

Apport de la Métabolomique/Fluxomique

Du génotype au phénotype fonctionnel

Pr. Frédéric LIRUSSI

UE M1 Génomique Structurale et Fonctionnelle



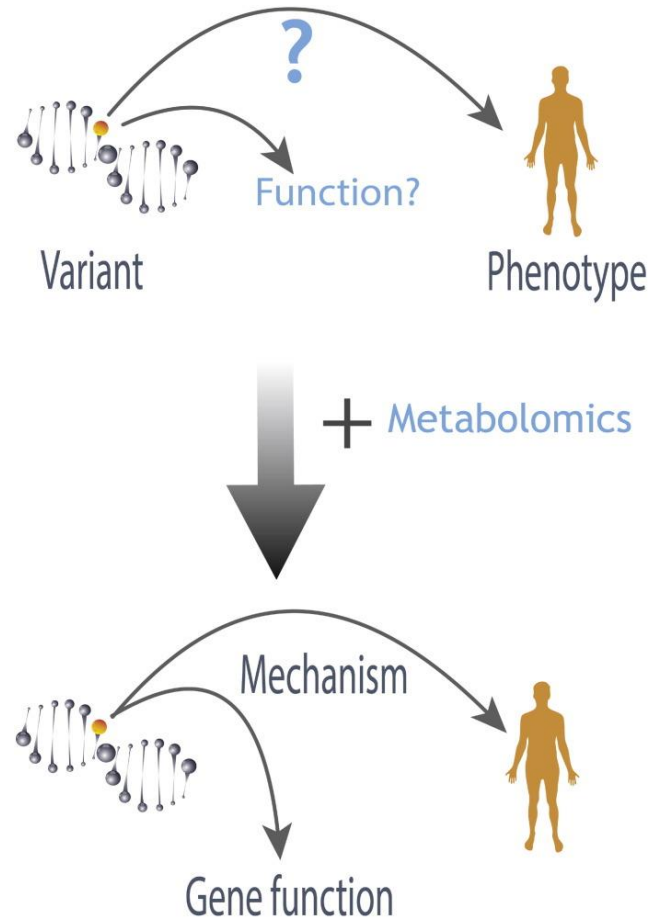
Plateforme PACE



Contexte

- Maladie processus physiopathologique complexe multifactoriel
- Les techniques de biologie moléculaire notamment la génomique ont permis de faire **évoluer l'approche méthodologique mécanistique**
- Problème
 - Grande diversité allélique / pénétrance incomplète
 - Pas toujours corrélé au phénotype
 - **Besoin de découvrir la fonction d'un gène (ou de ses mutants)**
- Cependant, pour prendre en charge les patients
 - marqueurs biologiques
 - marqueurs de réponse au traitement → **métabolomique**

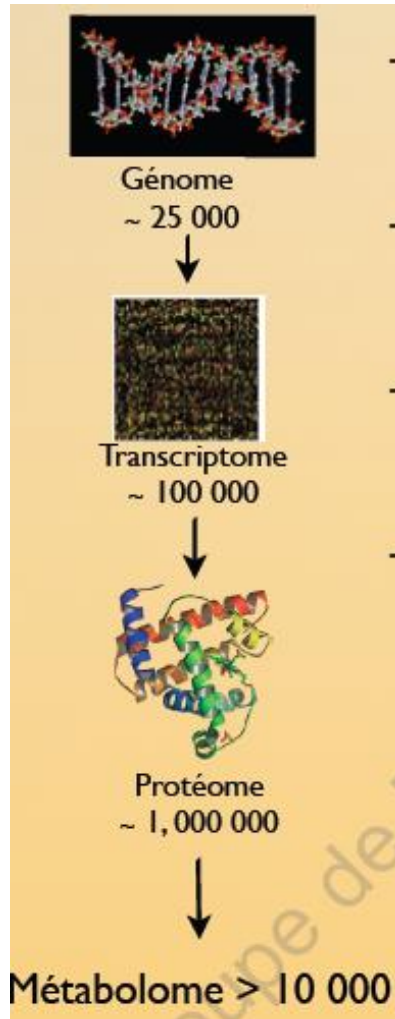
Contexte



Contexte

- Maladie processus physiopathologique complexe multifactoriel
- Les techniques de biologie moléculaire notamment la génomique ont permis de faire **évoluer l'approche méthodologique mécanistique**
- Problème
 - Grande diversité allélique / pénétrance incomplète
 - Pas toujours corrélé au phénotype
 - **Besoin de découvrir la fonction d'un gène (ou de ses mutants)**
- Cependant, pour prendre en charge les patients
 - marqueurs biologiques
 - marqueurs de réponse au traitement → **métabolomique**

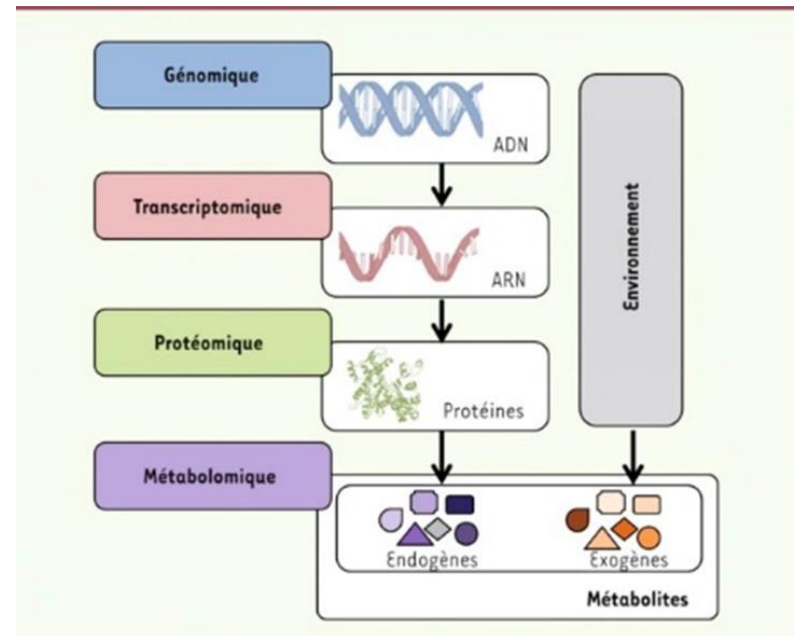
Métabolomique/Fluxomique



- “DNA makes RNA makes protein”
- Ne constitue pas un substitut aux autres « omiques »
- Représente la réponse ultime d’une cellule ou d’un organisme

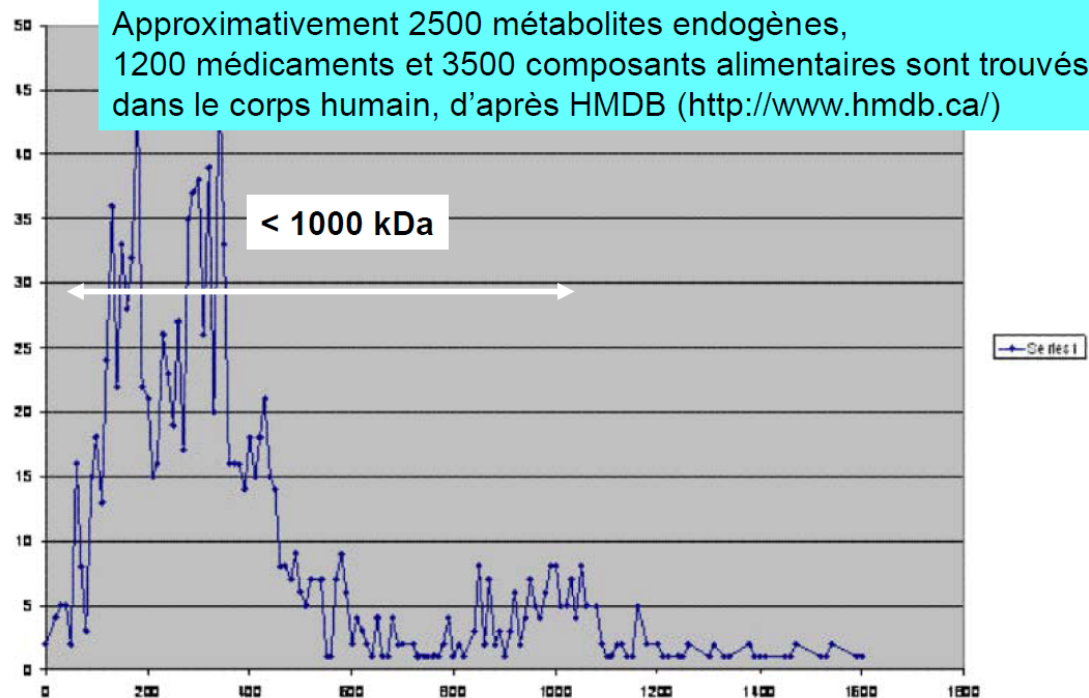
Le Métabolome chez l'homme

- Petites molécules (<1500 Da)
- Métabolisme **endogène**
 - Produits par l'homme
 - Produits par le(s) microbiote(s)
- Métabolites **exogènes** : **EXPOSOME**
 - Alimentaires
 - contaminants « environnement »
 - Médicaments...

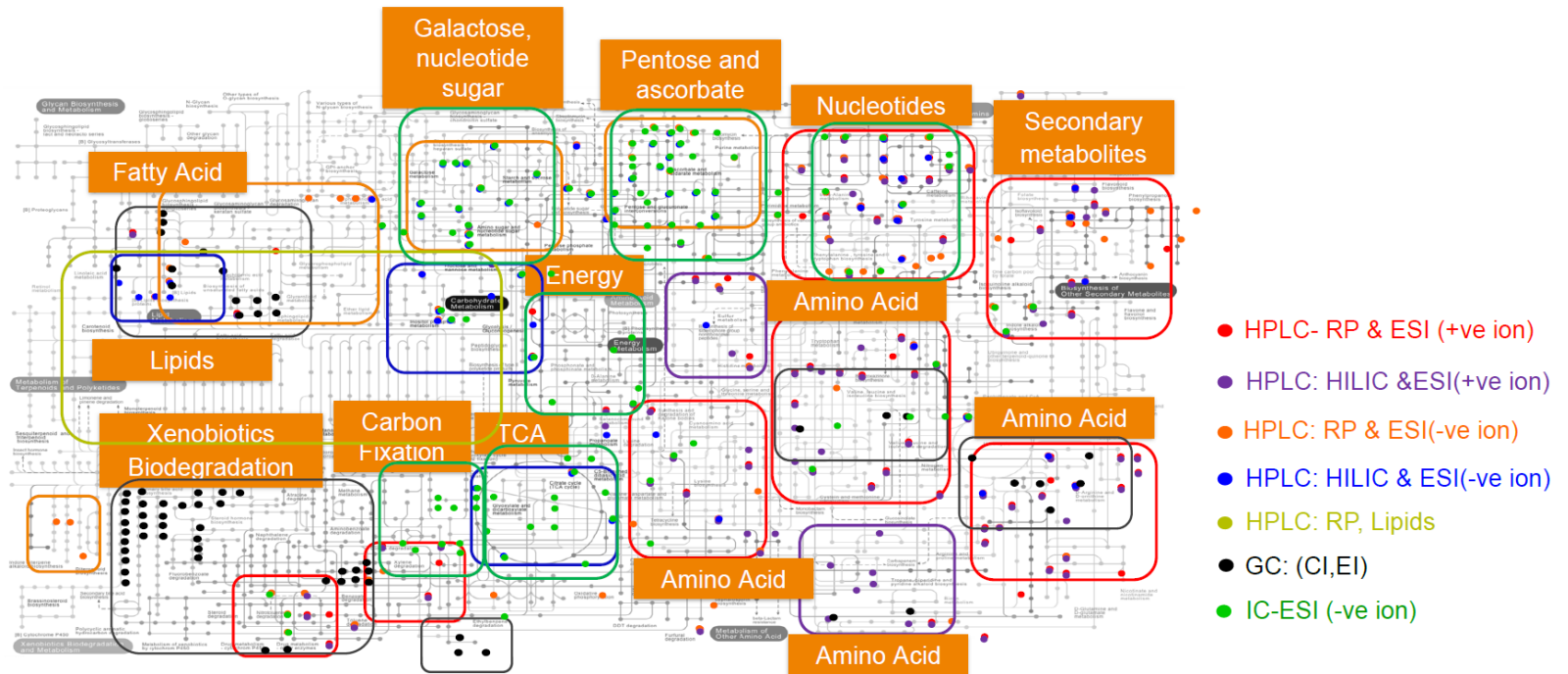


Le Métabolome chez l'homme

Mass Distributions of Human Metabolome

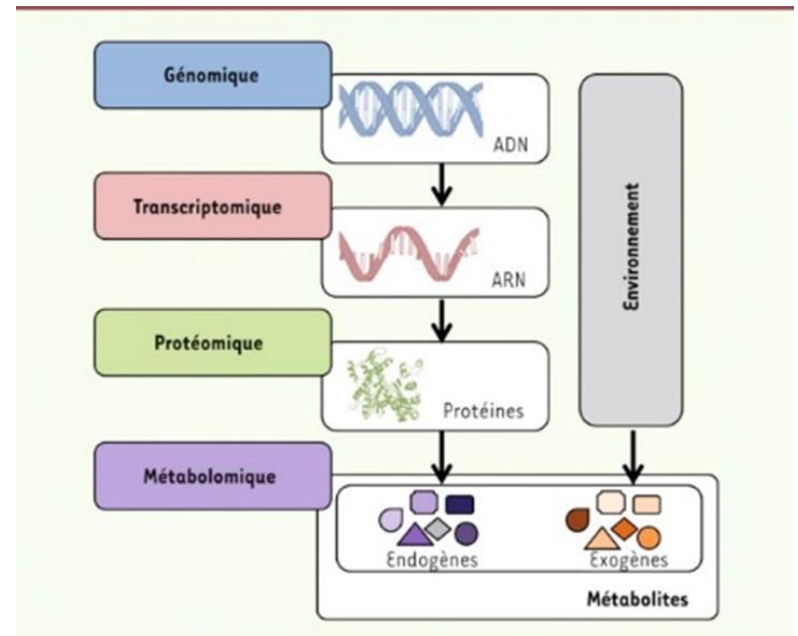


Le métabolome chez l'homme

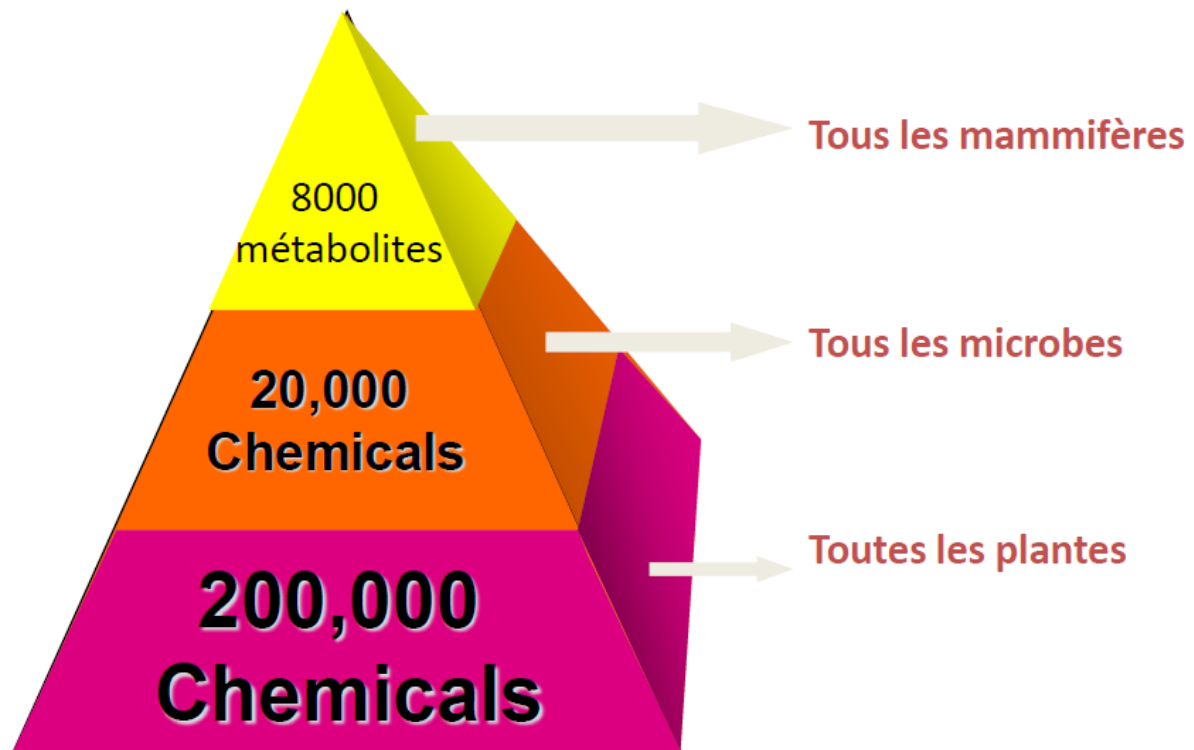


Le Métabolome chez l'homme

- Petites molécules (<1500 Da)
- Métabolisme **endogène**
 - Produits par l'homme
 - Produits par le(s) microbiote(s)
- Métabolites **exogènes** : **EXPOSOME**
 - Alimentaires
 - contaminants « environnement »
 - Médicaments...



Le métabolome dans le règne vivant



Les différentes étapes

Technologies disponibles



RMN:

Pas de préparation d'échantillon = rapide

Données structurales

Peu sensible (50aine de métabolites à mg/L)



LC-HRMS-TOF:

Préparation d'échantillon = long

Sensibilité (plusieurs centaines de métabolites à $\mu\text{g/L}$)

Protéomique +++

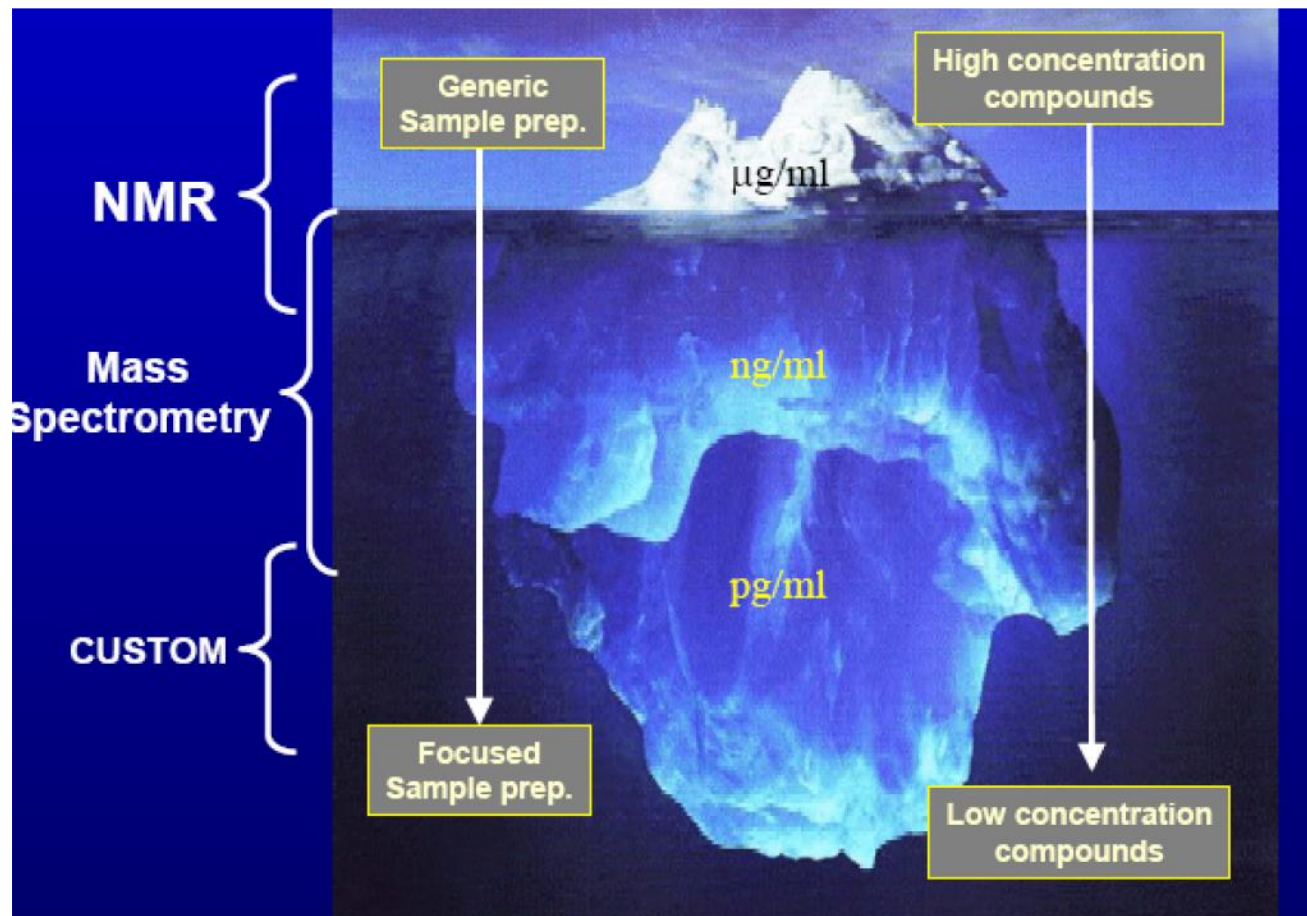


LC-HRMS-OBTRAP:

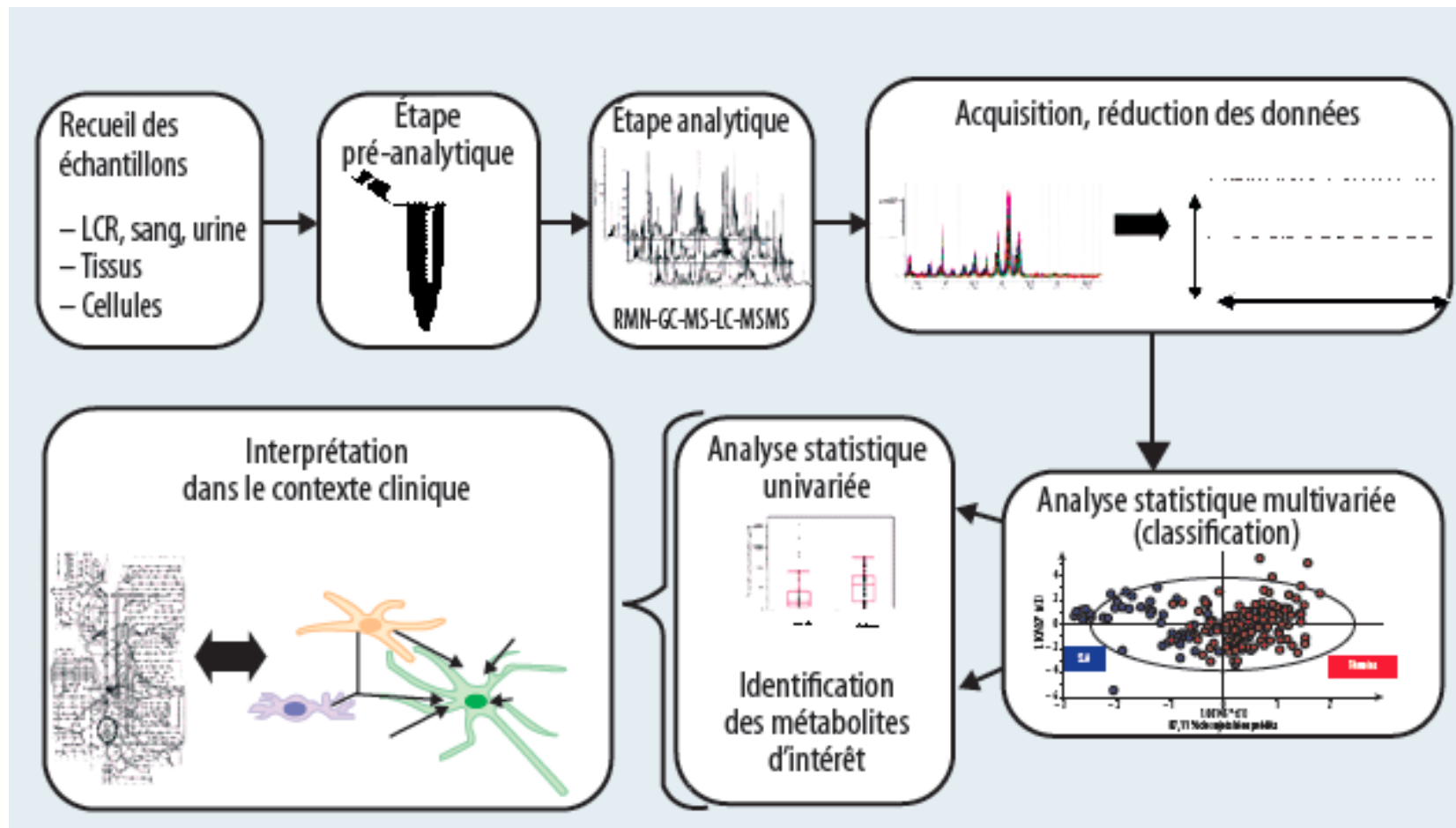
Préparation d'échantillon = long

Sensible & résolutif (plusieurs milliers métabolites à ng/L)

Technologies disponibles

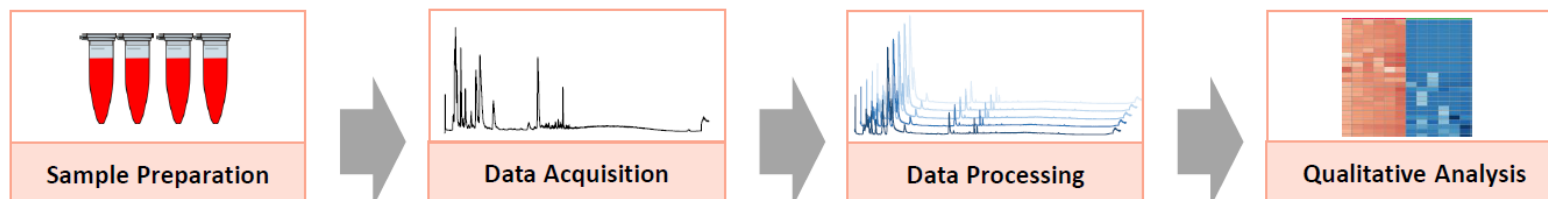


Etapes analytiques

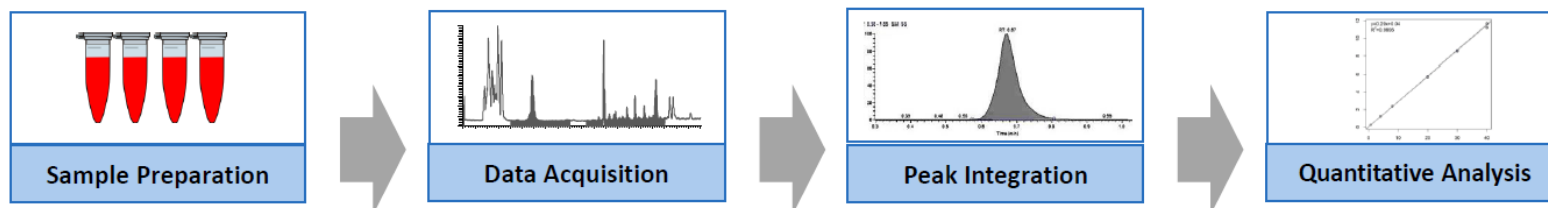


Metabo ciblée et non ciblée (globales)

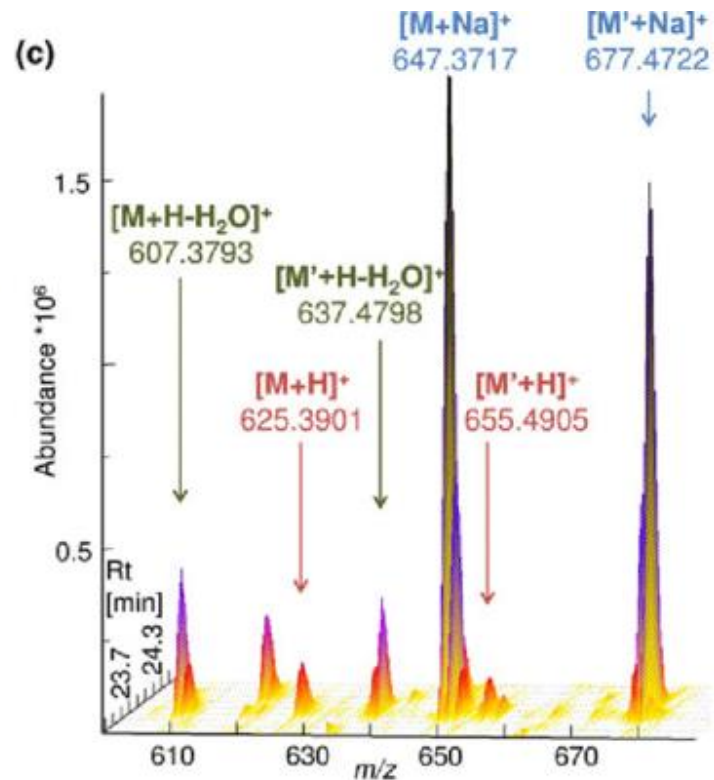
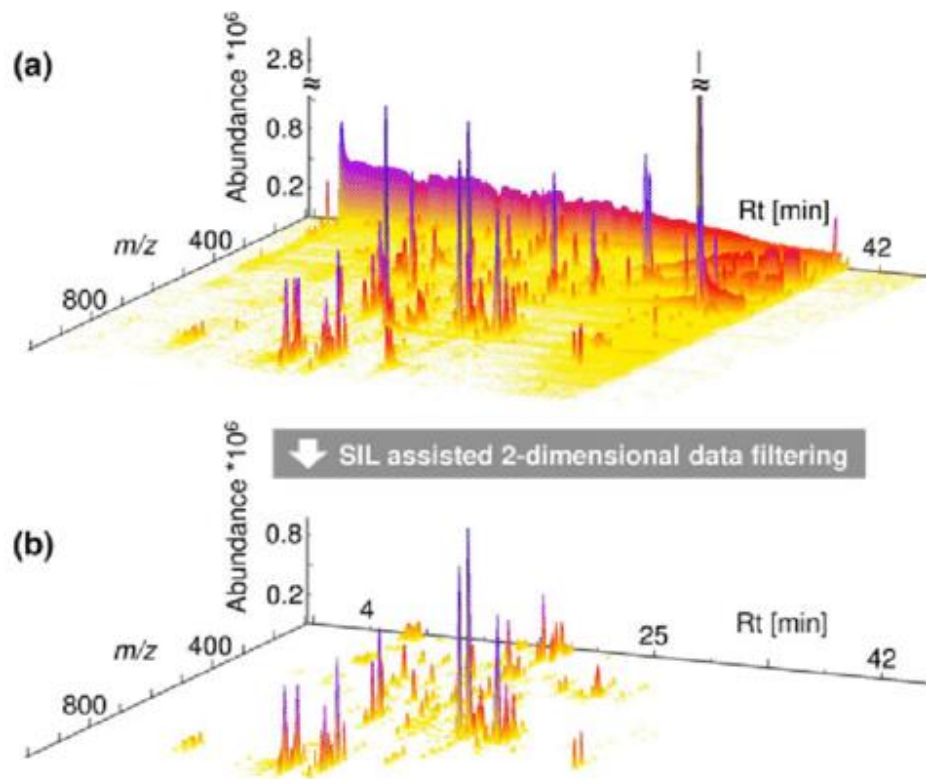
Untargeted (Qualitative, typically) Workflow



Targeted (Quantitative) Workflow



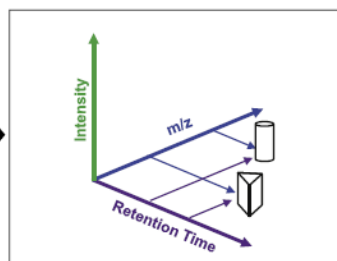
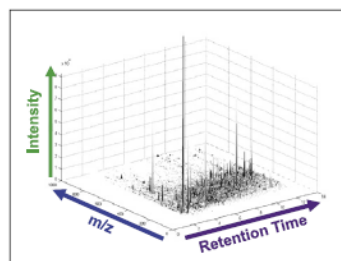
Traitement du signal analytique



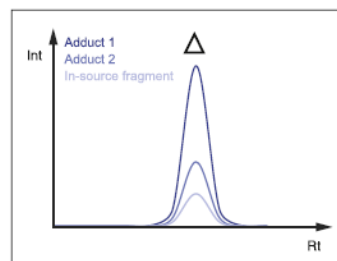
Traitement du signal analytique

J. Pezzatti et al. / *Analytica Chimica Acta* xxx (xxxx) xxx

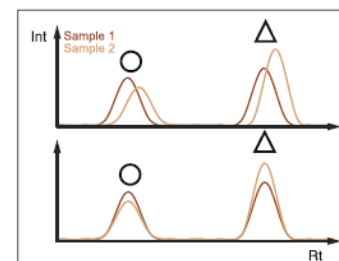
11



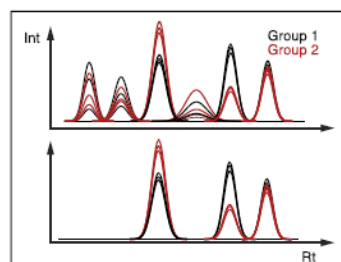
① Noise reduction, baseline correction and peak picking



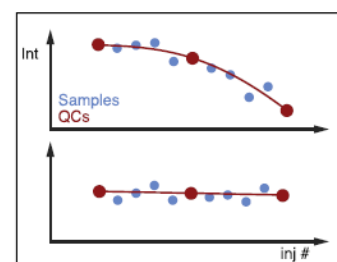
② Ion deconvolution



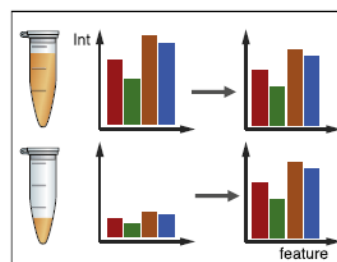
③ Alignment



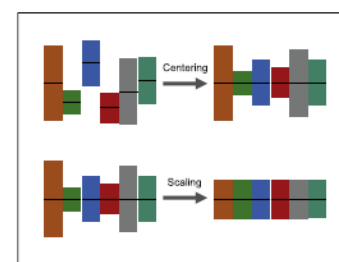
④ Feature filtering



⑤ Drift correction



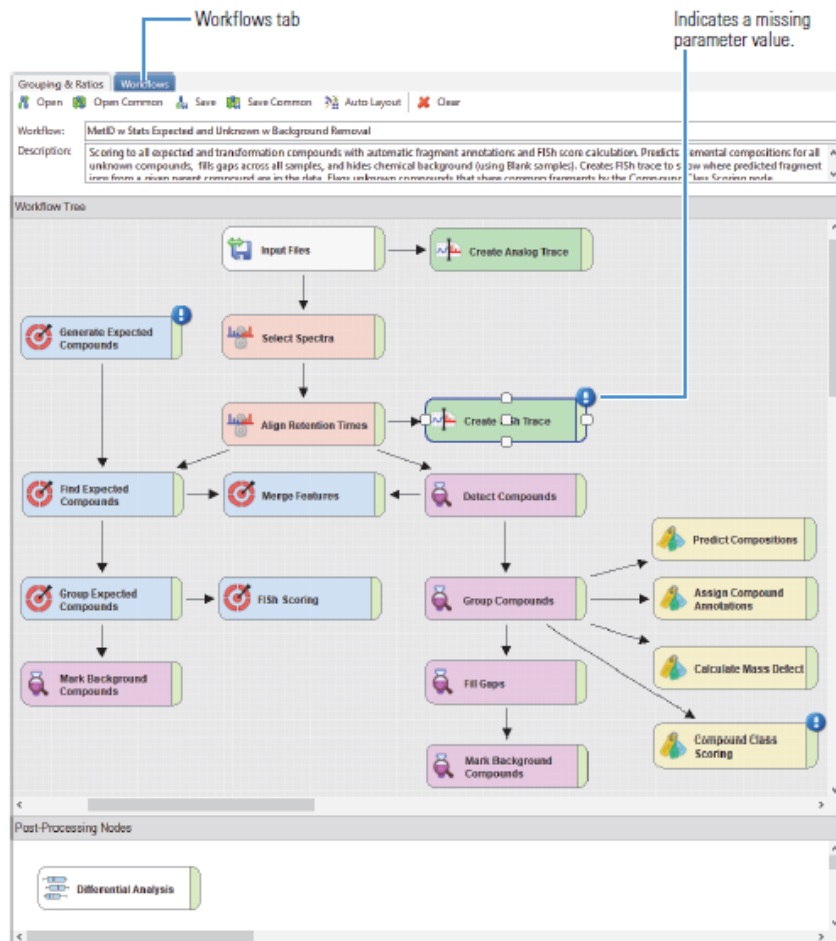
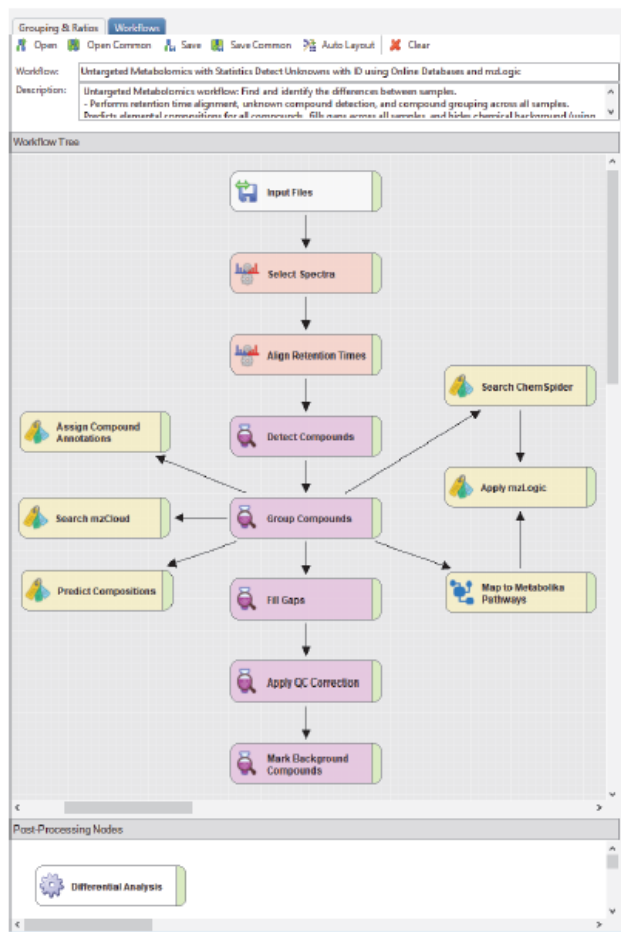
⑥ Sample normalization



⑦ Centering and scaling

Fig. 4. Steps comprised into the Data Processing part of the workflow.

Workflow – traitement signal



Elemental composition and ID
based on unlabeled reference
sample

Unknown Data
Processing

Compounds		Compounds per File		Features		Labeled Features		Labeled Compounds per File		Mass List Search Results		Input Files	
Checked	Name	Formula	Annotation	Molecular Weight	RT [min]	Area (Max.)	Rel. Exchange [%]	Area					
☒	Uridine	C9 H12 N2 O6	■ ■	244.06922	7.146	362256836	0 0 39 67 52 0	3.62e8 3.45e8 4.27e5 1.00e5 2.22e8 2.34e8					
☒	Proline	C5 H9 N O2	■ ■	115.06337	11.773	70424932	0 0 3 3 3 0	6.96e7 2.02e7 4.39e7 7.04e7 5.27e7 4.49e7					
☒	Malate	C4 H6 O5	■ ■	134.02156	24.962	56234422	0 0 8 9 9 0	5.62e7 2.71e7 4.17e7 3.60e7 3.23e7 2.83e7					
☒	Glutamine	C5 H10 N2 O3	■ ■	146.06924	13.956	48610589	0 0 0 0 0 0	4.83e7 4.04e7 4.86e7 4.42e7 4.33e7 3.38e7					
☒	Citrate/Isocitrate	C6 H8 O7	■ ■	192.02713	31.567	43732087	0 0 3 5 4 0	4.18e7 3.39e7 4.37e7 3.67e7 2.91e7 3.66e7					
☒	Lactate	C3 H6 O3	■ ■	90.03163	14.231	14127499	0 0 66 55 69 0	4.23e6 5.79e6 2.77e6 3.21e6 2.41e6 4.09e6					
☒	NAD	C21 H27 N7 O14 P2	■ ■	663.11102	20.138	5792721	0 0 40 39 39 0	5.13e6 3.57e6 2.80e6 5.70e6 4.33e6 4.00e6					
☒	Alanine	C3 H7 N O2	■ ■	89.04760	12.561	5698362	0 0 45 48 44 0	1.22e6 4.17e6 6.18e6 4.47e6 5.28e6 7.17e5					
☒	α-Ketoglutarate	C5 H6 O5	■ ■	146.02173	25.941	6177872	1 0 3 3 3 1	3.92e6 1.49e6 4.37e5 7.58e5 5.00e5 1.13e6					
☒	Hexose-6-phosphate	C6 H13 O9 P	■ ■	260.02978	25.877	3922810	0 0 35 83 81 0	3.16e6 2.39e6 2.21e6 1.75e6 1.78e6 2.22e6					
☒	Serine	C3 H7 N O3	■ ■	105.04258	14.386	3159629	0 0 13 10 10 0	4.39e6 2.89e6 3.06e6 3.26e6 3.00e6 2.48e6					
☒	Glycine	C2 H5 N O2	■ ■	75.03207	13.587	4393736	0 0 6 6 6 0						

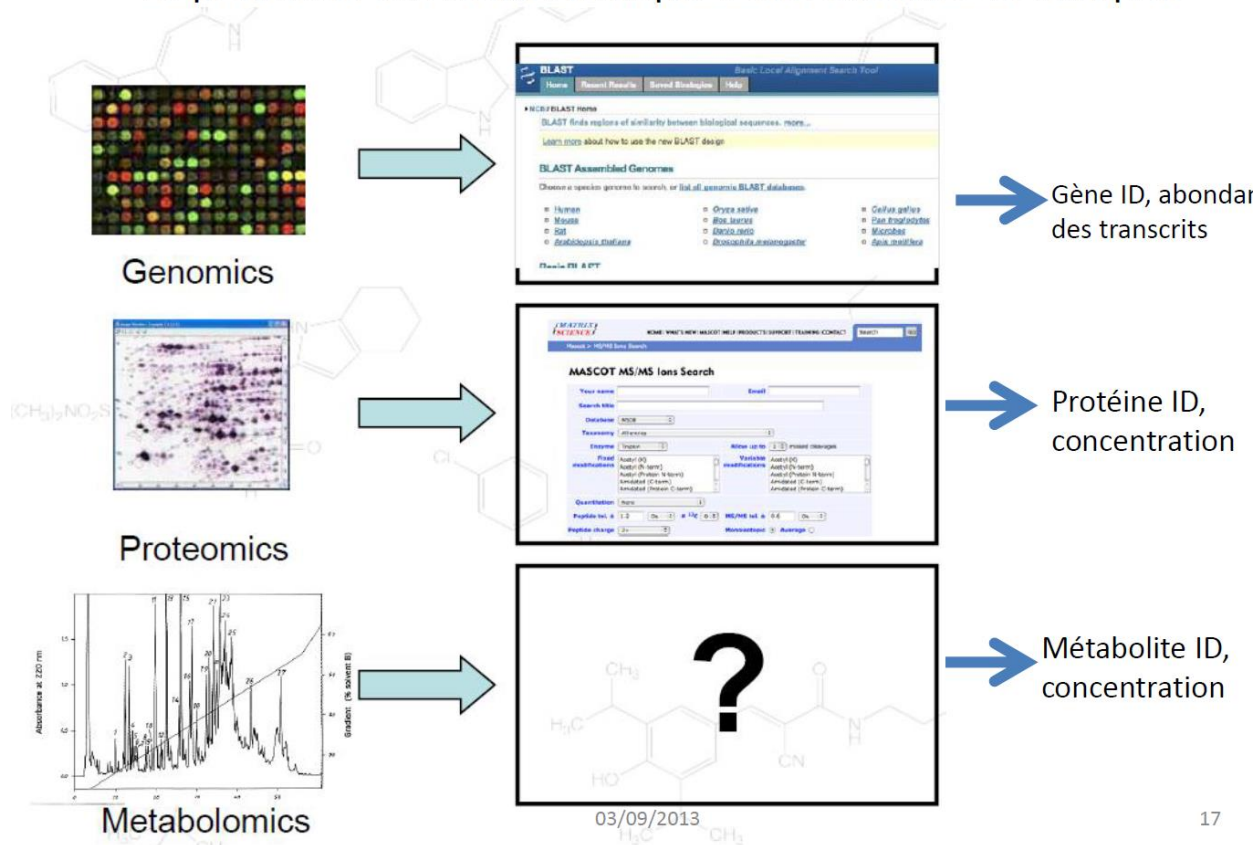
Total exchange
rate for this
compound
reported for
each sample
(=Incorporation
rate)

Hide Related Tables												
Structure Proposals		Compounds per File		Predicted Compositions		Labeled Compounds per File		Mass List Search Results				
	Checked	Molecular Weight	RT [min]	FWHM [min]	Max. # MI	# Adducts	Area	Max. Exchange	Avg. Exchange	Rel. Exchange [%]	Status	Exchange Rate [%]
1		260.02978	25.899	0.157	2	1	3922810	6	0.0	0		100 0 0 0 0 0 0 0 0 0
2		260.02978	25.907	0.186	1	1	1492618	6	0.0	0		100 0 0 0 0 0 0 0 0 0
3		260.02978	25.917	0.194	2	1	1134609	6	0.0	0		100 0 0 0 0 0 0 0 0 0
4		260.02978	25.895	0.187	6	1	758359	6	5.0	83		15 0 0 2 1 4 77 0 0 0
5		260.02978	25.909	0.188	5	1	500466	6	4.9	81		17 0 0 2 1 4 76 0 0 0
6		260.02978	25.904	0.170	6	1	436874	6	5.7	95		3 0 0 3 0 4 90 0 0 0

Exchange rate
for each
isotopologue
in each
sample

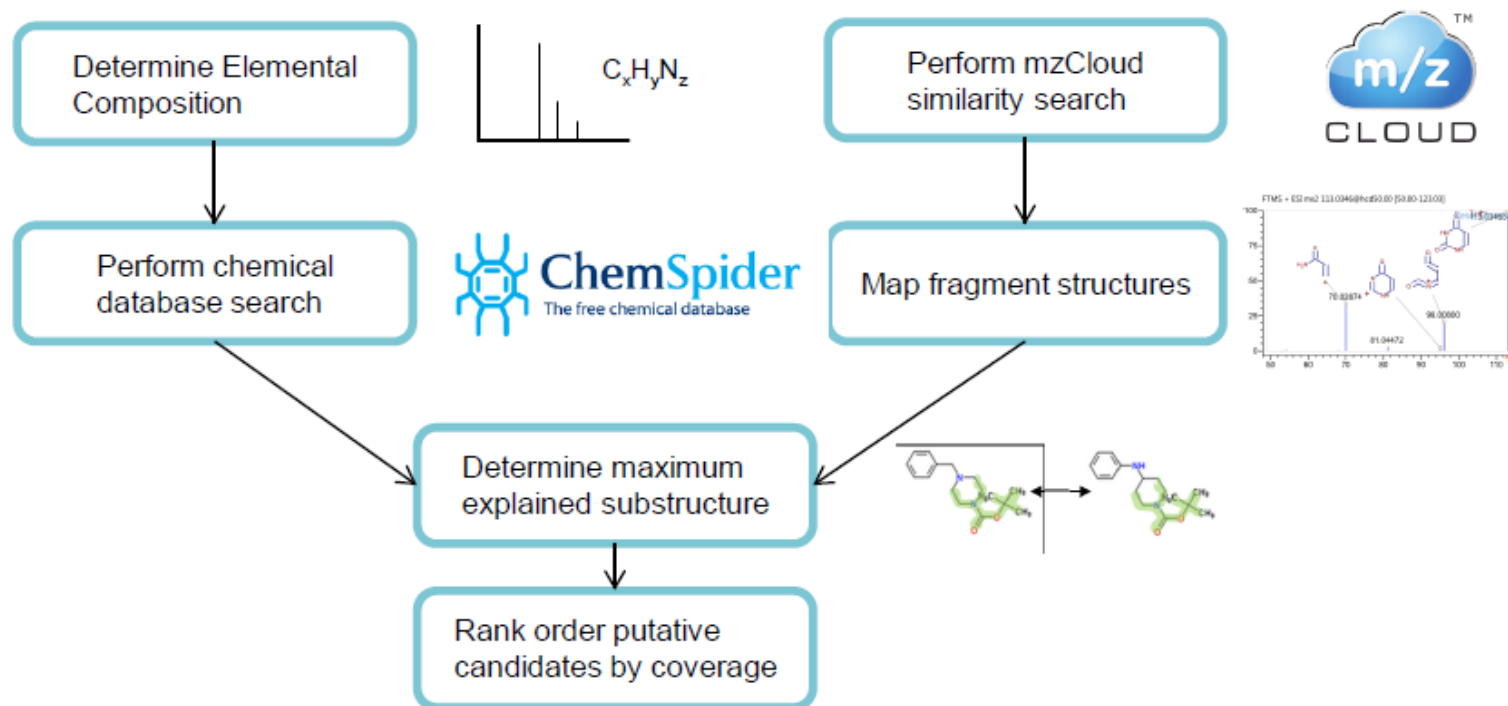
L'enjeu: l'identification de pic inconnus

Le problème en métabolomique c'est l'absence de banques

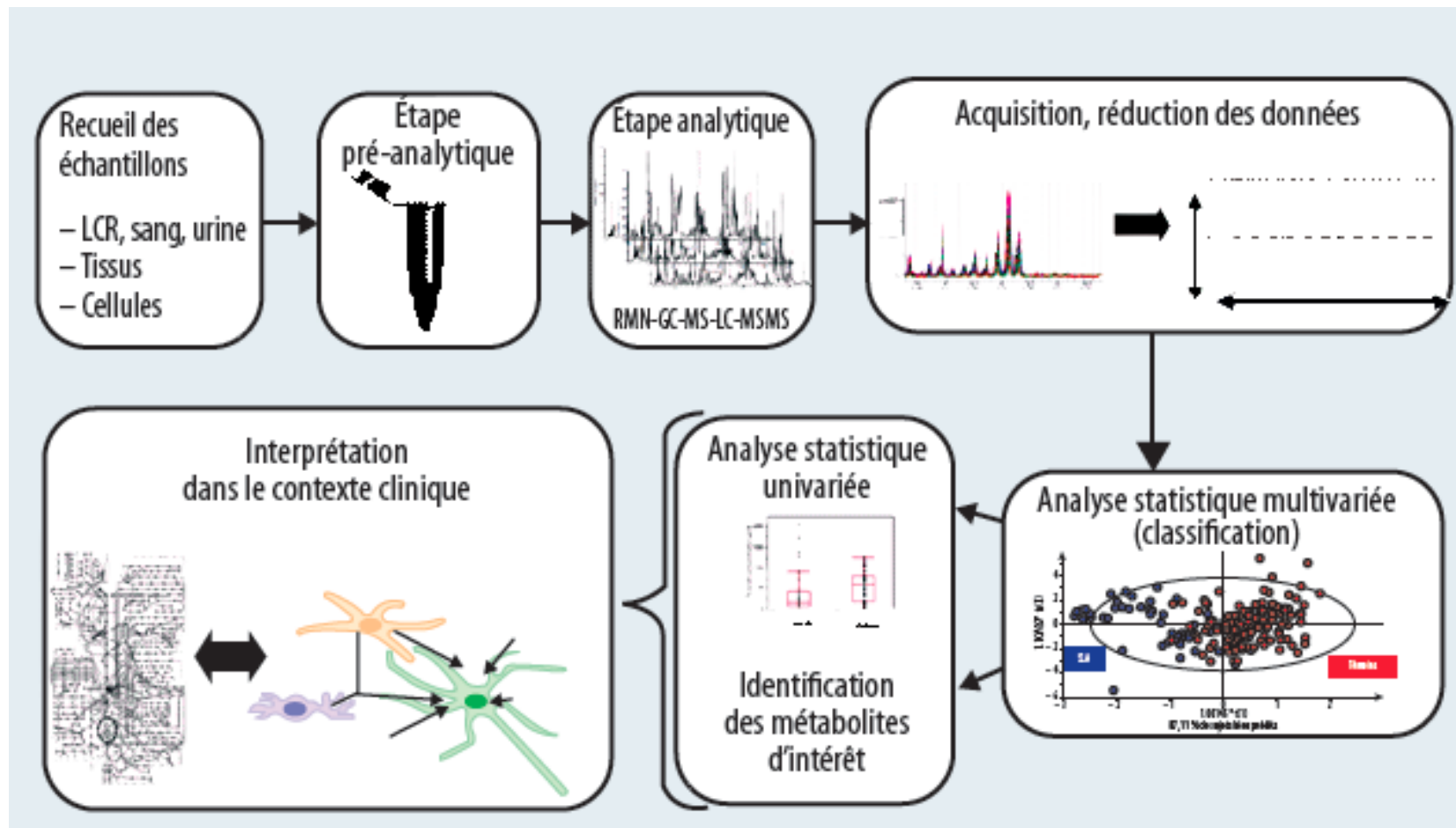


Identification de pics inconnus-inconnus

Figure 1. Workflow for mzLogic

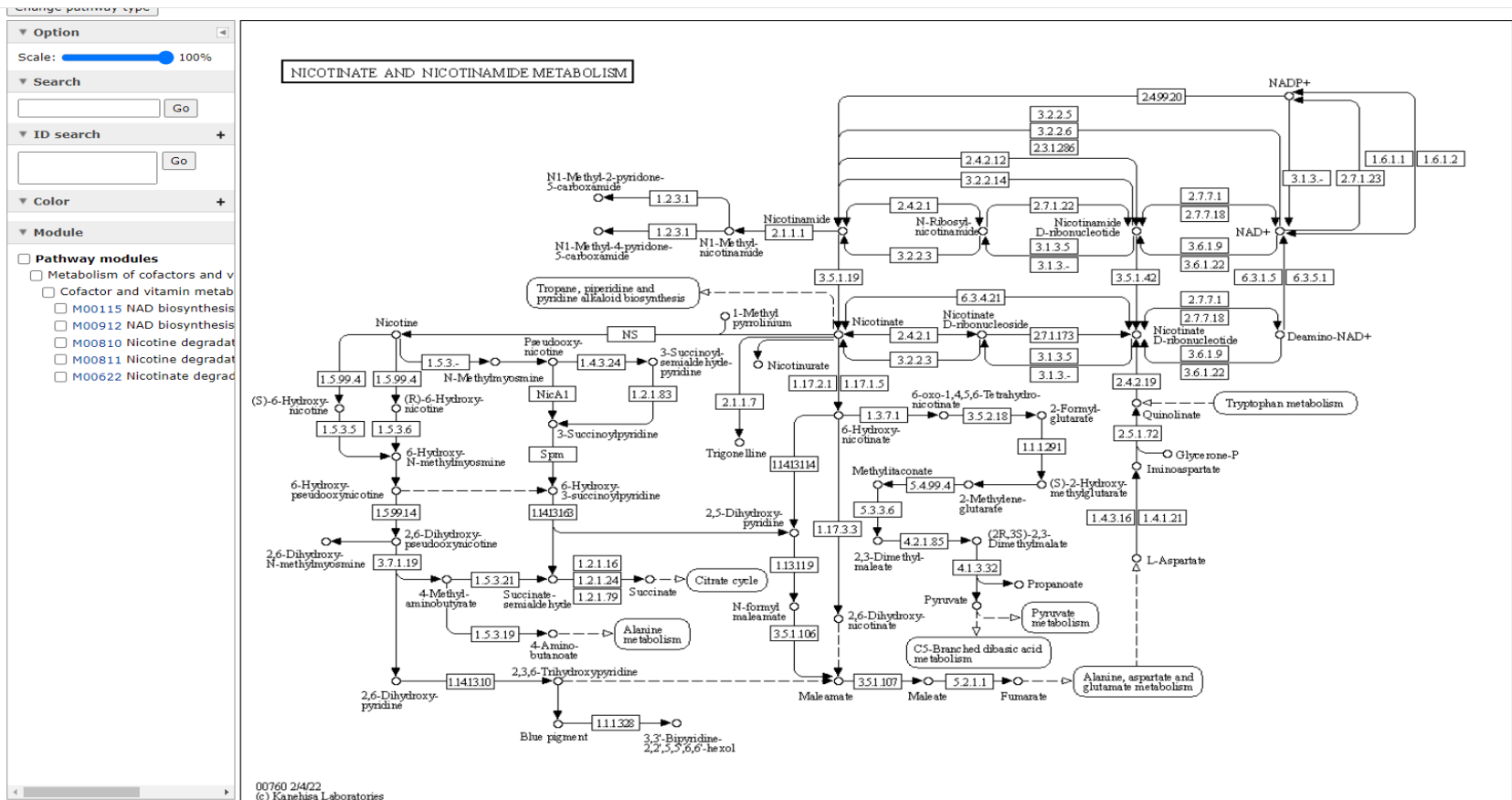


Etapes analytiques



© 2000 SSIEM
All Rights Reserved

Reconstruction de voies métaboliques

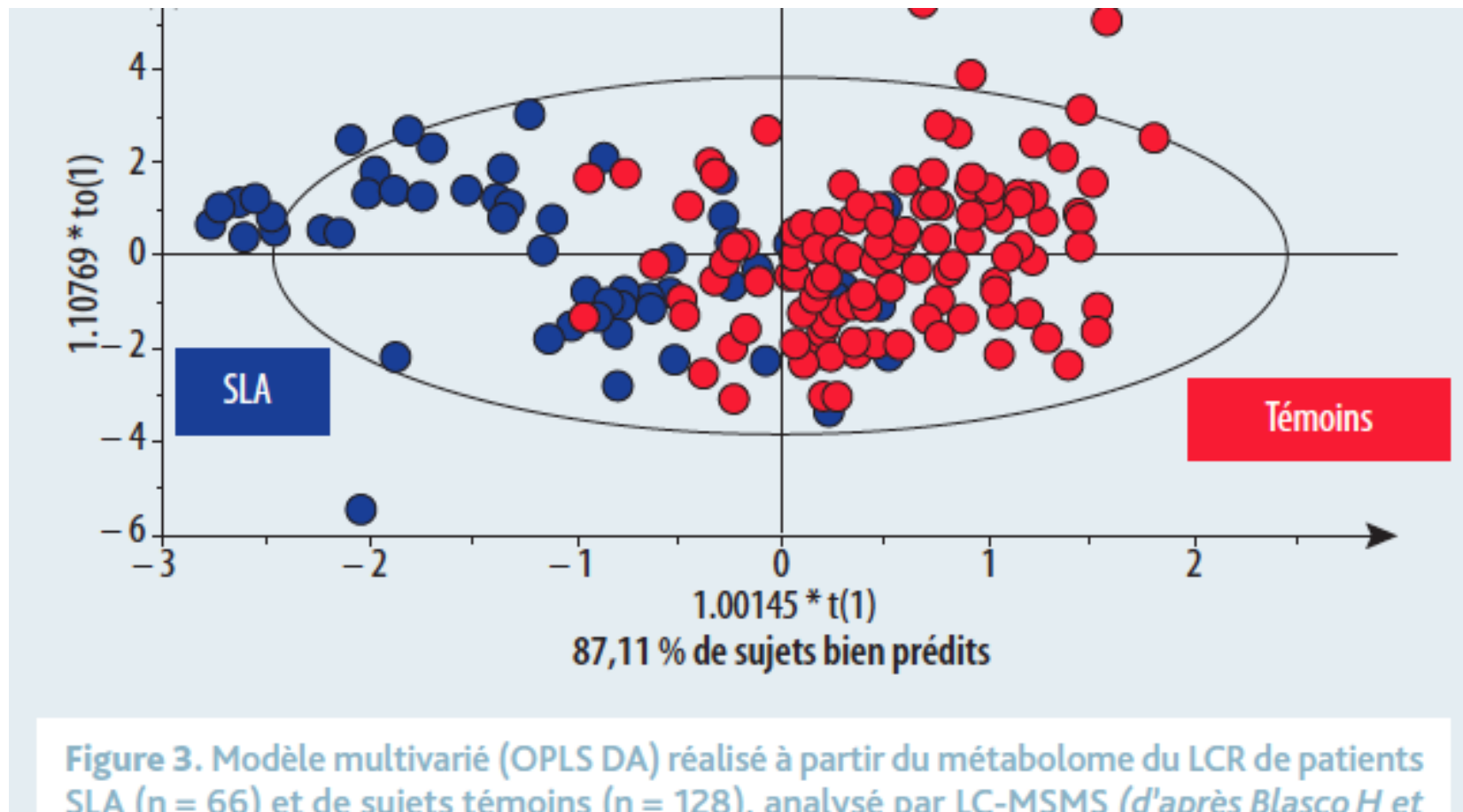


Applications en Santé

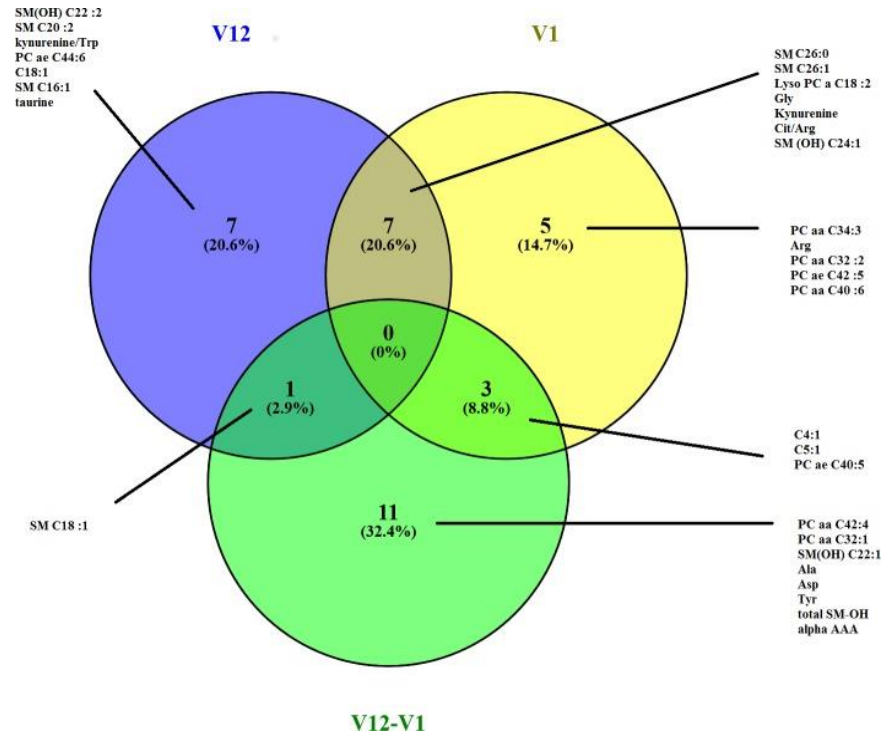
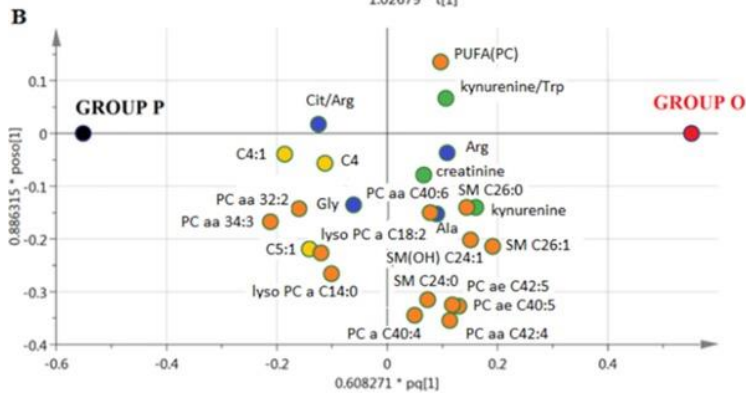
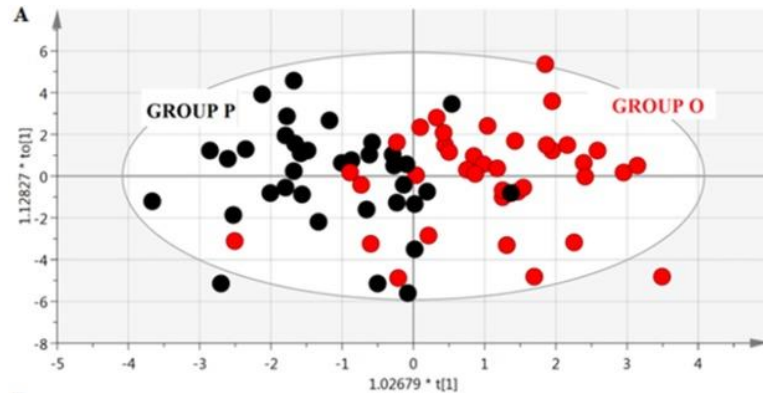
Apport dans la recherche translationnelle... et le soin...

- Identification de **biomarqueurs/signatures métaboliques**
 - Aide au diagnostic
- Identification de **nouvelles voies de signalisation**
 - Définir des **nouvelles cibles thérapeutiques**
- **Guider la prescription** des thérapies anti-tumorales
 - Prédire la réponse au traitement
 - **Médication personnalisée**
 - En complément du criblage haut débit

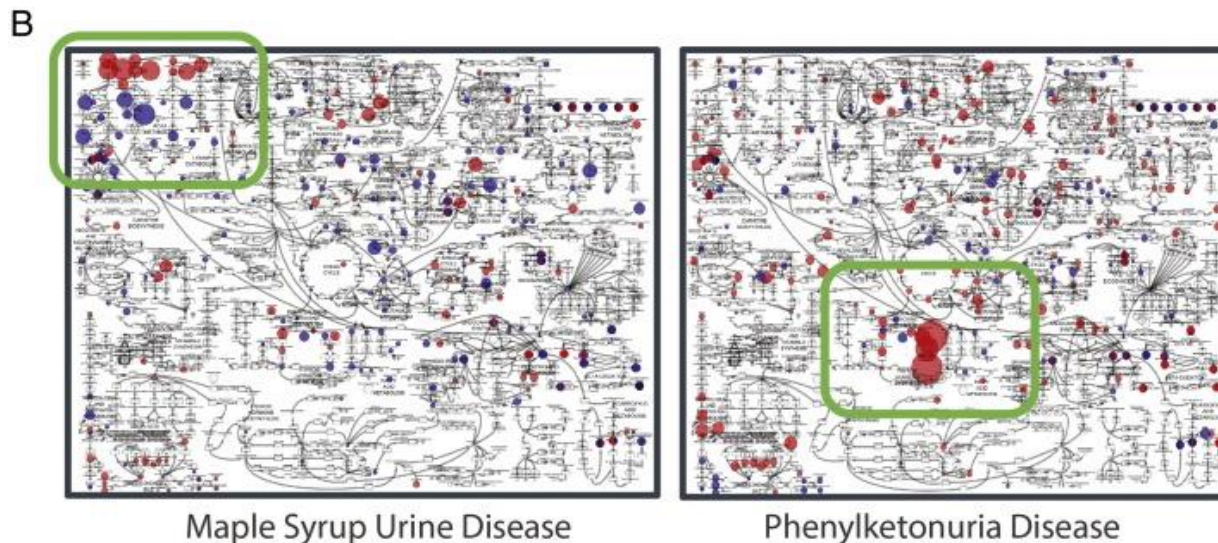
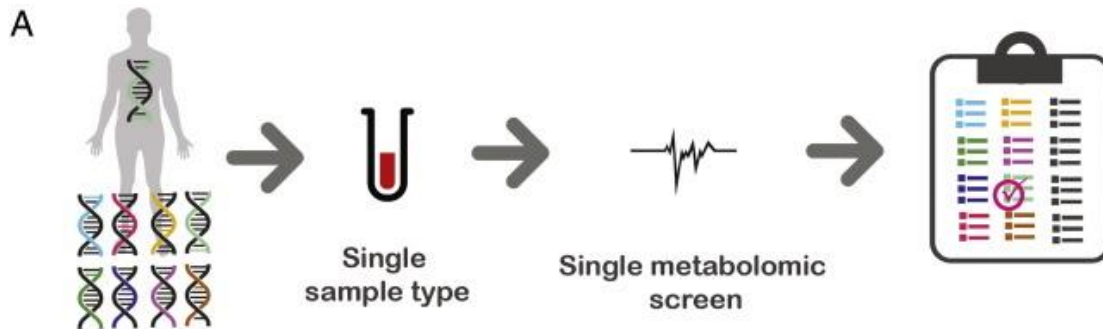
Maladie à diagnostic difficile: SLA



Maladie à diagnostic difficile: SLA



Profilage – empreinte métabolique



Apport dans la recherche translationnelle... et le soin...

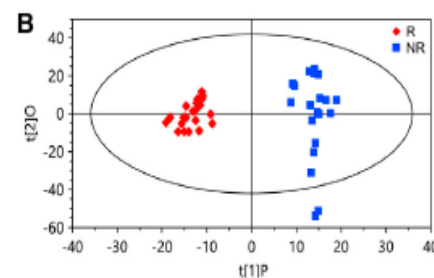
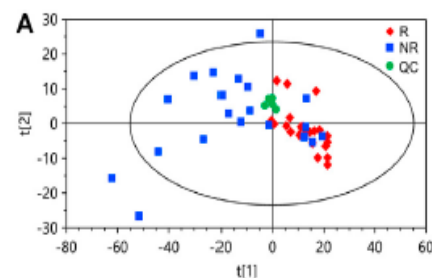
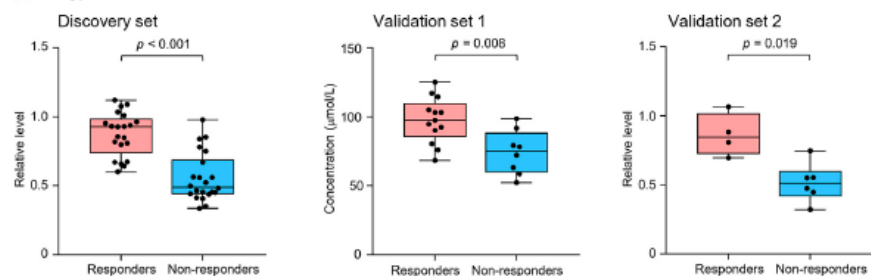
- Identification de **biomarqueurs/signatures métaboliques**
 - Aide au diagnostic
- Identification de **nouvelles voies de signalisation**
 - Définir des **nouvelles cibles thérapeutiques**
 - Production de peptides/mutants pour apporter **preuve de concept**
- **Guider la prescription** des thérapies anti-tumorales
 - Prédire la réponse au traitement
 - **Médication personnalisée**
 - En complément du criblage haut débit

Aider à la prescription d'anti-cancéreux

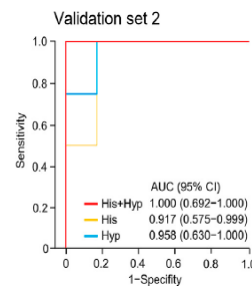
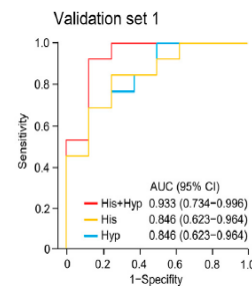
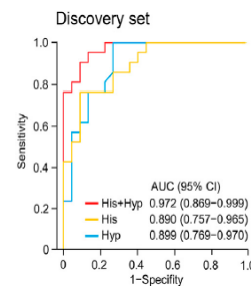
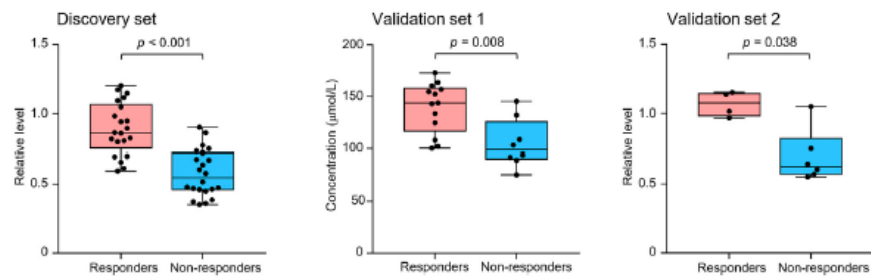
Serum Metabolite Biomarkers Predictive of Response to PD-1 Blockade Therapy in Non-Small Cell Lung Cancer

Xiaoqun Nie^{1†}, Liliang Xia^{2†}, Fang Gao^{1†}, Lixia Liu¹, Yi Yang², Yingying Chen³, Huangqi Duan³, Yaxian Yao², Zhiwei Chen², Shun Lu^{2*}, Ying Wang^{3*} and Chen Yang^{1*}

A Hypoxanthine



B Histidine

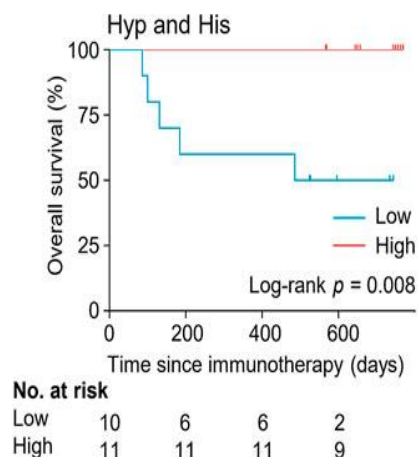


Aider à la prescription d'anti-cancéreux

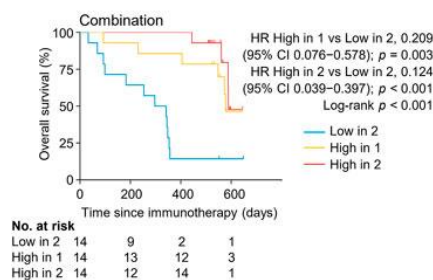
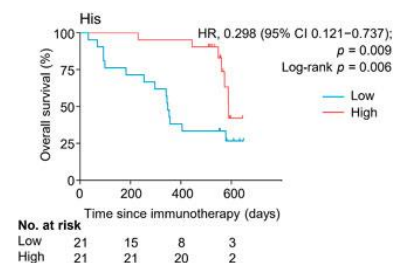
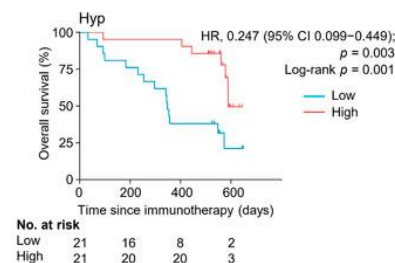
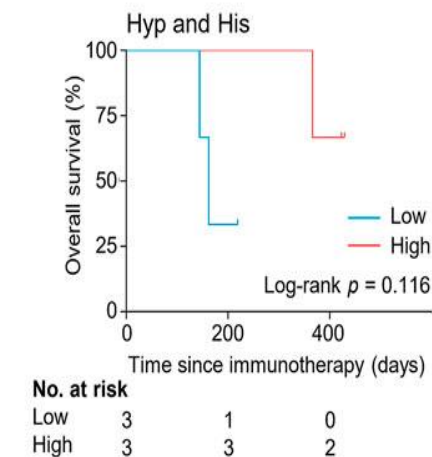
Serum Metabolite Biomarkers Predictive of Response to PD-1 Blockade Therapy in Non-Small Cell Lung Cancer

Xiaoqun Nie^{1†}, Liliang Xia^{2†}, Fang Gao^{1†}, Lixia Liu¹, Yi Yang², Yingying Chen³, Huangqi Duan³, Yaxian Yao², Zhiwei Chen², Shun Lu^{2*}, Ying Wang^{3*} and Chen Yang^{1*}

A Validation set 1

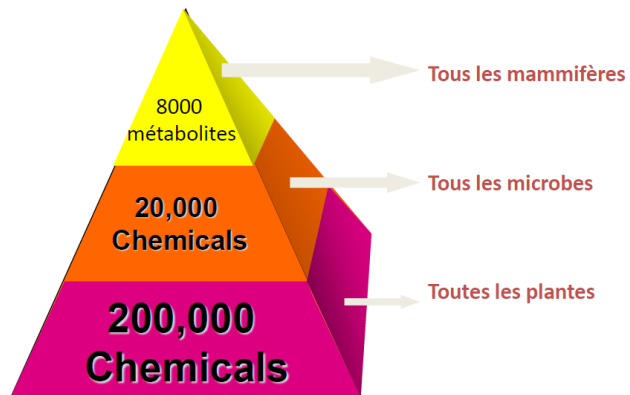


B Validation set 2

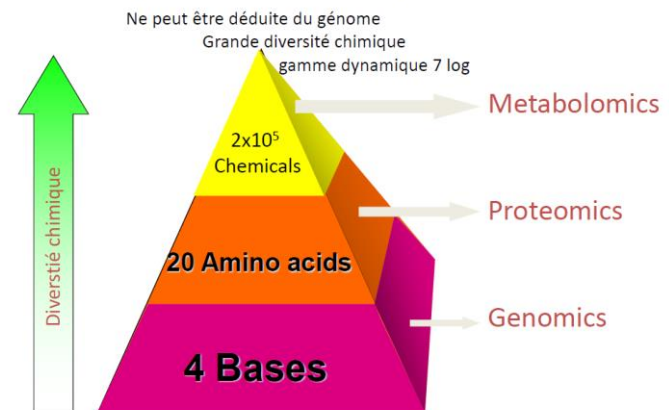


Limites et perspectives

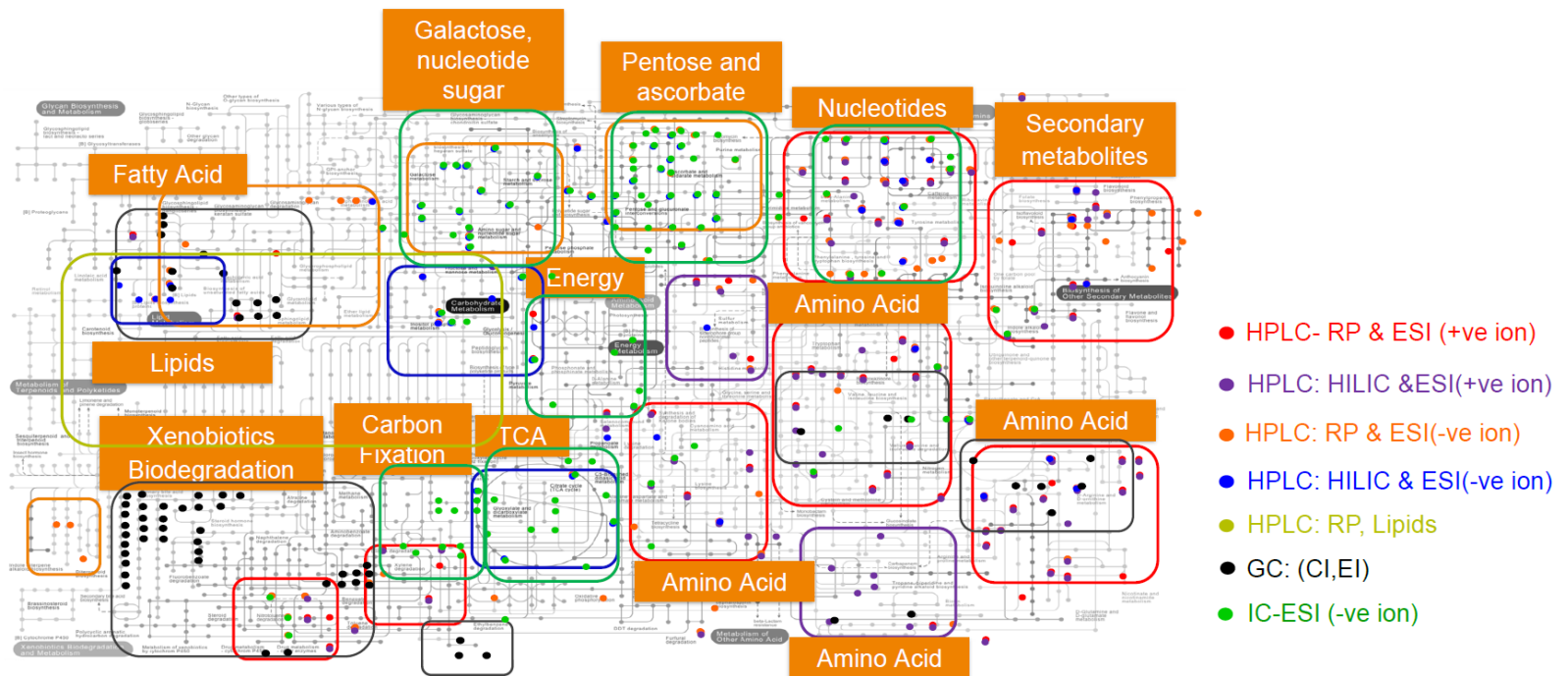
Couverture métabolique



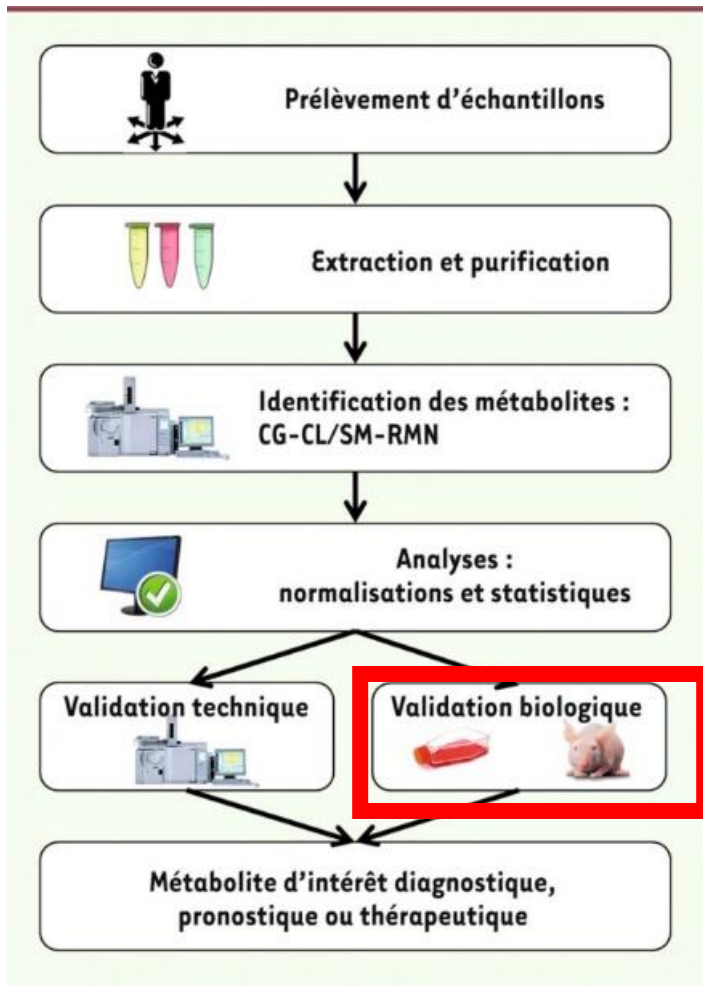
Pourquoi la métabolomique est difficile?



Couverture métabolique



Validation biologique des marqueurs



Non spécifique à la métabolomique

Étape longue et peu valorisante mais critique pour passage en « routine »