



## PLATEAU DE BIOPHYSIQUE

# CRIBLAGE PAR DSF



## OBJECTIF

La méthode de DSF (fluorimétrie différentielle à balayage) permet de cribler et identifier des ligands potentiels d'une macromolécule.

## DESCRIPTIF PRESTATION

Du fait du peu de matériel protéique utilisé, du débit relativement élevé de la méthode et de la large gamme d'affinité couverte, la fluorimétrie différentielle à balayage est un outil précieux et parfaitement adapté pour le criblage.

Cette analyse repose sur des mesures de thermostabilité et permet de cribler une chimiothèque afin d'identifier des molécules susceptibles d'interagir avec la cible.

Les protéines sont incubées avec une sonde dont la fluorescence augmente lors d'interactions avec les régions hydrophobes des protéines. Le dépliement de la protéine, et l'exposition des parties hydrophobes, donnent alors naissance à un motif caractéristique de la fluorescence en fonction de la température qui permet de déterminer le T<sub>m</sub> de la cible. L'interaction d'un

ligand avec la cible est déduite de l'observation de la variation de ce T<sub>m</sub>.

La prestation se déroule en deux temps :

### Etude de faisabilité :

Cette phase permet de déterminer les concentrations optimales de l'échantillon à analyser et de la sonde fluorescente dans les conditions physicochimiques fournies par le client.

### Criblage :

Cette phase permet de cribler une banque de composés ; le criblage est réalisé en plaques 96 puits et les molécules testées individuellement.

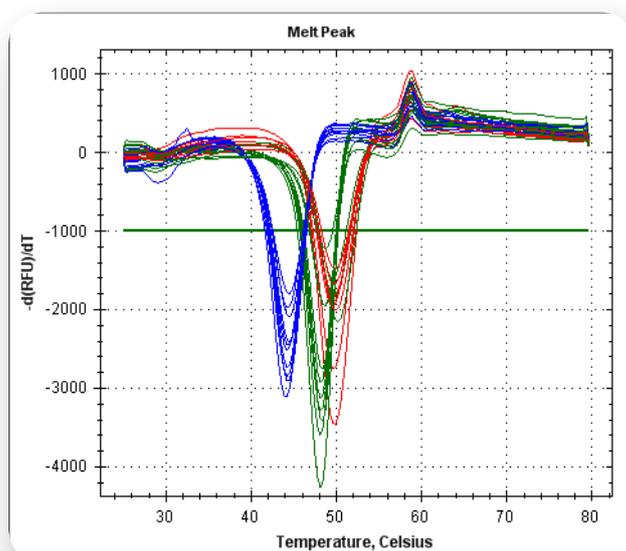
Une mise à disposition de l'équipement est également possible après validation d'une formation des utilisateurs.

## ECHANTILLONS

Le client devra fournir la protéine purifiée (à 95% d'homogénéité), de préférence issue d'une colonne de filtration sur gel et caractérisée par diffusion dynamique de lumière (DLS) confirmant l'état non agrégé de la protéine.

La quantité de protéine nécessaire est variable et dépendra de la protéine elle-même (masse moléculaire, concentration, ...) et du nombre de molécules à cribler.

Chaque mesure repose sur un volume de 20  $\mu$ l à une concentration de l'ordre de quelques dizaines de  $\mu$ M (selon la taille de la protéine). Le criblage d'une centaine de composés requiert environ 1 mg de protéine. 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

En amont de la prestation, l'identification des conditions optimales pour le conditionnement des protéines et le criblage peut également être réalisé par DSF.

A l'issue de cette prestation, l'interaction protéine/ligand pourra être validée/caractérisée par d'autres méthodes biophysiques : spectroscopie RMN, cristallographie aux rayons X, titration calorimétrique isotherme (ITC) ou diffusion statique de la lumière couplée à la chromatographie d'exclusion de taille (SEC-MALS).



## 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 fournira une synthèse des mesures faites, et sera présenté sous forme d'un tableau donnant pour chaque ligand testé le T<sub>m</sub> mesuré.

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

Variabilité du T<sub>m</sub> entre duplicats  $\pm$  0,3 °C.  
Contrôle semestriel du T<sub>m</sub> d'une protéine de référence 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 Samuel TRANIER  
Tél. 05 61 17 54 38  
samuel.tranier@ipbs.fr