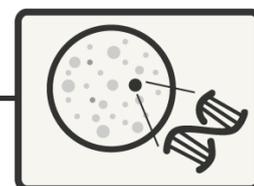




## PLATEAU PICT-ICEO

# Criblage à Haut-Débit



### OBJECTIF

Le but de cette prestation est de mettre au point et en oeuvre une campagne de criblage pour la recherche d'activités enzymatiques spécifiques issues de banques génomiques ou métagénomiques ou de projets d'ingénierie combinatoire.

Plusieurs approches existent, qui permettent de sélectionner parmi les banques de clones à analyser, ceux qui présentent les propriétés les plus intéressantes :

- ◆ tests de sélection
- ◆ criblage sur milieu solide
- ◆ criblage en milieu liquide
- ◆ approche microplaque vs. approche microfluidique

### DESCRIPTIF PRESTATION

Les mutants issus de processus de création de diversité génique (évolution dirigée, banque métagénomique principalement) sont triés sur la base de la fonction de la protéine qu'ils codent:

- soit par sélection: tous les clones issus de la banque sont testés en même temps, et la viabilité des clones est liée à la présence de l'activité recherchée;
- soit par criblage: chaque variant est testé individuellement, principalement en faisant pousser les clones sur un milieu gélosé contenant un substrat dont la dégradation/métabolisation se traduira par un phénotype visible, pour quantifier l'activité / la propriété associée à la protéine mutée.

Selon les modalités discutées avec le client, la prestation de criblage comprendra un certain nombre des étapes décrites ci-après :

1. Mise au point de(s) méthode(s) de criblage pour la sélection des clones améliorés
2. Miniaturisation et automatisation des protocoles de criblage
3. Mise en oeuvre de la (des) méthode(s) retenue(s) pour le criblage des banques de clones.
4. Sélection et vérification des clones actifs.
5. Le cas échéant, criblage secondaire des hits retenus et séquençage des hits.
6. Réorganisation des hits en microplaques 96 ou 384 puits.

Le coût de cette prestation sera estimé en fonction de la complexité du crible à mettre en œuvre (et/ou à mettre en place) et du nombre de mutants à cribler.

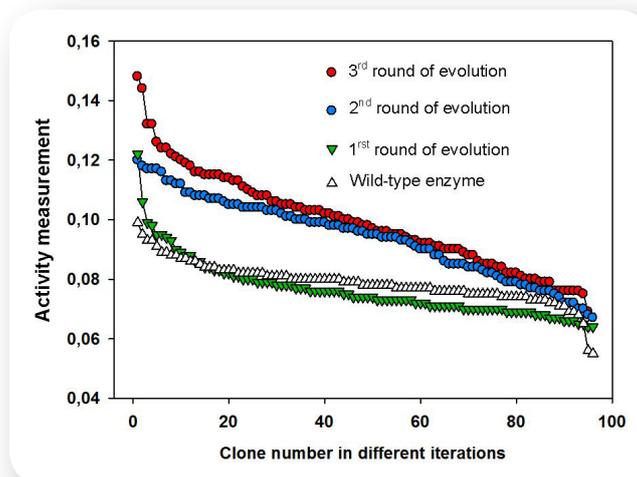
## ECHANTILLONS

La banque de clones à cribler sera fournie :

- soit sous forme de glycérol, notamment si ce sont des méthodes de sélection qui est appliquées,
- soit sous forme de banque organisée en microplaque 96 ou 384 puits, notamment lorsque ce sont des stratégies de criblage qui sont retenues.

Lorsque le client souhaite la mise en œuvre à haut-débit d'un protocole de criblage « maison », ce protocole détaillé devra être fourni.

Le personnel du plateau pourra éventuellement apporter son expertise dans le domaine de la création de diversité moléculaire (mutagénèse rationnelle, semi-rationnelle ou aléatoire, approche in silico) (voir prestation Création de Diversité).



## RESULTATS

A l'issue de la prestation, il sera remis au client :

- un compte-rendu sur la prestation effectuée,
- les mutants actifs et confirmés sous forme de tubes glycérolés et/ou de microplaque 96 puits,
- la banque de clones, organisée en format 96 ou 384 puits, s'il le souhaite. Dans le cas contraire, la(les) banque(s) sera(ont) alors détruite(s), à moins qu'une autre prestation la(les) concernant ne soit démarrée.

La mise en œuvre d'une campagne de criblage ne signifie pas que des clones portant les activités recherchées seront trouvés.



## CONTROLES QUALITE

Pour les projets d'évolution dirigée, les niveaux seuil d'activité (à déterminer avec le client) sont déterminés sur la base de calibrage précis avec l'enzyme sauvage.

Tous les clones identifiés comme positifs à l'issue du criblage primaire sont criblés une deuxième fois pour éliminer les faux-positifs.

## PERSPECTIVES

Le client pourra, s'il le souhaite, demander une caractérisation biochimique approfondie des enzymes sélectionnées (production, purification, caractérisation biophysique,...).

De même, le séquençage des clones sélectionnés peut être fourni, avec analyse des mutations identifiées.



### Contacts

PICT-ICEO  
TBI – INSA Toulouse  
135 Avenue de Rangueil  
31077 Toulouse cedex 04

Manageur projet  
Sophie BOZONNET  
Tél. +33 5 61 55 94 88  
iceo@insa-toulouse.fr

Responsable Prestation  
Sandra PIZZUT-SERIN  
Tél. +33 5 61 55 94 53  
sandra.serin@insa-toulouse.fr