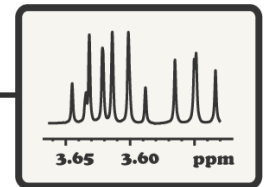


PLATEAU DE RMN Biologique

Structure et dynamique des macromolécules par RMN



OBJECTIF

Le plateau de RMN biologique propose d'élucider la structure tridimensionnelle et la dynamique de macromolécules biologiques par spectroscopie RMN :

- ◆ Structure tridimensionnelle et étude dynamique de protéines
- ◆ Complexes protéiques: interaction ligand-protéine ou acides nucléique-protéine par RMN et approches biophysiques
- ◆ Structure et dynamique des constituants membranaires
- ◆ Interactions protéines - ligands

DESCRIPTIF PRESTATION

Grâce 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 d'analyser :

- État de repliement de la protéine : durant la phase préliminaire d'une étude structurale et fonctionnelle d'une protéine, des expériences simples et rapides, 1D ou 2D HSQC RMN, permettent de statuer sur l'existence ou non d'un repliement.
- Structure tridimensionnelle de protéines : la prestation consiste en la mise en œuvre d'expériences 3D (ou plus) sur une protéine marquée aux isotopes stables (profil de marquage variable

selon la protéine), l'attribution des résonances et la collecte de contraintes structurales pour la résolution de la structure tridimensionnelle.

- Étude de la dynamique de macromolécules: l'analyse des temps de relaxation ^{15}N et/ou ^{13}C permet de caractériser le comportement dynamique de chaque résidu sur une échelle de temps allant de la nanoseconde à la seconde.
- Étude du mode d'interaction : cartographier le site d'interaction ou réaliser la structure d'un complexe protéique (ex. : ligand fonctionnel ou inhibiteur).

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.

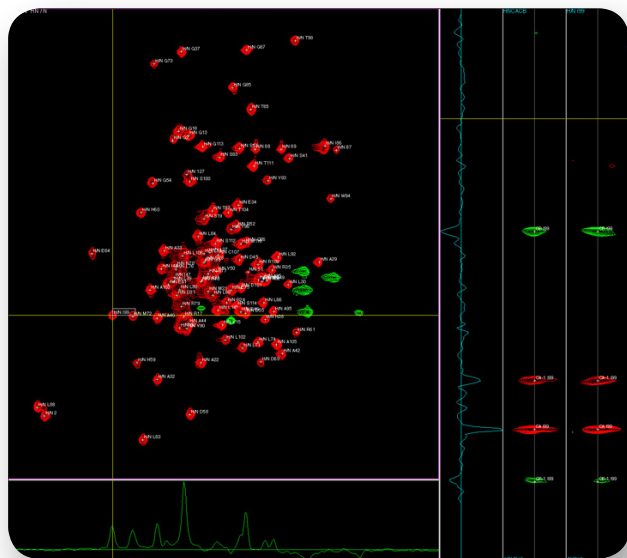
Toutefois, quelques règles générales peuvent être émises :

Production de la protéine : Expression dans un système hétérologue permettant le marquage aux isotopes stables (au moins ^{15}N et ^{13}C) avec un rendement minimal de 5 mg/L de protéine purifiée.

La masse moléculaire standard est de 10 à 25 KDa (100 à 250 résidus).

Au-delà de 25 KDa, des profils de marquages plus complexes (^{15}N , ^{13}C , ^2H) ou résidus spécifiques seront envisagés en fonction de la taille la protéine et la question biologique posée.

Concentration & stabilité: Au moins une semaine à 500 μM (300 μl min.) à une température supérieure à 10°C.



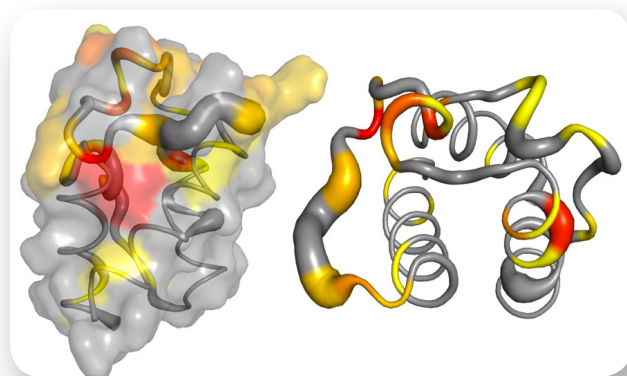
CONTROLES QUALITE

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'envergure 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 sur demande du client.

PERSPECTIVES

La résolution de la structure et de la dynamique d'une protéine peut être complétée par :

- Une étude structurale et dynamique sur des mutants (cf. plateau ICEO)
- Caractériser le complexe fonctionnel d'interaction (structure et dynamique de complexes)
- Rechercher des inhibiteurs de l'interaction (cf. études de criblage par RMN)

Manageur projet & Responsable Prestation

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