



CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE COUPLEE A LA SPECTROMETRIE DE MASSE

Alicia Le Salver Hamon, Cédric Leroux
Sorbonne Université, CNRS
FR2424, METABOMER Plate-forme de Spectrométrie de Masse
Place Georges Teissier, 29680 Roscoff

APPLICATIONS

- Suivis de stress (Biotique, abiotique)
- Détermination de biomarqueurs
- Etablissement de carte métabolomique et de bibliothèques de références

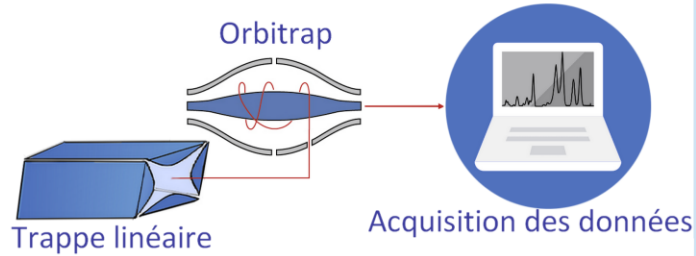
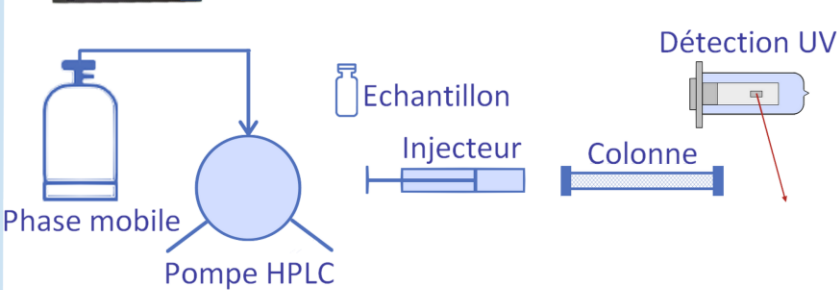
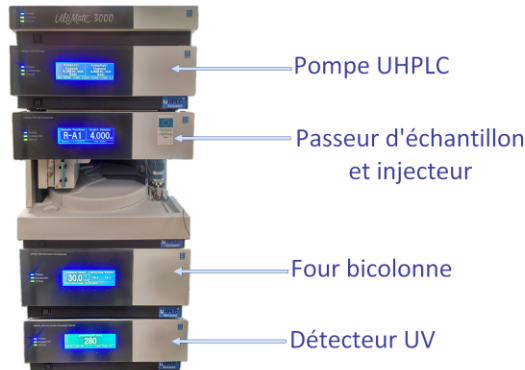
PROFILAGE METABOLOMIQUE CIBLE ET NON CIBLE QUALITATIF ET QUANTITATIF

TYPE D'ECHANTILLON

- Liquide : surnageant, eau de mer
- Solide : lyophilisé
- Vivant : Culot cellulaire et bactérien

MATERIEL : THERMO ORBITRAP DISCOVERY

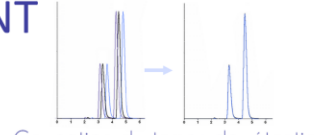
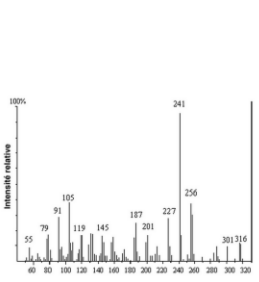
La Chromatographie en phase liquide (Liquid Chromatography ≡ LC) couplée à la Spectrométrie de Masse (Mass Spectrometry ≡ MS) permet la séparation ainsi que la caractérisation de biomolécules.



L'UHPLC Ultimate 3000 ThermoFisher®, permet la séparation des molécules. En effet, les interactions des métabolites avec la Phase Stationnaire permettent de les dissocier sur un chromatogramme, grâce à leur temps de rétention (RT).

Le LTQ Orbitrap Thermo Fisher® permet la détection des molécules. C'est un spectromètre de masse tandem (MS et MS/MS), il comprend : une Trappe linéaire ainsi qu'une Orbitrap. Résolution : 5ppm

RETRAITEMENT



Correction du temps de rétention

[M+H]⁺ [M-H]⁻
[M+?]⁺ [M-?]⁻

Recherche d'adduits

Groupement des pics avec un caractère en commun :

- m/z
- Massif isotopique
- Temps de rétention

Niveau d'identification 2A

4-5 Estimation avec la formule brute :

Déterminations d'une formule brute possible

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	C	H	N	O
181.0467	181.0465	0.2	1.1	2.5	H6 N10 Cl	6	10	1	0
181.0469	-0.2	-1.1	0.5	5	C5 H13 N2 O S2	5	13	2	1
181.0461	0.6	3.3	1.5	4	C4 H9 N2 O6	4	9	2	6
181.0474	-0.7	-3.9	6.5	5	C5 H5 N6 O2	5	5	6	2
181.0454	1.3	7.2	0.5	7	H14 O S Cl	7	14	1	1
181.0447	2.0	11.0	7.5	1	C H N2	1	1	2	1
181.0492	-2.5	-13.8	1.5	4	C4 H10 N4 O2 Cl	4	10	4	2

Vérification des massifs isotopiques

Massifs isotopiques expérimentaux

Massifs isotopiques théoriques

Comparaison à des Bibliothèques avec :

- m/z exacte
- Temps de rétention
- Massif Isotopique

Comparaison à des standards :

- m/z exacte
- Temps de rétention
- Massif Isotopique

Présent au laboratoire :

- Acides Aminés
- Acides Gras
- Stérols
- Oxyliptides

- HMDB

- KEGG

- PubChem

- MassBank

- Mz Cloud

Possibilité de confirmation par RMN

