



Université Claude Bernard



DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **13 décembre 2021**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Monsieur LE FEVRE Aurélien**

Titre de la thèse : « *Etudes des cinétiques et thermodynamiques de l'isomérisation par analyse en Tandem IMS-MS* »

Résumé



Contexte

L'étude des conformations de composés moléculaires, ainsi que des différents chemins par lesquels ces composés peuvent en changer, est d'une importance fondamentale. En effet, ces conformations déterminent directement de nombreuses propriétés : les propriétés optiques, tant d'absorption que d'émission ; les propriétés d'interaction intermoléculaires ; ou encore les propriétés de stockage énergétique, pour n'en citer que quelques-unes. Le champ d'application correspondant couvre un large domaine allant de l'étude des cycles biologiques et des interactions entre protéines, à la caractérisation de molécules synthétiques dans domaine des nouveaux matériaux ou des énergies renouvelables.

Au cours des dernières décennies, de nombreuses techniques ont été développées et appliquées à la caractérisation des conformations et de leurs changements : calorimétrie, spectrométrie Raman, spectroscopie infrarouge et UV/visible, dichroïsme circulaire et spectroscopie à Résonance Magnétique Nucléaire (RMN), pour ne mentionner que celles-ci. La plupart de ces techniques s'applique sur des échantillons en solution, ce qui peut être problématique dans certains cas, ou sont complexes à mettre en œuvre. Ainsi, l'analyse des conformations en phase gaz, qui bénéficie notamment de la spécificité de la spectrométrie de masse (MS), peut s'avérer complémentaire à ces techniques. Dans ce contexte, la Spectrométrie de Mobilité Ionique (IMS – Ion-Mobility Spectrometry) connaît une expansion importante comme outil de caractérisation structurale, en particulier en combinaison avec la MS. L'IMS est une méthode séparative basée sur la mesure de la vitesse d'espèces ioniques accélérées dans un gaz par un champ électrique. Cette vitesse est le résultat d'un équilibre entre l'accélération due au champ, liée à la charge des ions, et le ralentissement par collisions avec le gaz, lié à la section efficace de collision (CCS), et donc à la structure géométrique des ions. L'IMS permet donc de séparer des espèces chargées en fonction de leur rapport surface sur charge, et donc notamment de séparer des isomères. Outre sa capacité à cartographier les différents conformères d'une espèce donnée, et donc leur paysage conformationnel, l'IMS permet aussi dans une certaine mesure d'identifier ces conformères à travers la comparaison des CCS mesurées à des modèles.

Approche mise en œuvre

L'IMS couplée à la spectrométrie de masse est aujourd'hui de plus en plus utilisée comme technique analytique, en particulier depuis la mise sur le marché d'instruments commerciaux. Ce travail s'inscrit dans la suite de récents développements visant à utiliser l'IMS non seulement comme un outil « statique », donnant une image à l'instant t de l'état conformationnel de l'analyte, mais aussi comme un outil d'exploration des chemins reliant les différents conformères. Nous utilisons pour cela un dispositif permettant de réaliser des mesures d'IMS en tandem. Cela nous permet dans un premier temps de sélectionner une population d'isomère à l'aide d'une première séparation par IMS. Cette population est ensuite soumise à un traitement

contrôlé avant une seconde séparation en IMS et une détection par spectrométrie de masse. Cette seconde étape permet de mettre en évidence d'éventuels changements de conformation ou la fragmentation des espèces sélectionnées dans la première étape. Selon le traitement appliqué, on peut suivre différents types de réactions d'isomérisation, déclenchées soit par l'absorption de photons, soit par une augmentation de l'énergie interne par collisions, ou encore des réactions se déroulant spontanément à la température de l'expérience.

Nous nous sommes particulièrement intéressés à suivre la cinétique de réactions d'isomérisation en piégeant les ions sélectionnés pendant une durée variable et contrôlée avant la seconde analyse. Ces expériences ont été réalisées en fonction de la température dans la zone de piégeage, donnant ainsi accès à l'évolution de la cinétique d'isomérisation en fonction de la température. En parallèle nous avons réalisé des expériences complémentaires consistant à suivre des cinétiques d'isomérisation en solution. Dans ce cas, la mesure d'IMS sert à sonder les populations présentes en mélange dans la solution.

Résultats

Le premier objectif de ce travail de thèse a été développer et installer un dispositif de thermalisation au niveau du piège ionique afin de pouvoir contrôler la température pendant le stockage des ions. Nous avons ensuite utilisé ce nouveau dispositif pour mesurer des cinétiques d'isomérisation à différentes températures. Les premiers résultats obtenus ont montré qu'il était possible par cette méthode de déterminer les caractéristiques thermodynamiques de l'isomérisation étudiée : c'est à dire les différences d'enthalpies et d'entropies entre les états conformationnels impliqués, et relativement à l'état de transition.

Nous avons étudié deux types de systèmes. D'une part un système synthétique de type MOlecular Solar Thermal System (MOST), c'est-à-dire une molécule capable de stocker de l'énergie issue de rayonnements solaires, sous la forme d'un changement de conformations par rotation autour d'une liaison chimique (isomérisation appelée *cis-trans*). Nous avons en particulier étudié la capacité de ce système à restituer l'énergie stockée après photoisomérisation par relaxation vers son état fondamental. Ces résultats démontrent l'intérêt de l'approche dans le cadre de systèmes présentant des temps de relaxation longs (plusieurs dizaines d'heures) à température ambiante. En permettant une étude à des températures significativement plus élevées que celles accessibles en solution, notre méthode a permis de caractériser la relaxation de ce composé sur des durées beaucoup plus courtes, inférieures à la seconde. Ces résultats ont de plus été utilisés pour tenter d'interpréter des expériences d'isomérisation induites par collisions sur le même système. Il s'est agi d'estimer le transfert d'énergie ayant lieu lors de ce type d'expériences, plus communément utilisées que les mesures en tandem.

Nous avons d'autre part étudié un peptide, le Glu-fibrinopeptide B, pour lequel l'isomérisation est un processus beaucoup plus complexe mettant en jeu une réorganisation structurale à plus large échelle. Nous avons montré que ce peptide existait sous deux formes conformationnelles différentes, capables d'interconversion spontanée à température ambiante. Nous avons pu déterminer les caractéristiques thermodynamiques de cette bi-stabilité, qui a ensuite pu être interprétée à l'aide de simulations de dynamique moléculaire avec le champ de forces AMOEBA.

Ces résultats constituent la première démonstration de mesures directes de grandeurs thermodynamiques gouvernant l'isomérisation en phase gazeuse et ont donné lieu à une publication dans *Analytical Chemistry*. En parallèle de ces travaux sur l'isomérisation, nous avons aussi utilisé l'IMS de manière plus classique pour cartographier l'espace conformationnel exploré par une protéine intrinsèquement non-structurée. En complément d'autres mesures, ce travail a été publié dans *Matrix Biology Plus*.