

Zaburzenia N-i O-glikozylacji białek – charakterystyka i diagnostyka biochemiczna

dr n.med. Katarzyna Kuśmierska

Zakład Badań Przesiewowych i Diagnostyki Metabolicznej

Instytut Matki i Dziecka

Glikozylacja białek

- jest dynamiczną, potranslacyjną modyfikacją białek.
- glikany pełnią ważne funkcje w wielu procesach biologicznych.
- glikomika - ma ogromny potencjał do opracowania unikalnych biomarkerów w chorobach genetycznych i przewlekłych, takich jak:
 - nowotwory,
 - stany zapalne,
 - choroba Alzheimera,
 - cukrzyca, czy
 - zaburzenia metaboliczne,

Glikozylacja białek zmienia się dynamicznie dzięki czemu analiza procesu glikozylacji dostarcza informacji o bieżącym stanie pacjenta, co umożliwia wczesną diagnozę.

Glikozylacja białek

- jest zaangażowana w wiele procesów biologicznych, takich jak interakcja receptora, odpowiedź układu odpornościowego, sekrecji i transportu białek,
- dane białko może mieć wiele miejsc glikozylacji, a powstałe glikoformy mogą się różnić w zależności od zajętego miejsca (makroheterogeniczność) i zajmowanych struktur glikanowych (mikroheterogeniczność),
- ścieżki biosyntezy prowadzące do tej różnorodności glikanów zależą od wielu parametrów i może na nie wpływać wiele czynników, w tym:
 - regulacja genetyczna,
 - dostępność cukrów nukleotydowych,
 - czas spędzony w retikulum endoplazmatycznym i aparacie Golgiego,
 - dostępność określonego miejsca glikozylacji.

Glikozylacja białek:

- może być różna u różnych osób, ale jest wyraźnie stabilna
- zmienia się znacząco dopiero wtedy, gdy zmienia się homeostaza organizmu, pod wpływem stylu życia lub stanów patologicznych.

Badania obejmujące tysiące osób wykazały, że glikozylacja koreluje z wiekiem, płcią i stylem życia (Florent Clerc, et l. 2016)

- biorą udział w praktycznie wszystkich procesach biologicznych, dlatego wpływają na rozwój, wzrost i funkcjonowanie komórek i organizmów.
- mają zarówno właściwości strukturalne, jak i modulacyjne.
- synteza glikanów ma kluczowe znaczenie dla przyjęcia przez białka ich natywnej konformacji i właściwości takich jak rozpuszczalność, antygenowość i okres półtrwania.
- co najmniej 50% białek naszego ciała (oraz prawie cała powierzchnia komórki i wydzielane białka) jest glikozylowana (Apweiler i wsp. 1999).

Glikozylacja odgrywa kluczową rolę we wszystkich interakcjach pomiędzy komórkami a ich środowiskiem, a ponieważ odpowiedź układu odpornościowego opiera się na niezliczonych kontaktach między komórkami i cząsteczkami, glikany odgrywają zasadniczą rolę w układzie odpornościowym.

N-glikozylacja

- Dwa główne rodzaje glikozylacji białek to N-glikozylacja i O-glikozylacja.
- N-glikozylacja jest najczęstszą modyfikacją białek (Stanley i wsp. 2009).
- Obejmuje wiązanie N-glikozydowe, które przyłącza azot grupy aminowej asparaginy (Asn) do N-acetyloglukozaminy (GlcNAc) glikanu.
- Zaangażowana Asn musi być częścią sekwencji aminokwasów Asn-X-Thr (gdzie X oznacza dowolny aminokwas, z wyjątkiem proliny).
- Obejmuje wiele różnych enzymów i transporterów w cytozolu, retikulum endoplazmatycznym (ER) i aparacie Golgiego.

N-glikozylacja

- Pierwszy etap N-glikozylacji ma miejsce po cytoplazmatycznej stronie ER i jest inicjowany przez dodanie GlcNAc-1- fosforanu do fosforanu dolicholu.
- Ta struktura jest rozszerzana poprzez dodanie GlcNAc i pięciu reszt mannozy (Man). Powstały Man5GlcNAc2-PP-dolichol jest następnie enzymatycznie przenoszony do światła błony ER.
- oligosacharylotransferazy (OST) przenoszą łańcuch oligosacharydowy z dolicholu na powstały łańcuch polipeptydowy.
- glikan może być częściowo przebudowany w ER i aparacie Golgiego. Reszty glukozy i mannozy mogą być usunięte przez działanie glikozydaz, pozostawiając związany z białkiem pentasacharyd, Man3GlcNAc2.
- Ta struktura rdzenia pentasacharydu jest stała i może być powiększana o różne cukry, a mianowicie GlcNAc, a następnie galaktozę, kwas sialowy i fukozę.

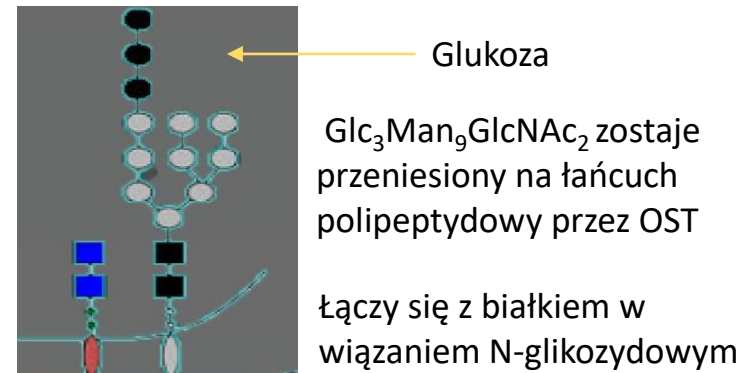
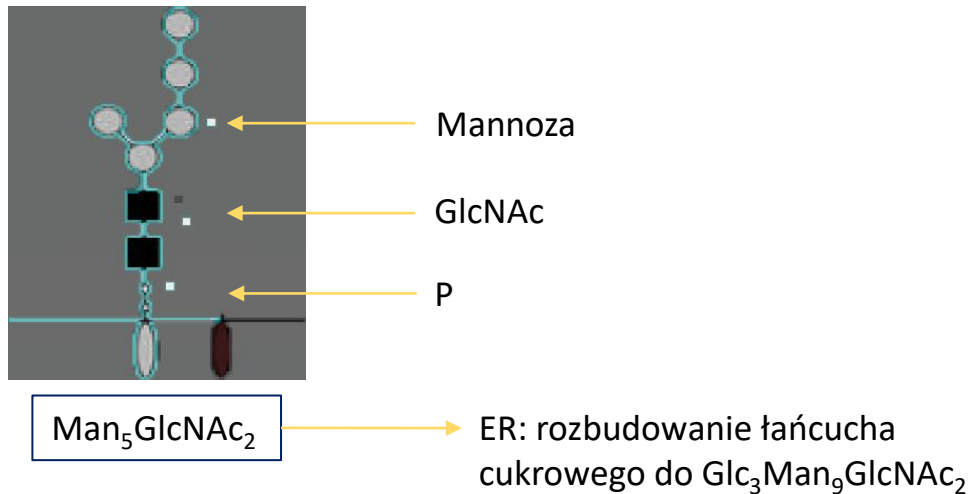
N-glikozylacja białek

Złożony, wieloetapowy proces podzielony na dwie części

Synteza pierwotnego glikanu
(zaburzenia syntezy to zaburzenia
glikozylacji typu I (CDG-I))

Modyfikacje pierwotnego glikanu

Cytoplazma: przyłączanie reszt cukrowych do
łańcucha tłuszczowego P-Dolicholu



Modyfikacje pierwotnego glikanu

(zaburzenia dalszej obróbki glikanów – zaburzenia glikozylacji typu II (CDG-II))



ER: kontrola jakości fałdowania cząsteczek glikoproteinowych, w celu uzyskania prawidłowej struktury białka (nieprawidłowo pofałdowane białka są rozpoznawane i degradowane)

Transport
pęcherzykowy

Aparat Golgiego: glikan związany z białkiem ulega dalszym przemianom enzymatycznym do

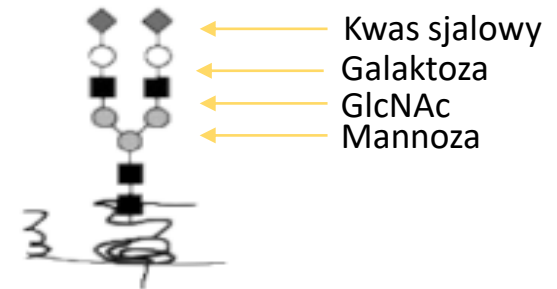
$\text{Man}_5 \text{GlcNAc}_2\text{-Asn}$ (dalsze modyfikacje
potranslacyjne)



Aparat Golgiego: dalsza obróbka wybranych glikanów; dodawane są reszty GlcNAc po jednej na każde ramię glikanu, następnie ulegają wydłużeniu przez dołączanie reszt galaktozy i kwasu sjałowego tworząc strukturę

$\text{Sia}_2\text{Gal}_2\text{GLcNAc}_2\text{Man}_3\text{GLcNAc}_2$

Transport glikoprotein do
miejsc docelowych



Powstałe białka przemieszczane są do pęcherzyków wydzielniczych; dochodzi do ich fuzji z błoną komórkową

Zaburzenia glikozylacji (CDG – „*Congenital defects of glycosylation*”)

Trzy typy zaburzeń glikozylacji:

N-glikozylacja

O-glikozylacja

C-glikozylacja



najlepiej poznane, scharakteryzowane i najczęściej występujące

N-glikany są tworzone w retikulum endoplazmatycznym (ER) przed dalszymi procesami i modyfikacjami w aparacie Golgiego, gdzie powstają trzy typy N-glikozylacji z tym samym rdzeniem przyłączonym do asparaginy:

1. Glikan mannozowy – tylko mannoza jest dołączana do rdzenia cukrowego,
2. Glikan kompleksowy – tylko reszty GlcNAc są dołączane do rdzenia cukrowego
3. Glikan hybrydowy – dołączanie do rdzenia zarówno Man i GlcNAc

Wpływ czynników zewnętrznych na glikozylację białek

- Wiek - spadek galaktozylacji i sialilacji IgG wraz z wiekiem,
- zmiany glikozylacji w różnych chorobach, tj. stany zapalne, wrodzone zaburzenia glikozylacji (CDG), ciąża, w której wzrasta galaktozylacja i sialilacja,
- określone glikoformy mogą być indukowane przez wirusy lub bakterie i służą jako sygnał pro- lub przeciwzapalny.
- odpowiedź immunologiczna, wzrost białka ostrej fazy - wzrastają poziomy fukozylowanych glikanów w sposób ciągły.
- w reumatoidalnym zapaleniu stawów – wzrastają poziomy fukozylowanych i sialilowanych glikanów

Wszystko to otwiera możliwość wykorzystania glikanów jako wczesnego biomarkera choroby lub wspomagania medycyny spersonalizowanej



Oligosacharylotransferazy?

- kompleks białkowy złożony z kilku podjednostek, w tym:
 - **katalitycznej podjednostki A** kompleksu OST - STT3 (STT3A),
 - **podjednostki B** (STT3B),
 - **transportera magnezu 1** (MAGT1),
 - **przebłonowego białka 258** (TMEM258),
 - **podjednostki kompleksu oligosacharylotransferazy 4 i 48** (OST4 i OST48), oraz
 - **białka kompleksu oligosacharylotransferazy niekatalitycznej podjednostki** (DC2).
- zidentyfikowano dwa kompleksy OST z podjednostkami katalitycznymi STT3A lub STT3B związanymi z różnymi podjednostkami niekatalitycznymi.
- kompleksy łączą oligosacharydy, tworząc specyficzne drzewko cukrowe na powierzchni białka.
- łączą rybosomy z powierzchnią ER podczas translacji białka i wprowadzają substraty do centrum katalitycznego i dodatkowo działają jako chaperony, które rozpoznają nieprawidłowo sfałdowane białka.



Udział N-glikozylacji w procesach komórkowych

- Regulacja homeostazy wapnia przez N-glikozylację
- Regulacja metabolizmu energii przez N-glikozylację
- Regulacja układu krzepnięcia przez N-glikozylację
- Płytki krwi we wrodzonych zaburzeniach N-glikozylacji

Zaburzenia N-glikozylacji zachodzące w ER, związane z syntezą pierwotnego oligosacharydu, LLO ,

- *Deficyt transferazy GlcNAc-1-P, DPAGT1-CDG (zewnątrzna część ER); miastenia, uogólnione zaburzenie rozwoju*
- *Deficyt transferazy z grupy ALG (zewnątrzna część ER):*
 - *ALG13-CDG – deficyt UDP-GlcNAc transferazy (zewnątrzna część ER): wczesnodziecięca padaczka oporna na leczenie, opóźnienie rozwoju, niepełnosprawność intelektualna*
 - *ALG1-CDG – deficyt β -1,4 mannozotransferazy (zewnątrzna część ER): kardiomiopatia, opóźnienie rozwoju psychoruchowego, hipotonia, dysmorfia*
 - *ALG3-CDG – deficyt α -1,3 mannozotransferazy (zewnątrzna część ER): zmiany w obrębie kośćca, dysmorfia*
 - *ALG6-CDG – deficyt α -1,3 glukozylotransferazy (wewnątrz ER): opóźnienie rozwoju, osłabienie mięśni, ataksja, drgawki; zniekształcenie palców, przewlekła biegunka; drugi najczęściej opisywany defekt*



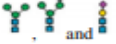
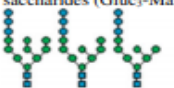
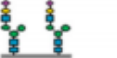
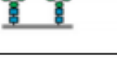
Zaburzenia glikozylacji - różnicowanie

Zaburzenia N-glikozylacji są rozpoznawane dzięki szerokiej dostępności odpowiedniego testu przesiewowego, jakim jest zmodyfikowana metoda elektroforezy, czyli metoda izoelektroogniskowania (IEF - polegająca na frakcjonowaniu białek w zależności od ich punktu izoelektrycznego (pI) za pomocą elektroforezy w żelu poliakrylamidowym

Clinical glycomics for the diagnosis of congenital disorders of glycosylation

Nurulamin Abu Bakar^{1,2} • Dirk J. Lefeber^{1,2} • Monique van Scherpenzeel¹

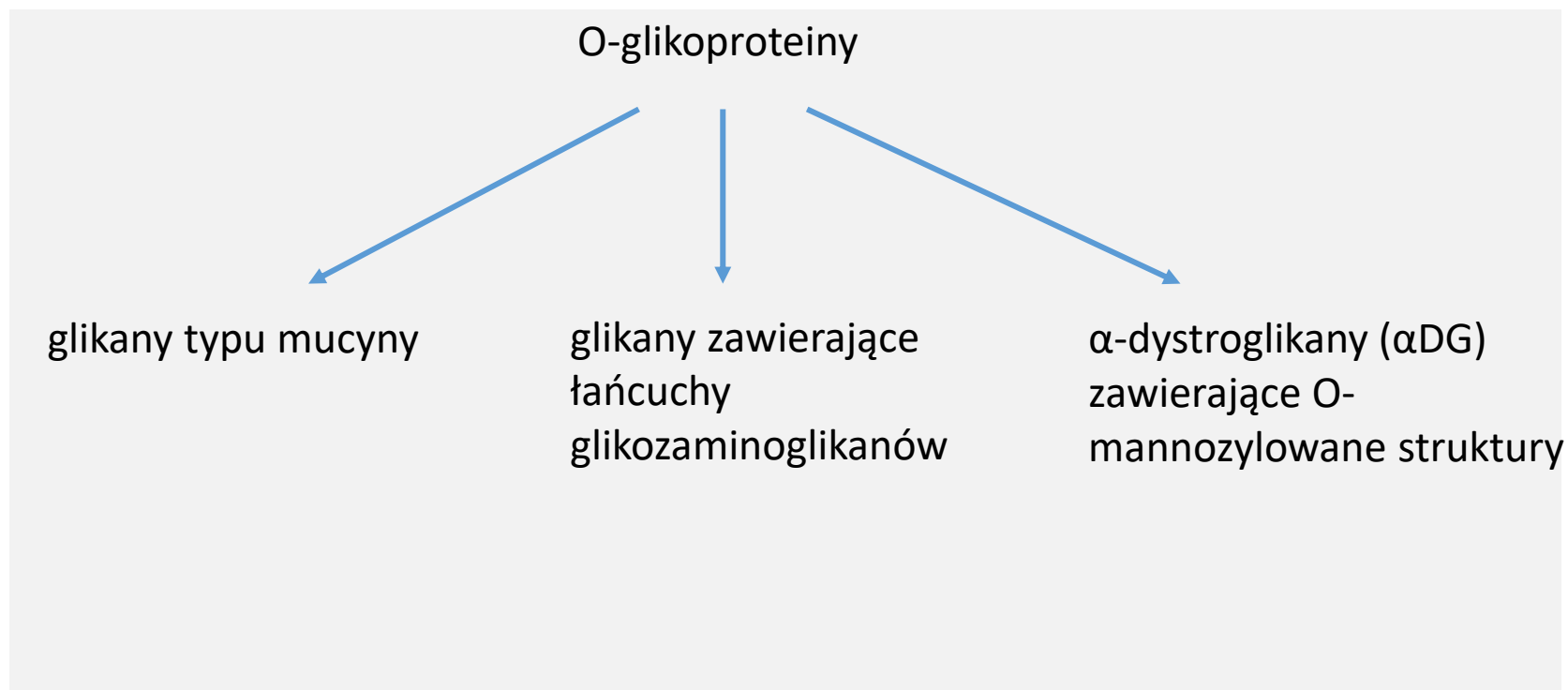
Table 1 Overview of plasma glycosylation features from total (released) N-glycans and intact transferrin MS profiling for CDG diagnosis

Gene defects	Released plasma N-glycans MS; total or protein specific			Intact plasma transferrin MS		
	MS Glycoprofiling	MS techniques	Reference	MS Glycoprofiling	MS techniques	Reference
CDG-I (LLO assembly defects): GDP-Man synthesis defects						
<i>PMM2</i> (PMM2-CDG) & <i>MPI</i> (MPI-CDG)	- Increase of total plasma 3 mannose glycans (Man₃-GlcNAc₂), 4 mannose glycans (Man₄-GlcNAc₂) and sialylated tetrasaccharide glycans (Sia₁-Gal₁-GlcNAc₂).  - Low ratio of total plasma  could discriminate this group (PMM2-CDG and MPI-CDG) from ALG1-CDG.	Maldi TOF MS	Zhang et al 2016	Increase of typical CDG-I glycoforms; lack of both and one complete biantennary glycans (Sia₂-Gal₂-Man₃-GlcNAc₄), respectively. 	ESI-LC QMS & ESI-LC MS, QTOF MS	Lacey et al 2001 & Van Scherpenzeel et al 2015
CDG-I (LLO assembly defects): mannosylation defects						
<i>ALG1</i> (ALG1-CDG)	- Increase of total plasma sialylated tetrasaccharide glycans (Sia₁-Gal₁-GlcNAc₂), 3 mannose glycans (Man₃-GlcNAc₂) and 4 mannose glycans (Man₄-GlcNAc₂).  - High ratio of total plasma  could discriminate ALG1-CDG from PMM2-CDG and MPI-CDG.	Maldi TOF MS	Zhang et al 2016	Increase of two sialylated tetrasaccharide glycoforms: (Sia₁-Gal₁-GlcNAc₂) and (Sia₃-Gal₃-Man₃-GlcNAc₆). 	ESI-LC MS, QTOF MS	Bengtson et al 2016
CDG-II (glycan processing defects): ER glucosidase defects						
<i>MOGS</i> (MOGS-CDG)	Increase of IgG glycans of 14-saccharides (Glc₃-Man₇-GlcNAc₂), 13-saccharides (Glc₃-Man₆-GlcNAc₂) and 12-saccharides (Glc₃-Man₇-GlcNAc₂). 	Maldi TOF MS	Sadat et al 2014	Normal transferrin profiles.		Lefeber et al 2011
CDG-II (glycan processing defects): glycosyltransferase defects						
<i>MGAT2</i>	Most abundant of total plasma complex truncated	Maldi TOF	Guillard et	Most abundant of complex truncated	ESI-LC	Van
Gene defects	Released plasma N-glycans MS; total or protein specific			Intact plasma transferrin MS		
	MS Glycoprofiling	MS techniques	Reference	MS Glycoprofiling	MS techniques	Reference
(MGAT2-CDG)	biantennary glycan lacking one GlcNAc, one Gal and one Sia (Sia ₁ -Gal ₁ -Man ₃ -GlcNAc ₃) with the corresponding fucosylated ones (Sia ₁ -Gal ₁ -Man ₃ -GlcNAc ₃ -Fuc ₁). 	MS	al 2011	biantennary glycoform lacking one GlcNAc, one Gal and one Sia (Sia ₂ -Gal ₂ -Man ₆ -GlcNAc ₆). 	MS, QTOF MS	Scherpenzeel et al 2015
<i>B4GALT1</i> (B4GALT1-CDG)	Most abundant of total plasma complex truncated biantennary glycan lacking all galactoses (Man₃-GlcNAc₄) with the corresponding fucosylated ones (Man₃-GlcNAc₄-Fuc₁). 	Maldi TOF MS	Guillard et al 2011	Most abundant of complex truncated biantennary glycoform lacking all galactoses (Man₆-GlcNAc₆). 	ESI-LC MS, QTOF MS	Van Scherpenzeel et al 2015

O-glikozylacja

- Jest procesem mniej złożonym niż proces N-glikozylacji
- Przebiega głównie w obrębie aparatu Golgiego.
- N-acetylogalaktozamina lub mannoza przyłącza się do grupy hydroksylowej treoniny lub seryny, czasami również proliny, łańcucha polipeptydowego (np. w O-glikanach typu mucyny)
- Tworzy pierwotną strukturę O-glikanu.
- Rdzeń pierwotnego O-glikanu może być modyfikowany przez dodawanie innych cukrów, tj. galaktozy, N-acetyloglukozaminy, kwasu sialowego lub fukozy.
- Glikany składają się z dwóch anten i są mniej rozgałęzione niż w N-glikozylacji.

O-glikany



O-glikany

- W przeciwieństwie do defektów N-glikozylacji, identyfikacja zaburzeń O-glikozylacji jest znacznie trudniejsza.
- O-glikany są inicjowane przez siedem różnych monosacharydów, które można dalej rozszerzać na złożone struktury O-glikanów.
- O-glikozylacja mucyny (O-połączonej N-acetylogalaktozaminy, O-GalNAc), najczęstsza postać O-glikozylacji.
- Izoogniskowanie ApoC-III zostało opracowane w celu wykrywania defektów w glikozylacji typu O mucyny.
- Chociaż wiele zaburzeń homeostazy aparatu Golgiego wykazywało nieprawidłową glikozylację ApoC-III typu mucynowego, za pomocą tego testu można było wykryć tylko mutacje w genie odpowiedzialnym za GalNAc transferaza 2 (GALNT2).
- Jak dotąd złożoność struktur O-glikanów uniemożliwia zaprojektowanie pojedynczego testu przesiewowego do diagnostyki zaburzeń O-glikozylacji

O-glikany

- są ważne dla:
 - struktury białka,
 - fałdowania,
 - stabilności,
 - rozpoznawania,
 - ekspresji i przetwarzania
 - aktywności enzymów.
- silnie naładowane ujemnie glikany O-mucyny mogą wiązać wodę, tworząc warstwy ochronne i zapobiegając adhezji bakterii.
- funkcja O-glikanu może być specyficzna dla:
 - tkanki,
 - białka
 - miejsca,
 - a także może pośredniczyć w różnych funkcjach całego organizmu

O-glikomika

- O-glikomika, czyli profilowanie pełnego zestawu glikanów wytwarzanych przez określone typy komórek.
- Opracowano metody analizy porównawczej O-glikanów w próbkach złożonych
- Niestety O-glikomika jak dotąd nie przyczyniła się do potwierdzenia funkcjonalnych zaburzeń O-glikozylacji,

DLACZEGO?

O-glikozylacja jest silnie zależna od specyficznego miejsca przyłączenia, a O-glikany nie mają ogólnej określonej (wspólnej) sekwencji

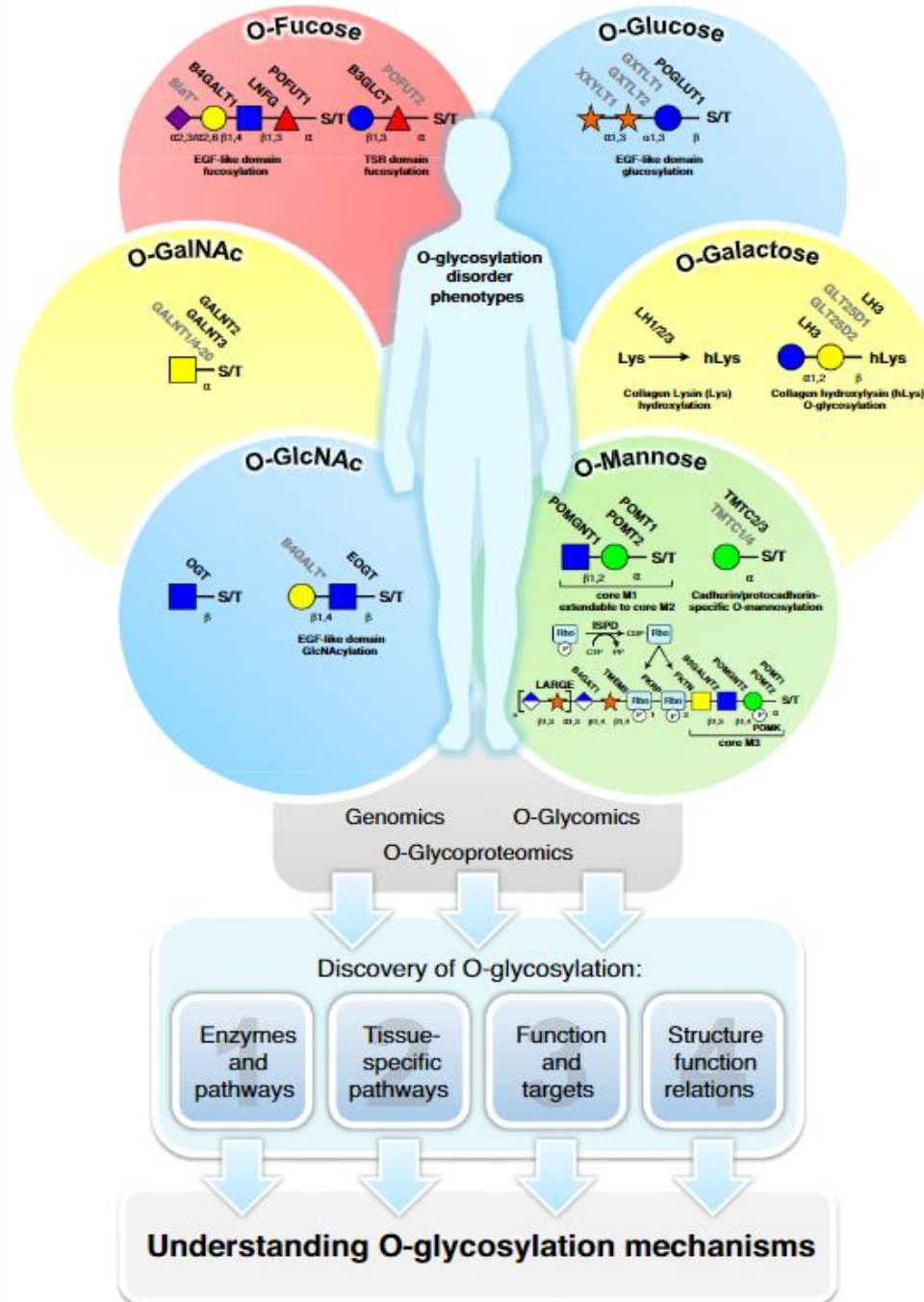
O-glikomika

Badanie zaburzeń O-glikanów:

1. doprowadziło do odkrycia nowych glikozylotransferaz i ścieżek metabolicznych,
2. zapewniło wgląd w tkankowo-specyficzne szlaki glikozylacji,
3. pomaga w odkrywaniu funkcji O-glikozylacji
4. Pomaga w wyjaśnieniu relacji struktura-funkcja O-glikozylotransferaz i nukleotydylotransferaz.

O-glycosylation disorders pave the road for understanding the complex human O-glycosylation machinery

Walinka van Tol^{1,2}, Hans Wessels² and Dirk J Lefeber^{1,2}



Zaburzenia glikozylacji (CDG – „*Congenital defects of glycosylation*”)

O-glikany są podłączane bezpośrednio do reszty serynowej lub treoninowej

Mucyny – najlepiej poznane glikoproteiny z wiązaniem O-glikozylowym z GalNAc na końcu; wielkocząsteczkowe glikoproteiny syntezowane przez komórki nabłonkowe; stanowią jeden z podstawowych składników gęstych wydzielin znajdujących się w organizmie. Ich rolą jest m.in. sygnalizacja komórkowa (czyli komunikacja, która ma na celu regulację i kontrolę procesów zachodzących w komórkach organizmu), a także tworzenie chemicznych barier

Glikozaminoglikany (GAGs) – długie, węglowodany nierozgałęzione zawierające reszty GalNAc lub GlcNAc połączone z kwasem glukuronowym (GlcA) lub resztą galaktozową.

5 typów O-glikozylacji, połączone O-wiązaniem z GlcNAc, -Gal, -Man, -Glc, – Fuc.

Zaburzenia O-mannozytacji

- *POMT1-CDG(MDDGA1,MDDGB1, MDDGC1)* – deficyt O-Mannozylotransferaza I białkowej (ER):

Obejmuje trzy formy dystrofii mięśniowej-dystroglikanopatii:

- typ A1 (MDDGA1) ciężka wrodzona postać z anomaliami mózgu i oka zwana zespołem Walkera i Warburga;
 - B1(MDDGB1) wrodzona postać z niepełnosprawnością intelektualną;
 - C1 (MDDGC1) łagodniejsza forma, dystrofia mięśniowa kończyny dolnej.
- *POMT2-CDG(MDDGA2,MDDGB2, MDDGC2)* oraz *POMGNT1-CDG* – deficyt O-mannozylotransferazy II białkowej oraz deficyt β -1,2 GlcNAc-transferaza I –główny objaw kliniczny - dystrofie mięśniowe
 - *B3GALNT2-CDG (ER)* - deficyt β -1,4 GlcNAc-transferazy II oraz *ISPD-CDG (A. Golgie)* – deficyt syntazy CDP-rybitolu – główne objawy to wrodzona dystrofia mięśniowa -dystroglikanopatia z zaburzeniami funkcji mózgu i oka.

Zróznicowany fenotyp kliniczny wymaga szerokiego panelu diagnostycznego w kierunku wrodzonych wad metabolizmu

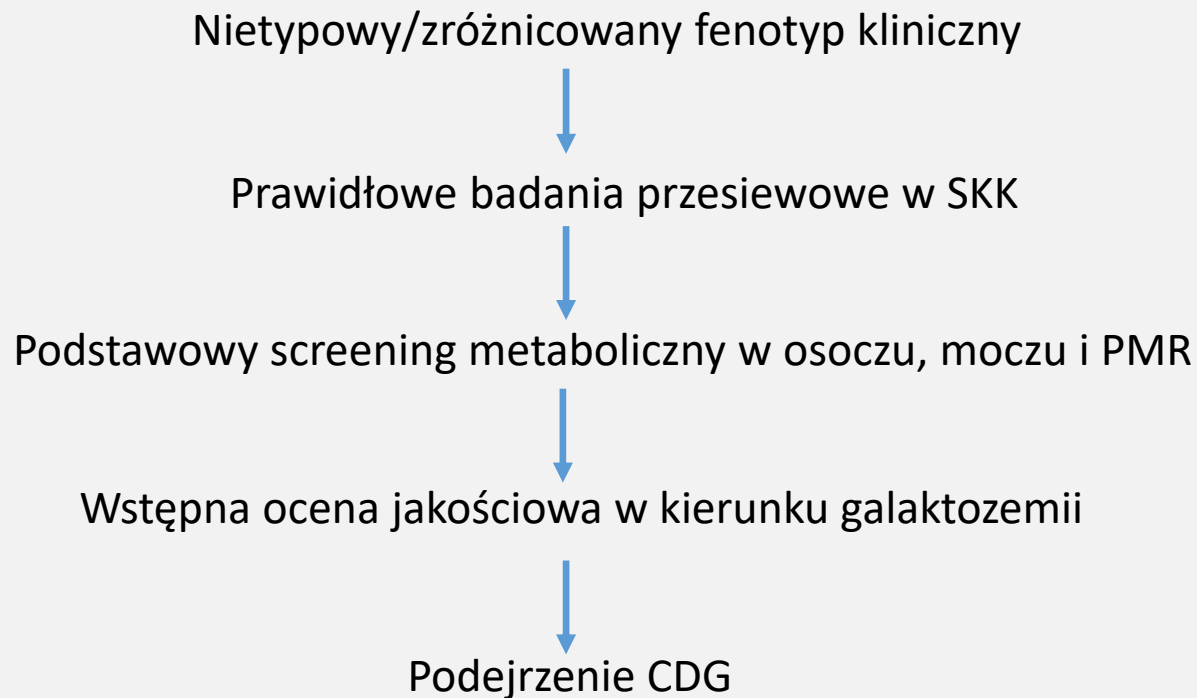
Podstawowe badania „przesiewowe” w kierunku wrodzonych wad metabolizmu

- wykluczenie zaburzeń metabolizmu aminokwasów
- wykluczenie zaburzeń beta-oksydacji kwasów tłuszczowych
- wykluczenie zaburzeń metabolizmu aminokwasów siarkowych, w tym metylacji
- wykluczenie galaktozemii i fruktozemii
- wykluczenie cytopatii mitochondrialnej

Defekty CDG

Defekty CDG-I - charakteryzują się niezajętymi miejscami glikozylacji na białkach, a zatem brakiem kompletnych N-glikanów,

Defekty CDG-II - wykazują niedojrzałe, skrócone glikany.



Analiza izoform transferryiny w surowicy metodą: IEF, EC, MS/MS

Materiał

➤ Sialotransferyny	surowica	-20	<u>krw na EDTA</u>
➤ Apolipoproteiny	surowica	- 20	
➤ Fosfomannomutaza	WBC, FB	- 20	
➤ Fosfomannoizomeraza	WBC, FB	- 20	



Analiza izoform transferryiny metodą tradycyjną i za pomocą spektrometrii mas

- Analiza izoform transferryiny polegająca na frakcjonowaniu białek w zależności od ich punktu izoelektrycznego (pI) za pomocą elektroforezy w żelu poliakrylamidowym – pokazuje rozkład poszczególnych frakcji w zależności od ilości reszt sjałowych w glikanach.
- Analiza izoform z wykorzystaniem spektrometru mas - badanie mające na celu analizę uwolnionych glikanów z białek surowicy, tak aby uzyskać bardziej szczegółowy wgląd w nieprawidłową strukturę glikanów.

Spektrometria mas umożliwia ocenę struktur glikanów, ukazując tym samym unikalne profile glikozylacji dla określonych defektów genetycznych.

Daje to możliwość włączenia spektrometrii mas do specjalistycznej diagnostyki laboratoryjnej i skrócenie czasu określenia ostatecznego rozpoznania.

Diagnostyka CDG I

I krok diagnostyczny:

Nieprawidłowy profil izoform transferyny w zaburzeniach glikozylacji typu I i typu II:

CDG I – charakteryzuje się wzrostem disialotransferyny i/lub asialotransferyny

CDG II – charakteryzuje się wzrostem trisialo, disialo, monosialo i/lub asialotransferyny

II krok diagnostyczny:

- ◆ Oznaczanie aktywności fosfomannomutazy w celu wykluczenia zaburzenia PMM2-CDG (CDG Ia), które jest najczęstszym zaburzeniem N-glikozylacji
- ◆ Oznaczenie aktywności izomerazy fosfomannozowej w celu wykluczenia zaburzenia PMI-CDG (CDG Ib), który jako jedyny defekt można leczyć mannozą z dobrym efektem

Wtórne zaburzenia N-glikozylacji

Najczęściej nieprawidłowy profil izoform transferyny obserwowany jest w przypadku:

- fruktozemii
- Galaktozemii (nie ma wpływu transfuzja krwi na wynik izoform transferyny)
- nadużywania alkoholu
- bakteryjnej sialidozy

Diagnostyka zaburzeń O-glikozylacji

- ◆ Oznaczenie apolipoproteiny CIII metodą IEF w surowicy APOC3 - białko zawierające rdzeń O-glikanu typu mucyny 1 przyłączonej do Thr
- ◆ Nieprawidłowy profil pokazuje wzrost monosialoAPOC3 z obniżonym disialo APOC3 (APOC3-1) lub wzrost asialoAPOC3 (APOC3-0)
- ◆ profil APOC3-2, wzrost disialoAPOC3 można zaobserwować u:
 - pacjentów w pierwszych miesiącach życia
 - pacjentów z ciężką dysfunkcją wątroby

Potwierdzenie genetyczne zaburzeń glikozylacji z nieprawidłowym profilem typu APOC3

Defekty łączące zaburzenia N i O-glikozylacji mogą dać nieprawidłowy profil z APOC3

Złożone zaburzenia łączące N- O-glikozylację charakteryzują się nieprawidłowym funkcjonowaniem szlaku wydzielniczego, takim jak nieprawidłowy ruch wsteczny lub nieprawidłowe zakwaszenie.

Objawy „cutis laxa” są wskazaniem do analizy genu ATP6VOA2

Do 6 miesiąca życia pacjenci mogą mieć prawidłową glikozylację ale z nieprawidłowym profilem z APOC3 metodą IEF

Brak rozpoznania jest wskazaniem do poszukiwania defektów w jednej z podjednostek COG (zamknięty oligomeryczny kompleks w ap. Golgiego) poprzez analizę mutacji w genach podjednostki COG1-8

Defekty O-glikozylacji białek

Podzielone są na podstawowy monosacharyd, który łączy glikany z białkami:

- Zaburzenie syntezy O-xylosyloglikanu EXT1/EXT2-CDG, CHSY1-CDG, B4GALT7-CDG
- Zaburzenie syntezy O-N-acetylogalaktozaminyloglikanu GALNT3-CDG
- Zaburzenie syntezy O-xylosylo-N-acetylo-galaktozaminyloglikanu SLC35D1-CDG
- Zaburzenie syntezy O-mannosyloglikanu POMT1/POMT2 – CDG, POMGNT1-CDG
- Zaburzenie syntezy O-fukosyloglikanu LFNG-CDG, B3GALT-CDG

Łańcuchy oligosacharydowe glikoprotein rozkładane są przy udziale hydrolaz lizosomalnych, tj:

- alfa-neuroaminidazy,
- beta-galaktozydazy,
- beta-heksozoaminidazy,
- alfa i beta-mannozydazy,
- alfa i beta- Nacetylogalaktozaminidazy,
- alfa-fukozydazy,
- aspartyloglukozaminidazy.

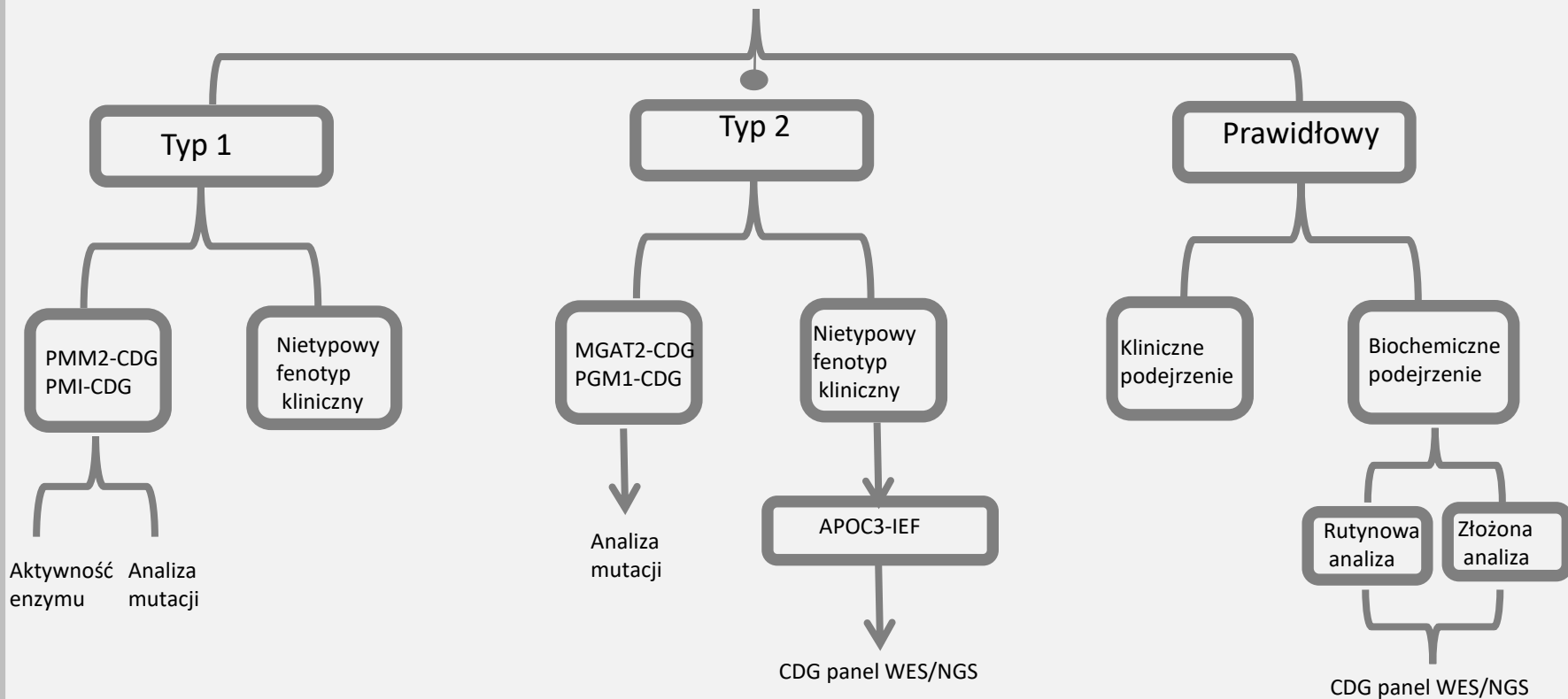
Genetycznie uwarunkowane niedobory aktywności tych enzymów przyczyniają się do upośledzenia rozkładu glikoprotein, co prowadzi do gromadzenia się w komórkach częściowo tylko rozłożonych glikoprotein, co przyczynia się do powstawania chorób:

- Mannozydozy
- Fukozydozy
- Sjalidozy
- Aspartyloglikozaminurię

Chorób dziedziczonych autosomalnie recesywnie, z dominującymi objawami neurologicznymi od postaci łagodnej do szybko postępującej, pogrubieniem rysów twarzy i powiększeniem narządów wewnętrznych

Kiedy pomyśleć o CDG?

Analiza izoform transferyny



Glikozylacja - podsumowanie

- Dogłębne scharakteryzowanie na dużą skalę dokładnej struktury glikanów nienaruszonych glikopeptydów nadal stanowi duże wyzwanie.
- Istotna jest identyfikacja zróżnicowanych O-glikopeptydów i interpretacja złożonej glikobiologii za pomocą nowych podejść bioinformatycznych.
- Połączona analiza danych N i O-glikopeptydowych i metadanych pacjentów jest dużym wyzwaniem w powiązaniu specyficznych dla białka zmian O-glikozylacji z fizjopatologią zaburzeń O-glikozylacji.

Wszystko to składa się na rozwój glikoproteomiki.

zrozumienie mechanizmów chorobowych zaburzeń N i O-glikozylacji przyczyni się do naszego zrozumienia mechanizmów, szczególnie O-glikozylacji, podczas gdy na odwrót, nowe „mechanistyczne” spostrzeżenia są wysoce uzasadnione do opracowania nowych strategii terapeutycznych.