

Dr Jean-Marie GUIGONIS

Responsable Scientifique de la Plateforme Bernard ROSSI, TIRO-MATOs

Ingénieur de Recherche Hors Classe

Ingénieur ENSPICAM

Ingénieur Européen EURING

Expert Scientifique du MESRI

40 ans d'expérience dans le domaine de la spectrométrie de masse

Activité d'enseignement

« Approche non ciblée en métabolomique clinique par LC/MS/MS Haute Résolution sur la plateforme Bernard ROSSI Faculté de Médecine de Nice »

Résumé de la présentation : Une rapide présentation de la plateforme, son origine et son actuel positionnement analytique précède une description des appareillages et des techniques d'ionisation en place sur le laboratoire. L'importance de la qualité expérimentale de l'analyse est mise en avant. Les différentes tarifications sont détaillées au niveau préparation des échantillons et analyse en spectrométrie de masse.

Un survol non exhaustif des applications en métabolomique clinique est relaté montrant la pertinence de l'utilisation de la spectrométrie de masse dans ce domaine d'étude.

Mots clés : spectrométrie de masse, couplage LC/MS/MS, métabolomique clinique

Références bibliographiques :

[Combined Omic Analyzes of Cerebral Thrombi: A New Molecular Approach to Identify Cardioembolic Stroke Origin.](#)

Suissa L, Guigonis JM, Graslin F, Robinet-Borgomano E, Chau Y, Sedat J, Lindenthal S, Pourcher T. *Stroke*. 2021 May 21;STROKEAHA120032129. doi: 10.1161/STROKEAHA.120.032129. Online ahead of print. PMID: 34015939

[Tumor microenvironment affects exogenous sodium/iodide symporter expression.](#)

Castillo-Rivera F, Ondo-Méndez A, Guglielmi J, Guigonis JM, Jing L, Lindenthal S, Gonzalez A, López D, Cambien B, Pourcher T. *Transl Oncol*. 2021 Jan;14(1):100937. doi: 10.1016/j.tranon.2020.100937. Epub 2020 Nov 17. PMID: 33217645

[Metabolome of Cerebral Thrombi Reveals an Association between High Glycemia at Stroke Onset and Good Clinical Outcome.](#)

Suissa L, Guigonis JM, Graslin F, Doche E, Osman O, Chau Y, Sedat J, Lindenthal S, Pourcher T. *Metabolites*. 2020 Nov 25;10(12):483. doi: 10.3390/metabo10120483. PMID: 33255770



PLATEFORME BERNARD ROSSI, UMR TIRO-MATOs

Présentation

La plateforme Bernard Rossi (nom de l'ancien Directeur de l'IFR50 et regretté fondateur de la plateforme) est une structure d'analyse en spectrométrie de masse de l'UMR TIRO-MATOs de la faculté de médecine de Nice en place depuis 2002. Elle réalise des analyses en protéomique et métabolomique ainsi qu'en synthèse organique et oligonucléotides pour des chercheurs académiques, des industriels et des cliniciens. La plateforme est au cœur de nombreuses interfaces interdisciplinaires entre les biologistes de l'UMR et des cliniciens du CHU et du CAL mais également des mathématiciens.

Elle met ses appareils et son savoir-faire au service de la communauté scientifique.

Les objectifs de la plateforme sont :

Conseiller les chercheurs sur les techniques disponibles sur la plateforme après avoir définis avec eux leurs besoins en analyses LC-MS/MS pour de la métabolomique ou de la protéomique.

Réaliser les analyses de la préparation des échantillons à l'exploitation des résultats.

Développer de nouvelles techniques d'analyses en fonction des besoins des chercheurs telle que la quantification de type label-free en Protéomique et micro LC/ ESI/MS/MS en métabolomique.

Former les chercheurs aux techniques de préparation d'échantillons, d'analyses et exploitation des résultats.

La plateforme propose des prestations de type collaboratives ou de service afin de répondre aux mieux aux besoins des chercheurs (cf. tarifications)

Appareillages

UHPLC DIONEX ULTIMATE 3000

Q EXACTIVE PLUS THERMOFISHER



- **Sources API disponibles sur la plateforme :**
- ESI assistée
- Micro ESI
- Capillaire ESI
- Nano ESI
- APCI
- **Autres sources : DESI Prosofia et AP MALDI Mass TECH**
- **4 systèmes de chromatographie liquide Ultimate 3000 DIONEX en mode nano, capillaire micro et UHPLC**

Domaines d'expertises en protéomique :

La plateforme est équipée pour réaliser tous types de gel (Argent ou bleu de Coomassie). Une technicienne peut se charger de préparer ces gels et d'effectuer les étapes de digestion avant analyse. Les analyses sont effectuées sur un spectromètre de masse à haute résolution de type Orbitrap associé à différentes chaînes de chromatographie liquide de type Easy Spray en mode nano ou capillaire selon les applications demandées.

L'identification des protéines se fait à l'aide du logiciel Proteome Discoverer 2.1. Une deuxième validation peut être envisagée avec le logiciel Amanda.

Nous travaillons essentiellement en mode Shotgun pour avoir une identification la plus performante possible d'un protéome en jouant sur les longueurs de colonnes et les temps d'analyses.

Dans le cas d'étude de modifications post traductionnelles, pour accroître cette détection nous travaillons sur des bandes spécifiques d'un gel 1D.

Nous abordons également le domaine de quantification des protéines en utilisant la technique des TMT 6plex et 11plex.

Les modes ciblés de la protéomique de type PRM sont aussi en place sur la plateforme.

Dans le cas d'étude de spots protéiques issus de gels 2D, la plateforme est équipée d'une source AP/MALDI pour réaliser en parallèle de la LC/MS/MS une identification des protéines sur de très petite quantité de matériel.

Une étude De Novo de protéines inconnues peut aussi être abordée.

Applications en protéomique :

Ces applications analytiques concernent de nombreuses équipes de recherche de la Faculté de l'Université (TIRO-MATOS, IRCAN, LP2M, IBV) ainsi que des équipes de l'IPMC à Sophia Antipolis.

Au niveau Industriel, la plateforme collabore avec la société VIRBAC et Bayer Crop Science.

Domaines d'expertises en métabolomique :

Les compétences analytiques en métabolomique concernent principalement des approches non ciblées. Nous avons également mis en place des procédures d'extraction (phase organique, SPME, SPE) à partir de multiples échantillons (tissus, fluides, cellules en culture...), des méthodes de LC-MS/MS, des post-traitements des data (MZmine, Compound Discoverer), des analyses de pathways et de machine learning (PLS-DA et autres PLS). En collaboration avec des mathématiciens (i3S, CAL, INRIA, 3IA), nous réalisons des développements méthodologiques en machine learning adapté à la métabolomique.

La plateforme possède un savoir-faire particulièrement adapté aux projets de recherche en santé (cliniques et sur des modèles expérimentaux) et en toxicologie.

Applications en métabolomique :

Les analyses en métabolomiques menées concernent dans de nombreux domaines pour des équipes académiques ou des industriels dont les principaux sont :

- Biologie : analyses pour la plupart des instituts de biologie (TIRO-MATOs, IRCAN, LP2M...).
- Santé : principalement pour le diagnostic et théranostic en cancérologie : cancer du sein avec le Dr O. Humbert et le Dr C. Bailleux, cancer du rein avec le Dr D. Ambrosetti, cancer de la thyroïde avec le Dr I. Peyrottes, gliome avec le Dr F. Vandenbos... Mais également sur d'autres pathologies comme les AVC avec le Dr L. Suissa ou sur la COVID avec le Dr C. Occelli...
- Toxicologie : projet Metarisk en métrologie d'exposition soutenu par l'IDEX JEDI ; signature de perturbateurs thyroïdiens avec Bayer Crop Science...

Synthèse Organique :

La plateforme collabore activement avec des équipes de l'institut de Chimie de Nice pour la validation en spectrométrie de masse haute résolution de leurs composés de synthèse organique avant publication.

Elle met également son expertise pour la recherche et l'identification d'impuretés de synthèse pour les sociétés Exsymol, Somet à Monaco et Botanicert à Grasse.

Tarifications laboratoire publics :

- **Préparation des échantillons**

Métabolomique : cellules, tissus ou fluides (extraction en phase organique, séchage et reprise)
: 15 euros

Protéomique : cellules ou tissus ou fluides (gel 1D, protéolyse) : 50 euros

- **Analyses LC-MS/MS sur Q-Exactive Plus**

Analyse métabolomique :

- Run 16 min : 25 euros par mode

- Run 25 min : 30 euros par mode

Analyse protéomique :

- Run 1 heure : 50 euros (identification bande 1D ...)

- Run 2 heures : 100 euros (shotgun ...)

- Run 3 heures : 150 euros (shotgun plus complet ...)

Identification structurale d'un composé en métabolomique et synthèse organique : 25 euros

Tarifications laboratoires privés :

- **Préparation des échantillons**

Métabolomique : cellules, tissus ou fluides (extraction en phase organique, séchage et reprise)
: 30 euros

Protéomique : cellules ou tissus ou fluides (gel 1D, protéolyse) : 100 euros

- **Analyses LC-MS/MS sur Q-Exactive Plus**

Analyse métabolomique :

- Run 16 min : 50 euros par mode

- Run 25 min : 60 euros par mode

Analyse protéomique :

- Run 1 heure : 100 euros (identification bande 1D ...)

- Run 2 heures : 200 euros (shotgun ...)

- **Run 3 heures : 300 euros (shotgun plus complet ...)**

Identification structurale d'un composé en métabolomique et synthèse organique : 50 euros

Responsable :

Jean-Marie GUIGONIS (Responsable Scientifique)

Ingénieur de Recherche Hors Classe

UMR TIRO-MATOs, Commissariat à l'Énergie Atomique, Université Côte d'Azur

Faculté de médecine, 28 Avenue de Valombrose 06107 Nice Cedex 2

☎ : +33 (0)4 93 37 76 49

✉ jean-marie.guigonis@univ-cotedazur.fr

FINANCEMENTS



PUBLICATIONS 2019-2021

Combined omic analyses of cerebral thrombi: a new molecular approach to identify cardioembolic stroke origin

Suissa L, Guigonis JM, Graslin F, Robinet-Borgomano EZ, Chau Y, Jacques Sedat J, Lindenthal S, Pourcher T, Stroke, 2021 May 21:STROKEAHA120032129. doi: 10.1161/STROKEAHA.120.032129. Epub ahead of print.

Ingested Ketone Ester Leads to a Rapid Rise of Acetyl-CoA and Competes with Glucose Metabolism in the Brain of Non-Fasted Mice.

Suissa L, Kotchetkov P, Guigonis JM, Doche E, Osman O, Pourcher T, Lindenthal S. Int J Mol Sci. 2021 Jan 7;22(2):524. doi: 10.3390/ijms22020524. PMID: 33430235

Tumor microenvironment affects exogenous sodium/iodide symporter expression.

Castillo-Rivera F, Ondo-Méndez A, Guglielmi J, Guigonis JM, Jing L, Lindenthal S, Gonzalez A, López D, Cambien B, Pourcher T. Transl Oncol. 2021 Jan;14(1):100937. doi: 10.1016/j.tranon.2020.100937. Epub 2020 Nov 17. PMID: 33217645

Proteomic Analysis of Iodinated Contrast Agent-Induced Perturbation of Thyroid Iodide Uptake.

Hichri M, Vassaux G, Guigonis JM, Juhel T, Graslin F, Guglielmi J, Pourcher T, Cambien B. J Clin Med. 2020 Jan 23;9(2):329. doi: 10.3390/jcm9020329. PMID: 31979418

Comparison of unsupervised machine-learning methods to identify metabolomic signatures in patients with localized breast cancer.

Gal J, Bailleux C, Chardin D, Pourcher T, Gilhodes J, Jing L, Guigonis JM, Ferrero JM, Milano G, Mograbi B, Brest P, Chateau Y, Humbert O, Chamorey E. Comput Struct Biotechnol J. 2020 Jun 3;18:1509-1524. doi: 10.1016/j.csbj.2020.05.021. eCollection 2020. PMID: 32637048

Retinoic acid synthesis by ALDH1A proteins is dispensable for meiosis initiation in the mouse fetal ovary.

Chassot AA, Le Rolle M, Jolivet G, Stevant I, Guignon JM, Da Silva F, Nef S, Pailhoux E, Schedl A, Ghyselinck NB, Chaboissier MC. *Sci Adv.* 2020 May 22;6(21):eaaz1261. doi: 10.1126/sciadv.aaz1261. eCollection 2020 May. PMID: 32494737

Metabolome of Cerebral Thrombi Reveals an Association between High Glycemia at Stroke Onset and Good Clinical Outcome.

Suissa L, Guignon JM, Graslin F, Doche E, Osman O, Chau Y, Sedat J, Lindenthal S, Pourcher T. *Metabolites.* 2020 Nov 25;10(12):483. doi: 10.3390/metabo10120483. PMID: 33255770

Deciphering the uranium target proteins in human dopaminergic SH-SY5Y cells.

Vidaud C, Robert M, Paredes E, Ortega R, Avazeri E, Jing L, Guignon JM, Bresson C, Malard V. *Arch Toxicol.* 2019 Aug;93(8):2141-2154. doi: 10.1007/s00204-019-02497-4. Epub 2019 Jun 20. PMID: 31222525

Urinary ketone body loss leads to degeneration of brain white matter in elderly SLC5A8-deficient mice.

Suissa L, Flachon V, Guignon JM, Olivieri CV, Burel-Vandenbos F, Guglielmi J, Ambrosetti D, Gérard M, Franken P, Darcourt J, Pellerin L, Pourcher T, Lindenthal S. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2020 Aug;40(8):1709-1723. doi: 10.1177/0271678X19873662. Epub 2019 Sep 10. PMID: 31506013

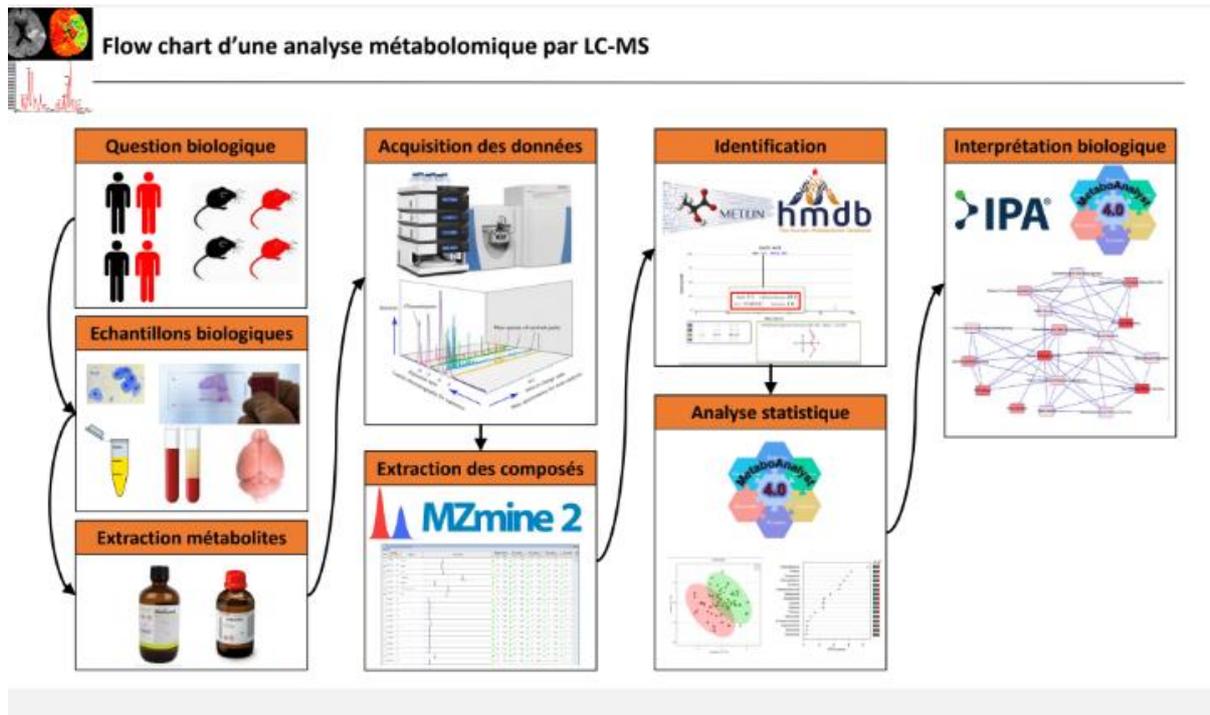
LC-MS based metabolomic profiling for renal cell carcinoma histologic subtypes.

Jing L, Guignon JM, Borchiellini D, Durand M, Pourcher T, Ambrosetti D. *Sci Rep.* 2019 Oct 30;9(1):15635. Doi: 10.1038/s41598-019-52059-y. *Sci Rep.* 2019. PMID: 31666664

Rational design, synthesis, and photophysics of dual-emissive deoxyadenosine analogs. Dyes and Pigments

Le HN, Zilio C, Barnoin G, Barthes NPF, Guignon JM, Martinet N, Michel BY, Burger A. 2019, 170 07553. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2019.107553>

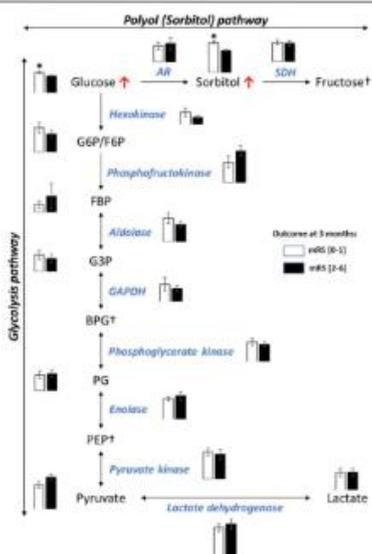
Exemple d'une collaboration dans le domaine de la Métabolomique



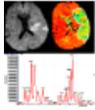
Le sorbitol: un index glycémique à court terme historique

Composition des thrombi cérébraux

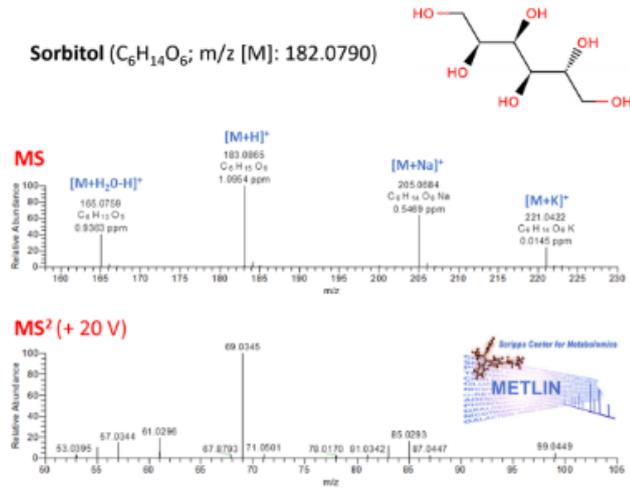
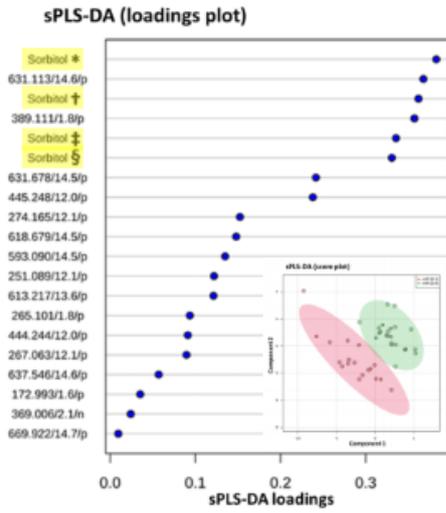
Component	Description	mRS (0-3)	mRS (4-6)	p Value
RBC	Glycophorin-A	$1.67 \times 10^9 \pm 2.70 \times 10^7$	$1.35 \times 10^9 \pm 1.69 \times 10^7$	0.2045
Platelets	Platelet glycoprotein Ib alpha-chain	$4.63 \times 10^7 \pm 1.12 \times 10^7$	$4.66 \times 10^7 \pm 1.35 \times 10^7$	0.9984
	Integrin beta-3	$9.81 \times 10^8 \pm 1.48 \times 10^8$	$9.46 \times 10^8 \pm 1.85 \times 10^8$	0.8881
	Platelet endothelial cell adhesion molecule	$1.70 \times 10^8 \pm 2.76 \times 10^7$	$1.73 \times 10^8 \pm 3.90 \times 10^7$	0.9510
Leukocytes	Receptor-type tyrosine-protein phosphatase C	$2.00 \times 10^7 \pm 3.86 \times 10^6$	$2.31 \times 10^7 \pm 4.74 \times 10^6$	0.6281
	Fibrin			
	Fibrinogen alpha chain	$5.49 \times 10^8 \pm 1.78 \times 10^8$	$1.38 \times 10^9 \pm 4.32 \times 10^8$	0.1125
	Fibrinogen beta chain	$5.01 \times 10^8 \pm 1.18 \times 10^8$	$5.41 \times 10^8 \pm 9.16 \times 10^8$	0.2389
	Fibrinogen gamma chain	$6.43 \times 10^8 \pm 1.80 \times 10^8$	$8.28 \times 10^8 \pm 1.40 \times 10^8$	0.5880
von Willebrand factor	von Willebrand factor	$5.94 \times 10^7 \pm 1.96 \times 10^7$	$6.11 \times 10^7 \pm 1.48 \times 10^7$	0.9444



Suissa *et al.* Metabolome of cerebral thrombi reveals an association between high glycemia at stroke onset and good clinical outcome. *Metabolites*. 2020.



Sorbitol dans le thrombus cérébral comme biomarqueur du pronostic clinique



Suissa et al. Metabolome of cerebral thrombi reveals an association between high glycemia at stroke onset and good clinical outcome. *Metabolites*. 2020.