



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Glyco(proteo)mic workflows for cancer biomarker discovery

Moran, A.B.

Citation

Moran, A. B. (2023, November 1). *Glyco(proteo)mic workflows for cancer biomarker discovery*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3655862>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/3655862>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Nederlandse Samenvatting

Zowel in het geval van prostaatkanker (PCa) als bij dikkedarmkanker (CRC) is er een klinische behoefte aan verbeterde methoden voor patiëntstratificatie met betrekking tot diagnose en prognose. Het meten van ziekte-gerelateerde parameters, dat wil zeggen “biomarkers”, in lichaamsvloeistoffen is een manier om aan de hand van een niet-invasieve test met verbeterde nauwkeurigheid te komen tot “personalized medicine” (zorg-op-maat). Het doel van het onderzoek dat is beschreven in dit proefschrift was het verkrijgen van meer inzicht in biomarkers die relevant zijn in PCa danwel CRC en daarnaast het ontwikkelen van analytische methoden ten behoeve van ontdekking van nieuwe biomarkers. Voor PCa en CRC werden respectievelijk profielen van prostaat-specifiek antigeen (PSA) en serum *N*-glycosylering bestudeerd met behulp van capillaire elektroforese electrospray ionisatie massaspectrometrie (CE-ESI-MS) en “reversed phase” vloeistofchromatografie (RPLC)-MS.

In het *eerste deel* van dit proefschrift (**Hoofdstukken 2 en 3**) zijn intacte proteovormprofielen van PSA uit urine en uit semen onderzocht aan de hand van CE-ESI-MS. In **Hoofdstuk 2** is een CE-ESI-MS methode beschreven die meting van PSA-proteovormen laat zien, waarvan structuren eerder slecht gedefinieerd waren. Terwijl in deze eerdere studies de focus vaak lag op glycosylering wordt in dit hoofdstuk zowel de glycosylering als het proteovormprofiel van PSA beschreven. Proteovormen die eerder werden gerapporteerd als “pI isovormen” zijn in **Hoofdstuk 2** in detail gekarakteriseerd als specifiek geknipte proteovormen. Vervolgens is in **Hoofdstuk 3** beschreven welke stappen genomen dienen te worden bij het verwerken van data van intacte proteovormen, en daarbij is een semi-geautomatiseerde kwantificering voorgesteld die de snelheid en nauwkeurigheid van de strategie vergroot. Bij deze analyses zijn gedetailleerde “bottom-up” en ‘middle-up” benaderingen geïntegreerd, waarmee toekenningen van PSA proteovormen verder bevestigd werden. Tevens is vastgesteld dat verschillende integratiestrategieën (electropherogram versus deconvolutie) vergelijkbare resultaten opleverden bij de bepaling van relatieve kwantificering van PSA proteovormen. Samenvattend is deze methode nu gereed voor de analyse van grotere patiëntaantallen en kunnen onze resultaten dienen als startpunt voor toekomstige studies aan PSA proteovormen.

In het *tweede deel* van dit proefschrift (**Hoofdstukken 4 en 5**) wordt het potentieel van serum *N*-glycosylering als biomarker voor CRC bestudeerd. Hiervoor waren belangrijke ontwikkelingen noodzakelijk zoals beschreven in **Hoofdstuk 4**, bestaande uit koppeling van glycaanstructuren met een fluorescent label (procainamide) gecombineerd met siaalzuurderivatisering. Hierdoor kunnen *N*-glycanen geanalyseerd worden met behulp van RPLC-MS en kunnen α 2,3- en α 2,6-gesialyleerde isomeren van elkaar gescheiden worden, evenals specifieke antennaire en core-gefucosyleerde structuren. De inzet van een fluorescent label maakt hierbij een nieuwe kwantificeringsmethode mogelijk voor het bepalen van de verschillende glycanen. Er wordt aangetoond dat de precisie van de methode verbetert en het aantal geanalyseerde structuren toeneemt in vergelijking tot wanneer slechts MS voor detectie wordt ingezet. Tenslotte worden de prestaties van de methode vergeleken met de gouden standaard voor glycaananalyse, namelijk HILIC-MS.

In **Hoofdstuk 5** wordt deze methode ingezet voor de analyse van serum *N*-glycosyleringsprofielen van CRC patiënten vóór en na chirurgische ingreep, en de resultaten worden vergeleken (en bevestigd) door eerder werk aan ditzelfde cohort. Nieuwe resultaten laten zien dat specifieke structuren zoals drievoudig gesialyleerde glycanen met antenne-fucosylering correleren met CRC. Daarnaast wordt beschreven dat specifieke structuren correleren met verschillen in histologie van de tumor en dat deze verschillen post-operatief verdwijnen. Geconcludeerd wordt dat deze resultaten een sterke aanmoediging om serum *N*-glycosyleringsprofielen in te zetten bij het volgen van patiënten tijdens therapie.

In **Hoofdstuk 6** worden tenslotte de uitdagingen en beperkingen van het hier beschreven onderzoek bediscussieerd. De richting van toekomstig onderzoek wordt beschreven, met name over PSA proteovormen en serum *N*-glycosyleringsprofielen. Belangrijk hierbij is dat de vooruitzichten voor translatie van resultaten en methoden naar de kliniek in ogenschouw worden genomen.