زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس

نقش گروه‌های قندی در ساختار و عملکرد پروتئین اسپایک در سارس کرونا ویروس ۲

حمیداصغری[۱]، صدیقه اسد[۲*]

۱حمید اصغری، دانش آموخته کارشناسی ارشد زیست‌فناوری، دانشکده زیست‌فناوری، دانشکدگان علوم، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۲–صدیقه اسد، دانشیار دانشکده زیست‌فناوری، دانشکدگان علوم، دانشگاه تهران، تهران، ایران

* صندوق پستی ۱٤۱۷۸۳۳۱۸۱، شهر تهران، ایران

Asad@ut.ac.ir

دریافت: ۱٤۰۱/۰۳/۱۹ پذیرش: ۱٤۰۲/۰۲/۰٤

چکیده

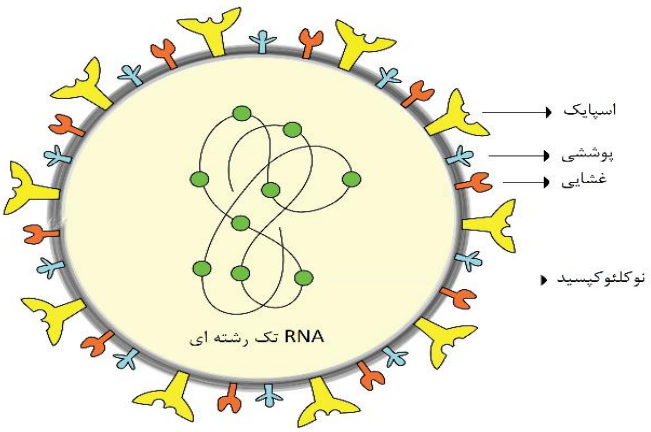
در آخرین ماه سال ۲۰۱۹ در شهر ووهان در کشور چین یک ویروس نا شناخته پدیدار شد. مطالعات توالی‌یابی نشان داد این ویروس عضو جدیدی از خانواده کروناویروس‌هاست که عمدتاً منجر به یک بیماری تنفسی با علائمی شبیه به ذات الریه می‌شود. کروناویروس جدید از ۲۵ پروتئین، از جمله ٤ پروتئین ساختاری ا صلی و ۱۵ پروتئین غیر ساختاری ت شکیل شده ا ست. پروتئین ا سپایک یکی از ٤ پروتئین ساختاریِ مهم است که در سطح ویروس قرار دارد. این پروتئین عامل اتصال ویروس به سلول میزبان بوده و شدیداً گلیکوزیله است. گلیکان‌ها با اتصال به پروتئین‌های ویروسی دو نقش موثر در ساختار و عملکرد آنها ایفا می‌کنند؛ نخست آنکه فرایند تاخوردگی پروتئین‌ها را هدایت و تسهیل می‌کنند و نقش مهمی در برهمکنش‌های پروتئینی ایفا می‌کنند و دیگر آنکه با جلوگیری از شناسایی پروتئین‌ها منجر به فرار ویروس‌ها از حملات سیستم ایمنی می‌شوند. بنابراین همانطور که مشخص است مطالعه ساختارهای قندی در یک پروتئین ویروسی زمانی اهمیت بیشتری پیدا می‌کند که یا احتمال طراحی واکسن در میان با شد، یا آنکه گروه‌های قندی تاثیر ویژه‌ای در تاخوردگی، فعالیت و برهمکنش پروتئین دا شته با شند. بنابراین، از آنجا که پروتئین ا سپایک یک پروتئین ساختاری بوده و فاقد عملکرد ا ست مطالعات ساختارهای قندی آن به دو هدفِ طراحی واکسن منا سب و برر سی نقش گلیکان‌ها در اتصالات پروتئینی انجام می‌شود. در این مقاله مروری اهم مطالعات انجام گرفته در این زمینه‌ها مرور شده و با مقایسه میزان گلیکوزیلاسیون در ویروس‌های مختلف، اهمیت گروه‌های قندی در طراحی یک واکسن موثر و نقش این گروه‌ها در اتصالات ویروس و میزبان در بیماری کووید ۱۹ نشان داده می‌شود.

کلید واژگان: سارس کروناویروس۲، کووید ۱۹، پروتئین اسپایک، گلیکوزیلاسیون، سیستم ایمنی

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-12-21]

۱-مقدمه

در آخرین ماه سال ۲۰۱۹ یک ویروس نا شناخته در شهر ووهان در کشـــور چین پدیدار شـــد. این ویروس به یک بیماری همه‌گیر منجر شـــد که علائم بالینی آن شـــبیه به بیماری ذات الریه می باشـــد. مطالعات توالی یابی روی نمونه‌های به‌دست آمده از دستگاه تنفسیِ تحتانیِ بیماران، ویروس جدیدی از خانواده کروناویروس‌ها را نشـــان داد که بعدها کروناویروس ۲۰۱۹ نامیده شـــد[۱]. این خانواده از ویروس ها در گذشـــته نیز با بیماری های خفیفِ سرماخوردگی در بین انسآنها گردش می‌کردند، اما نخستین شـــیوع مرگبار آنها در ســـال ۲۰۰۲ از طریق یک عضـــو نوظهور (ســـارس (Sars)) باعث مرگ ۹۱٦ نفر در ۲۹ کشور جهان شد و دومین شیوع مرگبار آنها نیز در سال ۲۰۱۲ از طریق عضـــو نوظهور دیگری (مرس (Mers)) منجر به مرگ حداقل ۸۰۰ نفر در ۲۷ کشـــور جهان شـــد [۲]. کروناویروس جدید با مرگ بیش از ٦,۵ میلیون نفر از پاییز ۲۰۱۹ تا پاییز ۲۰۲۲، مرگبارترین عضـــو این خانواده بوده اســـت[۳]. همچنین، به‌دلیل شـــباهت (Covarage) ۹۸ درصـــدی و یکســـانی (Identity) ۸۰ درصـــدی ژنوم کروناویروس جدید و ســـارس، این ویروس به ســـارس کرونا ویروس ۲ یا به اختصـــار به ســـارس‌کوو۲ (Sars-cov2) معروف شـــد. خفاش‌ها که به‌عنوان مخازن طبیعی انواع زیادی از ویروس‌ها شناخته شده‌اند منشاء احتمالی خانواده کروناویروس‌ها می‌باشند. از این رو تصور می‌شود کروناویروس جدید نیز از گونه خاصـــی از خفاش ها معروف به خفاش نعل اسبی، یا از گروهی از پولک‌پوست سانان با نام پانگولین نشات گرفته باشد. شناخت منشاء کرونـــاویروس‌هـــا می‌توانـــد بـــه پیش‌بینی و پیشـــگیری بیماری‌های محتمل آینده کمک کند[٤, ٥]. در ســـال ۲۰۱۵ یک گزارش در مجله نیچر (nature) امکان وقوع یک همه‌گیری گسترده از ویروس کرونا را پیش بینی کرده بود. این گزارش ادعا می‌کند که با خلق یک کروناویروس دســـتورزی شـــده، دریافته اســـت که تغییرات در پروتئین اســـپایک می‌تواند منجر به ایجاد ویروس‌های نوظهوری شـــود که نه آنتی‌بادی‌های مونوکلونال و نه واکســـن‌ها قادر به پیشگیری از آن نخواهند بود[٦].



شکل۱ جایگاه پروتئین‌های ساختاری مهم. پروتئین نوکلئوکپسید از طریق برهمکنش با ژنوم ویروس و با پروتئین غشایی، نقش مهمی در سر هم شدن ویریون ایفا می‌کند. پروتئین اسپایک عامل اتصال ویروس به گیرندهٔ سلول میزبان بوده و باعث ورود ویروس به میزبان می شود. پروتئین غشایی از طریق برهمکنش با باقی پروتئین‌های ویروسی در سر هم شدن و شکل پذیری ویروس نقش دارد. پروتئین پوششی نیز در سر هم شدن و شکل پذیری ویروس و تحریک آپوپتوز نقش دارد[۱۱-۱٤].

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-12-21]

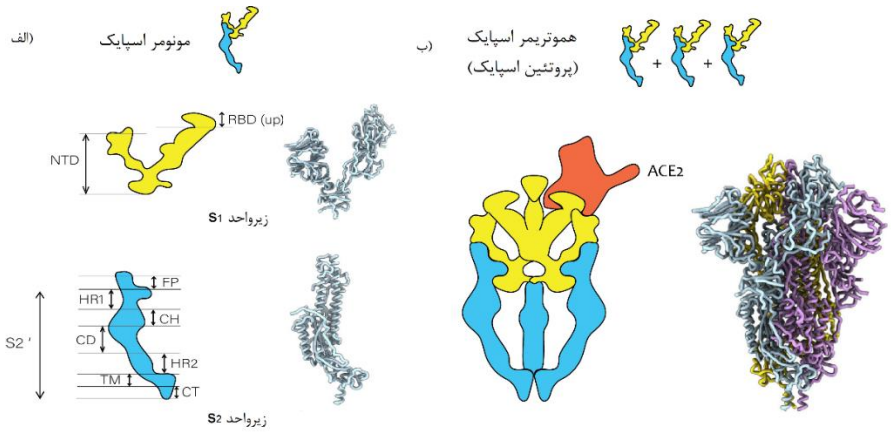
سارس کرونا ویروس ۲، از ۲۵ پروتئین از جمله ٤ پروتئین ساختاریِ مهم و ۱۵ پروتئین غیر ساختاری تشکیل شده است. پروتئین‌های ساختاری مهم شامل، نوکلئوکپسیدِ (Nucleocapsid) چسبیده به ژنوم، و سه تای دیگر به نام های اسپایک (Spike)، غشایی (Membrane) و پوششی (Envelope) که هر سه در سطح قرار دارند می‌باشد (شکل ۱). پروتئین های غیرساختاری نیز از شکست یک پروتئین غول آسا به نام ۱ab به‌وجود می‌آیند (جدول ۱). پروتئین اسپایک یکی از پروتئین‌های ساختاری مهم و عامل اتصال ویروس به گیرندهٔ سلول میزبان بوده و باعث ورود ویروس به میزبان می‌شود. پروتئین اسپایک یک هموتریمر است که هر مونومر آن از ۱۲۷۳ اسیدآمینه شامل دو جزء S1 و S2 تشکیل شده است. جزء S1 متصل به S2، و جزء S2 متصل به غشا می‌باشد[۷] (شکل۲-الف)؛ بنابراین، یک پروتئین اسپایک از طریق سه جزء S2 به غشا و از طریق هر جزء S1 به گیرندهٔ سلول میزبان متصل می‌شود. در واقع هر جزء S1 شامل یک دمین متصل شونده به گیرنده (RBD) است که به‌طور مستقیم به گیرندهٔ آنزیم تبدیل کننده آنژیوتانسین۲ (ACE2) متصل می شود. ACE2 یک آنزیم و گیرنده غشایی است و در سطح سلول‌های ریه، قلب، کلیه و روده بیان می شود و تبدیلات آنژیوتانسین را انجام می‌دهد.

جدول۱ عملکرد پروتئین‌های غیرساختاری مشتق از پلی‌پروتئین ۱ab. هر پلی‌پروتئین ۱ab پس از ترجمه به ۱۵ پروتئین می‌شکند[۱٦].

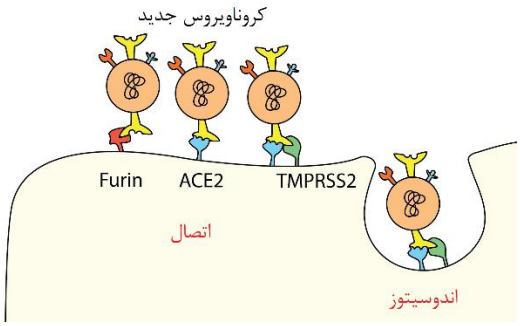
پروتئین	عملکرد
Nsp1	فرایند ترجمه در سلول میزبان را از دو راه جداگانهٔ همکاری و برهمکنش با زیرواحد ٤۰s مهار می‌کند.
Nsp2	ممکن است از طریق برهمکنش با پروهیبین (PHB) بقای سلول را تعدیل کند.
Nsp3	یک پروتئاز است که پلی‌پروتئین را در پایانه N برش می‌زند. همچنین به‌عنوان یک بلاک کننده مسیر NF-kappa-B در ایمنی ذاتی عمل می‌کند.
Nsp4	در سرهم شدن وزیکول‌های سیتوپلاسمی برای تکثیر ویروس شرکت می‌کند.
Nsp5	یک پروتئاز شبه کیموتریپسین است که پلی‌پروتئین را از ۱۱ مکان در پایانه C برش می‌زند.
Nsp6	به تشکیل اتوفاگوزوم از شبکه آندوپلاسمی میزبان کمک می‌کند.
Nsp7	با استفاده از Nsp8 یک هگزامر تشکیل می‌دهد که به‌عنوان پرایماز در تکثیر ویروس شرکت می‌کند.
Nsp8	با استفاده از Nsp7 یک هگزامر تشکیل می‌دهد که به‌عنوان پرایماز در تکثیر ویروس شرکت می‌کند.
Nsp9	ممکن است به‌عنوان یک پروتئین متصل شونده به ssRNA در تکثیر ویروس نقش داشته باشد.
Nsp10	با تحریک Nsp14 و Nsp16 یک نقش مهم در متیلاسیون mRNA ویروس ایفا می‌کند.
Polymerase	عامل همانندسازی و رونویسی ژنوم ویروس می‌باشد.
Helicase	یک هلیکاز است که حاوی یک دمین متصل شونده به Zn بوده و برای عملکرد خود به Mg نیازمند است.
Exoribonuclease	یک آنزیم تصحیح کننده می‌باشد که روی ssRNA و dsRNA عمل می‌کند. همچنین یک متیل ترانسفراز برای n7-گوانین می‌باشد.
Endoribonuclease	یک آنزیم وابسته به Mn که فسفات ضربدری در یوریدیلات را می‌شکند.
Methyltransferase	عامل متیلاسیون کلاهک mRNA ویروسی در cap-1 و cap-2 می‌باشد.

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-12-21]

در بیماری کووید ۱۹ این گیرنده توسط کروناویروس جدید اشغال شده و ACE2 از عملکرد خود باز می‌ماند[۸, ۹] (شکل۲-ب). پروتئین اسپایک پس از اتصال به ACE2 توسط سرین پروتئاز غشایی۲ (TMPRSS2)، که در سطح سلول میزبان واقع شده، برش می‌خورد و امکان نفوذ ویروس به سلول میزبان فراهم می‌شود[۱۰] (شکل۳).



شکل۲ ساختار پروتئین اسپایک (تصاویر سه بعدی، اقتباس شده از [۱۷]). الف) در پروتئین اسپایک هر یک از مونومرها از دو جزء S1 و S2 تشکیل شده است. هر جزء S1 از اسیدآمینه ۱۳ تا ۶۸۵ شامل: دُمین N-ترمینال (NTD:16-291)، دمین متصل شونده به گیرنده (RBD:330-530) و یک جایگاه برش فورین در مرز S2 (S1/S2:685-686) می‌باشد. هر جزء S2 از اسیدآمینه ۶۸۶ تا ۱۲۷۳ شامل: پپتید فیوژن (FP:817-834)، هلیکس مرکزی (CH:987-1034)، دمین اتصال دهنده (CD:1080-1135)، دمین تکرار هفتایی۲ (HR2:1163-1210)، دمین گذرنده از غشا (TM:1214-1234) و دمین سیتوپلاسمی (CT:1235-1273) می‌باشد. همچنین، اسیدآمینه ۱ تا ۱۲ نیز تشکیل یک پپتید سیگنال را می‌دهد[۷, ۱۲]. ب) هر دمین RBD به‌طور مستقیم به گیرندهٔ ACE2 متصل می‌شود. بررسی‌های میکروسکوپ الکترونی از برهمکنش کروناویروس و گیرندهٔ ACE2، پیشنهاد می‌کند که همزمان دو پروتئین هموتریمر اسپایک به یک گیرندهٔ دایمر ACE2 متصل می‌شود[۹].



شکل۳ ورود کروناویروس جدید به سلول میزبان. الف) اتصال و ورود کروناویروس جدید طی دو مرحله اتفاق می‌افتد. ابتدا پروتئین اسپایک از ناحیه S1/S2 توسط آنزیم غشایی فورین (Furin)، واقع در غشای سلول میزبان، برش می‌خورد. قابل توجه است که حضور این جایگاه برش، پروتئین اسپایک کروناویروس جدید را از پروتئین اسپایک سارس و وابستگان آن متمایز می کند[۱۷]. در ادامه اسپایک برش خورده به ACE2 متصل می‌شود. سپس آنزیم غشایی TMPRSS2، واقع در غشای سلول میزبان، برش دیگری بر پروتئین اسپایک از ناحیه S_2' وارد می‌کند. در این زمان اندوسیتوز انجام می‌گیرد و ویروس وارد سلول می‌شود.

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-12-21]

پروتئین اسپایک یک پروتئین هایپرگلیکوزیله است که گروه‌های قندی بیشتر سطح آن را پوشانده‌اند. حضور گروه های قندی نقش موثری در ساختار و برهمکنش پروتئین اسپایک ایفا می‌کنند. در این مطالعه به‌طور عام به نقش این گروه‌ها در پروتئین‌های ویروسی و به‌طور خاص به نقش آنها در پروتئین اسپایک پرداخته می‌شود.

۲- نقش قندها در ساختار و عملکرد پروتئین های ویروسی

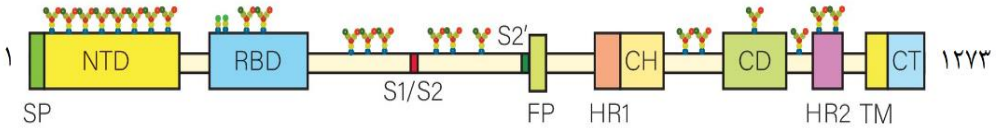
قندها با اتصال به پروتئین ها و لیپیدها بسیاری از فرایندهای زیستی را هدایت و تسهیل می‌کنند. بررسی اختصاصی نقش گلیکوزیلاسیون در عملکرد ویروس‌ها نشان می‌دهد قندها با اتصال به پروتئین‌های ویروسی دو نقش ساختاری مهم ایفا می‌کنند. نخست نقش کلی قندها به‌طوری که اتصال قندها به پروتئین‌ها فرایند تاخوردگی صحیح پروتئین‌ها را هدایت و تسهیل می‌کند و به دنبال آن نیز ساختار صحیح نقش مهمی در اتصالات ویروس و میزبان ایفا می‌کند؛ قندها در همکاری با چاپرون‌های شبکه آندوپلاسمی (ER) به تاخوردگی صحیح گلیکوپروتئین‌ها کمک می‌کنند. چاپرون‌های ER، کالنکسین و کالتریتیکولین با اتصال به یک ساختار قندی باعث جدا شدن آنها از پروتئین می‌شوند و سپس حذف گلوکز نهایی توسط آلفاگلوکوزیداز II منجر به تاخوردگی صحیح پروتئین می شود. در صورتی‌که تاخوردگی مناسب حاصل نشود آنزیم UDP-گلوکز: گلیکوپروتئین گلیکوزیل ترانسفراز (UGGT) مجدد یک گلوکز اضافه می‌کند و فرایند جداسازی مجدد تکرار می‌شود. این فرایند به‌عنوان یک روش کنترل عمل می‌کند و از حضور یا عدم حضور قند برای شناسایی صحت تاخوردگی استفاده می‌کند. به دنبال تاخوردگی صحیح پروتئین ها، نقش پررنگ قندها در اتصالات ویروس میزبان دیده می‌شود که در ادامه به آن پرداخته خواهد شد. اما دومین نقش مهم قندها در پروتئین‌های ویروسی، فراری دادن ویروس از خطر سیستم ایمنی است. ساختارهای قندی به دو روش جالب منجر به فرار ویروس از سیستم ایمنی می‌شوند. نخست آنکه تراکم ساختارهای قندی در مناطق بیرونی و آبدوست پروتئین مانع از شناسایی پروتئین سطحی ویروس توسط آنتی‌بادی‌های میزبان می‌شود. البته چنانچه در مواقع نادر آنتی‌بادی‌ها موفق به شناسایی اپی‌توپ‌های قندی شوند، ویروس‌ها با رهایش گلیکوپروتئین‌های سطحی قادر به فریب سیستم ایمنی نیز هستند. اما در روش دوم ساختارهای قندیِ پروتئین‌های ویروسی با تقلید از ساختارهای قندی میزبان، از شناسایی توسط لکتین‌های سیستم ایمنی در امان خواهند بود[۷, ۱۵]. با این وجود حضور قندها در مواقعی می‌تواند منجر به گرفتار شدن پروتئین‌ها و ویروس‌ها در دام سیستم ایمنی نیز شود، اما چنین مواردی نادر بوده و برای حذف ویروس ها موثر نمی‌باشند[۱۵].

۳- گلیکوزیلاسیون در پروتئین اسپایک

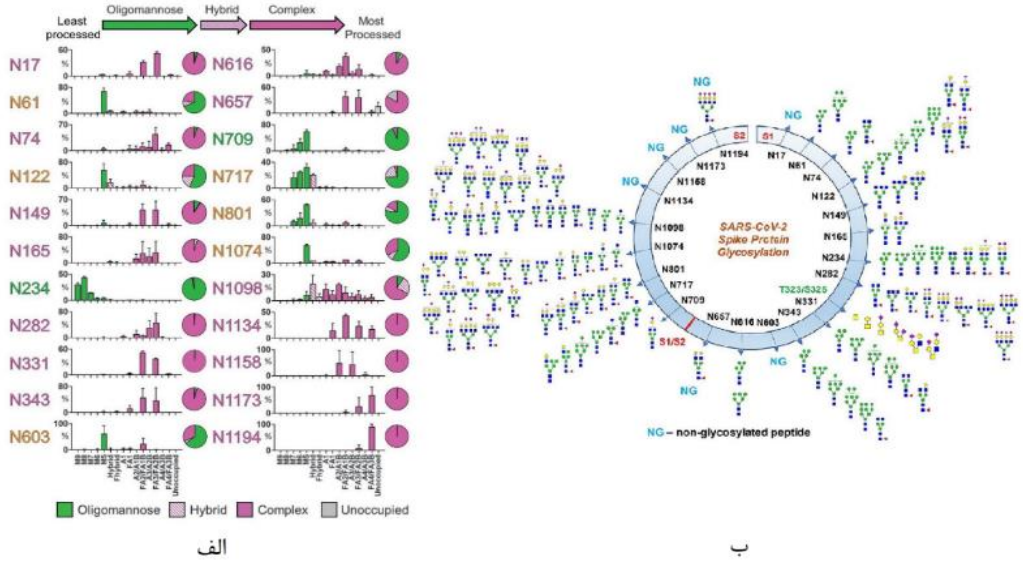
گلیکوزیلاسیون یک فرایند آنزیمی است که قندها را از طریق پیوند گلیکوزیدی به پروتئین ها، لیپیدها و دیگر قندها متصل می‌کند. قندها نقش مهمی در بلوغ و گردش پروتئین‌ها، چسبندگی و ترافیک سلول‌ها و همچنین اتصال پروتئین‌ها به گیرنده‌ها و فعال‌سازی آنها دارند. تقریباً ۳۵ درصد گلیکوپروتئین اسپایک از کربوهیدرات تشکیل شده است (شکل ٤).

مطالعات نشان می‌دهد ترکیب گروه قندی متصل شده به یک اسیدآمینه مشخص، در هر پروتئین اسپایک می‌تواند متفاوت باشد. در واقع بررسی ترکیب گروه‌های قندی در پروتئین های اسپایک نشان می‌دهد پروفایل قندی اسپایک‌ها می‌تواند با هم متفاوت باشد[۱۸, ۱۹]. امروزه به خوبی ثابت شده است که ترکیب گروه قندی بر روی یک اسیدآمینه و به دنبال آن پروفایل قندی یک پروتئین به نوع سلول تولیدکننده گلیکوپروتئین وابسته است[۲۰].

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-12-21]



شکل٤ گلیکوزیلاسیون در پروتئین اسپایک کروناویروس جدید. در هر مونومر ۲۲ N–گلیکوزیلاسیون در ریشه‌های آسپارژین وجود دارد و حداقل ۲ موسین O–گلیکوزیلاسیون (Mucin-type O-glycosylation) در ریشه‌های سرین و ترئونین پیش‌بینی می‌شود. در این بین، تعداد ۲۰ N–گلیکوزیلاسیون از ۲۲ عدد از ساختارهای پیچیده، هیبرید و الیگومانوز تشکیل شده‌اند[۱۸, ۲۵–۲۷]. همچنین، در این پروتئین از ۲۲ N–گلیکوزیلاسیون در هر مونومر، ۱۳ عدد در زیرواحد S1 و ۹ عدد در زیرواحد S2 قرار دارد. در زیرواحد S1 ۸ N–گلیکوزیلاسیون در ناحیه NTD، ۲ N–گلیکوزیلاسیون به همراه ۲ O–گلیکوزیلاسیون در ناحیه RBD و ۳ N–گلیکوزیلاسیون نیز در نزدیکی مرز S1/S2 واقع شده‌اند[۷, ۱۸].

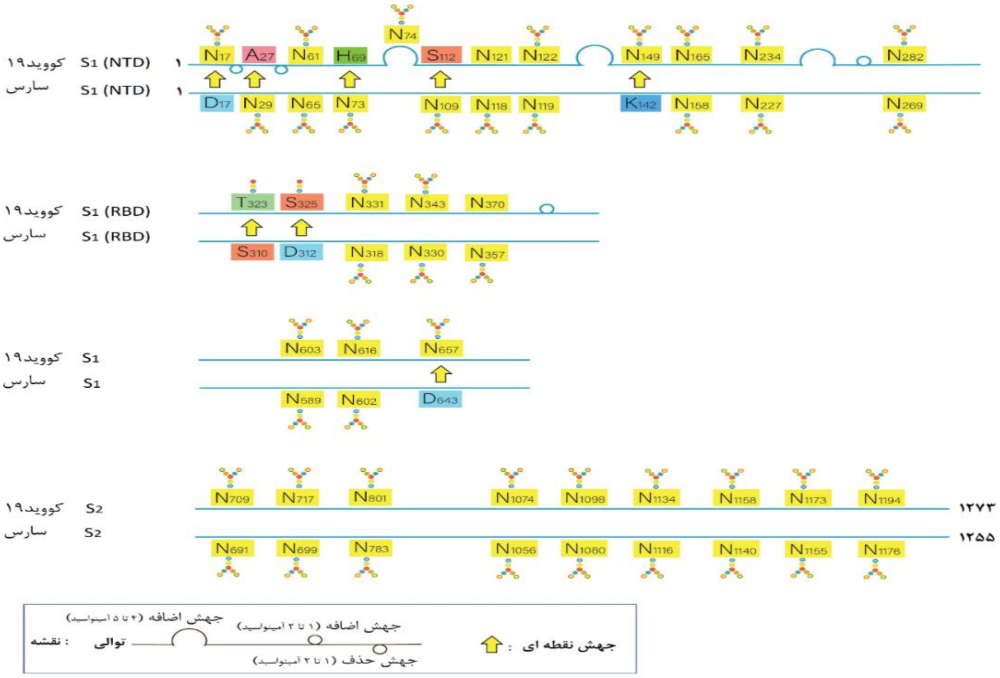


شکل ۵ دو پروفایل قندی مختلف از پروتئین اسپایک کروناویروس جدید (اقتباس شده از [۱۸, ۱۹]).

تصاویر الف و ب در شکل ۵ پروفایل قندی پروتئین اسپایک در دو مطالعه مختلف را نشان می‌دهد[۱۸, ۱۹]. هر دو مطالعه پروتئین اسپایک را در سلول HEK293 بیان کرده و سپس با استفاده از طیف سنجی جرمی حضور گروه‌های قندی در شمار زیادی از پروتئین‌های اسپایک را بررسی کرده‌اند. هر مطالعه به‌طور جداگانه نشان می‌دهد ترکیب گروه قندی روی یک اسیدآمینهٔ مشخص می‌تواند متفاوت باشد. به عبارت دیگر یک سلول به تنهایی هر بار می‌تواند گلیکوفرم‌های مختلفی از یک پروتئین تولید کند. علاوه بر این، مقایسه پروفایل منتشر شده دو مطالعه نیز نشان می‌دهد علیرغم اینکه از یک سلول (HEK293) برای بیان استفاده شده است، اما هر مطالعه برای هر اسیدآمینه نسبت‌های متفاوتی از گروه‌های قندی به‌دست آورده است. این در حالی است که انتظار می‌رفت فراونی نسبی هر گروه قندی در یک اسیدآمینه مشخص، در هر دو گروه تقریباً مشابه باشد. این تفاوت می‌تواند به‌دلیل شرایط

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-12-21]

متفاوت بیان پروتئین بوده باشد[۱۸, ۱۹] و نشان می‌دهد حتی شرایط بیان نیز می‌تواند در الگوی گلیکوزیلاسیون موثر باشد. این تجربه‌ها نشان می‌دهد در انتخاب گلیکوفرم های آنتی‌ژنی برای تولید یک واکسن ویروسی مطالعه و پژوهش بسیاری لازم است چرا که الگوی گلیکوزیلاسیون می‌تواند بر تحریک اختصاصی‌تر سیستم ایمنی و در نتیجه میزان موفقیت واکسن اثر بگذارد. با این وجود مقایسه الگوی گلیکوزیلاسیون نه فقط بین تعداد زیادی از پروتئین‌های اسپایک سارس کرونا ویروس ۲، بلکه بین پروتئین اسپایک سارس کرونا ویروس ۲ و پروتئین اسپایک سارس نیز قابل توجه است. با وجود شباهت‌های گلیکوزیلاسیون بین هر دو اسپایک، تفاوت‌های مهمی نیز در جایگاه‌های گلیکوزیلاسیون آنها مشاهده می‌شود که می‌تواند برهمکنش‌ها و ایمنی آنها را تحت تاثیر قرار دهد. توالی این دو پروتئین در شکل ٦ با هم مقایسه شده‌اند.



شکل٦ توالی پروتئین اسپایک سارس کرونا ویروس ۲ و پروتئین اسپایک سارس. این دو پروتئین دارای ٧٦,٠٤٪ یکسانی می‌باشند. اسپایک سارس کرونا ویروس ۲ حاوی ۲۲ N–گلیکوزیلاسیون و ۲ O–گلیکوزیلاسیون، و اسپایک سارس حاوی ۲۳ N–گلیکوزیلاسیون و فاقد O–گلیکوزیلاسیون می‌باشد. گلیکوزیلاسیون در زیرواحد S2 در هر دو پروتئین تقریباً بدون تغییر مانده است، اما در زیرواحد S1 به‌دلیل جهش‌های نقطه‌ای جایگاه گلیکوزیلاسیون‌ها تغییر کرده است. در ناحیه NTD در هر دو پروتئین، فراوانی گروه‌های قندی تقریباً برابر بوده و تفاوت چندانی وجود ندارد، اما وجود جهش‌های نقطه‌ای موقعیت گروه‌های قندی در دو قطعه را متفاوت کرده است. همچنین در ناحیه RBD در اسپایک سارس کرونا ویروس ۲، ۲ N–گلیکوزیلاسیون و ۲ O–گلیکوزیلاسیون وجود دارد در حالی‌که در همین ناحیه در اسپایک سارس به جز ۲ N–گلیکوزیلاسیون هیچگونه O–گلیکوزیلاسیونی وجود ندارد[۱۲, ٤٠]. با این‌حال گزارش دیگری وجود دارد که در آن تعداد جایگاه‌های گلیکوزیلاسیون در سارس کرونا ویروس ۲، ۹ N–گلیکوزیلاسیون و ۳ O–گلیکوزیلاسیون، و در سارس، ۱۰ N–گلیکوزیلاسیون و ۲ O–گلیکوزیلاسیون معرفی شده است. این تفاوت در تعداد می‌تواند وابسته به میزبان مورد استفاده برای بیان پروتئین باشد[٤١]. با بررسی بیشتر فرایند اتصال ویروس و میزبان مشخص شده است که تمایل سارس کرونا ویروس ۲برای اتصال به ACE2 قوی تر از سارس است[۱۷]. این مسئله می‌تواند با گلیکوزیلاسیون در RBD در ارتباط باشد، اما هنوز اثبات شده نیست.

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-12-21]

٤- نقش گروه‌های قندی در ساختار و عملکرد پروتئین اسپایک

با شـیوع کروناویروس جدید پژوهش‌ها بیشـتر به روی سـاختار اسـیدآمینه‌ای پروتئین اسـپایک و کمتر به روی گروه‌های قندی این پروتئین متمرکز بوده است. با این‌حال، با توجه به اهمیت گروه‌های قندی در اتصالات پروتئینی و فرار از حملات سـیسـتم ایمنی و بنابراین لزوم طراحی واکسـن موثر، مطالعاتی در زمینۀ نقش گروه‌های قندی انجام شده است.

٤-١ نقش قندها در اتصالات اسپایک

در دسـته اول مطالعات، تاثیر حضـور و عدم حضـور گروه‌های قندی مورد بررسـی قرار گرفته اسـت. در یک بررسـی با اسـتفاده از دینامیک مولکولی آسـپاراژین های ١٦٥ و ٢٣٤ که متصـل به سـاختارهای قندی بوده‌اند با جهش از توالی حذف شـدند. مقایسـه حالت‌های نرمال و جهش یافته نشان داد در حالت جهش یافته RBD گرایش کمتری به باز شـدن دارد و تمایل آن به اتصـال به ACE2 کاهش یافته است[٧]. مطالعه دیگری نشان داده است که حذف گروه قندی در آسـپارژین ٢٣٤ منجر به کاهش جمعیت اسپایک‌های با RBD بالا (مناسب برای اتصال) و در مقابل حذف گروه قندی در آسـپارژین ١٦٥ منجر به افزایش جمعیت اسـپایک‌های با RBD بالا می‌شـود.[٢١]. در مطالعات مهندسی پروتئین، گلوتامین ٤٩٣ که در منطقه RBD واقع شده است و جزء نقاط داغ اتصال به ACE2 می‌باشـد، به اسـیدهای آمینه مختلفی از جمله آسـپارژین جهش داده شـد. بررسـی‌ها نشـان داد در تمام حالت‌های جهش، تمایل پروتئین اسـپایک به گیرندۀ ACE2 در invitro کاهش پیدا کرده اسـت[٢٢, ٢٣]. مطالعۀ دیگری پروتئین اسـپایک جهش یافته در موقعیت ٥٠١ (جهش آسـپارژین به تیروزین) را مورد بررسـی قرار داده اسـت. بررسی میزان سرایت در موش (mice) نشان داد افزایش قدرت بیماری‌زایی ویروس می‌تواند با ظهور سـریع این جهش در ارتباط باشـد[٢٤]. این پژوهش‌ها علاوه بر آنکه نقش اسیدهای آمینه را در فرایند اتصال نشان می‌دهند، به روشـنی بیان می‌کنند که گروه‌های قندی می‌توانند به‌عنوان یک عامل موثر یا بازدارنده برای اتصـال به گیرندۀ میزبان عمل کنند.

٤ -٢ قندها و نجات سارس کروناویروس ٢

پوشیده شدن محل اتصال به گیرنده (RBD) با ساختارهای قندی، یک ویژگی مشـترک گلیکوپروتئین‌های ویروسـی است. در پروتئین اسپایک کروناویروس جدید ساختارهای قندی مسـتقر در جایگاه‌های ١٧٤، ٢٣٤ و ٣٤٣ از ناحیۀ RBD (به ویژه هنگامی که در حالت پایین قرار دارد) محافظت می‌کنند. نرخ کم جهش در این مناطق نشـان می‌دهد یک فشار انتخابی در استفاده از ساختارهای قندی برای استتار مناطق حفظ شده و بالقوه آسیب پذیر وجود دارد[١٩]. بر مبنای مدلسازی‌های مولکولی مشخص شده است که گلیکوزیلاسیون گیرندۀ ACE2 انسانی نیز به‌طور قابل توجهی به اتصـال ویروس کمک می‌کند. قندها در آسـپاراژین‌های ٩٠ و ٣٢٢ در این گیرنده اثرات مخالفی بر اتصال پروتئین اسپایک دارند. گروه قندی در آسپارژین ٩٠ تا حدی سطح اتصال گیرنده به RBD را می‌پوشاند و مانع اتصال قدرتمند ویروس به سلول انسانی می‌شود. در مقابل گروه قندی در آسـپارژین ٣٢٢ به شـدت با RBD اتصـال برقرار می‌کند و ارتباط RBD با گیرنده را تقویت می‌کند. جالب‌تر آنکه این گروه قندی به یک منطقه محافظت شده از پروتئین اسـپایک متصـل می‌شـود که قبلاً به‌عنوان یک اپی‌توپ مخفی برای آنتی‌بادی‌های خنثی کننده شـناخته شده بود[٢٨].

٤-٣ نقش سیالیک اسیدها در برهمکنش‌های ویروس و میزبان

در دسته دیگری از مطالعات، نقش انحصاری مولکول‌های قندی بررسـی شـده اسـت. در بین مولکول‌های قندی، سیالیک اسیدها که خانواده متنوعی از منو ساکاریدهای ٩

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-12-21]

کربنی هستند نقش‌های مهمی در فرایندهای ایمنی بر عهده دارند. موقعیت و فراوانی سیالیک اسیدها در سطح سلولی باعث شـــده اســـت تا ویروس‌های مختلف و گروهی از باکتری‌ها از این قندها به‌عنوان اهداف شـناسـایی اسـتفاده کنند. برای مثال گلیکوپروتئین اســپایک در کروناویروس OC43 با سـرعت زیادی با سـیالیک اسـید سـطح سـلول میزبـان واکنش می‌دهـد و این برهمکنش برای ورود ویروس به میزبان ضــروری اســت. ضــرورت این ارتباط برای بقای ویروس، باعث شـــده اســـت تا ویروس ها استراتژی‌های مناسبی برای درگیر شدن با سیالوگلیکان‌های میزبان را تکامل دهند [۲۹, ۳۰]. بررســی‌ها نشــان می‌دهد پروتئین اسـپایک در حالت تریمر با سـاختارهای قندی از نوع پیچیـده، نســبـت بـه زیرواحـدهـای مونومری بـا ســـاختارهای قندی نابالغ همچون مانوزهای زیاد، تمایل بیشتری برای اتصال به گیرنده دارد. در واقع به‌نظر می‌رسد هر چند هر RBD از هر زیرواحد به تنهایی می‌تواند به یک ACE2 متصل شود، اما حضور هر سه زیرواحد در کنـار هم منجر بـه هم‌افزایی در اتصـــال بـه ACE2 می‌شود[۳۱].

٤-٤ قندها و تاثیر گروه‌های خونی بر شـــدت ابتلا به کووید ۱۹

دسـته‌ای دیگر از مطالعات مربوط به گزارشـاتی اسـت که نشـــان می‌دهد فراوانی گروه‌های خونی بیماران مبتلا به کووید ۱۹ با فراوانی گروه‌های خونی در جامعه تفاوت دارد. در واقع چناچه جامعهٔ بیماران مشتی از خروار جامعه باشـــد فراوانی گروه‌های خونی دو جامعه باید تقریباً برابر باشد. گزارشاتی وجود دارند که ادعا می‌کنند تعداد افراد با گروه خونی O در جامعه بیماران، کمتر از فراوانی همین گروه خونی نسبت به جامعه سالم است[۳۲-۳٤]. در واقع اگر گروه‌های خونی تاثیری در کنترل عفونت ندارند، این میزان می‌بایست حدوداً یکسان می‌بود. این مطالعات نشان می‌دهند گروه‌های خونی O می‌توانند یک مصونیت خفیف نسبت به بیماری داشته باشند. شاید به‌دلیل آنکه سلول‌های گروه خونی O گیرنده‌های گلیکوپروتئینی کمتر و در نتیجه سـیالیک اسـید کمتری بر سـطح خود دارند، امکان ارتباط موقت ویروس‌ها با ســلول‌ها به شـــدت کاهش می‌یابد. همچنین، گزارشی نشان می‌دهد که این مسئله می‌تواند با فراوانی آنتی‌بـادی‌هـای گروه‌هـای خونی نیز در ارتبـاط باشد[۳۳].

٤-٥ الگوی وحشی گلیکوزیلاسیون اسپایک

در رایج‌ترین مطالعات گلیکوزیلاسـیون پروتئین اسـپایک، بررسی‌ها پیشنهاد می‌کند پروتئین‌های اسپایک بیان شده در سـلول‌های مختلف، از سـلول حشـره تا سـلول انســانی، الگوهای گلیکوزیلاسیون متفاوتی را نشان می‌دهند. به‌طور خاص گلیکوزیلاسـیون در سـلول‌های انسـانی نیز تفاوت های قابل توجهی را نشــان می‌دهد. این مسـئله به آن معنا است که گلیکوزیلاسیون در هر آمینوا سید مستعد، ابتدا تابع ســـلول میزبان و ســـپس تابع جایگاه آن در توالی اســـت[۳۵]. بررســی‌های بیشــتر نشــان می‌دهد پروفایل گلیکوزیلاســیون پروتئین اســپایک بین حالت وحشــی و حالت نوترکیب کد شـــده در وکتور بیانی متفاوت خواهد بود. این بررســـی‌هـا همچنین وابســـتگی پروفـایـل گلیکوزیلاســـیون به نوع ســـلول بیان کننده را نیز تایید می‌کند[۳٦, ۳۷]. این مسـئله نشـان می‌دهد تحقق پروفایل گلیکوزیلاسیون اسپایک وحشی تا چه حد دشوار خواهد بود، چرا که تحقق این پروفایل وحشی در طراحی واکسن مناســب از اهمیت به ســزایی برخوردار اســت. همچنین، بررســی‌ها با شــگفتی نشــان می‌دهد با توجه به حضــور احتمالی O-گلیکان ها در محل های N-گلیکانی، گروه های O-گلیکانی نیز می‌توانند در گریز از ایمنی نقش مکملی داشـته باشـند و شـناخت آنها در طراحی واکسـن اهمیت دارد[۳۸]. این مطالعات در واقع نشـــان می‌دهند تغییرات در گلیکوم می‌توانند در پاســخ به محرک های

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-12-21]

محیطی و ژنتیکی ایجاد شود، و اغلب با فنوتیپ های سلولی مبدا همراه است[۳۹].

۵- گلیکوزیلاسیون و طراحی واکسن

پروفایل‌های معرفی شده در مورد گلیکوزیلاسیون پروتئین اسپایک از آزمایشات انجام شده به روی سلول‌های بیانی پرکاربرد به‌دست آمده است. همچنین، بررسی مطالعات دیگر نشان می‌دهد بیان این پروتئین در سلول‌های مختلف از حشره تا موش، و حتی در یک سلول واحد در شرایط مختلف، به پروفایل های مختلفی منتهی شده است. بنابراین، در این‌صورت آیا می‌توان به پروفایل حاصله از یک میزبان بیانی پرکاربرد مانند HEK293 اعتماد کرد و از نتایج آن برای انواع مطالعات انسانی مانند طراحی واکسن استفاده کرد؟ اساساً شناخت پروفایل قندی و الگوهای گلیکوزیلاسیون یک پروتئین تا چه حد در طراحی واکسن مناسب اهمیت دارد؟ از آنجایی که گروه‌های قندی در تاخوردگی پروتئین و محافظت از آن در برابر سیستم ایمنی نقش مهمی دار ند، نوع گروه قندی می‌توا ند در کیفیت این عملکردها موثر باشد. بنابراین، پروتئین‌های با گروه‌های قندی متفاوت، می‌توانند تاخوردگی‌های نسبتاً متفاوت و مقاومت‌های متفاوتی در برابر سیستم ایمنی داشته باشند. در این زمینه مقایسه‌ای بین ویروس‌های سارس، HIV و سارس کرونا ویروس ۲ نشان می‌دهد که میزان و نوع گلیکوزیلاسیون چطور می‌تواند در موفقیت واکسن اثر بگذارد.

امروزه در یک بازه زمانی کوتاه گروهی از پژوهشگران توانسته‌اند واکسنی موثر برای سارس کرونا ویروس ۲ تولید کنند در حالیکه تولید چنین واکسنی برای HIV پس از گذشت بیش از ۴۰ سال هنوز بی‌نتیجه مانده است. مطالعات در ساده‌ترین تفاوت بین این ویروس‌ها نشان می‌دهد که میزان الیگومانوز به روی HIV به مراتب بیشتر از سارس کرونا ویروس ۲ می‌باشد[۱۹]. همچنین، یک بررسی مقایسه‌ای دیگر نیز نشان می‌دهد پروتئین سطحی gp160 در ویروس HIV از ۲۷ نقطه گلیکوزیله می‌باشد، در حالی‌که در ویروس هاری که یک ویروس قابل کنترل بوده و واکسن آن به خوبی عمل می‌کند[۴۲]، گلکوپروتئین سطحی تنها در سه نقطه گلیکوزیله شده است[۴۳, ۴۴]. این یافته‌ها در واقع نشان می‌دهند گروه‌های قندی با پوشاندن اپی‌توپ‌های پروتئینی مانع شناسایی آنها توسط سیستم ایمنی اختصاصی خواهند شد. بنابراین، به‌نظر می رسد بررسی گلیکوزیلاسیون در طراحی واکسن باید از اولویت‌های مطالعه باشد. با این وجود این مسئله زمانی چالش برانگیزتر خواهد بود که واکسن پیشگیری از نوع پروتئین‌های نوترکیب یا ویروس‌های غیرفعال شده باشد، چرا که اسپایک‌هایی که از قبل در یک سلول خاصی تولید شده‌اند پروفایل قندی منحصر به فردی دارند که می‌تواند متفاوت از پروفایل قندی اسپایک‌هایی باشد که در سلول‌های بدن یک انسان تولید می شوند. با این‌حال نکته جالب‌تر آنکه استنتاج می‌شود که پروفایل‌های قندی یک نوع پروتئین که در سلول‌های مختلف بدن تولید شده‌اند نیز کاملاً یکسان نباشند[۳۹]. بنابراین، به‌نظر می‌رسد در این مورد به‌ویژه، واکسن پروتئینی و واکسن ویروس غیرفعال شده، علاوه بر احتمال جور نشدن صحیح زیرواحدها برای ایجاد یک تریمر با تاخوردگی صحیح در اولی، و احتمال تغییر ساختار تاخورده صحیح پروتئین اسپایک حین غیرفعال شدن ویروس در دومی، مشترکاً با چالش عدم تنوع در الگوی گلیکوزیلاسیون نیز مواجه‌اند. بنابراین برای حل این چالش می‌توان از سلول‌های مختلف انسانی برای تولید ترکیبات این نوع واکسن‌ها استفاده کرد، همان کاری که به شکل مستقیم توسط واکسن‌های نوکلئیک اسید انجام می‌شود. در واقع به لحاظ تئوری واکسن‌های نوکلئیک اسید باید موثرتر از واکسن‌های پروتئینی باشند، چرا که پروتئین اسپایک را در سلول‌های مختلف انسانی و با پروفایل‌های گلیکوزیلاسیون متعدد تولید می‌کنند و این دقیقاً همان اتفاقی است که در فرایند

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-12-21]

بیماری‌زایی ویروس رقم می‌خورد. متعاقباً نتایج منتشر شده در وبسایت اتحاد جهانی واکسن (Gavi) نیز این نتیجه‌گیری را تایید می‌کند. داده‌های حاصل از مطالعات بالینی واکسن ها نشان می‌دهد واکسن های مدرنا (Moderna)، آسترازنکا (Astrazeneca) و فایزر-بیون‌تک (Pfizer-Biontech) که از مولکول های اسیدنوکلئیک کدکننده پروتئین اسپایک استفاده کرده‌اند تاثیرات قوی‌تری در ایمنی‌زایی نسبت به سایر واکسن‌های طراحی شده با ویروس‌های غیرفعال شده و پروتئین‌های نوترکیب داشته اند[۴۵].

۶- بحث و نتیجه‌گیری

همانطور که مشخص است مطالعه فرایند گلیکوزیلاسیون و ساختارهای قندی در یک پروتئین زمانی اهمیت به سزایی پیدا می کند که یا احتمال طراحی واکسن در میان باشد، یا آنکه گروه های قندی تاثیر ویژه‌ای در فعالیت و عملکرد یک پروتئین، و یا برهمکنش‌های آن با پروتئین‌های دیگر داشته باشند. بنابراین با توجه به آنکه پروتئین اسپایک یک پروتئین ساختاری بوده و فاقد عملکرد است، بنابراین هدف اصلی مطالعه گلیکوزیلاسیون آن طراحی واکسن مناسب و مطالعه برهمکنش‌های آن با اجزای میزبان می‌باشد. بنابراین، عمدهٔ مطالعات و پژوهش هایی که در این زمینه انجام شده است نیز بر شناخت پروفایل قندی، تاثیر آن در طراحی واکسن و نقش آن در برهمکنش‌های ویروس-میزبان تاکید می‌کنند. بنابراین، در این مطالعه مروری نتایج این مطالعات گردآوری و تحلیل شدند تا نشان داده شود که طراحی یک واکسن موفق علیه سارس کرونا ویروس ۲ و شناخت ارتباط ویروس-میزبان، چگونه منوط به شناخت میزان و الگوهای پرکاربرد گلیکوزیلاسیون پروتئین‌های ویروسی خواهد بود. همچنین، در این مطالعه بر نقش پررنگ فرایند گلیکوزیلاسیون در ساخت واکسن با مثال‌هایی از ویروس‌های HIV و هاری تاکید شد. همان‌طور که گفته شد سال‌ها ست که طراحی یک واکسن موفق علیه HIV شکست خورده است و دانشمندان تغییرات ژنتیکی در گیرنده ویروس را عامل مقاومت و پایداری آن می‌دانند، حال آن‌که علاوه بر این فرضیه، می‌توان فرضیه نقش مولکول‌های قندی در فرار ایمنی ویروس HIV را نیز مورد تامل قرار داد، چرا که نه تنها میزبان این ویروس در طی مدت ۴۰ سال تغییر نکرده است، بلکه مولکول گیرنده آن نیز در این مدت ثابت بوده است؛ بنابراین، به‌نظر می‌رسد آنچه که بتواند پنجره جدیدی به درمان این بیماری و بیماری‌های مشابه از طریق ساخت واکسن موثر باز کند نگرشی متفاوت و با اهمیتی بیشتر به مولکول‌های قندی باشد. در تایید این نظر، مثال دیگری از ویروس هاری آورده شد که نشان می‌دهد چطور در برابر واکسن، تسلیم و درمان‌پذیر است. پروتئین سطحی این ویروس میزان گلیکوزیلاسیون کمی دارد و بنابراین اپی‌توپ‌های آن به راحتی در دسترس سیستم ایمنی میزبان قرار می‌گیرند. در این مطالعه همچنین نشان داده شد که گروه‌های قندی بر اتصالات اسپایک موثر هستند. این مسئله از آن نظر حائز اهمیت است که می‌توان با بررسی ساختار این گروه‌های قندی، مهارکننده‌های مناسبی طراحی کرد که قطعا به ویروس اتصال پیدا کنند و همچنین قدرت اتصال ویروس در سویه‌های جهش‌یافته جدید در نواحی گلیکوزیله را بتوان تخمین زد. مطالعات جدید کاربردهای بیشتری از ساختارهای قندی نشان می‌دهند و در آینده ممکن است نقش‌های دیگری به این گروه از مولکول‌ها در گلیکوپروتئین‌ها از جمله اسپایک کروناویروس جدید نسبت داده شود.

۷- منابع

[1] Huang, C., et al., *Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China*. The lancet, 2020. 395(10223): p. 497-506.

[2] Song, Z., et al., *From SARS to MERS, thrusting coronaviruses into the spotlight*. viruses, 2019. 11(1): p.۵۹ .

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-12-21]

[3] World Health Organization. *WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard*. 9 May 2022; Available from: https://covid19.who.int/.

[4] Hu, B., et al., *Bat origin of human coronaviruses.* Virology journal, 2015. 12(1): p. 1-10.

[5] Nguyena, T.T., et al., *Origin of Novel Coronavirus (COVID-19): A Computational Biology Study using Artificial Intelligence.*

[6] Menachery, V.D., et al., *A SARS-like cluster of circulating bat coronaviruses shows potential for human emergence.* Nature medicine, 2015. 21(12): p. 1508-1513.

[7] Casalino, L., et al., *Beyond shielding: the roles of glycans in the SARS-CoV-2 spike protein.* ACS Central Science, 2020. 6(10): p. 1722-1734.

[8] Yan, R., et al., *Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2.* Science, 2 :(٦٤٨٥)٣٦٧ .٠٢٠p. 1444-1448.

[9] Yang, J., et al., *Molecular interaction and inhibition of SARS-CoV-2 binding to the ACE2 receptor.* Nature communications, 2020. 11(1): p. 1-10.

[10] Shang, J., et al., *Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2.* Proceedings of the National Academy of Sciences, 2020. 117(21): p. 11727-11734.

[11] European Bioinformatics Institute (EMBL-EBI), S.S.I.o.B., Protein Information Resource (PIR). *UniProtKB - P0DTC9 (NCAP_SARS2)*. May 9, 2022; Available from: https://www.uniprot.org/uniprot/P٠DTC9.

[12] European Bioinformatics Institute (EMBL-EBI), S.S.I.o.B., Protein Information Resource (PIR). *UniProtKB - P0DTC2 (SPIKE_SARS2)*. May 9, 2022; Available from: https://www.uniprot.org/uniprot/P0DTC2.

[13] European Bioinformatics Institute (EMBL-EBI ,(S.S.I.o.B., Protein Information Resource (PIR). *UniProtKB - P0DTC5 (VME1_SARS2)*. May 9, 2022; Available from: https://www.uniprot.org/uniprot/P0DTC5.

[14] European Bioinformatics Institute (EMBL-EBI), S.S.I.o.B., Protein Information Resource (PIR). *UniProtKB - P0DTC4 (VEMP_SARS2)*. May 9, 2022; Available from: https://www.uniprot.org/uniprot/P0DTC4.

[15] Watanabe, Y., et al., *Exploitation of glycosylation in enveloped virus pathobiology.* Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects, 2019. 1863(10) :p. 1480-1497.

[16] European Bioinformatics Institute (EMBL-EBI), S.S.I.o.B., Protein Information Resource (PIR). *UniProtKB - P0DTD1 (R1AB_SARS2)*. May 9, 2022; Available from: https://www.uniprot.org/uniprot/P0DTD1.

[17] Walls, A.C., et al., *Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein.* Cell, 2020. 181(2): p. 281-292. e6.

[18] Shajahan, A., et al., *Deducing the N-and O-glycosylation profile of the spike protein of novel coronavirus SARS-CoV-2.* Glycobiology, 2020. 30(12): p. 981.٩٨٨-

[19] Watanabe, Y., et al., *Site-specific glycan analysis of the SARS-CoV-2 spike.* Science, 2020. 369(6501): p. 330-333.

[20] Grant, O.C., et al., *Analysis of the SARS-CoV-2 spike protein glycan shield reveals implications for immune recognition.* Scientific reports, 2020. 10(1): p. 1-11.

[21] Henderson, R., et al., *Glycans on the SARS-CoV-2 spike control the receptor binding domain conformation.* bioRxiv, 2020.

[22] Shang, J., et al., *Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2.* Nature, 2020. 5 :(٧٨٠٧)٨١p. 221-224.

[23] Gámez, G., et al., *Atypical N-glycosylation of SARS-CoV-2 impairs the efficient binding of Spike-RBM to the human-host receptor hACE2.* bioRxiv, 2021.

.٢٤ [24] Gu, H., et al., *Adaptation of SARS-CoV-2 in BALB/c mice for testing vaccine efficacy.* Science, 2020. 369(6511): p. 1603-1607.

[25] Sanda, M., L. Morrison, and R. Goldman, *N-and O-Glycosylation of the SARS-CoV-2 spike protein.* Analytical chemistry, 2021. 93(4): p. 2003-2009.

[26] Watanabe, Y., et al., *Vulnerabilities in coronavirus glycan shields despite extensive glycosylation.* Nature communications, 2020. 11(1): p. 1-10.

[27] Zhang, S., et al., *Analysis of glycosylation and disulfide bonding of wild-type SARS-CoV-2 spike glycoprotein.* bioRxiv, 2021.

[28] Mehdipour, A.R. and G. Hummer, *Dual nature of human ACE2 glycosylation in binding to SARS-CoV-2 spike.* Proceedings of the National Academy of Sciences, 2021. 118(19).

[29] Tortorici, M.A., et al., *Structural basis for human coronavirus attachment to sialic acid receptors.* Nature structural & molecular biology, 2019. 26(6): p. 481-489.

[30] Varki, A. and P. Gagneux, *Multifarious roles of sialic acids in immunity.* Annals of the New York Academy of Sciences, 2012. 1253(1): p. 16.

[31] Bouwman, K.M., et al., *Multimerization-and glycosylation-dependent receptor binding of SARS-CoV-2 spike proteins.* PLoS Pathogens, 2021. 17(2): p. e1009282.

[32] Göker, H., et al., *The effects of blood group types on the risk of COVID-19 infection and its*

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-12-21]

clinical outcome. Turkish journal of medical sciences, :(٤)٥٠ .٢٠٢٠ p. 679-683.

[33] Deleers, M., et al., *Covid-19 and blood groups: ABO antibody levels may also matter.* International Journal of Infectious Diseases, 2021. 104: p. 242-249.

[34] Solmaz, İ. and S. Araç, *ABO blood groups in COVID-19 patients; Cross-sectional study.* International journal of clinical practice, 2021. 75(4): p. e13927.

[35] Zhang, Y., et al., *Site-specific N-glycosylation characterization of recombinant SARS-CoV-2 spike proteins.* Molecular & Cellular Proteomics, 2021. 20: p. 100058.

[36] Klein, J.A. and J. Zaia, *Assignment of coronavirus spike protein site-specific glycosylation using GlycReSoft.* bioRxiv, 2020.

[37] Watanabe, Y., et al., *Native-like SARS-CoV-2 spike glycoprotein expressed by ChAdOx1 nCoV-19/AZD1222 vaccine.* ACS Central Science, 2021.

[38] Bagdonaite, I., et al., *Site-specific O-glycosylation analysis of SARS-CoV-2 spike protein produced in insect and human cells.* Viruses, 2021. 13(4): p. 551.

[39] Marth, J.D. and P.K. Grewal, *Mammalian glycosylation in immunity.* Nature Reviews Immunology, 2008. 8(11): p. 874-887.

[40] European Bioinformatics Institute (EMBL-EBI), S.S.I.o.B., Protein Information Resource (PIR). *UniProtKB - P59594 (SPIKE_SARS)*. April 7, 2021; Available from: https://www.uniprot.org/uniprot/P59594.

[41] Xu, W., et al., *Variations in SARS-CoV-2 spike protein cell epitopes and glycosylation profiles during global transmission course of COVID-19.* Frontiers in Immunology, 2020. 11: p. 2222.

[42] TheCommitteeToAdviseOnTropicalMedicineAndTravel(CATMAT). *STATEMENT ON TRAVELLERS AND RABIES VACCINE*. 2002; Available from: https://publications.gc.ca/collections/Collection/H12-21-2-28-4.pdf.

[43] European Bioinformatics Institute (EMBL-EBI), S.S.I.o.B., Protein Information Resource (PIR). *P35961 · ENV_HV1Y2*. 2022; Available from: https://www.uniprot.org/uniprotkb/P35961/entry.

[44] European Bioinformatics Institute (EMBL-EBI), S.S.I.o.B., Protein Information Resource (PIR), *P03524 · GLYCO_RABVE.* 2022.

[45] (Gavi), T.V.A. *How effective are COVID-19 vaccines in the real-world?* 2 ٣July 2021; Available from: https://www.gavi.org/vaccineswork/how-effective-are-covid-19-vaccines-real-world.

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-12-21]

The role of glycans in the structure and function of the SARS-Cov-2 spike protein

Hamid Asghari[1], Sedigheh Asad[2*]

1. Hamid Asghari, MSc in Biotechnology, Faculty of Biotechnology, College of science, University of Tehran, Tehran, Iran
2. Sedigheh Asad, Associate Professor, Faculty of Biotechnology, College of science, University of Tehran, Tehran, Iran

Asad@ut.ac.ir

Receipt: 2022/06/09 Accepted: 2023/04/24

Abstract.
In the last month of 2019, an unknown virus appeared in Wuhan, China. Sequencing studies have shown that the virus is a new member of the coronavirus family, which mostly causes a respiratory disease with pneumonia-like symptoms. The new coronavirus consists of 25 proteins, including 4 important structural proteins and 15 non-structural proteins. Spike protein is one of the most important structural proteins on the surface of the virus; It is highly glycosylated and plays a key role in the virus binding to the host cells. The binding of glycans to proteins affects their structure and function in two ways; They lead to proper protein folding, and can play an important role in protein interactions, and also, by covering the surface of the protein, it causes the virus to escape from the immune system. So it is obvious that the study of glycan structures becomes more important when either a vaccine is going to be designed or glycan structures have important roles in the folding, activity, and interaction of a protein. Therefore, since the spike protein is a non-functional structural protein, the study of glycan structures is important for two goals of vaccine design and investigating the role of glycans in protein interactions. In this article, we are going to review the most important findings on spike protein glycosylation and compare the amount of glycosylation in different viruses, indicating the importance of glycan structures in designing an effective vaccine.

Keywords.
SARS-Cov-2, Covid19, Spike protein, Glycan structures, Immune system, Vaccine

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-12-21]