

# Endirect des plateformes

N°1 ■ JUILLET 2022

## L'EDITO

L'institut de Biologie Physico-Chimique (IBPC) est fidèle à sa vocation pluridisciplinaire de promouvoir des recherches dans tous les domaines de la Biologie. Les bases structurales, génétiques et physico-chimiques du vivant y sont étudiées à leurs différents niveaux d'intégration, de la molécule à l'organisme. L'IBPC est un lieu de recherche ouvert sur la communauté scientifique internationale, qui promeut des travaux guidés par la curiosité scientifique et réalisés dans une atmosphère de liberté intellectuelle.

L'IBPC a été lauréat de deux programmes du plan d'investissements d'avenir en 2012, l'EquipEx CACSICE et le LabEx DYNAMO. Ces financements et deux financements SESAME de la Région Ile-de-France ont permis de construire des plateformes offrant des instrumentations scientifiques de haut niveau en biologie, soutenues par des expertises se trouvant dans les unités de recherche de l'IBPC et des moyens humains de la Fédération de recherche (FR550). En synergie avec la plateforme historique de cristallographie, nous avons monté une plateforme de protéomique, de RMN biomoléculaire et un mur de visualisation. Depuis 2019, nous travaillons sur le développement de deux nouvelles plateformes : *i*, une plateforme de biophysique pour la ca-

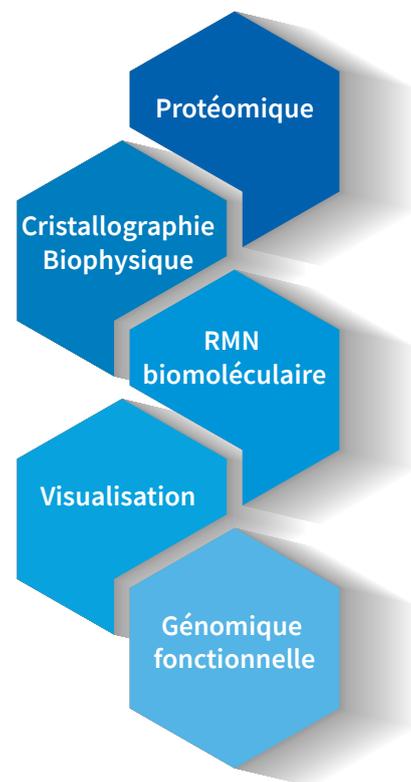
ractérisation d'échantillons complexes et des interactions moléculaires avant analyse structurale et *ii*, une plateforme de génomique fonctionnelle pour l'analyse de données de séquençage haut-débit.

Nos plateformes sont aussi impliquées dans la formation d'étudiants de master et de différents acteurs de la recherche en biologie. Elles sont intimement liées à l'activité des unités de recherche et sont un lieu privilégié de transmission de nos expertises.

L'IBPC a aussi une longue culture de mutualisation des équipements scientifiques nécessaires à la résolution de questions scientifiques et à l'intégration de nouvelles approches. Nous soutenons activement la mutualisation des équipements mi-lourds afin de promouvoir l'interdisciplinarité en s'ouvrant à des techniques maîtrisées par d'autres unités, d'augmenter notre efficacité et d'optimiser l'utilisation de nos espaces.

**N'hésitez pas à aller discuter avec les experts des plateformes et des unités. Bonnes expériences !**

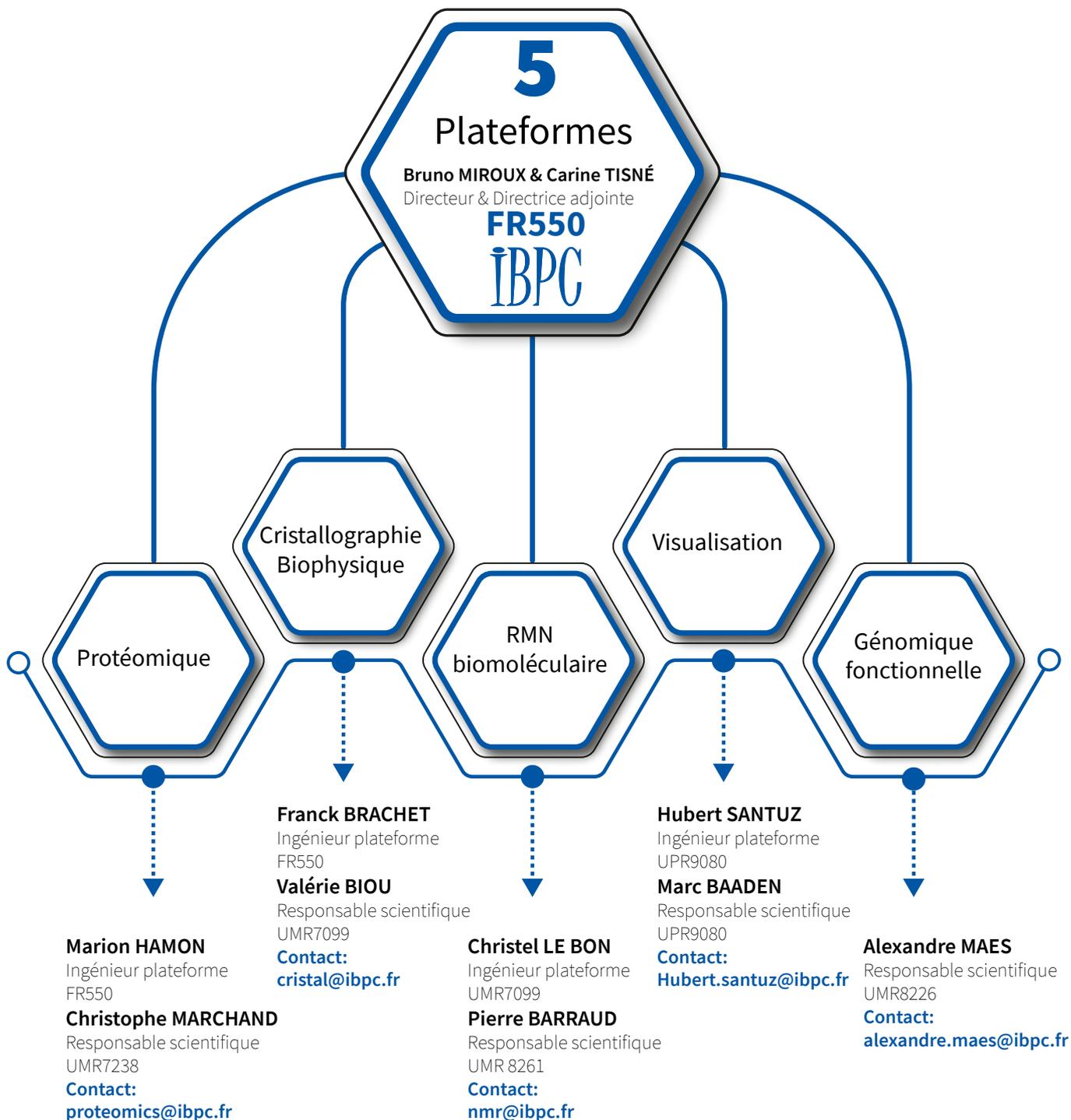
Carine Tisné & Bruno Miroux



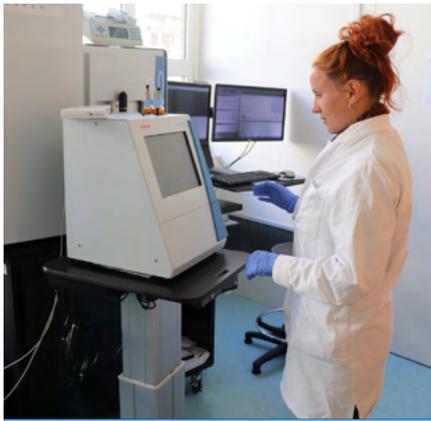
### DANS CE NUMÉRO

L'EDITO	1
Les plateformes de l'IBPC	2
Protéomique	3
Cristallographie Biophysique	4
RMN biomoléculaire	5
Visualisation	6
Génomique fonctionnelle	7
Equipements mutualisés	8

# Les plateformes de l'IBPC



## ORGANIGRAMME DES PLATEFORMES



# Protéomique

La plateforme de protéomique de l'IBPC (PPI) propose une expertise en spectrométrie de masse et vous accompagne tout au long de la réalisation de vos analyses protéomiques qu'elles soient réalisées à partir de protéines purifiées ou bien à partir d'échantillons protéiques complexes.

Grâce au financement Labex DYNAMO et Equipex CACSICE, la plateforme dispose de deux spectromètres de masse (un MALDI-TOF/TOF Axima Performance (Shimadzu) et un électrospray Q-Exactive plus couplé à une chromatographie nano-débit (ThermoFisher Scientific) ainsi qu'une chaîne HPLC conventionnelle (détecteurs UV et DAD).

Nous proposons différentes prestations allant du simple contrôle-qualité de protéines recombinantes et de l'identification de protéines jusqu'à la quantification relative de protéomes et la caractérisation de modifications post-traductionnelles. En fonction de la nature de l'analyse, l'échantillon fourni sera sous forme liquide ou bien issu d'un gel SDS-PAGE.

## La plateforme est à l'écoute de vos besoins.

Nous avons déjà mis en place avec différentes équipes de l'IBPC des stratégies de quantification relative sans marquage (Label-free) ou avec marquage métabolique (SILAC). Afin d'élargir nos prestations, nous pensons implémenter prochainement sur la plateforme des stratégies de quantification relatives par multiplexage (iTRAQ/TMT) ainsi que des stratégies de quantification plus ciblées. Ces dernières pourront se révéler utiles si vous cherchez par exemple à quantifier de manière absolue une ou plusieurs protéines dans un extrait (en complément d'un dosage enzymatique ou bien de données quantitatives au niveau de l'ARN messager par exemple), à valider des résultats de protéomique quantitative non ciblée (en l'absence d'anticorps disponible notamment) mais également à caractériser la stœchiométrie de complexes protéiques.

## DES PROJETS EN COURS ?

D'autres développements sont bien évidemment possibles, n'hésitez donc pas à venir discuter de votre projet avec nous (Marion Hamon et Christophe Marchand), en nous contactant à l'adresse suivante :

[proteomics@ibpc.fr](mailto:proteomics@ibpc.fr)

Retrouvez également les protocoles et publications associées à la plateforme à l'adresse suivante : <http://www.ibpc.fr/fr/spectrometrie-de-masse-19.htm>

## MALDI-TOF/TOF AXIMA PERFORMANCE

Si vous souhaitez être autonome quant à l'identification et la caractérisation de protéines purifiées par spectrométrie de masse MALDI-TOF mais également apprendre à préparer vous-même vos échantillons en vue d'une analyse MS, la plateforme propose des formations sur l'analyse par empreinte peptidique massique (Peptide Mass Fingerprint) et la préparation des échantillons en complément des protocoles déjà disponibles sur le site internet de la plateforme.



## Publications récentes citant la plateforme.

Martins L, Knuesting J, Bariat L, Dard A, Freibert SA, Marchand CH, Young D, Dung NHT, Voith W, Debures A, Saez-Vasquez J, Lemaire SD, Lill R, Messens J, Scheibe R, Reichheld JP, Riondet C. (2020) **Redox Modification of the Iron-Sulfur Glutaredoxin GRXS17 Activates Holo-dase Activity and Protects Plants from Heat Stress.** *Plant Physiol.* 184(2):676-692.

Dezaire A, Marchand CH, Vallet M, Ferrand N, Chaouch S, Mouray E, Larsen AK, Sabbah M, Lemaire SD, Prado S, Escargueil AE (2020) **Secondary Metabolites from the Culture of the Marine-derived Fungus *Paradendryphiella salina* PC 362H and Evaluation of the Anticancer Activity of Its Metabolite Hyalodendrin.** *Marine Drugs.* 3;18(4):191.

Marchand CH, Fermani S, Rossi J, Gurrieri L, Tedesco D, Henri J, Sparla F, Trost P, Lemaire SD, Zaffagnini M. (2019). **Structural and Biochemical Insights into the Reactivity of Thioredoxin h1 from *Chlamydomonas reinhardtii*.** *Antioxidants* (Basel). 8(1). pii: E10.

Zhan Y, Marchand CH, Maes A, Mauries A, Sun Y, Dhaliwal JS, Uniacke J, Arragain S, Jiang H, Gold ND, Martin VJJ, Lemaire SD, Zerges W. (2018). **Pyrenoid functions revealed by proteomics in *Chlamydomonas reinhardtii*.** *PLoS One.* 13(2):e0185039.

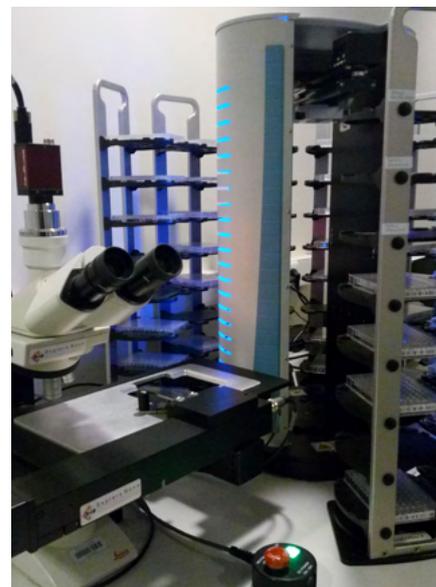
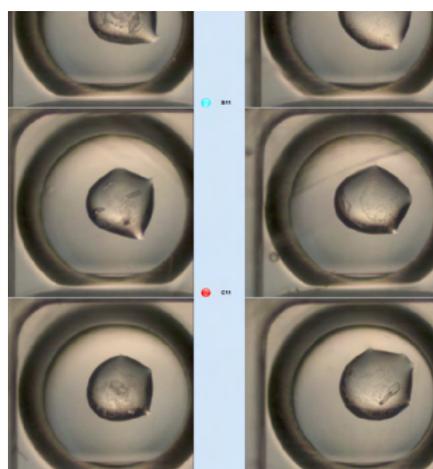
# Cristallographie Biophysique

La plateforme de cristallisation de l'Institut de Biologie Physico-Chimique est un des outils essentiels à l'étude structurale des macromolécules biologiques solubles ou membranaires. Plusieurs automates de criblage en gouttes de nano-volumes sur un format de microplaques aident à la recherche de conditions de cristallisation à 20°C et 4°C. L'optimisation de ces conditions peut se faire également à l'aide d'un robot réalisant des matrices à façon. La manipulation de ces petits volumes permet de balayer des centaines de conditions avec moins d'un milligramme de matériel biologique purifié.

## La visualisation de la croissance des cristaux est automatisée.

Les images de chaque goutte sont stockées et accessibles à distance par une interface de navigateur standard.

Une caractérisation de l'échantillon biologique dans son solvant est possible sur la plateforme de Biophysique. Ces analyses peuvent permettre d'obtenir des cristaux de meilleure qualité. Les derniers développements ont permis la mise en place d'un protocole standard de cristallisation robotisée des protéines membranaires en phase cubique lipidique.



## ACTUELLEMENT

La plateforme de biophysique vient enrichir le panel d'expériences disponibles avec un appareil de SEC-MALS (diffusion de lumière & réfractomètre couplés à une chromatographie d'exclusion de taille), un fluorimètre et bientôt d'autres appareils. Le SEC-MALS permet de mesurer la taille de particules en solution sur des petites quantités d'échantillon. Les responsables sont Alexandre Pozza & Françoise Bonneté.

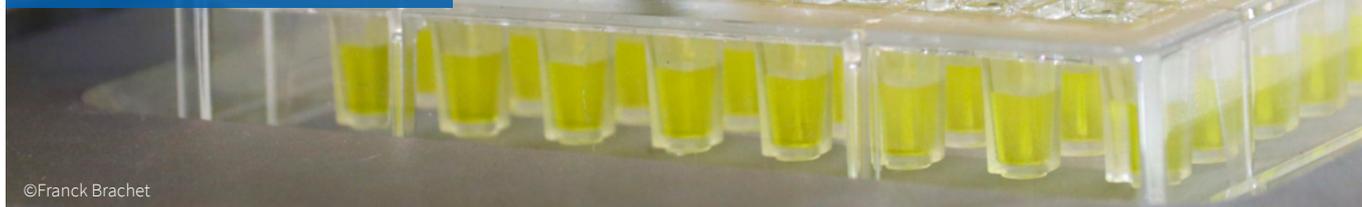
## QUI CONTACTEZ ?

Pour plus de renseignements, contactez Valérie Biou et Franck Brachet.

[cristal@ibpc.fr](mailto:cristal@ibpc.fr)

Page web de la plateforme

<http://www.ibpc.fr/fr/cristallographie-21.htm>



©Franck Brachet

## Publications récentes citant la plateforme.

Oerum, S.; Catala, M.; Atdjian, C.; Iannazzo, L.; Ponchon, L.; Brachet, F.; Braud, E.; Ethève-Quellejeu, M.; Tisné, C. Bisubstrate Analogues as *Structural Tools to Investigate M6A Methyltransferase Active Sites*. *RNA biology* 2019, 16(6):798-808.

Le Moigne, T.; Gurrieri, L.; Crozet, P.; Marchand, C. H.; Zaffagnini, M.; Sparla, F.; Lemaire, S. D.; Henri, J. *Crystal Structure of Chloroplastic Thioredoxin z Defines a Type-Specific Target Recognition*. *Plant J.*

107 (2), 434-447.

Meynier, V.; Iannazzo, L.; Catala, M.; Oerum, S.; Braud, E.; Atdjian, C.; Barraud, P.; Fonvielle, M.; Tisné, C.; Ethève-Quellejeu, M. *Synthesis of RNA-Cofactor Conjugates and Structural Exploration of RNA Recognition by an M6A RNA Methyltransferase*. *Nucleic Acids Research* 2022, 50 (10), 5793-5806.

# RMN biomoléculaire

La plateforme offre aux équipes de recherche un accès à une infrastructure de pointe pour l'étude de macromolécules biologiques et de leurs complexes par résonance magnétique nucléaire (RMN).

La plateforme est utilisée en majorité par des utilisateurs autonomes via un système de réservation du spectromètre RMN. Cependant, la plateforme peut également réaliser des prestations simples (spectre 1D <sup>1</sup>H, spectres 2D <sup>1</sup>H-<sup>15</sup>N si marquage <sup>15</sup>N de l'échantillon) pour les utilisateurs n'ayant pas une autonomie suffisante mais souhaitant obtenir des informations rapides sur leur échantillon de macromolécules (pureté, état de repliement, homogénéité, etc.).

Pour des projets plus ambitieux, une expertise et un soutien peuvent être fournis dans le cadre de collaborations avec les utilisateurs expérimentés de la plateforme. Cette expertise et ce soutien peuvent concerner tous les aspects des études RMN avec des macromolécules biologiques en solution, y compris le savoir-faire en matière de production d'échantillons marqués isotopiquement, la mise en place d'expériences de RMN, l'analyse des données et les calculs de structure.

**Dans tous les cas, n'hésitez pas à nous contacter.**

**Nous vous conseillerons sur la faisabilité de votre projet, et vous dirigerons le cas échéant vers la meilleure personne susceptible de vous accompagner s'il s'agit d'un projet de grande envergure.**

## POINT D'ÉTAPE TECHNIQUE :

La plateforme de RMN biomoléculaire a été installée en 2016 dans le cadre de l'Equipex CACSICE. Elle est composée d'équipements de dernière génération : un aimant Bruker Ascend de 700 MHz, une console électronique Avance III-HD, et différentes sondes adaptées à des échantillons liquides ou solides. En 2018, grâce à des financements complémentaires de la région Île-de-France et du Labex Dynamo, la plateforme a été équipée d'une cryoplateforme et d'une cryosonde liquide TCI de dernière génération. Depuis l'installation de la cryoplateforme et de la cryosonde en début d'année 2018, il n'y a pas eu de changements majeurs sur les équipements de la

plateforme. Les mises à jour logicielles (Bruker Topspin, bibliothèques d'expériences, etc.) sont réalisées régulièrement pour assurer une utilisation optimale des équipements. Des visites de contrôle qualité ont été réalisées par la société Bruker en 2019 et en 2021. Nous réalisons également en interne des tests techniques de sensibilité pour assurer un suivi régulier du fonctionnement du spectromètre et détecter en amont des éventuels dérives ou problèmes liés à l'équipement. Avec la cryosonde, le rapport signal-bruit <sup>1</sup>H est de 1382:1 pour des spécifications constructeur de 1080:1. Autant dire que le spectro RMN de l'IBPC se porte très bien !

## Publications récentes citant la plateforme.

Mouhand, A.; Zargarian, L.; Belfetmi, A.; Catala, M.; Pasi, M.; Lescop, E.; Tisné, C.; Mauffret, O. *Investigation of the Low-Populated Excited States of the HIV-1 Nucleocapsid Domain*. *Virus* 2022, 14 (3), 632.

Barraud, P.; Gato, A.; Heiss, M.; Catala, M.; Kellner, S.; Tisné, C. *Time-Resolved NMR Monitoring of TRNA Maturation*. *Nat Commun* 2019, 10 (1), 3373.

Giusti, F.; Casiraghi, M.; Point, E.; Damian, M.; Rieger, J.; Bon, C. L.; Pozza, A.; Moncoq, K;

Banères, J.-L.; Catoire, L. J. *Structure of the Agonist 12-HHT in Its BLT2 Receptor-Bound State*. *Sci Rep* 2020, 10 (1), 1–13.

Mouhand, A.; Belfetmi, A.; Catala, M.; Larue, V.; Zargarian, L.; Brachet, F.; Gorelick, R. J.; Van Heijenoort, C.; Mirambeau, G.; Barraud, P.; Mauffret, O.; Tisné, C. *Modulation of the HIV Nucleocapsid Dynamics Finely Tunes Its RNA-Binding Properties during Virion Genesis*. *Nucleic Acids Research* 2018, 46 (18), 9699–9710.

■ **Repliement des protéines & acides nucléiques**

■ **Interactions protéines/ligands & ARN/ligands**

■ **Modifications post-transcriptionnelles dans des ARNts et post-traductionnelles des protéines**

■ **Paysage énergétique, dynamique**

## UN PROJET ?

N'hésitez donc pas à venir discuter !

[nmr@ibpc.fr](mailto:nmr@ibpc.fr)

<http://www.ibpc.fr/fr/rmn-20.htm>

Pierre Barraud et Christel Le Bon

# Visualisation

La plateforme de visualisation propose aux chercheurs un mur d'écrans stéréoscopiques de grande taille et de haute résolution pour l'exploration/manipulation de leur données, la visualisation d'images hautes résolutions et la visualisation de structures de macromolécules et de trajectoires de simulations en 3D. Lors de ces 2 dernières années, la plateforme a été utilisée par toutes les unités de l'IBPC que ce soit pour la construction et la validation de structures résolues via cristallographie ou Cryo-EM, l'exploration de données -omiques et structurales. L'aspect immersif de la plateforme permet également l'exploration d'ensembles moléculaires complexes en groupes pour faciliter la formulation d'hypothèses.

**La plateforme est aussi une grande ressource pédagogique pour tout niveau.**

Elle a hébergé plusieurs cours (Master, Workshops, lycée) et démonstrations (communication scientifique et grand public).

## DES IDEES, DES PROJETS EN COURS ?

N'hésitez donc pas à venir discuter de votre projet avec **Hubert Santuz** :

[hubert.santuz@ibpc.fr](mailto:hubert.santuz@ibpc.fr)

Retrouvez des informations sur :

<http://www.ibpc.fr/fr/visualisation-889.htm>

© Frédérique PLAS / IBPC / CNRS Photothèque

## Publications récentes citant la plateforme.

Martinez, X. et Baaden M. Scruiter *les molécules en réalité virtuelle, pour quoi faire?* *Actualité Chimique*, Février 2020.

Martinez, X; Arthur Hardiagon , A; Santuz, H; Murail, S; Barboiu, M.; Sterpone , F. et Baaden, M., *Using Computer Simulations and Virtual Reality to Understand, Design and Optimize Artificial Water Channels* », *International Conference on Bio and Nanomaterials*, 2019, 78-99.

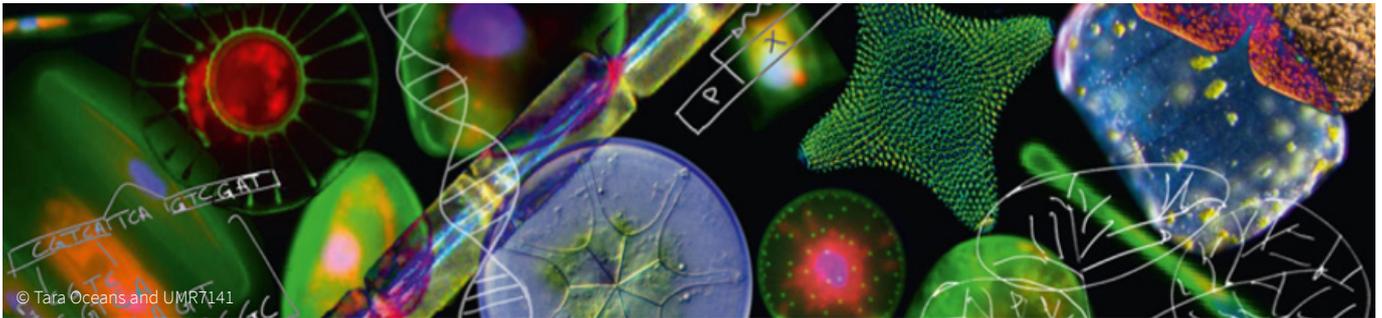
Maes, A.; Martinez, X.; Druart, K.; Laurent, B.; Guégan, S.; Marchand, C. H.; Lemaire, S. D.; Baaden, M. *MinOmics, an Integrative and Immersive Tool for Multi-Omics Analysis*. *Journal of Integrative Bioinformatics* 2018, 15 (2).



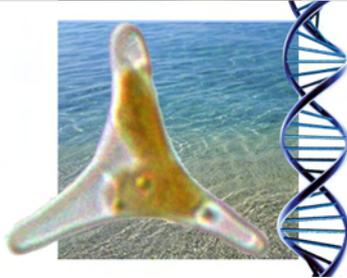
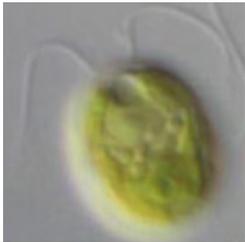
### RECEMMENT

un système de Réalité Virtuelle a été ajouté dans la salle afin d'accentuer l'aspect immersif et manipulateur. Les utilisateurs peuvent donc utiliser le système HTC Vive pour la visualisation de structures.

# Génomique fonctionnelle



L'avenir de la recherche en biologie passe maintenant par le développement de capacités bioinformatiques pour analyser les données issues de séquençage haut-débit (génomique, transcriptomique, métagénomique, ChIPSeq). Les recherches que nous menons sur les microorganismes (bactéries, levures, microalgues) nécessitent ces



©UMR7141

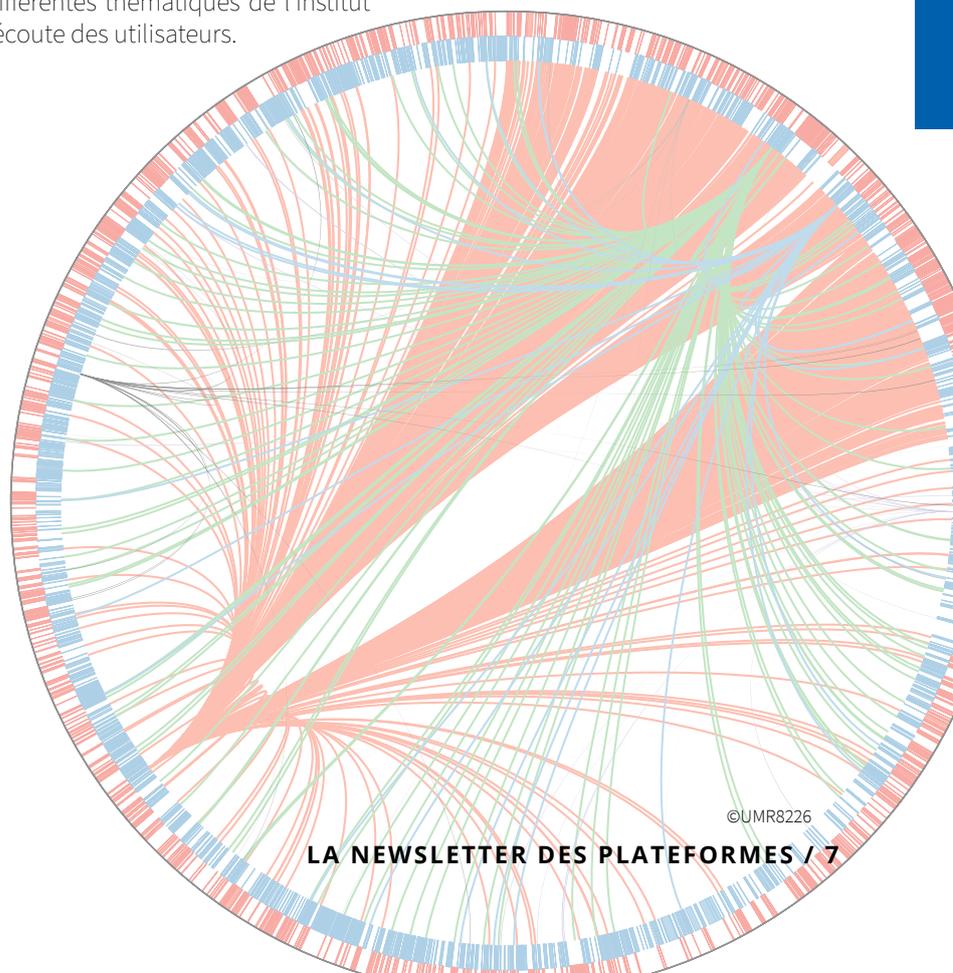
expertises pour le séquençage des génomes et l'analyse à grande échelle de leur expression au travers des ARNs, pour l'exploration de la stabilité des génomes et des transcrits, de leur évolution ou de leurs mécanismes de régulation. Un des projets ambitieux développés à l'IBPC

consiste à étudier diversité fonctionnelle des microalgues par analyse comparative de génomes d'espèces modèles et de séquences environnementales issues de communautés phytoplanctoniques marines.

La plateforme de génomique fonctionnelle, que nous construisons, est sous la responsabilité scientifique d'Alexandre Maes (IR, UMR8226) et a pour but de fournir une expertise en analyse de données -omiques sur les organismes étudiés à l'IBPC. Ceci requiert le développement d'outils informatiques *ad hoc* et donc la présence d'ingénieurs qualifiés tant en biologie qu'en informatique, sensibilisés aux différentes thématiques de l'institut et à l'écoute des utilisateurs.

## MISSIONS

Les missions de cette plateforme consisteront aussi à diffuser un savoir-faire en bioinformatique au sein des unités, à assurer une veille scientifique pour maintenir l'expertise indispensable dans un contexte de rapide évolution des technologies de séquençage, à conseiller et à former les acteurs de la recherche en biologie pour les aider à réaliser l'analyse bioinformatique et statistique de leurs données expérimentales.



©UMR8226

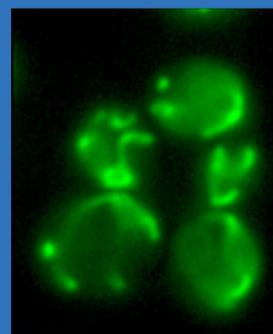
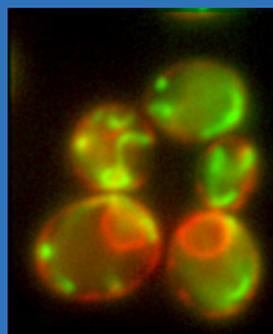
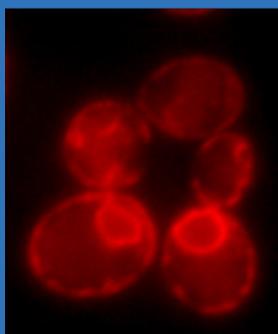
## CONTACT

Pour nous contacter :  
bioinfo@ibpc.fr  
Alexandre MAES

# Equipements mutualisés

## MICROSCOPIE

L'IBPC abrite 3 microscopes à épi-fluorescence Axio Observer (Carl Zeiss Microscopy). Ces microscopes sont utilisés pour de l'imagerie multimodale exigeante de spécimens vivants et fixés. L'un des trois microscopes est



Mitochondrie et RE en contact étroit © Naima Belgareh UMR 8226

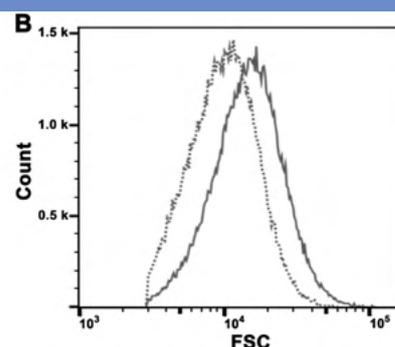
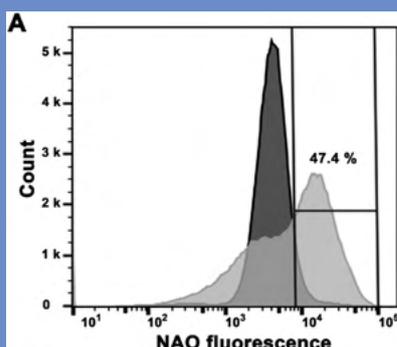
commun à tout l'institut et a été acquis grâce au labex DYNAMO. Sur les deux autres microscopes qui ont été acquis par l'UMR8226 (LBMCE), un système de microscopie pour l'étude de mécanismes cellulaires avec des circuits microfluidiques a été mis en place. Ces trois systèmes de microscopie à fluorescence ont permis d'accumuler de précieu-

ses données sur la dynamique mitochondriale et la biologie des télomères chez la levure *S. cerevisiae*, la plasticité des chloroplastes dans l'algue verte *C. reinhardtii* ou encore la biologie d'organismes procaryotes comme *E.coli*.

Contact : Mickaël Cohen  
mickael.cohen@ibpc.fr

## CYTOMÉTRIE DE FLUX

L'UMR8226 mutualise aussi un cytomètre de paillasse Accuri C6 en self-service. Flexible, facile d'utilisation, cet appareil est spécialisé dans la détection de petites cellules (levures, bactéries) et ses 4 détecteurs permettent de suivre en parallèle le cycle cellulaire,



Carranza, G. et al. Biochim. Biophys. Acta 2017, 1859 (6), 1124–1132

le potentiel de membrane, la production d'espèce réactive de l'oxygène, la quantité de lipides et l'expression de gènes rapporteurs fluorescents en temps réel ainsi que la taille et la granulosité des objets détectés. Dans la figure ci-contre les bactéries sont marquées au NAO, un marqueur des lipides. Sous l'effet de la surexpression de la sous-unité b de l'ATP synthase dans

la souche C43(DE3), les cellules adaptent leur métabolisme et produisent une quantité des membranes internes surnuméraires pour stocker l'excès de protéine membranaire produite.

Contact : Aurélie Barascu  
Mail : aurelia.barascu@ibpc.fr

# Equipements mutualisés

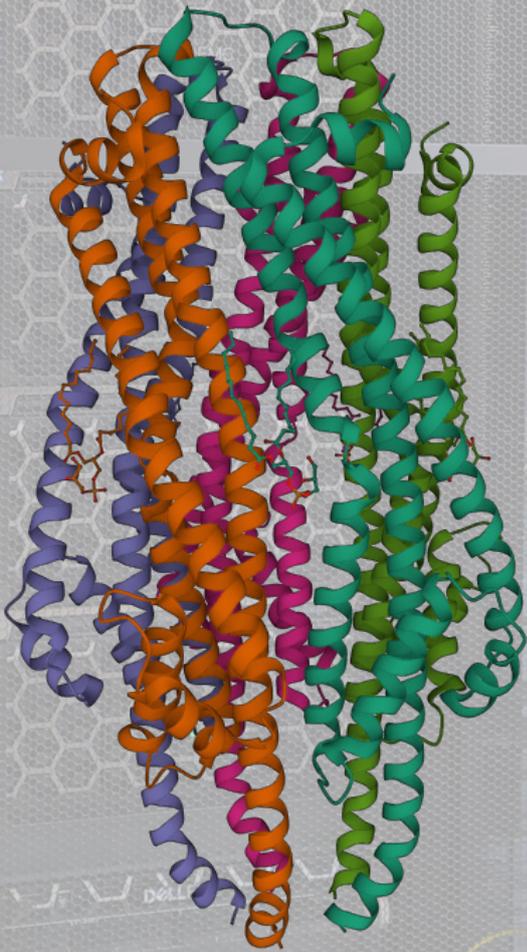
## CALCUL INTENSIF

**Le Laboratoire de Biochimie Théorique ouvre son infrastructure informatique de calcul intensif avec un double objectif.**

L'un consiste à fournir les outils et les ressources informatiques les plus appropriés et les plus puissants aux équipes de l'IBPC (Il est maintenant possible de prédire des structures avec AlphaFold 2), et l'autre consiste à intégrer ces ressources informatiques aussi étroitement que possible avec les données expérimentales pour développer la biologie intégrative. Les ressources computationnelles incluent des CPU, des GPU et une capacité de stockage conséquente et évolutive avec des performances optimisées.

Contact :

Marc Baaden  
marc.baaden@ibpc.fr  
Geoffrey Letessier  
geoffrey.letessier@ibpc.fr



**Structure de ExbB obtenue par cryo-microscopie électronique (Biou *et al* Commun Biol 2022, PDB 6YE4)**

# Equipements mutualisés



**CENTRIFUGEUSES**



**RT-qPCR**



**IMAGEURS MOLECULAIRES**



**COMPTEUR A SCINTILLATION**



**BROYEURS CELLULAIRES**

## PCRs des unités :

Sandrine Masscheleyn  
(masscheleyn@ibpc.fr)  
Saravuth Ngo (Ngo@ibpc.fr)  
Pascale Jolivet (jolivet@ibpc.fr)  
Sandrine Bujaldon (bujaldon@ibpc.fr))

## CellID :

Valérie Biou (biou@ibpc.fr)

## FastPrep :

Teresa Teixeira (teixeira@ibpc.fr)

## French Press :

Yves Choquet (choquet@ibpc.fr)

## ChemiDoc :

Francesca Zito (zito@ibpc.fr)

## ChemiTouch :

Yves Choquet (choquet@ibpc.fr)

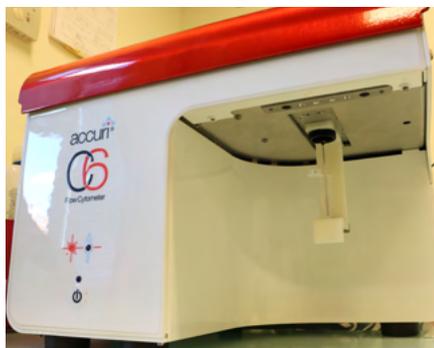
## Typhoon :

Sylvain Durand (durand@ibpc.fr)

## Lycor Odissey FC :

Mickaël Cohen (cohen@ibpc.fr)

# Equipements mutualisés



**CYTOMÉTRIE**

**Cytomètre de flux :**

Aurélia Barascu (barascu@ibpc.fr)



**MICROSCOPE**

**Microscope :**

Mickaël Cohen (cohen@ibpc.fr)



**LECTEURS DE MICROPLAQUES**

**Lecteur de micro plaques :**

Teresa Teixeira (teixeira@ibpc.fr)

Yves Choquet (choquet@ibpc.fr)



**CULTURE CELLULAIRE**

**Autoclave Matachana :**

Eric Vandjour (vandjour@ibpc.fr)

**INFORS**

**Fermenteurs**



**DISSEQUEUR DE TETRADES**

**Disséqueur de Tétrades :**

Teresa Teixeira (teixeira@ibpc.fr)



**SYSTEME DE PURIFICATION**

**Akta purifier :**

Philippe Delepelaire

(delepelaire@ibpc.fr)

Philippe Meyer

(meyer@ibpc.fr)



©Franck Brachet

