



Application de la SBSE au domaine des métabolomics-GC-MS

Lucie JORGE

20 janvier 2011

Kennedypark 26
8500 Kortrijk - Belgium

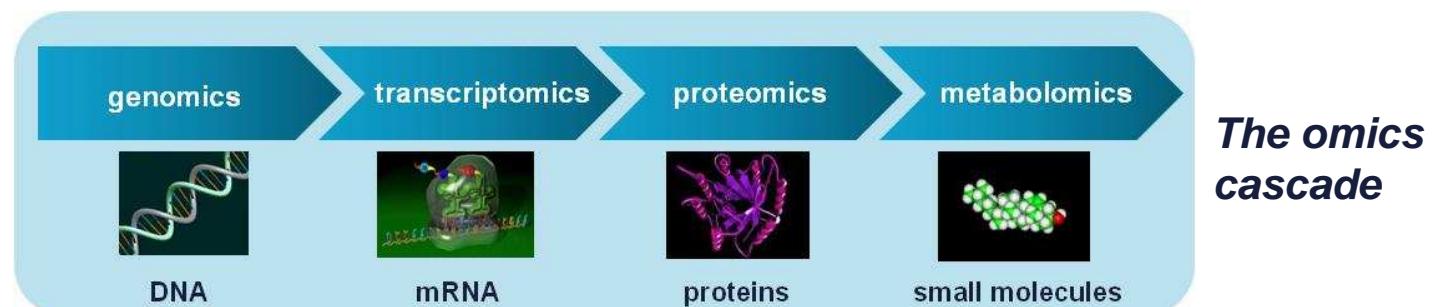
T +32 (0)56 20 40 31
F +32 (0)56 20 48 59

info@metablys.com
www.metablys.com



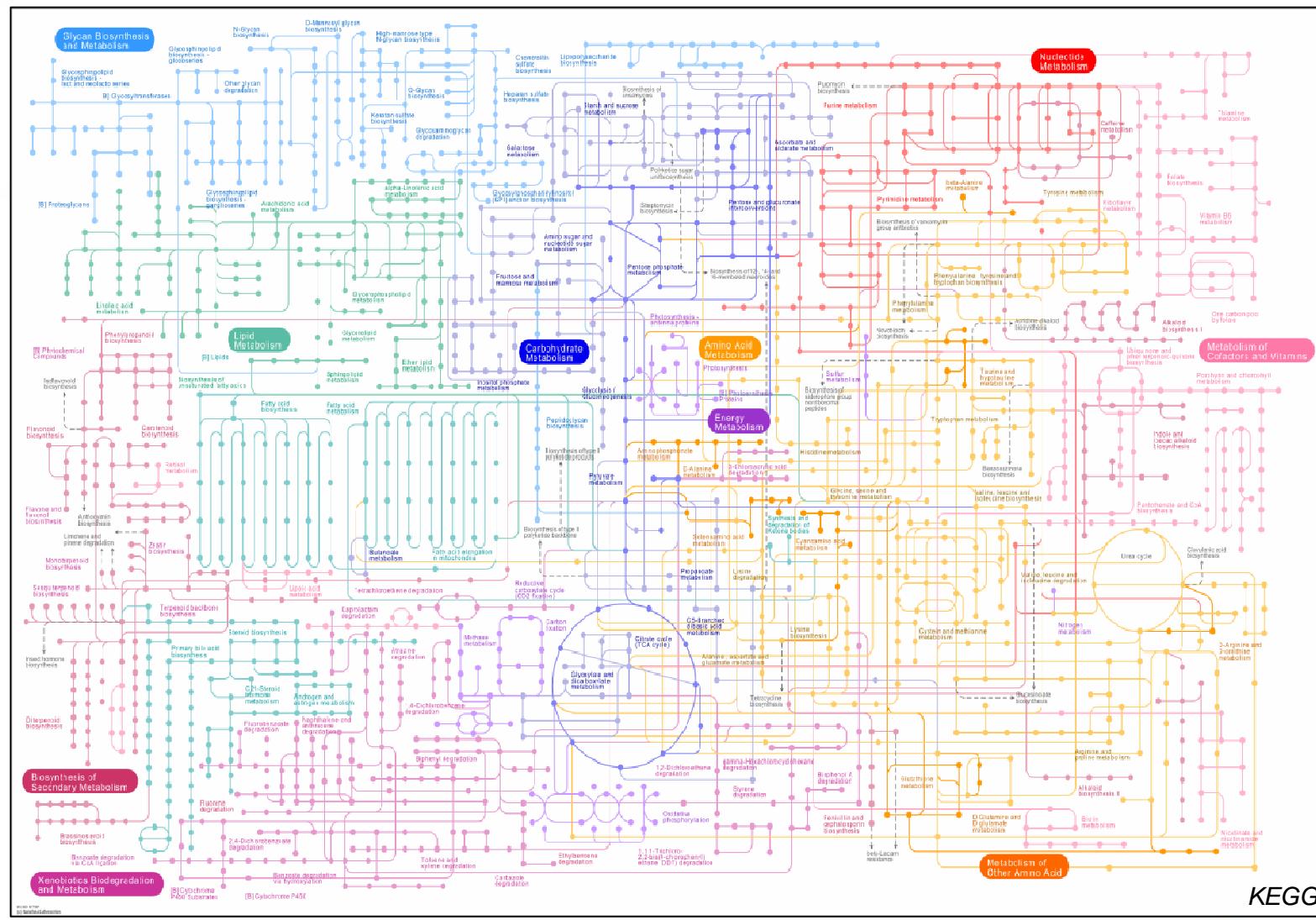
Que sont les métabolomics?

- Les métabolomics: « nouveaux venus » des sciences de la vie:



- Etudes des composés plus petits dans des cellules, tissus, fluides biologiques...
- But: trouver une réponse spécifique à des stimuli variés
- L'information obtenue peut alors être utilisée pour des diagnostics, des développements de médicaments...

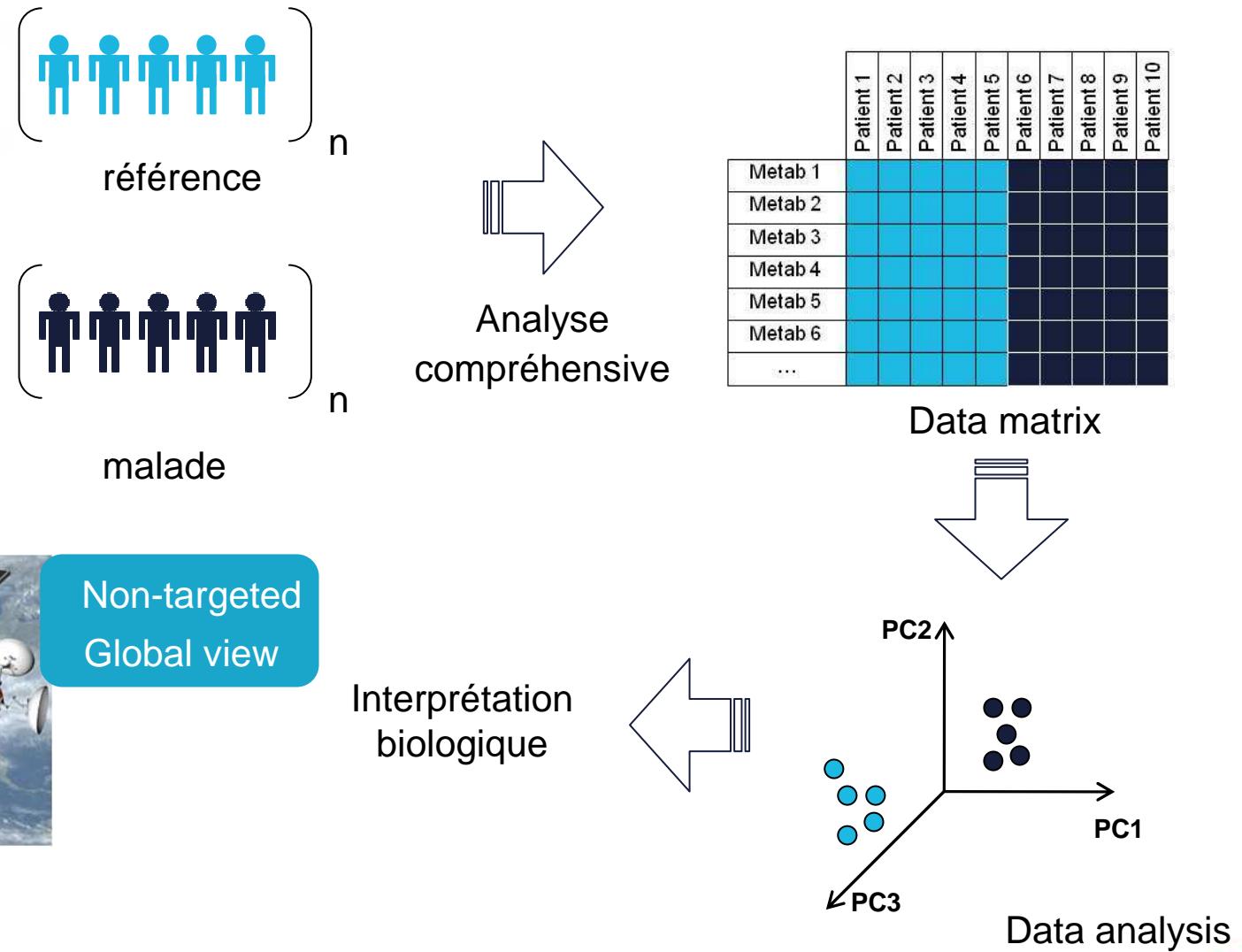
Que sont les métabolomics?



Métabolomics: analyse non ciblée/indépendante



www.metablys.com





Analyse métabolomique: un challenge

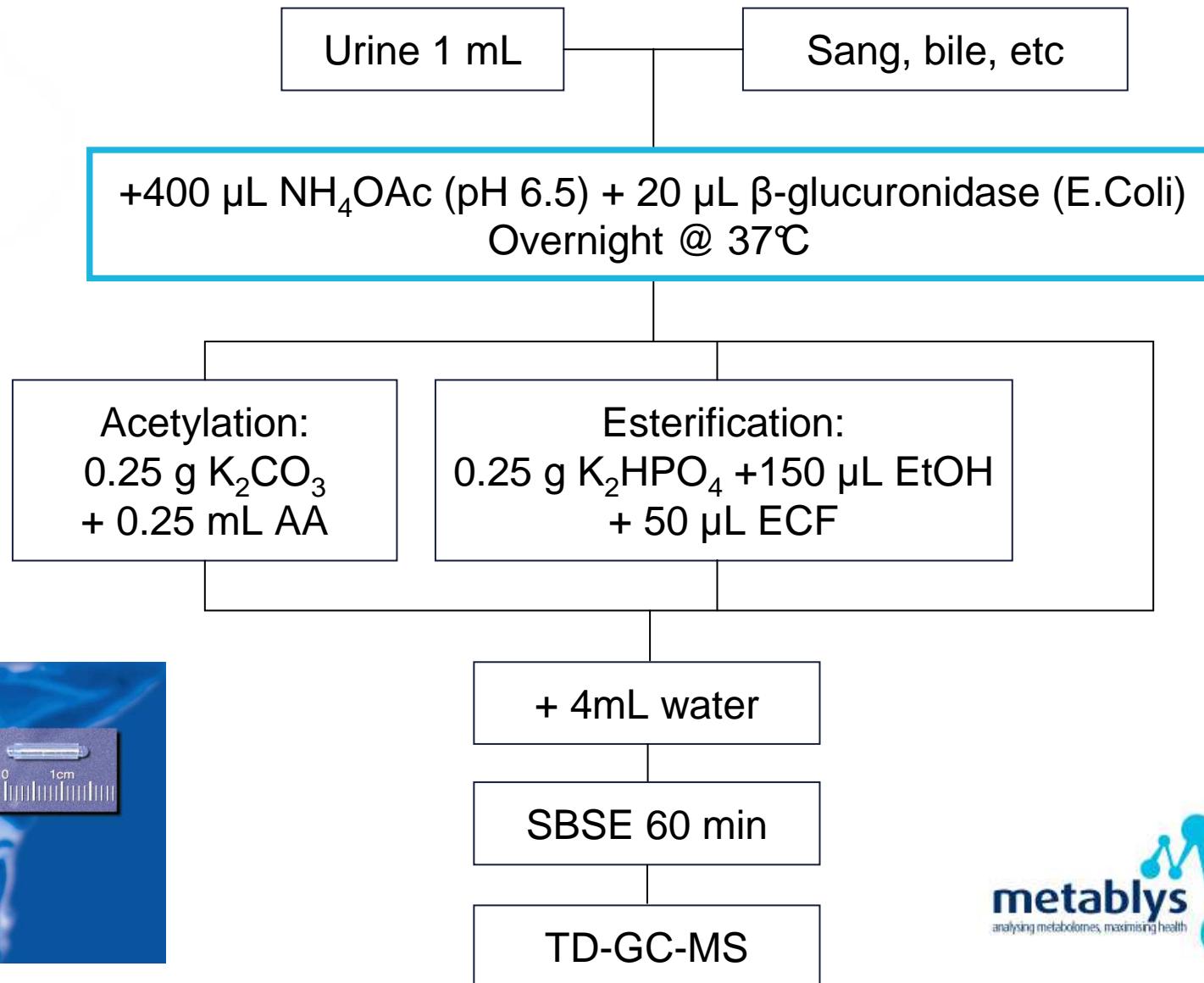
- Le métabolome humain représente **plusieurs milliers** de métabolites.
- Métabolites de natures très variées:
 - Charges: positive, négative, non chargé
 - Lipophile/Hydrophile
 - Faible masse moléculaire/forte masse moléculaire
 - Volatile/Semivolatile/Non-volatile
 - ...
- Large gamme de concentrations (mM-pM)



SBSE et métabolomics: les avantages

- Automatisation
- Diminution importante des sources de contamination
 - moins d'étapes dans la préparation d'échantillon
- Analyse de très faibles volumes avec une très grande sensibilité
- Détection de composés de natures variées.

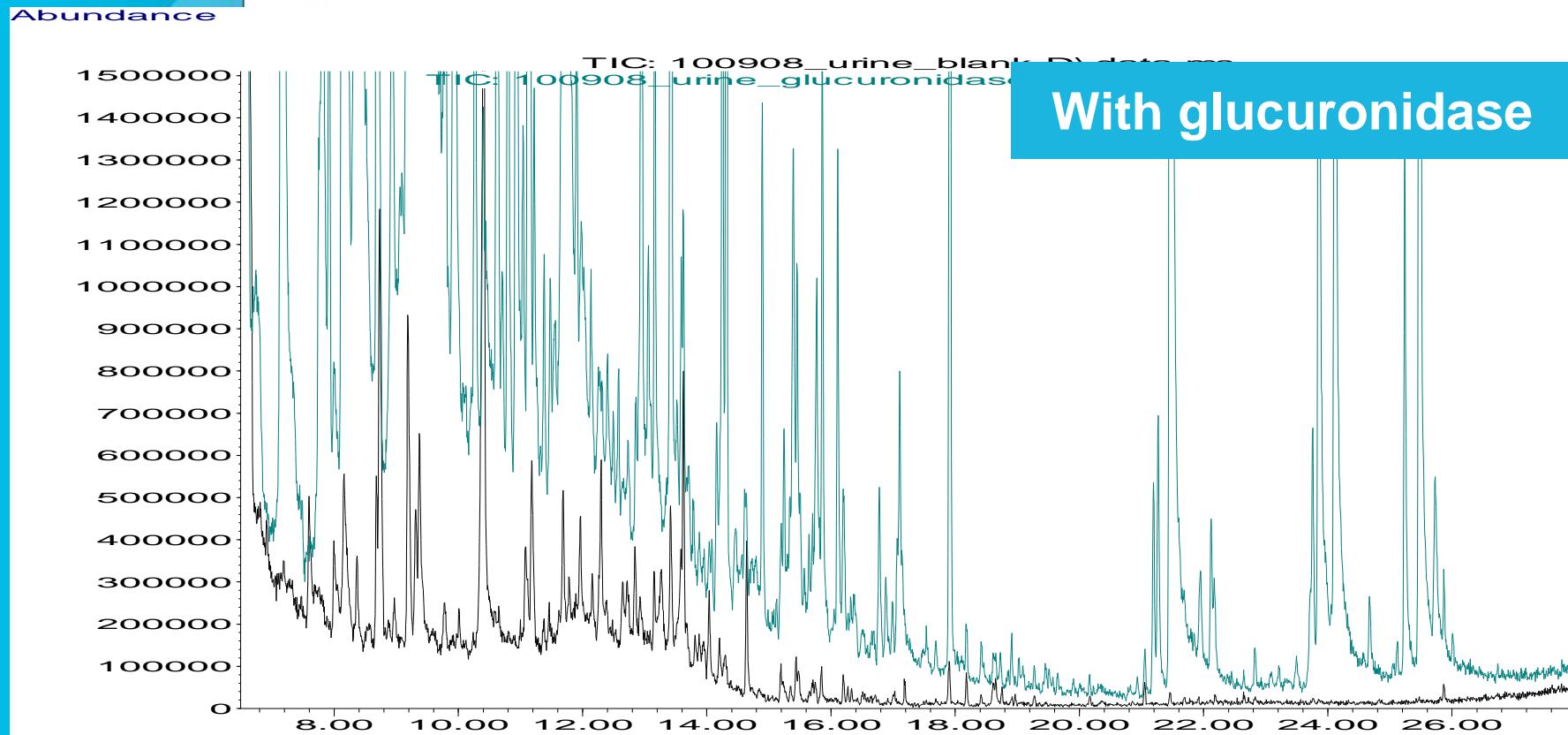
Préparation d'échantillons



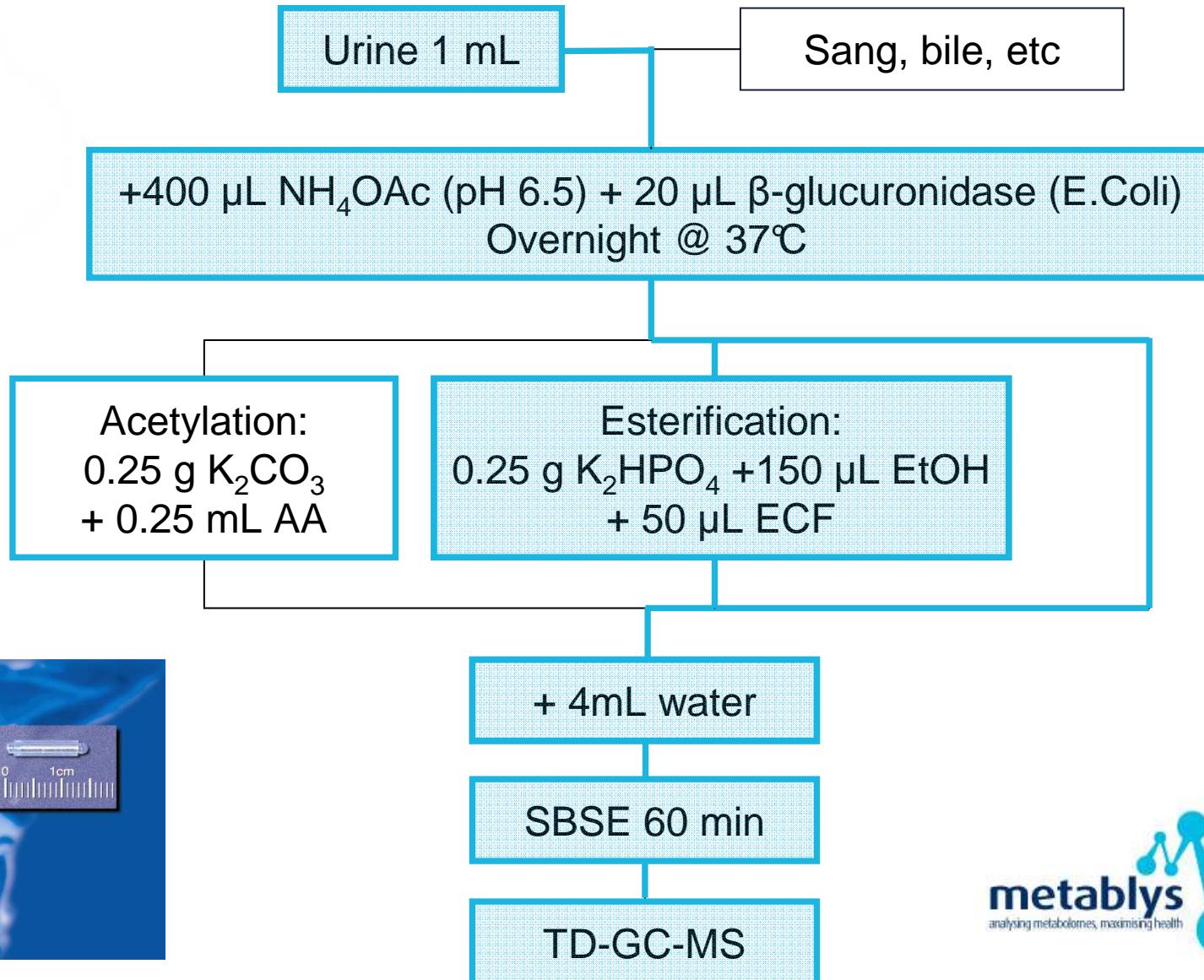


Importance de l'hydrolyse enzymatique

- Analyse 1 mL d'urine



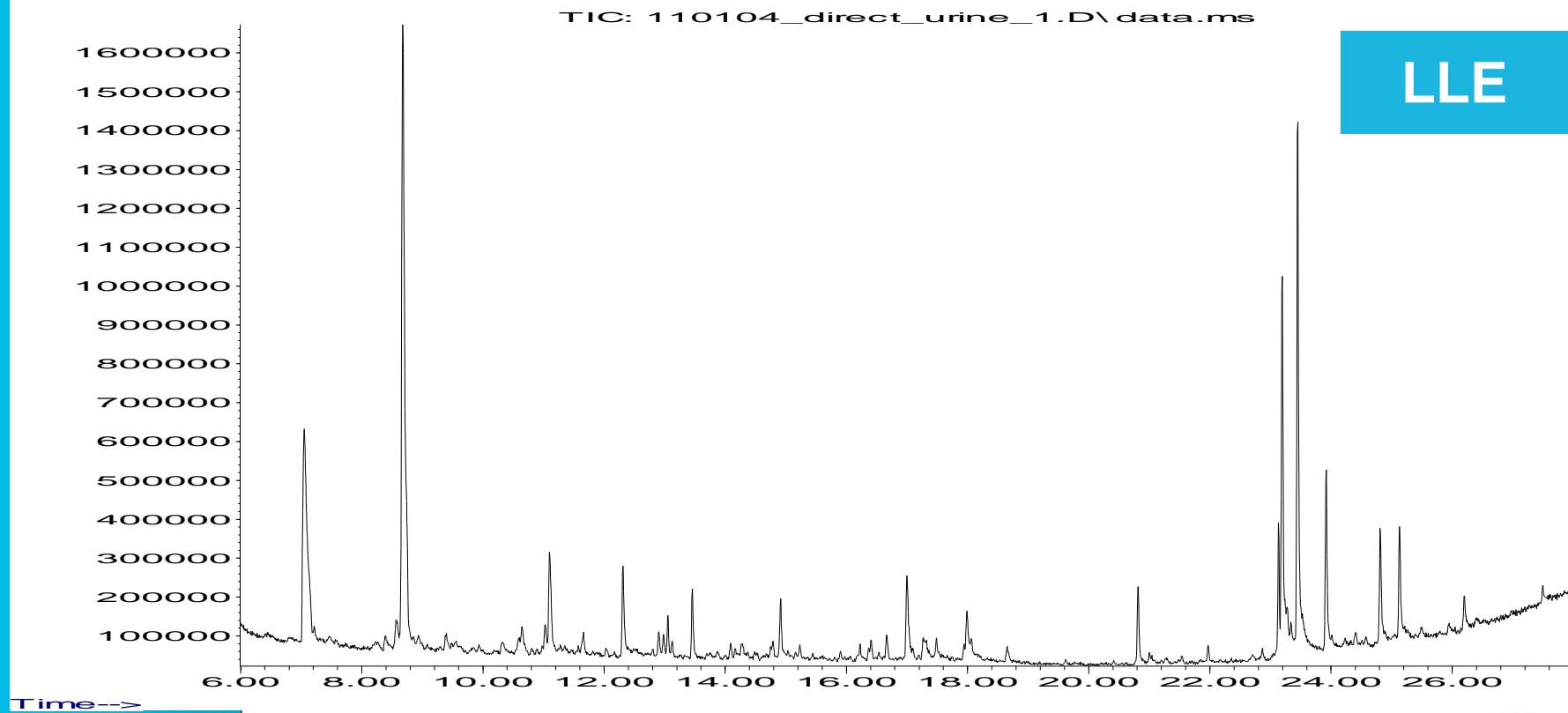
Préparation d'échantillons





Comparaison SBSE et extraction liquide

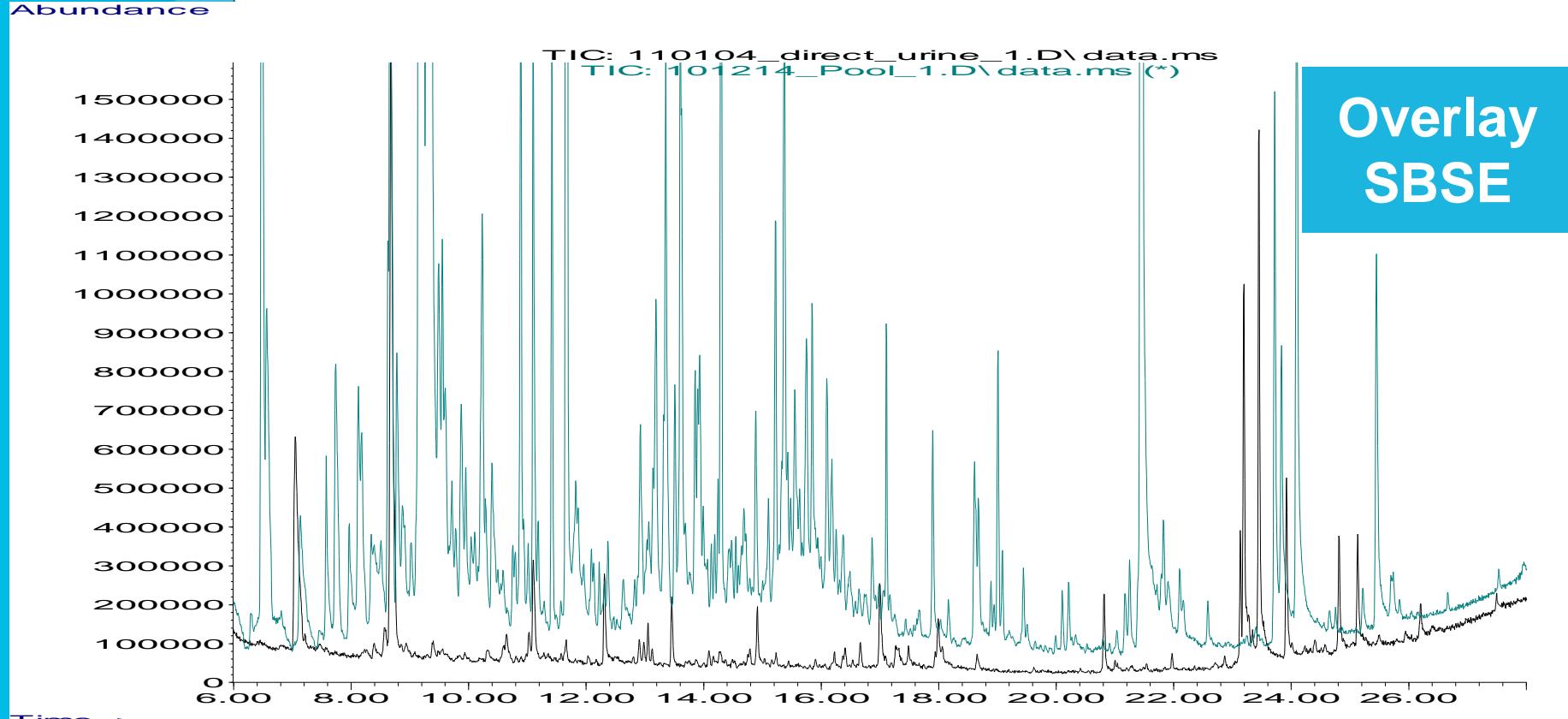
- Analyse 1 mL d'urine





Comparaison SBSE et extraction liquide

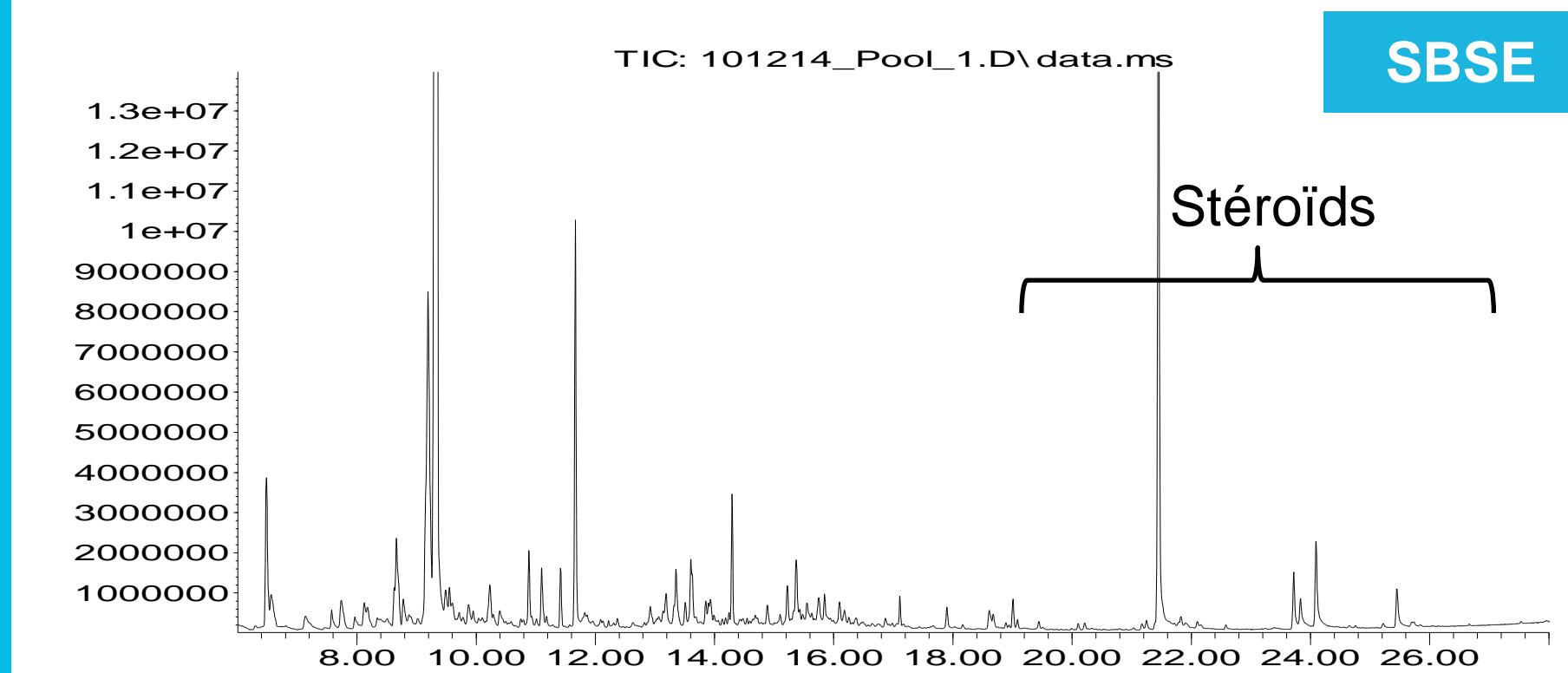
- Analyse 1 mL d'urine





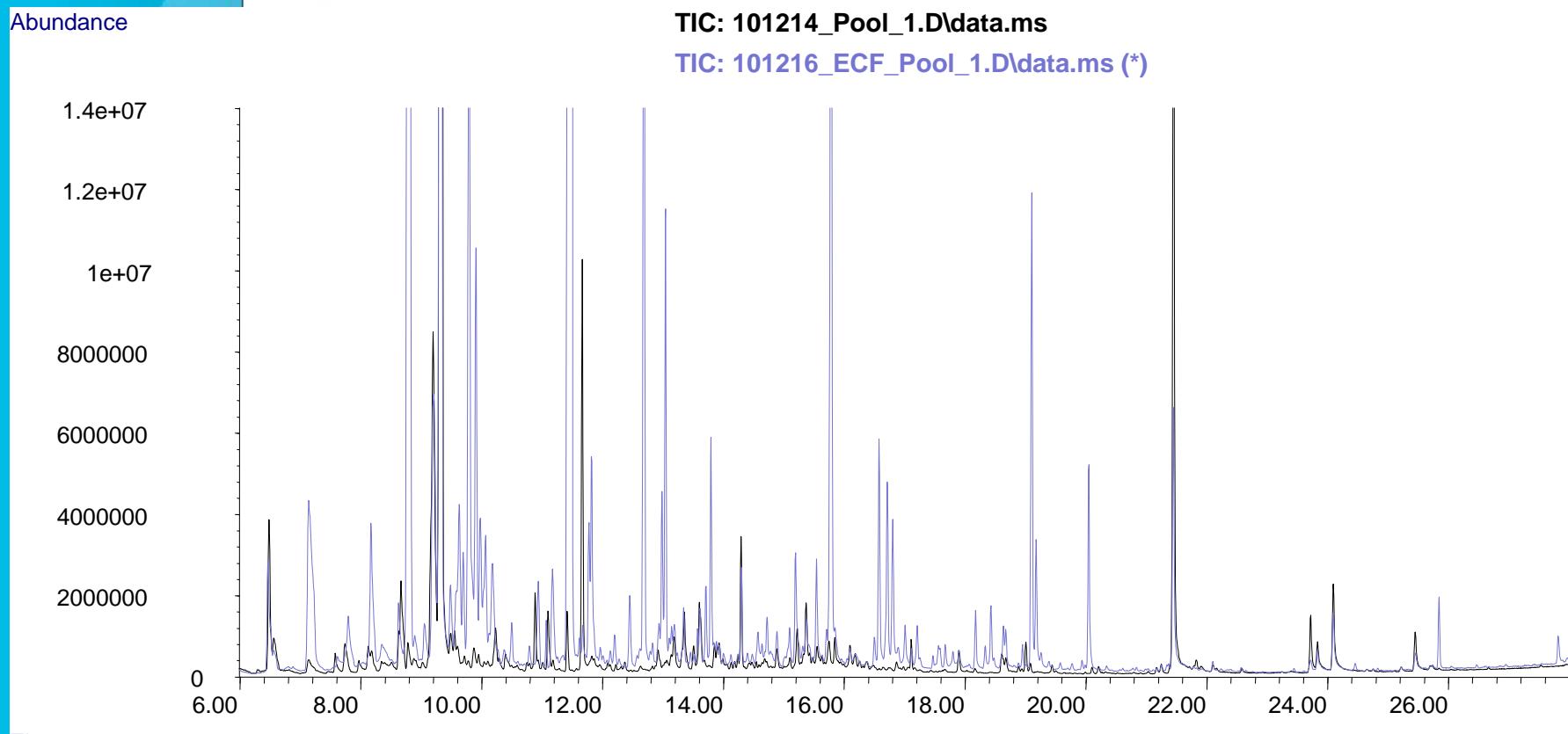
Comparaison SBSE et extraction liquide

- Analyse 1 mL d'urine - SBSE



Combinaison dérivation et SBSE

- Dérivation de l'échantillon avant extraction SBSE:
 - Ethyl-esterification (éthylchloroformate)



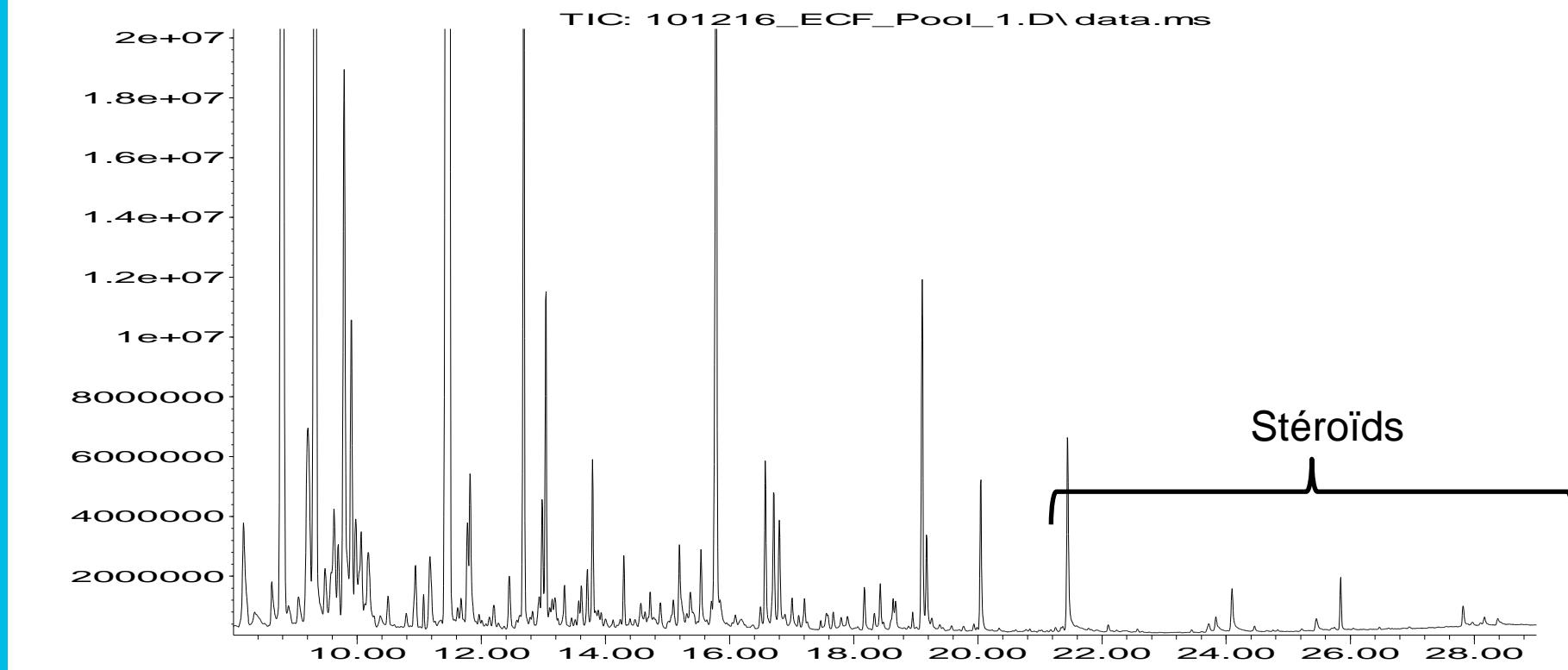


Combinaison dérivation et SBSE

- Estérification

- $\text{-CO-OH} \rightarrow \text{-CO-O-Ethyl}$
- $\text{-NH}_2 \rightarrow \text{-NH-CO-O-Ethyl}$

} Dérivation des acides organiques,
acides aminés



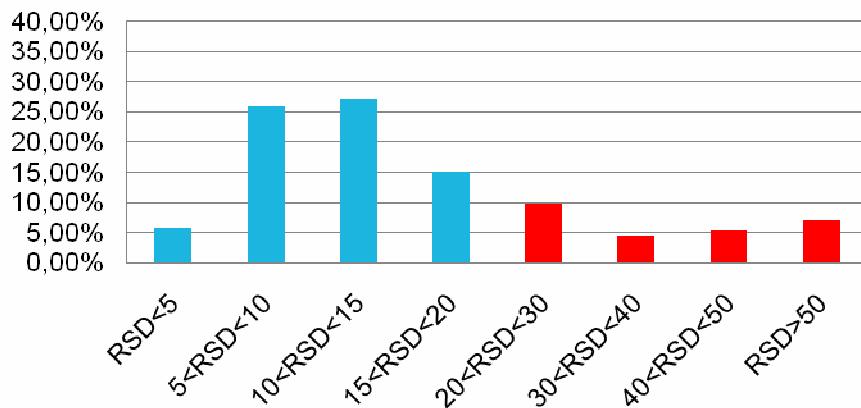
www.meta

Détection de composés plus polaires, avec une
bonne sensibilité

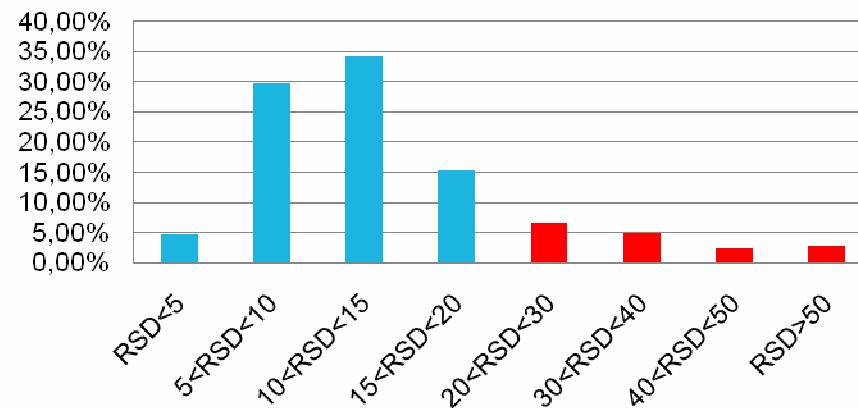
Performance SBSE: reproductibilité

- Echantillon extrait et analysé 5 fois:
 - Extraction SBSE (5 Twisters différents)
 - Extraction liquide (LLE)

SBSE (421 pics)



LLE (410 pics)

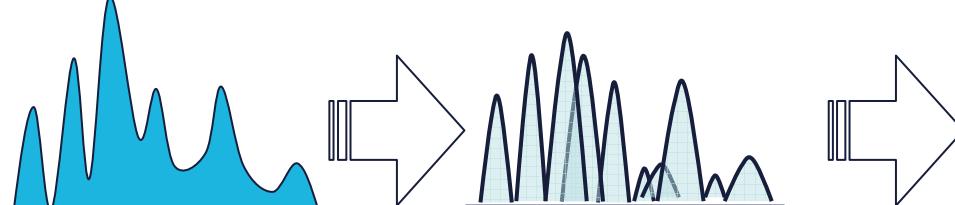


Dans les 2 cas, ~75% RSD inférieures à 20%

Avantage SBSE:
pics avec des intensités plus élevées

Métabolomics: analyse des données

- Utilisation d'algorithmes pour l'extraction d'entités dans le chromatogramme
- Une entité est composée de 3 informations:
 - Un temps de rétention
 - Une masse
 - Une intensité



GC-MS

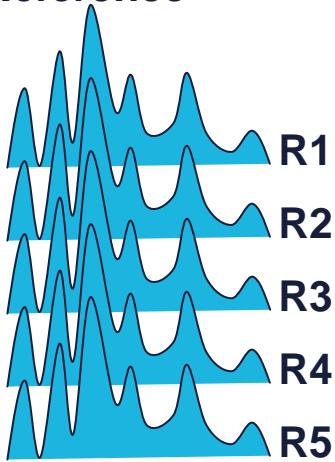
Extraction d'entités
algorithm
(AMDIS, XCMS)

	Ret Time	Mass	Intensity
Entité 1	10	400	10000
Entité 2	11	510	15000
Entité 3	12	250	20000
Entité 4	12.5	155	15000
Entité 5	14	225	12500
Entité 6	15	350	2000
...	...		



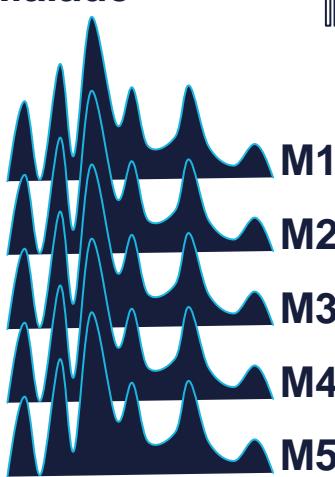
Analyse des données

Référence



	R1
Enti	R2
Enti	R3
Enti	R4
Enti	R5
Enti	Entité 1 1000
Enti	Entité 2 520
Enti	Entité 3 690
Enti	Entité 4 1250
Enti	Entité 5 500
Enti	Entité 6 1060
...	...

Malade

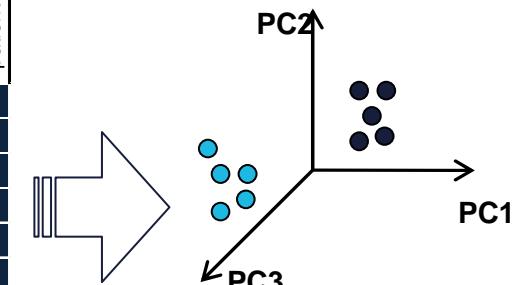


	M1
Enti	M2
Enti	M3
Enti	M4
Enti	M5
Enti	Entité 1 1000
Enti	Entité 2 520
Enti	Entité 3 690
Enti	Entité 4 1250
Enti	Entité 5 500
Enti	Entité 6 1060
...	...

Extraction des entités

	patient 1	patient 2	patient 3	patient 4	patient 5	patient 6	patient 7	patient 8	patient 9	patient 10
Entité 1	■■■■■									
Entité 2		■■■■■								
Entité 3	■■■■■									
Entité 4	■■■■■									
Entité 5	■■■■■									
Entité 6	■■■■■									
...

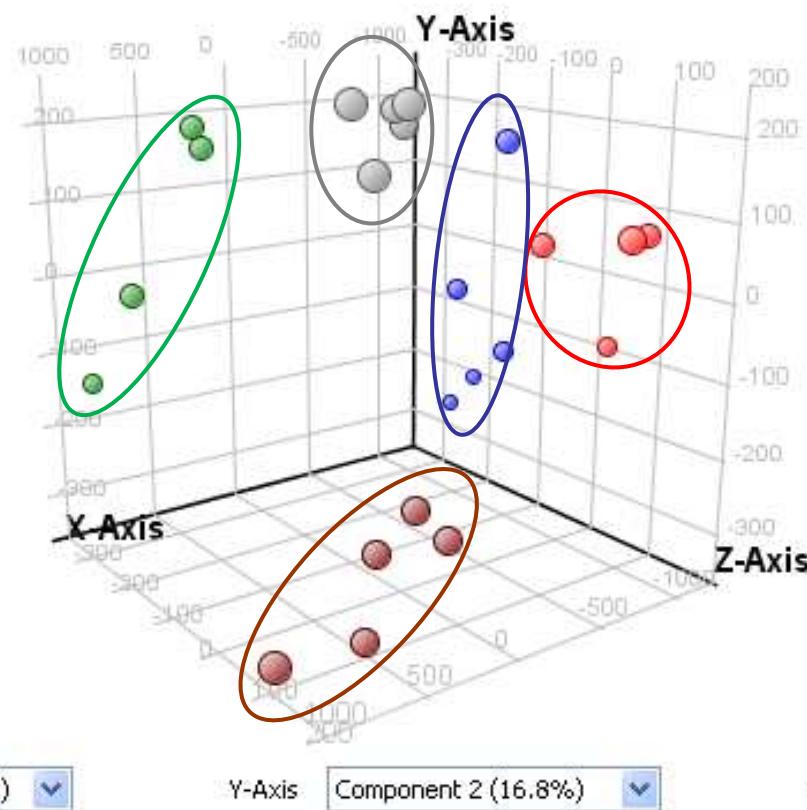
Alignment,
normalisation, sélection
(MassProfilerPro)



Analyse statistique
(MassProfilerPro)

Application à l'analyse d'urine

- Analyse de 18 échantillons de 4 personnes, 5 jours



Homme A
Femme A
Homme B
Femme B

Controle

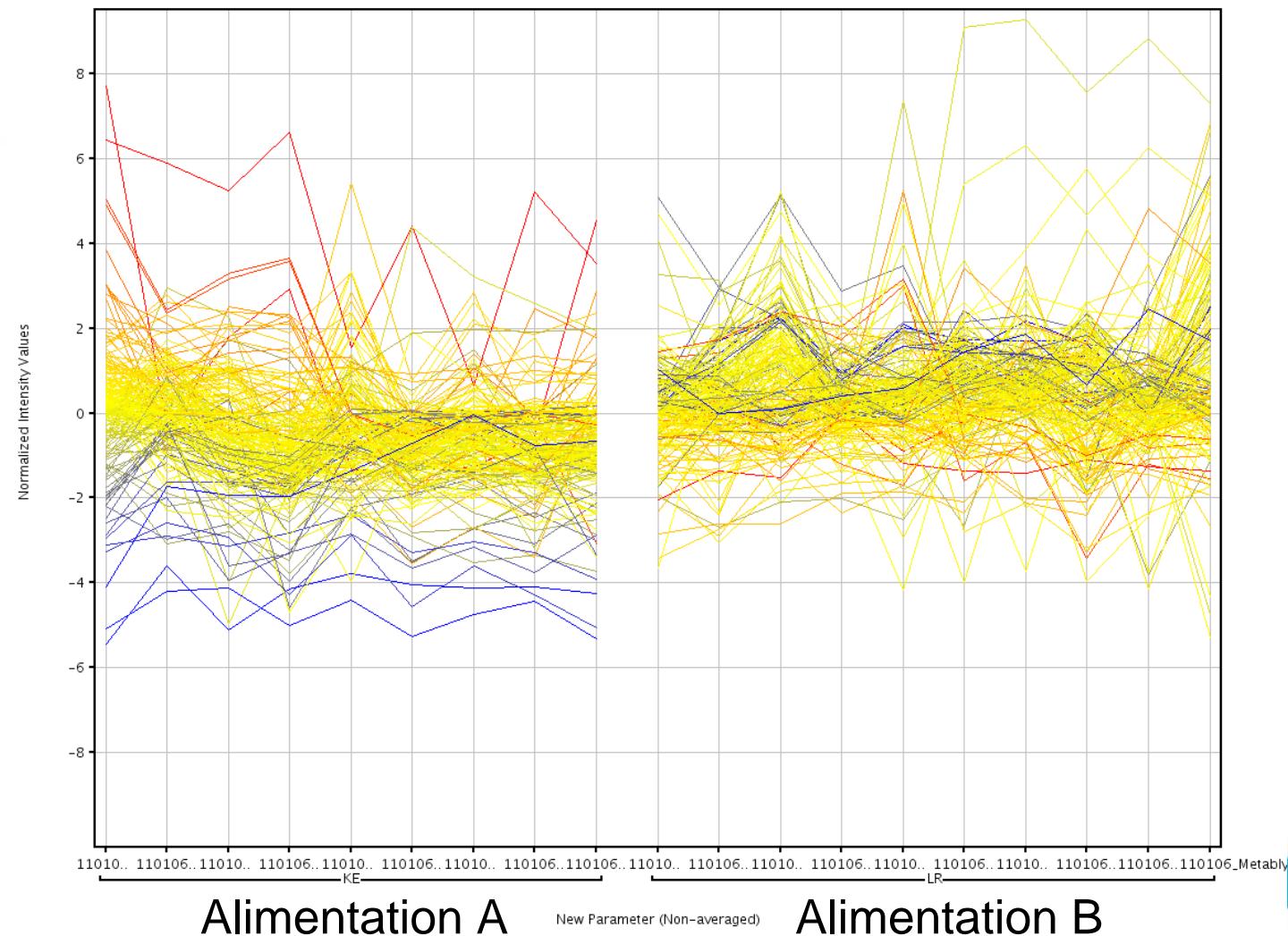
X-Axis Component 1 (60.72%)

Y-Axis Component 2 (16.8%)

Z-Axis Component 3 (13.2%)

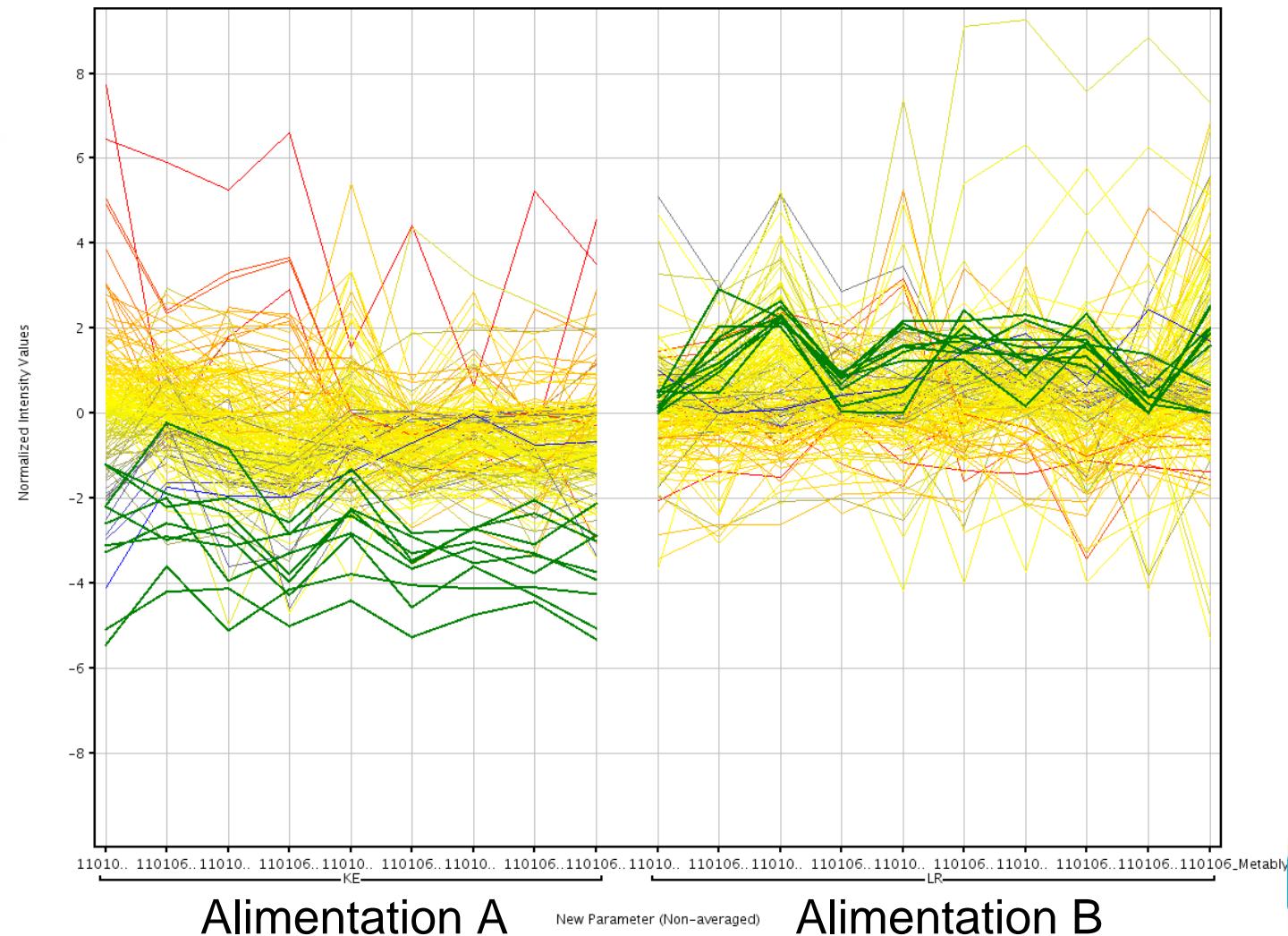
Application à l'analyse d'urine

- Total des entités présentes dans tous les échantillons



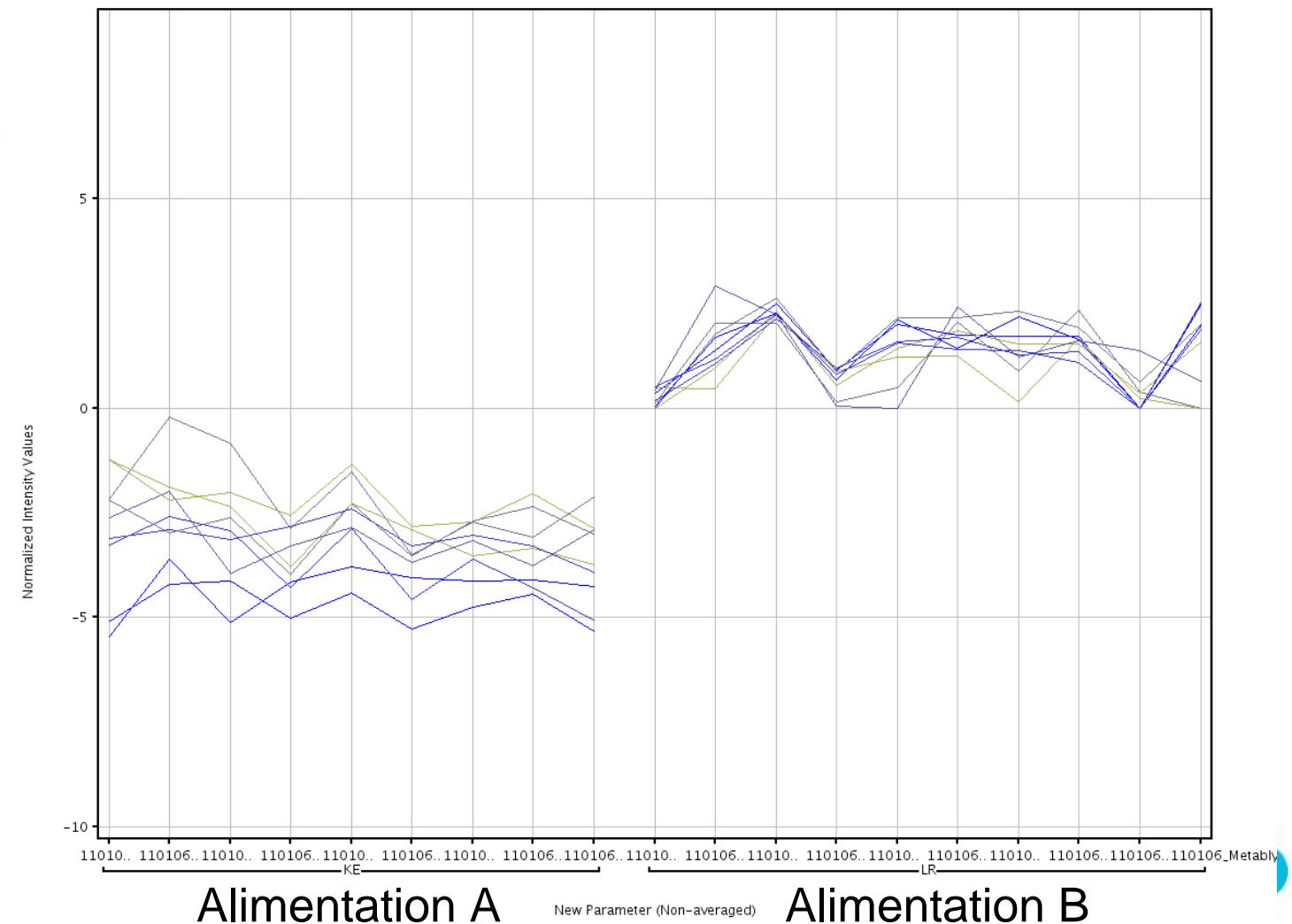
Application à l'analyse d'urine

- T-test: mise en évidence des entités différentes: Alimentation A vs Alimentation B



Application à l'analyse d'urine

- T-test: mise en évidence des entités différentes: Alimentation A vs Alimentation B





Conclusion

- SBSE et métabolomics:
 - Analyse d'échantillons de volumes très petits
 - Détection de concentrations très faibles
 - Très bonne reproductibilité
 - Analyse de composés apolaires
 - Analyse de composés plus polaires avec dérivation
- Etude métabolomics:
 - Démarche fonctionne, petites différences visibles
 - Future application à des échantillons « réels »
(diabète vs non malade)

Merci pour votre attention