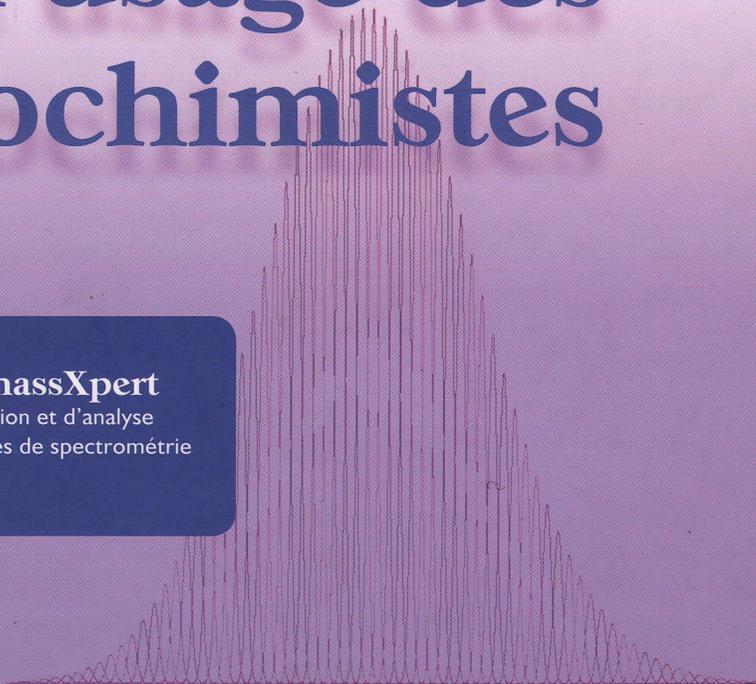


Filippo Rusconi

Manuel de spectrométrie de masse à l'usage des biochimistes



Logiciel **massXpert**
de simulation et d'analyse
de données de spectrométrie
de masse



Editions
TEC
& **DOC**

Lavoisier

Table des matières

Avant-propos xxiii

Abréviations — Glossaire xxv

Première partie : Spectrométrie de masse

1	Fondamentaux	3
1.1	Définitions	3
1.2	Spectrométrie de masse des biopolymères	9
1.3	Dissection de pics de masse résolus	15
1.4	Dissection de pics de masse non résolus	18
1.5	Interprétation de spectre	20
1.5.1	Déconvolution de spectre à pics de masse résolus	20
1.5.2	Déconvolution de spectre à pics de masse non résolus	23
1.6	Le pouvoir résolutif d'un instrument	27
1.7	Architecture d'un spectromètre de masse	29
2	Sources d'ions	33
2.1	Source d'ions MALDI	34
2.1.1	Fonctionnement d'une source MALDI	34
2.1.2	Préparation de l'échantillon	38
2.1.3	Caractéristiques des ions générés	40
2.2	Source d'ions ESI	42
2.2.1	Fonctionnement d'une source ESI	42
2.2.2	Préparation de l'échantillon	44
2.2.3	Caractéristiques des ions générés	45
2.2.4	Cas particulier de la source nanoESI	46
2.3	Conclusions	48
3	Analyseurs	51
3.1	Analyseurs temps-de-vol	51
3.1.1	Analyseur linéaire	52

3.1.2	Analyseur réflectron	57
3.2	Analyseur quadropôle	60
3.3	Analyseurs pièges à ions	65
3.3.1	Analyseur piège à ions quadropolaire	65
3.3.2	Analyseur piège à ions linéaire	67
3.3.3	Conclusions	68
3.4	Analyseur résonance ionique cyclotronique	69
3.5	Analyseur piège à ions orbital	79
3.6	Combinaisons d'analyseurs	84
3.6.1	Spectromètre de masse à triple quadropôle QqQ	84
3.6.2	Spectromètre de masse hybride Qq-TOF	84

Deuxième partie : Chimie des biopolymères

4	Méthodes de purification	93
4.1	Généralités	93
4.2	Méthodes chromatographiques	94
4.2.1	Chromatographie d'exclusion	95
4.2.2	Chromatographie par échange d'ions	97
4.2.3	Chromatographie d'interactions hydrophiles	98
4.2.4	Chromatographie d'interactions hydrophobes	99
4.2.5	Chromatographie sur résine de phase inversée	100
4.2.6	Chromatographie par paire d'ions sur résine de phase inversée	101
4.2.7	Chromatographie d'affinité sur ions métalliques immobilisés	103
4.2.8	Chromatographie d'affinité	105
4.3	Méthodes en gel	106
4.3.1	Électrophorèse dénaturante en gel de polyacrylamide	107
4.3.2	Électrophorèse en gel de poly- acrylamide à deux dimensions	108
4.3.3	Électrophorèse non dénaturante en gel de polyacrylamide	112
5	Les protéines	115
5.1	Généralités	115
5.2	Structure	117

5.2.1	Structures de base	117
5.2.2	Édifices plus complexes: les oligopeptides	124
5.3	Production de peptides d'une protéine	126
5.4	Séparation et purification	128
5.4.1	Généralités	128
5.4.2	Purification de protéines et de peptides	132
5.5	Spectrométrie de masse des protéines	142
5.5.1	Calculs élémentaires de masse	144
5.5.2	Spectrométrie de masse MALDI	148
5.5.3	Spectrométrie de masse ESI	163
5.6	Spectrométrie de masse des peptides	181
5.6.1	Empreinte peptidique	183
5.6.2	Fragmentations en phase gazeuse	198
5.6.3	Méthode de calcul de masse des fragments	240
5.6.4	Applications de la spectrométrie de masse des peptides	243
5.6.5	Quantification de protéines	297
6	Les acides nucléiques	329
6.1	Généralités	329
6.2	Structure	330
6.2.1	Structures de base	330
6.2.2	Édifices plus complexes: les oligonucléotides	332
6.3	Séparation et purification	336
6.3.1	Généralités	336
6.3.2	Purification d'acides nucléiques	337
6.3.3	Exemples d'applications	342
6.4	Spectrométrie de masse de l'ADN	349
6.4.1	Calculs élémentaires de masse	350
6.4.2	Fragmentations en phase gazeuse	355
6.4.3	Spectrométrie de masse MALDI	384
6.4.4	Spectrométrie de masse ESI	392
6.4.5	Analyse de spectre	393
6.5	Spectrométrie de masse de l'ARN	408
6.5.1	Calculs élémentaires de masse	408
6.5.2	Fragmentations en phase gazeuse	411
6.5.3	Analyse de spectre	419

7 Les glucides	429
7.1 Généralités	429
7.2 Structure	430
7.2.1 Structures de base	430
7.2.2 Édifices plus complexes: oligosaccharides et polysaccharides	440
7.2.3 La glycosylation des protéines	440
7.3 Séparation et purification	445
7.3.1 Généralités	446
7.3.2 Purification de protéines ou de peptides glycosylés	449
7.3.3 Libération des glycannes	456
7.3.4 Purification de glycannes	462
7.4 Spectrométrie de masse des glycannes	464
7.4.1 Calculs élémentaires de masse	465
7.4.2 Fragmentations en phase gazeuse	475
7.4.3 Spectrométrie de masse MALDI	484
7.4.4 Spectrométrie de masse ESI	500
7.5 Spectrométrie de masse des glycopeptides	501

Troisième partie : Simulation et analyse de données

Le logiciel *massXpert*

8 <i>massXpert</i>: Généralités	521
9 <i>XpertDef</i>	525
9.1 Entités singulières	527
9.2 Entités plurielles	527
9.2.1 Les atomes	528
9.2.2 Les monomères	529
9.2.3 Les modifications	531
9.2.4 Les agents pontants	532
9.2.5 Les clivages	534
9.2.6 Les fragmentations	535
9.3 Enregistrer la définition	544
10 <i>XpertCalc</i>	545
10.1 Une mise en œuvre facile	545
10.2 Une calculatrice enregistreuse	547
10.3 Une calculatrice programmable	548
10.4 Le calculateur de ratios m/z	554
10.5 Le calculateur de massifs isotopiques	557

11	<i>XpertEdit</i>	561
11.1	La fenêtre principale	563
11.2	Édition de séquences	564
11.2.1	Codes multi-caractères	565
11.3	Sélections de séquences	566
11.4	Les menus du module <i>XpertEdit</i>	568
11.4.1	Le menu <i>Fichier</i>	570
11.4.2	Le menu <i>Éditer</i>	572
11.4.3	Le menu <i>Chimie</i>	572
11.5	Calculs de rapports <i>m/z</i>	587
11.6	Compositions	587
11.7	Options générales	588
11.7.1	Décimales	588
12	<i>XpertMiner</i>	591
12.0.2	Création de listes de paires (<i>m/z</i> , <i>z</i>)	593
12.1	Calculs sur liste unique	594
12.2	Calculs sur deux listes	595
12.2.1	Processus de comparaison	595
12.2.2	Exploitation des résultats	596
13	Personnaliser ses données	599
13.1	Le système de fichiers de <i>massXpert</i>	599
13.1.1	Les fichiers de la distribution	600
13.1.2	Les fichiers de l'utilisateur	606
13.2	Personnaliser ses données	607
13.2.1	Édition du fichier <i>ldna.xml</i> dans le module <i>XpertDef</i>	609
14	Annexes	613
	GNU General Public License Text	613
Index		627
3.1	Principe de l'analyseur à quadrupôle	63
3.2	Analyseur piège ionique quadrupolaire	65
3.3	Principe de l'analyseur piège à ions quadrupolaire	66
3.4	Analyseur piège ionique linéaire	68
3.5	Analyseur à résonance ionique cyclotronique	70
3.6	Principe de l'analyseur à résonance ionique cyclotronique	72
3.7	Traitement du signal conduisant d'un spectre de courants image à un spectre de masse	76
3.8	Analyseur piège à ions orbital	80
3.9	Principe d'un analyseur piège à ions orbital	81
3.10	Architecture d'un spectromètre de masse hybride Qq-TOF	85
4.1	Principe de la chromatographie d'exclusion	96

Docteur de l'université Pierre et Marie Curie, Paris VI, biochimiste, **Filippo Rusconi**, chercheur au CNRS, est spécialiste de la chimie analytique des biopolymères, en particulier des protéines. Ses recherches portent sur l'étude des modifications chimiques des protéines, qui sont étudiées par la mise en œuvre d'une palette complète de méthodes de chimie analytique. Il a participé à la mise en place des laboratoires de biochimie et de spectrométrie de masse de l'Institut européen de chimie et biologie à l'Université Bordeaux I. Il a dirigé la plateforme de spectrométrie de masse du Muséum national d'Histoire naturelle. Il enseigne en troisième cycle.



Logiciel **massXpert** de simulation et d'analyse de données de spectrométrie de masse pour GNU/Linux, Apple Mac OS X et MS-Windows

Manuel de spectrométrie de masse à l'usage des biochimistes

Ce manuel très complet et le logiciel performant qui l'accompagne permettent d'acquérir – pas à pas – la maîtrise de la spectrométrie de masse des 3 grands polymères biologiques : protéines, acides nucléiques et glucides.

La première partie de l'ouvrage décrit les concepts fondamentaux de la spectrométrie de masse et détaille le fonctionnement des sources d'ions et des analyseurs de masse mis en œuvre dans les principaux instruments commerciaux d'aujourd'hui conçus pour l'étude des polymères biologiques.

La deuxième partie expose en détail les différentes méthodologies permettant de séparer, purifier et décontaminer les polymères biologiques en vue de leur analyse par spectrométrie de masse. Chaque polymère fait ensuite l'objet d'une étude approfondie traitant successivement sa structure, la séparation et la purification des molécules d'intérêt et enfin son comportement dans un spectromètre de masse. L'énoncé des principes de la fragmentation en phase gazeuse pour les différents polymères biologiques y est particulièrement mis en lumière.

La dernière partie constitue le manuel d'utilisation du logiciel massXpert commercialisé avec l'ouvrage. Ce puissant logiciel, largement répandu dans le monde entier, est utilisé par l'auteur pour ses enseignements. C'est un spectromètre de masse virtuel doublé d'un laboratoire de biochimie qui permettra au lecteur de simuler ses expériences afin de mieux les préparer et de récolter le maximum de données analytiques à haute valeur ajoutée.

Du novice à l'opérateur expérimenté, cet ouvrage est conçu pour les professionnels des organismes de recherche du secteur public et privé, des laboratoires de recherche et d'analyses biochimiques, des centres de formation, des plateaux techniques, des entreprises pharmaceutiques et biotechnologiques. Ce livre s'adresse également aux étudiants en BTS, IUT, licences et masters des universités des sciences chimiques/biologiques.

