LA PLATEFORME DE SPECTROMÉTRIE DE MASSE

Présentation

La plateforme de spectrométrie MasSpecLab t de la Faculté de médecine (UFR Simone Veil - Santé) de l'UVSQ a été créée en 2013 avec le soutien de la Région Ile-de-France, du Conseil Général des Yvelines, et de la Communauté d'agglomération de communes de Saint-Quentin-en-Yvelines, et est intégrée dans le Département de Biotechnologie de la Santé de l'UVSQ. Les champs d'application de la spectrométrie de masse vont de l' analyse élémentaire (spectrométrie par torche à plasma ICP-MS) à l'analyse de macromolécules complexes telles que les protéines (protéomique), en passant par l' analyse des molécules de taille intermédiaire (métabolites cellulaires, médicaments,

toxiques…). Les analyses peuvent être ciblées et ne concerner que quelques composés ou une famille de molécules, ou non ciblées (approches non biaisées de type métabolomique).

Objectif

MasSpecLab propose aux équipes académiques et industrielles une expertise technique, biologique et médicale en spectrométrie de masse sous forme de collaborations ou de prestations de service.

Missions

- Assurer un rôle de conseil et interprétation dans les étapes pré-analytique
- Réaliser les analyses par spectrométrie à proprement parler
- Interpréter les résultats expérimentaux et de participer à l'innovation en développant des projets propres

Atouts

La plateforme dispose d'une large gamme de spectromètres de masse adaptés pour répondre aux besoins analytiques de projets de recherche en biologie et en médecine. Ces équipements et l'expertise de l'équipe permettent le développement de méthodes analytiques pour l'identification et la quantification des molécules d'intérêt, même présentes à très faible concentration ou dans des matrices non conventionnelles. La plateforme de spectrométrie développe une activité spécialisée de métabolomique, destinée à évaluer par une approche non biaisée l'expression du métabolome (ensemble des métabolites de faible masse moléculaire comme les lipides, les acides aminés, les acides organiques, les sucres, les nucléotides…) dans des tissus biologiques ou des micro-organismes. Cette activité de phénotypage moléculaire sera en particulier consacrée à la pharmacométabolomique, c'est-à-dire à l'étude de l'effet des médicaments sur le métabolisme et à l'identification de facteurs impliqués dans la réponse aux médicaments, mais la métabolomique permet également l'exploration de processus cellulaires (apotose, différenciation…) ou l'identification de biomarqueurs de pathologies.
Les autres activités de la plateforme comprennent entre autres la détection et la quantification d'oligonucléotides de synthèse, d'endocannabinoïdes, de stéroides et de nombreux médicaments.

Accès aux équipements

Les équipements de la plateforme sont accessibles à toute personne ayant fait la demande au personnel responsable de la plateforme. Chaque utilisateur doit lire et approuver la charte de la plateforme avant de profiter des équipements et services de la

plateforme.

Équipements

Les systèmes d'analyse comprennent les instruments suivants :

- **Spectromètre à temps de vol couplé à la chromatographie gazeuse bidimensionnelle (GCxGC/TOF-MS Pegasus BT 4D)**

Cet instrument est utilisé pour les applications médicales de l' analyse métabolomique des matrices biologiques humaines et de l' air expiré grâce à son couplage à la désorption thermique et à l' utilisation d'un système automatisé de préparation d'échantillons. La chromatographie gazeuse bidimensionnelle permet la résolution des composés isomériques, associée aux capacités de détection du spectromètre à temps de vol. Il a été financé grâce au soutien du DIM 1HEALTH et du Programme d'Investissement d'Avenir (RHU RECORDS).

- **Hybride quadripôle –**

Orbitrap Q-Exactive

Ce spectromètre de masse est adapté pour l'analyse non ciblée ou ciblée de molécules avec une vaste gamme de masse moléculaire (de 50 à 6000 Da) dans des échantillons biologiques ou non biologiques, ainsi que pour l'analyse quantitative. Le Q-Exactive combine la sélection de précurseur haute performance grâce à l'analyseur quadripolaire et la haute résolution pour la détection des masses exactes (précision ? 5 ppm). Il est équipé d'une cellule de collision Higher-Energy Collisional Induced Dissociation (HCD) permettant l'acquisition de données spectrales MS/MS. Cet analyseur est couplé à une chaîne de chromatographie liquide U3000 et deux sources d' ionisation peuvent être employées : ionisation par electrospray (HESI) ou ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI). Les applications typiques sont le profilage métabolomique à grande échelle, des screening non ciblés en recherche clinique ou en toxicologie médico-légale, l'analyse métabolique dans les premières phases de développement des médicaments, l'analyse structurale par détermination des masses exactes, l'analyse de principes actifs et/ou d'impuretés dans les médicaments ou poudres stupéfiantes ou l'analyse d'échantillons environnementaux.

- **Triple quadripôle Quantiva**

Le Quantiva est un analyseur permettant l'acquisition simultanée de nombreuses transitions (*Selected Reaction Monitoring SRM*). Ce spectromètre de masse dispose d'une haute sensibilité permettant la quantification des composés d'intérêt présents à très faible concentration dans différentes matrices. Il est également couplé à une chaîne de chromatographie liquide U3000.

» ICP-MS Element XR

Le spectromètre de masse Element XR est la dernière génération d' ICP-MS utilisant la technologie de haute résolution. Il combine un détecteur de dynode avec un détecteur de Faraday pour offrir plus de 12 ordres de grandeur de plage de détection dynamique pour la quantification simultanée des ultra-traces ou des éléments abondants dans le même échantillon biologique. La haute résolution permet d' obtenir une grande précision de masse (environ 0.005 unités de masse atomique) permettant d'identifier des espèces habituellement interférentes telles que le Fe56 avec le diatomique Ar40O16. Le détecteur ICP-MS est couplé à une chaîne de chromatographie en phase liquide permettant la spéciation des différents éléments.

» Système de chromatographie ionique

avec détection électrochimique ou
par conductivité ICS-5000

L'ICS-5000 est un système de chromatographie ionique développé pour l'analyse des ions (anions et cations) ou des espèces très chargées. C'est le premier système de chromatographie ionique à haute pression sur le marché, ce qui permet des analyses rapides avec une grande résolution. Les principales applications sont la quantification des catécholamines, des acides aminés ou l'analyse des hydrates de carbone.

Pour les étapes pré-analytiques, la plateforme possède tous les équipements classiques requis pour la purification et la concentration des échantillons (hotte, évaporateurs, agitateurs rotatifs, centrifugeuses, four micro-ondes pour la minéralisation).

Principe de fonctionnement

MasSpecLab propose ses services à des demandeurs institutionnels ou industriels.
Un premier contact doit être pris avec l'un des responsables de la plateforme qui donnera un accord de principe de participation au projet et transmettra au demandeur deux formulaires à compléter ci-dessous :

- **Formulaire de demande d'analyse** : version française / English version
- **Charte d'utilisation de la plateforme** : version française / English version

Après analyse détaillée du projet, un plan expérimental sera défini. La tarification est établie en fonction du type de prestation souhaitée, de la charge de travail nécessaire à la réalisation du projet et de l'origine de l'équipe (UVSQ, académique ou industrielle). Pour des projets nécessitant le développement ou la validation de méthodologies adaptées, un travail de collaboration peut être envisagé. Dans ce cas, la facturation ne prendra en compte qu'une partie des échantillons analysés.

Activité de conseil

Les responsables de la plateforme sont à la disposition des demandeurs pour les aider à l'optimisation des différentes étapes du processus :

- **1e étape** : conseils pour la méthodologie expérimentale : Construction de la méthodologie expérimentale la plus adaptée pour l'analyse ultérieure des échantillons. Conseils sur la sélection des matrices à exploiter, la composition des milieux de culture, la nature des solvants employés, les formes chimiques des produits utilisés (sels ou bases) ainsi que sur les conditions d'échantillonnage et de conservation des prélèvements.
- **2e étape** : phase pré-analytique : Développement du protocole approprié pour la purification et la concentration des échantillons. En effet, les molécules à analyser sont initialement dispersés dans leur matrice originelle (milieu de culture, sang ou autres milieux biologiques) et une étape de purification préalable (extraction liquide /liquide, extraction en phase solide, précipitation protéique…) est indispensable à toute méthode d'analyse par technique chromatographique afin de s'affranchir des interférences et d'obtenir une sensibilité analytique optimale.
- **3e étape** : phase analytique : développement des méthodes analytiques, analyse qualitative et quantitative, utilisation des machines adaptée pour répondre à l'

hypothèse scientifique, haute performance analytique offerte par la technologie Haute Résolution, démarche qualité pour garantir la performance des méthodes et l' exactitude des résultats.

» **4e étape** : interprétation et analyse des résultats : aide à l'analyse scientifique en fonction des performances et limites des méthodes analytiques, rédaction des parties analytiques dans les publications.

En fonction des attentes du demandeur, les analyses seront réalisées selon des procédures standardisées adaptées à la recherche expérimentale ou selon des procédures validées selon les recommandations des agences de régulation (EMA, FDA) en vigueur pour les protocoles de recherche clinique.