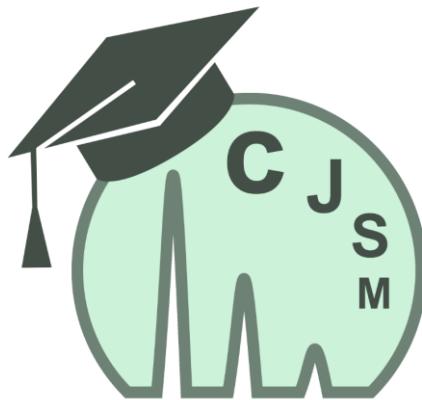




Société Française de Spectrométrie de Masse
Le Club Jeune

Les XXVIII^e Rencontres
École de Printemps



22-26 avril 2024

Couvent de Saint-Jean-De-Bassel



Le lieu d'accueil



Les XXVIII^e Rencontres RCJSM2024



Le Couvent de
Saint-Jean-De-Bassel



Le site était anciennement une chapelle puis un monastère bâti par les Augustines au IX^e siècle et une commanderie pour les Chevaliers de l'ordre de Malte. C'est en 1827 que les Sœurs de la Divine Providence rachètent cette bâtisse pour en faire Le Couvent de Saint-Jean-De-Bassel. Une cinquantaine de Sœurs y résident et consacrent leur vie au service des plus fragiles. Elles vivent en communauté et accordent de l'importance à la transition écologique. Ainsi, elles cuisinent avec des aliments issus de leur potager et favorise le circuit-cours pour s'alimenter en denrées non produites sur place. Les activités qu'elles entreprennent se font dans le domaine éducatif au sein d'associations, d'églises ou encore au coeurs de leur milieu professionnel. Les Sœurs ont aussi un rayonnement international et sont présentes dans des pays comme Madagascar ou encore l'Équateur.



“Il n'y a pas de ville qui se fasse mieux aimer que Metz.”
Maurice Barrès



Les comités organisateurs



Le Bureau du CJSM



Wafa Hechiche

Présidente



Gauthier Rosé

Vice-Président



Jessica Michieletto

Trésorière



Hikmat Ghosson

Secrétaire



Isaura Sargent

Responsable
Communication



Clarisse Gosset-Erard

Trésorière-Adjointe &
Relations COL



Bayan Almasri

Responsable
Relations Industrielles
& Académiques



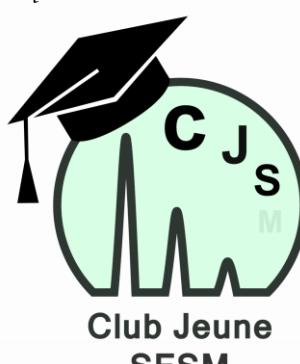
Alexia Fataka

Membre Polyvalente



Maxime Sueur

Webmaster



Club Jeune
SFSM



Le Comité Local



Marisa Maia

Chercheuse



Jasmine Hertzog

Ingénierie de Recherche



Pierre Pacholski

Doctorant



Farès Slimani

Doctorant



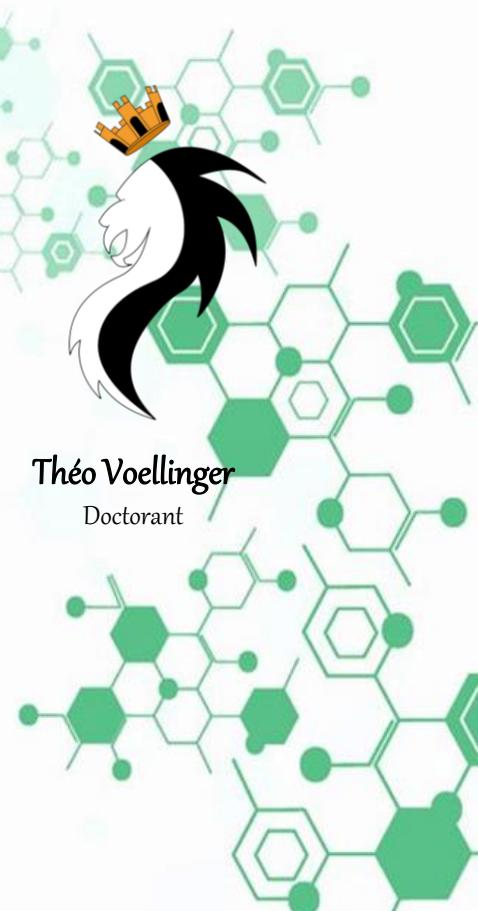
Nathan Traullé

Doctorant



Théo Voellinger

Doctorant



La SFSM



Marion G.

Correspondante CJSMS



SFSM

La SFSM

Et l'ensemble de son CA



Les partenaires



Les partenaires industriels/publics

Prestige



ThermoFisher
SCIENTIFIC

DAH
infranalytics

Premium

MSVision

PEAK
SCIENTIFIC

ionBench®

Cil
CLUZEAU INFO LABO

ProFI
PROTEOMICS FR2048



Les partenaires académiques locaux

C2MP



CPM

CHIMIE ET PHYSIQUE
MOLÉCULAIRES

LCP-A2MC

Laboratoire de Chimie et Physique
Approche Multi-échelles des Milieux Complexes



UNIVERSITÉ
DE LORRAINE



MassLor

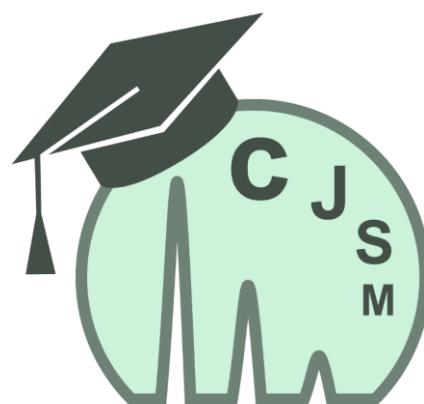
Mass Spectrometry



RC 2024

SM

Fascicule
Programme & Résumés



Sommaire

P.12 : Programme

P.14 : Thématiques des cours

P.19 : Résumés : Oraux & Rapides

P.53 : Communications des partenaires

P.55 : Liste des participantes et participants





Programme

Planning de la semaine & des Oraux



lundi 22 avril	mardi 23 avril	mercredi 24 avril	jeudi 25 avril	vendredi 26 avril
	8h30-10h00 : Session 1 - Développements méthodologiques et métabolomique 10h00-10h30 Pause café 10h30-12h00 Cours <u>C.01</u> Héloïse Dossmann 12h00-13h30 Pause déjeuner 13h30-15h00 Cours <u>C.01</u> Héloïse Dossmann 15h00 - 15h55 : Session 2 - Métabolomique 15h55-16h00 MS Vision	8h30-9h00 Infranalytics 9h00-10h30 Cours <u>C.02</u> Ludovic Bailly-Chouriberry 10h30-11h00 Pause café 11h00-12h30 Cours <u>C.02</u> Ludovic Bailly-Chouriberry 12h30-14h00 Pause déjeuner 14h00-14h30 Thermo 14h30-15h30 Atelier/discussion sur l'avenir 4 professeurs + Jasmine Hertzog 15h30 Après-midi récréative	8h30-10h00 Cours <u>C.03</u> Christine Carapito 10h00-10h30 Pause café 10h30-12h00 Cours <u>C.03</u> Christine Carapito 12h05-13h30 Pause déjeuner 13h30-14h00 Bruker 14h00 - 15h20 : Session 4 - Protéomique 15h20-15h25 Ion Bench 15h25-15h55 Pause café 15h55-16h00 Peak Scientific 16h00 - 16h15 : Session 5 - Protéomique 16h15 - 17h35 : Session 6 - Chimie des ions, élucidation structurale et mobilité ionique 17h35 - 19h00 Temps libre + préparation pour le gala	8h30-10h00 Cours <u>C.04</u> Sebastien Schramm 10h00-10h30 Pause café 10h30-12h00 Cours <u>C.04</u> Sebastien Schramm 12h00-13h00 Pause déjeuner (pique-nique) 13h00 Départ de la navette 14h30 Arrivée de la navette
16h00 Départ de la navette	16h00-16h30 Pause café 16h30-16h35 Cluzeau 16h35 - 17h45 : Session 3 - Polymères et pétroliéomique	15h30		
17h30 Accueil Arrivée + Répartition chambres				
19h00 Diner	19h00 Diner	19h00 Diner	19h00 Diner + Soirée Gala	

Mardi 23 Avril				Jeudi 25 Avril			
Session 1 : Développement Méthodologique et Métabolomique				Session 4 : Protéomique			
<u>Modération</u> Hikmat & Clarisse	08h30-08h45	MULLER	O.01		14h00-14h15	DUPAS	O.13
	08h45-09h00	DE BONI	O.02		14h15-14h30	FLECHEUX	O.14
	09h00-09h15	ORLANDI	O.03		14h30-14h45	RATIBOU	O.15
	09h15-09h30	GHOSSON	O.04	<u>Modération</u>	14h45-15h00	FABRIZI	O.16
	09h30-09h45	OTUSZEWSKI	O.05	Clarissee	15h00-15h05	BONTEMPS	R.05
	09h45-10h00	CERONE	O.06		15h05-15h10	MORANDEAU	R.06
Session 2 : Métabolomique					15h10-15h15	REDUREAU	R.07
<u>Modération</u> Hikmat	15h00-15h15	SEGRET	O.07		15h15-15h20	CRASSET	R.08
	15h30-15h45	VALMORI	O.08	Session 5 : Protéomique			
	15h45-15h50	MENON	R.01	<u>Modération</u>	16h00-16h05	DE MONTES	R.09
	15h50-15h55	MUNOZ	R.02	Clarissee & Bayan	16h05-16h10	TÉNIER	R.10
Session 3 : Polymères et Pétroléomique					16h10-16h15	TYSON	R.11
<u>Modération</u> Bayan & Nathan	16h35-16h50	ALMASRI	O.09	Session 6 : Chimie des Ions, Elucidation Structurale et Mobilité Ionique			
	16h50-17h05	DEVAUX	O.10		16h15-16h30	BADRI	O.17
	17h05-17h20	LIMOUSIN	O.11		16h30-16h45	SOEP	O.18
	17h20-17h35	VOELLINGER	O.12	<u>Modération</u>	16h45-17h00	GOSSET-ERARD	O.19
	17h35-17h40	TRAULLÉ	R.03	Clarissee & Bayan	17h00-17h15	ANNIC	O.20
	17h40-17h45	SPADETTO	R.04		17h15-17h30	SCHNEIDERS	O.21
					17h30-17h35	JOLY	R.12

Thématiques des cours





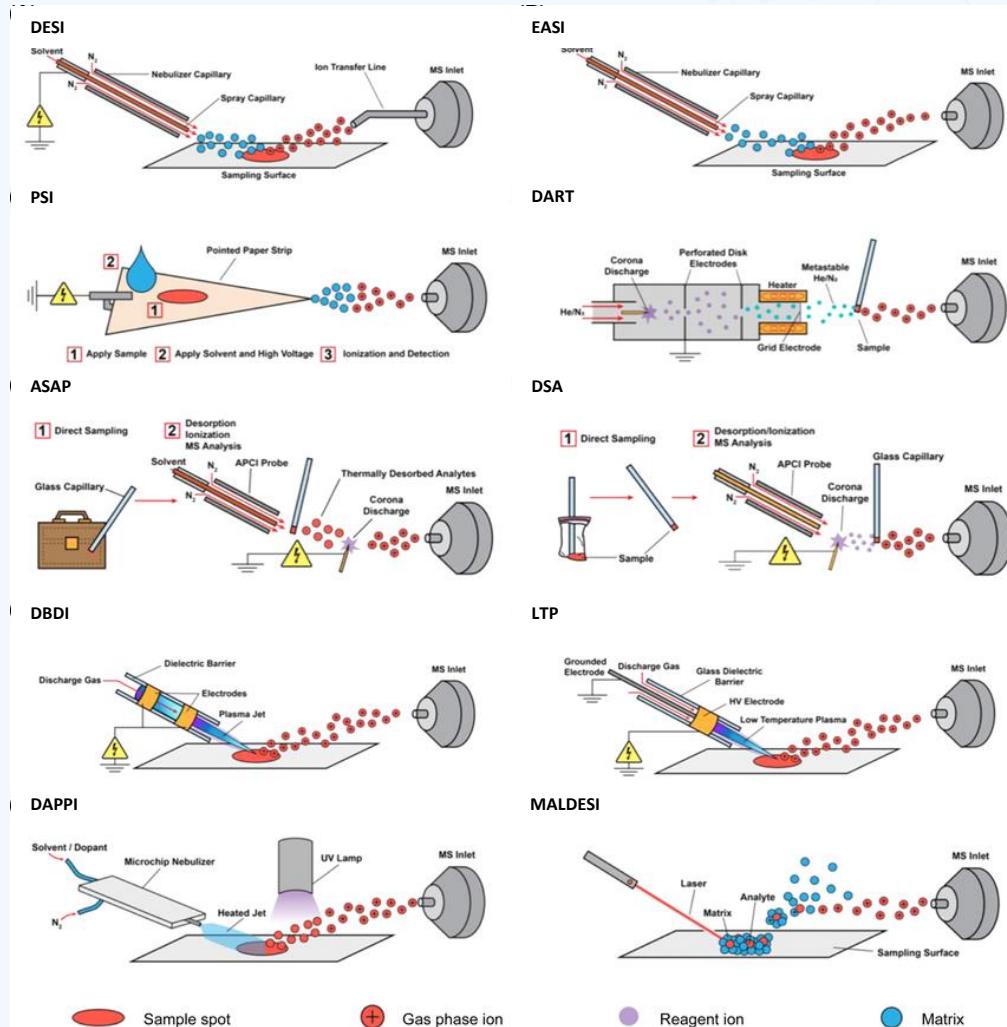
C.01 Source d'ionisation ambiante

Par Héloïse Dossmann

heloise.dossmann@sorbonne-universite.fr

Institut Parisien de Chimie Moléculaire, Paris

Résumé



Mass Spec Rev. 2023, 42:3–34.

C.02 Chimie analytique et spectrométrie de masse appliquées à la détection de substances prohibées en contrôle antidopage.

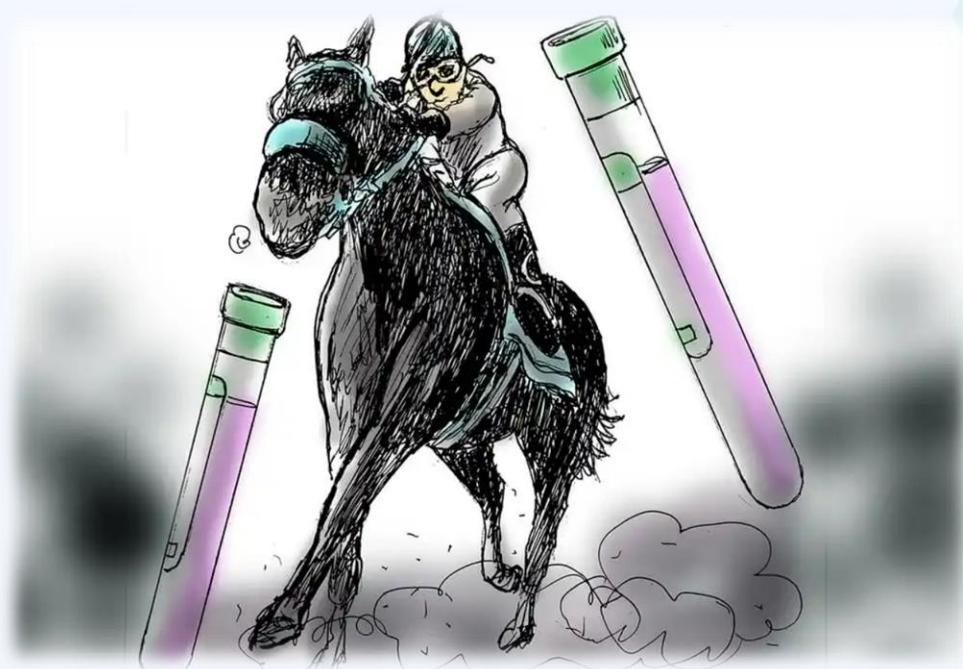


Par Ludovic Bailly-Chouriberry

 l.bailly@lchfrance.fr

Laboratoire des Courses Hippiques (GIE LCH), Verrières-les-Buisson

Résumé





Médaille de
bronze CNRS
2018



C.03 MS/MS data interpretation in proteomics : bioinformatics and artificial intelligence to the rescue



Par Christine Carapito et Lennart Martens

ccarapito@unistra.fr

Institut pluridisciplinaire Hubert Curien, Strasbourg

Résumé

Data interpretation is a key step of the proteomics workflow, as important as sample preparation or MS/MS data acquisition itself, with a strong impact on the results and overall success of the experiments.

This has been increasingly pronounced in recent years with the dramatic escalation of MS/MS data volume and complexity, to cite only the implementation of Data Independent Acquisition modes, the addition of ion mobility separations and the major technological jump in acquisition speed and sensitivity.

During the first part of the course, we will introduce the basics of MS/MS data interpretation, describe major strategies and bioinformatics tools with their strengths and limitations and show how AI and machine learning have recently greatly benefitted to the field, thanks to 15 years of data collection and sharing.

In the second part of the course, we will walk through a tutorial, you will practice yourself and interpret a proteomics dataset.



C.04 La spectrométrie de masse pour les analyses environnementales



Par Sébastien Schramm

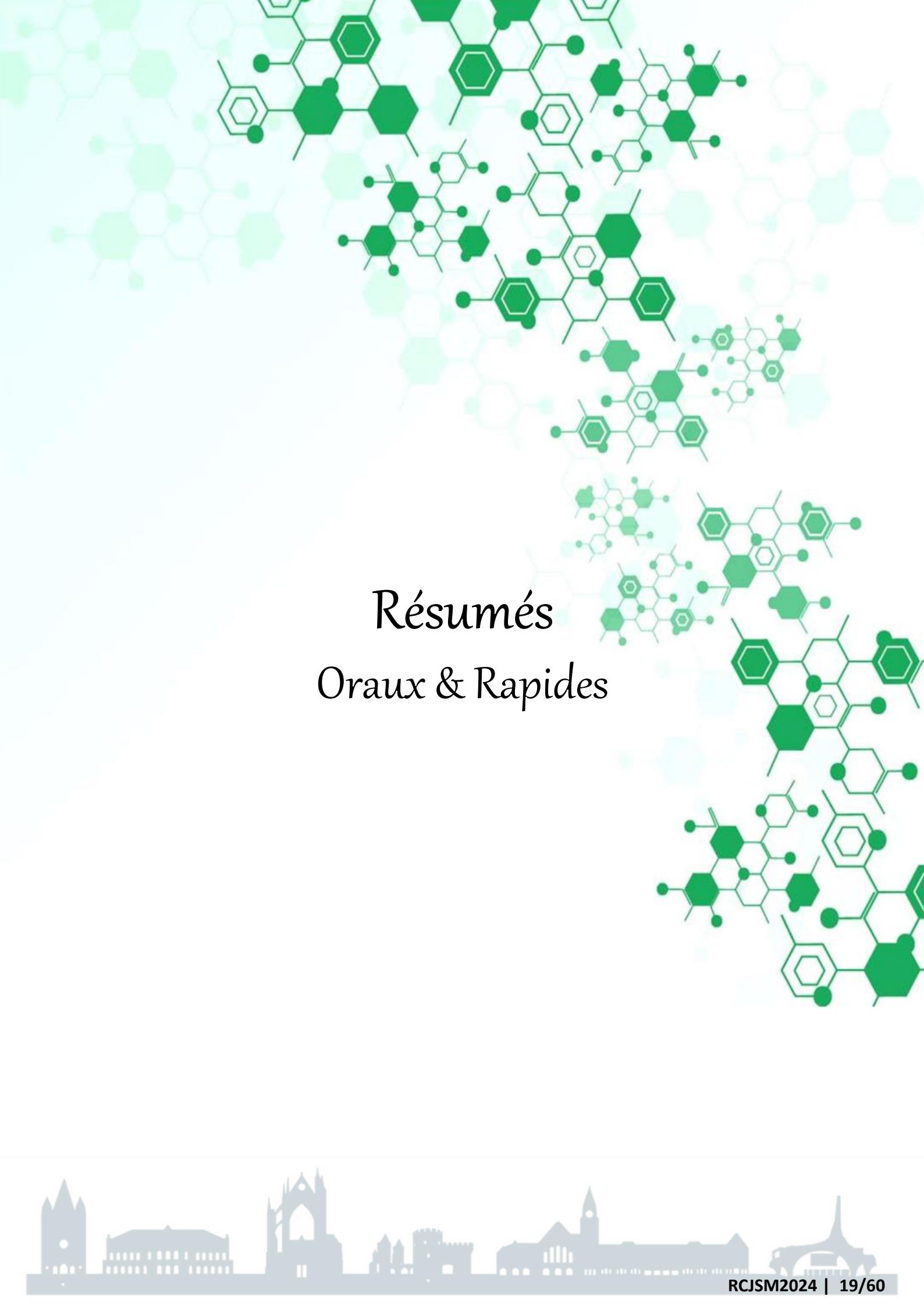
 sebastien.schramm@univ-lorraine.fr

Laboratoire de Chimie Physique Approche Multi-échelles des milieux complexes, Metz

Résumé

Les impacts de la dégradation de la qualité de notre environnement sont aujourd'hui une préoccupation majeure du point de vue sociétal et sont régulièrement mis en avant notamment par les aspects climatiques, mais aussi par les aspects sanitaires avec la dégradation de la qualité de l'air, des eaux et des sols. Afin de mettre en œuvre les mesures les plus pertinentes possibles, il est nécessaire de surveiller la composition chimique dans tous les compartiments de l'environnement, de qualifier et quantifier les émissions anthropiques, mais aussi de connaître les transformations chimiques et biochimiques permettant d'évaluer l'évolution et donc l'impact des polluants.

Pour répondre à ces besoins, des méthodes analytiques robustes, sensibles et sélectives doivent être mise en œuvre. Le cours proposé mettra en avant les techniques de spectrométries de masse les plus souvent utilisées pour l'analyse environnementale. Seront évoqués notamment les techniques d'analyse *in situ*, les techniques d'analyse couplées à la chromatographie, mais également les protocoles de préparation d'échantillons souvent indispensables pour atteindre les performances désirées.



Résumés Oraux & Rapides



O.01 Suspect and non-targeted screening of halogenated contaminants in a stranded killer whale (*Orcinus orca*) using GC-HRMS hyphenated with TIMS

Hugo Muller¹, Krishna Das², George Scholl¹, Emma L. Schymanski³, Gauthier Eppe¹

1 : Laboratoire de Spectrométrie de Masse (MSLab), Liège, Belgique

2 : Laboratoire d'Océanologie, Liège, Belgique

3 : Luxembourg Centre for Systems Biomedicine, Luxembourg, Luxembourg

Thématiques : Analyse Non-Ciblée ; Mobilité Ionique ; Polluants Organiques Persistants

Résumé

The killer whale (*Orcinus orca*) is likely the most contaminated marine mammal globally, facing extremely high levels of contaminants¹. This contamination, combined with reduced prey availability and vessel impacts, poses a significant conservation threat to the species worldwide². Beyond well-known pollutants like legacy persistent organic pollutants (POPs), killer whale tissues likely contain various emerging and unknown contaminants, potentially leading to additional toxic impacts. In this context, this study aimed to assess the advantages of using high-resolution ion mobility for the suspect and non-targeted screening of halogenated contaminants in the blubber and liver of a stranded killer whale.

For the suspect screening, comparison of features' experimental CCS with those available in our in-house database greatly contributed to their confident identification, since CCS deviations were typically below 1 %. For the non-targeted screening, the additional dimension of separation provided by the ion mobility was of great help in obtaining clean mass spectra. Indeed, filtering the data according to the ion mobility enabled to get rid of most of matrix background signals as well as other co-eluting isobaric interferences, greatly improving the quality of the spectra and the identification process, especially for low signal intensity features.

Références

1 : Desforges, J.-P. et al., *Science* **2018**, 361(6409):1373-1376

2 : Jepson, P. D. et al., *Science* **2016**, 352(6292):1388-1389

O.02 De l'analyse haute résolution à l'analyse ciblée hautement multiplexée

Rémy De Boni, Arnaud Salvador

Institut des Sciences Analytiques (ISA), Villeurbanne, France

Thématisques : Développement Méthodologique ; Métabolomique ; Traitement de Données

Résumé

Dans le cadre des études métabolomiques, le flux de travail non ciblé utilise en premier lieu la spectrométrie de masse haute résolution pour obtenir le profil métabolomique des individus¹. Ces données sont utilisées pour identifier des variables qui permettrais de discriminer les individus entre eux. Pour valider ces variations, il est courant d'utiliser en suite la spectrométrie de basse résolution qui offre d'excellente capacité d'analyse quantitative mais qui est limité par sa capacité de multiplexage².

Pour surmonter ce défi, il a été développé au laboratoire en collaboration avec Sciex® une nouvelle méthode d'acquisition ciblée hautement multiplexée nommée SCOUT-MRM. Cette méthode novatrice permet de suivre des transitions sur des fenêtres bornées par l'élation de composés connues ajoutés à l'échantillon appelés « scout », facilitant ainsi la création de méthodes hautement multiplexées³. Cependant, la création de telles méthodes est limitée par la disponibilité des standards.

C'est pourquoi nous avons développé un algorithme « HRMS vers SCOUT-MRM » qui à partir d'une série de spectres MS/MS obtenues en haute résolution permet d'identifier les composés « scout » et de sélectionner les transitions à suivre pour chaque spectre. Cela aboutit à la création d'une méthode SCOUT-MRM exhaustive utilisable pour l'identification de variation biologique.

Pour démontrer l'intérêt de notre méthode, un jeu d'échantillon biologique de foies de porc ayant subi une ischémie reperfusion a été analysés à la fois en DIA et en SCOUT-MRM. L'algorithme nous à permis de créer une méthode où 82% des composés initialement prévues ont été détecté Au niveau de l'interprétation biologique, l'analyse SCOUT-MRM a mis en évidence de nouvelles variables d'intérêts qui ne sont pas visibles en DIA.

Références

1 : Li, H. *et al.*, *Metabolites* **2021**, 11(4):233

2 : Chen, L. *et al.*, *Metabolites* **2020**, 10(9):348

3 : Salvador, A. *et al.*, *J. Chromatogr. A* **2020**, 1621:461046

O.03 Differentiation of synthetic sources of an organophosphorus chemical by LC-HRMS-based metabolomics

Carla Orlandi^{1,2}, Grégoire Delaporte³, Christine Albaret³, Emmanuel Joubert³, Anne Bossée⁴, Laurent Debrauwer^{1,2}, Emilien Jamin^{1,2}

1 : Laboratoire de Toxicologie Alimentaire (Toxalim), Toulouse, France

2 : Infrastructure Nationale en Métabolomique et Fluxomique (MetaboHUB), Toulouse, France

3 : Département de Chimie Analytique, Direction Générale de l'Armement, Vert-le-Petit, France

4 : Division de Chimie, Direction Générale de l'Armement, Vert-le-Petit, France

Thématiques : Développement Méthodologique ; Métabolomique ; Sourcing

Résumé

During events involving the use of chemical threat agents, it is critical to obtain as much information as possible about the history of the agent. Chemical attribution signatures can be used to provide an evidentiary link between the use of a given toxic chemical agent and its origin to support forensic investigations^{1,2}. Numerous factors like low concentrations, sample ageing and complex matrices, accentuate the difficulty to study these agents in a forensic purpose. Complementary to specific detection of targeted compounds, untargeted approaches can provide further information without a priori in sourcing fields. Organophosphorus compounds can be used as nerve agents, and can be produced by more or less complex synthesis routes.

In this work, we present an original approach for source determination of synthetic chemicals based on the specificity of synthesis by-products, impurities, and other compounds. Using untargeted fingerprints, crude chlorpyrifos, a phosphorous pesticide, from different syntheses was employed as a first use-case using metabolomics-based trace discovery strategies³. Considering different reactants and protocols, seven synthetic routes and corresponding crude reaction mixtures were investigated. Samples were randomly analyzed with a minimal sample preparation to keep as much chemical information as possible. Analyses were performed on a Waters Synapt G2-Si Q-ToF high resolution mass spectrometer coupled to an Acquity I Class liquid chromatography system. Electrospray ionization parameters were optimized using several commercial synthetic intermediates of chlorpyrifos. After untargeted analysis of the crude materials using optimized analytical conditions, data were extracted, aligned and processed using the collaborative portal Workflow4Metabolomics (XCMS). Statistical analyses highlighted a set of significant features discriminating each synthetic pathway. MS/MS analyses were then conducted for unambiguous identification of the various by-products, intermediates, unreacted precursors or impurities allowing to reveal the synthetic route used. This workflow would be used to the characterization of discriminating compounds in future unknown samples.

Références

1 : Fraga, C. G. et al., *Anal. Chem.* **2010**, 82:4165-4173

2 : Jackson, G.P. et al., *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2023**, 34(7):1210-1224

3 : Jamin, E. et al., *Anal. Bioanal. Chem.* **2014**, 406:1149-1161

O.04 LC-HRMS-based metabolomics as a tool to develop analytical methods: How to choose the best extraction protocol when it comes to untargeted analysis?

Hikmat Ghosson¹, Delphine Raviglione¹, Cédric Bertrand^{1,2}, Marie-Virginie Salvia¹

1 : Centre de Recherches Insulaires et Observatoire de l'Environnement (CRIOBE), Perpignan, France

2 : AkiNaO, Perpignan, France

Thématiques : Métabolomique ; Développement Méthodologique ; Analyse de Données

Résumé

Among lots of exigencies, two major requirements are necessary to assure the best performance of untargeted metabolomics-based approaches: (1) covering the maximum number of compounds present in the studied samples, and (2) determining the “optimal” analytical conditions to do so.

The present work suggests an approach to address these exigencies. This approach is based on LC-HRMS untargeted analyses and metabolomics computational tools¹. It will be developed and applied to assess the optimal extraction protocol dedicated to analyze a wide range of pesticides formulates and microbial metabolites at once, all hidden in a complex environmental matrix: agricultural soil.

Therefore, to compare five different extraction protocols applied on two types of soil and two formulated herbicides, four criteria were selected: (1) the coverage of compounds in term of polarity, (2) the quantitative performance, (3) the repeatability, and (4) the capacity to discriminate between contaminated and non-contaminated soils. To assess each criterion, different data analysis and visualization tools were used (*e.g.* hierarchically-clustered and polarity-segmented Heatmaps, van Krevelen diagrams, Euclidean Distances, RSD density plots, and OPLS-DA). They will be presented, explained and discussed in order to show their advantages, limitations and complementarities, as well as giving the best practices and tricks to render their exploration optimal.

These tools finally allowed for the selection of the best extraction protocol. They are thus suggested to assess the performance of analytical methods when it comes to untargeted metabolomics analyses, and can be adapted and further developed in order to respond for a wide variety of applications.

Références

1 : Ghosson, H. *et al.*, *Anal. Chem.* **2024**, 96(7):2810-2821

O.05 Exploration de méthodes d'extraction pour une analyse métabolomique et protéomique simultanée utilisant la spectrométrie de masse à haute résolution

Pierre Otuszewski^{1,2}, Nicolas Szydlowski², Fabrice Bray¹

1 : Miniaturisation pour la Synthèse, l'Analyse et la Protéomique (MSAP), Villeneuve d'Ascq, France

2 : Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle (UGSF), Villeneuve d'Ascq, France

Thématiques : Développement Méthodologique ; Protéomique ; Métabolomique

Résumé

L'étude des métabolomes se révèle, dans de nombreux cas, indispensable pour la compréhension du fonctionnement d'un système biologique. De même, l'analyse du protéome est également importante et nécessaire. Ce travail explore trois méthodes d'extraction capables de fournir la meilleure extraction simultanée de métabolites et de protéines dans un système végétal. Chacune de ces techniques a été testée sur de la poudre de tubercule de pomme de terre lyophilisée, dans le but de comprendre le comportement de plusieurs cultivars de pomme de terre lorsqu'ils sont exposés à un stockage à froid.

Deux milligrammes de poudre de tubercule ont été utilisés pour chaque méthode d'extraction. Trois méthodes d'extraction ont été utilisées pour cette étude : l'extraction au MTBE, l'extraction au chloroforme/méthanol et l'extraction au méthanol. Les phases liquides contenant les métabolites ont été analysées en injection directe sur un FT-ICR 9.4 T en mode positif et négatif et les données ont été analysées à l'aide de DataAnalysis. Les culots ont été solubilisés et les protéines ont été digérées en utilisant la méthode eFASP¹. La LC-MS/MS a ensuite été réalisée pour l'identification et la quantification des protéines. Les données protéomiques ont été analysées à l'aide de MaxQuant.

L'analyse des métabolites extraits dans la phase polaire révèle que les extractions au MTBE et méthanol permettent d'obtenir des pics plus intenses que l'extraction au chloroforme. L'analyse de la phase apolaire montre que c'est le chloroforme qui permet d'obtenir des pics plus intenses. Les données de protéomique montrent que l'extraction MTBE semble plus répétable que l'extraction au chloroforme et permet d'identifier plus de protéines. Même si les différences ne sont pas prononcées pour les analyses métabolomiques, la méthode MTBE semble être plus adaptée dans le cadre d'analyses métabolomiques et protéomiques simultanée sur un grand nombre d'échantillon.

Références

1 : Erde, J. et al., J. Proteome Res. 2014, 13(4):1885-1895

O.06 A DESI-MSI workflow for metabolomic analysis

Alexandra Cerone, Sylvère Durand

Gustave Roussy, Villejuif, France

Thématiques : Métabolomique ; Imagerie

Résumé

Metabolomics is based on the study of endogenous small molecules with a molecular weight of less than 1200 Da, known as metabolites. As final product of metabolism, metabolites help us understand the mechanisms that govern the functioning of living organisms. In oncology, metabolomics makes it possible to characterize and monitor biomarkers typical of oncogenic states, as well as responses to treatments (chemotherapy, immunotherapy or associated regimens). Mass Spectrometry Imaging (MSI) allows metabolites identification, as well as providing information on their spatial distribution, in our case in mice tissues. Several ionization sources are available, including the Desorption Electrospray Source Ionization (DESI) source.

This presentation explains the workflow developed at the Gustave Roussy's metabolomic platform with a DESI Synapt XS (Waters) (*in-situ* since end 2022), and now routinely used for research projects. The aim of this workflow is to compare diversity in metabolites spatial distribution and synergize results with our “bulk” LC-MS and GC-MS widely targeted analyses.

O.07 Chemical diversity and chemotaxonomy of neo-tropical macroscopic fungi

Juliette Segret¹, Nicolas Elie¹, David Touboul², Véronique Eparvier¹

1 : Institut de Chimie des Substances Naturelles (ICSN), Gif-sur-Yvette, France

2 : Laboratoire de Chimie Moléculaire (LCM), Palaiseau, France

Thématisques : Métabolomique, Élucidation Structurale

Résumé

Fungi belong to one of the most diverse kingdoms of life yet it is estimated that hundreds of thousands of species remain to be discovered and thus chemically studied. More specifically, knowledge of their macroscopic forms is disparate and few studies have focused on their metabolome¹. In this work, we focused on macrofungi from French Guiana to investigate metabolic production and its link with taxonomy.

Fungal specimens were collected in French Guiana between 2019 and 2022. In total, 165 specimens were collected and identified morphologically. To study specialized metabolites production, ethyl acetate extracts were analyzed by RPLC-HRMS/MS, data were then used to generate molecular networks² to annotate the metabolites. Chemotaxonomical classification was performed using the clusterisation information obtained with our molecular network. Results showed matching to genus and order level for the order Xylariales. Data treatment led to the targeting of several clusters with the most influence on the grouping of the Xylariales order and of specific Xylariales genera.

Compounds with the most influence on the grouping of the Xylariales order were all annotated as osidic chains of Cinerulose A and Olivose although the retention time of these compounds suggests the presence of an undetected aglycone moiety. On the other hand, most compounds leading to the grouping of fungi from the same genus could not be annotated against databases or solely based on their mass spectrum. One cluster of compounds was produced in large enough quantity by *Thamnomyces chordalis* to attempt isolation and NMR data led to the structural identification of four new compounds.

Références

1 : Mueller, G. M. et al., *Biodivers. Conserv.* **2007**, 16:37-48

2 : Olivon, F. et al. *Anal. Chem.* **2018**, 90:13900-13908

O.08 Deciphering the lipidome of *Microchloropsis gaditana* through comparative lipidomic profile by SFC and RPLC-HRMS/MS systems

Marie Valmori^{1,2}, Benoit Colsch², François Fenaille², Juliette Jouhet³, David Touboul¹

1 : Laboratoire de Chimie Moléculaire (LCM), Palaiseau, France

2 : Département Médicaments et Technologies pour la Santé (DMTS), Gif-sur-Yvette, France

3 : Laboratoire de Physiologie Cellulaire et Végétale (LPCV), Grenoble, France

Thématiques : Développement Méthodologique, Lipidomique

Résumé

The complete characterization of the lipidome is generally achieved by reverse-phase liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry (HRMS/MS), which facilitates intraclass lipid species separation. While interclass separation facilitates the overview of lipid species within a time retention interval, Supercritical Fluid Chromatography (SFC) coupled to HRMS/MS demonstrated the achievement of lipidomic analyses by class separation¹. As far as we know, the comparison of both approaches for the lipidome annotation of microalgae has not been described yet.

A total lipid extract of *Microchloropsis gaditana* was characterized on SFC-Q/ToF and RPLC-Orbitrap by ESI-DDA-MS/MS approach in positive and negative modes. According to the dynamic range and sensitivity of systems, the lipid extract was injected at 100 µg/mL and 10 µg/mL on SFC-Q/ToF and RPLC-Fusion respectively. An iterative exclusion strategy was employed on SFC-Q/ToF to access to the low-abundance lipid ions eluting at the same time retention interval. The lipid annotation on both systems was achieved using the MS-DIAL software².

The observation of fragmentated lipid ions across two retention time enhances the reliability of annotations. Over 200 unique lipid species represented by glycerophospholipids (PC, PI, PG, PE), glycerolipids (TG, DG, MG), including glucolipids (DGTS, M/DGMG, SQDG) and fatty acids, were observed in both systems as expected³. By the validation of lipid species, the propagation of annotations within the molecular network generated by both systems, facilitated the proposal of novel specific lipid species within this lipid extract.

Références

1 : Lange, M. et al., *Chromatographia* **2019**, 412(15):3573-3584

2 : Tsugawa, H. et al., *Metabolites* **2015**, 12(6):523-526

3 : Jouhet, J. et al., *PLoS One* **2017**, 12(3):1-21

O.09 From macroplastics to microplastics: How to identify polyethylene terephthalates (PET) with soft chemical depolymerization and advanced mass spectrometry?

Bayan Almasri^{1,2}, Youssef Bakkour², Christian Rolando¹

1 : Miniaturisation pour la Synthèse, l'Analyse et la Protéomique (MSAP), Villeneuve d'Ascq, France

2 : Laboratoire de Chimie Appliquée, Tripoli, Liban

Thématiques : Polymères ; Développement Méthodologique ; Élucidation Structurale

Résumé

Polyethylene terephthalates (PET) are polyesters made from terephthalic acid and ethylene glycol. PETs transform after different degradation phenomena into microplastics, a pollution source in the environment. There is no satisfying analytical approach for their identification, quantification and modifications' study¹. Our new methodology combining soft chemical depolymerization with advanced mass spectrometry allows PET structural identification to understand their degradation pathways yielding microplastics and their environmental modifications².

To detect the terephthalic part, we developed a new methodology based on transamidation using *N,N'*-dimethyl-1,3-propanediamine (DMAPA) which worked originally at 70 °C. By solubilizing macro- or micro-PET in 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol (HFIP), we were able to perform the reaction at room temperature which minimizes the side reactions. After reaction with DMAPA, the mixture is neutralized and extracted with ethyl acetate. HFIP increases also the extraction yield. The depolymerized fractions having tertiary amine end-groups were analyzed by MALDI FT-ICR MS and Orbitrap LC-MS. The presence of terephthalic acid with two DMAPA molecules demonstrated the successful PET depolymerization. The reaction was optimized down to a few µg/ng of sample for analyzing PET microplastics. An internal standard for PET quantification was synthesized. For better detecting the diols and polyols, a derivatization by 4-*N,N'*-dimethylbenzoyl chloride was performed then the fractions were analyzed.

Bottles and containers designed for varied contents from different countries (Belgium, Spain, France & United States); new and environmentally aged were studied as well as PET artificially aged by UV-irradiation at 365 nm or by heating. Our methodology permitted the structural identification of PET monomers, their crosslinking dimers, oligomers and oxidized products as well as their additives and the products remaining inside PET films. Very surprisingly, a specific chemical composition was determined for each analyzed PET. Finally, we will show that our new method works well also on new biodegradable PET like PBAT (Polybutylene Adipate Terephthalate).

Références

1 : Ivleva, N. P., *Chem. Rev.* **2021**, 121(19):11886-11936

2 : Lavery, P., *LCGC Int.* **2023**, ASMS

O.10 Comparaison des sources d'ionisation pour la caractérisation de bio-huiles de microalgues et application au couplage SFC-FT-ICR

Jason Devaux^{1,2,3}, Mélanie Mignot^{1,3}, Sabine Heinisch², Carlos Afonso^{1,3}

1 : Chimie Organique et Bioorganique : Réactivité et Analyse (COBRA), Mont-Saint-Aignan, France

2 : Institut des Sciences Analytiques (ISA), Villeurbanne, France

3 : International - Complex Matrices Molecular Characterization (iC2MC), Harfleur, France

Thématisques : Pétroléomique ; Développement Méthodologique

Résumé

La population mondiale et sa demande en énergie augmentent, tandis que les réserves de ressources fossiles diminuent. De nouvelles sources d'énergie doivent être trouvées pour remplacer les combustibles fossiles, et les bio-huiles obtenues à partir de microalgues semblent prometteuses. Cependant, elles sont riches en eau et en hétéroatomes et nécessitent des traitements supplémentaires. Pour améliorer les procédés de traitement, une connaissance détaillée de l'échantillon est requise. Les bio-huiles contenant des milliers de composés couvrant une large gamme de poids moléculaire et de polarité, elles sont donc complexes à caractériser.

Dans la plupart des cas, l'analyse est faite par introduction directe dans un spectromètre de masse FT-ICR, ce qui permet d'attribuer des formules moléculaires. Différents composés sont préférentiellement détectés selon la source d'ionisation utilisée. Dans ces travaux, nous avons comparé trois sources d'ionisation : l'Electrospray (ESI), la Photoionisation à Pression Atmosphérique (APPI) et l'Ionisation Chimique à Pression Atmosphérique (APCI). De nombreux composés ont été identifiés avec chaque source et leur complémentarité a été démontrée. Cependant, en introduction directe, des effets matrice peuvent être observés et les composés de faible abondance peuvent ne pas être détectés. De plus, les nombreux isomères présents dans ces échantillons ne sont pas séparés.

Le couplage de la chromatographie à la spectrométrie de masse permet de résoudre ces problèmes. La chromatographie en phase supercritique (SFC) est intéressante pour l'analyse de bio-huile et pour la séparation d'isomères^{1,2}. Nous avons développé une méthode SFC-FT-ICR en optimisant les phases stationnaire et mobile et le solvant de make-up avec une source ESI. Pour combiner les avantages des deux techniques, des compromis ont été nécessaires et la détection quadripolaire a été utilisée afin d'augmenter la fréquence d'acquisition. Des milliers de composés ont été identifiés par leur formule moléculaire et de nombreux isomères ont été séparés, montrant ainsi la complexité isomérique de l'échantillon.

Références

1 : Crepier, J. et al., *J. Chromatogr. B* **2018**, 1086:38-46

2 : Devaux, J. et al., *J. Chromatogr. A* **2023**, 1697:463964

O.11 Couplage en ligne entre la Chromatographie et la Spectrométrie de Masse à Haute Résolution pour la caractérisation moléculaire et élémentaire de biohuiles

Guillaume Limousin¹, Gian Carlos Arias², Bechara Taouk², Lokmane Abdelouahed², Jason Devaux¹, Mélanie Mignot¹, Carlos Afonso¹

1 : Chimie Organique et Bioorganique : Réactivité et Analyse (COBRA), Mont-Saint-Aignan, France

2 : Laboratoire de Sécurité des Procédés Chimiques (LSPC), Rouen, France

Thématisques : Développement Méthodologique ; Pétroléomique

Résumé

La production de biocarburants à partir de biomasse lignocellulosique (bois, co-produits de l'agriculture...) apparait comme une solution attrayante, avec de larges volumes disponibles, pour remplacer les carburants actuels tout en préservant l'environnement. La pyrolyse est l'une des méthodes les plus connues pour obtenir une bio-huile. Mais celle-ci ne peut être utilisée directement comme biocarburant car elle est trop riche en composés oxygénés ce qui la rend instable et corrosive. Face à cela, diverses méthodes comme la pyrolyse catalytique sont développées afin de diminuer la quantité d'oxygène contenue dans les bio-huiles. Une des difficultés réside dans la désactivation des catalyseurs (ex : métaux) au fur et à mesure des pyrolyses. Afin de déterminer les composés responsables de ces désactivations et améliorer les traitements des biohuiles, il est nécessaire de comprendre leur composition moléculaire et élémentaire. La diversité des fonctions chimiques et le grand nombre de composés et d'isomères rend la caractérisation de celles-ci très complexe.

Face à cette difficulté, nous travaillons au développement de couplage innovant entre la chromatographie en phase supercritique et la spectrométrie de masse haute résolution (Orbitrap et FT-ICR). La SFC est une technique intéressante pouvant permettre une séparation des différents isomères et une stabilité des conditions d'ionisation tandis que la haute résolution de l'Orbitrap et du FT-ICR permet de diminuer le nombre d'isobare et attribuer précisément des formules brutes.

Aussi, la mise en place d'un couplage SFC-TIMS-TOF pourrait aussi améliorer la séparation des isomères avec l'utilisation en plus de la mobilité ionique apportant une séparation en fonction du Collision Cross Section (CCS).

Pour finir, l'utilisation de l'ICP-MS ou du couplage LC-ICP-MS permettrait de faire la spéciation métallique de la biohuile ainsi que de surveiller la quantité de métaux lors de la désactivation du catalyseur afin de vérifier si celui-ci se dégrade en relarguant des espèces métalliques.

Références

- 1 : Crepier, J. et al., *J. Chromatogr. B* **2018**, 1086:38-46
- 2 : Hertzog, J. et al., *Energy Fuels* **2021**, 35(22):17979-18007
- 3 : Ruiz, W. et al., *Energy Fuels* **2023**, 37(16):11608-11621

O.12 Assessment of DIP FT-ICR MS for the study of polymer pyrolysis

Théo Voellinger, Frédéric Aubriet, Sébastien Schramm

Laboratoire de Chimie et Physique-Approche Multi-échelles des Milieux Complexes (LCP-A2MC), Metz, France

Thématiques : Instrumentation ; Développement Méthodologique ; Polymères

Résumé

The fast pyrolysis of synthetic and natural polymers is a promising source of renewable molecules and fuels. The parameters employed during the pyrolysis process (raw material, heating rate¹, gas flow) and the use of a catalytic treatment² have a significant impact on the physical properties of the resulting oil as well as its molecular composition. In addition, these oils contain tens of thousands of different compounds, whose chemical properties can vary significantly. Optimizing pyrolysis parameters to obtain oils with the desired properties and yields is a critical step. This optimization process is complex and often require repeated production and characterization according to a petroleomic approach of the different oils in respect with the used pyrolysis parameters.

To shorten the time required to optimize these parameters, the on-line mass spectrometry analysis of the pyrolysis products is well suited. In this frame, a modification of the direct insertion probe (DIP) coupled to a FT-ICR Mass Spectrometer (FT-ICR MS) was developed. Indeed, DIP ensures to quickly heat solids at temperatures reaching hundreds of Celsius. Adding a flow of inert gas inside the probe allowed to mimic the thermal degradation of raw materials occurring in pyrolysis reactors. To investigate the resulting species, an atmospheric pressure chemical ionization source (APCI) was used prior to the analysis of the resulting ions by FT-ICR MS. The proposed device allows the investigation of the thermal degradation products of polymers.

The influence of the employed gas flow as well as the nature of the polymer's conversion products have been investigated. For cellulose, the pyrolysis produced well-known markers³ such as cellobiosan and levoglucosan which have been identified by tandem mass spectrometry. The dependence of the distribution and nature of the pyrolysis products of polystyrene with respect to its average molecular mass was also studied.

Références

- 1 : Dement'ev, K. I. *et al.*, *Polymers* **2023**, 15(2):290
- 2 : Hertzog, J. *et al.*, *ACS Sustainable Chem. Eng.* **2018**, 6(4):4717-4728
- 3 : Zhu, X. & Lu, Q., in: Momba, M. N. B. & Bux, F. (Eds.), *Biomass*, InTech **2010**, 147-164

O.13 Analyse protéomique de Légionnelle par LC-MS/MS en DIA

Agnès Dupas¹, Marine Ibranosyan², Christophe Ginevra², Sophie Jarraud², Jérôme Lemoine¹

1 : Institut des Sciences Analytiques (ISA), Lyon, France

2 : Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

Thématiques : Protéomique ; Développement Méthodologique

Résumé

Legionella est une bactérie responsable de la maladie du légionnaire, pneumonie provoquée à 90 % par l'espèce *Legionella pneumophila*. A l'origine de 1 à 10 % des pneumonies, cette infection pulmonaire présente un taux de mortalité assez élevé de 10-15 % pouvant aller jusqu'à 50 % dans certaines conditions¹. Peu différenciable des autres cas de pneumonies avec les données cliniques, il est nécessaire de disposer de méthodes de diagnostic rapides pour administrer le bon traitement dans les plus bref délais. Pour cela il est essentiel d'étudier la bactérie afin de mieux comprendre son fonctionnement. La protéomique est un aspect qui a été peu étudié chez *Legionella*. L'objectif de cette étude est donc de répondre à diverses questions biologiques grâce à son protéome, en particulier dans le cas exposé ci-après.

Chez certains patients le traitement initial ne suffit pas à stopper l'infection qui peut alors durer plus d'un mois. Dans ce cas, 2 prélèvements sont effectués, un premier au moment du diagnostic de l'infection (souche précoce) et un deuxième 1 mois après l'infection initiale (souche tardive). Il a été observé que les génomes des souches précoce et tardive sont identiques. Mais la question se pose d'une différence d'expression des gènes, visible au niveau protéique, qui montrerait une évolution de la souche infectieuse au cours du temps.

Pour y répondre, une méthode LC-MS/MS utilisant le mode « Data-Independent Acquisition » (DIA)² est développée et optimisée dans le but d'obtenir une vue d'ensemble des protéines exprimées dans les différentes souches.

Références

1 : Bai, L. et al., *Diagnostics* **2023**, 13(2):280

2 : Ludwig, C. et al., *Mol. Syst. Biol.* **2018**, 14(8):e8126

O.14 Avantage de l'utilisation de la Scout MRM pour la détection et la quantification fiable des protéines de la cellule hôte dans les matrices biothérapeutiques

Julie Flecheux^{1,2}, Chloé Bardet², Laura Herment², Tanguy Fortin², Jérôme Lemoine¹

1 : Institut des Sciences Analytiques (ISA), Lyon, France

2 : Anaquant, Lyon, France

Thématisques : Développement Méthodologique ; Quantification ; Protéomique

Résumé

L'identification et la caractérisation précises et robustes des protéines de la cellule hôte (HCPs) contaminant les substances biologiques actives restent un défi majeur pour l'industrie biopharmaceutique et les autorités réglementaires. Les pharmacopées européennes et américaines exigent la caractérisation et la quantification de ces impuretés dans les produits finis car ces protéines présentent un risque pour la sécurité clinique et la stabilité du produit lui-même¹.

Les HCPs sont le plus souvent quantifiées par un test ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), qui n'est pas exhaustif.

Dans cette étude nous avons développé une stratégie pour la détection et la quantification des HCPs problématiques afin de soutenir la validation du produit et le développement du processus de purification en aval (DSP). Cette méthodologie utilise la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) et implique l'approche protéomique ciblée sans programmation du temps de rétention, appelée Scout MRM². Cette méthode a été appliquée à la caractérisation d'échantillons provenant de diverses étapes de purification dans différentes productions de protéines thérapeutiques et d'anticorps. La méthode a mis en évidence des décalages significatifs du temps de rétention entre différentes substances médicamenteuses (DS). Nous avons démontré l'application de la méthode Scout MRM à l'analyse de 97 HCPs dans différentes matrices provenant de cultures de cellules ovarianes de hamster chinois (CHO), illustrée par la mesure d'un essai de 240 peptides (720 transitions).

Références

1 : European Medicines Agency, *Q 6 B Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for Biotechnological/Biological Products*, 2006

2 : Ayciriex, S. et al., *Proteomics* 2020, 20(2):1900254

O.15 Characterization of cone snail venom through proteo-transcriptomics approaches

Zahrmina Ratibou¹, Nicolas Inguimbert¹, Sébastien Dutertre²

1 : Centre de Recherches Insulaires et Observatoire de l'Environnement (CRIOBE), Perpignan, France

2 : Institut des Biomolécules Max Mousseron (IBMM), Montpellier, France

Thématiques : Transcriptomique ; Protéomique ; Spectrométrie de Masse en tandem

Résumé

Predatory marine cone snails use a highly complex and paralytic venom to capture prey and/or defend themselves against predators¹. These complex mixtures are mainly composed of highly structured cysteine-rich peptides known as conotoxins². Accelerated characterization of these venoms is achieved through the simultaneous use of proteomic and transcriptomic approaches, colloquially known as venomics³. Such combined use of high-throughput techniques is essential to rapidly determine the mature conotoxin sequences, including PTMs, as well as identify potential drug leads.

This strategy was applied to elucidate the composition of the venom of the molluscivorous cone snail *Cylinder canonicus*. Bioinformatic analyses of the venom gland transcriptome revealed 99 conotoxin sequences that belong to X gene superfamilies. Next, LC-MS/MS analyses of the predatory milked venoms compared to dissected venom gland sections uncovered a probable distal origin. Overall, this study contributes to a better understanding of molluscivorous predatory strategies and provides novel conotoxin sequence with potential for biodiscovery.

References

- 1 : Dutertre, S. et al., *Nat. Commun.* **2014**, 5:3521
- 2 : Jin, A.-H. et al., *Chem. Rev.* **2019**, 119(21):11510-11549
- 3 : Slagboom, J. et al., *Microchem. J.* **2022**, 175:107187

O.16 Paléoprotéomique par ultra haute résolution MALDI FT-ICR pour l'identification et la datation des os du pléistocène supérieur

Fabrice Bray¹, Isabelle Fabrizi¹, Patrick Auguste², Tarek Oueslati³, Christian Rolando¹

1 : Miniaturisation pour la Synthèse, l'Analyse et la Protéomique (MSAP), Villeneuve d'Ascq, France

2 : Evolution, Ecologie et Paléontologie (EEP), Villeneuve d'Ascq, France

3 : Histoire Archéologie Littérature des Mondes Anciens (HALMA), Villeneuve d'Ascq, France

Thématiques : Paléoprotéomique ; Développement Méthodologique ; Quantification

Résumé

Les ossements archéologiques contiennent des molécules qui permettent d'obtenir des informations sur le genre, l'espèce et leur évolution. Actuellement, la datation des os est réalisée au Carbone 14, cependant, la limite de datation ne dépasse pas 50'000 ans. Une autre méthode de spectrométrie de masse (ZooMS) permet d'estimer la déamidation par une comparaison de la distribution isotopique expérimentale avec la distribution isotopique théorique. Ces méthodes consomment de grandes quantités d'ossement. La spectrométrie de masse à ultra haute résolution permet à partir de 1 mg de quantifier avec précision le taux de déamidation et la réticulation du collagène permettant d'estimer la conservation des os.

210 os provenant de l'Holocène (11'000 ans jusqu'à nos jours) et du Pléistocène (120'000 ans) ont été analysés dans une plaque à 96 puits avec une membrane PVDF. La poudre d'os a été déminéralisée avec du TFA, lavée et digérée à la trypsine. Les peptides ont été purifiés sur C18 et analysés par MALDI FT-ICR et LC-MS/MS.

Les spectres MALDI FT-ICR ont permis d'identifier les taxons avec une corrélation de 96 % avec les identifications morphologiques. Les taux de déamidation du peptide COL1α1 508–519 hautement conservé chez les mammifères sont significativement différents entre les ossements de sites différents. Il varie de 4 à 9 % pour les ossements modernes, 10 à 22 % pour la période de l'Holocène, 35 à 55 % pour le Pléistocène. La quantification de la réticulation de la déhydroxylysinorleucine, a montré une différence significative entre les échantillons modernes, Holocène et Pléistocène supérieur avec 0,1 %, 28 % et 72 % en moyenne respectivement. Ces données indiquent que l'augmentation de la déamidation et de la réticulation du collagène est corrélée à la fossilisation des ossements.

Références

- 1 : Buckley, M. et al., *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2009**, 23:3843-3854
- 2 : Bray, F. et al., *Anal. Chem.* **2023**, 95(19):7422-7432

O.17 Laser desorption on water microdroplets for gas phase characterization

Ayoub Badri, Charles Desfrancois, Frederic Lecomte, Bruno Manil, Nicolas Nieuwjaer

Laboratoire de Physique des Lasers, Villeurbanne, France

Thématiques : Elucidation Structurale, Instrumentation, Spectroscopie Infrarouge

Résumé

The gas phase desorption of large biomolecules has been made possible by the advent in the last decades of soft sources, such as Electrospray Ionization or Matrix Assisted Laser Desorption sources. Even if these sources have the capability to preserve low interactions in the gas phase, the desorption process might generate structural changes of the biomolecules and relevance for biological understanding is not always assessed. In this context, we have started the development of a new Laser Induced Liquid Bead Ion Desorption (LILBID) source^{1,2}: liquid micro droplets (50 µm diameter), containing the biomolecules of interest, are laser ablated directly under vacuum. This innovative source will allow to benefit from the gas phase advantages (stoichiometry control, ions manipulation and trapping) while preserving the biomolecules native structure. The analysis is made by a time-of-flight mass spectrometer. We have obtained a water microdroplet under vacuum. We are now coupling our system with an infrared desorption laser to study the desorption phenomenon in detail and to potentially confirm the desorption possibility of hydrated species. It opens perspectives for a better preservation of native structures and towards radical chemistry studies inside the droplets.

Références

1 : Brutschy, B. et al., *Int. J. Mass Spectrom.* **1996**, 152:135-142

2 : Abel, B. et al., *Rev. Sci. Instrum.* **2004**, 75:1209

O.18 A combined gas/liquid phase approach to investigate the mechanism of action of a gold (III) complex family as anticancer agent

Clément Soep¹, Yanis Laghsal¹, Marie Chatel Niemann¹, Jean-Louis Hazemann², Olivier Proux², Isabelle Kieffer², Murielle Salomé², Sylvain Bohic³, Michèle Salmain¹, Denis Lesage¹, Benoît Bertrand¹, Héloïse Dossmann¹

1 : Institut Parisien de Chimie Moléculaire (IPCM), Paris, France

2 : Installation Européenne de Rayonnement Synchrotron (ESRF), Grenoble, France

3 : Rayonnement Synchrotron pour la Recherche Biomédicale (STROBE), Grenoble, France

Thématiques : Chimie des Ions

Résumé

Gold (III) complexes are potential anti-cancer agents. Usually, two pathways of toxicity are considered, due either to the structural toxicity of the complex or to its reactivity. In the first case, the complexes possess stable ligands that prevent the possibility of a direct coordination to the gold atom¹. They interact with their targets *via* weak interactions. In the case of toxicity due to a complex reactivity, the complex will lose a ligand, which will allow it to react with its target². Understanding the mechanism of action of an anti-cancer agent is the first step to improve the design and efficiency of these complexes.

In this context, we have investigated the influence of ligands L bound to $[(C^C)Au(NHC)L]^+$ gold(III) complexes with L a phosphine ligand. The effect of phosphine substitution on the strength of the metal ligand bond was assessed by determining the bond-dissociation energy (BDE) $M-L \rightarrow M + L$ by mass spectrometry³. We then tested if the strength of the metal ligand bond had an effect on the reactivity and toxicity towards biomolecules. To this end we performed reactivity experiment in the liquid phase using 1H NMR to test the kinetics of the binding of the complexes towards an amino acid on the one hand. On the other hand, we evaluated the toxicity of our complexes towards cancerous cells. We could establish a relation between the toxicity of the complex and the strength of the metal-ligand bond. Interestingly, the less reactive complexes were the most toxic thus indicating that the kinetics of reactivity have an effect on toxicity. Further single-cell imaging experiments using cryo-micro-X-ray fluorescence spectroscopy at the ESRF facility were also performed to target the localization of the complex in the cell and helped shed more light onto the complexes target within the cell.

Références

- 1 : Bertrand, B. *et al.*, *Inorg. Chem.* **2017**, 56:5728-5740
- 2 : Rubbiani, R. *et al.*, *Chem. Med. Chem.* **2014**, 9(6):1205-1210
- 3 : Bourehil, L. *et al.*, *Inorg. Chem.* **2023**, 62(33):13304-13314

O.19 Structural characterization of doubly lithiated phosphatidylcholines using electron transfer dissociation

Clarisse Gosset-Erard¹, John Carlos¹, Jean-Yves Salpin², Salomé Poyer¹

1 : Institut de Chimie des Substances Naturelles (ICSN), Gif-sur-Yvette, France

2 : Laboratoire Analyse, Modélisation, Matériaux pour la Biologie et l'Environnement (LAMBE), Evry, France

Thématiques : Elucidation Structurale ; Développement Méthodologique ; Electron Transfer Dissociation

Résumé

Phospholipids are the most abundant lipids of cell membranes and play a crucial role in a diverse range of essential biological processes¹. Their chemical, biochemical, and biophysical roles are directly linked to their structure, including the nature of their polar head and the constitution of their aliphatic chains (chain length, number, position and stereochemistry of their double bonds).

Despite many technical and methodological advances made in mass spectrometry for lipid analysis, characterization of phospholipids at the isomeric level remains challenging. Indeed, collision-induced dissociation (CID) does not enable the localization of the C=C double bonds and the determination of their stereochemistry as well as the differentiation between the acyl chains positions on the glycerol backbone. Several alternative methods to CID have been proposed to characterize phosphatidylcholines at this isomeric level. However, these methods often require either instrumental modifications or extensive sample preparation².

Here, electron transfer dissociation (ETD) was used on phosphatidylcholines (PCs) as this activation method is commercially available and does not require extensive sample preparation.³ ETD of doubly lithiated species enabled the discrimination between the stereospecific numbering on the glycerol backbone of PCs. This was consistently demonstrated by the preferential loss of the *sn*-2 chain over the *sn*-1 chain across various PC analogs. Moreover, dissociation rules were established for accurately pinpointing the localization of double bonds within PCs using ETD-CID-MS³ on radical species.

Références

1 : Dai, Y. et al., *Front. Physiol.* **2021**, 12:775648

2 : Kuo, T.-H. et al., *Anal. Chem.* **2019**, 91(18):11905-11915

3 : Liang, X. et al., *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2007**, 18(10):1783-1788

O.20 Caractérisation structurale de carraghénanes par une approche de fragmentation haute énergie EID (Electron Induced Dissociation)

Bastien Annic, Mathieu Fanuel, Hélène Rogniaux, David Ropartz

Biopolymères Interactions Assemblages (BIA), Nantes, France

Thématisques : Instrumentation ; Développement Méthodologique ; Élucidation Structurale

Résumé

Les carraghénanes sont des polysaccharides naturels retrouvés dans la matrice extracellulaire des algues rouges. Il s'agit de polymères constitués d'un enchaînement linéaire de galactoses présentant des fonctions chimiques telles que des groupements sulfates ou des ponts anhydrogalactoses. Les carraghénanes sont classés en sous-familles en fonction du nombre et de la position des fonctions sur la chaîne de galactose. Ces variations de structure vont impacter les propriétés rhéologiques du polysaccharide. Trois types de carraghénanes (kappa, iota et lambda) sont ainsi utilisés par le secteur agroalimentaire pour leurs propriétés gélifiantes et texturantes.

Cependant, la caractérisation fine de ce type de composé reste un challenge pour le domaine des glycosciences, et notamment pour la spectrométrie de masse. En effet, l'utilisation de mode de fragmentation conventionnel tel que la CID est insuffisante pour étudier ce type de composé. Elle produit principalement des fragments osidiques isobares, auquel s'ajoute la problématique des désulfatations multiples, engendrant une perte d'information structurale. Il en résulte un spectre de fragmentation ambigu. C'est pourquoi notre équipe c'est tourné vers des techniques originales de fragmentation « haute énergie » tel que le vacuum UV photon activation (VUV)¹ ou le charge transfert dissociation (CTD)². Ces technologies permettent la génération de fragments intracycliques, informatifs et non ambigu, tout en limitant grandement la désulfatation. Cependant, la VUV photon activation nécessite l'accès à l'installation SOLEIL, rendant son usage contraignant. Quant à la technologie CTD employé, elle a été implantée dans un spectromètre de masse basse résolution pour des raisons techniques. L'EID présente lui l'avantage d'être compatible avec des spectromètres de masse haute résolution. L'utilisation de la fragmentation EID couplé à un SELECT SERIES Cyclic IMS pour caractériser des oligosaccharides de carraghénanes a ainsi été exploré.

Références

1 : Ropartz, D. et al., *Anal. Chem.* **2015**, 87(2):1042-1049

2 : Ropartz, D. et al., *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2016**, 27(10):1614-1619

O.21 Comparison of CCS values of isobaric and asymmetric dimers of PFCA to assess the gas-phase conformation of PFCA dimers

Aurore Schneiders, Johann Far, Edwin De Pauw, Gauthier Eppe

Laboratoire de Spectrométrie de Masse (MSLab), Liège, Belgique

Thématiques : Élucidation Structurale ; Mobilité Ionique ; PFAS

Résumé

Per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) are emerging pollutants of great concern, with over 5,000 compounds currently reported. The coupling of ion mobility spectrometry (IMS) to liquid chromatography (LC) and high-resolution mass spectrometry (HRMS) hold promise for non-targeted screening of these substances. Among the many advantages of IMS, a descriptor related to molecular shape is obtained through the collision cross-section (CCS), which can be calculated from the measured ion mobility and provides an additional identification point.

However, when trapped IMS (TIMS) is coupled to LC-MS to analyze legacy perfluoroalkyl carboxylic acids (PFCAs), multiple mobility peaks are observed at the mass-to-charge ratio (m/z) of a single deprotonated ion ($[M-H]^-$), preventing the determination of an unambiguous CCS as an identifier. We determined that one of the unexpected peaks was due to a homodimeric PFCA ion ($[2M-H]^-$) that existed prior to ion mobility separation and could dissociate after mobility separation into the corresponding deprotonated ion ($[M-H]^-$).

As CCS- m/z trendlines could be obtained for the multiple monomeric PFCAs and their corresponding homodimeric ions, a plausible structural conformation was hypothesized. All the PFCAs detected shared the same linear relationship between CCS and m/z , suggesting that the addition of CF_2 units induces a growth of the ion in a cylindric shape with a constant diameter¹. For the homodimeric ions, the CCS- m/z trendline deviated from linearity and was best fitted with a power regression model. This suggests that the proton-bound PFCAs homodimer ($[2M-H]^-$) more likely adopts a V-shape with the proton bridging the carboxylate extremities, rather than a cylindric shape. This hypothesis was further investigated by performing IMS-MS measurements of asymmetric, but isobaric (*i.e.*, sharing the same number of CF_2 units) proton-bound PFCAs dimers, and their CCS values were compared. Theoretical calculations were also performed to determine whether the observed CCS trend could be predicted.

Références

1 : Haler *et al.*, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2022**, 33(2):273-283

R.01 Comparaison des modes CID et EAD pour la fragmentation de lipides complexes et insaturés

Romain Menon, Benoit Colsch, François Fenaille

Département Médicaments et Technologies pour la Santé (DMTS), Gif-sur-Yvette, France

Thématisques : Instrumentation ; Métabolomique

Résumé

La métabolomique correspond à l'analyse qualitative et quantitative de l'ensemble des molécules de petite taille (< 1500 Da) présents dans une matrice biologique donnée. Ces petites molécules ou métabolites se caractérisent par des structures chimiques très variées. C'est pourquoi leur détection large spectre représente un véritable défi analytique. Du fait de sa grande sensibilité, la spectrométrie de masse haute résolution couplée à la chromatographie liquide (LC-HRMS) est la méthode d'analyse la plus utilisée aujourd'hui pour les analyses métabolomiques. Les données LC-HRMS sont généralement complétées par des données de fragmentation MS/MS pour identifier ou confirmer la structure de composés d'intérêt. Ces données MS/MS sont généralement obtenues dans des conditions non résonantes via des collisions avec des molécules de gaz neutre (CID, Collision-Induced Dissociation). Cependant, cette méthode de fragmentation ne permet pas systématiquement de distinguer des composés isomères ou de localiser des insaturations dans le cas d'acides gras insaturés par exemple. Dans ce contexte, nous avons envisagé l'utilisation d'un instrument de type quadripôle-temps de vol (Q/ToF ZenoTof7600, Sciex) permettant de réaliser des expériences de fragmentation dans le mode EAD (Electron Activated Dissociation) permettant l'obtention d'informations structurales complémentaires. Dans cette étude, nous présenterons des données obtenues dans ces conditions EAD pour des lipides (lysophosphocholines), en soulignant notamment l'apport de cette technologie pour localiser des doubles liaisons ou obtenir des informations complémentaires à celles obtenues en CID.

R.02 Apport de la spectrométrie de masse haute résolution à l'analyse non ciblée dans le domaine criminalistique

Alix Munoz^{1,2}, Jeanne Brotier¹, Laëtitia Barthe¹, Guénaël Thiault¹, Joëlle Vinh²

1 : Laboratoire Central de la Préfecture de Police (LCPP), Paris, France

2 : Spectrométrie de Masse Biologique et Protéomique (SMBP), Paris, France

Thématiques : Développement Méthodologique ; Criminalistique

Résumé

Le Laboratoire Central de la Préfecture de Police (LCPP) joue un rôle crucial dans la lutte contre les menaces Nucléaires, Radiologiques, Biologiques, Chimiques et Explosives (NRBC-E). Dans ce contexte, il effectue des analyses pour identifier la composition de matrices ou la présence de composés exogènes, souvent à l'état de traces. Ces différentes demandes répondent à des procédures judiciaires ou cherchent à évaluer des risques sanitaires ou environnementaux. Ces analyses sont généralement non ciblées et peuvent concerter une grande variété de composés.

Actuellement, le LCPP utilise diverses techniques telles que la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse ainsi que les spectrométries Infra-Rouge et Raman. Récemment, des investissements ont été réalisés pour inclure la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse à haute résolution (LC-HRMS), permettant d'identifier de nouvelles familles de molécules.

Ce projet vise à intégrer l'approche LC-HRMS avec la technologie Orbitrap dans le processus d'identification des analytes. Il s'inscrit dans une démarche de consolidation et d'extension des capacités du laboratoire.

Une recherche bibliographique sur les applications de la HRMS a permis de définir les différents couplages chromatographiques et les modes d'ionisation associés dans ce domaine. Une phase d'expérimentation est menée pour explorer les fonctionnalités des équipements disponibles et leur application sur diverses matrices et composés représentatifs. Le but est de définir un protocole consensus pour l'analyse de mélanges inconnus. En parallèle, l'exploitation des données est étudiée, en évaluant l'efficacité de différents logiciels d'interprétation pour l'identification de substances inconnues.

Enfin, dans l'objectif d'intégrer les méthodes développées au processus d'analyse déjà en place, la préparation d'échantillons sera optimisée pour maximiser les informations obtenues à partir d'une quantité limitée d'échantillon.

Les méthodes d'analyse par LC-HRMS pourront alors compléter les approches actuelles tout en tenant compte des avantages et des limitations de la technique non ciblée.

Références

1 : Remane, D. et al., *Clin. Biochem.* **2016**, 49(13-14):1051-1071

2 : Raina, R., in: Stoytcheva, M. (Ed.), *Pesticides – Strategies for Pesticides Analysis*, InTech **2011**, 105-130

3 : Wu, W. et al., *Food Chem.* **2021**, 356:129643

R.03 DIP-APCI potential for real-time analysis of thermal conversion products of lignin

Nathan Traillé

Laboratoire de Chimie et Physique-Approche Multi-échelles des Milieux Complexes (LCP-A2MC), Metz, France

Thématisques : Instrumentation ; Développement Méthodologique ; Pétroléomique

Résumé

The utilization of fossil fuels such as gas and oil is unsustainable. Among the available renewable pathways, lignocellulosic biomass emerges as a promising resource. Lignin represents about 15 % to 30 % of the total mass of lignocellulosic biomass depending on the considered feedstock. It is depicted as a compound of great interest due to its rich aromatic content, that used to be wasted in inefficient combustion processes. Today, industrial processes such as pyrolysis or catalytic fast pyrolysis can be used to efficiently valorise lignin for energy and production of added-value chemicals¹. Evaluating the efficiency of various conversion conditions (including temperature, catalyst, and biomass) requires a high-throughput approach integrating high performance analytical system in real time.

To address this need, a high-resolution mass spectrometer was used for the analysis of pyrolysis products after their post-ionisation in the ion source. A modification of a direct injection probe (DIP) has been implemented to replicate the conditions of fast pyrolysis (FP) within an atmospheric pressure chemical ionization (APCI) source, coupled with a Fourier-transform ion cyclotron resonance mass spectrometer (FT-ICR MS). This solvent-free method involves the introduction of an inert gas flow into the DIP capillary to shorten the residence time of pyrolysis products and effectively simulating FP reactors.

The ability to scan the whole pyrolysis process and to investigate pyrolytic products by MS in real time allows for a time-dependant analysis, and a more thorough study of the conversion processes. Additionally, the analysis of samples in DIP-APCI does not exceed 3 minutes allowing a high-throughput screening of different feedstock and catalysts. Using this method, the influence of temperature on thermal conversion of lignin samples was studied and post-analysis data processing using statistical tools allowed the identification of the original lignin feedstock.

Références

1 : Letourneau D. R. & Volmer D. A., *Mass Spectrom. Rev.* **2023**, 42(1):144-188

R.04 Mass Spectrometry for more efficient electrocatalytic valorization of biomass

Clément Spadetto¹, Mathieu Prévot¹, Phillippe Vernoux¹, Essyllt Louarn^{1,2}

1 : Irçelyon, Villeurbanne, France

2 : Laboratoire de Chimie Physique (LCP), Orsay, France

Thématiques : Quantification ; Intermediate species detection ; in operando

Résumé

The gradual shift away from fossil carbon resources is forcing to develop the use of renewable carbon sources in the chemical, energy, and heavy transport sectors. In this respect, lignocellulosic biomass represents the largest available reservoir of sustainable carbon sources that do not compete with human food. The depolymerization and processing of this biomass produces a range of furanic (furfural, hydroxymethylfurfural...) and phenolic (phenol, guaiacol, cresol...) molecules. The disadvantage of these molecules is their high oxygen content, which needs to be reduced before any industrial application¹.

The electrocatalytic upgrading of these phenolic and furanic molecules offers multiple advantages: mild conditions, modulation of selectivity by potential, direct use of electricity, simplicity of start-up and shut-down, modularity and use of water as a proton source². However, there is a need for a better understanding of reaction mechanisms and performances to drive catalyst design.

As such, mass spectrometry allows to measure in real time the selectivity of reactions thanks to its fast response time compared to conventional methods (HPLC, GC). In-operando analysis will be performed using a custom electrochemical cell to choose more efficient catalysts based on operando results. In the meantime, the high sensitivity of the instrument at the heart of the project (Q/ToF) will allow the detection of reaction intermediates thus helping to elucidate the reaction mechanism³.

Références

- 1 : Dahmen, N. et al., *Glob. Change Biol. Bioenergy* **2019**, 11(1):107-117
- 2 : Lucas, F. W. S. et al., *ACS Energy Lett.* **2021**, 6:1205-1270
- 3 : Khanipour, P. et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, 58:7273-7277

R.05 La protéomique peut-elle faire la différence entre la médecine légale et l'archéologie ?

Alexandra Bontemps¹, Christian Rolando¹, Valéry Hedouin², Fabrice Bray¹, Benoit Bertrand²

1 : Miniaturisation pour la Synthèse, l'Analyse et la Protéomique (MSAP), Villeneuve-d'Ascq, France

2 : Unité de Taphonomie Médico-Légale et d'Anatomie (UTMLA), Lille, France

Thématiques : Protéomique ; Quantification

Résumé

La protéomique, est un outil puissant pour étudier les protéines présentes dans les tissus biologiques. Elle suscite un intérêt croissant dans différents domaines comme la médecine légale et l'archéologie. Dans un contexte médico-légal, la protéomique peut aider à identifier des marqueurs spécifiques pour déterminer des causes de décès ou identifier des suspects¹. En archéologie, elle peut aider à obtenir des informations sur la santé, l'alimentation ou l'environnement dans lequel vivaient les individus². Actuellement la distinction entre médecine légale et archéologie est difficile à mettre en évidence. Dans ce contexte, et en collaboration avec l'*UTMLA*, nous proposons de déterminer si la protéomique peut aider à faire la distinction entre ces deux domaines.

Une cohorte de 200 canines de différents sites archéologiques de nos jours jusqu'au 15^{ème} siècle sera analysée. L'extraction des protéines de l'émail a été réalisée avec une méthode peu destructive en utilisant une solution d'acide chlorhydrique. Les protéines ont été digérées avec la trypsine puis purifiées sur C18. Les échantillons ont été analysés par MALDI FT-ICR et nanoLC-MS/MS³. Le traitement informatique a été réalisé en utilisant un programme python et MetaboAnalyst pour le MALDI FT-ICR et le logiciel PEAKS pour les données LC-MS/MS.

L'analyse MALDI réalisée montre que le pourcentage de déamidation augmente en fonction des sites. Les résultats montrent que certains peptides ont une valeur de déamidation plus élevée que d'autres. Ceci pourrait être lié à l'enchaînement des acides aminés ou la conformation du peptide. Une analyse ACP montre une séparation des sites. Les analyses LC-MS/MS ont permis de déterminer le sexe des individus, la quantification des protéines ne montre aucune variation significative entre les sites. Cependant, une augmentation de la déamidation en fonction des sites a été constatée, cette modification serait un potentiel marqueur. D'autres PTMs sont en cours d'investigation. Une quantification par des peptides AQUA sera réalisée ensuite.

Références

- 1 : Mickleburgh, H. L. et al., *J. Proteome Res.* **2021**, 20(5):2533-2546
- 2 : Warinner, C. et al., *Chem. Rev.* **2022**, 122(16):13401-13446
- 3 : Bray, F. et al., *Anal. Chem.* **2023**, 95(19):7422-7432

R.06 Identification de fluides corporels humains dans les traces criminalistiques par une approche protéomique

Esther Morandeau^{1,2}, Anna Rosenberg², Alix Munoz², Stéphanie Laurent^{1,2}, Joëlle Vinh²

1 : Institut de Recherche Criminelle de la Gendarmerie Nationale (IRCGN), Cergy-Pontoise, France

2 : Spectrométrie de Masse Biologique et Protéomique (SMBP), Paris, France

Thématiques : Développement Méthodologique ; Protéomique ; Criminalistique

Résumé

Le projet de recherche auquel je contribue s'ancre dans l'avancée de la criminalistique, domaine sur lequel s'appuient les expertises menées par l'IRCGN. Les traces retrouvées sur les scènes de crimes sont essentielles à la résolution d'une enquête, étant sources de nombreuses informations. Bien que l'identification d'un individu par son profil ADN soit désormais possible, caractériser en routine le fluide corporel humain dont il provient demeure un enjeu majeur. Cette identification s'avère cruciale dans le cadre d'investigations probatoires, en particulier dans le cas d'infractions à caractère sexuel.

Afin de répondre à ce challenge analytique, un partenariat a été établi entre l'IRCGN et le SMBP, spécialisé dans l'analyse de macromolécules biologiques. Cette méthode vise à discriminer différents fluides humains (sang, salive, urine, sperme et fluide vaginal) en une analyse sensible et spécifique. La chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse est ainsi particulièrement adaptée pour atteindre cet objectif. La méthode analytique repose sur une approche de protéomique « bottom-up » ciblant un panel de peptides prototypiques. La combinaison d'un sous ensemble de peptides sera alors considérée comme un marqueur non ambigu servant d'empreinte peptidique à un fluide donné.

Différents paramètres tels que la stabilité dans le temps et l'effet du support ont été étudiés sur le panel de biomarqueurs pour garantir la fiabilité des résultats. L'ensemble des paramètres et la liste de peptides doivent enfin être validés sur une population représentative d'individus. Établir une liste de signatures moléculaires bien définie permettra de développer des analyses ciblées rapides, spécifiques et sensibles qui pourront être exploitées dans le cadre de matrices complexes, ce qui correspond aux échantillons récoltés sur le terrain. Enfin, différentes stratégies de traitement de données incluant l'intelligence artificielle permettent d'affiner l'étude.

R.07 Venomics and antivenomics from the ADDovenom project, towards a new generation of antivenoms based on virus like-particles

Damien Redureau¹, Fernanda Gobbi Amorim¹, Thomas Crasset¹, Stefanie Menzies², Nicholas Casewell², Loïc Quinton¹

1 : Laboratoire de Spectrométrie de Masse (MSLab), Liège, Belgique

2 : Centre for Snakebite Research and Interventions, Liverpool, United Kingdom

Thématiques : Protéomique ; Venomique ; Antivenomique

Résumé

Snakebite, a neglected tropical disease, annually accounts for over 120,000 fatalities and significantly exacerbates disability rates. While antivenom, sourced from hyperimmunized animal serum, remains the conventional therapeutic approach, its efficacy is inconsistent, often accompanied by adverse effects, and production costs are prohibitively high. Addressing these challenges, the multidisciplinary European initiative, ADDovenom, seeks to revolutionize snakebite treatment through the implementation of ADDomer^{©1}, a thermally stable synthetic virus-like particle with high toxin affinity, engineered for swift toxin clearance post-envenomation. Employing advanced mass spectrometry and proteomics, the ADDovenom project aims to catalog the toxin profiles of nine highly venomous snakes in sub-Saharan Africa, focusing on five *Dendroaspis* and four *Echis* species. Proteomic analyses utilizing the innovative Multi-Enzymatic Limited Digestion (MELD)² technique elucidated venom compositions, revealing distinct molecular weight distributions between *Dendroaspis* and *Echis* species. Notably, *Dendroaspis* species predominantly comprised large peptides within the 6-15 kDa range, while *Echis* species exhibited higher molecular weight proteins (up to 120 kDa). Analysis indicated that approximately 46 % of *Dendroaspis* venoms comprised toxins, with 3-finger toxins, kunitz-type toxins, and snake venom metalloproteinases as prevalent classes. *Echis* venoms contained nearly 49 % toxins and proteases, with snake venom metalloproteinases, C-type lectin-like proteins, and serine proteinases being highly expressed. Common peptide constituents were identified among *Dendroaspis* and *Echis* species, facilitating subsequent bioinformatics modeling for toxin structure determination. Additionally, a preliminary assessment of antivenom potency was proposed, employing immunocapture techniques with antivenom antibodies tethered to magnetic beads. This method promises enhanced understanding of antivenom mechanisms and efficacy, while enabling comparative analyses with innovative ADDobodies/ADDomers constructs. Furthermore, compared to actual antivenomics approach, the use of magnetic beads and shotgun proteomics allow to decrease significantly the amount of antivenom and venom needed for such experiment.

Références

1 : Menzies, S. K. et al., *Toxins*. 2023, 15(12):673

2 : Amorim, F. G. et al., *Toxins*. 2023, 15(6):357

R.08 Advanced approaches for in-depth studies of toxin-antibody and toxin-ADDomer interaction

Thomas Crasset¹, Damien Redureau¹, Fernanda Gobbi Amorim¹, Dominique Baiwir², Gabriel Mazzucchelli², Nicholas Casewell³, Stefanie Menzies³, Renaud Vincenteli⁴, Christiane Berger-Schaffitzel⁵, Loïc Quinton¹

1 : Laboratoire de Spectrométrie de Masse (MSLab), Liège, Belgique

2 : GIGA Proteomics, Liège, Belgique

3 : Architecture et Fonction des Macromolécules Biologiques (AFMB), Marseille, France

4 : Centre for Snakebite Research and Interventions, Liverpool, United Kingdom

5 : School of Biochemistry, Bristol, United Kingdom

Thématiques : Développement Méthodologique ; Protéomique

Résumé

Snake envenomation constitutes a major health concern across Africa, Middle East, Asia, and subtropical regions with rural populations primarily affected. Each year, between 80 and 138 thousand fatalities occur from snakebite envenomation and three times as many people with disabilities even after treatment¹. Snake venom is a complex mixture of various peptides and proteins called toxins. These toxins induced different biological effects, such as paralysis, necrosis, and also haemorrhage, leading to potent fatality. The only treatment available for envenomation is Antivenom, which are serum containing Immunoglobulins G (IgGs) targeting venom toxins. These IgGs are purified from hyperimmunized horses or sheep blood. Even if antivenom undeniably saves several lives, it also provokes drawbacks. Indeed, the purified serums contain Toxin-specific IgGs but also IgGs from the immunogenic history of the animal. Unfortunately, these non-specific IgGs can trigger some severe adverse effects for people already at risk. In addition, Antivenoms are heat sensitive and are stored far from the targeted population. To address this public health concerns, the European ADDovenom project (2021-2024), funded by the European Commission (FET-Open), aims to develop a novel generation of antivenom based on ADDomers construct, ADDomers are thermally stable megadalton virus-like particles, produced at low cost and featuring 60 high-affinity binding sites².

The goal of this project is to develop new methodologies based on the use of magnetic beads allowing detection, quantification and characterization of the toxins recognized by the antivenom current antivenoms and by the ADDomers structures. For quantification, detection and characterization, LC-MS and tryptic digestion will be used. These new methods will also allow to unravel the complexity of antivenom by determining the percentage of toxins specific IgGs and their affinity constant using the native hold-up technique³. All this using fewer critical compounds such as venom and antivenom in regards of the classical techniques.

Références

1 : WHO, *Snakebite envenoming 2023*

2 : Menzies, S. et al., *Toxins* **2023**, 15(12):673

3 : Zambo, B. et al., *Sci. Adv.* **2022**, 8:51

R.09 Développement d'une méthode d'Imagerie par Spectrométrie de masse MALDI pour comprendre les mécanismes nécrotiques d'une envenimation de serpent

Axel de Monts de Savasse, Virginie Bertrand, Loïc Quinton

Laboratoire de Spectrométrie de Masse (MSLab), Liège, Belgique

Thématiques : Imagerie ; Vénomique ; Développement Méthodologique

Résumé

Avec une estimation d'environ 81.000 à 138.000 morts par an, l'envenimation par morsure de serpent est considérée par l'ONU depuis 2017 comme une maladie tropicale négligée. L'objectif de cette thèse est d'exploiter la capacité formidable de l'imagerie par spectrométrie de masse MALDI (MALDI-MSI) pour comprendre les mécanismes d'altération tissulaire et de nécrose qui peuvent se manifester après une envenimation.

Le venin de serpent est un mélange complexe composé de diverses toxines, principalement peptidiques et protéiques, et enzymes. Les toxines, hautement sélectives, s'attaquent plus généralement aux systèmes nerveux et neuromusculaires. Certaines enzymes peuvent provoquer des nécroses tissulaires locales, qui restent encore actuellement mal décrites et orphelines de réel traitement. La cytotoxicité responsable de l'altération tissulaire et de la nécrose, est principalement causée par deux familles de toxines protéiques : les PLA₂ (Phospholipases A₂) et les SVMP (Snake Venom Metalloproteinases).

Les PLA₂ (10-20 kDa) clivent la membrane cellulaire, induisant des nécroses au niveau de la morsure¹. Les SVMP (20-100 kDa) agissent, entre autres, en hydrolysant les protéines de la membrane basale ainsi qu'en altérant l'adhésion des cellules à la matrice extracellulaire².

Ce projet de thèse vise, grâce à l'MALDI-MSI, à visualiser l'action de toxines (i) synthétiques ou purifiées telles que les PLA₂ et les SVMP, (ii) de venins bruts et (iii) de venins séparés par HPLC sur les tissus murins afin d'induire une altération tissulaire ou une nécrose. Le but final étant d'accroître la connaissance sur les mécanismes de nécrose, permettant, dans un second temps de mieux les comprendre et donc d'ouvrir la voie à de nouveaux traitements.

Références

1 : Xiao, H. et al., *Biomed. Res. Int.* **2017**, 2017:e6592820

2 : Olaoba, O. T. et al., *Toxicon* **2020**, 7:100052

R.10 Analyses N-Glycomiques par MALDI-ToF/ToF et LC-ESI-MS/MS pour le diagnostic des désordres congénitaux de la glycosylation (CDG)

Yann Ténier¹, Arnaud Bruneel², François Fenaille¹

1 : Département Médicaments et Technologies pour la Santé (DMTS), Gif-sur-Yvette, France

2 : Hôpital Bichat, Paris, France

Thématisques : Glycomique

Résumé

La glycosylation est une des principales modifications post-traductionnelles des protéines. Les désordres congénitaux de la glycosylation (CDG) sont des maladies rares caractérisées par des défauts enzymatiques de la glycosylation. À ce jour, environ 150 CDGs¹ ont été répertoriés et sont caractérisés par des phénotypes extrêmement variables et complexes. La plupart des patients atteints de CDGs présentent des phénotypes généralement multi-symptomatiques avec notamment des anomalies neurologiques, squelettiques, hépatiques... Cette grande hétérogénéité phénotypique rend le diagnostic précis de ces maladies long et difficile.

Une méthode courante de diagnostic des CDGs consiste à analyser par spectrométrie de masse MALDI-ToF (désorption-ionisation laser assistée par matrice-temps de vol) les N-glycanes préalablement libérés enzymatiquement des glycoprotéines plasmatiques. Ces structures N-glycaniques présentent des structures variables avec notamment de nombreux isomères, très difficiles voire impossibles à distinguer par MALDI-ToF.

Dans cette étude, nous avons implémenté une approche LC-ESI-MS/MS (chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem à haute résolution) pour l'analyse de N-glycanes issus du plasma humain. Les protocoles de préparation d'échantillons en LC-MS/MS sont moins complexes et plus rapides que ceux utilisés pour la technique MALDI-ToF. De plus, la chromatographie liquide permet d'introduire une étape de séparation des composés avant les analyses MS et MS/MS, permettant notamment de séparer certains isomères. Dans ce travail, en complément du protocole implanté, nous présenterons également les données MS/MS acquises effectuées par MALDI-MS/MS et ESI-MS/MS.

Références

1 : Verheijen, J. et al., *J. Genet. Med.* **2020**, 22(2):268-279

2 : Maleval, M., *Thesis*, Université Paris-Saclay **2022**

R.11 Sonder la chiralité des peptides thérapeutiques : effet des résidus Asp, His et Gly ?

Ella Tyson, Yoann Ladner, Christine Enjalbal

Institut des Biomolécules Max Mousseron (IBMM), Montpellier, France

Thématique : Développement Méthodologique

Résumé

La maîtrise de la chiralité est un enjeu majeur lors du développement de médicaments¹. Ce contrôle représente une difficulté importante pour les peptides thérapeutiques car l'absence totale d'altération du centre stéréogénique d'un acide aminé (naturellement sous forme L) n'est pas garantie lors de la synthèse, du stockage ou post-administration. Certains acides aminés sont en effet particulièrement susceptibles à cette conversion, notamment l'Histidine (His) en raison de la réactivité de sa chaîne latérale, mais également l'acide Aspartique (Asp), sujet à l'action de l'isomérase L-to-D.

L'intérêt envers les peptides thérapeutiques ne cesse de croître représentant environ 8 % du marché pharmaceutique actuel². Ainsi, le développement d'une méthodologie analytique robuste, permettant d'apprécier le taux d'épimérisation, avec une précision de 0.1 % en accord avec les réglementations internationales pour la détermination d'impuretés dans le produit final, est primordial.

Les études stéréosélectives de peptides sont, le plus souvent, réalisées en chromatographie liquide (LC) et en électrophorèse capillaire (CE). Cependant, ces techniques ne permettent pas d'accéder à la sensibilité requise pour établir le profil d'impuretés optiques de substances thérapeutiques. Le couplage des techniques séparatives avec la spectrométrie de masse peut apporter des informations complémentaires et améliorer grandement les performances en spécificité de détection et sensibilité de quantification.

Ce projet a donc pour objectif de développer des méthodes de couplage LC/EC-MS pour la détection et quantification de l'altération optique des résidus Asp et His au sein de peptides thérapeutiques. Diverses technologies de spectrométrie de masse en tandem sont envisagées afin d'obtenir une séparation stéréosélective en phase gazeuse. Ainsi, des couples de tripeptides modèles incluant Asp ou His sous formes L et D seront étudiés en spectrométrie de masse résolue en énergie (ERMS) et en mobilité ionique (IM-MS) aptes à la distinction d'isomères, et nécessitant pour les stéréoisomères l'ajout préalable d'un agent chélatant³.

Références

1 : Ceramella, J. et al., *Appl. Sci.* **2022**, 12(21):10909

2 : Bada, J. L., *Interdiscipl. Sci. Rev.* **1982**, 7(1):30

3 : Will, J. M. et al., *Anal. Chem.* **2021**, 93(2):878-885

R.12 La mobilité ionique, une dimension de séparation complémentaire, au service du contrôle de substances interdites

Morgane Joly^{1,2}, Gaud Dervilly², Patrice Garcia¹, Bruno Le Bizec², Ludovic Bailly-Chouriberry¹

1 : Laboratoire des Courses Hippiques (LCH), Verrières-le-Buisson, France

2 : Laboratoire d'Etude des Résidus et Contaminants dans les Aliments (LABERCA), Nantes, France

Thématisques : Mobilité Ionique ; Essai Inter-Laboratoires ; Anabolisants

Résumé

La détection de substances interdites chez des animaux de production ou des chevaux de course/sport doit surmonter certaines contraintes analytiques liées à la diversité et l'état de traces des substances recherchées dans des matrices biologiques complexes. L'usage de la spectrométrie de masse sous ses diverses configurations (MS/MS ou HRMS) est une stratégie nécessaire, néanmoins pas toujours suffisante en termes de sélectivité et/ou de sensibilité. L'adjonction d'une dimension de caractérisation reposant sur la mobilité ionique, et donc l'accès à la section efficace de collision (CCS), peut présenter des avantages déterminants¹. Toutefois, il convient de s'assurer de la robustesse de ce paramètre d'identification^{2,3}.

Dans ce contexte, une première étape du projet s'est attachée à étudier la reproductibilité de la mesure du CCS dans le cadre d'un essai inter-laboratoire (EIL) international. Le CCS de 72 composés organiques, incluant outre des pesticides ou des substances pharmacologiquement actives, certains composés d'intérêt pour ce projet de thèse tels des stéroïdes ou SARMS, a été déterminé expérimentalement.

Pour cette étude, des mélanges de composés ont été analysés par UPLC-ESI-IMS-Q/ToF (Synapt G2-Si (Waters), calibration MajorMix).

Les caractéristiques de la méthode développée, basée sur une approche RPLC-ESI(+/-)-IM_{TWIMS}-HRMS, ont été précisées grâce à la participation à cet EIL en nous donnant accès à la justesse de nos mesures de CCS.

La méthode développée sera appliquée pour déterminer les CCS d'un large panel de composés interdits d'intérêts et permettra la création d'une base de données. Dans une perspective d'accroître les performances des méthodes de contrôle, la valeur ajoutée de ce paramètre en termes de sélectivité et de sensibilité, etc., sera étudiée. Son intérêt pour les études du métabolisme (*e.g.* assignation d'isomères) sera également exploré.

Références

- 1 : Gabelica, V., *Introduction à la Spectrométrie de Masse à Mobilité Ionique*, HAL Science Ouverte 2021
- 2 : Feuerstein, M. L. *et al.*, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2022**, 33 :1951-1959
- 3 : Hernandez-Mesa, M. *et al.*, *Anal. Chem.* **2020**, 92(7):5013-5022

Communications partenaires





Revolution in Mass Spectrometry: From Reinvented Ion Mobility to Chromatography-Free Workflows

ThermoFisher
SCIENTIFIC

L'Orbitrap Astral

 infranalytics

The logo consists of three stylized letters: a green 'D', a blue 'O', and a red 'H'.

Présentation de l'infrastructure Infranalytics

MSVision 

Sustainability in MS

PEAK  SCIENTIFIC

The logo features the word "PEAK" in a bold, black, sans-serif font next to a colorful, multi-layered triangle graphic.

Les générateurs de gaz en laboratoire

ionBench®

IonBench MS Noise Presentation

Cil 
CLUZEAU INFO LABO

Tout le consommable pour vos analyses en chromatographie

 **ProFI**
PROTEOMICS FR2048

Présentation de l'infrastructure nationale de protéomique ProFI

Les participantes et participants



NOM Prénom	Statut	Organisme, Ville	Adresse mail	
ALMASRI Bayan	Doctorante 3ème année	MSAP, Villeneuve d'Ascq	bayan.almasri1234@gmail.com	O.09
GHOSSON Hikmat	Analyste-Concepteur	Michelin, Cébazat	hikmat.ghosson@michelin.com	O.04
GOSSET-ERARD Clarisse	Post-Doctorante	ICSN, Gif-sur-Yvette	clarisse.gosseterard.pro@gmail.com	O.19
Organisateurs/Organisatrices CJSM				
TRAULLÉ Nathan	Doctorant 1ère année	LCP-A2MC, Metz	nathan.traulle@univ-lorraine.fr	R.03
VOELLINGER Théo	Doctorant 2ème année	LCP-A2MC, Metz	theo.voellinger@univ-lorraine.fr	O.12
Organisateurs COL				
ANNIC Bastien	Ingénieur d'Etude (CDD)	BIA, Nantes	bastien.annic@gmail.com	O.20
BADRI Ayoub	Doctorant 2ème année	LPL, Aubervilliers	ayoub.badri@univ-paris13.fr	O.17
BONTEMPS Alexandra	Étudiante Master	MSAP, Villeneuve d'Ascq	alexandra.bontemps.etu@univ-lille.fr	R.05
CERONE Alexandra	Étudiante en Alternance	Gustave Roussy, Villejuif	alexandra.cerone@gustaveroussy.fr	O.06
CRASSET Thomas	Doctorant 1ère année	MSLab, Liège	thomas.crasset@uliege.be	R.08
DARNAUD Manon	Référente Technique	Michelin, Cébazat	manon.darnaud@michelin.com	
DE BONI Rémy	Doctorant 1ère année	ISA, Villeurbanne	remy.de-boni@univ-lyon1.fr	O.02
DE MONTS Axel	Doctorant 1ère année	MSLab, Liège	admdsavasse@uliege.be	R.09
DEVAUX Jason	Doctorant 3ème année	COBRA, Mont-Saint-Aignan	jason.devaux@insa-rouen.fr	O.10
DUPAS Agnès	Doctorante 1ère année	ISA, Villeurbanne	agnes.dupas@univ-lyon1.fr	O.13
DURLACH Arnaud	Doctorant 1ère année	IRAA, Pau	adurlach@univ-pau.fr	
FABRIZI Isabelle	Doctorante 1ère année	MSAP, Villeneuve d'Ascq	isabelle.fabrizi.etu@univ-lille.fr	O.16
FLECHEUX Julie	Doctorante 1ère année	ISA, Villeurbanne	julie.flecheux@univ-lyon1.fr	O.14
GODARD Magali	Doctorante 1ère année	Vect-Horus, Marseille	magali.godard@etu.umontpellier.fr	
IDIR Ylane	Ingénieur-Chercheur (CDD)	CEA Saclay, Gif-sur-Yvette	ylane.idir@cea.fr	
JOLY Morgane	Doctorante 1ère année	LCH, Verrières-le-Buisson	morgane.joly@oniris-nantes.fr	R.12
LEVASSEUR Marceau	Post-Doctorant	LCP-A2MC, Metz	mlevasseur@gmx.fr	
LIMOUSIN Guillaume	Doctorant 1ère année	COBRA, Mont-Saint-Aignan	guillaume.limousin1@univ-rouen.fr	O.11
MAGNIEZ Laura	Conceptrice Outils et Méthodes	Michelin, Cébazat	laura.magniez1@michelin.com	

NOM Prénom

Statut

Organisme, Ville

Adresse mail

Participants et participantes

MENON Romain	Ingénieur-Chercheur (CDD)	CEA Saclay, Gif-sur-Yvette	romain.menon@cea.fr	R.01
MORANDEAU Esther	Étudiante en Alternance	ESPCI, Paris	esther.morandeau@gmail.com	R.06
MULLER Hugo	Doctorant 3ème année	MSLab, Liège	hugo.muller@uliege.be	O.01
MUNOZ Alix	Doctorante 1ère année	ESPCI, Paris	alixmunoz14@gmail.com	R.02
ORLANDI Carla	Doctorante 2ème année	Toxalim, Toulouse	carla.orlandi@inrae.fr	O.03
OTUSZEWSKI Pierre	Doctorant 2ème année	MSAP, Villeneuve d'Ascq	pierre.otuszewski.etu@univ-lille.fr	O.05
PAYARES-SANZ Andrea Carolina	Étudiante en Master	IPREM, Pau	andreapayareschem@gmail.com	
PHAN Minh-Trang	Doctorante 1ère année	Sanofi, Chilly-Mazarin	minh.trangphan221199@gmail.com	
RATIBOU Zahrmina	Doctorante 2ème année	CRIODE, Perpignan	zahrmina.ratibou@univ-perp.fr	O.15
REDUREAU Damien	Doctorant 3ème année	MSLab, Liège	dredureau@uliege.be	R.07
SAUVAGE Salomé	Post-Doctorante	COBRA, Mont-Saint-Aignan	salome.sauvage3@univ-rouen.fr	
SCHNEIDERS Aurore	Doctorante 1ère année	MSLab, Liège	aschneiders@uliege.be	O.21
SEGRET Juliette	Doctorante 3ème année	ICSN, Gif-sur-Yvette	juliette.segret@cnrs.fr	O.07
SOEP Clément	Doctorant 2ème année	IPCM, Paris	clement.soep@sorbonne-universite.fr	O.18
SOMBRET Théo	Doctorant 1ère année	COBRA, Mont-Saint-Aignan	theo.sombret@univ-rouen.fr	
SPADETTO Clément	Doctorant 1ère année	Ircelyon, Villeurbanne	clement.spadetto@ircelyon.univ-lyon1.fr	R.04
TÉNIER Yann	Doctorant 1ère année	CEA Saclay, Gif-sur-Yvette	yann.tenier@cea.fr	R.10
TYSON Ella	Doctorante 1ère année	IBMM, Montpellier	ella.tyson@umontpellier.fr	R.11
VALMORI Marie	Doctorante 2ème année	LCM, Palaiseau	marie.valmori@cnrs.fr	O.08
VIDAL Maureen	Ingénierie d'Études (CDD)	IBMM, Montpellier	maureen.vidal@umontpellier.fr	

“Encore merci à vous : les jeunes massistes !”

NOM Prénom

Statut

Organisme, Ville

Adresse mail

Enseignants/Enseignantes

BAILLY-CHOURIBERRY Ludovic	Directeur de Laboratoire	GIE-LCH, Verrières-le-Buisson l.bailly@lchfrance.fr	Antidopage
CARAPITO Christine	Directrice de Recherche	LSMBO IPHC CNRS, Strasbourg	Bioinformatique et intelligence artificielle
DOSSMANN Héloïse	Maître de Conférence	IPCM, Paris	Ionisation ambiante
MARTENS Lennart	Professeur	CompOmics group VIB, Belgique	Bioinformatique et intelligence artificielle
SCHRAMM Sébastien	Maître de Conférence	LCP-A2MC, Metz	Application à l'environnement

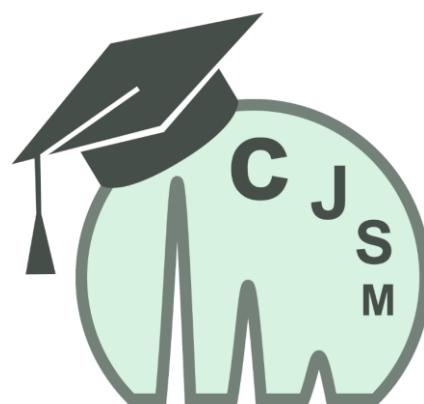
Partenaires Industriels

BALTHASAR Catherine	Responsable des ventes	Cluzeau Info Labo	catherine.balthasar@cluzeau.fr	Rapide
CARAPITO Christine	Représentante ProFI	ProFI	ccarapito@unistra.fr	Rapide
CASANOVA Jean-Marie	Senior Sales Specialist	MS Vision	jmc@msvision.com	Rapide
MURAT Julien	Responsable commercial	Peak Scientific	jmurat@peakscientific.com	Rapide
SCHRAMM Sébastien	Représentant Infranalytics	Infranalytics	sebastien.schramm@univ-lorraine.fr	Oral
SOUCHAIRES Alex	Chargé d'affaires Technico-Commercial	Ion Bench	alex.souchaire@ionbench.com	Rapide
THIRIET Yannick	Technical Sales Specialist LSMS	Thermo Fisher Scientific	yannick.thiriet@thermofisher.com	Oral
VERDU Alexandre	Business Developpment Manager EMEA	Bruker	alexandre.verdu@bruker.com	Oral

*“Merci à nos professeurs et à leur excellent enseignement !”**“Merci à nos sponsors pour leur soutien !”**“Et encore un grand merci à toutes et à tous pour votre participation et votre soutien sans lesquels les RCJSM n'auraient vu le jour !”*

RCJS M 2024

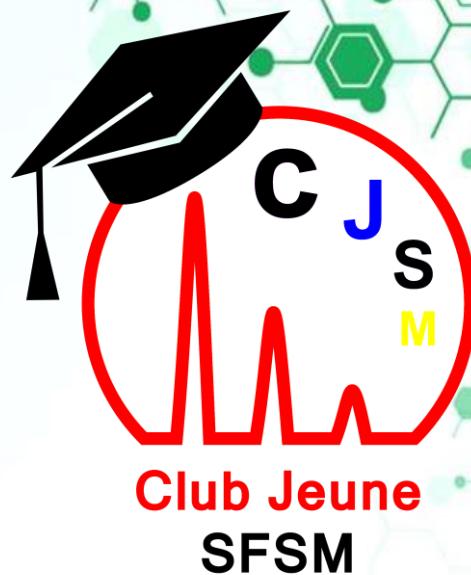
Encore Merci !



Nos réseaux

Club Jeune

de la Société Française de Spectrométrie de Masse



Pour nous suivre :



www.cjsm.s fsm.fr



www.linkedin.com/company/cjsmsfsm



www.twitter.com/Clubjeune



www.facebook.com/ClubJeuneSFSM

Pour nous contacter :



clubjeunesm@gmail.com

