

Anna LALIK
Politechnika Śląska

MATEMATYCZNE MODELE GLIKOZYLACJI - SZANSE I WYZWANIA

Streszczenie. Glikozylacja jest jednym z najpowszechniejszych komórkowych procesów modyfikacji makrocząsteczek. Przyłączone glikany modyfikują aktywność, stabilność i lokalizację makrocząsteczek, co powoduje zmiany w fizjologii komórki. Istniejące modele matematyczne glikozylacji mają na celu albo lepsze zrozumienie regulacji tego procesu, albo umożliwienie sterowania procesem glikozylacji przy produkcji biofarmacutyków. Niniejsza praca obejmuje przegląd modeli matematycznych glikozylacji pod kątem ich ograniczeń i możliwości wykorzystania w glikobiologii.

MATHEMATICAL MODELS OF GLYCOSYLATION—OPPORTUNITIES AND CHALLENGES

Summary. Glycosylation is one of the most common cellular processes of macromolecule modification. Attached glycans modify the activity, stability, and localization of macromolecules, resulting in changes in cell physiology. Existing mathematical models of glycosylation aim either to improve our understanding of the regulation of this process, or to enable control of the glycosylation process during the production of biopharmaceuticals. This paper provides an overview of mathematical models of glycosylation in terms of their limitations and potential applications in glycobiology.

1. Wprowadzenie

Glikozylacja to enzymatyczny proces modyfikacji makrocząsteczek (białek, lipidów lub RNA) polegający na przyłączaniu i rozbudowie struktur cukrowych (glikanów) [6]. Kotranslacyjna glikozylacja białek zachodzi w retikulum endoplazmatycznym i jest jednym z elementów warunkujących prawidłowe fałdowanie białek. Poza tym dołączone glikany wpływają na stabilność, transport, lokalizację i funkcję białek. Glikokaliks (warstwa cukrowa na powierzchni komórki tworzona przez glikoproteiny, glikolipidy i glikoRNA błonowe) stanowi nie tylko barierę fizyczną zapobiegającą wnikaniu patogenów i nanocząsteczek do wnętrza komórek, ale jest kluczowym elementem w regulacji układu odpornościowego i organizacji błony komórkowej [17, 15, 9]. Glikokaliks uczestniczy również w utrzymaniu kształtu komórek, przekazywaniu sygnałów, adhezji oraz oddziaływaniach wewnątrz- i zewnątrzkomórkowych [23, 8]. Zachodzący w cytozolu i jądrze komórkowym jeden z rodzajów glikozylacji (O-GlcNAcylation) odgrywa istotną rolę w wykrywaniu składników odżywczych i odpowiedzi na stres [23]. Ponieważ w procesie O-GlcNAcylation i fosforylacji modyfikacji ulegają te same aminokwasy

(treonina lub seryna), więc między tymi dwoma potranslacyjnymi modyfikacjami białek zachodzi dynamiczne współzawodnictwo będące kluczowym elementem regulacji transkrypcji, metabolizmu i sygnalizacji komórkowej [32]. Glikozylacja jest procesem złożonym, wielostopniowym, w którym uczestniczy około 700 genów (co odpowiada około 3-4% genomu) kodujących enzymy, transportery i białka opiekuńcze niezbędne do prawidłowego przebiegu procesu [10]. Dodatkowo, na ostateczny wyniki glikozylacji wpływa dostępność nukleotydów cukrowych, kofaktorów czy pH. Ponieważ proces glikozylacji przebiega bez matrycy, więc istotny wpływ na końcową strukturę mają też konkurencyjne reakcje glikozylacji. W komórkach ludzkich występuje przynajmniej 17 różnych szlaków glikozylacji (w zależności od rodzaju przyłączanego pierwszego monosacharydu oraz enzymu inicjującego) obejmujące 2 typy glikozylacji lipidów, 14 różnych typów glikozylacji białek oraz, ostatnio odkryty, przynajmniej jeden typ glikozylacji RNA [23, 26].

Glikozylacja w komórkach jest procesem bardzo wrażliwym na warunki środowiskowe oraz stan fizjologiczny, co powoduje, że zarówno stres jak i rozwój chorób skutkuje zmianą we wzorcu glikozylacji [23]. Charakterystyczne zmiany glikozylacji powiązano z powstawaniem i rozwojem wielu chorób, w tym z chorobami autoimmunologicznymi, neurodegeneracyjnymi, metabolicznymi, chorobami serca i układu krążenia a także z nowotworami [20, 11]. W diagnostyce glikany występujące na powierzchni komórek wykorzystywane są jako biomarkery chorób. Również produkcja aktywnych biofarmaceutyków wymaga zapewnienia warunków umożliwiających ich prawidłową glikozylację. Poznanie mechanizmów regulacji procesów glikozylacji oraz umiejętność sterowania tymi procesami jest więc niezwykle istotna z punktu widzenia terapii i diagnostyki.

2. Modele glikozylacji

Proces dołączania i rozbudowywania struktur cukrowych przebiega bez matrycy co oznacza, że profil glikanów w silnym stopniu zależy nie tylko od stężenia enzymów bezpośrednio zaangażowanych w syntezę łańcuchów cukrowych, ale również od dostępności substratów, transporterów cukrów, struktury drugorzędowej i trzeciorzędowej białek oraz relacji przestrzennej między enzymami i substratami [21]. W wyniku oddziaływań konkurujących ze sobą czynników powszechnym zjawiskiem jest makroheterogenność (niepełne obsadzenie miejsc glikozylacji w makrocząsteczkach) oraz mikroheterogenność (występowanie różnych struktur cukrowych przyłączonych do tego samego miejsca glikozylacji w tym samym białku) [1]. Stopień złożoności sieci zależności prowadzących do ostatecznej struktury przyłączonego glikanu sprawia, że matematyczne modelowanie procesu glikozylacji jest niezwykle trudne. Stąd większość opisanych w literaturze modeli matematycznych glikozylacji skupia się na jednym typie szlaków glikozylacji z zawężoną liczbą enzymów [30, 2], koncentruje się na reakcjach przebiegających tylko w jednym obszarze komórki (np. w aparacie Golgiego [21]) lub dotyczy glikozylacji jednego typu białek (np. przeciwciał [31]). Ograniczona dostępność parametrów niezbędnych do budowy modelu glikozylacji (takich jak stężenie monosacharydów i makrocząsteczek będących akceptorami cukrów, stężenie i aktywność glikozylotransferaz i glikozydaz, stałe dysocjacji) sprawia, że modele glikozylacji opisują głównie proces glikozylacji białek. Obserwowany w ostatniej

dekadzie wzrost liczby modeli glikozylacji wynika z upowszechnienia się technik wysokoprzepustowych pozyskiwania danych eksperymentalnych co umożliwiło rozwinięcie modeli glikozylacji wykorzystujących dane multiomiczne (genomiczne, transkryptomiczne i proteomiczne) [2].

2.1. Modele ODE

Modele oparte na zwykłych równaniach różniczkowych (ODE) są powszechnie wykorzystywane w modelowaniu komórkowych ścieżek sygnałowych, gdyż odwzorowując kinetykę enzymatyczną umożliwiają śledzenie zmian stężeń substratów w czasie, wskazanie czynników kluczowych dla prawidłowego przebiegu procesu a interpretowalność biologiczna wyników jest stosunkowo prosta [28, 18]. Modele ODE mają dobrze zdefiniowaną strukturę matematyczną a ze względu na powszechność ich stosowania dostępne są liczne narzędzia i standardy wspomagające modelowanie [28]. Modele ODE zakładają jednak idealne wymieszanie substratów i enzymów oraz wymagają znajomości wielu parametrów, w tym stałych kinetycznych. W przypadku glikozylacji liczba dostępnych danych eksperymentalnych jest ograniczona, a ze względu na heterogenność oraz niepełne poznanie mechanizmów regulujących proces glikozylacji pozyskanie brakujących danych eksperymentalnych jest trudne [18]. Wykorzystanie więc w modelowaniu glikozylacji modeli ODE ma swoje ograniczenia wynikające przede wszystkim z: (a) konieczności znajomości dużej liczby stałych kinetycznych, które nie zawsze są dostępne w literaturze czy bazach danych [28, 18]; (b) konieczności generowania ogromnej liczby równań uwzględniających heterogenność i rozbudowaną sieć reakcji enzymatycznych procesu glikozylacji [25]; (c) potrzeby uwzględnienia przestrzennego rozkładu enzymów związanych z procesem glikozylacji, gdyż dystrybucja tych enzymów w komórce nie jest homogenna [1].

2.2. Modele oparte na łańcuchach Markowa

Alternatywą dla modeli ODE są modele dyskretne glikozylacji, które nie wymagają znajomości stałych kinetycznych a umożliwiają przewidzieć profil glikanów w danym stanie fizjologicznym komórki. Jednym z typów modeli dyskretnych wykorzystywanych do modelowania glikozylacji są modele oparte na łańcuchach Markowa. W modelach tych zbiór wszystkich glikanów mogących wystąpić w komórce stanowi przestrzeń stanów. Prawdopodobieństwo przejścia określające szanse, że jeden glikan przejdzie w inny określa się na podstawie sieci reakcji glikozylacji i częstotliwości występowania danego glikanu w oznaczonym eksperymentalnie profilu glikanów charakteryzującym dany typ komórki bądź rodzaj białka. Stanem początkowym w przypadku N-glikozylacji jest rdzeniowy oligosacharyd przyłączany bezpośrednio do białka [25, 14]. Modele oparte na łańcuchach Markowa, w odróżnieniu od modeli ODE, są modelami niskoparametrycznymi, co w przypadku modelowania procesu glikozylacji (ograniczony dostęp do danych eksperymentalnych) jest dużą zaletą. Modele Markowa dobrze odwzorowują mikroheterogenność glikozylacji, stochastyczną naturę transportu białek przez kompartmenty komórkowe (poszczególne reakcje glikozylacji są przypisane do konkretnej przestrzeni komórkowej) oraz pozwalają na proste definiowanie ograniczeń strukturalnych [25]. Decydując się na zastosowanie łańcuchów Markowa do modelowania glikozylacji trzeba jednak pamiętać, że wraz ze wzrostem liczby monosa-

charydów zwiększa się znacząco liczba możliwych do wystąpienia glikanów (stanów) co istotnie zwiększa zapotrzebowanie na moc obliczeniową komputera. Aby poprawnie wytrenować prawdopodobieństwo przejścia potrzebne są wysokiej jakości dane eksperymentalne co przy wysokiej heterogenności glikozylacji nie jest proste do uzyskania.

2.3. Modele oparte na grafach

Innym przykładem modeli dyskretnych wykorzystywanych do modelowania procesu glikozylacji są modele oparte na teorii grafów. W modelach tych glikany są reprezentowane przez grafy skierowane lub grafy molekularne, w których wierzchołkami są monosacharydy lub konkretne glikany a krawędziami wiązania glikozydowe o określonej stereochemii lub reakcje katalizowane przez enzymy [13, 3, 5]. Modele oparte na grafach dobrze odzwierciedlają heterogenną i rozgałęzioną strukturę glikanów i umożliwiają tworzenie łatwej do śledzenia sieci reakcji przekształcających jeden glikan w drugi [5, 3]. Modele oparte na grafach umożliwiają również bezpośrednie zastosowanie sieci neuronowych co pozwala na przewidywanie funkcji biologicznych glikanów [3]. W modelach opartych o grafy wraz ze wzrostem rozmiaru glikanu liczba potencjanych struktur rośnie wykładniczo co prowadzi do powstawania rozbudowanych sieci reakcji [29].

3. Podsumowanie

Glikozylacja jest modyfikacją niezbędną dla prawidłowej funkcji, aktywności, stabilności i rozmieszczenia w komórce makrocząsteczek będących akceptorami łańcuchów cukrowych.[1]. Określone struktury cukrowe są często antygenami rozpoznawanymi przez układ immunologiczny, więc dogłębne poznanie mechanizmów regulacji i umiejętność sterowania procesem glikozylacji jest niezwykle istotna przy produkcji biofarmaceutyków, by zapobiec syntezie glikanów wywołujących alergię i silne reakcje układu immunologicznego [16]. Również aktywność biofarmaceutyków, w tym przeciwciał, zależy silnie od prawidłowego wzorca glikozylacji. Ponieważ proces glikozylacji jest wrażliwy na stan fizjologiczny komórki i czynniki środowiskowe, więc umiejętność przewidywania i analizy wzorca glikozylacji umożliwia wczesną diagnozę chorób (w tym zmian nowotworowych), monitorowanie skuteczności terapii oraz pozwala na wykorzystanie struktur cukrowych charakterystycznych dla danego typu choroby do wychwytywania leków w terapii celowanej [4].

Przebieg glikozylacji zależy od setek enzymów, substratów i czynników fizycznych, więc bezpośrednia analiza danych eksperymentalnych w celu dogłębnego poznania mechanizmów regulujących proces glikozylacji jest niezwykle trudna. Dodatkowo poszukiwanie reguł utrudnia fakt, że aktywność enzymów zależy od przestrzennego rozmieszczenia w komórce oraz od wyjściowej struktury glikanu [25], a końcowa struktura glikanu może zostać otrzymana w wyniku działania różnej puli enzymów [22]. Nie istnieje również metoda sekwencjonowania glikanów umożliwiająca szczegółową charakterystykę struktur glikanowych a wykorzystywane techniki analityczne pomijają rzadko występujące glikany [2]. Przy tak dużej liczbie zmiennych modele matematyczne glikozylacji pełnią kluczową rolę w zrozumieniu zależności pomiędzy aktywnością i poziomem ekspresji enzymów zaangażowanych w proces glikozylacji, stężeniem substratów oraz warunkami wewnątrzkomórkowymi a profilem glikanów w komórce [24].

Wybór strategii modelowania glikozylacji uzależniony jest od rodzaju i ilości do-

stępnych danych eksperymentalnych, wiedzy biochemicznej oraz celu projektu [25]. Modele deterministyczne umożliwiają predykcję profilu glikanów, pozwalają w prosty sposób badać wpływ zmiany stężenia substratu lub poziomu ekspresji glikozylotransferazy/glikozydazy na stężenie poszczególnych struktur glikanów na wyjściu, identyfikować czynniki ograniczające oraz ułatwiają sterowanie procesem glikozylacji przy produkcji rekombinowanych białek wykorzystywanych w farmaceutyce [18, 12, 9]. Konieczność opisywania każdej możliwej reakcji osobnym równaniem różniczkowym oraz potrzeba znajomości trudnodostępnych danych kinetycznych i wartości stężeń substratów powoduje, że modele te są często redukowane do kilku- kilkunastu enzymów uczestniczących w jednym szlaku glikozylacyjnym lub do reakcji syntezujących cukry na konkretnym białku [7]. Modele te nie uwzględniają dystrybucji glikanów, co jest niezwykle istotne przy interpretacji biologicznej funkcji glikanów.

Modele stochastyczne opierają się na prawdopodobieństwie spotkania enzymu z substratem cukrowym, więc dobrze odzwierciedlają mikroheterogenność glikozylacji [25]. Modele te pomagają w zrozumieniu zależności między glikozylotransferazami oraz wspierają badania nad wyjaśnieniem genetycznych podstaw w zmianie profilu glikozylacji [14]. Modele stochastyczne traktują struktury cukrowe statycznie a w rzeczywistości glikany są cząsteczkami dynamicznymi i tylko niektóre z przyjmowanych konformacji są istotne dla funkcji glikanów [1].

Istniejące obecnie modele matematyczne obejmują tylko część typów szlaków glikozylacji (głównie N- i O-glikozylację białek) i mocno uproszczają sieć glikozylacyjnych zależności. Pozwalają one jednak lepiej zrozumieć mechanizmy prowadzące do zmian profilu glikozylacji oraz określić rolę poszczególnych enzymów w syntezie badanych populacji glikanów. Dają również wgląd w dynamikę zmian glikanów oraz pozwalają identyfikować zmiany charakterystyczne dla stanów chorobowych [9]. Rozwój metod standaryzacji danych glikomicznych [27] oraz metod umożliwiających ilościowe profilowanie glikomu [19] daje nadzieje na opracowanie modeli matematycznych, które w oparciu o dane transkryptomyczne, proteomiczne i kinetyczne, będą skutecznie i powtarzalnie przewidywać zdolności glikozylacyjne komórek.

Praca finansowana w ramach 02/040/BK_26/1080.

LITERATURA

1. Adams T. M., Zhao P., Seenivasan S. H., Wells L.: The biological basis and analyses of n-glycan microheterogeneity. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2026, Vol.25(1).
2. Akune-Taylor Y., Kon A., Aoki-Kinoshita K. F.: In silico simulation of glycosylation and related pathways: Y. akune-taylor et al. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2024, Vol.416(16), p. 3687–3696.
3. Burkholz R., Quackenbush J., Bojar D.: Using graph convolutional neural networks to learn a representation for glycans. *Cell Reports*, 2021, Vol.35(11).
4. Diniz F., Coelho P., Duarte H. O., Sarmiento B., Reis C. A., Gomes J.: Glycans as targets for drug delivery in cancer. *Cancers*, 2022, Vol.14(4), p. 911.

5. Flevaris K., Kotidis P., Kontoravdi C.: Glycompute: towards the automated analysis of protein n-linked glycosylation kinetics via an open-source computational framework. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2025, Vol.417(5), p. 957–972.
6. Flynn R. A., Pedram K., Malaker S. A., Batista P. J., Smith B. A., Johnson A. G., George B. M., Majzoub K., Villalta P. W., Carette J. E.: Small rnas are modified with n-glycans and displayed on the surface of living cells. *Cell*, 2021, Vol.184(12), p. 3109–3124.
7. Gerken T. A.: Kinetic modeling confirms the biosynthesis of mucin core 1 (β -gal (1-3) α -galnac-o-ser/thr) o-glycan structures are modulated by neighboring glycosylation effects. *Biochemistry*, 2004, Vol.43(14), p. 4137–4142.
8. He M., Zhou X., Wang X.: Glycosylation: mechanisms, biological functions and clinical implications. *Signal transduction and targeted therapy*, 2024, Vol.9(1), p. 194.
9. Kellman B. P., Lewis N. E.: Big-data glycomics: tools to connect glycan biosynthesis to extracellular communication. *Trends in biochemical sciences*, 2021, Vol.46(4), p. 284–300.
10. Kifer D., Čorak N., Domazet-Lošo M., Kasalo N., Lauc G., Klobučar G., Domazet-Lošo T.: Contrasting macroevolutionary patterns in the human n-glycosylation pathway. *Engineering*, 2026, Vol.57, p. 87–99.
11. Kim H. S.: Glycorn: A new player in cellular communication. *Oncology research*, 2025, Vol.33(5), p. 995.
12. Krambeck F. J., Betenbaugh M. J.: A mathematical model of n-linked glycosylation. *Biotechnology and Bioengineering*, 2005, Vol.92(6), p. 711–728.
13. Lemmin T., Soto C.: Glycosylator: a python framework for the rapid modeling of glycans. *Bmc Bioinformatics*, 2019, Vol.20(1), p. 513.
14. Liang C., Chiang A. W., Hansen A. H., Arnsdorf J., Schoffelen S., Sorrentino J. T., Kellman B. P., Bao B., Voldborg B. G., Lewis N. E.: A markov model of glycosylation elucidates isozyme specificity and glycosyltransferase interactions for glycoengineering. *Current research in biotechnology*, 2020, Vol.2, p. 22–36.
15. Liu Z., Wang X., Man C., Zhang S., Gong D., Lang Y., Fan Y.: Functional regulation of glycorn and progress in malignant tumors. *Journal of Translational Medicine*, 2026, Vol.24(1), p. 297.
16. Maverakis E., Kim K., Shimoda M., Gershwin M. E., Patel F., Wilken R., Raychaudhuri S., Ruhaak L. R., Lebrilla C. B.: Glycans in the immune system and the altered glycan theory of autoimmunity: a critical review. *Journal of autoimmunity*, 2015, Vol.57, p. 1–13.
17. Möckl L.: The emerging role of the mammalian glycocalyx in functional membrane organization and immune system regulation. *Frontiers in cell and developmental biology*, 2020, Vol.8, p. 253.

18. Neelamegham S., Liu G.: Systems glycobiology: biochemical reaction networks regulating glycan structure and function. *Glycobiology*, 2011, Vol.21(12), p. 1541–1553.
19. Potel C. M., Burtscher M. L., Garrido-Rodriguez M., Brauer-Nikonow A., Becher I., Le Sueur C., Typas A., Zimmermann M., Savitski M. M.: Uncovering protein glycosylation dynamics and heterogeneity using deep quantitative glycoproteomics (dqglyco). *Nature Structural & Molecular Biology*, 2025, Vol.32(6), p. 1111–1126.
20. Reily C., Stewart T. J., Renfrow M. B., Novak J.: Publisher correction: Glycosylation in health and disease. *Nat. Rev. Nephrol*, 2025, Vol.21(3), p. 216.
21. Revell C. K., Lowe M., Stevenson N. L., Jensen O. E.: Morphological determinants of glycosylation efficiency in golgi cisternae. *PLOS Computational Biology*, 2026, Vol.22(3), p. e1013993.
22. Rini J. M., Moremen K. W., Davis B. G., Esko J. D.: Glycosyltransferases and glycan-processing enzymes. *Essentials of Glycobiology* [Internet]. 4th edition, 2022,.
23. Schjoldager K. T., Narimatsu Y., Joshi H. J., Clausen H.: Global view of human protein glycosylation pathways and functions. *Nature reviews Molecular cell biology*, 2020, Vol.21(12), p. 729–749.
24. Shek C. F., Kotidis P., Betenbaugh M.: Mechanistic and data-driven modeling of protein glycosylation. *Current Opinion in Chemical Engineering*, 2021, Vol.32, p. 100690.
25. Spahn P. N., Hansen A. H., Hansen H. G., Arnsdorf J., Kildegaard H. F., Lewis N. E.: A markov chain model for n-linked protein glycosylation—towards a low-parameter tool for model-driven glycoengineering. *Metabolic engineering*, 2016, Vol.33, p. 52–66.
26. Togayachi A., Angata K., Nishihara S.: Glycan-related genes and genetic disorders. *Journal of Human Genetics*, 2026, p. 1–21.
27. Uh H.-W., Klarić L., Ugrina I., Lauc G., Smilde A. K., Houwing-Duistermaat J. J.: Choosing proper normalization is essential for discovery of sparse glycan biomarkers. *Molecular omics*, 2020, Vol.16(3), p. 231–242.
28. Vieira L. S., Laubenbacher R. C.: Computational models in systems biology: standards, dissemination, and best practices. *Current opinion in biotechnology*, 2022, Vol.75, p. 102702.
29. Zeng X., Novotny M. V., Clemmer D. E., Trinidad J. C.: A graphical representation of glycan heterogeneity. *Glycobiology*, 2022, Vol.32(3), p. 201–207.
30. Zeng Y., Yuan Z., Chen Y., Hu Y.: Cbdt-oglyc: Prediction of o-glycosylation sites using chimic-based balanced decision table and feature selection. *Journal of Bioinformatics and Computational Biology*, 2023, Vol.21(05), p. 2350024.
31. Zhang L., Schwarz H., Wang M., Castan A., Hjalmarsson H., Chotteau V.: Control of igg glycosylation in cho cell perfusion cultures by greba mathematical model supported by a novel targeted feed, tafe. *Metabolic engineering*, 2021, Vol.65, p. 135–145.

32. Zhao Q., Zhou S., Lou W., Qian H., Xu Z.: Crosstalk between o-glcnaacylation and phosphorylation in metabolism: regulation and mechanism. *Cell Death & Differentiation*, 2025, Vol.32(7), p. 1181–1199.