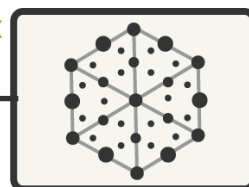


PLATEAU DE CRISTALLOGRAPHIE AUX RAYONS X

Criblage par cristallographie aux rayons X



OBJECTIF

Le plateau de cristallographie permet de cribler à faible/moyen débit des banques de composés (en composé unique ou par cocktail).

Ce criblage « in-cristallo » permet :

- ◆ d'identifier les ligands interagissant directement avec la protéine
- ◆ de caractériser le mode d'interaction (site, résidus en interaction, changements conformationnels, ...)

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 criblage de chimiothèques par cristallographie aux rayons X selon deux approches :

- Trempage de cristaux de protéine dans une solution contenant un ligand (faible débit) ou un cocktail de ligands (moyen débit).
- Co-cristallisation « in-situ » de complexes individuels protéine-ligand. Cette méthode est particulièrement

adaptée si des changements structuraux importants peuvent se produire lors de la fixation du ligand. Les chimiothèques à cribler seront soit fournies par la plateforme (fragmentothèque), soit par le client. Les conditions de cristallisation et la structure de la protéine doivent être connues. Une étude de faisabilité permettra de valider la reproduction des conditions de cristallisation.

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.

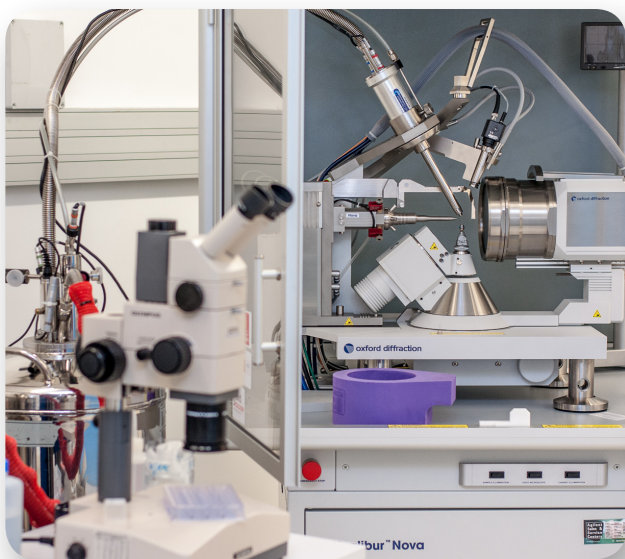
ECHANTILLONS

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

Toutefois, quelques règles générales peuvent être émises :

- en ce qui concerne la protéine, elle doit être pure et non agrégée. Le volume nécessaire est d'environ 25 µl pour 100 composés ou cocktails.
- En ce qui concerne les chimiothèques, si possible les ligands doivent être préparés à une concentration d'au moins 20 fois la concentration en protéine. Dans le cas du criblage « in-situ », la chimiothèque sera préférentiellement conditionnée en solvant organique. Dans le cas des trempages, des mélanges de 5 fragments maximum (cocktail) pourront être utilisés.

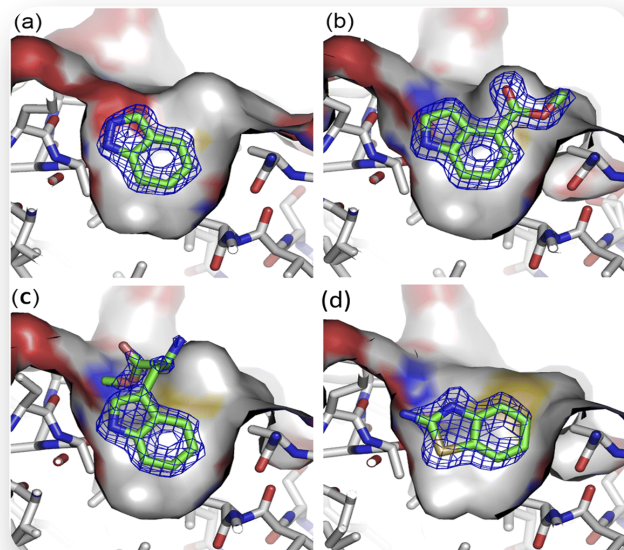
Le criblage peut être réalisé sur la fragmentothèque de la plateforme ou une chimiothèque fournie par le client. La plateforme dispose d'une fragmentothèque d'environ 1000 fragments (MW < 300 Da).



PERSPECTIVES

La détermination en amont du criblage de ces conditions et/ou de la structure de la protéine seule peut faire l'objet d'une autre prestation.

A l'issue de cette prestation, l'interaction protéine/ligand pourra être caractérisée par titration calorimétrique isotherme (ITC).



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 une synthèse des analyses faites, et sera présenté sous forme d'une liste de ligands potentiels avec une image de la densité électronique brute avant affinement.

Si l'affinement de la structure peut être réalisé, les statistiques d'affinement ainsi que les coordonnées de la structure seront fournies.

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.

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.



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