

Année 2020-2021 – Demande d'allocation doctorale
Ecole Doctorale de Chimie de Lyon

**Development of a multi-omics workflow for the characterization of metabolic perturbation
in *G. fossarum* after drug residues exposure**

Key words: Multi-Omics, Analytical development, Mass Spectrometry, Machine learning, Data integration

Aquatic ecosystems are persistently exposed to environmental stressors such as chemical micropollutants from natural environment or anthropogenic activities. These chemical contaminations may result in modifications or alterations in the internal chemical environment of the aquatic organisms. While considerable efforts were made during the past decade to better understand the concept of Exposome associated with human health, little is known in aquatic ecotoxicology and *de facto* in aquatic organisms *i.e.* amphipod crustacean. The major limitation in the mechanistic knowledge of environmental chemical toxicity effects on aquatic systems is the absence of biomarker-based methodologies in a system biology point of view.

While challenging and complex, some investment in the “omics” technologies should occur for exposure assessment. The “omics” technologies –Proteomics, Lipidomics, Metabolomics to name a few – offer great promises to help to elucidate the exposome associated with aquatic organisms in identifying molecular responses to exposure (Berlizo-Barbier A. *et al.*, 2018; Faugere J. *et al.*, 2020; Fu T. *et al.*, 2021). The analysis of these omics relies on specific sample preparation and defined liquid chromatography- tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) analytical pipeline. Each analytical workflow (from sample preparation to analysis) is performed individually and independently with dedicated data retreatment. To get a complete picture of the molecular composition of a sample at a specific time point and biological state, it is crucial to collect multi-omics data from a unique sample and perform concomitant analysis.

The aim of the thesis is (i) to develop appropriate sample preparation protocol to get molecular information on the protein, lipid and metabolites level from a unique sample (optimization of extraction procedure, quantification), (ii) to develop new analytical methodologies based on the use of complex hyphenated techniques (2D-LC, on-line SPE, tailor-made LC system with parallelized injection system) and different MS pipeline (high-resolution MS coupled with ion mobility, multiplex analysis on triple quadrupole system). In order to have an overview of the multi-omics data generated, it will also be essential to undertake a complete integration of the multi-omics data (data retreatment, machine learning) in order to define the relationships between these multi-omics measurements from the same biological sample and to aggregate if necessary additional biological information. All the developments will be used to explore and monitor molecular perturbations on a fresh water crustacean, *Gammarus fossarum*, after exposition to human pharmaceuticals modulating lipid metabolism. The research project is linked to the young investigator grant “*Proteomics and Lipidomics Approaches for understanding molecular mechanisms of environmental chemical toxicity in conjunction with lipid metabolism in Gammarus fossarum during reproduction cycle*” (ANR JCJC PLAN-TOX, <https://anr.fr/Project-ANR-18-CE34-0008>) and will be in close collaboration with Ecotox team (INRAe, RiverLy) and Chemometrics and Theoretical Chemistry team (ISA).

We are seeking a self-motivated and technically skilled person with a strong background in analytical chemistry as well as in liquid chromatography and mass spectrometry (high-resolution MS, targeted approach). Knowledge in proteomics, lipidomics or metabolomics and in multivariate data analysis are appreciated. Effective communication skills. Very good understanding and communication in English. Ability to work both independently and in a collaborative group environment are required. Active participation in learning society (SFSM, AFSEP) and European network (COST EpiLipidNET) is expected.

Contact information :

Institute of Analytical Sciences (CNRS UMR 5280) – Univ. Claude Bernard Lyon 1

Emmanuelle VULLIET, DR CNRS, emmanuelle.vulliet@univ-lyon1.fr (TRACES team)

Sophie AYCIRIEX, MCU UCBL (habilitation defense - October 2021), sophie.ayciriex@univ-lyon1.fr (ANABIO-MS team)

Développement d'une approche Multi-Omics pour la caractérisation de perturbations métaboliques chez *Gammarus fossarum* après exposition à des résidus pharmaceutiques

Mots-clés: Multi-Omics, développement analytique, spectrométrie de masse, machine learning, intégration des données

Les écosystèmes aquatiques sont constamment exposés à des facteurs de stress environnementaux tels que les micropolluants chimiques provenant du milieu naturel ou des activités anthropiques. Ces contaminations chimiques peuvent entraîner des modifications ou des altérations de l'environnement chimique interne des organismes aquatiques. Bien que des efforts considérables aient été déployés au cours de la dernière décennie pour mieux comprendre le concept d'exposition associé à la santé humaine, peu de choses sont connues en écotoxicologie aquatique et *de facto* sur les organismes aquatiques, comme les crustacés amphipodes. La principale limite dans la connaissance mécanistique des effets de la toxicité chimique environnementale sur les systèmes aquatiques est l'absence de méthodologies basées sur l'utilisation de biomarqueurs dans une perspective de biologie systémique.

Bien que difficile et complexe, un investissement dans les technologies dites "omiques" doit être réalisé pour évaluer l'exposition. Les technologies "omiques" - protéomique, lipidomique, métabolomique, pour n'en citer que quelques-unes - offrent de grandes promesses pour élucider l'exposome associé aux organismes aquatiques en identifiant les réponses moléculaires à l'exposition (Berlioz-Barbier A. *et al.*, 2018 ; Faugere J. *et al.*, 2020 ; Fu T. *et al.*, 2021). L'analyse de ces omiques repose sur une préparation spécifique de l'échantillon et sur un pipeline analytique défini incluant la chromatographie liquide et la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS). Chaque workflow analytique (de la préparation de l'échantillon à l'analyse) est effectué de manière individuelle et indépendante avec un retraitement des données dédié. Pour obtenir une vue d'ensemble complète de la composition moléculaire d'un échantillon à un temps défini et dans un état biologique donné, il est essentiel de collecter des données à plusieurs dimensions à partir d'un échantillon unique et d'effectuer une analyse simultanée.

Le but de la thèse est (i) donc de développer un protocole de préparation d'échantillon approprié pour obtenir des informations moléculaires au niveau des protéines, des lipides et des métabolites à partir d'un échantillon unique (optimisation de la procédure d'extraction, quantification), (ii) de développer de nouvelles méthodologies analytiques basées sur l'utilisation de techniques séparatives complexes (2D-LC, SPE en ligne, système LC à façon avec système d'injection en parallèle) et de différents pipelines MS (MS haute résolution couplée à la mobilité ionique, analyse multiplexée sur des systèmes de type triple quadripôle). Afin d'obtenir une vue d'ensemble des données multi-omiques générées, il sera également essentiel d'entreprendre une intégration complète des données multi-omiques (retraitement des données, machine learning) afin de définir des corrélations entre ces mesures multi-omiques provenant du même échantillon biologique et d'agréger si nécessaire des informations biologiques supplémentaires. Tous ces développements seront utilisés pour explorer et surveiller les perturbations moléculaires sur un crustacé d'eau douce, *Gammarus fossarum*, après exposition à des produits pharmaceutiques modulant le métabolisme des lipides. Le projet de recherche est lié au projet ANR JCJC "Approches protéomique et lipidomique pour comprendre les mécanismes moléculaires de la toxicité chimique environnementale en lien avec le métabolisme des lipides chez *G. fossarum* pendant le cycle de reproduction" (ANR JCJC PLAN-TOX, <https://anr.fr/Project-ANR-18-CE34-0008>) et sera mené en étroite collaboration avec l'équipe Ecotox (INRAe, RiverLy) et l'équipe Chimométrie et Chimie théorique (ISA).

Nous recherchons une personne motivée et avec des compétences techniques ayant une solide expérience en chimie analytique ainsi qu'en chromatographie liquide et spectrométrie de masse (MS haute résolution, approche ciblée). Connaissances en protéomique, lipidomique ou métabolomique et en analyse de données multivariées sont appréciées. Compétences en communication. Très bonne compréhension et communication en anglais. Capacité à travailler de manière indépendante et dans un environnement collaboratif. Participation active à des sociétés savantes (SFSM, AFSEP) et dans des réseaux européens (COST EpiLipidNET) est attendue.

Contacts :

Institut des sciences analytiques (CNRS UMR 5280) – Univ. Claude Bernard Lyon 1

Emmanuelle VULLIET, DR CNRS, emmanuelle.vulliet@univ-lyon1.fr (équipe TRACES)

Sophie AYCIRIEX, MCU UCBL (soutenance HDR - Octobre 2021), sophie.aycirieux@univ-lyon1.fr (équipe ANABIO-MS)