



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Glucocerebrosidase and glycolipids: In and beyond the lysosome

Boer, D.E.C.

Citation

Boer, D. E. C. (2021, January 7). *Glucocerebrosidase and glycolipids: In and beyond the lysosome*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/139043>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/139043>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/139043> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Boer, D.E.C.

Title: Glucocerebrosidase and glycolipids: In and beyond the lysosome

Issue Date: 2021-01-07

Samenvatting

Hoofdstuk 1 geeft een introductie over glycosfingolipiden en hun metabolisme. Het lysosomale β -glucosidase genaamd glucocerebrosidase (GCase, gecodeerd door het GBA-gen) wordt hierbij uitgelicht. Het doel van de onderzoeken beschreven in dit proefschrift wordt vervolgens gepresenteerd.

Zoals besproken in **Hoofdstuk 2**, is GCase een vasthoudende β -glucosidase die het glycosfingolipide glucosylceramide (GlcCer) hydrolyseert tot ceramide en glucose bij een zure pH. Erfelijke tekort aan GCase veroorzaakt de ziekte van Gaucher (GD), een relatief veel voorkomende lysosomale stapelingsstoornis. Bij GD-patiënten wordt GlcCer opgeslagen in de lysosomen van cellen, met name weefselmacrofagen (Gaucher-cellen). GCase vervult een andere cruciale functie naast degene in lysosomen. Het enzym genereert ceramiden uit GlcCer-moleculen in het buitenste deel van de huid, het stratum corneum (SC). Dit is essentieel voor huidbarrière-eigenschappen die compatibel zijn met het landleven. GCase is katalytisch veelzijdig en in staat zowel te hydrolyseren als transglycosylatie te katalyseren.

Hoofdstuk 3 beschrijft een nieuwe en gevoelige in situ methode voor de detectie van actieve GCase in huidsecties. Bij deze methode wordt gebruik gemaakt van fluorescerende activity based probes (ABPs) die covalent binden aan het katalytische nucleofiel van GCase. In vergelijking met zymografie biedt de op ABP gebaseerde detectie van actieve GCase verschillende voordelen. Het is namelijk minder arbeidsintensief en visualiseert het actieve enzym met een hogere resolutie. Uit het onderzoek naar de lokalisatie van actieve GCase in de huid is gebleken dat het enzym in zeer grote hoeveelheden in het SC aanwezig is. Met ABP-labeling kon actieve GCase worden gedetecteerd in 3D-gekweekte huidmodellen. Binding van het enzym met ABPs werd voorkomen door de reversibele remmer isofagomine. De behandeling met

deze remmer leidde tot een verhoging van de glucosylceramide: ceramide-verhouding, wat het belang van actieve GCase illustreert.

Hoofdstuk 4 richt zich op atopische dermatitis. AD-patiënten lijden aan een ontstoken huid gepaard met een defecte huidbarrière. Uit het uitgevoerde onderzoek bleek dat de lokalisatie en activiteit van GCase en zure sfinngomyelinase (ASM) abnormaal was in de huid van AD-patiënten, met name op de aangedane huid. De enzymen GCase en ASM genereren beiden ceramiden. Hun afwijkingen in AD-huid correleren een gewijzigde lipidesamenstelling van het SC. Specifieke ceramide-subklassen [AS] en [NS] zijn verhoogd. Daarnaast werd er een correlatie waargenomen tussen veranderde lokalisatie van actieve GCase en ASM en een verstoorde SC-lipidesamenstelling.

De katalytische veelzijdigheid van GCase wordt bestudeerd in **hoofdstuk 5**. Aangetoond wordt dat GCase niet alleen 4-methylumbelliferyl- β -D-glucose splitst, maar ook 4-methylumbelliferyl- β -D-xylose. Voor het eerst wordt gerapporteerd dat GCase in staat is om cholesterol te transxylosyleren en hierbij xylosyl- β -cholesterol (XylChol) maakt. Het gevormde XylChol kan dienen als een volgende acceptor voor verdere transxylosylering, waardoor di-xylosyl-cholesterol wordt gevormd. Synthese van XylChol vindt plaats in intacte cellen die zijn blootgesteld aan 4-MU-Xyl of een van planten afkomstig cyanidine- β -xyloside. Deze synthese is volledig GCase-afhankelijk en kan worden verhoogd door het opwekken van lysosomale cholesterolphoping. Mutante GCases van GD-patiënten bleken geen duidelijke afwijkingen te vertonen in relatieve β -glucosidase-, β -xylosidase-, transglucosidase- en transxylosidase-activiteiten. Naast GCase kan het cytosolische enzym GBA3 in vitro ook β -xylosiden hydrolyseren en een transreactie katalyseren. In de zoektocht naar potentiële endogene β -xylosedonoren werd gexylosyleerd ceramide (XylCer) gedetecteerd in cellen en weefsels. Glucosylceramidesynthase (GCS) bleek XylCer te kunnen vormen. Het onderzoek toonde dus niet alleen de katalytische veelzijdigheid van GCase aan, maar leidde ook tot de identificatie van een nieuwe klasse van glycosfingolipiden.

Hoofdstuk 6 behandelt de ontdekking van GlcChol als nieuw component van de menselijke epidermis. Het was al bekend dat GlcChol gegenereerd kan worden uit GlcCer en cholesterol via transglucosylering, grotendeels gekatalyseerd door het enzym GBA2. Bij hoge concentratie van cholesterol in lysosomen vormt GCase ook GlcChol via transglucosylering. Gezien de overvloed aan GCase en cholesterol in het SC, is het niet verrassend dat een aanzienlijke hoeveelheid GlcChol aantoonbaar is in de menselijke huid, met name in het SC. GlcChol wordt waarschijnlijk lokaal gemetaboliseerd door GCase, maar de

Samenvatting

fysiologische functie van GlcChol in de SC verdient toekomstig onderzoek.

De **Discussie** vat de verschillende onderzoeken samen en bespreekt hun resultaten in relatie tot de literatuur. Verder worden suggesties gedaan voor toekomstig onderzoek naar het interessante onderwerp van GCase, met name in relatie tot de celbiologie en het brede scala aan substraten en producten.

