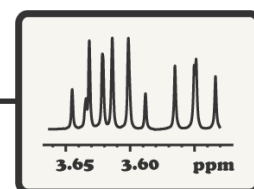


PLATEAU DE RMN Biologique

Criblage par RMN



OBJECTIF

Le plateau de RMN biologique peut caractériser par RMN les interactions protéine – ligands, afin de permettre l'identification et la conception rationnelle d'inhibiteurs de d'enzymes ou de cibles pharmacologiques :

- ◆ Identification d'une interaction ligand-protéine & criblage moyen débit de « fragmentothèque »
- ◆ Cartographie du site d'interaction

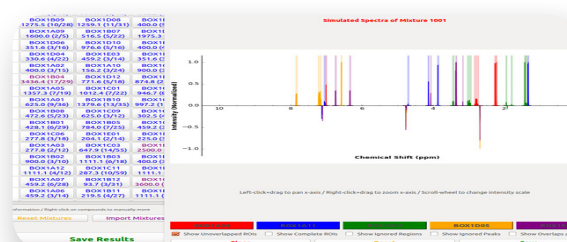
Les applications principales concernent la santé humaine, l'agronomie et l'environnement.

DESCRIPTIF PRESTATION

Grace à ses équipements régulièrement mis à jour (500, 600 cryosonde et 700 MHz) et une forte interaction avec l'équipe « RMN biologique Intégrative » de l'IPBS, le plateau de RMN est capable de réaliser des prestations de criblage par RMN, en particulier :

- Identification d'une interaction ligand-protéine & criblage moyen débit de « fragmentothèque » : différentes approches RMN très robustes (telles que STD, waterlogsy ...) sont mises en œuvre pour identifier l'interaction de ligand d'affinité moyenne à faible (μM à mM) avec un cible protéique, dans la cadre d'une approche par fragment.

- Validation ou identification du site d'interaction : dans le cas d'une interaction positive, le site d'interaction peut être validé par une expérience de compétition. Le site d'interaction peut aussi est identifié par une cartographie de la perturbation des déplacements chimiques de la protéine induite par l'interaction du ligand.



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.

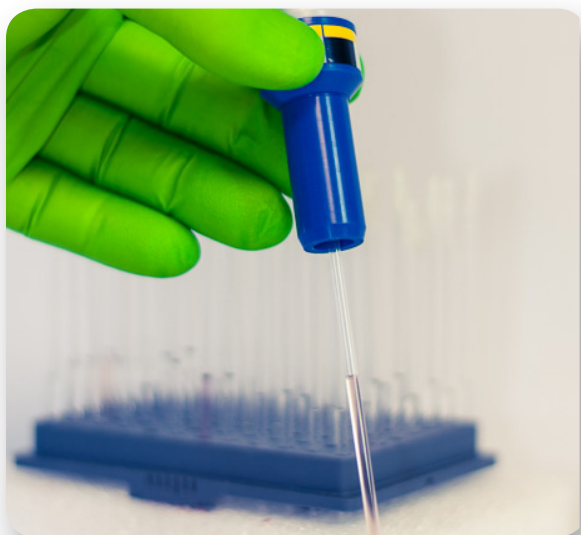
Toutefois, quelques règles générales peuvent être émises :

- Pour le criblage RMN, concentrations et volumes: ligand de 100 μM à 5 mM, protéine de 1 μM à 100 μM (volume final 180 μl à 600 μl). Stabilité de la protéine : 1 jour min. (pas de marquage requis). Possibilité de travailler avec des mélanges de fragments (5 max.)

Précautions : éviter toute source de protons autres que les composés à analyser (par exemple: DMSO, glycérol, EDTA, imidazole etc ...). En cas de nécessité, préparer la solution stock de ligand dans DMSO- d_6 .

- Pour l'identification du site d'interaction (cartographie de déplacement chimique): Protéine uniformément marquée ^{15}N à 100 μM (180 à 600 μl). Stabilité 1 jour.

Prérequis : attribution des déplacements chimiques des liaisons amides (^1H et ^{15}N) connue et modèle structural disponible. La détermination de structure et l'attribution de la cible peut faire l'objet d'une autre prestation.



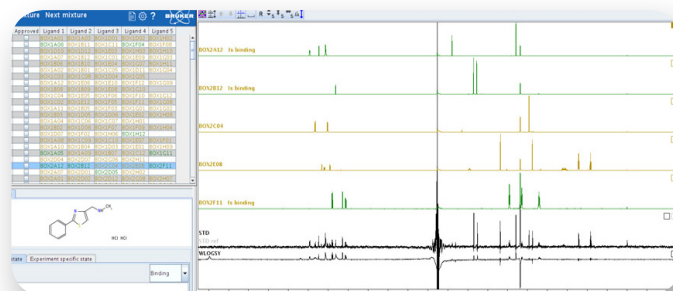
CONTROLES QUALITE

Vérification périodique des spectromètres RMN et des équipements périphériques (pipettes, réfrigérateur, compresseur...) dans le respect de notre démarche qualité, certifiée ISO 9001 et NFX 50-900.



Contacts

IPBS UMR 5089
205, route de Narbonne
31077 Toulouse cedex



MODALITES

L'accès aux équipements (spectromètres et stations informatiques de traitements) est ouvert aux laboratoires de recherches publics ou privés. Un entretien préalable avec le responsable de la prestation permet de définir les contours de la prestation: type de prestation et stratégie expérimentale. Selon le souhait du client et la complexité du projet, la prestation peut se décliner selon trois types de modalités :

- Mise à disposition des équipements : Accès autonome des équipements sur la base d'une location journalière (pouvant être associé à un contrat annuel) : les utilisateurs habilités ont un accès direct aux équipements de la plate-forme avec l'assistance, si nécessaire, des ingénieurs du plateau RMN.
- Prestation de services : L'ensemble de la prestation (collection des données et analyse des résultats) est assurée par les ingénieurs de la plateforme, un rapport est délivré à l'issue de la prestation. Les données brutes RMN peuvent être fournies sur demande.
- Contrat de collaboration scientifique avec un partenaire public ou industriel, pour les projets d'envergures avec comme objectif la publication des résultats ou un dépôt de brevet.

Dans tous les types de prestations, la confidentialité des données peut être assurée.

PERSPECTIVES

Dans le cas de « touches positives » à l'issue du criblage d'autres approches proposées par PICT permettent de confirmer et de caractériser l'interaction :

- DSF (Differential Scanning Fluorimetry)
- Caractérisation thermodynamique par ITC (Isothermal Titration Calorimetry)
- Structure du complexe par RMN ou cristallographie aux rayons X.

Manageur projet & Responsable Prestation

Dr Olivier SAUREL
Tél. 05 61 17 54 09
olivier.saurel@ipbs.fr