

## POSZTTRANZLÁCIÓS MÓDOSÍTÁSOK:

### GLIKOZILÁLÁSOK

Dr. Pécs Miklós



Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem,  
Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

1

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Glikozilálás

A rekombináns fehérjék gyártásánál kulcskérdés, hogy a biológiai aktivitáshoz szükséges szénhidrát részek is megfelelően kialakuljanak. Ez alapvetően meghatározza az alkalmazható organizmus típusát is. Prokariótákat (pl. *E. coli*-t), amelyek nem képesek glikozilálni, csak olyan egyszerű rekombináns fehérjék gyártásánál használhatunk fel, amelyek nem tartalmaznak szacharidokat (pl. inzulin). Az élesztők képesek ugyan a termelt fehérjék glikozilálására, de túlnyomórészt mannanokat kapcsolnak rájuk, ami eltér a humán fehérjék mintázatától. Ahol a szénhidrát mintázat pontos reprodukciójára van szükség, ott emlős sejtvonalakat kell alkalmazni, még ha ezek a technológiák nehezebbek és költségesebbek is, mint a mikroorganizmusok tenyésztése.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

2

---

---

---

---

---

---

---

---

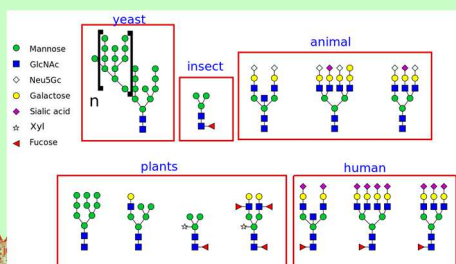
---

---

### Glikozilálás

Az eukarióta szervezetek különböző szénhidrátmintázatokat hoznak létre:

Baktériumok: nincs      Élesztők: sok mannóz egység  
Rovarok: fukozilált      Emlős sejtek: komplex „kétágú”  
Növényi sejtek: fukozilált és xilozilált



3

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## A glikozilálás típusai

A cukorrészek az aminosav lánc elkészülte után kerülnek rá a molekulára. Ez csak bizonyos funkciós csoporttal rendelkező aminosavakon lehetséges:

- N-glikozilálás → az Asn-X-Ser/Thr/Cys aminosav-hármas nitrogénjén, ahol X bármely aminosav lehet.
- O-glikozilálás → Ser vagy Thr-on.

A két glikozilálás más biokémiai mechanizmussal történik, más helyen a sejten belül.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

4

---

---

---

---

---

---

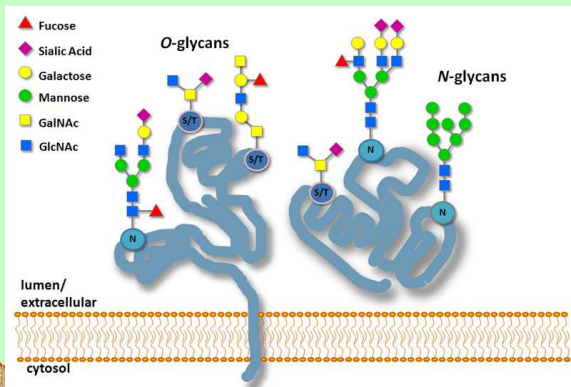
---

---

---

---

## N- és O-glikoziláció




---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## Glikozilálás és glikáció

A glikozilálás folyamata nem azonos a glikációval, ami szintén cukor molekula kapcsolódása a fehérjékhez. Az előbbi a fehérje érésének része és a sejt membránszerveiben enzimkatalízissel végbemenő viszonylag gyors folyamat.

A glikáció viszont egy spontán, nem-enzimes folyamat, ami utólag, a fehérje működése során, lassan, napok, hetek, hónapok alatt megy végbe. A redukáló cukrok (glükóz, fruktóz, galaktóz) aldehid csoportja Schiff-bázist képezve reagál a fehérjék valamely  $-NH_2$  csoportjával. Ez később lassan átalakul Amadori terméké. Példa: a hemoglobin A láncának N-terminális valinjára a glükóz kapcsolódik – a HgA1c szint arányos a háromhavi átlagos vércukor szinttel.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

6

---

---

---

---

---

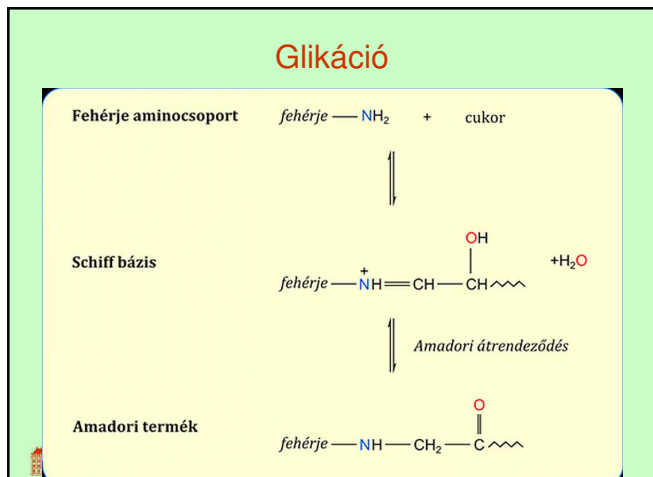
---

---

---

---

---




---

---

---

---

---

---

---

---

### N-glikozilálás

A fehérjékben előforduló Asn-X-Ser/Thr egységeknek mintegy kétharmad részéhez kapcsolódik cukorrész. A továbbiak sztérikus okok vagy az X aminosav savas jellege miatt fedetlenek maradnak.

A fehérjék szénhidrát részeik kialakulása során hosszú utat tesznek meg a sejten belül. A riboszómáról az ER lumenjébe kerülnek, onnan transzport vezikulákban végig haladnak a Golgi komplex cisz-, médium- és transz rétegein és csak ezután kerülnek a felhasználási helyükre.

Az útvonal minden állomásán lokalizált enzimek egy-egy átalakítást az oligoszacharidokon.

---

---

---

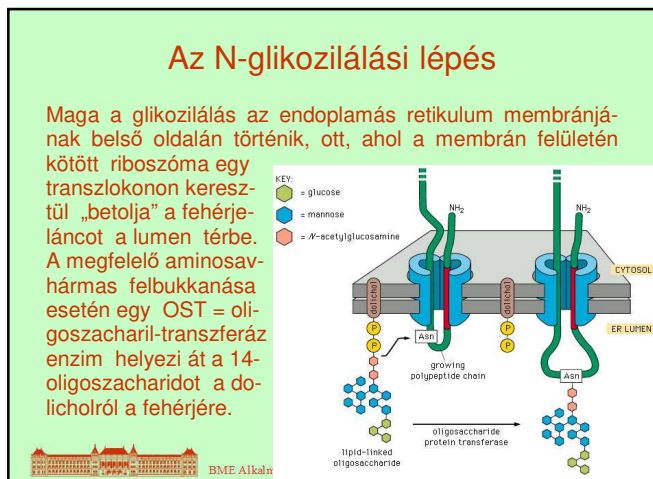
---

---

---

---

---




---

---

---

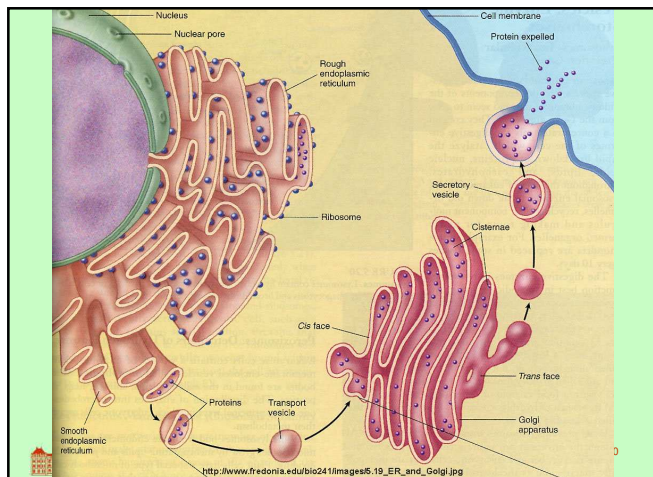
---

---

---

---

---




---

---

---

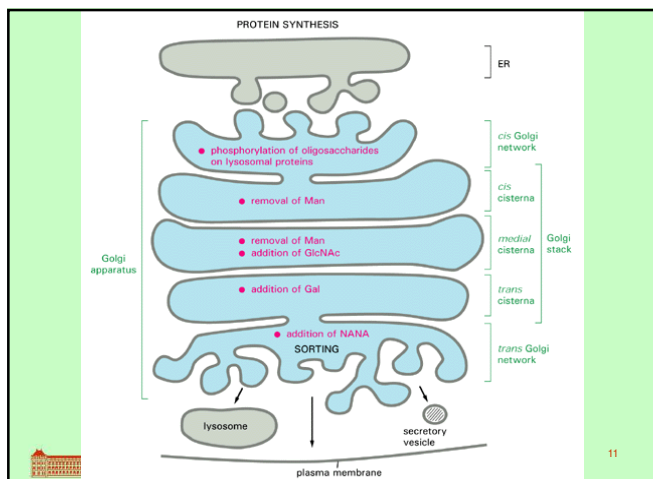
---

---

---

---

---




---

---

---

---

---

---

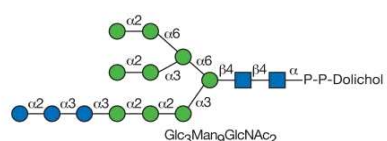
---

---

## N-glikozilálás

Az N-glikozilálás során először egy 14 cukoregységből álló szerkezet alakul ki, az ER membránjába horgonyozott dolichol (19 tagú poli-izoprénil pirofoszfát) templáton. Ez tevődik át a fehérjére és soklépéses érési folyamat eredményeképpen jön létre a végső, komplex forma.

- Galactose (Gal)
- N-Acetylgalactosamine (GalNAc)
- Galactosamine (GalN)
- Glucose (Glc)
- N-Acetylglucosamine (GlcNAc)
- ▲ Fucose (Fuc)
- Mannose (Man)
- N-Acetylmannosamine (ManNAc)
- ◆ N-Acetylneuraminic acid (Neu5Ac)




---

---

---

---

---

---

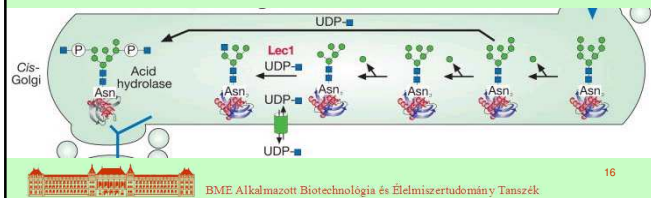
---

---



### Reakciók a Golgi komplexben

A cisz-Golgi rétegben a további bioszintézis eltérő az élesztőkben és az emlős sejtekben. Az élesztők további mannóz egységeket építenek hozzá, miáltal nagy, immunogén oligomannánok jönnek létre. Az emlős sejtekben viszont mannóz egységek hasadnak le a „komplex” és „hibrid” egységek kialakulása során.




---

---

---

---

---

---

---

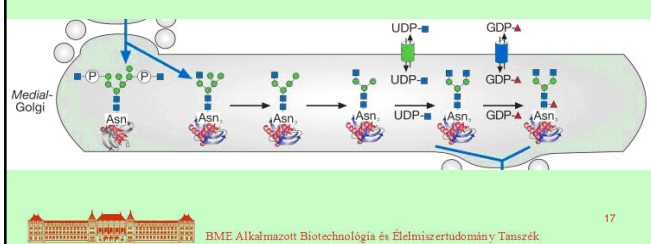
---

---

---

### Reakciók a Golgi komplexben

A Golgi komplex középső ciszternáiban a mannóz egységek száma tovább csökken (3) és megkezdődik az új egységek (N-acetil-glükózamin és fukóz) beépítése.




---

---

---

---

---

---

---

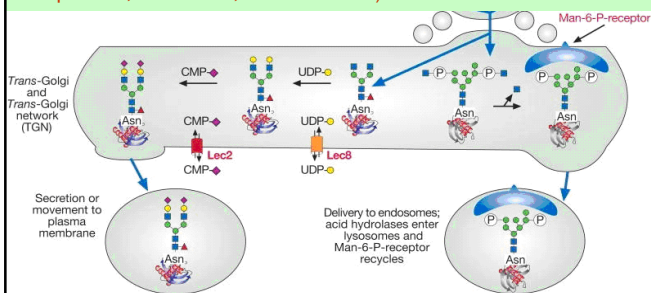
---

---

---

### Reakciók a Golgi komplexben

A transz-Golgi komplex fejezi be a szénhidrátláncok kialakítását galaktóz és N-acetil-neurámsav egységek rákapcsolásával. Innen a kész fehérjék többfelé távozhatnak (citoplazma, lizoszóma, extracelluláris)




---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Reakciók a Golgi komplexben

A bemutatott fő szintézisút végén a galaktóz láncvégű oligoszacharidok sokféleképpen „dekorálhatók” tovább:

The diagram illustrates four different ways to decorate a galactose-terminated oligosaccharide chain. The base chain consists of a galactose (green circle) linked to a glucose (blue square) via a  $\beta$ 4 linkage, which is further linked to another glucose (blue square) via a  $\beta$ 3 linkage, and finally to an asparagine (Asn, red triangle) via a  $\beta$ 6 linkage. The four decorated versions are: 1) Addition of a glucose (yellow circle) to the galactose via an  $\alpha$ 6 linkage. 2) Addition of a glucose (yellow circle) to the galactose via a  $\beta$ 4 linkage. 3) Addition of a glucose (yellow circle) to the galactose via an  $\alpha$ 3 linkage. 4) Addition of a glucose (yellow circle) to the galactose via a  $\beta$ 4 linkage, and a fucose (purple diamond) to the glucose at the  $\beta$ 3 position via an  $\alpha$ 6 linkage.

19

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### O-glikozilálás

Az O-glikozilálások egész más mechanizmussal mennek végbe. A kész fehérjelánc megfelelő OH csoportjára egyenként kapcsolódnak a cukrok UDP-aktivált formában. Az alap ez esetben az N-acetil-galaktózamin kötése és ehhez kapcsolódik egy galaktóz és/vagy egy N-acetil-glükózamin. Erre az elágazó triszacharidra épülhet még sokféle, változatos felépítésű cukor.

The diagram shows four types of extended O-glycan cores attached to a protein backbone. The backbone consists of a galactose (green circle) linked to a glucose (blue square) via a  $\beta$ 4 linkage, and an asparagine (Asn, red triangle) linked to the glucose via a  $\beta$ 6 linkage. The four types are: 1) Extended core 1: Galactose linked to a glucose via  $\alpha$ 3, and another glucose via  $\beta$ 4. 2) Extended core 2: Galactose linked to a glucose via  $\alpha$ 2, and another glucose via  $\beta$ 4. 3) Extended core 3: Galactose linked to a glucose via  $\alpha$ 2, and another glucose via  $\beta$ 4, and a glucose via  $\beta$ 6. 4) Extended core 4: Galactose linked to a glucose via  $\alpha$ 3, and another glucose via  $\beta$ 4, and a glucose via  $\beta$ 6. Each core is further decorated with various sugars and linkages, including a sulfate group ( $SO_4$ ) and a serine/threonine (Ser/Thr) residue.

BME Alkalmazott Biotech

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Vércsoportok

O-glikozilálások hordozzák a vércsoport tulajdonságokat is (glikoforinon).

The diagram shows the structure of Type-1 and Type-2 H, A, and B antigens. The base structure is a galactose (green circle) linked to a glucose (blue square) via a  $\beta$ 4 linkage, and another glucose (blue square) linked to the galactose via a  $\beta$ 3 linkage, and finally to an R group (yellow circle) via a  $\beta$ 6 linkage. The Type-1 antigens are: H antigen (galactose linked to glucose via  $\alpha$ 2), A antigen (galactose linked to glucose via  $\alpha$ 2 and another glucose via  $\alpha$ 3), and B antigen (galactose linked to glucose via  $\alpha$ 3). The Type-2 antigens are: H antigen (galactose linked to glucose via  $\alpha$ 2), A antigen (galactose linked to glucose via  $\alpha$ 2 and another glucose via  $\alpha$ 3), and B antigen (galactose linked to glucose via  $\alpha$ 2 and another glucose via  $\alpha$ 3).

BME Alkalmaz

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---