**Métabolomique**

La métabolomique est l'étude de l'ensemble des métabolites (petites molécules) présents dans un organite, une cellule, un tissu, un organe ou un organisme à un temps donné et dans des conditions données. L'analyse métabolomique est une étude dynamique : l'identité et la quantité des différents métabolites dépendent de plusieurs facteurs tels que les nutriments disponibles, les stimuli environnementaux, ou l'état physiologique. L'ensemble de ces métabolites est nommé métabolome.

*Intérêts :*

L'analyse du métabolome permet à la fois d'identifier et quantifier des métabolites qui présentent un intérêt intrinsèque, ou qui sont le reflet d'une activité biologique d'intérêt. La comparaison des métabolomes de deux individus permet de faire le lien entre génotypes et phénotypes, la comparaison des métabolomes d'un même individu dans des conditions différentes permet d'élucider l'influence du milieu sur le phénotype exprimé.

La métabolomique permet une meilleure compréhension de la biologie des systèmes en mettant en évidence des interactions métaboliques qui n'auraient pas pu être détectées avec des approches biochimiques traditionnelles.

Les applications de la métabolomique sont nombreuses et concernent différents secteurs d'activité comme la santé, la nutrition ou l'agro-environnement.

*Démarche analytique :*

La spectrométrie de masse couplée à la chromatographie liquide est une technique permettant d'identifier et de quantifier des métabolites. Plusieurs méthodes peuvent être utilisées :

* L'analyse ciblée, détection et quantification des métabolites connus
* Le profilage métabolique, identification de tous les composés appartenant à une voie métabolique ou à une famille chimique donnée,
* L'empreinte métabolique, comparaison de métabolomes,
* L'approche métabolomique ou la métabonomique, identification et quantification non ciblées de tous les métabolites présents dans un échantillon biologique.

*Technologies utilisées :*

*Analyse ciblée :*

Quantification des composés d’intérêt par méthode ciblée (PRM) :

Cette méthode est basée sur la quantification de métabolites prédéfinis. Ces métabolites sont les seuls analysés par MS/MS, le bruit de fond de la méthode est réduit, sa spécificité et sa sensibilité sont améliorées. En ajoutant un standard interne aux échantillons, il est possible de quantifier de manière absolue ces métabolites. De par sa rapidité et sa robustesse, cette méthode est particulièrement adaptée au screening de métabolites.

Identification de composés : empreinte de masse par spectrométrie de masse en tandem (MS/MS)

Un instrument de type LC-MS/MS analyse en continu les fractions issues d'une séparation HPLC des composés issus d'un extrait de métabolite. Le spectromètre de masse effectue chaque seconde une analyse MS suivie de 30 MS/MS sur les composés les plus intenses. Ce grand nombre d'informations

est comparé à des cartes de masses et spectres MS/MS théoriques de composés référencés dans des banques de données permettant ainsi d'identifier les métabolites présents dans l'échantillon analysé.

L'efficacité et la fiabilité de cette méthode repose sur la précision de la mesure de la masse de chaque métabolite, l'utilisation d'un spectromètre de masse haute résolution répond à ces besoins.

*Quantification relative « Label free »*

Cette méthode permet de comparer qualitativement et quantitativement les métabolomes de différents individus. Typiquement cette technique peut être utilisée pour comparer deux états, par exemple sain vs pathologique, et ainsi d'identifier des métabolites dont la présence ou la teneur témoigne d'un état physiologique donné. Elle consiste à comparer les profils LC-MS des échantillons et en intégrant l'aire des pics des différents métabolites pour en estimer la quantité. Cette quantité est rapportée à celle acquise pour les mêmes métabolites dans un échantillon de référence et ainsi quantifier relativement la teneur en métabolites.

Lors du même essai, en analysant les données acquises par LC-MS/MS il est possible d'identifier les métabolites présents en comparant leurs masses et spectres de fragmentation à ceux référencés dans des bases de données.

*Quantification DIA*

Cette méthode permet de générer un très grand nombre de spectres MS/MS pour un même échantillon et ce pour une gamme de masses très étendue. Cette technique d'analyse innovante nécessite l'emploi d'un spectromètre de masse haute résolution disposant d'une grande vitesse d'acquisition des données. Cette technique, en améliorant la reproductibilité et la spécificité du dosage, comparativement aux méthodes de quantification « Label-Free » classiques, permet la quantification absolue des métabolites dans un échantillon.

*Elucidation structural par screening d’inconnu :*

Le screening d'inconnu est une méthode nécessitant l'utilisation de spectromètre de masse d'une précision en masse et une forte résolution. La formule chimique brute d'un composé est déduite de sa masse exacte, et sa distribution isotopique, déterminée par LC-MS. Sa structure est déduite de son spectre de fragmentation MS/MS. Ces informations permettent d'identifier et de quantifier des composés chimiques de faible poids moléculaire comme des métabolites, pour lesquels il n'existe pas d'information dans des bases de données.

*Limites et perspectives de la métabolomique*

La métabolomique émerge comme un outil non invasif, pertinent et prometteur dans le cadre de l’identification d’une signature caractéristique d’une situation biologique, potentiellement importante pour la découverte de nouvelles cibles thérapeutiques. Elle sera particulièrement utile pour enrichir la panoplie des autres « -omiques ». Cependant, les méthodes d’identification des métabolites étant toutes récentes, les limites techniques freinent actuellement l’expansion des applications de la métabolomique. Il faudra notamment : abaisser les seuils de concentration pour la détection des métabolites, ce qui permettra un affinement de l’ébauche métabolomique humaine ; standardiser les méthodes de prélèvement des échantillons dans le cadre d’une matrice donnée, ce qui améliorera la fiabilité, la reproductibilité et la pertinence des analyses métabolomiques.

Pour faciliter l’identification des métabolites humains associés à une situation physiologique particulière et la diffusion des résultats, une base de données contenant déjà plus de 40 000 entrées uniques est mise à jour régulièrement1 [24]. Elle permet également d’obtenir, pour chaque métabolite recherché, des informations biochimiques et cliniques, telles que le seuil de détection ou la pathologie concernée par une modification du niveau d’expression. La création d’une société savante2 et d’un journal international, Metabolomics3, faciliteront ces échanges et valoriseront l’impact de la métabolomique au sein de la communauté scientifique mondiale, au bénéfice des futures applications et avancées techniques.