



## Laboratorium Glikomiki.

Nowe możliwości w dobie rozwoju współczesnej glikobiologii

Glycomics Laboratory

New possibilities in the field of modern glycan analysis

Dr Paweł Link-Lenczowski, Zakład Fizjologii Medycznej, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum



# Transforming Glycoscience

A ROADMAP FOR THE FUTURE

Committee on Assessing the Importance and Impact of  
Glycomics and Glycosciences

Board on Chemical Sciences and Technology  
Board on Life Sciences

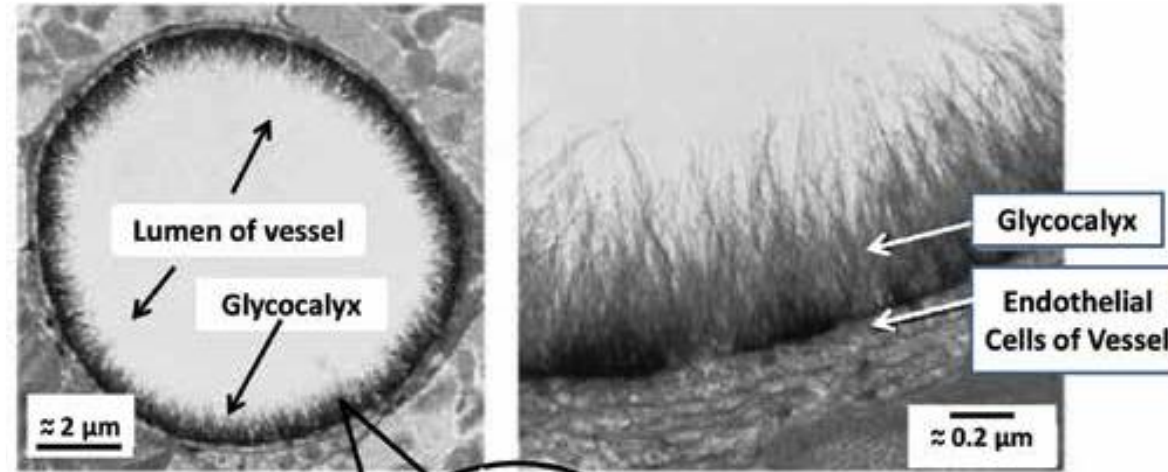
Division on Earth and Life Studies

NATIONAL RESEARCH COUNCIL  
OF THE NATIONAL ACADEMIES

*“Glycans play roles in almost every biological process and are involved in every major disease.”*

*National Research Council USA, 2012*

śródbłonek naczyniowy



AANA Journal, December 2013, Vol. 81, No. 6

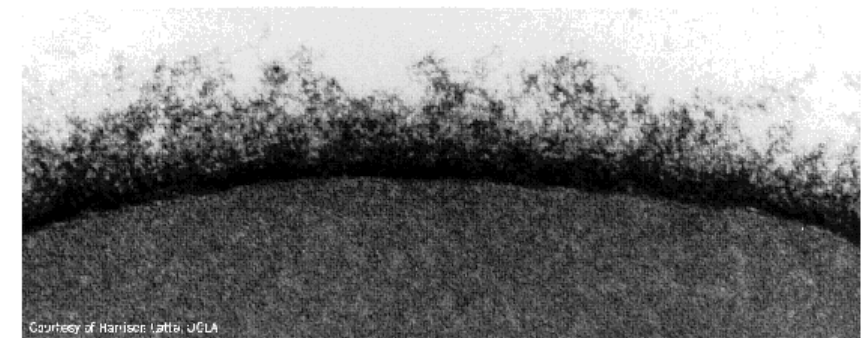
enterocyt

glikokaliks



<http://course1.winona.edu/>

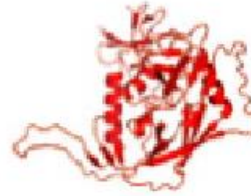
erytrocyt



Courtesy of Harisson Latta, UCLA

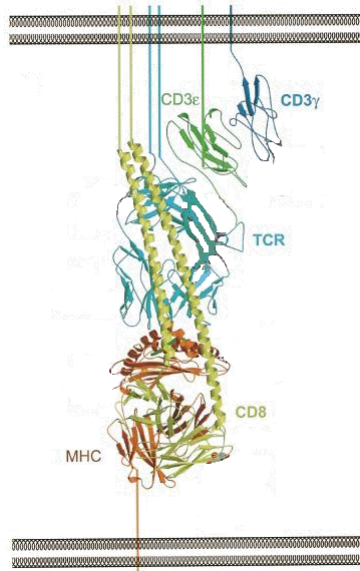
Courtesy of Harisson Latta, UCLA

<http://www3.nd.edu/>



HIV gp120

Kong L. *et al.*, *J. Mol. Biol.* 403 (1): 131-147 (2010)



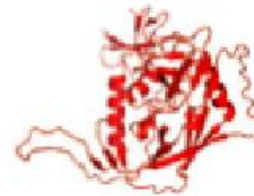
„immunological synapse”

Rudd P.M. *et al.*, *J. Mol. Biol.* 293: 351-366 (1999)



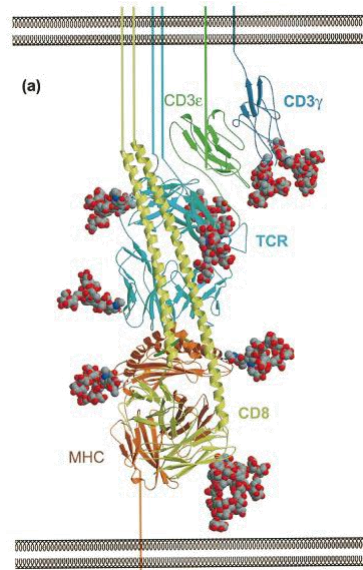
Elastase from human leukocytes

Rudd P.M. *et al.*, *J. Mol. Biol.* 293: 351-366 (1999)



HIV gp120

Kong L. *et al.*, *J. Mol. Biol.* 403 (1): 131-147 (2010)



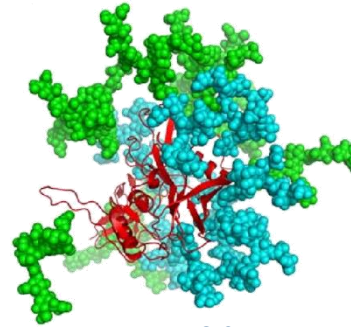
„immunological synapse”

Rudd P.M. *et al.*, *J. Mol. Biol.* 293: 351-366 (1999)



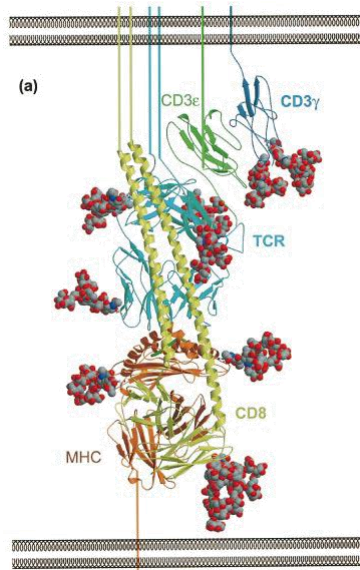
Elastase from human leukocytes

Rudd P.M. *et al.*, *J. Mol. Biol.* 293: 351-366 (1999)



HIV gp120

Kong L. *et al.*, *J. Mol. Biol.* 403 (1): 131-147 (2010)



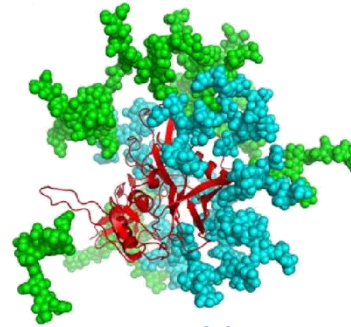
„immunological synapse”

Rudd P.M. *et al.*, *J. Mol. Biol.* 293: 351-366 (1999)



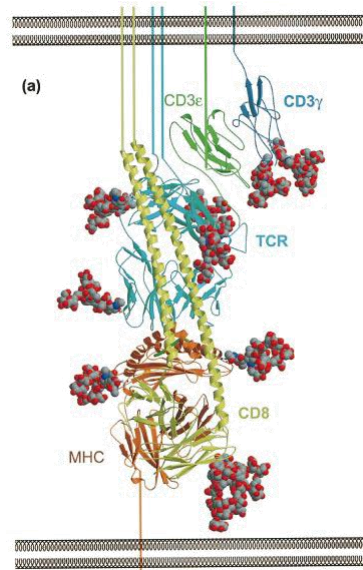
Elastase from human leukocytes

Rudd P.M. *et al.*, *J. Mol. Biol.* 293: 351-366 (1999)



HIV gp120

Kong L. *et al.*, *J. Mol. Biol.* 403 (1): 131-147 (2010)



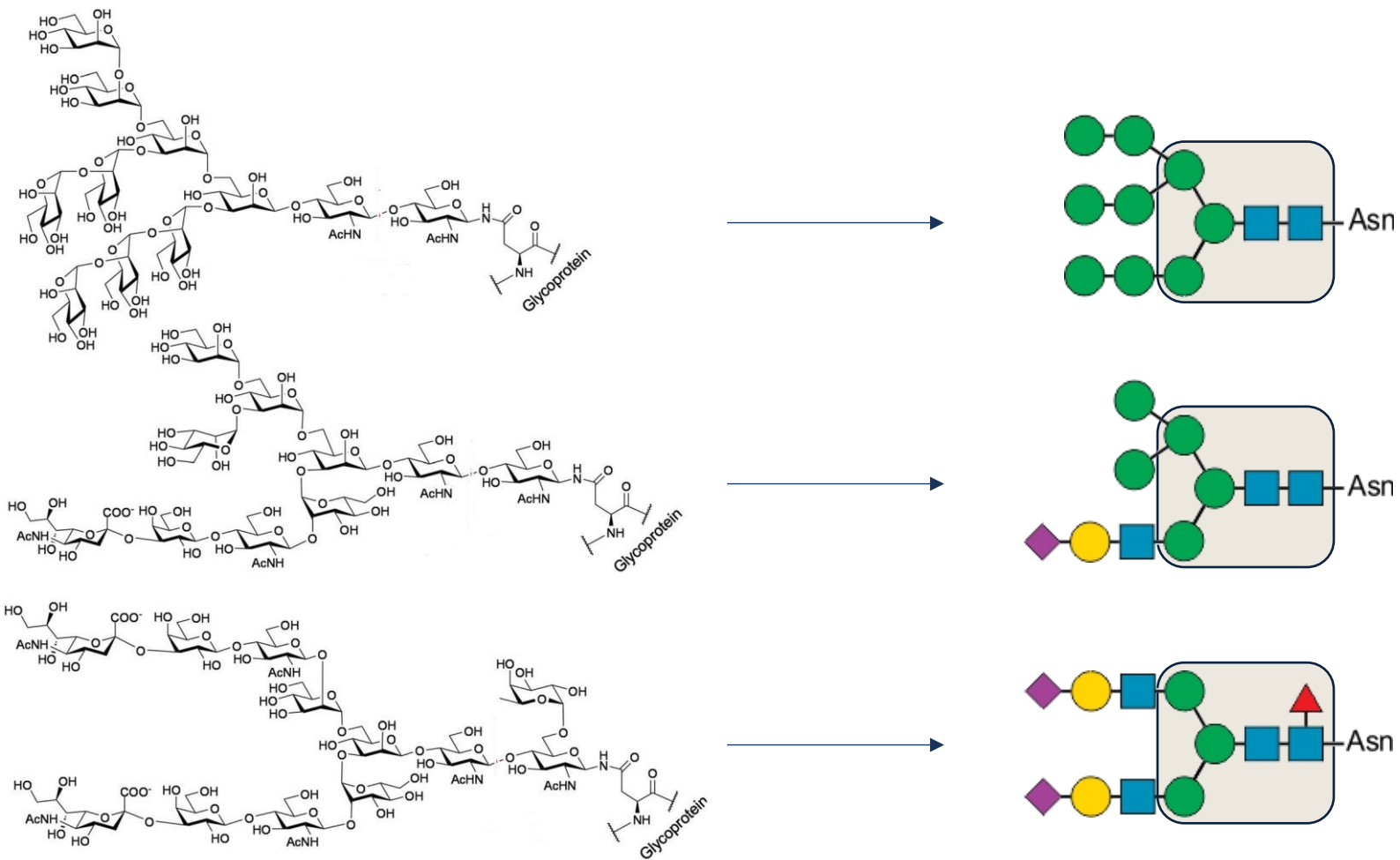
„immunological synapse”

Rudd P.M. *et al.*, *J. Mol. Biol.* 293: 351-366 (1999)

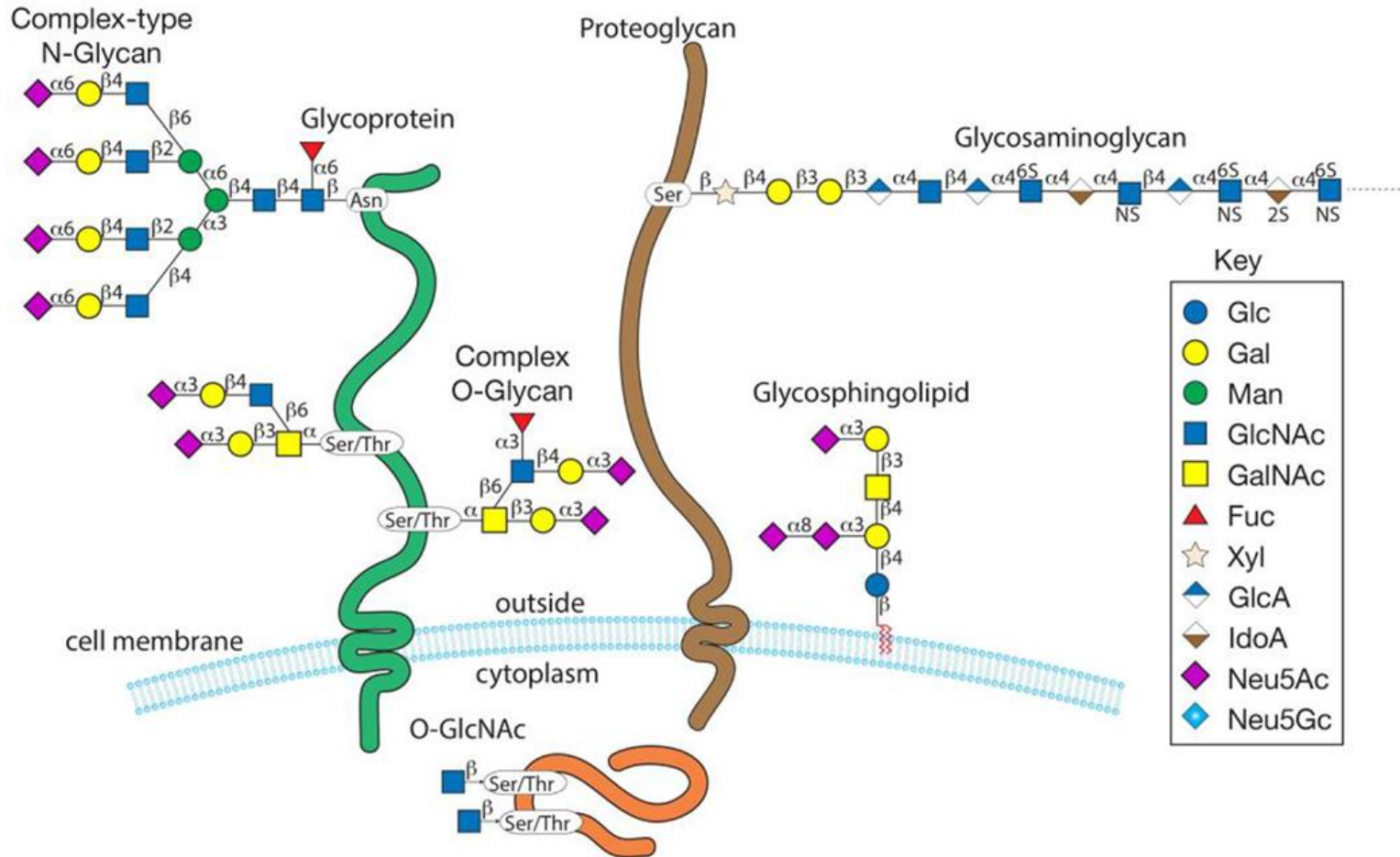


Elastase from human leukocytes

Rudd P.M. *et al.*, *J. Mol. Biol.* 293: 351-366 (1999)



Chem. Soc. Rev., 2017, 46, 5128--5146



Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, volume 17, pages597–617 (2020)



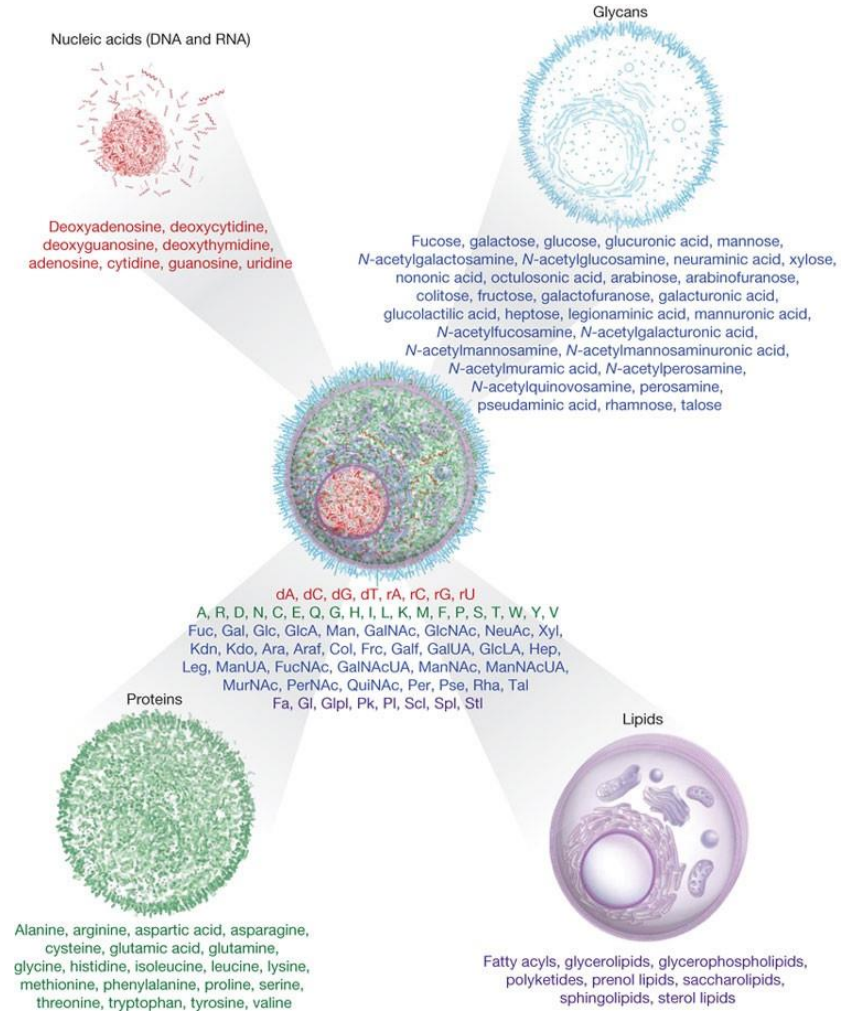
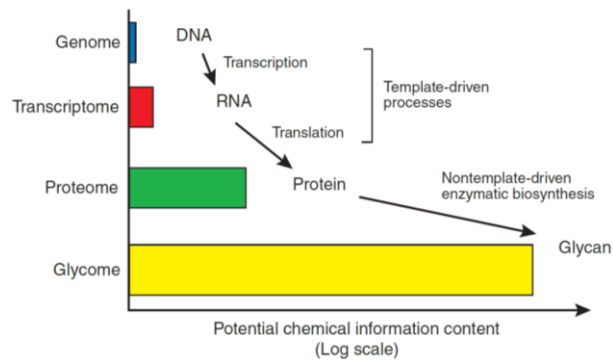
<https://www.bioch.ox.ac.uk/>

Prof. Raymond Dwek, Oxford Glycobiology Institute

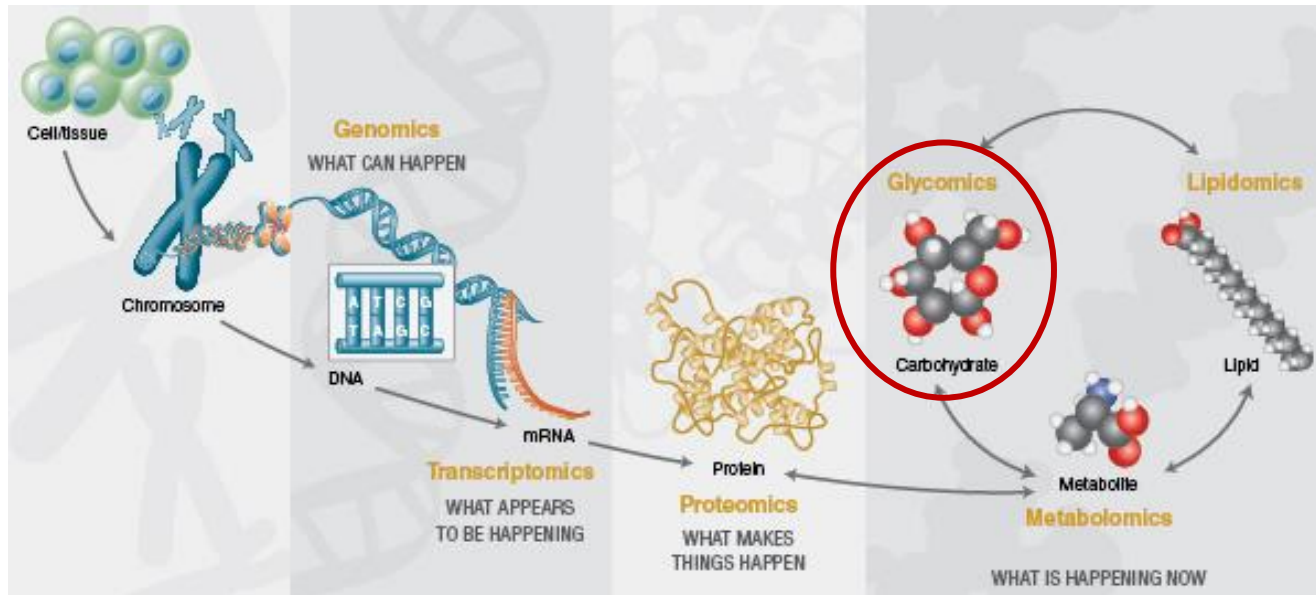
**glycobiology**, (*ˌɡlɪkəʊbaɪˈɒlədʒɪ*), *n.* *Biochem.*

[f. GLYCO- + BIOLOGY *n.*: coined by Prof. Raymond Dwek (see quot. 1988<sup>2</sup>)] The branch of science concerned with the role of sugars in biological processes.

**glycans** - all forms of oligo- and polysaccharides in biological systems (free and in combination with other molecules).



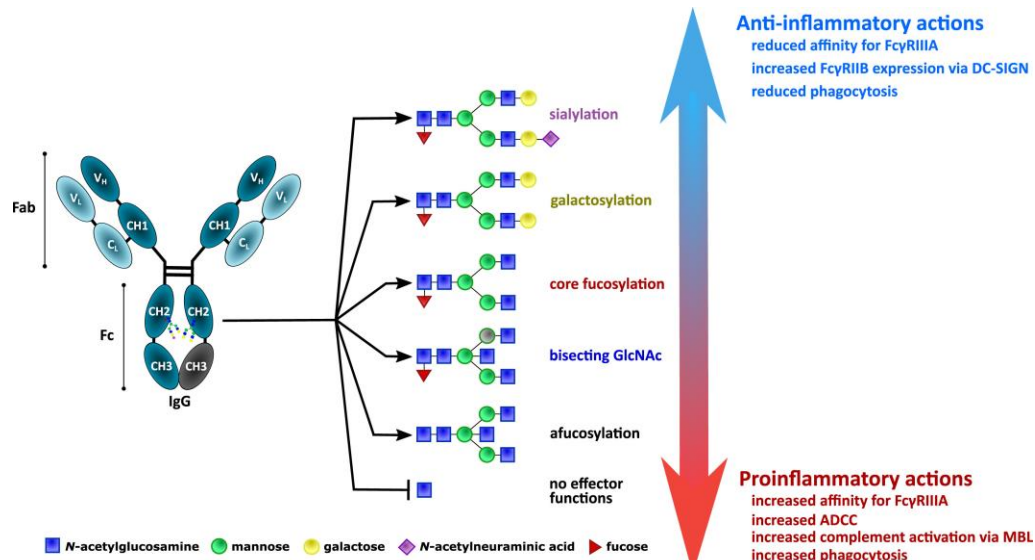
J. D. Marth, Nature Cell Biology 10(9), 2008



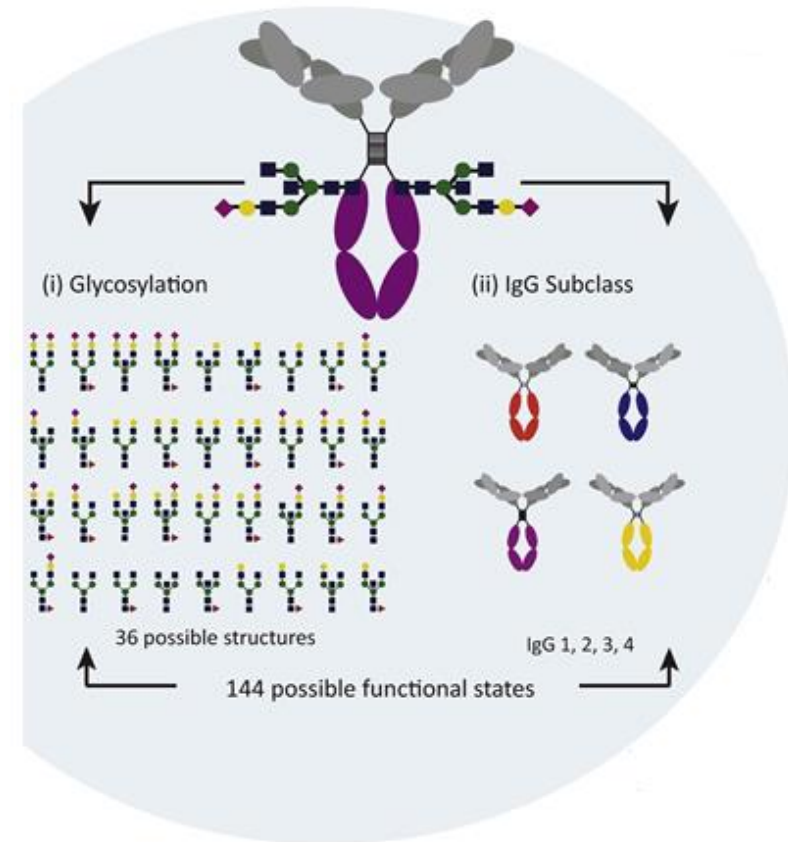
[www.neb.com](http://www.neb.com) Christopher H. Taron and Pauline M. Rudd, Glycomics: A rapidly evolving field with a sweet future

“  
W XX wieku geny miały się wyśmienicie. [...] Dzięki nim weszliśmy w nową erę biologii i możemy spodziewać się jeszcze bardziej zadziwiających postępów. Ale by to osiągnąć potrzebujemy innych pomysłów, innych pojęć, innych sposobów myślenia o biologicznej organizacji.”

Margaret M. Lock, Vinh-Kim Nguyen, *An Anthropology of Biomedicine*



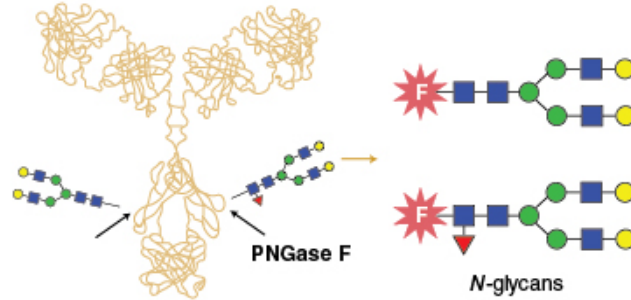
Molecular Aspects of Medicine Volume 79, June 2021, 100891



Trends in Immunology Volume 38, Issue 5, May 2017, 358-372

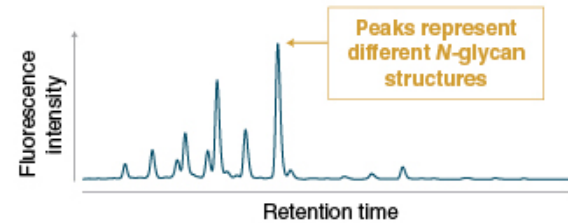
## Sample Preparation

- 1 Total serum glycoproteins or IgG
- 2 N-glycan release with PNGase F
- 3 Fluorescent glycan labeling



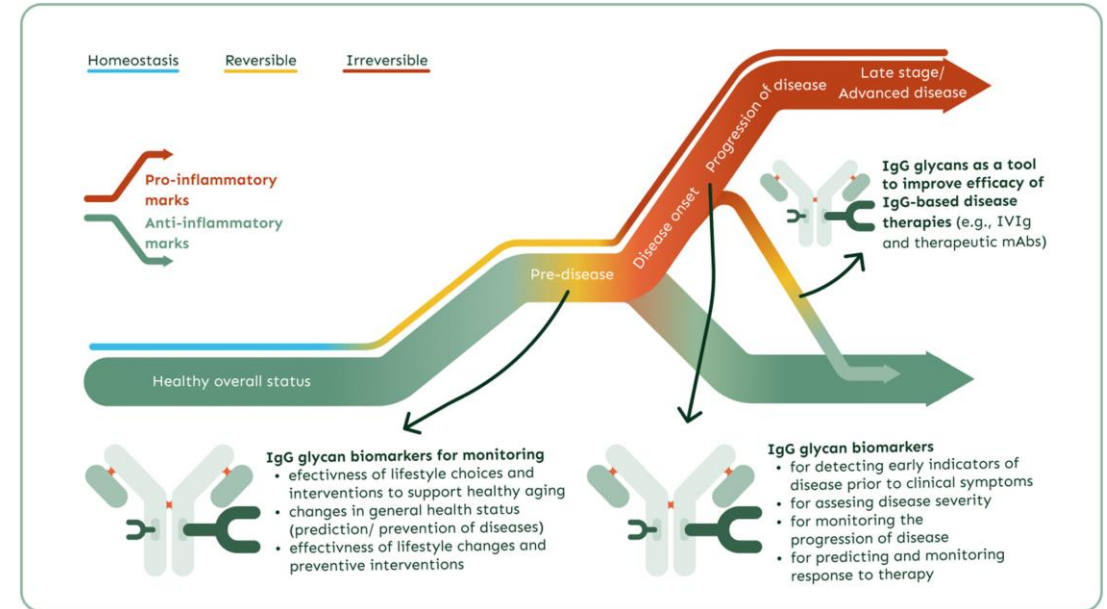
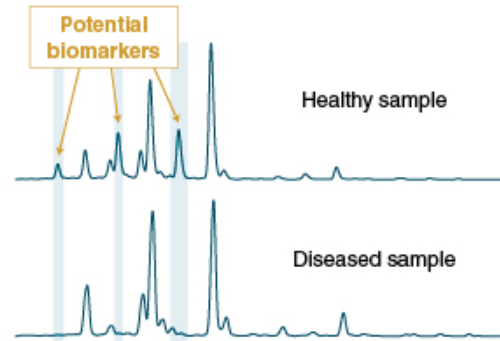
## Glycan Analysis

- 1 LC-FLR or LC-MS
- 2 Exoglycosidase digestion



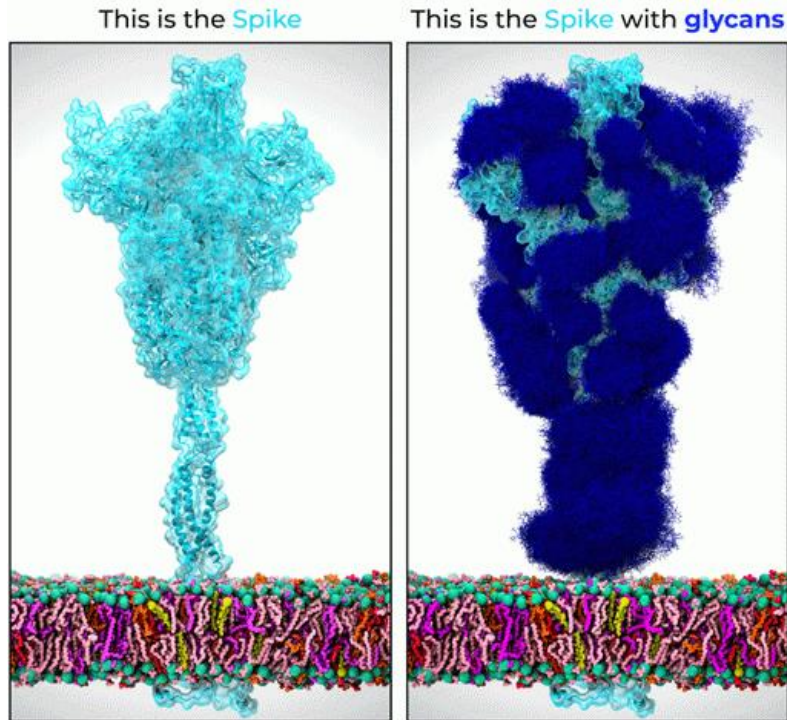
## Data Interpretation

- 1 Relative quantification of peaks
- 2 Identification of potential biomarkers
- 3 Structural assignments
- 4 Statistical analysis

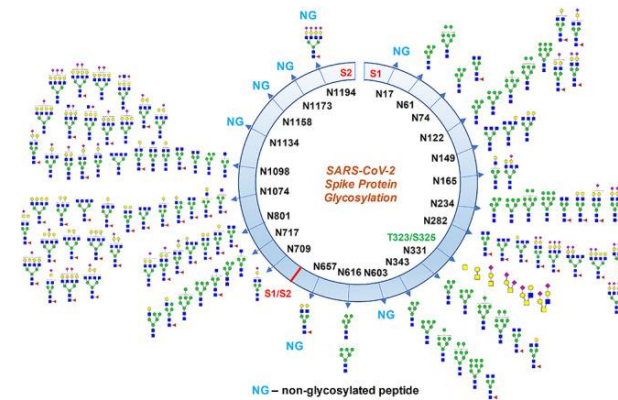
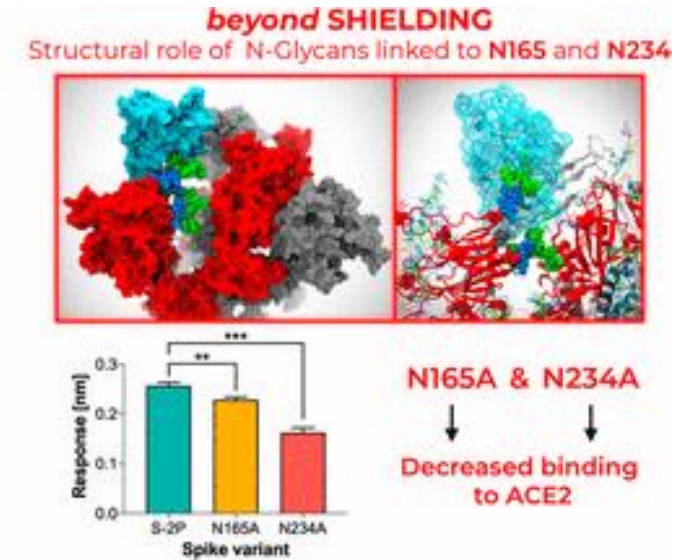
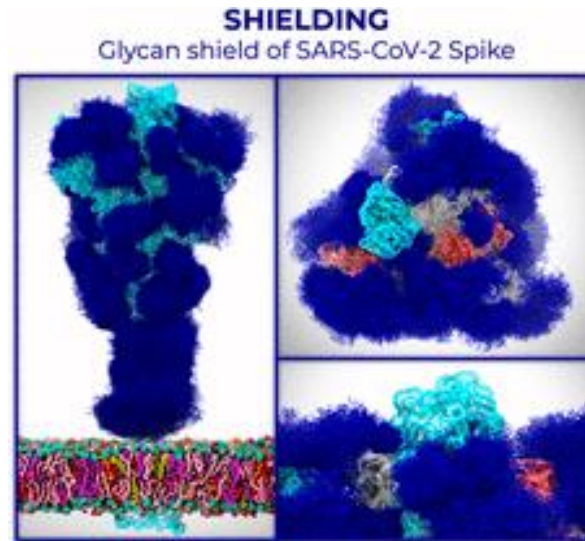


Jasminka Krištić, Gordan Lauc, Immunological Reviews 2024, DOI: (10.1111/imr.13407)

- choroby zapalne i autoimmunologiczne
- choroby sercowo-naczyniowe
- infekcje
- wpływ hormonów, interwencji terapeutycznych, aktywności fizycznej
- „glycanage”

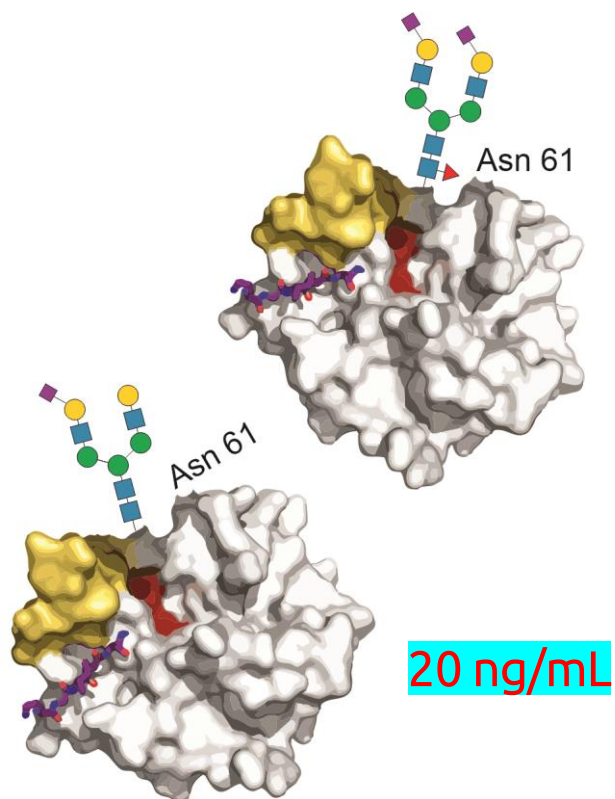


ACS Cent. Sci. 2020, 6, 10, 1722–1734

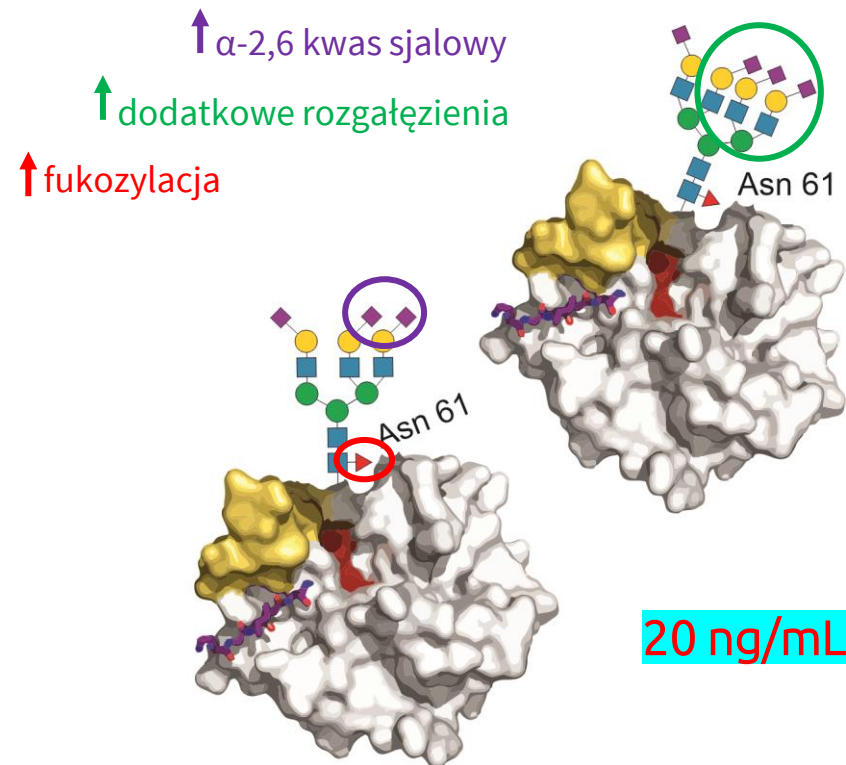


Glycobiology, 01 Dec 2020, 30(12):981-988

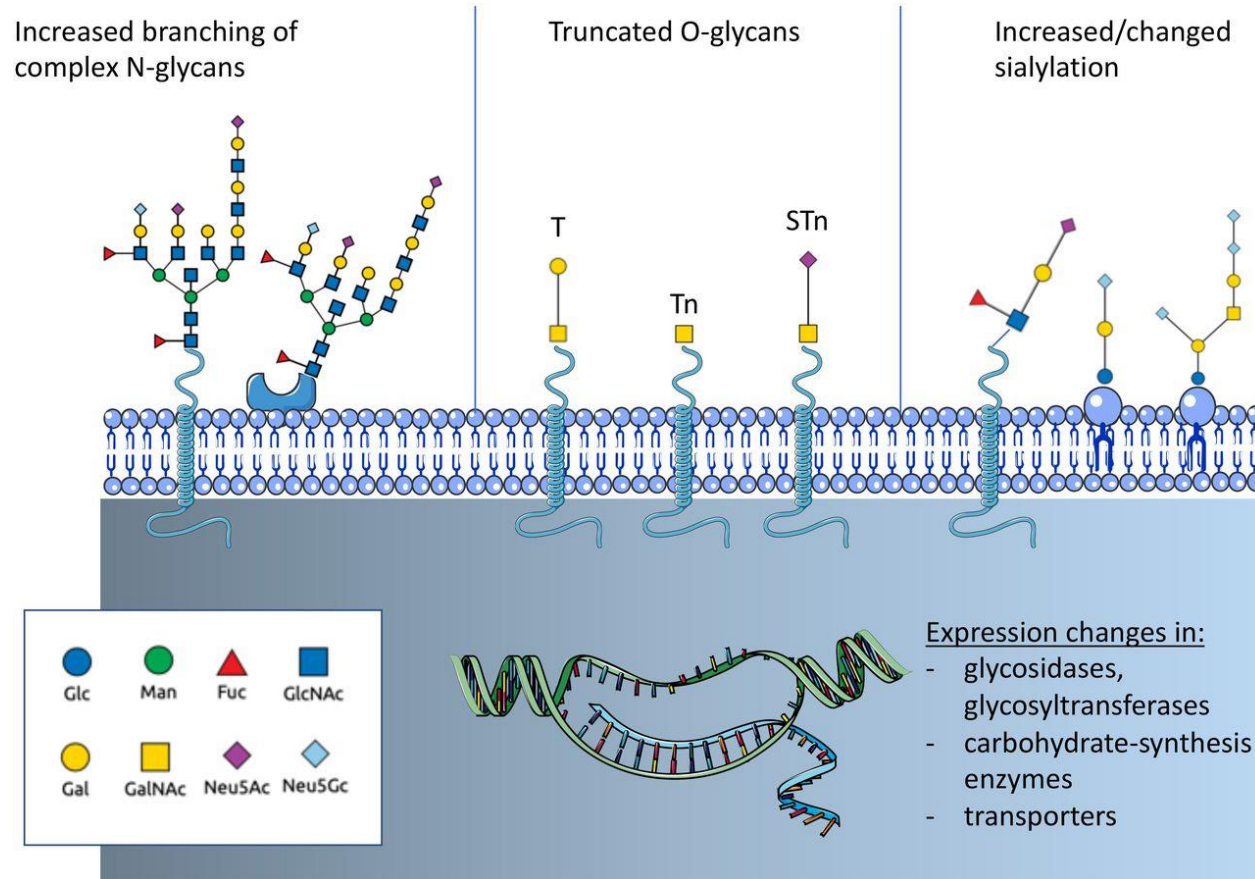
## PSA – antygen swoisty gruczołu krokowego



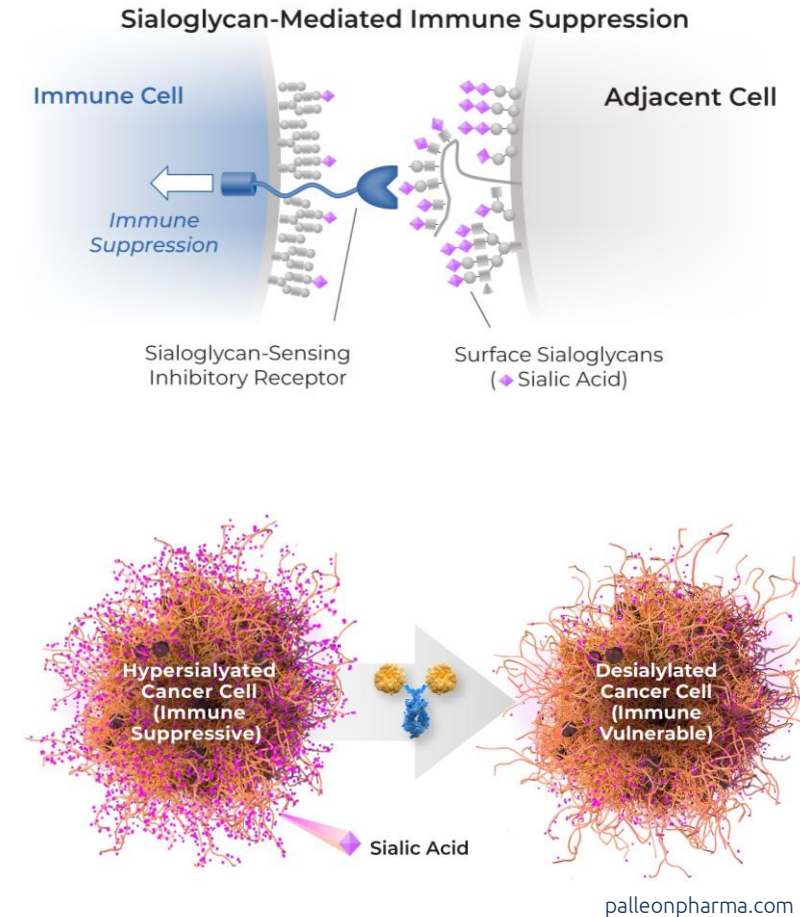
- zdrowy
- łagodny rozrost prostaty



- nowotwór prostaty



*Journal for Immunotherapy of Cancer 2020;8:e001222.*



## Zespół

Mgr inż. Aleksandra Sędzik

Mgr Veronika Davydenko



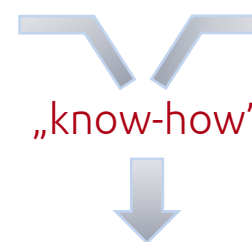
## Aparatura badawcza



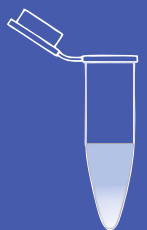
Waters Acquity™ I-Class Plus UPLC  
+  
Waters Vion™ IMS-qToF



Bruker Rapiflex™ MALDI-ToF/ToF



*Szczegółowa charakterystyka glikozylacji*



### Rodzaje próbek:

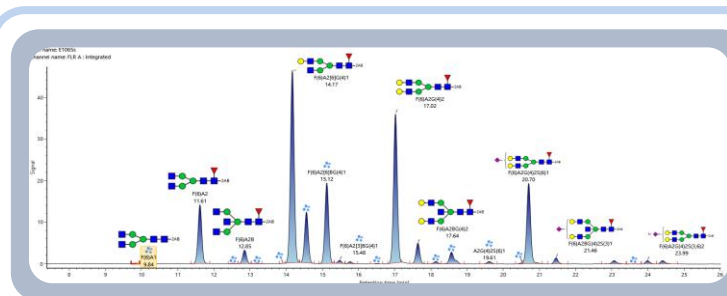
- komórki/tkanki ludzkie i zwierzęce
- płyny ustrojowe (surowica/osocze, ślina, moczu)
- oczyszczone glikoproteiny (np. IgG)
- biofarmaceutyki (np. mABs)



Uwolnienie i oczyszczanie N-glikanów

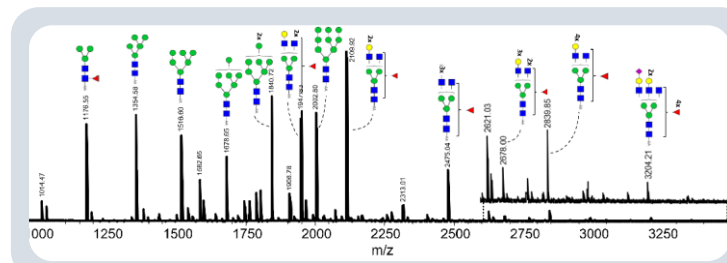


derywatyżacja i oczyszczanie N-glikanów  
(znakowanie 2-AB, 2-AA; stabilizacja kwasów sjałowych *etc.*)



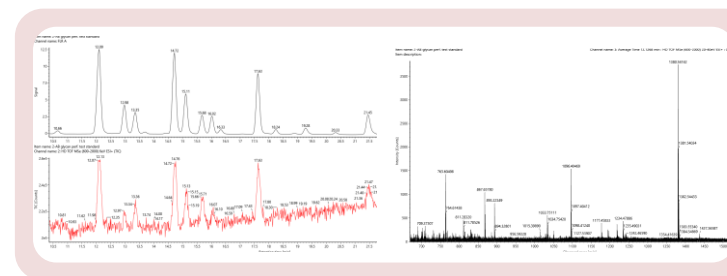
UPLC-FLR

- Analiza porównawcza na podstawie profilu HILIC-UPLC
- Wstępna charakterystyka jakościowa na podstawie wartości GU
- Względna analiza ilościowa zidentyfikowanych pików chromatograficznych



MALDI-ToF

- Wysokoprzepustowa analiza porównawcza na podstawie widm MALDI-TOF
- Identyfikacja glikanów na podstawie wartości m/z
- Względna analiza ilościowa zidentyfikowanych glikanów



UPLC-FLR-ESI-MS/MS, MALDI-ToF/ToF

- Analiza jakościowa i ilościowa na podstawie wartości GU z potwierdzeniem masowym (IgG, mABs, biofarmaceutyki)
- Dokładna analiza jakościowa glikanów na podstawie wartości GU, m/z, CCS oraz widm fragmentacyjnych

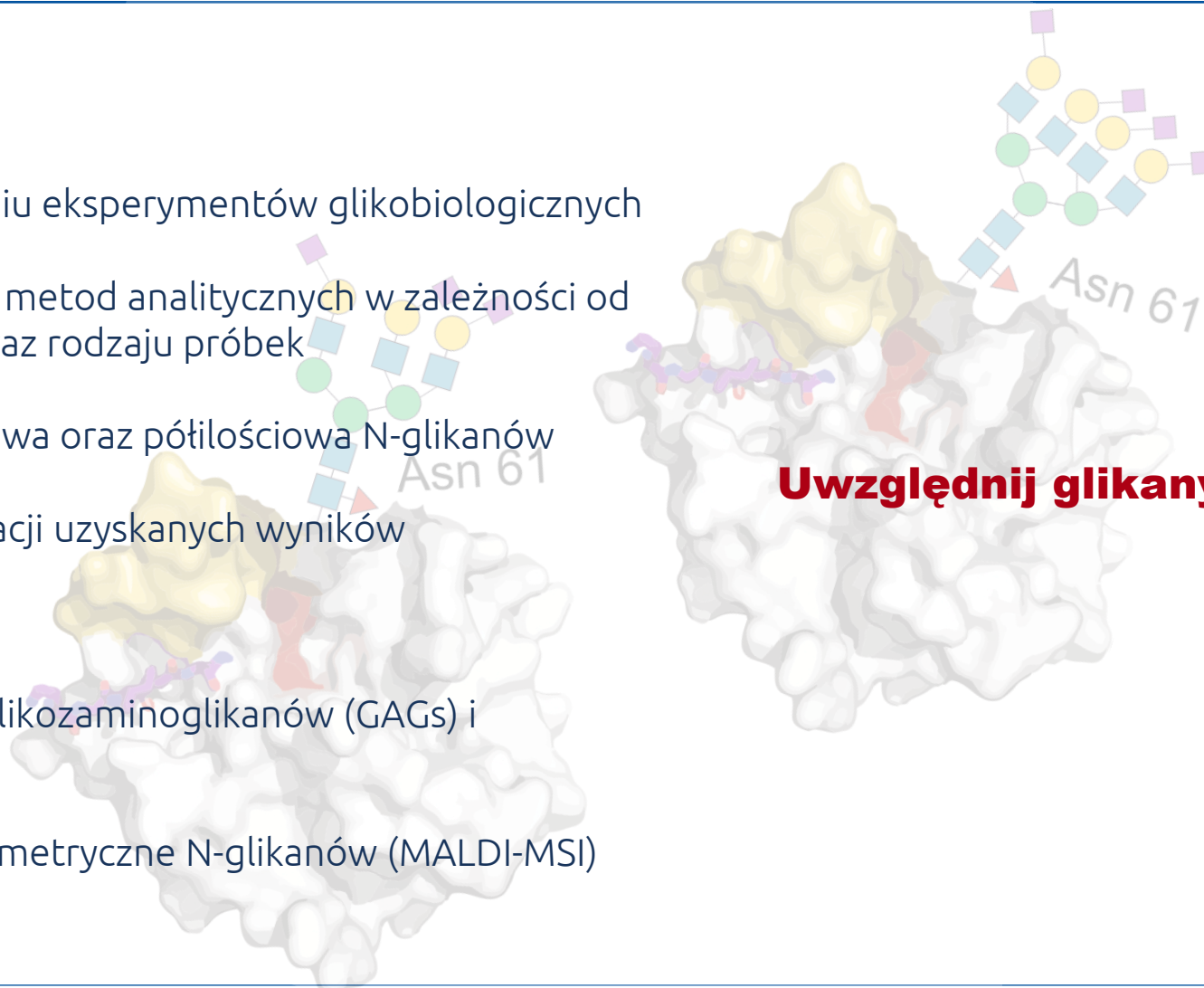


### Oferujemy:

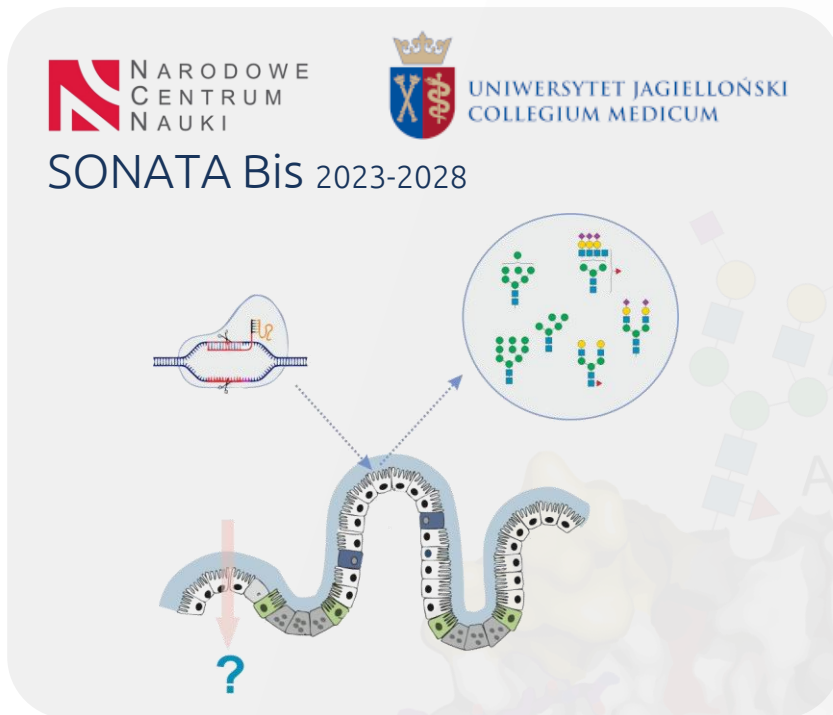
- wsparcie w planowaniu eksperymentów glikobiologicznych
- wybór odpowiednich metod analitycznych w zależności od wymagań projektu oraz rodzaju próbek
- pełna analiza jakościowa oraz ilościowa N-glikanów
- wsparcie w interpretacji uzyskanych wyników


### ... w przyszłości:

- analiza O-glikanów, glikozaminoglikanów (GAGs) i glikosfingolipidów
- obrazowanie spektrometryczne N-glikanów (MALDI-MSI)



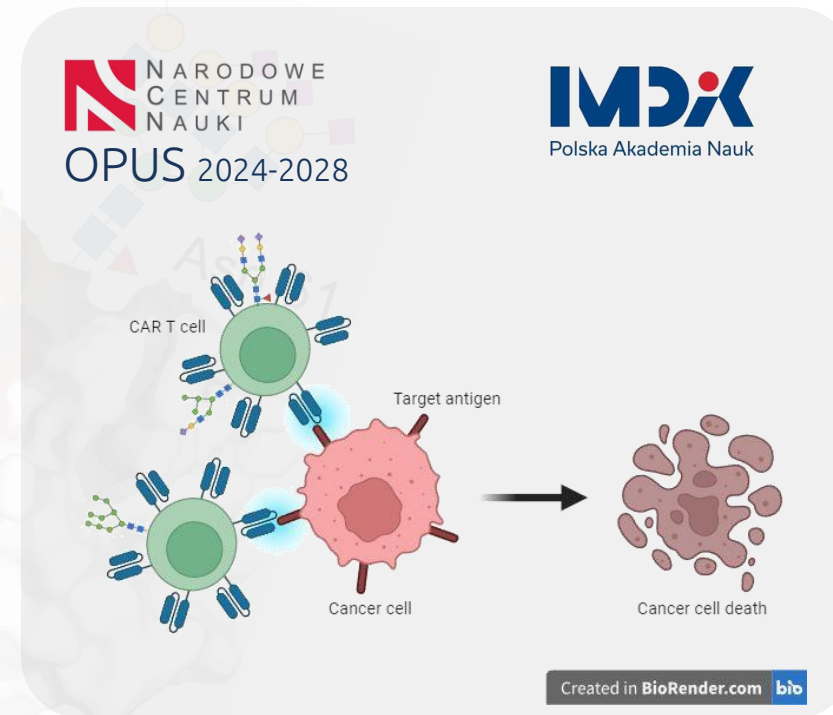
**Uwzględnij glikany w swoich badaniach!**




**NARODOWE CENTRUM NAUKI**  **UNIwersYTET JAGIELLOŃSKI COLLEGIUM MEDICUM**

**SONATA Bis 2023-2028**


Diagram illustrating a biological pathway with a question mark, likely related to the SONATA Bis project.



**NARODOWE CENTRUM NAUKI**  **IMDA**  
Polska Akademia Nauk

**OPUS 2024-2028**

Diagram illustrating CAR T cell therapy: CAR T cell + Target antigen → Cancer cell → Cancer cell death.

Created in BioRender.com 

  
**UNIwersYTET JAGIELLOŃSKI W KRAKOWIE**

 **MAŁOPOLSKIE CENTRUM BIOTECHNOLOGII**



**RYU**  
THERAPEUTICS





[www.cdt-card.cm-uj.krakow.pl/](http://www.cdt-card.cm-uj.krakow.pl/)  
[www.linkedin.com/showcase/cdt-card/](https://www.linkedin.com/showcase/cdt-card/)

---

Dr Paweł Link-Lenczowski, Zakład Fizjologii Medycznej, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum