PICT

Plateforme Intégrée de Criblage de Toulouse Integrated Screening Platform of Toulouse





PLATEAU DE BIOPHYSIQUE

Bio

DLS

OBJECTIF

La DLS (diffusion dynamique de la lumière) est une technique d'analyse spectroscopique non destructive permettant d'accéder rapidement et précisément à la taille de particules en suspension.

Elle permet notamment d'estimer :

- ♦ le taux d'agrégation de l'échantillon
- l'homogénéité « conformationnelle » d'un échantillon protéique ou non.

DESCRIPTIF PRESTATION

La méthode de diffusion dynamique de la lumière repose sur la mesure des variations aléatoires d'intensité de la lumière diffusée et permet d'estimer la taille de la macromolécule (rayon hydrodynamique) et d'évaluer la pureté « conformationnelle » et l'état d'agrégation de l'échantillon en solution (en cuvette).

Elle peut être utilisée pour mesurer la stabilité d'un échantillon (protéines, lipides, peptides, acides nucléiques, ...) au cours du temps et dans différents conditionnements (concentration de l'échantillon,

nature et concentration des tampons et des sels, additifs,...).

Une mise à disposition de l'équipement est également possible après validation d'une formation des utilisateurs.













ECHANTILLONS

D'une manière générale et quelle que soit sa nature (protéine, lipide, polymères, polysaccharide,), l'échantillon devra être pur.

Dans le cas d'un échantillon protéique, le client devra fournir la protéine purifiée (à 95% d'homogénéité), de préférence issue d'une colonne de filtration sur gel et dans tous les cas analysée sur gel SDS-PAGE.

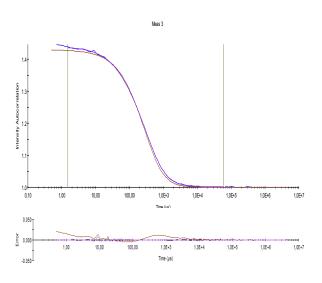
La quantité d'échantillon nécessaire est variable et dépendra du type de macromolécule à analyser (masse moléculaire, état d'oligomérie, concentration, solubilité...).

Chaque mesure repose sur un volume de 10 à 50 µl selon le type d'échantillon et de cuvette utilisée.



CONTROLES QUALITE

- Contrôle d'absence de diffusion de la cuve (eau) et du tampon.
- Contrôle de la présence de signal (valeur de l'intensité diffusée).
- Contrôle visuel du profil de la courbe d'autocorrélation(aspect courbe sigmoïde).



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 précisera les résultats obtenus (courbes d'autocorrélation, intensité diffusée, taux d'agrégation, rayon hydrodynamique et polydispersité) pour chaque mesure réalisée.

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.

PERSPECTIVES

Cette prestation peut être réalisée et est conseillée en amont de toute étude structurale par RMN et cristallographie aux rayons X.

Si les résultats obtenus par diffusion dynamique de la lumière sont satisfaisants, une prestation SEC/ MALS pourra être proposée pour une caractérisation plus fine de l'état d'oligomérisation.

