

## Analyse de glycosaminoglycanes et de leurs complexes non-covalents avec des protéines par DESI-MS

C. Przybylski(1) • F. Gommet(1) • Y. Hersant(2) • D. Bonnaffé(2) • H. Lortat-Jacob(3) • R. Daniel(1)

(1)CNRS UMR 8587, Université d'Evry-Val-d'Essonne, Laboratoire Analyse et Modélisation pour la Biologie et l'Environnement, France • (2)CNRS UMR 8182, Université d'Orsay, Laboratoire de Chimie Organique Multifonctionnelle, ICMO, France • (3)CNRS UMR 5075, Université Joseph Fourier, Laboratoire d'Enzymologie Moléculaire, IBS, Grenoble, France

Les techniques d'ionisation actuellement les plus employées en spectrométrie de masse (MS) pour la caractérisation des oligosaccharides et notamment des glycosaminoglycanes (GAGs), sont l'électrospray (ESI) et la désorption ionisation laser assistée par matrice (MALDI)<sup>1,2</sup>. Ces méthodes nécessitent respectivement de dissoudre l'échantillon dans un solvant approprié et/ou d'effectuer un mélange homogène avec une matrice. Récemment, la désorption ionisation assistée par électrospray (DESI)<sup>3</sup> a été introduite. Cette méthode requiert un minimum de préparation et présente une grande tolérance aux sels, permettant l'analyse directe et en conditions atmosphériques ambiantes d'échantillons déposés sur une surface quelconque.

Les GAGs sont des polysaccharides linéaires très fortement anioniques présents à la surface des cellules et dans le milieu extracellulaire. L'héparane sulfate (HS) et l'héparine (HP), les deux membres emblématiques de la famille des GAGs, sont composés d'unités disaccharidiques répétitives (20 à 200 unités), chacune constituée d'un acide hexuronique et d'une D-glucosamine acétylée et substituée avec des groupements sulfate en position variable. De part l'hétérogénéité de leurs chaînes moléculaires et la présence des groupements sulfate très labiles, les GAGs sont parmi les biopolymères les plus difficiles à caractériser<sup>4</sup>. En outre, beaucoup de fonctions des GAGs, et en particulier des HS/HP, reposent sur leur liaison non-covalente avec des protéines cibles telles que les chimiokines<sup>5</sup>. Par exemple, les chaînes de HS situées à la surface des cellules lient la chimiokine SDF-1 (Stromal Cell-Derived Factor-1) pour en réguler la fonction<sup>6</sup>. Les GAGs et leur fonction de liaison protéique constituent une cible thérapeutique potentielle dans de nombreuses situations physio-pathologiques. Dans ce contexte, le développement d'agents thérapeutiques efficaces nécessite une bonne compréhension des propriétés à la fois structurales et de formation de ces assemblages.

Dans l'étude présentée ici, nous décrivons la première caractérisation par DESI-MS d'oligosaccharides d'HP et d'HS et de leurs complexes non-covalents spécifiques avec SDF-1. Dans ce but, nous avons utilisé le couplage entre une source DESI (Prosolia) et un spectromètre de

masse LTQ-Orbitrap<sup>TM</sup>. Ce couplage allie une ionisation douce en conditions ambiantes avec les caractéristiques de résolution et de précision très élevées de l'Orbitrap. Il ouvre la voie à l'analyse directe des GAGs à la surface des cellules ou dans les matrices extracellulaires, ainsi que la détection de leurs complexes spécifiques non-covalents avec des protéines cibles.

(1) Zaia, J. *Chemistry & Biology* 2008, 15, 881-892.

(2) Przybylski, C.; Gommet, F.; Bonnaffé, D.; Hersant, Y.; Lortat-Jacob, H.; Daniel, R. *Glycobiology* 2010, 20, 224-234.

(3) Takats, Z.; Wiseman, J. M.; Gologan, B.; Cooks, R. G. *Science* 2004, 306, 471-473.

(4) Sasisekharan, R.; Raman, R.; Prabhakar, V. *Annual Review of Biomedical Engineering* 2006, 8, 181-231.

(5) Gandbi, N., S.; Mancera, R., L. *Chemical Biology & Drug Design* 2008, 72, 455-482.

(6) Bishop, J. R.; Schuksz, M.; Esko, J. D. *Nature* 2007, 446, 1030-1037.