



PARTIE I
**CENTRE DE BIOLOGIE
INTÉGRATIVE**

RESPONSABLES : BRUNO KLAHOLZ / CATHERINE BIRCK

La plateforme de Biologie Structurale Intégrée est spécialisée dans la production de protéines et complexes macromoléculaires en systèmes eucaryotes et procaryotes, leur caractérisation biophysique et la détermination de leur structure tridimensionnelle. La plateforme propose différentes approches d'analyse structurale : cryo-microscopie électronique, cristallographie des rayons X et RMN.

 **Offres de prestations**

Détermination de structures 3D de protéines et de complexes macromoléculaires :

- Cryo-microscopie électronique (cryoEM) :
 - ♦ Préparation des grilles d'échantillons
 - ♦ Criblage sur Glacios et Tecnaï F20
 - ♦ Enregistrements de données haute résolution sur Titan Krios et Glacios
- Cristallographie :
 - ♦ Cristallisation à haut-débit
 - ♦ Caractérisation des cristaux
 - ♦ Enregistrements de données de diffraction
- RMN : Enregistrements de données

Localisation de molécules uniques et suivi de particules dans les cellules :

- Microscopie GSD à super-résolution (dSTORM, GSDIM, STORM, PALM)
- Traitement et analyse des données d'imagerie

Production et purification de protéines et de complexes protéiques :

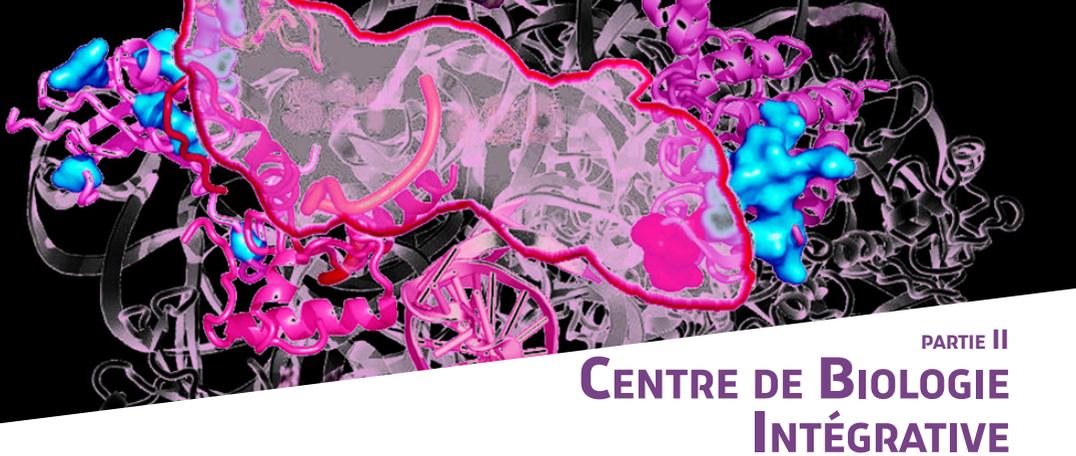
- Production de protéines en bactéries, cellules d'insectes / système baculovirus et en cellules de mammifère (transfection en HEK293)
- Criblage d'expression et production à grande échelle (erlens et fermenteurs)
- Criblage de conditions de solubilité des protéines produites
- Reconstitution de complexes multiprotéiques
- Purification analytique de protéines et complexes multiprotéiques (billes magnétiques, mini-colonnes d'affinité) ou préparative sur système chromatographique
- Conseil en production et purification des protéines

Caractérisation biophysique de macromolécules pour le contrôle qualité des échantillons et l'analyse des interactions moléculaires :

- Ultracentrifugation analytique (AUC)
- Analyse de diffusion (FIDA)
- Calorimétrie de titration isotherme (ITC)
- Thermophorèse à micro-échelle (MST)
- Chromatographie d'exclusion stérique couplée à la diffusion de la lumière multi-angle (SEC-MALS)
- Fluorimétrie à balayage différentiel (NanoDSF)
- Interférométrie de biocouches (BLI)

Références 

- ♦ Wei-Chun Kao, *et al.* Structural basis for safe and efficient energy conversion in a respiratory supercomplex. Nature Communications, 2022, 13 (1), pp.545.
- ♦ Simon Pichard, *et al.* Insect Cells-Baculovirus System for the Production of Difficult to Express Proteins: From Expression Screening for Soluble Constructs to Protein Quality Control. Insoluble Proteins, 2406, Springer US, pp.281-317, 2022, Methods in Molecular Biology,
- ♦ Thomas Di Mattia, *et al.* FFAT motif phosphorylation controls formation and lipid transfer function of inter organelle contacts. EMBO Journal, 2020, 39 (23),



PARTIE II
**CENTRE DE BIOLOGIE
 INTÉGRATIVE**

 **Equipements**

- Cryo-microscopie électronique (cryoEM) :
 - ♦ Cryo microscope électronique Titan Krios II G4 équipé d'un détecteur Falcon 4i, d'un filtre à énergie Selectris X et d'une « volta phase plate » de deuxième génération
 - ♦ Cryo microscope électronique Titan Krios I équipé de détecteurs K3 et Falcon 3, d'un filtre à énergie BioQuantu et d'une « volta phase plate » m
 - ♦ Cryo microscope électronique Glacios équipé de détecteurs K2 et CetaD, ce dernier est optimisé pour l'enregistrement de données de diffraction électronique sur des microcristaux de protéines
 - ♦ Cryo-microscope électronique Tecnai F20 équipée d'un détecteur Gatan CCD 2K optimisée pour

l'observation rapide des échantillons en coloration négative ou cryogénique

- ♦ Microscope électronique à faisceau d'ions focalisé (FIB-SEM)
- ♦ Système automatisé Chameleon pour la vitrification des grilles de cryoME
- ♦ Vitrobot et Plama Cleaner pour la préparation des grilles de cryoME
- ♦ Ultramicrotome et système de congélation haute pression HPF
- Cristallographie de molécules biologiques par diffraction des rayons X et diffusion des rayons X aux petits angles (BioSAXS) :
 - ♦ Robot de cristallisation nano-volume Mosquito Crystal - SPT Labtech à 20°C et 4°C ;
 - ♦ Robot de pipetage Freedom EVO 75 - Tecan

- ♦ Systèmes de visualisation automatisé RockImager 1000 - Formulatrix à 20°C et 4°C ;
- ♦ Pièces à 4°C, 20°C et 27°C pour la cristallisation de protéines
- ♦ Générateur de rayons X à anode tournante Rigaku FR-X couplé à une optique confocale Osmic VariMax HF, et détecteur à comptage de photons hybrides EIGER-4M - Dectris
- Microscopie à super-résolution Leica SR GSD basé sur le microscope inversé DMI6000 B équipé d'un accessoire TIRF, d'un objectif à immersion d'huile 160x/1,43 et d'un objectif sec 10x/0,40
- Résonance magnétique nucléaire (RMN) : spectromètres RMN 600MHz et 700MHz équipés de cryo-sondes, dont une sonde cryogénique quadruple noyaux permettant l'observation du fluor avec une sensibilité exceptionnelle
- Production et purification de protéines et de complexes protéiques :
 - ♦ Pièces de cultures dédiées pour cellules de mammifères et cellules d'insectes/ système baculovirus
- ♦ Incubateurs à agitation et températures contrôlées
- ♦ Fermenteurs de 30L et 100L pour la culture des bactéries et de levures
- ♦ Appareil de dispersion Ultra-Turrax T25
- ♦ Sonicateurs avec petite et grande sondes
- ♦ Homogénéisateurs haute pression Emulsiflex C3
- ♦ Chambre froide avec système chromatographique Akta Avant
- Caractérisation biophysique de macromolécules :
 - ♦ Ultracentrifugeuse analytique XL-I
 - ♦ Système de thermophorèse Monolith NT.115
 - ♦ Système de nanoDSF Prometheus NT.48
 - ♦ Microcalorimètre ITC 200
 - ♦ Système SEC-MALS (système chromatographique Ettan microLC, détecteurs de diffusion miniDawn Treos et réfractomètre Optilab T-Rex),)
 - ♦ Analyseur de diffusion FIDA1
 - ♦ Système BLI Octet R8