

Création de séquences, combinaisons et FDR Production de Protéines à partir d'un Projet (batch de 20 ou 40 séquences)

1. Prérequis

Définition d'un protocole de Production de protéine éligible étiqueté comme livrable :

Action CDP :- Attacher au projet les fichiers NTI (PROT et NUC en .zip)

- Création d'organisme d'origine si nouveau/non présent dans GREGOR4
- Création de nom de protocole "Allergénicité_Protocol" pour la séquence d'origine

2. Création du projet par le CDP

LA LISTE DES PROJETS

Nom du Projet	Client	Type	Trait	Programme
---------------	--------	------	-------	-----------

CREATION DE PROJET

Client :

Clé :

CDP :

Type :

Trait :

Programme :

Feuilles de route (séparées par une virgule) :

Objectifs :

Livrable :

- PROD PROTEINE 1**
- Mon Livrable 2
- Mon Livrable 3
- Mon Livrable 4

Piece Jointe : Aucun fichier sélectionné.

Au préalable différents champs sont renseignés (dans une table ?) pour définir un protocole ex « PROD_PROTEINE_1 » qui seront éventuellement reportés dans chacune des Feuilles de Route :

Libellé	Exemple	commentaires
Expression (version de séquence)	oui	Par défaut
Optimisation	E. COLI	Par défaut
Méthode allergénicité	aucune	Protocole défini ou pas
Souche coli	BL21 (DE3)	Liste administrative des souches éligibles
Milieu inductible	Staby_Switch	
Température	37°C	
Extraction	NZYBuffer	
Tag	His_cherry	liste des NOMS/Type/Sous-Type de séquence d'origine
Vecteur de base	pD441-NH	Liste administrative des vecteurs de base éligibles

3. Description des champs du fichier à importer par le CDP :

Description des champs du fichier à importer :

GREGOR4	Libellé colonne	Exemple	Saisie	Vérification lors de l'import
Séquence d'origine	Nom	GIPPR0012test	CDP_obligatoire	A vérifier non existant
Séquence d'origine	NOM Complet	P4087_M001_NODE_1 20_length_9675_cov_1 26.861_ID_239_3_test	CDP	
Séquence d'origine	Type	CDS	CDP	
Séquence d'origine	Organisme d'origine	Bacillus thuringiensis	CDP_obligatoire	A vérifier existant
Séquence d'origine	Detailed description	VIP1-like protein with putative insecticidal activity	CDP	
Séquence d'origine	Code Gene Discovery	P4087_M001_239_3_test	CDP	
Séquence d'origine	Code d'accesion international		CDP	
Séquence d'origine	Source	Construit Bioanalyse maison, transcriptome	CDP	
Séquence d'origine	Prestataire Source	PROTHEUS	CDP	
Séquence d'origine	Chef de projet	WPAU	CDP	
Séquence d'origine	Séquence nucléique	atgatgaagaaaaag	CDP_obligatoire	A vérifier non existant
Séquence d'origine Version de séquence	Séquence protéique	mmkkk*	CDP_obligatoire	A vérifier non existant
Séquence d'origine	Allergénicité_Protocole	All 3 Regulatory and Genective Toxins analysis_PROT	CDP	
Séquence d'origine	Allergénicité	non	CDP	
Séquence d'origine	Date d'allergénicité	22/07/2016	CDP	
Séquence d'origine	FTO	vert	CDP	
Séquence d'origine	Date FTO	22/07/2016	CDP	

4. Description des champs à rajouter par le cloneur au 1^{er} fichier et importation:

GREGOR4	Libellé colonne	Exemple	Saisie	Vérification lors de l'import
Version de séquence	Séquence nucléique_version	atgatgaagaagaaa	cloneur	
Version de séquence	Méthode allergénicité	AllergenOnline v16.0_nuc	cloneur	
Version de séquence	Résultat allergénicité	non	cloneur	
	Espèce	E. COLI	par défaut E. COLI	
	Projet	Nom du PROJET	par défaut Nom du PROJET	A vérifier existant
	TYPE	Expression de proteine	par défaut Expression de proteine	A vérifier existant
	TRAIT		cloneur	A vérifier existant
	Programme		cloneur	A vérifier existant

A partir de ce fichier faire l'import pour créer :

- les séquences avec l'ensemble des informations renseignées
- création des codes BGA associés : le premier serait P_00001 (différent des autres codes BGA_XXXXX).
- Création du code batch (de commande) : identique au nom du projet.
- Remplissage des champs suivants par défaut :
 - **Version de séquence protéique = Séquence protéique d'origine**
 - Numéro de version : « 1 »
 - Expression : « oui »
 - Optimisation : « E. COLI »
 - Caractéristiques : automatique à partir des infos (nom, organisme d'origine, optimisation)

Vérifier l'existence ou non de certains champs.

L'état des séquences sera : « Commandée » si OK

5. Réception de la commande :

Saisir les informations suivantes valables pour toutes les séquences du batch:

- **Souche coli si nécessaire** (Liste administrative des souches éligibles)
- **Vecteur de base** (Liste administrative des vecteurs de base éligibles)

- Prestataire (Liste administrative des prestataires éligibles)

Validation et passage de l'état « Commandée » à « Combinaison »

Création de combinaison plasmide automatique avec les codes associés plasmides et coli (si nécessaire) à partir du code BGA:

- Code plasmide : CP_00001
- Code Coli : EP_00001
- Espèce : E. COLI

6. Complémentation des FDR du projet :

A partir des données du protocole PROD_PROTEINE_1 et du code BGA

Libellé	Exemple	commentaires
Expression (version de séquence)	oui	Par défaut
Optimisation (séquence)	E. COLI	Par défaut
Méthode allergénicité	aucune	Protocole défini ou pas
Souche coli	BL21 (DE3)	Liste administrative des souches éligibles
Milieu inductible	Staby_Switch	
Température	37°C	
Extraction	NZYBuffer	
Tag	His_cherry	liste des NOMS/Type/Sous-Type de séquence d'origine
Vecteur de base	pD441-NH	Liste administrative des vecteurs de base éligibles

Créer dans chaque FDR les champs suivants (Liste des champs à confirmer)

Libellé	Exemple	Renseignements
Code Plasmide_Prot	CP_00001_B_3	automatiquement créé à partir de la Table Souche coli PROT
Code E. coli_Prot	EP_00001_B_3	automatiquement créé à partir de la Table Tag
Code Protéine	PP_00001_B_3	automatiquement créé à partir de la Table
Code support	sup_nom du projet	support type plaque 96 automatiquement créé
Emplacement support	A1	incrémentation automatique des puits de plaque 96 A1, B1, ...

Ces informations ne se retrouvent que dans les FDR

Table Souche coli PROT	Souche coli	Code
	BL21 (DE3)	B
	NEB5a	N
	Lemo21(DE3)	L
	Shuffle_T7	S
	Shuffle_T7_LysY	Y

Table Tag	Tag	code
	Vide	0
	His	1
	MBP	2
	His_cherry	3
	His_dasher	4
	dasher	6

7. Renseigner les résultats et passer à un état suivant :

Une fois le travail de production de protéines effectué lors de ce RUN_1, possibilité de rentrer un résultat individuellement pour chaque FDR du batch

POUR CHAQUE FDR, pouvoir saisir, choisir un état (Commande, Clonage, Induction, TEST INSECTES, ...), un STATUS (STOP, FINI, EN COURS) et des résultats pour induction (OUI / NON PEUT-ETRE) et mortalité larvaire (OUI / NON PEUT-ETRE)

Liste des champs et leur remplissage à définir

Pouvoir avoir accès à l'ensemble des fichiers du projet déposés dans le NAS.

Visualisation des éléments spécifiques à la PRODUCTION DE PROTEINE dans SEQUENCE, COMBINAISON_PLASMIDE et FEUILLE DE ROUTE