

Petra Kaferle
Manager de plateforme
petra.kaferle@curie.fr

Introduction

Avec le séquençage complet du génome de la levure en 1996 et la construction de la collection des délétants en l'an 2000, l'ère des approches expérimentales sur génome entier a commencé à évoluer à grande vitesse. L'une des premières techniques qui a émergé était le Synthetic Genetic Array (SGA). Le croisement de la souche d'intérêt, qui porte une mutation dans un gène, avec la collection désirée, la sporulation et les sélections pour des marqueurs spécifiques, nous permet d'introduire une nouvelle mutation dans un grand nombre de souches relativement rapidement. La mutation nouvellement introduite représente un point central dans le réseau génétique, dont nous aimerions annoter les interactants. De plus, des perturbations externes, par ex. produits chimiques ou température non-permissive, peuvent également donner des informations supplémentaires sur la réponse du système. Avec l'utilisation de nombreuses collections différentes, nous pouvons étudier les effets de la diminution, de la surexpression et de la localisation des produits géniques dans des cellules dans des conditions spécifiques. Aujourd'hui, le SGA représente un outil très puissant dans le domaine des études fonctionnelles de la levure. Nous l'avons établi comme une plate-forme à l'Institut Curie (Paris), disponible pour tous les groupes de recherche intéressés.

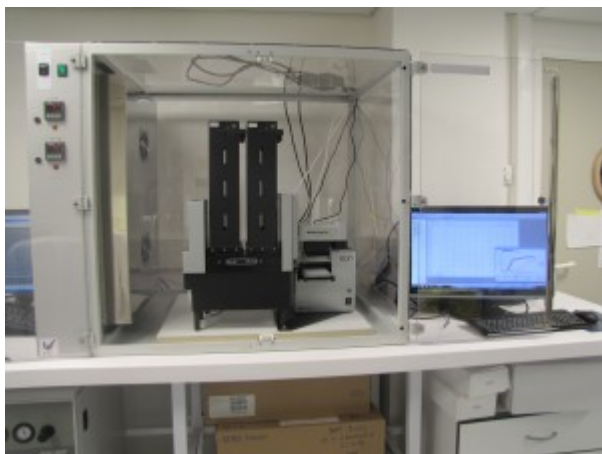
Équipement

Manipulateur robotique BM3-BC (S & P Robotics, Inc.) d'une capacité de 48 plaques en formats 96, 384 et 1536 puits pouvant être utilisées pour transférer des cellules depuis/vers des milieux liquides et solides. Il comprend un système d'acquisition d'images entièrement automatisée. En outre, il a été optimisé avec un outil qui permet une ré-organisation paramétrable des collections ou l'isolement de souches individuelles des plaques. Il représente un outil de base pour la construction de mutants à grande échelle ainsi que les tests chimico-génomiques.



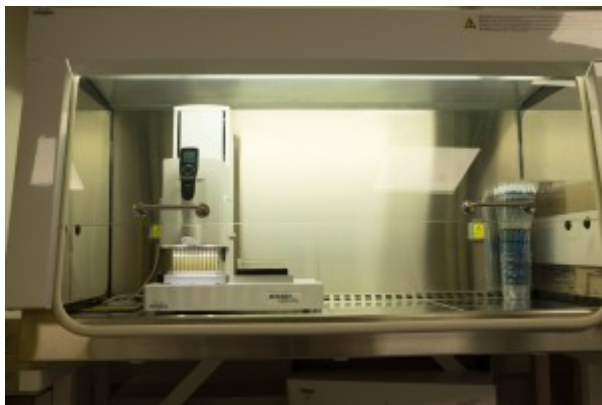
Manipulateur robotique BM3-BC (S & P Robotics, Inc.)

Le poste de travail pour les expériences en milieu liquide comprend un lecteur de microplaques Eon et un manipulateur de plaques automatisé BioStack d'une capacité de 30 plaques (BioTek), placé dans un incubateur sur mesure (Jim Engineering). Le spectromètre, qui a une chambre thermostatique, lit des microplaques de formats de 6 à 384 puits, dans la plage de longueur d'onde de 200 à 999 nm. Le poste de travail peut être utilisé pour des expériences de suivi après des expériences sur gélose, ou comme une méthode autonome pour surveiller la croissance dans différentes conditions avec une haute résolution. Sa large gamme de longueurs d'onde continue en fait un outil parfait pour les tests colorimétriques, pour lesquels de nombreux kits sont disponibles sur le marché.



Le poste de travail pour les expériences en milieu liquide

Équipements supplémentaires que la plate-forme offre, indispensable pour les travaux expérimentaux: congélateur -80°C, centrifugeuse, deux incubateurs, pipettes multicanaux électroniques (96 et 12 canaux pour différents volumes), microscope, système de suivi de pipettes iTrack et agitateur de plaques.



Pipette électroniques (96-canaux) dans une hotte stérile

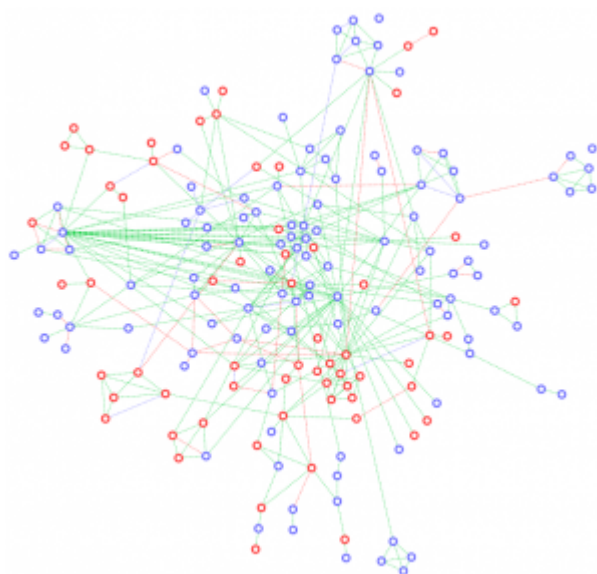
Collections de levure

Collections *S.cerevisiae* que la plate-forme maintient et fournit aux utilisateurs:

- collection de délétions uniques (délétions de gènes non essentiels),
- mutants thermosensibles (mutations de gènes essentiels),
- diminution de l'abondance par perturbation de l'ARNm (mutations de gènes essentiels),
- mutations ponctuelles des histones H3 / H4,
- Collection « VN-fusion » (interactions protéine-protéine basée sur la complémentation par fluorescence bimoléculaire)

L'analyse des données

L'analyse des données est effectuée par la plate-forme sur demande. Il existe différentes options allant du traitement des données brutes au contrôle de la qualité en passant par les connaissances biologiques. Même si de nombreuses étapes de l'analyse sont automatisées, des étapes spécifiques au projet sont mises en œuvre régulièrement. Pour augmenter le partage de données et le transfert de connaissances, tous les logiciels utilisés sont en libre accès (R, Cytoscape, applications Web pour l'enrichissement de l'ontologie des gènes, etc.) et les scripts développés sont à la disposition des utilisateurs.



Publications clés

Année de publication : 2018

Antoine Hocher, Myriam Ruault, Petra Kaferle, Marc Describes, Mickaël Garnier, Antonin Morillon, Angela Taddei (2018 Oct 26)

Expanding heterochromatin reveals discrete subtelomeric domains delimited by chromatin landscape transitions.

Genome research : [DOI : gr.236554.118](https://doi.org/10.1101/236554)