

Lundi 20 juin 2022			
			
12:00	Réunion du bureau et événement du Club-Jeunes		
13:15	Enregistrement des participants		
13:45	Introduction générale - Génèse du GdR-MSI Alain Brunelle, David Touboul (dir.adj. GDR) et Nicolas Desbenoit (dir. GDR)		
14:00	MALDI	Ana Paula Teixeira INRAE Nouzilly	Techniques expérimentales et applications
14:20	Biologie, microbiologie	David Touboul ICSN Paris Saclay	
14:40	Recherche médicale	Mélanie Lagarrigue-Reboutier IRSET Rennes	
15:00	SIMS (statique et dynamique)	Jean-Paul Barnes & Marc Veillerot CEA-LETI Grenoble	
15:30	Techniques ambiantes	Nina Ogrinc PRISM Lille	
15:50	Pause café		
16:20	DESI	Sylvère Durand Gustave Roussy Villejuif	Techniques expérimentales et applications
16:40	Environnement	Claire Villette IBMP Strasbourg	
17:00	Depht profiling, semi-conducteurs	Marc Veillerot CEA-LETI Grenoble	
17:30	Patrimoine	Caroline Bouvier BNF Paris	
17:50	TESCAN ANALYTICS		Présentation des sponsors
18:10	WATERS		
Temps libre			
19:30	Evènement festif (en cours d'organisation)		

Mardi 21 juin 2022			
08:30	Conférence plénière Erick Dufourc - CBMN Bordeaux <i>Wine tasting: a history of chemistry and physics</i>		
09:20	Aline Courmut IBMM Montpellier	Appel à présentations	
09:35	Pierre Hirchenhahn CEA-LETI Grenoble		
09:50	Maeva Marimoutou IPREM Pau		
10:05	Serge Della-Negra IJCLab Orsay		
10:20	Pause café		
10:40	David Legland - INRAE Nantes Michael Tuck - CBMN Bordeaux Farès Slimani - LCP Metz Léa Ledoux - PRISM Lille	Flash com.	
11:00	CAMECA-AMETEK	Présentation des sponsors	
11:20	BRUKER		
11:40	ORSAY PHYSICS		
12:00	IONTOF		
12:20	Déjeuner Buffet Posters Flash com.		
14:00	LA	Sandra Mounicou IPREM Pau	Techniques expérimentales et applications
14:20	Géochimie	Laurent Rémusat MNHN Paris	
14:40	Maria Angels Subirana Manzanaras IPREM Pau		Appel à présentations
14:55	Florent Grélard CBMN Bordeaux		
15:10	Justine Ferey INRAE Toulouse		
15:25	Conférence plénière Arnaud Delcorte - Université Catholique de Louvain <i>New approaches for improved molecular imaging by SIMS</i>		
16:15	Clôture Nicolas Desbenoit - CBMN Bordeaux		

Lundi 20 juin 2022

13:15 Enregistrement des participants

13:45 Introduction générale - Génèse du GdR-MSI

Alain Brunelle, David Touboul (directeurs adjoints du GdR) et Nicolas Desbenoit (directeur du GdR)

Techniques expérimentales et applications (1)

Session modérée par Cécile Courrèges (IPREM Pau) et Charles Pineau (INSERM-PROTIM Rennes)

14:00 MALDI - "matrix-assisted laser desorption/ionisation"

Ana Paula Teixeira (INRAE Nouzilly)

14:20 Biologie, microbiologie

David Touboul (ICSN Paris Saclay)

14:40 Recherche médicale

Mélanie Lagarrigue-Reboutier (IRSET Rennes)

15:00 SIMS - "secondary ion mass spectrometry" (statique et dynamique)

Jean-Paul Barnes & Marc Veillerot (CEA-LETI Grenoble)

15:30 Techniques ambiantes

Nina Ogrinc (PRISM Lille)

15:50 Pause café

Techniques expérimentales et applications (2)

Session modérée par Claudia Bich (IBMM Montpellier) et Arnaud Delcorte (Université Catholique de Louvain)

16:20 DESI - "desorption electrospray ionisation"

Sylvère Durand (Gustave Roussy Villejuif)

16:40 Environnement

Claire Vilette (IBMP Strasbourg)

17:00 Profilométrie, semiconducteurs

Marc Veillerot (CEA-LETI Grenoble)

17:30 Patrimoine

Caroline Bouvier (BNF Paris)

Présentation des sponsors (1)

Session modérée par Justine Ferey (INRAE Toulouse) et Anouk Galtayries (ENSCP Paris)

17:50 TESCOAN ANALYTICS

18:10 WATERS CORPORATION

18:30 Temps libre

19:30 Evènement festif



Plénière modérée par *Nicolas Desbenoit (CBMN Bordeaux)* et *David Touboul (ICSN Paris Saclay)*

08:30 Wine tasting: a history of chemistry and physics
Erick Dufourc (CBMN Bordeaux)

Communications (1)

Session modérée par Hélène Cazier (INSERM-CRI Clichy) et Armelle Cabin-Flaman (GPM Rouen)

09:20 Développement d'une approche SALDI-MS pour la détection spécifique de peptides
Aline Cournut (IBMM Montpellier)

09:35 De l'utilisation de matrices en ToF-SIMS tandem MS pour la caractérisation d'OLEDs
Pierre Hirchenhahn (CEA-LETI Grenoble)

09:50 Étude de l'utilisation de la coquille de gastéropode comme bioindicateur de la contamination métallique dans les rivières à l'aide de techniques d'imagerie par spectrométrie de masse
Maeva Marimoutou (IPREM Pau)

10:05 ANDROMEDE et le spectromètre de masse EVE : Nanoparticules de haute énergie et ToF-SIMS
Serge Della-Negra (IJCLab Orsay)

10:20 Pause café

Flash communications

Session modérée par Marisa Maia (LCP-A2MC Metz), Gauthier Rosé (LAMS Paris) et Nina Ogrinc (PRIMS Lille)

10:40 Fusion de données IRM et MALDI pour étudier le développement du grain de blé
David Legland (INRAE Nantes)

10:45 Mapping Lipids in Conjunction with Quantitative Drug Analysis for Tuberculosis with MALDI Mass Spectrometry Imaging
Michael Tuck (CBMN Bordeaux)

10:50 How to stalk the relationship of two organism and take pictures by mass spectrometry
Farès Slimani (LCP Metz)

10:55 Révélation de profils lipidiques spécifiques du cancer œsogastrique par imagerie MALDI-MSI et SpiderMass
Léa Ledoux (PRISM Lille)

Présentation des sponsors

Session modérée par Justine Ferey (INRAE Toulouse) et Anouk Galtayries (ENSCP Paris)

11:00 CAMECA-AMETEK

11:20 BRUKER

11:40 ORSAY PHYSICS

12:00 IONTOF

12:20 Déjeuner Buffet avec Posters Flash communication

Techniques expérimentales et applications (3)

Session modérée par Vincent Carré (LCP-A2MC Metz) et Marc Veillerot (CEA-LETI Grenoble)

14:00 LA - "laser ablation"
Sandra Mounicou (IPREM Pau)

14:20 Géochimie
Laurent Rémusat (MNHN Paris)

Communications (2)

Session modérée par Vincent Carré (LCP-A2MC Metz) et Marc Veillerot (CEA-LETI Grenoble)

14:40 NanoSIMS trace element and isotopic imaging for microbiology, toxicology and geology
Maria Angels Subirana Manzanares (IPREM Pau)

14:55 Méthodes informatiques pour la mise en corrélation d'images de spectrométrie de masse et d'immunofluorescence
Florent Grélard (CBMN Bordeaux)

15:10 TIMS TOF FleX Mass Spectrometry as a powerful technique for metabolomics/lipidomics imaging studies of animal and plant tissues
Justine Ferey (INRAE Toulouse)

Plénière modérée par *Alain Brunelle (LAMS Paris)* et *Marie-Amandine Pinault-Thaury (GEMaC Versailles)*

15:25 New approaches for improved molecular imaging by SIMS
Arnaud Delcorte (Université Catholique de Louvain)

16:15 Clôture par *Nicolas Desbenoit (directeur du GDR)*

Wine tasting: a history of chemistry and physics

Erik Dufourc

Institut Européen de Chimie et Biologie (IECB), Chimie & Biologie des Membranes & des Nano-objets (CBMN), Université de Bordeaux, 2 rue Robert Escarpit, 33607 Pessac, France

erick.dufourc@cnrs.fr

Wine has an 8000-year-old history as traces of tannin and tartrate were recently discovered in Georgian amphorae. It was discovered after the natural fermentation of fruits, especially grapes, and drunk as is or mixed with resin, pepper, etc. in ancient Egypt. The Gauls drank it pure or with water. The Anglo-Saxons drank Bordeaux claret at the English court, but it was impossible to preserve it until Louis Pasteur discovered the chemistry of wine and its various fermentations to stabilize it. Wine is in fact a complex colloid, loaded with tannins, and its interaction with the proteins of saliva and the lipids and receptors of the oral membranes or of the food bowl conditions the sensations of astringency, bitterness, acidity, sweetness, saltiness and umami. Numerous interactions have been demonstrated by physicochemical techniques such as NMR, mass spectrometry or molecular modeling. The conference will try to propose a molecular trip to the land of taste.



Erick Dufourc received his PhD in biophysics from the University of Ottawa/National Research Council, Canada, in 1983. He joined the CNRS (Centre National de la Recherche Scientifique, France) in 1983 and obtained a Ph.D. (DSc) in physical sciences from the University of Bordeaux, France, in 1986, working on solid-state NMR of lipids and peptides. After an Alexander von Humboldt sabbatical year in Stuttgart, Germany, where he worked on the theory of membrane dynamics, he returned to Bordeaux and obtained a research director position at CNRS and a chair at the University of Bordeaux, to develop NMR of soft matter.

In 1998, he was one of the founders of the European Institute of Chemistry and Biology (IECB) where he led the group "Biophysics of membrane assemblies" and developed a unique platform of NMR spectrometers to work on the structural biology of membranes. In 2006, he created and directed for 11 years the Institute of Chemistry and Biology of Membranes and Nanoobjects (CBMN), an interdisciplinary institute gathering 200 chemists, physicists and biologists in Bordeaux. In parallel, he has also developed with other French scientists the TGIR RMN THC (France Large scale infrastructure of high field NMR spectrometers). The Bordeaux site is dedicated to NMR for "membrane and colloid sciences". In 2017, he was appointed deputy scientific director of the Institute of Chemistry at CNRS headquarters in Paris, in charge of chemical biology and molecular and supramolecular chemistry in France.

He becomes Director of Research Emeritus of the CNRS in 2021 and is currently pursuing his research at the CBMN. He has published more than 200 papers and books.

His team is currently developing three research axes in structural biophysics by NMR: i) membrane lipids, ii) membrane peptides and proteins and iii) colloids for health and nutrition.

Développement d'une approche SALDI-MS pour la détection spécifique de peptides

Aline Cournut¹, Paul Moustiez², Claudia Muracciole-Bich¹, Yannick Coffinier², Christine Enjalbal¹

¹Institut des Biomolécules Max Mousseron (IBMM) - Montpellier

²Institut d'Electronique de Microélectronique et de Nanotechnologie (IEMN) - Lille

aline.cournut@etu.umontpellier.fr

Le SALDI-MS (Surface-Assisted Laser Desorption/Ionisation Mass Spectrometry) est une approche dérivée du MALDI-MS (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation Mass Spectrometry) qui permet de s'affranchir des inconvénients liés à l'utilisation de matrices organiques qui co-cristallisent avec les analytes. En SALDI-MS, les surfaces constituées de nanomatériaux sont des matrices de types inorganiques qui ont pour rôles de permettre les phénomènes de désorption/ionisation. Ainsi, les particules absorbent l'énergie du rayonnement laser pour la transférer aux analytes. L'objectif de ce projet est de développer une approche SALDI-MS pour la détection de peptides synthétiques qui soit comparable à l'approche MALDI-MS tout en s'affranchissant des interférences des matrices organiques.

Les surfaces nanostructurées étudiées sont des plaques d'acier modifiées chimiquement par du perfluorosilane et texturées selon différentes fréquences et puissances d'écriture laser. De plus, la texturation des surfaces est modifiée en fonction du nombre de passages du laser et de sa direction d'écriture (verticale et/ou horizontale).

L'efficacité des surfaces des deux plaques d'acier, possédant différentes caractéristiques physico-chimiques, en SALDI-MS a été démontrée par l'analyse de mélanges de peptides standards (m/z 600 – 3000). Ces mélanges ont été utilisés pour comparer les différentes surfaces d'un point de vue de l'efficacité de désorption/ionisation mais aussi de l'homogénéité des dépôts. Les surfaces sélectionnées doivent avoir (i) des propriétés chimiques permettant une désorption/ionisation des peptides en mélange optimale (ii) des propriétés physico-chimiques permettant un dépôt aisé et (iii) une homogénéité de dépôt vérifiée par imagerie (SALDI-MSI). Les 100 surfaces évaluées avec les mélanges de peptides permettent d'obtenir des résultats différents selon leurs paramètres d'écriture.

Les résultats d'intensité, d'aire et de rapport signal sur bruit ont permis de sélectionner trois surfaces de la plaque d'acier n°1 et cinq surfaces de la plaque d'acier n°2 comme étant optimales en termes d'efficacité de désorption/ionisation des peptides des mélanges. Les analyses par SALDI-MSI des surfaces précédemment sélectionnées de la plaque d'acier n°1 et des 50 surfaces de la plaque d'acier n°2 ont permis de déterminer les surfaces combinant les meilleures conditions de désorption/ionisation et les meilleurs paramètres d'homogénéité de dépôt. Les résultats obtenus avec les surfaces ayant données des résultats prometteurs ont ainsi pu être comparés avec ceux obtenus par analyses MALDI classique. Ces résultats montrent que l'optimisation des surfaces doit encore être réalisée mais que dans certains cas, elles permettent des sensibilités équivalentes voir supérieures à celles obtenus par MALDI-MS.

Grâce à ces différents essais, nous avons ainsi été en mesure de déterminer les paramètres d'écritures des surfaces optimum pour l'analyse de peptides synthétiques et de comparer ces résultats avec l'approche par MALDI.

De l'utilisation de matrices en ToF-SIMS tandem MS pour la caractérisation d'OLEDs

P. Hirchenhahn¹, C. Guyot¹, T. Maindron¹, B. Gilquin¹, G. Fisher², J.-P. Barnes¹.

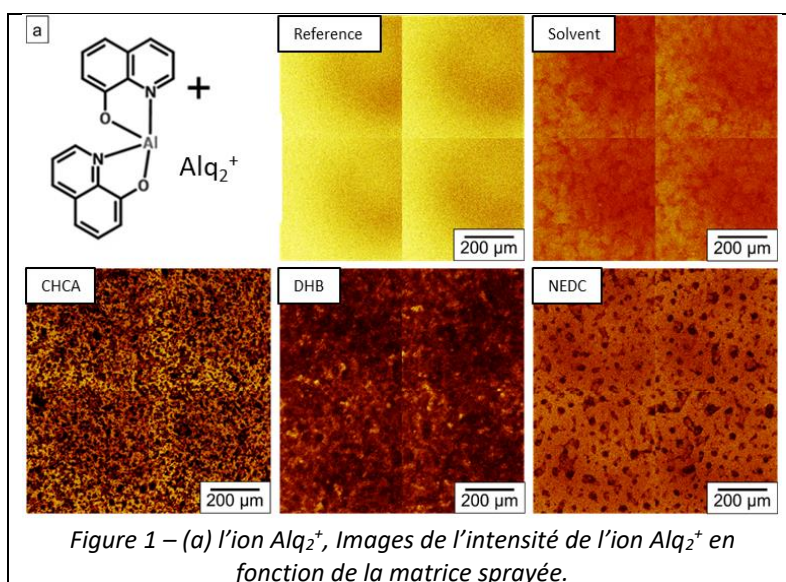
¹ Univ. Grenoble Alpes, CEA, Leti, F-38000 Grenoble, France

² Physical Electronics, Chanhassen, Minnesota 55317, Etats-Unis

pierre.hirchenhahn@cea.fr

Le ToF-SIMS (Time of Flight Secondary Ion Mass Spectrometry), technique prisée pour l'analyse de surfaces, a récemment fait l'objet de développements permettant la réalisation de mesures en tandem MS. Lors de la mesure, certains fragments peuvent être sélectionné afin d'être refragmenté, ceci offrant la possibilité d'identifier la nature et la structure des ions ainsi étudiés, en particulier dans les hautes masses. Cependant, les ions présentant des masses élevées ne présentent pas toujours les meilleurs taux d'ionisation et sont sujet à fragmentation avant leur détection. Il est donc important d'augmenter leur taux d'ionisation.

Différentes méthodologies existent, mais la moins exploitée en ToF-SIMS est le dépôt de matrices comme en MALDI (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization). Cette méthodologie a déjà fait ces preuves sur des échantillons biologiques, mais n'a pas été explorée pour des OLEDs (Organic Light Emitting Devices). Pour ce travail, différents matériaux d'OLEDs ont été étudiés : Alq₃, Ir(mppy)₃, HATCN, F₄TCNQ, NPB STTB et TCTA. Trois matrices fréquemment utilisées en MALDI ont été choisies pour cette étude : l'acide α-cyano-4-hydroxycinnamique (CHCA), acide 2,3-dihydrobenzoïque (DHB), et la N-(1-naphthyl)ethylenediamine dihydrochlorure (NEDC). Elles ont été sprayées en utilisant un mélange 50/50% v/v d'eau et d'acétonitrile avec différentes épaisseurs. Ces surfaces ont été analysées à l'aide d'un PHI Nanotof 2 en acquérant des spectres, des images (voir Figure 1) et des profils. Les résultats montrent qu'il existe une épaisseur optimale pour le dépôt de matrices, mais surtout que le sprayage du solvant seul est parfois plus performant que les matrices pour augmenter le taux d'ionisation. Cela ouvre la voie à l'utilisation de molécules plus simples et volatiles comme matrices en ToF-SIMS. Ce travail, réalisé sur la Plate-Forme de Nano-Characterisation (PFNC), est soutenu par le Programme « Recherches Technologiques de Base » de L'Agence Nationale de la Recherche (ANR).



Étude de l'utilisation de la coquille de gastéropode comme bioindicateur de la contamination métallique dans les rivières à l'aide de techniques d'imagerie par spectrométrie de masse

Maëva Marimoutou¹, Gilles Bareille¹, Patrick Baldoni-Andrey², Amiel Boullemant³, Cécile Courrèges¹, Clémentine Gelber², Sandra Mounicou¹, Hélène Tabouret¹, Séverine Le Faucheur¹

¹ Université de Pau et des Pays de l'Adour, E2S-UPPA, CNRS, IPREM, Chaire Ecotox, Pau, France

² TotalEnergies, Pole d'Études et de Recherche de Lacq, France

³ Rio Tinto Closure, France

mae.marimoutou@gmail.com

Les coquilles de gastéropodes se développent tout au long de leur vie en intégrant certains des éléments chimiques présents dans leur environnement, dont les métaux. Bien que les études soient rares, des relations ont été établies entre la distribution des métaux dans la coquille entière et celle présente dans le milieu ambiant. L'objectif de ce travail est d'évaluer l'utilisation des coquilles comme outil de biosurveillance des concentrations en métaux dans les eaux douces. Deux techniques d'imagerie par spectrométrie de masse sont actuellement optimisées pour explorer la distribution des métaux dans les coquilles à différentes échelles spatiales : La spectrométrie de masse à ions secondaires à temps de vol (TOF-SIMS - échelle nanométrique) et la spectrométrie de masse à plasma inductif par ablation laser (LA-ICPMS - échelle micrométrique). Pour cela, des *Radix balthica* ont été collectés sur différents sites influencés par l'apport de métaux d'une station d'épuration des eaux usées (STEP). Les sites choisis étant : 1) l'amont de la STEP, 2) l'effluent de la STEP et 3) l'aval de la STEP qui est le lieu de mélange entre l'effluent et le site amont. Des analyses microchimiques des métaux ont été effectuées au LA-ICP-MS afin d'étudier la distribution des métaux dans les couches de la coquille. Mais également au TOF-SIMS afin de comparer la distribution des métaux sur la surface externe et interne de la coquille. Ces mesures nous permettront de vérifier l'enrichissement de la coquille en métaux selon les différents sites et d'évaluer dans quelles parties de la coquille les métaux s'accumulent. Les résultats LA-ICP-MS ont montré que le Sr, Ba et Mn étaient distribués de manière homogène dans la coquille. Les métaux Zn, Ni, Pb et Cu étaient principalement accumulés dans la surface externe de la coquille qui est une couche enrichie en molécules organiques, comme le montrent les analyses TOF-SIMS. En revanche, la surface interne de la coquille étant plus minérale n'en contient pas autant de ces métaux. Enfin, les plus fortes concentrations de Sr (1083 ppm), Ba (126 ppm) et Mn (168 ppm) ont été observées dans le site amont. Néanmoins pour le Zn (85 ppm), le Ni (23 ppm), le Pb (17 ppm) et le Cu (10 ppm), l'accumulation dans la coquille était plus élevée dans le site d'effluent. En conclusion, ces résultats nous permettent de montrer que la coquille peut être une bioarchive pour l'accumulation des métaux en milieu d'eau douce.

ANDROMEDE et le spectromètre de masse EVE : Nanoparticules de haute énergie et ToF-SIMS.

S. Della Negra*, F. Daubisse, D. Jacquet, I. Ribaud

IJCLab - Laboratoire de Physique des 2 Infinis Irène Joliot-Curie, CNRS / PARIS-SACLAY, 15 rue Georges Clemenceau, 91405
ORSAY CEDEX

dellaneg@ijclab.in2p3.fr

La plateforme Andromède¹ (ANR-10-EQPX-23) installée à l'IJCLab délivre des faisceaux d'agrégats et nanoparticules d'or accélérés dans le domaine du MeV par un accélérateur électrostatique 4MV Nec-Pelletron. Elle est dotée d'un dispositif expérimental conçu pour l'analyse de surface sous ultravide par temps de vol. Il comprend un porte cible motorisé (X, Y, Z) permettant de balayer de grandes surfaces avec une précision de 100 nm, une ligne de microscopie par émission électronique ou protonique permettant une localisation des impacts au micron, un ensemble de réglage et focalisation, et un détecteur d'ions secondaires multi-anodes fournissant la position des impacts et leur temps de vol.

Les rendements élevés d'ions secondaires obtenus par l'impact des nanoparticules dans la gamme du MeV sont spécifiques et liés à la taille du volume d'émission. Une valeur moyenne de l'ordre de 10^5 à 10^6 nm³ par impact a été déterminée² après l'irradiation de films polymères d'épaisseur de 50 et 120 nm. L'analyse des surfaces est effectuée impact par impact d'une nanoparticule. A chaque impact un tel volume d'émission correspond à des centaines d'ions secondaires. Le système d'acquisition et traitement de données, associé au détecteur multi-anodes permet l'identification des ions secondaires émis et la mesure de leur distribution angulaire et multiplicité. Des sélections multiparamétriques, effectuées impact par impact, permettent d'extraire par l'analyse des coïncidences entre les différents ions secondaires, la signature d'une co-émission de différents atomes et molécules et donc leur co-localisation dans un voxel (volume d'émission correspondant à un impact). Cette sélection permet aussi de déterminer les distributions de vitesses radiale et axiale pour un ion donné en fonction de son environnement sur la surface. Ce type d'analyse, effectué sur les ions positifs et négatifs provenant du dépôt organique comme sur ceux issus du substrat, met en évidence différentes séquences dans le processus d'émission secondaire induits par ces projectiles massifs.

L'instrument sera présenté ainsi que les caractéristiques de l'émission secondaire jusqu'aux cratères formés. Ensuite différentes analyses couvrant les domaines actuellement abordés seront illustrées des surfaces de cavités accélératrices jusqu'à la colocalisation d'anticorps.

Références

1. M.J. Eller, E. Cottureau, B. Rasser, E. Verzeroli, B. Agnus, G. Gaubert, X. Donzel, A. Delobbe, S. Della Negra, *N.I.M. B*, 51 (2015) Volume 365, Part A, 367-370
2. T. L. Lai, D. Jacquet, I. Ribaud, M. J. Eller, D. Verkhoturov, E. A. Schweikert, L. H. Galvão Tizei, F. Shao, S. Bilgen, B. Mercier, G. Sattonnay, and S. Della Negra, *Journal of Vacuum Science & Technology B* 38, (2020) 044008.

Fusion de données IRM et MALDI pour étudier le développement du grain de blé

Florent Grélard^{1,2}, David Legland^{1,2}, Loïc Foucat^{1,2}, Mathieu Fanuel^{1,2}, Hélène Rogniaux^{1,2}

¹ INRAE, UR BIA, F-44300 NANTES, France

² INRAE, PROBE infrastructure, BIBS facility, F-44300 NANTES, France

david.legland@inrae.fr

L'eau et les polysaccharides des parois sont deux composantes qui impactent fortement les propriétés technologiques ou d'usage des produits agronomiques tels que le grain de blé. Nous avons utilisé l'imagerie par spectrométrie de masse (MSI) pour cartographier la composition chimique des échantillons, et l'imagerie par résonance magnétique (IRM) pour décrire l'anatomie des organes et leur état d'hydratation. Obtenir une vision complète de l'échantillon nécessite de pouvoir comparer et fusionner les informations obtenues par ces deux modalités. Les difficultés concernent la différence de résolution des images, et les déformations induites par la MSI lors de la préparation des échantillons.

Nous avons développé une chaîne de traitement d'images qui comprend les étapes de pré-traitement spécifiques à chaque modalité, le recalage des images (par méthodes variationnelles) pour corriger les déformations et mettre les informations en correspondance spatiale, et une étape de réduction de dimension (NMF) pour simplifier les données. La superposition des informations permet de mettre en correspondance la mobilité de l'eau et la composition chimique.

La méthode permet de relier la nature de l'hydratation des parois du grain à celle du degré de substitution et d'acétylation des polysaccharides non cellulosiques. En particulier, la colocalisation des xylanes les plus substitués et/ou fortement acétylés dans les régions les plus hydratées suggère une plus grande porosité des parois liée à la modification des xylanes. Après avoir validé la méthode sur des coupes 2D, nous nous intéressons aux variations de ces corrélations dans le grain 3D à différents stades de développement.

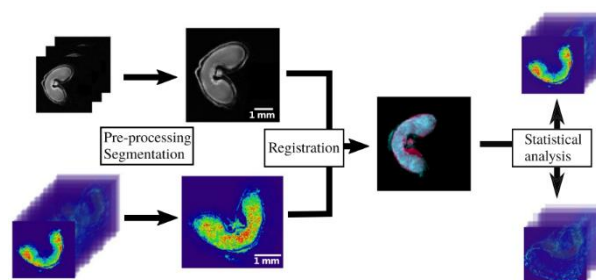


Figure 1 – Vue générale des étapes de traitement, comprenant le pré-traitement de chaque modalité pour obtenir une image plus facilement exploitable, le recalage des images, et l'analyse statistique pour mettre en relation les informations issues de chaque modalité.

Références

Grélard F. et al. Esmraldi: efficient methods for the fusion of mass spectrometry and magnetic resonance Images. BMC Bioinformatics, 2021 - <https://doi.org/10.1186/s12859-020-03954-z>.

Mapping Lipids in Conjunction with Quantitative Drug Analysis for Tuberculosis with MALDI Mass Spectrometry Imaging

Michael Tuck¹, Landry Blanc¹, Florent Grélard¹, Véronique Dartois², Nicolas Desbenoit¹

¹ Institut de Chimie & Biologie des Membranes & des Nano-objets, CBMN UMR 5248, CNRS, Université de Bordeaux, 1 Allée Geoffroy Saint-Hilaire, 33600 Pessac, France

² Center for Discovery and Innovation, Hackensack School of Medicine, 111 Ideation Way, Nutley, New Jersey 07110, United States

michael.tuck@u-bordeaux.fr

OBJECTIVES: To correlate MSI signal of drug-treated tissue with a mimetic model, adding quantitative information to MALDI-MSI in a way that allows concurrent analysis of endogenous lipids.

BACKGROUND: Mycobacterium Tuberculosis (Mtb) is the number one cause of death from a single infectious agent with 1.4 million dead in 2019.¹ Clofazimine (CFZ), a 2nd line antibiotic, localizes in the lung of treated mice. However, whether it is localizing within the necrotic granulomas, where the Mtb reside, and at what concentrations is unclear. By analyzing and quantifying CFZ in a way that allows for the imaging of lipids, pertinent information is obtained.

METHODS: A mimetic tissue is prepared by homogenizing rat liver and spiking aliquots with drug standard. The homogenates are then serially frozen and sectioned in a long strip of solid tissue with 7 calibration points. When analyzed alongside the tissue of interest, the intensity of the drug in tissue will correspond to the intensity of the known drug concentration in the mimetic tissue.² Mimetic tissue and Mtb-infected dosed rat lungs are sectioned at 12µm and sublimated with 1, 5-diaminonaphthalene. After, MALDI-MSI is conducted via AP-SMALDI10 (TransMIT) and a QExactive Orbitrap (Thermo) to quantify CFZ and spatially localize it along with positive mode lipids.

RESULTS: A mimetic tissue was generated with 7 calibration points ranging from 1.2 to 980 pmol/µL. MSI sensitivity for CFZ was high at 5 µm spatial resolution and lipids localized to the necrotic granuloma, such as PC(34:1) and PE(37:2). MSI of dosed rat lungs show a correlation in signal intensity to the mimetic tissue, facilitating the direct comparison of a known concentration of CFZ and the unknown concentration in mouse tissue. The result is a quantitative MSI dataset for the anti-TB drug CFZ. Future studies can quantify phosphatidyl-myo-inositol mannosides to correlate with the mycobacteria present in the infected lung.

Références

1. Global Tuberculosis Report 2020. Geneva: World Health Organization; 2020
2. J. Barry, *et al. Bioanalysis*. **11** (1099-1116), 2019.

How to stalk the relationship of two organism and take pictures by mass spectrometry

Farès Slimani¹, Julien Comel¹, Patrick Chaimbault¹, Vincent Carré¹

¹Laboratoire de Chimie et Physique – Approche Multi-échelles des Milieux Complexes, Université de Lorraine, 57070 Metz, France

fares.slimani@univ-lorraine.fr

Mass spectrometry imaging allows highlighting inter-organism molecular exchanges in a specific stage of interaction but it is often hard to identify the involved metabolites. Therefore, information this technique can provide are very useful for interpreting the type of interaction (symbiotic, neutral or toxic).

A first case study dedicated to interaction between bacteria (*Streptomyces*) and tree roots (from poplar) will be presented. In order to highlight the MS features involved in the dialog between organisms, MALDI MSI was performed directly on the culture medium. Many pitfalls had to be circumvented to preserve the sample integrity during its preparation and analysis. This was related to the matrix behaviour principally when deposited on such medium but also to the high heterogeneity of the biological material studied. The strength of this method is that compounds can be related to one or another organism depending on the location in the sample's image.

Révélation de profils lipidiques spécifiques du cancer œsogastrique par imagerie MALDI-MSI et SpiderMass

Léa Ledoux¹, Nina Ogrinc¹, Yanis Zirem¹, Florence Renaud², Guillaume Piessen², Michel Salzet¹, Isabelle Fournier¹

¹Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, U1192 – Protéomique Réponse Inflammatoire Spectrométrie de masse – PRISM, F-59000 Lille, France

² Mucines, Différenciation et cancérogénèse épithéliale, UMR-S 1172, Université de Lille

lea.ledoux.etu@univ-lille.fr

Introduction

Avec environ 951 000 cas par an, le cancer œsogastrique (CE) est le cinquième cancer le plus diagnostiqué dans le monde. Le CE englobe une variété de types d'adénocarcinomes différents, tels que les types tubulaires, papillaires, mucineux et les PCC, ces derniers comprenant eux-mêmes 2 sous-types, les SRC et les NOS. Le PCC est un type très agressif, survenant chez des patients jeunes, et extrêmement difficile à diagnostiquer en raison de son caractère diffus. En particulier, il est difficile de distinguer le PCC pendant les examens extemporanés, conduisant à une rechute d'une moitié des patients. L'objectif du projet est de mettre en place un diagnostic peropératoire plus spécifique pour guider le geste des chirurgiens dans l'ablation de la tumeur entière en se basant sur une nouvelle technologie de spectrométrie de masse, la technologie SpiderMass et l'étude des profils lipidiques spécifiques des CE.

Résultats

La cohorte de échantillons de CE (40 sains et 40 cancers) a d'abord été analysée par MALDI-MSI dans les deux polarités pour étudier l'hétérogénéité moléculaire. Les analyses multivariées révèlent que chaque type et sous-type de CE présente un profil moléculaire différent et spécifique permettant une discrimination nette. Les marqueurs discriminants des différents types et sous-types ont été identifiés par MS² et annotés manuellement. Il est intéressant de noter qu'une hétérogénéité moléculaire importante est révélée par MALDI-MSI, hétérogénéité qui s'avère particulièrement importante pour les tissus sains. En raison de la forte similitude entre les spectres MALDI et WALDI MS (93%), la même cohorte a ensuite été analysée par la technologie SpiderMass. Les images SpiderMass sont très similaires à celles du MALDI, amenant à l'identification des mêmes marqueurs discriminants. Les données SpiderMass ont ensuite été utilisées pour construire des modèles de classification pour le typage et le sous-typage des CE. Les modèles de classification seront ensuite validés en aveugle pour ensuite être déployés en condition réelle pour comparer les performances par rapport au « gold standard » de l'anatomopathologie.

Mass Spectrometry Imaging to decipher TB granuloma microenvironment and drugs penetration

Landry Blanc¹, Florent Grélard¹, Michael Tuck¹, Antonio Peixoto², Véronique Dartois³, Nicolas Desbenoit¹

¹ Univ. Bordeaux, CNRS, CBMN, UMR 5248, F-33600 Pessac, France

² IPBS, UMR 5089 CNRS, Toulouse, France

³ Center for Discovery and Innovation, Hackensack Meridian Health (CDI-HMH, New-Jersey, USA)

Msi.Landry.blanc@gmail.com

Mycobacterium tuberculosis (Mtb), the etiological agent of tuberculosis, establishes a durable lung infection in complex lesions where it is found intracellularly in various immune cell types and extracellularly in the central necrotic core of these lesions. Our current efforts are focused on studying the TB granuloma microenvironment and anti-TB drug penetration in tissue by MALDI mass spectrometry imaging to visualize and identify molecules and métabolites of interest at the cellular and subcellular level.

The AP-SMALDI-Orbitrap combines a high spatial resolution down to 5 μm with the high specificities of the Orbitrap. This approach will be applied to a tissue section of tuberculosis infected mice who will receive anti-TB antibiotics.

The methodological developments have shown that lipid biomarkers related to tuberculosis were co-localized with the infectious agent or different types of cell population. All of these biomolecules have been identified and characterized. Moreover, thanks to the high spatial resolution provided by the AP-MALDI ion source, the penetration of anti-tuberculosis drugs has been investigated into the granuloma.

The ability to visualize drugs, metabolites and biomarkers with high resolution MALDI imaging allows the direct co-localization of drugs with specific bacterial target populations.

Increased image clarity and specificity using DESI Multi-Reflecting Time of Flight analysing lipid metabolites in mouse testis

Sheba Jarvis², Mark Towers¹, Charlotte Bevan², Emmanuelle Claude¹

¹Waters Corporation, Wilmslow, UK - ²Imperial College London, Hammersmith Hospital, London, UK

emmanuelle_claude@waters.com

Tight regulation in lipid homeostasis is critical for male fertility and in the normal process of germ cell development, extensive lipid remodelling occurs in different cell types which is poorly understood. Mass spectrometry imaging (MSI) provides spatial localization of different molecular species in the adult mouse testis.

With the improvements developed for DESI source such as higher spatial resolution as well as advances in time-of-flight technology, we have investigated lipid metabolites of the different compartments within a mouse testis using high resolution MSI for increased specificity and high mass accuracy.

MSI experiments were carried out on a Q-ooTOF and multi-reflecting Q-ToF (MRT) mass spectrometer equipped with a DESI source. DESI spray conditions were set at 2 µl/min, 95:5 MeOH: water.

In positive ion mode, mainly glycerophospholipids were detected with a mix of potential cation types such as H⁺, Na⁺ and K⁺, increasing the complexity in lipid identification.

The MRT instrument yields ppb mass accuracy, allowing possible identification of PC (36:1) and PC (38:4), strongly localised in the interstitial regions where Leydig cells and blood vessels reside. PC (34:1) and PC (36:4) (Na⁺ and K⁺) ions were mainly localised in the Sertoli cells/early germ cell type and PC (38:5) and PC 38:6) were localised in the more mature germ cells.

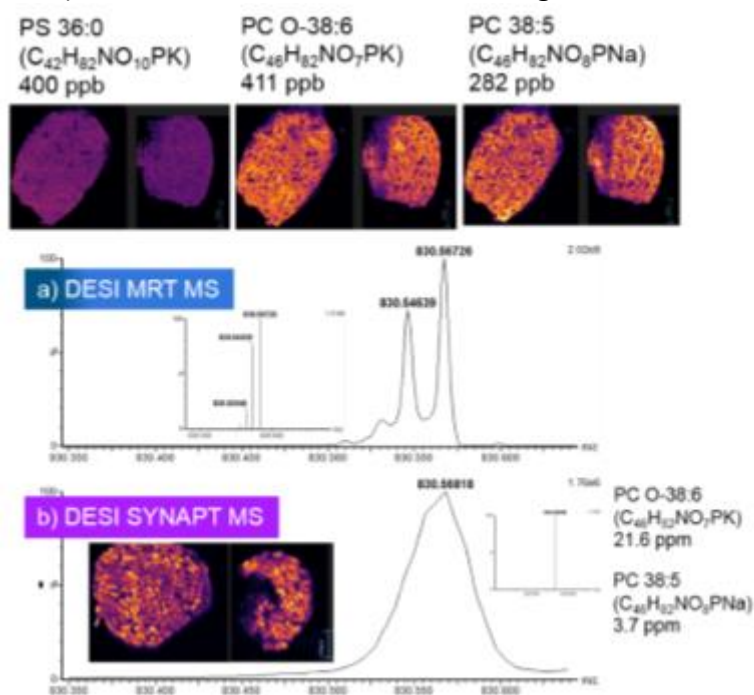


Figure 1 - Increase MS resolution highlighting three different lipids with specific distribution within the testes. Sub 500 ppb mass accuracy increase identification confidence with a) DESI MRT MS data vs. b) DESI SYNAPT XS MS.

Comparing the datasets from Q-oaTOF (FWHM \sim 25,000) and MRT (FWHM \sim 200,000), there are numerous examples where the increased mass resolution obtained with the MRT allows several peaks to be resolved whereas only one was detected with the Q-oaTOF.

For example, for m/z 830.55, four peaks were detected with the MRT and localised within the testis tissue. By order of intensity, they could be tentatively identified as PC 38:5 ($C_{46}H_{82}NO_8PNa^+$, 282ppb), PC O-38:6 ($C_{46}H_{82}NO_7PK^+$, 253ppb), PS 36:0 ($C_{42}H_{82}NO_{10}PK^+$, 400 ppb). However, only one peak was detected using the standard Q-oaTOF and the mass accuracy for PC 38:5 was over 3.7 ppm likely due to the interference of the PC O-38:6.

Further analyses were performed in negative mode by DESI imaging to highlight lipids that are only present in testis tissues called seminolipids. Lipid putative identification were carried out and overall, in positive and negative mode sub 500 ppb RMS was calculated, providing higher confidence in identification.

DESI MSI allows the differentiation of specific tissue types in positive and negative ionisation mode. As previously demonstrated lipid profiles in the different tissue types within a mouse testis are radically different, in both positive and negative mode. With the ultra-high MS resolution, baseline resolution of lipids with a less than 20 mDa mass difference were successfully imaged, allowing the detection of fine isotopic structure species. Mass accuracy on a wide range of lipids demonstrated sub-500 ppb and a RMS error of 203 ppb.

NanoSIMS trace element and isotopic imaging for microbiology, toxicology and geology

Maria Angels Subirana, Dirk Schaumlöffel

IPREM, Université de Pau et des Pays de l'Adour, E2S UPPA, CNRS, 2 Av Président P. Angot, 64000, Pau, France

ma.subirana-manzanares@univ-pau.fr

Nano secondary ion mass spectrometry (NanoSIMS) is an analytical imaging technique that consists in the scanning of a focused positive or negative primary ion beam (with Cs⁺ or O⁻ ions) on the sample surface to produce secondary ions that are analysed by a mass spectrometer under high vacuum to produce elemental and isotopic images. The lateral resolution below 50 nm that allows the mapping at the sub-cellular scale, and the high sensitivity, that enables the detection of trace concentrations, make it especially relevant for the analysis of macronutrient and trace elements in biological cells and tissues.

NanoSIMS can be applied to a variety of samples. Several examples will be presented to illustrate the potential of this technique: (1) The distribution of arsenic in the cells of Sargassum algae. Sargassum algae, containing a high concentration of arsenic, cause severe environmental problem to coastal areas in the Caribbean. A detailed characterization of the distribution of arsenic in the cells can explain the mechanisms of absorption as well as lixiviation during degradation. Our results show arsenic mainly in the cell wall, and combined with correlative techniques, give an indication of the chemical speciation in which As is found in Sargassum. (2) The bioaccumulation of mercury in the liver of sperm whales. This first observation of mercury on NanoSIMS shows that there is an accumulation of mercury in the form of HgSe particles in the liver of whales which supports the hypothesis of Se involvement in Hg detoxification.¹ (3) The phagocytosis of salmonella bacteria by murine macrophages, and the involvement of trace elements such as Mn, Ni, Fe, Co and Cu in this physiological process.² (4) The measurement of ¹⁸O/¹⁶O and D/H ratios in micrometric to nanometric sized clay minerals (kaolinite and smectite) in palaeosols levels from early Barremian (Lower Cretaceous) can be used for palaeoclimatic deductions.

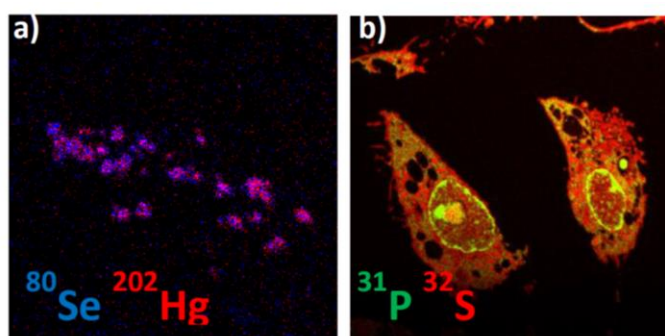


Figure 1 -a) Colocalization of ²⁰²Hg (red) and ⁸⁰Se (blue) in HgSe particles in liver tissue from sperm whale. b) Distribution of ³¹P (green) and ³²S (red) in two macrophages where a salmonella cell is visible inside a phagosome

References

1. M.A. Subirana, et al. Anal. Chem. 93, 37 (2021), 12733–12739.
2. M.A. Subirana, et al. Metallomics. 14 (2022), mfac011.

Méthodes informatiques pour la mise en corrélation d'images de spectrométrie de masse et d'immunofluorescence

Florent Grélard¹, Landry Blanc¹, Michael Tuck¹, Nicolas Desbenoit¹

¹ Univ. Bordeaux, CNRS, CBMN, UMR 5248, F-33600 Pessac, France

florent.grelard@u-bordeaux.fr

L'imagerie multimodale exploite les complémentarités de plusieurs modalités d'imagerie. Dans le domaine biomédical, elle est notamment employée pour identifier des pathologies et améliorer les pratiques cliniques. L'objectif de ce projet est de proposer des méthodes informatiques et mathématiques efficaces pour mettre en relation les réactions métaboliques avec leur localisation au sein de différentes cellules. D'une part, l'imagerie par spectrométrie de masse (MSI) permet d'obtenir une image où chaque pixel correspond à la distribution en molécules en ce point. D'autre part, la microscopie par immunofluorescence (IF) permet d'identifier des types cellulaires. Dans notre approche multimodale, nous identifions automatiquement les lipides en MALDI-MSI qui sont distribués dans différents types cellulaires en IF.

L'acquisition de coupes de rates de souris se fait d'abord en MALDI-MSI, puis en IF avec des anticorps ciblant les lymphocytes B et T, ainsi que les macrophages. Dans un premier temps, les images issues de chaque modalité sont pré-traitées indépendamment : sélection de pics et réalignement spectral pour les images MALDI-MS, et segmentation des types cellulaires en IF. Ensuite, les images sont recalées via des marques fiduciales. Une visualisation basée sur une représentation en graphe de la matrice des corrélations permet de mettre en évidence les similarités entre les images d'ions. Les ions spécifiques des régions en IF sont déterminés par la valeur d'aire sous la courbe des fonctions Receiver Operating Characteristic (ROC). En outre, nous proposons une méthode qui permet de mettre en évidence de nouvelles distributions, et de nouveaux types cellulaires à investiguer. Elle se base sur un critère de dispersion des pixels intenses dans l'image. L'ensemble de ces outils prolonge un travail entamé précédemment pour la mise en corrélation d'images MS et IRM¹. Ils sont regroupés au sein de la bibliothèque *Esmraldi*, disponible en open-source. Par la suite, nous prévoyons de les utiliser afin d'étudier la diffusion et la localisation d'antibiotiques anti-tuberculeux.

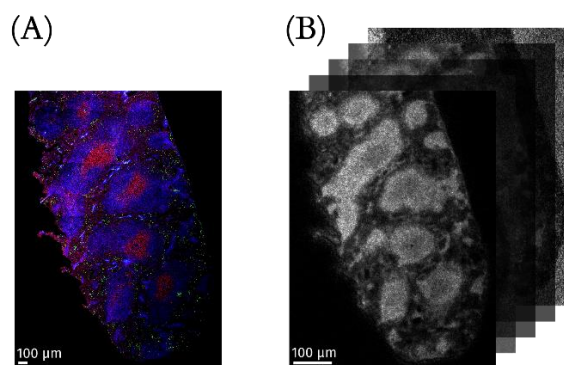


Figure 1 – Images de rate de souris obtenues (A) en IF et (B) en MSI.

Références

1. Grélard, F., Legland, D., Fanuel, M. et al. Esmraldi: efficient methods for the fusion of mass spectrometry and magnetic resonance images. *BMC Bioinformatics* **22**, 56 (2021).

TIMS TOF FleX Mass Spectrometry as a powerful technique for metabolomics/lipidomics imaging studies of animal and plant tissues

Justine Ferey^{1,2}, Loïc Mervant^{1,2}, Ndeye Dieng^{1,2,3,4}, Emilien Jamin^{1,2}, Sylvie Fournier^{3,4}, Laurent Debrauwer^{1,2}

¹ *Toxalim (Research Centre in Food Toxicology), Toulouse University, INRAE, ENVT, INP-Purpan, UPS, 31027 Toulouse, France*

² *Metatoul-AXIOM platform, National Infrastructure for Metabolomics and Fluxomics: MetaboHUB, Toxalim, INRAE, 31027 Toulouse, France*

³ *Laboratoire de Recherche en Sciences Végétales (LRSV) - UMR 5546 CNRS-UPS, 31026 Castanet-Tolosan, France*

⁴ *Metatoul-Agromix platform, National Infrastructure for Metabolomics and Fluxomics: MetaboHUB, LRSV, 31026 Castanet-Tolosan, France*

justine.ferey@inrae.fr

Mass Spectrometry Imaging (MSI) is a powerful tool that enables untargeted investigations combining distribution of molecular species in a variety of samples. Many improvements in terms of analytical and spatial resolutions, sensitivity, dynamic range, sources, sample preparation etc. have been proposed in the past few years making the MSI technique a technology of choice for untargeted metabolomic spatial analyses. The Toulouse metabolomics platform MetaToul, part of the National metabolomics infrastructure MetaboHUB, is well-recognized for untargeted metabolomics studies, and has recently expanded its expertise to MSI. To assess the potential of 4D-omics imaging analyses offered by the TimsTOF flex technology, various pilot projects were performed. This talk will present the possibilities offered by this new technology (ion mobility MSI, high speed tandem mass spectrometry...) through three imaging projects:

In a first project, the platform optimized a MSI workflow to investigate the impact of red meat consumption on the colonic epithelium of rat intestine in the context of colorectal cancer studies. This metabolomic MSI analysis, performed at 10 μm spatial resolution, highlighted for the first time potential biomarkers, some of which displaying a specific localization in the niche of the crypts, as cholesterol sulfate. An analysis with activated ion mobility (TIMS) allowed evidencing a different spatial distribution of cholesterol sulfate and its isomer/isobar.

A second project focused on the imaging of rat liver, fed with control and high-fat diets, with the objective to determine the influence of the high fat diet on the liver lipidome. In this context, 50 μm spatial resolution images were acquired. Statistical analyses allowed to well separate the two groups and to determine discriminant m/z values. Ions were then annotated both by tandem mass spectrometry and CCS calculation. For that, liver samples were analysed by LC-MS/MS using the PASEF mode to provide complementary information. This ultra-high-speed MS/MS analysis generated more than 1500 targeted MS/MS spectra within a 20 minutes run. This annotation was complemented by the CCS values and various discriminant phospholipids could be highlighted between the two conditions.

This technology was also applied in the plant metabolomics field with the analysis of mycorrhized *Marchantia*. Recent studies evaluated the symbiose between *Marchantia* and the Glomeromycota fungi, initiated with a molecular dialog while the two partners are growing independently in the soil. The description of the metabolites involved in symbiosis development in *Marchantia* will help to understand symbiosis mechanisms for better use in agriculture. In this work, *Marchantia thalae* were embedded in agarose and sectioned using a vibratome. 10 μm spatial resolution images were acquired to highlight metabolites/lipids co-localized in the mycorrhized region.

New approaches for improved molecular imaging by SIMS

Arnaud Delcorte

Université catholique de Louvain, Institute of Condensed Matter and Nanoscience, 1 Place Louis Pasteur, 1348 Louvain-la-Neuve, Belgium

arnaud.delcorte@uclouvain.be

In the last two decades, kiloelectronvolt cluster ions have proved to be outstanding for molecular imaging by secondary ion mass spectrometry (SIMS), because their sputter and ion yields are enhanced in a non-linear fashion with respect to monoatomic projectiles, with a resulting step change of sensitivity for analysis. In particular, large gas cluster ion beams, or GCIB, have now become a reference in organic surface and thin film analysis using SIMS and X-ray photoelectron spectroscopy (XPS). The reason is that they induce soft molecular desorption and offer the opportunity to conduct damageless depth-profiling and 3D molecular imaging of the most sensitive organic electronics and biological samples, with a nanoscale depth resolution [1].

In line with the aforementioned developments, this presentation focuses on the interaction of cluster ions with organic and bio-surfaces for label-free chemical imaging (Fig. 1). Beyond state-of-the-art examples of scientific questions addressable using 2D and 3D molecular SIMS mapping, the scope of this contribution encompasses two novel aspects developed in our laboratory. In the first one large Ar clusters serve as tools to transfer MALDI matrix molecules in vacuo from a target reservoir to the tissue sample, in a new variant of soft-landing experiments. In situ deposition of an ultrathin matrix layer proves to induce significant sensitivity enhancements in a way that is compatible with 3D imaging protocols [2,3]. In parallel, our recent molecular dynamics simulations also explain why large gas clusters (Ar1000-5000) are potentially more appropriate for macromolecule imaging than small energetic clusters (Bin) [4]. The second novelty concerns the recent application of gas cluster fragment ion backscattering to locally retrieve physical surface properties, a technique here coined gas cluster ion scattering spectrometry, or GCISS, also amenable to imaging in a standard SIMS setup.

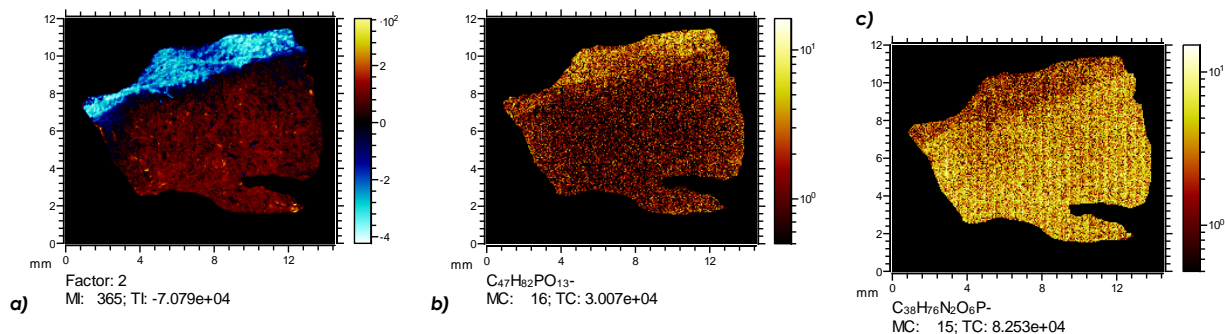


Figure 1: ToF-SIMS imaging of a human uterine wall tissue section mounted on ITO glass where (a) the endometrium (top) and the myometrium (bottom) are well separated by principal component analysis of the spectral images; (b) mapping of the sphingomyelin 33:1 ion ($m/z=663$); (c) mapping of the phosphatidyl inositol 38:3 ion ($m/z=885$).

Références

1. A. Delcorte et al., Large Cluster Ions: Soft Local Probes and Tools for Organic and Bio Surfaces. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2020**, 22, 17427-17447.
2. M. Lorenz et al., Method for Molecular Layer Deposition Using Gas Cluster Ion Beam Sputtering with Example Application In Situ Matrix-Enhanced Secondary Ion Mass Spectrometry, *Anal. Chem.* **2021**, 93, 3436–3444.
3. K. Moshkunov et al., Improvement of Biomolecular Analysis in Thin Films using In Situ Matrix Enhanced Secondary Ion Mass Spectrometry. *Analyst*, **2021**, 146, 6506–6519.
4. A. Delcorte, A Microscopic View of Macromolecule Transfer in the Vacuum using Gas and Bismuth Clusters. *J. Phys. Chem. C*, **2022**, published online (<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jpcc.2c01196>).



Arnaud Delcorte, research director of the Belgian National Science Foundation (FNRS), is a professor at the University of Louvain (UCLouvain) and University Saint-Louis (Brussels). He heads the surface characterization facility of UCLouvain and has been active in Secondary Ion Mass Spectrometry for over 25 years. His current research activities encompass the theoretical and experimental studies of energetic cluster-solid interactions, with an emphasis on soft molecular emission for preparative mass spectrometry and nanofabrication, as well as 2D/3D molecular characterization of surfaces. He is the secretary of the International Committee of the SIMS conference and member of the boards of the SIMS Europe Workshop, the ECASIA and the ISI conferences. He co-chaired the SIMS XXI international conference in Cracow (2017). Since 2019, he is the treasurer of the International Union for Vacuum Science, Technique and Applications (www.iuvsta.org).