

Offre de thèse pour octobre 2024

Laboratoire : CEISAM (Chimie et Interdisciplinarité : Synthèse, Analyse, Modélisation), équipe MIMM
<https://ceisam.univ-nantes.fr/equipe-mimm/>

Titre du sujet de thèse :

Développement de nouvelles approches d'identification de métabolites par RMN 1D, 2D rapide et HRMS pour la métabolomique

Directeur de thèse : Patrick Giraudeau, patrick.giraudeau@univ-nantes.fr

Co-encadrante de thèse : Marine Letertre, marine.letertre@univ-nantes.fr

Financement : Allocation ministérielle (MESR) – contrat doctoral

Contexte

La métabolomique, l'étude des petites molécules contenues dans des mélanges biologiques, est principalement basée sur l'utilisation de deux outils analytiques, la spectrométrie de masse (MS) et la spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN). Bien que la RMN soit une technique bien établie en métabolomique, de par sa robustesse, sa répétabilité et le fait qu'elle offre des informations quantitatives et structurales, les spectres RMN 1D souffrent de forts chevauchements de signaux empêchant l'élucidation et la quantification des biomarqueurs.

Dans ce cadre, le laboratoire CEISAM a été l'un des pionniers depuis 2015 pour le développement de méthodes permettant d'améliorer la séparation des signaux de mélanges complexes en les répartissant dans une seconde dimension tout en fournissant des informations supplémentaires pour leur identification. Notamment, les méthodes 2D rapides utilisant des stratégies pour diminuer les temps d'acquisitions des méthodes 2D usuelles, telles que la spectroscopie ultrarapide (ultrafast), l'échantillonnage non uniforme (non-uniform sampling- NUS) et le repliement spectral (aliasing) rencontrent un intérêt croissant en métabolomique. Ces nouvelles techniques pourraient constituer la base de stratégies analytiques plus robustes et plus fiables, mais leurs complémentarités, entre-elles et avec les méthodes de MS, restent inexplorées.

Dans ce contexte, nous avons réalisé l'acquisition de plusieurs jeux de données utilisant ces méthodes 2D rapides portant sur des problématiques variées en métabolomique. Il est maintenant nécessaire de développer une stratégie d'identification la plus complète possible de ce type de données, en tirant partie de leurs avantages respectifs. Deux approches spécifiques devront être développées, une pour les extraits métaboliques et une seconde pour les extraits lipidiques. De plus, des données de MS haute-résolution (HRMS), couplées à de la chromatographie en phase gazeuse (GC-HRMS) et liquide (LC-HRMS) en phase de chromatographie inverse et en phase d'interactions hydrophiles (HILIC) et en mode d'ionisation positif et négatif, devront être également exploitées pour aider l'identification par RMN et explorer la complémentarité RMN-HRMS. Cette combinaison représente un panel de méthodes analytiques jusqu'ici non déployé en métabolomique. La première perspective du projet vise à explorer les capacités de discrimination de profils métaboliques en appliquant un panel de méthodes analytiques le plus étendu possible et les mettant en compétition à travers une intégration multi-bloc. La deuxième perspective, qui constitue le but de ce travail de thèse, est d'explorer la complémentarité de ces méthodes en termes de couverture métabolique.

Objectif de la thèse

L'objectif principal de cette thèse est de parvenir à une annotation la plus complète possible des signaux observés sur divers jeux de données RMN 1D et 2D rapides, ainsi que celle de nombreux jeux de données HRMS. Cela permettra d'évaluer leur complémentarité mais également les redondances éventuelles entre ces méthodes analytiques. Pour atteindre cet objectif, il est nécessaire de développer de nouvelles stratégies d'annotation des données, notamment pour les techniques de RMN 2D rapide qui n'ont été que très peu utilisées en métabolomique à ce jour. L'identification des signaux au niveau 1 de confiance, selon la « Metabolomics Standards Initiative », se fera par l'acquisition des spectres des composés purs et d'expériences de spike-in (ajout du composé suspecté dans un échantillon représentatif). L'identification de ces signaux permettra de mettre en avant les métabolites et les lipides détectés communément par plusieurs des méthodes et ceux détectés seulement par une méthode analytique. Cette étude sera complétée par une analyse poussée de la littérature, afin d'évaluer l'étendue de la couverture métabolique atteinte en déployant cette approche, et d'identifier les voies métaboliques non couvertes. Les méthodes développées seront mises en œuvre sur des problématiques variées, telles que la caractérisation de l'exposition de mini-porcs exposés au perturbateur endocrinien Bisphénol A (BPA) en collaboration avec le LABERCA, ainsi que des études pré-cliniques en collaboration avec le CHU de Nantes.

Plus spécifiquement, le·la doctorant·e sera chargé·e :

- Développer une stratégie d'annotation de signaux de jeux de données RMN 1D et 2D rapides et de jeux de données HRMS, en s'appropriant et en adaptant les outils logiciels pertinents pour l'identification des métabolites.
- D'évaluer l'apport des méthodes de RMN 2D rapide en termes d'identification des signaux en comparaison à la RMN ^1H classique, et aux méthodes HRMS.
- De confirmer les annotations en identifications en analysant les composés purs par RMN et HRMS.
- D'évaluer la complémentarité et la redondance métabolique des différentes méthodes et d'explorer les éventuels manquements en comparant avec la littérature.

Environnement et collaborations

Le·la doctorant·e recruté·e interagira avec ses encadrants, spécialistes des méthodes de RMN conventionnelles et 2D rapides utilisées pour l'acquisition des données de ce projet, et experts en métabolomique. Il interagira également avec les équipes du LABERCA et du CHU pour le traitement et l'annotation des jeux de données HRMS. Le travail de thèse sera réalisé dans l'environnement collaboratif stimulant de l'équipe MIMM, impliquant de nombreux·ses doctorant·e·s, post-doctorant·e·s, ingénieur·e·s et chercheur·e·s en méthodologie RMN et en métabolomique. L'environnement collaboratif du CEISAM sera un avantage (en synthèse notamment pour la confirmation de l'identification de certains métabolites).

CEISAM est le laboratoire de chimie moléculaire de Nantes Université et regroupe 5 équipes de recherche reconnues en chimie théorique, physique et analytique, et en synthèse organique. La plateforme RMN du laboratoire CEISAM est la plus grande plateforme RMN du grand ouest. Elle dispose d'une grande richesse d'équipements, dont 6 spectromètres à hauts champs (400 – 700 MHz), 3 spectromètres à bas champ. De plus, elle fait partie de l'infrastructure nationale de recherche en métabolomique et fluxomique MetaboHub qui permettra à la personne recrutée d'évoluer dans un

réseau national riche et stimulant. CEISAM se situe dans l'environnement dynamique de la ville de Nantes, proche de la côte atlantique et de la Bretagne Sud.

Profil

Le-la candidat-e a une formation en chimie analytique, et doit être fortement intéressé-e par l'élucidation structurale par RMN et spectrométrie de masse dans un contexte de métabolomique. Un fort intérêt pour ces méthodes analytiques est attendu afin d'assurer une bonne compréhension des spectres à exploiter. Un goût pour la programmation constituera un avantage. En raison du caractère collaboratif du projet, de bonnes capacités à rédiger et à communiquer en français et en anglais sont nécessaires. Le-la doctorant-e recruté-e sera amené-e à transmettre ses connaissances à d'autres étudiant-e-s (Master, Doctorat) et à présenter ses travaux en congrès nationaux et internationaux. En raison du financement de cette thèse par une allocation ministérielle, les candidat.e.s devront être classé.e.s dans le premier tiers de leur promotion de Master 2.

Références

Dona et al., *CSBJ* 2016, **14**, 135-153

Marchand et al., *Metabolomics* 2018, **14**(5), 60

Joesten et al., *Metabolomics* 2019, **15**(1), 5

Letertre et al., *Anal. Chem.* 2021, **93**(1), 500–518