Annotation du métabolome de la macroalgue brune *Taonia atomaria* par l'approche des réseaux moléculaires

Carriot N. (1),*, Paix B. (1), Greff S. (2), Briand J.-F. (1), Culioli G. (1),*

Contacts :
nathan.carriot@univ-tln.fr
culioli@univ-tln.fr

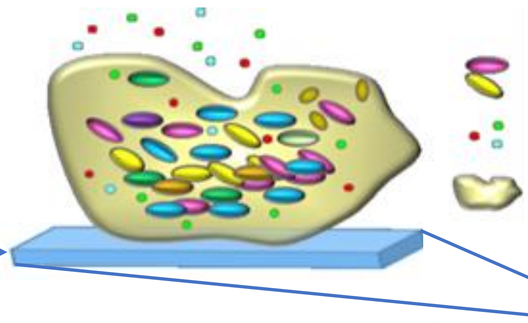
26ème journée de la Chimie PACA – Nice, 26 avril 2019

(1) Université de Toulon, MAPIEM (EA 4323), Toulon, France
(2) Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie marine et continentale (UMR CNRS 7263, IRD 237), Aix Marseille Université, Avignon Université, Marseille, France

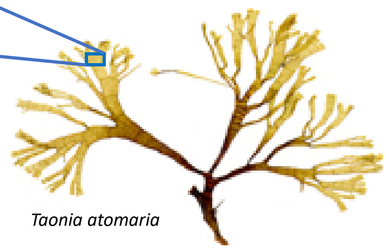
Contexte

Dans le milieu marin, toute surface immergée est rapidement colonisée par des bactéries, ainsi que par d'autres micro-organismes, formant des structures tridimensionnelles appelées biofilms.

Biofilm marin :

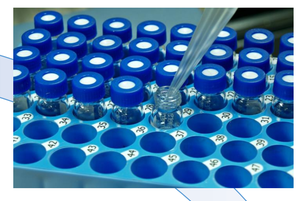


L'algue cosmopolite *Taonia atomaria* est un modèle biologique relativement peu colonisé et dont certains métabolites de surfaces présentent une activité anti-adhésion vis-à-vis de bactéries marines [1].

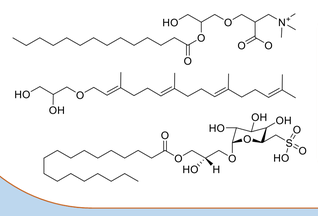

Taonia atomaria

Dans le but de développer, via des approches par métabolomique, des travaux en écologie chimique visant à mieux comprendre les mécanismes de défense chimique de cette algue, une annotation exhaustive de sa production métabolique est donc essentielle.

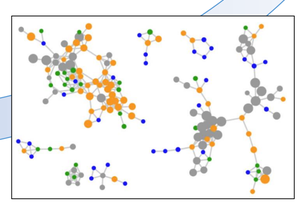
Mode opératoire



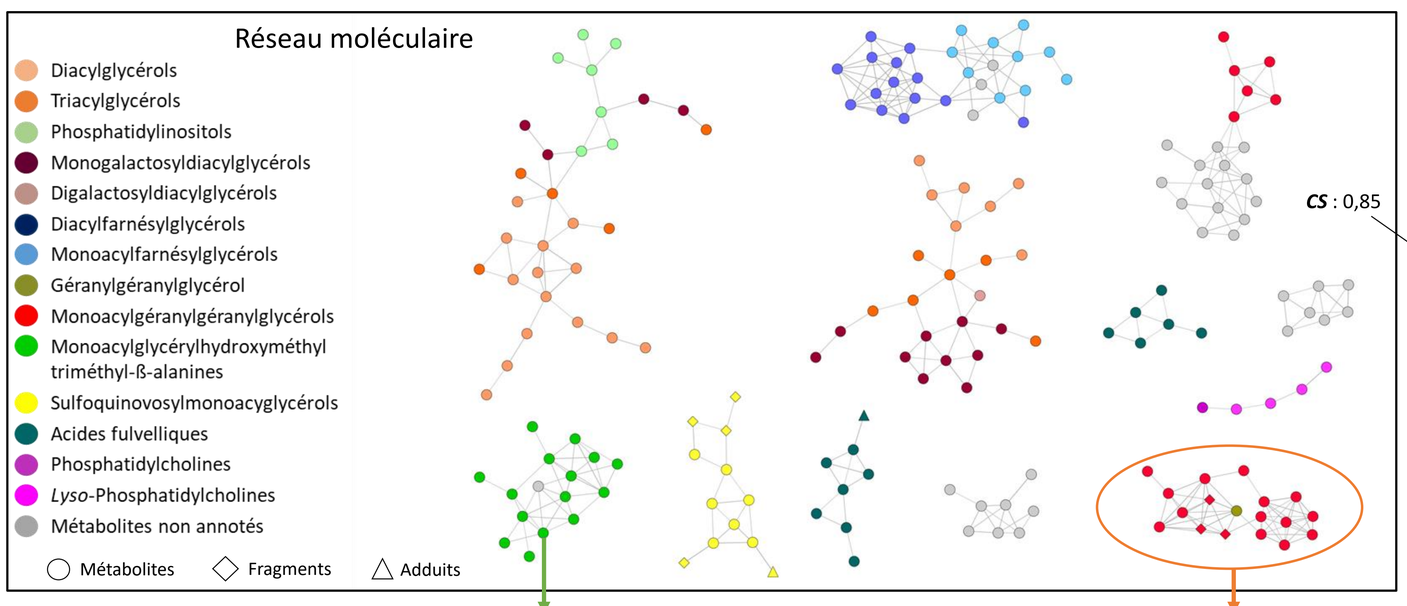
- Fractionnement de l'extrait brut par chromatographie *flash* (colonne préparative SuperVarioFlash D40 ; RP18 40-63 μm)
- Extraction des algues sèches (macération dans un mélange MeOH/CH_2Cl_2 (1:1, v/v) puis 3 filtrations)
- Récolte de *Taonia atomaria* dans la Rade de Toulon (Tamaris ; N 43°5'35.56, E 5°54'31.81)
- Profilage par UPLC-ESI-QToF-MS^2
  Ultimate 3000 (Thermo Fisher Scientific)
  QToF de type Impact II (Bruker Daltonics), (+)-ESI
  Colonne analytique (Phenomenex Kinetex ; Phenylhexyl, 150 mm × 2,1 mm, 1,7 μm)
  Eluant : mélange eau/acétonitrile, 0,1% (*v/v*) acide formique
  Débit de l'éluant : 0,5 mL.min^{-1}, Volume injecté: 10 µL
- Obtention des spectres MS^2
  Conversion des fichiers au format « .mzXML »
- Construction de réseaux moléculaires via le serveur GNPS
  (*The Global Natural Product Social Molecular Networking* (http://gnps.ucsd.edu) [2]



Annotation du métabolome de *Taonia atomaria*



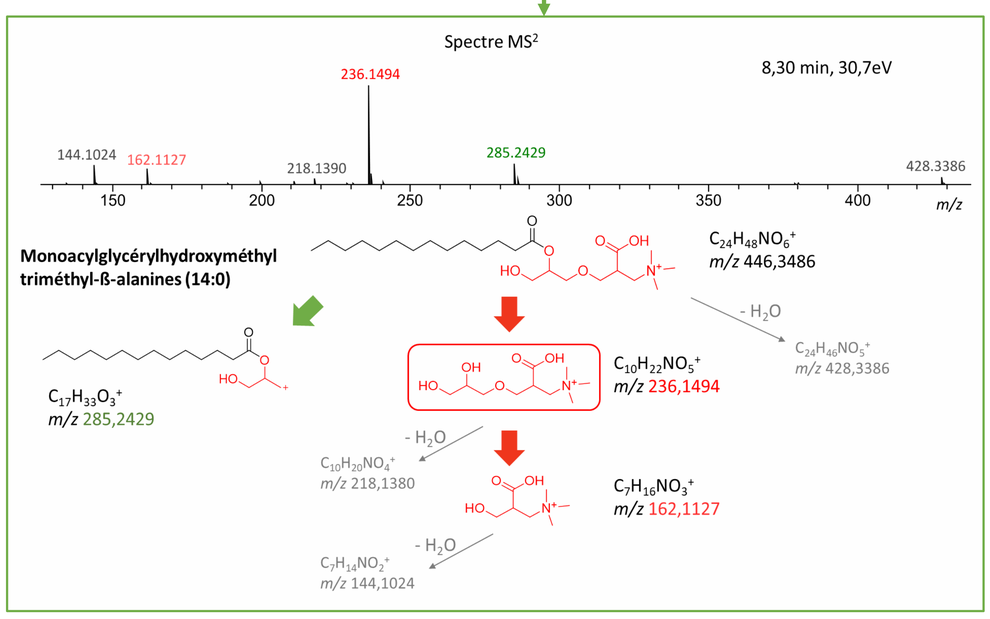
Résultats

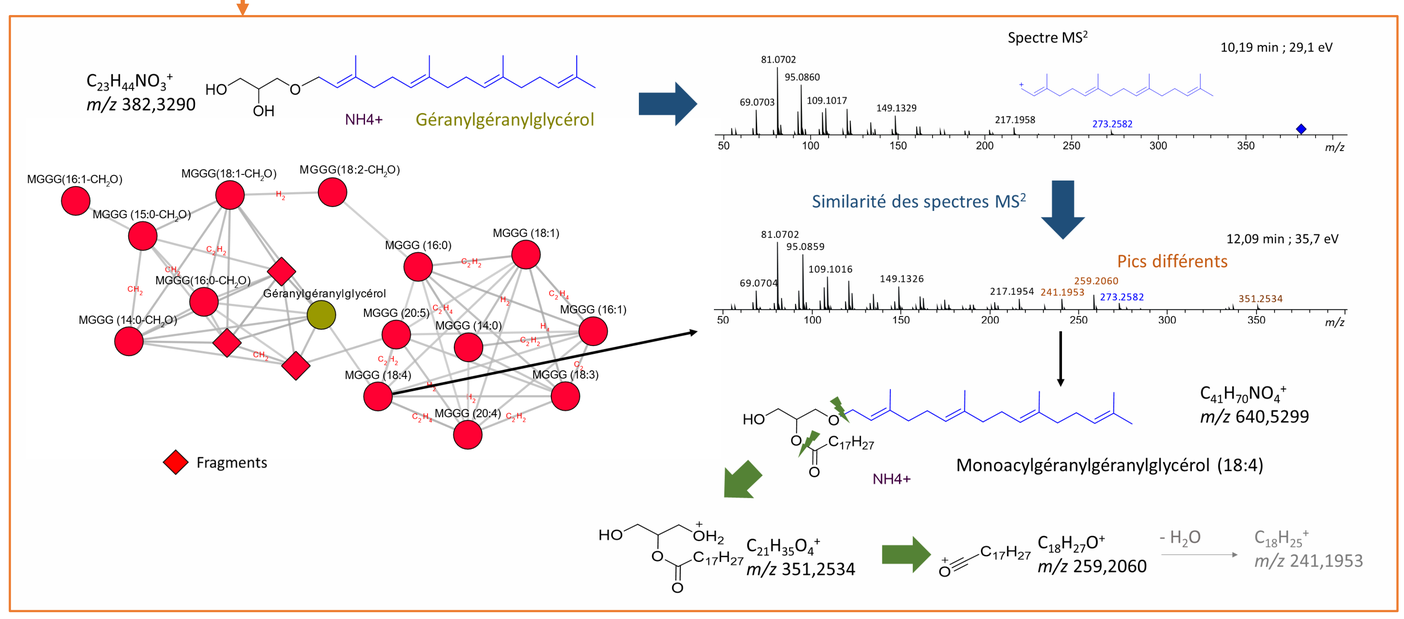


Le réseau moléculaire est un outil bio-informatique récent et puissant permettant de visualiser les données **MS^2** sous la forme d'une **carte de similarité spectrale** composée de groupes de molécules similaires (*clusters*) [3]. Des paramètres sont à optimiser pour la création de réseaux moléculaire et notamment ceux fixant les liens entre les nœuds, le plus important étant le *cosine score*.

Le ***cosine score*** (de 0 à 1) est un indice de corrélation correspondant à la similarité entre les spectres MS^2 de deux métabolites, il est attribué entre chaque paire de spectres.

Les mécanismes de fragmentations sont la base de cet outil d'annotation, en effet les fragments sont dépendants de la structure de la molécule et caractéristiques d'une famille de molécules. Un réseau appliquant des paramètres restrictifs permet d'obtenir des *clusters* plus faciles à annoter.





L'annotation d'un métabolite au sein d'un *cluster* est la clé afin d'annoter la quasi-totalité du *cluster*. Dans le cas des MGTAs, le fragment à *m/z* **236,15** ($C_{10}H_{22}NO_5^+$) est caractéristique de la cette famille de lipides [4].

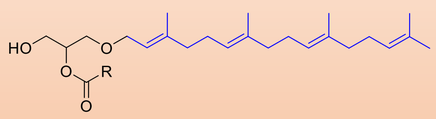
Le géranylgéranylglycérol, un composé caractérisé par RMN suite à une étude phytochimique antérieure [1], est utilisé en tant que standard et ses données MS^2 sont comparées aux autres métabolites appartenant au même *cluster*. Les fragments MS^2 caractéristiques de cette molécule permettent ainsi d'annoter putativement une classe originale de glycérolipides.

La création de réseaux moléculaire permet donc : (i) d'identifier des *clusters* de molécules similaires, (ii) de détecter un ensemble d'analogues structuraux à un standard et (iii) de comparer la production métabolique de différents échantillons.

Conclusions & Perspectives

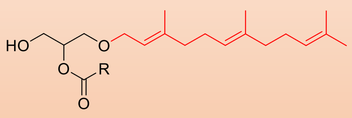
Dans le cas de *T. atomaria*, la construction initiale d'un réseau simplifié a conduit à l'identification de plusieurs dizaines de métabolites répertoriés en **14 familles chimiques**, dont certaines sont constituées de lipides originaux. Ces familles comportent une chaine terpénique fixée au glycérol et ont été putativement identifiées comme étant des monoacylgéranylgéranylglycérols et des di- et mono-acylfarnésylglycérols.

Géranylgéranyl



Monoacylgéranylgéranylglycérols

Farnésyl



Monoacylfarnésylglycérols

Une vingtaine de molécules avaient été identifiées durant les études antérieures de *T. atomaria*. La construction de réseaux plus complexes (valeurs de *cosine score* plus faibles) a permis d'approfondir l'annotation globale du métabolome de *T. atomaria.* En effet, à l'issue de cette étude **plus de 200 métabolites** ont été finalement identifiés. Cette première annotation détaillée permettra par la suite de mieux appréhender, lors d'études menées par métabolomique, les mécanismes de défense chimique et d'adaptation métabolique de *T. atomaria* vis-à-vis de microorganismes colonisateurs.

[1] Othmani A, Briand J-F, Ayé M, Molmeret M, Culioli G. (2016) Surface metabolites of the brown alga *Taonia atomaria* have the ability to regulate epibiosis. *Biofouling* 32:801-813.
[2] Wang M, *et al.* (2016) Sharing and community curation of mass spectrometry data with Global Natural Products Social Molecular Networking. *Nature Biotechnology* 34:828-837.
[3] Nothias-Scaglia L.-F, *et al.* (2015) Molecular networks, a bioinformatic tool for tandem mass spectrometry data interpretation. *Spectra Analyse* 307:73-78.
[4] Kind, T. *et al.* (2012) Qualitative analysis of algal secretions with multiple mass spectrometric platforms. *Journal of Chromatography A* 1244, 139–147.