

Het onderzoeken van glycosylatie profielen van IgG en IgA in speeksel en plasma van gezonde vrijwilligers met behulp van liquid chromatography gekoppeld aan een massa spectrometer (LC-MS)

Gepubliceerd: 14-11-2016 Laatste bijgewerkt: 14-04-2024

In dit onderzoek willen we de glycosylatie profielen van IgG en IgA onderzoeken in zowel plasma als in speeksel van gezonde vrijwilligers (afgenomen op hetzelfde moment). Door de glycosylatie profielen in plasma en in speeksel van IgG en IgA te...

Ethische beoordeling	Goedgekeurd WMO
Status	Werving gestopt
Type aandoening	Overige aandoening
Onderzoekstype	Observationeel onderzoek, met invasieve metingen

Samenvatting

ID

NL-OMON43258

Bron

ToetsingOnline

Verkorte titel

glycosylatie van IgG en IgA in speeksel en plasma van gezonde vrijwilligers

Aandoening

- Overige aandoening

Synoniemen aandoening

nvt

Aandoening

dit onderzoek wordt gedaan in gezonde vrijwilligers

Betreft onderzoek met
Mensen

Ondersteuning

Primaire sponsor: Leids Universitair Medisch Centrum

Overige ondersteuning: High Glycan (European Union's Seventh Framework Programme)

Onderzoeksproduct en/of interventie

Trefwoord: Glycosylatie, IgA, IgG, Speeksel

Uitkomstmaten

Primaire uitkomstmaten

De primaire onderzoeksvariabelen zijn het verschil in de glycosylatie profielen van IgG en IgA tussen plasma en speeksel van gezonde vrijwilligers.

Secundaire uitkomstmaten

De secundaire onderzoeksvariabelen zijn leeftijd en geslacht van de vrijwilligers.

Toelichting onderzoek

Achtergrond van het onderzoek

Glycosylatie is een enzymatisch proces dat glycanen aan suikers, eiwitten, vetten en andere biomoleculen hangt. Glycosylatie is een van de meest veel voorkomende post translationele modificaties van eiwitten. Dit kan de vouwing, stabiliteit, lokalisatie en activiteit van het eiwit sterk beïnvloeden. Een veel voorkomende glycosylatie type is mensen is N-glycosylatie, waar een glycaan aan een stikstof atoom van een asparagine is gekoppeld. Dit proces vindt plaats in het endoplasmatische reticulum en de glycanen worden verder verwerkt in het Golgi complex [1]. Dit onderzoek is gericht op N-glycosylatie van immunoglobulinen.

Immunoglobulinen (Ig) zijn een familie van glyco-eiwitten die worden geproduceerd door B-cellen wanneer deze antigenen detecteren. Ze bestaan uit twee zware ketens en twee lichte ketens. Er zijn 5 klassen van Igs, gebaseerd op verschillende zware ketens, en dezen hebben elk een andere functie in het

immuunsysteem [2]. Van de 5 klassen Ig zijn er 4 aanwezig in speeksel, namelijk: IgG, IgM, IgE en IgA [3-4]. In dit project ligt de focus op IgG en IgA, omdat de IgM en IgE concentraties in speeksel erg laag zijn [3-4]. Immunoglobuline G (IgG) kan worden verdeeld in 4 subcategorieën (IgG1, IgG2, IgG3 en IgG4) en is te vinden in lichaamsvloeistoffen als bloed en lymfe. In de "fragment crystallizable" (Fc) regio van de zware keten van IgG is een N-gelinkte glycaan op asparagine-297, die belangrijk is voor de interactie met Fc gamma receptoren [5]. Immunoglobuline A (IgA) heeft 2 verschillende subcategorieën, namelijk IgA1 en A2, en kan ook voorkomen als een dimeer. IgA is voornamelijk te vinden in lichaamsvloeistoffen zoals speeksel, traanvocht, melk, zweet en in de lumen van de maag. Kleine hoeveelheden IgA zijn ook te vinden in bloed. Twee N-glycanen zijn aanwezig op de zware keten van IgA1 tegenover vier op IgA2 [6]. De functie van IgA en IgG is het neutraliseren en opsoniseren van pathogenen en het activeren van het complement [2].

1. Shylaja M and Seshadri H.S. (2010). Glycoproteins: an overview. *Biochemical Education* 17(4) 17:170-78
2. Parham, P. (2009). *The Immune system* (3rd ed.). London and New York, United Kingdom and United States of America: Garland Science.
3. Sandra Pineda-Martínez, José Luis Hernández-Islas, Mónica Patricia Escobedo-Torres, Iris Evelin Paredes-Alonzo, Carlos López-Candiani, Dolores Correa, Marcela Vela-Amieva. (2015). Immunoglobulin Concentrations in Plasma and Saliva During the Neonatal Period. *Pediatrics & Neonatology* S1875-9572(15)00145-X
4. Mario R. Romero, Marta L Lozano, Carolina Posada, Paola A Rueda, Nelly S. Roa, Adriana Rodríguez. (2011). Immunoglobulin A, G and M levels in Saliva in Children Between 3-12 Years of Age, Healthy and with Gingivitis. *Acta Odontol. Latinoam.* 24(2): 176-182
5. Bondt A, Selman MH, Deelder AM, Hazes JM, Willemsen SP, Wuhler M, Dolhain RJ. (2013). Association between galactosylation of immunoglobulin G and improvement of rheumatoid arthritis during pregnancy is independent of sialylation. *Journal of Proteome Research*;12(10):4522-31
6. Jerrard M. Hayes, Eoin F. J. Cosgrave, Weston B. Struwe, Mark Wormald, Gavin P. Davey, Roy Jefferis and Pauline M. Rudd. (2014). Glycosylation and Fc Receptors. *Current Topics in Microbiology Immunology*; 382:165-99

Doel van het onderzoek

In dit onderzoek willen we de glycosylatie profielen van IgG en IgA onderzoeken in zowel plasma als in speeksel van gezonde vrijwilligers (afgenomen op hetzelfde moment). Door de glycosylatie profielen in plasma en in speeksel van IgG en IgA te onderzoeken willen wij de geschiktheid van speeksel collectie voor biomarker analyse bestuderen.

Onderzoeksopzet

Om de glycosylatie van speeksel en plasma in gezonde vrijwilligers te onderzoeken, wordt bloed en speeksel afgenomen van 30 gezonde individuen die 18-50 jaar oud zijn. Opzuivering van IgG en IgA wordt uitgevoerd door middel van geïmmobiliseerde affiniteit liganden die gekoppeld zijn aan magnetische beads. Deze affiniteit liganden binden specifiek aan en isoleren IgG of IgA van andere componenten aanwezig in speeksel en plasma. Een soortgelijke methode is al opgezet voor IgG in plasma met protein G sepharose beads, maar moet worden aangepast worden voor IgG in speeksel en voor IgA in speeksel en plasma. Opgezuiverd IgA en IgG worden dan gedigesteerd door een proteolytische enzym (trypsine) waarna de verschillende glyco-peptiden gescheiden worden met een liquid chromatography en de glycosylatie profielen worden gedetermineerd door middel van massa spectrometrie (LC-MS). Gespecialiseerde, in huis ontwikkelde software (LaCyTools) wordt gebruikt voor de analyse van LC-MS data en de visualisatie van de resultaten.

Inschatting van belasting en risico

Er zal rond de 5 ml bloed worden afgenomen van de gezonde vrijwilligers. Dit zal geen nadelige effecten opleveren voor de vrijwilliger want de hoeveelheid bloed is 1/100 van wat normaal wordt afgenomen voor bloed donaties. Ook bij het collecteren van speeksel zal geen nadelige consequenties zijn want de afname van speeksel is niet invasief.

Contactpersonen

Publiek

Leids Universitair Medisch Centrum

Albinusdreef 2
Leiden 2333 ZA
NL

Wetenschappelijk

Leids Universitair Medisch Centrum

Albinusdreef 2
Leiden 2333 ZA
NL

Locaties

Landen waar het onderzoek wordt uitgevoerd

Netherlands

Deelname eisen

Leeftijd

Volwassenen (18-64 jaar)

65 jaar en ouder

Belangrijkste voorwaarden om deel te mogen nemen (Inclusiecriteria)

gezond, tussen 18 en 50 jaar oud

Belangrijkste redenen om niet deel te kunnen nemen (Exclusiecriteria)

ziekten, roken, ontsteking of wondjes in de mond

Onderzoeksopzet

Opzet

Type: Observationeel onderzoek, met invasieve metingen

Blinding: Open / niet geblindeerd

Controle: Geen controle groep

Doel: Diagnostiek

Deelname

Nederland

Status: Werving gestopt

(Verwachte) startdatum: 16-03-2017

Aantal proefpersonen: 30
Type: Werkelijke startdatum

Ethische beoordeling

Goedgekeurd WMO
Datum: 14-11-2016
Soort: Eerste indiening
Toetsingscommissie: METC Leids Universitair Medisch Centrum (Leiden)

Registraties

Opgevolgd door onderstaande (mogelijk meer actuele) registratie

Geen registraties gevonden.

Andere (mogelijk minder actuele) registraties in dit register

Geen registraties gevonden.

In overige registers

Register	ID
CCMO	NL58060.058.16