

## Offre de thèse pour octobre 2024

**Laboratoire :** CEISAM (Chimie et Interdisciplinarité : Synthèse, Analyse, Modélisation), équipe MIMM  
<https://ceisam.univ-nantes.fr/equipe-mimm/>

### Titre du sujet de thèse :

Développement de nouvelles approches d'identification de métabolites par RMN 1D, 2D rapide et HRMS pour la métabolomique

Directeur de thèse : Patrick Giraudeau, [patrick.giraudeau@univ-nantes.fr](mailto:patrick.giraudeau@univ-nantes.fr)

Co-encadrante de thèse : Marine Letertre, [marine.letertre@univ-nantes.fr](mailto:marine.letertre@univ-nantes.fr)

**Financement :** Allocation ministérielle (MESR) – contrat doctoral

### Contexte

La métabolomique, l'étude des petites molécules contenues dans des mélanges biologiques, est principalement basée sur l'utilisation de deux outils analytiques, la spectrométrie de masse (MS) et la spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN). Bien que la RMN soit une technique bien établie en métabolomique, de par sa robustesse, sa répétabilité et le fait qu'elle offre des informations quantitatives et structurales, les spectres RMN 1D souffrent de forts chevauchements de signaux empêchant l'élucidation et la quantification des biomarqueurs.

Dans ce cadre, le laboratoire CEISAM a été l'un des pionniers depuis 2015 pour le développement de méthodes permettant d'améliorer la séparation des signaux de mélanges complexes en les répartissant dans une seconde dimension tout en fournissant des informations supplémentaires pour leur identification. Notamment, les méthodes 2D rapides utilisant des stratégies pour diminuer les temps d'acquisitions des méthodes 2D usuelles, telles que la spectroscopie ultrarapide (ultrafast), l'échantillonnage non uniforme (non-uniform sampling- NUS) et le repliement spectral (aliasing) rencontrent un intérêt croissant en métabolomique. Ces nouvelles techniques pourraient constituer la base de stratégies analytiques plus robustes et plus fiables, mais leurs complémentarités, entre-elles et avec les méthodes de MS, restent inexplorées.

Dans ce contexte, nous avons réalisé l'acquisition de plusieurs jeux de données utilisant ces méthodes 2D rapides portant sur des problématiques variées en métabolomique. Il est maintenant nécessaire de développer une stratégie d'identification la plus complète possible de ce type de données, en tirant partie de leurs avantages respectifs. Deux approches spécifiques devront être développées, une pour les extraits métaboliques et une seconde pour les extraits lipidiques. De plus, des données de MS haute-résolution (HRMS), couplées à de la chromatographie en phase gazeuse (GC-HRMS) et liquide (LC-HRMS) en phase de chromatographie inverse et en phase d'interactions hydrophiles (HILIC) et en mode d'ionisation positif et négatif, devront être également exploitées pour aider l'identification par RMN et explorer la complémentarité RMN-HRMS. Cette combinaison représente un panel de méthodes analytiques jusqu'ici non déployé en métabolomique. La première perspective du projet vise à explorer les capacités de discrimination de profils métaboliques en appliquant un panel de méthodes analytiques le plus étendu possible et les mettant en compétition à travers une intégration multi-bloc. La deuxième perspective, qui constitue le but de ce travail de thèse, est d'explorer la complémentarité de ces méthodes en termes de couverture métabolique.

## Objectif de la thèse

L'objectif principal de cette thèse est de parvenir à une annotation la plus complète possible des signaux observés sur divers jeux de données RMN 1D et 2D rapides, ainsi que celle de nombreux jeux de données HRMS. Cela permettra d'évaluer leur complémentarité mais également les redondances éventuelles entre ces méthodes analytiques. Pour atteindre cet objectif, il est nécessaire de développer de nouvelles stratégies d'annotation des données, notamment pour les techniques de RMN 2D rapide qui n'ont été que très peu utilisées en métabolomique à ce jour. L'identification des signaux au niveau 1 de confiance, selon la « Metabolomics Standards Initiative », se fera par l'acquisition des spectres des composés purs et d'expériences de spike-in (ajout du composé suspecté dans un échantillon représentatif). L'identification de ces signaux permettra de mettre en avant les métabolites et les lipides détectés communément par plusieurs des méthodes et ceux détectés seulement par une méthode analytique. Cette étude sera complétée par une analyse poussée de la littérature, afin d'évaluer l'étendue de la couverture métabolique atteinte en déployant cette approche, et d'identifier les voies métaboliques non couvertes. Les méthodes développées seront mises en œuvre sur des problématiques variées, telles que la caractérisation de l'exposition de mini-porcs exposés au perturbateur endocrinien Bisphénol A (BPA) en collaboration avec le LABERCA, ainsi que des études pré-cliniques en collaboration avec le CHU de Nantes.

Plus spécifiquement, le·la doctorant·e sera chargé·e :

- Développer une stratégie d'annotation de signaux de jeux de données RMN 1D et 2D rapides et de jeux de données HRMS, en s'appropriant et en adaptant les outils logiciels pertinents pour l'identification des métabolites.
- D'évaluer l'apport des méthodes de RMN 2D rapide en termes d'identification des signaux en comparaison à la RMN  $^1\text{H}$  classique, et aux méthodes HRMS.
- De confirmer les annotations en identifications en analysant les composés purs par RMN et HRMS.
- D'évaluer la complémentarité et la redondance métabolique des différentes méthodes et d'explorer les éventuels manquements en comparant avec la littérature.

## Environnement et collaborations

Le·la doctorant·e recruté·e interagira avec ses encadrants, spécialistes des méthodes de RMN conventionnelles et 2D rapides utilisées pour l'acquisition des données de ce projet, et experts en métabolomique. Il interagira également avec les équipes du LABERCA et du CHU pour le traitement et l'annotation des jeux de données HRMS. Le travail de thèse sera réalisé dans l'environnement collaboratif stimulant de l'équipe MIMM, impliquant de nombreux·ses doctorant·e·s, post-doctorant·e·s, ingénieur·e·s et chercheur·e·s en méthodologie RMN et en métabolomique. L'environnement collaboratif du CEISAM sera un avantage (en synthèse notamment pour la confirmation de l'identification de certains métabolites).

CEISAM est le laboratoire de chimie moléculaire de Nantes Université et regroupe 5 équipes de recherche reconnues en chimie théorique, physique et analytique, et en synthèse organique. La plateforme RMN du laboratoire CEISAM est la plus grande plateforme RMN du grand ouest. Elle dispose d'une grande richesse d'équipements, dont 6 spectromètres à hauts champs (400 – 700 MHz), 3 spectromètres à bas champ. De plus, elle fait partie de l'infrastructure nationale de recherche en métabolomique et fluxomique MetaboHub qui permettra à la personne recrutée d'évoluer dans un

réseau national riche et stimulant. CEISAM se situe dans l'environnement dynamique de la ville de Nantes, proche de la côte atlantique et de la Bretagne Sud.

### Profil

Le-la candidat-e a une formation en chimie analytique, et doit être fortement intéressé-e par l'élucidation structurale par RMN et spectrométrie de masse dans un contexte de métabolomique. Un fort intérêt pour ces méthodes analytiques est attendu afin d'assurer une bonne compréhension des spectres à exploiter. Un goût pour la programmation constituera un avantage. En raison du caractère collaboratif du projet, de bonnes capacités à rédiger et à communiquer en français et en anglais sont nécessaires. Le-la doctorant-e recruté-e sera amené-e à transmettre ses connaissances à d'autres étudiant-e-s (Master, Doctorat) et à présenter ses travaux en congrès nationaux et internationaux. En raison du financement de cette thèse par une allocation ministérielle, les candidat.e.s devront être classé.e.s dans le premier tiers de leur promotion de Master 2.

### Références

Dona et al., *CSBJ* 2016, **14**, 135-153

Marchand et al., *Metabolomics* 2018, **14**(5), 60

Joesten et al., *Metabolomics* 2019, **15**(1), 5

Letertre et al., *Anal. Chem.* 2021, **93**(1), 500–518

## PhD offer for October 2024

**Research institute:** CEISAM (Interdisciplinary Chemistry: Synthesis, Analysis, Modelling), MIMM team <https://ceisam.univ-nantes.fr/equipe-mimm/>

### Title of the subject:

Development of new signal identification approaches of 1D, fast 2D NMR and HRMS data for metabolomics

PhD supervisor: Patrick Giraudeau, [patrick.giraudeau@univ-nantes.fr](mailto:patrick.giraudeau@univ-nantes.fr)

PhD co-supervisor: Marine Letertre, [marine.letertre@univ-nantes.fr](mailto:marine.letertre@univ-nantes.fr)

**Funding:** Ministerial allowance (MESR) – doctoral contract

### Context

Metabolomics, the study of small molecules contained in biological mixtures, is mainly based on the use of two analytical tools, mass spectrometry (MS) and nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy. Although NMR is a well-established technique in metabolomics, thanks to its robustness and repeatability and because it provides quantitative and structural information. However, it suffers from strong signal overlaps that prevent the elucidation and quantification of biomarkers.

In this context, since 2015 the CEISAM laboratory has been one of the pioneers in developing methods to improve the separation of signals from complex mixtures by spreading them through a second dimension while providing additional information for their identification. In particular, fast 2D methods using strategies to reduce the acquisition times of conventional 2D methods, such as ultrafast spectroscopy, non-uniform sampling (NUS) and aliasing, present a growing interest in metabolomics. These new techniques could form the basis of more robust and reliable analytical strategies, but their complementarity, both within each other and with MS methods, remains unexplored.

In this context, we have acquired several datasets using these fast 2D methods on a variety of metabolomics issues. We now need to develop a strategy for identifying this type of data as comprehensively as possible, taking advantage of their respective benefits. Two specific approaches will need to be developed, one for metabolic extracts and a second for lipid extracts. In addition, high-resolution MS (HRMS) data, coupled with gas chromatography (GC-HRMS) and liquid chromatography (LC-HRMS) in the reverse chromatography phase and hydrophilic interaction phase (HILIC) and in positive and negative ionisation mode, will also have to be exploited to aid NMR identification and explore NMR-HRMS complementarity. This combination represents a range of analytical methods not previously deployed in metabolomics. The first aim of the project is to explore the ability to discriminate metabolic profiles by applying the widest possible range of analytical methods and placing them in competition through multi-block integration. The second perspective, which is the aim of this thesis work, is to explore the complementarity of these methods in terms of metabolic coverage.

## Objective of the thesis

The main objective of this thesis is to achieve the most complete annotation possible of the signals observed on various fast 1D and 2D NMR data sets, as well as that of numerous HRMS data sets. This will make it possible to assess the complementarity of these analytical methods, as well as any redundancies between them. To achieve this objective, it will be necessary to develop new data annotation strategies, particularly for fast 2D NMR techniques, which have been little used in metabolomics to date. The identification of signals at confidence level 1, according to the Metabolomics Standards Initiative, will be achieved by acquiring spectra of pure compounds and spike-in experiments (addition of the suspected compound to a representative sample). The identification of these signals will highlight the metabolites and lipids commonly detected by several of the methods and those detected only by one analytical method. This study will be supplemented by an in-depth analysis of the literature, in order to assess the extent of the metabolic coverage achieved by deploying this approach, and to identify the metabolic pathways not covered. The methods developed will be applied to a variety of problems, such as characterising the exposure of mini-pigs exposed to the endocrine disruptor Bisphenol A (BPA), in collaboration with the LABERCA, and pre-clinical studies in collaboration with Nantes University Hospital.

More specifically, the doctoral student will be responsible for:

- Developing a strategy for annotating signals from rapid 1D and 2D NMR data sets and HRMS data sets, by appropriating and adapting the relevant software tools for identifying metabolites.
- Evaluate the contribution of fast 2D NMR methods in terms of signal identification in comparison with conventional  $^1\text{H}$  NMR and HRMS methods.
- Confirm the identification annotations by analysing pure compounds by NMR and HRMS.
- Evaluate the complementarity and metabolic redundancy of the different methods and explore any shortcomings by comparing with the literature.

## Environment and partnerships

The doctoral student recruited will interact with his/her supervisors, who are specialists in the conventional and fast 2D NMR methods used to acquire the data for this project, and experts in metabolomics. They will also interact with the LABERCA and Nantes University Hospital for the processing and annotation of the HRMS datasets. The thesis work will be carried out in the stimulating collaborative environment of the MIMM team, involving numerous PhD students, post-docs, engineers and researchers in NMR methodology and metabolomics. CEISAM's collaborative environment will be an advantage (particularly in synthesis, to confirm the identification of certain metabolites).

CEISAM is the molecular chemistry laboratory of Nantes University and brings together 5 renowned research teams in theoretical, physical and analytical chemistry, and organic synthesis. The CEISAM laboratory's NMR platform is the largest NMR platform in western France. It has a wealth of equipment, including 6 high-field spectrometers (400 - 700 MHz) and 3 low-field spectrometers. It is also part of the MetaboHub national metabolomics and fluxomics research infrastructure, which will enable the person recruited to work in a rich and stimulating national network. CEISAM is located in the dynamic environment of the city of Nantes, close to the Atlantic coast and southern Brittany.

## Profile

The candidate will have a background in analytical chemistry, and should have a strong interest in structural elucidation using NMR and mass spectrometry in a metabolomics context. A strong interest in these analytical methods is expected to ensure a good understanding of the spectra to be exploited. A taste for programming will be an advantage. Given the collaborative nature of the project, good

writing and communication skills in French and English are required. The PhD candidate will be required to pass on their knowledge to other students (Masters, PhD) and to present their work at national and international conferences. As this thesis will be funded by a ministerial grant, candidates must be in the top third of their Master 2 class.

### References

- Dona et al., *CSBJ* 2016, **14**, 135-153
- Marchand et al., *Metabolomics* 2018, **14**(5), 60
- Joesten et al., *Metabolomics* 2019, **15**(1), 5
- Letertre et al., *Anal. Chem.* 2021, **93**(1), 500–518