

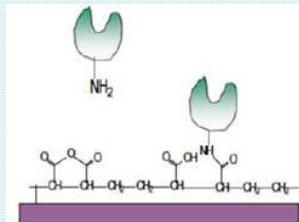
Mesure d'interactions moléculaires par la technologie Epic Label Free

Introduction

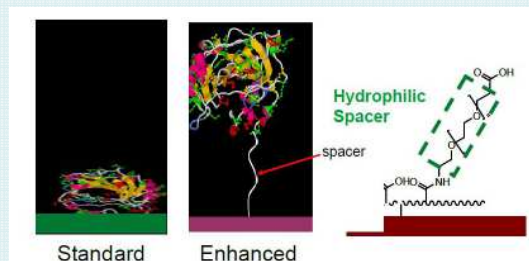
Le test biochimique Label Free, issu de la technologie Corning Epic®, permet de mesurer, sans aucun marquage, la liaison d'un ligand sur une cible protéique.

Principe

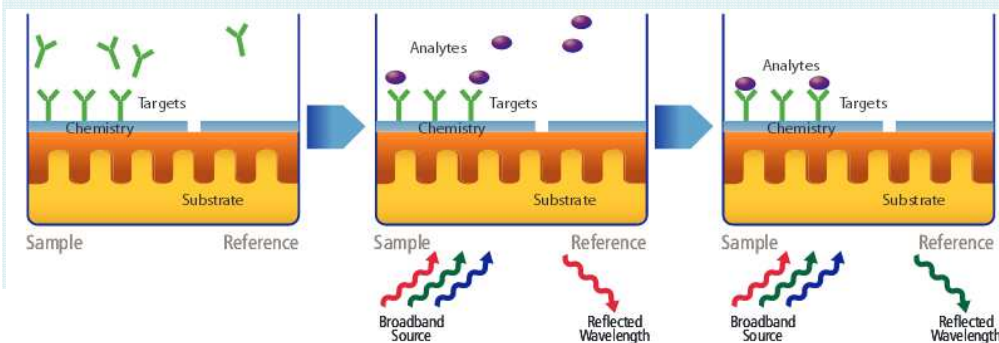
La protéine cible est immobilisée dans des plaques au fond desquelles sont disposés des biosenseurs optiques.



Pour les liaisons plus difficiles à détecter, il est possible d'ajouter un espaceur pour rendre la protéine plus accessible.



Le fond de la plaque est éclairé par de la lumière large bande, et les modifications de masse liées à la fixation d'un ligand à la protéine cible engendrent une modification de l'indice de réfraction de la lumière réfractée. Ce changement d'indice est détecté par les biosenseurs, et se traduit par une variation en pm (picomètres) de longueur d'onde de la lumière réfractée. Une zone de référence dans le puits empêche l'immobilisation de la cible, et permet ainsi de générer des résultats qui ne représentent que les effets de la liaison du ligand sur la protéine.



<https://www.corning.com/au/en/products/life-sciences/products/label-free-detection.html>

Protocole

A adapter en fonction de l'essai

Format : 384 puits

Plaques pré-activées ou activées par l'opérateur

- 1) Immobilisation de la cible sur la plaque, 1h à TA
- 2) Incubation 1 nuit à 4°C
- 3) Lavage avec du PBS
- 4) Incubation 4h à TA
- 5) Lecture de la ligne de base
- 6) Traitement
- 7) Lecture finale

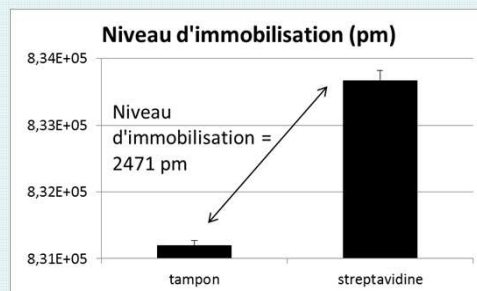
Mesure de la liaison de la biotine sur la streptavidine par la technologie label free

Plaques pré-activées

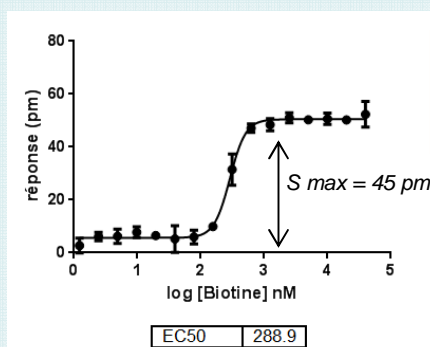
Streptavidine 75 µg/mL

Biotine : 25 nM à 40 µM

- 1) Mesure de l'immobilisation de la streptavidine (ligne de base)



- 2) Mesure de la liaison biotine-streptavidine



$$S_{\text{max théorique}} \text{ (pm)} = \frac{\text{Niveau d'immobilisation de la cible (pm)}}{\text{MW cible}} \times \text{MW ligand} \times \text{stoechiométrie}$$

$$= 2471 \times \frac{244 \text{ Da}}{52800 \text{ Da}} \times 4:1 = 46 \text{ pm}$$