



Leanne De Koning  
Manager de plateforme  
leanne.de-koning@curie.fr  
Tél : +33 (0)1 56 24 62 85

## Activité

**La RPPA est une technologie innovante de puces protéiques permettant d'étudier l'expression des protéines et l'activation des voies de signalisation. Elle allie le haut débit à une faible consommation de matériel biologique. A l'aide d'un robot, les protéines extraites de tissus ou de cellules sont déposées sur une lame de microscope (puce). Les protéines d'intérêt sont ensuite étudiées à l'aide d'anticorps très spécifiques. Robuste et quantitative, elle permet de déposer seulement 1 ng d'extrait protéique, et d'analyser jusqu'à un millier d'échantillons simultanément sur la même puce.**

Notre plateforme a validé plus de 640 anticorps primaires, dont près de 150 anticorps contre les protéines phosphorylées, pour être utilisés en RPPA. Cette gamme d'anticorps couvre la plupart des voies de signalisation cellulaire. Chaque porteur de projet choisit librement les anticorps d'intérêt pour son projet parmi les anticorps validés. De nouveaux anticorps sont validés continuellement, en fonction des projets scientifiques en cours.

## Objectifs

Notre objectif principal est de fournir de nouvelles connaissances biologiques au niveau protéique, dans le but final d'améliorer le traitement et la survie des patients souffrant de cancer. Nous participons à des projets divers, du fondamental à des essais cliniques, où nous réalisons une analyse protéomique personnalisée en haut débit sur les échantillons de nos collaborateurs, afin de :

- Analyser l'expression des protéines d'intérêt
- Étudier l'activation des voies de signalisation cellulaire et leur dynamique

- Identifier des biomarqueurs prédictifs et pronostiques
- Identifier des cibles thérapeutiques
- Classification d'échantillons
- Études de pharmacodynamique

## Prestations

Nous réalisons une analyse protéomique sur mesure sur vos échantillons, comprenant les étapes suivantes :

- Conseils sur votre design expérimental, participation à l'écriture de votre demande de financement (le cas échéant).
- Validation de nouveaux anticorps primaires
- Prise en charge des échantillons (lyse protéique, dosage par kit BCA)
- Création des puces (préparation des plaques 384 puits, dépôt sur puce en plusieurs dilutions et plusieurs réplicats par échantillon)
- Révélation des puces avec les anticorps primaires de votre choix
- Lecture des puces, quantification du signal
- Un contrôle qualité semi-automatisé des données
- Normalisation des données
- Analyses exploratoires (ACP et clustering hiérarchique) et analyses différentielles selon vos questions biologiques.
- Assistance lors de l'écriture de votre publication.
- Stockage sécurisé des échantillons et des données pendant au moins 3 ans

## Réseaux et collaborations

- La plateforme fait partie du « Global RPPA Society » qui regroupe les principaux laboratoires mondiaux spécialistes de la RPPA. Ce réseau permet de rester à la pointe de la technologie, grâce à des workshops annuels, et d'échanger des listes d'anticorps primaires validés.
- La plateforme a participé à 3 projets européens FP7
- Plateforme labellisée par le Cancéropôle Ile-de-France
- Études réalisées pour les entreprises pharmaceutiques (Roche, Sanofi, Servier, ...)
- Collaboration avec l'unité [INSERM U900](#) pour la gestion et l'analyse des données.

## Équipement

Nous sommes équipés de :

- Un Precellys (Bertin) pour le broyage des tissus.
- Un spotteur (Aushon Biosystems) : dépose un volume de environ 1,6 nl par spot, à partir de plaques 384 puits.
- un Autostainer (DAKO) : pour la révélation automatisée des lames.
- un scanner GenePix 4000B : lecture des lames en fluorescence
- Un scanner Innoscan 710-IR (Innopsys): lecture des lames en infra-rouge
- le logiciel Microvigene (VigeneTech) pour la quantification du signal.
- Un robot pipeteur EpMotion (Eppendorf) pour le pipetage à haut débit
- Deux congélateurs sous alarme assurent la préservation des échantillons et des anticorps.

## Formation

Le personnel de la plateforme est en charge des expériences liées aux projets menés sur la plateforme. Cependant, une formation/démonstration peut être organisée sur demande.

## Publications clés

Année de publication : 2017

---

Biau J., Chautard E., De Koning L., Court F., Pereira B., Verrelle P., Dutreix M. (2017 Jul 1)  
**Predictive biomarkers of resistance to hypofractionated radiotherapy in high grade glioma**  
*RADIATION ONCOLOGY* : 12 : 123 : [DOI : 10.1186/s13014-017-0858-0](https://doi.org/10.1186/s13014-017-0858-0)