

## Analyse des protéomes par MALD-LI-TOF MS/MBD : Utilisation de cartes peptidiques bidimensionnelles, dipolaire et massique, pour la caractérisation à haut débit de protéomes fonctionnels

[http://lasim.univ-lyon1.fr/recherche/deba/Proteomique\\_&\\_MS\\_MBD.html](http://lasim.univ-lyon1.fr/recherche/deba/Proteomique_&_MS_MBD.html)

### CONTEXTE

Un défi majeur posé par l'après-séquençage des génomes est l'identification massive des protéines exprimées dans un contexte donné, ou protéome. Toutefois, aucune méthode ou instrument n'est capable à l'heure actuelle d'identifier et de quantifier en une seule étape les composants d'un échantillon complexe de protéines. Toutes les approches proposées, qu'elles soient couplées ou non à des méthodes séparatives, n'exploitent que la seule mesure de masse pour l'identification des protéines. Une approche alternative et complémentaire à la masse, utilisant d'autres propriétés physiques des protéines permettrait une levée de verrous méthodologiques limitant les techniques usuelles de spectrométrie de masse.

### OBJECTIFS

Le dipôle électrique d'un peptide, à côté de sa masse, constitue une autre caractéristique physique discriminante, qui dépend fortement de sa composition et de sa conformation. Des mesures au sein d'une expérience unique donnant simultanément les informations de masse et de moment dipolaire, sont ainsi à même de définir une double signature des mélanges de peptides.

L'objectif général de ce projet est de développer une technique permettant l'identification univoque à haut débit des protéines, à partir de cartes peptidiques bidimensionnelles, dipolaire et massique, que les protéines contiennent ou non des peptides habituellement contre-sélectionnés comme les peptides hydrophobes ou phosphorylés.

Plusieurs objectifs particuliers sont associés à ce projet :

- la constitution d'une banque de données de cartes peptidiques dipolaire et massique et des outils bioinformatiques nécessaires à son interrogation,
- l'établissement de relations entre la séquence d'un peptide et son moment dipolaire,
- l'évaluation du gain d'identification par rapport aux techniques MALDI-TOF usuelles et des perspectives ouvertes en termes d'analyse directe de mélanges complexes.

### PROJET

- Construction d'un montage de déflexion électrique adapté aux mesures haut débit (source MALD, déflecteur électrique, ionisation par laser, spectromètre de masse).
- Réalisation de cartes peptidiques dipolaire et massique pour un ensemble de protéines,
- Mise au point de procédés d'interrogations de banques de données utilisant ces cartes,
- Évaluation des méthodes retenues en termes de gain d'identification.

### RESULTATS

- Validation de la méthode MS/MBD [1]
- Mise en place d'une détection adaptée au haut débit [2]
- Construction d'une source haut débit (en cours)

### CALENDRIER

Montpellier	Septembre 2003	Finalisation du projet et définition des tâches
Lyon	3 Février 2004	Finalisation des dessins du prototype multi-échantillons et démarrage de la construction
Lyon	8-9 novembre 2004	à l'occasion de la conférence Proteomics 2004 à Gerland) Bilan d'avancement du projet Choix des mélanges peptidiques utilisés pour les premiers tests
2005		Analyse des premiers résultats

### LABORATOIRES IMPLIQUES

Laboratoire de Spectrométrie Ionique et Moléculaire / UMR 5579 / Lyon  
Laboratoire de Protéomique / UR 1199 INRA / Montpellier

### MOTS CLES

Protéomique, spectrométrie de masse, déflexion électrique, cartes peptidiques bidimensionnelles dipolaire et massique.

### PUBLICATIONS PRINCIPALES

#### • Articles

[1] *Application of molecular beam deflection time-of-flight mass spectrometry to peptide analysis*

R. Antoine, I. Compagnon, D. Rayane, M. Broyer, P. Dugourd, N. Sommerer, M. Rossignol, D. Pippen, F. C. Hagemeister and M. F. Jarrold  
Anal. Chem. 75, 5512-5516 (2003).

[2] *Position sensitive detection coupled to high-resolution time-of-flight mass spectrometry: imaging for molecular beam deflection experiments*

M. Abd-El-Rahim, R. Antoine, L. Arnaud, M. Barbaire, M. Broyer, C. Clavier, I. Compagnon, P. Dugourd, J. Maurelli and D. Rayane  
Rev. Sci. Instrum. 75, 5221-5227 (2004).

#### • Affiches

[3] *Alternative tools for peptide analysis*

R. Antoine, I. Compagnon, D. Rayane, M. Broyer, P. Dugourd, N. Sommerer, M. Rossignol, D. Pippen, F. C. Hagemeister and M. F. Jarrold  
Proteomics: New insights and prospects  
Lyon (France) - 2004 (8-9 Novembre)

### EXPERIENCE ET CARTE PEPTIDIQUE

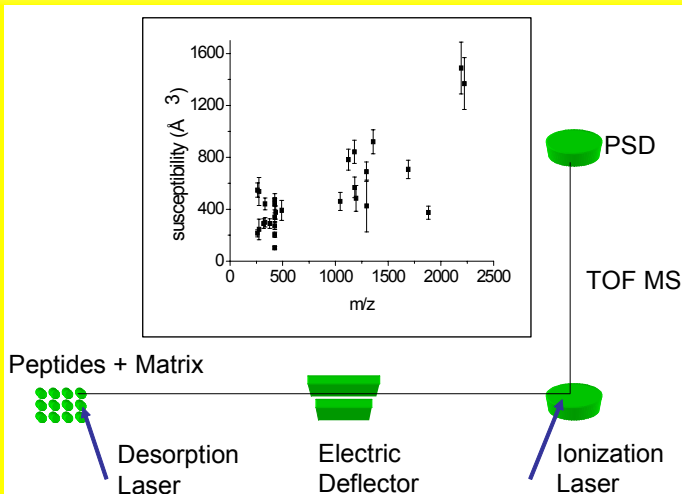


Schéma de l'expérience et carte peptidique dipolaire massique pour un ensemble de peptides ayant des masses comprises entre 200 et 2500 Da. Les peptides sont séparés en masse sur l'axe horizontal et séparés en dipôle (ou susceptibilité électrique) sur l'axe vertical.