

项目公示信息

一、项目名称：基于生物质谱技术的分析糖生物学新方法和新技术体系的建立及应用

二、主要完成人情况：

姓名	排名	行政职务	技术职称	工作单位	完成单位	主要贡献
王仲孚	1	无	教授	西北大学	西北大学	项目负责人，所有论文的通讯作者或第一作者，1 件授权发明专利的发明人。主要贡献：（1）负责研究平台的搭建；（2）整体负责项目的选题、筹划、实施、审核和方案制定；（3）负责课题组与企业的项目合作，已产生经济效益 2.5 亿元。
王承健	2	无	讲师	西北大学	西北大学	项目的主要参加者，多数高水平 SCI 论文的第一作者或第二作者。主要贡献：（1）负责糖蛋白 O-糖链与 N-糖链的释放、纯化、分离、结构解析及定量分析新方法体系的研究；（2）负责研究平台大型质谱仪器的日常管理、维护、培训及应用技术开发工作；（3）负责课题组生物寡糖研究的技术指导、研究方案设计及论文撰写工作。
黄琳娟	3	无	教授	西北大学	西北大学	部分课题项目的主持人，项目的主要参加者，绝大多数 SCI 论文的通讯或共同通讯作者。主要贡献：（1）负责多糖的提取、纯化、分离、结构解析及活性评价研究；（2）负责课题组生物多糖研究的指导工作。
张英	4	无	副教授	西北大学	西北大学	项目主要参加者，部分论文的第一作者或共同通讯作者。主要贡献：（1）负责多糖及寡糖的衍生、荧光标记和活细胞成像研究。（2）负责课题组成果材料的整理工作。
刘洋	5	无	助理研究员	陕西省中医药研究院	西北大学	项目主要参加者，部分论文的第一作者，对枸杞多糖的活性评价做出了创新性贡献，建立了多糖活性评价的完整流程，并参与指导课题组的多糖活性研究工作。
张萍	6	无	副教授	咸阳	西北	项目主要参加者，部分论文的第一作者。主要贡献：（1）

				师范学院	大学	合成了氘代 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮试剂并建立了 N-糖链相对定量方法；（2）合成了 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮的类似物并建立了其对糖链的衍生化及液相色谱分离分析方法。
孙玉姣	7	无	讲师	陕西科技大学	西北大学	项目主要参加者，部分论文的第一作者。主要贡献：（1）建立了硫酸多糖及寡糖的结构解析和质谱分析方法；（2）建立了多糖的人工硫酸化方法；（3）研究了可降解硫酸多糖的酶的催化动力学；（4）研究了部分硫酸多糖及寡糖的生物活性。
李健军	8	无	副教授	西安交通大学	西北大学	项目主要参加者，部分论文的第一作者。主要贡献：系统建立了基于柱前衍生和紫外检测的同时分析柑橘果胶中性醛糖和糖醛酸的新方法。
龚桂萍	9	无	未取得	西北大学	西北大学	项目主要参加者，部分论文的第一作者。主要贡献：（1）系统建立了枸杞多糖的分级提取、结构解析和活性研究流程；（2）建立了枸杞多糖分级沉淀的新提取策略，大大提高了枸杞多糖的提取产率和纯度。
张红	10	中药药剂研究室主任	研究员	陕西省中医药研究院	西北大学	项目主要参加者，部分论文的第一作者。主要贡献：（1）深入研究了珠子参多糖提取物促进动物造血的活性；（2）为课题组其它多糖的活性评价研究提供了动物实验平台。
孙静	11	无	未取得	西北大学	西北大学	项目主要参加者，部分论文的第一作者。主要贡献：（1）建立了果胶寡糖的荧光辅助电泳分离分析方法；（2）负责枸杞多糖的活性研究；（3）负责课题组的经费管理、资料收集汇总、实验材料采购等工作。

三、完成人合作关系说明：

所有项目完成人目前或曾经在西北大学生命科学学院工作或学习，主要成员都在王仲孚教授课题组学习或工作，共同承担项目，共同发表论文，构成本项目的主要研究成果。具体情况如下：王仲孚为项目组负责人，主要负责项目的总体设计和平台搭建，负责项目的选题、筹划、

审核和方案制定，并负责成果转化工作；王承健在课题组攻读硕士和博士学位后留校任教，负责糖蛋白 O-糖链与 N-糖链的释放、纯化、分离、结构解析及定量分析新方法体系的研究，负责研究平台大型质谱仪器的日常管理、维护、培训及应用技术开发工作，并负责课题组生物寡糖研究的技术指导、研究方案设计及论文撰写工作；黄琳娟教授主要负责多糖的提取、纯化、分离、结构解析及活性评价研究，并负责课题组生物多糖研究的总体指导工作；张英在课题组攻读硕士和博士学位后留校任教，负责多糖及寡糖的衍生、荧光标记和活细胞成像研究；刘洋系陕西省中医药研究院助理研究员，曾在课题组攻读硕士和博士学位，学习期间对枸杞多糖的活性评价做出了创新性贡献，建立了多糖活性评价的完整流程，并参与指导课题组的的多糖活性研究工作；张萍系咸阳师范学院副教授，曾在课题组攻读博士学位，学习期间合成了氘代 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮试剂并建立了 N-糖链相对定量方法，合成了 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮的类似物并建立了其对糖链的衍生化及液相色谱分离分析方法；孙玉姣系陕西科技大学讲师，曾在课题组攻读硕士和博士学位，学习期间建立了硫酸多糖及寡糖的结构解析和质谱分析方法，建立了多糖的人工硫酸化方法，研究了可降解硫酸多糖的酶的催化动力学和部分硫酸多糖及寡糖的生物活性；龚桂萍系王仲孚教授的在读博士研究生，系统建立了枸杞多糖的分级提取、结构解析和活性研究流程，并建立了枸杞多糖分级沉淀的新提取策略，提高了枸杞多糖的产率和纯度；张红系陕西省中医药研究院研究员，曾在课题组攻读博士学位，学习期间深入研究了珠子参多糖提取物促进动物造血的活性，并为课题组其它多糖的活性评价研究提供了动物实验平台；孙静曾在课题组攻读硕士学位，并于 2016 年起由本研究团队聘用工作至今，在此期间建立了果胶寡糖的荧光辅助电泳分离分析方法，负责枸杞多糖的活性研究，并负责课题组的经费管理、资料收集汇总、实验材料采购等工作。

四、主要完成单位排序及贡献：

西北大学为本项目的依托单位和唯一完成单位，组织完成了本项目的策划和实施工作，并为本项目的开展提供了政策支持、实验和办公场所、仪器设备、能源、人力资源、图书资料、数据库以及安全和信息服务等。

五、完成单位合作关系说明：

无

六、项目简介：

糖生物学是现代生命科学的重要组成部分，也是近年来国家对生物学基础研究重点资助的前沿学科领域之一。糖类物质不仅作为细胞膜、细胞外基质乃至细胞质和细胞核的重要组成

分参与一系列重要生物学和病理过程，而且作为一类重要的生物资源在食品、能源、材料、化工等领域有十分广泛的用途。目前由于缺乏有效的方法和手段，对各种生物寡糖和多糖的分离分析和结构鉴定研究尚不深入，而且现有活性研究，多以混合物为材料，活性成分结构不清楚，构效关系不明确，限制了其结构功能关系研究。对各种天然生物糖链尤其是功能性寡糖和多糖的结构、功能及构效关系进行深入研究，对人类生命健康和经济发展意义重大。

2006 年以来，本团队依托国家“863”计划(2006AA02Z146, 2007AA10Z338, 2007AA091601, 2011AA090704)、国家自然科学基金(30870548, 31170773, 31071506, 31300678, 21375103, 31370804)及教育部“新世纪优秀人才支持计划”(NCET-08-0893)等项目(经费超过 452 万元)，紧紧围绕天然寡糖与多糖链的分离分析、结构解析和构效关系开展研究，建立了以生物质谱技术为核心、色谱和核磁共振等为辅的寡糖/多糖链定性定量分析检测的新方法和新技术，解析了约 60 种天然生物寡糖及多糖的精细结构，运用酶法或化学法可控性降解多糖，发展了活性寡糖片段的分离制备技术，并建立了寡糖/多糖的荧光标记和活细胞成像新方法，实现了唾液酸和 O-糖基的活细胞原位可视化检测，为寡糖/多糖的结构功能关系研究及资源深度开发利用奠定了坚实的研究基础。主要发现和创新点如下：

1. 在国际上率先开展了系统深入的糖蛋白 N/O-寡糖链定量化学释放的新方法，在 O-寡糖链非还原性释放方法学研究上取得重要突破，首次实现了 O-糖链和 N-糖链的无降解非还原性化学释放，首次系统研究了 N/O-寡糖链在释放过程中的降解机理及其控制措施。在此基础上，建立了系统的寡糖链富集回收及生物质谱定性定量分析鉴定微量寡糖链的技术体系，并解析了多种天然寡糖链的精细结构，为规模化鉴定和制备微量寡糖链提供了新颖的理论依据和技术支撑。

2. 系统解析了 20 种植物活性多糖的精细结构，包括(红果、黑果)枸杞多糖、山茱萸多糖、沙蒿籽多糖等，并研究了其免疫活性；首次构建了包括 100 种组分的天然活性多糖库，提出了多糖可控性降解的研究新思路，开展了果胶等天然多糖的可控性降解及活性寡糖片段的分离制备和结构鉴定，极大丰富了活性寡糖在来源和结构上的多样性，对最终实现多糖的全序列测定有重要学术价值；首次建立了硫酸化多糖(如肝素和卡拉胶)和寡糖分析新方法，可确定硫酸基团的数量和位点。

3. 建立了寡糖/多糖的荧光标记和活细胞可视化检测新方法，实现了唾液酸和 O-糖基的活细胞原位荧光检测，并证实了水溶性多糖可穿过脂溶性的细胞膜进入到细胞内部，实现了对多糖与寡糖在细胞内分布的可视化检测，为寡糖/多糖在细胞中的定位、追踪、代谢以及与蛋白

受体的相互作用等研究提供了有力手段，为探究多糖药物在活体内的代谢动力学、毒理学、作用受体等关键问题提供了方法支撑。

本成果在 *J Proteome Res*、*Proteomics*、*J Chromatogr A* 等国际 SCI 杂志发表论文 43 篇，获准授权国家发明专利 1 项，参与编写学术著作 1 部，获教育部“新世纪优秀人才支持计划”资助。第一完成人担任中国生物化学与分子生物学会糖复合物专业委员会常务委员、中国生物工程学会糖生物工程专业委员会委员、陕西省食品科学技术学会常务理事，获“张树政糖科学奖优秀青年奖”，入选陕西省创新人才推进计划“中青年科技创新领军人才”。所发表的 43 篇论文中 IF>4.0 有 5 篇，IF 最高 4.529，1 区 SCI 论文 3 篇，2 区 SCI 论文 8 篇；20 篇代表作被总引 302 次，他引 217 次；单篇最高被引 45 次，其中他引 31 次，1 篇被选为 highlight 文章；系列研究成果已得到美国著名糖生物学家、前美国糖生物学会主席 Vernon Reinhold 教授、荷兰莱顿大学 Wuhrer 教授和近畿大学 Kakehi 教授在内的许多国际同行在 *Chemical Reviews*、*Nature Methods*、*Nature Protocols*、*Molecular & Cellular Proteomics*、*Analytical Chemistry* 等国际高水平 SCI 杂志上的积极评价和引用，在国内外学术界引起广泛关注。此外，本成果在应用中产生经济效益 2.5 亿元人民币。

七、主要论文专著目录：见下页

序号	论文专著名称	刊名	作者	影响因子	年卷页码 (xx年xx卷xx页)	发表时间	通讯作者	第一作者	国内作者	SCI他引次数	他引总次数	知识产权是否归国内所有	对应附件编号
1	One-pot nonreductive O-glycan release and labeling with 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone followed by ESI-MS analysis	Proteomics	Chengjian Wang, Wancui Fan, Ping Zhang, Zhongfu Wang*, Linjuan Huang	4.04	2011, 11: 4229-4242	2014-10-01	王仲孚	王承健	王承健, 范万翠, 张萍, 王仲孚, 黄琳娟	31	45	是	2-1-1
2	Structural characterization of LbGp1 from the fruits of Lycium barbarum L.	Food Chemistry	Zhongfu Wang, Yang Liu, Yujiao Sun, Qing Mou, Bo Wang, Ying Zhang, Linjuan Huang*	4.53	2014, 159: 137-142	2014-09-15	黄琳娟	王仲孚	王仲孚, 刘洋, 孙玉姣, 牟青, 王博, 张英, 黄琳娟	14	17	是	2-1-2
3	Simplified Quantitative Glycomics Using the Stable Isotope Label Girard's Reagent P by Electrospray Ionization Mass Spectrometry	Journal of Proteome Research	Chengjian Wang, Zhiyu Wu, Jiangbei Yuan, Bo Wang, Ping Zhang, Ying Zhang, Zhongfu Wang*, Linjuan Huang*	4.27	2014, 13: 372-384	2014-02-01	王仲孚, 黄琳娟	王承健	王承健, 吴智宇, 袁江北, 汪波, 张萍, 张英, 王仲孚, 黄琳娟	14	17	是	2-1-3
4	Structural characterization and antioxidant activities of k-carrageenan oligosaccharides degraded by different methods	Food Chemistry	Yujiao Sun, Bingying Yang, YanminWua, Yang Liu, Xiao Gu, Hong Zhang, Chengjian Wang,	4.53	2015, 178: 311-318	2015-07-01	黄琳娟, 王仲孚	孙玉姣	孙玉姣, 杨冰莹, 仵严敏, 刘洋, 顾笑, 张红, 王承健, 曹宏志, 黄琳娟, 王仲	18	24	是	2-1-4

			Hongzhi Cao, Linjuan Huang*, Zhongfu Wang*						孚				
5	Separation of one-pot procedure released O-glycans as 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone derivatives by hydrophilic interaction and reversed-phase liquid chromatography followed by identification using...	Journal of Chromatography A	Chengjian Wang, Jiangbei Yuan, Zhongfu Wang*, Linjuan Huang*	3.98	2013, 1274: 107–117	2013-01-25	王仲孚, 黄琳娟	王承健	王承健, 袁江北, 王仲孚, 黄琳娟	6	10	是	2-1-5
6	Sulfonyl hydrazine-functionalized polymer as a specific capturer of reducing glycans from complex samples for high-throughput analysis by electrospray ionization mass spectrometry	Analyst	Chengjian Wang, Jiangbei Yuan, Xiaohua Li, Zhongfu Wang* and Linjuan Huang*	3.89	2013, 138: 5344–5356	2013-12-01	王仲孚, 黄琳娟	王承健	王承健, 袁江北, 李晓花, 王仲孚, 黄琳娟	3	5	是	2-1-6
7	Sulphation pattern analysis of chemically sulphated polysaccharide LbGp1 from Lycium barbarum by GC–MS	Food Chemistry	Yujiao Sun, Wei Sun, Jiatong Guo, Xiuting Hua, Guiping Gong, Linjuan Huang, Hongzhi Cao, Zhongfu Wang*	4.53	2015, 170: 22–29	2015-03-01	王仲孚	孙玉姣	孙玉姣, 孙伟, 郭佳彤, 胡秀婷, 龚桂萍, 黄琳娟, 曹宏志, 王仲孚	5	8	是	2-1-7
8	Quantitative O-glycomics based on improvement of the one-pot method for nonreductive O-glycan release and simultaneous stable isotope labeling with 1-(d0/d5)phenyl-3-methyl-5-pyrazolone followed...	Journal of Proteomics	Chengjian Wang, Ping Zhang, Wanjun Jin, Lingmei Li, Shan Qiang, Ying Zhang, Linjuan Huang*, Zhongfu Wang*	3.91	2017, 150: 18-30	2017-01-06	黄琳娟, 王仲孚	王承健	王承健, 张萍, 晋万军, 李玲梅, 强珊, 张英, 黄琳娟, 王仲孚	4	4	是	2-1-8

9	Electrospray Ionization Mass Spectrometric Analysis of κ -Carrageenan Oligosaccharides Obtained by Degradation with κ -Carrageenase from <i>Pedobacter hainanensis</i>	Journal of Agricultural and Food Chemistry	Yujiao Sun, Yang Liu, Kuan Jiang, Chengjian Wang, Zhongfu Wang, and Linjuan Huang*	3.15	2014, 62: 2398-2405	2014-03-19	黄琳娟	孙玉姣	孙玉姣, 刘洋, 姜宽, 王承健, 王仲孚, 黄琳娟	6	8	是	2-1-9
10	Comparison of Chicken and Pheasant Ovotransferrin N-Glycoforms via Electrospray Ionization Mass Spectrometry and Liquid Chromatography Coupled with Mass Spectrometry	Journal of Agricultural and Food Chemistry	Kuan Jiang, Chengjian Wang, Yujiao Sun, Yang Liu, Ying Zhang, Linjuan Huang,* and Zhongfu Wang*	3.15	2014, 62: 7245-7254	2014-07-23	黄琳娟, 王仲孚	姜宽	姜宽, 王承健, 孙玉姣, 刘洋, 张英, 黄琳娟, 王仲孚	4	8	是	2-1-10
11	Mass spectrometric analysis of N-glycoforms of soybean allergenic glycoproteins separated by SDS-PAGE	Journal of Agricultural and Food Chemistry	Lingmei Li, Chengjian Wang, Shan Qiang, Jixiang Zhao, Shuang Song, Wanjun Jin, Bo Wang, Ying Zhang, Linjuan Huang*, Zhongfu Wang*	3.15	2016, 64: 7367-7376	2016-10-05	黄琳娟, 王仲孚	李玲梅, 王承健	李玲梅, 王承健, 强珊, 赵季香, 宋爽, 晋万军, 王波, 张英, 黄琳娟, 王仲孚	0	0	是	2-1-11
12	An efficient method for selectively imaging and quantifying in situ the expression of sialylated glycoproteins on living cells	Glycobiology	Zhang, Ying, Yuan, Jiangbei, Song, Jingjing, Wang, Zhongfu*, Huang, Linjuan*	3.11	2013, 23(6): 643-653	2013-06-01	黄琳娟, 王仲孚	张英	张英, 袁江北, 宋晶晶, 王仲孚, 黄琳娟	4	6	是	2-1-12
13	The haematopoietic effect of <i>Panax japonicus</i> on blood deficiency model mice	Journal of Ethnopharmacology	Zhang Hong, Wang HaiFeng, Liu Yang, Huang	2.98	2014, 154: 818-824	2014-07-03	王仲孚	张红	张红, 王海峰, 刘洋, 黄琳娟, 王仲	9	9	是	2-1-13

			LinJuan, Wang ZhongFu*, Li Ye						孚, 李焯				
14	Detection of carbohydrates using a pre-column derivatization reagent 1-(4-isopropyl)phenyl-3-methyl-5-pyrazolone by high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization...	Journal of Chromatography B	Ping Zhang, Zhongfu Wang, Mingming Xie, Wanli Nie*, Linjuan Huang*	2.60	2010, 878: 1135–1144	2010-05-01	聂万丽, 张萍, 黄琳娟	张萍	张萍, 王仲孚, 解明明, 聂万丽, 黄琳娟	23	33	是	2-1-14
15	Relative quantitation of glycans using stable isotopic labels 1-(d0/d5)phenyl-3-methyl-5-pyrazolone by mass spectrometry	Analytical Biochemistry	Ping Zhang, Ying Zhang, Xiangdong Xue, Chenjian Wang, Zhongfu Wang*, Linjuan Huang *	2.33	2011, 418: 1-9	2011-11-01	王仲孚, 黄琳娟	张萍	张萍, 张英, 薛向东, 王承健, 王仲孚, 黄琳娟	21	30	是	2-1-15
16	Isolation, structural characterization, and antioxidant activity of polysaccharide LBLP5-A from Lycium barbarum leaves	Process Biochemistry	Guiping Gong, Jiangbo Fan, Yujiao Sun, Yanmin Wu, Yang Liu, Wei Sun, Ying Zhang*, Zhongfu Wang*	2.50	2016, 51: 314–324	2016-02-01	张英, 王仲孚	龚桂萍	龚桂萍, 樊江波, 孙玉姣, 仵严敏, 刘洋, 孙伟, 张英, 王仲孚	3	6	是	2-1-16
17	An alternative method for the rapid synthesis of partially O-methylated alditol acetate standards for GC–MS analysis of carbohydrates	Carbohydrate Research	Zhongfu Wang, Yuan He and Linjuan Huang*	2.10	2007, 342: 2149–2151	2007-10-15	黄琳娟	王仲孚	王仲孚, 和媛, 黄琳娟	21	23	是	2-1-17
18	One-pot fluorescent labeling of saccharides with fluorescein-5-thiosemicarbazide for imaging polysaccharides	Carbohydrate Research	Ying Zhang, Zhongfu Wang*, Xiaorui Zhang, Wenxia Zhou,	2.10	2011, 346: 2156–2164	2011-10-18	王仲孚, 黄琳娟	张英	张英, 王仲孚, 张晓瑞, 周文霞, 黄琳娟	8	14	是	2-1-18

	transported in living cells		Linjuan Huang*										
19	Isolation and structural characterization of a polysaccharide FCAP1 from the fruit of <i>Cornus officinalis</i>	Carbohydrate Research	Yang Liyan, Wang Zhongfu*, Huang Linjuan*	2.10	2010, 345: 1909-1913	2010-09 -03	黄琳娟	杨丽艳	杨丽艳, 王仲孚, 黄琳娟	9	13	是	2-1-19
20	Isolation and structural characterization of a polysaccharide LRP4-A from <i>Lycium ruthenicum</i> Murr	Carbohydrate Research	Lv Xiaopeng, Wang Chengjian, Cheng Yang, Huang Linjuan*, Wang Zhongfu*	2.10	2013, 365: 20-25	2013-01 -10	黄琳娟, 王仲孚	吕晓鹏	吕晓鹏, 王承健, 程洋, 黄琳娟, 王仲孚	14	22	是	2-1-20

八、主要知识产权证明目录：

序号	知识产权类别	知识产权具体名称	国家（地区）	授权号	授权日期	证书编号	权利人	发明人	专利有效状态	对应附件编号
1	发明专利	三氯蔗糖中间体的分析检测方法	中国	ZL200810017280.1	2012-01-18	899126	西北大学	王仲孚， 黄琳娟， 邱文龙	未缴费失效	3-1-1

九、科学意义和价值：

糖链是各种单糖通过糖苷键连接形成的具有特定序列的聚合物，是除核酸和蛋白质外体现生命现象的第三类生物大分子，生物糖链研究与人类生命健康息息相关。糖链常以糖缀合物的形式广泛存在于细胞膜、细胞外基质乃至细胞质中，据估计，自然界 50% 以上的蛋白质被糖基化，而人体中超过 70% 的蛋白质都属于糖蛋白。糖链作为一类重要的生物信息分子，介导细胞与细胞、细胞与间质、受体与配体及宿主与病原体之间的相互识别和相互作用，从而影响生长、分化、凋亡、黏附、融合、迁移等细胞行为以及糖蛋白的分拣和投送等细胞过程，在分子识别、受精发育、增殖分化、信号转导及免疫应答等一系列重要的生物学过程中起重要作用。此外，糖链与糖基化先天缺陷症（CDG）、Walker-Warburg 综合症（WWS）、多种癌症、糖尿病以及老年痴呆等多种疾病的发生发展有关。因此，各种天然生物糖链尤其是活性寡糖和多糖的结构、功能、构效关系以及与糖链有关的各种生命现象和疾病的机理问题，近年来受到了各国科学家的广泛关注。

同时，糖类物质也是一类重要的生物资源，对糖类生物资源进行开发利用，对社会经济发展有重要价值和意义。糖类物质占自然界生物质总量的 75%，为可再生资源。以多糖基生物质资源加工利用为主要内容的糖工程技术是新一代生物技术与产业的基础，所支撑的相关产业达上千亿元，在农业、畜牧业、食品、能源、新型生物材料、医药及化工领域有着十分重要的应用价值，对解决我国目前面临的粮食安全、食品安全及人口与健康等重大需求问题有重要意义。值得注意的是，糖类物质作为人体三大营养素之一，可以作为食品配料及添加剂，赋予食品体系良好的加工性能、口感及质构。尤其是一些存在于食材和药用动、植物材料中的天然糖类物质可作为益生元调节肠道菌群平衡，改善肠道功能，促进人体钙、镁、锌、铁等矿质元素的吸

收，预防多种疾病发生，是重要的食品功能因子。近年来研究发现，功能多糖与寡糖还具有免疫调节、抗病毒及细菌感染、抗炎、抗肿瘤等更广泛的生物活性，主要是通过功能多糖或寡糖与细胞表面的相关受体特异性识别，阻断或开启了某些信号通路。我国是传统农业大国，在糖类生物资源的开发利用方面拥有悠久的历史 and 独特的优势，功能糖类产品具有广阔的市场。

然而，糖类物质的结构在单糖组成、序列、连接方式、异头构型及修饰形式等方面具有高度复杂性，加之其生物合成的非模板性、结构上的微不均一性和高亲水性，为研究带来了巨大挑战。目前由于缺乏有效的方法和手段，多糖及寡糖的分离分析及结构鉴定研究尚不深入，而且现有的活性研究，多是以混合物为材料，活性成分结构不清楚，构效关系不明确，限制了结构与功能关系的研究。对各种天然寡糖和多糖的分离分析、结构解析及功能活性研究，已成为糖生物学研究和天然糖类资源深度开发利用中的瓶颈问题。因此，系统开展各种天然生物寡糖和多糖结构与功能方面的基础研究，对进一步从分子水平研究其生物学功能的作用机制及构效关系有重要意义，也可对功能糖产业发展提供理论与技术支撑，有助于形成完善的质量控制与产品标准体系，对改变我国功能糖产业品种单一、附加值低的现状，研发高附加值的精深加工产品有重要价值。

通过现阶段本课题的开展，在国际上率先系统深入地研究并建立了糖蛋白 N/O-寡糖链化学法定量释放的新方法，在 O-寡糖链非还原性释放方法学研究上取得重要突破，首次系统研究了 N/O-寡糖链在释放过程中的降解机理及其控制措施，并在此基础上建立了系统的寡糖链富集回收及生物质谱定性定量分析鉴定微量寡糖链的技术体系，克服了糖蛋白糖链分析的瓶颈问题，并解析了多种天然寡糖链的精细结构，为规模化鉴定和制备微量寡糖链提供了新颖的理论依据和技术支撑；系统解析了 20 种植物活性多糖的精细结构，包括（红果、黑果）枸杞多糖、山茱萸多糖、沙蒿籽多糖等，研究了其免疫活性；首次构建了包括 100 种组分的天然活性多糖库，提出了多糖可控性降解的研究新思路，开展了果胶等天然多糖的可控性降解及活性寡糖片段的分离制备和结构鉴定，极大丰富了活性寡糖在来源和结构上的多样性，对最终实现多糖的全序列测定有重要学术价值；首次建立了硫酸化多糖（如肝素和卡拉胶等）和寡糖分析新方法，可以确定硫酸基团的数量和位点，对包括肝素在内的各种活性硫酸化多糖和硫酸化寡糖的构效关系研究和天然硫酸化多糖资源开发利用中质量控制问题的解决有重要价值；建立了寡糖/多糖的荧光标记和活细胞可视化检测新方法，实现了唾液酸和 O-糖基的活细胞原位荧光检测，并证实了水溶性的多糖可穿过脂溶性的细胞膜进入到细胞内部，实现了对多糖与寡糖在细胞内分布的可视化检测，为寡/多糖在细胞中的定位、追踪、代谢以及与蛋白受体的相互作用

等研究提供了有力手段，为探究多糖药物在活体内的代谢动力学、毒理学、作用受体等关键问题提供了方法支撑。

十、客观评价：

1. 论文检索报告

本成果已在国内外 SCI 期刊上发表论文 43 篇。委托教育部科技查新工作站（L29）西北工业大学图书馆对这些论文进行检索，结果表明，截止目前这些论文中 IF>4.0 有 5 篇，IF 最高 4.529，1 区 SCI 论文 3 篇，2 区 SCI 论文 8 篇；20 篇代表作被总引 302 次，他引 217 次；单篇最高被引 45 次，其中他引 31 次。证明材料见附件。

2. 论文他引意见

（1）2011 年 11 月，该研究中关于 O-糖链释放方法的研究成果在 *Proteomics* (IF 4.04) 全文发表（One-pot nonreductive O-glycan release and labeling with 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone followed by ESI-MS analysis. *Proteomics*, 2011, 21(11): 4229-4242, 已被引用 45 次，其中他引 31 次），*Proteomics* 杂志将该文选为亮点评述文章 (highlight) 进行了专门点评，认为“这篇文章巧妙结合了经典方法与新策略思路，解决了糖基化蛋白 O-糖链的非还原性释放问题，发展了特异性和定量的 O-糖链释放新方法，克服了现有方法存在的缺陷，在 O-糖组的分析和糖类标志物的筛选方面有应用价值…”。证明材料见附件。

（2）该研究中关于 O-糖链释放方法的研究成果在 *Proteomics* 杂志发表后，引起国际同行的广泛关注，被 *Chemical Reviews* (IF 47.93)、*Nature Methods* (IF 25.06)、*Nature Protocols* (IF 10.03)、*Current Opinion in Chemical Biology* (IF 7.89)、*Molecular & Cellular Proteomics* (IF 6.54) 等国际高水平 SCI 期刊多次引用。证明材料见附件。

（3）2013 年美国著名糖生物学家、前美国糖生物学会主席 Vernon Reinhold 教授撰文对我们的工作给予了很高评价，认为“传统的还原性释放 O-寡糖链的方法存在明显缺陷，在所有试图解决这个问题的尝试中，PMP 衍生化是最令人振奋的解决方案，王等人（中国西北大学）把 PMP 衍生化和 β-消除整合到一个反应体系中，建立了一锅法的非还原性释放新方法，该方法可以有效降低 O-糖链降解这一重大难题，该方法的应用前景是令人振奋的，如与甲基化结合，可用于糖链的序列结构分析与定量分析。”Reinhold 教授还提出了一条新的基于本方法的寡糖链序列结构分析新策略（Vernon Reinhold et al. Toward a platform for comprehensive glycan sequencing, *Molecular & Cellular Proteomics*, 2013, 12, 4: 866-873. IF 6.54）。证明材料见附件。

(4) 荷兰莱顿大学 Wuhrer 教授和近畿大学 Kakehi 教授对我们关于 O-糖链释放方法的研究成果进行了引用和正面评价, 认为“该方法将 O-糖链释放和标记结合起来, 使用二甲胺、氨水或者氢氧化钠来同时完成糖链的 β -消除释放和 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮标记。该技术具有快速的优点, 能实现糖链的有效释放和标记, 并且可以减少糖链的降解反应。”(Analytical Biochemistry, 2012, 423(1): 119-128; Analytical Chemistry, 2013, 85(6): 3325-3333)。证明材料见附件。

(5) 本研究中关于糖链同位素标记和相对定量的成果得到 Chemical Reviews (IF 47.93)、National Science Review (IF 8.84)、Analytical Chemistry (6.32)、Analytica Chimica Acta (4.95) 等国际一流 SCI 期刊的广泛引用。证明材料见附件。

3. 应用情况

(1) 本研究所建立的 O-糖链释放方法被国际同行成功应用于 157 肝癌病人与 144 例正常人血清 O-糖组的比较分析 (Proteomics Clin. Appl. 2016, 10: 206 - 215)、聚丙烯酰胺凝胶电泳胶条中糖蛋白 O-糖链的胶内释放和标记 (Anal. Chim. Acta 2016, 935: 187-196) 以及糖蛋白 O-糖链与 N-糖链的区分定性 (Glycobiology 2015, 25: 1150-1162) 等等。这些成功应用的例子充分显示我们的成果代表了相关领域的最新研究进展, 该系列成果在本学科具有引领作用。证明材料见附件。

(2) 近年来, 我们的研究成果得到了许多企业的关注和认可, 已与无限极 (中国) 有限公司、西安泰乐星生物科技有限公司、大连格莱克生物科技有限公司进行合作, 有关技术已在企业得到应用和转化, 产生经济效益 2.5 亿元人民币。证明材料见附件。

4. 项目资助和验收意见

(1) 本研究受国家“863”计划 (2006AA02Z146, 2007AA10Z338, 2007AA091601, 2011AA090704)、国家自然科学基金 (30870548, 31170773, 31071506, 31300678, 21375103, 31370804) 及教育部“新世纪优秀人才支持计划” (NCET-08-0893) 等项目资助, 经费总计超过 452 万元。证明材料见附件。

(2) 2009 年 10 月 30 日, 国家“863 计划”项目“糖基化蛋白糖链结构解析新技术体系研究”通过验收, 专家组一致认为“具有国内领先水平的一套糖基化蛋白糖链结构解析的新技术体系基本建立起来”。证明材料见附件。

5. 获奖情况

(1) 项目“寡糖/多糖分析鉴定方法和技术体系的建立及应用”获 2017 年陕西高等学校科学技术奖一等奖。

(2) 在本研究期间，本项目第一完成人担任中国生物化学与分子生物学会糖复合物专业委员会常务委员、中国生物工程学会糖生物工程专业委员会委员、陕西省食品科学技术学会常务理事，获“张树政糖科学奖优秀青年奖”，入选陕西省创新人才推进计划“中青年科技创新领军人才”。证明材料见附件。

6. 与当前国内外同类学科技术研究现状和水平比较

2006 年以来，本课题组紧紧围绕天然多糖与寡糖的分析与结构解析、分离制备及活细胞可视化检测这三个方面开展工作，在糖蛋白寡糖（链）的质谱分析、植物多糖和硫酸化多糖的结构、活性分析及可控性降解以及寡糖/多糖的活细胞可视化检测研究方面取得了一系列方法学及其应用上的创新成果，为天然寡糖/多糖（链）的结构-生物学功能关系和构效关系探究做出了努力。与国际同类学科和方向相比（如美国霍普金斯大学、埃默里大学、日本北海道大学、荷兰莱顿大学、澳大利亚麦考瑞大学及伦敦帝国理工学院），我们的研究工作具有鲜明的优势和特色：我们基于色谱-质谱联用和多级裂解技术建立了糖蛋白寡糖链的一系列分析新方法，与其它以质谱检测糖链分子量指纹图谱的传统方法相比，可以获得更详细的糖链结构信息和发现更多的寡糖链结构；结合多种分析手段详细解析多种植物多糖结构并研究其活性，发展了硫酸化多糖结构分析的新方法，使多糖构效关系更加明确；可控性降解多糖，发展了活性寡糖片段的分离制备技术；建立了寡糖/多糖的荧光标记和活细胞成像新方法，实现了唾液酸和 O-糖基的活细胞可视化检测。这些研究，都可以为寡糖/多糖的结构功能关系和构效关系的阐明提供更加详细的生物信息，从而形成了更精细的样品分离、更详细的结构解析和更明确的结构功能关系或构效关系这样一条新的研究思路，为糖生物学研究提供了新的研究方法，系列方法和研究结果在国内外尚属首次，在相关领域具有引领作用。

十一、知情同意证明：见下页

知情同意书

本人郭玉娜系王仲孚教授的硕士研究生，系论文 Research progress on sugar-mimic derived from plants, Chinese Journal of Organic Chemistry, 2007年27卷1337-1344的第一作者(黄琳娟教授和王仲孚教授为该论文的共同通讯作者)，知晓并同意王仲孚教授在未将本人列入申报人名单的情况下将这篇文章作为申报2018年度陕西省科学技术奖的支撑材料。

郭玉娜
2018.03.29

知情同意书

本人潘丽英系王仲孚教授的硕士研究生，系论文 Comparative Analysis of O-glycans from Human Hepatocellular Carcinoma HepG2 and Normal Liver Cells L02, Chemical Journal of Chinese Universities, 2015年7卷1275-1281和论文 Qualitation and Quantitation for Comparative Analysis of N-glycans from Human Hepatocellular Carcinoma HepG2 and Normal Liver Cells L02 by Electrospray Ionization Mass Spectrometry, Chemical Journal of Chinese Universities, 2014年2卷237-243的第一作者(黄琳娟教授和王仲孚教授为该论文的共同通讯作者)，知晓并同意王仲孚教授在未将本人列入申报人名单的情况下将这篇文章作为申报2018年度陕西省科学技术奖的支撑材料。

潘丽英
2018.3.29

知情同意书

本人李玲梅系王仲孚教授的博士研究生，系论文 Mass Spectrometric Analysis of N-Glycoforms of Soybean Allergenic Glycoproteins Separated by SDS-PAGE, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016年64卷7367-7376的第一作者(黄琳娟教授和王仲孚教授为该论文的共同通讯作者)，知晓并同意王仲孚教授在未将本人列入申报人名单的情况下将这篇文章作为申报2018年度陕西省科学技术奖的支撑材料。

李玲梅
2018.3.29

知情同意书

本人徐莎系王仲孚教授的硕士研究生，系论文 Pronase E Digestion of N-Glycans in Glycoprotein and Its Fluorescent Derivatives Analysis by HPLC-ESI/MS, Chemical Journal of Chinese Universities, 2010年31卷1992-1998的第一作者(黄琳娟教授和王仲孚教授为该论文的共同通讯作者)，知晓并同意王仲孚教授在未将本人列入申报人名单的情况下将这篇文章作为申报2018年度陕西省科学技术奖的支撑材料。

徐莎
2018.3.29

知情同意书

本人杨丽艳系王仲孚教授的硕士研究生，系论文 Isolation and structural characterization of a polysaccharide FCAP1 from the fruit of *Cornus officinalis*, *Carbohydrate Research*, 2010年345卷1909-1913的第一作者（黄琳娟教授和王仲孚教授为该论文的共同通讯作者），知晓并同意王仲孚教授在未将本人列入申报人名单的情况下将这篇文章作为申报2018年度陕西省科学技术奖的支撑材料。

杨丽艳
2018.3.29

知情同意书

本人徐溪系王仲孚教授的硕士研究生，系论文 *Studies on Preparation of Oligogalacturonic Acids from Apple Pectin and Analysis by ESI-MS*, *Acta Chimica Sinica*, 2010年68卷1525-1531的第一作者（黄琳娟教授和王仲孚教授为该论文的共同通讯作者），知晓并同意王仲孚教授在未将本人列入申报人名单的情况下将这篇文章作为申报2018年度陕西省科学技术奖的支撑材料。

徐溪
2018.3.29

知情同意书

本人郝毓倩系王仲孚教授的硕士研究生，系论文 *Structure Elucidation and Preliminary Immunological Activity Studies of the Water-soluble Gum Polysaccharide ASPI-A Isolated from Artemisia sphaerocephala Krasch Seeds*, *Acta Chimica Sinica*, 2010年68卷1103-1108的第一作者（王仲孚教授为该论文的通讯作者），知晓并同意王仲孚教授在未将本人列入申报人名单的情况下将这篇文章作为申报2018年度陕西省科学技术奖的支撑材料。

郝毓倩
2018.3.29

知情同意书

本人薛向东系王仲孚教授的硕士研究生，系论文 *A Novel Method for Relative Quantitation of N-Glycans via Acetone Stable Isotopic Labeling and ESI-MS Analysis*, *Acta Chimica Sinica*, 2014年72卷220-226和论文 *Analysis Method for Relative Quantitation and Qualitation of Reductive Glycans via Aniline Stable Isotopic Labeling and ESI-MS*, *Chemical Journal of Chinese Universities*, 2010年31卷2173-2180的第一作者（黄琳娟教授和王仲孚教授为该论文的共同通讯作者），知晓并同意王仲孚教授在未将本人列入申报人名单的情况下将这篇文章作为申报2018年度陕西省科学技术奖的支撑材料。

薛向东
2018.3.29

知情同意书

本人姜宽系王仲孚教授的硕士研究生，系论文 Comparison of Chicken and Pheasant Ovotransferrin N-Glycoforms via Electrospray Ionization Mass Spectrometry and Liquid Chromatography Coupled with Mass Spectrometry, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014年 62 卷 7245-7254 的第一作者（黄琳娟教授和王仲孚教授为该论文的共同通讯作者），知晓并同意王仲孚教授在未将本人列入申报人名单的情况下将这篇文章作为申报 2018 年度陕西省科学技术奖的支撑材料。

姜宽
2018.3.29

知情同意书

本人袁江北系王仲孚教授的硕士研究生，系论文 Nonreductive chemical release of intact N-glycans for subsequent labeling and analysis by mass spectrometry, Analytical Biochemistry, 2014年462卷1-9的第一作者（黄琳娟教授和王仲孚教授为该论文的共同通讯作者），知晓并同意王仲孚教授在未将本人列入申报人名单的情况下将这篇文章作为申报2018年度陕西省科学技术奖的支撑材料。

袁江北
2018.3.29

知情同意书

本人吕晓鹏系王仲孚教授的硕士研究生，系论文 Isolation and structural characterization of a polysaccharide LRP4-A from Lycium ruthenicum Murr, Carbohydrate Research, 2013 年 365 卷 20-25 的第一作者（黄琳娟教授和王仲孚教授为该论文的共同通讯作者），知晓并同意王仲孚教授在未将本人列入申报人名单的情况下将这篇文章作为申报 2018 年度陕西省科学技术奖的支撑材料。

吕晓鹏
2018.3.29

知情同意书

本人邱文龙系王仲孚教授的硕士研究生，系论文 GC-MS determination of sucralose in splenda, Chromatographia, 2007年66卷 935-939 的第一作者（黄琳娟教授为该论文的通讯作者），知晓并同意王仲孚教授在未将本人列入申报人名单的情况下将这篇文章作为申报2018年度陕西省科学技术奖的支撑材料。

邱文龙
2018.3.29

知情同意书

本人聂万丽教授系论文 Detection of carbohydrates using a pre-column derivatization reagent 1-(4-isopropyl) phenyl-3-methyl-5-pyrazolone by high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization mass spectrometry, Journal of Chromatography B, 2010 年 878 卷 1135-1144 的通讯作者(聂万丽教授和王仲孚教授为该论文的共同通讯作者)，知晓并同意王仲孚教授在未将本人列入申报人名单的情况下将这篇文章作为申报 2018 年度陕西省科学技术进步奖的支持材料。

聂万丽

2018.3.29