

Journée des doctorants de l'IPHC

31 janvier 2008

Apports de la Spectrométrie de Masse pour la Caractérisation de Complexes Supramoléculaires en chimie et en biologie

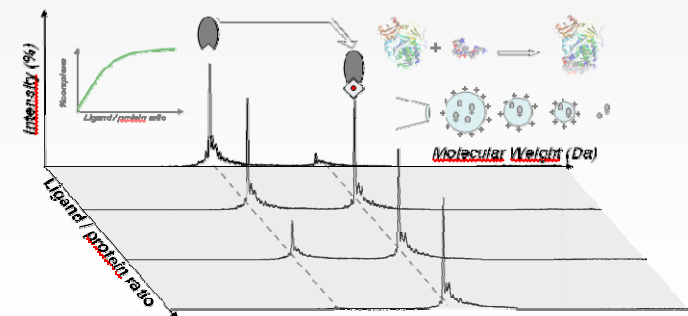
Laboratoire de Spectrométrie de Masse Bio-Organique (LSMBO)
Directeur : Dr Alain VAN DORSSELAER

IPHC-DSA

Cédric ATMANENE – Daniel AYOUB

Sommaire

- ⇒ **LSMBO : équipe et thématiques**
- ⇒ **La Spectrométrie de Masse, Qu'est-ce que c'est ?**
- ⇒ **La Spectrométrie de Masse, Comment ça marche ?**
- ⇒ **Spectrométrie de masse supramoléculaire**
- ⇒ **Conclusions**
- ⇒ **Pour nous contacter...**



LSMBO : équipe et thématiques

2 grandes thématiques :

- ⇒ Spectrométrie de Masse et **Protéomique**
- ⇒ Spectrométrie de Masse **Supramoléculaire**

La reine



Alain Van Dorsselaer

Nicolas Barthelemy
Thierry Wasselin

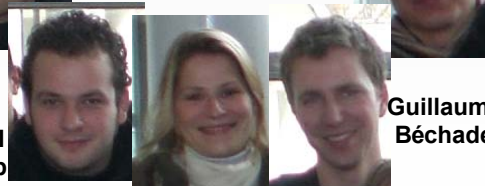
Agnès Hovasse



Les ouvrières

Sébastien Gallien

Daniel Ayoub



Audrey Bednarczyk

Guillaume Béchade

Cédric Atmanene

Jean-Marc Strub

Fabrice Bertile

Hélène Diemer

Jennifer Jund

Danièle Thiersé (électrophorèse)



Véronique Trimbour (secrétaire)

Les soldats

Sarah Sanglier

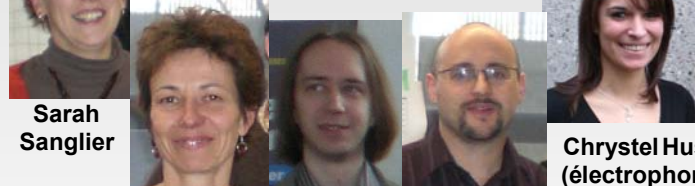
Christine Schaeffer

Laetitia Fouillen

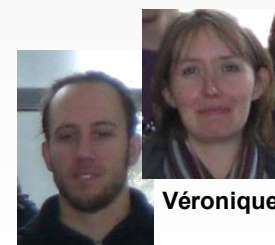
Cyril Colas

Fabrice Varrier (informaticien)

Chrystel Husser (électrophorèse)



Les ouvrières qualifiées

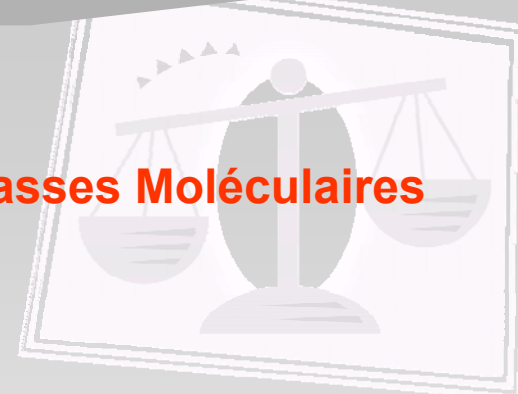


Jean-Michel Saliou

Véronique Delval

La Spectrométrie de Masse, Qu'est-ce que c'est ?

⇒ Technique analytique permettant la détermination de **Masses Moléculaires**



⇒ Technique analytique de mesure :

↪ du rapport **masse sur charge** (m/z) de molécules

Informations d'**identité**
(qualitatif)

↪ du rapport **m/z** de **fragments** de ces molécules

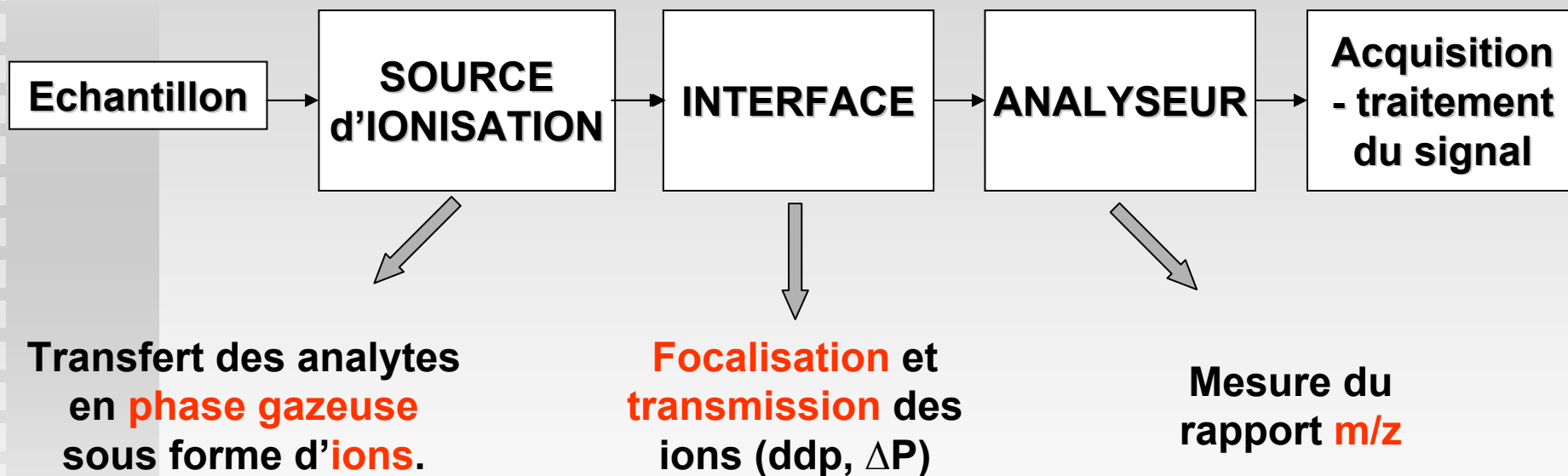
Informations
d'**identité / structure**
(qualitatif)

↪ de l'**abondance** de ces espèces

Informations
quantitatives

La Spectrométrie de Masse, Comment ça marche ?

⇒ Schéma général d'un Spectromètre de Masse

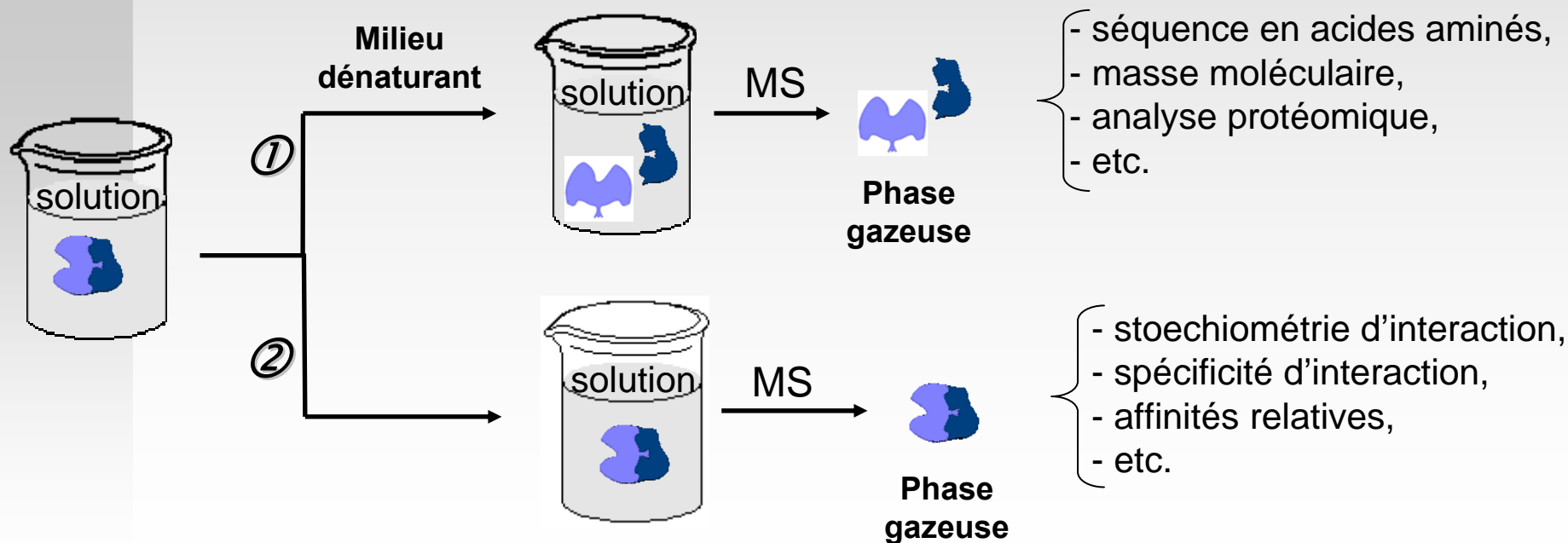


SM moléculaire vs SM supramoléculaire

⇒ 2 approches distinctes en SM

① La **spectrométrie de masse moléculaire** ⇒ Informations sur les édifices maintenus par des liaisons **covalentes**

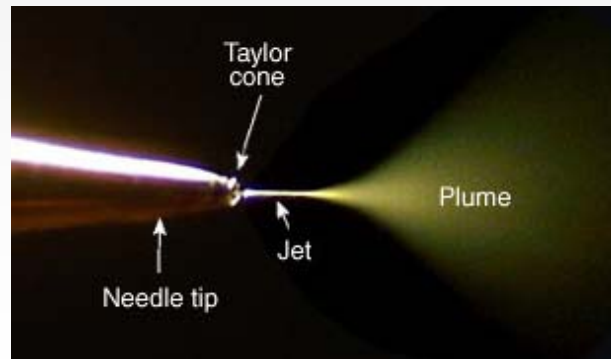
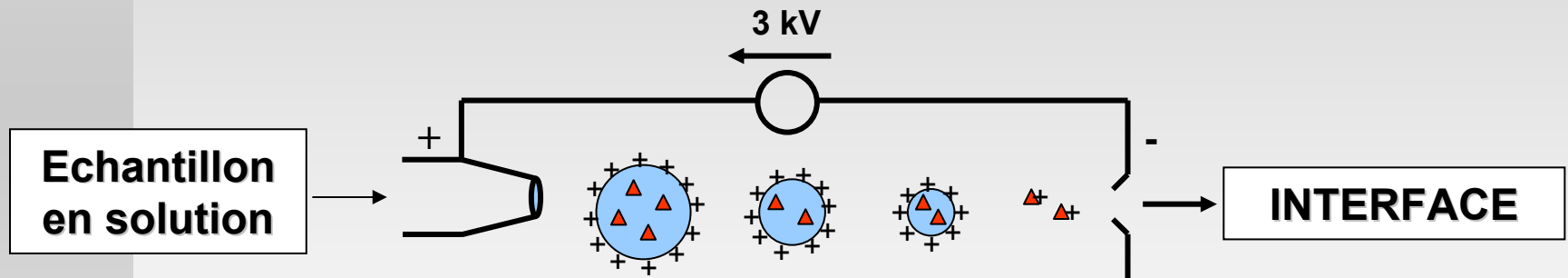
② La **spectrométrie de masse supramoléculaire** ⇒ Informations sur les édifices maintenus par des liaisons **non-covalentes**



⇒ La source d'ionisation

↪ Il existe différentes sources

↪ En MS supramoléculaire : Analyse de complexes « **fragiles** » ⇒ source d'ionisation **très douce** ⇒ **Electrospray (ES)**

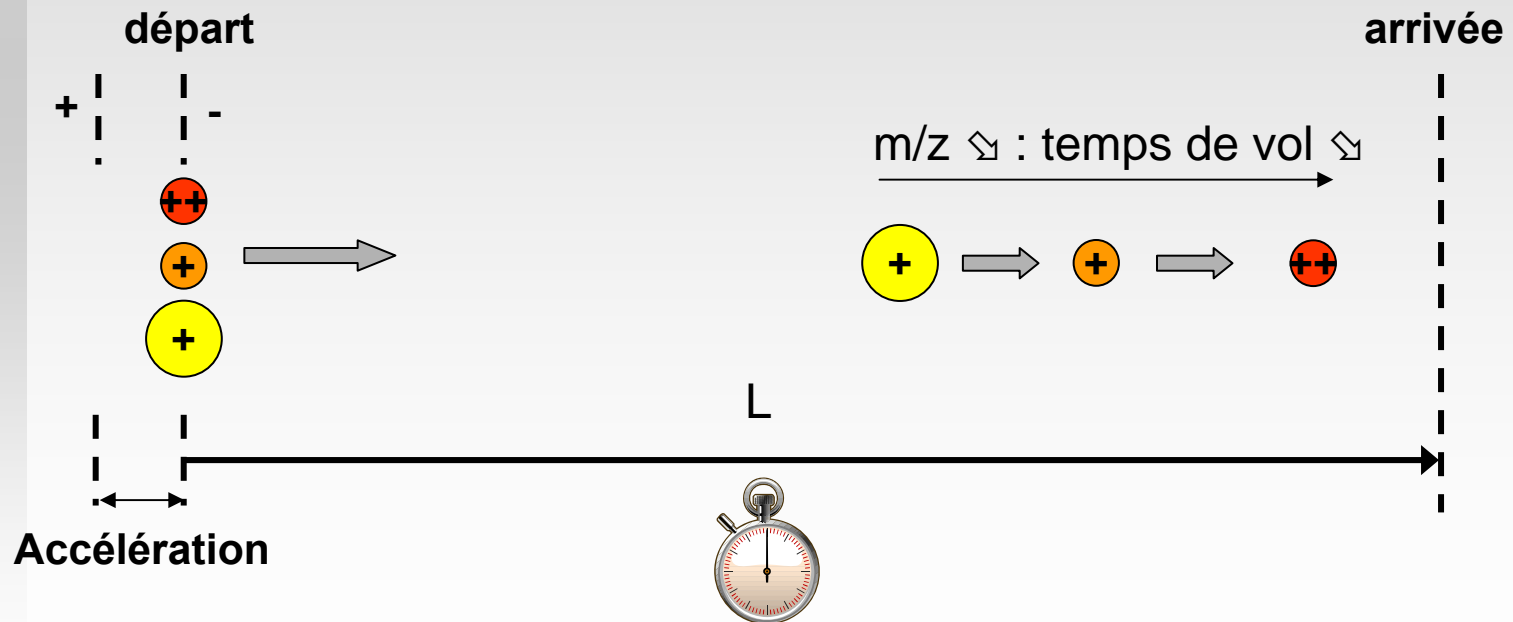


Instrumentation en SM - analyseur

⇒ L'analyseur

↪ Il existe différents types d'analyseurs

↪ En MS supramoléculaire : Analyse de complexes de **haute masse moléculaire** ⇒ analyseur à temps de vol (**Time Of Flight, TOF**)



Les Spectromètres de Masse en SM supramoléculaire

⇒ Instruments utilisés au LSMBO



SM supramoléculaire – champs d'application

⇒ Analyse par SM de **complexes supramoléculaires**

↪ Ex : Ligand-métal, protéine-ligand, protéine-métal, protéine-protéine, protéine-ARN, protéine-ADN, ARN-ligand, ADN-ligand, ...

⇒ Informations obtenues par mesure de la masse :

↪ **Validation** de l'existence de complexes non-covalents

↪ **Stœchiométrie** des complexes / états d'**oligomérisation**

↪ **Spécificité** d'interaction

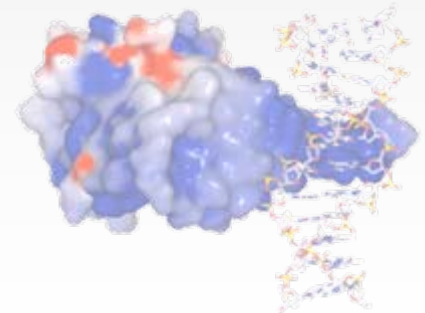
↪ **Affinité**

↪ **Coopérativité**

↪ **Stabilité** en phase gazeuse

↪ **Cinétique** de formation des complexes

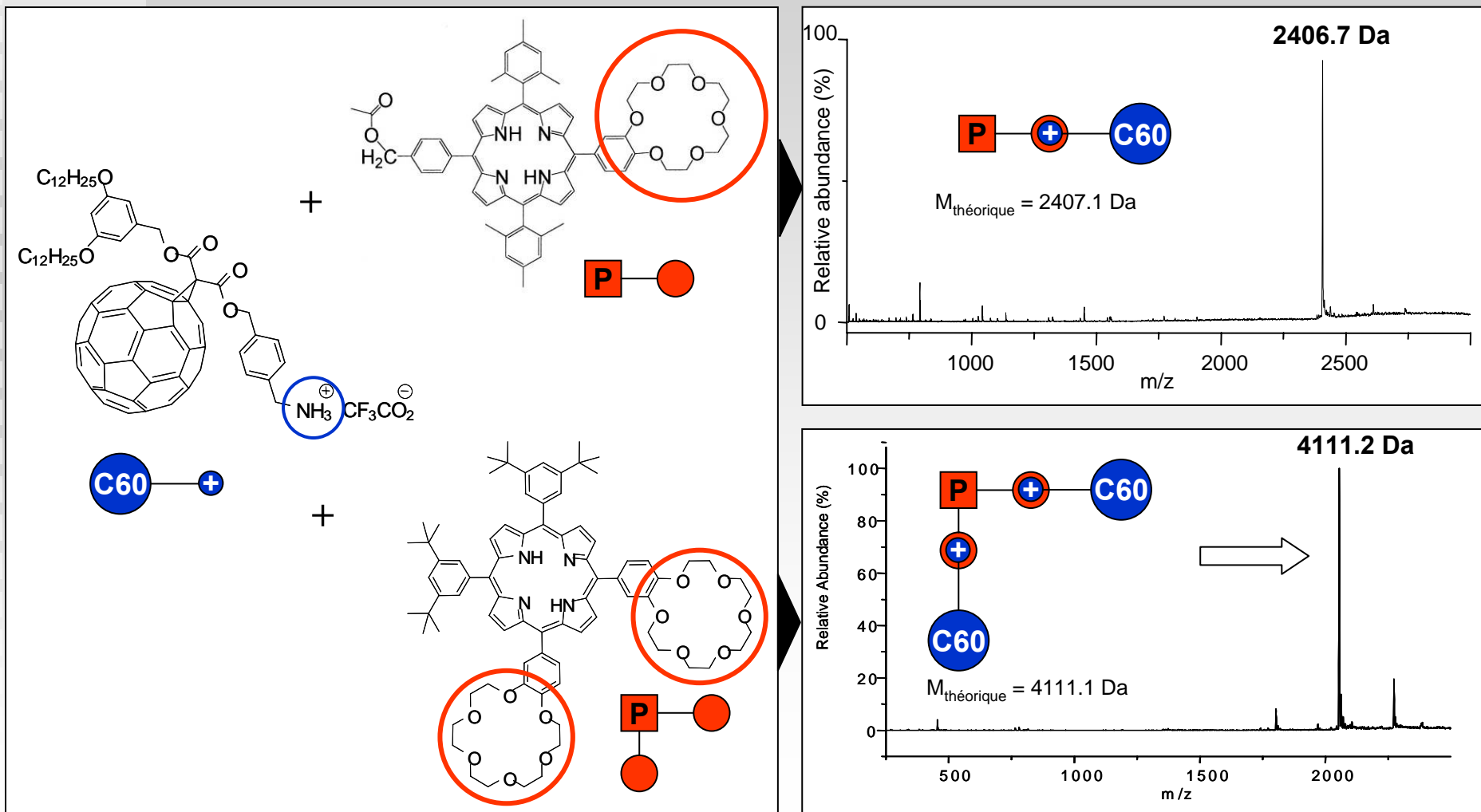
↪ ...



Stratégies en SM Supramoléculaire - stœchiométrie

⇒ Détermination de la **stœchiométrie** d'interaction en chimie

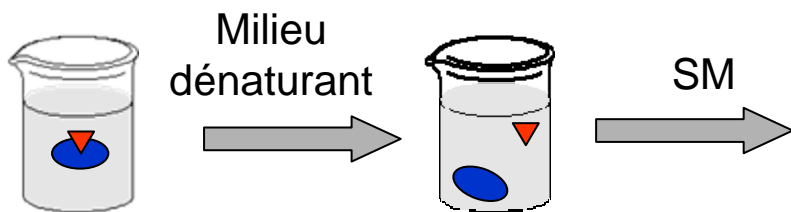
↳ Ligands de synthèse (porphyrine – fullerène)



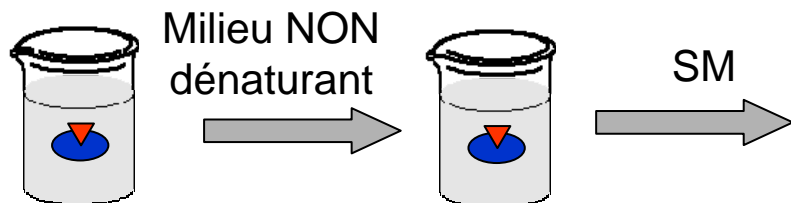
Stratégies en SM Supramoléculaire - stœchiométrie

⇒ Détermination de la **stœchiométrie** d'interaction en biologie

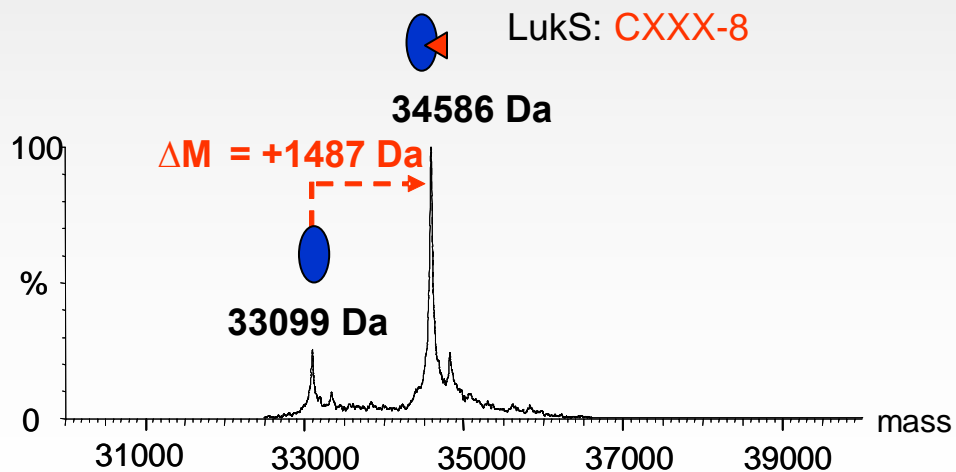
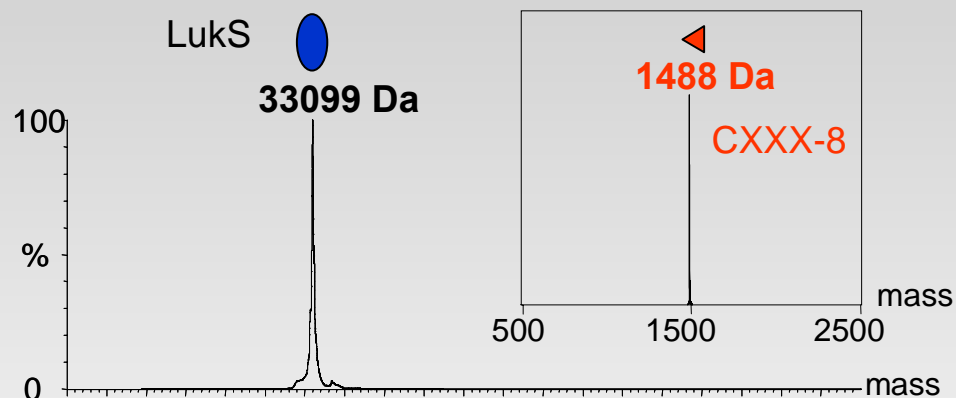
1. Analyse du complexe en conditions **dénaturantes**



2. Analyse du complexe en conditions **NON dénaturantes**



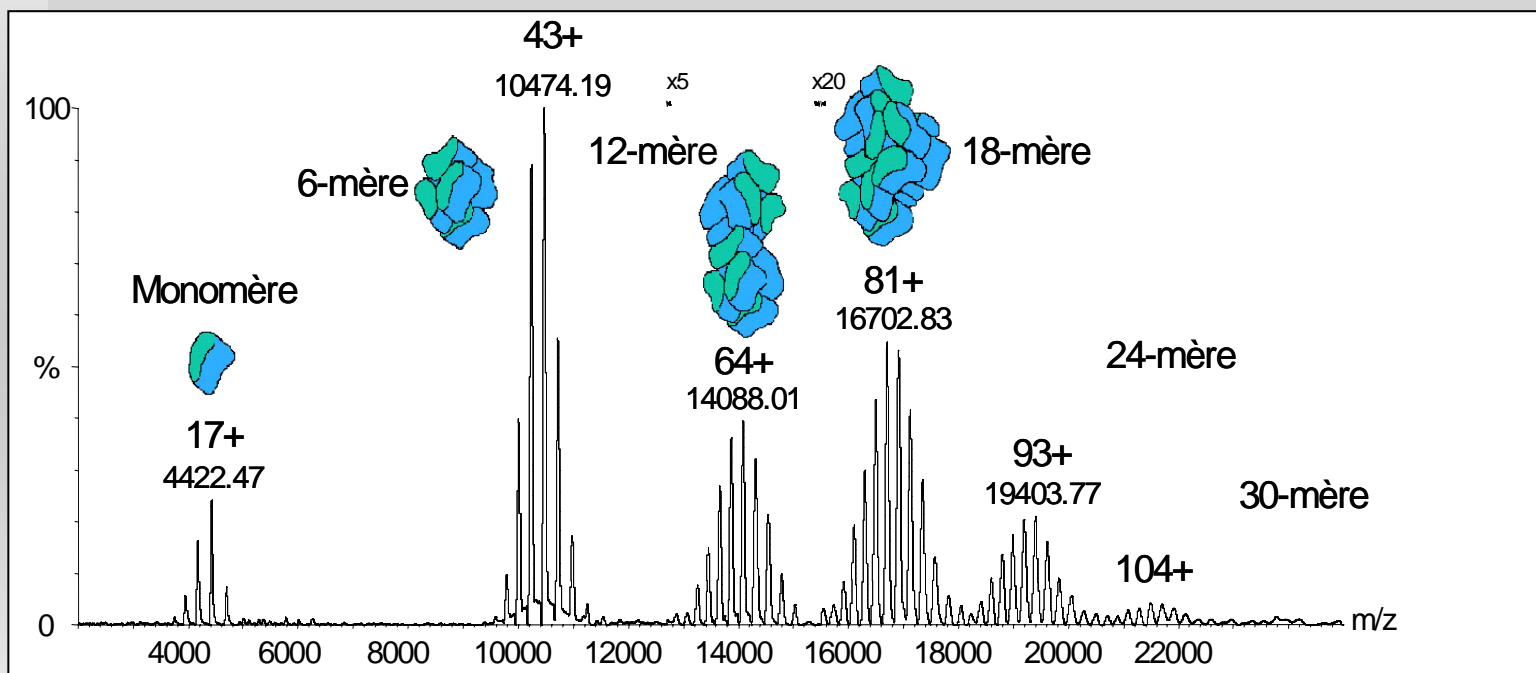
3. Interprétation : **Existence** et **Stœchiométrie** du complexe



Stratégies en SM Supramoléculaire - stœchiométrie

⇒ Détermination de la **stœchiométrie** d'interaction – autre exemple

↪ Complexes multi-protéiques (hémocyanines)

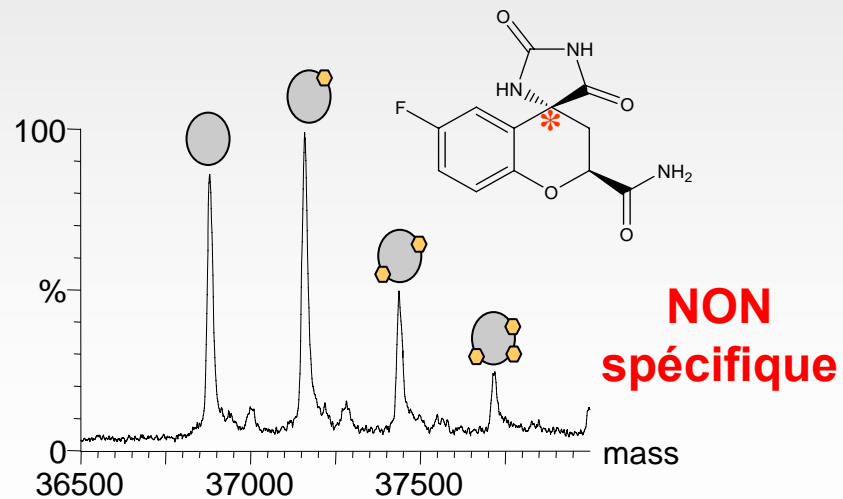
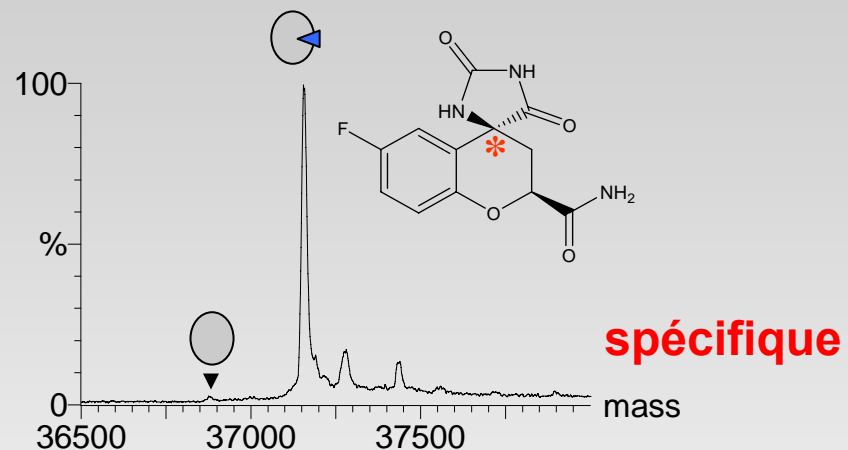
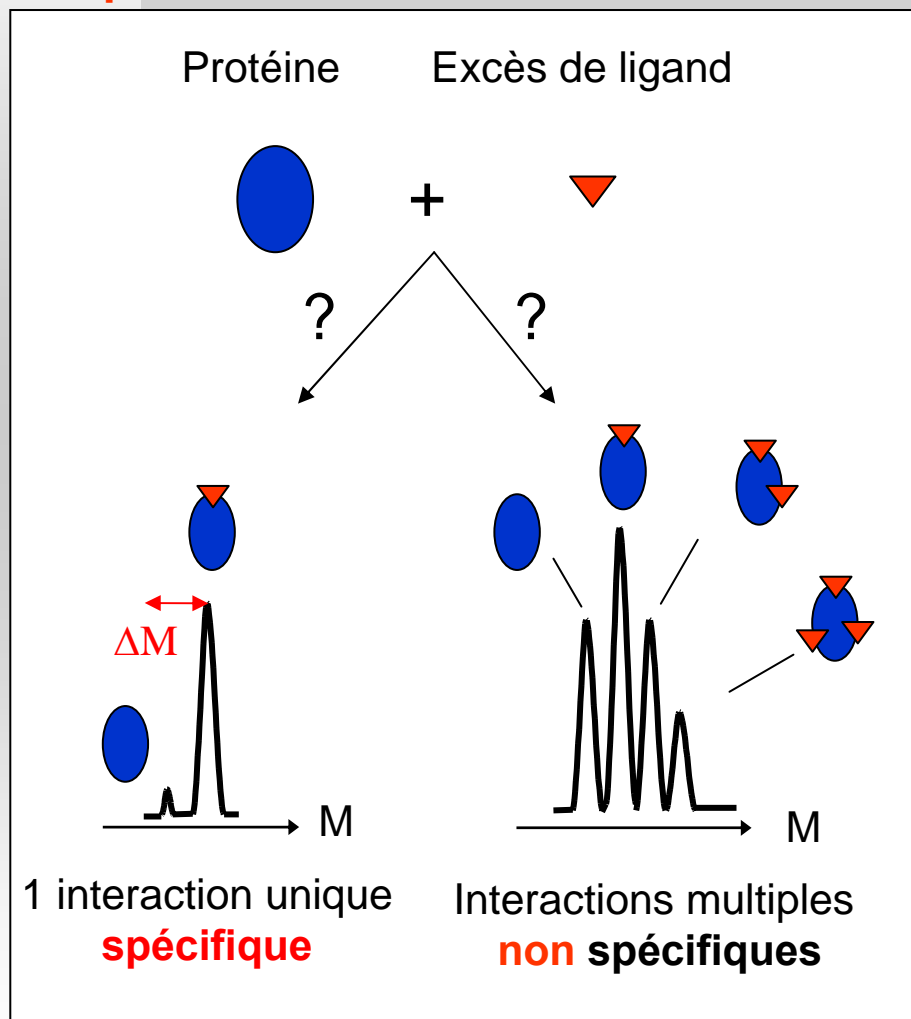


Oligomère	M (Da)
Monomère	75 075 ± 74
6-mère	450 166 ± 31
12-mère	901 461 ± 180

Oligomère	M (Da)
18-mère	1 352 479 ± 217
24-mère	1 765 685 ± 831
30-mère	2 341 267 ± 2177

Stratégies en SM Supramoléculaire - spécificité

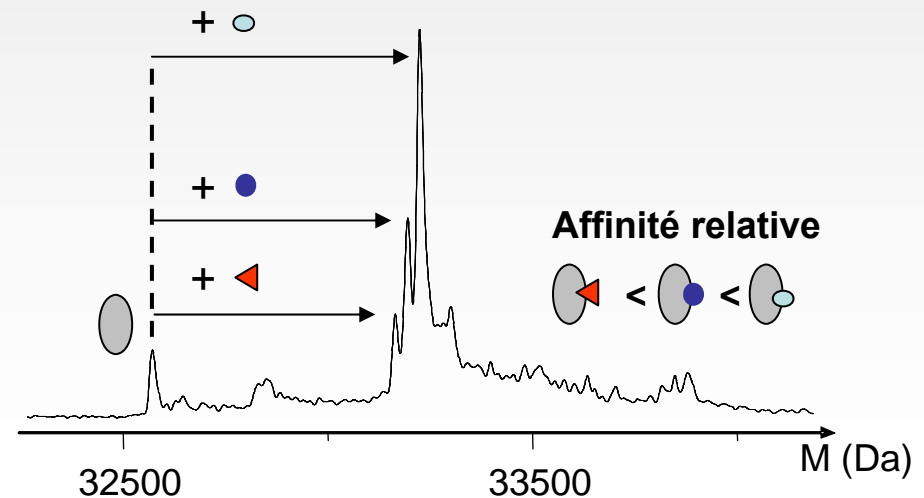
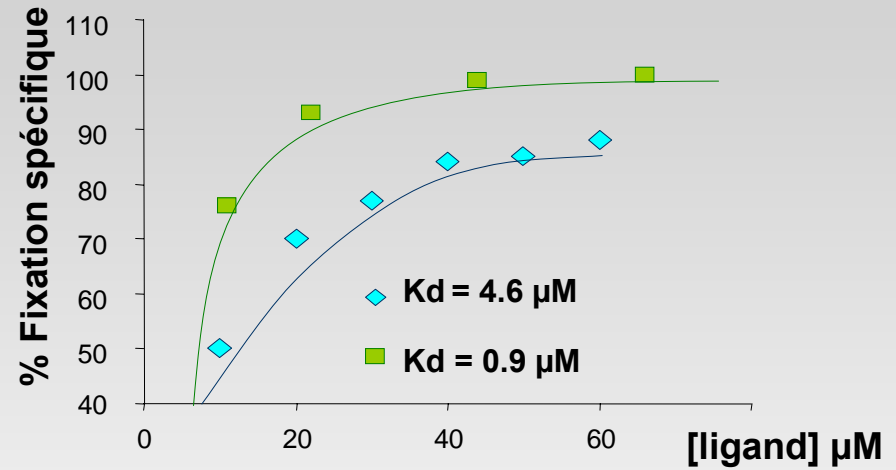
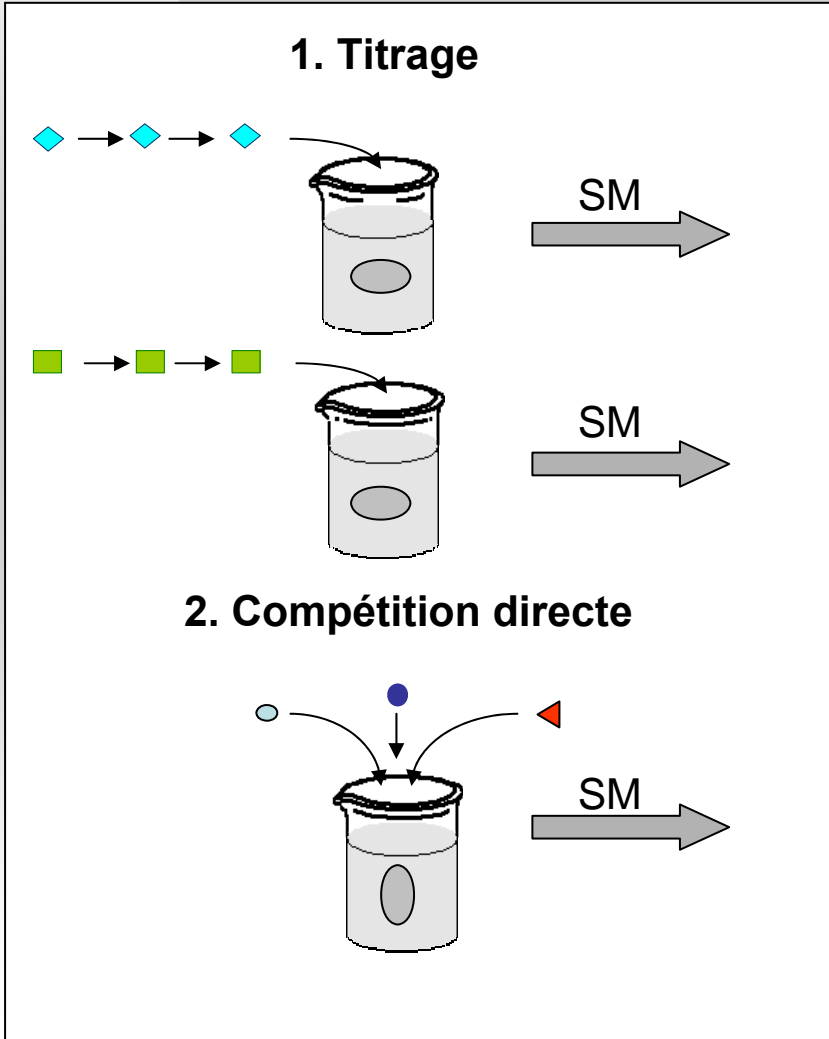
⇒ Spécificité d'interaction



Thèse ULP - G.Chevreur 2005

Stratégies en SM Supramoléculaire - affinité

⇒ Affinité des complexes



A retenir...

Avantages :

- ⇒ **Caractérisation d'édifices non-covalents de différentes natures**
 - ↳ de quelques dizaines à plusieurs millions de Da
 - ↳ métaux, petites molécules, peptides, protéines, ARN, ADN, ...
- ⇒ **Visualisation directe** des espèces présentes en solution
 - ↳ pas de modélisation des données expérimentales
 - ↳ pas de label (ex : fluorescence)
 - ↳ idéal pour les systèmes complexes (nombreux partenaires)

Les conditions à respecter :

- ⇒ **Conditions expérimentales particulières (tampon, échantillon ionisable)**
- ⇒ **Conditions instrumentales particulières : optimisation**
- ⇒ **Expériences de contrôle**

Pour nous contacter...

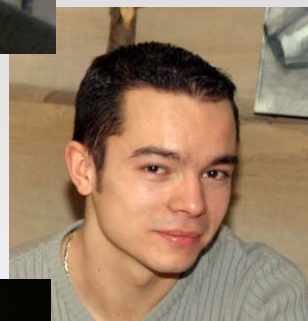
Alain VAN DORSSELAER (DR)

vandors@chimie.u-strasbg.fr



Sarah SANGLIER (CR)

ssangli@chimie.u-strasbg.fr



Cédric ATMANENE

catmanene@chimie.u-strasbg.fr



Daniel AYOUB

dayoub@chimie.u-strasbg.fr

Laboratoire de
Spectrométrie de Masse
Bio-Organique (LSMBO)
ECPM Bât. R5-0
25, Rue Becquerel
67087 Strasbourg