

Supplementary information for manuscript:

Evaluation of fast 2D NMR for metabolomics

Adrien Le Guennec^{1,2}, Patrick Giraudeau^{2*} and Stefano Caldarelli^{1,3*}

¹*Centre de Recherche CNRS de Gif-sur-Yvette, Institut de Chimie
des Substances Naturelles, Laboratoire de Chimie et Biologie*

Structurales, UPR 2301, 1, avenue de la Terrasse,

91198 Gif-sur-Yvette, France

²*Université de Nantes, CNRS,*

CEISAM UMR 6230, B.P. 92208,

2 rue de la Houssinière,

F-44322 Nantes Cedex 03, France

³ *Aix Marseille Université, Centrale Marseille, CNRS, iSm2 UMR*

7313, 13397, Marseille, France

*Corresponding authors:

Pr. Stefano CALDARELLI, Institut de Chimie des Substances Naturelles, UPR CNRS 2301,
1, avenue de la Terrasse, 91198 Gif-sur-Yvette, France

Dr. Patrick GIRAudeau, Chimie et Interdisciplinarité : Synthèse, Analyse, Modélisation
(CEISAM), UMR 6230, Faculté des Sciences, BP 92208, 2 rue de la Houssinière, F-44322
Nantes Cedex 03, France.

Tel. +33(0)2 51 12 57 09. Fax. +33(0)2 51 12 57 12.

E-mail: patrick.giraudeau@univ-nantes.fr

Supplementary Table 1: concentrations, in mM, of each individual in the synthetic samples used for metabolomics. Samples from controls were named HEAL and samples from diseased patients were named CANC. Each concentration was calculated using a Matlab program to generate randomly a set of numbers that respected the mean concentration and the standard deviation. Abbreviations: 3-HBu: 3-Hydroxybutyrate.

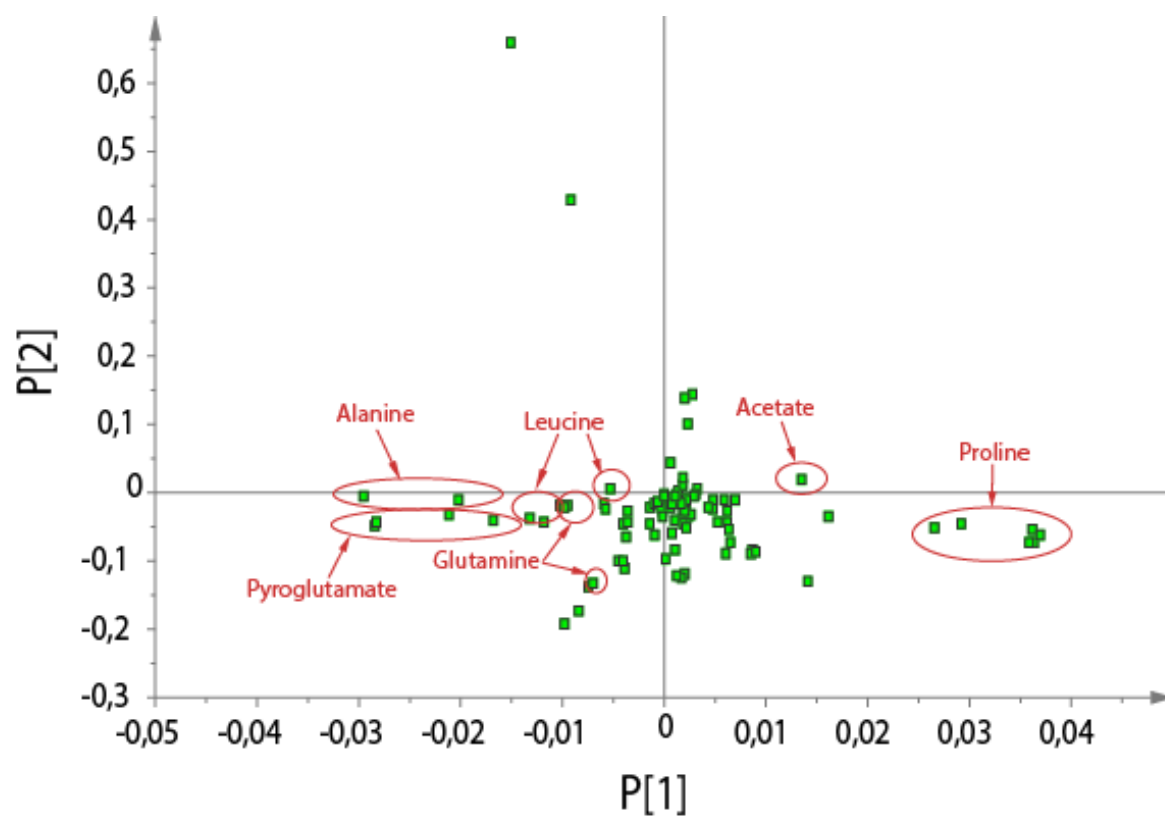
	3-HBu	Acetate	Alanine	Arginine	Asparagine	Aspartate	Betaine	Carnitine	Citrate	Creatine
HEAL 1	2,2	1,1	11,4	2,4	1,4	0,3	0,7	0,8	2,9	0,7
HEAL 2	3,5	0,5	7,2	1,5	1,3	0,2	1,7	0,6	2,2	1,1
HEAL 3	0,5	1,3	10,9	2,4	1,7	0,5	1,0	1,2	2,2	0,4
HEAL 4	1,9	0,8	10,2	3,0	1,5	0,5	1,9	0,5	2,8	0,0
HEAL 5	0,0	1,0	11,7	2,3	1,9	0,6	1,7	0,7	1,6	0,0
HEAL 6	2,8	0,5	7,2	2,3	1,5	0,6	1,4	0,7	1,4	1,8
HEAL 7	0,0	0,5	7,2	2,6	1,3	0,3	1,8	1,2	2,5	0,5
HEAL 8	2,2	0,5	6,1	2,6	1,2	0,4	1,4	0,8	1,8	0,0
HEAL 9	0,0	0,8	10,1	2,3	1,6	0,3	0,9	0,7	2,5	0,8
HEAL 10	0,7	0,4	8,6	1,8	1,5	0,3	1,2	0,8	3,1	0,8
HEAL 11	3,5	0,5	9,3	1,8	1,4	0,2	1,7	0,8	1,4	0,9
HEAL 12	0,7	1,2	8,3	3,1	1,7	0,2	1,4	0,9	3,0	0,1
HEAL 13	1,9	0,7	5,8	2,2	1,8	0,4	1,6	1,1	1,8	0,5
HEAL 14	2,2	1,0	9,0	2,2	1,6	0,6	1,8	0,8	2,2	0,6
HEAL 15	2,4	0,8	8,3	1,5	1,7	0,5	2,2	0,9	2,3	0,0
HEAL 16	1,3	1,4	5,8	2,4	1,6	0,3	1,9	1,0	1,7	0,2
HEAL 17	1,4	1,0	10,4	2,2	1,7	0,3	1,6	1,0	2,9	1,2
HEAL 18	0,0	1,1	9,5	3,0	1,6	0,3	0,6	0,8	1,3	0,4
HEAL 19	2,7	1,2	6,9	2,3	1,5	0,5	1,0	0,9	2,5	1,6
HEAL 20	1,7	1,6	8,2	1,7	1,8	0,6	0,9	0,7	2,2	0,4
CANC 1	2,3	1,5	3,4	2,0	1,5	0,4	1,0	1,2	2,4	0,5
CANC 2	1,3	1,8	5,9	2,2	2,1	0,7	1,6	0,9	2,5	0,0
CANC 3	1,9	1,3	8,1	2,4	1,4	0,4	1,2	1,2	2,1	0,5
CANC 4	3,1	1,3	5,6	1,9	1,6	0,6	0,2	0,9	2,2	0,3
CANC 5	2,3	1,4	8,4	2,2	2,0	0,2	0,9	1,1	2,4	1,3
CANC 6	1,7	0,9	6,5	2,3	1,5	0,5	0,4	1,1	1,8	0,2
CANC 7	2,2	1,5	8,4	2,1	1,8	0,3	2,1	0,9	1,2	0,5
CANC 8	2,9	1,5	8,9	1,9	1,7	0,6	1,7	0,7	0,2	0,8
CANC 9	2,6	1,2	6,7	4,0	1,6	0,3	0,8	0,7	2,2	1,2
CANC 10	1,8	1,1	7,8	1,7	1,3	0,4	1,4	0,7	2,6	0,7
CANC 11	1,2	1,5	9,6	2,8	1,5	0,3	1,9	0,8	1,3	0,9
CANC 12	1,2	1,1	4,3	2,3	1,9	0,4	0,8	1,2	1,9	0,4
CANC 13	1,0	1,4	3,9	2,4	1,9	0,4	1,6	1,1	2,2	0,0
CANC 14	2,5	2,2	6,1	2,5	1,9	0,3	0,7	0,8	2,2	0,1
CANC 15	2,1	1,3	3,5	2,2	1,3	0,4	2,1	1,0	1,4	0,0
CANC 16	4,2	1,6	7,7	1,9	1,7	0,2	1,7	1,2	1,8	0,0
CANC 17	1,7	1,3	7,5	2,5	1,8	0,5	1,7	0,8	1,8	0,0
CANC 19	3,7	0,8	8,0	2,4	1,6	0,4	0,6	0,9	2,9	0,3
CANC 20	2,1	1,1	10,0	2,2	1,8	0,4	1,6	0,9	1,6	0,2

Supplementary Table 1 (continued)

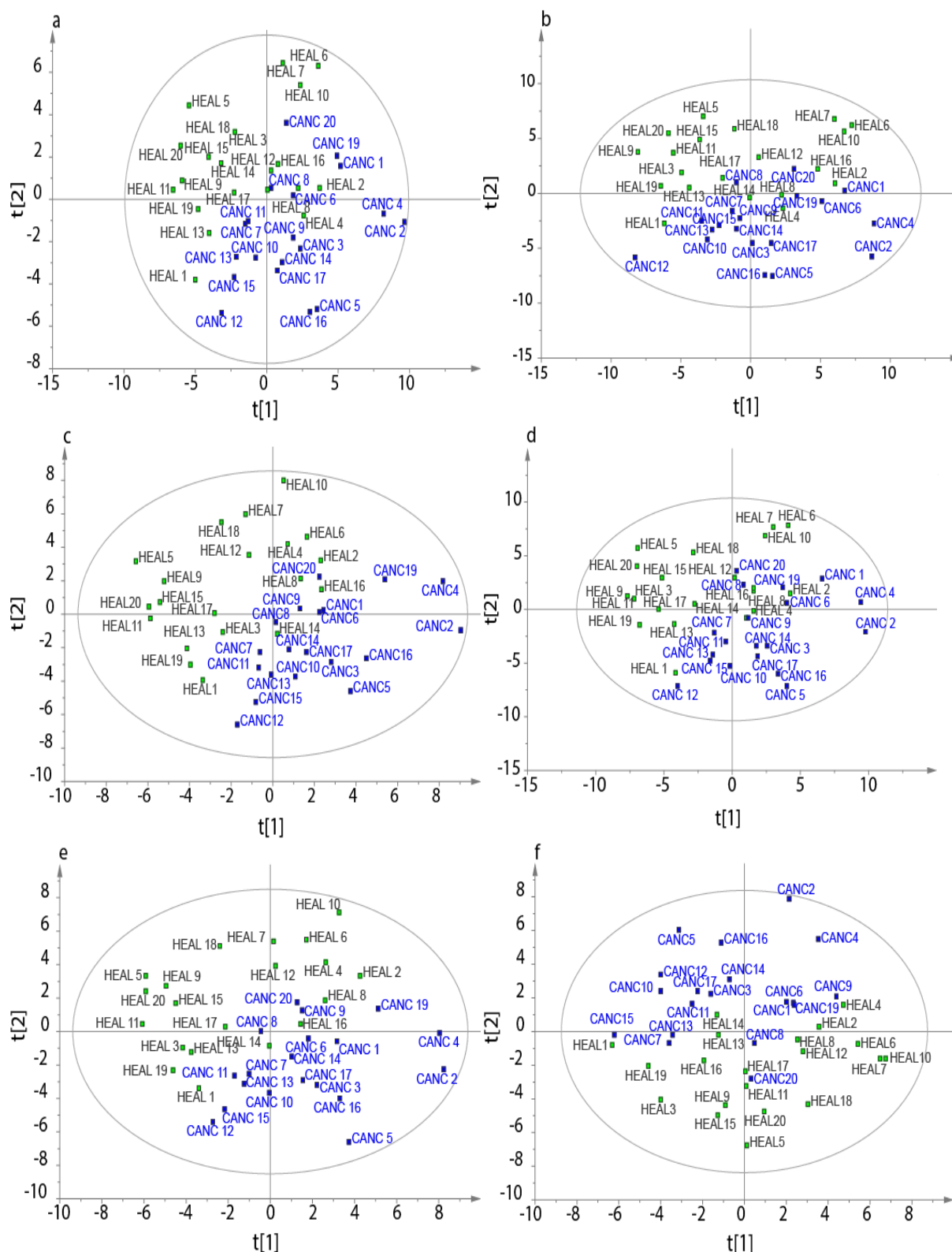
	Creatinine	Glutamate	Glutamine	Glycerol	Glycine	Histidine	Isoleucine	Lactate	Leucine	Lysine
HEAL 1	1,3	1,8	5,8	10,6	9,0	1,8	1,3	38,3	1,9	5,0
HEAL 2	1,6	1,5	9,7	6,4	5,2	3,0	1,4	19,0	1,8	5,5
HEAL 3	1,9	2,2	8,2	11,1	3,7	2,4	0,8	41,2	2,1	1,9
HEAL 4	1,6	2,4	9,9	6,0	5,7	2,9	0,5	18,2	2,0	5,8
HEAL 5	1,6	2,3	13,5	9,3	7,6	2,6	1,2	40,2	2,0	1,3
HEAL 6	2,2	1,8	8,9	7,7	6,9	3,0	1,6	14,9	2,1	2,8
HEAL 7	1,1	2,1	12,2	8,8	8,8	1,6	1,5	15,9	2,0	3,8
HEAL 8	1,7	1,7	10,9	6,1	7,5	4,9	1,0	27,9	1,7	4,0
HEAL 9	2,0	2,5	11,5	10,4	6,0	1,6	0,5	36,0	2,2	4,3
HEAL 10	1,3	2,2	13,1	5,5	4,7	3,6	1,8	22,5	1,9	3,8
HEAL 11	1,0	1,7	10,9	8,2	4,7	1,3	1,2	30,4	2,1	4,4
HEAL 12	2,5	2,3	11,8	10,7	6,2	3,4	1,1	21,9	2,3	4,1
HEAL 13	1,6	1,9	9,5	9,8	5,1	2,9	1,0	30,2	1,6	4,8
HEAL 14	1,6	1,8	6,6	8,9	8,4	2,3	1,0	21,7	2,3	3,2
HEAL 15	1,5	2,4	10,6	10,1	4,0	2,6	1,2	33,4	2,2	3,4
HEAL 16	1,2	2,2	6,7	7,9	6,1	4,8	2,0	34,1	2,5	2,8
HEAL 17	1,3	1,7	11,7	9,9	3,5	1,9	1,3	29,4	1,6	3,0
HEAL 18	1,5	2,3	12,8	8,4	6,2	3,5	0,9	34,6	2,4	4,0
HEAL 19	1,1	2,2	7,8	11,4	6,6	2,7	0,9	36,1	1,8	2,0
HEAL 20	1,6	2,1	15,2	10,3	9,9	2,1	1,5	37,5	1,8	4,0
CANC 1	2,1	1,9	9,2	9,6	8,5	3,3	1,4	17,3	1,8	2,9
CANC 2	1,9	1,8	6,8	5,7	2,7	3,7	1,3	17,5	1,5	2,8
CANC 3	1,2	2,0	6,7	7,0	8,0	2,8	0,8	26,2	1,8	2,8
CANC 4	1,8	1,8	8,1	6,4	3,0	2,7	1,5	15,8	1,8	2,9
CANC 5	1,3	1,7	6,3	9,4	2,9	2,2	1,3	23,2	1,4	2,8
CANC 6	1,4	1,6	10,6	7,6	9,3	2,8	1,8	25,5	1,4	4,4
CANC 7	1,1	1,5	7,2	8,7	4,4	3,1	1,4	34,9	1,9	3,4
CANC 8	2,1	1,7	9,3	9,4	7,7	2,7	1,2	22,8	1,8	3,0
CANC 9	2,0	1,7	11,7	7,4	5,4	3,0	0,5	22,5	1,5	3,9
CANC 10	1,5	1,6	6,1	10,0	8,5	3,4	1,2	25,1	1,6	5,1
CANC 11	1,6	2,1	6,8	11,0	5,8	2,6	1,1	25,2	1,9	3,2
CANC 12	2,3	2,6	8,2	12,2	5,6	3,0	0,6	35,7	1,4	5,8
CANC 13	1,6	1,7	8,1	9,0	10,2	2,4	1,4	40,2	2,1	4,4
CANC 14	1,7	2,4	8,3	9,0	5,0	2,3	1,1	28,0	1,8	5,7
CANC 15	2,4	2,1	6,3	12,5	6,5	2,1	1,7	36,8	2,0	3,3
CANC 16	1,6	1,7	6,9	6,8	5,7	3,8	0,6	20,2	1,7	4,9
CANC 17	1,9	2,0	6,6	8,2	6,6	2,5	1,4	30,6	2,1	4,7
CANC 19	1,7	1,9	9,3	7,6	4,8	2,0	1,3	19,5	1,7	2,3
CANC 20	1,5	2,0	8,8	6,0	8,1	4,7	1,4	32,7	1,9	1,7

Supplementary Table 1 (continued)

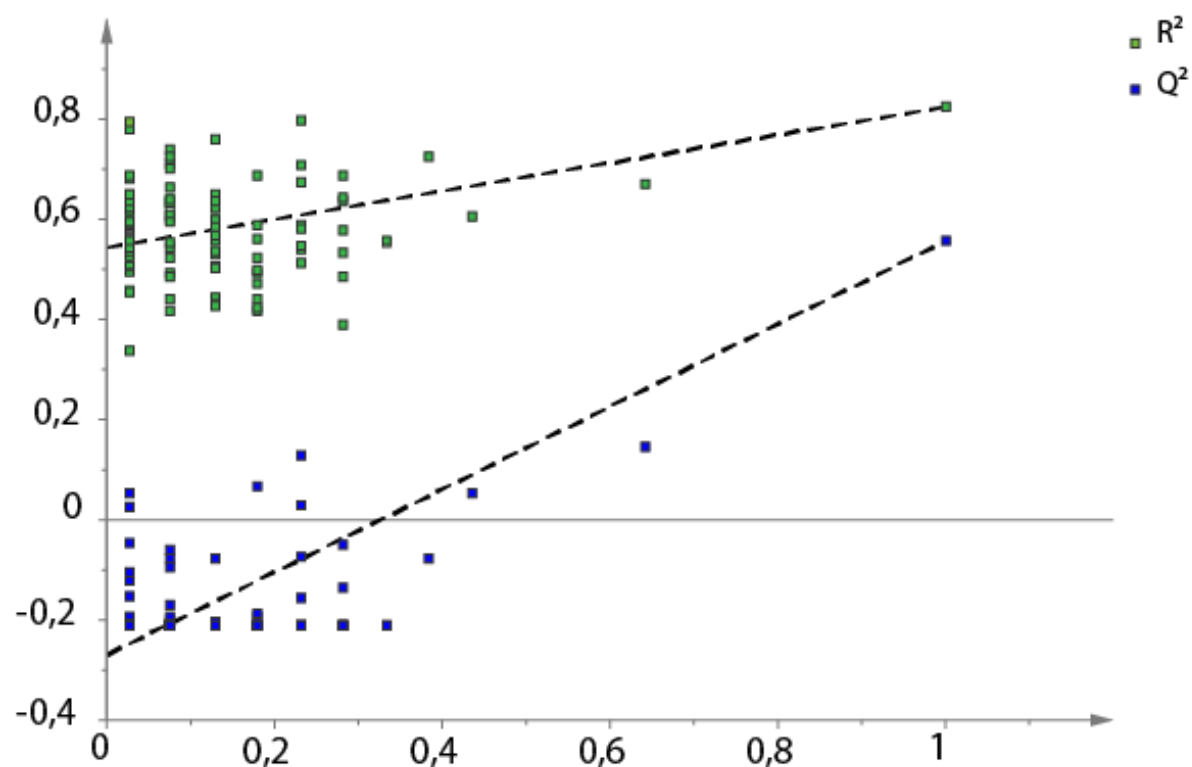
	Methanol	Methionine	Ornithine	Phenylalanine	Proline	Pyruvate	Serine	Threonine	Tryptophan	Valine
HEAL 1	1,8	0,5	1,1	1,4	4,9	0,2	3,3	2,4	1,4	6,1
HEAL 2	1,8	0,5	1,2	1,7	3,0	0,5	2,7	2,6	1,4	4,3
HEAL 3	1,6	0,6	1,5	2,0	3,6	1,2	3,2	4,3	1,3	1,7
HEAL 4	1,4	0,4	1,2	1,7	4,8	0,2	4,0	2,1	1,4	5,5
HEAL 5	1,4	0,6	1,3	0,9	2,7	1,0	3,8	3,0	1,2	3,8
HEAL 6	1,6	0,6	0,9	1,4	2,5	0,1	4,3	2,2	0,8	2,9
HEAL 7	1,6	0,9	1,9	1,8	3,9	0,6	3,3	2,7	1,0	3,3
HEAL 8	1,6	0,5	1,7	1,6	5,7	0,3	3,7	1,8	1,1	4,1
HEAL 9	2,2	0,5	1,7	2,4	3,1	0,8	3,2	2,7	0,9	5,0
HEAL 10	1,1	0,8	1,9	1,4	4,7	0,1	3,3	1,0	1,1	5,3
HEAL 11	1,2	0,5	2,1	1,1	4,6	1,0	3,1	3,5	0,6	4,0
HEAL 12	1,6	0,6	0,8	1,7	3,5	0,3	1,9	1,8	1,3	5,6
HEAL 13	1,7	0,5	2,0	0,9	3,8	1,1	2,4	3,1	0,8	6,1
HEAL 14	1,6	0,7	0,9	1,5	5,4	1,2	2,9	2,4	0,9	5,0
HEAL 15	1,4	0,5	1,2	1,2	1,8	1,3	3,0	2,9	1,1	5,2
HEAL 16	1,6	0,7	0,7	1,9	3,6	0,8	2,7	2,8	1,2	5,0
HEAL 17	1,5	0,5	1,6	1,3	4,7	0,0	2,9	1,2	1,3	5,7
HEAL 18	1,9	0,6	1,7	2,1	2,5	0,4	2,8	2,6	1,2	3,8
HEAL 19	1,8	0,6	1,2	1,1	3,9	0,5	2,7	2,5	0,9	4,9
HEAL 20	1,1	0,5	0,8	1,7	4,5	0,3	2,3	2,6	0,8	1,3
CANC 1	1,5	0,6	1,1	1,1	5,0	0,7	3,5	3,0	1,3	3,1
CANC 2	1,8	0,5	1,4	1,9	8,4	1,4	3,5	3,0	1,1	4,0
CANC 3	1,4	0,6	1,6	1,4	7,7	1,4	3,3	2,2	1,2	3,5
CANC 4	1,8	0,5	1,9	2,1	6,8	0,6	3,1	3,4	1,2	4,9
CANC 5	2,0	0,6	0,9	1,3	9,4	0,7	2,8	1,6	1,4	5,9
CANC 6	1,1	0,8	1,4	1,3	7,0	0,4	2,7	2,6	1,2	3,7
CANC 7	1,5	0,7	1,3	1,8	5,8	1,2	3,1	1,7	1,1	4,2
CANC 8	1,9	0,6	1,3	1,6	5,3	0,2	1,9	2,5	1,0	2,6
CANC 9	1,2	0,4	0,7	1,8	6,7	0,3	2,7	2,9	1,1	3,2
CANC 10	1,5	0,5	1,2	2,0	6,6	1,1	3,0	3,3	1,0	3,6
CANC 11	2,2	0,6	1,4	2,0	7,6	0,0	4,3	3,3	0,9	1,8
CANC 12	1,8	0,5	0,8	1,7	8,6	0,3	3,3	3,5	0,9	3,4
CANC 13	1,4	0,6	1,4	2,2	7,8	0,9	2,0	0,9	1,1	3,8
CANC 14	1,5	0,7	1,2	1,6	6,7	0,2	2,9	3,0	1,2	3,8
CANC 15	2,1	0,5	1,5	1,5	6,7	0,4	3,3	1,5	1,3	5,1
CANC 16	1,2	0,4	1,4	1,9	6,7	1,0	2,6	1,9	1,0	5,4
CANC 17	1,6	0,6	1,3	1,5	7,1	0,5	3,1	2,2	1,4	4,0
CANC 19	1,9	0,7	1,2	2,9	5,6	0,3	3,6	2,4	0,9	3,8
CANC 20	1,3	0,8	0,7	2,1	4,3	0,6	3,2	2,8	1,0	2,5



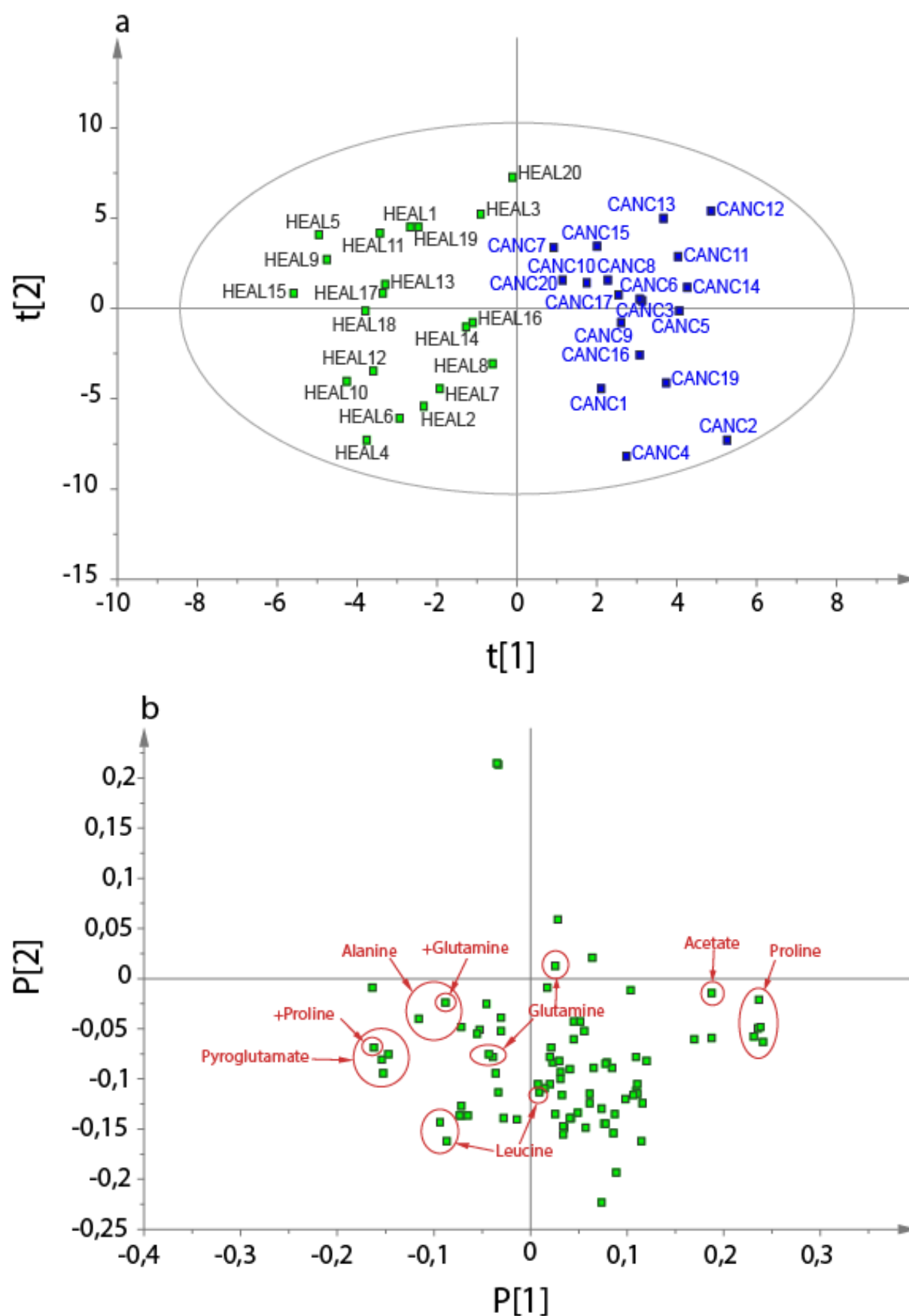
Supplementary Figure S1: Loading plot from the OPLS-DA of HSQC, using Pareto scaling instead of UV scaling.



Supplementary Figure S2: Score plots from PCA. The raw data was constructed by taking the surface (for 1D) or the volume (for 2D) of each bucket in the spectra of the 39 samples, using the TOPSPIN integration tool. The multivariate analysis was performed by SIMCA v13. a-f: same legend as Fig.1.



Supplementary Figure S3: Result of the permutation test, using 100 different permutations, on the PLS-DA model. For all PLS-DA models using 1D and 2D spectra, the permutation test gave similar results. The R^2 curve intercepts the vertical axis at 0.543 while the Q^2 axis intercepts the vertical axis at -0.27



Supplementary Figure S4: a: score plot from OPLS-DA performed on conventional 2D J-resolved spectra acquired on the 39 samples, b: loading plot from the OPLS-DA of the same spectra.