

## 1P-03

**APLIKÁCIA NA LEKTÍNOCH ZALOŽENEJ MICROARRAY A MALDI-MS METÓDY PRI ANALÝZE GLYKOZYLÁCIE REKOMBINANTNÝCH MONOKLONÁLNYCH IGA PROTILÁTK**

**LUCIA PAŽITNÁ<sup>a</sup>, MAREK NEMČOVIČ<sup>a</sup>, ZUZANA PAKANOVÁ<sup>a</sup>, PETER BARÁTH<sup>a</sup>, TEIMUR ALIEV<sup>b</sup>, DMITRY DOLGIKH<sup>c,d</sup>, VICTORIA ARGENTOVA<sup>c</sup>, JAROSLAV KATRLÍK<sup>a</sup>**

<sup>a</sup> Chemický ústav, SAV, Dúbravská cesta 9, 845 38, Bratislava, <sup>b</sup> Department of Chemical Enzymology, School of Chemistry, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia, <sup>c</sup> Department of Bioengineering, School of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia, <sup>d</sup> Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia  
chemlpaz@savba.sk

Glykozylácia terapeutických proteínov je jednou z najčastejších a najdôležitejších posttranslačných modifikácií ovplyvňujúcou ich vlastnosti (rozpusťnosť, termostabilita, imunogenicita, účinnosť) a je tak dôležitým parametrom ovplyvňujúcim kvalitu a tým aj účinnosť terapeutických glykoproteínov<sup>1</sup>. Imunoglobulíny sú produkované špecifickým imunitným systémom za účelom identifikácie a neutralizovania cudzích antigénov a patogénov, ktorým je organizmus vystavený<sup>2</sup>. Terapeutické protilátky sú často produkované v cicavčích bunkách, vďaka ktorým sa dosahuje glykozylácia podobná ľudskej. Rekombinantné IgA zohrávajú dôležitú úlohu v boji proti mnohým vzdušným infekčným ochoreniam (chrípka, rota vírusy, osýpky) a sú prvou obrannou líniou pri imunologickej odpovedi. V práci bol sledovaný meniaci sa N-glykánový profil IgA protilátok, ktoré boli produkované v ovariálnych bunkách čínskeho škrečka za rôznych podmienok. Profil biologicky dostupných glykánov bol získaný pomocou na lektínoch založenej microarray metódy, pri ktorej boli vzorky rekombinantných IgA nanášané vo forme škvrn (nL objemy) na epoxidové microarray substráty, inkubované s biotinylovanými lektínmi rôznej špecificity, značené fluorescenčnou značkou konjugovanou so streptavidínom a merané fluorescenčným skenerom. Glykány prítomné vo vzorkách boli po ich odštiepení analyzované taktiež pomocou MALDI-MS a vybrané glykánové štruktúry boli ďalej analyzované MS-MS. Výsledky oboch metód medzi sebou korelovali a tieto metódy sa javia ako vhodné na sledovanie glykozylácie a jej zmien u IgA a iných terapeutických proteínov<sup>1</sup>.

Práca bola podporená grantami APVV SK-SRB-18-0028, APVV-17-0239, VEGA 2/0137/18, VEGA 2/0130/18, MZ SR 2019/7-CHÚSAV-4, COST CA16113 a COST CA18132.

## LITERATÚRA

1. Pažitná L. et al.: J. Biotechnol. 314-315, 34 (2020).
2. Zauner G. et al.: Mol. Cell. Proteomics. 12, 856 (2013).

## 1P-04

**MALDI-MS METHOD FOR DISCOVERY OF GLYCAN BIOMARKERS IN COLORECTAL CANCER**

**JUVISSAN AGUEDO\*, ZUZANA PAKANOVA, JAN TKAC**

Institute of Chemistry, Slovak Academy of Sciences (ICSAS), Bratislava, Slovakia  
chemjmaa@savba.sk

Colorectal cancer (CRC) is the third most common cancer detected in both men and women and the second most common cause of cancer deaths in the United States according to the World Health Organization<sup>1</sup>. Some studies have identified presence of aberrant glycans at early stages of CRC and changes in the glycosylation pathway are associated with the CRC progression<sup>2</sup>. To establish a glycosylation analysis is still challenging because of the low throughput, sample preparation is very laborious and time consuming, the system is very complex to operate and highly qualified analyst is needed to interpret the mass spectrometry (MS) spectra. Since glycans can be useful biomarkers for early detection of CRC is necessary to establish a glycosylation analysis. In our study we are aiming to identify potential glyco-biomarkers in model glycoproteins and serum samples using matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI) time-of-flight (TOF) MS. Experimental approach: The glycoprotein was treated with PNGase F to release glycans that were purified using PGC columns and sequently permethylated. Glycosylated structures were assigned using GlycoWorkbench. Additional MS/MS fragmentation was performed in order to know the structural analysis of N-glycans. Results and discussion: in alpha-fetoprotein, the degree of fucosylation was found to be 18.6%, while sialylated and branched glycans were 5.5% and 3.4%, respectively. The predominant glycoform was A2G2 (62.8%), followed by FA2G1 (7.4%) and FA2G2 (4.5%). The glycans identified in serum samples will be shown in detail in our poster. Furthermore, the masses of the main glycans were as expected. Conclusion: MALDI-MS analysis allowed to identify and quantify the glycans present in model glycoproteins, aberrant glycans such as sialylated, fucosylated, and branched glycans can be used as promising biomarkers for early diagnostic of CRC.

The authors would like to acknowledge for the financial support from the Innovative Training Network (no 813120) and from the Ministry of Health of the Slovak Republic under the project registration number 2019/7-CHÚSAV-4.

## REFERENCES

1. Caso R., Fabrizio A., Sosin M.: Annals of Translational Medicine 8, 164 (2020).
2. de Freitas Junior J. C. M., Morgado-Díaz J. A.: Oncotarget 7, 19395 (2016).