

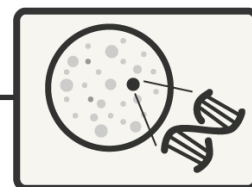


HTS
biophysics
Enzyme engineering
Screening
NMR
chemistry
Drug design
Structural Biology
Ligand interaction



PLATEAU PICT-ICEO

Dichroïsme Circulaire



OBJECTIF

Le plateau de purification de protéine de PICT-ICEO propose de :

- ◆ Analyser la structure et le repliement des molécules biologiques (protéines, acides nucléiques, sucres).
- ◆ Analyser la stabilité thermiques des molécules biologiques.
- ◆ Effectuer un suivi cinétique d'une réaction catalysée par une enzyme.

Pour cela ICEO dispose d'un spectromètre de dichroïsme circulaire JASCO J-815 équipé des cuvettes et microcuvettes qui permettent de mesurer une large gamme d'échantillons. La technique n'étant pas destructive, il est possible d'effectuer des cinétiques ou des titrations pour suivre des changements conformationnels.

DESCRIPTIF PRESTATION

L'objectif de l'étude et la stratégie d'analyse seront mis au point avec le client.

Techniques disponibles :

- Mesure simple à une ou plusieurs longueurs d'ondes.
- Scan sur une plage de longueurs d'ondes.
- Profil de dénaturation thermique (rampe).

Prestations possibles :

- Mise au point - Collecte des données rapides. Détermination, optimisation ou validation des conditions expérimentales permettant d'assurer la collecte des données CD exploitables: concentration, tampon, cellule, longueurs d'ondes, rampe de température.
- Collecte des données finales. Collecte des données CD de qualité pour utilisation dans une étude structure/fonction ou publication.

- Mise à disposition

Le spectromètre est mis à disposition suite à une formation à l'utilisation de l'appareil. L'utilisateur réalise ses expériences, accompagné par le responsable de l'appareil ou en complète autonomie.

ECHANTILLONS

La quantité et la concentration de l'échantillon à analyser seront déterminés avec le client en fonction de l'analyse à réaliser.

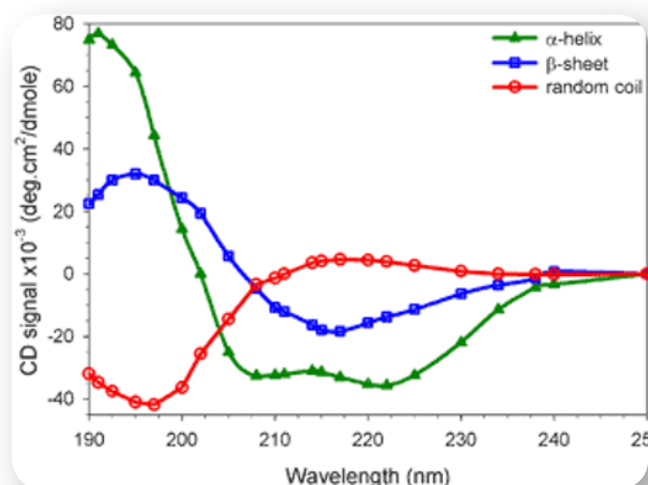
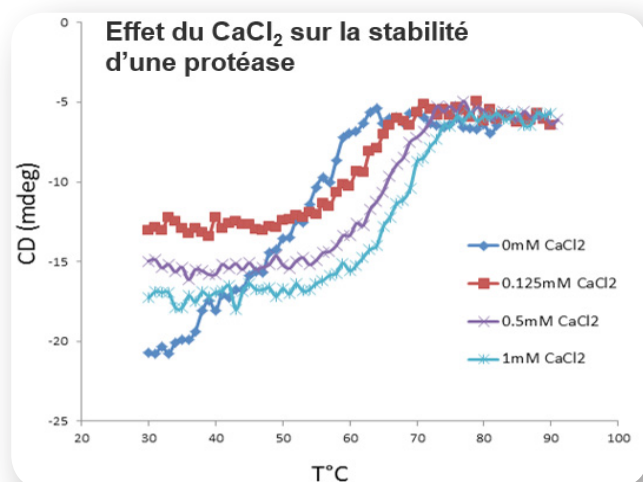
A titre indicatif, la concentration d'une protéine sera de quelques $\mu\text{g/ml}$ pour la cuvette 500 μL (chemin optique 1mm) à quelques mg/ml pour la cuvette sandwich (chemin optique 0.01mm).

L'échantillon de la macromolécule à analyser doit être le plus pur possible ($>=95\%$) et exempt d'agrégats, une gel filtration est fortement recommandé.

Les meilleurs tampons sont le phosphate, le borate et le Tris-HCl. Eviter des fortes concentrations en NaCl et toutes molécules qui absorbent fortement dans l'UV (imidazole) ou qui ne sont pas stables dans le temps (DTT).

Les informations suivantes, nécessaires pour effectuer la prestation, devront être fournies :

- nature de la molécule à analyser
- poids moléculaire, séquence, solubilité
- existence préalable des données CD pour le même échantillon ou pour un échantillon similaire



Exemple de données CD pour des structures secondaires différentes

RESULTATS

Les résultats seront intégrés dans un rapport rédigé par le responsable de la prestation.

Ce rapport, en plus des résultats obtenus, précisera le protocole, les méthodes instrumentales et le descriptif du matériel utilisé.

Les fichiers des données brutes pourront être remis au client à sa demande et seront stockés au laboratoire pour une durée de 2 ans, après quoi ils seront supprimés.

PERSPECTIVES

La technique n'étant pas destructive il est possible de récupérer l'échantillon pour l'analyser via les différentes techniques biophysiques proposées par PICT (ITC, DSF, NanoDSF, SEC-MALLS) ou de l'utiliser pour des essais de cristallisation ou autres techniques structurales (NMR).

CONTROLES QUALITE

Contrôle interne périodique du spectromètre.



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

Gianluca CIOCI
Tél. +33 5 61 55 94 53
cioci@insa-toulouse.fr