

Glikozylacja białek w infekcjach bakteryjnych i wirusowych

STRESZCZENIE

Glikozylowane białka pełnią kluczową rolę na różnych etapach infekcji bakteryjnych i wirusowych. Glikozylacja jest procesem powszechnym w obrębie wszystkich domen życia. Początkowo proces ten przypisywano wyłącznie organizmom należącym do Eukariota, u których synteza zachodzi w szorstkiej siateczce śródplazmatycznej i aparacie Golgiego. Z czasem wykazano, że wiele bakterii i wirusów posiada N-glikany i O-glikany na swojej powierzchni. Prokariota są w stanie samodzielnie przeprowadzać proces glikozylacji, natomiast wiriony pozyskują glikany przejmując maszynę komórkową gospodarza. Patogeny wykorzystują glikoproteiny do regulacji adhezji do infekowanych komórek (wirus Ebola), ochrony epitopów wiążących się z receptorami (HIV) i unikania wykrycia ze strony układu odpornościowego na zasadzie molekularnej mimikry (*Helicobacter pylori*, *Haemophilus influenzae*). Skuteczna infekcja zależy również od glikanów powierzchniowych gospodarza, głównie przy wyznaczaniu tropizmu tkankowego wirusów (wirusy grypy typu A) oraz ruchliwości ślizgowej bakterii (*Mycoplasma sp.*). Modyfikacja struktury glikanów, istotnych na różnych poziomach cyklu infekcyjnego, stwarza nowe możliwości terapeutyczne, które pozwolą na ograniczenie rozprzestrzeniania się chorób zakaźnych.

WPROWADZENIE

Glikozylacja należy do najbardziej złożonych modyfikacji potranslacyjnych białek. Spotykana jest w obrębie wszystkich domen życia. Proces ten nie przebiega z udziałem matrycy lub szablonowych szlaków komórkowych – w przeciwieństwie do biosyntezy – co przekłada się na większe zróżnicowanie produktów końcowych. Modyfikacje pojedynczych monosacharydów na drodze izomerii konfiguracyjnej, zmian w wiązaniu glikozydowym (α lub β), kolejności i ilości dodawania kolejnych reszt cukrowych, a także tworzenie rozgałęzień decydują o dużej różnorodności struktur oligosacharydowych (glikanów) dołączonych do białek [1,2].

Obecność glikokoniugatów, do których należą glikozylowane białka i lipidy, jest niezbędna do przeżycia organizmów. Zmiany w obrębie ich struktury mogą powodować upośledzone funkcjonowanie komórek i w konsekwencji prowadzić do rozwoju różnych chorób. W warunkach fizjologicznych glikany odpowiadają za właściwości fizykochemiczne białek, w tym kontrolowanie prawidłowego zwijania się łańcuchów polipeptydowych i utrzymania ich stabilnej struktury przestrzennej. Część cukrowa reguluje sygnalizację komórkową inicjowaną przez wiązanie błonowego glikokoniugatu z ligandem [3].

Oligosacharydy są niezbędne także w interakcjach patogen-gospodarz. Bakterie i wirusy wykorzystują reszty cukrowe białek do modulacji wirulencji oraz zakaźności. Szybkie tempo mutacji patogenów, które jest źródłem nowych wariantów, oprócz zmian w części białkowej, odpowiada pośrednio za wykształcanie nowych form glikanów. Zapewnia im to skuteczną ochronę przed systemem immunologicznym i zwiększa szanse na przeżycie [3].

GLIKOZYLACJA BIAŁEK

Przez długi czas uważano, że proces glikozylacji zachodzi tylko u Eukariota. Obecnie nie ulega wątpliwości, że zarówno w komórkach bakteryjnych, jak również *Archaea* białka są modyfikowane przez dołączenie reszt cukrowych w procesie N- i O-glikozylacji [4]. Ze względu na różnice w budowie komórek eukariotycznych i prokariotycznych, glikozylacja białek zachodzi w odmienny sposób [5], co przedstawiono schematycznie na rycinie 1 i opisano poniżej.

lic. Karolina Kot,

dr hab. Ewa Pocheć✉, prof. UJ

Zakład Biochemii Glikokoniugatów, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Wydział Biologii, Uniwersytet Jagielloński

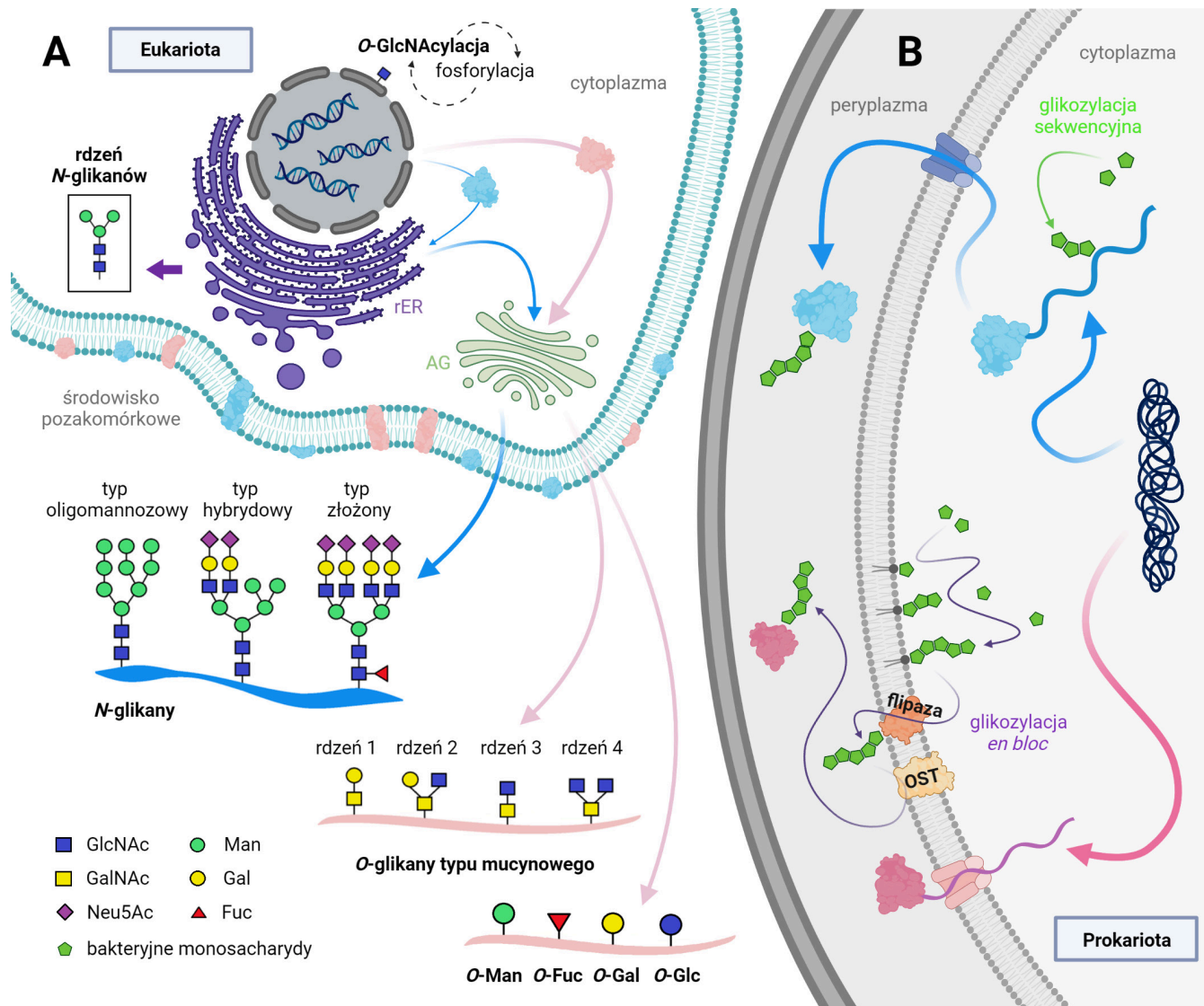
https://doi.org/10.18388/pb.2021_488

✉ autor korespondujący: ewa.pohec@uj.edu.pl

Słowa kluczowe: glikozylacja, bakterie, wirusy, mimikra molekularna, tropizm tkankowy, SARS-CoV-2

Wykaz skrótów: ACE2 (ang. *angiotensin converting enzyme 2*) – enzym konwertujący angiotensynę 2; DC-SIGN (ang. *dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing non-integrin*) – lektyna typu C nie-integryna zlokalizowana na komórkach dendrytycznych; GalNAc (ang. *N-acetylgalactosamine*) – N-acetylogalaktozamina; GlcNAc (ang. *N-acetylglucosamine*) – N-acetyloglukozoamina; GP (ang. *glycoprotein*) – glikoproteina; HA (ang. *hemagglutinin*) – hemaglutynina; NAb (ang. *neutralizing antibody*) – przeciwciało neutralizujące; Neu5Ac (ang. *N-acetylneuraminic acid*) – kwas N-acetylneuraminowy; PAMP (ang. *pathogen associated molecular pattern*) – wzorzec molekularny związany z patogenami; SA (ang. *sialic acid*) – kwas sjałowy; Siglec (ang. *sialic acid-binding immunoglobulin-type lectins*) – immunoglobulinopodobna lektyna wiążąca kwas sjałowy

Podziękowania: Ryciny oraz streszczenie graficzne wykonano przy użyciu programu Bio-Render.com.



Rycina 1. Porównanie przebiegu glikozylacji w komórkach (A) eukariotycznych i (B) prokariotycznych. Synteza N-glikanów u Eukariota początkowo przebiega w szorstkiej siateczce śródplazmatycznej (rER), a następnie kontynuowana jest w cysternach aparatu Golgiego (AG), gdzie powstają dojrzałe struktury oligosacharydowe, w obrębie których wyróżniamy trzy podstawowe typy: oligomannozowy, hybrydowy i złożony. Proces O-glikozylacji w komórkach eukariotycznych zachodzi w AG. Wśród O-glikanów wyróżniamy typ mucynowy inicjowany przyłączeniem reszty GalNAc do łańcucha polipeptydowego obejmujący cztery rdzenie podlegające dalszej elongacji. Pozostałymi typami są O-fukozylacja, O-mannozylicja, O-glukozylicja i O-galaktozylicja. Szczególnym typem jest O-GlcNAcylicja konkurująca z fosforylacją o ściśle określoną pozycję w łańcuchu polipeptydowym białek jądrowych. Glikozylacja u Prokariota przebiega dwoma odrębnymi szlakami. Wyróżnia się glikozylację sekwencyjną, gdzie struktura oligosacharydowa formowana jest na białku w cytoplazmie, a następnie przenoszona w przestrzeń peryplazmy za pomocą transporterów. Drugą drogę powstania glikoprotein bakteryjnych stanowi glikozylacja *en bloc* wykorzystująca nośniki lipidowe oraz kompleks oligosacharydylotransferazy polipeptydowej (OST) i flipazę do syntezowania glikanów.

GLIKOZYLCJA U EUKARIOTA

Glikozylacja u organizmów eukariotycznych przebiega w szorstkiej siateczce śródplazmatycznej (rER) oraz cysternach aparatu Golgiego (AG). Modyfikacja ta jest procesem enzymatycznym wymagającym udziału enzymów z grupy glikozylotransferaz, odpowiedzialnych za kowalencyjne dołączanie reszt cukrowych i wiązanie całych oligosacharydów do części niecukrowych oraz glikozydaz niezbędnych przy hydrolizie wiązań glikozydowych między monosacharydami. Najczęściej syntezowane są N-glikany oraz O-glikany, których budowa zależy głównie od ekspresji i aktywności enzymatycznej białek z tych dwóch grup [6].

N-glikozylacja dzieli się na dwie fazy. Pierwszy etap polegający na syntezie wspólnego u wszystkich Eukariota,

prekursora oligosacharydowego osadzonego na pirofosforanie dolicholu, przebiega w szorstkiej siateczce śródplazmatycznej. Początkowo cały proces prowadzony jest od strony cytoplazmatycznej rER, a dalsza obróbka ma miejsce w jej świetle. Ukształtowana dojrzała forma prekursora przenoszona jest *en bloc* na asparaginę (Asn) w łańcuchu polipeptydowym w trakcie syntezy białka (kotrancylnie) i poddawana dalszym modyfikacjom przez α -glukozydazy i mannozydazy. Częścią niezmienną wszystkich struktur N-glikanów jest wspólny rdzeń pentasacharydowy N-glikanów o strukturze $\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3$ (GlcNAc, N-acetyloglukozamina; Man, mannoza)) [6,7].

Drugi etap N-glikozylacji jest zależny od wielu czynników m.in. gatunku organizmu, typu komórki lub białka. Modyfikacje części zewnętrznej rozpoczynają się od prze-

transportowania powstałego oligosacharydu do cystern AG, gdzie struktura poddawana jest obróbce enzymatycznej w celu uzyskania dojrzałych form *N*-glikanów. Zahamowanie dalszej ingerencji enzymów skutkuje powstaniem glikanów typu oligomannozowego (wielomannozowego), które do rdzenia w części zewnętrznej mają dołączone wyłącznie reszty Man. Najbardziej przekształcone w stosunku do prekursora oligosacharydowego są glikany typu złożonego (kompleksowego), do czego wymagana jest jako pierwsza aktywacja mannozydazy II. Charakteryzują się one rozbudowanymi antenami, dzięki dołączeniu reszt GlcNAc, umożliwiających dalszą elongację. Typ hybrydowy o pośredniej strukturze powstaje przy braku aktywności mannozydazy II. Skutkuje to pozostawieniem w części zewnętrznej reszt Man na ramieniu Man α 1,6 rdzenia *N*-glikanów, przy jednoczesnym wydłużeniu drugiego ramienia Man α 1,3 (Ryc. 1A) [6,7].

O-glikozylacja zachodzi w cysternach AG, a cały proces rozpoczyna się po zakończeniu translacji. Modyfikacja ta polega na przyłączeniu reszty monosacharydu wiązaniem *O*-glikozydowym do grupy hydroksylowej seryny (Ser) lub treoniny (Thr) w łańcuchu polipeptydowym. Najczęściej jako pierwsza do białka wiązana jest *N*-acetylogalaktozamina (GalNAc), której rozbudowa prowadzi do syntezy *O*-glikanów typu mucynowego. Wyróżniamy cztery podstawowe struktury rdzeniowe *O*-glikanów (rdzeń 1–4) podlegające elongacji o kolejne reszty cukrowe. W przeciwieństwie do *N*-glikanów, glikozydazy nie usuwają raz dołączonych monosacharydów do *O*-glikanów. Wyjątkowy rodzaj *O*-glikozylacji stanowi proces *O*-GlcNAcytacji, w którym dochodzi do powstawania i hydrolizy wiązań *O*-glikozydowych między pojedynczą resztą GlcNAc a białkami jądrowymi lub mitochondrialnymi. Dzięki dynamiczności i odwracalności wiązania reszt GlcNAc, *O*-GlcNAcytacja pełni wiele istotnych funkcji regulatorowych i stanowi proces konkurencyjny w stosunku do fosforylacji, która odbywa się w tym samym miejscu łańcucha polipeptydowego [6,7]. W obrębie *O*-glikozylacji wyróżnia się też *O*-fukozylację, *O*-mannozylację, *O*-glukozylicję i *O*-galaktozylację, polegające na dołączaniu do białka jako pierwszego monosacharydu, odpowiednio reszty fukozy (Fuc), Man, glukozy (Glc) i galaktozy (Gal) (Ryc. 1A) [6].

GLIKOZYLACJA U PROKARIOTA

Komórki prokariotyczne nie posiadają organelli komórkowych, w których u organizmów eukariotycznych przeprowadzany jest proces glikozylacji. W toku ewolucji bakterie wykształciły odrębne sposoby syntezy glikokoniugatów, a docelowym miejscem tego procesu stała się cytoplazma. Co ważne, większe zróżnicowanie i silniejsza zmienność pod względem struktury oligosacharydów występuje u Prokariota, zapewniając im lepsze zdolności adaptacyjne oraz przeżywalność [5].

W procesie glikozylacji u Prokariota wyróżniamy dwie odrębne drogi syntezy glikanów. Pierwszy szlak zwany glikozylacją sekwencyjną cechuje się przyłączaniem reszt cukrowych bezpośrednio do białek zlokalizowanych w cytoplazmie. Następnie dochodzi do przetransportowania kompletnych struktur do peryplazmy przy pomocy trans-

blonowych transporterów. Proces formowania szkieletu oligosacharydowego zachodzi zgodnie z regułą: każdy dołączany monosacharyd staje się elementem wyjściowym dla obróbki przez kolejny ściśle określony enzym. Mechanizm *en bloc* stanowi drugą drogę powstawania glikanów i wykorzystuje nośniki lipidowe, które, w przeciwieństwie do organizmów eukariotycznych, są związkami nienasyconymi, np. pirofosforan undekaprenyłu. Dojrzały oligosacharyd przenoszony jest przez błonę cytoplazmatyczną na wcześniej zsyntezowane białko umieszczone w przestrzeni peryplazmatycznej za pomocą kompleksu oligosacharydylo-transferazy polipeptydowej oraz flipazy. Bakterie podczas glikozylacji wykorzystują unikatowe reszty cukrowe m.in. kwas pseudaminowy (Pse), kwas legionaminowy (Leg), kwas ketodeoksyoktonowy. Nie wytwarzają struktur rdzeniowych, co pozwala im na dowolne kształtowanie glikanów od samego początku procesu, aż do ulokowania ich w peryplazmie (Ryc. 1B) [8,9].

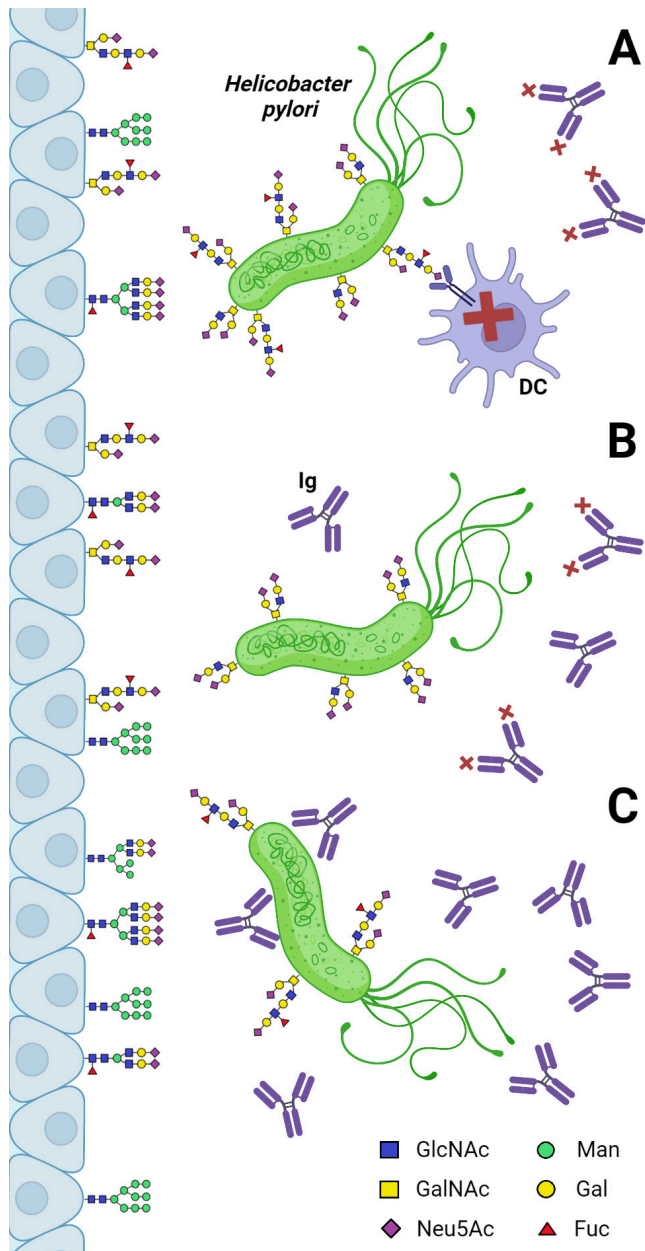
Glikokoniugaty bakteryjne, w obrębie których dominują *O*-glikany, zlokalizowane są głównie na powierzchni komórki. Organizmy prokariotyczne nie przeprowadzają procesu *O*-GlcNAcytacji w sposób klasyczny z uwagi na brak jądra komórkowego i mitochondriów. Dołączona reszta GlcNAc może być rozbudowywana o kolejne monosacharydy [5].

GLIKOZYLCJA BIAŁEK BAKTERYJNYCH

MOLEKULARNA MIMIKRA PATOGENÓW BAKTERYJNYCH

Bakterie patogenne wykształciły wiele strategii w celu unikania odpowiedzi immunologicznej gospodarza. Jedną z nich jest upodabnianie swojego wzoru glikozylacji do struktur charakterystycznych dla gospodarza, co określane jest jako mimikra molekularna. Zmodyfikowana glikozylacja białek powierzchniowych bakterii zwiększa szanse na przetrwanie i polepsza zdolności wirulentne. Ludzki patogen *Helicobacter pylori*, bytujący w dwunastnicy i żołądku, modyfikuje strukturę swoich lipopolisacharydów (LPS), należących do wzorców molekularnych związanych z patogenami (PAMP), w miejscu antygeny O (Ryc. 2). Dołączone zostają oligosacharydowe układy grupowe Lewis x i y (Le^x i Le^y) lub rzadziej obserwowane warianty Lewis a i b (Le^a i Le^b) [10]. Powstałe struktury bakteryjne naśladują glikany obecne na ludzkich komórkach, co skutecznie chroni bakterie przed wykryciem ze strony układu immunologicznego. Ponadto zmodyfikowane *O*-glikany *H. pylori* wchodzi w interakcję z lektyną typu C zlokalizowaną na komórkach dendrytycznych (DC-SIGN) gospodarza, co stanowi sygnał wygaszania narastającej odpowiedzi zapalnej. Wzór glikozylacji LPS dostosowywany jest do indywidualnego żywiciela ludzkiego dzięki zmiennej ekspresji bakteryjnych fukozylotransferaz. W efekcie infekcja nabiera ciężkiego i przewlekłego stanu, trudnego do wyleczenia [11].

Odminnym sposobem uzyskania zjawiska molekularnej mimikry jest przejmowanie dojrzałych glikanów lub pojedynczych monosacharydów od gospodarza. Nie wszystkie bakterie potrafią syntezować kwas sialowy (SA), który wytwarzają Eukariota. W przebiegu infekcji stanowi on kluczowy monocukier odpowiedzialny za hamowanie układu



Rycina 2. Schemat ilustrujący rolę molekularnej mimikry *Helicobacter pylori* w przebiegu infekcji. (A) Patogeny eksponujące struktury oligosacharydowe naśladujące układ grupowy Lewis obecny na komórkach gospodarza, unikają wykrycia przez system immunologiczny. Zmodyfikowane O-glikany *H. pylori* oddziałują z DC-SIGN na komórkach dendrytycznych wyciszając odpowiedź immunologiczną. (B) Bakterie eksponujące niezmodyfikowane lipopolisacharydy wykazują słabszą ochronę przed wiązaniem się przeciwciał i neutralizacją. (C) Patogeny wykazujące obecność O-glikanów naśladujących struktury Lewis, bytujące u gospodarzy ich pozbawionych, najsilniej aktywują system odpornościowy. Rycinę opracowano w programie BioRender.com.

immunologicznego przez interakcje z ludzkimi lektynami [12]. *Haemophilus influenzae*, kolonizujący górne drogi oddechowe, wykorzystuje sjalowane lipooligosacharydy należące do PAMP, zwiększając swoją przeżywalność i wirulencję. Patogen wychwytuje ludzkie SA w formie niezwiązanej, sam będąc niezdolnym do ich syntezy. Co istotne, deszalicacja glikanów bakterii skutkuje utratą zjadliwości i gorszą zdolnością do tworzenia biofilmu. Zależność ta może mieć w przyszłości znaczenie przy opracowaniu nowych terapii przeciw *H. influenzae* [13].

Ekspresja sjalowanych glikanów może dotyczyć także struktur niebędących PAMP. Bakteria przewodu pokarmowego *Streptococcus agalactiae* wykazuje obecność reszt SA na swoich polisacharydach otoczkowych. Bakteria ze sjalowanymi polisacharydami uzyskuje możliwość oddziaływania z lektynami Siglec-9, w efekcie skutecznie upośledzając funkcjonowanie ludzkiego neutrofila. Dochodzi wówczas do zmniejszenia tworzenia neutrofilowych sieci zewnątrzkomórkowych (NET) i hamowania wybuchów tlenowych neutrofilu, przy jednoczesnym wzroście produkcji cytokin przeciwzapalnych [14].

STABILIZACJA BAKTERYJNYCH WICI

Zdolność do wykazywania aktywnego ruchu umożliwia organizmom prokaryotycznym eksplorowanie nisz w celu ich potencjalnego skolonizowania. Wić bakteryjna pozwala na sprawną chemotaksję, nawet w odległe rejony, a także uniezależnienie się od warunków środowiskowych siedlisk m.in. ubogich w substancje odżywcze na skutek rozrostu biofilmu. Wykształcenie sprawnych organelli ruchu, dających możliwość ucieczki przed systemem immunologicznym gospodarza, jest szczególnie ważna dla patogenów. Bakterie te szybciej infekują nowych żywicieli. Dodatkowo wić pełni rolę sondy wnikażącej pomiędzy komórki żywiciela, ułatwiając adhezję i zakładanie nowych kolonii bakteryjnych [15].

Ludzkie patogeny z rodzaju *Campylobacter* wykazują obecność glikanów na powierzchni swoich wici. Bakterie potrafią syntezować ujemnie naładowane monosacharydy o podobnych właściwościach do eukaryotycznych kwasów sjalowych. Należą do nich kwas pseudaminowy i kwas legionaminowy oraz ich pochodne. Badania potwierdziły obecność dziewiętnastu miejsc O-glikozytacji zlokalizowanych na białkach wici *Campylobacter*. Zróżnicowanie strukturalne O-glikanów wici jest niezwykle rozległe, zarówno w obrębie tego gatunku, jak i pomiędzy szczepami bakteryjnymi [16].

Obecność oligosacharydów w obrębie wici jest obligatoryjna do zachowania pełnej funkcjonalności ruchowej bakterii z rodzaju *Campylobacter*. Brak O-glikanów doprowadza do ustania syntezy włókien wiciowych. Skutkuje to całkowitą niezdolnością bakterii do przemieszczania się. Dalsza kolonizacja układu pokarmowego i sprawna ucieczka przed leukocytami gospodarza staje się niemożliwa, co w efekcie hamuje sukcesywną inwazję patogenów. Dodatkowo modyfikacja samej struktury oligosacharydowej przekłada się na właściwości wici. Szczep *C. jejuni* 81-176 wykazuje dysfunkcyjność w syntezowaniu pochodnej Pse, która zastępowana jest przez pochodną Leg. Bakteria zachowuje wówczas sprawność ruchową wici kosztem zmniejszonej adhezji do powierzchni komórek żywiciela. Kluczowe znaczenie O-glikozytacji białek wici potwierdzają także mutanty *C. coli*, w przypadku których zahamowanie tego procesu prowadzi do wad włókien wiciowych [17].

Glikokoniugaty wici bakteryjnych są niezwykle istotne dla zachowania stabilności włókien budujących to organelum. Niekiedy dochodzi do sytuacji, gdy pomimo wykształ-

cenia się prawidłowej wici, jest ona nieaktywna z powodu defektów w strukturze lub braku O-glikanów. Niedobór oligosacharydów również wpływa na splątanie się wici wynikające z braku wzajemnego odpychania się reszt SA [18]. Ponadto podczas ochrony innych białek bakteryjnych wykorzystywane jest fizyczne oddziaływanie tych cukrów z enzymami. N-glikany maskują część białkową patogenów układu pokarmowego przed działaniem proteaz jelitowych w trakcie ich inwazji. Mutanty *C. jejuni* nie posiadające N-glikanów na powierzchni białek błonowych są bardziej narażone na destrukcyjny wpływ enzymów gospodarza [19].

RUCHLIWOŚĆ ŚLIZGOWA BAKTERII

Patogeny bakteryjne należące do rodzaju *Mycoplasma* wykształciły unikalny sposób poruszania się podczas infekcji, wykorzystując glikany białek błonowych gospodarza. Bakterie nie posiadają peptydoglikanu w ścianie komórkowej, jak pozostałe organizmy prokariotyczne, co czyni je wyjątkowymi pod względem zdolności do manipulowania ogólnym kształtem swojej komórki. Podczas ruchu tworzone są wypustki błonowe wyposażone w białka adhezyjne z rodziny Gli (głównie Gli349 i Gli521). Wiążą się one ze sjałowanymi oligosacharydami na komórkach gospodarza, przyciągając bakterie w określone miejsce po zakrzywionym torze. Ruchliwość ślizgowa nie wymaga posiadania wici ani syntezy własnych glikokoniugatów [20].

Bakterie z rodzaju *Mycoplasma* cechuje selektywność powinowactwa do struktur oligosacharydowych na wzór wirusowego tropizmu tkankowego. Patogeny wiążą się swoimi wypustkami błonowymi z kwasem N-acetyloneuraminowym (Neu5Ac) (najczęściej występującym SA u ludzi) połączonym określonym wiązaniem glikozydowym z resztą glikanu gospodarza. Struktury posiadające sekwencje Neu5Ac α 2,3-LacNAc (LacNAc, N-acetylolaktozamina, disacharyd Gal β 1,3/4GlcNAc) są preferowane przez *M. pneumoniae* podczas infekcji ludzkich płuc, co przypomina zachowanie wirusa ptasiej grypy. Natomiast do motywu Neu5Ac α 2,6-Gal (Gal, galaktoza) ma powinowactwo *M. mobile* w skrzelach ryb słodkowodnych, naśladując preferencje oligosacharydowe ludzkiego wirusa grypy [21].

ADHEZJA BAKTERII DO KOMÓREK GOSPODARZA

Kolonizowanie błon śluzowych wymaga silnego związania się do powierzchni komórek gospodarza. Bakterie, stanowiące mikrobiotę jamy ustnej, wykorzystują wiele białek umożliwiających im stabilną adhezję do podłoża. *Streptococcus pneumoniae* zaliczany jest do powszechnych i nieszkodliwych kolonizatorów nosogardzieli u ludzi, powoduje czasami łagodne infekcje w postaci zapalenia ucha środkowego. Dzięki O-glikozytacji białek bogatych w powtórzenia seryny (SRRP) staje się niebezpiecznym patogenem chorobotwórczym dolnych dróg oddechowych. Bakteria wykorzystuje białko SRRP jako adhezynę, co ułatwia jej inwazję do płuc poprzez oddziaływanie z keratyną 10 ulegającą ekspresji m.in. w pneumocytach. Mutacje miejsc glikozytacji w SRRP, skutkujące brakiem O-glikanów, zmniejszają znacząco obciążenie *S. pneumoniae* w krwi i na powierzchni nabłonków oddechowych z wyjątkiem nosogardzieli. O-wiązane oligosacharydy ułatwiają adhezję bakterii do

pneumocytów, a także regulują tworzenie biofilmu, zwiększając zdolność do autoagregacji [22].

GLIKOZYLACJA GOSPODARZA JAKO REGULATOR INFEKЦИИ FAKULTATYWNYCH WEWNĄRZKOMÓRKOWYCH PATOGENÓW BAKTERYJNYCH

Salmonella enterica, serowar Typhi to patogen bytujący na nabłonkach jelit i wywołujący dur brzuszny. Bakteria ta również fakultatywnie pasożytuje wewnątrz komórek gospodarza. Syntezowane egzotoksyny, składające się z podjednostek A i B, umożliwiają *S. enterica*, Typhi zwiększenie swojej wirulencji. Podjednostka A wykazuje aktywność enzymatyczną, natomiast podjednostka B odpowiada za rozpoznawanie i wiązanie się ze sjałowanymi glikanami receptorów komórkowych. Co ciekawe, patogen wykazuje powinowactwo tylko względem Neu5Ac. Oligosacharydy zawierające reszty kwasu N-glikoliloneuraminowego (Neu5Gc) blokują skuteczną infekcję komórek, uniemożliwiając namnażanie się bakterii w ich wnętrzu, a także na powierzchniach nabłonków jelitowych [23]. *Salmonella enterica*, serowar Typhimurium wykorzystuje toksyny o podobnej budowie podjednostek w stosunku do serowaru Typhi, ale wywołuje salmonellozę. Patogen przyłącza się do glikanów gospodarza zawierających zarówno reszty Neu5Ac i Neu5Gc. *S. enterica*, Typhimurium wiąże się z glikotopem Neu5Ac α 2,6-Gal/GalNAc, do którego *S. enterica*, Typhi nie wykazuje powinowactwa. Dzięki temu *S. enterica*, Typhimurium szybciej infekuje komórki doprowadzając do posocznicy [24].

MODULOWANIE MASZYNERII KOMÓRKOWEJ GOSPODARZA PRZEZ BAKTERYJNE EFEKTORY

Większość patogenów bakteryjnych stanowią pasożyty zewnątrzkomórkowe. Chorobotwórcze szczepy enteropatogennej *Escherichia coli* w celu zwiększenia swoich szans na przetrwanie wykształciły system wydzielniczy typu III. Na drodze sekrecji bakterie przekazują białka efektorowe do komórek gospodarza modulując jego wewnątrzkomórkowe szlaki sygnałowe. Efektory patogennej *E. coli* działają identycznie jak transferaza N-acetyloglukozoaminy (OGT) powodując GlcNAcyłację domen śmierci receptora czynnika martwicy nowotworu R1 (TNF-R1), a także białka domeny śmierci związanego z TNF-R1 (TRADD), białka domeny śmierci związanego z FAS (FADD) oraz kinazę białkową oddziałującą z receptorem 1 (RIPK1). Organizmy eukariotyczne wykorzystują apoptozę, inicjowaną np. przez wiązanie TNF α do receptora, do ograniczania zasięgu infekcji bakteryjnych. O-GlcNAcyłacja TNF-R1 skutkuje zablokowaniem powstania kompleksu sygnalizującego apoptozę (DISC) i hamowaniem apoptozy komórek żywiciela oraz tłumieniem odpowiedzi zapalnej, co pozwala na przeżycie i rozprzestrzenianie w organizmie żywiciela [4].

Legionella pneumophila należy do nielicznych bakterii pasożytujących wewnątrz komórek gospodarza. Wywołuje ona chorobę legionistów. Patogen atakuje makrofagi wnikać do ich wnętrza i syntezując ponad trzysta białek efektorowych uwalnianych systemem wydzielniczym typu IV. Glikozylotransferaza *Legionella* 1 jest efektorom dołączającym pojedynczą resztę Glc do Ser53 eukariotycznego czyn-

nika elongacji 1A. Skutkuje to jego inaktywację, powodując śmierć komórki gospodarza. W ten sposób *L. pneumophila* uwalnia się z komórki w celu kolonizacji nowej niszy [4].

GLIKOZYLACJA BIAŁEK WIRUSÓW

Wirusy to bezwzględnie wewnątrzkomórkowe pasożyty odznaczające się olbrzymim zróżnicowaniem wariantów. Wszystkie patogenny wirusowe łączy brak organelli komórkowych, niezdolność do przemian metabolicznych oraz namnażanie uzależnione od dostępności komórek gospodarza. Formy dojrzałe zwane wirionami nie wykształcają struktury komórkowej i zbudowane są z materiału genetycznego, będącego kwasem deoksyrybonukleinowym (DNA) lub rybonukleinowym (RNA) oraz otoczki białkowej określanej mianem kapsydu i pełniącej funkcje ochronne. Pozycja taksonomiczna wirusów jest kwestią sporną, ponieważ mają też swój udział w świecie organizmów żywych oraz podlegają prawom ewolucji i kodują informację genetyczną za pomocą genów [25].

Glikokoniugaty odgrywają bardzo ważną rolę podczas infekcji wirusowych. Obecność glikanów wykazano na powierzchniach wirusów posiadających dodatkową otoczkę, pozyskiwaną z błony cytoplazmatycznej gospodarza. Wiriony nie mogą samodzielnie syntezować struktur oligosacharydowych wskutek braku własnych szlaków metabolicznych. Wymusza to konieczność przejmowania i modyfikowania maszynarii komórkowej żywiciela do produkcji wirusowych proteoglikanów i glikoprotein (GP) o określonej strukturze. Formy glikanów zależą głównie od stanu fizjologicznego i zasobów infekowanej komórki. Alternatywną strategią infekcyjną jest wykorzystywanie powierzchniowych glikokoniugatów gospodarza podczas procesu wiązania się z receptorami, w tym lektynami, czyli białkami rozpoznającymi specyficznymi określone reszty cukrowe [26].

REGULACJA ADHEZJI I WNIKANIA WIRUSÓW DO KOMÓREK GOSPODARZA

Glikozylacja białek kolców wirusów otoczkowych ułatwia im wnikanie do komórek, dzięki silnemu wiązaniu się epitopów wirusowych z receptorami gospodarza. Oligosacharydy doprowadzają do zmian konformacyjnych błon cytoplazmatycznych, umożliwiając precyzyjną fuzję błon i przekazanie patogennego materiału genetycznego do komórki żywiciela. Dodatkowo *N*-glikany stabilizują strukturalnie białka wirusowe, odpowiadając za ich prawidłowe sfałdowanie i zachowanie aktywności [26].

Glikany otoczki wirusa Ebola (EBOV) stanowią ponad jedną trzecią masy cząsteczkowej patogenu. Obecność oligosacharydów jest obligatoryjna do wiązania się wirionu z receptorami gospodarza i wnikania do wnętrza komórek. GP1 ma powinowactwo do określonych struktur powierzchniowych a GP2 inicjuje fuzję błon. Glikoproteiny EBOV posiadają dwa kluczowe miejsca *N*-glikozylacji w pozycji Asn563 i Asn618. Brak oligosacharydów w obrębie GP1 nie wpływa na stabilność białka i może zostać rekompensowany innymi glikanami. Defekty glikozylacji GP2 skutkują dwukrotnym spadkiem wirulencji w przypadku mutacji w pozycji Asn618 i dwukrotnym wzroście zjadliwości mutantu nie posiadającego *N*-glikanów dołączonych do

Asn563. Niedobór *N*-glikanów w obydwu miejscach glikozylacji GP2 blokuje całkowicie wnikanie wirusa do komórek gospodarza [27].

Regulowanie ekspresji glikozylowanych białek będących częścią otoczki wirusa, również moduluje powinowactwo EBOV do receptorów na powierzchni komórek gospodarza. Zwiększona ilość wirusowych GP powoduje fizyczną blokadę oddziaływania patogen-gospodarz. Dodatkowo zmniejsza się synteza pozostałych białek budujących nowe wiriony. Istnieje optymalna ilość glikokoniugatów otoczkowych zapewniająca EBOV wysoką wirulencję przy zachowaniu pełnej sprawności infekcyjnej [28].

WIRUSOWY TROPIZM TKANKOWY

Tropizm tkankowy polega na wiązaniu się wirusów do ściśle określonych struktur powierzchniowych gospodarza. Najbardziej dystalnym elementem glikokoniugatów jest kwas sjałowy, rozpoznawany przez wirusy grypy typu A (IAV). Tempo mutacji IAV doprowadziło do wyróżnicowania się wielu podtypów wirusowych GP, odznaczających się wrażliwością na rodzaj oraz typ wiązania SA. Wirusy grypy ewoluując wykształciły osiemnaście form hemaglutynin (HA) i jedenaście form neuraminidaz (NA), dzięki czemu przystosowały się do infekowania wielu wzajemnie niespokrewnionych gatunków kręgowców [29].

Proces wnikania wirusa do komórek gospodarza jest regulowany przez HA. Receptorem dla ludzkiego IAV są glikany zawierające sekwencje Neu5Ac α 2,6-Gal, natomiast warianty ptasie preferują glikotop Neu5Ac α 2,3-Gal. Inicjacja infekcji w obydwu typach IAV nie nastąpi w przypadku SA połączonego wiązaniem α 2,8-glikozydowym [30]. Nowo ukształtowane wiriony wykorzystują NA do oddysocjowania z powierzchni komórek gospodarza. Wirusowa neuraminidaza ma aktywność enzymu odcinającego reszty SA zlokalizowane zarówno u IAV oraz zainfekowanego kręgowca. Zapobiega to agregacji patogenów i umożliwia dalszą inwazję [31].

Glikozylacja własnych białek otoczkowych wirusa IAV również określa tropizm tkankowy podczas infekcji. Zdolność do wiązania się z receptorem może wynikać z repertuaru *N*-glikanów obecnych na glikoproteinach HA i NA. Ubytek oligosacharydów w pozycji Asn158 wymusza powinowactwo do kwasów sjałowych dołączonych wiązaniem α 2,6-glikozydowymi. Struktury z α 2,3-wiązaniem SA stają się docelowym receptorem IAV z defektami w pozycji Asn169 [32].

Tropizm tkankowy wirusów z rodziny *Flaviviridae* dodatkowo regulowany jest dostępnością do określonych szlaków komórkowych, będących następstwem pasożytozowania w różnych żywicielach. Struktura oligosacharydów otoczek wpływa na zdolność do infekowania ściśle określonych gatunków gospodarzy. *N*-glikany typu hybrydowego oraz złożonego obecne są na powierzchni wirusa bytującego w komórkach kręgowców i umożliwiają wiązanie się z receptorami wektorów. Przejęcie maszynarii *N*-glikozylacji bezkręgowców (wektory) pozwala wirionom opłaszczyć się strukturami typu oligomannozowego, dzięki którym moż-

liwa jest inicjacja procesu wnikania do żywicieli z grup kręgowców. Zróznicowanie *N*-glikanów w obrębie GP pozwala *Flaviviridae* na atakowanie wielu gospodarzy w jednym obiegu cyklu życiowego [33].

TARCZE GLIKANOWE KOLCÓW WIRUSOWYCH

Wirusy wykorzystują oddziaływania steryczne reszt cukrowych do fizycznej obrony przed systemem immunologicznym gospodarza. Glikokoniugaty maskują epitopy zlokalizowane na powierzchni białek kolców wirusowych przed rozpoznaniem i związaniem się przeciwciał neutralizujących (NAb) żywiciela. Bariera glikanów skutecznie chroni białkowe domeny strukturalne, jednak, ze względu na nie mniej ważną rolę glikanów w oddziaływaniu z komórkami gospodarza, konieczna jest ścisła kontrola glikozylacji otoczek wirusowych. Dojrzałe wiriony muszą zachować równowagę w ilości oligosacharydów służących do podtrzymania zdolności infekcyjnych a unikaniem wykrycia przez leukocyty gospodarza [26].

Prawidłowe wykształcenie białek kolców wirusa zapalenia wątroby typu C (HCV) zależy od obecności otoczkowych *N*-glikanów. Wirusowe podjednostki powierzchniowych GP E1 i E2 oddziałują z tetraspaniną CD81 zlokalizowaną na hepatocytach. Oligosacharydy warunkują prawidłowe wiązanie się do receptora gospodarza, a ponadto stanowią fizyczną barierę ochronną epitopów HCV. *O*-glikozylacja zabezpiecza GP patogenu zmniejszając powinowactwo przeciwciał neutralizujących kosztem obniżonej wirulencji wirusa. Obecność *O*-glikanów nie jest obligatoryjna w przeciwieństwie do *N*-glikanów, jednocześnie ich brak skutkuje nasileniem ekspozycji kolców HCV na NAb i neutralizację przez układ immunologiczny żywiciela [34,35].

Unikatowy typ ochrony powierzchniowych glikoprotein wykazano u ludzkiego wirusa niedoboru odporności (HIV). Otoczka HIV zawiera rejony silnie *N*-glikozylowane, tworzące struktury nazwane tarczami glikanowymi. Oligosacharydy blokują fizyczne wiązanie się większości przeciwciał neutralizujących gospodarza do epitopów wirusowych a dodatkowo stabilizują strukturę wirionu [36]. Kolce HIV powstają początkowo jako glikoproteina o większej masie cząsteczkowej GP160, która ulega rozszczepieniu przy udziale proteaz gospodarza na dwie funkcjonalne podjednostki. Transbłonowa podjednostka GP41 zawiera peptyd fuzyjny inicjujący fuzję błon cytoplazmatycznych. Powierzchniowa GP120 wykazuje powinowactwo do glikoproteiny CD4, stanowiącej główny marker limfocytów T pomocniczych oraz ko-receptora C-C chemokin typu 5 (CCR5) lub C-X-C chemokin typu 4 (CXCR4) [37]. Typ oligomannozowy *N*-glikanów dominuje w obrębie podjednostki GP120. Razem ze słabiej *N*-glikozylowaną podjednostką GP41, która zawiera głównie formy hybrydowe i złożone, odpowiadają za tropizm tkankowy i indukują początkowy etap infekcji HIV [38].

Potencjalne próby opracowania szczepionki przeciw HIV na podstawie oddziaływań glikanów w osi patogen-gospodarz, opierają się na zaobserwowanym paradoksie w funkcjonowaniu glikokoniugatów obecnych na podjednostce GP120. Struktury typu oligomannozowego w postaci tarcz

glikanowych są zarówno ochroną wirusa przed związaniem się NAb, jak i celem dla innych ludzkich immunoglobulin G lub są rozpoznawane przez lektyny na komórkach układu odpornościowego [38]. Badania nad NAb z rodziny PGT128 wykazały ich powinowactwo do rejonów bogatych w *N*-glikany typu oligomannozowego, zlokalizowanych na powierzchni HIV. Pomimo oddziaływań sterycznych reszt cukrowych, PGT128 są w stanie przenikać do epitopów wirusowych w przeciwieństwie do innych immunoglobulin, co w przyszłości może być nową strategią terapeutyczną [38,39].

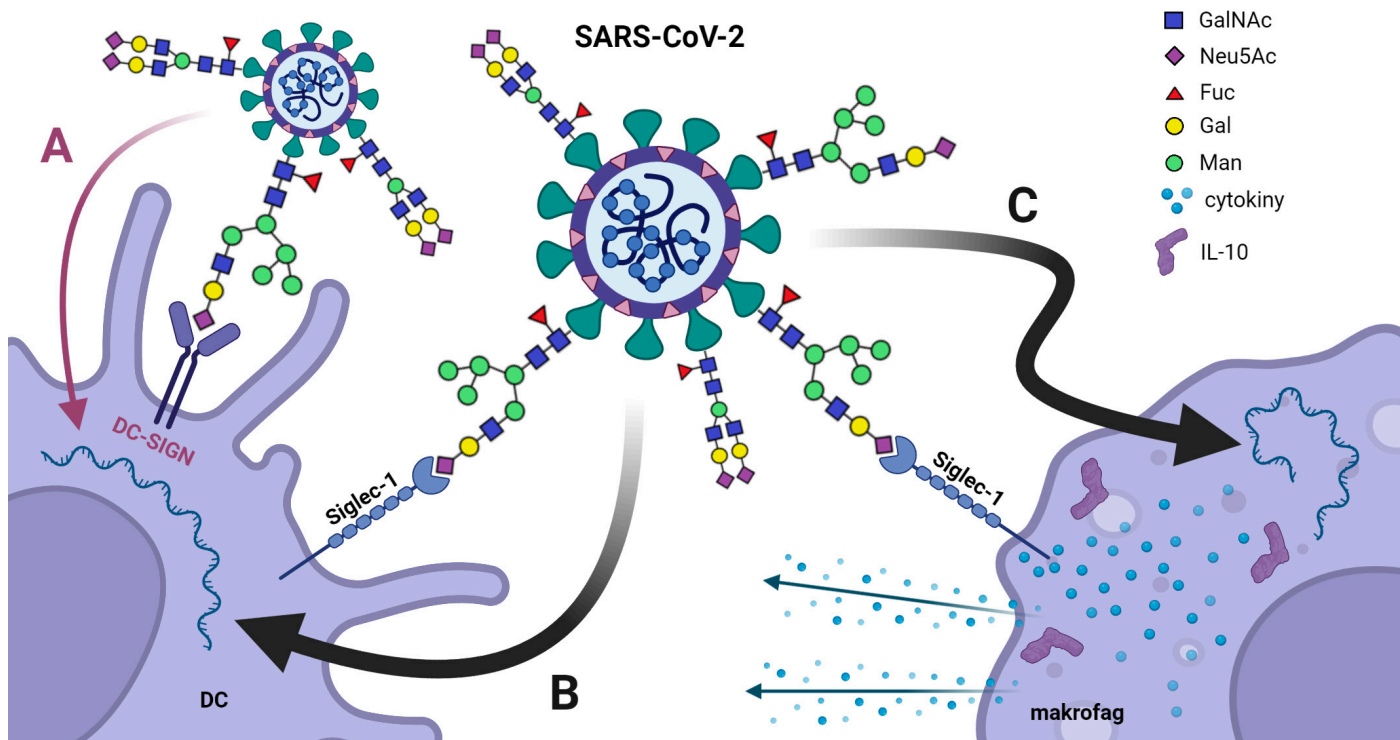
Przeciwciała PGT128 wykazują powinowactwo do dwóch *N*-glikanów typu oligomannozowego w pozycji N332 oraz N301 zlokalizowanych na GP120. Mutacje punktowe obydwu miejsc *N*-glikozylacji, skutkujące brakiem *N*-glikanów w tych pozycjach łańcucha białek kolców w obrębie tarcz glikanowych, umożliwiają sprawną ucieczkę wirusa przed NAb. Przeciwciała nie są zdolne do dalszego wiązania się z GP120 oraz tracą aktywność neutralizującą. Ponadto glikan w pozycji N301 jest kluczowy do zachowania wysokiego powinowactwa immunoglobulin do GP120. Obecność obu *N*-glikanów jest warunkiem niezbędnym do przyłączenia się PGT128, które niezależnie od ewolucji wirusa, będą oddziaływać tylko z ściśle określonymi konserwatywnymi rejonami otoczek. Wymóg spełnia około 72% występujących HIV typu 1. Co ciekawe, na eliminację szczepu HIV-1 JR-CSF wpływają zmiany struktury oligosacharydów w obrębie bliskiej pozycji N295, natomiast HIV-2 i małpi wirus niedoboru odporności wykazują całkowitą oporność na przeciwciała [39].

GLIKOZYLACJA WIRUSA SARS-CoV-2

Rodzina *Coronaviridae*, reprezentowana przez koronawirus zespołu ostrej niewydolności oddechowej 2 (SARS-CoV-2), również posiada struktury oligosacharydowe na powierzchni swoich otoczek. Glikoproteina S zbudowana z dwóch podjednostek (S1 i S2), stanowi kołec wirusowy odpowiedzialny za wiązanie się z enzymem konwertującym angiotensynę 2 (ACE2) na infekowanych komórkach. W łańcuchu polipeptydowym białka S wykazano obecność dwudziestu dwóch miejsc *N*-glikozylacji oraz trzech miejsc *O*-glikozylacji. Oligosacharydy odpowiadają m.in. za stabilizację kolców wirusowych i wiązanie się z receptorami [40] (Ryc. 3).

Na podstawie struktury kolców wirusowych wyróżniono dotychczas siedem głównych wariantów SARS-CoV-2: typ dziki, Alpha, Beta, Gamma, Kappa, Delta i Omicron. Wykorzystując rekombinowaną glikoproteinę S w komórkach ludzkiej linii HEK-293 zbadano profil *N*-glikozylacji wirusa. Wyodrębniono trzy klastry pochodzenia ewolucyjnego na podstawie podobieństwa wyeksponowanych glikanów. Pierwszą grupę tworzy typ dziki, Alpha i Beta a drugą – warianty Gamma, Kappa i Delta. Odrębną gałąź ewolucyjną stanowi Omicron. Zmienność *N*-glikanów wirusa SARS-CoV-2 reguluje jego zakaźność i tropizm, co wpływa na przebieg infekcji [41].

Analiza *N*-glikanów siedmiu głównych wariantów glikoprotein S SARS-CoV-2 wykazała obecność reszt SA w ponad



Rycina 3. Schemat obrazujący alternatywne szlaki wnikania wirusa SARS-CoV-2 do komórek gospodarza. (A) Oddziaływanie pomiędzy sjalowanymi N-glikanami białka kolca S a lektynami DC-SIGN jest znacznie słabsze od (B) wiązania się wirusa do lektyny Siglec-1, zlokalizowanych na komórkach dendrytycznych (DC). (C) Powinowactwo sjalowanych oligosacharydów SARS-CoV-2 do lektyny Siglec-1 ulegającej ekspresji na powierzchni makrofagów, indukuje zespół uwalniania cytokin i nadmiernej syntezy interleukiny-10, w przeciwieństwie do transferu za pomocą DC (B). Rycinę opracowano w programie BioRender.com.

50% eksponowanych oligosacharydów. Najczęstsza forma zawiera jedną resztę monosacharydu (31,6%) a najmniej liczne są struktury tetrasjalilowane (1,8%). Utrzymanie niskiego poziomu mocno sjalowanych glikanów jest konieczne do związania się wirusa z receptorem ACE2, ponieważ nadmierna ilość SA skutkuje odpychaniem SARS-CoV-2 od komórek gospodarza. Fukozylicacja rdzeniowa cechuje 79,9% wirusowych N-glikanów, natomiast 7,5% glikoform zawiera fukozę dołączaną w pozycji zewnętrznej. Najlichnieszszą populację stanowią dwuantenowe N-glikany złożone (44,9%). Zawartość oligosacharydów oligomannozydowych w glikoproteinie S utrzymuje się na niskim poziomie. Profil glikozylacji związany jest ściśle z określonymi wariantami kolców, co pozwala na alternatywny sposób badania ewolucji SARS-CoV-2 [41].

Podczas infekcji SARS-CoV-2 główną drogą wnikania do komórek gospodarza stanowi białko ACE2, którego ekspresja jest stosunkowo niska. Ważną rolę w infekowaniu komórek odgrywają N-glikany białka S w pozycjach N165 i N234, stabilizując zmianę konformacyjną podjednostki S1 w celu związania się wirusa z receptorem. Wykazano, że SARS-CoV-2 ma powinowactwo również do innych białek powierzchniowych komórek. Lektyny DC-SIGN i Siglec na powierzchni komórek gospodarza wiążą epitopy glikanów kolca wirusowego tworząc alternatywne szlaki wnikania patogenu i tym samym zwiększają szanse na skuteczną infekcję [42].

Interakcje pomiędzy lektynami zlokalizowanymi na komórkach gospodarza a glikanami SARS-CoV-2 mają istotne znaczenie w ciężkim przebiegu choroby koronawirusowej (COVID-19). Wykazano że efektem oddziaływań glikoprotein wirusa z lektynami DC-SIGN, oprócz wspierania wnikania wirusa, jest znaczące zwiększenie syntezy i sekrecji interleukiny 10 (IL-10). Doprowadza to do wzmożonej aktywności układu immunologicznego i wywołaniu zespołu uwalniania cytokin, określanego jako burza cytokin, zaostrzającej ciężki stan COVID-19 [42,43]. Innymi lektynami gospodarza wiążącymi się z glikoproteiną S SARS-CoV-2 jest rodzina Siglec ulegająca ekspresji na komórkach układu immunologicznego. Lektyny te wykazują powinowactwo do sjalowanych form glikanów. Proces transferu wirusa do komórek docelowych jest skuteczniejszy niż w przypadku drogi z udziałem lektyn DC-SIGN. Natomiast lektyna Siglec-1 na makrofagach po związaniu SARS-CoV-2 silniej indukuje wywołanie zespołu uwalniania cytokin [43].

PODSUMOWANIE

Glikany komórek patogenów, jak również oligosacharydy glikokaliksu komórek gospodarza, są kluczowe dla sprawnej i skutecznej infekcji bakteryjnej i wirusowej. Wyniki ostatnich badań wskazują, że glikozylacja, długo niedoceniana modyfikacja potranslacyjna białek, odgrywa znaczącą rolę w regulacji wirulencji i stabilizacji białek czynników chorobotwórczych. Ewolucja wymusza nieustanną walkę pomiędzy patogenami a gospodarzami, której celem

są m.in. zmiany na poziomie molekularnym dające przewagę jednej ze stron i umożliwiające przetrwanie. Organizmy eukariotyczne, będące najczęstszym obiektem zakażeń, dysponują zaawansowanymi systemami immunologicznymi mającymi zapewnić skuteczną ochronę przed czynnikami chorobotwórczymi. Drobnoustroje wykorzystują natomiast szybkie tempo mutacji, by uniknąć rozpoznania i wyeliminowana przez układ odpornościowy żywiciela.

Ciągle wzbogacana wiedza o roli glikanów w infekcjach bakteryjnych i wirusowych stanowi mocną przesłankę do prowadzenia badań w kierunku wykorzystania modyfikacji glikokoniugatów zarówno na powierzchni patogenów, jak i gospodarzy do opracowywania nowych terapii. Potrzeba poszukiwania skutecznych form obrony przed patogenami wynika głównie z szybkiego nabywania oporności przez wiele szczepów bakteryjnych na dostępne antybiotyki a w przypadku wirusów braku skutecznych szczepionek. Poznanie mechanizmów zmian glikozylacji patogenów umożliwiających zdobycie przewagi nad układem immunologicznym gospodarzy oraz szybką adaptację drobnoustrojów do glikokaliksu gospodarzy, również podlegającego zmianom, pozwoli na hamowanie postępujących infekcji m.in. przez blokowanie cykli życiowych patogenów oraz wiązania się do komórek gospodarza. Jest to wymagające zadanie, ponieważ glikany regulują wielopoziomowo ważne procesy komórkowe. Dalsze badania nad glikokoniugatami organizmów komórkowych i wirusów pozwolą nam na manipulowanie pomiędzy stanem fizjologicznym a patologią.

PIŚMIENNICTWO

- Varki A (2017) Biological roles of glycans. *Glycobiology* 1: 3-49
- Ząbczyńska M, Pocheć E (2015) Rola glikozylacji białek układu odpornościowego. *Post Biochem* 61: 129-137
- Reily C, Stewart TJ, Renfrow MB, Novak J (2019) Glycosylation in health and disease. *Nat Rev Nephrol* 6: 346-366
- Lu Q, Li S, Shao F (2015) Sweet Talk: Protein Glycosylation in Bacterial Interaction With the Host. *Trends Microbiol* 10: 630-641
- Dell A, Galadari A, Sastre F, Hitchen P (2010) Similarities and differences in the glycosylation mechanisms in prokaryotes and eukaryotes. *Int J Microbiol* 2010: 148178
- Varki A, Cummings RD, Esko JD, Stanley P, Hart GW, Aebi M, Darvill AG, Kinoshita T, Packer NH, Prestegard JH, Schnaar RL, Seeberger PH (2022) *Essentials of Glycobiology*, 4th edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor (NY)
- Schedin-Weiss S, Winblad B, Tjernberg LO (2014) The role of protein glycosylation in Alzheimer disease. *FEBS J* 1: 46-62
- Larkin A, Imperiali B (2011) The expanding horizons of asparagine-linked glycosylation. *Biochemistry* 21: 4411-26
- Wyszyńska A, Jabłuszewski R (2021) Glikozylacja białek w komórkach bakteryjnych i jej potencjalne zastosowania. *Postępy Mikrobiologii* 2: 137-149
- Moran AP (2008) Relevance of fucosylation and Lewis antigen expression in the bacterial gastroduodenal pathogen *Helicobacter pylori*. *Carbohydr Res* 12: 1952-65
- Hug I, Couturier MR, Rooker MM, Taylor DE, Stein M, Feldman MF (2010) *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide is synthesized via a novel pathway with an evolutionary connection to protein N-glycosylation. *PLoS Pathog* 3: e1000819
- Lübbbers J, Rodríguez E, van Kooyk Y (2018) Modulation of Immune Tolerance via Siglec-Sialic Acid Interactions. *Front Immunol* 9: 2807
- Heise T, Langereis JD, Rossing E, de Jonge MI, Adema GJ, Büll C, Boltje TJ (2018) Selective Inhibition of Sialic Acid-Based Molecular Mim-

icry in *Haemophilus influenzae* Abrogates Serum Resistance. *Cell Chem Biol* 10: 1279-1285.e8

- Carlin AF, Uchiyama S, Chang YC, Lewis AL, Nizet V, Varki A (2009) Molecular mimicry of host sialylated glycans allows a bacterial pathogen to engage neutrophil Siglec-9 and dampen the innate immune response. *Blood* 14: 3333-6
- Rossez Y, Wolfson EB, Holmes A, Gally DL, Holden NJ (2015) Bacterial flagella: twist and stick, or dodge across the kingdoms. *PLoS Pathog* 1: e1004483
- Merino S, Tomás JM (2014) Gram-negative flagella glycosylation. *Int J Mol Sci* 2: 2840-57
- Ewing CP, Andreishcheva E, Guerry P (2009) Functional characterization of flagellin glycosylation in *Campylobacter jejuni* 81-176. *J Bacteriol* 22: 7086-93
- Iwashkiw JA, Voza NF, Kinsella RL, Feldman MF (2013) Pour some sugar on it: the expanding world of bacterial protein O-linked glycosylation. *Mol Microbiol* 1: 14-28
- Alemka A, Nothhaft H, Zheng J, Szymanski CM (2013) N-glycosylation of *Campylobacter jejuni* surface proteins promotes bacterial fitness. *Infect Immun* 5: 1674-82
- Morio H, Kasai T, Miyata M (2015) Gliding Direction of *Mycoplasma mobile*. *J Bacteriol* 2: 283-90
- Kasai T, Nakane D, Ishida H, Ando H, Kiso M, Miyata M (2013) Role of binding in *Mycoplasma mobile* and *Mycoplasma pneumoniae* gliding analyzed through inhibition by synthesized sialylated compounds. *J Bacteriol* 3: 429-35
- Chan JM, Gori A, Nobbs AH, Heyderman RS (2020) Streptococcal Serine-Rich Repeat Proteins in Colonization and Disease. *Front Microbiol* 11: 593356
- Burzyńska P, Sobala ŁF, Mikołajczyk K, Jodłowska M, Jaśkiewicz E (2021) Sialic Acids as Receptors for Pathogens. *Biomolecules* 6: 831
- Gao X, Deng L, Stack G, Yu H, Chen X, Naito-Matsui Y, Varki A, Galán JE (2017) Evolution of host adaptation in the *Salmonella typhoid* toxin. *Nat Microbiol* 12: 1592-1599
- Heczko PB (2007) *Mikrobiologia. Podręcznik dla pielęgniarzek*, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa
- Bagdonaite I, Wandall HH (2018) Global aspects of viral glycosylation. *Glycobiology* 7: 443-467
- Wang B, Wang Y, Frabutt DA, Zhang X, Yao X, Hu D, Zhang Z, Liu C, Zheng S, Xiang SH, Zheng YH (2017) Mechanistic understanding of N-glycosylation in Ebola virus glycoprotein maturation and function. *J Biol Chem* 14: 5860-5870
- Mohan GS, Ye L, Li W, Monteiro A, Lin X, Sapkota B, Pollack BP, Compans RW, Yang C (2015) Less is more: Ebola virus surface glycoprotein expression levels regulate virus production and infectivity. *J Virol* 2: 1205-17
- Schrauwen EJ, Fouchier RA (2014) Host adaptation and transmission of influenza A viruses in mammals. *Emerg Microbes Infect* 2: e9
- Matrosovich M, Herrler G, Klenk HD (2015) Sialic Acid Receptors of Viruses. *Top Curr Chem* 367: 1-28
- Byrd-Leotis L, Cummings RD, Steinhauer DA (2017) The Interplay between the Host Receptor and Influenza Virus Hemagglutinin and Neuraminidase. *Int J Mol Sci* 7: 1541
- Chen W, Sun S, Li Z (2012) Two glycosylation sites in H5N1 influenza virus hemagglutinin that affect binding preference by computer-based analysis. *PLoS One* 6: e38794
- Carbaugh DL, Lazear HM (2020) Flavivirus Envelope Protein Glycosylation: Impacts on Viral Infection and Pathogenesis. *J Virol* 11: e00104-20
- Hundt J, Li Z, Liu Q (2013) Post-translational modifications of hepatitis C viral proteins and their biological significance. *World J Gastroenterol* 47: 8929-39
- Falkowska E, Kajumo F, Garcia E, Reinus J, Dragic T (2007) Hepatitis C virus envelope glycoprotein E2 glycans modulate entry, CD81 binding, and neutralization. *J Virol* 15: 8072-9

36. Berndsen ZT, Chakraborty S, Wang X, Cottrell CA, Torres JL, Diedrich JK, López CA, Yates 3rd JR, van Gils MJ, Paulson JC, Gnanakaran S, Ward AB (2020) Visualization of the HIV-1 Env glycan shield across scales. *Proc Natl Acad Sci U S A* 45: 28014-28025
37. Checkley MA, Luttmann BG, Freed EO (2011) HIV-1 envelope glycoprotein biosynthesis, trafficking, and incorporation. *J Mol Biol* 4: 582-608
38. Behrens AJ, Crispin M (2017) Structural principles controlling HIV envelope glycosylation. *Curr Opin Struct Biol* 44: 125-133
39. Pejchal R, Doores KJ, Walker LM, Khayat R, Huang PS, Wang SK, Stanfield RL, Julien JP, Ramos A, Crispin M, Depetris R, Katpally U, Marozsan A, Cupo A, Malveste S, Liu Y, McBride R, Ito Y, Sanders RW, Ogohara C, Paulson JC, Feizi T, Scanlan CN, Wong CH, Moore JP, Olson WC, Ward AB, Poignard P, Schief WR, Burton DR, Wilson IA (2011) A potent and broad neutralizing antibody recognizes and penetrates the HIV glycan shield. *Science* 6059: 1097-103
40. Shajahan A, Supekar NT, Gleinich AS, Azadi P (2020) Deducing the N- and O-glycosylation profile of the spike protein of novel coronavirus SARS-CoV-2. *Glycobiology* 12: 981-988
41. Xie Y, Butler M (2023) Quantitative profiling of N-glycosylation of SARS-CoV-2 spike protein variants. *Glycobiology* 3: 188-202
42. Trbojević-Akmačić I, Petrović T, Lauc G (2021) SARS-CoV-2 S glycoprotein binding to multiple host receptors enables cell entry and infection. *Glycoconj J* 5: 611-623
43. Lu L, Zhang H, Dauphars DJ, He YW (2021) A Potential Role of Interleukin 10 in COVID-19 Pathogenesis. *Trends Immunol* 1: 3-5

Protein glycosylation in bacterial and viral infections

Karolina Kot, Ewa Pocheć✉

Department of Glycoconjugate Biochemistry, Institute of Zoology and Biomedical Research, Faculty of Biology, Jagiellonian University

✉corresponding author: ewa.pochec@uj.edu.pl

Keywords: glycosylation, bacteria, virus, molecular mimicry, tissue tropism, SARS-CoV-2

ABSTRACT

Glycosylated proteins play a key role in the various stages of bacterial and viral invasions. Glycosylation is a common process across all domains of life. Initially, this process was attributed only to eukaryotic organisms, in which the synthesis takes place in the rough endoplasmic reticulum and the Golgi apparatus. Over time, it has been shown that many bacteria and viruses express N-glycans and O-glycans on their surface. Prokaryotes are able to synthesize glycans, while virions take over the host's cellular machinery to produce glycans. Pathogens use glycoproteins to regulate adhesion to infected cells (Ebola virus), protect receptor-binding epitopes (HIV), and evade the immune system detection by molecular mimicry (*Helicobacter pylori*, *Haemophilus influenzae*). Successful infection also depends on the host surface glycans, mainly in determining the tissue tropism of viruses (Influenza A viruses) and the sliding motility of bacteria (*Mycoplasma sp.*). Modification of glycan structures, important at various levels of the infectious cycle, creates new therapeutic possibilities that gives a chance to limit the spread of infectious diseases.

