

CDPS	Bacterial Strain	Analytical column	Peak					Identification	Validation	References				
			#	RT (min)	Area (214 nm)	Precursor ion (m/z)	Fragment ions (m/z)							
50	BL21AI-pREP4	dC18	1	17,3	57	205	188, 177, 159, 149, 132, 113, 106, 96, 76	cCC	HMRS et analyse en composition d'acides aminés					
		HyperCarb	1	28,2	83	205	188, 177, 159, 149, 132, 113, 106, 96	cCC	HMRS et analyse en composition d'acides aminés					
	M15-pREP4	dC18	1	17,2	EIC detection	205	no data	cCC ¹	HMRS et analyse en composition d'acides aminés					
		HyperCarb	1	28,4	65	28,3	188, 177, 159, 149, 132, 113, 106, 96, 86, 76, 74	cCC	HMRS et analyse en composition d'acides aminés					
51	BL21AI-pREP4	dC18			no cyclodipeptide detected									
		HyperCarb			no cyclodipeptide detected									
	M15-pREP4	dC18			no cyclodipeptide detected									
		HyperCarb			no cyclodipeptide detected									
52	BL21AI-pREP4	dC18	1	17,3	1700	205	188, 177, 159, 149, 132, 113, 106, 96, 86,	cCC	HMRS et analyse en composition d'acides aminés					
		HyperCarb	1	28,3	1477	205	188, 177, 159, 149, 132, 113, 106, 96	cCC	HMRS et analyse en composition d'acides aminés					
	M15-pREP4	dC18	1	17,2	483	205	188, 177, 159, 149, 132, 113, 106, 96	cCC	HMRS et analyse en composition d'acides aminés					
		HyperCarb	1	28,3	625	205	188, 177, 159, 149, 132, 113, 106, 96, 86	cCC	HMRS et analyse en composition d'acides aminés					
53	BL21AI-pREP4	dC18			no cyclodipeptide detected									
		HyperCarb			no cyclodipeptide detected									
	BL21AI-pREP4	dC18			no cyclodipeptide detected									
		HyperCarb			no cyclodipeptide detected									
54	BL21AI-pREP4	dC18	1	37,7	2074	245	197		cLM	Comparaison avec des données de la littérature	2			
			2	39,0		197	169, 152, 141, 113, 101, 85							
						279	231			cFM	Comparaison avec des données de la littérature	2		
						231	203, 186, 175, 158, 147, 130, 91							
						227	199, 182, 171, 154, 114, 98, 86, 69.5			cIL	Comparaison avec un standard			
						227	199, 182, 171, 154, 86			cLL	Comparaison avec un standard			
						261	233, 216, 188, 120, 86			cFL	Comparaison avec des données de la littérature	2		
						227	199, 182, 171, 154, 86			cLL	Comparaison avec un standard			
					HyperCarb	1	46,1	5823 ^b	227	199, 182, 171, 154, 86				
						2	47,9	1936	245	197		cLL	Comparaison avec un standard	
	M15-pREP4	dC18				197	169,152,141,124,113,85			cLM	Comparaison avec des données de la littérature	2		
						261	233, 216, 188, 120, 103, 86			cFL	Comparaison avec des données de la littérature	2		
						279	231							
						231	203, 186, 175, 158, 147, 130, 113, 91			cFM	Comparaison avec des données de la littérature	2		
						245	197							
						197	169, 152, 141, 113, 101, 85			cLM	Comparaison avec des données de la littérature	2		
						2	39,0	EIC detection	279	231				
								231	203, 186, 175, 158, 147, 130, 91			cFM	Comparaison avec des données de la littérature	2
						3	41,6	EIC detection	227	no data		cIL ¹	Comparaison avec un standard	
						4	42,5	754	227	199, 182, 171, 154, 98, 86		cLL	Comparaison avec un standard	
M15-pREP4	HyperCarb		5	43,9	404	261	233, 216, 188, 120, 86		cFL	Comparaison avec des données de la littérature	2			
			1	45,1	867	227	199,182, 171, 154, 98, 86		cLL	Comparaison avec un standard				
			2	46,0	EIC detection	227	199, 182, 154, 98, 86, 69		cIL	Comparaison avec un standard				
			3	47,5	462	245	197							
					197	169, 152, 141, 113, 85			cLM	Comparaison avec des données de la littérature	2			
					261	233, 216, 120, 86			cFL	Comparaison avec des données de la littérature	2			
					279	231								
					5	56,8	71	279	231		cFM	Comparaison avec des données de la littérature	2	
55	BL21AI-pREP4	dC18	1	37,7	336	245	197		cLM	Comparaison avec des données de la littérature	2			
						197	169, 152, 141, 113, 85							
						2	41,7	EIC detection	227	199, 182, 171, 154, 114, 98, 86, 69.5		cIL	Comparaison avec un standard	
						3	42,6	1723	227	199, 182, 154, 86		cLL	Comparaison avec un standard	
			4	44,0	206	261	233, 216, 188, 120, 86		cFL	Comparaison avec des données de la littérature	2			

M15-pREP4	HyperCarb	1	45,2	2445b	227	199, 182, 171, 154, 98, 86	cLL	Comparaison avec un standard			
		2	46,0	EIC detection	227	199, 182, 171, 154, 122, 114, 98, 86, 69.5	cIL	Comparaison avec un standard			
		3	47,4	284	245	197		cLM	Comparaison avec des données de la littérature	2	
	dC18	4	54,5	158	261	233, 216, 188, 120, 86	cFL	Comparaison avec des données de la littérature	2		
		1	37,6	500	245	197		cLM	Comparaison avec des données de la littérature	2	
		2	41,6	EIC detection	227	199, 182, 141, 113, 85	cIL	Comparaison avec un standard			
	HyperCarb	3	42,6	1216	227	199, 182, 154, 86	cLL	Comparaison avec un standard			
		4	44,0	143	261	233, 216, 188, 120, 86	cFL	Comparaison avec des données de la littérature	2		
		1	45,2	1418	227	199, 182, 171, 154, 143, 98, 86	cLL	Comparaison avec un standard			
		2	46,1	64	227	199, 182, 171, 154, 143, 114, 98, 86, 69.5	cIL	Comparaison avec un standard			
		3	47,5	558	245	197		cLM	Comparaison avec des données de la littérature	2	
		4	54,4	122	261	233, 216, 188, 120, 86	cFL	Comparaison avec des données de la littérature	2		
197		169, 152, 141, 113, 101, 85									
56	BL21AI-pREP4	dC18	1	46,2	2473	373	356, 256, 242, 214, 187, 170, 169, 130	cWW	Comparaison avec des données de la littérature	3	
M15-pREP4	HyperCarb	no cyclodipeptide detected									
	dC18	1	46,1	5573	373	356, 256, 242, 214, 170, 130	cWW	Comparaison avec des données de la littérature	3		
		HyperCarb	no cyclodipeptide detected								
57	BL21AI-pREP4	dC18	1	37,4	241	350	333, 305, 170, 136, 132, 130, 117	cWY	None		
			2	46,2	9320	373	356, 256, 242, 214, 187, 170, 169, 130	cWW	Comparaison avec des données de la littérature	3	
	M15-pREP4	HyperCarb	no cyclodipeptide detected								
		dC18	1	46,2	1740	373	356, 256, 242, 214, 187, 170, 169, 130	cWW	Comparaison avec des données de la littérature	3	
		HyperCarb	no cyclodipeptide detected								
58	BL21AI-pREP4	dC18	1	46,2	141	373	356, 256, 242, 214, 187, 170, 169, 130	cWW	Comparaison avec des données de la littérature	3	
			HyperCarb	no cyclodipeptide detected							
	M15-pREP4	dC18	1	46,2	172	373	356, 256, 242, 214, 187, 170, 169, 130	cWW	Comparaison avec des données de la littérature	3	
		HyperCarb	no cyclodipeptide detected								
59	BL21AI-pREP4	dC18	1	13,9	EIC detection	143	125, 115, 98, 87	cAA	Comparaison avec un standard		
			2	14,4	8265	201	183, 155	cEA	Comparaison avec un standard		
			3	16,4	320	183	155, 127, 110, 84	cEC	Aucune		
		HyperCarb	1	21,7	EIC detection	143	125, 115, 98, 87	cAA	Comparaison avec un standard		
			2	23,0	463	217	199	cES	Aucune		
			3	25,4	7163	201	181, 171, 169, 154, 126, 98, 84, 60.4	cEA	Comparaison with standard		
		M15-pREP4	dC18	4	30,5	EIC detection	233	215	cEC	Aucune	
				215	197, 187, 181, 170, 153, 142, 129, 84, 76						
	1		13,8	EIC detection	143	125, 115, 98, 87, 70.5	cAA	Comparaison avec un standard			
	2		14,3	3854	201	183 155	cEA	Comparaison avec un standard			
	183		155, 127, 110, 84								
	HyperCarb	3	16,4	EIC detection	233	no data	cEC ¹	Aucune			
		1	21,7	EIC detection	143	125, 115, 98, 87	cAA	Comparaison avec un standard			
		2	23,1	340	217	199	cES	Aucune			
		199	181, 171, 169, 154, 153, 143, 141, 126, 98, 84, 60.5								
		3	25,5	4495	201	183	cEA	Comparaison avec un standard			
183	155, 127, 110, 84,										
60	BL21AI-pREP4	dC18	1	13,9	EIC detection	143	125, 115, 98, 87, 70.4	cAA	Comparaison avec un standard		
			2	14,3	6564	201	183, 155	cEA	Comparaison avec un standard		

						183	155, 127, 110, 84	cAA	Comparaison avec un standard
	HyperCarb	1	21,7	59		143	125, 115, 98, 87, 70.4	cAA	Comparaison avec un standard
		2	23,0	EIC detection		217	199	cES	Aucune
		3	25,4	5589		199	181, 171, 169, 154, 141, 126, 98	cEA	Comparaison avec un standard
						201	183		
						183	155, 127, 110, 84		
M15-pREP4	dC18	1	13,9	EIC detection		143	125, 115, 98, 87, 70.4	cAA	Comparaison avec un standard
		2	14,3	1901		201	183	cEA	Comparaison avec un standard
						183	155,127,110,84,		
	HyperCarb	1	21,8	EIC detection		143	125, 115, 98, 70.4	cAA	Comparaison avec un standard
		2	25,4	2042		201	183	cEA	Comparaison avec un standard
						183	155,127,110,84		
61	BL21AI-pREP4	dC18	1	13,9	1206	143	115, 98, 87, 70.5	cAA	Comparaison avec un standard
			2	14,3	7884	201	183 155	cEA	Comparaison avec un standard
						183	155, 127, 110, 84		
		3	18,8	369		169	152, 141, 125, 70.5	cAP	HMRS et analyse en composition d'acides aminés
	HyperCarb	1	21,7	1591		143	115, 98, 87, 70.4	cAA	Comparaison avec un standard
		2	25,4	7243		201	183, 155	cEA	Comparaison avec un standard
						183	155, 127, 110, 84		
		3	26,8	EIC detection		169	152, 141, 125, 113, 98, 96, 70.4	cAP	HMRS et analyse en composition d'acides aminés
M15-pREP4	dC18	1	14,0	613		143	115, 98, 87, 70.4	cAA	Comparaison avec un standard
		2	14,4	2747		201	183 155	cEA	Comparaison avec un standard
						183	155, 127, 110, 84		
		3	18,8	91		169	152, 141, 124, 113, 96, 70.4	cAP	HMRS et analyse en composition d'acides aminés
	HyperCarb	3	21,8	615		143	115, 98, 87, 70	cAA	Comparaison avec un standard
		4	25,4	2895		201	183	cEA	Comparaison avec un standard
						183	155, 127, 110, 84		
		5	26,9	109		169	152, 141, 125, 113, 98, 96, 70	cAP	HMRS et analyse en composition d'acides aminés

Les CDPS ont été exprimées dans une, deux ou trois souches bactériennes en fonction de l'efficacité de transformation. Chaque expérience d'expression a été réalisée une fois.

Les surnageants de culture ont été analysés par LC-MS/MS sur des colonnes dC18 (Waters) et Hypercarb (ThermoFisher) : l'absence de données indiquent qu'aucun cyclodipeptide n'a été détecté.

cCC signifie que du cyclo(L-cystine) a été détecté dans le surnageant de culture bactérienne. Quand une CDPS synthétise du cCC, il est retrouvé sous forme oxydé, c'est-à-dire de cyclo(L-cystine) dans le surnageant.

t_R : temps de rétention obtenu avec le gradient 1

^a d'autres m/z sont visibles dans le pic

^b pic élargi

^c pic non résolu, valeur estimée

¹ identification s'appuyant sur le temps de rétention et le m/z

² pas inclus sur la Figure XX car le cyclodipeptide est presque indétectable et non confirmé

Références

- Chen, Y.-H., Liou, S.-E. & Chen, C.-C. Two-step mass spectrometric approach for the identification of diketopiperazines in chicken essence. *Eur Food Research Technology* **218**, 589-597 (2004).
- Gondry, M. *et al.* Cyclodipeptide synthases are a family of tRNA-dependent peptide bond-forming enzymes. *Nat Chem Biol* **5**, 414-420 (2009).
- Giessen, T. W., von Tesmar, A. M. & Marahiel, M. A. A tRNA-Dependent Two-Enzyme Pathway for the Generation of Singly and Doubly Methylated Dityryptophan 2,5-Diketopiperazines. *Biochemistry* **52**, 4274-4283 (2013).
- Guo, Y. C., Cao, S. X., Zong, X. K., Liao, X. C. & Zhao, Y. F. ESI-MSn study on the fragmentation of protonated cyclic-dipeptides. *Spectrosc-Int J* **23**, 131-139 (2009).