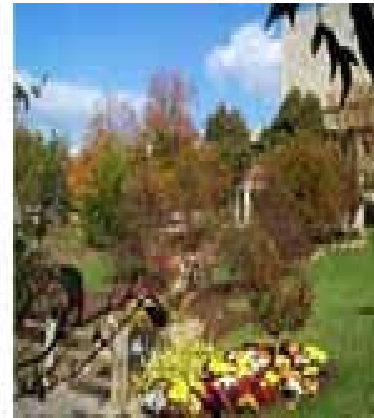


Glycoscience: A Frontier in New Landscapes

Milos V. Novotny

National Center for Glycomics and
Glycoproteomics and Department of Chemistry,
Indiana University,
Bloomington, Indiana, USA

Indiana University



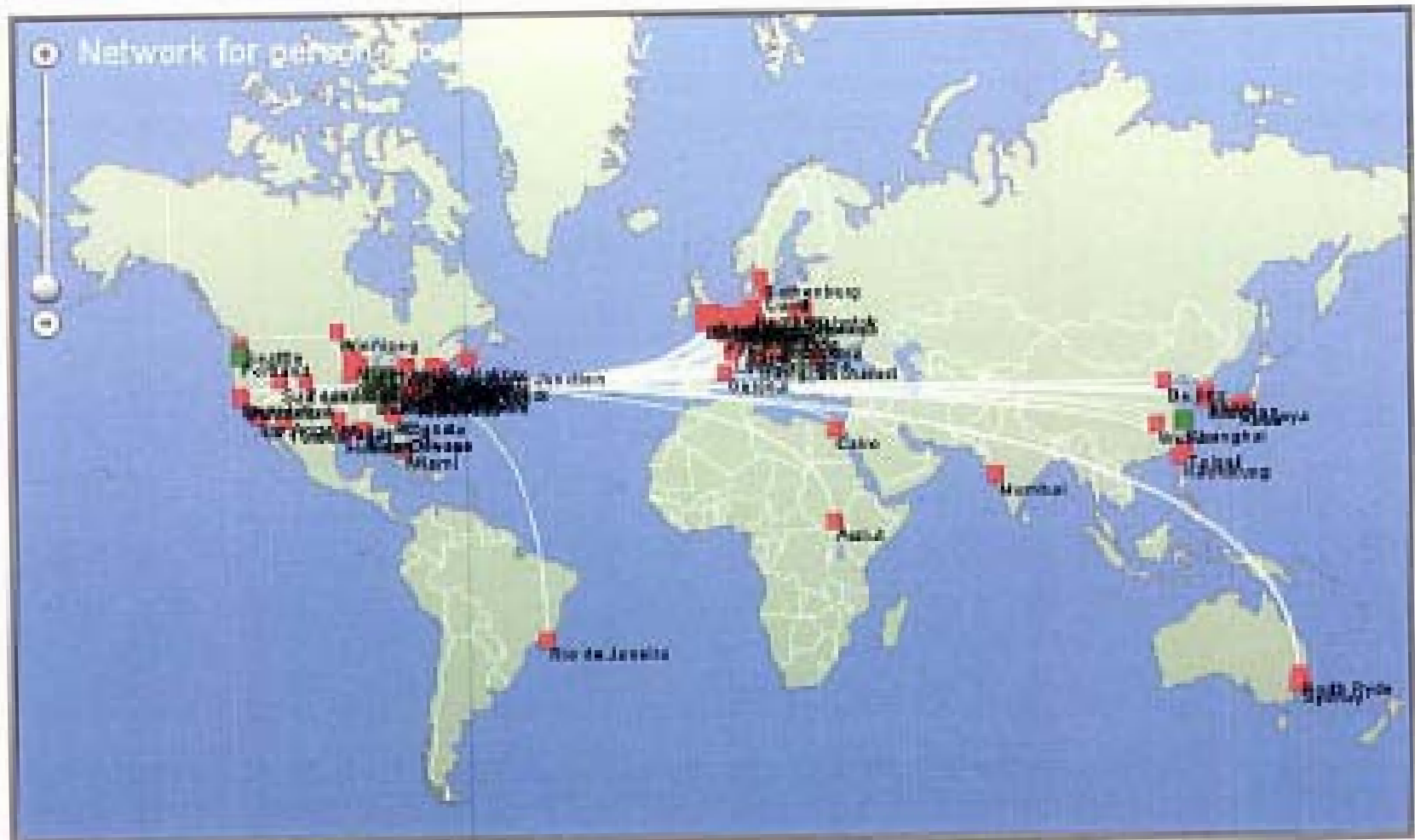
Chemistry Building



Chemistry

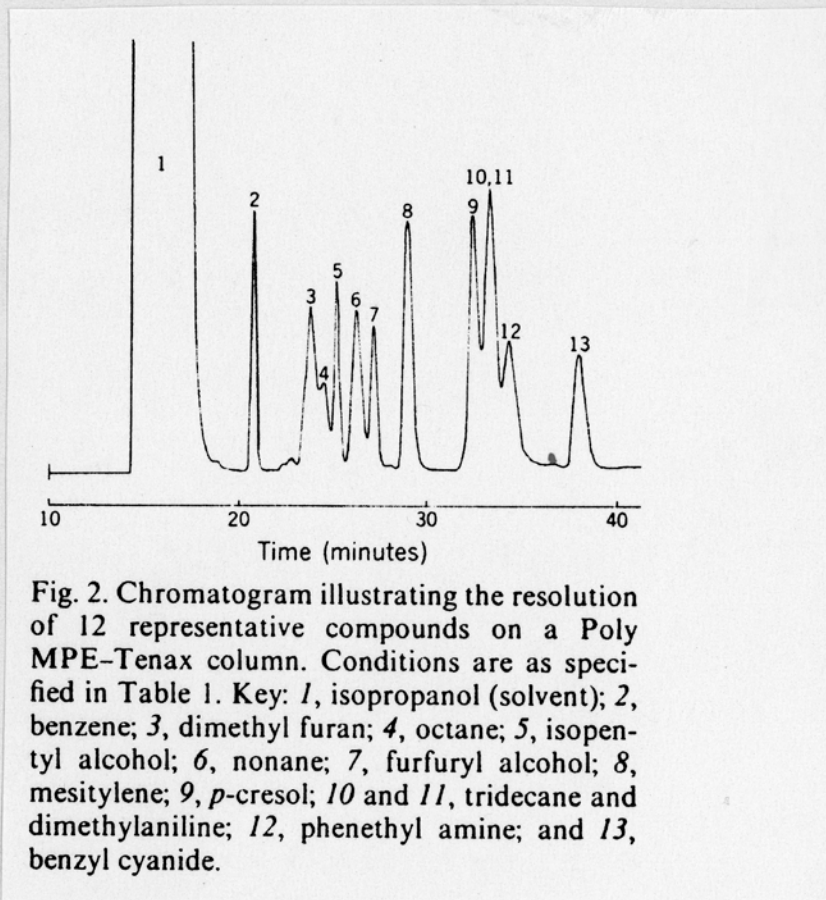
Geonetwork of Milos Novotny (preview)

- Cities where this author has publications
- Cities where co-authors of this author have publications

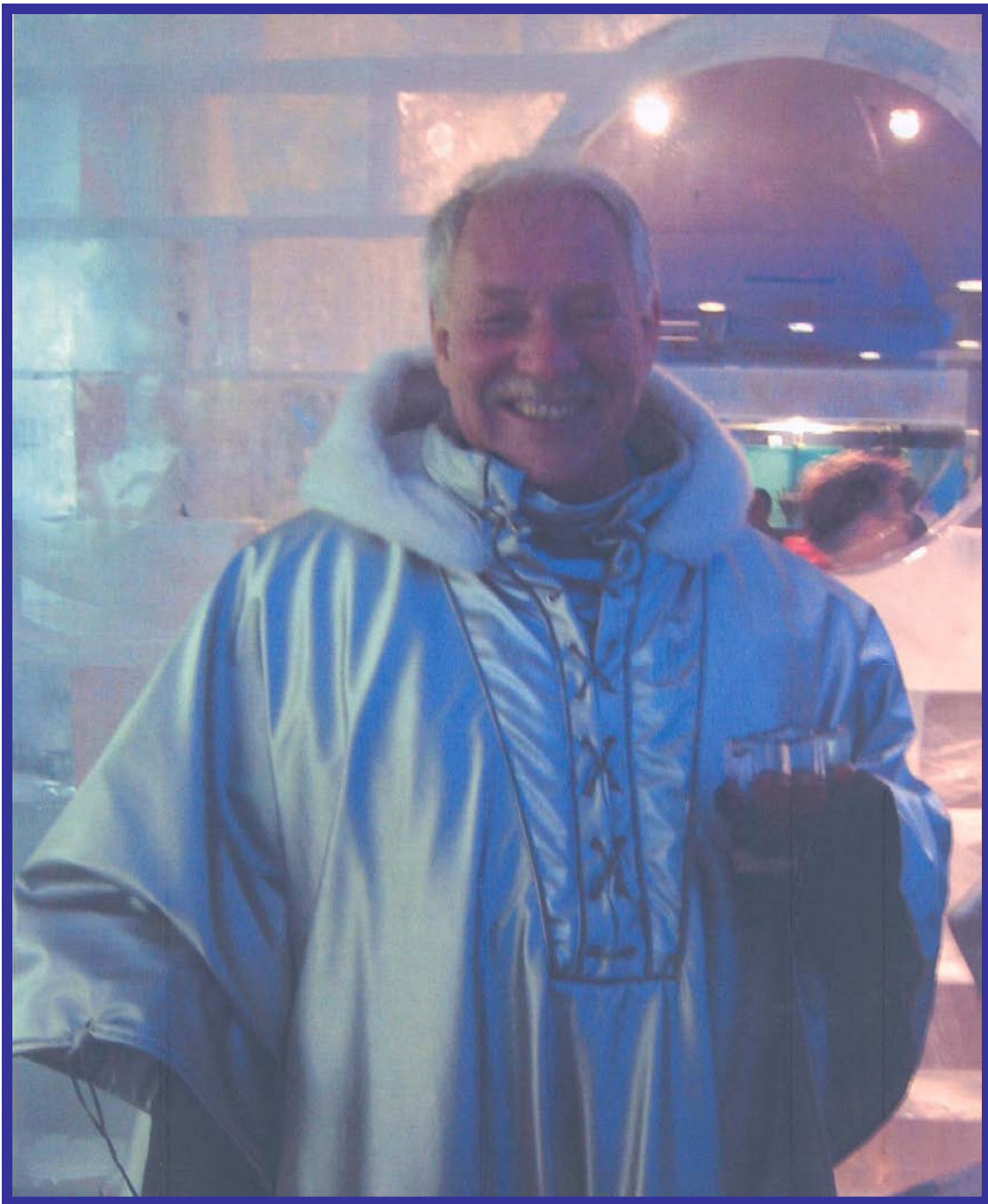








M. Novotny, J. M. Hayes, F. Bruner and P.G. Simmonds, *Science* **189**, 215 (1975)



CO JE ANALYTICKÁ GLYKOBIOLOGIE?

- - Relativně nová vědní oblast integrující nové přístupy k měření základních biologických procesů na buněčné a molekulární úrovni. Staví na znalosti úlohy konjugátů důležitých látek jako jsou bílkoviny (proteiny) a lipidy, ve spojení s cukernými složkami biologické hmoty, takzvanými oligosacharidy (nebo glykany). Zde hovoříme o takzvaných glykoproteinech, glykolipidech a proteoglykanech.
- - I když význam těchto cukerných látek (glykonjugátů) pro selektivní regulaci důležitých buněčných procesů je zřejmý po více než dvě desetiletí, do nedávné doby nebylo možné tyto biologicky důležité procesy kvantitativně vyhodnotit.

ROLE MODERNÍ ANALYTICKÉ CHEMIE

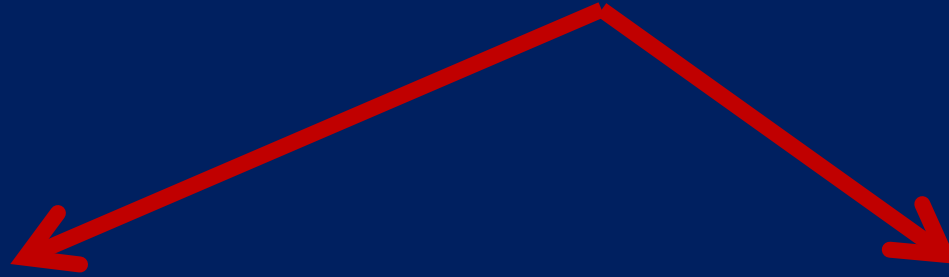
-Nové metody a přístrojová technika otevírají značné možnosti biologického a lékařského významu.

-Jedním z hlavních úkolů je velice citlivá a strukturálně detailní analýza biologických maticí v malých objemech a stopových množstvích biologicky důležitých látek. Hmotnostní spektrometrie je klíčovou detekční metodou v glykobiologii.

-Použití nových separačních přístupů chromatografie a elektroforézy je rovněž žádoucí.

-Kvůli komplexnosti analytických dat je rovněž nutné využít počítačové techniky a bioinformatiky.

ANALYTICKÁ GLYKOBIOLOGIE

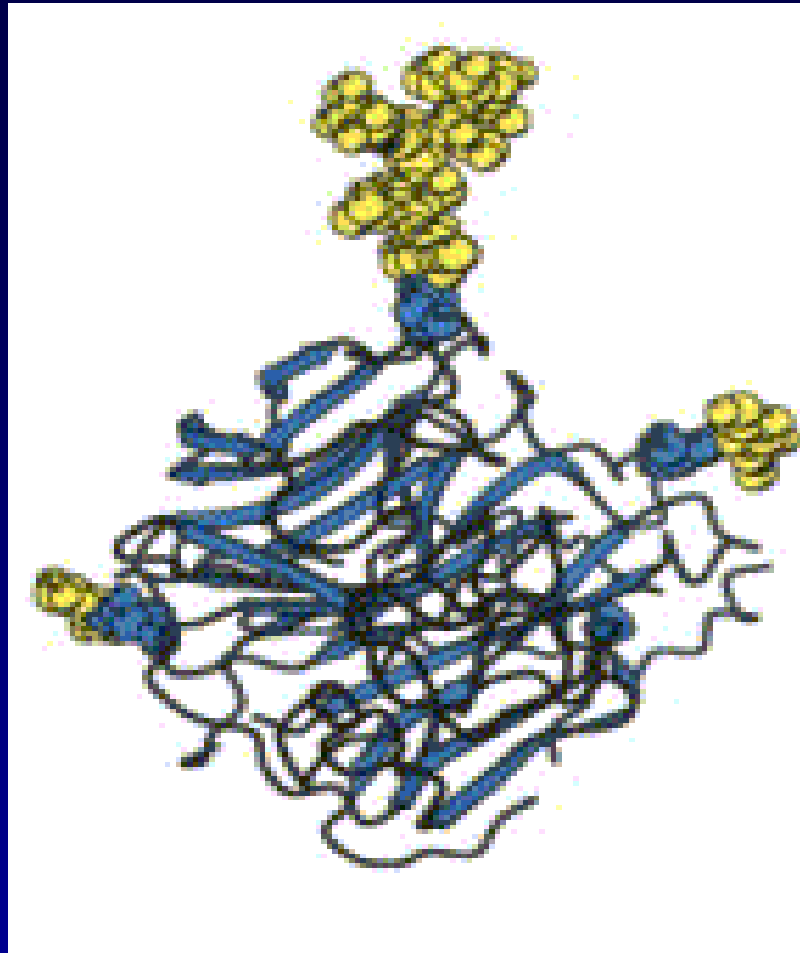


Glykomika

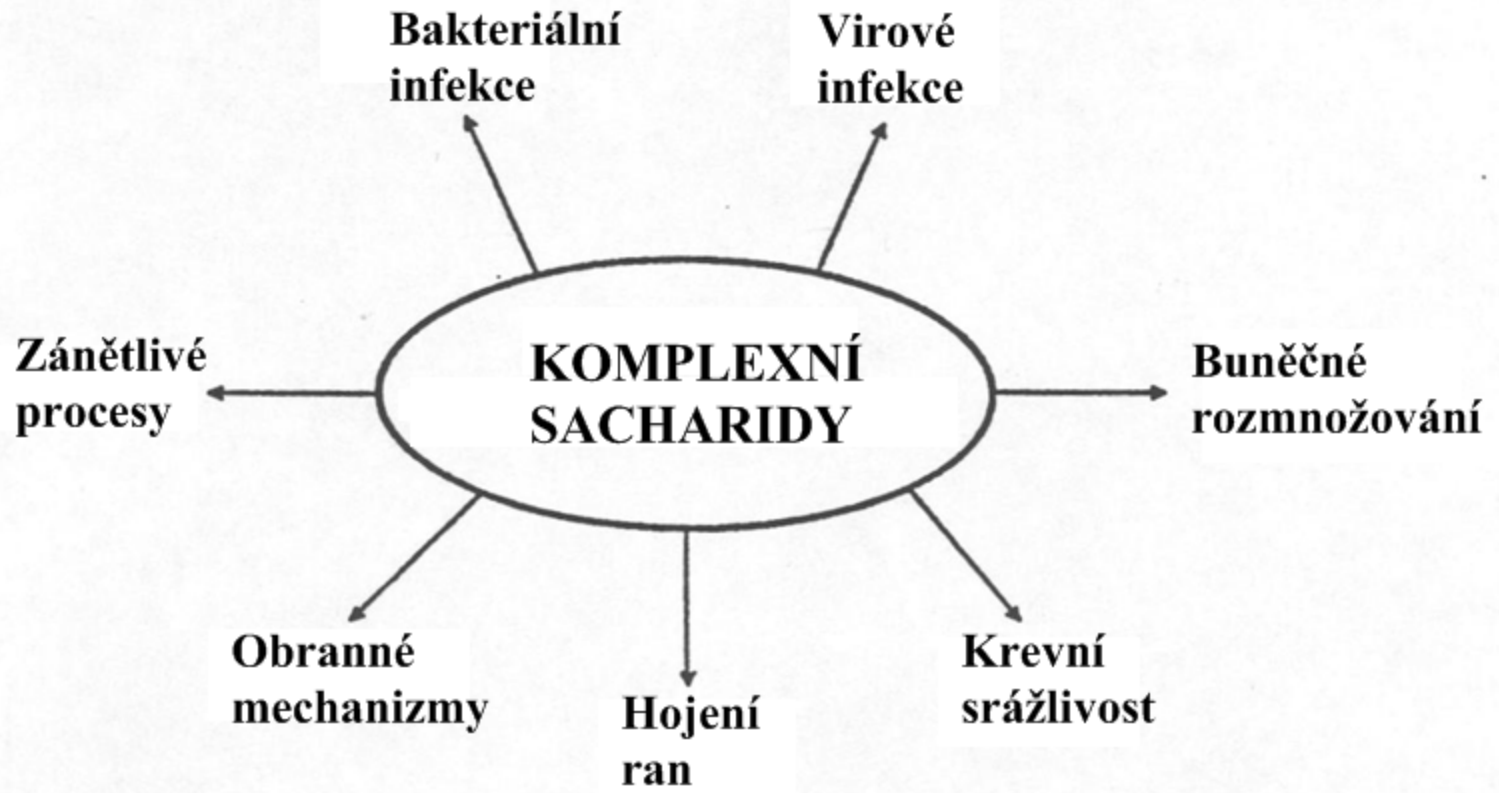
se zabývá studiem
oligosacharidových složek
glykokonjugátů

Glykoproteomika

se zabývá detaily spojení
oligosacharidových složek s
bílkoviny



GLYKOBIOLOGIE
GLYKOPROTEOMIKA
FUNKČNÍ GLYKOMIKA



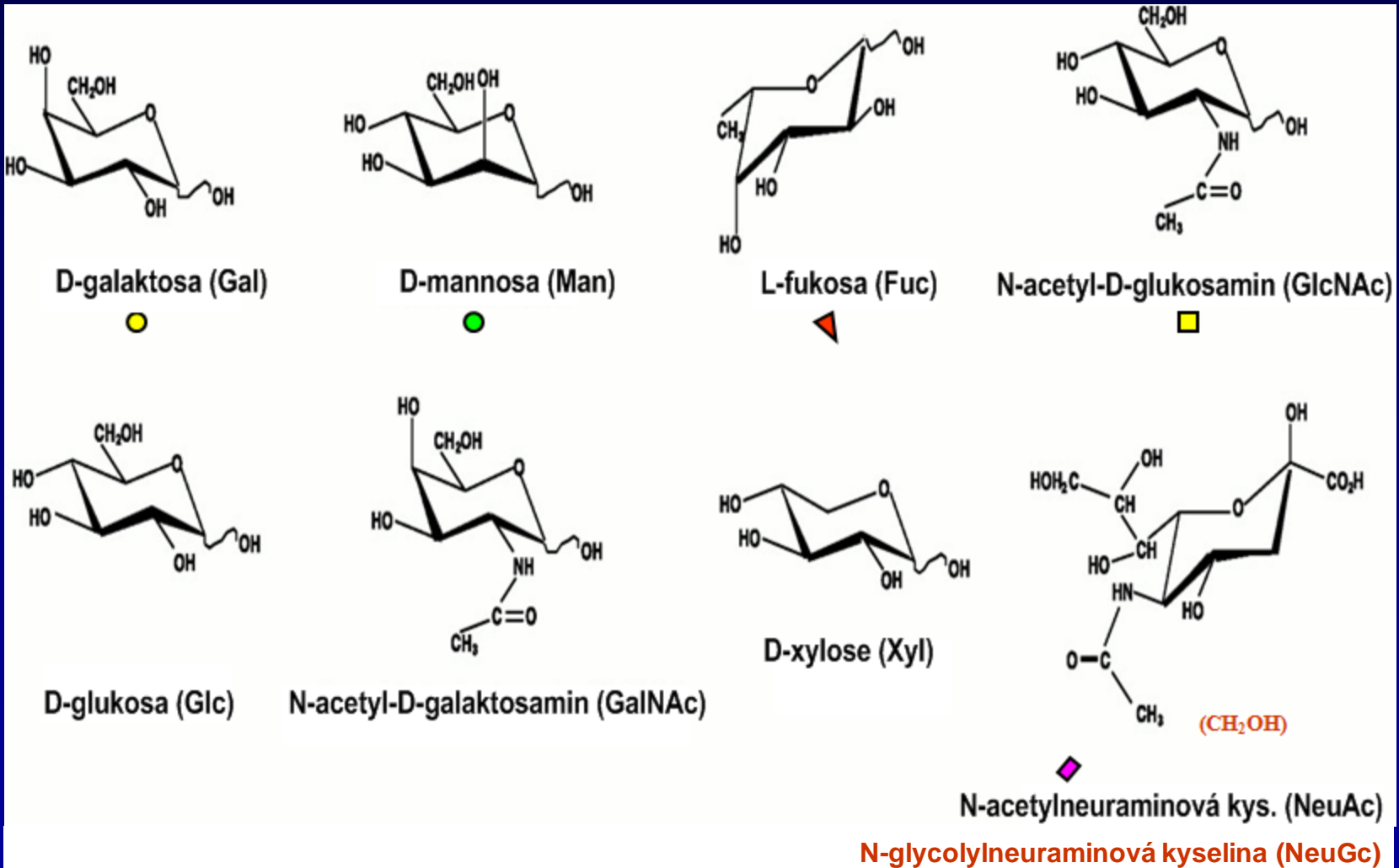


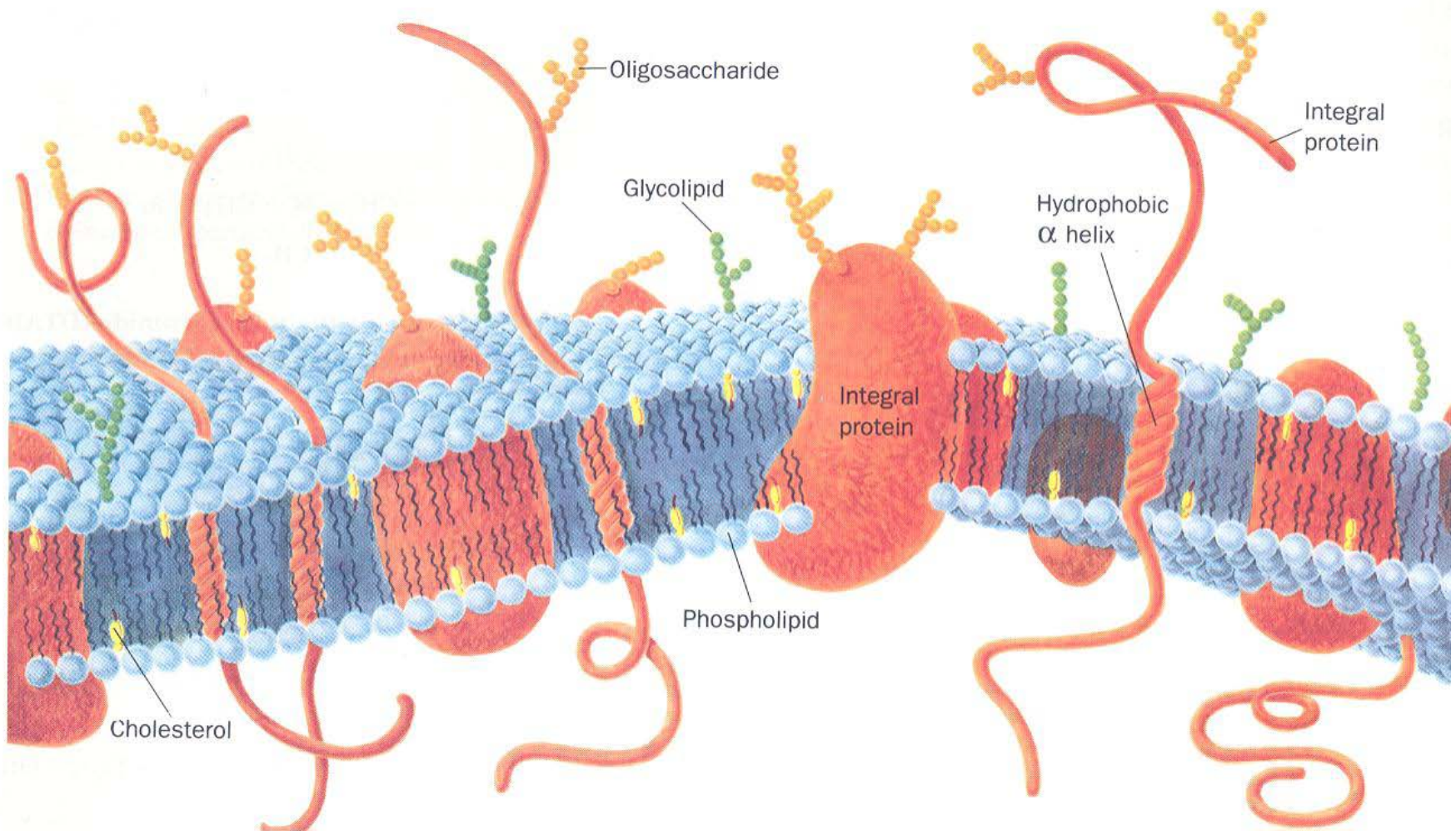
Emil Fischer

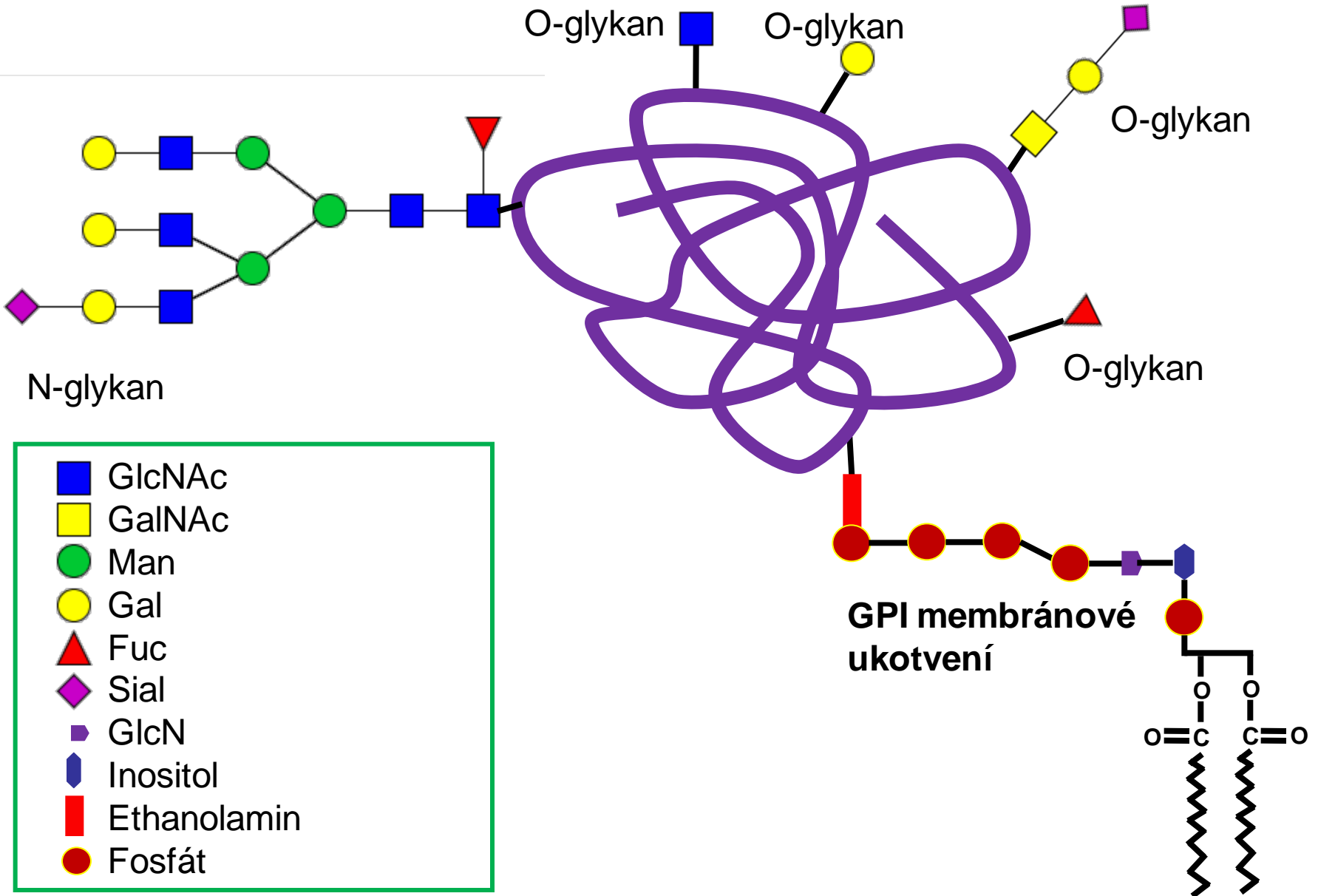
Laureát Nobelovy ceny za chemii

1902

Monosacharidové strukturní jednotky glykánů







Povrch buňky je hustě obsazen oligosacharidy ukotvenými k proteinům nebo lipidům v buněčné membráně. Tyto oligosacharidy pak zprostředkovávají mezibuněčné interakce a interakce buněk s mimobuněčnými subjekty.

Důležitá role, kterou sacharidy zastávají v biologických systémech, výrazně přispěla k rychlému rozvoji oboru glykobiologie.



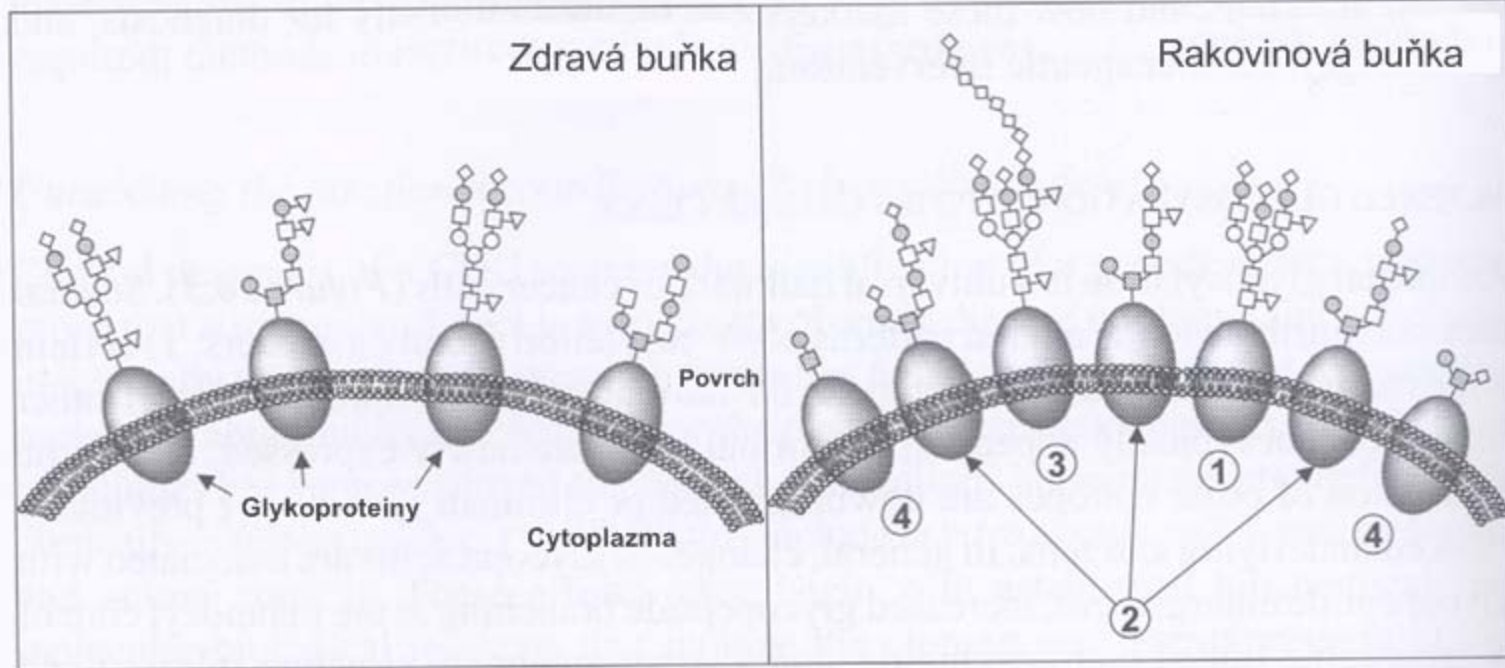
23. březen 2001

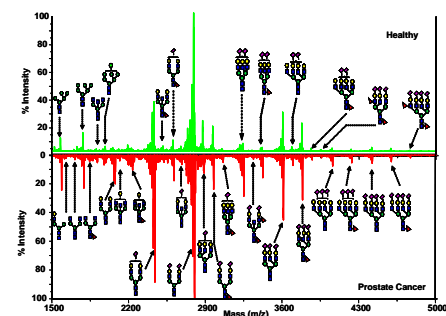
"Carbohydrates and Glycobiology"

Vol. 291 Pages 2263-2502

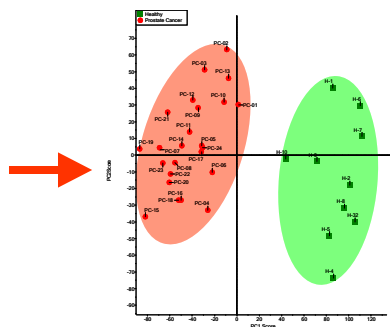
Souvislost glykosylace s různými nemocemi

- Imunita proti infekčním onemocněním, včetně HIV
- Revmatická artritida (změny IgG a hladiny mannosu vázajících proteinů v séru)
- Nemoci prionů
- Vrozené poruchy glykosylace (vzácné, obvykle se projeví poruchami CNS)
- Nemoci ústní dutiny
- Cystická fibróza
- Srdeční poruchy
- Rakovina

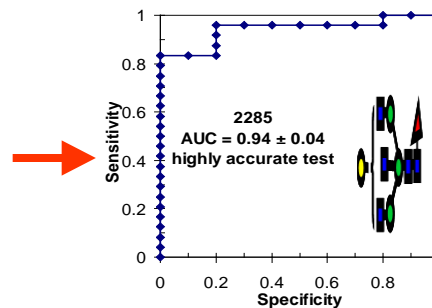




MALDI-MS



PCA



ROC

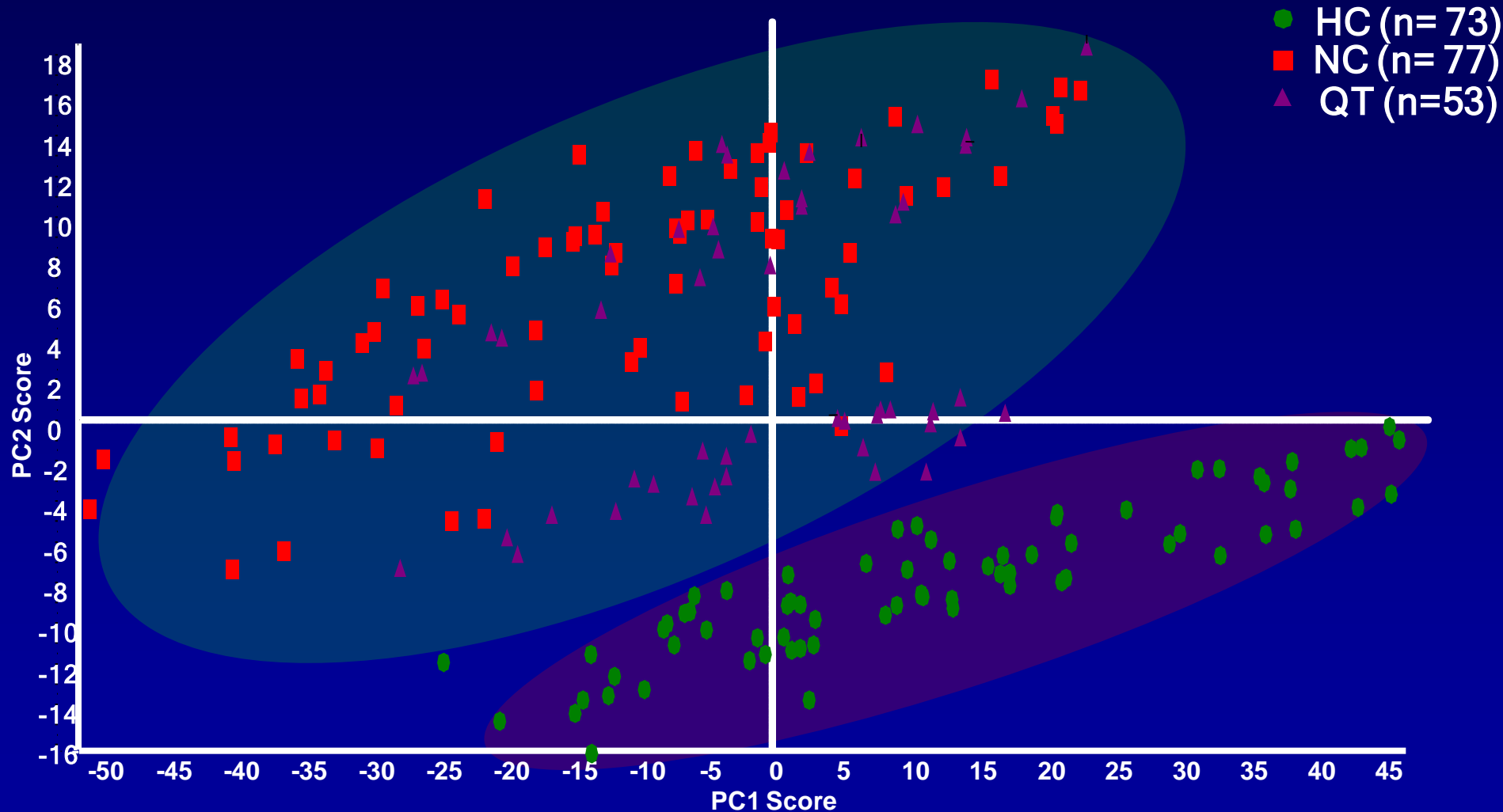
Potenciální glykánové
biomarkery

Postup směřující k možné diagnostice a prognostice rakoviny prostaty, který je založen na profilování permethylovaných glykánů pomocí MALDI-MS. Výsledky z této metodiky ukazují statisticky významné rozdíly mezi glykomickými profily 10 zdravých jedinců a 24 pacientů s rakovinou prostaty. Potenciální glykánové biomarkery pro rakovinu prostaty jsou poté stanoveny pomocí statistických testů jako PCA, ROC a ANOVA.

Kyselova, Z.; Mechref, Y.; Al Bataineh, M.; Dobrolecki, L.; Hickey, R.; Vinson, J.; Sweeney, C.; Novotny, M.V. *J. Proteome Res.*, 6 (2007) 1822-1832.



PCA of MALDI/MS Profiling of Glycans Derived from Sera of Cancer Free Individuals (n= 77), Liver Cancer Patients (n= 73), and Cirrhosis Patients (n= 53)



MALDI TOF-TOF (ABI 4800)

Zdroje vysokého napětí

Ovládaní iontové optiky

Detektor pro reflektorn mód

Řídící elektronika

Reflektron

Detektor pro lineární mód

TOF 2

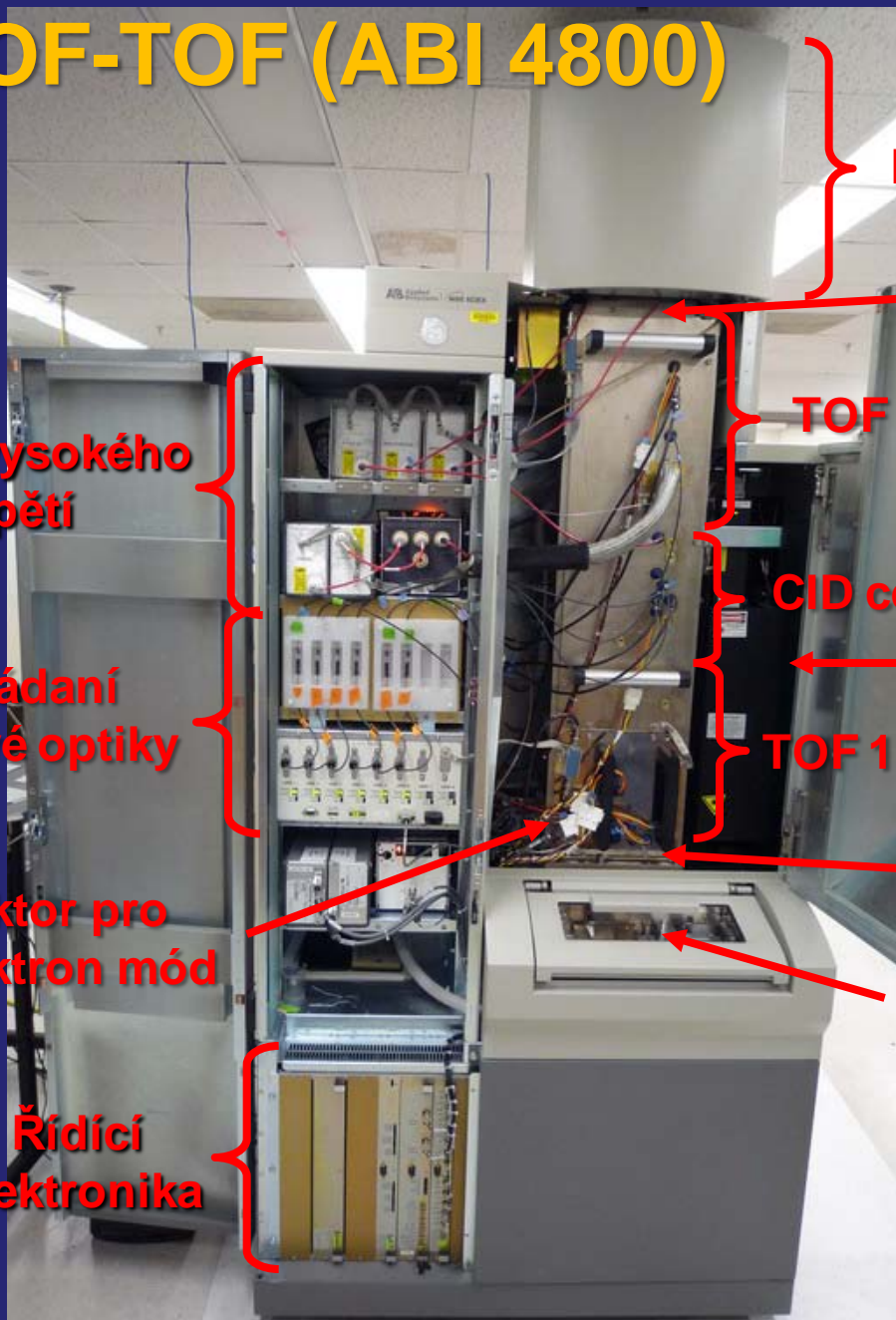
CID cela

Laser (355 nm)

TOF 1

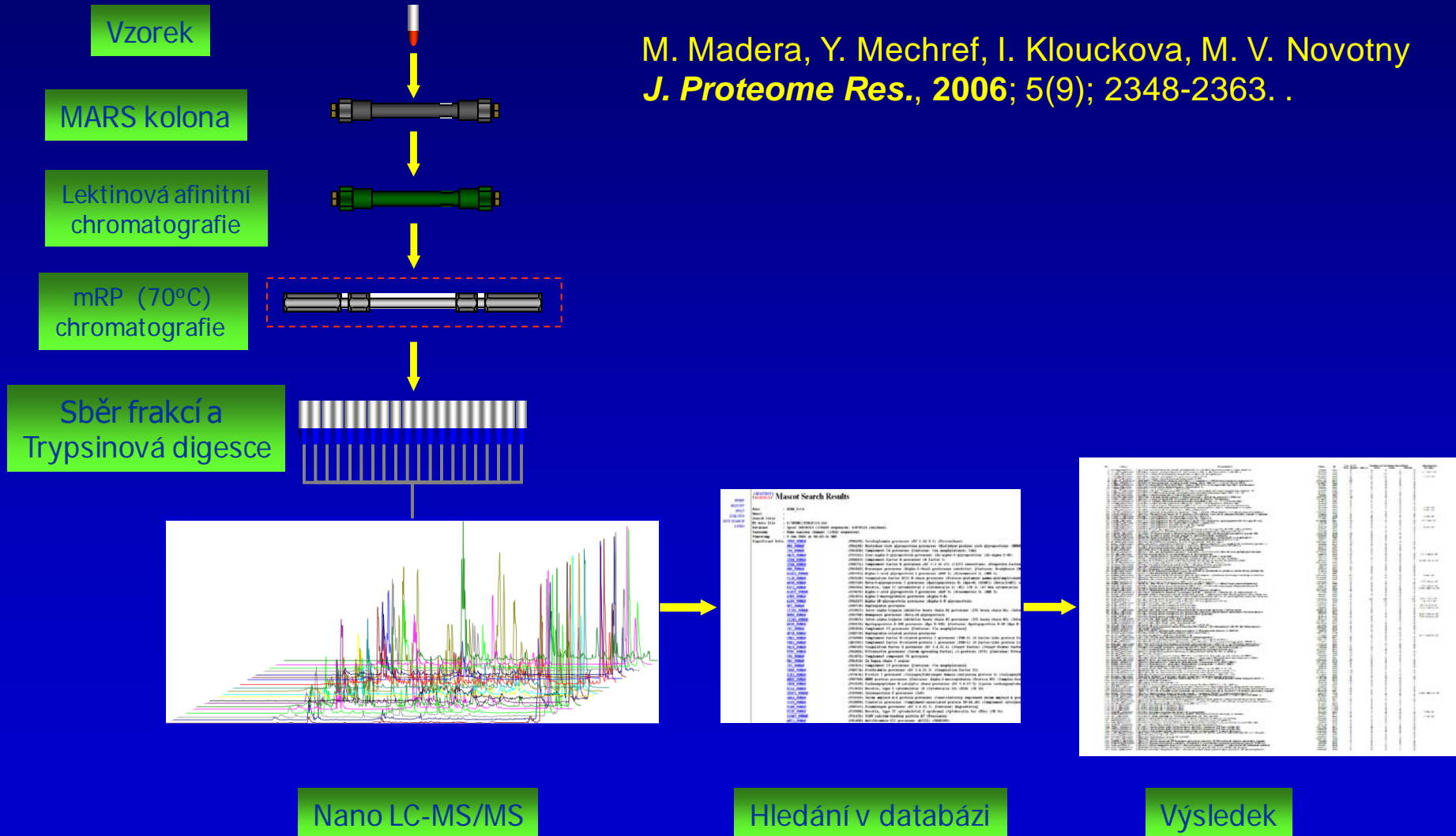
Ionizační zdroj

Vstup pro platíčko

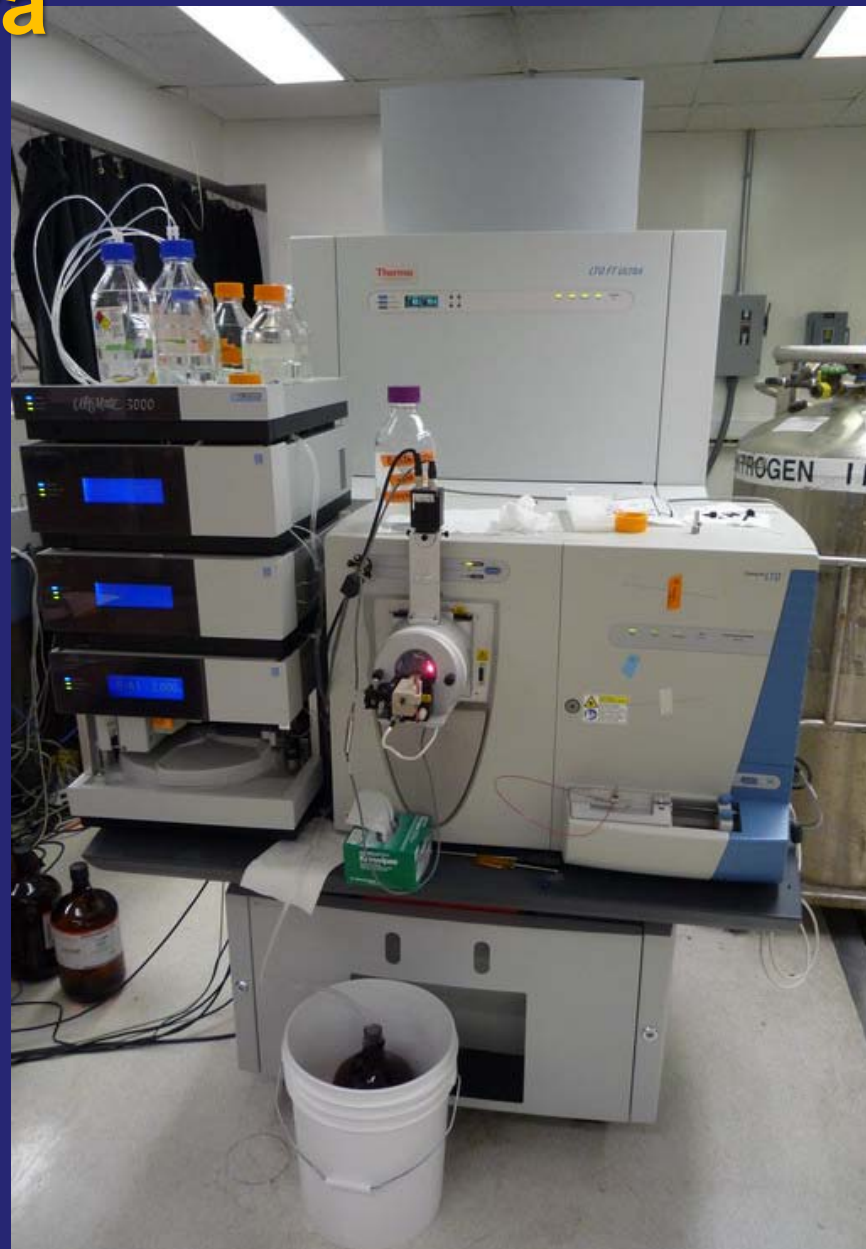


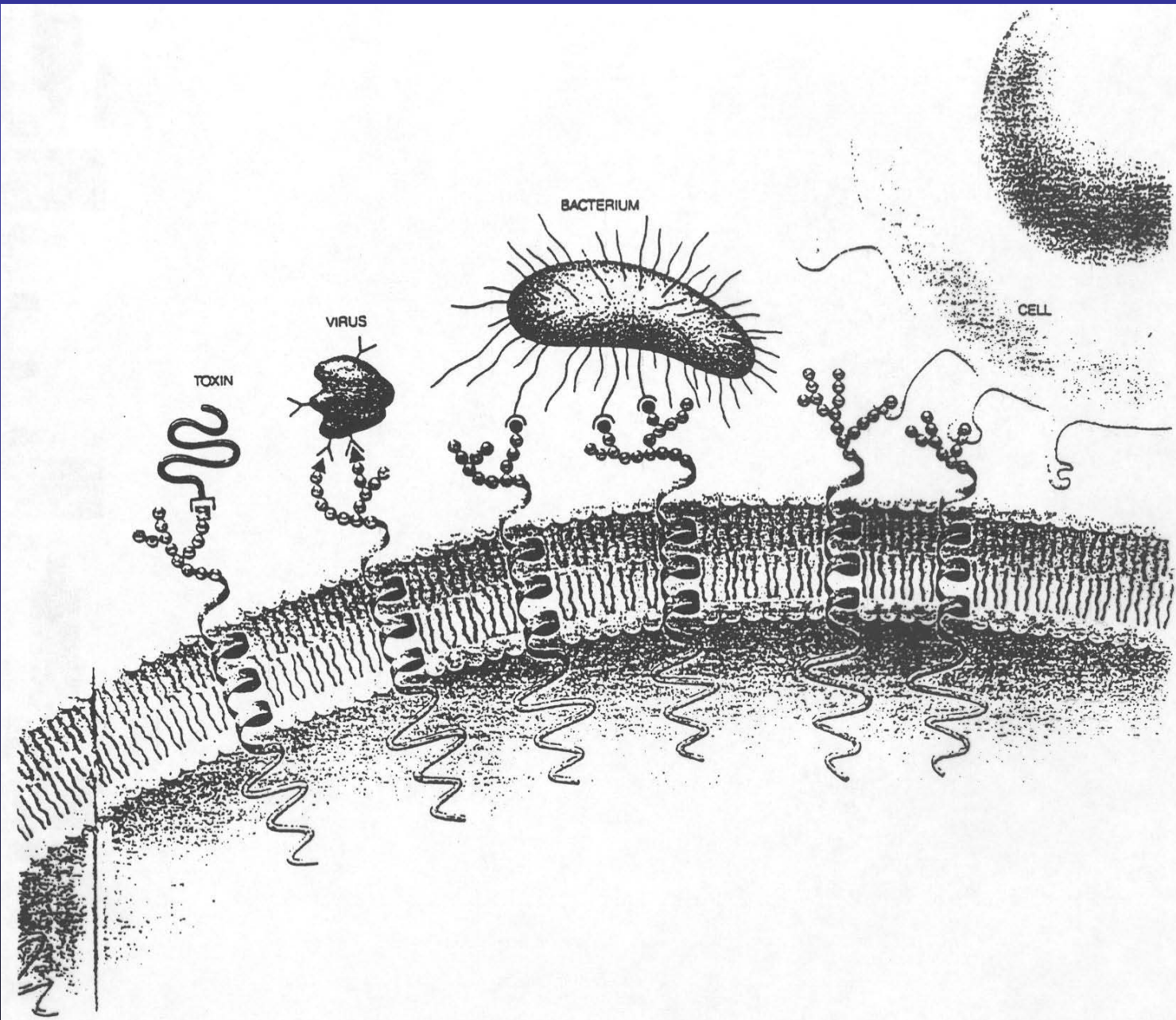
Platforma na analýzu glykoproteinů

M. Madera, Y. Mechref, I. Klouckova, M. V. Novotny
J. Proteome Res., 2006; 5(9); 2348-2363. .



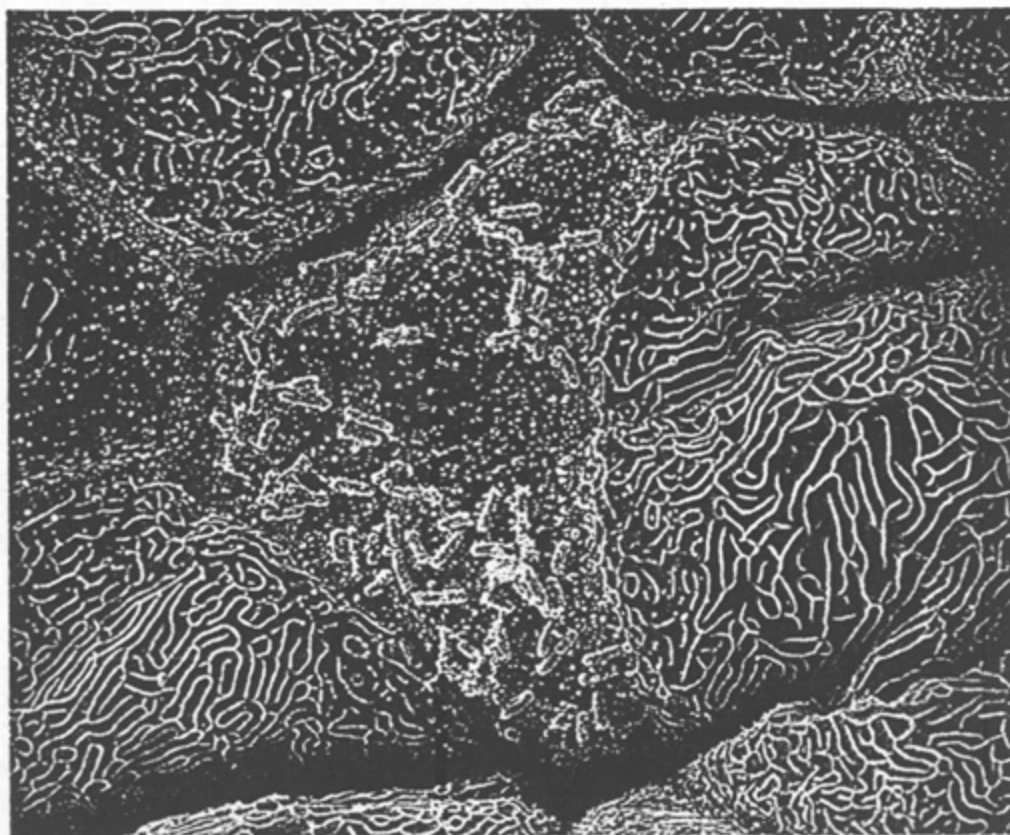
LTQ-FT Ultra





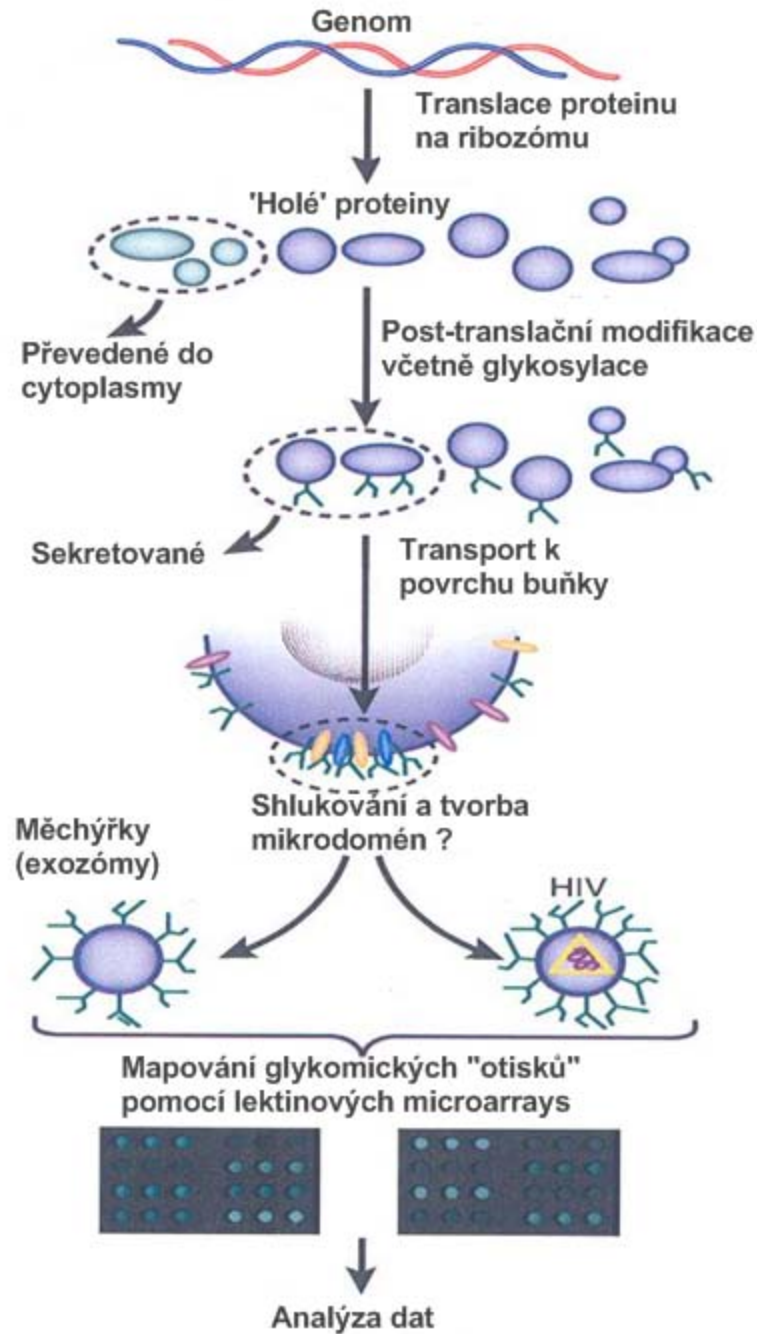
PROKARYOTIC SYSTEMS

- **Glycans provide the first interfacial layer between mammalian host and pathogens. Glycosylation thus plays a crucial role in pathogenicity and invasion.**
- *Some microorganisms express distinctly different carbohydrate units and oligosaccharide structures.*
- **How does glycosylation occur in bacteria without compartmentalization?**
- *How do bacterial glycans affect host immune recognition or evasion?*
- **A better insight into prokaryotic glycosylation should help the design and production of glycosylated therapeutics.**

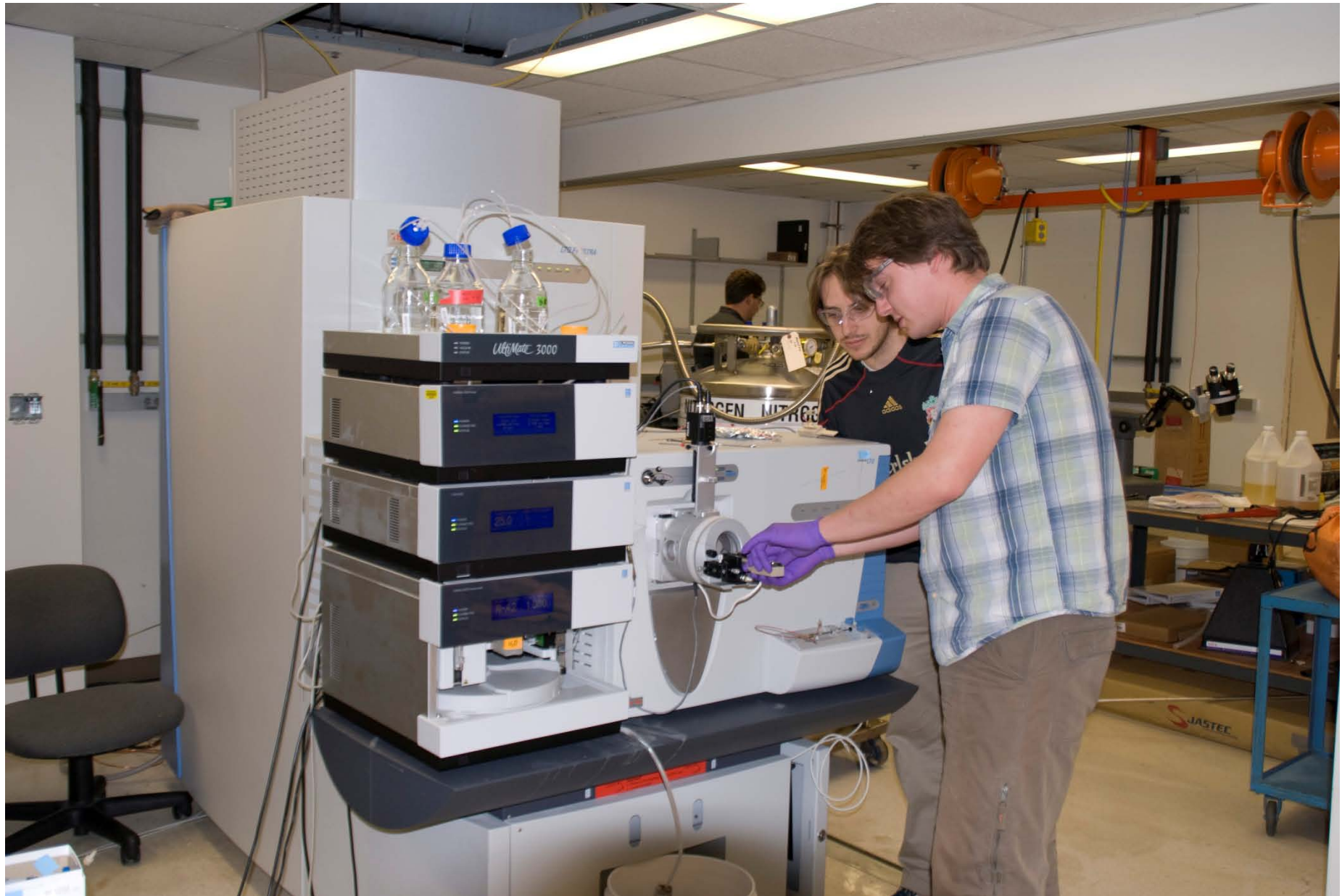


Bakterie selektivně lnou ke tkáňovým buňkám. Drobné výčnělky na povrchu bakterií zvané fimbriae interagují pouze s některými buněčnými sacharidy, a proto určité bakterie napadají jen některé typy buněk. Obrázek znázorňuje bakterie *Escherichia coli* ve tvaru prutu přilnuté ke tkáni močového traktu.

N. Sharon and H. Lis, Scientific American, January 1993



Jun Hirabayashi
 Nature Chemical Biology
 5(2009)198-199





“-OMICS REVOLUTION” AND ITS IMPACT ON SCIENCE AND ECONOMIES

- Creation of entirely new fields of investigation (genomics, transcriptomics, proteomics, glycomics, metabolomics, lipidomics, etc.)**
- Unprecedented opportunities to gather massive amounts of data on biological systems (and their interpretation)**
- “Systems biology” leading to the nearly complete understanding of how different biological systems work**
- Creating new opportunities to combat human and animal diseases through a better understanding of the underlying biochemical processes**
- Creating new industries based on (a) better ways of analytically assessing (measuring) important biological/medical data; (b) sorting out relevant information (data interpretation through bioinformatics); and (c) making use of the new knowledge in disease diagnosis, personalized treatment (pharmacogenetics) and development of new therapeutic agents**