

Spécialité : CHIMIE / Chimie analytique

[Laboratoire : /NIMBE/LSDRM](#)

Analyse LC-HRMS/MS et RMN d'urines de souris marquées au C-13. Elucidation structurale de métabolites inconnus

Responsable de stage : HUBER Gaspard

gaspard.huber@cea.fr

Tel : +33 1 69 08 64 82

Stage pouvant se prolonger en thèse : Oui

Durée du stage : 6 mois

Résumé:

La spectrométrie de masse à haute résolution (HRMS) et la résonance magnétique nucléaire (RMN) sont deux techniques complémentaires pour l'analyse de mélanges complexes en solution comme le métabolome. L'opportunité d'analyser, par ces deux techniques, des échantillons d'urine marquée au C-13, en complément d'autres échantillons non marqués obtenus dans des conditions similaires, doit permettre au cours de ce stage de gros progrès dans l'élucidation structurale de composés inconnus.

Sujet :

Contexte et projet de recherche du M2

La métabolomique vise à caractériser l'ensemble des "petites molécules" (< 1500 Da) d'un échantillon biologique et repose principalement sur deux techniques analytiques : la spectrométrie de masse à haute résolution (HRMS) et la résonance magnétique nucléaire (RMN).[1,2] Malgré la très forte complémentarité de ces deux approches, elles sont encore très rarement utilisées de concert pour l'annotation du métabolome. Alors que l'analyse LC-HRMS d'un unique échantillon biologique complexe permet la détection de milliers de signaux à des concentrations allant jusqu'au nanomolaire, la RMN permet l'identification structurale des métabolites les plus abondants de cet échantillon. Cette dernière technique souffre cependant d'un manque de sensibilité, c'est pourquoi l'accès à un « matériel biologique » entièrement marqué au C-13 (isotope stable du C-12) est une opportunité permettant : (1) d'augmenter la résolution spectrale et ainsi augmenter le nombre de métabolites caractérisables par RMN, et (2) de faciliter l'attribution des compositions élémentaires des signaux HRMS issus de métabolites inconnus par comparaison des profils LC-HRMS d'échantillons marqués et non marqués récoltés dans les mêmes conditions.

Le projet de recherche de M2 vise à analyser, par spectrométrie de masse à très haute résolution (Orbitrap Fusion, Thermo) couplée à la chromatographie liquide et par RMN 2D hétéronucléaire, les urines de souris marquées au carbone-13 et de les comparer aux urines non marquées. Cette étude visera à exploiter de façon synergique les données obtenues via les deux techniques analytiques pour identifier les métabolites inconnus détectés dans les échantillons. L'élucidation structurale des composés sera également appuyée par des acquisitions LC-HRMS/MS.

Environnement de travail

Le stage M2 se déroulera au sein de deux laboratoires du CEA de Saclay : (1) le laboratoire d'étude du métabolisme des médicaments (LEMM), institut Joliot ; et (2) le laboratoire Structure et Dynamique par résonance magnétique

(LSDRM), IRAMIS.

Le LEMM s'est spécialisé dans l'analyse métabolomique depuis 2002, accumulant ainsi une expertise en terme de développement et de validation de méthodes LC-MS pour le profilage de biofluides et extraits tissulaires et cellulaires. Il est équipé d'une plateforme analytique constituée de 6 instruments à basse résolution (QqQ) et 7 instruments à haute et très haute résolution (Orbitrap et Q-TOF).

Le LSDRM est expert en développement d'approches originales pour la spectroscopie de résonance magnétique. Il est équipé de 6 spectromètres RMN de 1.0 à 11.7 T.

Profil du candidat et candidature

Etudiant ingénieur et/ou M2 en chimie. Spécialité chimie analytique ou chimie organique avec un intérêt pour la chimie analytique et plus particulièrement la spectrométrie de masse et la RMN. Date de début souhaitée: février 2021.

Les candidatures (CV et lettre de motivation) sont à envoyer à annelaure.damont@cea.fr et gaspard.huber@cea.fr

[1] Theodoridis G A et al. Liquid chromatography-mass spectrometry based global metabolite profiling: A review. *Analytica Chimica Acta* 2012, 711, 7-16.

[2] Nagana Gowda G A et al. Recent Advances in NMR-Based Metabolomics. *Anal. Chem.*, 2017, 89 (1), 490-510.

LC-HRMS/MS and NMR analysis of C-13 labeled mouse urine. Structural elucidation of unknown metabolites

Abstract:

High resolution mass spectrometry (HRMS) and nuclear magnetic resonance (NMR) are two complementary techniques for the analysis of complex mixtures in solution such as the metabolome. During this trainee-ship, the opportunity to analyze, by these two techniques, urine samples labeled with C-13, in addition to other unlabeled samples obtained under similar conditions, should allow great progress in the structural elucidation of unknown compounds.

Subject :

Context and M2 research project

Metabolomics aims to characterize all the "small molecules" (<1500 Da) of a biological sample and is based mainly on two analytical techniques: high resolution mass spectrometry (HRMS) and nuclear magnetic resonance (NMR). [1,2] Despite the high complementarity of these two approaches, they are still very rarely used together for the annotation of the metabolome. While LC-HRMS analysis of a single complex biological sample can detect thousands of signals at concentrations down to nanomolar, NMR allows structural identification of the most abundant metabolites in that sample. However, this last technique suffers from a lack of sensitivity. Thus, the access to "biological material" fully labeled with C-13 (stable isotope of C-12) is an opportunity allowing: (1) to increase spectral resolution and thus increase the number of metabolites that can be characterized by NMR, and (2) facilitate the assignment of elementary compositions of HRMS signals from unknown metabolites by comparison of LC-HRMS profiles of labeled and unlabeled samples collected in the same conditions.

The M2 research project aims to analyze, by very high resolution mass spectrometry (Orbitrap Fusion, Thermo) coupled with liquid chromatography and by heteronuclear 2D NMR, the urine of mice labeled with carbon-13 and to compare them with unlabeled urine. This study will aim to synergistically exploit the data obtained via both analytical techniques to identify some unknown metabolites detected in the samples. The structural elucidation of the compounds will also be supported by LC-HRMS / MS acquisitions.

Working environment

The M2 traineeship will take place in two CEA Saclay laboratories: (1) the drug metabolism study laboratory (LEMM), Joliot institute; and (2) the laboratoire structure et dynamique par résonance magnétique (LSDRM), IRAMIS.

LEMM is specialized in the analysis of the metabolome since 2002, thus accumulating expertise in the development and validation of LC-MS methods for profiling biofluids, and tissue and cell extracts. It is equipped with an analytical platform consisting of 6 low resolution instruments (QqQ) and 7 high and very high resolution instruments (Orbitrap and Q-TOF).

LSDRM is an expert in developing novel approaches for magnetic resonance spectroscopy. It is equipped with 6 NMR spectrometers from 1.0 to 11.7 T.

Profile of the candidate and application

Engineering student and/or M2 in chemistry. Specialty in analytical chemistry or organic chemistry with an interest in analytical chemistry and more particularly mass spectrometry and NMR. Desired start date: February 2021.

Applications (CV and cover letter) should be sent to annelaure.damont@cea.fr and gaspard.huber@cea.fr

[1] Theodoridis G A et al. Liquid chromatography-mass spectrometry based global metabolite profiling: A review. *Analytica Chimica Acta* 2012, 711, 7-16.

[2] Nagana Gowda G A et al. Recent Advances in NMR-Based Metabolomics. *Anal. Chem.*, 2017, 89 (1), 490-510.
