

Spécialité : / CHIMIE

[Laboratoire : /NIMBE/LSDRM](#)

## Mise au point de l'analyse de mélanges complexes par RMN au moyen du parahydrogène

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 métabolomique est la science qui a trait à l'analyse des métabolites, petites molécules (moins de 1500 Da) présentes dans les organismes. Elle permet de comprendre le fonctionnement de ces organismes, et de détecter, identifier voire quantifier des métabolites qui signent un état pathologique ou un stress particulier. La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) est une technique complémentaire de la spectrométrie de masse (SM) pour analyser des mélanges complexes de métabolites. Cependant, malgré sa robustesse et son caractère quantitatif, et à cause de sa faible sensibilité, la RMN n'est pas autant utilisée que la SM. Il existe différentes techniques d'augmentation du signal RMN. L'une d'elle tire parti des propriétés particulières du parahydrogène, un isomère de spins du gaz dihydrogène.

Le stage et la thèse consisteront à développer des méthodologies de techniques à base de parahydrogène, lorsqu'elle s'applique à des extraits métaboliques cellulaires ou à des biofluides. Elle implique des développements instrumentaux (fluidique, déplacement rapide d'échantillons). L'objectif est de proposer de nouveaux profils métaboliques, offrant une plus grande sensibilité et une certaine spécificité par rapport aux profils classiques par RMN, pour une meilleure détection, identification voire quantification des métabolites présents. Nous collaborons avec un autre laboratoire du CEA-Saclay, le LEMM, dont la métabolomique par spectrométrie de masse est le cœur de métier.

### Sujet :

Contexte et projet de recherche :

La métabolomique vise à caractériser l'ensemble des "petites molécules" (< 1500 Da) d'un échantillon biologique et repose principalement sur la spectrométrie de masse à haute résolution (HRMS) et la résonance magnétique nucléaire (RMN). Ces deux techniques sont complémentaires. L'analyse LC-HRMS, très sensible, permet la détection de milliers de signaux à des concentrations allant jusqu'au nanomolaire, mais elle est peu reproductible. La RMN est robuste et quantitative, mais ne permet la détection que des métabolites les plus abondants en raison de son manque de sensibilité. Ces techniques sont complémentaires en matière d'identification moléculaire, la RMN apportant des informations à l'échelle locale, alors que la HRMS fournit des informations plus globale.

Une des méthodes connues pour augmenter drastiquement mais temporairement la sensibilité de la RMN emploie les propriétés particulières du parahydrogène. Le laboratoire a développé un montage d'enrichissement du dihydrogène en parahydrogène et effectué des développements méthodologiques sur son utilisation par RMN [1]. Certaines molécules peuvent voir leurs signaux caractéristiques augmentés au moyen d'une méthode nommée SABRE [2]. Récemment la

gamme des molécules dont les signaux RMN sont sensibles à la méthode, jusque-là assez restreinte, a été étendue aux molécules possédant au moins un proton échangeable, une méthode nommée SABRE-Relay [3].

Le projet de recherche de M2 vise à explorer les méthodes SABRE et SABRE-Relay pour l'identification de métabolites urinaires. Le sujet implique des développements instrumentaux visant à déplacer rapidement des fluides (gaz ou liquides) dans la zone de détection du spectromètre RMN. Les résultats seront ensuite comparés à ceux obtenus par ailleurs par HRMS sur des échantillons similaires pour une aide à l'identification.

Environnement de travail :

Le stage M2 se déroulera au laboratoire structure et dynamique par résonance magnétique (LSDRM) du CEA de Saclay, en collaboration avec le laboratoire d'étude du métabolisme des médicaments (LEMM), dans le cadre d'une étude plus large conjuguant des analyses métabolomiques à base de RMN et de HRMS.

Le LSDRM est expert en développement d'approches originales pour la spectroscopie de résonance magnétique. Il développe en particulier des méthodes visant à augmenter la sensibilité de la RMN. Il est équipé de 6 spectromètres RMN de 1.0 à 11.7 T. 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 d'extraits tissulaires et cellulaires.

Profil du candidat et candidature :

Etudiant ingénieur et/ou M2 en physique, physico-chimie ou chimie. Spécialité chimie analytique ou physico-chimie avec un intérêt pour la RMN, l'instrumentation et les sciences expérimentales. Date de début de stage souhaitée: janvier ou février 2022. Les candidatures (CV et lettre de motivation) sont à envoyer à [gaspard.huber@cea.fr](mailto:gaspard.huber@cea.fr).

Références :

[1] Guduff et al. Single-Scan Diffusion-Ordered NMR Spectroscopy of SABRE-Hyperpolarized Mixtures. *ChemPhysChem* 2019, 20, 392-398.

[2] Sellies et al. Parahydrogen induced hyperpolarization provides a tool for NMR metabolomics at nanomolar concentrations. *ChemComm* 2019, 55, 7235-7238.

[3] Iali et al. Using parahydrogen to hyperpolarize amines, amides, carboxylic acids, alcohols, phosphates, and carbonates. *Sci. Adv.* 2018; 4 : eaao6250

---

## Development of NMR methods for the analysis of complex mixtures using parahydrogen

### Abstract:

Metabolomics is the science that relates to the analysis of metabolites, the small molecules (less than 1500 Da) present in organisms. It helps to understand the functioning of these organisms, and to detect, identify or even quantify metabolites that sign a given pathological state or a stress. Nuclear Magnetic Resonance (NMR) is a complementary technique to mass spectrometry (MS) to analyze complex mixtures of metabolites. However, despite its robustness and quantitative character, and because of its low sensitivity, NMR is not used as much as MS. One of them takes advantage of the special properties of parahydrogen, a spin isomer of dihydrogen gas.

The thesis consists in developing the methodology of the SABRE-Relay method when it is applied to cellular metabolic extracts or to biofluids.

The internship and the thesis will involve instrumental developments (fluidics, rapid sample motions). The objective is to propose new metabolic profiles, offering a greater sensitivity and specificity, compared to conventional profiles by NMR,

for a better detection, identification or even quantification of the metabolites. We are collaborating with another CEA-Saclay laboratory, LEMM, specialized in metabolomics by mass spectrometry.

## **Subject :**

Context and research project:

Metabolomics aims to characterize the "small molecules" (<1500 Da) of a biological sample. It is based mainly on high resolution mass spectrometry (HRMS) and nuclear magnetic resonance (NMR). These two techniques are complementary. LC-HRMS analysis is very sensitive and can detect thousands of signals at concentrations down to nanomolar, but it is not very reproducible. NMR is robust and quantitative, but only allows the detection of the most abundant metabolites due to its lack of sensitivity. In addition, NMR and HRMS are complementary in terms of molecular identification, NMR providing information at the local scale, while HRMS provides more global information.

Parahydrogen is one of the methods known to drastically but temporarily increase the sensitivity of NMR. LSDRM has developed an apparatus aiming at enriching dihydrogen in parahydrogen. LSDRM also developed NMR and instrumental developments for parahydrogen application [1]. Characteristic signals of some molecules are increased by means of a method called SABRE [2]. Recently the range of molecules sensitive to the method, so far quite restricted, has been extended to molecules possessing at least one exchangeable proton, a method called SABRE-Relay [3].

The Master 2 research project aims to explore the SABRE and SABRE-Relay methods for the identification of urinary metabolites. The subject involves instrumental developments intended to quickly moving fluids (gases or liquids) in the detection zone of the NMR spectrometer. The results will then be compared with those obtained elsewhere by HRMS on similar samples for identification assistance.

Work environment:

The Master 2 internship will take place at the Structure and Dynamics by Magnetic Resonance Laboratory (LSDRM) of CEA-Saclay, 25 kms South-West of Paris, in collaboration with the Drug Metabolism Research Laboratory (LEMM), also at CEA-Saclay. The internship is part of a larger study combining metabolomic analyzes based on NMR and HRMS. LSDRM is an expert in developing novel approaches to magnetic resonance spectroscopy. In particular, LSDRM is developing methods aimed at increasing the sensitivity of NMR. It is equipped with 6 NMR spectrometers from 1.0 to 11.7 T. LEMM has specialized in metabolomic analysis since 2002, thus accumulating expertise in terms of development and validation of LC-MS methods for profiling biofluids and tissue and cell extracts.

Candidate profile and application:

Engineer and / or M2 student in physics, physico-chemistry or chemistry. Specialization in analytical chemistry or physico-chemistry with an interest in NMR, instrumentation and experimental sciences. Desired internship start date: February 2022. Applications (CV and cover letter) should be sent to [gaspard.huber@cea.fr](mailto:gaspard.huber@cea.fr).

References:

- [1] Guduff et al. Single-Scan Diffusion-Ordered NMR Spectroscopy of SABRE-Hyperpolarized Mixtures. *ChemPhysChem* 2019, 20, 392-398.
  - [2] Sellies et al. Parahydrogen induced hyperpolarization provides a tool for NMR metabolomics at nanomolar concentrations. *ChemComm* 2019, 55, 7235-7238.
  - [3] Iali et al. Using parahydrogen to hyperpolarize amines, amides, carboxylic acids, alcohols, phosphates, and carbonates. *Sci. Adv.* 2018; 4 : eaao6250
-