产率分别是 3.4%、1.9%和 1.5%^[67-68]。2016 年本实验室应用双歧双歧杆菌(*B. bifidum*)BbhI 以乳糖为受体, *p*NP- β -GalNAc 和 *p*NP- β -GlcNAc 为供体, 催化转糖基反应合成 GalNAc β 1-3Gal β 1-4Glc 和 GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc, 产率分别是 55.4% 和 44.9%^[69]。

细菌源 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶催化的转糖基反应的产量, 遵循供体硝基苯 *N*-乙酰氨基己糖>*N*-乙酰氨基己糖二聚体的规律; 双歧双歧杆菌(*B. bifidum*) BbhI 是迄今为止细菌来源唯一的双功能 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶, 可以 *p*NP- β -GalNAc 和 *p*NP- β -GlcNAc 为供体转糖基进行 *N*-乙酰氨基己糖苷化乳糖的合成; 目前, 尚未有细菌源 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶逆水解合成糖苷的报道。

3.3 宏基因组文库源 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶在寡糖合成中的应用

2015 年, Nyffenegger 等从 100000 个菌落的土壤宏基因组文库筛选获得 GH20 家族 2 个名为 HEX1 和 HEX2 的 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶, 其中 HEX1 基本归属于放线菌属, HEX2 介于刀豆属和曲霉属之间, 该两种酶都以 GlcNAc₂ 为供体, 乳糖为受体, 分别以 2%和 8%的产率合成了重要寡糖 GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc^[75]。

3.4 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶催化合成反应的区域选择性

与一般糖苷酶一样, β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶催化的转糖基反应也具有严格的立体选择性(stereoselectivity), 而区域选择性(regioselectivity)一般都比较灵活, 这也导致了同分异构体产物的产生。糖苷酶的区域选择性与酶的来源和底物的种类有关(表 2)。米曲霉(*A. oryzae*)来源的 β -*N*-乙

酰氨基己糖苷酶以 GlcNAc 和乳糖为底物, 逆水解合成 GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc 和 GlcNAc β 1-6Gal β 1-4Glc^[64]; 以 *p*NP- β -GalNAc 为供体, 以 GlcNAc 为受体, 合成 GalNAc β 1-4GlcNAc 和 GalNAc β 1-6GlcNAc^[53]等。土壤宏基因组来源的 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶催化以 GlcNAc₂ 为供体, 乳糖为受体的转糖基反应, 合成 GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc 和 GlcNAc β 1-4Gal β -4Glc^[75]。*N. orientalis* 来源的酶以 GlcNAc₂ 为供体, methyl- β -lactoside 为受体时, 合成 GlcNAc β 1-3/1-6Gal β 1-4Glc-OMe 和 Gal β 1-4(GlcNAc β 1-6)Glc-OMe; 以 Gal β 1-4GlcNAc- β -*p*NP 为受体时, 合成 GlcNAc β 1-3/1-6Gal β 1-4GlcNAc- β -*p*NP 和 Gal β 1-4(GlcNAc β 1-6)GlcNAc- β -*p*NP^[67-68]。本实验室研究发现双歧双歧杆菌(*B. bifidum*)BbhI 在以 *p*NP- β -GalNAc 和 *p*NP- β -GlcNAc 为供体、乳糖为受体时具有专一的区域选择性, 对这一现象的分子对接分析结果显示乳糖中半乳糖上的 3-OH 与酸碱催化氨基酸形成氢键, 推测该 3-OH 可以被酸碱催化位点激活, 并被放置在合适的位置, 随后对恶唑啉中间体进行攻击, 从而在 HexNAc 和乳糖上的 Gal 之间形成区域选择性专一的 β 1-3 键型。而另外 3 个氨基酸与乳糖中半乳糖的 4 和 6 位羟基以及葡萄糖的 3 和 6 位羟基形成氢键, 可能会导致乳糖中的 Gal 上的 3-OH 而不是其他羟基朝向 HexNAc 的异头碳。另外乳糖处于由芳香族氨基酸形成的疏水口袋里, 且与 His 形成 π - π 堆叠。这些分子特征可能都与 BbhI 可以专一合成 β 1-3 键型的 *N*-乙酰己糖胺乳糖有关^[69]。

4 展望

β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶在生命体内具有重要

表 2. β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶催化转糖基反应的供受体和产物

Table 2. Donor, acceptor, and product of β -*N*-acetylhexosaminidases-catalyzed transglycosylation

Enzyme source	Donor	Acceptor	Product	Reference
<i>Aspergillus</i>	<i>p</i> NP- β -GalNAc	GlcNAc	GalNAc β 1-4GlcNAc GalNAc β 1-6GlcNAc	[53]
	<i>p</i> NP- β -GlcNAc	(GlcNAc β 1-4) ₃	(GlcNAc β 1-4) ₃ GlcNAc	[54]
	<i>p</i> NP-6-sulfo β GlcNAc	Glc α -OAll Gal α -OAll GlcNAc-OAll	6-sulfo- GlcNAc β 1-4Glc α -OAll	[55]
			6-sulfo-GlcNAc β 1-3Gal α -OAll 6-sulfo-GlcNAc β 1-6Gal α -OAll	
			6-sulfo-GlcNAc β 1-4GlcNAc-OAll	
	<i>p</i> NP- β -GalNAc	GlcNAc β 1-4ManN	GalNAc β 1-4GlcNAc β 1-4ManNAc	[56]
	<i>p</i> NP- β -GlcNAc	Ac	GlcNAc β 1-4GlcNAc β 1-4ManNAc	
	<i>p</i> NP- β -GlcNAc	Gal β 1-4Glc	Gal β 1-4Glc β 1-1GlcNAc Gal β 1-4Glc α 1-1GlcNAc	[57]
	<i>p</i> NP- β -GlcNAc	GlcNAc β NHAc	GlcNAc β 1-4GlcNAc β NHAc	[58]
	GlcNAc	Gal β 1-4Glc	GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc	[64]
GlcNAc β 1-6Gal β 1-4Glc				
<i>Talaromyces</i>	<i>p</i> NP-6R'- β -GlcNAc	GlcNAc β NHR'	GlcNAc β 1-6GlcNAc β NHR	[58]
		GlcNAc	6R'-GlcNAc β 1-4GlcNAc	[59]
<i>Penicillium</i>	<i>p</i> NP-4deoxy β GlcNAc	GlcNAc	4-deoxy- β - <i>N</i> -acetylhexosaminides	[60]
	<i>p</i> NP-6acetyl β GlcNAc	GlcNAc	6-acetyl-GlcNAc β 1-4GlcNAc	[61]
<i>Trichoderma</i>	<i>p</i> NP- β -GalNAc	GlcNAc	GalNAc β 1-6GalNAc	[62]
			GalNAc β 1-4GlcNAc	
			GalNAc β 1-6GlcNAc	
			GlcNAc β 1-3GlcNAc	[65]
<i>Serratia</i>	<i>p</i> NP- β -GlcNAc	UDP-GlcNAc	GlcNAc β 1-4GlcNAc	[63]
			GlcNAc-GlcNAc-UDP	
<i>Nocardia</i>	GlcNAc ₂	alcohols sugar alcohols	Sugaralcohols	[66]
<i>Bifidobacterium</i>	<i>p</i> NP- β -GalNAc	Gal β 1-4Glc- OMe	GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc-OMe	[68]
			GlcNAc β 1-6Gal β 1-4Glc-OMe	
			Gal β 1-4(GlcNAc β 1-6)Glc-OMe	
			GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc- β - <i>p</i> NP	
			GlcNAc β 1-6Gal β 1-4Glc- β - <i>p</i> NP	
Soil-derived metagenomic library	GlcNAc ₂	Gal β 1-4Glc- β - <i>p</i> NP	Gal β 1-4(GlcNAc β 1-6)Glc- β - <i>p</i> NP	
			GlcNAc β 1-3Gal β 1-4GlcNAc β <i>p</i> NP	[67]
			GlcNAc β 1-6Gal β 1-4GlcNAc β <i>p</i> NP	
<i>Bifidobacterium</i>	<i>p</i> NP- β -GlcNAc	Gal β 1-4Glc	Gal β 1-4(GlcNAc β 1-6)GlcNAc β <i>p</i> NP	
			GalNAc β 1-3Gal β 1-4Glc	[69]
Soil-derived metagenomic library	GlcNAc ₂	Gal β 1-4Glc	GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc	[75]
			GlcNAc β 1-4Gal β 1-4Glc	

的生物学功能，其异常与很多人类的重大疾病相关。对该酶的研究特别是相关抑制剂的进一步探索将更好地理解其在生物体中发挥的功能以及对

疾病的诊断和治疗意义重大。

当今对于寡糖的研究和应用发展迅速，多种寡糖作为医药和功能性食品基料已广泛应用。具

有特定结构的重要寡糖的大量合成及其功能阐明将为疾病提供重要的检测和治疗方案。 β -*N*-乙酰氨基己糖苷酶催化的转糖基反应正在成为酶法合成 β -*N*-乙酰氨基己糖苷的主要方式。因此, 对新酶的基因挖掘、分子改造以获得具有不同区域选择性及高效转糖基活性的酶, 应用于糖类合成, 将促进糖生物学的发展和糖产品的研发。

参考文献

- [1] Mega T, Ikenaka T, Matsushima Y. Studies on *N*-Acetyl- β -D-glucosaminidase of *Aspergillus oryzae*: I. Purification and characterization of *N*-Acetyl- β -D-glucosaminidase obtained from takadiastase. *The Journal of Biochemistry*, 1970, 68(1): 109–117.
- [2] Slámová K, Bojarová P, Petrásková L, Křen V. β -*N*-Acetylhexosaminidase: what's in a name...? *Biotechnology Advances*, 2010, 28(6): 682–693.
- [3] Ferrara MC, Cobucci-Ponzano B, Carpentieri A, Henrissat B, Rossi M, Amoresano A, Moracci M. The identification and molecular characterization of the first archaeal bifunctional exo- β -glucosidase/*N*-acetyl- β -glucosaminidase demonstrate that family GH116 is made of three functionally distinct subfamilies. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 2014, 1840(1): 367–377.
- [4] Litzinger S, Fischer S, Polzer P, Diederichs K, Welte W, Mayer C. Structural and kinetic analysis of *Bacillus subtilis* *N*-acetylglucosaminidase reveals a unique Asp-His dyad mechanism. *The Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285(46): 35675–35684.
- [5] Stubbs KA, Balcewich M, Mark BL, Vocadlo DJ. Small molecule inhibitors of a glycoside hydrolase attenuate inducible AmpC-mediated β -lactam resistance. *The Journal of Biological Chemistry*, 2007, 282(29): 21382–21391.
- [6] Bacik JP, Whitworth GE, Stubbs KA, Vocadlo DJ, Mark BL. Active site plasticity within the glycoside hydrolase NagZ underlies a dynamic mechanism of substrate distortion. *Chemistry & Biology*, 2012, 19(11): 1471–1482.
- [7] Mine S, Kado Y, Watanabe M, Fukuda Y, Abe Y, Ueda T, Kawarabayashi Y, Inoue T, Ishikawa K. The structure of hyperthermophilic β -*N*-acetylglucosaminidase reveals a novel dimer architecture associated with the active site. *FEBS Journal*, 2014, 281(22): 5092–5103.
- [8] Kim JS, Yoon BY, Ahn J, Cha J, Ha NC. Crystal structure of β -*N*-acetylglucosaminidase CbsA from *Thermotoga neapolitana*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2015, 464(3): 869–874.
- [9] Qin Z, Xiao YB, Yang XB, Mesters JR, Yang SQ, Jiang ZQ. A unique GCN5-related glucosamine *N*-acetyltransferase region exist in the fungal multi-domain glycoside hydrolase family 3 β -*N*-acetylglucosaminidase. *Scientific Reports*, 2015, 5: 18292.
- [10] Sumida T, Ishii R, Yanagisawa T, Yokoyama S, Ito M. Molecular cloning and crystal structural analysis of a novel β -*N*-acetylhexosaminidase from *Paenibacillus* sp. TS12 capable of degrading glycosphingolipids. *Journal of Molecular Biology*, 2009, 392(1): 87–99.
- [11] Tews I, Perrakis A, Oppenheim A, Dauter Z, Wilson KS, Vorgias CE. Bacterial chitobiase structure provides insight into catalytic mechanism and the basis of Tay-Sachs disease. *Nature Structural Biology*, 1996, 3(7): 638–648.
- [12] Langley DB, Harty DWS, Jacques NA, Hunter N, Guss JM, Collyer CA. Structure of *N*-acetyl- β -D-glucosaminidase (GcnA) from the endocarditis pathogen *Streptococcus gordonii* and its complex with the mechanism-based inhibitor NAG-thiazoline. *Journal of Molecular Biology*, 2008, 377(1): 104–116.
- [13] Jiang YL, Yu WL, Zhang JW, Frolet C, Di Guilmi AM, Zhou CZ, Vernet T, Chen YX. Structural basis for the substrate specificity of a novel β -*N*-acetylhexosaminidase StrH protein from *Streptococcus pneumoniae* R6. *The Journal of Biological Chemistry*, 2011, 286(50): 43004–43012.
- [14] Robb M, Robb CS, Higgins MA, Hobbs JK, Paton JC, Boraston AB. A second β -hexosaminidase encoded in the *Streptococcus pneumoniae* genome provides an expanded biochemical ability to degrade host glycans. *The Journal of Biological Chemistry*, 2015, 290(52): 30888–30900.
- [15] Pluvinage B, Stubbs KA, Hattie M, Vocadlo DJ, Boraston AB. Inhibition of the family 20 glycoside hydrolase catalytic modules in the *Streptococcus pneumoniae* exo- β -D-*N*-acetylglucosaminidase, StrH. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 2013, 11(45): 7907–7915.
- [16] Thi NN, Offen WA, Shareck F, Davies GJ, Doucet N. Structure and activity of the *Streptomyces coelicolor* A3(2) β -*N*-acetylhexosaminidase provides further insight into GH20 family catalysis and inhibition. *Biochemistry*, 2014, 53(11): 1789–1800.
- [17] Mark BL, Vocadlo DJ, Knapp S, Triggs-Raine BL, Withers SG, James MNG. Crystallographic evidence for substrate-assisted catalysis in a bacterial β -hexosaminidase. *The Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276(13): 10330–10337.
- [18] Williams SJ, Mark BL, Vocadlo DJ, James MNG, Withers SG. Aspartate 313 in the *Streptomyces plicatus* hexosaminidase plays a critical role in substrate-assisted catalysis by orienting the 2-acetamido group and stabilizing the transition state. *The Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277(42): 40055–40065.
- [19] Lemieux MJ, Mark BL, Cherney MM, Withers SG, Mahuran DJ, James MNG. Crystallographic structure of human β -hexosaminidase A: interpretation of Tay-Sachs mutations and loss of G_{M2} ganglioside hydrolysis. *Journal of Molecular Biology*, 2006, 359(4): 913–929.

- [20] Mark BL, Mahuran DJ, Cherney MM, Zhao DL, Knapp S, James MNG. Crystal structure of human β -hexosaminidase B: understanding the molecular basis of Sandhoff and Tay-Sachs disease. *Journal of Molecular Biology*, 2003, 327(5): 1093–1109.
- [21] Liu T, Zhang HT, Liu FY, Wu QY, Shen X, Yang Q. Structural determinants of an insect β -N-Acetyl-D-hexosaminidase specialized as a chitinolytic enzyme. *The Journal of Biological Chemistry*, 2011, 286(6): 4049–4058.
- [22] Ficko-Blean E, Gregg KJ, Adams JJ, Hehemann JH, Czjzek M, Smith SP, Boraston AB. Portrait of an enzyme, a complete structural analysis of a multimodular β -N-acetylglucosaminidase from *Clostridium perfringens*. *The Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284(15): 9876–9884.
- [23] Rao FV, Dorfmüller HC, Villa F, Allwood M, Eggleston IM, van Aalten DMF. Structural insights into the mechanism and inhibition of eukaryotic O-GlcNAc hydrolysis. *The EMBO Journal*, 2006, 25(7): 1569–1578.
- [24] Cheng QM, Li HS, Merdek K, Park JT. Molecular characterization of the β -N-acetylglucosaminidase of *Escherichia coli* and its role in cell wall recycling. *Journal of Bacteriology*, 2000, 182(17): 4836–4840.
- [25] Balcewich MD, Stubbs KA, He Y, James TW, Davies GJ, Vocadlo DJ, Mark BL. Insight into a strategy for attenuating AmpC-mediated β -lactam resistance: Structural basis for selective inhibition of the glycoside hydrolase NagZ. *Protein Science*, 2009, 18(7): 1541–1551.
- [26] Kaplan JB, Rangunath C, Ramasubbu N, Fine DH. Detachment of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* biofilm cells by an endogenous β -hexosaminidase activity. *Journal of Bacteriology*, 2003, 185(16): 4693–4698.
- [27] Ramasubbu N, Thomas LM, Rangunath C, Kaplan JB. Structural analysis of Dispersin B, a biofilm-releasing glycoside hydrolase from the periodontopathogen *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Journal of Molecular Biology*, 2005, 349(3): 475–486.
- [28] Sheldon WL, Macauley MS, Taylor EJ, Robinson CE, Charnock SJ, Davies GJ, Vocadlo DJ, Black GW. Functional analysis of a group A streptococcal glycoside hydrolase Spy1600 from family 84 reveals it is a β -N-acetylglucosaminidase and not a hyaluronidase. *Biochemical Journal*, 2006, 399(2): 241–247.
- [29] Rast DM, Baumgartner D, Mayer C, Hollenstein GO. Cell wall-associated enzymes in fungi. *Phytochemistry*, 2003, 64(2): 339–366.
- [30] Rast DM, Horsch M, Furter R, Gooday GW. A complex chitinolytic system in exponentially growing mycelium of *Mucor rouxii*: properties and function. *Journal of General Microbiology*, 1991, 137(12): 2797–2810.
- [31] Jin YL, Jo YY, Kim KY, Shim JH, Kim YW, Park RD. Purification and characterization of β -N-acetylhexosaminidase from rice seeds. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2002, 35(3): 313–319.
- [32] Oikawa A, Itoh E, Ishihara A, Iwamura H. Purification and characterization of β -N-acetylhexosaminidase from maize seedlings. *Journal of Plant Physiology*, 2003, 160(9): 991–999.
- [33] Hogenkamp DG, Arakane Y, Kramer KJ, Muthukrishnan S, Beeman RW. Characterization and expression of the β -N-acetylhexosaminidase gene family of *Tribolium castaneum*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2008, 38(4): 478–489.
- [34] Meier EM, Schwarzmann G, Fürst W, Sandhoff K. The human G_{M2} activator protein. A substrate specific cofactor of β -hexosaminidase A. *The Journal of Biological Chemistry*, 1991, 266(3): 1879–1887.
- [35] Hou YM, Tse R, Mahuran DJ. Direct determination of the substrate specificity of the α -active site in heterodimeric β -hexosaminidase A. *Biochemistry*, 1996, 35(13): 3963–3969.
- [36] Mahuran DJ. Biochemical consequences of mutations causing the G_{M2} gangliosidosis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1999, 1455(2/3): 105–138.
- [37] Hurtado-Guerrero R, Dorfmüller HC, van Aalten DMF. Molecular mechanisms of O-GlcNAcylation. *Current Opinion in Structural Biology*, 2008, 18(5): 551–557.
- [38] Hart GW, Housley MP, Slawson C. Cycling of O-linked β -N-acetylglucosamine on nucleocytoplasmic proteins. *Nature*, 2007, 446(7139): 1017–1022.
- [39] Zeidan Q, Hart GW. The intersections between O-GlcNAcylation and phosphorylation: implications for multiple signaling pathways. *Journal of Cell Science*, 2010, 123(1): 13–22.
- [40] Yang WH, Kim JE, Nam HW, Ju JW, Kim HS, Kim YS, Cho JW. Modification of p53 with O-linked N-acetylglucosamine regulates p53 activity and stability. *Nature Cell Biology*, 2006, 8(10): 1074–1083.
- [41] Deng YQ, Li B, Liu F, Iqbal K, Grundke-Iqbal I, Brandt R, Gong CX. Regulation between O-GlcNAcylation and phosphorylation of neurofilament-M and their dysregulation in Alzheimer disease. *The FASEB Journal*, 2008, 22(1): 138–145.
- [42] Liu F, Iqbal K, Grundke-Iqbal I, Hart GW, Gong CX. O-GlcNAcylation regulates phosphorylation of tau: a mechanism involved in Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101(29): 10804–10809.
- [43] Yuzwa SA, Macauley MS, Heinonen JE, Shan XY, Dennis RJ, He Y, Whitworth GE, Stubbs KA, McEachern EJ, Davies GJ, Vocadlo DJ. A potent mechanism-inspired O-GlcNAcase inhibitor that blocks phosphorylation of tau *in vivo*. *Nature Chemical Biology*, 2008, 4(8): 483–490.
- [44] Yuzwa SA, Vocadlo DJ. O-GlcNAc modification and the tauopathies: insights from chemical biology. *Current Alzheimer Research*, 2009, 6(5): 451–454.
- [45] Dube DH, Bertozzi CR. Glycans in cancer and inflammation—potential for therapeutics and diagnostics. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2005, 4(6): 477–488.
- [46] Quiñones-Kochs MI, Buonocore L, Rose JK. Role of N-linked

- glycans in a human immunodeficiency virus envelope glycoprotein: effects on protein function and the neutralizing antibody response. *Journal of Virology*, 2002, 76(9): 4199–4211.
- [47] Bode L. Human milk oligosaccharides: every baby needs a sugar mama. *Glycobiology*, 2012, 22(9): 1147–1162.
- [48] Fuster MM, Esko JD. The sweet and sour of cancer: glycans as novel therapeutic targets. *Nature Reviews Cancer*, 2005, 5(7): 526–542.
- [49] Wang Y, Zheng X, Tang BZ. Extraction and separation of polysaccharides. *China Journal of Pharmaceutical Economics*, 2013, 8(6): 36–38. (in Chinese)
王玉, 郑欣, 唐宝珠. 多糖类药物提取及分离分析. *中国药物经济学*, 2013, 8(6): 36–38.
- [50] Geng YQ, Ye XS. Oligosaccharide synthesis by pre-activation strategy. *Progress in Chemistry*, 2007, 19(12): 1896–1902. (in Chinese)
耿轶群, 叶新山. 寡糖合成中的“预活化”策略. *化学进展*, 2007, 19(12): 1896–1902.
- [51] Sears P, Wong CH. Toward automated synthesis of oligosaccharides and glycoproteins. *Science*, 2001, 291(5512): 2344–2350.
- [52] Trincone A, Giordano A. Glycosyl hydrolases and glycosyltransferases in the synthesis of oligosaccharides. *Current Organic Chemistry*, 2006, 10(10): 1163–1193.
- [53] Singh S, Crout DHG, Packwood J. Enzymatic synthesis of 2-acetamido-4-O-(2-acetamido-2-deoxy- β -D-galactopyranosyl)-2-deoxy-D-glucopyranose and 2-acetamido-6-O-(2-acetamido-2-deoxy- β -D-galactopyranosyl)-2-deoxy-D-glucopyranose catalysed by the β -N-acetylhexosaminidase from *Aspergillus oryzae*. *Carbohydrate Research*, 1995, 279: 321–325.
- [54] Singh S, Packwood J, Samuel CJ, Critchley P, Crout DHG. Glycosidase-catalysed oligosaccharide synthesis: preparation of N-acetylchitooligosaccharides using the β -N-acetylhexosaminidase of *Aspergillus oryzae*. *Carbohydrate Research*, 1995, 279: 293–305.
- [55] Uzawa H, Zeng XX, Minoura N. Synthesis of 6'-sulfodisaccharides by β -N-acetylhexosaminidase-catalyzed transglycosylation. *Chemical Communications*, 2003, 3(1): 100–101.
- [56] Aboitiz N, Cañada FJ, Hušáková L, Kuzma M, Křen V, Jiménez-Barbero J. Enzymatic synthesis of complex glycosaminotrioses and study of their molecular recognition by hevein domains. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 2004, 2(14): 1987–1994.
- [57] Rauvolfová J, Kuzma M, Weignerová L, Fialová P, Příkrylová V, Pišvejcová A, Macková M, Křen V. β -N-Acetylhexosaminidase-catalysed synthesis of non-reducing oligosaccharides. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 2004, 29(1/6): 233–239.
- [58] Lakshmanan T, Loganathan D. Enzymatic synthesis of N-glycoprotein linkage region disaccharide mimetics using β -N-acetylhexosaminidases from *Aspergillus oryzae* and *Vigna radiata*. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2005, 16(1): 255–260.
- [59] Bojarová P, Slámová K, Křenek K, Gažák R, Kulik N, Etrich R, Pelantová H, Kuzma M, Riva S, Adámek D, Bezouška K, Křen V. Charged hexosaminides as new substrates for β -N-acetylhexosaminidase-catalyzed synthesis of immunomodulatory disaccharides. *Advanced Synthesis & Catalysis*, 2011, 353(13): 2409–2420.
- [60] Slámová K, Gažák R, Bojarová P, Kulik N, Etrich R, Pelantová H, Sedmera P, Křen V. 4-Deoxy-substrates for β -N-acetylhexosaminidases: how to make use of their loose specificity. *Glycobiology*, 2010, 20(8): 1002–1009.
- [61] Hušáková L, Riva S, Casali M, Nicotra S, Kuzma M, Huňková Z, Křen V. Enzymatic glycosylation using 6-O-acetylated sugar donors and acceptors: β -N-acetylhexosaminidase-catalysed synthesis of 6-O,N,N'-triacetylchitobiose and 6'-O,N,N'-triacetylchitobiose. *Carbohydrate Research*, 2001, 331(2): 143–148.
- [62] Weignerová L, Vavrušková P, Pišvejcová A, Thiem J, Křen V. Fungal β -N-acetylhexosaminidases with high β -N-acetylgalactosaminidase activity and their use for synthesis of β -GalNAc-containing oligosaccharides. *Carbohydrate Research*, 2003, 338(9): 1003–1008.
- [63] Nieder V, Kutzer M, Kren V, Gallego RG, Kamerling JP, Elling L. Screening and characterization of β -N-acetylhexosaminidases for the synthesis of nucleotide-activated disaccharides. *Enzyme and Microbial Technology*, 2004, 34(5): 407–414.
- [64] Matsuo I, Kim S, Yamamoto Y, Ajisaka K, Maruyama JI, Nakajima H, Kitamoto K. Cloning and overexpression of β -N-acetylglucosaminidase encoding gene *nagA* from *Aspergillus oryzae* and enzyme-catalyzed synthesis of human milk oligosaccharide. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2003, 67(3): 646–650.
- [65] Rauvolfová J, Weignerová L, Kuzma M, Příkrylová V, Macková M, Pišvejcová A, Křen V. Enzymatic synthesis of N-acetylglucosaminobioses by reverse hydrolysis: Characterisation and application of the library of fungal β -N-acetylhexosaminidases. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 2004, 29(1/6): 259–264.
- [66] Kurakake M, Goto T, Ashiki K, Suenaga Y, Komaki T. Synthesis of new glycosides by transglycosylation of N-acetylhexosaminidase from *Serratia marcescens* YS-1. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51(6): 1701–1705.
- [67] Murata T, Tashiro A, Itoh T, Usui T. Enzymic synthesis of 3'-O- and 6'-O-N-acetylglucosaminyl-N-acetylglucosaminide glycosides catalyzed by β -N-acetyl-D-hexosaminidase from *Nocardia orientalis*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1997, 1335(3): 326–334.
- [68] Matahira Y, Tashiro A, Sato T, Kawagishi H, Usui T. Enzymic synthesis of lacto-N-triose II and its positional analogues. *Glycoconjugate Journal*, 1995, 12(5): 664–671.
- [69] Chen XD, Xu L, Jin L, Sun B, Gu GF, Lu LL, Xiao M. Efficient and regioselective synthesis of

- β -GalNAc/GlcNAc-lactose by a bifunctional transglycosylating β -N-acetylhexosaminidase from *Bifidobacterium bifidum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2016, 82(18): 5642–5652.
- [70] Thomas R, Brooks T. Attachment of *Yersinia pestis* to human respiratory cell lines is inhibited by certain oligosaccharides. *Journal of Medical Microbiology*, 2006, 55(3): 309–315.
- [71] Thomas R, Brooks T. Common oligosaccharide moieties inhibit the adherence of typical and atypical respiratory pathogens. *Journal of Medical Microbiology*, 2004, 53(9): 833–840.
- [72] Danishefsky SJ, Allen JR. From the laboratory to the clinic: a retrospective on fully synthetic carbohydrate-based anticancer vaccines. *Angewandte Chemie International Edition*, 2000, 39(5): 836–863.
- [73] Wang Z, Wen LJ, Ma X, Chen ZJ, Yu YH, Zhu J, Wang YP, Liu ZM, Liu HY, Wu DP, Zhou DP, Li YS. High expression of lactotriaosylceramide, a differentiation-associated glycosphingolipid, in the bone marrow of acute myeloid leukemia patients. *Glycobiology*, 2012, 22(7): 930–938.
- [74] Zeuner B, Nyffenegger C, Mikkelsen JD, Meyer AS. Thermostable β -galactosidases for the synthesis of human milk oligosaccharides. *New Biotechnology*, 2016, 33(3): 355–360.
- [75] Nyffenegger C, Nordvang RT, Zeuner B, Łęzyk M, Difilippo E, Logtenberg MJ, Schols HA, Meyer AS, Mikkelsen JD. Backbone structures in human milk oligosaccharides: trans-glycosylation by metagenomic β -N-acetylhexosaminidases. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, 99(19): 7997–8009.

β -N-Acetylhexosaminidases and their application in the synthesis of β -N-acetyl-D-hexosaminides

Xiaodi Chen^{1,3}, Fengshan Wang^{2,3}, Min Xiao^{1,2*}

¹ State Key Laboratory of Microbial Technology, Jinan 250100, Shandong Province, China

² National Glycoengineering Research Center, Shandong Provincial Key Laboratory of Carbohydrate Chemistry and Glycobiology, Jinan 250100, Shandong Province, China

³ School of Pharmaceutical Sciences, Shandong University, Jinan 250100, Shandong Province, China

Abstract: β -N-Acetylhexosaminidases (EC.3.2.1.52) are an important class of glycosidases that catalyze hydrolysis of terminal N-acetyl- β -D-hexosamine from various oligosaccharides and polysaccharides. These enzymes are widely distributed in microorganisms, plants, and animals, and play crucial roles in nature. Some β -N-acetylhexosaminidases can catalyze glycosyl transfer to form β -N-acetyl-D-hexosaminides, which have shown great potentiality in enzymatic synthesis of functional glycans. In this review, catalytic mechanisms and biological functions of β -N-acetylhexosaminidases, and potential applications of these enzymes in the synthesis of β -N-acetyl-D-hexosaminide are summarized.

Keywords: β -N-Acetylhexosaminidase, catalytic mechanism, biological function, transglycosylation, oligosaccharide synthesis

(本文责编: 张晓丽)

Supported by Major State Basic Research Development Program of China (2012CB822102) and by the National Natural Science Foundation of China (31670062)

*Corresponding author. Tel: +86-531-88365128; Fax: +86-531-88363002; E-mail: minxiao@sdu.edu.cn

Received: 30 March 2017; Revised: 21 May 2017; Published online: 25 May 2017