



RCJSM

XXIXème Toulouse 2025

Société Française de Spectrométrie de Masse Le Club Jeune

Les XXIXe Rencontres École de Printemps



31 Mars au 3 Avril 2025
Moulin de Moissac



Le lieu d'accueil

Les XXIXe Rencontres RCJSM2025



Le Moulin de Moissac



Juste après la guerre de 100 ans, en 1474, ce moulin a été réhabilité par les frères Viguiier de Ricard pour en faire l'un des plus importants de sa région. En effet, ses quatre meules tournant grâce à la puissance du Tarn lui permettent de fabriquer d'importantes quantités de farines d'excellence. Jusqu'au XIX^{ème} siècle, ce moulin restera le plus gros du Sud-Ouest de la France. Malheureusement, lors de la Première Guerre Mondiale, il brûle et ne se relèvera pas. Il faudra attendre les années folles, en 1932, pour qu'il soit transformé en hôtel de luxe afin de devenir une station d'été. C'est dans les années 70 qu'il devient un hôtel 3 étoiles grâce à son restaurant étoilé, une discothèque et le spa actuel. Encore une fois, le sort s'acharnera sur ce moulin qui tombera en ruine dans les années 90. Aujourd'hui, grâce à sa rénovation par Madame et Monsieur Dassarcole de 2003 à 2013, le *Moulin de Moissac* est un hôtel renommé dans la région qui ravit les visiteurs qui viennent découvrir le Tarn et sa région.



“ Bienvenue à Toulouse, la ville aux tuiles roses ! ”



Les comités organisateurs



Le CA du CJSM



Gauthier Rosé
Président



Nathan Traullé
Vice-Président



Clarisse Gosset-Erard
Trésorière



Alexia Fataka
Secrétaire



Isaure Sergent
Resp. Communication



Bayan Almasri
Resp. Relations
Partenaires



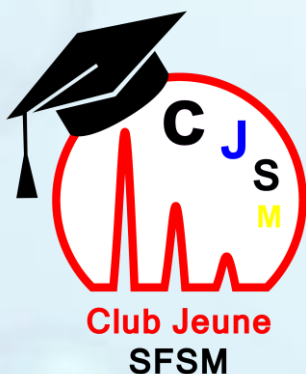
Alix Munoz
Adjointe Resp.
Relations Partenaires



Maxime Sueur
Webmaster



Marie Valmori
Adjointe Webmaster





Le Comité d'Organisation du Sud-Ouest



Carla Orlandi

Doctorante
toulousaine



Magali Godard

Doctorante
montpelliéraine et
marseillaise



Ella Tyson

Doctorante
montpelliéraine

La SFSM



**Héloïse
Dossmann**

Correspondante
CJSM



La SFSM

Et l'ensemble de
son CA



Les Partenaires



Les Partenaires Industriels



Prestige



ThermoFisher
SCIENTIFIC



Les Partenaires Industriels



Premium

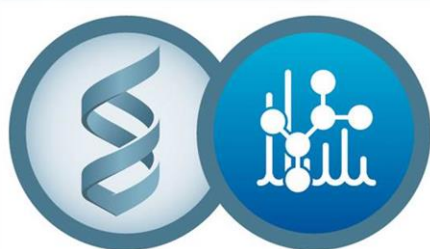


Classique





Le Partenaire Académique



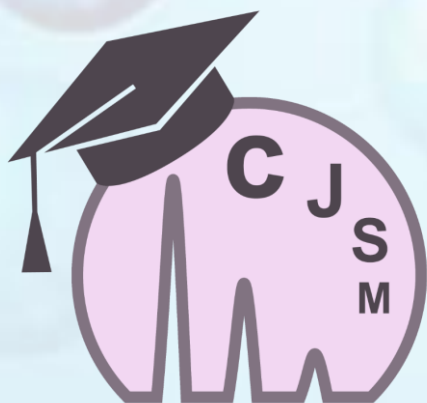
Genotoul
Metatoul



RCJSM

XXIXème Toulouse 2025

Fascicule *Programme & Résumés*





Sommaire



p.14 : Programme

p.16 : Thématiques des cours

p.22 : Résumés des communications orales

p.57 : Communications des partenaires

p.59 : Liste des participantes et participants



Programme

	Lundi 31 Mars	Mardi 1 Avril	Mercredi 2 Avril	Jeudi 3 Avril
8h15				
8h30				
8h45				
9h00		8 h 30 - 10 h 00 Cours C.02 Émilien Jamin - Guillaume Marti	8 h 30 - 10 h 15 : Session 3 : Développement méthodologique (6 O et 3 R)	9 h 05 - 10 h 00 : Session 6 Mobilité ionique (3 O et 2 R)
9h15				
9h30				
9h45				
10h		10 h 00 - 10 h 05 Cluzeau		
10h15		10 h 05 - 10 h 30 <i>Pause café</i>	10 h 15 - 10 h 45 LCH	10 h 00 - 10 h 50 <i>Pause café</i>
10h30				
10h45		10 h 30 - 12 h 00 Cours C.02 Émilien Jamin - Guillaume Marti	10 h 45 - 11 h 00 <i>Pause café</i>	10 h 50 - 11 h 00 CPA Chem
11h				11 h 00 - 11 h 05 Quality Assistance
11h15				
11h30				
11h45			11 h 00 - 12 h 35 Cours C.04 Salomé Poyer	11 h 05 - 12 h 35 Cours C.04 Salomé Poyer
12h		12 h 00 - 12 h 10 Métatoul		
12h15				
12h30		12 h 10 - 13 h 30 <i>Pause déjeuner</i>		12 h 35 - 13 h 30 <i>Pause déjeuner</i>
12h45				
13h	12 h 00 - 15 h 00 <i>Accueil - Pause déjeuner</i>		12 h 35 - 14 h 00 <i>Pause déjeuner</i>	
13h15				
13h30				
13h45		13 h 30 - 15 h 00 Cours C.03 Tristan Renaud		
14h			14 h 00 - 14 h 30 Thermo	
14h15				
14h30			14 h 30 - 15 h 40 : Session 4 Élucidation structurale (4 O et 2 R)	
14h45				
15h		15 h 00 - 15 h 30 Bruker		
15h15			15 h 40 - 15 h 55 : Session 5 Flash - Imagerie/Quantification (3 R)	
15h30				
15h45	15 h00 - 16 h 30 Cours C.01 Isabelle Fournier	15 h 30 - 16 h 00 SRA Instrument		
16h		16 h 00 - 16 h 30 <i>Pause café</i>		
16h15				
16h30	16 h 30 - 16 h 45 <i>Pause café</i>			
16h45		16 h 30 - 18 h 00 Cours C.03 Tristan Renaud		
17h				
17h15	16 h 45 - 18 h 15 Cours C.01 Isabelle Fournier			
17h30				
17h45			15 h 55 - 19 h 30 <i>Après-midi récréative</i>	
18h		18 h 00 - 18 h 15 <i>Échanges avec les professeurs</i>		
18h15	18 h 15 - 19 h 05 : Session 1 Chimie-Physique / Chimie Oganique (3 O et 1 R)			
18h30		18 h 15 - 19 h 30 : Session 2 Protéomique (4 O et 3 R)		
18h45				
19h	19 h 05 - 19 h 30 <i>Présentation CJ</i>			
19h15				
19h30				
19h45	19 h 30 <i>Diner et soirée brise glace</i>	19 h 30 <i>Diner</i>	19 h 30 <i>Diner et Soirée Gala</i>	
20h				



Ordre de passage des oraux



Lundi 31 Mars

Session 1 : Chimie-Physique/Chimie Organique

O.02	Jun	HU
O.12	Egon	KHERCHICHE
O.14	Théo	SOMBRET
R.01	Cécile	BALAKICHENANE

Mardi 1 Avril

Session 2 : Protéomique

O.07	Matthieu	HODEIGE
O.18	Isabelle	FABRIZI
O.19	Alexia	FATAKA
O.20	Zahrmina	RATIBOU
R.04	Xavier	RICHARD
R.12	Nelly	DEY
R.13	Pierre	OTUSZEWSKI

Mercredi 2 Avril

Session 3 : Développement méthodologique

O.03	Alix	MUNOZ
O.05	Joséphine	CHERRIÈRE
O.06	Magali	GODARD
O.09	Ella	TYSON
O.10	Guillaume	LIMOUSIN
O.15	Nathan	TRAULLÉ
R.02	Mathilde	BRACHET
R.03	Louis	DELEGUE
R.09	Andrea	PAYARES

Session 4 : Élaboration Structurale

O.01	Bayan	ALMASRI
O.04	Eva	AUDOUIN
O.11	Ranil C.	TEMGOUA TONLEU
O.13	Ayoub	BADRI
R.05	Maxime	BENONIT
R.06	Vincent	ZELLER

Session 5 : Imagerie/Quantification

R.08	Alexandre	GOOSSEN
R.10	Quentin	BASTIAENS
R.14	Léo	FROELICHER-BOURNAUD

Jeudi 3 Avril

Session 6 : Mobilité Ionique

O.08	Carla	ORLANDI
O.16	Antoine	DUHAMEL
O.17	Théo	IMHOFF
R.07	Bastien	CABRERA-TEJERA
R.11	Simon	GODAUX

Modératrices/Modérateur

Bayan ALMASRI
Nathan TRAULLÉ

Magali GODARD
Alix MUNOZ
Ella TYSON

Alexia FATAKA
Carla ORLANDI
Ella TYSON

Alix MUNOZ
Carla ORLANDI

Magali GODARD
Nathan TRAULLÉ

Bayan ALMASRI
Alexia FATAKA



Thématiques des cours



C.01 : Mass Spectrometry Imaging: Seeing the Invisible



Par la Pr. Isabelle Fournier

Since Mass Spectrometry Imaging (MSI) adds a spatial dimension to MS, it finds many applications in various fields. In particular, as the performance of MSI has improved over the last decade, it has become a key tool in many research areas. MSI, which was first introduced in the 1960s with secondary ion mass spectrometry, has a long history, but reached a major turning point with the introduction of MALDI-MSI in the late 1990s. Since then, several MSI modalities have been developed, including novel ion sources and, in particular, ambient ionisation mass spectrometry (AIMS). Indeed, desorption electrospray ionisation (DESI), nanDESI and laser ablation electrospray ionisation (LAESI), among others, can also be operated in imaging modes. AIMS have the advantage of requiring minimal sample preparation and can even be used in an in vivo context that is out of reach of more conventional MSI modalities such as SIMS and MALDI MSI. All these different modalities have their specificities and advantages, but above all they are very complementary. For example, MALDI-MSI is the only modality that allows routine imaging of peptides and proteins. SIMS MSI, on the other hand, can achieve extreme spatial resolution down to a few nanometres. Interestingly, they can be used for a wide range of applications, from chemical materials to organisms, studying plants and host-bacterial interactions, as well as rodent models and human tissues, through to applications in the operating theatre to guide surgery. During this talk we will review the different modalities of MSI, their technological capabilities and cover various application examples.



C.02 : Métabolomique non-ciblée, principe l'approche et exemples pratiques de traitement de données



***Par le Pr. Guillaume Marti
&
Le Pr. Emilien Jamin***

Parmi toutes les techniques spectroscopiques associées ou non à des techniques séparatives, l'analyse LC-HRMS est l'approche la plus couramment utilisée en métabolomique sans-priori. Nous commencerons par présenter les contraintes analytiques de chacune des étapes d'un protocole classique d'analyses non-ciblée par LC-HRMS, incluant la préparation des échantillons, l'analyse par chromatographie et par spectrométrie de masse, l'extraction et la curation des données, les analyses statistiques, l'annotation des variables et l'identification des métabolites. Dans la deuxième partie du cours, un focus pratique sera réalisé sur des outils libres d'accès de traitement de données à partir d'acquisitions LC-MS/MS en DDA.



C.03 : La Chimie Structurale dans l'industrie pharmaceutique : un support à l'identification des contrefaçons de médicaments, aux Réclamations Qualité, et aux diagnostics des anomalies sur les sites industriels

***Par le Principal Structural Chemistry Expert
Tristan Renaud***

En complément des « missions classiques » des laboratoires de Chimie Structurale dans l'industrie pharmaceutique, que sont la caractérisation des principes actifs en développement, l'identification de leurs impuretés de synthèse et de leurs produits dégradation afin d'avoir une connaissance approfondie de ces futurs candidats médicaments, il existe d'autres activités moins connues mais tout aussi indispensables et qui permettent aux patients de s'assurer de la qualité de leurs médicaments.

Parmi ces activités complémentaires, seront abordées lors de cette présentation au travers d'exemples concrets, les contrefaçons de nos médicaments, les Réclamations Qualité émises par des patients et le diagnostic des anomalies de production sur nos sites industriels. Toutes ces activités nécessitent la mise en œuvre de multiples méthodes d'analyse structurale afin d'identifier la ou les structures chimiques incriminées, selon des protocoles bien établis ou parfois adaptés à la spécificité de la problématique rencontrée. ...



C.03 : La Chimie Structurale dans l'industrie pharmaceutique : un support à l'identification des contrefaçons de médicaments, aux Réclamations Qualité, et aux diagnostics des anomalies sur les sites industriels

***Par le Principal Structural Chemistry Expert
Tristan Renaud***

Après une présentation des techniques spectroscopiques utilisées au laboratoire et de notre parc matériel associé, nous verrons comment rapidement identifier les contrefaçons de nos médicaments à l'aide des spectroscopies vibrationnelles, comme le Proche Infrarouge (PIR) et le RAMAN, combinées à l'utilisation d'outils statistiques telles que l'Analyse en Composantes Principales (ACP ou PCA) ou l'Analyse en Composantes Indépendantes (ACI ou ICA). Nous verrons ensuite comment caractériser structuralement les composés présents dans ces contrefaçons à l'aide du RAMAN, de la Spectrométrie de Masse Haute Résolution (HR-MS) et/ou de la Résonnance Magnétique Nucléaire (RMN).

Dans le cadre des Réclamations Qualité ou des diagnostics des anomalies de production (troubleshooting) sur nos sites industriels nous verrons, toujours au travers d'exemples concrets, quelles sont les techniques de Spectrométrie de Masse Haute Résolution utilisées : les différents modes d'ionisation utilisés en fonction de la problématique rencontrée et les différentes méthodes d'introduction utilisées (couplages et méthodes de désorption), ainsi que les autres techniques éventuellement mises en œuvre telles que les spectroscopies Moyen Infrarouge (MIR) et/ou RAMAN ou encore la Résonnance Magnétique Nucléaire.



C.04 : Méthodes d'activation en spectrométrie de masse en tandem



Par la CR. Salomé Poyer

Les méthodes d'activation en spectrométrie de masse en tandem sont souvent essentielles pour la caractérisation structurale (structure primaire) des ions par MS. La majeure partie de cet exposé sera consacrée au principe et aux mécanismes de dissociation impliqués au cours de la dissociation induite par collision (CID), en s'appuyant sur diverses applications. Nous aborderons également la possibilité de moduler la réactivité des ions par MS/MS avec l'ajout de métaux ou par dérivatisation chimique. Toujours concernant les modes d'activation collisionnels, la dissociation induite par surface (SID) sera présentée avec quelques applications pour la chimie et la biologie structurale. Enfin, les principales méthodes alternatives par échange de photons, électrons ou charges seront présentées et exemplifiées.



Résumés *Oraux & Rapides*



O.01: Innovative approaches to fully understand polyesters composition by ultra-high resolution mass spectrometry

Bayan ALMASRI^{1,2}, Christian ROLANDO³

¹*Miniaturisation pour la Synthèse l'Analyse et la Protéomique (MSAP), Villeneuve d'Ascq, France*

²*Laboratoire de Chimie Appliquée (LCA), Tripoli, Liban*

³*Shrieking Sixties, 1-3 Allée Lavoisier, 59650, Villeneuve-d'Ascq, France*

Thématiques

Polymères ; Développement Méthodologique ; Élucidation Structurale

Résumé

Polyethylene terephthalate (PET) is widely present polyester in our daily life. By weathering and/or biological phenomena, it forms micro- and nano-PET. This polyester is raising both environmental and health concerns as it has been present in ecosystems, bottled drinking water and human body. Many approaches were used to analyze PET and their microplastics but they did not provide satisfying data about their structural modifications at molecular level. To investigate these alterations and provide full data about PET composition, our innovative approach combining mild chemical depolymerization with advanced mass spectrometry was used.

Many PET containers and bottles of different contents, brands and manufacturing countries as well as environmental samples were studied. Indeed, PET fragments were depolymerized by *N,N*-dimethyl-1,3-propanediamine (DMPA). This transamidation was first performed at 70 °C yielding low yield after extraction by ethyl acetate [1]. After that, it was performed at softer temperature; room temperature. The addition of the step of solubilization in 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol (HFIP) before PET transamidation allowed this improvement. Furthermore, the extraction yield was higher after HFIP using. PET depolymerized products were identified by ultra-high-resolution Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry using MALDI ionization on 9.4 Tesla Bruker™ Solarix FTICR instrument and ESI ionization on Orbitrap MS hyphenated with liquid chromatography.

This depolymerization was marked by the presence of di-derivatized terephthalic acid in all the studied PET samples. Degradation products, dimers, oligomers and PET additives (plasticizers, antioxidants, stabilizers, etc.) were also present but different according to each analyzed PET packaging. For instance, soft drinks bottles demonstrated a specific signature assigned by the presence of cyclohexanedimethanol as in PETG co-polyesters. Another approach by benzylation was used to detect the free aqua-soluble diols' modifications. Environmental samples provided extra data. This strategy was extended to other polyesters and co-polyesters such as PBAT and some marine objects.

Références

[1] : Lavery, P., *LCGC Int.* **2023**, ASMS



O.02 : Étude des propriétés d'interaction d'une série d'anions envers de nouveaux récepteurs moléculaires

Jun HU^{1,2}, Damien PRIM², Anne GAUCHER², Jean-Yves SALPIN¹

¹*Laboratoire Analyse, Modélisation, Matériaux pour la Biologie et l'Environnement (LAMBE), Université d'Evry Val d'Essonne, Evry Courcouronnes, France*

²*Institut Lavoisier de Versailles (ILV), Université de Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines, Versailles, France*

Thématiques

Chimie-Physique ; Chimie Organique

Résumé

Les anions jouent un rôle crucial dans de nombreux processus chimiques et biologiques, et comprendre leur réactivité est essentielle. Le développement de nouveaux outils pour les piéger permet d'explorer plus en détail leurs mécanismes de complexation. Dans ce contexte, une nouvelle famille de récepteurs moléculaires a été synthétisée au sein de notre laboratoire, dont le but est de piéger sélectivement ces anions. Ces récepteurs innovants combinent plusieurs interactions de faible énergie : la liaison hydrogène et l'interaction π -anion. Cette combinaison est susceptible de générer des liaisons plus fortes et sélectives, ouvrant la voie à une meilleure efficacité des processus de complexation.¹

Après avoir synthétisé ces récepteurs, l'étude de leur complexation avec des anions a été réalisée à l'aide de plusieurs techniques analytiques. La RMN a été utilisée pour étudier la complexation en solution, permettant d'observer les modifications des déplacements chimiques des protons impliqués dans les liaisons hydrogène, et de calculer des constantes d'association. Parallèlement, la spectrométrie de masse a permis d'étudier les complexes anion/récepteur en phase gazeuse, s'affranchissant de l'influence du solvant, et a contribué à comparer de manière relative la force d'interaction entre différents complexes. Elle a notamment permis de déterminer l'énergie de collision à 50 % (CE50), c'est-à-dire l'énergie nécessaire pour dissocier 50 % des complexes.² Cette valeur reflète la force de l'interaction anion/récepteur. Nos différents résultats révèlent des variations significatives en fonction des anions et des récepteurs étudiés. Ces deux approches complémentaires ont été enrichies par des calculs théoriques de type DFT pour approfondir la compréhension des interactions.³

L'utilisation de récepteurs combinant deux types d'interactions faibles est une approche novatrice et inédite. La modularité de ces récepteurs offre une large gamme de possibilités pour étudier et comparer les interactions anioniques, ouvrant des perspectives prometteuses pour la conception de systèmes de reconnaissance anionique plus efficaces et sélectifs.

Références

- [1] : Plais, R. *et al.*, *Eur. J. Org. Chem.* **2023**, 26, e202201281
- [2] : Kertesz, T. M. *et al.*, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2009**, 20, 1759–1767
- [3] : Zayene, O. *et al.*, *ChemPlusChem* **2024**, 89, e202400380



O.03: Beyond Routine: How LC-HRMS Cracked a Critical Forensic Case

Alix MUNOZ^{1,2}, Jeanne BROTIER², Laetitia BARTHE², Guénaél THIAULT², Joëlle VINH¹

¹*Spectrométrie de Masse Biologique et Protéomique (SMBP), Paris, France*

²*Laboratoire Central de la Préfecture de Police (LCPP), Paris, France*

Thématiques

Criminalistique ; Développement Méthodologique

Résumé

Case study: Tuesday, 14:15—An unknown white powder is delivered to the lab. A police officer urgently explains that an individual is in cardiac arrest after exposure and demands immediate identification. Forensic laboratories frequently face such high-stakes cases involving unknown substances with no available reference standards, requiring rapid, non-targeted analysis. Unfortunately, compound identification remains a challenge, not only in forensics but across other application fields such as untargeted MS in metabolomics [1].

This process involves two key steps: selecting appropriate analytical techniques and accurately interpreting the data. Routine methods, including infrared (IR) and Raman spectroscopy, as well as gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)—were applied but failed to provide conclusive identification. Despite being forensic gold standards, GC-MS and targeted low-resolution LC-MS lack efficiency when dealing with unknown compound families.

As a last resort, an in-house liquid chromatography-high resolution mass spectrometry (LC-HRMS) method, developed on a Q Exactive instrument, was employed [2]. The optimized untargeted acquisition parameters enabled high-resolution, high-accuracy (HR HA) spectral data, allowing putative identification via ChemSpider based on the MS data. Confirmation was achieved by matching the HR HA MS² spectrum with a reference spectrum. To further support the forensic report, additional bibliographic research led to optimized GC-MS conditions, allowing compound confirmation and immediate reporting to law enforcement—all within a few hours.

This case underscores the power of our multi-technique approach for non-targeted forensic screening and the critical role of LC-HRMS in identifying novel substances. Further data processing optimization is a key requisite to reach a high throughput analysis and fulfill the expected routine delays. A global data treatment procedure is presently under development to complete the actual analytical workflow already optimized. This will pave the way towards higher analytical performance for unknown compound identification.

Références

[1] : Russo, FF. *et al.*, *Rapid Commun Mass Spectrom.* **2024**; 38(20):e9876.

[2] : Munoz, A. *et al.*, *ChemRxiv.* **2025**



O.04 : Development of a subzero nano-chromatography system coupled to FT-ICR-MS and ECD for characterizing structural changes in oxidized proteins

Eva AUDOUIN, Isabelle BILLAULT, Guillaume VAN DER REST

Institut de Chimie Physique (ICP), CNRS, Université Paris-Saclay, 91405, Orsay Cedex, France

Thématiques :

Methodological Development ; Structural Elucidation

Résumé

Protein oxidation is linked to the development of neurodegenerative and cardiovascular diseases, yet its characterization remains challenging due to the non-specificity of oxidative modifications. [1] We develop an analytical approach based on hydrogen-deuterium exchange (HDX) to track oxidation-induced structural changes. The study of exchange kinetics between a deuterated solvent and backbone amide hydrogens provides insights into solvent accessibility and protein conformation. [2] After enzymatic digestion, peptides are separated by liquid chromatography and analyzed by mass spectrometry. Recent studies have shown that subzero chromatography significantly prolongs the stability of the initial labeling. [3], [4] To achieve amino acid resolution, fragmentation is required. However, collision or heat-induced activation leads to deuterium scrambling and loss of information. Alternative techniques, such as electron capture dissociation, preserve labelling, enabling more accurate structural analysis. [5]

Our nano chromatographic system for peptide analysis operates at temperatures as low as -18°C. It consists of a portable freezer equipped with two UPLC pumps capable of delivering micro-flow rates and uses ethylene glycol in the mobile phase. This modifier has minimal impact on analysis. Batch digestion tests performed at 0°C in chromatography-compatible conditions confirmed the robustness of this approach on model proteins such as myoglobin and calmodulin. Peptides identified by Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry (FT-ICR-MS) provide excellent sequence coverage. The next step in our analytical development is to include electron capture dissociation. So far, experiments on selectively deuterated peptides have allowed us to optimize source and electron beam parameters to minimize hydrogen migration.

The nano-chromatographic system and electron capture dissociation show promising results for HDX studies, offering higher sensitivity than conventional systems. This is further enhanced by FT-ICR 7T mass spectrometry. The development of this subzero nano-LC-MS system marks a key advancement for future studies on oxidation-induced modifications and structural changes.

Références

- [1] : Kehm, R. et al. *Redox Biology*. **2021**, 42, 101901.
- [2] : Engen, J. R. et al. *MS. Anal. Chem.* **2009**, 81, 7870–7875.
- [3] : Wales, T. E. et al. *Journal of Chromatography A*. **2017**, 1523, 275–282.
- [4] : Anderson, K. W. et al. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2022**, 33, 1282–1292.
- [5] : Rand, K. D. et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 1341–1349.



O.05 : Développement et application de méthodes analytiques par LC-MS pour l'analyse de produits biothérapeutiques

Joséphine CHERRIÈRE, Samy MESSAOUDI, Gwendolyne HELLÉ, Olivier PASQUIER, Christine MAURIAC

Sanofi, Vitry-sur-Seine, France

Thématiques

Développement Méthodologique ; Quantification ; Pharmacocinétique

Résumé

Le développement et l'optimisation de nouvelles méthodes analytiques sont essentiels pour caractériser le comportement *in vivo* des nouveaux biothérapeutiques, tels que les conjugués anticorps-médicaments (ADC), conçus pour cibler et éliminer spécifiquement les cellules cancéreuses [1]. Les ADCs sont composés d'un agent actif (payload) attaché de façon covalente à un anticorps monoclonal (mAb) par l'intermédiaire d'un linker chimique. Ces dernières années, la stratégie de conjugaison a évolué, passant d'une conjugaison stochastique sur des résidus lysine à des approches plus contrôlées, permettant d'obtenir des rapports médicament-anticorps (DAR) plus homogènes [2]. Pour soutenir leur développement, il est essentiel de comprendre leur comportement pharmacocinétique (stabilité, clairance, biodistribution...). Ici, nous avons développé un protocole LC-MS complet pour la bioanalyse *in vivo* de l'ADCETRIS® (brentuximab vedotin) dans le plasma de souris. L'ADCETRIS® est un ADC conjugué aux cystéines interchaînes avec un DAR moyen de 4 [3]. Dans un premier temps, une approche Middle-up MS combinant l'immuno-extraction et l'analyse LC-MS des sous-unités de chaînes légères (LC) et de chaînes lourdes (HC) après la réduction des ponts disulfures a été mise en place pour déterminer le profil pharmacocinétique du DAR. Ensuite, une approche Bottom-up MS intégrant l'analyse de peptides rapporteurs a été développée pour quantifier le mAb *in vivo*, ces résultats ont été comparée à une quantification de l'anticorps total par ELISA. Enfin, des expériences d'optimisation ont été réalisées pour mesurer la concentration totale du médicament conjugué (TCD) par LC-MS/MS après déconjugaison enzymatique par la papaïne [4] de la MMAE, payload de l'ADCETRIS®. L'ensemble de ces approches permet une caractérisation et une quantification complètes de l'ADCETRIS® *in vivo*. Les analyses LC-MS ont permis d'établir différents profils pharmacocinétiques (PK) pour décrire le comportement de cet ADC modèle en condition *in vivo*, permettant ainsi de déterminer les paramètres pharmacocinétiques nécessaires à la sélection et l'optimisation des candidats thérapeutiques.

Références

- [1] : Dumontet, C. *et al.*, *Nature Reviews Drug Discovery* **2023**, 22, 641–661.
- [2] : Tsuchikama, K. *et al.*, *Nature Reviews Clinical Oncology* **2024**, 21, 203–223.
- [3] : Barreca, M. *et al.*, *Exploration of Targeted Antitumor Therapy* **2022**, 763–79.
- [4] : Li, Y. *et al.*, *Mabs* **2016**, 8(4), 698–705.



O.06: Optimization of LC-MS analysis of protein oligonucleotide conjugates

Magali GODARD^{1,2}, Pascaline LÉCORCHÉ¹, Catherine PERRIN², Claudia BICH²

¹VECT-HORUS S.A.S, Marseille, France

²IBMM - Institut des Biomolécules Max Mousseron, UMR5247, Montpellier, France

Thématiques

Methodological Development

Résumé

Drug delivery across biological barriers is one of the most challenging technological lock for addressing gene-related diseases. Different strategies exist to overcome this issue, such as the use of the Receptor-Mediated transcytosis, which is mediated by a specific physiologic receptor. VECTTRANS® technology developed by VECT-HORUS develops a solution involving a Camelid single-domain antibody (VHH), which efficiently targets the transferrin receptor allowing the delivery of a small interfering RNA (siRNA) into the targeted cells.

In this study, the aim was the characterization and assessment of the stability of a hetero-conjugate composed of a protein part (68 kDa) that contains the VHH fused to a Fc fragment part, chemically conjugated with the oligonucleotide part (15 kDa). Due to the complexity and diversity of this molecule in terms of composition and physicochemical properties, the characterisation *via* a unique analytical method presents a major challenge. Standard liquid chromatographic (LC) conditions and mass spectrometry (MS) parameters did not allow the obtention of accurate characterization of the intact conjugate. To overcome this limitation, LC and MS parameters were developed and optimized for the detection of the full-length molecule.

The LC method used is based on size-exclusion chromatography principle (SEC) hyphenated to MS detection (SEC-MS) [1]. The developed SEC-MS method allowed the observation of the entire conjugate. Key optimizations focused on ionization parameters to maintain the integrity of the double-stranded siRNA complex, which relies on non-covalent interactions. Other strategies, such as middle-down with enzymatic digestion, were also explored [2].

Our LC-MS method allowed the characterization of protein-oligonucleotide conjugates of high complexity and high molecular weights, addressing key challenges related to their structural integrity and stability. These improvements provide a more reliable analytical approach, which could facilitate the development of such therapeutic conjugates.

Références

- [1] : Srzentić, K. *et al.*, *Complete characterization of monoclonal antibodies under native and denaturing conditions*, **2021**.
- [2] : Sjögren, J. *et al.*, *Analyst* **2016**, 3114–3125.



O.07: Exploration de l'hétérogénéité fonctionnelle dans les tissus complexes à travers l'intégration de la protéomique « single-cell » et spatiale

Matthieu HODEIGE^{1,2}, Christopher KUNE², Virginie BERTRAND², Maximilien FLERON³, Dominique BAIWIR³, Michaël HERFS⁴, Gauthier EPPE², Laurent GATTO¹, Gabriel MAZZUCHELLI^{2,3}

¹*Computational Biology and Bioinformatics, University of Louvain, Louvain, Belgium*

²*Mass Spectrometry Laboratory, University of Liège, Liège, Belgium*

³*GIGA Proteomics Facility, University of Liège, Liège, Belgium*

⁴*Laboratory of Tumor and Development Biology, GIGA-Cancer, University of Liège, Liège, Belgium*

Thématiques

Développement Méthodologique ; Protéomique

Résumé

Ce projet vise à développer une nouvelle approche analytique et bioinformatique pour étudier l'hétérogénéité fonctionnelle spatiale des tissus. Cette approche combine des données provenant de coupes sériées de tissus, en utilisant une méthode basée sur une microdissection laser systématique suivie de protéomique shotgun (Pixel2Proteomics, P2P), ainsi que la protéomique « single-cell » (SCP) après digestion tissulaire. En intégrant ces analyses, un lien entre les informations spatiales et les phénotypes cellulaires peut être établi. Cela sera réalisé par une microdissection systématique des tissus en pixels, chacun contenant entre 10 et 20 cellules. En parallèle, l'analyse SCP fournira une caractérisation détaillée du protéome des phénotypes cellulaires individuels au sein du tissu. En déconvoluant les données P2P avec les résultats SCP, il sera possible de déterminer les différents phénotypes cellulaires au sein de chaque pixel et ainsi la distribution spatiale et phénotypique des cellules composant le tissu.

Cette méthodologie sera appliquée à l'étude des jonctions squamo-cylindriques, qui sont des sites anatomiques caractérisés par la juxtaposition d'épithéliums squameux et cylindriques. Ces jonctions, situées dans le canal anal, le col de l'utérus et la partie inférieure de l'œsophage [1], sont connues pour leur association avec des processus de remodelage tissulaire et une incidence plus élevée de conditions (pré)cancéreuses. Des recherches récentes ont identifié des populations discrètes de cellules "jonctionnelles" à ces sites, impliquées dans le développement de cancers telles que l'adénocarcinome de l'œsophage et les cancers des voies anogénitales [2], [3]. Cependant, une caractérisation protéomique et transcriptomique complète de ces cellules est difficile en raison de leur petit nombre et de l'absence, jusqu'à récemment, de techniques adaptées.

Références

[1] : A. J. McNairn et G. Guasch, *Eur. J. Dermatol.* **2011**, 21, (S1):21-28

[2] : M. Herfs *et al.*, *J. Pathol.* **2017**, 241(4):522-533

[3] : S. Yuan *et al.*, *Cancer Discov.* **2019**, 9(7):837-851



O.08 : Chemical attribution signature of organophosphorus pesticide chlorpyrifos syntheses by mass spectrometry-based untargeted metabolomics

Carla ORLANDI^{1,2}, Grégoire DELAPORTE³, Christine ALBARET³, Emmanuel JOUBERT³, Anne BOSSÉE⁴, Laurent DEBRAUWER^{1,2}, Emilien JAMIN^{1,2}

¹Toxalim Research Center in Food Toxicology, Toulouse, France

²National Infrastructure of Metabolomics and Fluxomics, MetaboHUB, Toulouse, France

³Analytical Chemistry Department, DGA CBRN Defence, Vert-le-Petit, France

⁴Chemistry Division, DGA CBRN Defence, Vert-le-Petit, France

Thématiques

Développement Méthodologique ; Métabolomique ; Mobilité Ionique

Résumé

The alleged and/or reported uses of chemical warfare agents (CWA) over the last years emphasize the need for powerful analytical tools to support forensic investigations by enabling the identification of the toxic compounds, samples comparison (batch-matching), and the sourcing of the agent employed [1]. Undertaking chemical attribution signatures for chemical threat agents can be used to provide an evidentiary link between the use of a given chemical and its precursor(s). Nerve agents, a class of CWA, include mainly organophosphorus (OP) compounds that can be produced by a wide range of synthesis routes.

In this work, we present an original approach for source determination of synthetic chemicals based on the specificity of synthesis by-products, impurities, and other compounds. Using untargeted fingerprints, crude chlorpyrifos, an OP pesticide, from different synthesis paths was employed as a first use-case using metabolomics-based trace discovery strategies [2]. Samples were analyzed on a Bruker timsTOF mass spectrometer coupled to liquid chromatography. Accurate mass measurement, isotopic patterns, MS/MS and ion mobility analyses were employed to propose structures of discriminant compounds. Multivariate statistical tools were used for data analysis.

Classification of samples according to seven different synthetic routes of chlorpyrifos was achieved based on a hundred of relevant impurities annotated. A new batch of nine unknown samples of chlorpyrifos syntheses was used to validate the methodology based on the discriminant impurities assessed with the first training dataset [3]. The ruggedness of the approach was assessed by introducing additional matrix complexity and spiking crude chlorpyrifos synthesis mixtures in environmental matrices. This approach demonstrated its ability to elucidate unexpected synthesis pathways using data acquired on a training set and associate them with a particular source of reagents and/or synthetic pathways. These results open the way for extending this strategy to the sourcing of various CWAs in the field of chemical forensic.

Références

- [1] : Fraga, C.G. *et al.*, *Anal Chem.* **2010**, 82:4165–4173
- [2] : Jamin, E. *et al.*, *Anal. Bioanal. Chem.* **2014**, 406 :1149-1161
- [3] : Orlandi, C. *et al.*, *Rapid Commun Mass Spectrom.* **2025**, e9996



O.09: Energy Resolved Mass Spectrometry: a tool for the detection of epimerization within peptides?

Ella TYSON¹, Antony MEMBOEUF², Yoann LADNER¹, Christine ENJALBAL¹

¹*Institut des Biomolécules Max Mousseron (IBMM), Montpellier, France*

²*Univ Brest, CEMCA, CNRS, UMR 6521, 29238 Brest, France*

Thématiques

Développement Méthodologique ; Peptides ; Biologie-santé

Résumé

Chirality control in therapeutic peptides is a major issue [1], as the stereogenic centres of amino acids, naturally occurring in the L-form, can undergo alteration, particularly during synthesis. So, it is necessary to develop analytical methodologies to detect and quantify optical conversion of amino acids residues in therapeutic peptides with an accuracy of 0.1%, in line with international impurity regulations.

This study focuses on developing analytical methods using liquid chromatography (LC), capillary electrophoresis (CE), and mass spectrometry (MS) to detect and quantify histidine (His) epimerization in therapeutic peptides. Histidine was chosen due to its susceptibility to optical conversion, attributed to the reactivity of its imidazole side chain [2]. For this purpose, model tripeptides containing His in both L and D configurations at varying sequence positions were synthesized. LC-UV and CE-UV methods successfully distinguished peptides based on His configuration (L-His or D-His) and based on the position of His in the peptide sequence. However, these techniques require tailored conditions and may lack the necessary sensitivity, prompting the need for MS-based detection.

Standard MS and tandem MS (MS/MS) methods cannot differentiate enantiomers unless chiral complexation occurs before dissociation, as reported in the so-called kinetic method [3].

Therefore, to enable stereoselective dissociation, peptides were cationized with Ag⁺ and Li⁺, used as chelating agents in order to carry out energy resolved mass spectrometry (ERMS) experiments [4].

By subjecting these modified peptides to collision-induced dissociation (CID) at varying energies, distinct fragmentation behaviours emerged, based on the configuration of the His residue.

Further enhancement using ion mobility mass spectrometry (IM-MS) would provide an additional level of separation based on peptide spatial conformation, enabling effective discrimination of epimeric peptides. Finally, a fully integrated LC/CE-IM-MS/MS method incorporating all separative strategies will offer a powerful analytical tool for the pharmaceutical industry, ensuring rigorous chiral integrity monitoring in therapeutic peptides.

Références

- [1] : Ceramella, J. *et al.*, Appl. Sci. **2022**, 12, 10909
- [2] : W. Van Den Nest *et al.*, J Pept Sci, **2001**, 7, 115
- [3] : Cooks, R. G. *et al.*, Acc. Chem. Res., **1998**, 31, 379-386
- [4] : Memboeuf *et al.*, J. Am. Soc. Mass Spectrom., **2011**, 22, 1744–1752



O.10 : Développement du couplage en ligne entre la chromatographie par fluide supercritique et la spectrométrie de masse à haute résolution pour la caractérisation moléculaire de bio-huile de bois

Guillaume LIMOUSIN^{1,2}, Gian Carlos ARIAS³, Bechara TAOUK³, Lokmane ABDELOUAHED³, Mélanie MIGNOT^{1,2}, Carlos AFONSO^{1,2}

¹*Chimie Analytique et Réactivité Moléculaire en Normandie (CARMen), Rouen, France*

²*International Joint Laboratory, IC2MC : Complex Matrices Molecular Characterization, TRTG, Harfleur, France*

³*Laboratoire de Sécurité des Procédés Chimiques (LSPC), Rouen, France*

Thématiques

Développement Méthodologique ; Environnement

Résumé

La production de bio-huiles à partir de la pyrolyse de la biomasse lignocellulosique est une solution attrayante pour remplacer les carburants actuels dans le respect de l'environnement. La caractérisation moléculaire de mélanges organiques complexes tels que les bio-huiles est généralement réalisée par spectrométrie de masse à ultra-haute résolution (UHRMS) à introduction directe. Si cette approche offre les meilleures performances en termes de résolution et de précision de masse, elle conduit à une perte d'information isomérique. Dans ce travail, nous évaluerons l'intérêt du couplage de la chromatographie en phase supercritique (SFC) et de la spectrométrie de masse à transformée de Fourier pour la caractérisation des bio-huiles traitées. La SFC est intéressante en termes de pouvoir de séparation des isomères, tout en assurant des conditions d'ionisation stables. Tandis que la haute résolution de l'Orbitrap et du FTICR-MS permet de résoudre la complexité isobarique et d'attribuer avec précision la formule moléculaire [1, 2].

Les bio-huiles ont été produites par pyrolyse catalytique rapide de la biomasse lignocellulosique. La SFC a été réalisée avec un Acquity UPC2 (Waters). La spectrométrie de masse a été réalisée avec un quadripôle-Orbitrap (Exploris 120, ThermoFisher).

Des premières expériences ont été réalisées sur un SFC-Orbitrap afin d'optimiser les conditions chromatographiques. Le choix et la concentration des dopants (acétate de sodium, acide formique...) ont été optimisés par FIA-Orbitrap et les meilleurs paramètres chromatographiques (colonne, gradient, co-solvant...) ont été sélectionnés pour le couplage SFC-Orbitrap. Pour cela, une liste de 37 standards a été élaborée, couvrant différentes familles de composés présents dans les bio-huiles (acides, saccharides, phénols...). Les standards ont permis d'établir un ordre de rétention et des conditions d'ionisation satisfaisantes pour tous les composés représentatifs d'une bio-huile réelle. L'objectif par la suite est de transférer la méthode optimisée sur SFC-FTICR-MS 18T afin de gagner en résolution et en précision.

Références

[1] : Crepier, J. *et al.*, *Journal of Chromatography B*, **2018**, 1086:38-46

[2] : Devaux, J. *et al.*, *Analytical Chemistry* **96**, **2024**, 38:15134-41.



O.11: Hyphenated Electrochemistry-Mass Spectrometry (EC-MS): A Versatile Approach for Drug Metabolism Studies and Environmental Fate of Xenobiotics

Ranil C. T. TEMGOUA^{1,2}, Jan LISEC¹, Mohammed BOUJTITA², Matthias KOCH¹

¹*Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (BAM), Department of Analytical Chemistry; Reference Materials, Berlin, Germany*

²*Chimie et Interdisciplinarité : Synthèse, Analyse, Modélisation (CEISAM), Nantes, France*

Thématiques

Développement Méthodologique ; Instrumentation ; Élucidation Structurale

Résumé

Electrochemistry coupled to mass spectrometry (EC-MS) is emerging as a powerful and versatile technique for studying chemical transformations in various fields [1]. This communication provides an overview of recent advances in EC-MS, focusing on its applications in drug metabolism studies, environmental degradation of xenobiotics, and green synthesis of analytical standards. EC-MS offers significant advantages over conventional methods, including *in situ* simulation of metabolic and environmental processes, rapid generation of transformation products, and the possibility of performing milligram-scale syntheses with a reduced environmental footprint [2, 3, 4]. The major contributions of leading equipment manufacturers, such as Antec Scientific for electrochemistry and Agilent, Shimadzu, Thermo Fisher Scientific, Bruker, Waters, and Sciex for mass spectrometry, will be highlighted. Finally, a portion of our work on the ecotoxicity study of neonicotinoid pesticides, using EC-MS, will be presented to illustrate the potential of this technique. Our study investigates the formation of degradation products from electrochemical reactors (EC) for three neonicotinoid insecticides: imidacloprid (IMI, first generation), clothianidin (CLO, second generation), and dinotefuran (DINO, third generation). Additionally, the toxicity effects of these degradation products were thoroughly evaluated.

Références

- [1] : Bruins, A. P. *et al.*, *Trends Anal. Chem.* **2015**, 70:14-19
- [2] : Temgoua, T. R. C. *et al.*, *Environ. Sci. Process. Impacts.* **2021**, 23:1600-1611
- [3] : Bussy, U. *et al.*, *Trends Anal. Chem.* **2015**, 70:67-73
- [4] : Johansson, T. *et al.*, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2007**, 21(14):2323-2331



O.12: Deciphering the aging mechanisms of li-ion batteries: a key to enhance performances

Egon KHERCHICHE^{1,2,4}, Théo SOMBRET^{1,3,4}, Julien F. MAILLARD^{3,4}, Antonin GAJAN², Oliver HVIDSTEN⁵, Mona ABDELGAID⁵, Kristin A PERSSON⁵, Carlos AFONSO^{1,4*} and Pierre GIUSTI^{1,3,4*}

¹*Normandie Université, CARMEN, UMR 6064 et FR 3038, Université de Rouen-Normandie, INSA de Rouen-Normandie, CNRS, IRCOF, Mont Saint Aignan Cedex, France*

²*Saft, Corporate Research, 33074 Bordeaux, France*

³*TotalEnergies OneTech R&D, Total Research & Technology Gonfreville, BP 27, 76700 Harfleur, France.*

⁴*International Joint Laboratory - iC2MC: Complex Matrices Molecular Characterization, TRTG, BP 27, 76700 Harfleur, France.*

⁵*Department of Materials Sciences and Engineering, University of California, Berkeley, CA 94720, USA*

Thématiques

Electrochemistry ; Chemistry and physics ; Inorganic Chemistry

Résumé

Understanding the formation and composition of the Solid Electrolyte Interphase (SEI) is a key point to improve the performance of lithium-ion batteries (LIBs). Its properties, e.g., insolubility, ionic conductivity, electron resistivity, and mechanical stability, are mainly dictated by the composition of the electrolyte [1]. Such composition is therefore carefully chosen according to the chemical and electrochemical properties of the salts, solvents, and more specifically, additives [2-3]. In this work, the role of lithium difluoro phosphate (LiPO_2F_2) as an electrolyte additive is studied thanks to the Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance mass spectrometry (FTICR), allowing the access of relevant information about SEI composition and electrolyte degradation pathways. Thanks to the FTICR high resolution and sub-ppm mass accuracy, the ions of interest were unambiguously characterized, enabling a deeper understanding of the aging mechanisms of LIBs. [4]

Chemical and electrochemical aging was performed on two electrolytes composed of highly pure lithium salts (LiPF_6 and LiPO_2F_2) and battery-grade solvents, ethylene carbonate (EC) and ethyl methyl carbonate (EMC). The molecular composition of the SEI resulting from a reference electrolyte (1M LiPF_6 in EC/EMC) was also investigated. Samples were deposited on a MALDI plate and directly ionized with laser desorption. Analyses were subsequently performed on two FTICR mass spectrometers: Bruker ScimaX 12 T and Bruker timsMRMS 18 T.

Electrochemical results confirmed that the addition of LiPO_2F_2 improves the performance of LIBs with a gain of about 150 cycles concerning the lifespan of the cell. To further understand this improvement, the mass analysis highlighted a protective effect of LiPO_2F_2 on the majority salt LiPF_6 , limiting its degradation and thus preserving the integrity of the electrolyte upon cycling.

Références

- [1] : E. Peled *et al.*, *J. Electrochem. Soc.*, **2017**, 164, (7), 7
- [2] : L. Liu, *et al.*, *RSC Advances*, **2020**, vol. 10, n° 3, Art. n° 3
- [3] : A. C. Martinez *et al.*, *Electrochimica Acta*, **2022**, vol. 426, p. 140765
- [4] : J. F. Maillard *et al.*, *Journal of Power Sources*, **2023**, 582, 233516



O.13 : Laser desorption on water microdroplets for gas phase characterization

Ayoub BADRI, Charles DESFRANCOIS, Frederic LECOMTE, Bruno MANIL, Nicolas NIEUWJAER

Laboratoire de Physique des Lasers, Villetaneuse, France

Thématiques

Structural Elucidation ; Instrumentation ; Infrared Spectroscopy

Résumé

The gas phase desorption of large biomolecules has been made possible by the advent in the last decades of soft sources, such as electrospray ionization or matrix assisted laser desorption sources. Even if these sources have the capability to preserve low interactions in the gas phase, the desorption process might generate structural changes of the biomolecules and relevance for biological understanding is not always assessed. In this context, we have started the development of a new laser induced liquid bead ion desorption (LILBID) source [1, 2] : liquid micro droplets (50 μm diameter), containing the biomolecules of interest, are laser ablated directly under vacuum. This innovative source will allow to benefit from the gas phase advantages (stoichiometry control, ions manipulation and trapping) while possibly preserving the biomolecules native structure. The analysis is made by a home-made time of flight mass spectrometer, either through a delayed extraction line or through coupling with a Paul trap. This desorption source allows for the transfer of fragile molecules into the gas phase and preserves small non-covalent complexes. This is a very promising set-up for the preservation of biomolecules native structures in the gas phase and for the production of hydrated clusters.

Références

- [1] : Brutschy, B. *et al.*, *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes*. **1996**, 152 : 135-142
- [2] : Abel, B. *et al.*, *Rev. Sci. Instrum.* **2004**, 75 : 1209



O.14: Advanced molecular characterization of passivation layers in lithium-ion batteries by FTICR imaging mass spectrometry

Théo SOMBRET^{1,3,4}, Egon KHERCHICHE^{1,3,4}, Julien MAILLARD^{3,4}, Antonin GAJAN², Oliver HVIDSTEN⁵, Mona ABDELGAID⁵, Kristin PERSSON⁵, Pierre GIUSTI^{1,3,4}, Carlos AFONSO^{1,4}

¹ Normandie Université, CARMEN, UMR 6064 et FR 3038, Université de Rouen-Normandie, INSA de Rouen-Normandie, CNRS, 76 821 Mont Saint Aignan Cedex, France

² Saft, Corporate Research, 33074 Bordeaux, France

³ TotalEnergies OneTech, Total Research & Technology Gonfreville, BP 27, 76700 Harfleur, France

⁴ International Joint Laboratory - iC2MC: Complex Matrices Molecular Characterization, TRTG, BP 27, 76700 Harfleur, France

⁵ Department of Materials Sciences and Engineering, Univ. of California, Berkeley, CA 94720, USA

⁶ TotalEnergies OneTech, TotalEnergies EP Research & Technology, USA

Thématiques

Imagerie ; Chimie inorganique

Résumé

Understanding the formation and composition of Solid Electrolytes Interphase (SEI) is a key point to improve performance of lithium ions batteries. Its properties (insolubility, ionic conductivity, electron resistivity...) depend on its molecular composition but also on the spatial distribution of its compounds [1]. In this work we demonstrated the interest of FTICR to access the SEI composition. Thanks to its high resolution and sub-ppm mass accuracy, ions of interest were unambiguously characterized and then tracked by mass spectrometry imaging over the electrode's entire surfaces enabling a deeper understanding of SEI composition.

The study was carried out on lithium-ion pouch cells. After electrochemical aging (400 cycles), cells were dismantled and electrodes were analyzed by LDI-FTICR (Bruker 12 T and 18 T FTICR).

First, the characterization of electrodes highlighted an advanced molecular complexity. For a S/N > 4 more than 50 000 signals were observed and the combination of isobaric and elemental complexity led to a challenging data treatment. The PyC2MC open-source software and predictive models derived from neural network calculations were used to clarify the nature of the SEI. Then, the main objective was to obtain information on the spatial repartition of the SEI, to track and observe directly on the electrode surface the aging mechanisms. Imaging analyses were carried out on electrodes surfaces [2-3]. This approach led to the localization and mapping of numerous SEI's compounds of various origin such as the lithium salt degradation ($\text{Li}_2\text{PO}_2\text{F}_2^+$), solvents degradation ($\text{LiC}_3\text{H}_6\text{O}_4^+$) and some reactions between solvent and lithium salts degradation ($\text{LiC}_4\text{H}_9\text{PO}_5^+$).

Références

- [1] : E. Peled *et al.*, *J. Electrochem. Soc.*, **2017**, 164, (7), 7
- [2] : J. Maillard *et al.*, *Journal of Power Sources*, **2023**, 582, 233516
- [3] : V. Göldner *et al.*, *iScience*, **2023**, 26, (9), 107517



O.15: On-line analysis of biomass fast pyrolysis volatiles by dopant-assisted APCI

Nathan TRAULLÉ¹, Théo VOELLINGER¹, Jasmine HERTZOG¹, Sébastien SCHRAMM¹, Anthony DUFOUR², Vincent CARRÉ¹, Frédéric AUBRIET¹

¹*Laboratoire de Chimie Physique – Approche Multi-échelles des Milieux Complexes, Université de Lorraine, Metz, France*

²*Laboratoire Réactions et Génie des Procédés (UMR 7274), Université de Lorraine, Nancy, France*

Thématiques

Instrumentation ; Développement Méthodologique ; Pétroléomique

Résumé

Lignocellulosic biomass, composed of cellulose, hemicellulose, and lignin, is a renewable feedstock with considerable potential for energy and production of value-added chemicals. Fast pyrolysis provides an efficient method for converting lignocellulosic biomass into bio-based products [1]. However, evaluating the efficiency of various conversion conditions (e.g., temperature, catalyst, and biomass) necessitates a high-throughput approach. Furthermore, biomass pyrolysis produces hundreds of volatile molecules with a wide range of functionalities and molecular weight. High resolution mass spectrometry and direct injection of volatiles (without condensation) are relevant techniques to analyse heavy molecules on-line. Direct injection probe (DIP) combined with atmospheric pressure chemical ionisation (APCI) and coupled to a Fourier-transform ion cyclotron resonance mass spectrometer (FT-ICR MS) has been employed for such investigations. To mimic fast pyrolysis conditions, an inert gas flow was introduced through the DIP capillary, to control the residence time of gaseous pyrolysis products in the heated reactive zone and to minimize secondary reactions.

Investigations of lignocellulosic biomass have shown minimal carbohydrate signals [2], likely due to signal extinction resulting from the higher proton affinity of lignin-derived compounds. To address this issue, ammonia was introduced in-source to enhance the ionization of carbohydrates through the formation of $[M+NH_4]^+$ adducts. Ammonia doping increased the relative abundance of signals corresponding to poorly and non-dehydrogenated carbohydrates [3]. With ammonia, the signal of $[M+NH_4]^+$ ions was found to be increased up to ten times higher for the corresponding $[M+H]^+$ intensities observed without ammonia. The analysis of biomass fast pyrolysis compounds with ammonia doping revealed a large diversity of compounds originating from both lignin and sugar-derivatives like levoglucosan. Cross-reactions were minimal, as demonstrated by the analysis of vanillin, which was sensitive to imine formation when electrospray ionization was used [4].

The dopant-assisted DIP-APCI (DA-DIP-APCI) method holds significant promise for the rapid evaluation of biomass fast pyrolysis performance.

Références

- [1] : C. Liu *et al.*, *Chem Soc Rev*, **2014**, 43(22):7594–7623
- [2] : C. Castilla, *et al.*, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **2020**, 31(4):822–831
- [3] : M. R. Hurt *et al.*, *Anal. Chem.*, **2013**, 85(22):10927–10934
- [4] : J. Hertzog *et al.*, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **2018**, 29(3):543–557



O.16: Advanced characterization of dissolved organic matter by trapped ion mobility spectrometry coupled to 18 T Fourier transform ion cyclotron mass spectrometry

Antoine DUHAMEL^{1,2}, Emilien VAREA³, Florence PORTET-KOLTALO^{1,2}, Christopher WOOTTON⁴, Jingyi ZENG⁵, Jean-Philippe CROUÉ⁵, Carlos AFONSO^{1,2}

¹Normandie Université, CNRS, CARMEN UMR 6064 and FR 3038, Université de Rouen Normandie, Rouen, France

²International Joint Laboratory, iC2MC: Complex Matrices Molecular Characterization, Harfleur, France

³Normandie Univ, CNRS CORLA UMR 6614, UNIROUEN, INSA Rouen, Rouen, France

⁴Bruker Daltonics GmbH & Co.KG, Bremen, Germany

⁵IC2MP (UMR CNRS 7285), Université de Poitiers, Poitiers, France

Thématiques

Mobilité ionique

Résumé

Dissolved organic matter (DOM) constitutes complex mixtures coming from a variety of biological and geological sources. Its contents range from dissolved molecules to aggregates of molecules capable of forming colloids (particles small enough to remain in suspension rather than sinking). Major part of organic matter are humic substances with a great diversity of functional groups, DOMs have a large isomeric diversity which makes them a challenge to characterize. This work presents the use of a gated trapped ion mobility device (gTIMS) with an 18 T FTICR MS to provide new insights into isomers distributions and expand our knowledge on these complex mixtures [1, 2].

Samples included DOM from Suwannee River diluted at 0.2mg/mL in a mixture of water and methanol. Agilent Tunemix was incorporated for both mass and CCS calibration. Direct injection and negative ion electrospray ionization were used with a Bruker timsMRMS Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometer (FTICR MS) equipped with an 18 T superconducting magnet.

Typically, more than 20000 ions were observed with a signal to noise ratio higher than 10 and within a range of 0.3 Da at least 25 peaks could be counted. Over the mass range, a mass accuracy of less than 100 ppb could be routinely achieved. The addition of gTIMS to the FTICR MS analysis of DOM increased the number of assigned molecular formulas. A comparison of the TIMS profiles between the different samples highlighted significant differences in isomeric content based on shift in CCS (through $1/K_0$) and IMS peak width [3]. As the m/z increases, we can also observe an increase in the CCS and IMS peak width, indicating higher isomeric diversity. Compared to previous work carried out with lower magnetic field instruments, the use of a gTIMS-FTICR afforded a significant improvement on acquisition speed and dynamic range.

Références

[1] : Wootton et al. *Anal. Chem.* **2024**, 96 (28), 11343–11352.

[2] : Oliveira et al. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2024**, 35 (10), 2400–2407.

[3] : Farenc et al. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2017**, 28 (11), 2476–2482.



O.17: Analyse structurale des bio-huiles issues de la pyrolyse de la biomasse à l'aide de méthodes séparatives couplées à la spectrométrie de masse à très haute résolution

Théo IMHOFF^{1,2,3}, Julien F. MAILLARD^{2,3}, Caroline BARRERE-MANGOTTE^{2,3}, Mélanie MIGNOT^{1,3}, Pierre GIUSTI^{2,3} Carlos AFONSO^{1,3}

¹*Institut CARMeN UMR CNRS 6064, Université de Rouen Normandie, Mont-Saint-Aignan, France*

²*TotalEnergies Research and Technology Gonfreville, TotalEnergies, Harfleur, France*

³*International Joint Laboratory – iC2MC: Complex Matrices Molecular Characterization, TRTG, BP 27, 76700 Harfleur, France*

Thématiques

Mobilité Ionique ; Élucidation Structurale ; Environnement

Résumé

La biomasse lignocellulosique est la matière première renouvelable la plus abondante et peut être utilisée pour produire des bio-huiles par des processus de pyrolyse [1]. La pyrolyse est un processus prometteur pour transformer la biomasse solide en bio-huile. Selon le procédé et les matières premières utilisés, les bio-huiles obtenues présentent des compositions moléculaires très différentes, ce qui influence leur processus de valorisation en biocarburants.

Pour analyser ces échantillons complexes, le FTICR-MS a permis d'attribuer des milliers de molécules pour différentes bio-huiles, en fonction des matières premières et des traitements utilisés. Cependant, l'analyse FTICR-MS entraîne une perte d'informations sur les isomères et une concurrence d'ionisation importante. Pour répondre à cette problématique, la mobilité ionique, est un outil intéressant pour séparer les isomères. Les échantillons sont analysés par infusion directe à l'aide d'un nouveau spectromètre de masse FTICR 18 T équipé d'un système de mobilité d'ions piégés (gTIMS) (Bruker tims MRMS). Des détails sur l'instrument peuvent être trouvés dans la littérature [2]. En ce qui concerne la chromatographie, une étude préliminaire RPLC-Orbitrap a permis d'optimiser l'ionisation et la séparation de 37 standards de bio-huile représentatifs.

À partir de ces résultats, la spectrométrie de masse LC-FTICR a été utilisée pour augmenter la gamme dynamique et permettre une meilleure compréhension de la composition de la bio-huile, en résolvant des pics supplémentaires non résolus. Cette étude a permis de classer des familles moléculaires distinctes, notamment les sucres, les acides, les polyphénols, les HAP et les acides gras. Parmi les composés séparés dans la bio-huile, certains isomères ont pu être distingués. Ce travail nous a permis de déterminer les différences moléculaires en fonction des traitements et des matières premières, malgré la complexité isomérique et isobarique.

Références

[1] : Stratégie Nationale de Mobilisation de la Biomasse. 2018.

[2] : Wootton, C. et Al., Anal. Chem. **2024**, 96 (28), 11343–11352.



O.18: Starch single granule proteomics

Isabelle FABRIZI¹, Stanislas HELLE², Nicolas SZYDLOWSKI², Fabrice BRAY¹

¹*Miniaturisation pour la Synthèse, l'Analyse et la Protéomique MSAP UAR 3290 CNRS, Université de Lille, Villeneuve d'Ascq, France,*

²*Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle UGSF UMR 8576, Université de Lille, Villeneuve d'Ascq, France,*

Thématiques

Proteomics

Résumé

Single-cell proteomics provides information on the diversity of protein expression in individual cells. In this study, we used potato starch granules as a model to clearly understand starch metabolism by studying protein expression variation within granules of different sizes and morphologies. Current analyses are made with 1 milligram corresponding to approximately 164,000 granules, using Tris-HCl extraction buffer. Here, we miniaturized the analysis to a few micrograms to reach the scale of a single granule.

To enable the analysis of a single granule, we optimized the protein extraction by testing 4 different buffers (Tris-HCl buffer, Urea, Guanidine hydrochloride, 90% DMSO) on 1 mg. Then we used the most efficient buffer for the analysis ranging from 300 to a single granule counted under a binocular microscope. Digestion was performed using eFASP with trypsin and peptides were analysed by nanoLC-MSMS Orbitrap Q-ExactivePlus in DDA mode. Quantitative analysis were processed with MaxQuant.

The comparative study between buffers showed a better protein extraction efficiency with 90% DMSO buffer on 1 mg of starch than Tris-HCl buffer, while maintaining protein relative proportions found in a previous study with 300 mg [1]. Furthermore, it demonstrates a higher relative intensity than Tris-HCl. The second study on counted granules showed that peptide intensities were approximately proportional to the granule numbers. For the first time, we demonstrated that it was possible to identify the major protein GBSS with only 10 granules. The next step is to increase the sensitivity by using SCoPE-MS to reach the scale of a single granule.

Références

[1] : Helle, S., et al (2018). *Frontiers in plant science*, 9, 746.



O.19: Evaluation of LC-HRMS for a wide detection of Active Botulinum Neurotoxins (BoNTs)

Alexia FATAKA, François FENAILLE, François BECHER

Université Paris-Saclay, CEA, DRF, Département Médicaments et Technologies pour la Santé (DMTS), Service de Pharmacologie et d'Immunoanalyse (SPI), Gif-sur-Yvette, France.

Thématiques

Protéomique et Développement Méthodologique

Résumé

Homemade canned food contaminated with *Clostridium botulinum* can cause botulism; a high potentially fatal neurological disorder trigger by BoNTs. These toxins are composed of two polypeptides chains of which the light chain is responsible for the toxic protease activity [1]. BoNTs are the most potent toxins with an estimated lethal dose at 1-2 ng/kg. Types A, B, E and F cause human botulism, each with various subtypes. Currently, only the time-consuming mouse bioassay (MBA) ensures the detection of all the subtypes. Endopep-MS (E-MS) constitutes a promising alternative to the MBA by measuring the enzymatic activity. E-MS was basically developed for MALDI-TOF-MS detection [2] but could be improved regarding sensitivity with LC-HRMS.

At first, magnetic beads were coated with antibodies against BoNTs to immunopurify the toxin from human serum. After four washing steps, the coated-beads were incubated with the toxin peptide substrate. Finally, the resulting cleaved-peptides were analysed initially, on an Ultraflextrem MALDI-TOF (Bruker) and then, with a LC-HRMS QExactive (Thermo) instruments.

E-MS was adapted to the LC-HRMS analysis through evaluation of diverse LC columns for efficient cleaved peptides separation. Prior LC, different albumin removal methods were tested. The optimized protocol was then applied to the comprehensive detection of toxin subtypes, assessing either the MALDI-TOF-MS or the new LC-HRMS method. Among the 20 subtypes from A, B, E and F types, LC-HRMS successfully detected 100 % of the toxin subtypes at 10 mLD50 (mouse lethal dose 50) and 85 % at 1 mLD50, outperforming the conventional approach.

Références

- [1] Rawson, A. M. *et al.*, *Virulence*. **2023**, 14(1): 2205251
- [2] Kalb, S. R. *et al.*, *J Agric Food Chem*. **2015**, 63(4): 1133-1141.



O.20 : LC-ESI-MS and proteomic analyses of the predatory and defensive venoms of *Textilia Conidae*

Zahrmina RATIBOU¹, Valentin DUTERTRE¹, Camille GACHE¹, Tamatoa BAMBRIDGE¹, Serge PLANES¹, Nicolas INGUIMBERT¹, Sébastien DUTERTRE²

¹*Centre de Recherches Insulaires et Observatoire de l'Environnement (CRIOBE), Perpignan, France*

²*Institut des Biomolécules Max Mousseron (IBMM), Montpellier, France*

Thématiques

Toxinology ; Proteomics

Résumé

Cone snails are carnivorous marine mollusks that are categorized according to their preferred type of prey, being fishes, mollusks, or worms [1]. They use a paralytic venom, a complex mixture of neurotoxins called conotoxins [2], for predation but also defense purposes [3,4]. Indeed, some species have evolved the remarkable ability to inject different combinations of conotoxins for catching or deterring predators. Whereas the venoms of some fish-hunting cone snails, such as the common *P. striatus*, *G. geographus*, and *C. purpurascens* species, have been extensively characterized [5–7], the injected venom of the elusive piscivorous species found in the clade *Textilia*, which encompasses *T. adamsonii*, *T. floccatus* or *T. bullatus*, is unknown.

In order to gain a first insight into the venom-ecology relationships in this lineage, we collected the predatory and defensive venoms of *T. bullatus*, and dissected venom gland content from the distal and proximal sections. LC-ESI-MS analyses of the injected venoms from three specimens revealed distinct predatory and defensive venom profiles, with no overlap in composition. Furthermore, proteo-transcriptomics investigations on *T. bullatus* have allowed the identification of several predatory and defensive conotoxins. Further studies, including structural characterization and bioassays, are now needed to confirm and help close the gap in our understanding of the evolved ecological roles of the injected conotoxins.

Références

- [1] : Endean, R. and Rudkin, C. *Toxicon*. **1965**, 2, 225–249.
- [2] : Jin, A.-H. *et al.*, *Chem. Rev.* **2019**, 119, 11510–11549.
- [3] : Dutertre, S. *et al.*, *Nat. Commun.* **2014**, 5, 3521.
- [4] : Ratibou, Z. *et al.*, *Toxins*. **2024**, 16, 94.
- [5] : Himaya, S.W.A. *et al.*, *Sci. Rep.* **2021**, 11, 13282.
- [6] : Himaya, S.W.A. *et al.*, *Sci. Rep.* **2018**, 8, 330.
- [7] : Bingham, J.-P. *et al.*, *Toxicon*. **2012**, 60, 1166–1170.



R.01 : Development Bio Oil characterization by ICP MS and FT ICR MS

**Cécile BALAKICHENANE^{1,2}, Sadia RADJI^{1,2}, Pierre GIUSTI^{2,3}, Brice
BOUYSSIERE^{1,2}**

¹Université de Pau et des Pays de l'Adour, E2S UPPA, CNRS, IPREM, UMR5254, Technopôle Hélioparc, 2 Avenue
du Président Angot, 64053 Pau, France

²International Joint Laboratory iC2MC : Complex Matrices Molecular Characterization, Total Research & Technology,
Gonfreville, 76700 Harfleur, France

³TotalEnergies One Tech, TotalEnergies Research & Technology Gonfreville, F-76700 Harfleur, France

Thématiques

Développement Méthodologique ; Quantification ; Chimie-Physique

Résumé

La production croissante de déchets de biomasse lignocellulosique représente un double défi et une double opportunité pour la récupération durable des ressources. La conversion thermochimique semble être la méthode la plus prometteuse pour produire des bio-huiles et d'autres composés, tels que des particules de silice. La pyrolyse s'est avérée être une excellente technique pour augmenter la valeur de la biomasse et peut être effectuée sur pratiquement n'importe quelle source de biomasse. Le processus consiste à chauffer les polymères de la biomasse en l'absence d'oxygène, ce qui permet leur dépolymérisation tout en inhibant leur combustion. Le processus de pyrolyse de la biomasse permet d'obtenir 3 phases de matière : les cendres (solides), la bio-huile contenant un mélange d'eau et de matière organique (liquide) et les gaz non condensables (gaz). Ensuite, en calcinant les cendres à 700°C, il est possible d'obtenir, des particules de silicium.[1], [2]

Lorsque les particules de silice atteignent l'échelle nanométrique, elles commencent à présenter de nouvelles caractéristiques, telles que la photoluminescence, la capacité antibactérienne et une bande interdite électrique dépendant de la taille, qui ne sont pas observées dans le silicium en vrac. La surface élevée de la nano-silice la rend idéale pour diverses applications, telles que l'adsorption pour la décontamination de l'eau.[3] Les huiles de pyrolyse de la biomasse de maïs sont un mélange complexe de composés organiques contenant une masse de composés fortement oxygénés. L'optimisation de la pyrolyse permet d'obtenir un produit qui peut ensuite être raffiné en carburant aviation durable (SAF), notamment grâce à un suivi systématique par spectrométrie de masse à transformée de Fourier à très haute résolution (FT ICR MS).[4], [5], [6]

L'intégration de la pyrolyse dans l'économie circulaire s'est avérée être une méthode très efficace de réutilisation des déchets de biomasse, réduisant ainsi l'impact sur l'environnement et soutenant les systèmes d'énergie renouvelable.

Références

[1] : Rodriguez-Otero, A. et al., *Processes* **2023**, 11(12), 3373.

[2] : Rodriguez-Otero, A. et al., *Processes* **2024**, 12(11), 2420.

[3] : Flores, D., Almeida, C. M. R., Gomes, C. R., Balula, S. S., et Granadeiro, C. M., *Molecules* **2023**, 28(10), 4038.

[4] : Ruiz, W. et al., *Energy Fuels* **2024**, 38(18), 17687-17696.

[5] : Ruiz, W. et al., *Energy Fuels* **2024**, 38(18), 17697-17705.

[6] : Chacón-Patiño, M. L. et al., *Energy Fuels* **2025**, 39(7), 3575-3588.



R.02 : Développement et application de méthodes analytiques pour le contrôle des contaminants halogénés dans les échantillons issus des nouvelles énergies

Mathilde BRACHET^{1,3}, Caroline BARRERE-MANGOTE^{2,3}, Pierre GIUSTI^{2,3}, Brice BOUYSSIERE^{1,3}

¹*Université de Pau et des Pays de l'Adour, E2S UPPA, CNRS, IPREM, UMR 5254, 2 Av. Pr. Angot, Pau, France.*

²*TotalEnergies OneTech, TotalEnergies Research & Technology Gonfreville, BP 27, F-76700 Harfleur, France.*

³*International Joint Laboratory iC2MC : Complex Matrices Molecular Characterization, Total Research & Technology, Gonfreville, BP 27, 76700 Harfleur, France.*

Thématiques

Développement Méthodologique ; Spéciation ; ICP-MS

Résumé

Les carburants durables sont produits à partir de déchets agricoles ou industriels, souvent solides. Une des techniques utilisées pour liquéfier ces déchets est la pyrolyse. Elle consiste à convertir de la matière solide en un liquide organique appelé huile de pyrolyse dont la qualité peut ensuite être améliorée par raffinage.[1] Cette technique, très prometteuse, permet le recyclage et la réduction du volume des déchets.[2] Cependant, au cours du cycle de vie des déchets, des composés ont pu être ajoutés comme des pesticides, des retardateurs de flammes, ou autres additifs... Certains composés présents dans ces matières premières sont alors susceptibles de se retrouver comme contaminants dans les cycles de production ou même dans les produits finis. Les contaminants sont des composés halogénés tels que les polyfluoroalkylés (PFAS) [3], les composés bromés présents dans les retardateurs de flammes[2], ou les composés chlorés, essentiellement présents dans les pesticides.

L'objectif de ces travaux est de développer une méthode utilisant la Spectrométrie de masse par plasma à couplage inductif (ICP-MS) pour mesurer la contamination des huiles de pyrolyse par les composés halogénés. L'ICP-MS est l'instrument de choix pour l'analyse élémentaire totale ou en spéciation par couplage avec des techniques chromatographiques. Cependant, concernant les halogènes, leur faible efficacité d'ionisation dans un plasma ICP ne permet pas d'atteindre des limites de détection acceptables. La détection est alors basée sur l'ajout de sel de Barium permettant la formation d'ions polyatomiques (BaF⁺) plus facilement détectés.[4], [5] Cette méthodologie permet de profiter de la grande sensibilité de l'ICP-MS et de sa capacité à analyser des matrices complexes, tout en utilisant les techniques de spéciation déjà développées pour l'analyse de matrices complexes. L'objectif principal est d'améliorer le suivi des contaminants halogénés, en priorité le fluor, dans les matrices issues des carburants durables, en particulier ceux produits à partir d'huile de pyrolyse.

Références

- [1] : Gholizadeh, M. *et al.*, *Renew. Sustain. Energy Rev.*, **2019**, 114:109313.
- [2] : Terakado, O. *et al.*, *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, **2013**, 103:216-221.
- [3] : Rathnayake, N. *et al.*, *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, **2025**, 187:106970.
- [4] : Jamari, N.L.A. *et al.*, *J. Anal. At. Spectrom.*, **2017**, 32(5):942-950.
- [5] : Jamari, N.L.A. *et al.*, *Anal. Chim. Acta*, **2019**, 1053:22-31.



R.03 : Development of (MA)LDI FTICR method for dissolved organic matter characterization

Louis DELEGUE^{1,2}, Marie HUBERT-ROUX^{1,2}, Carlos AFONSO^{1,2}

¹Normandie Université, CNRS, CARMEN UMR 6064 and FR 3038, Université de Rouen Normandie, Rouen, France

²International Joint Laboratory, iC2MC: Complex Matrices Molecular Characterization, Harfleur, France

Thématiques

Methodological development

Résumé

Natural organic matter (NOM) originates from a variety of sources, including plant decomposition, microbial exudates and anthropogenic emissions. Among NOM, dissolved organic matter (DOM) plays a crucial role in biogeochemical cycles, influencing nutrient availability, aquatic ecosystem dynamics and exchanges with terrestrial environments. Understanding and controlling the various processes in which they are involved is essential, but their characterization remains challenging due to their great molecular heterogeneity [1].

Thanks to their ultra-high resolution and high mass accuracy, FTICR mass spectrometers are used to understand the complexity of DOM and to reliably propose crude molecular formulas for a wide range of compounds. Usually, electrospray (ESI) is the most common ionization technique as it facilitates the detection of polar and low volatility molecules while limiting their fragmentation [2]. However, laser desorption ionization, assisted or not by matrix ((MA)LDI MS) suggests that this technique could provide a complementary view by detecting compounds not observed in ESI [3]. Few studies are carried out with this ionization technique for DOM analyses.

In this study, we aim to develop a (MA)LDI-FTICR method for the characterization of DOM using a new FTICR (fourier transform ion cyclotron resonance) mass spectrometer : the MRMS 18 T superconducting magnet (Bruker). Different protocols will be applied to the reference sample of DOM , the Suwannee River Fulvic Acid, SRFA. The aim was to study several parameters : kind of matrices (proton or electron transfer), matrix/analyte ratio, laser power, deposition method and instrument transmission parameters, in order to propose an optimized method for molecular identification of this kind of complex mixture.

Références

[1] : Nebbioso, A. et al., *Anal Bioanal Chem.* **2013**, 405(1):109-24.

[2] : Cooper, WT. et al., *Mass Spectrom Rev.* **2022**, 41(2):215-39.

[3] : Blackburn, JWT. et al., *Anal Chem.* **2017**, 89(8):4382-6.



R.04 : Projet de thèse Sweet-Game



Xavier RICHARD¹, Corinne LOUTELIER-BOUHRIS¹, Elodie RIVET¹

¹Institut de chimie analytique et réactivité moléculaire en Normandie – UMR 6014 (CARMeN) / Laboratoire de Glycobiologie et Matrice Extra-cellulaire Végétale - UR 4358 (GlycoMEV) - 76821 Mont Saint Aignan, France.

Thématique

Développement Méthodologique ; Protéomique ; Mobilité Ionique

Résumé

Le développement de biothérapies connaît un essor croissant depuis la dernière décennie et le recours aux biomédicaments comme les anticorps monoclonaux pour traiter certaines pathologies telles que les cancers constitue un des axes de recherche important des industries pharmaceutiques. Ces protéines sont en général des glycoprotéines portant des glycanes au niveau d'un groupement amide d'un résidu asparagine (N-glycanes), et/ou au niveau du groupement hydroxyle d'un résidu thréonine ou sérine (O-glycanes).

Traditionnellement, ces glycoprotéines sont produites de manière recombinante à l'aide de cellules de hamster chinois (CHO). Cependant, l'utilisation de ces cellules est coûteuse et présente des risques de contamination croisée. Par conséquent, le développement de systèmes hétérologues tels que les microalgues représente une alternative pour s'affranchir de ces inconvénients [1]. Néanmoins, la production de glycoprotéines recombinantes dans ces systèmes cellulaires requiert un contrôle de la bioproduction et une caractérisation précise de leurs structures et activités [2,3].

La thèse Sweet Game est un projet interdisciplinaire, à l'interface entre la glycobiologie et de l'analyse chimique qui vise à développer des méthodologies puissantes d'analyse par spectrométrie de masse ultra-haute résolution (TIMS-ToF-Flex, TIMS-FTICR 18T) couplée à de la chromatographie et la spectrométrie de mobilité ionique pour effectuer une caractérisation structurale la plus complète et la plus détaillée des glycoprotéines [4]. Différentes approches glycomiques et glycoprotéomiques seront réalisées (Top-down, Middle-down et Bottom-up) afin de caractériser la microhétérogénéité et la macrohétérogénéité de la glycosylation. Des méthodes seront mises au point pour différencier les isomères de glycanes. Ces méthodes seront développées et validées sur des glycoprotéines recombinantes modèles commerciales à l'analyse structurale de glycoprotéines produites chez la microalgue verte *C. reinhardtii*, et chez la diatomée *P. tricornutum*, qui sont deux systèmes unicellulaires photosynthétiques.

Références

- [1] : Banerjee A, Ward V., *Curr Opin Biotechnol.*, **2022**, 78:102784.
- [2] : Lingg N, *et al.*, *Biotechnol J.*, **2012**, 7(12):1462-72.
- [3] : Van Beers MM, Bardor M., *Biotechnol J.*, **2012**, 7(12):1473-84.
- [4] : Wei J, *et al.*, *Anal Chem.*, **2020**, 6;92(19):13211-13220.



R.05: Exploration des paysages énergétiques biomoléculaires par CIU : mécanismes et interactions en phase gazeuse

Maxime BENONIT, Johann FAR, Edwin DE PAUW, Gauthier EPPE

¹Mass spectrometry laboratory (MSLab), Liège, Belgique

Thématiques

Élucidation structurale ; Mobilité Ionique ; Chimie Physique

Résumé

Ce projet explore l'utilisation du dépliage induit par collision (CIU) pour analyser les structures biomoléculaires en phase gazeuse. Contrairement aux techniques classiques comme la cristallographie, la RMN ou la Cryo-EM, qui nécessitent des préparations complexes et longues, la spectrométrie de masse à mobilité ionique couplée au CIU permet d'obtenir rapidement des empreintes énergétiques des voies de dépliement et de fragmentation des biomolécules, offrant ainsi un aperçu de leur stabilité et de leur dynamique conformationnelle. L'objectif principal est d'explorer en profondeur les mécanismes sous-jacents au CIU en combinant cette technique avec d'autres méthodes d'activation comme la dissociation induite par collision (CID) et des approches non ergodiques telles que la dissociation par capture d'électrons (ECD) et la photodissociation par ultraviolet (UVPD). Une attention particulière sera portée à l'effet de l'apport d'énergie via l'irradiation photonique et la dénaturation thermique afin de mieux comprendre les transitions structurelles en phase gazeuse. Enfin, ce projet inclut l'analyse de modèles de protéines ainsi que d'oligonucléotides, ces derniers étant encore peu étudiés dans ce contexte. L'objectif est d'examiner non seulement leur comportement individuel, mais aussi leurs interactions et la structure de leurs complexes en phase gazeuse. Cette approche permettra d'obtenir des informations précieuses sur les principes fondamentaux qui régissent la stabilité et l'assemblage de ces biomolécules, ouvrant ainsi la voie à de nouvelles perspectives en biophysique et en chimie analytique.



R.06 : Conception de biopuces pour l'étude des séquences saccharidiques au sein d'assemblages supramoléculaires par spectrométrie de masse

Vincent ZELLER, Régis DANIEL, Cédric PRZYBYLSKI

Université Paris-Saclay, Univ Evry, CY Cergy Paris Université, CNRS, LAMBE, 91025, Evry-Courcouronnes, France

Thématiques

Élucidation Structurale ; Interactions sucre-protéine ; Biopuces

Résumé

Les glycosaminoglycanes (GAGs) sont des polysaccharides linéaires très anioniques, distribués ubiquitairement à la surface des cellules et dans la matrice extracellulaire des organismes vivants. Les GAGs possèdent la capacité de se lier à de nombreuses protéines (cytokines, facteurs de croissance, protéines de la coagulation, etc.), modulant ainsi leurs activités. Des études suggèrent que la sélectivité et la spécificité de liaison des GAGs aux protéines seraient déterminées par leur enchaînement disaccharidique et leur schéma de sulfatation. Cela soulève la question de l'existence de séquences spécifiques à l'origine de ces interactions et les effets physiopathologiques en résultant. L'identification de telles relations structure-activité requiert des données structurales d'une grande précision. Cependant, l'énorme diversité structurale des GAGs et les très faibles quantités disponibles, demeurent un verrou pour les approches analytiques conventionnelles.

Dans ce projet, nous proposons de développer une approche innovante combinant des biopuces fonctionnalisées et la spectrométrie de masse (MS) pour caractériser les interactions entre GAGs-protéines, et déterminer les séquences d'intérêts.

Les biopuces consistent en une lamelle de verre recouverte d'un film d'or à la surface duquel nous formons une monocouche auto-assemblée de polyéthylèneoxyde (PEO)[1]. Après activation de cette monocouche, des protéines choisies pour leurs interactions avec les GAGs, telles que la chimiokine SDF1- α ou l'antithrombine, un inhibiteur de la coagulation, sont immobilisées. Ces protéines seront ensuite mises en présence de différents mélanges de GAGs. L'étude de leurs interactions sera d'abord réalisée par résonance plasmonique de surface (SPR), pour obtenir des données thermodynamiques et cinétiques, puis par MS pour obtenir des informations de taille et de structures [2].

Ce couplage biopuces-MS permettra également d'ouvrir la voie à la capture sélective de ligands dans des mélanges complexes, tels que des extraits cellulaires ou des fluides biologiques.

Références

- [1] : Halushkina A. *et al.*, *Methods Mol. Biol.*, **2021**, 2237:55-67
- [2] : Przybylski C. *et al.*, *Anal. Bioanal. Chem.*, **2020**, 412(2):507-519



R.07: Développement d'une nouvelle approche non ciblée en spectrométrie de masse pour l'imagerie des PFASs

Bastien CABRERA-TEJERA, Edwin DE PAUW, Gauthier EPPE

Mass spectrometry laboratory (MSLab), Liège, Belgique

Thématiques

Imagerie ; Mobilité Ionique ; Développement Méthodologique

Résumé

Les substances per- et polyfluoroalkyles (PFASs) sont abondamment utilisées pour leurs propriétés physicochimiques remarquables [1]. Cependant, leur persistance dans l'environnement et les risques potentiels qu'elles présentent pour la santé suscitent de vives inquiétudes aujourd'hui [2]. Les difficultés actuelles de détection et d'identification exhaustive des PFASs dans des échantillons complexes limitent la compréhension de leurs effets à long terme sur les écosystèmes et la santé humaine. Ce projet de recherche vise à développer une nouvelle approche analytique non ciblée en combinant l'imagerie par spectrométrie de masse (MSI) et la spectrométrie de mobilité ionique (IM-MS) afin d'obtenir une cartographie spatiale des PFASs dans les échantillons environnementaux et biologiques. Dans ce projet, nous nous focaliserons d'abord sur l'optimisation des méthodes de désorption/ionisation pour la MSI, en particulier la désorption/ionisation laser assistée par matrice (MALDI) et l'ionisation par nanodésorption électrospray (nanoDESI), afin d'améliorer les limites de détection et la résolution spatiale. Ensuite, nous appliquerons la méthodologie à l'imagerie des PFASs en utilisant *Daphnia Magna* comme organisme modèle exposé à un mélange complexe de PFASs historiques et émergents. La méthode MSI-IM-MS développée permettra ainsi la visualisation des PFASs de remplacement et de leurs métabolites dans les organismes (dépôts sur lames), et fournira des données cruciales sur les sites et les processus d'accumulation et de métabolisation chez les invertébrés aquatiques. La méthode MSI-IM-MS sera aussi appliquée pour étudier le transfert de PFASs des sols aux racines de plantes afin de mieux comprendre la mobilité et le devenir des PFASs dans les sols contaminés. Enfin, une analyse avancée des données, utilisant le défaut de masse de Kendrick et la section efficace de collision sera effectuée afin d'améliorer le processus d'identification des PFASs dans les échantillons complexes [3].

Références

- [1] : R. C. Buck *et al.*, *Integr. Environ. Assess. Manag.*, **2011**, 7 (4) 513-541.
- [2] : E. Panieri *et al.*, *Toxics*, **2022**, 10 (2) : 2.
- [3] : M. Foster *et al.*, *Environ. Sci. Technol.*, **2022**, 56 (12) : 9133-9143.



R.08 : A New Generation of Tagged Probes for Customable Targeted Multiplex MS Imaging

Alexandre GOOSSEN^{1,2}, Laurine LAGACHE¹, Christophe BIOT², Nawale HAJJAJI^{1,3}, Cédric LION², Michel SALZET^{1,4}, Isabelle FOURNIER^{1,4}

¹*Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, U1192 - Protéomique Réponse Inflammatoire Spectrométrie de Masse - PRISM, F-59000 Lille, France*

²*Univ. Lille, CNRS, U8576 – Glycobiologie Structural e et Fonctionnelle, UGSF, F-59000 Lille, France*

³*Department of Senology, Oscar Lambret Center, F-59000 Lille, France*

⁴*Institut Universitaire de France, 75000 Paris*

Thématiques

Imagerie ; Immunohistochimie ; Cancer

Résumé

MS Imaging (MSI) has revolutionized biology and clinics by adding a spatial dimension to mass spectrometry (MS). However, many analytes remain undetectable due to limited abundance, poor ionization yield, or high molecular weight. This issue can be addressed by using probes designed to recognize targets and be detectable by MS. We developed customizable probes for multiplex targeted MSI through bioorthogonal conjugation.

Probes are modified with a reporter group, including a linker, a photo-cleavable group, and a tag for good MS detection. The tagged probe recognizes a target in tissue, and UV light induces cleavage. The released tag is detected and imaged by MSI, revealing the target's distribution. Various reporters with similar mass chemical functions were synthesized and grafted onto the probe. These tagged probes are used for multiplex targeted MALDI.

Synthesized reporters were characterized by NMR and MS for purity and structure confirmation. They were then tested under UV to determine photocleavable yields, photocleavage time, and their MS response, both alone and mixed. Each reporter was grafted onto an anti-rat primary antibody for immunohistochemistry, targeting GFAP in rat brain tissue sections. MALDI MS images showed similar distribution and detection efficiency among different tags. Reporters were then used to functionalize primary antibodies against rat brain targets, including GFAP (astrocytes), NeuN (neurons), Myelin (oligodendrocytes), and tubulin beta-3 (stem cells and progenitors), resulting in detectable signals in a multiplex experiment.

Finally, a proof-of-concept was made by customizing probes for breast cancer markers such as PDL-1, CD47, FOX-P3, Reg-Alpha, HER2, and markers of immune cells.



R.09: Tracing renewable oils by isotope ratio measurement and elemental characterization

Andrea PAYARES^{1,2,3}, Caroline MANGOTE^{2,3}, Pierre GIUSTI^{2,3}, Isabelle LE HÉCHO^{1,3}, Brice BOUYSSIERE^{1,3}

¹*Université de Pau et des Pays de l'Adour, CNRS, IPREM, UMR 5254, 64000 Pau, France*

²*TotalEnergies OneTech, TotalEnergies Research & Technology Gonfreville, BP 27, F-76700 Harfleur, France*

³*International Joint Laboratory iC2MC: Complex Matrices Molecular Characterization, Total Research & Technology, Gonfreville, BP 27, 76700 Harfleur, France*

Thématiques

Instrumentation ; Développement Méthodologique

Résumé

The growing global demand for sustainable energy is a challenge that has led to the consideration of renewable fuels as an alternative to fossil fuels. Around 96% of the fuels used for transportation are derived from crude petroleum reserves, which contributes to the current climate crisis [1]. Renewable fuels provide a lower environmental impact since they can be obtained through chemical, biochemical, and thermochemical processes by employing multiple biomass sources such as lignocellulosic biomass, organic waste or algae [2].

However, renewable oils exhibit a high oxygen content, so they are unsuitable for direct use as fuel without prior treatment to improve their quality. Co-processing these oils with fossil fuels is a promising opportunity to convert low-quality renewable oils into valuable fuels [3]. In order to maximize the incorporation of renewable oil in conventional fuels, optimizing the co-processing parameters could be done by tracking the renewable fraction [5].

Tracing the renewable fraction applying an isotopic approach has not been widely investigated. The aim of this project is to use Isotope Ratio Mass Spectrometry (IRMS), a powerful analytical technique, to trace the renewable fraction in co-processed fuels. A methodology will be established using Elemental Analyzer – IRMS (EA-IRMS) technique to quantify the total content of carbon and hydrogen isotopic ratios ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^2\text{H}$). Gas Chromatography – Combustion – IRMS (GC-C-IRMS) technique will be also used to investigate the isotopic fractionation of $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^2\text{H}$ occurring within each individual compound of the co-processed fuels. Sample treatment will be essential, particularly in the GC analysis, as these complex samples contain high water content and must be separated for a better understanding of the process. Accurately measuring renewable fraction in final fuel after co-processing will enable refineries to produce “greener” fuels [6].

Références

- [1] : Vuppaladadiyam, A. *et al.*, *Bioresource Technology*, **2022**, 364:128087
- [2] : Ruiz, W. *et al.*, *Energy Fuels*, **2023**, 37(16):11608-11621
- [3] : Liaqat, S. *et al.*, *Chemical Engineering Journal*, **2024**, 499:155981
- [4] : O'Connell, A. *et al.*, *Applied Sciences*, **2022** 12(24):12753
- [5] : Li, Z. *et al.*, *Fuel*, **2020**, 8(47):17565-17572
- [6] : Mukarakate, C. *et al.*, *ACS Sustainable Chem. Eng.*, **2020**, 8(7):2652-2664



R.10 : Investigating the metabolome of *Steatoda nobilis* by whole-body mass spectrometry imaging

Quentin BASTIAENS¹, Damien REDUREAU¹, JP DUNBAR², Antoine FORT¹, Virginie BERTRAND¹, Raphaël LA ROCCA¹, Christopher KUNE¹, Sophie RAPPE¹, Ronan SULPICE¹, Edwin DE PAUW¹, Michel DUGON², Loïc QUINTON¹

¹Mass Spectrometry Laboratory (MSLab), Liège, Belgium

²Venom Systems & Proteomics Lab, Galway, Republic of Ireland

Thématiques

Métabolomique ; Imagerie

Résumé

The Noble false widow spider, *Steatoda nobilis*, is a rapidly expanding species in and around human dwellings [1]. It has recently been recognized as a medically significant species, due to growing numbers of reported severe envenomation. In this work, we focus our efforts on the study of the metabolome of *Steatoda nobilis* using whole-body MALDI-FT-ICR imaging. To our knowledge, arachnid metabolites as still poorly explored, even if it could yield to fascinating insights such as (i) a better understanding of the way used to metabolize different preys, shedding light on its ecological role, (ii) the alteration of her metabolism to adapt to various environmental conditions, or again (iii) the identification of the pheromones used for matting and territory marking.

Mass Spectrometry Imaging (MSI) represents a cutting-edge technology that combines the capabilities of mass spectrometry while retaining spatial information [2]. The application of MSI to investigate the metabolomics of spiders holds great promise as it can provide insights into the localization of specific metabolites within organs or contribute to the discovery of new metabolites.

While MSI holds immense potential for advancing our understanding of spider metabolomics, several challenges needed to be addressed. In this context, obtaining histological slices of *Steatoda nobilis*, without degrading the tissue or disturbing the internal anatomy represented a real challenge, that has been solved by the mean of a gelatine-based sample fixation. The second issue was linked to the quantity of data generated in each image, since each pixel is composed of a spectrum with thousands of peaks. To reduce the data treatment, ions were classified into structural families using Kendrick mass defect plots. Using this approach, we were able to link ions to molecules and localize these molecules into the spider body increasing the knowledge about the spider anatomy, at the molecular level [3].

Références

- [1] : M. M. Dugon *et al.*, *Biology and Environment*, 2017 117(2):77-89
- [2] : S. Q. Gao *et al.*, *John Wiley and Sons Ltd.* 2022 37(7):e5494
- [3] : Q. Bastiaens, Master Thesis, University of Liège 2024



R.11: Nouvelles approches basées sur la mobilité ionique couplée à la spectrométrie de masse pour l'analyse de polymères supramoléculaires

Simon GODAUX, William BUCHMANN, Cédric PRZYBYLSKI

Université Paris-Saclay, Univ Evry, CY Cergy Paris Université, CNRS, LAMBE, 91025, Evry-Courcouronnes, France

Thématiques

Mobilité ionique ; Polymères supramoléculaires ; Isomères de séquence

Résumé

Les monomères de benzène 1,3,5-tricarboxamide (BTA) sont capable de s'auto-associer en solution pour former des hélices stabilisées par des liaisons hydrogène. Ces BTA ont la capacité de se structurer en assemblages de plus ou moins grandes tailles formant ainsi des polymères supramoléculaires. Cette famille de polymères suscite un intérêt croissant, notamment dans la catalyse asymétrique. En effet, l'énantiosélectivité des catalyseurs métalliques (Cu, Rh,...) dans certaines réactions (hydroamination, hydrosilylation, etc.) peut être modulée en mélangeant des monomères de BTA portant différents modifications. Ainsi, les assemblages catalytiques de BTA constituent des copolymères supramoléculaires dont les structurations locales (séquences) pourraient être intimement liées aux résultats réactionnels. Cependant, de par la nature non-covalente des liaisons formant ces édifices, ils présentent un caractère dynamique. Cette caractéristique les rend particulièrement délicats à analyser avec les techniques conventionnelles (RMN, FT-IR, UV, CD, SAXS et SANS), qui ne fournissent que des informations globales et partielles. La composition et l'abondance des différentes séquences restent non déterminées et le rapport structure/réactivité mal compris.

Pour tenter de répondre à ces questions, nous proposons de développer une approche innovante reposant sur la mobilité ionique couplée à la spectrométrie de masse seule ou en tandem (IM-MS/MS). Celle-ci a déjà démontré son efficacité pour la séparation de divers assemblages supramoléculaires en fonction de l'état de charge et de la forme [1-3]. Le couplage IM-MS permettra de séparer des isomères de séquences grâce à leurs différences de sections efficaces de collision (CCS), et la MS/MS d'associer les fragments de BTA obtenus aux isomères correspondants.

Ce projet a pour objectif d'exploiter pour la première fois l'IM-MS/MS pour l'étude de polymères supramoléculaires, afin de déterminer l'identité et l'abondance relative des diverses séquences au sein des copolymères, et de les corrélérer avec les résultats catalytiques.

Références

- [1] : Kalenius, E. *et al. Nat. Rev. Chem.* **2019**, 3(1):4-14.
- [2] : Zimnicka, M. M. *Mass Spectrom. Rev.* **2023**, 43(3): 526-559.
- [3] : Przybylski *et al. Angew. Chem. Int. Ed.* **2025**, doi: 10.1002/anie.202421328.



R.12: Biophysical Characterization of Hydrophilic Domain of HSulf-2 – Key Editing Enzyme of Heparan Sulfate



Nelly DEY, Clément DEMONGIN, Isabelle SALARD-ARNAUD, Matthieu BOURDERIOUX, Nesrine EL OMRANI, Florence GONNET, Régis DANIEL

Université Paris-Saclay, Université Evry, CY Cergy Paris Université, CNRS, LAMBE, 91025, Evry- Courcouronnes, France

Thématiques

Proteomics ; Structural Elucidation ; Hydroxyl radical footprinting

Résumé

Human endosulfatases HSulf-1 and HSulf-2 are the only known extracellular sulfatases in humans. They specifically catalyze the 6-O-desulfation of heparan sulfate (HS), a glycosaminoglycan (GAG) located at the cell surface and in the extracellular matrix. This modification regulates multiple signaling pathways essential for development and tissue homeostasis [1]; however, HSulfs are also implicated in pathologies, particularly cancer and tumor angiogenesis [2].

Structural characterization of HSulfs remains challenging due to their high molecular weight (>100 kDa) and unique structural feature - the presence of a hydrophilic domain (HD) with intrinsically disordered regions - rendering them resistant to conventional bio-structural methods (X-ray, NMR). The HD domain is a hallmark of HSulfs, setting them apart from other human sulfatases and lacking sequence homology with any known proteins [3]. It plays a crucial role in substrate recognition and enzymatic activity [1], and understanding its structural properties is a key step toward developing a structural and functional model of HSulfs.

This study aims to characterize the HD domain of HSulf-2 by employing an innovative labeling strategy using hydroxyl radicals combined with high-resolution mass spectrometry (MS) to map its solvent-accessible surface, providing insights into its folding and structural organization. This approach leverages the newly developed AutoFox™ Protein Footprinting system, enabling benchtop labeling without requiring synchrotron radiation. A top-down proteomics strategy will also assess sequence coverage and map disulfide bonds within the HD domain. Given the hypothesis that the HD domain undergoes conformational and oligomerization changes upon substrate binding, capillary electrophoresis (CE) coupled with MS detection and Ion Mobility MS studies will be used to analyze its interactions with synthetic oligosaccharide substrates.

This project will offer deeper insights into the HD domain's structure and role in HSulf-2's overall structure, catalytic activity, and substrate recognition.

Références

- [1] : El Masri, R. *et al.*, *Glycoconj J* **2017**, 34:285–298
- [2] : Han, M. *et al.*, *Am J Cancer Res* **2024**, 14(2):897-916
- [3] : El Omrani, N., *Thesis*, Université d'Evry Paris Saclay **2024**



R.13 : Multi-omics analysis of potato tubers using a single extraction method using HRMS

Pierre OTUSZEWSKI^{1,2}, Stanislas HELLE², Christophe D'HULST², Christian ROLANDO¹, Nicolas SZYDLOWSKI², Fabrice BRAY¹

¹Univ. Lille, CNRS, UAR 3290, Miniaturisation pour la synthèse, l'Analyse et la Protéomique MSAP), Lille, France

²Univ. Lille, CNRS, UMR 8576, Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle (UGSF), Lille, France

Thématiques

Protéomique ; Métabolomique ; Plantomique

Résumé

During storage, potato tubers accumulate reducing sugars, which enhance undesirable Maillard reactions. However, structural characterization and enzymatic activity measurements have failed to fully explain the varying behaviors of different cultivars. In this study, we employed an integrated pipeline combining metabolomics and proteomics, using a single extraction method based on the MTBE approach, to investigate Cold-Induced Sweetening (CIS) sensitivity and identify potential biomarkers.

This comprehensive pipeline was applied to ten potato cultivars with varying degrees of CIS sensitivity, as classified by Germicopa (Quimper, France). For analysis, 10 mg of tuber samples were ground, lyophilized, and subjected to MTBE extraction. Metabolomic profiling was performed using a Solarix-FTICR system to analyze both polar and apolar compounds, while proteomic analysis involved protein digestion via the eFASP method, followed by nanoLC-MS/MS Orbitrap analysis. Data processing was conducted using MetaboAnalyst for metabolomics and MaxQuant for proteomics.

Metabolite analysis was carried out in both positive and negative ionization modes. In each dataset, approximately 1,000 features were included in the bioinformatics analysis. The results confirmed the impact of CIS, characterized by an increase in reducing sugars. Additionally, several other metabolites exhibited similar trends, suggesting their potential as biomarkers. For proteomic studies, at least 600 proteins were detected in each sample. Bioinformatics analyses showed that these proteins are coming from various cellular localizations. Notably, proteomic analysis revealed that proteins involved in redox homeostasis were specifically correlated with CIS sensitivity. This finding indicates that a cultivar's ability to regulate redox balance may influence starch degradation and, consequently, the accumulation of reducing sugars during cold storage.

These findings provide novel insights into the molecular mechanisms governing CIS resistance. Furthermore, the identification of metabolic and proteomic markers could facilitate the selection or development of potato cultivars with improved storage quality.



R.14: Automated quantification of leniolisib in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry

**Christophe SIMIAN², Mohammed ROHI SANOUFI^{1,2}, Seef ABDALLA^{1,2},
Sihem BENABOUD^{1,2}, Michaela SEMERARO^{1,3}, Steeve ROUILLON², Jean-
Marc TRÉLUYER^{1,2}, Mohamed KHEMAKHEM¹, Léo FROELICHER-
BOURNAUD^{1,2}**

¹*Université Paris Cité, Inserm, Pharmacologie et évaluations des thérapeutiques chez l'enfant et la femme enceinte, F-75006
Paris, France*

²*Service de pharmacologie périnatale, pédiatrique et adulte, AP-HP, Hôpital Cochin, F-75014 Paris, Hôpital Européen
Georges Pompidou, F-75015 Paris, France*

³*Centre d'Investigation Clinique and Unité de Recherche Clinique, AP-HP, Hôpital Necker-Enfants Malades, F-75015
Paris, France*

Thématiques

Quantification

Résumé

Introduction : Leniolisib is an orally available small molecule inhibitor of phosphoinositide-3-kinase delta, used to treat patients with Activated Phosphoinositide-3-kinase-delta Syndrome (APDS), an inherited form of immunodeficiency [1, 2]. Although pharmacokinetic/pharmacodynamic relationship is well known for adult population [3], there is a lack of data for the pediatric population. The aim of this study was to develop and validate an automated extraction method coupled with a LC-MS/MS assay for quantifying leniolisib in human plasma in pediatric and adult patients.

Methods : Sample deproteinization was performed using the fully automated LC-MS pretreatment system CLAM-2030 (Shimadzu Corporation, Marne-la-Vallée, France). The CLAM-2030 was coupled to a LCMS-8060 system (Shimadzu Corporation, Marne-la-Vallée, France). Leniolisib-[2H5] was used as an internal standard. Chromatographic separation was achieved using an Acquity HSS T3 1.8µm 2.1x100mm with a 4.5min gradient elution. Leniolisib and leniolisib-[2H5] were detected in positive multiple reaction monitoring scan mode using the m/z transitions 451.1>247.2 and 456.2>252.3 for leniolisib and leniolisib-[2H5] respectively.

Results and Impacts : The method was validated according to the European Medicines Agency guidelines for bioanalytical method validation [4] within the concentration range of 0.04 to 3.0mg/mL. The inaccuracy was ≤13.6%, and the imprecision coefficient of variation was ≤10.3% for all quality controls. After validation, we applied the method in routine clinical practice.

Novelty : To our knowledge, this is the first detailed LC-MS method to quantify leniolisib in human plasma using fully automated extraction. The assay is suitable for therapeutic drug monitoring, in order to optimize safety and efficacy, for patients with Activated Phosphoinositide-3-kinase-delta Syndrome.

Références

- [1] : Venot, Q. *et al.*, *Nature*. **2018**, 558, 540–546.
- [2] : Bethesda, M.D., Leniolisib - *LiverTox*, **2024**.
- [3] : Rao, V. K. *et al.*, *Blood*. **2017**, 130, 2307–2316.
- [4] : ICH M10 on bioanalytical method validation, European Medicines Agency, **2019**.



Communications Partenaires *Industriels et Académique*



Partenaires



Application du TIMS TOF dans l'analyse des immunoglobulines par approche protéomique bottom-up appliquée au contrôle antidopage des équidés



Whatever the coupling (LC, GC or none), timsTOF always offers the best performance



Experts en Matériaux de Référence Certifiés fabriqués à façon



Markes Centri : Plateforme d'extraction et d'enrichissement dédiée aux COV



Révolutionner la quantification ciblée des petites molécules : Une approche Thermo Scientific™ avec le spectromètre de masse Stellar™



Une plateforme d'expertises et développements au service de la recherche



Développement de méthodes d'analyse par spectrométrie de masse pour la caractérisation de biomolécules thérapeutiques innovantes



La chromatographie au quotidien : Accessoires & consommables



Les Participantes et Participants *Contacts*

NOM Prénom	Statut	Organisme	Adresse e-mail	Oral
<i>CJSM sur place</i>				
ALMASRI Bayan	Doctorat 3ème année	MSAP, Université de Lille	bayan.almasri1234@gmail.com	O.01
FATAKA Alexia	Emploi Contractuel (CDD)	CEA Saclay	alexia.fataka@cea.fr	O.19
MUNOZ Alix	Doctorat 2ème année	LCPP, Paris	alixmunoz14@gmail.com	O.03
TRAULLÉ Nathan	Doctorat 2ème année	LCP-A2MC	nathan.traulle@univ-lorraine.fr	O.15
<i>CO-L</i>				
GODARD Magali	Doctorat 2ème année	Vect-horus	magali.godard@vect-horus.com	O.06
ORLANDI CARLA	Doctorat 3ème année	INRAE	carla.orlandi@inrae.fr	O.08
TYSON Ella	Doctorat 2ème année	IBMM	ella.tyson@umontpellier.fr	O.09
<i>Jeunes massistes</i>				
AUDOUIN Eva	Doctorat 2ème année	ICP	eva.audouin@universite-paris-saclay.fr	O.04
BADRI Ayoub	Doctorat 3ème année	LPL	ayoubbadri61@gmail.com	O.13
BALAKICHENANE Cécile	Doctorat 1ère année	IPREM, UPPA	cecile.balakichenane@univ-pau.fr	R.01
BASTIAENS Quentin	Doctorat 1ère année	MSLab	quentin.bastiaens@gmail.com	R.10
BENONIT Maxime	Doctorat 1ère année	MSLab	m.benonit@uliege.be	R.05
BRACHET Mathilde	Doctorat 1ère année	IPREM	mathilde.brachet@univ-pau.fr	R.02
CABRERA-TEJERA Bastien	Doctorat 1ère année	MSLab	b.cabrera@uliege.be	R.07
CHERRIÈRE Joséphine	Apprentissage/Alternance	Sanofi	josephine.cherriere@sanofi.com	O.05
DELEGUE Louis	Master	COBRA / CARMeN	louisdelegue7@gmail.com	R.03
DEY Nelly	Master	LAMBE	nelly.dey@universite-paris-saclay.fr	R.12
DUHAMEL Antoine	Doctorat 1ère année	CARMeN	antoine.duhamel8@univ-rouen.fr	O.16
FABRIZI Isabelle	Doctorat 2ème année	MSAP UAR 3290 CNRS	fabrizi.isa@gmail.com	O.18
FROELICHER Léo	Emploi Contractuel (CDD)	AP-HP	leo.froelicher3@gmail.com	R.14
GODAUX Simon	Doctorat 1ère année	LAMBE	simon.godaux@univ-evry.fr	R.11
GOOSSEN Alexandre	Doctorat 2ème année	PRISM	alexandre.goossen@univ-lille.fr	R.08
HODEIGE Matthieu	Doctorat 1ère année	MSLab	matthieu.hodeige@student.uliege.be	O.07
HU Jun	Doctorat 2ème année	LAMBE	jun.hu@univ-evry.fr	O.02
IMHOFF Théo	Doctorat 1ère année	TotalEnergies / CARmeN	theo.imhoff@univ-rouen.fr	O.17
KHERCHICHE Egon	Doctorat 2ème année	COBRA & SAFT	egon.kherchiche@saft.com	O.12
LIMOUSIN Guillaume	Doctorat 2ème année	COBRA - CARMeN	guillaume.limousin1@univ-rouen.fr	O.10
MUNOZ Alix	Doctorat 2ème année	LCPP, Paris	alixmunoz14@gmail.com	O.03
OTUSZEWSKI Pierre	Doctorat 3ème année	MSAP	pierre.otuszewski.etu@univ-lille.fr	R.13
PAYARES Andrea	Doctorat 1ère année	IPREM - UPPA	apsanz@univ-pau.fr	R.09
PERION Théo	Emploi Contractuel (CDD)	INRAE	theo.perion@inrae.fr	
PHEGNON Léa	Emploi Contractuel (CDD)	INRAE	lea.phegnon@inrae.fr	
RATIBOU Zahrmina	Doctorat 3ème année	CRIOBE	zahrmina.ratibou@univ-perp.fr	O.20
RICHARD Xavier	Doctorat 1ère année	CARMeN-COBRA	xavier.richard1@univ-rouen.fr	R.04
SOMBRET Théo	Doctorat 2ème année	CARMeN	theo.sombret@univ-rouen.fr	O.14
TEMGOUA TONLEU Ranil Clément	Post-Doctorat	BAM, Berlin	raniltemgoua@yahoo.fr	O.11
ZELLER Vincent	Doctorat 1ère année	LAMBE	vincent.zeller@univ-evry.fr	R.06

NOM Prénom	Statut	Organisme	Adresse e-mail	Oral
Enseignantes/Enseignants				
FOURNIER Isabelle	Professeure	Laboratoire PRISM, Lille	isabelle.fournier@univ-lille.fr	Imagerie
JAMIN Emilien	Directeur	Metatoul-AXIOM, Toulouse	emilien.jamin@inrae.fr	Métabolomique/
MARTI Guillaume	Directeur	Metatoul-AgromiX, Toulouse	guillaume.marti@univ-tlse3.fr	Traitement de données
POYER Salome	Chargé de Recherche	CNRS, ICSN, Gif-sur- Yvette	salome.poyer@cnrs.fr	Fragmentation
RENAUD Tristan	Principal Structural Chemistry Expert	Servier, Orléans	tristan.renaud@servier.com	Approche Multimodale
Partenaires				
BALTHASAR Catherine	Responsable des ventes	Cluzeau	catherine.balthasar@cluzeau.fr	
BERNARDOT Vladimir	Ingénieur avant- vente	SRA Instruments	v.bernardot@sra-instruments.com	
JAKOPANEC Sandra	Ingénieur Technico- commercial	CPAChem	sandrajakopanec@cpachem.fr	
MENNETEAU Thomas	R&D Scientist	Quality Assistance	Thomas.Menneteau@quality- assistance.be	
NDIAYE Massamba Mbacké		GIE-LCH	m.ndiaye@lchfrance.fr	
THIRIET Yannick		Thermo Scientific	yannick.thiriet@thermofisher.com	
VERDU Alexandre	Business Development Manager EMEA	Bruker	alexandre.verdu@bruker.com	
		ProFi		
CASANOVA Jean-Marie	Senior Sales Specialist	MS Vision	jmc@msvision.com	
Représenté par ORLANDI Carla		Métatoul		

“Encore merci à vous : les jeunes massistes ! ”

“Merci à nos professeurs et à leur excellent enseignement ! ”

“Merci à nos partenaires pour leur soutien ! ”

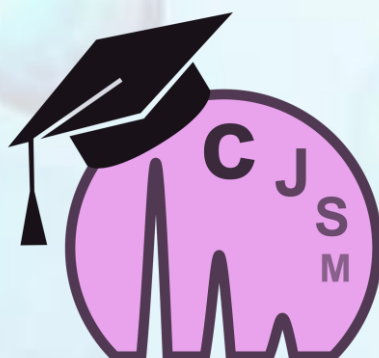
“Et encore un grand merci à toutes et à tous pour votre participation et votre soutien sans lesquels les RCJSM n’auraient vu le jour ! ”



RCJSM

XXIXème Toulouse 2025

Encore Merci !

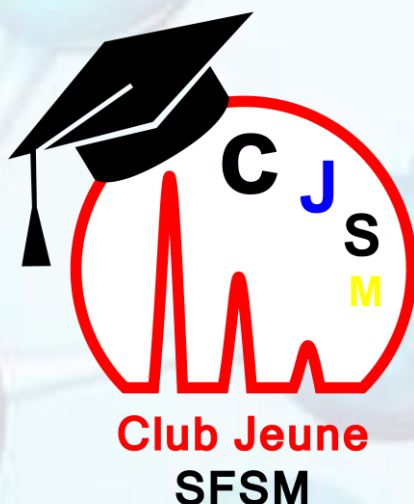


Club Jeune
SFMS



Nos réseaux

Club Jeune
de la
Société Française de Spectrométrie de Masse



Pour nous suivre :



www.cjsm.sfsm.fr



www.linkedin.com/company/cjsmsfsm

Pour nous contacter :



clubjeunesm@gmail.com

Rejoignez notre forum sur Discord !

