

„Choroby genetycznie uwarunkowane – edukacja i diagnostyka”

Co możemy osiągnąć dzięki wysokorozdzielczej spektrometrii mas

Dr n. chem. Jakub Nawął

Zakład Badań Przesiewowych i Diagnostyki Metabolicznej IMiD

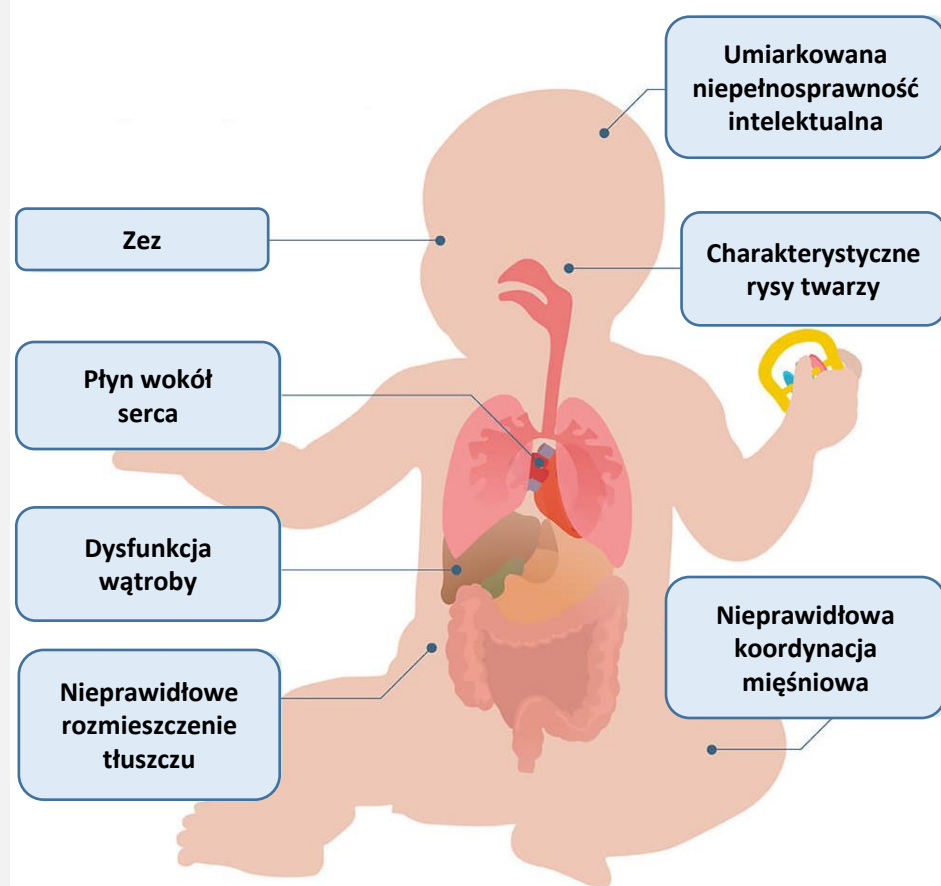
Kierownik Zakładu: dr n. biol. Mariusz Ołtarzewski

Warszawa 8 październik 2021 r

CDG – Wrodzone zaburzenia glikozylacji

CDG (Congenital Disorders of Glycosylation) -

to grupa genetycznie uwarunkowanych zaburzeń spowodowanych błędami metabolizmu na szlakach N- i O-glikozylacji białek oraz lipidów. Zaburzenia tych procesów prowadzi do poważnych konsekwencji klinicznych, które można zaobserwować ze strony wielu narządów i układów z przewagą objawów ze strony układu nerwowego. Liczną grupę wśród wrodzonych zaburzeń glikozylacji stanowią defekty związane z zaburzeniami N-glikozylacji białek.



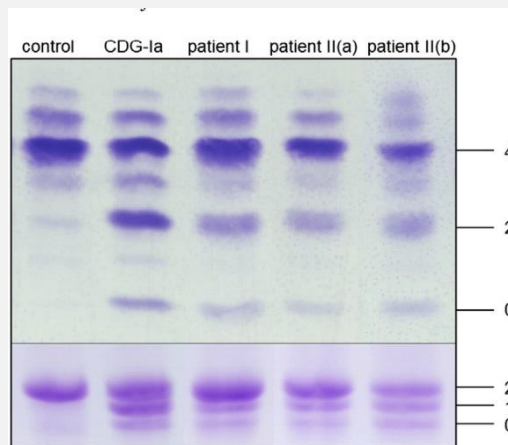
Diagnostyka

CDG

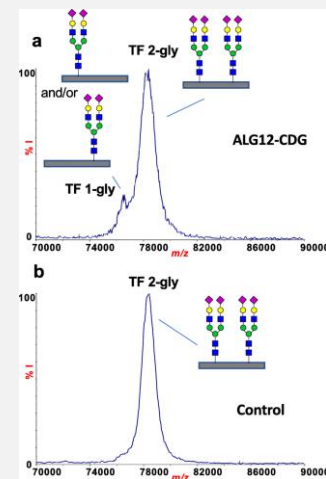
Objawy kliniczne

- opóźnienie rozwoju psychoruchowego
- hiperkinetyczne ruchy mimowolne
- brak/zmniejszone wydzielanie łez
- dysmorfia

Izoogniskowanie



Wysokorozdzielcza spektrometria mas



Fundusze Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita
Polska

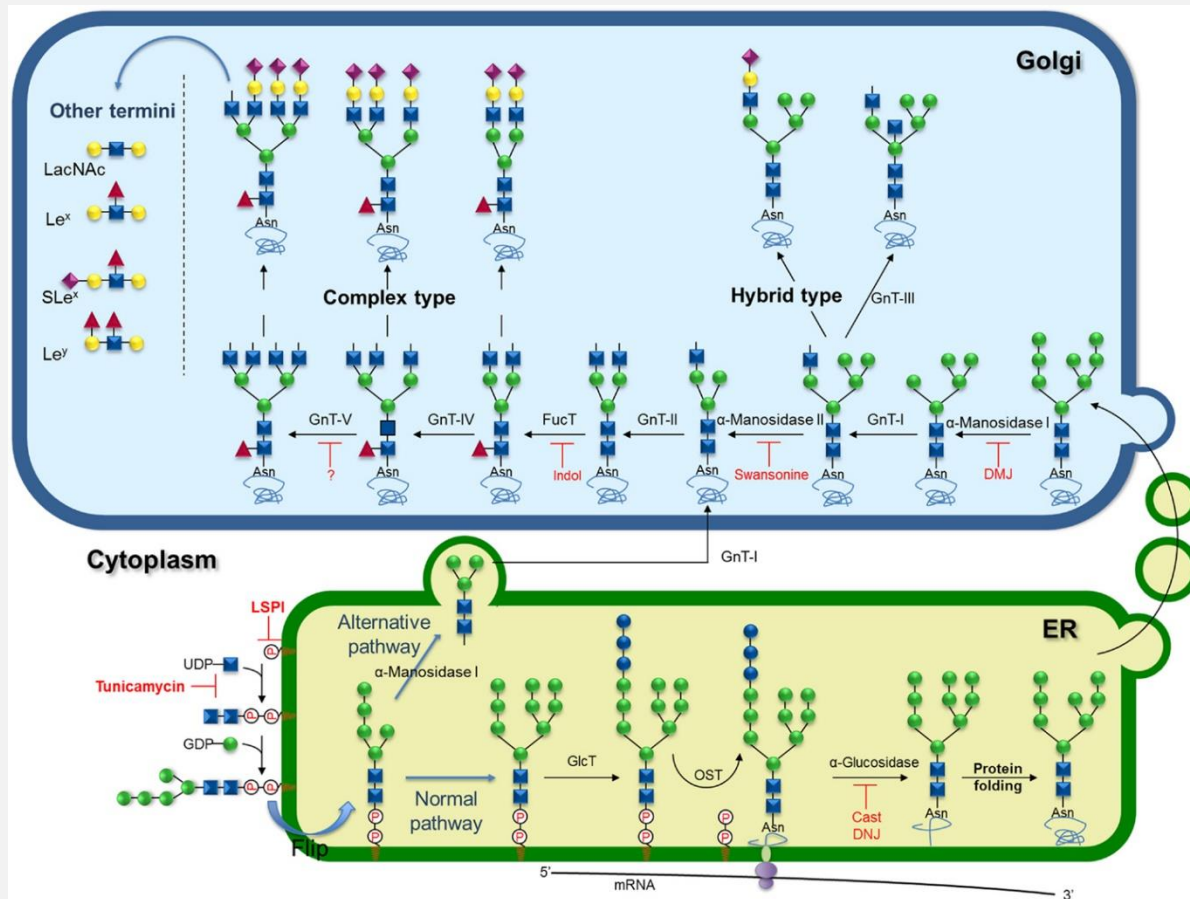


Instytut
Matki i Dziecka

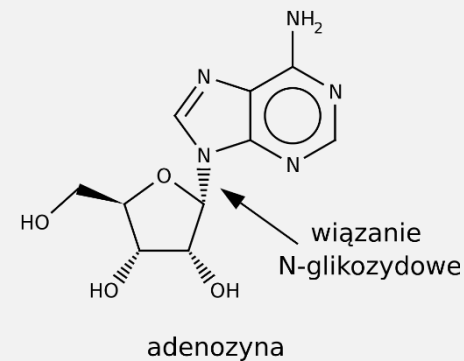
Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



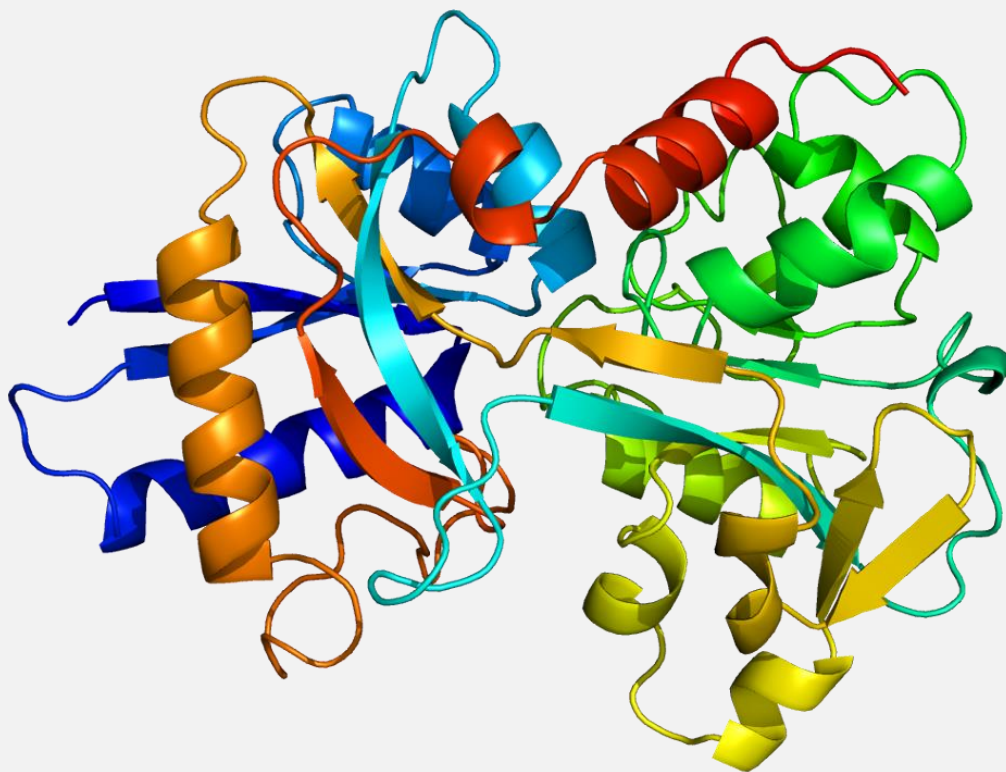
N-Glikozylacja



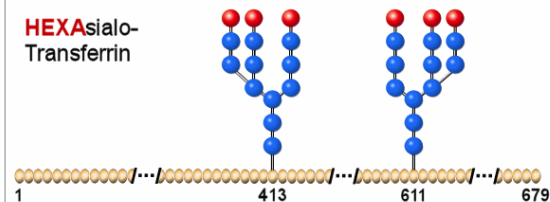
Symbol	Nazwa pol.	Wzór sumaryczny
▲	Fukoza	$C_6H_{12}O_5$
■	N-Acetylo glukozamina	$C_8H_{15}NO_6$
●	Mannoza	$C_6H_{12}O_6$
●	Galaktoza	$C_6H_{12}O_6$
●	Glukoza	$C_6H_{12}O_6$
◆	Kwas sjałowy	$C_{11}H_{19}NO_9$



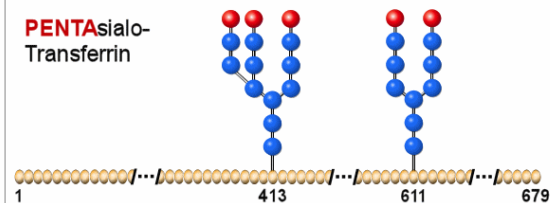
Transferyna



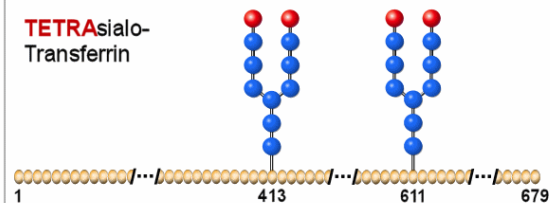
HEXAsialo-
Transferrin



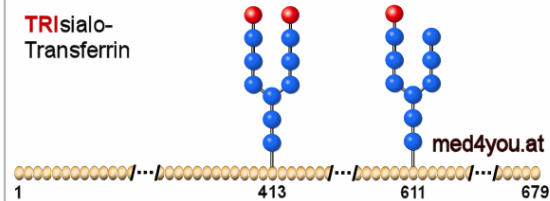
PENTAsialo-
Transferrin



TETRAsialo-
Transferrin



TRIsialo-
Transferrin



Fundusze Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita Polska

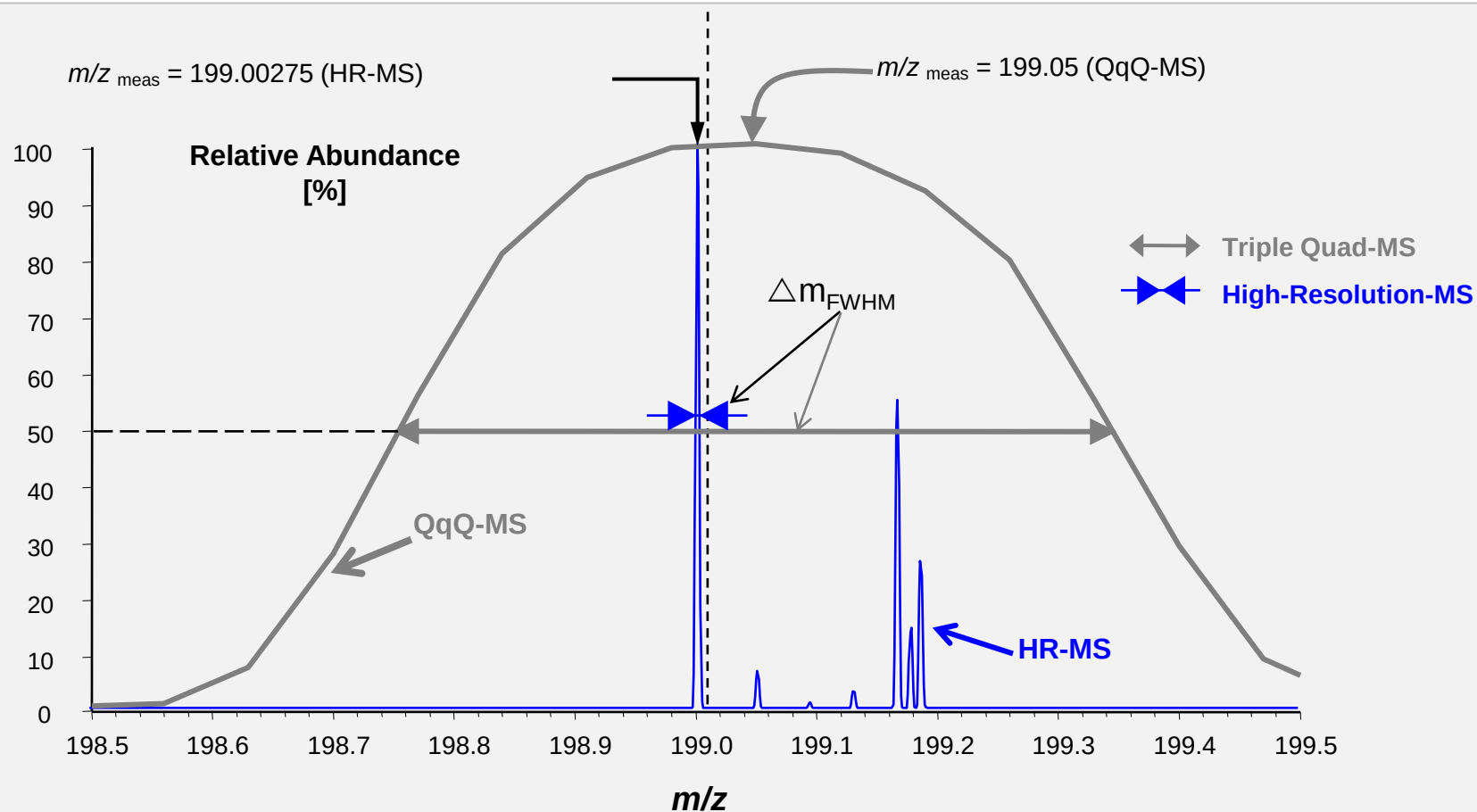


**Instytut
Matki i Dziecka**

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



Wysokorozdzielcza spektrometria mas



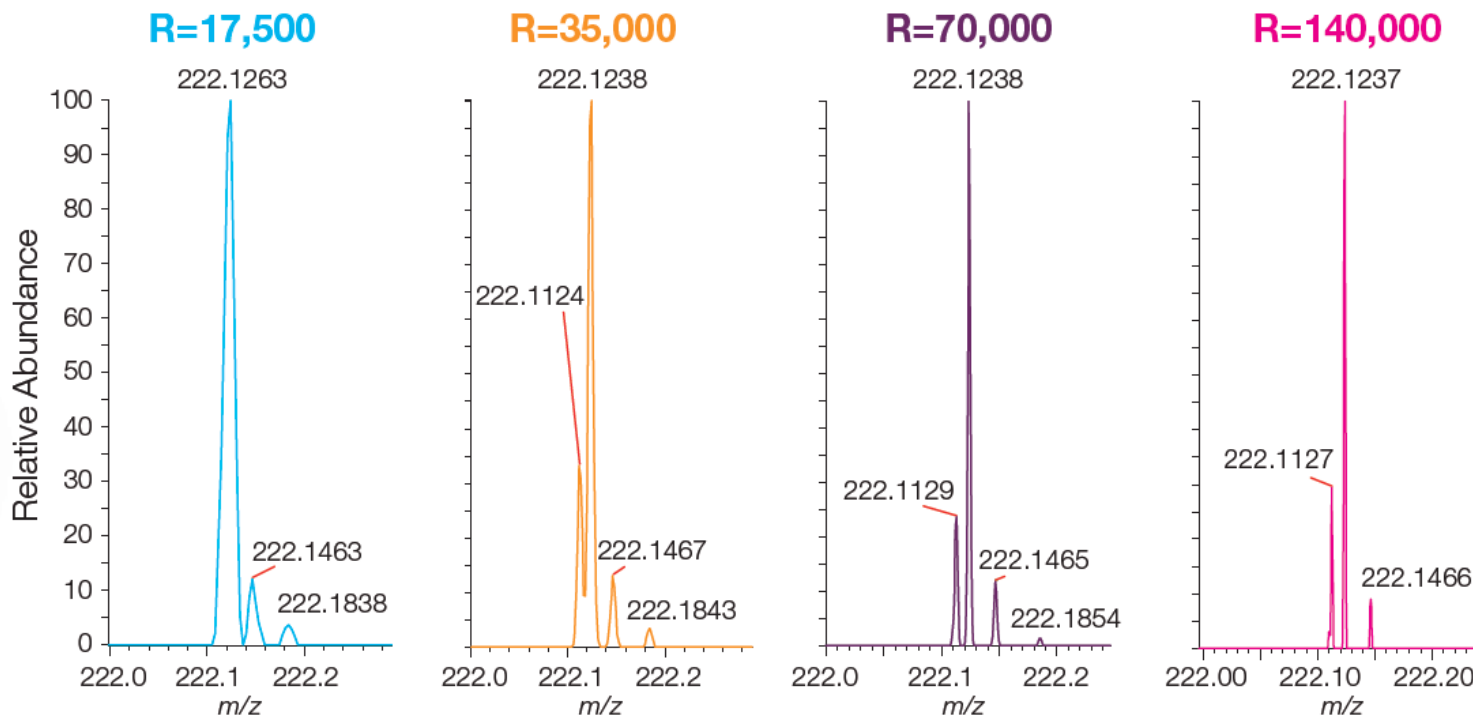
Wysokorozdzielcza spektrometria mas

Carbofuran
Formetanate

$C_{12}H_{15}NO_3$
 $C_{11}H_{15}N_3O_2$

$M+H^+ = 222.1125$

$M+H^+ = 222.1237$



Fundusze Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita
Polska

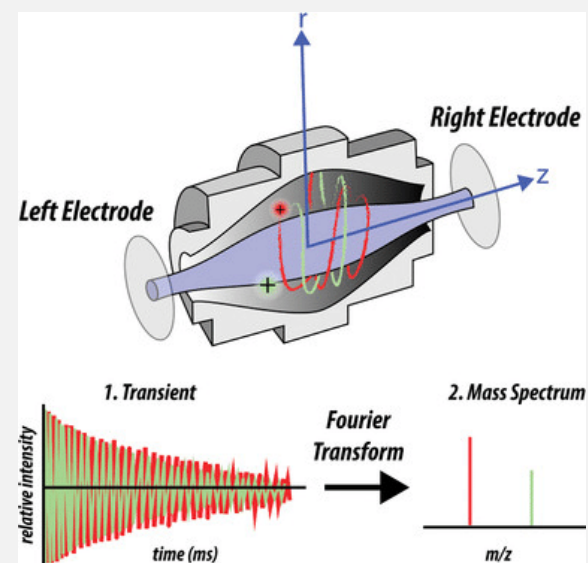
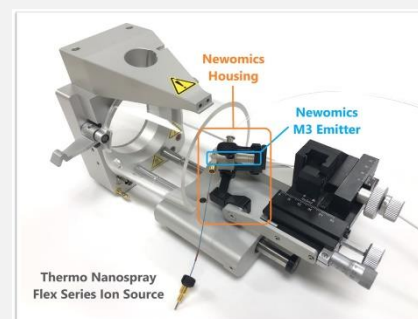


Instytut
Matki i Dziecka

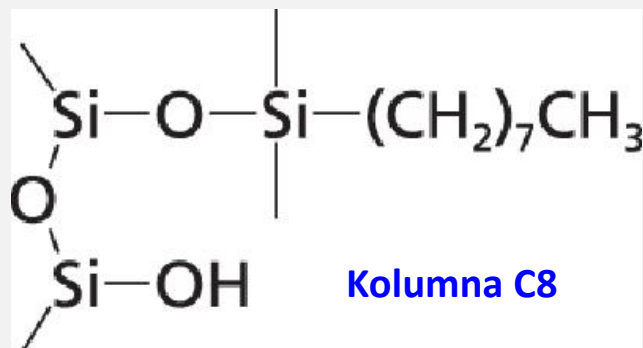
Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



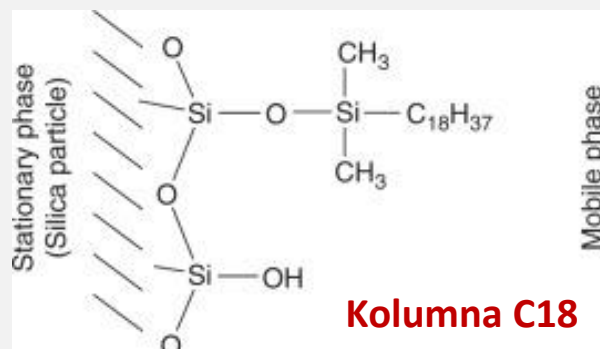
NanoLC - Orbitrap



Analiza transferyny

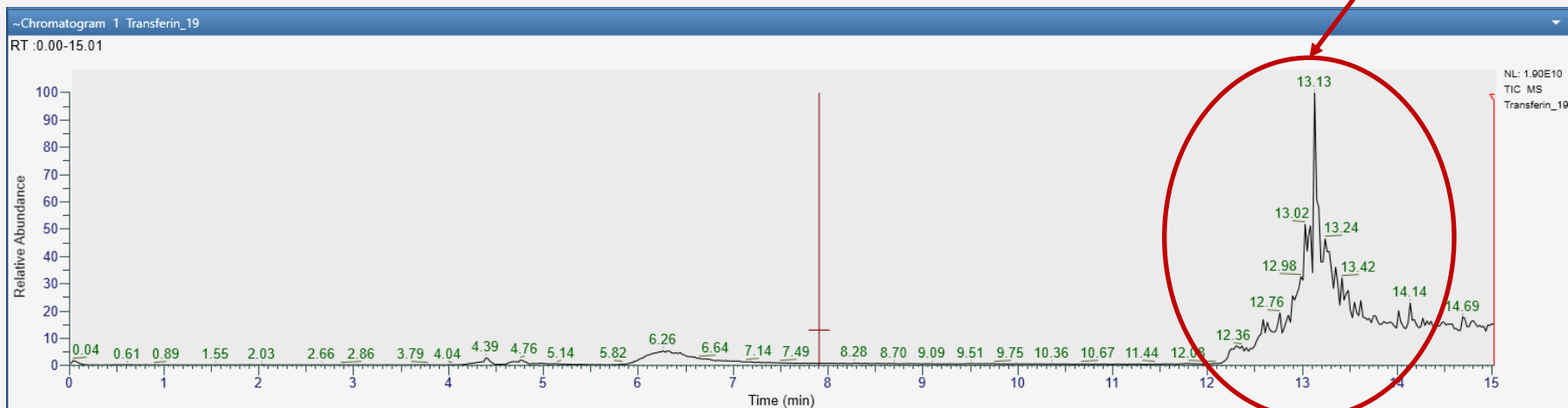


Kolumna C8



Kolumna C18

Formy transferyny nie ulegają rozdzielaniu na żadnej kolumnie chromatograficznej



Fundusze Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita
Polska

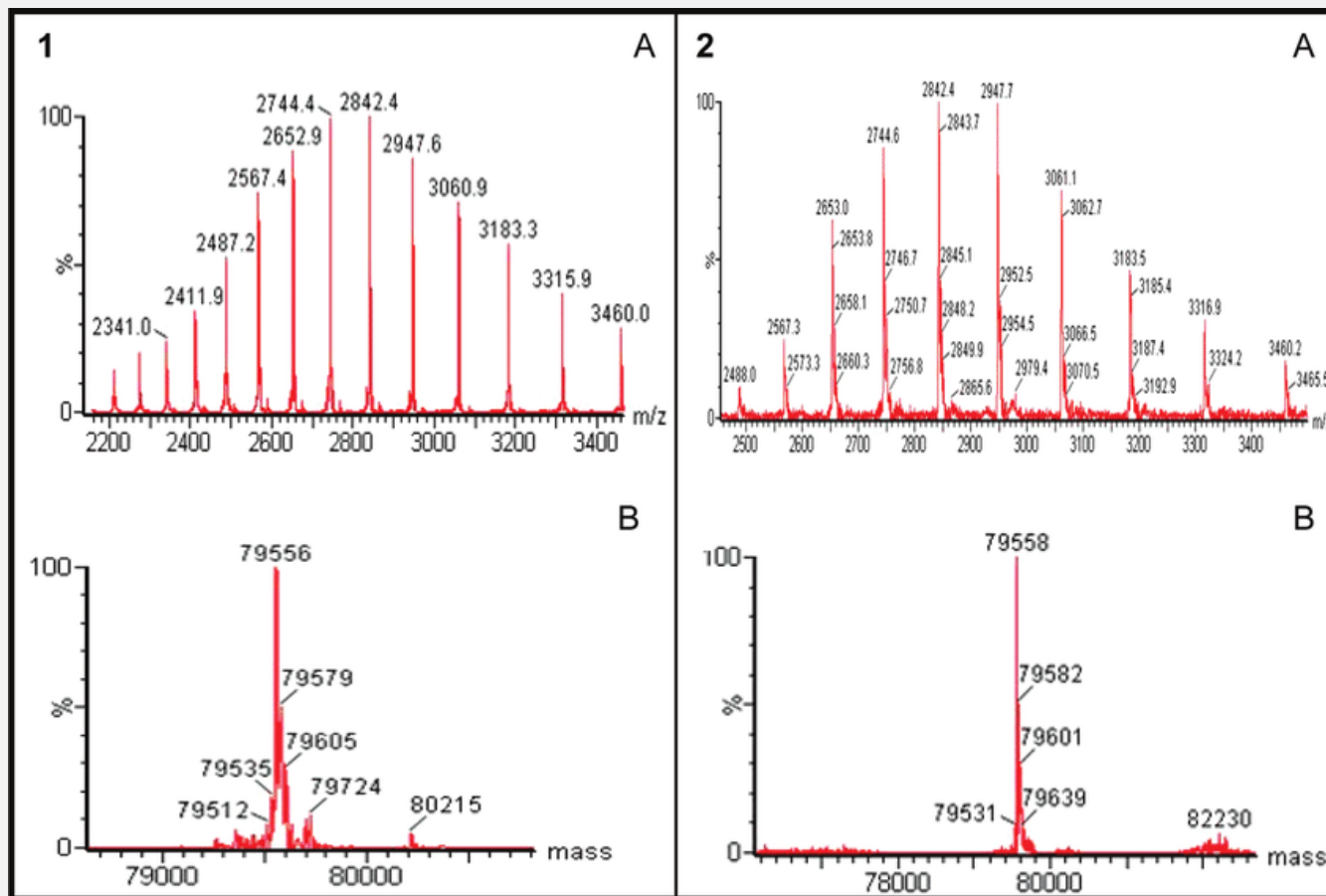


Instytut
Matki i Dziecka

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



Analiza transferyny



Fundusze Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita Polska

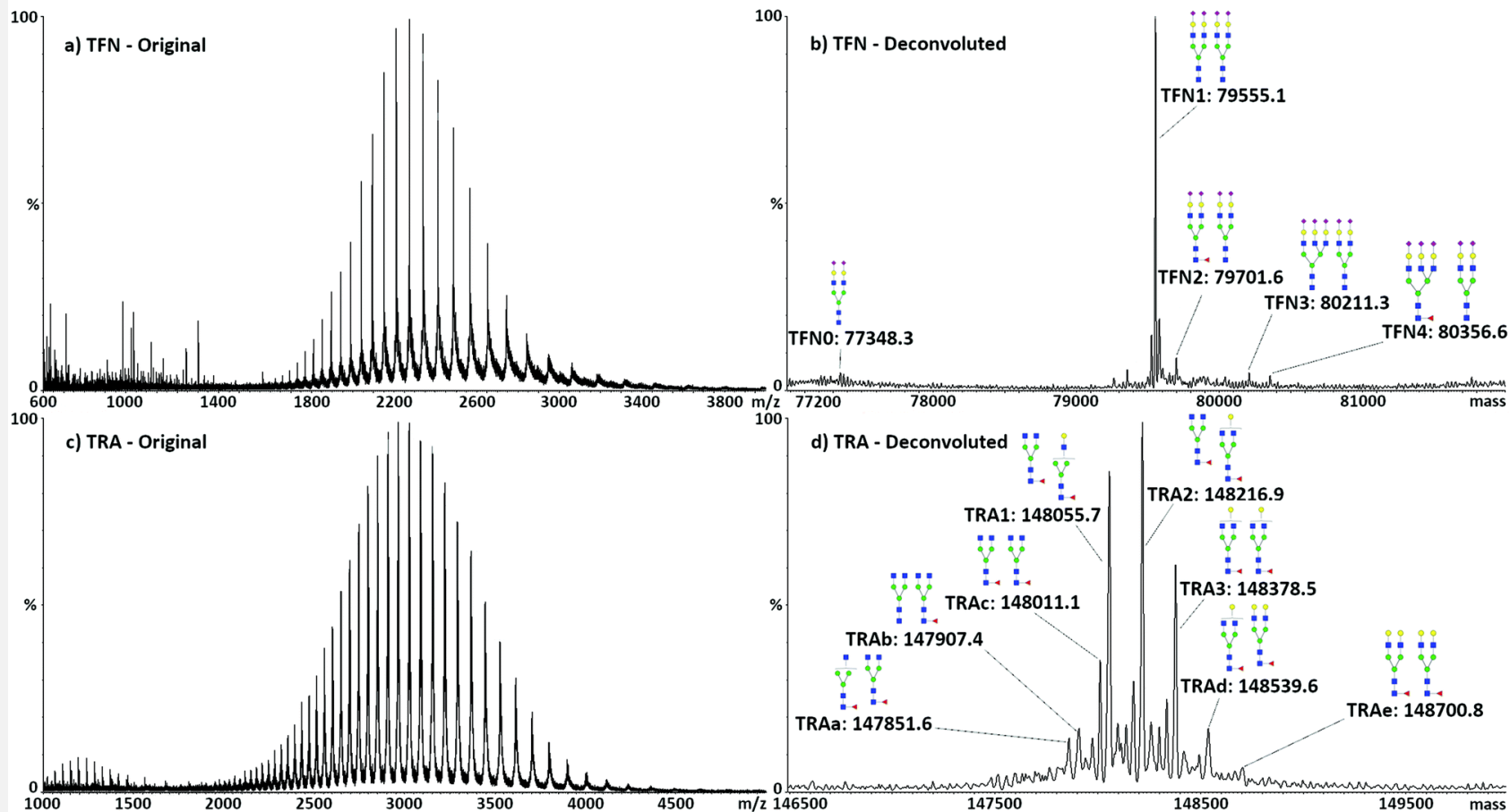


**Instytut
Matki i Dziecka**

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



Analiza transferyny



Fundusze Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita
Polska

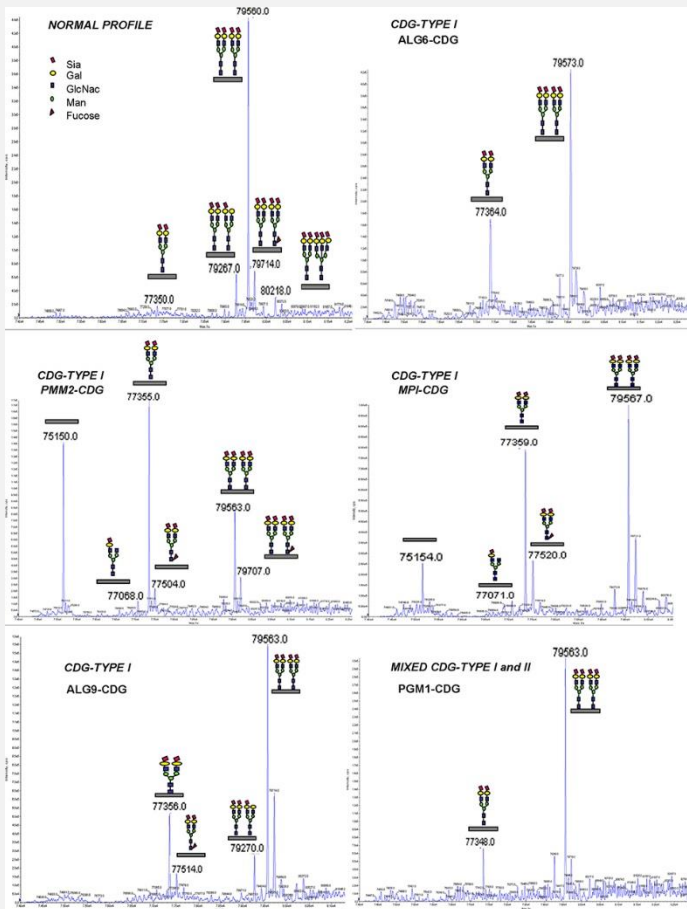


Instytut
Matki i Dziecka

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



Baza danych



Symbol	Oznaczenie	Masa [Da]	Średnia Masa [Da]
	0 - Biantennary (transferin)	75145.0000	75145.0000
	1 - Biantennary	77349.7724	77350.9822
	2 - Biantennary	79554.5448	79556.9645
	2.5 - Biantennary	80210.7725	80213.5522
	1 - GlcNAc - Transferine	75348.07937	75348.19252



Fundusze Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita Polska

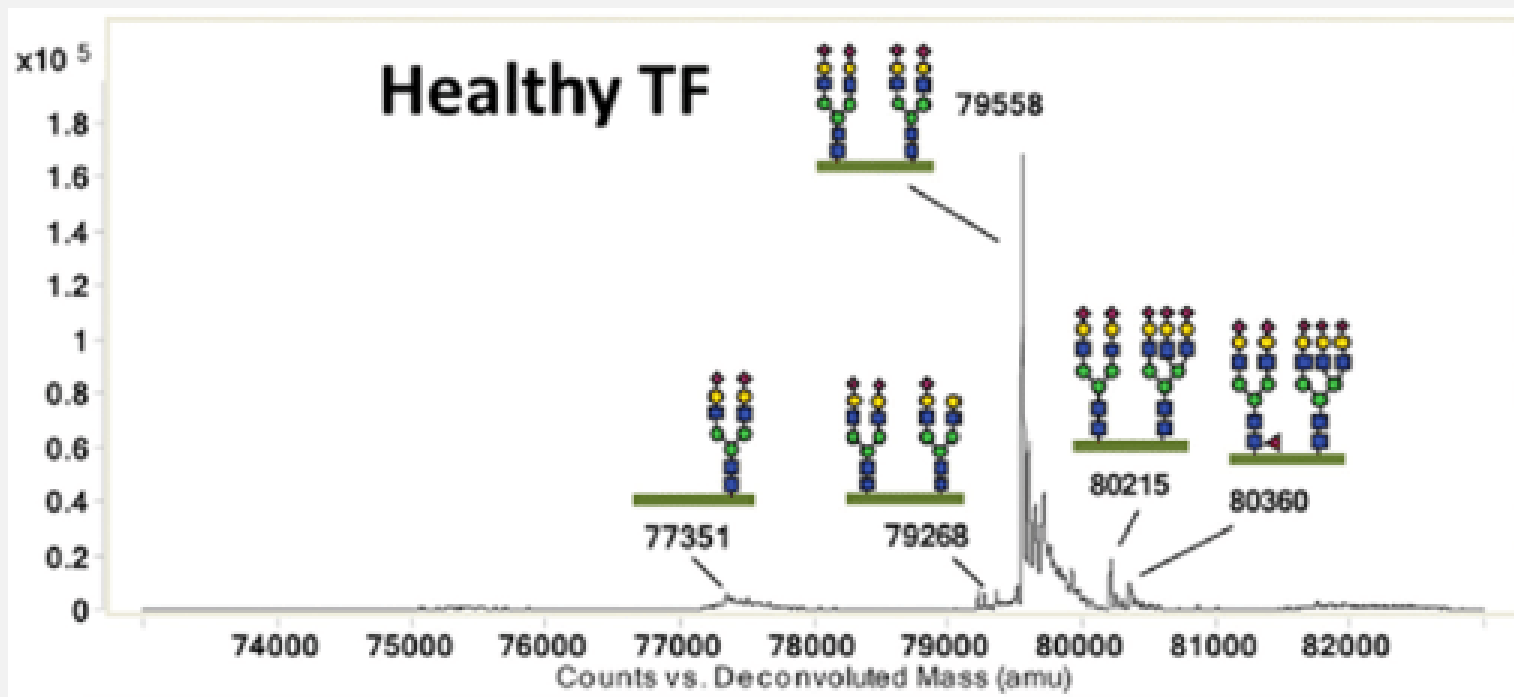


**Instytut
Matki i Dziecka**

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



Przykładowy wynik



Fundusze Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita
Polska

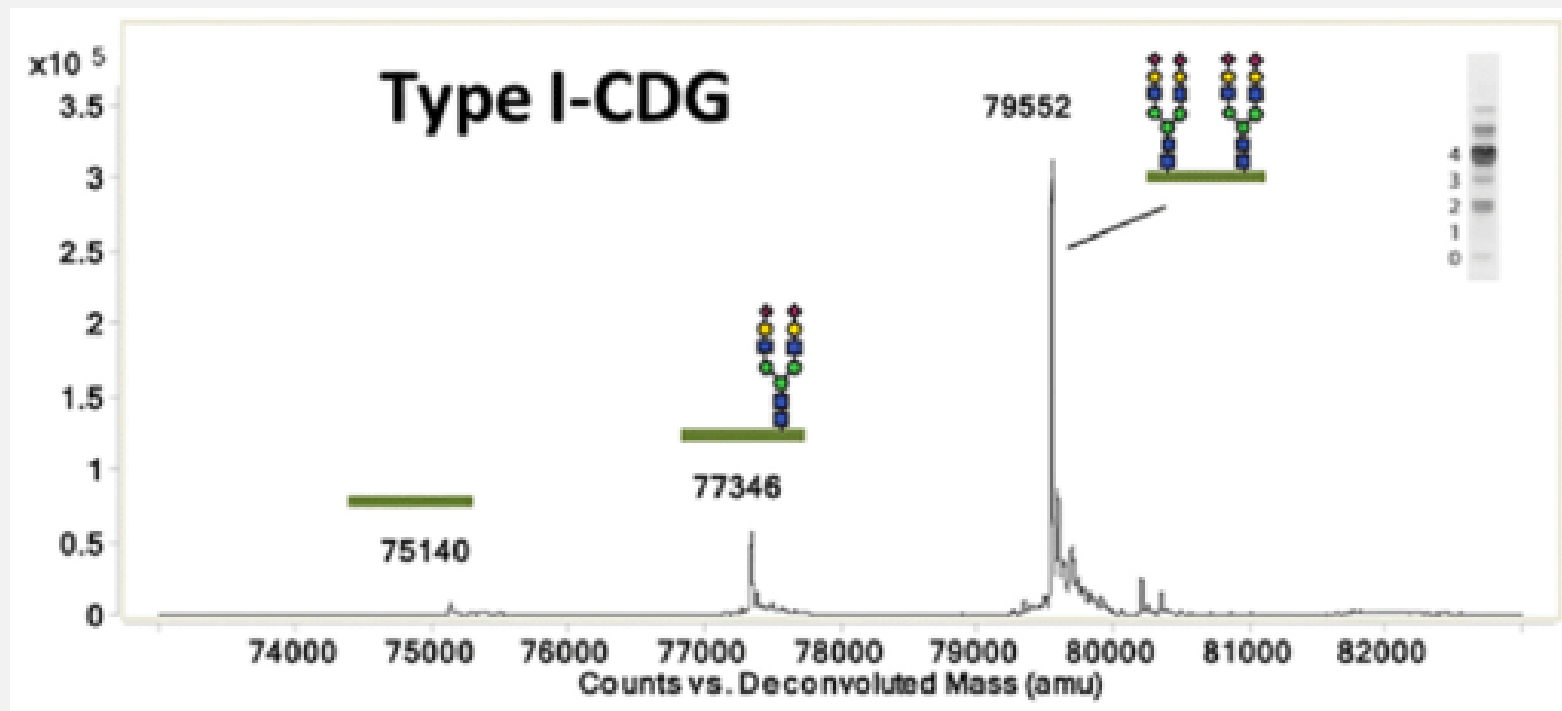


Instytut
Matki i Dziecka

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



Przykładowy wynik



Fundusze Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita
Polska

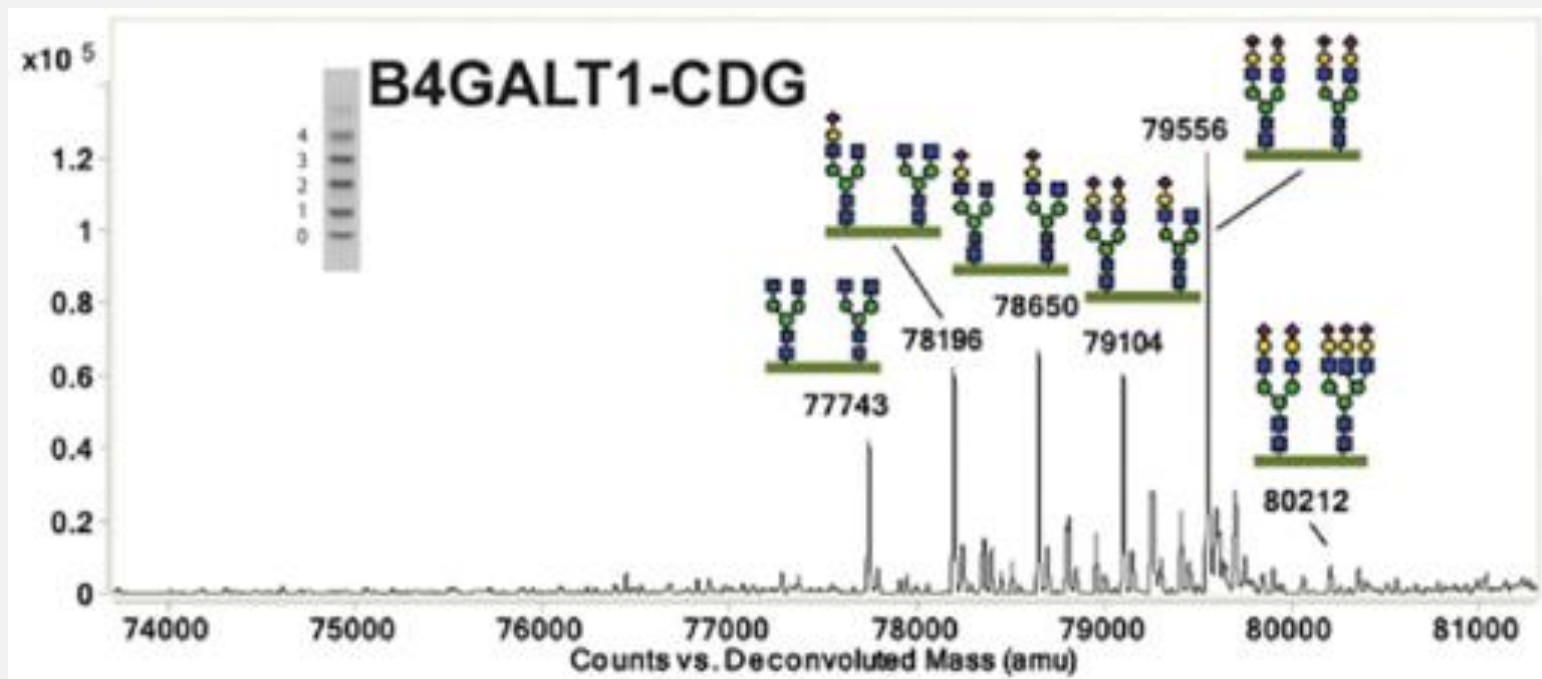


Instytut
Matki i Dziecka

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



Przykładowy wynik



Fundusze Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita
Polska

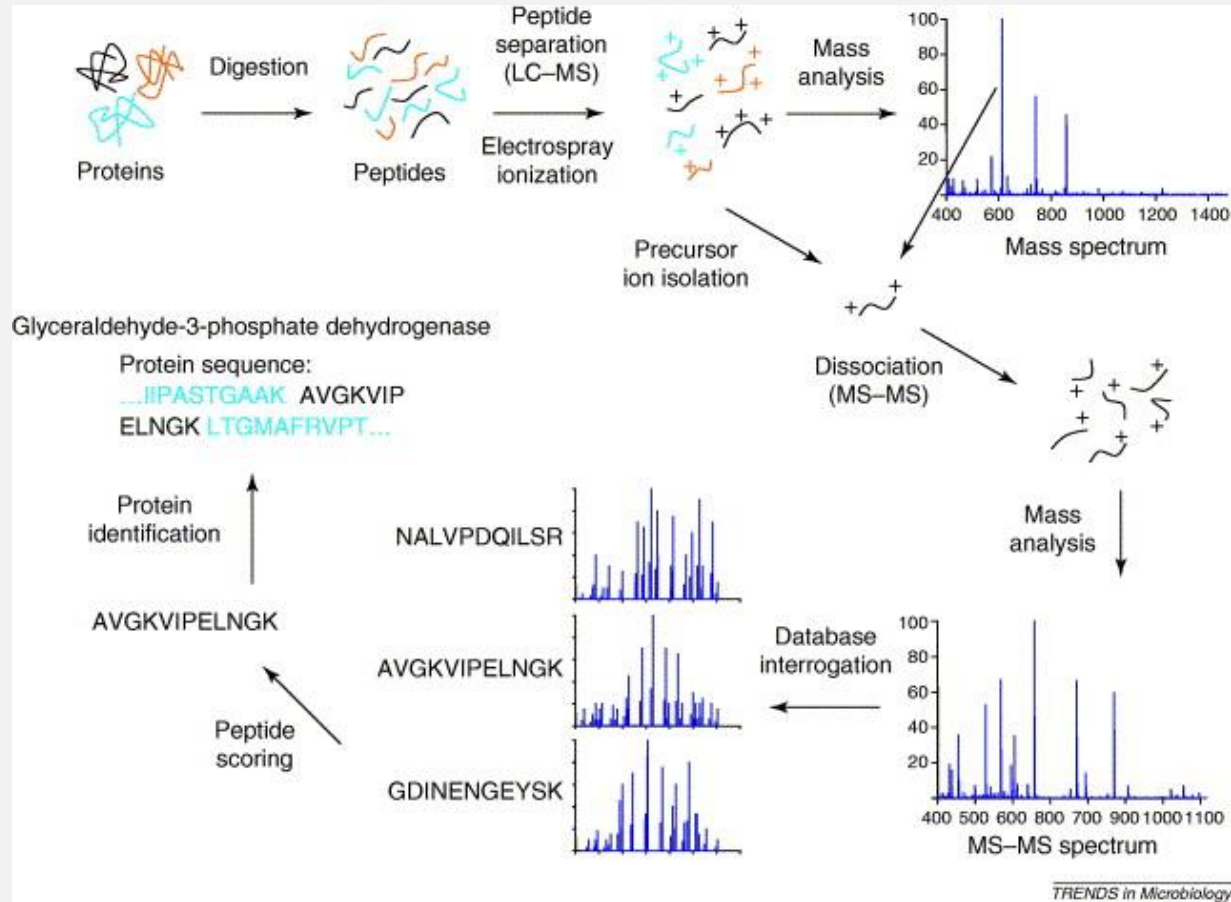


Instytut
Matki i Dziecka

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



Analiza białek



Fundusze Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita Polska

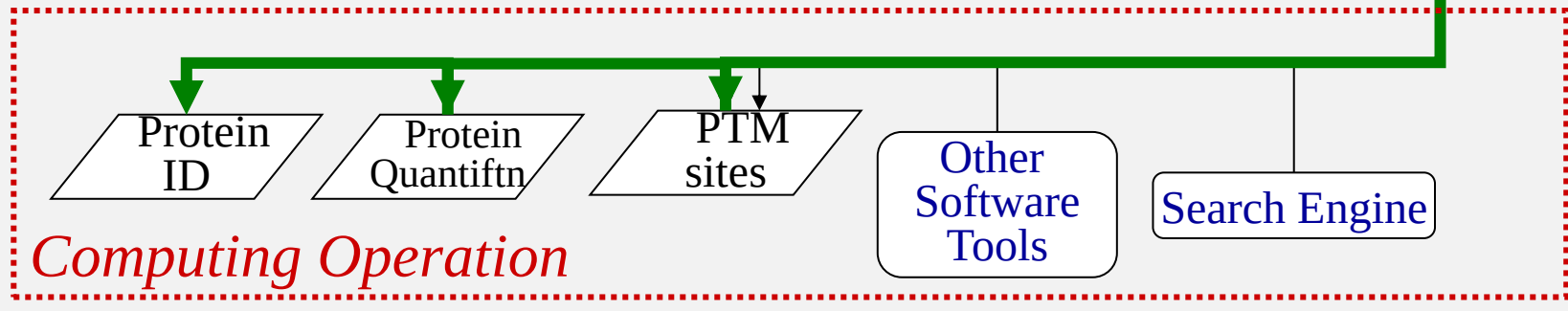
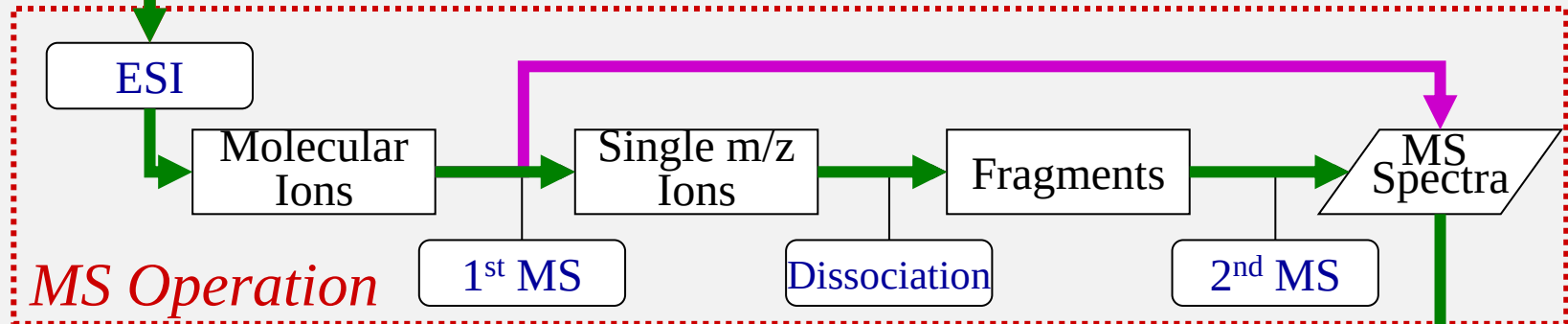
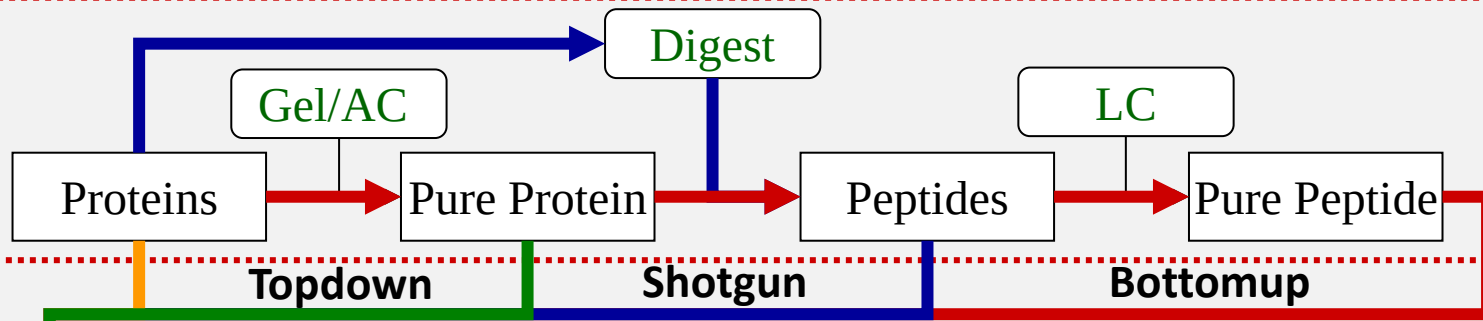


**Instytut
Matki i Dziecka**

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



Analiza białek



Analiza białek - sekwencjonowanie

Zasady ogólne:

➤ **denaturacja białek** przed ich trawieniem enzymatycznym

N~~R~~**P**CHSHT**K**ECESAW**K**~~N~~**R**PCHSHT**K****K**PCHSHT**K**~~K~~~~N~~**R**KVW**K**I**P**PFFW

trypsin digest

~~N~~ **ECESAWK** **KPCHSHTK** ~~N~~ **IPPFW**
RPCHSHTK **NRPCHSHTK** ~~K~~ ~~KVWK~~

Endoproteinaza - wiązania Lys-X



Fundusze Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita
Polska

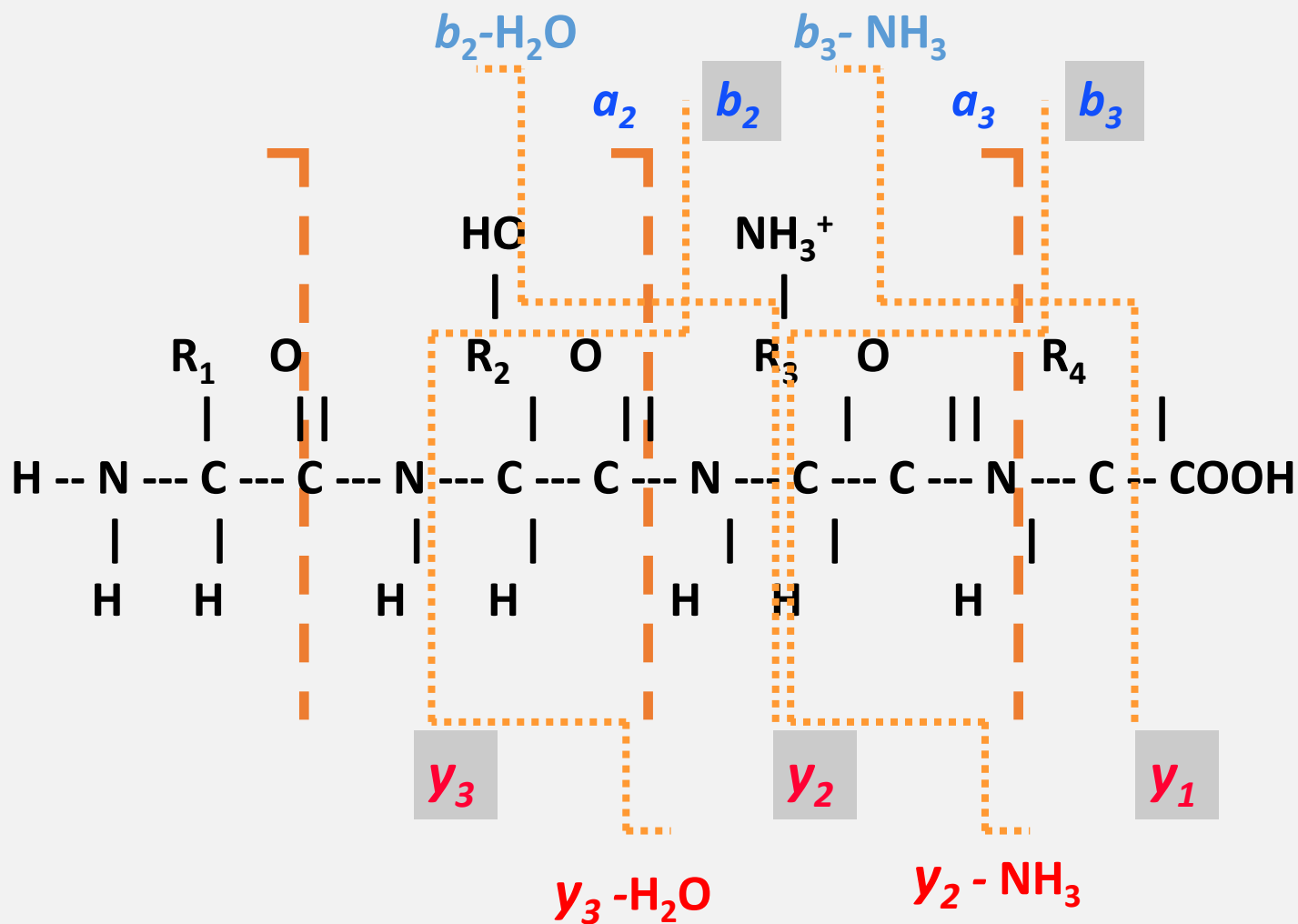


Instytut
Matki i Dziecka

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



Analiza białek - MS



Fundusze Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita Polska

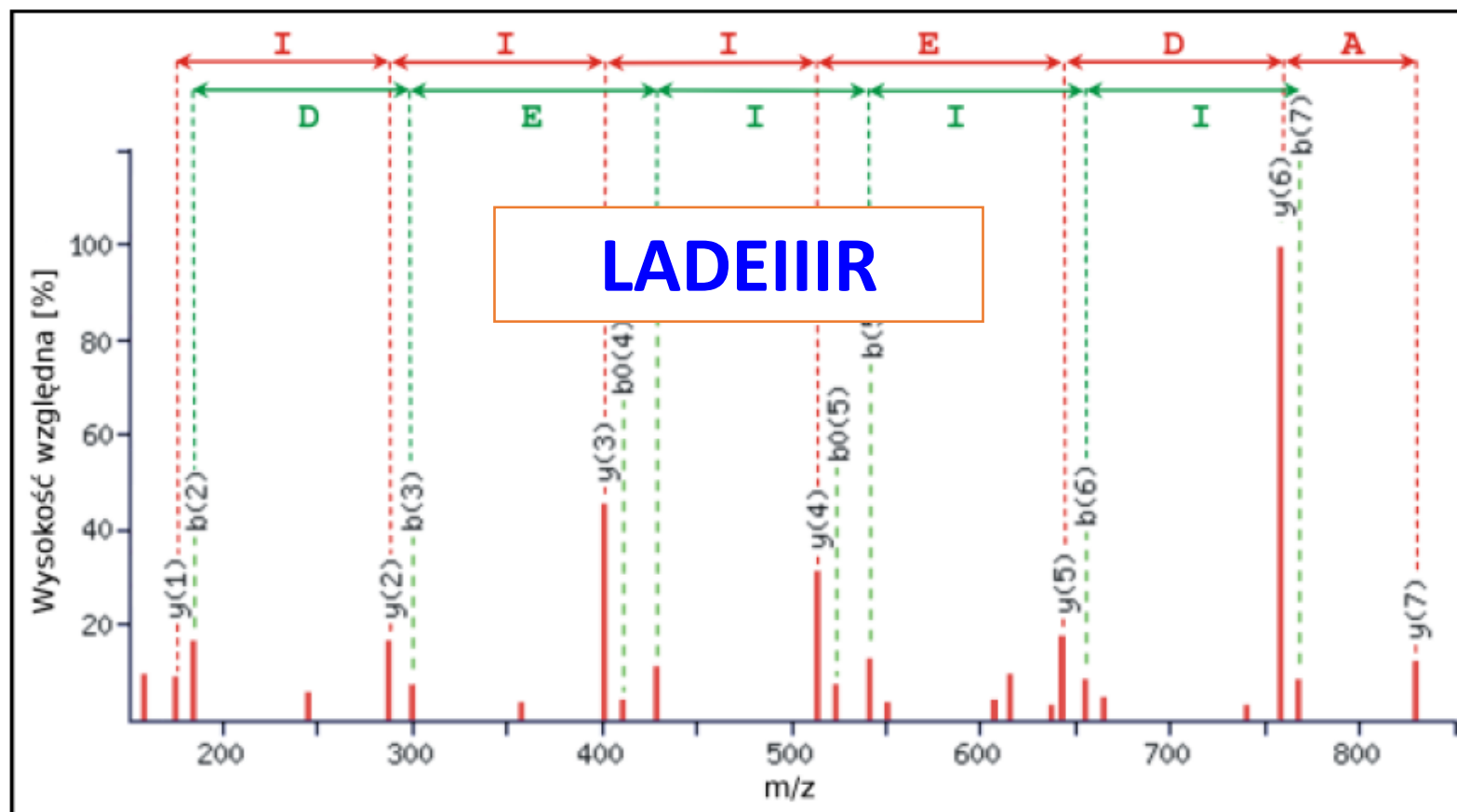


Instytut
Matki i Dziecka

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



Analiza białek - MS



Dziękuję za uwagę



Fundusze Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



**Rzeczpospolita
Polska**



**Instytut
Matki i Dziecka**

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny

