

Grażyna Zaleśna, Krzysztof Gwoździński

STRUKTURA I WŁAŚCIWOŚCI MUCYN ŚLUZOWYCH

W artykule opisano funkcję oraz właściwości fizykochemiczne śluzu przewodu pokarmowego ze szczególnym uwzględnieniem roli mucyn. Przedstawiono również skład chemiczny i budowę mucyn oraz modele ich struktury. Omówiono biosyntezę mucyn oraz mechanizm tworzenia przez nie lepkoelastycznego żelu. Opisano także udział śluzu w chorobach wrzodowych i nowotworowych żołądka.

WSTĘP

Mucyny są wysokocząsteczkowymi glikoproteinami wydzielanymi przez wyspecjalizowane komórki nabłonka. Ich obecność determinuje lepkoelastyczne właściwości śluzu, który pełni rolę nawilżającą i ochronną w układzie pokarmowym, oddechowym i moczowo-płciowym.

W ostatnich latach dokonano znacznego postępu w poznaniu biochemii glikoprotein typu mucynowego. Związki te charakteryzują się wysokim poziomem O-związanych oligosacharydów. Początkowo glikoproteiny były wyłącznie znane jako główne składniki śluzu. Ostatnie badania wykazały, że mucyny z przewodu pokarmowego, płuc, gruczołów ślinowych, gruczołów potowych oraz komórek nowotworowych są strukturalnie spokrewnione z glikoproteinami o wysokiej masie cząsteczkowej produkowanymi przez komórki nabłonka jako białka błonowe. Podczas syntezy mucyn, powstają wielkie cząsteczki o masie cząsteczkowej $0,5 \times 10^6$ – 16×10^6 , które są gromadzone w śluzowych granulach aż do momentu sekrecji. Wydzielane mucyny tworzą barierę, nie tylko w celu ochrony delikatnych komórek nabłonka przed zewnętrznym środowiskiem, ale także w celu selekcji substancji budujących i pobieranych przez nabłonek.

Celem niniejszego artykułu jest przybliżenie polskiemu czytelnikowi problematyki związanej z biosyntezą, budową oraz właściwościami mucyn oraz ich

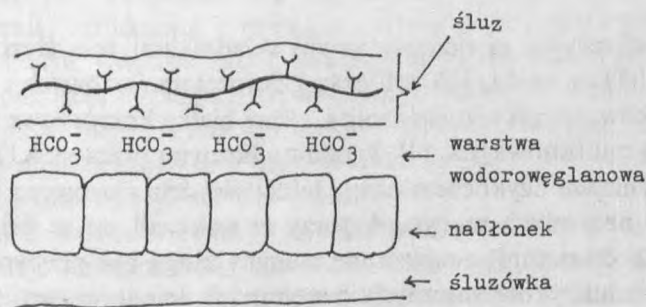
roli w tworzeniu śluzu. Omówiono w nim koncepcje monomerycznej i oligomerycznej struktury mucyny na podstawie modeli opisanych przez zespoły: Allena [1], Carlstedta [2] i Slomianego [3]. Artykuł ten w znacznym stopniu oparty jest na pracach przeglądowych wymienionych autorów oraz najnowszych pracach Strousa i Dekkera [4] oraz La-bois'se'a [5].

FUNKCJE ŚLUZU

Wszystkie żywe komórki kontaktują się z ich środowiskiem poprzez błonę, selektywną barierę oddzielającą wnętrze komórki od zewnętrznego środowiska. Wzajemne oddziaływania zachodzą przez błonę plazmatyczną, składającą się z lipidów zorganizowanych w dwuwarstwę i integralnych glikoprotein błonowych, które są osadzone w dwuwarstwie lipidowej. Część z tych białek błonowych osiąga rozmiary kilkudziesięciu nanometrów i zawiera znaczną ilość węglowodanów zorganizowanych w oligosacharydy. Dla większości typów komórek zwierzęcych ta bariera jest wystarczająca dla podtrzymania integralności komórkowej.

Wiele rodzajów nabłonków kontaktuje się ze środowiskami, przed którymi wymagana jest dodatkowa ochrona. Dlatego są one pokryte ochronną wydzieliną, która jest także selektywną barierą pomiędzy wnętrzem chronionego układu a powierzchnią komórek nabłonka. Ta wydzielina nazywana zwykle śluzem jest produkowana przez specjalne komórki nabłonka. Śluz jest wysoko uwodnionym, śliskim żelem składającym się z dużej liczby składników. Uważa się, że za jego specyficzne, ochronne właściwości odpowiedzialna jest mucyna. Zdolność mucyn do ochrony powierzchni nabłonka zależy w dużym stopniu od wysokiej zawartości oligosacharydów i ich zdolności do tworzenia lepkoelastycznego żelu. Dotychczasowa wiedza o funkcji tych złożonych cząstek ogranicza się do ogólnie akceptowanej idei, że cząstki te służą przede wszystkim do ochrony komórek i nabłonka. Śluz jest również naturalną barierą między nabłonkiem a czynnikami patogennymi, jak bakterie i wirusy [1]. Oprócz wymienionych funkcji śluz nawilża otaczający nabłonek i chroni go przed czynnikami mechanicznymi (przesuwający się pokarm w układzie pokarmowym). Ostatnie badania na cDNA mucynowych przy użyciu technik klonowania, pozwoliły na lepsze poznanie pierwotnej struktury mucyn. Glikoproteiny śluzu definiuje się jako podklasę glikoprotein, które są proteoglikanami. Ich specyfikę charakteryzują dwie zasadnicze cechy. Pierwsza, wysoki procent ich masy składa się z oligosacharydów, połączonych przez wiązanie O-glikozydowe z resztami seryny i treoniny w szkieletcie białkowym. Druga, szkielet białkowy zawiera liczne powtarzające się sekwencje, obejmujące

mujaące właściwie wszystkie miejsca wiązania oligosacharydów przez wiązanie O-glikozydowe. Trudno jest precyzyjnie podać dokładną ilość O-związanych cukrów, ale ogólnie wynosi ona więcej niż 50%. Wszystkie dotychczasowe badania wykazują, że ten pogląd różni się od wcześniejszej koncepcji Pigman a [6], który za główną cechę mucyn uważał nieobecność oligosacharydów. Glikoproteiny typu mucyn zostały podzielone wg ważności ich funkcji. Istnieją glikoproteiny typu mucynowego sekrecyjne oraz typu mucynowego związane z błoną. Mucyny sekrecyjne tworzą lepki żel, który pokrywa powierzchnię nabłonka przewodu układu pokarmowego, oddechowego i rozrodczego. Niezależnie od nabłonka wydzielany śluz pokrywa błonę plazmatyczną tylko wierzchnich komórek. W nabłonkach żołądka i szyjki macicy warunki środowiska wymagają stosunkowo grubej warstwy śluzu, podczas gdy w przelyku czy woreczku żółciowym tworzy ciekłą warstwę, która zapewnia dostateczną ochronę przed środowiskiem. Niezależnie od rodzaju chronionego nabłonka inny może być skład okrywającego go śluzu. W żołądku, przy bardzo niskim pH i wysokim stężeniu pepsyny, mucyny muszą charakteryzować się wysoką odpornością na te czynniki, a warstwa śluzu musi ściśle przylegać do komórek nabłonka. Natomiast w jelicie cienkim, z jego lekko alkalicznym odczynem i różnorodnością enzymów hydrolitycznych, warstwa śluzu musi pozwalać na łatwy dostęp substancji odżywczych do enterocytów. Pod wpływem sił mechanicznych oraz enzymów hydrolitycznych warstwa śluzu ulega ciągłej erozji, komórki muszą więc produkować wystarczającą liczbę cząsteczek mucyny, by zapewnić stałą ochronę nabłonka. W przewodzie pokarmowym, gdzie grubość i funkcje warstwy śluzu zmieniają się znacznie w ciągu dnia, istnieje konieczność by mechanizm regulacyjny utrzymywał syntezę mucyn i jej wydzielanie na odpowiednim poziomie dostosowanym do aktualnych potrzeb. W rezultacie istnieje pewien rodzaj równowagi dynamicznej między erozją śluzu a jego wydzielaniem. W przypadku żołądka występują



Rys. 1. System ochronny błony śluzowej żołądka

trzy współdziałające ze sobą bariery ochronne, którymi są: śluz – „warstwa” wodorowęglanowa, błony komórkowe nabłonka oraz przepływ krwi w śluzówce (rys. 1). Śluz okrywający nabłonek tworzy w żołądku ciągłą i nieprzepuszczalną warstwę dla dużych cząsteczek, takich jak pepsyna. Z drugiej strony, jony H^+ mogą dyfundować przez warstwę śluzu. Kwas ze światła żołądka jest neutralizowany w obrębie stabilnej niemieszalnej warstwy przez jony HCO_3^- [7]. Ten model został potwierdzony przez liczne badania nad wydzielaniem wodorowęglanu przez powierzchnię komórek śluzowych i pomiary pH poprzez warstwę śluzu [8–11]. Oprócz mucyn żel zawiera wodę, białka komórkowe, elektrolity i pozostałości komórek. Ochronne i zwilżające właściwości śluzu w znacznym stopniu zależą od lepkoelastycznych właściwości mucyn. Niezbędnym warunkiem do kształtowania żelu jest zdolność mucyn do tworzenia oligomerycznych struktur za pomocą wewnątrzcząsteczkowych mostków ditiolowych. Mucyny związane z membraną są podobne do mucyn sekrecyjnych, gdyż posiadają powtarzające się sekwencje aminokwasów zawierających wszystkie O-związane oligosacharydy, ale różnią się od mucyn typu sekrecyjnego zawartością hydrofobowych reszt aminokwasów zakotwiczących długie włókniste cząsteczki w błonie plazmatycznej. Ponadto prawdopodobnie nie występują w nich mostki ditiolowe. Funkcja mucyn związanych z błoną lub zasocjowanych z komórką nie jest dotychczas wyjaśniona. Ekspresja niektórych z tych mucyn wzrasta ogromnie w transformowanych komórkach. W przypadku nowotworów nabłonka, wysoki poziom tych mucyn pojawia się w rozpuszczonej formie we krwi, pochodząc z cząsteczek proteolitycznie wyciętych z komórek nowotworowych. Właściwości mucyn związanych z błoną zostały omówione w dalszej części artykułu.

FIZYKOCHEMICZNA CHARAKTERYSTYKA MUCYN

Mucyny sekrecyjne są podstawowymi składnikami żelu śluzowego. Śluz składa się w 95% z wody, 1% soli oraz glikoprotein śluzowych i dużej ilości innych związków, takich jak: elektrolity, różne białka komórkowe i surowicze, lipidy i kwasy nukleinowe [12, 13]. Zgodnie z licznymi pracami Allen a i wsp. [1, 13] najważniejsze fizykochemiczne właściwości żelu śluzowego są związane z obecnością natywnych mucyn. Autorzy ci wykazali, że w fizjologicznych stężeniach (ok. 50 mg/ml) oczyszczone mucyny mogą być przywrócone w żel o właściwościach fizykochemicznych identycznych do natywnego żelu śluzowego. Specyficzna zdolność mucyn do tworzenia żelu jest przypisywana odpowiedniej kombinacji cech strukturalnych ich cząsteczek, które będą przedstawione w następnym rozdziale. Oczy, układ pokarmowy, oskrzela, płuca,

pęcherz, przewód trzustkowy, pęcherzyk żółciowy, układ rozrodczy chronią swoje nabłonki przez wytwarzanie mucyn sekrecyjnych [13, 14]. Te mucyny stanowią znaczącą grupę glikoprotein, różniących się strukturalnie od glikoprotein surowicy i proteoglikanów. Większość oligosacharydów jest przyłączona do polipeptydu przez wiązanie O-glikozydowe pomiędzy resztami N-acetylogalaktozami (GaNAc) a hydroksylowymi grupami reszt seryny i treoniny. Dodatkowo wykazano, że wiele mucyn zawiera niewielką liczbę N-związanych glikanów [15, 16]. Mucyny odróżniają się od proteoglikanów tym, że nie posiadają reszty kwasu D-glukuronowego i L-iduronowego [17]. Natywne cząsteczki mucyn sekrecyjnych mają oligomeryczną strukturę zawierającą kilka monomerycznych glikoprotein. Te monomery różnią się masą cząsteczkową od $2,5 \times 10^5$ do 1×10^6 . Więcej niż 50% ich suchej masy przypada na węglowodany zorganizowane w oligosacharydy związane wiązaniem O-glikozydowym z seryną czy treoniną. Łańcuchy węglowodanowe zawierają od 1 do 20 cukrów prostych. Oligomery połączone są przez mostki ditiolowe. Białka rdzeniowe zawierają regiony bogate w reszty seryny i treoniny zgromadzone w centralnej części polipeptydu. Zasadniczo wszystkie hydroksyaminokwasy w tym centralnym regionie są O-glikozylowane. W mucynach szyjki macicy i tchawiczno-oskrzelowych, bogato O-glikozylowana część jest podzielona na sekwencje o ok. 600–1200 aminokwasów, które są oddzielone krótkimi nieglikozylowanymi domenami [18, 19]. Bogato glikozylowany region jest naładowany ujemnie, spowodowane jest to obecnością reszt kwasu sialowego i częstą, ale nie powszechną, obecnością reszt siarczanowych związanych estrowo z węglowodanami. Te glikozylowane regiony są bardzo odporne na proteolizę. Końcowe części białek rdzeniowych zawierają „normalny” rozdział reszt aminokwasowych. W tych częściach reszty cysteinowe są rozmieszczone w ten sposób, że mogą tworzyć wewnątrz- i międzycząsteczkowe mostki ditiolowe. Jeśli w cząsteczce mucyny występują N-związane oligosacharydy, to są one zlokalizowane również w tych regionach. Struktura oligomeryczna jest konieczna dla zachowania reologicznych właściwości mucyn. Czynniki redukujące i proteazy prowadzą do utraty żelotwórczych właściwości mucyn. Odpowiednia liczba związanych monomerów, w połączeniu z różnorodnością O-związanych oligosacharydów, powoduje nadzwyczajną heterogenność oligomerycznych mucyn. Mucyny związane z błoną mają wspólną pulę oligosacharydów z mucynami sekrecyjnymi. W tej klasie mucyn oligomeryzacja nie wydaje się być regułą.

Reologiczne właściwości mucyn są rezultatem obecności mostków ditiolowych pomiędzy monomerami, jak i niekowalencyjnych wewnątrzcząsteczkowych interakcji pomiędzy łańcuchami węglowodanów. Cząsteczki mucyny tworzą lepkoelastyczny żel ze specyficznymi właściwościami reologicznymi. Unieruchomiony śluz przylegający do nabłonka tworzy niemieszalną warstwę na powierzchni błony plazmatycznej komórek nabłonka.

ROZMIARY I SKŁAD CZĄSTECZEK MUCYNY

Szczegóły dotyczące struktury molekularnej i rozmiarów mucyn są odmienne i trudne do pogodzenia ze sobą. Istnieje wiele danych na temat rozmiarów cząsteczek glikoproteiny śluzu w formie monomerycznej lub w formie natywnej (tab. 1). Różnice te wynikają z różnorodnych metod izolowania mucyn. Badania na tym polu są utrudnione, bowiem masa cząsteczkowa oligomerycznych mucyn nie może być dokładnie wyznaczona ani przez regularną elektroforezę na żelu poliakryloamidowym z SDS (siarczan sodowo-dodecylowy), ani przez filtrację żelową. Analiza monomerycznych cząstek mucyny, mimo że mogą one wchodzić w niskoprocentowy żel poliakryloamidowy, jest skomplikowana przez ich niezwykłą heterogenność.

Tabela 1

Masa cząsteczkowa mucyn typu glikoproteinowego
w zależności od stopnia agregacji

Mucyny	Monomer ($\times 10^6$)	Oligomer ($\times 10^6$)
Z żołądka człowieka	2,0	4,0–6,0
Z żołądka szczura	0,9	1,9–3,6
Z układu tchawiczko- oskrzelowego	0,5–0,6	9,0–16,0
Z szyjki macicy zwią- zane z błoną- MUC1	2,0–2,5 0,45–0,65	10–15 –

Mało jest informacji dotyczących rozmiarów nienaruszonego rdzenia białkowego mucyny. Większość obliczeń procentu węglowodanów na monomeryczną jednostkę jest za wysoka. Dane dotyczące liczby reszt aminokwasowych mucyny, otrzymanej przez wirowanie w gradiencie stężeń CsCl w nieobecności inhibitorów proteaz, są zaniżone. Dla przykładu, mucyna z żołądka szczura izolowana bez inhibitora proteaz zawiera ok. 10% białka, podczas gdy ta sama mucyna izolowana w obecności chlorku guanidyny i PMSF (fenylo-metylosulfonylofluorek) zawiera ok. 50% białka [20]. Rozszerzając te kalkulacje z założeniem, że rdzeń białkowy posiada masę 300 000 i zawiera wszystkie N-związane oligosacharydy [21, 22], że wszystkie seryny i treoniny są O-glikozylowane i że 3% monomeru składa się z siarczanów, można obliczyć, że 1 monomer mucyny żołądka zawiera ok. 800 O-związanych łańcuchów o średniej długości 5 reszt cukru i 1 siarczan na 3 O-związane łańcuchy.

Skład monosacharydowy wyizolowanych mucyn wykazuje dużą ilość fukozy, galaktozy, N-acetylogalaktozoaminy, N-acetyloglukozoaminy i małe

ilości kwasu sialowego oraz często reszty mannozy. Obecność mannozy jest charakterystyczna dla pojawienia się N-związanych glikanów, jako że ten monosacharyd jest nieobecny w O-związanych oligosacharydach. Mucyny są ujemnie naładowanymi cząsteczkami. Spowodowane to jest obecnością kwasu sialowego i reszt siarczanowych w oligosacharydach. W składzie aminokwasowym przeważa seryna, treonina, prolina, glicyna i reszty alaniny. Prawie całą serynę i treoninę zawierają O-związane glikany [13, 23, 24]. O-związane glikany w mucynach są bardzo heterogenne i różnią się w długości łańcuchów (1–20 reszt) [13, 25]. Duża ilość ściśle upakowanych O-związanych glikanów chroni znaczną część polipeptydu mucyny przed proteazami. Jak już wykazano, ta ochrona nie jest doskonała, jako że oligomery mucyny mogą być degradowane przez enzymy proteolityczne na fragmenty, które nie posiadają zdolności do tworzenia wiskoelastycznego żelu [26, 27].

Podstawową cechą reologicznej charakterystyki mucyn jest ich oligomeryczna struktura [1, 13]. Obecność podjednostek powiązanych mostkami ditiolowymi po raz pierwszy przedstawiona przez S n a r y i wsp. [28]. Redukcja mostków ditiolowych pomiędzy resztami cysteiny powoduje utratę lepkości żelu mucynowego [1, 26, 27]. W 1981 r. Allen [1] zaproponował model dla oligomerycznej struktury mucyny z żołądka świni. W tzw. modelu „wiatraka” cztery identyczne monomery mucyny są przyłączone do jednego centralnie związanego białka przez mostki ditiolowe. Uważa się, że oprócz mucyny żołądka, białka wiążące występują w mucynach śliny i mucynach jelit [28, 29]. Te polipeptydy ujawniają się, kiedy oczyszczona oligomeryczna mucyna jest zredukowana i analizowana na żelu poliakryloamidowym z SDS. Znalezione polipeptydy o masie cząsteczkowej 70 000 dla mucyny żołądka [30], 90 000 dla jelita cienkiego świni [31], 118 000 dla jelita człowieka i szczura oraz dla mucyny człowieka z układu oddechowego [32]. Brakuje jednak solidnego dowodu dla modelu „wiatraka”. Dość częste występowanie glikoproteiny o masie cząsteczkowej 118 000 w licznych preparatach mucyn badanych przez Robertsona i wsp. [33] wskazuje, że mogą to być niemucynowe białka, które są zasocjowane z natywnym oligomerem mucyny. S l o m i a n y i wsp. [34] demonstrują ściśle powiązania pomiędzy ludzkim i szczurzym białkiem wiążącym o masie cząsteczkowej 118 000 a fragmentem fibronektyny. Nowsze badania, przy użyciu mikroskopii elektronowej, przemawiają na korzyść innej ogólnej struktury mucyny [35, 36, 37]. Ten model po raz pierwszy zaproponowany przez Carlstdta i Sheehana [2], którzy badali mucyny szyjki macicy zaprzecza istnieniu białka wiążącego. Chociaż rola tych białek w oligomeryzacji niektórych mucyn nie może być wykluczona, monomery mucyny są najprawdopodobniej połączone razem, bezpośrednio przez mostki ditiolowe bez białka łączącego obecnego w oligomerze.

Kontrowersje istnieją na temat ilości cząsteczek lipidów zasocjowanych z mucynami. S l o m i a n y i wsp. [25, 38] znaleźli dużą ilość lipidów w prepara-

tach, w których śluz był usuwany ze śluzówki za pomocą szpatułki. Autorzy ci znaleźli następujący skład śluzu: 70% białka, 15% węglowodanów i 15% lipidów. Lipidy zawierały fosfolipidy, glikolipidy, mono-, di- i triglicerydy, kwasy tłuszczowe, cholesterol i estry cholesterylu. Skład lipidowy wykazany w preparatach śluzu był podobny do całkowitego składu lipidowego komórek, wskazując, że te lipidy prawdopodobnie pochodzą z komórek nabłonka, uszkodzonych w trakcie izolowania śluzu. Wskazuje na to również bardzo wysoka ilość białka znaleziona przez tych autorów [39]. Jeśli się przyjmie, że wszystkie węglowodany w ich preparatach śluzu pochodzą z mucyny, wtedy mucyna będzie stanowiła tylko 20% wszystkich składników śluzu. Jakkolwiek jest powszechnie zaakceptowane, że mucyna jest głównym składnikiem śluzu [1, 13]. Wydaje się, że powyższe badania zawyżają zarówno zawartość białka, jak i lipidów w śluzie. W prowadzonych przez nas badaniach, dotyczących zawartości lipidów obliczyliśmy, że stanowią one ok. 7% całkowitej masy suchego śluzu pochodzącego z żołądka świni [40].

W badaniach mucyn trzustkowych wykazano, że mucyny nie zawierają reszt cysteiny w polipeptydzie związanym z powierzchnią błony komórkowej; wszystkie reszty cysteiny są obecne w regionie białka spinającego dwuwarstwę lipidową [41, 42]. Te reszty są potencjalnymi miejscami wiązania kwasów tłuszczowych, jak sugerowano dla innych białek transmembranowych [43].

Znaczenie niemucynowych składników w żelu śluzowym jest stosunkowo mało poznane. Wykazano, że część tych składników wpływa *in vitro* na reologiczne właściwości żelu śluzowego. Niektóre składniki, takie jak: białka komórkowe i kwasy nukleinowe, przechodzą do żelu z obumarłych komórek jako zanieczyszczenia i prawdopodobnie nie mają określonej funkcji. Przedstawiony w dalszej części tzw. model dynamiczny budowy śluzu zakłada udział tych składników w jego strukturze. Pewne białka, jak lizozym i wydzielające IgA, są dozowane do śluzu jako składniki mechanizmu obronnego przeciw wirusom i bakteriom [44]. Wykazano, że albumina i kationy, takie jak wapń wpływają *in vitro* na reologiczne właściwości wyizolowanego śluzu [45, 46, 47]; jednak rola tych składników *in vivo* w funkcji śluzu pozostaje nie wyjaśniona.

STRUKTURA SZKIELETU BIAŁKOWEGO

Określenie rozmiarów białkowego szkieletu jest bardzo skomplikowane. Większość danych dotyczących jego rozmiarów otrzymano po chemicznej deglikozylacji białka przy użyciu fluorowodoru, kwasu trifluorometanosulfonowego lub mieszaniny hydrolaz. Masa cząsteczkowa szkieletu białkowego mucyn z gruczołów podszczękowych owcy i wołu jest w zakresie 58 300–96 500 [48, 49]. Jednak w tych metodach występuje wysoki stopień

degradacji wiązań peptydowych lub enzymatyczna proteoliza. Marianne i wsp. [50], używając przeciwciał określili rozmiar szkieletu białkowego mucyny z ludzkich oskrzeli na ok. 400 000. Przeciwciała wytworzone przeciw szkieletowi białkowemu różnych typów glikoprotein śluzu mają wielkie znaczenie dla identyfikacji mucyn. Przeciwciała przeciwko N- czy C-końcowej (nieglikozylowanej) części szkieletu są najbardziej przydatne dla badań biochemicznych i morfologicznych, jako że rozpoznają zarówno prekursor, jak i dojrzałą cząsteczkę mucyny.

Ostatnie badania przy użyciu technik biologii molekularnej dostarczyły nowych informacji dotyczących struktury szkieletu polipeptydowego glikoprotein śluzu. Badania potwierdziły wcześniejszą koncepcję budowy białka szkieletowego, że zawiera ono wysoki procent seryny, treoniny, alaniny, glicyny i proliny. Te pięć aminokwasów stanowi więcej niż 50% wszystkich obecnych aminokwasów. Reszty seryny i treoniny dominują w składzie aminokwasowym, stanowiąc razem od 25–40% wszystkich aminokwasów. O-połączone glikany są przyłączone do reszt seryny i treoniny, które są oddalone od siebie o jedną lub dwie reszty, czasem są nawet przyłączone do reszt przyległych [13, 15, 23, 51]. Aminokwasy leżące między O-glikozylowanymi regionami to zazwyczaj prolina, glicyna i alanina. Ponieważ reszta proliny może indukować β - „skręt” konformacji, jest prawdopodobne, że wysoki procent aminokwasów pozwala na ściśle upakowanie O-powiązanych oligosacharydów. Pigman i wsp. [52] wysunęli hipotezę, że białkowy szkielet mucyny gruczołów podszczękowych wołu składa się z licznych powtarzających się sekwencji aminokwasów. Ta koncepcja została potwierdzona ostatnio dla wszystkich znanych do tej pory glikoprotein śluzu. Powtarzające się sekwencje są zlokalizowane w centralnej części łańcucha polipeptydowego i zawierają wszystkie miejsca wiążące dla O-związanych oligosacharydów. Analiza DNA mucyny z gruczołów podszczękowych świni potwierdziła, że ta mucyna zawiera kolejno powtarzające się, identyczne sekwencje 81 reszt aminokwasowych z wysokim procentem seryny, treoniny i glicyny [53].

STRUKTURA WĘGLOWODANÓW

Około 50% suchej masy mucyn stanowią węglowodany, O-związane z seryną lub treoniną w środkowej części szkieletu białkowego. O-związane oligosacharydy mogą być łatwo usunięte z peptydu przez łagodne potraktowanie zasadą. Jeśli reakcja zachodzi w obecności borowodoru (reakcja eliminacji), to O-glikozydowo związane oligosacharydy otrzymuje się w stanie nieuszkodzonym [54].

Jest to ważne dla poznania struktury i składu O-związanych cukrów. Oligosacharydy zawierają następujące monosacharydy: N-acetylogalaktozoaminę, N-acetyloglukozoaminę, galaktozę, fukozę. Oprócz tych cukrów w częściej występuje kwas N-acetyloneuraminowy, kwas N-glikoliloneuraminowy oraz kwas sialowy. Wszystkie te cukry nadają ujemny ładunek oligosacharydom. Dodatkowo O-związane oligosacharydy mogą zawierać związane estrowo reszty siarczanowe. W zależności od posiadanego ładunku oligosacharydy dzieli się na obojętne i kwaśne glikany. W O-związanych glikanach można wyróżnić trzy domeny: rdzeń, szkielet i region peryferyczny. Każdy z nich posiada specyficzne miejsca antygenowe i determinanty związane z nowotworem.

Budowa rdzenia. Reszta N-acetylogalaktozoaminy związana z grupą hydroksylową seryny czy treoniny szkieletu białkowego oraz reszty cukrowe przyłączone do niej są zdefiniowane jako struktury rdzenia. O-glikozydowo związany oligosacharyd może zawierać N-acetylogalaktozoaminę jako jedyny cukier albo być zakończony resztą kwasu sialowego, znalezionej w mucynie gruczołów podszczękowych owcy [55].

Istnieje przynajmniej sześć typów rdzeni. Najprostsze struktury (GalNAc i GalB(1-3)-GalNAc) tworzą antygeny T dla grup krwi Tn i T [47]. Ta struktura jest rozpoznawana przez aglutyninę z orzeszków ziemnych. Najczęściej występują następujące struktury rdzenia: GalB(1-3)-GalNAc (1-0)-Ser/Thr, GalB(1-3)[GlcNAcB(1-6)]-GalNAc (1-0)-Ser/Thr, GlcNAcB(1-3)-GalNAc(1-0)-Ser/Thr, GlcNAcB(1-3)-[GlcNAcB(1-6)]-GalNAc (1-0)-Ser/Thr. W większości przypadków te czynniki decydują o przynależności krwi do odpowiednich grup.

Regiony szkieletu. Ten obszar składa się z serii jednostek GalB(1-3) i GlcNAcB(1-4); budują one antygeny I i Ma. Dwoma najczęściej spotykanymi szkieletami są: GalB(1-3)-GlcNAc (typ 1) i GalB(1-4)-GlcNAcB(1-3) (typ 2, grupa krwi I) [57]. Struktura typu 2 jest często powtarzana, podczas gdy typ 1 nigdy się nie powtarza [58]. Struktura typu 1 i 2 może być rozgałęziona w punktach rozgałęzień B(1-6), B(1-3) galaktozy; ta struktura jest zasocjowana z aktywnością antygenową I. W mucynach człowieka antygeny szkieletu są maskowane przez antygeny grup krwi A, B czy H.

Obszary peryferyczne. Łańcuchy szkieletu są zwykle zakończone przez α -glikozydowo związaną galaktozę, GalNAc, fukozę, kwas sialowy czy resztę siarczanową. Te peryferyczne cukry determinują większość cech charakterystycznych mucyn jako całości. U dorosłych ekspresja antygenów ABH i Lewisa

występuje tylko w mucynach sekrecyjnych. Stwierdzono, że aktywność grup krwi H jest także określona przez sekretor (gen-Se) [59]. Ostatnio zasugerowano, że gen ten także koduje aktywność różną od aktywności H [60]. W ostatnich badaniach opisano nowe antygeny związane ze strukturą węglowodanów. Niektóre z nich są określane w specyficznych stadiach w czasie rozwoju embrionalnego [61, 62]. W kancerogenezie struktura O-związanych oligosacharydów w obszarach peryferycznych zmienia się; w większości przypadków aktywność grup krwi obecna podczas rozwoju płodowego jest nieobecna w dojrzałych nabłonkach, powraca natomiast podczas kancerogenezy [63].

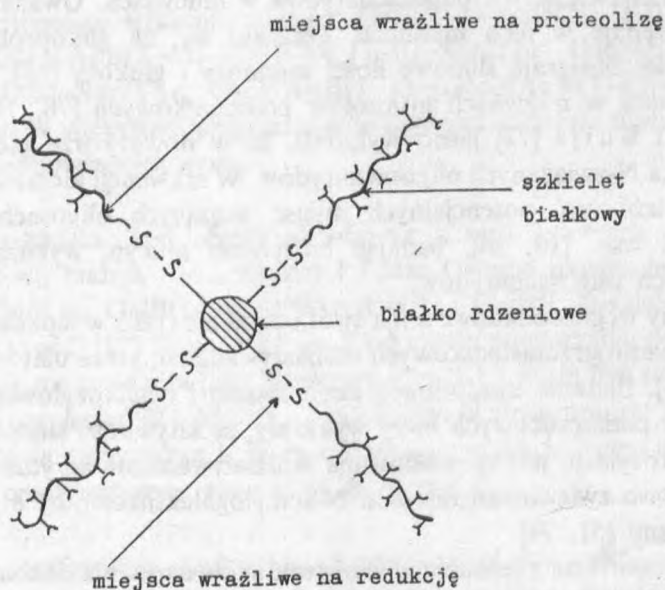
Mucyny mogą zawierać różne ilości siarczanów. Są one w większości przypadków przyłączone do galaktozy, N-acetylogalaktozoaminy i N-acetyloglukozoaminy. Stopień sulfatacji jest ustalony lokalnie: w gruczołach żołądka komórki wydzielające śluz tracą ich zdolność przyłączania siarczanu do mucyny podczas wędrowania z głębszych obszarów zagłębień w kierunku powierzchni [64]. Rola reszt siarczanowych nie jest dotychczas w pełni poznana. Są przesłanki, że sulfonowane mucyny inhibują aktywność peptyczną w żołądku przez wiązanie substratu pepsyny oraz, że reszty siarczanowe decydują o silniejszym przyleganiu mucyn do powierzchni komórki [65, 66]. Inną możliwą rolę reszt siarczanowych w mucynach może być indukowanie kondensacji w granulach sekrecyjnych [67, 68]. Przez długi czas wątpiono w obecność N-związanych oligosacharydów w mucynach. Uważano również, że nie występuje w nich mannoza. Okazało się, że glikoproteiny żółdkowo-jelitowe zawierają śladowe ilości mannozy i glukozy [69]. Znalezione także mannozę w mucynach gruczołów podszczękowych [70, 71]. Ostatnio Hilkens i Buijs [72] jasno wykazali, że w nowotworze piersi, MUC1 zawiera kilka N-związanych oligosacharydów. W sekwencji klonowanego genu można znaleźć pięć potencjalnych miejsc wiążących oligosacharydy [42]. Dekker i wsp. [16, 36], badając biosyntezę mucyn, wykazali istnienie N-związanych oligosacharydów.

Łańcuchy węglowodanowe mają swój udział nie tylko w lepkości śluzu, ale również w wewnątrzcząsteczkowych oddziaływaniach, które ułatwiają tworzenie żelu [73]. Badania konformacji desialowanej i deglikozyłowanej mucyny z gruczołów podszczękowych owcy wykazały, że sztywność łańcucha, będąca efektem glikozylacji, jest spowodowana oddziaływaniami sterycznymi pomiędzy peptydowo związanymi resztami N-acetylogalaktozoaminy a przyległymi aminokwasami [51, 74].

„Sieć” utworzona z łańcuchów węglowodanów zapewnia doskonałą ochronę wrażliwym na proteazy obszarom, które są „schowane” wewnątrz „sieci” i przez to niedostępne dla proteaz. Jedynie końce peptydów „wystające” z tej sieci mogą być trawione przez enzymy proteolityczne.

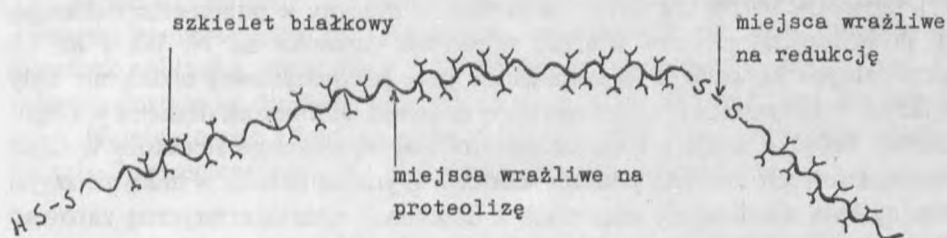
STRUKTURA MUCYN I ICH PODJEDNOSTEK

Podstawową jednostką wydzielanej mucyny (oznaczonej w tym artykule jako mucyna oligomeryczna) jest pojedynczy łańcuch polipeptydowy, który składa się z trzech regionów: gęsto glikozylowanego środkowego regionu i dwóch rozciągniętych (N i C końcowych) peptydów. Środkowy region jest bogaty w serynę i treoninę i nie zawiera cysteiny. Najważniejszą cechą funkcjonującej mucyny jest konieczna relacja pomiędzy tworzeniem żelu i nienaruszeniem mostków ditiolowych [75]. Makrocząsteczki mające udział w tych mostkach były sprawą dyskusyjną. Jak już wspomniano, Allen i wsp. [1] zaproponowali model, w którym 4 podjednostki mucyny są połączone razem przez centralne niemucynowe białko za pomocą mostków tiolowych; jest to tzw. model wiatraka (rys. 2). Stechiometria dla takiej heterooligomerycznej struktury nigdy nie była określona. Natomiast obserwacje przy użyciu mikroskopu elektronowego w preparatach mucyn oskrzelowych cieniowanych platyną, wykazują, że mucyny zorganizowane są w szkielet liniowy. Badania te były potwierdzone dla innych mucyn sekrecyjnych, takich jak: mucyny śluzu szyjki macicy i mucyny ze śluzu tchawiczo-oskrzelowego człowieka oraz mucyny ze śluzu żołądka szczura [22, 76, 77]. Carlstedt i Sheehan [2] oraz Thornton i wsp. [26] obszernie badali mucyny z szyjki macicy i tchawiczo-oskrzelowe po kilkukrotnym ich oczyszczeniu oraz po modyfika-



Rys. 2. Struktura mucyny śluzu żołądkowego (tzw. model „wiatraka”) zaproponowany przez Allena [1] (zmodyfikowany)

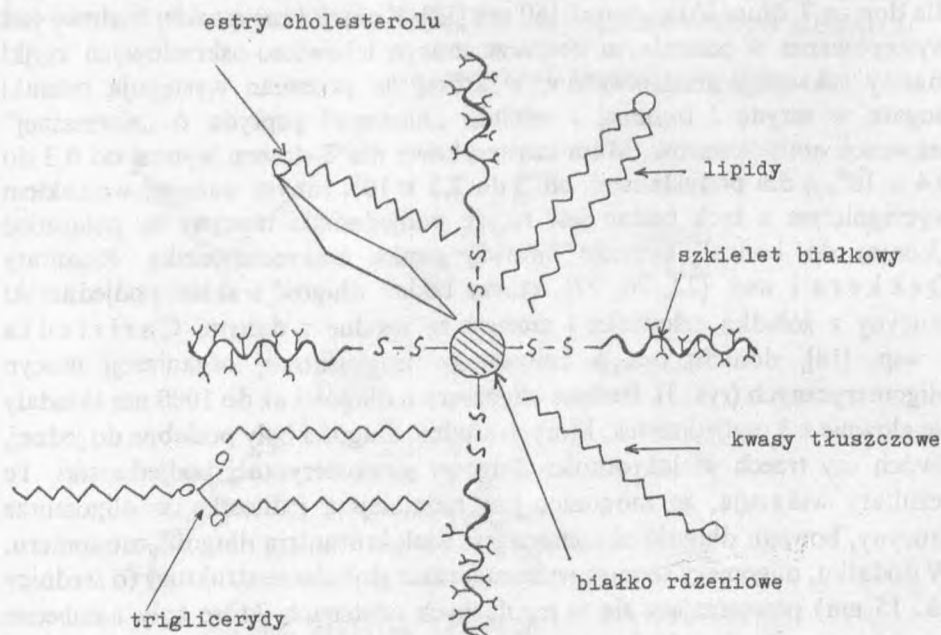
cjach chemicznych przy użyciu mikroskopii elektronowej. Obecnie uważa się, że większość (jeśli nie wszystkie) wydzielanych mucyn zorganizowana jest jako liniowe homooligomery (rys. 3). W przypadku mucyn ze śluzu szyjki macicy i śluzu tchawiczo-oskrzelowego, centralna część mucynowej podjednostki



Rys. 3. Model liniowy oligomerycznej mucyny z szyjki macicy zaproponowany przez Carlstedta i Sheehena [2] (zmodyfikowany)

składa się z odpornych na proteazy i czułych na proteazy prostych odcinków. W rezultacie trawienia proteolitycznego jednej podjednostki powstaje 3 do 5 tzw. T-domen odpornych na proteazę. Przy użyciu mikroskopii elektronowej, wykazano, że podjednostka ma średnią długość 490 nm, podczas gdy dla domen T długość ta wynosi 160 nm [19]. Konsekwencją takiej budowy jest występowanie w centralnym obszarze mucyn tchawiczo-oskrzelowych szyjki macicy sekwencji aminokwasów, w której na przemian występują odcinki bogate w serynę i treoninę i odcinki „nagiego” peptydu o „normalnej” sekwencji aminokwasów. Masa cząsteczkowa dla T-domen wynosi od $0,3$ do $0,4 \times 10^6$, a dla podjednostek od 2 do $2,5 \times 10^6$. Innym ważnym wnioskiem wyciągniętym z tych badań jest to, że podjednostki mucyny są połączone „koniec do końca” tworząc liniową, giętą makrocząsteczkę. Rezultaty Dekkera i wsp. [22, 76, 77], którzy badali długość i skład podjednostki mucyny z żołądka człowieka i szczura są zgodne z danymi Carlstedta i wsp. [18]; donieśli oni o liniowej podjednostkowej organizacji mucyn oligomerycznych (rys. 3). Badane oligomery o długości aż do 1000 nm składały się głównie z 3 podjednostek, których średnie długości były podobne do jednej, dwóch czy trzech wielokrotności długości monomerycznej podjednostki. Te rezultaty wskazują, że monomer jest najmniejszą jednostką w oligomerze mucyny, bowiem długość oligomeru jest wielokrotnością długości monomeru. W dodatku, oligomery szczura wykazują małe globularne struktury (o średnicy ok. 15 nm) powtarzające się w regularnych odstępach, które były nieobecne w monomerycznej podjednostce. Średnia odległość pomiędzy globularnymi domenami w oligomerze (350 nm) była porównywalna ze średnią długością zredukowanego monomeru (280 nm). Ten rezultat wykazuje strukturę globula-

rną miejsc wiązania dwóch podjednostek w oligomerach szczura. Zarejestrowane przy użyciu mikroskopii elektronowej natywne oligomery mucyny żołądka człowieka oraz monomeryczne podjednostki, otrzymane po redukcji, wykazują włóknistą strukturę cząsteczek podobną do mucyny szczura, chociaż nie stwierdzono istnienia struktur globularnych w oligomerach człowieka [3, 77]. Obecność więcej niż dwóch monomerów mucyny w oligomerze wskazuje, że podjednostka zawiera wiążące sekwencje zarówno na N, jak i na C-terminalnych końcach. Ponieważ żadne inne (niemucynowe) białka nie były wykryte w oczyszczonej oligomerycznej mucynie, globularna domena w oligomerach żołądka szczura najprawdopodobniej reprezentuje strukturę w cząsteczce, która jest usunięta podczas redukcji. Wyraźną różnicą w mucynie szyjki macicy była nieobecność cząsteczek z domeną T charakterystyczną zarówno dla mucyny z żołądka człowieka, jak i szczura. W tych mucynach w centralnym obszarze brak jest degradujących się fragmentów. Obserwacje dokonane przy użyciu mikroskopu elektronowego są zgodne z badaniami biosyntezy, które wskazują, że oligomeryczna struktura jest najprawdopodobniej ukształtowana w bardzo wczesnym stadium podczas biosyntezy mucyny. Oprócz modeli struktury mucyn przedstawionych przez Allena [1], Carlstedta i Sheehana [2] istnieje jeszcze jedna koncepcja struktury śluzu – tzw.



Rys. 4. Model dynamiczny struktury śluzu zaproponowany przez Slomianego i wsp. [3] (zmodyfikowany)

„model dynamiczny” zaproponowany przez S l o m i a n e g o i wsp. [3] (rys. 4). W modelu tym podobnie jak w „modelu wiatraka” przyjmuje się istnienie białka rdzeniowego, do którego przyłączone są za pomocą mostków –S–S– podjednostki mucyny. Generalnie ani „model wiatraka”, ani model liniowy nie uwzględniają istnienia lipidów i innych składników obecnych w śluzie.

„Model dynamiczny” zakłada jednak współdziałanie podjednostek mucyny z innymi komponentami pochodzącymi z obumarłych lub złuszczaających się komórek nabłonka, wydzielin z gruczołów oraz składników z osocza krwi. Te ostatnie dostają się do śluzu w wyniku dyfuzji przez ściany naczyń krwionośnych. Należą do nich albuminy, glikoproteiny, lipoproteiny oraz lipidy osocza. W tab. 2 przedstawiono ww. składniki oraz ich pochodzenie.

Tabela 2

Składniki śluzu żołądkowego
oraz źródło ich pochodzenia [3]

Źródło pochodzenia	Składniki
Gruczoły	mucyna glukoglicerolipidy sekrecyjne IgA białka wiążące witaminę B ₁₂ pepsyna
Osocze	albumina glikoproteiny surowicy lipoproteiny surowicy lipidy
Złuszczone komórki	glikoproteiny błonowe glikosfingolipidy fosfolipidy proteoglikany

Model jest interesujący, bowiem uwzględnia obecność i oddziaływania innych składników, które są obecne w śluzie i wg innych koncepcji nie posiadają żadnych określonych funkcji. Śluz wyizolowany z żołądków świni przy użyciu chlorku sodowego (0,155 mol/L i 2 mol/L) zawiera stosunkowo dużą zawartość białek i glikoprotein w porównaniu z ilością czystej mucyny [78]. Nowa koncepcja uwzględnia istnienie licznych obszarów hydrofilowych i hydrofobowych, z którymi mogą oddziaływać inne komponenty, takie jak białka, a szczególnie lipidy. Rozróżnia się dwa typy oddziaływań między lipidami i glikoproteinami (mucynami) śluzu: 1) w którym lipidy pozostają

zasocjowane z glikoproteiną przez siły hydrofobowe i 2) obejmujący kwasy tłuszczowe związane z glikoproteiną wiązaniem kowalencyjnym.

Dane eksperymentalne na temat topografii lipidów zasocjowanych z polimerem glikoproteiny śluzowej wskazują, że fosfolipidy oddziałują z glikoproteiną przez nieglikozylowane regiony. Oddziaływanie z glikolipidami, neutralnymi lipidami, takimi jak: triglicerydy, cholesterol, estry cholesterylu, obejmuje peryferyczne regiony cząsteczki polimeru glikoproteiny śluzu.

Obszar, w którym zasocjowane lipidy oddziałują z glikoproteiną śluzu jest określony przez ilość oraz rozmieszczenie kowalencyjnie związanych kwasów tłuszczowych. Dane eksperymentalne wskazują, że przynajmniej cztery kowalencyjnie związane kwasy tłuszczowe są obecne w nieglikozylowanym regionie polimeru glikoproteiny i jeden w pobliżu aminowego końca każdej podjednostki glikoproteiny [1, 79]. Wymienione dowody sugerują, że oba typy lipidów odgrywają ważną rolę w utrzymaniu integralności żelu śluzowego żołądka (1, 79–81). W efekcie polimer glikoproteiny śluzu przez jego różnorodne hydrofobowe i hydrofilowe regiony tworzy dynamiczną ciągłość z innymi składnikami śluzu (rys. 4). Koncepcja dynamicznej organizacji śluzu żołądka pociąga za sobą integralność i spójność żelu śluzowego. Lepkoelastyczne właściwości mogą być zakłócone nie tylko przez degradację mucyny, ale także przez zmiany w składzie lipidowym żelu śluzowego. To jest ważne stwierdzenie, ponieważ do tej pory przeważał pogląd, że inne składniki śluzu niż mucyna traktowano jako zanieczyszczenia, które w małym stopniu brały udział w funkcji żelu śluzowego. Natomiast doniesienia na temat roli lipidów i białek w funkcjonowaniu śluzu były często kontrowersyjne [1].

BIOSYNTeza MUCYN

Biogeneza mucyn zależy od N- i O-glikozylacji. W mucynie żołądka, N-glikozylacja pojawia się wcześniej w biogenezie glikoprotein i jest prawdopodobnie niezbędna dla oligomeryzacji i dalszego transportu wzdłuż drogi wydzielania. O-związane glikany są odpowiedzialne za specyficzne oddziaływania pomiędzy oligomerami mucyny wewnątrz granul sekrecyjnych i w obrębie żelu na zewnątrz komórki. Ich obecność warunkuje mucynie odporność na proteazy. W dodatku mają one znaczący wpływ na konformację białek. Zarówno N-, jak i O-związane glikany są niezbędne dla tworzenia końcowej funkcjonalnej konformacji oligomerycznych mucyn.

Wydzielane mucyny są wytwarzane przez wyspecjalizowane komórki nabłonka w śluzówce [82, 83]. Komórki te charakteryzują się obfitym wytwarzaniem glikoprotein śluzu. Szorstkie retikulum endoplazmatyczne jest ogólnie skoncentrowane w podstawowej cytoplazmie komórek. Aparat Gol-

giego jest dobrze rozwinięty i charakteryzuje się wysoką aktywnością glikozylacji potrzebnej do syntezy mucyn. Chociaż morfologiczne cechy komórek wytwarzających śluz są oczywiste, biosynteza mucyn nie jest częstym przedmiotem badań. Jest to spowodowane brakiem właściwych surowic przeciw mucynom, potrzebnych do zidentyfikowania licznych biosyntetycznych związków pośrednich. Biogeneza mucyn jest złożona, ponieważ obejmuje zarówno N- i O-glikozylację, oligomeryzację białek, wewnątrzkomórkowe gromadzenie oraz nieregulowane, jak i stymulowane wydzielanie.

N- i O-glikozylacja. Rdzenie białkowe mucyn są syntetyzowane na poliribosomach w zewnętrznej (cytoplazmatycznej) części szorstkiego retikulum endoplazmatycznego i kotranslacyjnie przenoszone poprzez błonę do wnętrza retikulum endoplazmatycznego. Mucyny zasocjowane z błoną, takie jak: MUC1 i leukosialina, zawierają sekwencję aminokwasów hydrofobowych, która pełni funkcję kontrolną w przemieszczaniu białek, współdziałając w ten sposób z białkami transbłonowymi [42].

Większość polipeptydów mucynowych jest N-glikozylowana do glikoproteiny zawierającej duże ilości mannozy ($\text{Glc}_3 \text{Man}_9 \text{GlcNAc}_2$). Reszty asparaginowe w glikoproteinach są tylko wtedy glikozylowane, jeśli są częścią sekwencji aminokwasowej Asn-X-Ser lub Asn-X-Thr, w której X może być każdym aminokwasem z wyjątkiem proliny i kwasu asparaginowego. N-glikozylację wykazano w MUC1, mucynie żołądka szczura i w mucynie z gruczołów podszczękowych [16, 72, 84]. Po zakończeniu syntezy polipeptydu i N-glikozylacji, mucyna jest transportowana do aparatu Golgiego poprzez transport pęcherzykowy.

Podczas przechodzenia przez pęcherzyki aparatu Golgiego, mucyny poddawane są ostatecznej glikozylacji. Ogólnie, N-związane glikany wytwarzane są w inny sposób niż mechanizm O-glikozylacji. W środkowych cysternach aparatu Golgiego N-związane glikany bogate w mannozę są przekształcane w „kompleks” oligosacharydów, w którym zostają usunięte wszystkie trzy cząsteczki glukozy i cztery cząsteczki mannozy. Najpierw reszta (GlcNAc) N-acetylglukuronowa przyłączona jest do glikanu, potem następuje usunięcie dwóch następnych cząsteczek mannozy. Cały „kompleks” N-związanych glikanów charakteryzuje się obecnością trzech pozostających reszt mannozowych. Sześciosacharyd ($\text{GlcNAc}_3 \text{Man}_3$) jest akceptorem dużej ilości glikozylotransferaz w transcysternach aparatu Golgiego. N-związane glikany mogą zawierać monosacharydy związane jeden za drugim. Nie wyjaśnione jest czy wszystkie N-związane glikany w mucynach wymagają złożonej konfiguracji. Początek procesu O-glikozylacji glikoprotein jest jeszcze mniej zbadany. Nie wiadomo nic na temat sekwencji aminokwasów, która występuje w miejscach O-glikozylacji. Powtarzające się sekwencje aminokwasów w różnych rdzeniach białkowych mucyn, które są miejscem dla O-glikozylacji, nie

wykazują homologii. Dlatego specyficzność GalNAc-transferaz wobec ich substratów białkowych jest do tej pory nie wyjaśniona.

Jednakże obecność reszt proliny w otoczeniu seryny i treoniny powoduje wystarczająco sztywną konformację peptydu, która może zapewniać najlepszy dostęp do GalNAc-transferazy [85, 86]. Istnieją dowody, że przyłączenie GalNAc do seryny i treoniny może zachodzić kotranslacyjnie [87], chociaż większość przyłączeń GalNAc jest najprawdopodobniej procesem posttranslacyjnym [88–90]. Większość inicjujących procesów O-glikozylacji mucyny z żołądka szczura zachodzi po oligomeryzacji białka i po opuszczeniu szorstkiego retikulum endoplazmatycznego przez oligomeryzujące prekursorzy [91]. Przyłączenie GalNAc do seryny i treoniny jest najprawdopodobniej zlokalizowane w „elementach przejściowych” retikulum endoplazmatycznego lub w cis-cysternach aparatu Golgiego [91, 88–90]. Początkowa O-glikozylacja mucyny żołądków szczura nie zależy ani od N-glikozylacji, ani od oligomeryzacji białka [91]. Transferaza GalNAc zaangażowana w początkową O-glikozylację przyłącza dużą liczbę ściśle upakowanych reszt GalNAc do centralnego obszaru białka. W rezultacie, centralny O-glikozyłowany obszar polipeptydu w dojrzałej mucynie jest przekształcony w wydłużoną, rozciągniętą konformację [51, 74, 92]. Po początkowym przyłączeniu reszt GalNAc do reszt aminokwasów hydroksylowych, O-glikozylacja postępuje dalej przez kolejne dodawanie monosacharydów przez specyficzną glikozylotransferazę. Prekursorzy mucyny są transportowane do trans-cystern aparatu Golgiego, gdzie następuje zakończenie syntezy O-związanych glikanów. Kolejność przyłączonych cukrów w O-glikozylacji następuje wg określonych reguł, jak donoszą Hounsl i Feizi [93], Feizi i wsp. [94] oraz Schachter i Williams [95]. O-związane oligosacharydy wykazują heterogenność wynikającą z kilku przyczyn: a) wydłużanie łańcucha jest zależne od ekspresji właściwych glikozylotransferaz, które są specyficzne dla tego typu komórki; b) przyłączenie monosacharydu do łańcucha oligosacharydu jest wewnętrznie określone przez właściwości dodanej ostatniej nieredukującej reszty; c) stopień rozgałęzienia, np. dodanie więcej niż jednego cukru do tego monosacharydu w łańcuchu; d) niektóre glikozylotransferazy współzawodniczą o ten sam oligosacharydowy substrat, zwykle wzajemnie wykluczając swoje działania; e) przyłączenie odpowiedniego monosacharydu do głównej niekońcowej reszty cukrowej w łańcuchu oligosacharydowym czasami zapobiega jego dalszemu wydłużaniu.

Powiązane ze sobą kompleksowo zachodzące etapy mogą kulminować w licznych, różnych oligosacharydach, składających się od 1–20 monosacharydów w jednej cząsteczce mucyny [13, 14, 57]. W końcowych etapach syntezy oligosacharydów, przyłączone są różne ilości kwasu sialowego i reszt siarczanowych, dając w efekcie cząsteczkę o dużej heterogenności i ładunku ujemnym [64, 66, 96–98].

Tworzenie oligomeru. Większość mucyn sekrecyjnych, takich jak: mucyny żołądkowo-jelitowe czy z szyjki macicy, składają się z kowalencyjnie związanych monomerów. Dla innych mucyn, np. mucyny z gruczołów podszczękowych nie jest pewnym czy tworzą one oligomery związane mostkami tiolowymi. Transmembranowe mucyny MUC1 i leukosialina nie tworzą kowalencyjnie związanych oligomerów [72, 99]. Kowalencyjna oligomeryzacja przez mostki tiolowe, występująca podczas biosyntezy, została opisana dla mucyny z żołądka szczura [36]. Dlatego w tej części opisana zostanie biosynteza tej mucyny (rys. 3). W żołądku szczura są transkrybowane dwa niezależne informacyjne RNA z dwóch współdominujących genów mucynowych, które ulegają translacji w szorstkim retikulum endoplazmatycznym [16]. Dwa m-RNA najprawdopodobniej jednocześnie ulegają translacji na poliribosomach, ponieważ monomeryczne prekursorzy o nieznacznie różnej masie cząsteczkowej są zmieszane podczas oligomeryzacji [36]. Ta heterogenność w rozmiarze polipeptydu jest spowodowana przez współdominującą ekspresję dwóch genów mucyny o różnorodnej liczbie powtarzających się sekwencji. Dlatego ta początkowa heterogenność w rozmiarze szkieletu białkowego jest powodem dalszej heterogenności w oligomerycznych mucynach.

Oligomeryzacja mucyny żołądka szczura nie zaczyna się natychmiast po syntezie białka, ponieważ regiony polipeptydu N- i C-końcowe nie mają właściwej konformacji do oddziaływań podjednostka-podjednostka. Ta początkowa konformacja jest prawdopodobnie stabilizowana przez wewnątrzcząsteczkowe mostki ditiolowe, co sugerowano dla innych białek, takich jak np. receptor antygenowy komórek T, grupy H, A i białko VSV G [100, 101]. Właściwa konformacja białka jest powoli uzyskiwana przez „zaginanie” peryferycznych części polipeptydu. Podczas ponownego zaginania, mostki ditiolowe są prawdopodobnie przeorganizowywane przez enzym – izomerazę tiolową, białko zatrzymywane w retikulum endoplazmatycznym.

Obecność N-związanych oligosacharydów współtranslacyjnie dodawanych do polipeptydu jest niezbędna dla wydajnej oligomeryzacji w retikulum endoplazmatycznym prekursorów mucyny z żołądka szczura [36]. Te glikany prawdopodobnie ułatwiają tworzenie trzeciorzędowej struktury peryferycznego regionu polipeptydu korzystnego dla oddziaływań wewnątrzcząsteczkowych, jak było sugerowane dla innych białek [100, 101]. Po wytworzeniu tej struktury prawdopodobnie jest ustalone specyficzne rozpoznanie pomiędzy peryferycznymi regionami polipeptydu dwóch przyległych cząstek prekursora. Następuje wtedy tworzenie wewnątrzcząsteczkowych mostków ditiolowych. W nieobecności N-związanych glikanów ta trzeciorzędowa konformacja byłaby osiągana bardzo wolno, a oligomeryzacja prekursorów mucyny żołądka szczura i ich następny transport do aparatu Golgiego byłby poważnie opóźniony [36]. W szorstkim retikulum endoplazmatycznym dimery nie są przekształcane w większe oligomery, a prekursorzy oligomerów są transpor-

towane do aparatu Golgiego w identycznym stopniu [36]. Proces oligomeryzacji poprzedza transport do aparatu Golgiego, ponieważ nie obserwowano transportu monomerycznych prekursorów do aparatu Golgiego [22, 36, 76, 102]. Obecnie nie wiadomo, jakie istnieją różnice w funkcji pomiędzy dimerami, trimerami i wyższymi oligomerami. Natomiast wiadomo, że końcowy rozmiar oligomerycznej mucyny jest określony w retikulum endoplazmatycznym przez odpowiednią liczbę monomerów powiązanych koniec z końcem. Obecność wewnątrzcząsteczkowych mostków disiarczkowych jest pierwszoplanowym czynnikiem w tworzeniu żelu. Oczywistym jest, że proces ich ponownego rozpadu i tworzenia przez tiolowe białkowe izomeryazy musi być w wysokim stopniu regulowany, aby zapewnić końcową jakość mucyny.

Wewnątrzkomórkowy rozdział i transport mucyn. Większość aspektów w biosyntezie mucyn, transport poprzez komórkę podczas i po biosyntezie mucyn jest ciągle szerokim i nie wyeksploatowanym polem badania. Ten transport charakteryzuje się dwiema głównymi cechami: 1) mucyny są wydzielane w wierzchołkowej części komórki i są transportowane; 2) mucyny sekrecyjne tworzące żel są zbierane i przechowywane w granulach przed sekrecją. Po zakończeniu biosyntezy mucyny są dzielone w retikulum endoplazmatycznym aparatu Golgiego i kierowane do granul sekrecyjnych. Następnie są transportowane w stronę powierzchniowej części komórki i ostatecznie tworzą fuzję z górną powierzchnią błony plazmatycznej [13]. Mucyny transmembranowe nie są przechowywane wewnątrz komórki i są przypuszczalnie natychmiast po syntezie bezpośrednio transportowane do powierzchni błony cytoplazmatycznej. Dlatego transport mucyn przez komórki jest częściowo identyczny z ogólną drogą transportu wydzielanych białek i białek membranowych, a częściowo specyficzny dla mucyn. Sygnał dla transportu mucyny żołądka szczura z retikulum endoplazmatycznego do aparatu Golgiego jest umiejscowiony najprawdopodobniej w konformacji właściwie zgiętego polipeptydu, a nie w strukturze cukru [36]. Ponieważ konfiguracja N-związanych glikanów jest nieznacząca do transportu i O-glikozylacja jest rozpoczęta tylko po oligomeryzacji prekursora; glikany nie mają udziału w sygnale dla transportu.

Ogólnie uważa się, że nowo syntetyzowane „niewłaściwie pozaginane” białka są zatrzymywane w retikulum endoplazmatycznym przez wiązanie do białka, które rozpoznaje jego konformację. Wykazano, że to białko wiąże różnorodne „niewłaściwie zagięte” białka sekrecyjne oraz białka błonowe w retikulum endoplazmatycznym, natomiast nie obserwowano wiązania białek, które uzyskiwały konformację funkcjonalną [103–106]. Za pomocą podobnego mechanizmu zatrzymywany jest w retikulum endoplazmatycznym prekursor mucyny z żołądka szczura. Po zakończeniu biosyntezy w aparacie Golgiego mucyny są kierowane do wakuol kondensujących, które są utworzo-

ne w cysternach Golgiego. Duża liczba nagromadzonych granul jest bardzo ściśle upakowana przy powierzchni błony plazmatycznej. Uważa się, że molekularny sygnał dla gromadzenia wydzielanych białek jest zakodowany wewnątrz pierwszorzędowej struktury białek. Mucyny posiadają dość znaczny ładunek ujemny. Panuje pogląd, że wiążą one dość dużą ilość wapnia, który znaleziono w granulach mucyn [68, 107–109]. Stwierdzono, że sulfonowanie mucyn prawdopodobnie nie ma wpływu na przechowywanie i wydzielanie, bowiem niesulfonowana mucyna z żołądka szczura jest gromadzona i wydzielana *in vitro* w tym samym stopniu jak mucyna sulfonowana [16]. Podział mucyn związanych z błoną jest prawdopodobnie zaprogramowany w białkowej części obecnej w cytoplazmie. Cytoplazmatyczne sekwencje białek zawierają informację, która określa ich dystrybucję do pewnych organów lub do pewnych domen błon plazmatycznych. Lizosomalne białka błon mają układ Gly i Tyr w ich ogonach, który jest ważny dla ich gromadzenia w lizosomach [29]. Obecność jednej lub więcej reszt tyrozyny w receptorach powierzchniowych komórki jest decydująca dla ich endocytozy. Według tego poglądu aminokwasowe reszty zawierające tyrozinę są rozpoznawane przez wyspecjalizowany zbiór białek obecnych w specyficznych zagłębieniach w błonach plazmatycznych i aparacie Golgiego. To rozpoznanie jest zasadnicze dla białek poddanych endocytozie.

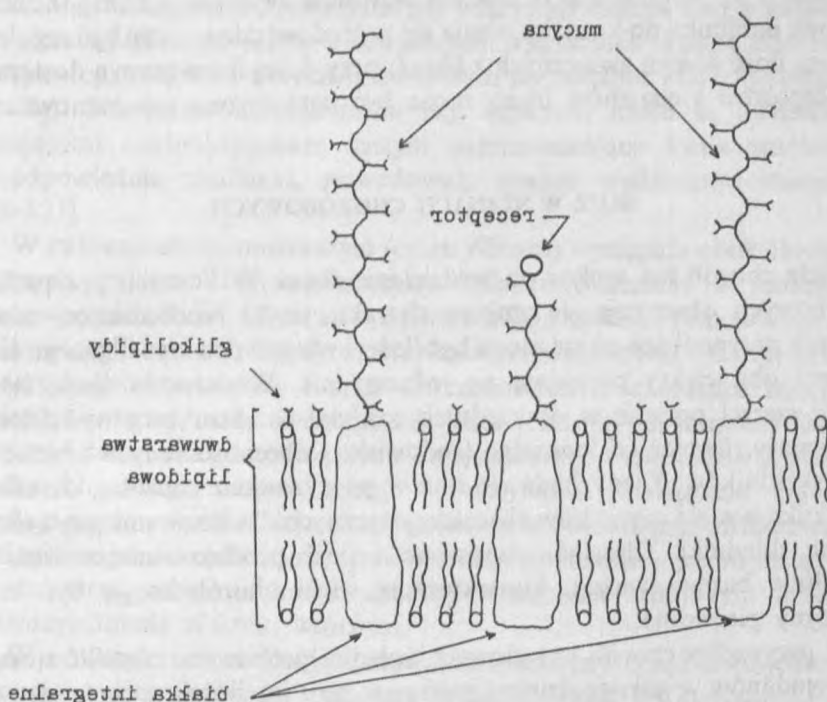
Egzocytoza wydzielanych mucyn tworzących żel zachodzi przez fuzję błony otaczającej przechowywaną w granulach mucynę z błoną plazmatyczną. Wydzielanie może być stymulowane bardzo szybko w warunkach, kiedy nabłonek potrzebuje dodatkowej ochrony. Wydzielanie śluzu jest prawdopodobnie pod kontrolą zarówno nerwową, jak i hormonalną [13]. W warunkach eksperymentalnych *in vitro*, podstawowe wydzielanie jest zasadniczo niskie [110–111]. Egzocytoza jest procesem zależnym od energii, występująca w specyficznych miejscach błony plazmatycznej. Błona ograniczająca granule śluzu jest przeniesiona w bardzo bliski kontakt z powierzchnią błony plazmatycznej, gdzie tworzą się tzw. pory fuzji [112]. Pory składają się prawdopodobnie ze specyficznych białek obecnych w błonie granul [112]. Po uzyskaniu odpowiedniej informacji białka te reagują z błoną plazmatyczną tworząc pory przez obie błony do zewnątrzkomórkowej przestrzeni. Jednym z sygnałów włączonych w ten proces jest wzrost stężenia Ca^{2+} w cytoplazmie. Zauważono, że uwalnianie Ca^{2+} było obserwowane przed uwolnieniem mucyn z granul śluzu u ślimaka *Ariolimax columbianus* [68]. Ponieważ granule śluzu zawierają zazwyczaj wysokie stężenia Ca^{2+} , uwalnianie wapnia z granul mucynowych może uruchamiać tworzenie por fuzyjnych. Po utworzeniu por fuzyjnych dla egzocytozy, wysoko stężona mucyna jest gwałtownie (w ciągu milisekund) uwalniana zajmując od 400 do 600 razy większą niż pierwotna objętość [68, 113]. Ekspansja śluzu jest zainicjowana przez utratę jonów wapnia z granul, podczas gdy polianionowa mucyna traci osłaniające kationy [113]. Wzrost

objętości mucyn podczas egzocytozy jest prawdopodobnie stymulowany przez elektrostatyczną repulsację pomiędzy ujemnie naładowanymi cząsteczkami a hydrofilową naturą oligosacharydów [113]. Ujemny ładunek cząsteczek w połączeniu z niskim stężeniem kationów częściowo determinuje lepkość zewnątrzkomórkowego żelu śluzowego. W obecności kationów, ujemnie naładowane cząsteczki mucyny w żelu śluzowym ulegają kondensacji usuwając częściowo wodę, regulując w ten sposób wiskoelastyczne właściwości żelu. Zwiększona zawartość siarczanów i kwasu sialowego w mucynach jest skorelowana ze zwiększoną lepkością żelu mucynowego [114]. Ładunek ujemny, pochodzący od kwasu sialowego i reszt siarczanowych, działa inicjująco na kompleksowanie mucyn z wapniem podczas ich przechowywania. Następnie podczas uwalniania wapnia w trakcie egzocytozy, ładunek jest odpowiedzialny za gwałtowną ekspansję mucyn do tworzenia silnie uwodnionego żelu. Ostatecznie, ładunek częściowo determinuje reologiczne właściwości żelu śluzowego przez elektrostatyczne interakcje z niskim stężeniem kationów.

FUNKCJE MUCYN ZWIĄZANYCH Z BŁONĄ KOMÓRKOWĄ

Mucyny związane z membraną mogą wykazywać ochronną rolę porównywalną do mucyn sekrecyjnych. Większość, jeśli nie wszystkie komórki nabłonka mają niskie stężenie glikoprotein podobnych do mucyny, takich jak MUC1 w zewnętrznej części błony [115, 116]. Mimo że nie są one kowalencyjnie powiązane w homooligomery, jak sekrecyjne mucyny, mogą one służyć jako ostatnia bariera ochronna przeciw czynnikom zewnętrznego środowiska, takim jak niskie pH czy enzymy hydrolityczne. Łańcuch polipeptydowy MUC1 posiada masę cząsteczkową pomiędzy 120 000 a 300 000, w którym ok. 25% wszystkich aminokwasów stanowi seryna i treonina [41]. Jeśli wszystkie hydroksyaminokwasy zawierają O-związane oligosacharydy, czego można się spodziewać na podstawie mas cząsteczkowych dojrzałych mucyn związanych z błoną, prawdopodobnie posiadają taką samą sztywność jak mucyny sekrecyjne. Taka cząsteczka glikoproteiny ma długość ok. 150 nm i ustawiona prostopadłe do powierzchni błony zachowuje się jak sztywny pręt (rys. 5). Jeśli z błoną związana jest dostateczna ilość takich glikoprotein, będą one oczywiście osłaniać niektóre antygeny powierzchniowe komórki lub/i miejsca wiążące receptorów dla ligandów o wysokiej masie cząsteczkowej. Ponieważ zewnętrzna powierzchnia większości komórek nabłonka pełni funkcję absorpcyjną, można przypuszczać, że w normalnych komórkach mucyny związane z błoną mogą pełnić ważną funkcję osłaniającą komórkę przed środowiskiem.

Ostatnio wykazano, że oczyszczona mucyna MUC1 inhibuje cytotoksyczne działanie eozynofili na komórki narażone na ich działanie [117]. Ta inhibicja



Rys. 5. Model mucyny związanej z błoną wg Strousa i Dekkera [4] (zmodyfikowany)

jest spowodowana specyficznym oddziaływaniem między tą mucyną a składnikiem cytotoksycznej, eozynofilnej powierzchni. To może wyjaśniać niezdolność cytotoksycznych komórek do unieczynniania nowotworowych komórek nabłonka, ponieważ te ostatnie posiadają nadmierną ilość mucyn na ich powierzchni. Z drugiej strony, normalna zawartość mucyn MUC1 w błonie plazmatycznej nabłonka może służyć do ochrony tych komórek przeciw uszkodzeniom spowodowanym przez komórki zainfekowane.

Wiele komórek nabłonka, np. jelita cienkiego lub jamy ustnej funkcjonuje nie tylko jako linia obronna, ale również uczestniczy w procesach selektywnego pobierania i wiązania. Częsteczkami odpowiedzialnymi za te ostatnie procesy są enzymy związane z błoną lub receptorami (jak w kubkach smakowych języka) z ich aktywnym centrum tuż przy błonie. Można przypuszczać, że na powierzchni komórek nabłonka mogą występować warstwy odpowiedzialne za różne procesy zachodzące w obrębie błony: 1) glikoproteiny zanurzone w błonie, fragmenty transmembranowe mogą pełnić rolę kanałów transportowych dla innych cząsteczek, np. substancji odżywczych; 2) od 100–150 Å powyżej błony komórkowej umieszczone są enzymy

i receptory; 3) powyżej 150 Å mucyny ochronne związane z błoną. Zdolność komórek nabłonka do kontaktowania się ze środowiskiem może być regulowana przez ilość mucyn związanych z błoną; przy dużej ilości mucyn dostępność do receptorów i enzymów błony może być ograniczona lub hamowana.

ŚLIZ W STANACH CHOROBY

Wiele chorób ma wpływ na wydzielanie śluzu. W licznych przypadkach chorobowych obserwuje się zmiany charakterystyki biochemicznej mucyn, w innych przypadkach różne mogą być ilości i właściwości wydzielanego śluzu. Czasami oba efekty pojawiają się jednocześnie. Właściwości śluzu *in vivo* zostały szerzej opisane w poprzednich rozdziałach. Struktura wydzielonego śluzu zależy również od jonowego środowiska i obecności innych niemucynowych składników. Kiedy bada się śluz w powiązaniu z chorobą, określa się tylko kilka z wielu czynników charakterystycznych dla śluzu, mucyny i niemucynowe składniki. Chociaż właściwości i ilość produkowanego śluzu jest oczywiście bardzo ważna, konsekwencją wielu chorób mogą być często przyczyny pierwotne.

W przypadku chorób wrzodowych żołądka próbowano określić stosunek węglowodanów w glikoproteinie i porównać go z ich ilością u osób zdrowych [118, 19, 120]. Otrzymane rezultaty były często sprzeczne ze sobą albo w ogóle nie wykazywano różnic w stosunku węglowodanów. Znalezione natomiast mniejszą ilość kwasu sialowego w soku żołądkowym u pacjentów z chorobą wrzodową żołądka w porównaniu z grupą kontrolną [121]. Dość nieoczekiwanym rezultatem było stwierdzenie większej zawartości glikoprotein w soku żołądkowym grupy kontrolnej w porównaniu z grupą pacjentów z chorobą wrzodową żołądka [122].

W wielu chorobach żołądka pojawia się dezintegracja żelu śluzowego, proces ten był przypisywany wzmożonej aktywności pepsyny [123]. Nowsze badania wykazały, że infekcja spowodowana przez *Helicobacter pylori* może być odpowiedzialna za osłabienie spójności żelu śluzowego. Ostatnie rezultaty sugerują, że *Helicobacter pylori* „przyczepiona” do powierzchni śluzu wydziela na zewnątrz proteazy i lipazy zdolne do degradowania lipidów i glikoprotein żelu śluzowego [124].

Wiele leków, takich jak: pochodne acetylocholin czy karbacholu, powoduje wzrost grubości żelu śluzowego w żołądku psa i szczura [125, 126]. Atropina znosiła działanie karbacholu [127].

Jelitowe komórki nabłonka, w tym komórki kubkowe są wyraźnie wrażliwe na acetylocholinę i jej analogi. Przeciwnie, komórki kubkowe kosmka i komórki z jelita grubego wytwarzające śluz nie są wrażliwe na pochodne acetylocholin. Natomiast c-AMP indukuje wydzielanie śluzu

z komórek w tchawicy. Prostaglandyny odgrywają istotną rolę w gwałtownym wzroście wydzielania śluzu. Podwyższone wydzielanie mucyn obserwowano w tchawicy, żołądku i woreczku żółciowym po dodaniu PGE_2 (prostaglandyna E_2). Natomiast indometacyna czy aspiryna, które są związkami inhibującymi cyklooksygenazę, enzym przekształcający kwas arachidonowy w odpowiednie nadtlenki, powodowały spadek wydzielania mucyn [125, 128–131].

W zwłóknieniu torbielowatym (*cystic fibrosis*) występują obok charakterystycznych zmian w budowie mucyny dodatkowo zmiany w reologicznych właściwościach śluzu. Obserwuje się wzrost jego gęstości oraz wyższe stopnie całkowitej glikozylacji, której towarzyszy wyższa zawartość fukozy, galaktozy, N-acetylo-galaktozoaminy i reszt siarczanowych w cząsteczce mucyny. Te zmiany występują stale w mucynach jelita i smółki (meconium) [132–134]. Ostatnio doniesiono, że zwłóknienie torbielowe jest spowodowane defektem białka błonowego uczestniczącego w aktywnym transporcie jonów Cl^- . Wydaje się, że najpoważniejszą konsekwencją w zwłóknieniu torbielowatym są reologiczne właściwości śluzu, spowodowane zmianami w jonowym środowisku na powierzchni nabłonka. Zmiany w składzie cukrowym mucyny są prawdopodobnie efektem wtórnym.

W nowotworach złośliwych, wydzielane mucyny żołądkowo-jelitowe czy oskrzelowe ulegają dużym zmianom w nieredukujących końcach O-związanych oligosacharydów. Te zmiany mogą być łatwo wykryte przy użyciu lektyn lub monoklonalnych przeciwciał. Znaczenie tych bardzo ważnych aspektów regulacji syntezy mucyn jest opisane przez Zottera i wsp. [115]. W jelicie cienkim i grubym efekty licznych zmian patologicznych w składzie i jakości mucyn nie są dotychczas poznane. W chorobach nowotworowych żołądka (*adenocarcinoma*), we wrzodowym zapaleniu okrężnicy i w chorobie Crohna wydzielane są mucyny o wyższej zawartości siarczanów i mniejszej zawartości kwasu sialowego [135]. Dotychczas nie jest poznane czy te efekty są bezpośrednio związane z uszkodzeniami genomu, czy z przyczynami wtórnymi. Liczne doniesienia wykazują zmiany w histochemicznym barwieniu w chorobie Crohna i we wrzodziejącym zapaleniu okrężnicy [135]. Dodatkowo zmiany w składzie cukrowym są konsekwencją wzrostu sialomucyn w stosunku do sulfomucyn, zmieniona jest O-acylacja kwasu sialowego, obserwuje się obniżenie zawartości fukozy i zwiększone „odsłonięcie” cząsteczek galaktozy [136, 137]. Ponieważ przyczyny tych zmian są niejasne, trudno jest sklasyfikować te obserwacje. Praktycznie stan warstwy śluzu jest rezultatem dynamicznej równowagi pomiędzy syntezą a degradacją. Ilościowa analiza mucyn wyizolowanych z chorych tkanek jest tylko jednym z wielu parametrów. Szacowanie np. roli, jaką odgrywają bakterie w składzie i jakości mucyn jest trudna do ustalenia w takim środowisku. Istnieją pewne przesłanki, że mucyny mają również udział w tworzeniu kamieni żółciowych. Chociaż tworzenie kamieni

jest zależne od wielu różnych czynników, wykazano pewną korelację między nadmiernym wydzielaniem mucyny a tworzeniem kamieni cholesterolowych [138, 139]. Innym ważnym spostrzeżeniem jest to, że czynniki które inhibują sekrecję mucyny hamują również tworzenie kamieni. Aspiryna dodana do diety bogatej w cholesterol u psów stepowych hamowała jednocześnie wydzielanie mucyny i tworzenie kamieni żółciowych [138, 139]. Czy mucyna działa tylko jako czynnik „wiążący cholesterol”, czy jej właściwości do tworzenia żelu są tutaj takie ważne, jest to dotychczas nie wyjaśnione. Wydaje się, że tworzenie kamieni może być hamowane przez inhibicję tworzenia metabolitów arachidonowych albo przez przyspieszenie degradacji mucyny.

Większość, jeśli nie wszystkie komórki nabłonka posiadają mucyny związane z błoną, takie jak MUC1 w ich zewnętrznej powierzchni stykającej się ze śluzem. W większości chorób nowotworowych ilość mucyn (MUC1) na powierzchni komórek znacznie się zwiększa [115]. Struktura glikozylacji tego polipeptydu różni się pośród nowotworów z różnych tkanek [140, 141, 142, 143]. Mechanizm tej zwiększonej ekspresji nie jest znany. Uważa się, że początkowo komórki nowotworowe tracą ich spolaryzowany charakter i w konsekwencji wysokie stężenie mucyn MUC1 rozprzestrzenia się na całą powierzchnię komórki. Otoczka mucynowa może chronić komórki nowotworowe przeciw niskiemu pH, wysokiemu stężeniu mleczanu spowodowanym przez wysoką aktywność glikolityczną tych komórek [144]. Komórki, te po opuszczeniu warstwy nabłonka mogą charakteryzować się odpornością na lizę wywołaną przez czynniki zabójcze dla innych komórek dzięki wysokiej zawartości sialomucyn [116, 146, 147]. Mucyny te obecne na powierzchni komórek mogą interferować z systemem immunologicznym limfocytów T, przez tworzenie przeszkody sterycznej dla obecnego antygeny powierzchniowego [148]. Inną drogą blokowania systemu odpornościowego może być tworzenie wysokiego stężenia cząstek mucyn przez uwalnianie ich za pomocą proteolizy z komórek nowotworowych. Cyrkulujące fragmenty mucyn tworzą kompleksy odpornościowe, które działają jako czynniki blokujące dla systemu odpornościowego [116, 149]. Ostatecznie, zależne od charakteru wiązania lektyny, komórki nowotworowe mogą przylegać tylko do specyficznych innych kategorii komórek w organizmie, dając komórki nowotworowe różnego pochodzenia [150, 151].

LITERATURA

- [1] Allen A. (1981), *Physiology of Gastrointestinal Tract*, ed. L. R. Johnson, Raven Press, New York.
- [2] Carlstedt I., Sheehan J. K. (1984), *Mucus and mucosa*, Ciba Found. Symp., Pitman, London, 109, 157.

- [3] Slomiany B. L., Sarosiek J., Slomiany A. (1987), *Dig. Dis.*, **5**, 125-145.
- [4] Strous G. J. (1992), *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **27**, 57.
- [5] Laboisse Ch. L. (1986), *Biochimie*, **68**, 611.
- [6] Pigman W. (1977), *The Glycoconjugates*, Vol. 1, eds M. I. Horowitz, W. Pigman Academic Press, New York, 129.
- [7] Williams S. E., Turnberg L. A. (1980), *Gastroenterology*, **79**, 299.
- [8] Flemstroem G., Kivilaakso E. (1983), *Gastroenterology*, **84**, 787.
- [9] Rees W. D., Turnberg L. A. (1982), *Clin. Sci.*, **62**, 343.
- [10] Ross I. N., Bahari H. M. M., Turnberg L. A. (1981), *Gastroenterology*, **81**, 713.
- [11] Takeuchi K., Magee D., Ctrichlow J., Matthews J., Silen W. (1983), *Gastroenterology*, **84**, 331.
- [12] Allen A., Bell A., Mantle M., Pearson J. P. (1982), *Mucus in Health and Disease II*, eds E. N. Chantler, J. B. Elders, M. Elstein, Plenum Press, New York, 144, 115.
- [13] Neutra M. R., Forstner J. F. (1987), *Physiology of the Gastrointestinal Tract*, ed. L. R. Johnson, Raven Press, New York, 975.
- [14] Filipe M. I. (1979), *Invest. Cell Pathol.*, **2**, 195.
- [15] Gum J. R., Byrd J. C., Hicks J., Toribara N. W., Lamport D. T. A., Kim Y. S. (1989), *J. Biol. Chem.*, **264**, 6480.
- [16] Dekker J., Van Beurden-Lamers W. M. O., Strous G. J. (1989), *J. Biol. Chem.*, **264**, 10431.
- [17] McDonald J. A. (1988), *Annu. Rev. Cell Biol.*, **4**, 193.
- [18] Carlstedt I., Sheehan J. K. (1989), *Mucus and Related Topics*, eds E. Chantler, N. A. Ratcliffe, University of Cambridge, Cambridge; *Symp. Soc. Exp. Biol.*, **43**, 289.
- [19] Thornton D. J., Davies J. R., Kraayenbrink M., Richardson P. S., Sheehan J. K., Carlstedt I. (1990), *Biochem. J.*, **265**, 179.
- [20] Spee-Brand R., Strous G. J., Kramer M. F. (1980), *Biochim. Biophys. Acta*, **621**, 104.
- [21] Sheehan J. K., Carlstedt I. (1984), *Biochem. J.*, **221**, 499.
- [22] Dekker J., Aelmans P. H., Strous G. J. (1991), *Biochem. J.* **227**, 423.
- [23] Goodwin S. D., Waltskins W. M. (1974), *Eur. J. Biochem.*, **47**, 371.
- [24] Gendler S., Taylor-Papadimitriou J., Duhig T., Rothbard J., Burchell J. (1988), *J. Biol. Chem.*, **263**, 12820.
- [25] Slomiany A., Zdebska E., Slomiany B. L. (1984), *J. Biol. Chem.*, **259**, 14743.
- [26] Allen A., Snary D. (1972), *Gut*, **13**, 666.
- [27] Bell A. E., Sellers A., Allen A., Cunliffe W. J., Morris E. R., Ross-Murphy S. B. (1985), *Gastroenterology*, **88**, 269.
- [28] Snary D., Allen A., Pain R. H. (1974), *Biochem. J.* **141**, 641.
- [29] Kawagishi S., Fahim R. E. F., Wong K. H., Bennick A. (1990), *Arch. Oral Biol.*, **35**, 265.
- [30] Pearson J. P., Allan A., Parry S. (1981), *Biochem. J.* **197**, 155.
- [31] Mantle M., Mantle D., Allan A. (1981), *Biochem. J.*, **195**, 277.
- [32] Naziruddin B., Shankar V., Delarocha S. R., Sachdev G. P. (1990), *Biochim. Biophys. Acta*, **1041**, 164.
- [33] Robertson A. M., Mantle M., Fahim R. E. F., Specian R. D., Bennick A., Kawagishi S., Sherman P., Forstner J. F. (1989), *Biochem. J.*, **261**, 637.
- [34] Slomiany A., Okazaki K., Tamura S., Slomiany B. L. (1991), *Arch. Biochem. Biophys.*, **286**, 383.
- [35] Rose M. C. (1989), *Meth. Enzymol.*, **179**, 3.
- [36] Dekker J., Strous G. J. (1990), *J. Biol. Chem.*, **265**, 18116.
- [37] Sheehan J. K., Oates K., Carlstedt I. (1986), *Biochem. J.*, **239**, 147.

- [38] Slomiany A., Yano S., Slomiany B. L., Glass G. B. J. (1978), *J. Biol. Chem.*, **253**, 3785.
- [39] Slomiany B. L., Sarosiek J., Slomiany A. (1987), *Dig. Dis.*, **5**, 125.
- [40] Gwoździński K. rezultaty nie publikowane.
- [41] Gendler S. J., Lancaster C. A., Taylor J., Duhig T., Peat N., Burchell J., Pemberton L., Lalani E., Wilson D. (1990), *J. Biol. Chem.*, **265**, 15286.
- [42] Ligtenberg M. J. L., Vos H. L., Gennissen A. M. C., Hilkens J. (1990), *J. Biol. Chem.*, **265**, 5573.
- [43] Schmidt M. F. G., (1989), *Biochim. Biophys. Acta*, **988**, 411.
- [44] Creeth J. M., (1978), *Br. Med. Bull.*, **34**, 17.
- [45] Crowther R. S., Marriott C., James S. (1984), *Biorheology*, **21**, 253.
- [46] Forstner J. F., Forstner G. G. (1975), *Biochim. Biophys. Acta*, **386**, 283.
- [47] Forstner J. F., Forstner G. G. (1976), *Pediatr. Res.*, **10**, 609.
- [48] Eckhardt A. E., Timpte C. S., Abernethy J. L., Toumadje A., Johnson W. C., Hill R. L. (1987), *J. Biol. Chem.*, **262**, 11339.
- [49] Hill H. D., Schwyzer M., Steinman H. M., Hill R. L. (1977), *J. Biol. Chem.*, **252**, 3799.
- [50] Marianne T., Perini J. M., Lafitte J. J., Houdret N., Pruvot F. R., Rousset P. (1987), *Biochem. J.*, **248**, 189.
- [51] Shogren R., Gerken T. A., Jentoft N. (1989), *Biochemistry*, **28**, 5525.
- [52] Pigman W., Moschera J., Weis M., Tettamanti G. (1973), *Eur. J. Biochem.*, **32**, 148.
- [53] Timpte C. S., Eckhardt A. E., Abernethy J. L., Hill R. L. (1988), *J. Biol. Chem.*, **263**, 1081.
- [54] Carlson D. M. (1968), *J. Biol. Chem.*, **243**, 616.
- [55] Hill H. D., Reynolds J. A., Hill R. L. (1977), *J. Biol. Chem.*, **252**, 3791.
- [56] Lotan R., Skutelsky E., Dannon D., Sharon N., (1975), *J. Biol. Chem.*, **250**, 8518.
- [57] Hounsell E. F., Feizi T. (1982), *Med. Biol.*, **60**, 227.
- [58] Kannagi R., Levery S. B., Hakomori S-I. (1985), *J. Biol. Chem.*, **260**, 6410.
- [59] Watkins W. M. (1980), *Advances in Human Genetics*, eds H. Harris, K. Hirschhorn, Plenum Press, New York; *Adv. Hum. Genet.*, **10**, 1.
- [60] Kumazaki T., Yoshida A. (1984), *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **81**, 4193.
- [61] Gooi H. C., Feizi T., Kapadia A., Knowles B. B., Solter D., Evans M. J. (1981), *Nature (London)*, **292**, 156.
- [62] Raux H., Labbe F., Fondaneche M.-C., Koprowski H., Burtin P. (1983), *Int. J. Cancer*, **32**, 315.
- [63] Szulman A. E. (1966), *Annu. Rev. Med.*, **17**, 307.
- [64] Kramer M. F., Geuze J. J., Strous G. J. A. M. (1978), *CIBA Found. Symp.*, **54**, 25.
- [65] Murakami S., Fujimoto N., Mori Y. (1986), *J. Pharmacobiol. Dyn.*, **9**, 359.
- [66] Huttner W. B. (1987), *TIBS*, **12**, 361.
- [67] Hille A., Rosa P., Huttner W. B. (1984), *FEBS Lett.*, **177**, 129.
- [68] Verdugo P., Deyrupolsen I., Aitken M., Villalon M., Johnson D. (1987), *J. Dent. Rest.*, **66**, 506.
- [69] Roberts G. P. (1978), *Br. Med. Bull.*, **34**, 25.
- [70] Malinowski C. E., Herp P. (1981), *Cop. Biochem. Physiol.*, **69**, 605.
- [71] Tabak A., Mirels L., Monte L. D., Ridall A. L., Levine M. J., Baum B. J. (1985), *Arch. Biochem. Biophys.*, **242**, 383.
- [72] Hilkens J., Buijs F. (1988), *J. Biol. Chem.*, **263**, 4215.

- [73] Sellers L. A., Allen A., Moris E. R., Ross-Murphy S. B. (1988), *Biochem. J.*, **256**, 599.
- [74] Shogren R. L., Jentoft N., Gerken T. A., Jamieson A. M., Blackwell J. (1987), *Carbohydr. Res.*, **160**, 317.
- [75] Forster J. F., Jabbal I., Qureshi R., Kells D. I. C., Forstner G. G. (1979), *Biochem. J.*, **181**, 725.
- [76] Dekker J., van der Ende A., Aelmans P. H., Strous G. J., *Biochem. J.* (w druku).
- [77] Dekker J. (1990), Praca doktorska, Utrecht.
- [78] Gwoździński K., Zaleśna G., rezultaty nie publikowane.
- [79] Gwoździński K., Slomiany A., Nishikawa H., Okazaki K., Slomiany B. L. (1988), *Biochem. Int.*, **17**, 907-917.
- [80] Bilski J., Sarosiek J., Murty V. L., Aono M., Moriga M., Slomiany A., Slomiany B. L. (1987), *Biochem. Pharmacol.*, **36**, 4059-4065.
- [81] Slomiany B. L., Murty V. L., Carter S. R., Slomiany A. (1986), *Digestion*, **34**, 275-280.
- [82] Kramer M. F., Geuze J. J. (1977), *J. Cell. Biol.*, **73**, 533.
- [83] Smits H. L., Kramer M. F. (1981), *Am. J. Anat.*, **161**, 365.
- [84] Van Nieuw Amerongen A., Oderkerk C. H., Roukeman A., Wolf J. H., Lisman J. W., Vliegthart J. F. G. (1987), *Carbohydr. Res.*, **164**, 43.
- [85] Briand J. P., Andrews S. P., Cahill E., Conway N. A., Young J. D. (1981), *J. Biol. Chem.*, **256**, 12205.
- [86] Hanover J. A., Lennarz W. J., Young J. D. (1980), *J. Biol. Chem.* **255**, 6713.
- [87] Strous G. J. A. M. (1979), *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **76**, 2694.
- [88] Abeijon C., Hirschberg C. B. (1979), *J. Biol. Chem.*, **262**, 4153.
- [89] Deschuyteneer M., Eckhardt A. E., Roth J., Hill R. L. (1988), **263**, 2452.
- [90] Piller V., Piller F., Klier F. G., Fukuda M. (1989), *Eur. J. Biochem.*, **183**, 123.
- [91] Dekker J., Van Beurden-Lamers W. M. O., Oprins A., Strous G. J. (1989), **260**, 717.
- [92] Gerken T. A. (1986), *Arch. Biochem. Biophys.*, **247**, 239.
- [93] Gerken T. A., Butenhof K. J., Shogren R. (1989), *Biochemistry*, **28**, 5536.
- [94] Feizi T., Gooi H. C., Childs R. A., Picard J. K., Uemura K., Lomes L. M., Thorpe S. J., Hounsell E. F. (1984), *Biochem. Soc. Trans.*, **12**, 591.
- [95] Schachter H., Williams D. (1982), *Mucus and Helth*, eds E. N. Chantler, J. B. Elder, M. Elstein, Plenum Press, New York; *Adv. Exp. Med. Biol.*, **2**, 3.
- [96] Kakei M., Ohara S., Ishihara K., Gosō K., Okabe H., Hotta K. (1984), *Digestion*, **30**, 59.
- [97] Kato J., Spiro R. G. (1989), *J. Biol. Chem.*, **264**, 3364.
- [98] Liao Y. H., Horowitz M. I. (1982), *J. Biol. Chem.*, **257**, 4709.
- [99] Killeen N., Barclay A. N., Willis A. C., Williams A. F. (1987), *EMBO J.*, **141**, 633.
- [100] Klausner R. D. (1989), *New Biol.*, **1**, 3.
- [101] Rose J. K., Doms R. W. (1988), *Annu. Rev. Cell Biol.*, **4**, 258.
- [102] Dekker J., Strous G. J. (1990), *J. Biol. Chem.*, **265**, 18116-122.
- [103] Haas I. G., Meo T. (1988), *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **85**, 2250.
- [104] Bole D. G., Hendershot L. M., Kearny J. F. (1986), *J. Cell Biol.*, **102**, 1558.
- [105] Dorner A. J., Bole D. G., Kaufman R. J. (1987), *J. Cell Biol.*, **105**, 2665.
- [106] Gething M. J., McCammon K., Sambrook J. (1986), *Cell*, **46**, 939.
- [107] Takano Y., Akai M. (1988), *Histochemistry*, **89**, 429.
- [108] Tam P. Y., Verdugo P. (1981), *Nature (London)*, **292**, 340.

- [109] Verdugo P., Aitken M., Langley L., Villalon M. J. (1987), *Biorheology*, **24**, 625.
- [110] Neutra M., Leblond C. P. (1966), *J. Cell Biol.*, **30**, 119.
- [111] Specian R. D., Neutra M. R. (1980), *J. Cell Biol.*, **85**, 626.
- [112] Almers W. (1990), *Annu. Rev. Physiol.*, **52**, 607.
- [113] Verdugo P. (1990), *Annu. Rev. Physiol.*, **52**, 157.
- [114] Mian N., Kent P. W. (1986), *Biochim. Biophys. Acta*, **883**, 476.
- [115] Zotter S., Hageman P. C., Lossnitzer A., Mooi W. J., Higers J. (1988), *Cancer Rev.*, **11**, 55.
- [116] Proust J. E., Tchaliowska S. D., Ter Minassian Sar L. (1984), *Science*, **98**, 319.
- [117] Hayes D. F., Silberstein D. S., Rodrique S. W., Kufe D. W. (1990), *J. Immunol.*, **145**, 962.
- [118] Glass G. J., Slomiany L. (1977), *Mucus in Health and Disease*, eds M. Elstein, D. V. Parke, Plenum Press, New York, 311.
- [119] Roberts S. H., Hefferman C., Douglas A. P. (1975), *Clin. Chim. Acta*, **63**, 121.
- [120] Silberberg A., Meyer F. A., Gilboa A., Gelman R. A. (1977), *Mucus in Health and Disease*, eds M. Elstein, D. V. Parke, Plenum Press, New York, 171.
- [121] Domschke W., Domschke S., Classen M., Demling L. (1972), *Scand. J. Gastroenterol.*, **25**, 292.
- [122] Roberts-Thompson J., Clarke A. E., Maritz V. M., Denborough M. A. (1975), *Aust. N.Z.J. Med.*, **5**, 507.
- [123] Langton S. R., Cesareo S. (1992), *J. Clin. Pathol.*, **45**, 221.
- [124] Slomiany B. L., Murty V. L., Piotrowski J., Wong S. L., Slomiany A. (1991), *Helicobacter pylori*, ed. Menge et al, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 37.
- [125] McQueen S., Hutton D., Allen A., Garner A. (1983), *Am. J. Physiol.* **245**, G388.
- [126] Zalewsky C. A., Moody F. G., Allen M., Davis E. K. (1983), *Gastroenterology*, **85**, 1067.
- [127] Bradbury J. E., Wyllie J. H. (1979), *Br. J. Pharmacol.*, **66**, 456P.
- [128] Hale W. B., Turner B., La Mont J. T., (1987), *Am. J. Physiol.*, **253**, G627.
- [129] La Mont J. T., Turner B. S., Di Benedetto D., Handin R., Schafer A. I. (1983), *Am. J. Physiol.*, **245**, G92.
- [130] Jentjens T., Strous G. J. (1985), *Biochem J.*, **228**, 227.
- [131] Jentjens T., Strous G. J. (1987), *Prostagl. Leukotr. Med.*, **27**, 1.
- [132] Dische Z., Di Sant'Agnese P. A., Pallavicini C., Youlos J. (1959), *Pediatrics*, **24**, 74.
- [133] Cheng P. W., Boat T. F., Cranfill K., Yankaskas J. R., Boucher R. C. (1989), *J. Clin. Invest.*, **84**, 68.
- [134] Clamp J. R., Cough M. (1979), *Clin. Sci.*, **57**, 445.
- [135] Jakobs L. R., Huber P. W. (1985), *J. Clin. Invest.*, **75**, 112.
- [136] Clamp J. R., Fraser G., Read A. E. (1981), *Clin. Sci.*, **61**, 229.
- [137] Boland C. R., Lance P., Levin B., Riddell R. H., Kim Y. S. (1982), *Gastroenterology*, **82**, 1021.
- [138] Lee S. P., Carey M. C., LaMont J. T. (1981), *Science*, **211**, 1429.
- [139] Lee P., Carey M. C., LaMont J. T. (1981), *J. Clin. invest.*, **67**, 1712.
- [140] Lan M. S., Hollingsworth M. A., Metzgar R. S. (1990), *Cancer Res.*, **50**, 2997.
- [141] Hilkens J., Buys F., Ligtenberg M. (1989), *Cancer Res.*, **49**, 786.
- [142] Papadimitriou J., (1987), *Int. J. Cancer*, **40**, 319.
- [143] Maimonis P., Hayes D. F., O'Hara C., Kufe D. (1990), *Cancer Res.*, **50**, J6738.

- [144] Bramwell M. E., Bhavanandan V. P., Wiseman G., Harris H. (1983), *Br. J. Cancer*, **48**, 177.
- [145] Steck P. A., Nicolson G. A. (1983), *Exp. cell Res.*, **147**, 255.
- [146] Sherblom A. P., Moody C. E. (1986), *Cancer Res.*, **46**, 4543.
- [147] Allan S. G., Hay G., McIntyre M. A., Leonard R. C. F. (1987), *Eur. J. cancer*, **56**, 485.
- [148] Codington J. F., Frim D. M. (1983), *Biomembranes*, **2**, 207.
- [149] Carraway K. L., Spielman J. (1986), *Mol. Cel. Biochem.*, **72**, 109.
- [150] Allen A., Minnikin S. M. (1975), *J. Cell Sci.*, **17**, 617.
- [151] Roos E. (1984), *Biochim. Biophys. Acta*, **738**, 263.

Wpłynęło do Redakcji Folia
30.06.1992 r.

Katedra Biofizyki Molekularnej
Uniwersytet Łódzki

Grażyna Zaleśna, Krzysztof Gwoździński

STRUCTURE AND PROPERTIES OF MUCINS MUCOUS

This review describes function and physico-chemical properties of gastrointestinal mucus. In particular the role of mucins is shown. Recently studies of the chemical composition and structure of mucin is discussed. The biosynthesis of mucin and mechanism of viscoelastic gel-forming properties is described. In this review the function of mucus in gastric ulcer and cancer disease is shown.