

Los IgA N y O- glicanos secretores proporcionan un vínculo entre los sistemas inmunitarios innato y adaptativo *

- [Louise Royle](#)
- [Anja Roos](#)
- [David J. Harvey](#)
- [Mohamed R. Daha](#)
- [Raymond A. Dwek](#)
- [Pauline M. Rudd](#)
- [Mostrar todos los autores](#)
- [Mostrar notas al pie](#)

Acceso Abierto DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M301436200>

La IgA secretora (SIgA) es un complejo de múltiples polipéptidos que consta de un componente secretor (SC) unido covalentemente a la IgA dimérica que contiene una cadena de unión (J). Presentamos el análisis de los glucanos *N* y *O* en los péptidos individuales de este complejo. Basándonos en estos datos, hemos construido un modelo molecular de SIgA1 con todos sus glicanos, en el que los brazos Fab forman una forma de T y el SC se envuelve alrededor de las cadenas pesadas. Las regiones de *O*-glicano en las cadenas pesadas (H) y el SC *N*-glicanos tienen epítopos de glucanos de unión a adhesina que incluyen β 1-4 y β 1-3 unidos a galactosa a GlcNAc, α 1-3 y α 1-4 unidos a fucosa a GlcNAc y α 1-2 a galactosa, y α 2-3 y α 2-6- ácidos siálicos enlazados. Estos epítulos de glucanos proporcionan a SIgA más sitios de unión a bacterias además de los cuatro sitios de unión a Fab, lo que permite que SIgA participe tanto en la inmunidad innata como en la adaptativa. También mostramos que los *N*-glicanos en las cadenas H de SIgA1 y SIgA2 presentan residuos terminales de GlcNAc y manosa que normalmente están enmascarados por SC, pero que pueden ser desenmascarados y reconocidos por lectina de unión a manosa, al interrumpir la cadena SC-H interacciones no covalentes.

IgA secretora (SIgA)

¹

1 Las abreviaturas utilizadas son: SIgA, inmunoglobulina A secretora; A x G y , glucano complejo con x antenas y residuos de galactosa y ; 2AB, 2-aminobenzamida; ELISA, ensayo

inmunoabsorbente ligado a enzimas; ESI, ionización por electropulverización; Fuc, fucosa; Fc, α1-6 unido a fucosa al núcleo GlcNAc; Gal, galactosa; GU, unidad (es) de glucosa; Cadena H, cadena pesada; Hex, hexosa; HexNAc, N-acetilhexosamina; HPLC, cromatografía líquida de alta resolución; Cadena en J, cadena de unión; LC, cromatografía líquida; MBL, lectina de unión a manosa; MS, espectrometría de masas; Neu5Ac, ácido N-acetylneuramínico; NP, fase normal; pIgR, receptor de inmunoglobulina polimérico; SC, componente secretor; MES, ácido 4-morfolinoetanosulfónico.

es la principal inmunoglobulina responsable de proteger las superficies mucosas contra la invasión de patógenos. En los seres humanos, la mucosa cubre una gran superficie (~400 m³) y el cuerpo produce más SIgA cada día que todos los demás anticuerpos combinados (66 mg kg⁻¹ día⁻¹) (1). SIgA ocurre principalmente como un dímero en el que las dos moléculas de IgA se unen a través de una pequeña cadena J (16 kDa) (cadena de unión) (2), que está unido a la cisteína terminal de una cadena pesada (H) en cada IgA. La IgA dimérica con cadena J unida se produce en células plasmáticas cercanas al epitelio. Las células epiteliales expresan el receptor de inmunoglobulina polimérico (pIgR) que se une a la IgA dimérica; este complejo luego se transloca a través de la célula epitelial. Durante la translocación, se produce un enlace disulfuro entre el pIgR y una cadena H. Al llegar a la superficie de la mucosa, el componente secretor (SC) (50-90-kDa) se escinde de la cola transmembrana de pIgR y se secreta todo el complejo IgA / cadena J / SC (SIgA) (3). Por lo tanto, SIgA es un complejo de múltiples polipéptidos que se origina a partir de dos tipos de células (3). Esto contrasta con la IgA sérica, que es predominantemente monomérica y carece de la cadena J y SC.

Hay dos formas isotípicas de IgA: IgA1 e IgA2. Ambas formas contienen dos sitios de N-glicano conservados por cadena H, uno en Asn²⁶³ en el dominio Ca2 y otro en el aminoácido terminal (Asn⁴⁵⁹) de su cola de 18 aminoácidos (en comparación con IgG, IgA tiene 18 aminoácidos en el C-terminal de la cadena H). Hay dos alotipos de IgA2, IgA2m (1) e IgA2m (2), que contienen más sitios de N-glicano conservados : uno en el dominio Ca2 y uno o dos en el dominio Ca1 respectivamente (1) (Figura 1). El SC está altamente glicosilado, tiene siete sitios de N-glicano y los azúcares contribuyen hasta el 25% de su masa molecular, mientras que la cadena J tiene solo un sitio de N-glicano (3). Además, IgA1 tiene una región de bisagra rica en prolina de 23 aminoácidos con nueve sitios potenciales de O-glicosilación (residuos de serina y treonina) de los cuales se ha demostrado que de tres a cinco sitios están ocupados en el suero IgA1 (4, 5, 6, 7). IgA2 carece de esta región de bisagra de 13 aminoácidos y no está O-glicosilada.

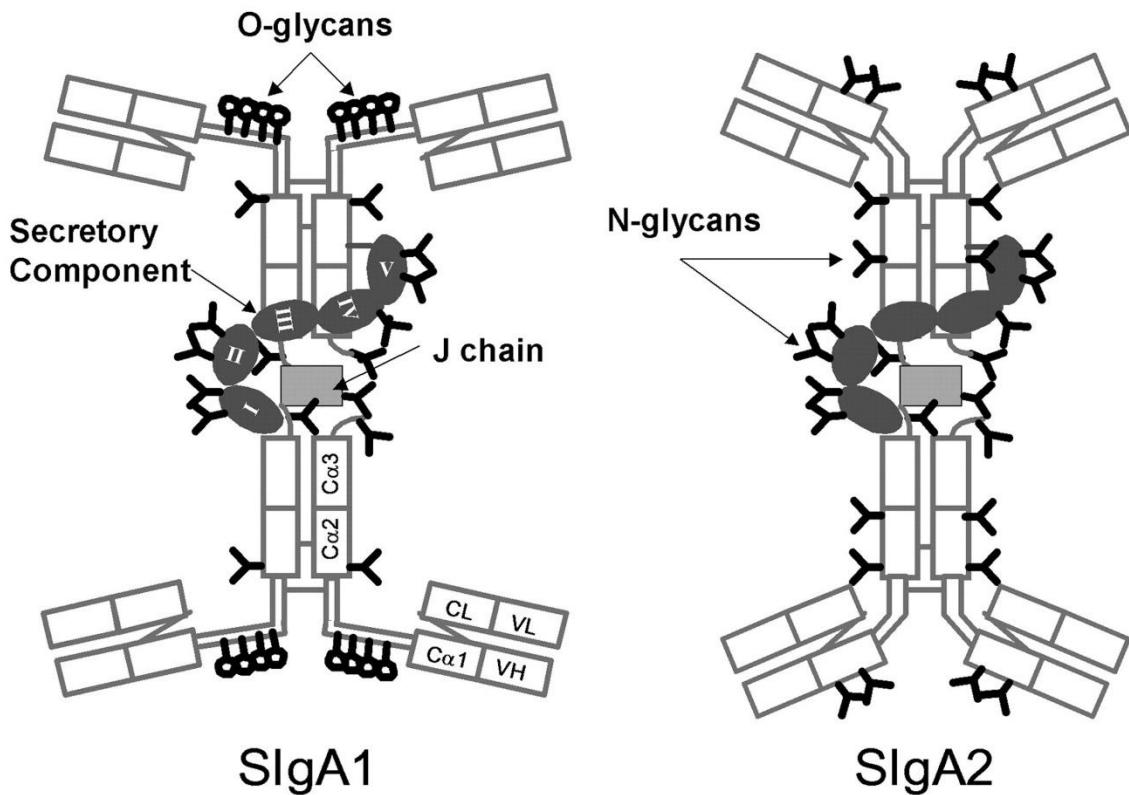


Fig. 1 Representaciones esquemáticas de IgA1 e IgA2 secretoras diméricas humanas. Se representan dos monómeros de IgA de cola a cola, con una cadena J (gris claro) que une covalentemente una pieza de cola de cadena pesada de cada monómero. El SC consta de cinco dominios similares a inmunoglobulina (gris oscuro) unidos covalentemente en un extremo, a través de un puente disulfuro entre el dominio SC V y el dominio Ca2 en una cadena H, mientras que las interacciones no covalentes tienen lugar entre el dominio SC I y tanto la cadena J como un dominio Ca3. N glucanos se muestran en negro como formas de Y. IgA2 tiene un N-glicano más en el dominio Ca2 y uno (IgA2m (1)) o dos (IgA2m (2)) más en el dominio Ca1 que IgA1. Los O-glicanos se muestran como círculos negros. Cuatro de los cinco posibles sitios se muestran ocupados en la región de bisagra de IgA1. No hay O-glicanos en la región de bisagra truncada de IgA2.

- [Ver imagen grande](#)
- [Visor de figuras](#)
- [Descargar imagen de alta resolución](#)
- [Descarga \(PPT\)](#)

Un niño recién nacido depende de la inmunidad pasiva del SIgA en la leche materna hasta que su propio sistema inmunológico haya madurado. La SIgA en el calostro y la leche se une a los microorganismos, sus productos metabólicos y toxinas, evitando su adhesión al epitelio intestinal y facilitando su expulsión en las heces,

proceso conocido como exclusión inmune (8). La adhesión de muchos organismos patógenos a las células de la membrana mucosa está mediada por adhesinas en su superficie. Estos son receptores tipo lectina que pueden unirse a constituyentes de carbohidratos complementarios expresados por los tejidos del huésped (9). Por ejemplo, se puede evitar que *Escherichia coli* imbriada por S, que causa sepsis y meningitis en los recién nacidos, se una a las células epiteliales, independientemente de los sitios de unión al antígeno, mediante glucanos sialilados en SlgA que se unen al patógeno (10). La fucosa, unida α1-2 a la galactosa como en los epítopos de Lewis^b Lewis^y, en SC N-glicanos compiten con *Helicobacter pylori* por unirse a los receptores gástricos (11, 12). Free SC también se une a *E. coli* (13, 14) y toxina A de *Clostridium difficile* (15), y tanto el SC libre como el unido a SlgA interactúan específicamente con una proteína de superficie de *Streptococcus pneumoniae* (diecisésis, 17). *E. coli* fimbriada de tipo 1 expresa una lectina específica de manosa que se une a SlgA (13). Esto ha llevado a un mayor interés en el uso de SlgA recombinante administrado por vía oral para la inmunización pasiva contra patógenos virulentos como *C. difficile* y *meningitis* por *Neisseria* (18, 19). Sin embargo, definir con precisión las estructuras de glucanos es un requisito previo para comprender sus propiedades de unión, particularmente porque las proteínas producidas en diferentes tipos de células están glicosiladas de manera diferente, y esto puede tener implicaciones importantes cuando se producen anticuerpos diseñados (20).

En este artículo presentamos el primer análisis total de N- y O-glicanos de cada una de las diferentes cadenas de péptidos (H, J y SC) de la misma muestra de SlgA humana normal combinada. Los procedimientos analíticos sensibles nos han permitido identificar componentes menores de la reserva de glucanos, además de confirmar las principales estructuras de glucanos encontradas por investigadores anteriores (21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28). Los O-glicanos en la cadena H y los N-glicanos en SC presentaron una amplia gama de epítopos para la unión de adhesina. Más del 75% de los N-glicanos de la cadena J estaban sialilados, mientras que más del 66% de los N-glicanos de la cadena H eran estructuras complejas truncadas con GlcNAcs terminales libres.

Sobre la base de estos datos, hemos construido un modelo molecular de SlgA1 con sus glucanos unidos, en el que los brazos Fab forman una T y el SC se envuelve alrededor de las cadenas H. Este modelo muestra que los glucanos cubren la mayor parte del complejo SlgA1 con la excepción de las regiones Fab. Cada molécula de SlgA1 tiene varios sitios para unirse a los patógenos. Además de los cuatro sitios de unión al antígeno Fab (inmunidad adaptativa), hay dos regiones O-glicosiladas que contienen hasta 10 glicanos por

región y SC con siete N -glicanos, que presentan una amplia gama de epítopos de azúcar capaces de unirse a adhesinas. (inmunidad innata).

Nuestro modelo de SIgA1 muestra el SC envuelto alrededor de las cadenas H, enmascarando los N -glicanos de la cadena H , que son estructuras complejas truncadas con residuos de GlcNAc terminales libres. Estos residuos de GlcNAc son ligandos potenciales para lectinas tales como lectina de unión a manosa (MBL). MBL es una lectina sérica dependiente del calcio que puede unirse a D- manosa, L- fucosa, GlcNAc y N -acetilmanoseamina, reconociendo dos grupos hidroxilo ecuatoriales comunes ([29](#)). La unión de MBL a microorganismos, incluidos virus, bacterias y especies de levadura, puede inducir la activación del sistema del complemento a través de la vía de la lectina, lo que conduce a la opsonización de la diana. MBL representa un componente clave del sistema inmunológico innato, como lo ilustra la mayor susceptibilidad a infecciones que ocurren en individuos con deficiencia de MBL ([30](#)). Recientemente, se ha informado de la unión del dominio de lectina de MBL a IgA sérica polimérica ([31](#)). Mostramos que MBL no se une a SIgA a pH neutro, apoyando la propuesta de que SC está enmascarando los N-glicanos de la cadena H, y que la interrupción de las interacciones no covalentes SC-IgA, por preincubación a pH 3, desenmascara los N -glicanos de la cadena H , permitiendo que MBL se una.

PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES

IgA secretora; La SIgA humana combinada, purificada a partir de calostro, se obtuvo de Sigma. El complejo secretor de IgA se redujo, se alquiló y luego se separó en SC, cadena J, cadena H y cadena ligera mediante la reducción de SDS-PAGE ($80 \times 80 \times 1$ mm, gel BisTris NuPAGE al 10%, tampón de ejecución MES SDS (Invitrogen)). Las bandas de proteínas se visualizaron mediante tinción de Coomassie. Se utilizaron patrones de masa molecular MultiMark (Invitrogen). Las cantidades relativas de IgA1 e IgA2 se determinaron mediante ELISA de acuerdo con la Ref.

[32](#) utilizando suero humano normal con concentraciones conocidas de IgA1 (2,1 mg / ml) e IgA2 (0,2 mg / ml) como patrones.

Identificación de bandas de gel por espectrometría de masas; Las bandas tratadas con coomas se escindieron y se digirieron en gel con tripsina (grado de secuenciación; Roche Applied Science) como se describe en la Ref.

[33](#). Las mezclas de péptidos trípticos recuperados se desalaron cargándolas en un cartucho PepMap C18 de $0,3 \times 5$ mm (envases LC; Presearch Ltd., Hitchin, Reino Unido) en agua con ácido fórmico al 0,1% y luego eluyendo con acetonitrilo al 80%, ácido fórmico al 0,1%. a un flujo de $0,2 \mu\text{l min}^{-1}$ directamente en un espectrómetro de masas de tiempo de vuelo de cuadrupolo híbrido equipado con una fuente de nanopulverización (Waters-Micromass Ltd., Manchester, Reino Unido). Los péptidos se

secuenciaron a partir de datos de fragmentación como se describe (34). Se realizó una búsqueda BLAST de la base de datos NCBI utilizando el software MASCOT.

*Liberación y etiquetado fluorescente de glicanos; los N-glicanos se liberaron de las bandas de gel escindidas mediante digestión en gel de la proteína con el péptido: N-glicosidasa F (Roche Applied Science) (35). Hidrazinolisis manual (36, 37) se utilizó para liberar O-glicanos (60 ° durante 6 h) de todo el complejo SIgA. Los glicanos liberados se marcaron de forma fluorescente con 2-aminobenzamida (2AB) mediante aminación reductora de acuerdo con el método de Bigge *et al.* (38) utilizando un kit de etiquetado Oxford GlycoSciences Signal™ (Oxford GlycoSciences, Abingdon, Reino Unido).*

Análisis de glicanos por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC); La HPLC en fase normal (NP) se realizó de acuerdo con el sistema de tampón bajo en sal como se describió anteriormente (39) utilizando una columna GlycoSep-N de 4,6 x 250 mm (Oxford GlycoSciences). El sistema se calibró usando un estándar externo de oligómeros de glucosa hidrolizados y marcados con 2AB para crear una escalera de dextrano. HPLC de intercambio aniónico débil (40) se realizó utilizando una columna Vydac 301VHP575 de 7,5 × 50 mm (Anachem Ltd., Luton, Bedfordshire, Reino Unido) de acuerdo con la metodología modificada (41). Estos métodos de HPLC se describen en detalle en la Ref.37.

Digestiones con exoglucosidasa; Se usaron matrices de exoglucosidasas en combinación con HPLC para determinar la secuencia, el tipo de monosacárido y el enlace de los residuos de azúcar como se describe en la Ref.

37. Las enzimas utilizadas fueron: sialidasa de *Arthrobacter ureafaciens* (EC 3.2.1.18), 1-2 unidades / ml; Sialidasa del virus de la enfermedad de Newcastle (cepa Hitcher B1) (EC 3.2.1.18), 0,2 unidades / ml; *S. pneumoniae* sialidasa recombinante en *E. coli* (EC 3.2.1.18) 1 unidad / ml; α-fucosidasa de riñón bovino (EC 3.2.1.51), 1 unidad / ml; α-fucosidasa de harina de almendras (EC 3.2.1.111), 3 miliunidades / ml; \ beta - galactosidasa de testículos bovinos (EC 3.2.1.23), 2 unidades / ml; \ Beta - galactosidasa de *S. pneumoniae* (EC 3.2.1.23), 80 miliunidades / ml; *S. pneumoniae* \ beta - N - acetilhexosaminidasa (EC 3.2.1.30), 120 miliunidades / ml; Frijol Jack β- N-acetilhexosaminidasa (EC 3.2.1.30), 10 miliunidades / ml; y α-manosidasa de judía de Jack (EC 3.2.1.24), 50 unidades / ml (con una segunda alícuota añadida después de 12 h). Todas las enzimas eran de Glyko Inc. (Novato, CA).

Espectrometría de masas de glicanos; Los espectros de masas de tiempo de vuelo de desorción-ionización láser asistida por matriz de iones positivos se registraron con un espectrómetro de masas de tiempo de vuelo de reflectrón Micromass TofSpec 2E (Waters-Micromass) utilizando una solución saturada de ácido 2,5-dihidroxibenzoico en acetonitrilo como la matriz, como se describe en las Refs.

37 y 42

. Los espectros LC-ESI-MS y MS / MS se registraron a partir de un Waters CapLC interconectado con un espectrómetro de masas de tiempo de vuelo de cuadrupolo híbrido equipado con una fuente de iones de electropulverización Z-spray (Waters-Micromass) y operado en modo de iones positivos. Se llenó una columna de HPLC NP de 1 x 150 mm de micro calibre con material de fase estacionaria de una columna GlycoSep N (Oxford GlycoSciences). Se utilizaron los mismos disolventes y gradiente que para la HPLC NP estándar pero con un caudal de 40 µl / min (37).

Experimentos de unión a MBL; Se purificaron MBL e IgA de suero polimérico a partir de plasma de donante humano exactamente como se describió anteriormente (31). La unión de MBL a IgA inmovilizada se realizó mediante ELISA, como se describe (31). En resumen, se recubrió IgA sobre placas de ELISA usando un tampón

de carbonato (pH 9,6). Como control negativo, las placas se recubrieron con albúmina de suero humano purificada (Laboratorio Central de Transfusión de Sangre (Sanquin), Amsterdam, Países Bajos). Después de cada paso, las placas se lavaron con solución salina tamponada con fosfato que contenía Tween 20 al 0,05%. Se diluyó MBL en BVB ++ (5,5-dietilbarbital sódico 1,8 mM , ácido 5,5-dietilbarbitúrico 0,2 mM , NaCl 145 mM , 0,5 mM DE MgCl₂ , 1 mM DE CaCl₂ , Tween 20 al 0,05%, albúmina de suero bovino al 1%, pH 7,5) y se incubó en las placas durante 1 ha 37 °. En algunos experimentos, los pocillos recubiertos se pretrataron con tampones de diferente pH (0,1 M glicina-HCl, pH 2,0-5,0, que contiene 0,15 M DE NaCl) durante 5-60 min a 37 °, seguido de lavado con solución salina tamponada con fosfato / Tween y la adición de MBL como se indicó anteriormente. Además, se realizaron experimentos de inhibición utilizando 10 mM EDTA o 50 mM D-manosa, que se preincubaron con MBL durante 40 min a temperatura ambiente antes de la adición de MBL a la placa. La unión de MBL se examinó utilizando el anticuerpo monoclonal 3E7 dirigido contra MBL (IgG1 de ratón, proporcionado amablemente por el Dr. T. Fujita, Fukushima, Japón), conjugado con digoxigenina (Roche Applied Science), seguido de anticuerpos anti-digoxigenina de conejo conjugados con peroxidasa de rábano picante. (Fragmentos Fab; Roche Applied Science). Se detectó la actividad enzimática de la peroxidasa de rábano picante usando 2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenztiazolin-6-sulfónico) (de Sigma), y se midieron los valores A a 415 nm.

Modelado molecular—; El modelado molecular se realizó en una estación de trabajo Silicon Graphics Fuel utilizando el software InsightII y Discover (Accelrys, San Diego, CA). Las figuras fueron producidas utilizando el programa Molscript ([43](#)). Las estructuras cristalinas utilizadas como base para el modelado se obtuvieron de la base de datos de Brookhaven ([44](#)). N - y O estructuras glucano se generaron utilizando la base de datos de conformaciones enlace glicosídico ([45](#)) y minimización de la energía al vacío para aliviar las interacciones estéricas desfavorables. Las conformaciones de enlace Asn-GlcNAc se basaron en el rango observado de valores cristalográficos ([46](#)), ajustando los ángulos de torsión alrededor de los enlaces Asn Cα-Cβ y Cβ-Cγ para eliminar las interacciones estéricas desfavorables entre los glicanos y la superficie de la proteína.

RESULTADOS

Determinación de las cantidades relativas de IgA1 e IgA2 en SIgA—; Los porcentajes de IgA1 (39%) e IgA2 (61%) en la SIgA total del calostro humano combinado se determinaron mediante ELISA (datos no mostrados).

Separación e identificación de las proteínas del componente SIgA; La SIgA humana normal combinada del calostro se resolvió en cadenas SC, H, L y J mediante SDS-PAGE ([Fig. 2](#)). Se secuenciaron péptidos tripticos para confirmar la identidad de las proteínas en las bandas de gel ([Tabla I](#)). La cadena J migró con una masa molecular aparente superior a 16 kDa, de acuerdo con los resultados de Chuang y Morrison ([47](#)).

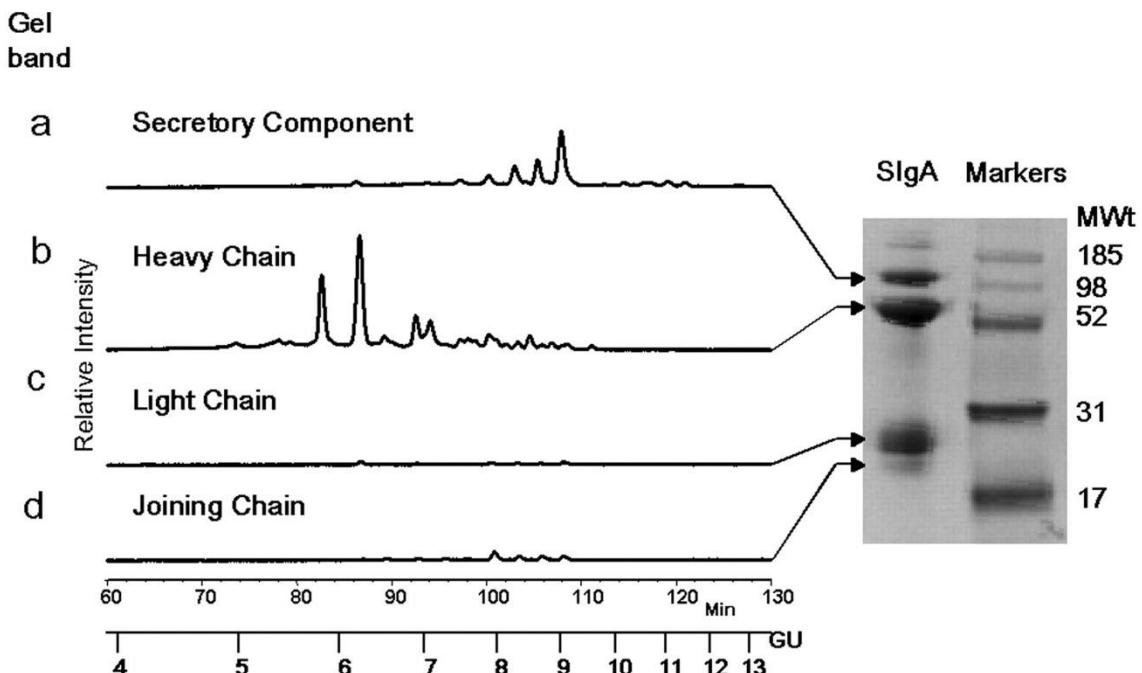


Fig. 2 SIgA (7 µg / carril) se redujo, se alquiló y luego se corrió en un gel BisTris al 10%. Los N -glicanos se liberaron mediante digestión con N -glicosidasa F en gel , se marcaron con 2AB y se procesaron en NP HPLC. Las trazas de HPLC están todas en la misma escala, por lo que se puede comparar el tamaño relativo (GU) y la abundancia de N -glicanos.

- [Ver imagen grande](#)
- [Visor de figuras](#)
- [Descargar imagen de alta resolución](#)
- [Descarga \(PPT\)](#)

T CAPAZ I Identificación de bandas de gel (se muestra en la [Fig. 1](#)) por nanopulverización-cuadrupolo tiempo de vuelo-MS / MS de péptidos trípticos seguido por MASCOT búsqueda de la base de datos NCBI

Banda de gel	Identificación	Número de acceso	Proteína cubierta
			%
a	Receptor de inmunoglobulina polimérico	13638320	10
B	Región constante de la cadena H de IgA	AAC82528	39
C	Cadena de Ig λ	S25736	34

Banda de gel	Identificación	Número de acceso	Proteína cubierta
D	Cadena J de inmunoglobulina	P01591	6

- [Abrir tabla en una nueva pestaña](#)

Análisis de N-glicanos; [La Fig. 2](#) muestra los perfiles de NP HPLC de los conjuntos de glicanos liberados de las diferentes bandas de gel. La escala de la unidad de glucosa (GU) indica el tamaño relativo de los glicanos (cuanto mayor es la GU, mayor es el glicano). Los *N*-glicanos de las cadenas H oscilaron entre GU 5 y 7; SC tenía los glucanos más grandes (GU 6-12), mientras que los glucanos de la cadena J eran GU 6-9. Debido a que solo hay un sitio de glicosilación por cadena J y una cadena J por SIgA, la abundancia de glicanos es menor; la cadena ligera tenía niveles insignificantes de *N*-glicosilación.

La asignación preliminar de estructuras se realizó comparando los valores de GU con los estándares y se confirmó siguiendo las posiciones de elución (medidas en GU) de los picos a través de las diferentes matrices de exoglucosidasa y mediante espectrometría de masas ([37](#), [48](#)). En las Tablas [II](#), [III](#), [IV](#), [V](#), [VI](#), las cantidades relativas de glucanos en el conjunto liberado de cada péptido se pueden encontrar en la columna titulada "Undig". Para detectar la presencia de un residuo GlcNAc bisecante, se realizaron digestiones con β -*N*-acetilhexosaminidasa de frijol Jack y con β -*N*-acetilhexosaminidasa de *S. pneumonia*. La β -*N*-acetilhexosaminidasa de la judía de Jack no digiere glucanos con GlcNAc bisectantes, mientras que *S. pneumonia* β -*N*-acetilhexosaminidasa digiere glucanos biantenarios bisectados pero es ineficaz para digerir estructuras tri o tetra-antenarias con GlcNAc β 1-4 o 1-6 unidas a manosa en las condiciones utilizadas en este documento (datos no mostrados). La presencia de GlcNAc bisectante también se confirmó mediante espectrometría de masas en tandem (MS / MS).

T CAPAZ II Análisis de los N-glicanos de la cadena H

1 Structure	2 Molecular Mass	3 Composition				NPHPLC GU	4 Exoglycosidase added								
		Hex	HexNAc	Fuc	Neu5Ac		NPHPLC % Area								
							Undig	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	A B B JI	
Man3	-	-	-	-	-	4.36	-	-	-	-	72.9	32.3	6.3		
FcMan3	-	-	-	-	-	4.84	-	-	-	-	-	56.3	6.7		
Man3B	(1113.4)	3	3	0	0	4.95	1.3	0.8	2.7	2.2	2.1	-	2.3	3	
A1	(1113.4)	3	3	0	0	5.15	-	-	-	-	2.5	2.7	2.2		
A1B	1316.5	3	4	0	0	5.27	-	1.8	2.5	4.3	2.1	-	9.9	7	
A2	1519.6	3	5	0	0	5.36	0.8	1.6	10.5	6.3	1.4	-	-	6	
A2B	1462.5	3	4	1	0	5.79	0.2	0.7	-	-	-	-	3.1		
Man5	1234.5	5	2	0	0	5.99	-	-	3.8	1.2	-	-	-		
FcA2B	1665.6	3	5	1	0	6.21	32.1	29.4	44.5	9.7	8.2	6.5	35.5	10	
A2G1	1478.5	4	4	0	0				-	-	-	-	-		
A2BG1	1681.6	4	5	0	0				6.48	2.8	2.8	-	-	-	-
FcA2G1	1624.6	4	4	1	0	6.54	1.4	4.6	-	-	-	-	-	-	
FcA2BG1	1827.7	4	5	1	0	6.87	8.1	9.2	-	-	-	-	-	-	
Man6	1396.5	6	2	0	0	7.06	9.4	13.8	4.8	6.9	2.9	2.3	3.8	4	
A2G2	1640.6	5	4	0	0	7.27	0.4	1.9	-	-	-	-	-	-	
A2BG2	1843.7	5	5	0	0	7.46	1.8	-	-	-	-	-	-	-	
FcA2G1S	-	-	-	-	-	7.56	1.8	2.5	-	-	-	-	-	-	
A2BG1S	1972.7	4	5	0	1	7.65	1.6	6.5	-	-	-	-	-	-	
FcA2G2	(1786.7)	5	4	1	0	7.86	3.7	-	-	-	-	-	-	-	
FcA2BG2	1989.7	5	5	1	0	8.09	0.8	-	-	-	-	-	-	-	
FcA2BG1S	2118.8	4	5	1	1	8.28	1.3	-	-	-	-	-	-	-	
A2G2S	1931.7	5	4	0	1	8.46	3.0	-	-	-	-	-	-	-	
Man7	(1558.5)	7	2	0	0	8.66	1.1	-	-	-	-	-	-	-	
A2BG2S	2134.7	5	5	0	1	8.81	1.5	0.7	-	1.5	-	-	-	0.4	
FcA2G2S	2077.7	5	4	1	1	9.07	2.1	-	-	-	-	-	-	-	
A2G2S2	-	-	-	-	-	9.49	0.9	0.7	-	0.7	-	-	-	-	
Man8	(1720.6)	8	2	0	0										
A2BG2S2	-	-	-	-	-										
Man9	(1882.6)	9	2	0	0										

- [Ver imagen grande](#)
- [Visor de figuras](#)
- [Descargar imagen de alta resolución](#)
- [Descarga \(PPT\)](#)

- [Abrir tabla en una nueva pestaña](#)

T CAPAZ III Análisis de los N-glicanos de cadena J

1Structure	1Molecular Mass	1Composition				NPHPLC GU	1Exoglycosidase added										
							NPHPLC % Area					Undig	Ndv	Abs	Abs	Abs	Abs
		Hex	HexNAc	Fuc	Neu5Ac		Btg	Btg	Sph	Btg	Sph						
Man3	-	-	-	-	-	4.40	-	-	-	-	42.2	82.6	63.3	-	-	-	-
FeMan3	-	-	-	-	-	4.95	-	-	-	-	40.6	-	-	-	-	-	-
A1	-	-	-	-	-		-	-	-	3.3	-	-	-	-	-	-	-
Man2A1G1	-	-	-	-	-	5.06	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.2
Man4	-	-	-	-	-	5.20	-	-	-	-	2.1	17.4	17.7	-	-	-	-
A2	-	-	-	-	-	5.47	-	-	-	32.9	-	-	3.0	-	-	-	-
FeMan2A1G1	-	-	-	-	-	5.54	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	23.8
FeMan4	-	-	-	-	-	5.70	-	-	-	-	15.1	-	-	-	-	-	1.2
A2B	-	-	-	-	-	5.80	-	-	-	10.2	-	-	16.0	-	-	-	-
FeA2	-	-	-	-	-	5.89	-	-	-	28.0	-	-	-	-	1.4	3.8	-
Man2A1G1S	-	-	-	-	-	6.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.5	-
FeMan4A1	(1583.6)	5	3	1	0	6.23	4.2	3.1	3.5	25.7	-	-	-	-	-	-	-
FeA2B	(1665.6)	3	5	1	0												
FeA1G1	-	-	-	-	-	6.35	-	2.1	4.3	-	-	-	-	-	4.1	2.7	-
FeMan2A1G1S	-	-	-	-	-	6.50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21.6	-
A2BG1	1681.6	4	5	0	0												6.1
FeA2BG1	1827.7	4	5	1	0	6.90	5.7	5.8	5.7	-	-	-	-	-	-	5.4	5.2
A2G2/A2BG2	-	-	-	-	-	7.20	6.7	23.7	45.8	-	-	-	-	-	-	8.4	29.5
FeMan4A1G1	-	-	-	-	-												-
FeA2G2	-	-	-	-	-	7.50	-	13.2	30.6	-	-	-	-	-	-	-	25.6
A2G2S	1931.7	5	4	0	1	7.90	32.1	26.1	-	-	-	-	-	-	-	16.0	-
FeMan4A1G1S	1874.7	5	3	1	1												-
FeA2G2S	2077.8	5	4	1	1	8.30	13.6	14.1	-	-	-	-	-	-	-	12.6	-
A2G2S2	2222.8	5	4	0	2	8.60	13.9	1.3	-	-	-	-	-	-	-	14.0	-
FeA2G2S2	2368.8	5	4	1	2	9.00	17.0	1.4	-	-	-	-	-	-	-	14.0	-

- [Ver imagen grande](#)
- [Visor de figuras](#)
- [Descargar imagen de alta resolución](#)
- [Descarga \(PPT\)](#)

- [Abrir tabla en una nueva pestaña](#)

T CAPAZ IV Análisis de los N-glicanos de SC

1 ^{Structure}	1 ² Molecular Mass	1 ^{Composition}				NPHPLC GU	1Exoglycosidase added																			
							NPHPLC % Area																			
		Hex	HexNAc	Fuc	Neu5Ac		Abs Undig	Abs Amf	Abs Amf Bkf																	
Man3	-	-	-	-	-	4.40	-	-	-	-	91.4	86.1	-	-	21.9	21.5	-	-	-	-	-	-	-	-		
FcMan3	-	-	-	-	-	4.90	-	-	-	-	-	-	-	-	3.8	64.7	65.7	-	-	-	-	-	-	-	-	
A1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5.6	0.8	1.6	-	2.1	-	-	-	-	1.7	6.3	2.0	7.4	-		
A2(from A3)	-	-	-	-	-	5.20	-	-	-	-	4.3	6.2	-	-	2.5	3.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
A2	-	-	-	-	-	5.40	-	-	-	-	77.5	-	-	10.5	28.0	1.8	-	-	10.0	30.4	19.4	57.3	-	-	-	
A1G1	-	-	-	-	-	5.63	-	-	-	2.1	4.7	-	-	2.1	2.9	3.0	-	2.6	3.4	4.1	2.6	9.2	-	-	-	
A3	1519.6	3	5	0	0	5.91	0.5	-	-	1.7	4.8	-	-	-	-	-	-	1.9	-	5.0	-	1.0	-	-	-	
FcA2	-	-	-	-	-	5.99	-	-	-	-	-	-	-	-	19.9	54.1	-	3.1	-	16.8	-	45.2	-	-	-	
Man5	1234.4	5	2	0	0	6.20	2.1	1.8	2.1	1.6	1.8	-	2.4	4.9	6.7	7.8	3.1	3.2	2.7	7.1	4.1	9.9	6.8	-	-	
FcA3	1665.6	3	5	1	0	6.60	-	-	3.1	7.7	2.2	1.1	1.2	3.3	1.3	1.2	-	7.6	2.0	4.6	1.8	3.0	-	-	-	
A2G1	-	-	-	-	-	6.60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.7	-	2.1	-	4.1	-	-	
A1G1F	(1421.5)	4	3	1	0	6.93	0.4	2.8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
A2G1F	-	-	-	-	-	6.97	0.7	2.0	-	-	-	-	-	-	12.8	-	-	-	-	11.8	-	-	-	-	-	
A2G2 ^f (A2G1F)	1640.6	5	4	0	0	7.17	1.8	11.7	24.1	68.4	-	-	-	-	-	-	21.8	1.6	40.0	-	31.0	2.5	2.0	-	-	
A2G1S	1769.6	4	4	0	1	7.37	1.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
FcA2G1F	-	-	-	-	-	7.48	-	-	-	-	3.2	3.4	-	-	29.0	-	-	-	-	-	26.4	-	-	-	-	
FcA2G2	1786.6	5	4	1	0	7.63	4.5	24.7	53.1	1.6	-	-	-	-	-	-	-	-	3.2	-	-	-	1.9	-	-	
FcA1G1S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
A2G2F	1786.6	5	4	1	0	8.03	8.0	11.3	1.9	-	-	-	-	-	3.0	2.1	-	-	26.2	3.2	-	1.4	-	-	-	
A2G2S	1931.7	5	4	0	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
A3G3	-	-	-	-	-	8.30	-	-	1.1	1.9	-	-	-	-	-	-	-	3.0	1.1	8.1	3.0	10.0	-	-	-	
FcA2G2F	1932.8	5	4	2	0	8.42	12.6	27.2	1.8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.1	-	-	-	-	-	-	
FcA2G2S	2077.8	5	4	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
NS	-	-	-	-	-	8.61	2.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
A2G2S2	2222.8	5	4	0	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
A2G2FS	2077.8	5	4	1	1	8.80	16.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.3	4.0	4.2	-	1.4	-	-	-	
A2G2P2	1932.8	5	4	2	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8.0	-	-	-	
FcA2G2S2	2368.7	5	4	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
FcA2G2FS	2223.8	5	4	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
FcA2G2F2	2078.8	5	4	3	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3.1	-	-	-	-	-	-	-	
A3G3F	2151.8	6	5	1	0	-	-	-	-	-	4.5	3.4	11.7	-	-	-	-	-	-	8.4	2.3	-	-	-	-	-
FcA3G2F2	-	-	-	-	-	9.65	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.8	-	-	-	-	-	-
FcA3G3F	2297.7	6	5	2	0	9.70	0.8	2.5	9.4	-	-	-	-	5.1	-	-	-	2.0	1.8	2.3	-	-	-	-	-	-
A3G3FS	-	-	-	-	-	9.94	0.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
FcA3G3FS	-	-	-	-	-	10.30	1.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
FcA3G3F2	2443.8	6	5	3	0	10.60	1.6	5.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A3G3FS2	-	-	-	-	-	10.86	1.7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
FcA3G3FS2	(2735.0)	6	5	3	1	11.20	3.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
FcA3G3F3	(2590.0)	6	5	4	-	11.50	2.2	2.4	-	-	-	-	-	-	2.5	-	-	-	2.5	-	-	-	-	-	-	-

- [Ver imagen grande](#)
- [Visor de figuras](#)
- [Descargar imagen de alta resolución](#)
- [Descarga \(PPT\)](#)
- [Abrir tabla en una nueva pestaña](#)

T CAPAZ V Análisis de los O-glicanos de SIgA1

Structure	² Molecular Mass	³ Composition				NPHPLC GU	Exoglycosidase added								
							NPHPLC % Area								
		Hex	HexNAc	Fuc	Neu5Ac		Undig	Abs	Abs Amf	Abs Bkf	Abs Amf	Abs Bkf	Abs Amf	Abs Bkf	
nd	-	-	-	-	-	0.80	2.34	2.13	10.15	2.23	6.09	5.17	6.14	7.08	
	-	-	-	-	-	0.91	2.69	1.57	2.27	3.01	2.30	7.96	12.43	2.10	
	-	-	-	-	-	1.01	6.75	12.01	6.07	11.44	11.76	14.81	15.37	12.21	
nd	-	-	-	-	-	1.73	-	0.38	0.22	0.37	0.36	0.19	2.32	1.87	
	383.1	1	1	0	0	1.80	5.29	11.03	5.45	10.29	9.90	8.68	30.71	26.27	
nd	-	-	-	-	-	1.93	0.62	0.89	0.44	0.72	0.32	0.14	1.00	0.67	
nd	-	-	-	-	-	2.03	1.46	2.07	0.75	1.13	1.48	0.24	0.22	0.78	
	471.2	1	0	0	1	2.25	4.35	-	-	-	-	-	-	-	
nd	-	-	-	-	-	2.43	0.74	0.34	-	0.99	1.19	1.16	0.58	0.77	
nd	-	-	-	-	-	2.50	1.37	0.47	0.41	0.96	0.10	1.07	0.90	1.01	
	545.2	2	1	0	0	2.63	3.39	3.69	2.10	3.80	3.63	-	1.81	6.48	
	586.2	1	2	0	0	2.73	1.81	2.72	1.53	2.72	2.44	22.46	6.41	1.98	
	674.2	1	1	0	1	2.93	5.98	0.23	0.26	0.36	0.05	0.07	0.06	0.07	
nd	-	-	-	-	-	2.99	-	0.17	0.19	0.15	-	-	-	-	
nd &		674.2	1	1	0	1	3.29	0.28	-	0.47	-	-	0.20	0.08	0.06
nd	-	-	-	-	-	3.36	0.79	-	-	-	-	1.39	0.19	-	
	-	-	-	-	-	3.45	1.07	0.99	1.02	1.50	0.95	2.28	-	3.43	
nd &		748.3	2	2	0	0	3.51	1.07	1.48	0.81	1.01	1.03	-	1.27	0.75
	748.3	2	2	0	0	3.58	9.02	16.46	14.08	16.64	16.22	0.55	0.53	0.14	
nd &		877.3	1	2	0	1	3.75	0.76	0.13	0.09	0.09	-	-	-	-
nd	-	-	-	-	-	4.19	0.12	0.20	0.31	0.21	-	-	-	0.56	
	-	-	-	-	-	4.20	0.20	-	-	-	0.53	4.21	0.66	0.23	
nd	-	-	-	-	-	4.28	-	-	0.39	-	0.74	-	-	-	
	894.3	2	2	1	0	4.31	1.66	4.30	-	2.46	-	-	-	-	
	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	3.63	1.35	-	
?Galβ1-3 &		965.3	1	1	0	2	4.42	3.65	2.26	1.89	2.08	2.29	-	2.19	2.23
	1039.4	2	2	0	1	4.57	7.81	-	-	-	-	-	-	-	
	-	-	-	-	-	4.84	-	-	0.12	-	-	3.45	-	0.55	
	-	-	-	-	-	4.98	0.24	-	-	-	-	7.62	0.86	-	
	1113.4	3	3	0	0	5.06	1.29	3.17	3.10	4.00	3.38	-	-	4.56	
	1113.4	3	3	0	0	5.17	2.08	2.87	2.85	2.68	2.42	-	0.06	-	
	1113.4	3	3	0	0		-	-	-	-	-	-	-	-	
	1185.4	2	2	1	1	5.21	3.19	-	-	-	-	-	-	-	
nd	-	-	-	-	-	5.25	-	0.12	-	-	-	0.12	0.16	0.19	
nd	-	-	-	-	-	5.59	-	0.15	0.16	0.14	-	2.28	0.87	0.75	
nd	-	-	-	-	-	5.63	-	0.12	-	-	0.37	2.10	-	-	
	-	-	-	-	-	5.67	-	-	0.19	0.28	0.15	-	-	1.63	
	1404.5	3	3	0	1	5.87	-	-	-	-	-	-	-	-	
	1404.5	3	3	0	1		-	-	-	-	-	-	-	-	
	1259.5	3	3	1	0		6.44	9.00	9.60	8.75	1.54	0.29	6.57	-	
	1259.5	3	3	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

- [Ver imagen grande](#)
- [Visor de figuras](#)
- [Descargar imagen de alta resolución](#)
- [Descarga \(PPT\)](#)

- [Abrir tabla en una nueva pestaña](#)

T CAPAZ VI Análisis de los O-glicanos de SIgA1

¹ Structure	² Molecular Mass	³ Composition				NPHPLC GU	Exoglycosidase added NPHPLC % Area									
							Undig	Abs	Abs Amf	Abs Bkf	Abs Amf	Abs Bkf	Abs Amf	Abs Bkf	Spg	Sph
		Hex	HexNAc	Fuc	Neu5Ac		Btg	Btg	Btg	Btg	Btg	Btg	Btg	Btg	Sph	Sph
?GlcNAc	-	-	-	-	-	6.24	0.43	0.53	0.54	0.37	0.34	1.04	0.33	0.38		
?GlcNAc	-	-	-	-	-	6.39	-	0.17	-	0.20	0.10	0.85	0.17	0.28		
	1478.5	4	4	0	0											1.00
	1478.5	4	4	0	0											-
	1550.6	3	3	1	1											
	1550.6	3	3	1	1											
nd	-	-	-	-	-	6.67	-	-	-	-	1.69	-	0.16	0.18		
nd	-	-	-	-	-	6.73	2.06	1.29	2.06	1.76	-	0.16	0.10	-		
	1405.5	3	3	2	0	6.84	1.20	4.50	-	-	-	-	-	-		
?GlcNAc	-	-	-	-	-	6.92	-	-	0.41	0.03	-	0.82	-	0.10		
nd &		1769.6	4	4	0	1										
nd &		1769.6	4	4	0	1										
nd & ?Gal β 1-3	-	-	-	-	-	7.20		0.53	0.68	1.75	1.34		0.13	0.55		
nd & ?Gal β 1-3	-	-	-	-	-	7.30	0.63	1.91	3.11	2.73	2.87	0.65	0.21	1.94		
	1696.6	3	3	2	1	7.51	3.33	-	-	-	-	-	-	-		
nd	-	-	-	-	-	7.60	-	0.29	1.34	-	-	0.26	0.02	0.10		
nd	-	-	-	-	-	7.76	0.12	-	0.68	0.34	-	-	0.03	0.65		
?GlcNAc	-	-	-	-	-	7.88	-	-	0.98	0.46	0.70	0.24	-	-		
?Gal β 1-3	-	-	-	-	-	7.97	1.27	0.28	1.10	1.37	1.16	0.11	0.11	0.70		
?Fu α 1-3/4	-	-	-	-	-	8.16	-	0.18	-	-	-	-	-	0.02	-	
?Gal β 1-4	-	-	-	-	-	8.22	-	-	0.93	0.58	0.55	-	-	0.34		
?Fu α 1-3/4	-	-	-	-	-	8.28	1.02	0.93	-	-	-	0.14	-	-		
2S	-	-	-	-	-	8.40	-	0.13	-	-	-	-	-	-		
?Gal β 1-3	-	-	-	-	-	8.60	0.38	0.22	1.26	0.99	0.76	0.18	-	0.58		
?Gal β 1-4	-	-	-	-	-	8.75	0.93	0.56	1.49	0.70	0.91	-	0.05	-		
?Gal β 1-3	-	-	-	-	-	9.01	-	-	-	-	-	-	-	0.11		
nd	-	-	-	-	-	9.13	0.84	-	0.60	0.19	0.20	0.12	-	-		
?Gal β 1-4(3)	-	-	-	-	-	9.25	-	0.50	0.81	0.54	0.64	-	-	0.05		
?Gal β 1-3	-	-	-	-	-	9.55	0.28	0.36	0.69	0.39	0.29	0.14	0.07	0.25		
2S & nd	-	-	-	-	-	9.77	0.23	-	0.20	0.15	-	-	-	0.19		
?Gal β 1-4	-	-	-	-	-	10.00	0.14	0.16	0.26	0.20	0.28	0.07	-	-		
2S & ?Gal β 1-3	-	-	-	-	-	10.17	0.08	-	0.08	-	-	-	-	0.03		
?Fu α 1-3/4 & ?Gal β 1-3	-	-	-	-	-	10.54	0.18	0.36	-	0.05	0.07	-	-	0.03		
2S & ?Gal β 1-3	-	-	-	-	-	10.70	0.31	-	0.12	0.07	0.08	-	-	0.09		
2S & ?Gal β 1-3	-	-	-	-	-	11.02	0.25	0.07	0.13	0.06	0.02	-	-	0.04		
?Fu α 1-3/4	-	-	-	-	-	11.57	-	0.22	-	-	-	-	-	-		
2S & ?Gal	-	-	-	-	-	11.71	0.30	-	0.09	0.05	0.03	-	-	0.05		
2S	-	-	-	-	-	11.90	0.19	-	-	-	-	-	-	-		
?Fu α 1-2	-	-	-	-	-	12.00	-	0.10	0.07	-	-	-	-	-		
2S	-	-	-	-	-	12.74	0.22	0.17	-	-	-	-	-	-		

- [Ver imagen grande](#)
- [Visor de figuras](#)
- [Descargar imagen de alta resolución](#)
- [Descarga \(PPT\)](#)
- [Abrir tabla en una nueva pestaña](#)

N-glicanos de cadena H; Más del 75% de los *N* -glicanos de la cadena H contienen una GlcNAc bisecante, el 66% contiene una GlcNAc terminal libre en una antena, menos del 20% de las estructuras estaban completamente galactosiladas, menos del 15% estaban sialiladas (solo se detectaron ácidos siálicos α 2-6), ningún glicano contenía residuos de fucosa del brazo externo, todos los residuos de galactosa estaban unidos a β 1-4, aproximadamente la mitad de las estructuras contenían núcleo de fucosa y había aproximadamente un 12% de estructuras de oligomanosa (Figuras 3 y 4 y Tabla II). Las estructuras principales fueron FcA2B (30%), A2B (21%) y FcA2BG1 (8%) (la notación se explica en la nota al pie 1 de la Tabla II). Los glicanos eran del tipo complejo biantenario con un residuo GlcNAc bisecante en lugar de triantenario, porque no se digirieron más allá de A2B (GU 5.8) con β - *N* -acetilhexosaminidasa de frijol Jack, sino que se digirieron con β - *N* - acetilhexosaminidasa de *S. pneumonia* , y durante LC-ESI-

MS / MS, se encontraron fragmentos que habían perdido las dos antenas GlcNAc-Man pero no la tercera GlcNAc bisectante (datos no mostrados).

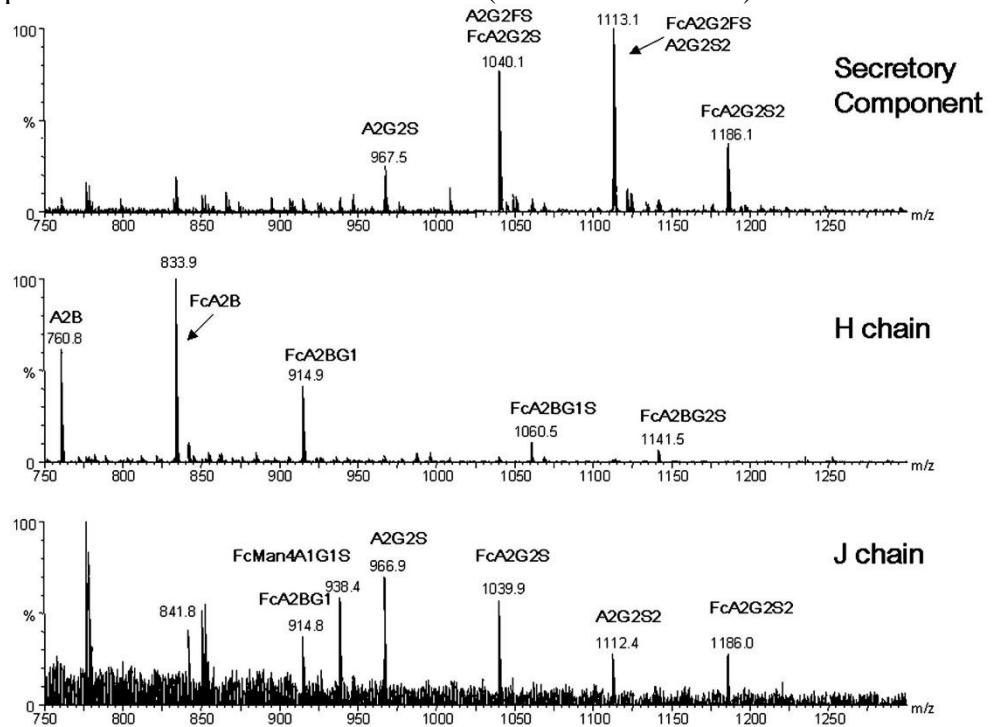


Fig. 3 Datos de espectrometría de masas para *N*-glicanos de cadena SC, H y J. LC-ESI-MS combinaron datos de la región *N*-glicano del cromatograma. Las estructuras están etiquetadas para las masas principales [M + H]⁺ (consulte las abreviaturas en la [Tabla II](#)).

- [Ver imagen grande](#)
- [Visor de figuras](#)
- [Descargar imagen de alta resolución](#)
- [Descarga \(PPT\)](#)

H Chain

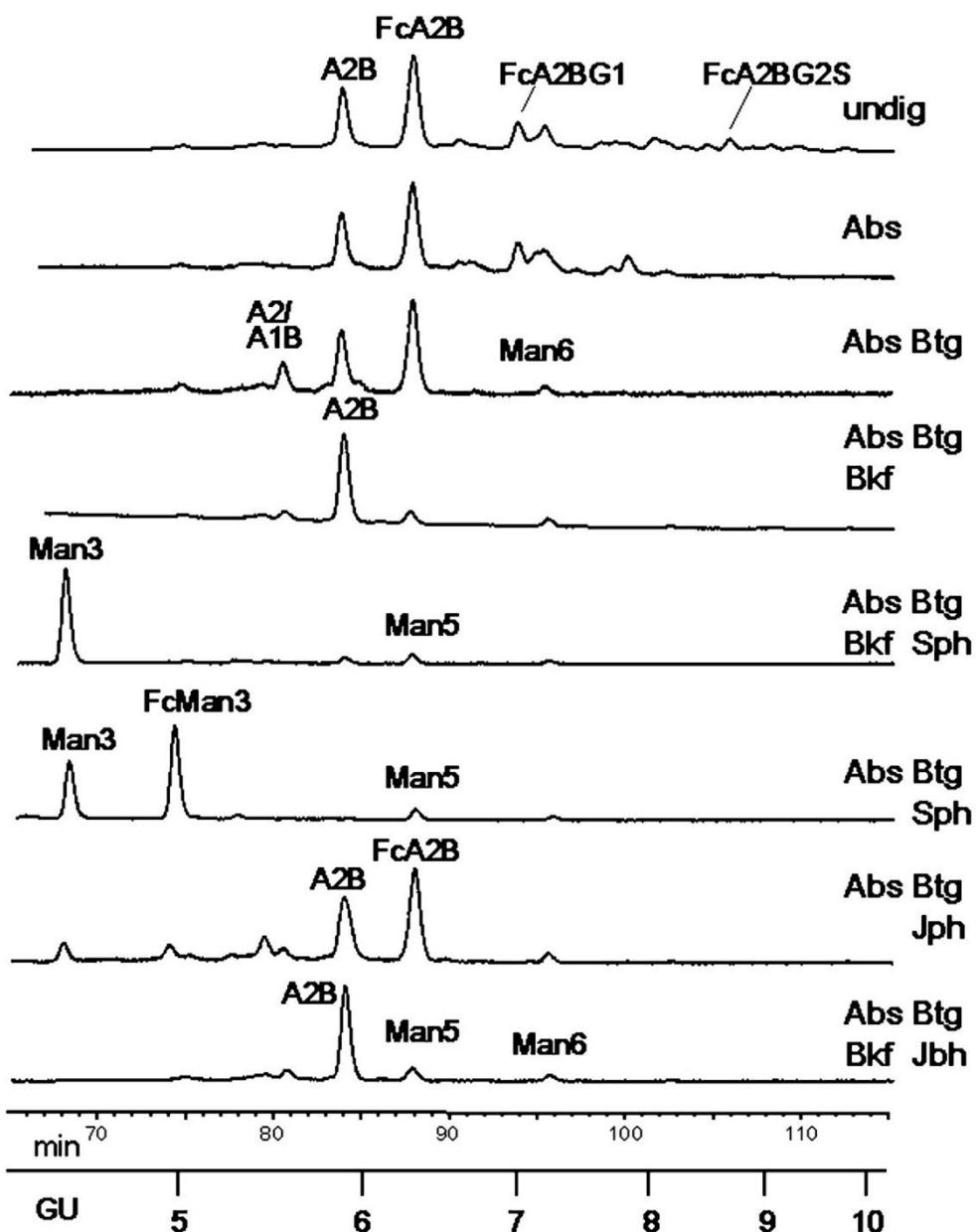


Fig. 4 Perfiles de NP HPLC de *N*-glicanos de la cadena H después de matrices de digestiones con exoglucosidasa (ver [Tabla II](#) para áreas porcentuales). Se incubaron alícuotas del conjunto de glucanos marcado con 2AB total con diferentes exoglucosidasas, como se muestra en cada panel. Después de la digestión, los productos se analizaron mediante NP HPLC. Se han anotado los picos principales. Las estructuras se asignaron por su posición de elución medida en GU antes y después de la digestión con exoglucosidasas y referencia a valores GU conocidos (
[37](#)
,
[39](#)
).

- [Ver imagen grande](#)

- [Visor de figuras](#)
- [Descargar imagen de alta resolución](#)
- [Descarga \(PPT\)](#)

La Fig. 5 muestra los perfiles de *N*-glicanos de las cadenas H de SIgA1 y SIgA2, purificados a partir de calostro de un solo donante humano. Los perfiles de *N*-glicano de las cadenas H de SIgA1 y SIgA2 eran casi idénticos, aunque SIgA2 tiene dos o tres sitios de *N*-glicano más, dependiendo del isotipo, que SIgA1.

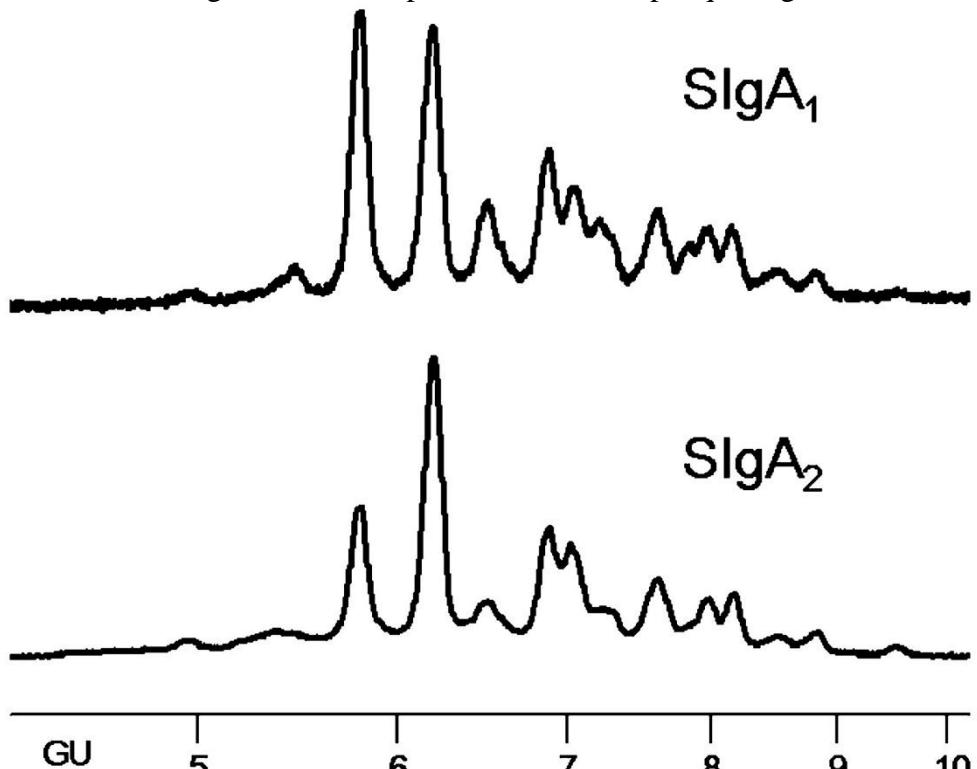


Fig. 5 Perfiles NP HPLC de *N*-glicanos de cadenas H de SIgA1 y SIgA2. La SIgA total purificada de calostro de un solo donante humano se separó en SIgA1 y SIgA2 mediante cromatografía de afinidad de agarosa-Jacalina (se une a SIgA1). Se realizaron pruebas ELISA para verificar la pureza de las muestras, la IgA₁ fue 98% IgA1 y la IgA2 fue 97% IgA2 (las placas ELISA se recubrieron con muestras de SIgA a una concentración de 5 g / ml (250 ng / pocillo) en tampón de carbonato pH 9,6; conjugados monoclonales anti-IgA1 e IgA2-peroxidasa humana (Nordic Immunological Labs, Tilburg, Países Bajos) se utilizaron a una dilución de 1: 1000; la incubación con anticuerpo primario y secundario fue de 1 h; se analizaron 12 pocillos por muestra). Las muestras se redujeron, se alquilaron y luego se procesaron en un gel BisTris al 10%. La *N*-Los-glicanos se liberaron de las cadenas H mediante digestión con *N*-glicosidasa F en gel, se marcaron con 2AB y se procesaron en NP HPLC.

- [Ver imagen grande](#)
- [Visor de figuras](#)
- [Descargar imagen de alta resolución](#)
- [Descarga \(PPT\)](#)

***N*-glicanos de cadena J;** Más del 75% de las estructuras en el sitio único de *N*-glicano en la cadena J estaban sialiladas (Figuras 3 y 6 y Tabla III). Se detectaron cinco estructuras principales en proporciones aproximadamente iguales: estructuras complejas

biantenarias FcA2G2S2, A2G2S2, FcA2G2S, A2G2S y la estructura híbrida FcMan4A1G1S. Las estructuras biantenarias di-sialiladas contenían un ácido siálico unido a α 2-3 y uno unido a α 2-6 (porque todas las estructuras di-sialiladas fueron digeridas a las formas mono-sialiladas por el virus de la enfermedad de Newcastle, que es específico para α 2-3 ácidos siálicos). Las estructuras mono-sialiladas contenían ácido siálico unido a α 2-3 o α 2-6. Se encontró GlcNAc bisecante en aproximadamente la mitad de las estructuras neutras, pero no en las estructuras sialiladas. Aproximadamente la mitad de todas las estructuras (neutrales o cargadas) estaban fucosiladas en el núcleo. No se observó fucosilación del brazo externo y todos los residuos de galactosa estaban unidos por enlaces β 1-4.

J Chain

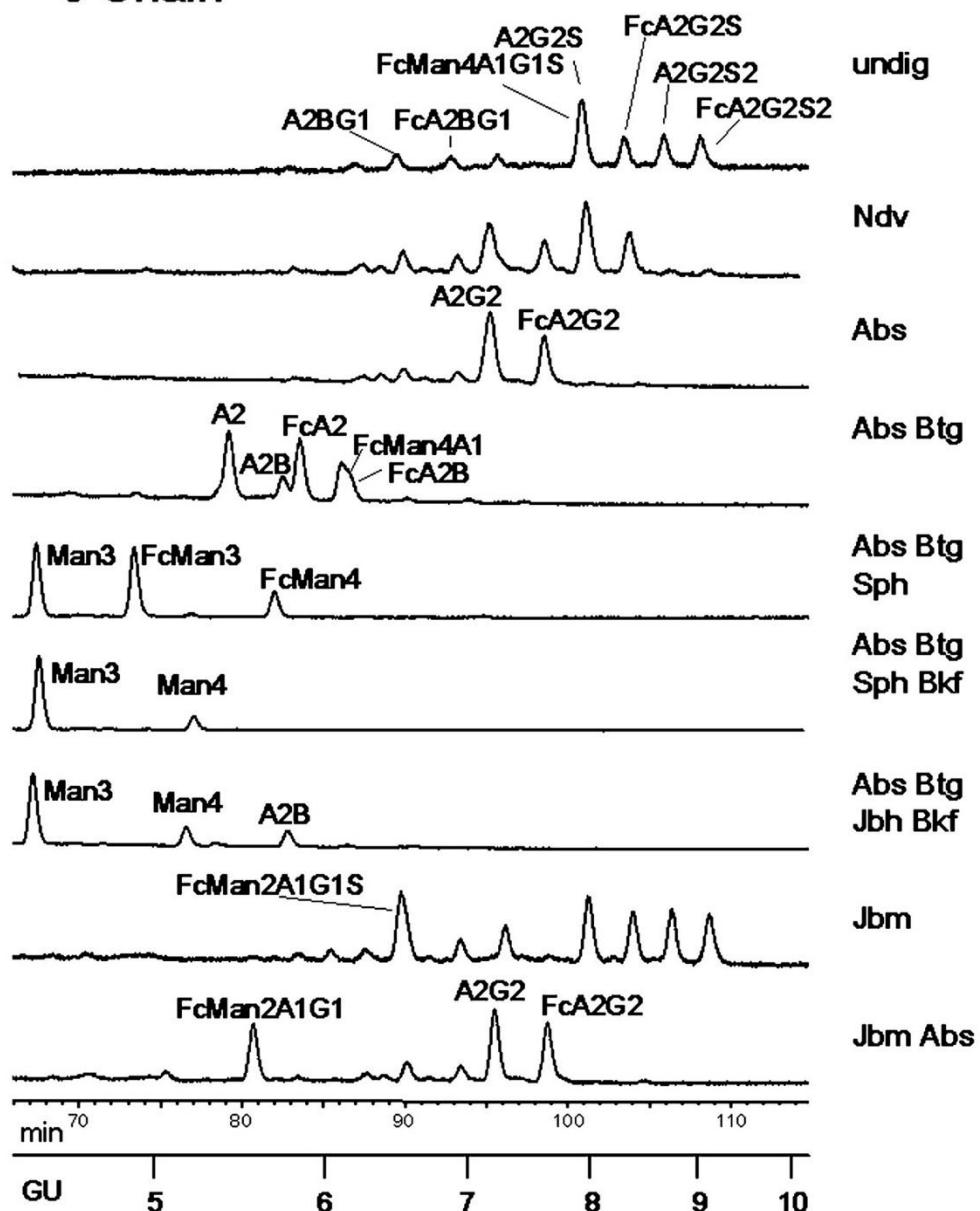


Fig. 6 Perfiles NP HPLC de N -glicanos de la cadena J después de digestiones con matrices de exoglucosidasas de especificidad conocida. Se incubaron alícuotas del conjunto de glucanos marcado con 2AB total con diferentes exoglucosidasas, como se muestra en cada panel. Después de la digestión, los productos se analizaron mediante NP HPLC. Se han anotado los picos principales. Las estructuras se

asignaron por su posición de elución medida en GU antes y después de la digestión con exoglucosidasas y referencia a valores GU conocidos (

[37](#)

,
[39](#)

). Por ejemplo, el pico A2G2S (GU 7,90) se mueve a GU 7,20 (A2G2) después de la digestión con sialidasa (*A. ureafaciens* sialidasa (*Abs*)), mientras que la digestión adicional con galactosidasa (β -galactosidasa de testículos bovinos (*Btg*)) mueve el pico a GU 5.47 (A2), y finalmente la digestión con *S. pneumonia* β -N-acetilhexoseaminidasa mueve el pico a GU 4.40 (*Man3*) (ver [Tabla III](#) para áreas porcentuales y [Tabla II](#) para abreviaturas).

- [Ver imagen grande](#)
- [Visor de figuras](#)
- [Descargar imagen de alta resolución](#)
- [Descarga \(PPT\)](#)

Componente secretor N-glicanos; Se encontró una gama mucho mayor de estructuras en SC que en la cadena H o J (Figuras [3](#), [7](#) y [8](#) y [Tabla IV](#)). La mayoría de las estructuras eran estructuras biantenarias no bisecionadas, completamente galactosiladas. También estaban presentes estructuras triantenarias (11,7%), y se detectó una pequeña cantidad (<1%) de estructuras tetraantenarias (o polilactosamina) mediante desorción-ionización-EM con láser asistido por matriz. Más del 70% de los glicanos estaban sialilados y la mayoría estaban mono-sialilados. La combinación de glicanos se separó en fracciones neutras y mono y disialiladas mediante intercambio aniónico débil, y luego estas fracciones se procesaron nuevamente en NP HPLC ([Fig.8](#)). Los dos picos di-sialilados se digirieron a A2G2 y FcA2G2 con sialidasa de *A. ureafaciens* y, cuando se sometieron al virus de la enfermedad de Newcastle, aproximadamente el 20% perdió un ácido siálico y, por lo tanto, originalmente contenía un ácido siálico α 2-3 y uno α 2-6; el 80% restante tenía dos ácidos siálicos α 2-6. La fracción monosialilada consistía en una mezcla de glicanos que llevaban ácido siálico α 2-3 o α 2-6. Más del 65% de las estructuras contenían núcleo de fucosa. Digestión con glicosidasas de diferente especificidad (testículos bovinos β -galactosidasa y *S. pneumoniae* β -galactosidasa) dio resultados diferentes, lo que indica que la galactosa estaba unida tanto β 1-4 como β 1-3 a GlcNAc. La digestión con harina de almendras α -fucosidasa mostró la presencia de fucosas en el brazo externo unidas tanto a β 1-3 como a β 1-4 a GlcNAc (debido a que la fucosa se eliminó de GlcNAc, que también tenía galactosa unida a β 1-3 y β 1-4, la fucosa fue supone que está en la posición de enlace desocupada). Después de la digestión con todas las exoglucosidasas enumeradas en la [Tabla IV](#), a excepción de la fucosidasa de riñón bovino, el 1,8% del conjunto de glucanos se dejó en GU 7,2. Este material se digirió con fucosidasa de riñón bovino, lo que indica la presencia de fucosa α 1-2 unida a una galactosa. El análisis LC-ESI-MS / MS de los principales picos de masa dio resultados consistentes con la mayoría de estructuras con fucosilación y sialilación del brazo externo que tienen fucosa en un brazo y ácido siálico en el otro. Sin embargo, hubo algo de fucosilación y sialilación en el mismo brazo (*es decir*, epítopos de Lewis sialilados) porque el fragmento Hex-HexNAc-Fuc-Neu5Ac (*m/z* 803.2) se detectó a partir de la fragmentación de FcA2G2FS (Hex₅-HexNAc₄-Fuc₂-Neu5Ac-2AB) (datos no mostrados). En particular, hubo una serie de estructuras inusuales identificadas con fucosilación del brazo externo pero sin fucosa del núcleo. Por tanto, existe una amplia gama de diferentes epítopos presentes en los SC N-glicanos, incluidos todos los diferentes epítopos de Lewis y de Lewis sialilados.

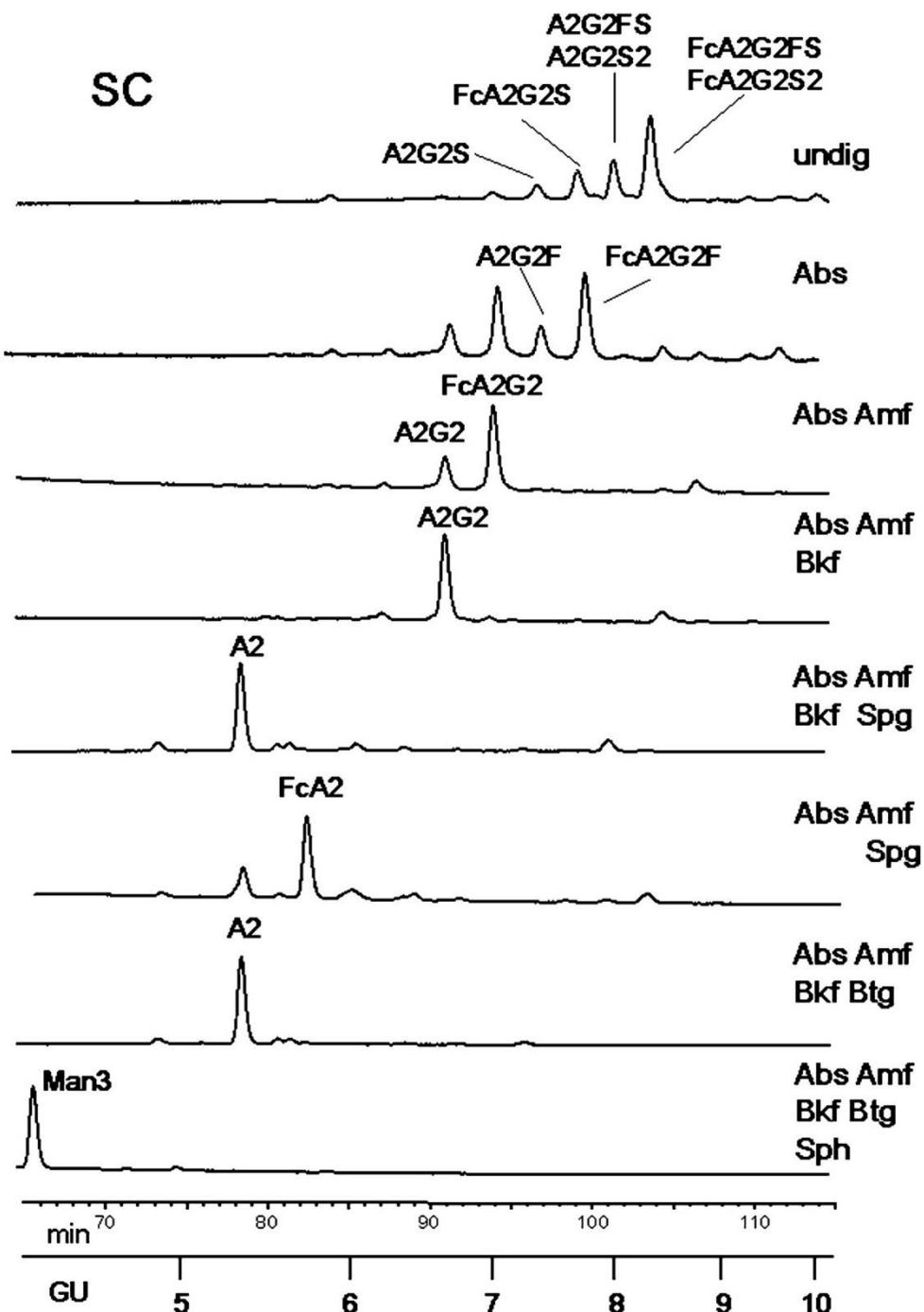


Fig. 7 Perfiles de NP HPLC de *N*-glicanos de SC siguiendo matrices de digestiones con exoglucosidasa (ver [Tabla IV](#) para áreas porcentuales).

- [Ver imagen grande](#)
- [Visor de figuras](#)
- [Descargar imagen de alta resolución](#)
- [Descarga \(PPT\)](#)

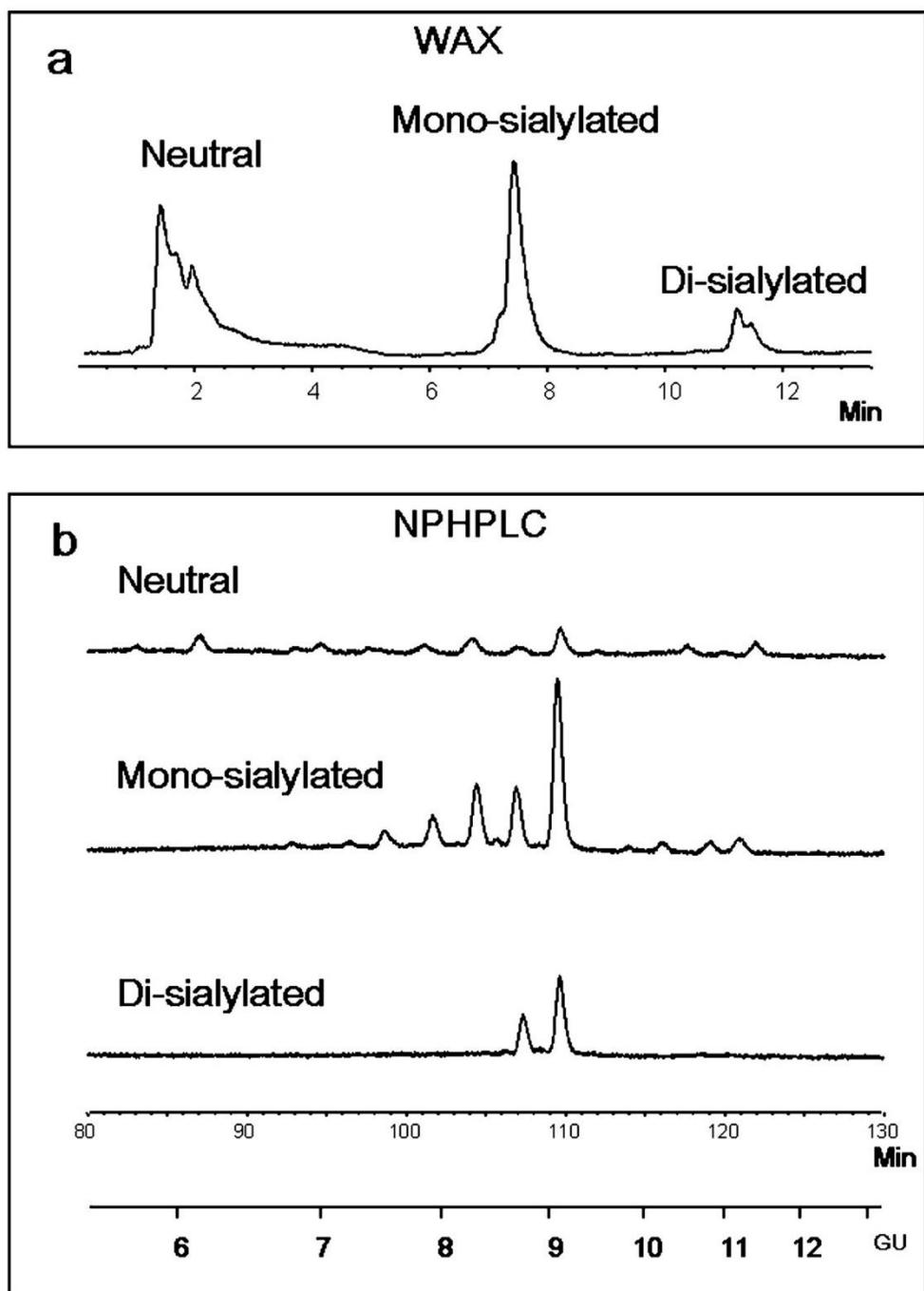


Fig. 8 Los N- glicanos de SC se separaron en fracciones neutras y mono y disialiladas mediante intercambio aniónico débil (*a*), y luego las fracciones se procesaron en NP HPLC (*b*). La mayoría de los glicanos estaban mono-sialilados y sólo dos picos estaban di-sialilados.

- [Ver imagen grande](#)
 - [Visor de figuras](#)
 - [Descargar imagen de alta resolución](#)
 - [Descarga \(PPT\)](#)

O-glicosilación; [La Fig. 9](#) muestra el perfil de NP HPLC del grupo de glucanos no digerido seguido de una gama de digestiones de grupo completo. Se encontraron más de 50 picos, desde glicanos que variaban en tamaño desde dos (GU 1.8) hasta quince residuos de monosacáridos (GU 12), y muchos de los picos contenían más de una

estructura. Usamos una combinación de diferentes estrategias de HPLC y MS para identificar estas estructuras como se describe en la Ref.

[37](#). Los perfiles de HPLC eran muy complejos; por lo tanto, los picos individuales se recogieron, se digirieron por separado y luego se procesaron en NP y HPLC de fase inversa. [La Tabla V](#) da los resultados de una selección de digestiones en todo el grupo de *O*-glicanos, con 33 estructuras completamente caracterizadas en todo el grupo de *O*-glicanos. Las estructuras principales (presentes en más del 3% y etiquetadas en el *panel superior* de la [Fig.9](#)) fueron: núcleo I insalilado y mono y di-sialilado; Gal β 1-4 núcleo II; Núcleo II de Gal β 1-4 con un ácido siálico α 1-3, con y sin una fucosa α 1-4; extensiones de lactosamina (con galactosa como β 1-3 o β 1-4) del núcleo II de Gal β 1-4 con un ácido siálico α 1-3, con y sin una fucosa α 1-4; y la estructura más grande que se secuenció completamente fue una lactosamina furosilada en el núcleo II de Gal β 1-4 con un ácido siálico α 1-3, con una fucosa α 1-4 ([Tabla VI](#), GU 7.51). Además, también había al menos 50 estructuras que no estaban identificadas o no estaban completamente caracterizadas, incluidas algunas que contenían α 1-2 fucosa, ya que las digestiones de α -fucosidasa de riñón bovino produjeron resultados diferentes a las digestiones de α -fucosidasa de harina de almendras.

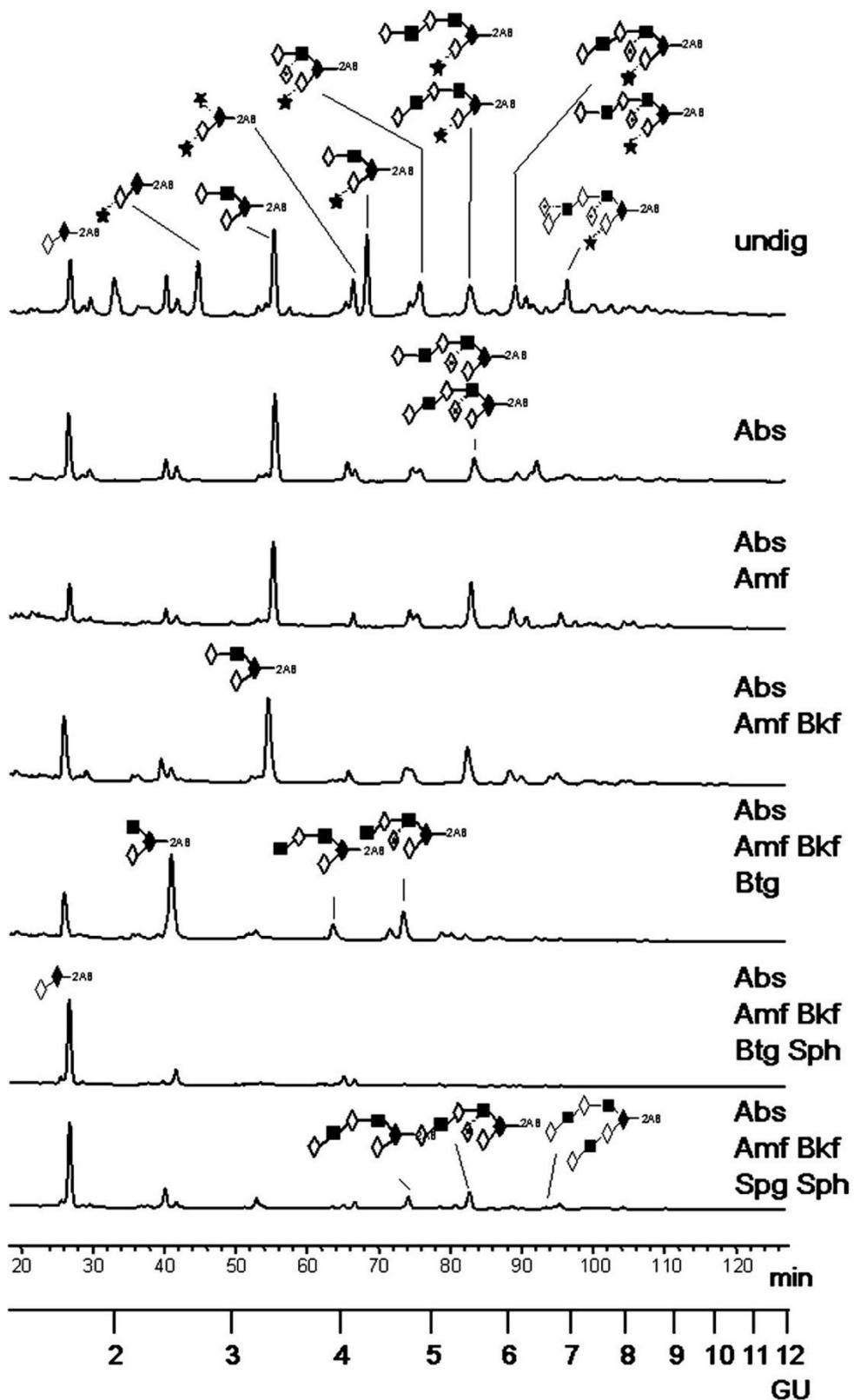


Fig. 9 Perfiles de NP HPLC de *O*-glicanos de SIgA1 siguiendo matrices de digestiones con exoglucosidasa. Las estructuras etiquetadas en el perfil superior están presentes en la piscina no digerida en más del 3% (consulte las Tablas V y VI para las áreas porcentuales).

- [Ver imagen grande](#)
- [Visor de figuras](#)
- [Descargar imagen de alta resolución](#)

- [Descarga \(PPT\)](#)

Modelo molecular de SIgA1—; El modelo molecular ([Fig. 10](#)) se construyó a partir de modelos del monómero IgA1, la cadena J y el componente secretor. El modelo de monómero de IgA1 se basó en el modelo de IgA1 en suero previamente publicado por nosotros ([6](#)), con la orientación de los dominios Fab ajustada para encajar con los datos recientes de rayos X de ángulo bajo y dispersión de neutrones obtenidos en la IgA1 sérica ([49](#)). También fue necesario modificar las conformaciones de las piezas de la cola C-terminal en el edificio SIgA1 (ver más abajo). Las estructuras de glucanos también se modificaron de acuerdo con los datos de la secuencia de glucanos para SIgA presentados aquí, con los glucanos más abundantes distribuidos entre los sitios de unión. Aunque se desconoce la especificidad del sitio de los glicanos, las conclusiones generales extraídas del modelo no se verían afectadas significativamente, porque los principales glicanos de cada péptido son de tamaño similar. Se unió un glicano A2 al residuo 263 (dominio Ca2) y un glicano FcA2B se unió al residuo 459 (pieza de cola) en cada cadena pesada; 4 de los 5 posibles sitios *O*-glicanos en cada cadena H se muestran ocupados; en una cadena H, los sitios 225, 228, 230 y 232 tienen *O*-glicanos con valores de GU 1,80 (núcleo 1), 3,58, 5,87 (la estructura superior) y 4,57, mientras que la segunda cadena H tiene los sitios 228, 230, 232 y 236 ocupados por glucanos de GU 2,93, 4,57, 7,51 y 3,58, respectivamente (véanse las Tablas [V](#) y [VI](#) para las estructuras de glicanos). No se encontró glicosilación de Fab. La cadena J se modeló basándose en el pliegue tridimensional de superóxido dismutasa (1cbl.pdb) ([50](#)), como lo sugieren las predicciones de estructura secundaria y la espectroscopía de dicroísmo circular ([51](#)). La homología de secuencia entre la cadena J y la superóxido dismutasa no es alta, por lo que el modelo solo pretende indicar el tamaño y la forma general de la cadena J. Se unió un glicano FcA2G2S2 al residuo 49 (numeración SWISSPROT, P01591). El SC consta de cinco dominios similares a Ig conectados por péptidos de longitud variable ([52](#)). Cada dominio individual se modeló por separado, basándose en la estructura cristalina del dominio similar a Ig con la mayor homología de secuencia. Las homologías de secuencia estaban generalmente en la región del 25-30% de identidad y el 40% de homología (usando BLAST), por lo que nuevamente el modelo proporciona solo el tamaño y la forma general de los dominios. No se intentó modelar los enlazadores entre los dominios, excepto para poner un límite a las posibles distancias entre los dominios. Se añadieron glicanos como sigue: glicanos A2G2S2 en los residuos 83, 186 y 499; un glicano FcA2G2S2 en el residuo 90; y glicanos FcA2G2S en los residuos 135 y 469 (numeración SWISSPROT, P01833).

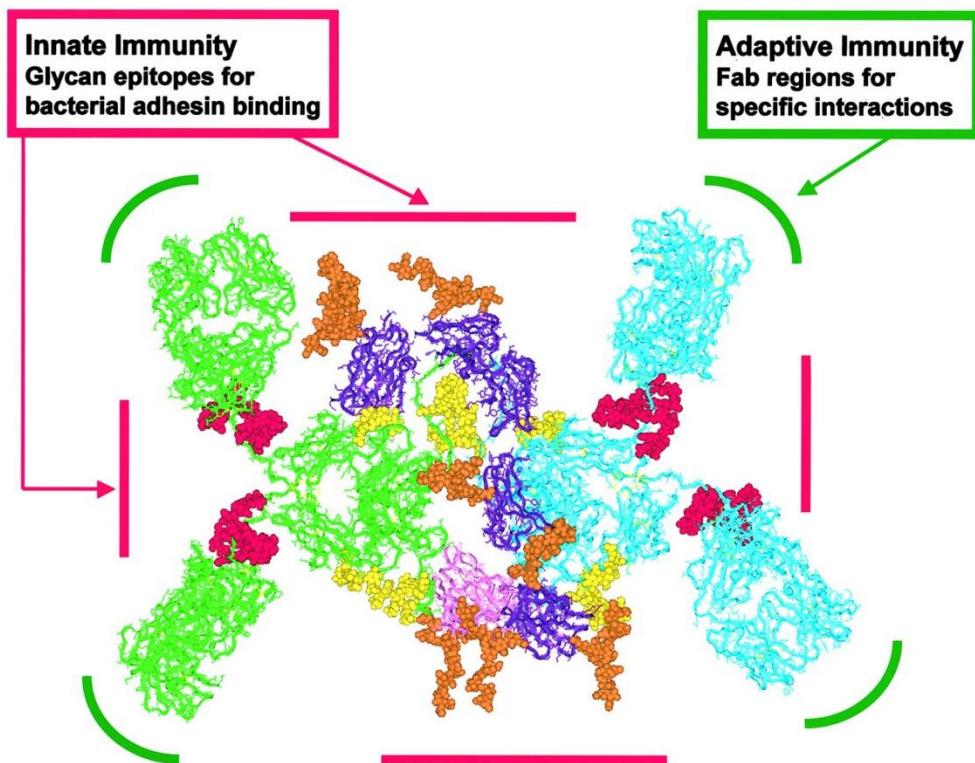


Fig. 10 Modelo molecular de SIgA1 con *N*- y *O*-glicanos. Los dos monómeros de IgA se muestran en *azul claro y verde*, la cadena J en *rosa* y el componente secretor en *violeta*. Los *O*-glicanos (en la región de bisagra de las cadenas H) se muestran en *rojo*, los *N*-glicanos en las cadenas SC y J están en *naranja*, y los *N*-glicanos en las cadenas H están en *amarillo*. Este modelo ilustra que la mayor parte de la molécula está cubierta con glucanos, con la excepción de los sitios de unión del anticuerpo Fab. Esto deja las regiones Fab despejadas para la interacción con antígenos (inmunidad adaptativa), mientras que los *O*-glicanos en la región bisagra de las cadenas H y los *N*-glicanos en SC cubren el resto de la superficie, libre de interacción con adhesinas bacterianas (innatas inmunidad). En esta conformación, con el SC envuelto alrededor de las cadenas H, los *N*-glicanos de la cadena H (que llevan residuos terminales de GlcNAc y manosa) están enmascarados de la unión con lectinas como MBL.

- [Ver imagen grande](#)
- [Visor de figuras](#)
- [Descargar imagen de alta resolución](#)
- [Descarga \(PPT\)](#)

El SIgA1 dimérico se modeló a partir de dos monómeros de IgA1. Las posiciones relativas de los monómeros de IgA1 se basaron en estudios de microscopía electrónica ([53](#)) que muestra que el dímero es lineal con los cuatro dominios Fab en aproximadamente el mismo plano y una separación entre las dos regiones de bisagra de aproximadamente 125 Å ; Esto coloca a los dos dominios Fc muy juntos, sin espacio suficiente entre ellos para acomodar la cadena J. Por tanto, la cadena J se colocó asimétricamente a un lado del dímero con el glicano apuntando en dirección opuesta a los monómeros de IgA1. Las piezas de la cola se modelaron luego como péptidos en espiral aleatorios, con los requisitos de que la Cys C-terminal en una cola de cada monómero debe formar un enlace disulfuro con la cadena J y que los residuos de Cys C-terminal en las otras colas deben unirse el uno al otro ([54](#)). El posicionamiento del SC es

mucho menos seguro. Cys⁴⁶⁷ en el dominio V del componente secretor forma un enlace disulfuro con Cys³¹¹ en el dominio Ca2 de uno de los monómeros de IgA1 (55), que fija su posición. Además, se ha demostrado que los residuos en el dominio I del SC interactúan con la cadena J (56) y uno de los dominios Ca3 (57, 58). Esto se ha modelado como el componente secretor que envuelve el complejo de la cadena IgA1 / J, de modo que el dominio V se une a un monómero de IgA1 y el dominio I interactúa con el otro monómero.

Ensayos de unión a MBL; Aunque las cadenas de SIgA H contienen azúcares terminales que se sabe que son ligandos para MBL, no se detectó unión de MBL a placas de microvaloración revestidas con SIgA (Fig. 11A). En contraste, una muestra de suero polimérico IgA, con afinidad conocida por MBL, se unió a MBL (31). Esto sugiere que el SC en el complejo SIgA puede estar impidiendo el acceso de MBL a estos N-glicanos de cadena H. Para determinar si los cambios de pH podrían interrumpir la asociación de SC con las cadenas SIgA-H y así exponer los N-glicanos que llevan GlcNAc y manosa en las cadenas H, las placas recubiertas con SIgA se pretrataron durante 60 min con tampones de pH diferente. La preincubación a pH 2,0 o 3,0 dio como resultado la unión de MBL a SIgA pero no a albúmina (Fig. 11B). Un transcurso de tiempo de 5-60 min de preincubación con un tampón de pH 3,0 mostró un aumento de la unión de MBL a SIgA con el tiempo (Fig. 11C), lo que indica que la ruptura de las interacciones no covalentes entre las cadenas SC e IgA-H progresó durante este período. Figura 11D muestra que esta unión de MBL a SIgA era una interacción lectina-azúcar de tipo C porque la preincubación de MBL con EDTA o D-manosa impedía la unión de MBL-SIgA.

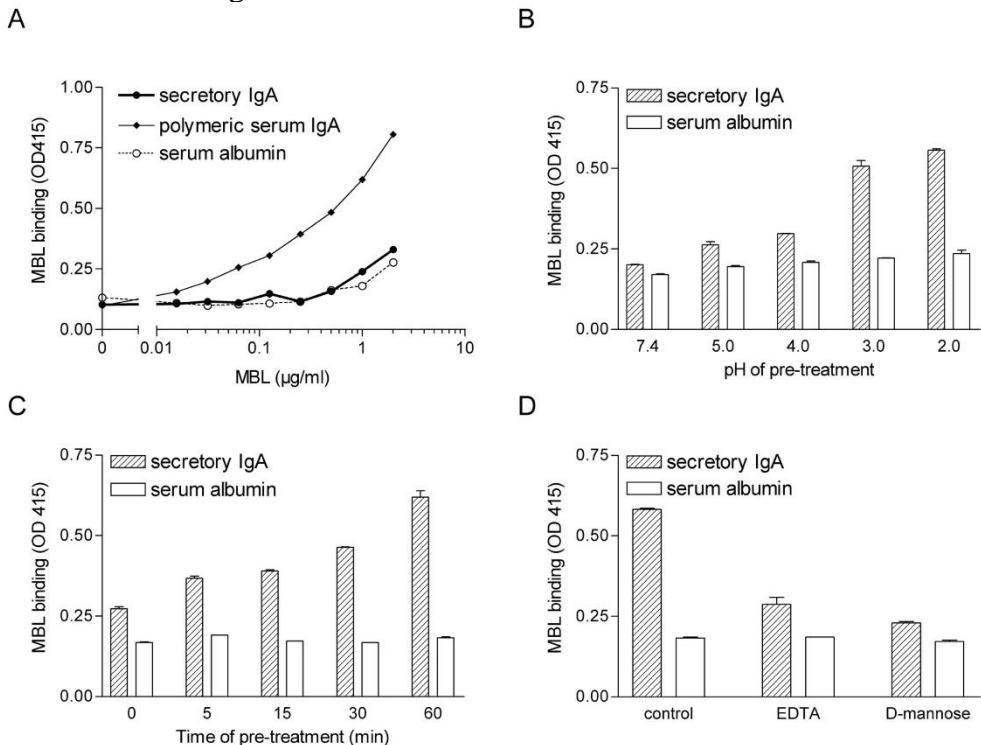


Fig. 11 Unión de MBL a IgA inmovilizada. Se recubrió SIgA o albúmina a 5 µg/ml, y se evaluó la unión de MBL purificada (diluida en BVB ++). A , se añadieron diferentes concentraciones de MBL a los pocillos recubiertos con SIgA o IgA de suero polimérico humano con unión conocida de MBL. Se utilizó albúmina humana como control negativo. B , se pretrató SIgA recubierto o albúmina durante 60 min con tampones de diferente pH, como se indica. La unión de MBL (1,3 µg / ml) se evaluó como se describe en "Procedimientos experimentales". C , se

pretrató SIgA recubierta o albúmina con un tampón de pH 3,0 durante 5-60 min, como se indica, seguido de la evaluación de la unión de MBL. D, se pretrató SIgA o albúmina recubierta durante 60 min con un tampón de pH 3,0 seguido de la evaluación de la unión de MBL en presencia o ausencia de EDTA o manosa. Los datos representan uno de al menos dos experimentos similares. Las *barras de error* representan SD de mediciones duplicadas.

- [Ver imagen grande](#)
- [Visor de figuras](#)
- [Descargar imagen de alta resolución](#)
- [Descarga \(PPT\)](#)

DISCUSIÓN

Este análisis de todos los *N*- y *O*-glicanos principales en cada uno de los péptidos constituyentes de SIgA indica que existen diferencias significativas en el procesamiento de las estructuras de glicanos en los diferentes péptidos. Los *N*-glicanos en el SC y los *O*-glicanos en la región bisagra de la cadena H de SIgA1 presentan una amplia gama de epítopenos de glucanos, incluidas estructuras de tipo Lewis que son potencialmente capaces de unirse a adhesinas bacterianas, mientras que la mayoría de los *N*-glicanos en las cadenas H tanto de SIgA1 como de SIgA2 portan residuos de GlcNAc terminales. Demostramos que estos residuos GlcNAc están enmascarados de la unión a MBL en SIgA nativo por SC, pero que pueden ser desenmascarados, lo que permite la interacción con MBL interrumpiendo las interacciones no covalentes de la cadena SC-H mediante incubación a pH bajo. Presumimos que el desenmascaramiento de los *N*-glicanos de la cadena H puede tener lugar *in vivo* tras la interacción de SC con adhesinas bacterianas o lectinas celulares. La posterior unión de lectina a los residuos de GlcNAc expuestos promovería la opsonización por complemento y / o fagocitosis directa, lo que conduciría a la presentación del patógeno al sistema inmunitario adaptativo.

Los N-glicanos de SC presentan muchos epítopenos para la unión de adhesina bacteriana y lectina; Nuestros resultados muestran que SC presenta una amplia gama de estructuras de glicanos, incluidos todos los diferentes epítopenos de Lewis y sialil-Lewis que pueden unirse potencialmente a lectinas y adhesinas bacterianas. Encontramos galactosa unida tanto a β 1-4 como a β 1-3 a GlcNAc; fucosa unió α 1-3 y α 1-4 a GlcNAc y α 1-2 a galactosa, así como ácidos siálicos unidos a α 2-3 y α 2-6. Esta es una gama de epítopenos más amplia que la informada por trabajadores anteriores ([21](#), [24,25](#) , [26](#)). Además de tener la función general de proteger tanto a SC como a SIgA de las proteasas ([59](#)), estos glicanos en SC pueden interactuar específicamente con adhesinas y lectinas. Se ha demostrado que SC se une a una variedad de bacterias a través de sus glucanos (*p. Ej.*, *H. pylori* ([11,12](#)), *E. coli* ([10, 13, 14](#)), Toxina A de *C. difficile* ([15](#)) y *S. pneumoniae* ([diecisésis, 17](#))), inhibiendo así la unión y la posterior infección de las superficies epiteliales. Los glicanos SC también participan en la localización de SIgA al anclar el SIgA al moco que recubre la superficie epitelial a través de sus residuos de carbohidratos. Phalipon y col. ([60](#)) mostró que se requería SC glicosilada para ubicar la SIgA en áreas específicas del epitelio y que se requería especificidad de anticuerpos para la unión a *Shigella flexneri*. Para proteger a los ratones de la infección por *S. flexneri*, se requirió el complejo completo de SC-IgA glicosilado. Burns y col. ([61](#))

también encontraron que se necesitaba SC con anticuerpos IgA para proteger a los ratones del rotavirus, porque la IgA solo era efectiva si se administraba sistémicamente, no cuando se presentaba en el lado luminal del tracto intestinal (sin SC), lo que indica que la transcitosis de IgA (con la adición de SC) para la inactivación viral *in vivo*. Otra función de los glicanos SC es la unión al dominio de unión a lectina de Mac-1 (CR3, CD11b / CD18) (62), que participa en la inducción de la señalización de SIgA a través del receptor de IgA Fc α R (CD89), que conduce a un estallido respiratorio, fagocitosis y secreción de citocinas (revisado en las Refs. 63 y 64). Mac-1 tiene una amplia especificidad por los azúcares, incluidos los β -glucanos ([sesenta y cinco](#)), y se ha demostrado que se une a SC recombinante, ya sea como SC libre o en el complejo SIgA (62). Las funciones fisiológicas del suero y la SIgA son bastante diferentes, y estos datos muestran que la presencia de la SC altamente glicosilada tiene efectos importantes sobre las funciones biológicas de la SIgA.

La conformación de la cadena J requiere un N-glicano; la cadena J en la IgA dimérica es esencial para la unión a pIgR y la translocación a través de las células epiteliales (2, [56](#)). La delección del sitio N-glicano, mediante la sustitución de Asn por alanina, previene la formación de dímeros de IgA ([54](#)), lo que indica que el N-glicano juega un papel importante en este proceso. Encontramos que más del 75% de las estructuras en este único sitio de N-glicano estaban sialiladas con una mezcla de ácidos siálicos unidos a α 2-3 y α 2-6. Baenziger²⁸ también informaron un 85% de sialilación (aunque todos los ácidos siálicos unidos a α 2-6), y estos datos sugieren que la carga de este glicano es importante para mantener la conformación correcta de la cadena J para la presentación a pIgR.

Los N-glicanos de la cadena SIgA H presentan residuos terminales de GlcNAc; Nuestro análisis muestra que la mayoría de los N-glicanos en las cadenas H de SIgA son glucanos biantenarios bisectados sin (~ 51%) o con una (~ 15%) galactosa y que menos del 15% de las estructuras están sialiladas. Estos glicanos truncados son muy diferentes de las estructuras sialiladas, principalmente galactosiladas, que se han encontrado en la IgA sérica normal (6, [66](#)). La IgA sérica se produce en las células plasmáticas del bazo o la linfa y luego se distribuye por todo el cuerpo. Por el contrario, SIgA se produce en células plasmáticas locales al sitio de secreción. Es probable que la diferencia en la glicosilación entre el suero y la IgA secretora sea un reflejo de la diferente maquinaria de glicosilación que opera en estas diferentes células plasmáticas. Se ha demostrado que los N-glicanos de la cadena H son necesarios para mantener la conformación adecuada, porque la eliminación selectiva de estos sitios N-ligados por mutagénesis da como resultado la degradación y secreción reducida de IgA ([67](#)) y ensamblaje de dímero notablemente reducido ([68](#)). Los N-glicanos de la cadena H de SIgA tanto en SIgA1 como en SIgA2 tienen un 66% de glucanos que terminan en residuos de GlcNAc y un 12% de estructuras de oligomanosa. Hay cuatro N-glicanos en SIgA1 y hasta 20 en SIgA2; por lo tanto, estos residuos de GlcNAc y manosa se presentan de forma múltiple y se puede esperar que se unan a lectinas tales como MBL, particularmente si la SIgA está agregada.

MBL no se une a la SIgA nativa; Cuando probamos la capacidad de MBL para unirse a SIgA recubierto en placas de microtitulación, no se detectó unión. Por lo tanto, llegamos a la conclusión de que el SC está enmascarando los N-glicanos en las cadenas H. SC está unido covalentemente en un extremo (dominio V) al dominio C α 2 de una de las cadenas H de IgA1 ([55](#)) y el otro extremo (dominio I) interactúa de forma no covalente con la cadena J ([56](#)) y uno de los dominios C α 3 en una cadena H ([57](#), [58](#)). El modelo de la [Fig. 10](#) muestra estas interacciones con el SC enrollado alrededor de la IgA dimérica. El SC con sus N-glicanos grandes (que se muestran en naranja) impide

que la MBL acceda a los *N*-glicanos de la cadena H (que se muestran en *amarillo*). Para averiguar si la interrupción de las interacciones no covalentes entre las cadenas SC y SIgA-H podría desenmascarar los *N*-glicanos de la cadena H subyacentes, las placas recubiertas con SIgA se preincubarón con tampones de pH bajo. De hecho, la preincubación a pH 3 permitió la unión de MBL a SIgA, y los tiempos de preincubación más largos (0-60 min) se correlacionaron directamente con el aumento de la unión, lo que sugiere que la cadena H *N*-Los glicanos estaban siendo desenmascarados. Por lo tanto, planteamos la hipótesis de que tal desenmascaramiento puede tener lugar tras la interacción de los glicanos SC con adhesinas bacterianas o lectinas celulares. La unión de lectinas a los glucanos SC (hasta siete glucanos) puede ser más fuerte que las interacciones no covalentes entre SC y las cadenas H de IgA y, por lo tanto, alejar un extremo del SC de las cadenas H. La unión posterior de MBL a los residuos de GlcNAcs y manosa expuestos promovería la opsonización por el complemento y / o la fagocitosis directa, lo que conduciría a la presentación del patógeno al sistema inmunitario adaptativo. Además de la posible interacción con lectinas solubles como MBL, los azúcares presentes en SIgA también pueden unirse a los receptores de lectina presentes en las células fagocíticas. A este respecto, se ha demostrado que SIgA, pero no IgA sérica,[\(69\)](#), que es un receptor importante para la captación de antígenos, y que esta unión y captación podría ser bloqueada por azúcares específicos (manosa, fucosa, GlcNAc, pero no galactosa) o parcialmente por anticuerpos reactivos con el receptor de manosa. El reconocimiento y la presentación del antígeno por SIgA puede implicar la modulación de la respuesta inmune a través de su unión a las lectinas del huésped. A este respecto, es importante que la captación de SIgA por las células dendríticas, que se mostró parcialmente mediada por el receptor de manosa, no indujo la maduración de las DC ([\(69\)](#)). Actualmente no se dispone de datos sobre el efecto potencial de la opsonización de antígenos por MBL sobre la fagocitosis y la maduración de las células dendríticas. Debido a que un estudio reciente mostró que MBL se puede producir en el lado apical del epitelio intestinal en el ratón ([\(70\)](#)), una interacción entre SIgA y MBL en la luz intestinal es bastante factible. En vista de las funciones bien conocidas de SIgA y MBL en la defensa del huésped, planteamos la hipótesis de que dicha interacción contribuirá a la protección contra la infección de la mucosa.

Hay disponible una amplia gama de epítopos de O-glicanos para la interacción con adhesinas bacterianas; Encontramos más de 50 estructuras de *O*-glicano diferentes, de hasta 15 azúcares de tamaño, de las cuales hemos secuenciado completamente 33 estructuras (13 de las cuales fueron identificadas previamente por Pierce-Cretel *et al.* ([\(22,23\)](#))). Al igual que con los SC *N*-glicanos, se identificó una amplia gama de estructuras con muchos epítopos de azúcar diferentes que incluyen galactosa β 1-4 y β 1-3 unida; unidos a ácido siálico α 2-3 y α 2-6; y fucosa α 1-4, 3 y 2 unidos, lo que demuestra que estos *O*-glicanos (presentes en IgA1 pero no en IgA2) también presentan sitios de unión a adhesina. La forma de T de IgA, revelada por la resolución de rayos X ([\(49\)](#)), indica que estos *O*-glicanos estarían expuestos a la interacción con adhesinas bacterianas. Estos glucanos SIgA *O* son estructuras mucho más grandes y más elaboradas que las estructuras simples del núcleo 1 sialilado ([\(6,71\)](#)) que se encuentra en la IgA sérica y se puede esperar que tenga otras funciones además de estabilizar la región bisagra. La evidencia para apoyar la propuesta de que estos *O*-glicanos pueden interactuar con adhesinas bacterianas de manera similar a las encontradas en SC proviene de Bos *et al.* ([\(72\)](#)). Establecieron ocho hibridomas productores de IgA de los ganglios linfáticos mesentéricos de ratones y demostraron que estos hibridomas reconocen poblaciones bacterianas fecales diferentes pero parcialmente

superpuestas. Sugirieron que este reconocimiento superpuesto fue causado por interacciones con regiones conservadas de los anticuerpos como los glucanos. La presencia de los tipos de *O*-glicanos que hemos mostrado podría explicar fácilmente estas interacciones superpuestas.

Es probable que las diferencias en las estructuras de *O*-glicano entre el suero y la IgA secretora se deban a diferentes enzimas de glicosilación en las células plasmáticas ubicadas en la médula ósea / bazo / hígado a las de las superficies mucosas. También es plausible que las células plasmáticas en diferentes superficies mucosas (*por ejemplo*, pulmones e intestino superior o inferior) puedan producir glicosilación de SIgA que es específica de la ubicación de la mucosa, porque se sabe que la glicosilación de mucina difiere con el sitio de la mucosa ([73](#)). Las diferencias en la glicosilación de SIgA en diferentes áreas de la mucosa pueden proporcionar un medio para mantener un equilibrio con la flora comensal normal sin provocar una respuesta inmunitaria deletérea.

SIgA participa tanto en el sistema inmunológico adaptativo innato; El modelo molecular presentado en la [Fig. 10](#) resume el trabajo presentado en este artículo. Esto muestra que los glicanos cubren la mayor parte del complejo SIgA1 con la excepción de las regiones Fab. Cuando se ve como un todo, cada molécula de SIgA1 tiene varios sitios para unirse a los patógenos. Además de los cuatro sitios de unión al antígeno Fab (inmunidad adaptativa), hay dos regiones *O*-glicosiladas que contienen hasta 10 glicanos por región, y SC con siete *N*-glicanos, que presentan una amplia gama de epítopos de azúcar capaces de unirse a adhesinas (inmunidad innata). Por lo tanto, SIgA participa tanto en el sistema inmunológico adaptativo como en el innato.

También hemos demostrado que los *N*-glicanos en las cadenas H de SIgA1 y SIgA2 presentan residuos de GlcNAc y manosa que pueden ser enmascarados por SC. La exposición de estos residuos de GlcNAc y manosa después de la interrupción de las interacciones no covalentes de la cadena SC-H puede promover el reconocimiento por lectinas solubles, como MBL, o por receptores de lectina, como el receptor de manosa en macrófagos y células dendríticas. Presumimos que el desenmascaramiento de los *N*-glicanos de la cadena H puede tener lugar tras la interacción de SC con adhesinas bacterianas o lectinas celulares. La posterior unión de lectina a los residuos de GlcNAc y manosa expuestos promovería la opsonización por complemento y / o fagocitosis directa, lo que conduciría a la presentación del patógeno al sistema inmunitario adaptativo.

Referencias

1.
 - Kerr MA

Biochem. J. 1990; **271** : 285-296

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(414\)](#)
- [PubMed](#)
- [Crossref](#)
- [Google Académico](#)

2.
 - Johansen FE
 - Braathen R.
 - Brandtzaeg P.

J. Immunol. 2001; **167** : 5185-5192

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(148\)](#)
 - [PubMed](#)
 - [Crossref](#)
 - [Google Académico](#)
3.
 - Norderhaug IN
 - Johansen FE
 - Schjerven H.
 - Brandtzaeg P.

Crit. Rev. Immunol. 1999; **19** : 481-508

[Ver en el artículo](#)

- [PubMed](#)
 - [Google Académico](#)
4.
 - Baenziger J.
 - Kornfeld S.

J. Biol. Chem. 1974; **249** : 7270-7281

[Ver en el artículo](#)

- [PubMed](#)
 - [Abstracto](#)
 - [PDF de texto completo](#)
 - [Google Académico](#)
5.
 - Iwase H.
 - Tanaka A.
 - Hiki Y.
 - Kokubo T.
 - Ishii-Karakasa I.
 - Kobayashi Y.
 - Hotta K.

J. Biochem. (Tokio). 1996; **120** : 393-397

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(50\)](#)
- [PubMed](#)
- [Crossref](#)
- [Google Académico](#)

6.
 - Mattu TS
 - Pleass RJ
 - Willis AC
 - Kilian M.
 - Wormald MR
 - Lellouch AC
 - Rudd PM
 - Guau JM
 - Dwek RA

J. Biol. Chem. 1998; **273** : 2260-2272

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(331\)](#)
- [PubMed](#)
- [Abstracto](#)
- [Texto completo](#)
- [PDF de texto completo](#)
- [Google Académico](#)

7.

- Novak J.
- Tomana M.
- Kilian M.
- Cobarde L.
- Kulhavy R.
- Barnes S.
- Mestecky J.

Mol. Immunol. 2000; **37** : 1047-1056

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(57\)](#)
- [PubMed](#)
- [Crossref](#)
- [Google Académico](#)

8.

- Lamm ME

Annu. Rev. Microbiol. 1997; **51** : 311-340

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(327\)](#)
- [PubMed](#)
- [Crossref](#)
- [Google Académico](#)

9.

- Sharon N.
- Ofek I.

Glycoconj. J. 2000; **17** : 659-664

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(178\)](#)
 - [PubMed](#)
 - [Crossref](#)
 - [Google Académico](#)
- 10.
- Schroten H.
 - Grapadora C.
 - Plogmann R.
 - Kohler H.
 - Hacker J.
 - Hanisch FG

Infectar. Immun. 1998; **66** : 3971-3973

[Ver en el artículo](#)

- [PubMed](#)
 - [Crossref](#)
 - [Google Académico](#)
- 11.
- Falk P.
 - Roth KA
 - Boren T.
 - Westblom TU
 - Gordon JI
 - Normark S.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1993; **90** : 2035-2059

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(234\)](#)
 - [PubMed](#)
 - [Crossref](#)
 - [Google Académico](#)
- 12.
- Boren T.
 - Falk P.
 - Roth KA
 - Larson G.
 - Normark S.

Ciencias. 1993; **262** : 1892-1895

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(943\)](#)
- [PubMed](#)
- [Crossref](#)
- [Google Académico](#)

13.
 - Wold AE
 - Mestecky J.
 - Tomana M.
 - Kobata A.
 - Ohbayashi H.
 - Endo T.
 - Eden CS

Infectar. Immun. 1990; **58** : 3073-3077

[Ver en el artículo](#)

- [PubMed](#)
- [Crossref](#)
- [Google Académico](#)

14.
 - de Oliveira IR
 - de Araujo AN
 - Bao SN
 - Giugliano LG

FEMS Microbiol. Letón. 2001; **203** : 29-33

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(60\)](#)
- [PubMed](#)
- [Crossref](#)
- [Google Académico](#)

15.
 - Dallas SD
 - Rolfe RD

J. Med. Microbiol. 1998; **47** : 879-888

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(118\)](#)
- [PubMed](#)
- [Crossref](#)
- [Google Académico](#)

16.
 - Hammerschmidt S.
 - Talay SR
 - Brandtzaeg P.
 - Chhatwal GS

Mol. Microbiol. 1997; **25** : 1113-1124

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(249\)](#)
- [PubMed](#)

- [Crossref](#)
 - [Google Académico](#)
- 17.
- Zhang JR
 - Mostov KE
 - Lamm ME
 - Nanno M.
 - Shimida S.
 - Ohwaki M.
 - Tuomanen E.

Celda. 2000; **102** : 827-837

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(307\)](#)
 - [PubMed](#)
 - [Abstracto](#)
 - [Texto completo](#)
 - [PDF de texto completo](#)
 - [Google Académico](#)
- 18.
- Corthesy B.

Tendencias. Biotechnol. 2002; **20** : 65-71

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(47\)](#)
 - [PubMed](#)
 - [Abstracto](#)
 - [Texto completo](#)
 - [PDF de texto completo](#)
 - [Google Académico](#)
- 19.
- Corthesy B.
 - Spertini F.

Biol. Chem. 1999; **380** : 1251-1262

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(37\)](#)
 - [PubMed](#)
 - [Crossref](#)
 - [Google Académico](#)
- 20.
- Wright A.
 - Morrison SL

Tendencias. Biotechnol. 1997; **15** : 26-32

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(262\)](#)
- [PubMed](#)
- [Abstracto](#)
- [PDF de texto completo](#)
- [Google Académico](#)

21.

- Pierce-Cretel A.
- Debray H.
- Montreuil J.
- Spik G.
- Van Halbeek H.
- Mutsaers JH
- Vliegenthart JF

EUR. J. Biochem. 1984; **139** : 337-349

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(22\)](#)
- [PubMed](#)
- [Crossref](#)
- [Google Académico](#)

22.

- Pierce-Cretel A.
- Decottignies JP
- Wieruszewski JM
- Strecker G.
- Montreuil J.
- Spik G.

EUR. J. Biochem. 1989; **182** : 457-476

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(44\)](#)
- [PubMed](#)
- [Crossref](#)
- [Google Académico](#)

23.

- Pierce-Cretel A.
- Pamblanco M.
- Strecker G.
- Montreuil J.
- Spik G.

EUR. J. Biochem. 1981; **114** : 169-178

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(51\)](#)
- [PubMed](#)
- [Crossref](#)
- [Google Académico](#)

24.

- Pierce-Cretel A.
- Pamblanco M.
- Strecker G.
- Montreuil J.
- Spik G.
- Dorland L.
- Van Halbeek H.
- Vliegenthart JF

EUR. J. Biochem. mil novecientos ochenta y dos; **125** : 383-388

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(27\)](#)

- [PubMed](#)

- [Crossref](#)

- [Google Académico](#)

25.

- Mizoguchi A.
- Mizuochi T.
- Kobata A.

J. Biol. Chem. mil novecientos ochenta y dos; **257** : 9612-9621

[Ver en el artículo](#)

- [PubMed](#)

- [Abstracto](#)

- [PDF de texto completo](#)

- [Google Académico](#)

26.

- Hughes GJ
- Razón AJ
- Savoy L.
- Jaton J.
- Frutiger-Hughes S.

Biochim. Biophys. Acta. 1999; **1434** : 86-93

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(43\)](#)

- [PubMed](#)

- [Crossref](#)

- [Google Académico](#)

27.

- Purkayastha S.
- Rao CV
- Lamm ME

J. Biol. Chem. 1979; **254** : 6583-6587

[Ver en el artículo](#)

- [PubMed](#)
 - [Abstracto](#)
 - [PDF de texto completo](#)
 - [Google Académico](#)
- 28.
- Baenziger J.

J. Biol. Chem. 1979; **254** : 4063-4071

[Ver en el artículo](#)

- [PubMed](#)
 - [Abstracto](#)
 - [PDF de texto completo](#)
 - [Google Académico](#)
- 29.
- Weis WI
 - Drickamer K.
 - Hendrickson WA

Naturaleza. 1992; **360** : 127-134

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(823\)](#)
 - [PubMed](#)
 - [Crossref](#)
 - [Google Académico](#)
- 30.
- Petersen SV
 - Thiel S.
 - Jensenius JC

Mol. Immunol. 2001; **38** : 133-149

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(249\)](#)
 - [PubMed](#)
 - [Crossref](#)
 - [Google Académico](#)
- 31.
- Roos A.
 - Bouwman LH
 - van Gijlswijk-Janssen DJ
 - Faber-Krol MC
 - Stahl GL
 - Daha MR

J. Immunol. 2001; **167** : 2861-2868

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(297\)](#)

- [PubMed](#)
 - [Crossref](#)
 - [Google Académico](#)
- 32.
- de Fijter JW
 - van den Wall Bake AW
 - Braam CA
 - van Es LA
 - Daha MR

J. Immunol. Métodos. 1995; **187** : 221-232

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(24\)](#)
 - [PubMed](#)
 - [Crossref](#)
 - [Google Académico](#)
- 33.
- Shevchenko A.
 - Wilm M.
 - Vorm O.
 - Mann M.

Anal. Chem. 1996; **68** : 850-858

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(7579\)](#)
 - [PubMed](#)
 - [Crossref](#)
 - [Google Académico](#)
- 34.
- Wilm M.
 - Shevchenko A.
 - Houthaeve T.
 - Breit S.
 - Schweigerer L.
 - Fotsis T.
 - Mann M.

Naturaleza. 1996; **379** : 466-469

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(1490\)](#)
 - [PubMed](#)
 - [Crossref](#)
 - [Google Académico](#)
- 35.
- Küster B.
 - Wheeler SF
 - Hunter AP

- Dwek RA
- Harvey DJ

Anal. Biochem. 1997; **250** : 82-101

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(318\)](#)
- [PubMed](#)
- [Crossref](#)
- [Google Académico](#)

36.

- Patel T.
- Bruce J.
- Feliz A.
- Bigge C.
- Wormald M.
- Jaques A.
- Parekh R.

Bioquímica. 1993; **32** : 679-693

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(338\)](#)
- [PubMed](#)
- [Crossref](#)
- [Google Académico](#)

37.

- Royle L.
- Mattu TS
- Hart E.
- Langridge JI
- Feliz AH
- Murphy N.
- Harvey DJ
- Dwek RA
- Rudd PM

Anal. Biochem. 2002; **304** : 70-90

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(171\)](#)
- [PubMed](#)
- [Crossref](#)
- [Google Académico](#)

38.

- Bigge JC
- Patel TP
- Bruce JA
- PN de Goulding
- Charles SM

- Parekh RB

Anal. Biochem. 1995; **230** : 229-238

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(692\)](#)
- [PubMed](#)
- [Crossref](#)
- [Google Académico](#)

39.

- Guile GR
- Rudd PM
- Ala DR
- Prime SB
- Dwek RA

Anal. Biochem. 1996; **240** : 210-226

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(434\)](#)
- [PubMed](#)
- [Crossref](#)
- [Google Académico](#)

40.

- Guile GR
- Wong SY
- Dwek RA

Anal. Biochem. 1994; **222** : 231-235

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(65\)](#)
- [PubMed](#)
- [Crossref](#)
- [Google Académico](#)

41.

- Zamze S.
- Harvey DJ
- Chen YJ
- Guile GR
- Dwek RA
- Ala DR

EUR. J. Biochem. 1998; **258** : 243-270

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(67\)](#)
- [PubMed](#)
- [Crossref](#)
- [Google Académico](#)

42.

- Harvey DJ

Rapid Commun. Mass Spectrom. 1993; **7** : 614-619

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(263\)](#)

- [PubMed](#)

- [Crossref](#)

- [Google Académico](#)

43.

- Kraulis PJ

J. Appl. Crystallogr. 1991; **24** : 946-950

[Ver en el artículo](#)

- [Crossref](#)

- [Google Académico](#)

44.

- Berman HM

- Westbrook J.

- Feng Z.

- Gilliland G.

- Bhat TN

- Weissig H.

- Shindyalov IN

- Bourne PE

Ácidos nucleicos Res. 2000; **28** : 235-242

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(24374\)](#)

- [PubMed](#)

- [Crossref](#)

- [Google Académico](#)

45.

- Petrescu AJ

- Petrescu SM

- Dwek RA

- Wormald MR

Glicobiología. 1999; **9** : 343-352

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(108\)](#)

- [PubMed](#)

- [Crossref](#)

- [Google Académico](#)

46.

- Imbertad A.

- Pérez S.

Protein Eng. 1995; **8** : 699-709

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(71\)](#)
- [PubMed](#)
- [Crossref](#)
- [Google Académico](#)

47.

- Departamento de Policía de Chuang
- Morrison SL

J. Immunol. 1997; **158** : 724-732

[Ver en el artículo](#)

- [PubMed](#)
- [Google Académico](#)

48.

- Rudd PM
- Morgan BP
- Wormald MR
- Harvey DJ
- van den Berg CW
- Davis SJ
- Ferguson MA
- Dwek RA

J. Biol. Chem. 1997; **272** : 7229-7244

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(133\)](#)
- [PubMed](#)
- [Abstracto](#)
- [Texto completo](#)
- [PDF de texto completo](#)
- [Google Académico](#)

49.

- Boehm MK
- Guau JM
- Kerr MA
- Perkins SJ

J. Mol. Biol. 1999; **286** : 1421-1447

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(182\)](#)
- [PubMed](#)
- [Crossref](#)
- [Google Académico](#)

50.

- Hough MA
- Hasnain SS

J. Mol. Biol. 1999; **287** : 579-592

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(101\)](#)

- [PubMed](#)

- [Crossref](#)

- [Google Académico](#)

51.

- Zikan J.
- Novotny J.
- Trapane TL
- Koshland ME
- Urry DW
- Bennett JC
- Mestecky J.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1985; **82** : 5905-5909

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(36\)](#)

- [PubMed](#)

- [Crossref](#)

- [Google Académico](#)

52.

- Mostov KE
- Friedlander M.
- Blobel G.

Naturaleza. 1984; **308** : 37-43

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(312\)](#)

- [PubMed](#)

- [Crossref](#)

- [Google Académico](#)

53.

- Feinstein A.
- Munn EA
- Richardson NE

Ana. NY Acad. Sci. 1971; **190** : 104-121

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(70\)](#)

- [PubMed](#)

- [Crossref](#)

- [Google Académico](#)

54.

- Krugmann S.
- Pleass RJ
- Atkin JD
- Guau JM

Biochem. Soc. Trans. 1997; **25** : 323S

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(5\)](#)

- [PubMed](#)

- [Crossref](#)

- [Google Académico](#)

55.

- Fallgren-Gebauer E.
- Gebauer W.
- Bastian A.
- Kratzin H.
- Eiffert H.
- Zimmerman B.
- Karas M.
- Hilschmann N.

Adv. Exp. Medicina. Biol. 1995; **371A** : 625-628

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(14\)](#)

- [PubMed](#)

- [Crossref](#)

- [Google Académico](#)

56.

- Vaerman JP
- Langendries A.
- Giffroy D.
- Brandtzaeg P.
- Kobayashi K.

Inmunología. 1998; **95** : 90-96

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(40\)](#)

- [PubMed](#)

- [Crossref](#)

- [Google Académico](#)

57.

- Geneste C.
- Iscaki S.
- Mangalo R.
- Pillot J.

Immunol. Letón. 1986; **13** : 221-226

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(24\)](#)
 - [PubMed](#)
 - [Crossref](#)
 - [Google Académico](#)
- 58.
- Hexham JM
 - Blanco KD
 - Carayannopoulos LN
 - Mandecki W.
 - Brisette R.
 - Yang YS
 - Capra JD

J. Exp. Medicina. 1999; **189** : 747-752

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(51\)](#)
 - [PubMed](#)
 - [Crossref](#)
 - [Google Académico](#)
- 59.
- Crottet P.
 - Corthesy B.

J. Immunol. 1998; **161** : 5445-5453

[Ver en el artículo](#)

- [PubMed](#)
 - [Google Académico](#)
- 60.
- Phalipon A.
 - Cardona A.
 - Kraehenbuhl JP
 - Edelman L.
 - Sansonetti PJ
 - Corthesy B.

Inmunidad. 2002; **17** : 107-115

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(317\)](#)
 - [PubMed](#)
 - [Abstracto](#)
 - [Texto completo](#)
 - [PDF de texto completo](#)
 - [Google Académico](#)
- 61.

- Quemaduras JW
- Siadat-Pajouh M.
- Krishnaney AA
- Greenberg HB

Ciencias. 1996; **272** : 104-107

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(428\)](#)
- [PubMed](#)
- [Crossref](#)
- [Google Académico](#)

62.

- Van Spriel AB
- Leusen JH
- Vile H.
- van de Winkel JG

J. Immunol. 2002; **169** : 3831-3836

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(50\)](#)
- [PubMed](#)
- [Crossref](#)
- [Google Académico](#)

63.

- Morton HC
- van Egmond M.
- van de Winkel JG

Crit. Rev. Immunol. 1996; **16** : 423-440

[Ver en el artículo](#)

- [PubMed](#)
- [Google Académico](#)

64.

- van Egmond M.
- Damen CA
- van Spriel AB
- Vidarsson G.
- van Garderen E.
- van de Winkel JG

Tendencias. Immunol. 2001; **22** : 205-211

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(215\)](#)
- [PubMed](#)
- [Abstracto](#)
- [Texto completo](#)

- [PDF de texto completo](#)
- [Google Académico](#)

65.

- Thornton BP
- Vetvicka V.
- Pitman M.
- Goldman RC
- Ross GD

J. Immunol. 1996; **156** : 1235-1246

[Ver en el artículo](#)

- [PubMed](#)
- [Google Académico](#)

66.

- Tanaka A.
- Iwase H.
- Hiki Y.
- Kokubo T.
- Ishii-Karakasa I.
- Toma K.
- Kobayashi Y.
- Hotta K.

Glycoconj. J. 1998; **15** : 995-1000

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(19\)](#)
- [PubMed](#)
- [Crossref](#)
- [Google Académico](#)

67.

- Taylor AK
- Pared R.

Mol. Celda. Biol. 1988; **8** : 4197-4203

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(53\)](#)
- [PubMed](#)
- [Crossref](#)
- [Google Académico](#)

68.

- Atkin JD
- Pleass RJ
- Owens RJ
- Guau JM

J. Immunol. 1996; **157** : 156-159

[Ver en el artículo](#)

- [PubMed](#)
 - [Google Académico](#)
- 69.
- Heystek HC
 - Moulon C.
 - Woltman AM
 - Garonne P.
 - van Kooten C.

J. Immunol. 2002; **168** : 102-107

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(65\)](#)
 - [PubMed](#)
 - [Crossref](#)
 - [Google Académico](#)
- 70.
- Uemura K.
 - Saka M.
 - Nakagawa T.
 - Kawasaki N.
 - Thiel S.
 - Jensenius JC
 - Kawasaki T.

J. Immunol. 2002; **169** : 6945-6950

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(75\)](#)
 - [PubMed](#)
 - [Crossref](#)
 - [Google Académico](#)
- 71.
- Campo MC
 - Amatayakul Chantler S.
 - Rademacher TW
 - Rudd PM
 - Dwek RA

Biochem. J. 1994; **299** : 261-275

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(84\)](#)
 - [PubMed](#)
 - [Crossref](#)
 - [Google Académico](#)
- 72.
- Bos NA
 - Bun JC
 - Popma SH

- Cebra ER
- Deenen GJ
- van der Cammen MJ
- Kroese FG
- Cebra JJ

Infectar. Immun. 1996; **64** : 616-623

[Ver en el artículo](#)

- [PubMed](#)
 - [Crossref](#)
 - [Google Académico](#)
- 73.
- Hanisch FG

Biol. Chem. 2001; **382** : 143-149

[Ver en el artículo](#)

- [Scopus \(253\)](#)
- [PubMed](#)
- [Crossref](#)
- [Google Académico](#)

Información del artículo