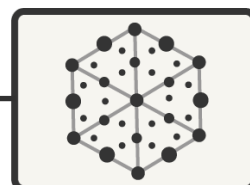


PLATEAU DE CRISTALLOGRAPHIE AUX RAYONS X

Structure par cristallographie aux rayons X



OBJECTIF

Le plateau de cristallographie propose la résolution de structures de macromolécules biologiques seules ou en complexes.

Les applications principales concernent la santé humaine, l'agriculture et l'environnement.

DESCRIPTIF PRESTATION

Grace à ses équipements régulièrement mis à jour (robot de cristallisation, automate de visualisation), un accès régulier aux sources synchrotron (ESRF, SOLEIL, ALBA) et une forte interaction avec l'équipe « Biophysique Structurale » de l'IPBS, PICT est capable de réaliser des prestations de résolution de structure par cristallographie aux rayons X.

En amont de la résolution de la structure, les conditions initiales de cristallisation de la protéine devront être recherchées en utilisant les robots de cristallisation et à l'aide de cribles commerciaux ou en utilisant des conditions de cristallisation déjà disponibles.

Dans les deux cas, l'affinement de ces conditions devra permettre de disposer de monocristaux qui seront alors congelés et leur pouvoir de diffraction

testé et les données expérimentales collectées par irradiation au synchrotron.

Si la structure d'une protéine homologue est connue, la résolution de la structure sera réalisée par remplacement moléculaire ; dans les autres cas, des solutions alternatives telles que remplacement isomorphe ou méthodes de diffusion anormale seront utilisées.

Selon le souhait du client et la complexité du projet, la prestation peut se réaliser en mise à disposition des équipements de la plateforme PICT ou prestation de services, au moins pour l'étape de cristallisation de la protéine.

ECHANTILLONS

La préparation des échantillons est préalablement discutée avec le client et adaptée en fonction des contraintes liées à la stratégie mise en œuvre dans le cadre de l'analyse.

Toutefois, quelques règles générales peuvent être émises :

- la protéine doit être pure et non agrégée,
- le volume nécessaire est d'environ 25 µl par crible commercial réalisé (96 conditions),
- la concentration sera de quelques dizaines à plusieurs centaines de µM selon la solubilité de la protéine.



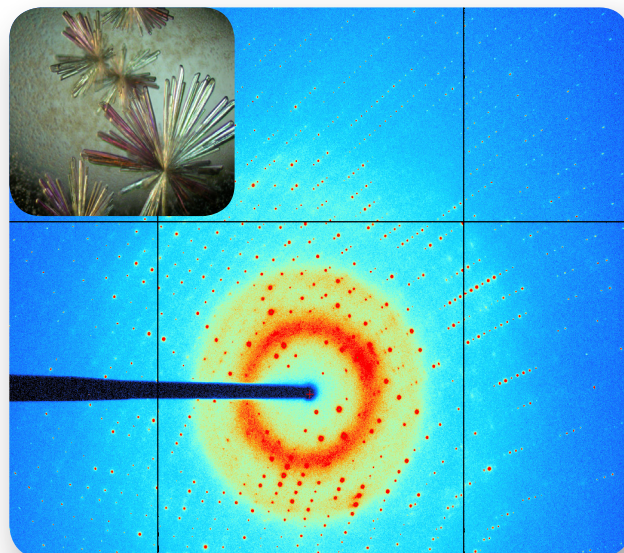
PERSPECTIVES

A l'issue de la détermination de la structure, un criblage de chimiothèques par cristallographie aux rayons X pourra être proposé (voir Criblage de Ligands ou lien sur le site).

La détermination des propriétés biophysiques de la protéine peut faire l'objet d'une autre prestation (voir Etudes Biophysique des Macromolécules et de leurs Complexes ou lien sur le site).

CONTROLES QUALITE

Vérification périodique des robots de cristallisation, et des équipements périphériques (pipettes, réfrigérateur, chambres froides...) dans le respect de notre démarche qualité, certifiée ISO 9001:2016, NFX 50-900.



RESULTATS

Les résultats seront remis sous forme d'un rapport préparé par le responsable de la prestation (ou toute autre personne habilitée par celui-ci). Ce rapport présentera les conditions de cristallisation et de cryocongélation optimales, les statistiques issues des traitements des données de diffraction et d'affinement de la structure. En complément, seront également remis : les données brutes (clichés de diffraction) et les fichiers contenant les coordonnées atomiques de la structure et la liste des réflexions (amplitudes et phases) à l'issue du dernier affinement.

A la demande du client, une courte description de la structure peut être faite sous forme d'une réunion de restitution.

Les données brutes seront conservées par la plateforme le temps de la prestation mais le stockage et la confidentialité n'étant pas garantis, le client peut s'il le souhaite les récupérer et/ou les effacer dans le cadre d'une mise à disposition.

A l'issue de la prestation, si tout l'échantillon n'a pas été utilisé, il pourra soit être rendu au client soit être utilisé pour une autre prestation.

Dans le cas d'une mise à disposition de l'équipement, aucun résultat ne sera remis au client, seule une aide sous forme de conseil pourra être dispensée lors des premières utilisations.



Contacts

IPBS UMR 5089
205, route de Narbonne
31077 Toulouse cedex

Manageur projet

Dr Virginie NAHOUM
Tél. 05 61 17 54 48
pict@ipbs.fr

Responsable Prestation

Dr Laurent MAVEYRAUD
Tél. 05 61 17 54 35
laurent.maveyraud@ipbs.fr