

N-glycosylation studies in infectious disease using high-resolution analytical methods

N-glikoziláció vizsgálata nagyfelbontású analitikai módszerekkel vírusos fertőzés tanulmányozására

Dalma Dojcsák¹, Csaba Váradi²

¹Advanced Materials and Intelligent Technologies Higher Education and Industrial Cooperation Centre, University of Miskolc, Hungary 3515, dalma.dojcsak@uni-miskolc.hu

² Institute of Chemistry, Faculty of Materials Science and Engineering, University of Miskolc, Hungary 3515, csaba.varadi@uni-miskolc.hu

ABSTRACT

Total Serum and IgG N-glycosylation was analyzed in this study in patients after Sars-CoV-2 infection and after mRNA vaccination in order to identify potential glycosylation-based alterations using hydrophilic-interaction liquid chromatography with fluorescence detection. IgG antibodies were purified from serum samples by protein G affinity chromatography followed by PNGase F digestion-based deglycosylation. The released glycans were fluorescently derivatized by procainamide labeling and purified by hydrophilic magnetic nanoparticles. Typical modifications in the serum N-glycome following the SARS-CoV-2 infection, appeared as the increased level of sialylation and fucosylation. In addition, an elevation of non-fucosylated and sialylated structures were observed as an effect of vaccination. Increased sialylation and galactosylation of IgG was detected in both post-Covid 19 and post-vaccinated patient groups. Notably, the elevated sialylation observed in post-COVID-19 patients was further enhanced after vaccination, underscoring the critical role of sialylation.

Keywords: antibody glycosylation, liquid-chromatography, vaccination, mass-spectrometry

ÖSSZEFOGLALÓ

Ebben a kísérletben a teljes humán szérum és az IgG N-glikozilációja került elemzésre, a Sars-CoV-2 fertőzésen átesett, valamint mRNS vakcinával oltott betegek esetében, a glikozilációs szinten bekövetkező eltérések feltárása céljából. A kísérletben módszertanilag a glikánokat (oligoszacharidokat) hidrofil interakción alapuló folyadékkromatográfiával választottuk el, fluoreszcensen detektáltuk, majd tömegspektrométerben azonosítottuk tömeg/töltésük alapján. Az IgG antitesteket a szérummintákból protein G affinitás kromatográfiával izoláltuk, majd PNGase F emésztéssel lehasítottuk a fehérjékről a cukor molekulákat. A felszabaduló glikánok prokainamid jelöléssel fluoreszcensen derivatizálódtak, majd a visszamaradó szennyezőktől mágneses nanorészecskékkel kerültek tisztításra. A SARS-CoV-2 fertőzésen átesett minták esetében a szérum N-glikom változásai között megfigyelhető volt a szializáció és fukoziláció növekedése, valamint a vakcináció hatására megnövekedett a nem-fukozilált, de szialsavas struktúrák mennyisége. Mind a poszt-COVID, mind a vakcinált betegcsoportokban fokozott IgG szializációt és galaktozilációt tapasztaltunk. Kiemelendő, hogy a poszt-COVID betegekben megfigyelt fokozott szializáció a vakcinációt követően tovább növekedett, ami hangsúlyozza a szializáció jelentőségét a vírusos betegségek esetében is.

Kulcsszavak: antitest glikoziláció, folyadék kormatográfia, vakcináció, tömegspektrometria