



... sont également disponibles sur notre site internet!

www.carlroth.fr nouveautés et offres spéciales



Tél: 03 88 94 82 42 Fax: 03 88 54 63 93 info@rothsochiel.fr

Matériel de laboratoire Life Science - Produits Chimiques

Roth Sochiel E.U.R.L.

3, rue de la Chapelle _ B.P. 11 - 67630 Lauterbourg Tél: 03 88 94 82 42 - Fax: 03 88 54 63 93 info@rothsochiel.fr - www.carlroth.fr



LABORATOIRES PUBLICS

LA GAZETTE DU LABORATOIRE nº 173 - février 2012

P36

Rencontre avec Laurent CHAVATTE, directeur du laboratoire CNRS « Synthèse et régulation des sélénoprotéines mammifères », et gros plan sur les lecteurs de microplaques BMGLABTECH, indispensables à ses recherches!



L'équipe, avec de gauche a droite: Ghania HAMMAD, Georges BEAUD , Zahia TOUAT, Laurent CHAVATTE, Yona LEGRAIN. Hélène JEAN-JACQUES

Nous nous rendons aujourd'hui sur le campus CNRS de Gif-sur-Yvette (91), en compagnie de Pascal NESLON, directeur et créateur de la société BMG LABTECH France.

Objectif ? Vous présenter le laboratoire CNRS « Synthèse et régulation des sélénoprotéines mammifères », son équipe et ses thématiques de recherche ainsi que ses équipements, et plus particulièrement ses deux lecteurs de microplaques FLUOstar OPTIMA et LUMIstar BMG LABTECH.

Laurent CHAVATTE, fondateur et directeur du Laboratoire, nous fait part de son expérience !

Une équipe née il y a cinq ans du programme ATIP-AVENIR

L'équipe « Synthèse et régulation des sélénoprotéines mammifères » de Laurent CHAVATTE est une composante du Centre de Génétique Moléculaire, UPR 3404 CNRS – IFR 115, associé à l'INSB (Institut des Sciences Biologiques du CNRS) et partenaire de l'Université Paris Sud XI.

« Notre laboratoire a été créé en octobre 2007 et s'est installé sur le campus de Gif-sur-Yvette en janvier 2008, grâce au programme ATIP-AVENIR du CNRS. Nous avons ainsi bénéficié d'un soutien de trois ans du CNRS, mais aussi d'autres structures telles que l'ARC (Association pour la Recherche sur le Cancer), la LNCC (Ligue Nationale Contre le Cancer, ou encore la FRM (Fondation pour la Recherche Médicale) », explique Laurent CHAVATTE. « Nos travaux visent à comprendre les mécanismes de synthèse et de régulation des sélénoprotéines au sein des cellules mammifères. La biologie cellulaire, la biochimie et la biologie moléculaire constituent notre cœur de métier... »

Sous la direction de Laurent CHAVATTE, le Laboratoire réunit aujourd'hui six collaborateurs dont Hélène JEAN-JACQUES, technicienne recrutée dès 2008, et Georges BEAUD, chercheur émérite, qui a rejoint l'équipe en 2011, aux côtés de Zahia TOUAT (Post-Doctorante ANR), Yona LEGRAIN (Doctorante UPMC) et Ghania HAMMAD (étudiante en Master2 UPMC). Plusieurs partenariats ont par ailleurs été engagés, parmi lesquels un projet ANR mené avec le Laboratoire de Chimie Analytique Bio-inorganique et Environnement (LCABIE, UMR 5254, Pau) pour les développements techniques liés à la quantification des sélénoprotéines.

Sélénium, sélénocystéine et sélénoprotéines...

Laurent CHAVATTE et son équipe se consacrent à l'étude du sélénium et des sélénoprotéines, appliquée notamment aux champs de la cancérologie et du vieillissement. « Le sélénium est un oligoélément essentiel incorporé dans les sélénoprotéines sous forme de sélénocystéine, le 21ème acide aminé. 25 sélénoprotéines existent chez l'Homme », précise le directeur du Laboratoire. « Découvert il y a près de 200 ans, le sélénium a été inscrit sur la liste des oligoéléments essentiels depuis les années 1950, tandis que les premières preuves de son implication physiologique dans les processus biologiques notamment la relation entre sa déficience dans l'organisme et l'apparition de certains cancers (poumon, prostate, colorectal, peau...) - ont été décrites il y a quinze ans. Une carence en sélénium pourrait par ailleurs favoriser l'apparition de maladies neurodégénératives, la diminution des fonctions musculaires et le vieillissement cellulaire, et aurait un impact sur le système

immunitaire, notamment via la régulation de l'hormone thyroïdienne... »

Il a ainsi été démontré que l'apport optimal en sélénium chez l'adulte doit se situer entre 40 et 70 µg/jour. Naturellement présent dans des aliments tels que les champignons, les crustacés, le foie ou encore les œufs, il voit sa concentration largement évoluer en fonction de la teneur des sols et sa métabolisation dans l'organisme est très différente d'un individu à l'autre.

Des objectifs de recherche centrés sur la synthèse et la régulation des sélénoprotéines

Sous forme de sélénocystéine, le sélénium intègre les sélénoprotéines telles que la glutathion peroxydase, la thiorédoxine réductase, l'iodothyronine desiodase ou encore la methionine sulfoxide reductase, dont le rôle anti-oxydant participe à la réparation de l'organisme et à sa protection contre les cancers, maladies cardiovasculaires et infections. « Toutefois, la régulation du sélénium diffère selon les sélénoprotéines, et contrairement à la plupart des acides aminés rares, la sélénocystéine n'est pas formée après la traduction de l'ARNm, mais incorporée directement lors de la synthèse de la chaîne polypeptidique par le ribosome », explique L CHAVATTE. « L'intégration même de la sélénocystéine dans les protéines est un processus complexe, car il n'existe pas à proprement parler de codon spécifique pour cet acide aminé, mais un recodage traductionnel du codon UGA, normalement utilisé comme codon stop, en codon sélénocystéine... »

Le Laboratoire « Synthèse et régulation des sélénoprotéines mammifères » s'est fixé pour objectif de comprendre :

- → le processus d'insertion des sélénocystéines dans les sélénoprotéines (mécanisme de recodage traductionnel d'UGA en sélénocystéine) dans les cellules mammifères ;
- → la régulation de la synthèse de ces sélénoprotéines qui permet leur action réparatrice, notamment dans les phénomènes de stress oxydatif et de vieillissement;
- → la nature même de ces sélénoprotéines : leur structure, leur fonction et l'assemblage de la machinerie d'insertion de la sélénocystéine...

Concrètement, au laboratoire !

« Pour comprendre les mécanismes qui interviennent dans la régulation des sélénoprotéines mammifères, sur molécules précises et sur le protéome cellulaire, nous développons des modèles cellulaires déficients en sélénium », ajoute M. CHAVATTE. « Toutes les protéines cellulaires sont séparées sur gel 2D... »

Le Laboratoire utilise ainsi des modèles de cellules vieillissantes; des cellules qui se divisent tout d'abord rapidement, puis de moins en moins vite, jusqu'à survivre sans se diviser davantage. Elles sont alors appelées sénescentes. Le but est d'étudier l'implication du sélénium dans le process de ralentissement de la division cellulaire et de déterminer parmi les sélénoprotéines des marqueurs potentiels de vieillissement. « Nous avons ainsi démontré qu'une teneur plus élevée en sélénium du milieu de culture permet d'augmenter la capacité de division des cellules, tandis qu'à l'inverse, une déficience en sélénium accélère le processus de vieillissement cellulaire », commente Laurent CHANATTE

LA GAZETTE DU LABORATOIRE n° 173 - février 2012



poursuit M. NESLON. « Ventilé, il permet le refroidissement des photomultiplicateurs et atténue considérablement les bruits de fond ».

« Des plaques de couleurs différentes sont disponibles en fonction de l'application visée : blanches pour la luminescence, noires pour la fluorescence et transparentes pour le visible et le proche UV », souligne M. CHAVATTE.

« Le FLUOstar et le LUMIstar fonctionnent tous les jours au sein de notre laboratoire, à raison de 4 ou 5 plaques par jour ; nous employons principalement des plaques 96 puits; une cinétique dure en movenne une heure...». aioute-t-il. « L'excellent rapport qualité – prix, l'encombrement réduit, la bonne insonorisation ainsi que la possibilité de piloter simultanément des analyses sur plusieurs lecteurs de microplaques BMG LABTECH à partir du même logiciel, puis de stocker et comparer les données, s'imposent comme des atouts importants. Mais au-delà de la qualité des produits, ce qui fait la différence est assurément la qualité du service ! L'équipe BMG LABTECH est en effet toujours à notre écoute et nous informe immédiatement des nouveaux programmes et applications disponibles ; les nouvelles versions des logiciels sont d'ailleurs gratuites... »

Notez enfin qu'au-delà du laboratoire « Synthèse et régulation des sélénoprotéines mammifères, à l'échelle de l'UPR 3404 CNRS, un autre lecteur de microplaques BMG LABTECH est opérationnel au sein de l'Institut : le PHERAstar. Appareil multitechnologies haut débit, il est utilisé pour lire tous les modes de détection non radioactifs : intensité de fluorescence, fluorescence en temps résolu (TRF), absorbance, luminescence... et permet de répondre à de nouveaux besoins. notamment en terme d'analyses de transfert d'énergie comme HTRF, FRET et BRET...

Pour en savoir plus : Pascal NESLON, directeur et créateur de la société BMG LABTECH France Pascal.neslon@bmglabtech.com 01 48 86 20 20

CHAVATTE. Laurent directeur laboratoire CNRS « Synthèse et régulation sélénoprotéines mammifères » Http://www.cgm.cnrs-gif.fr/

S. DENIS

L'identification de nouveaux biomarqueurs du vieillissement fait appel à une approche protéomique sur gel 2D. « Les spots d'intérêt sont identifiés par spectrométrie de masse dans le but de détecter des molécules régulatrices ou impliquées dans la régulation du sélénium », poursuit M. CHAVATTE

Entre autres projets d'étude, le Laboratoire s'intéresse ainsi à la synthèse de sélénoprotéines dans certains organismes exotiques tels que les eucaryotes ciliés, et travaille sur le virus de la vaccine (utilisé pour le vaccin contre la variole) comme vecteur d'expression dans les cellules mammifères de certains gènes isolés dans les sélénoprotéines.

choix éclairé des lecteurs microplaques BMG LABTECH

« Nous disposons d'une surface de 70 m² intégrant un laboratoire L2 de culture cellulaire », précise M. CHAVATTE. « Nous sommes dotés entre autres de PSM et hotte chimique, d'un incubateur (37°C 5% CO2), d'un microscope à fluorescence équipé d'une caméra et d'un système d'électrophorèse bidimensionnelle (2D-DIGE), et sommes labellisés pour travailler sur des cellules en culture de type L1 - L2 ainsi qu'en radioactivité P32 et S35... »

Dès la définition de son projet de recherche s'est imposée pour le Laboratoire la nécessité de s'équiper de lecteurs de microplaques alliant précision, sensibilité et coût attractif. « En décembre 2007, nous avons donc mis en concurrence et testé quatre appareils dont le FLUOstar OPTIMA de BMG LABTECH, que nous connaissions déjà de réputation », explique Laurent CHAVATTE. « Le FLUOstar OPTIMA s'est révélé être le plus sensible pour la lecture de microplaques par fluorescence et luminescence. Nous avons donc porté notre premier choix sur cet équipement dès la création de notre laboratoire fin 2007, puis avons fait l'acquisition d'un second lecteur de microplaques BMG LABTECH, le LUMIstar, en juin 2010 »

Précisons que le FLUOstar OPTIMA est un lecteur de microplagues multifonctionnel, doté d'un distributeur de réactifs. Il a été conçu pour la lecture des plaques aussi bien en fluorescence, en luminescence qu'en absorbance.

- « D'une sensibilité et flexibilité exceptionnelles. il est le seul appareil disponible avec une incubation jusqu'à 60°C avec possibilité de réguler la teneur en CO2 et permet une lecture de tous les formats de plaques, ainsi qu'une analyse d'images pour la lecture de plaque en culture cellulaire », précise Pascal NESLON
- « Nous utilisons le FLUOstar OPTIMA pour réaliser tout aussi bien le dosage de la luciférase en luminescence et de la glutathion peroxydase, la mesure de l'activité de la thiorédoxine réductase, que les tests de prolifération cellulaire ou encore le dosage de bétagalactosidase. Cette grande diversité d'applications, qui ne cesse de s'enrichir, constitue un point fort incontestable de l'appareil », déclare Laurent CHAVATTE.
- « Le LUMIstar est quant à lui dédié à la lecture de microplaques par chimiluminescence»,

