



Annonce de soutenance de thèse

Clarisse GOSSET-ERARD

soutiendra publiquement sa thèse intitulée

Développement méthodologique en CE-FTICR-MS pour l'étude de biomolécules à visée thérapeutique

Sous la direction de

Pr Patrick CHAIMBAULT et Dr Yannis FRANCOIS

Pour l'obtention du titre de

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LORRAINE
Mention : Chimie**

Le 24 novembre 2022 à 14 à l'amphithéâtre de l'ISEA (7 rue Marconi, Metz Technopôle)

Membres du jury :

Directeurs de thèse :	Pr. Patrick CHAIMBAULT	PR, LCP-A2MC, Université de Lorraine
	Dr. Yannis FRANCOIS	MCF, LSMIS, Université de Strasbourg
Président de jury :	Pr. Raphaël DUVAL	PR, L2CM, Université de Lorraine
Rapporteurs :	Pr. Reine NEHME	PR, ICOA, Université d'Orléans
	Dr. David TOUBOUL	DR, ICSN, Université Paris-Saclay
Examineur :	Dr. Fanny D'ORLYE	MCF, i-CLeHS, Université Paris Sciences & Lettres
Membres invités :	Dr. Emmanuelle LEIZE-WAGNER	DR, LSMIS, Université de Strasbourg
	Pr. Frédéric AUBRIET	PR, LCP-A2MC, Université de Lorraine

Résumé

La spectrométrie de masse (MS) s'est imposée depuis quelques années comme une méthode essentielle pour la caractérisation des biomolécules. Le développement de nouveaux analyseurs à ultra-haute résolution et grande précision de mesure de masse, tels que la résonance cyclotronique des ions à transformées de Fourier (FTICR), ont amélioré la sélectivité de la méthode. Afin de faciliter la caractérisation d'échantillons complexes dans de nombreux domaines, la MS peut être couplée à des méthodes séparatives telles que l'électrophorèse capillaire (CE). La CE est la méthode électrophorétique la plus performante en termes de résolution, d'efficacité et de capacité de pics tout en étant très rapide. Le couplage CE-MS a été développé pour un grand nombre d'analytes et permet d'obtenir une sensibilité optimale de la MS grâce au recours d'une interface sheathless permettant l'utilisation de nano-débit. Cependant, pour pouvoir combiner les performances de séparation de la CE, la haute sélectivité et sensibilité de l'interface sheathless avec l'ultra-haute résolution du FTICR-MS, il est nécessaire de relever les défis techniques liés aux propriétés intrinsèques de la CE et du FTICR telles que la rapidité de la séparation, la haute efficacité des pics et le temps d'acquisition de la MS. Les travaux présentés dans ce manuscrit présentent donc la mise en place du couplage CE-FTICR-MS, nouveau au laboratoire, et son application dans l'étude de biomolécules, et notamment la caractérisation des modifications post-transcriptionnelles des acides ribonucléiques (ARN). Une étude du couplage a tout d'abord été réalisée à l'aide de standards, puis un premier transfert de méthode a été effectué sur des échantillons biologiques déjà décrits dans la littérature. Divers développements de méthodes sont ensuite présentés tels que l'optimisation de la préparation d'échantillon, et le développement de nouveaux outils bio-informatiques permettant d'aller plus loin dans la caractérisation de ces modifications et dans la complexité des échantillons. Enfin, le couplage CE-FTICR-MS ainsi que des derniers développements de méthode ont été mis en application sur des échantillons plus complexes et dont les modifications post-transcriptionnelles ne sont pas décrites dans la littérature. L'utilisation du couplage CE-FTICR-MS pour la caractérisation des ARN a notamment permis d'identifier une modification post-transcriptionnelle inconnue dans un de ces échantillons complexes et peu étudiés dans la littérature.

Mots clés : Spectrométrie de masse, Electrophorèse capillaire, CE-FTICR-MS, Ultra-haute résolution, Biomolécules, Acides ribonucléiques

Summary

Mass spectrometry (MS) has emerged in recent years as benchmark method for the characterization of biomolecules. The development of new analyzers with ultra-high resolution and high mass accuracy, such as Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance (FTICR), has improved the selectivity of the method. To ease the characterization of complex samples, MS can be coupled with separative methods such as capillary electrophoresis (CE). CE is the most powerful electrophoretic method in terms of resolution, efficiency and peak capacity, and is very fast. The CE-MS coupling has been developed for a large number of analytes and allows to obtain an optimal sensitivity of MS thanks to the use of a sheathless interface allowing the use of nanoflow rates. However, in order to combine the separation performances of CE, the high selectivity and sensitivity of the sheathless interface with the ultra-high resolution and the high mass accuracy of FTICR-MS, it is necessary to address the technical challenges related to the intrinsic properties of CE and FTICR such as the speed of separation, high peak efficiency and MS acquisition time. The work presented in this manuscript presents the implementation of the CE-FTICR-MS hyphenation and its application for the study of biomolecules, and in particular the characterization of post-transcriptional modifications of ribonucleic acids (RNA). A study of the CE-FTICR-MS hyphenation was first performed using standards, then a first method transfer was performed on biological samples already described in the literature. Various method developments are then presented such as the optimization of the sample preparation, and the development of new bioinformatics tools allowing to go further in the characterization of these modifications and in the complexity of the samples. Finally, the CE-FTICR-MS hyphenation as well as the latest method developments were applied on more complex samples, and whose post-transcriptional modifications are not described in the literature. The use of the CE-FTICR-MS hyphenation for the characterization of RNA enabled the identification of an unknown post-transcriptional modification in one of these complex samples that has not been previously studied in the literature.

Keywords : Mass Spectrometry, Capillary electrophoresis, CE-FTICR-MS, Ultra-high resolution, Biomolecules, Ribonucleic acids