



Université Claude Bernard



Lyon 1

## DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **29 novembre 2017**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **GARCIA Lény**

Titre de la thèse : « Développement d'une méthodologie couplant la photodissociation laser et la spectrométrie de masse haute résolution pour l'identification de nouveaux biomarqueurs »



### Résumé

La spectrométrie de masse est un outil performant pour identifier des biomarqueurs protéines dans des fluides biologiques. Plusieurs modes sont accessibles dont le mode « Data Independent Acquisition » (DIA), qui permet une sélection et une fragmentation exhaustive de tous les peptides détectables par l'appareillage. Cependant, ce mode génère des spectres de (co)-fragmentation très complexes rendant l'étape d'identification délicate. Pour surmonter cette limitation, nous nous sommes tournés vers une méthode d'activation des ions spécifique. La photodissociation laser (LID) à 473 nm, longueur d'onde à laquelle les peptides n'absorbent pas naturellement, a été implémentée dans un appareil Qexactive. La spécificité de fragmentation est induite après dérivation spécifique des peptides à cystéine (acide aminé rare présent globalement à 2 % mais présent dans 89 % des protéines) à l'aide d'un chromophore absorbant à 473 nm. Dans un premier temps, une bibliothèque de 354 spectres LID de peptides à cystéine dérivés a été créée pour le développement de la méthode DIA-LID. Cette méthodologie DIA-LID a ensuite été utilisée pour identifier et quantifier des biomarqueurs protéines kinases humaines putatifs endogènes au sein d'un extrait cellulaire mammaire cancéreux humain. Les comportements de fragmentation de 401 peptides à cystéine dérivés en LID à 473 nm ont également été étudiés permettant l'optimisation des méthodes d'identification et de quantification. Pour finir, une nouvelle méthodologie, intitulée C-trap-LID, a été appliquée pour repérer et extraire rapidement tous les m/z des ions précurseurs détectables par l'appareillage ayant photo-fragmentés dans une matrice complexe.