

# THESE DE DOCTORAT DE

NANTES UNIVERSITE

ECOLE DOCTORALE N° 600

*Ecole doctorale Ecologie, Géosciences, Agronomie et Alimentation*

Spécialité : « *Sciences agronomiques* »

Par

**Simon OLLIVIER**

## **Exploration of high-resolution ion mobility-mass spectrometry for structural glycosciences**

Thèse présentée et soutenue à Nantes, le 29 novembre 2022

Unité de recherche : INRAE, UR Biopolymères Interactions et Assemblages

### **Rapporteurs avant soutenance :**

Dr. Valérie GABELICA

Directrice de Recherche, INSERM, Institut Européen de Chimie et Biologie, Pessac

Pr. Guillaume VAN DER REST

Professeur, Université Paris-Saclay

### **Composition du Jury :**

Président :

*(à préciser après la soutenance)*

Examineurs :

Dr. Sarah CIANFERANI

Directrice de Recherche, CNRS, Université de Strasbourg

Dr. Philippe DUGOURD

Directeur de Recherche, CNRS, Université Lyon 1

Pr. Patrick GIRAUDEAU

Professeur, Nantes Université

Dr. Laurent LEGENTIL

Chargé de Recherche, HDR, CNRS, Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Rennes

Dir. de thèse :

Dr. Hélène ROGNIAUX

Ingénieure de Recherche, HDR, INRAE Nantes

Co-enc. de thèse :

Dr. David ROPARTZ

Ingénieur d'Etudes, INRAE Nantes

### **Invité(s)**

Dr. Kevin GILES

Senior Research Fellow, Waters Corp., Wilmslow, UK

**Titre :** Exploration de la mobilité ionique haute résolution couplée à la spectrométrie de masse pour les glycosciences structurales

**Mots clés :** Spectrométrie de Masse, Spectrométrie de Mobilité Ionique, Cyclic IMS, Glycosciences Structurales, Carbohydrates, Isomérisation

**Résumé :** La complexité inhérente aux carbohydrates reste un défi pour les sciences analytiques. Aucune méthode n'est actuellement en mesure de résoudre complètement les diverses isomérisations présentes dans les carbohydrates, bien qu'il s'agisse de caractéristiques structurales déterminantes. La spectrométrie de masse (MS) seule est aveugle à de nombreux cas d'isomérisation, et donne donc des informations incomplètes. Au cours des dix dernières années, le couplage de la spectrométrie de mobilité ionique (IMS) avec la MS n'a cessé de prendre de l'ampleur. En effet, l'IMS est sensible aux conformations des molécules en phase gazeuse et donc aux (stéréo)isomérisations. Dans ce contexte, ce travail de thèse explore le potentiel de l'IMS haute résolution pour les glycosciences structurales. La nouvelle géométrie d'IMS cyclique (cIMS), qui permet des manipulations fines des ions en phase gazeuse, est étudiée.

Premièrement, nous démontrons par une série d'études que la cIMS peut résoudre les différentes isomérisations rencontrées dans les carbohydrates. Sur la base de ces résultats, nous développons ensuite des moyens pour caractériser la structure fine des oligosaccharides en utilisant la cIMS multi-étapes. Ces développements comprennent notamment une stratégie ciblée de séquençage et une approche non ciblée de réseaux moléculaires informés par IMS. Enfin, nous couplons la cIMS avec la chromatographie d'exclusion stérique pour travailler directement sur des polysaccharides de l'ordre de la centaine de kilodalton. Dans l'ensemble, nos résultats soulignent le potentiel de l'IM-MS haute résolution à devenir une méthode pivot dans les glycosciences structurales, et ouvrent la voie à l'étude de structures polysaccharidiques plus grandes, voire intactes.

**Title:** Exploration of high-resolution ion mobility-mass spectrometry for structural glycosciences

**Keywords:** Mass Spectrometry, Ion Mobility Spectrometry, Cyclic IMS, Structural Glycosciences, Carbohydrates, Isomerism

**Abstract:** The inherent complexity of carbohydrates remains a challenge for analytical sciences. No single method is currently able to fully resolve the various isomerisms present within the subunits and in glycosidic bonds, although these are determining structural features of carbohydrates. Mass spectrometry (MS) alone is blind to many cases of isomerism, and thus gives incomplete information for carbohydrates. Over the last ten years, the coupling of ion mobility spectrometry (IMS) with MS has kept gaining momentum. In fact, IMS is sensitive to the gas-phase conformations of molecules and thus, to (stereo)isomerisms. In that context, this PhD work explores the potential of high-resolution IMS approaches for structural glycosciences. The state-of-the-art Cyclic IMS (cIMS) geometry, which affords fine gas-phase manipulations of ions, is studied.

In a first part of our work, we demonstrate through a series of case studies that cIMS can resolve the various cases of isomerism found in carbohydrates. Based on these findings, we then endeavor to develop means to characterize the fine structure of oligosaccharides using multistage IMS. These developments notably include a targeted sequencing strategy and an untargeted IMS-based approach relying on molecular networks. In the last part, we couple cIMS with size exclusion chromatography with the aim to work directly on polysaccharides in the hundred-kilodalton range.

Altogether, our results emphasize the potential of high-resolution IM-MS to settle as a pivotal method in structural glycosciences, and open the way to the study of larger if not intact polysaccharide structures.