

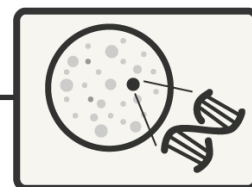


HTS
biophysics
Enzyme engineering
Screening
NMR
chemistry
Drug design
Structural Biology
Ligand interaction



P L A T E A U P I C T - I C E O

Purification de Protéines



OBJECTIF

Le plateau de purification de protéine d'ICEO propose :

- ◆ de mettre au point des protocoles de purification sur mesure, permettant d'atteindre un rendement et une pureté satisfaisante.
- ◆ De mettre en œuvre des protocoles déjà développés pour la purification de protéines d'intérêt.

Pour cela ICEO dispose d'un ensemble d'équipements constitué de chaînes FPLC (ÄKTA) permettant de mettre en œuvre une large gamme de technique de séparation.

DESCRIPTIF PRESTATION

La stratégie et les objectifs de purification de la protéine ciblée seront mis au point avec le client.

Techniques disponibles :

- Chromatographie d'affinité à l'aide d'une étiquette (His-Tag, Strep-Tag, GST-Tag).
- Chromatographie d'interaction ionique et hydrophobe.
- Chromatographie d'exclusion stérique (gel filtration).

Pour cela, 4 types de système ÄKTA sont disponibles:

ÄKTA Prime, ÄKTA Purifier, ÄKTA Pure et ÄKTA Xpress (4 modules).

Prestations possibles :

- Mise au point - Optimisation
Détermination ou optimisation des conditions chromatographiques permettant d'assurer une bonne séparation des protéines de l'échantillon : technique, colonnes à utiliser, éluants, gradients, débit.
- Analyse qualitative et quantitative
Application d'une méthode déjà mise au point et purification de la protéine d'intérêt.

- Mise à disposition

Les appareils peuvent également être mis à disposition suite à une formation à l'utilisation de l'appareil. Une large gamme de colonnes est disponible sur le plateau de purification.

ECHANTILLONS

L'échantillon protéique à purifier (concentration et volume à déterminer avec le client) sera au préalable filtré sur 0,22 µm ou centrifugé 10 min à 10 000 rpm.

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

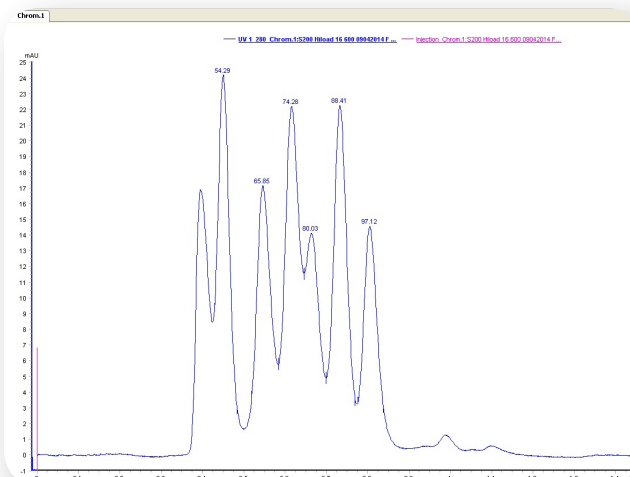
- nature de la protéine,
- poids moléculaire et point isoélectrique,
- existence préalable d'un protocole de purification.

La présence de la protéine d'intérêt dans l'échantillon de départ doit être prouvée (gel SDS-Page) et sa quantité estimée. L'activité enzymatique doit être vérifiée.



PERSPECTIVES

La protéine purifiée pourra ensuite être analysée via les différentes techniques biophysiques proposées par PICT (ITC, DSF, NanoDSF, CD, SEC-MALLS) ou utilisée pour des essais de cristallisation ou autres techniques structurales (NMR).



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.

CONTROLES QUALITE

Contrôle interne périodique des ÅKTAs. Pour les colonnes d'exclusion stérique (gel filtration) des standards pourront être analysés (en option).

Gel SDS Page pour le degré de pureté des protéines.

Spectrométrie UV-Vis (NanoDrop) pour la quantification des protéines.

NanoDSF (Tycho NT.6) pour le profil de dénaturation thermique des protéines (en option).

Dichroïsme circulaire (JASCO J-815) pour le contrôle du repliement protéique (en option).



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