

ESPCI  PARIS | PSL 

SPECTROMÉTRIE DE MASSE BIOLOGIQUE ET PROTÉOMIQUE [SMBP]

3

QUESTIONS À

== JOËLLE VINH ==
Directrice de SMBP

Quel est le cœur de métier du laboratoire ?

Le SMBP a été créé en 2009 pour répondre à un besoin croissant en biologie et nécessitant un savoir-faire en chimie analytique et en techniques séparatives. L'unité compte treize personnels, dont 3 ingénieurs permanent hautement spécialisés, et nous accueillons plus d'une centaine d'utilisateurs à travers de multiples partenariats.

Quelles sont vos grandes thématiques de recherche ?

La principale se situe à l'interface des sciences analytiques et de la chimie des protéines : nous travaillons sur la recherche de sensibilité et de spécificité pour étudier les protéines au niveau moléculaire. Grâce à la spectrométrie de masse, nous pouvons analyser très finement la composition d'un mélange protéique, un outil précieux en biologie. De nouvelles disciplines se développent à partir de ces méthodes : protéomique, peptidomique, rédoxomique, glycoprotéomique associées à la nanochromatographie... Nous travaillons sur les cascades de signalisation en réponse à des stress environnementaux. L'étude des modifications post-traductionnelles est une thématique émergente incontournable pour la compréhension des processus biologiques tant du point de vue fondamental (mécanisme de la réponse immunitaire, réparation des tissus) que dans le cas d'applications biomédicales (cancer, diabète, allergie, maladies auto-immunes). Grâce à la miniaturisation des systèmes via la microfluidique, nous pouvons désormais nous intéresser à de très petites quantités de matériel.

Cas particulier à l'école, il s'agit d'une unité mixte de services et de recherche...

En effet, le CNRS nous habilite à facturer des prestations de services dans notre domaine de prédilection : l'identification et la caractérisation des protéines au sein d'un échantillon. Mais nous sommes avant tout une unité de recherche : les services ne constituent qu'une petite part de nos activités, qui permet de financer en partie la maintenance de notre matériel.

5 permanents

3 chercheurs et
enseignant-chercheurs
contractuels

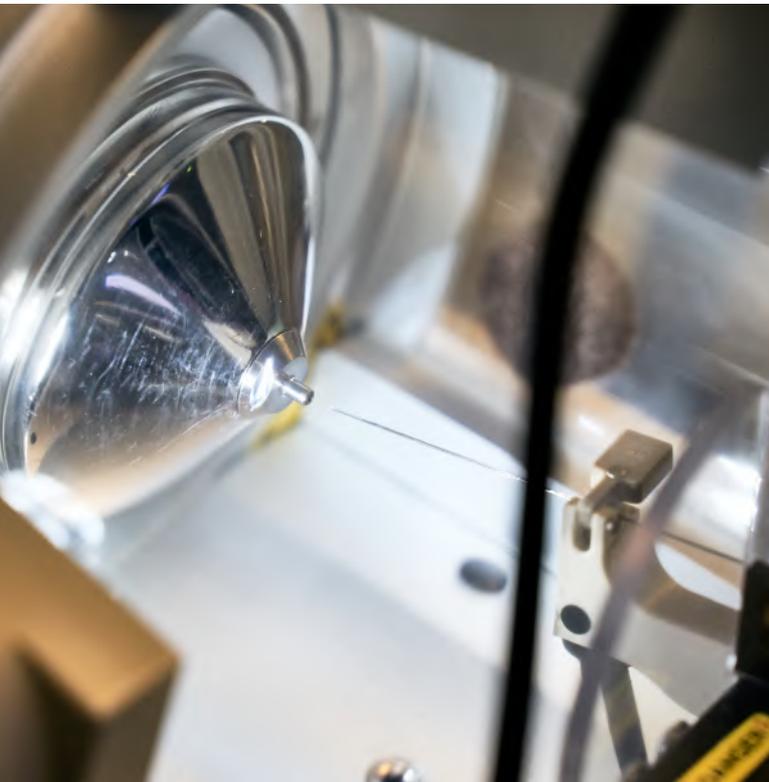
5 doctorants

5 à 6 publications par an

1 Plateforme technologique
nationale en spectrométrie
de masse haute résolution
depuis 2001

15 ans de participation
active en formation
permanente et professionnelle

DE NOUVEAUX OUTILS POUR LA RÉDOXOMIQUE



Suite aux travaux de thèse de Shakir Shakir, le laboratoire travaille actuellement sur la transposition de ses protocoles dans des puces.

L'analyse des modifications post-traductionnelles est une des contributions les plus importantes de la protéomique aux sciences du vivant. Cependant, malgré les progrès des sciences séparatives et les développements techniques importants des dernières années dans le domaine de la spectrométrie de masse, l'analyse quantitative des modifications post-traductionnelles demeure un défi analytique. Le nombre limité de modifications identifiées de manière robuste par les algorithmes de recherche bio-informatiques, la nécessité d'étapes d'enrichissement et la quantification réalisée en se fondant sur un seul peptide ne sont que quelques-unes des difficultés les plus évidentes.

De plus, l'interprétation des données impose certaines précautions. En effet, la quantification des modifications post-traductionnelles devrait toujours être associée au niveau d'expression de la protéine afin d'éviter des faux positifs/négatifs. Plus spécifiquement, la modification rédox des résidus

cystéines constitue un cas d'étude très important, d'une part à cause de l'omniprésence de ces modifications dans le cadre du stress oxydant et de l'homéostasie rédox, et d'autre part à cause de l'implication des modifications rédox dans diverses cascades de signalisation et processus biologiques. Par ailleurs, quoique moins complexes que les glycosylations, les modifications rédox des cystéines posent un défi supplémentaire vu l'hétérogénéité intrinsèque des formes oxydées et les variations importantes de la fraction modifiée (*site occupancy*). Plusieurs stratégies analytiques pour la quantification de ces modifications des cystéines ont ainsi été développées. Une première, OxiTMT, vise la caractérisation et la quantification des modifications post-traductionnelles et a été publiée : elle repose sur un marquage chimique spécifique de la cystéine par des *tandem mass tags*. Cette méthode permet d'obtenir l'information quantitative concernant la fraction modifiée, ainsi que l'information du niveau d'expression de la protéine. Une étude servant de preuve de concept a été effectuée sur une culture d'*Escherichia coli* ayant reçu un traitement oxydant, en comparaison avec la même souche sans traitement.

Une méthode fondée sur un marquage chimique permet d'étendre les applications à l'étude des cultures cellulaires autotrophes, mais également à l'étude des tissus et biopsies. Actuellement, les équipes du laboratoire finalisent une nouvelle méthode ainsi que sa miniaturisation mettant en œuvre un marquage métabolique. Ces dispositifs viendront compléter la boîte à outils permettant de caractériser et quantifier les modifications rédox sur les cystéines.

POUR EN SAVOIR PLUS

Quantitative analysis of the cysteine redoxome by iodoacetyl tandem mass tags, S. Shakir, J. Vinh et G. Chiappetta, Anal. Bioanal. Chem., 409(15):3821-3830, 2017.

EN BREF

Les peptides néosynthétisés par recombinaison de protéine

À travers ses travaux de thèse effectués au SMBP, Sergio Gonzalez-Duque a mis en évidence une nouvelle classe de peptides impliqués dans la réponse immunitaire. Sa recherche portait sur les peptides épitopes, présents à la surface des cellules du pancréas et ciblés par les lymphocytes dans les cas de diabète auto-immun de type 1. La plupart de ces éléments n'avaient jusque-là jamais été identifiés. Pour ce faire, l'équipe de recherche a fait appel à des techniques de peptidomique et de transcriptomique : en analysant séparément l'ARNm et les peptides exprimés *in fine* à la surface de la cellule, ils ont pu identifier plusieurs voies impliquées dans la génération et la présentation de ces épitopes, incluant l'épissage alternatif d'ARNm et de peptides. Ce peptidome ouvre de nouvelles voies pour mieux comprendre la fabrication des antigènes par les cellules, le développement de biomarqueurs et de nouvelles stratégies de vaccinations tolérogènes.

À LIRE : *Conventional and Neo-Antigenic Peptides Presented by B-Cells Are Targeted by Circulating Naïve CD8+ T Cells in Type 1 Diabetic and Healthy Donors.* S. Gonzalez-Duque et al., *Cell Metab.*, 23. pii : S1550-4131(18)30450-9, 2018.

Nouvelle stratégie de caractérisation des anticorps

La spectrométrie de masse est devenue un outil incontournable dans la caractérisation des protéines comme les immunoglobulines γ (IgG), une application classiquement effectuée à travers une stratégie *bottom-up*. Or cette approche est compliquée par l'existence de différentes combinaisons de polymorphismes des IgG, touchant de petits domaines protéiques de quelques acides aminés. La thèse d'Alexandra Emmanuel a porté sur la caractérisation de ces polymorphismes à travers une autre approche protéomique, le *middle-down*, qui permet d'analyser de grands fragments. Cette nouvelle approche a fait l'objet d'un dépôt de brevet et de

déclaration d'innovation en partenariat avec l'Institut de recherche pour le développement (IRD). La preuve de concept nécessite encore quelques optimisations, mais la démonstration des capacités du spectromètre de masse QqOrbitrap à effectuer ces mesures avec précision par *middle-down* pourrait déboucher sur un outil diagnostique pour la caractérisation des polymorphismes dans les cas de suspicion d'infections parasitaires congénitales, comme la toxoplasmose et la maladie de Chagas.

À LIRE : *Human Immunoglobulin Heavy Gamma Chain Polymorphisms: Molecular Confirmation of Proteomic Assessment*, M. Dambrun et al., *Mol. Cell Proteomics*, 16(5):824-839, 2017.

Un équipement de pointe

Une des principales spécificités du SMBP est sans conteste sa plate-forme technologique, qui appartient depuis sa création au groupement d'intérêt scientifique des plates-formes nationales IBISA (Infrastructures en biologie santé et agronomie) pour la protéomique. Ce label a été renouvelé en décembre 2019. Six spectromètres de masse à très haute résolution (temps de vol) ou ultra-haute résolution (mesure par transformée de Fourier) sont exploités en routine pour l'analyse des macromolécules, peptides et protéines entières. Chaque année, ce sont entre 10 et 15 équipes externes, chercheurs, doctorants ou ingénieurs des secteurs académiques ou privés, qui viennent travailler sur ces équipements. Grâce à ce label et à une subvention du Conseil Régional d'Ile de France obtenue en 2018, le laboratoire bénéficie depuis 2019 d'un équipement unique en France de type Tribid Eclipse ETD, HCD, UVPD qui atteint 1 million de résolution et est couplé à un module de mobilité ionique et à des techniques séparatives en nanochromatographie. Une procédure de mise en contact permanente permet aux chercheurs intéressés de soumettre leur projet de manière très souple et avec un temps de réponse minimal.

www.smbp.espci.fr

ESPCI  PARIS | PSL 

ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHYSIQUE ET DE CHIMIE
INDUSTRIELLES DE LA VILLE DE PARIS

10, rue Vauquelin, 75231 PARIS CEDEX 05
+ 33 1 40 79 44 00

espci.psl.eu

