

Proposition de sujet de thèse 2018

Développement d'approches multi-omiques intégrées par LC-MS/MS ciblée

"Development of integrated multi-omic approaches by targeted LC-MS/MS"

Les « omiques » ont changé la conception de la biologie en faisant émerger une biologie des systèmes. Elles regroupent des champs d'études qui permettent d'appréhender la complexité et les interactions d'ensembles vivants complexes (cellules, protéines, ARN, ADN...) dans l'environnement auquel ils sont exposés. Ces approches sont utiles pour identifier et proposer de nouveaux biomarqueurs en santé, en écotoxicologie ou mieux connaître des modes d'actions. Pour cela, les « omiques » s'appuient sur des méthodes analytiques performantes comme le couplage des techniques séparatives avec la spectrométrie de masse. En effet, afin d'avoir une image exhaustive de la composition d'un échantillon, il est impératif de disposer de techniques analytiques rapides, sensibles et spécifiques. Dans ce contexte, l'apport des approches métabolomique, et protéomique est en constant développement. L'un des enjeux majeurs est l'intégration des analyses du métabolome incluant le lipidome à celui du protéome afin de capitaliser sur leurs complémentarités pour une meilleure caractérisation et analyse fonctionnelle des systèmes biologiques. Ainsi, le défi consiste à combiner les technologies analytiques, d'optimiser la préparation d'échantillon en amont, de développer les outils, statistiques et les flux de travail d'analyse bio-informatiques pour l'analyse des données.

A ce jour bien qu'utilisant le même outil les différentes approches ciblées « omiques » par spectrométrie de masse se font séparément avec des traitements d'échantillons et des prises d'essais multiples. Ce qui peut poser non seulement des problèmes de coûts mais surtout de quantité d'échantillons à disposition pour le suivi de biomarqueurs multi-omiques. Ces acquisitions de données très fragmentaires sont le fait de communautés scientifiques distinctes (« protéomistes » vs analystes des petites molécules). Chaque communauté utilise historiquement ses propres approches analytiques comme par exemple les approches de types nano-chromatographie pour l'analyse protéomique.

L'équipe « Analyse biologique par spectrométrie de masse » (AnabioMS) de l'Institut des Sciences Analytiques est reconnue pour son expertise dans le développement d'outils analytiques innovants pour la quantification de protéines par spectrométrie de masse. Plusieurs brevets relatifs à la quantification de protéines ont d'ailleurs été déposés ces dernières années. AnabioMS contribue par ses nombreux travaux (MRM³, photoSRM, 2D-LC, SCOUT, etc.) à proposer la MS (1) comme une alternative aux méthodes à base d'anticorps, (2) une technique permettant un haut multiplexage (plusieurs centaines de protéines) pour aborder la biologie des systèmes (analyses bactériologiques, écotoxicologie,...). Bien que disposant de toutes les compétences, les méthodes de quantification ciblées se sont focalisées uniquement sur les protéines. Une extraction et quantification simultanée

des protéines et des métabolites n'ont jamais été considéré, bien qu'elles puissent fournir des informations complémentaires.

L'objectif de cette thèse vise à développer de nouvelles méthodologies analytiques pour l'extraction et l'analyse à partir d'une prise d'échantillon unique pour la quantification multiplexée et simultanée de protéines et de métabolites et/ou lipides. Ces développements se feront dans le contexte biologique de deux applications (dosages protéines/lipides et protéines/métabolites) : la compréhension des mécanismes de toxicité en lien avec l'altération du métabolisme lipidique chez l'espèce sentinelle *Gammarus fossarum* en écotoxicologie et l'analyse de bactéries et leurs résistances aux antibiotiques via la mesure simultanée de protéines responsables de cette résistance (eg. bêta-lactamases) ainsi que les antibiotiques métabolisés ou non.

Compétences requises : Le ou la candidat(e) recherché(e) devra avoir des connaissances appliquées en chimie analytique, en particulier en chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse, avec un fort goût pour l'expérimentation. Il ou elle sera amené(e) à développer et à mettre en œuvre différentes techniques d'analyses (LC, LC-2D) et de préparation d'échantillon en ligne et hors ligne.

Mots clés : protéines, métabolites, lipides, quantification absolue, couplage LC-MS/MS, chromatographie multi dimensionnelle, préparation d'échantillons

Contacts : Arnaud Salvador (arnaud.salvador@univ-lyon1.fr), Sophie Ayciriex (sophie.ayciriex@univ-lyon1.fr)