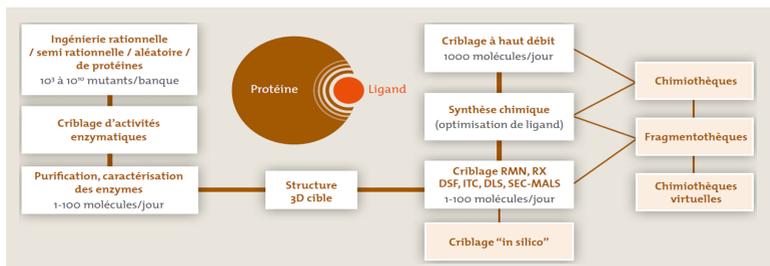


Du criblage au design moléculaire

La Plateforme Intégrée de Criblage de Toulouse (PICT) est une plateforme multi-sites dont l'activité s'articule autour (1) de l'identification et de la conception de ligands interagissant avec tout type de cibles, (2) de la découverte et de l'ingénierie d'enzymes et de la caractérisation fine des interactions cible-ligand. Cette activité repose sur des expertises et des équipements de pointe pour le criblage à haut débit de ligands ou d'enzymes, leur caractérisation structurale, l'analyse biophysique des interactions cible-ligand et la synthèse chimique de petites molécules.



Ces équipements et expertises se répartissent sur trois sites :

- l'Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale (IPBS : biophysique, biologie structurale et bioinformatique) ;
- le Laboratoire de Synthèse et Physicochimie des Molécules d'Intérêt Biologique (LSPCMIB : chimie et synthèse parallèle automatisée) ;
- le Laboratoire d'Ingénierie des Systèmes Biologiques et des Procédés (LISBP : découverte et optimisation d'enzyme).

PICT occupe ainsi une position centrale dans le processus de développement de nouveaux médicaments, en aval de la découverte et de la validation d'une cible thérapeutique et en amont des études ADMET (Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination, Toxicité) et de la pharmacologie clinique.

Responsable scientifique :

Laurent Maveyraud

Responsable opérationnel :

Virginie Nahoum

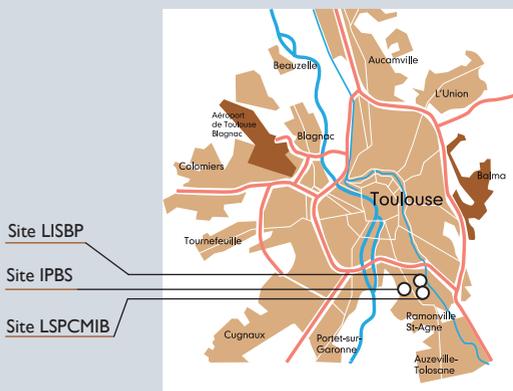
Contact :

pict@ipbs.fr

Site web :

<http://cribligand.ipbs.fr/>

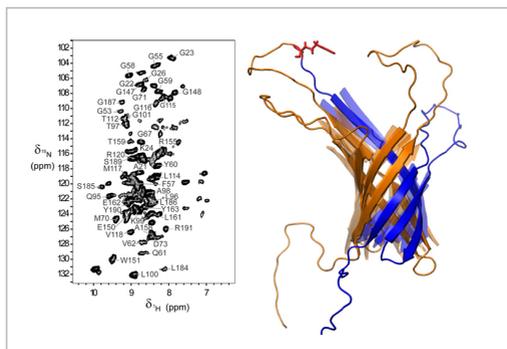
Localisation des équipements



Les faits marquants scientifiques :

Biologie Structurale et Biophysique, des outils complémentaires pour l'étude des protéines

Caractérisation de la dynamique d'une protéine membranaire par RMN du solide



En utilisant des approches de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) du solide en rotation à angle magique à très haute vitesse (60 kHz), nous avons caractérisé finement la dynamique globale et locale d'une protéine membranaire. La protéine OmpA de *Klebsiella pneumoniae* a été produite dans *Escherichia coli*, puis reconstituée en liposomes. Ses mouvements globaux et locaux ont été quantifiés par analyse des temps de relaxation ^{13}C (en collaboration avec G. Pintacuda, CRMN, Lyon). La technique de rotation à très haute vitesse, qui permet la détection des protons en RMN du solide (et ainsi un gain considérable en sensibilité et en résolution), est disponible sur le spectromètre 700 MHz de la plateforme PICT à l'IPBS.

Caractérisation de l'interaction entre une antitoxine et son chaperon moléculaire par fluorimétrie différentielle à balayage

Les systèmes toxines-antitoxines bactériens sont des éléments de réponse au stress associés à des processus cellulaires importants. *Mycobacterium tuberculosis*, l'agent causal de la tuberculose, possède un grand nombre de tels systèmes qui pourraient être associés à sa capacité à persister à long terme chez l'hôte. En collaboration avec l'équipe de Pierre Genevaux (LMGM-CBI, Toulouse), nous avons caractérisé un système toxine-antitoxine atypique de *M. tuberculosis* contrôlé par un chaperon moléculaire apparenté au chaperon canonique SecB, impliqué dans l'export de protéines chez les bactéries Gram négatives. Nous avons caractérisé par fluorimétrie différentielle à balayage la formation de complexes entre le chaperon et des peptides dérivés de la région carboxy-terminale de l'antitoxine et ainsi démontré *in vitro* l'importance de cette dernière pour l'interaction. Nous avons également montré que ces peptides interagissent avec un mutant de SecB d'*Escherichia coli* ayant acquis la capacité à contrôler les systèmes toxine-antitoxine de *M. tuberculosis*.

PUBLICATIONS

- Saurel, O. et al., Local and global dynamics in *Klebsiella pneumoniae* outer membrane protein A in lipid bilayers probed at atomic resolution, *J Am Chem Soc*, 2017.
- Bordes, P. et al., Chaperone addiction of toxin-antitoxin systems. *Nat Commun*, 2016.
- Sala, A.J., et al., Directed evolution of SecB chaperones toward toxin-antitoxin systems. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017.

Le fait marquant technologique :

Acquisition d'une chromatographie ionique triple détection

Le plateau de chimie de PICT, localisé au LSPCMIB, s'est doté en 2017 d'un nouvel ensemble de chromatographie analytique haute pression (ICS5000+-PDA-Cond-ISQ EC MS) unique dans le paysage académique français. Doté d'un système de détection triple, il représente la solution idéale pour analyser simultanément de nombreux composés ioniques, positifs et négatifs, et/ou pour les purifier en mode semi-préparatif.

De nouvelles applications sont désormais possibles dans des domaines très variés allant de l'analyse environnementale à la chimie moléculaire :

- analyses quantitatives de liquides ioniques anioniques, contre-ions et impuretés et leurs purifications ;
- analyses des ions dans les boissons et aliments ;
- analyses de pesticides, herbicides et autres polluants cationiques et anioniques ;
- analyses et purification des acides organiques.

Ce nouvel équipement de chromatographie vient compléter les ressources analytiques déjà présentes au sein de PICT. Ainsi, le plateau analytique situé au LISBP (PICT-ICEO) est constitué de plus de 13 systèmes de chromatographie (HPLC ou GC), afin de s'adapter à une gamme de conditions de séparation étendue (systèmes aqueux, solvants, gradient...) et de couvrir la plus grande diversité de molécules analysables possible (sucres, lipides, peptides...). Plusieurs types de détecteurs sont associés à ces chaînes chromatographiques : UV, RI, DEDL, Corona, PAD, MS pour les chromatographies liquides et FID et MS pour les chromatographies gaz.

Tous ces équipements constituent un ensemble cohérent, en continuelle évolution, adapté aux besoins de la communauté scientifique académique ou industrielle.

