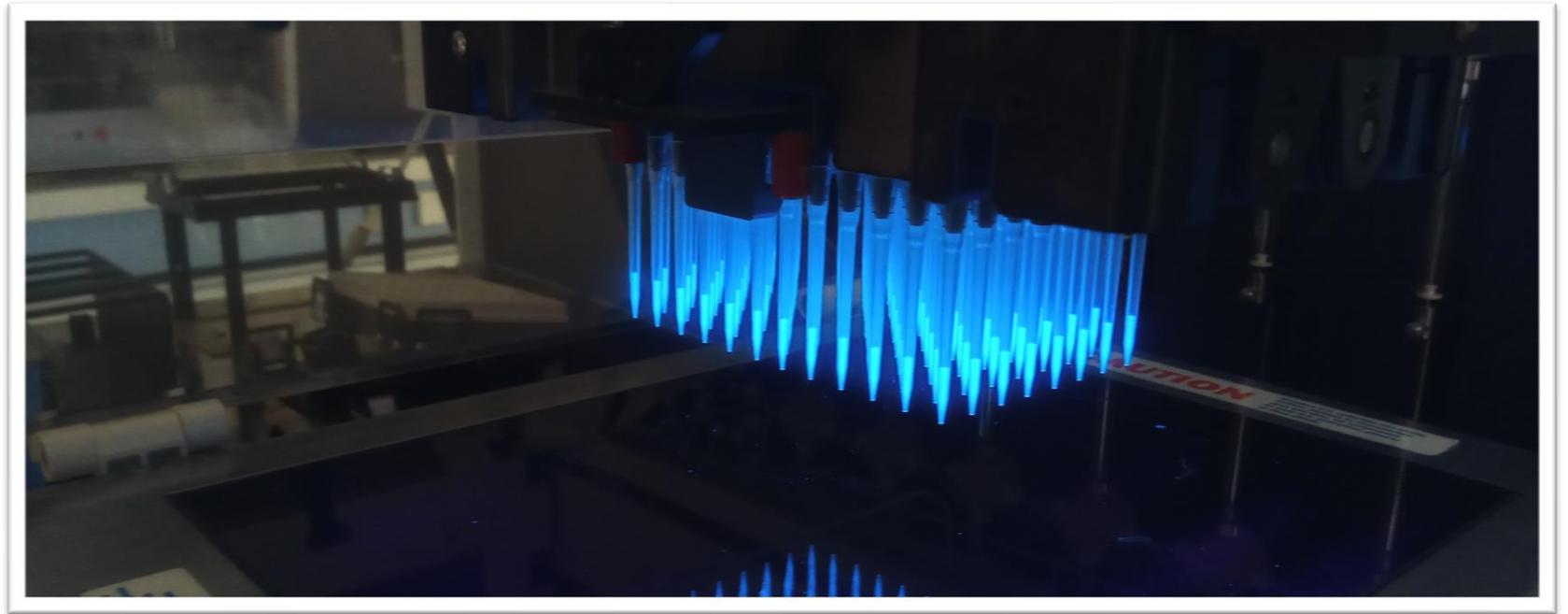


ROSCOSCREEN 2024



# 1- Atelier « pratique » criblage : Optimisation des méthodes d'automatisation de distribution de liquide.



**Mercredi 25 Septembre**



ROSCOSCREEN 2024



# 1- Atelier « pratique » criblage : Optimisation des méthodes d'automatisation de distribution de liquide.

1. Présentation d'un équipement et préparation du matériel.
2. Que favoriser sur un process de distribution ?
3. Comment optimiser son process de criblage?
4. Valider le process de criblage ?

**Mercredi 25 Septembre**

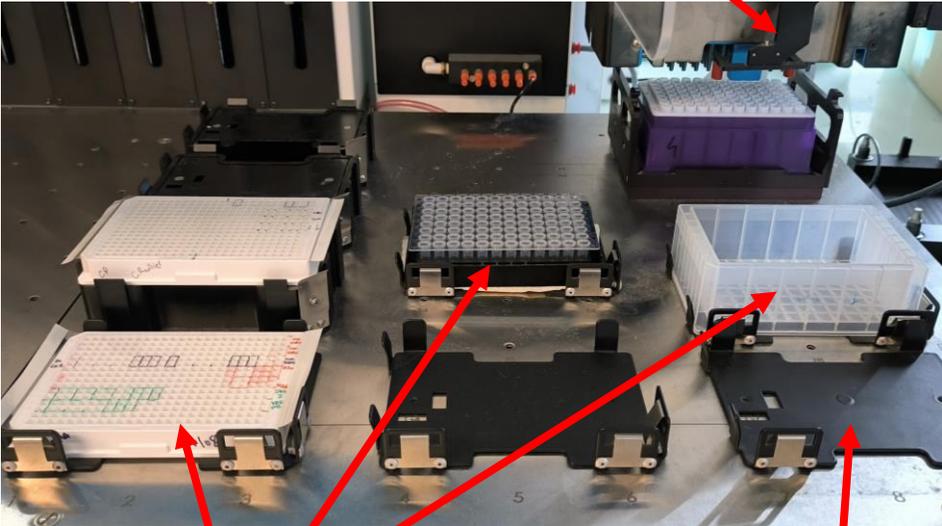
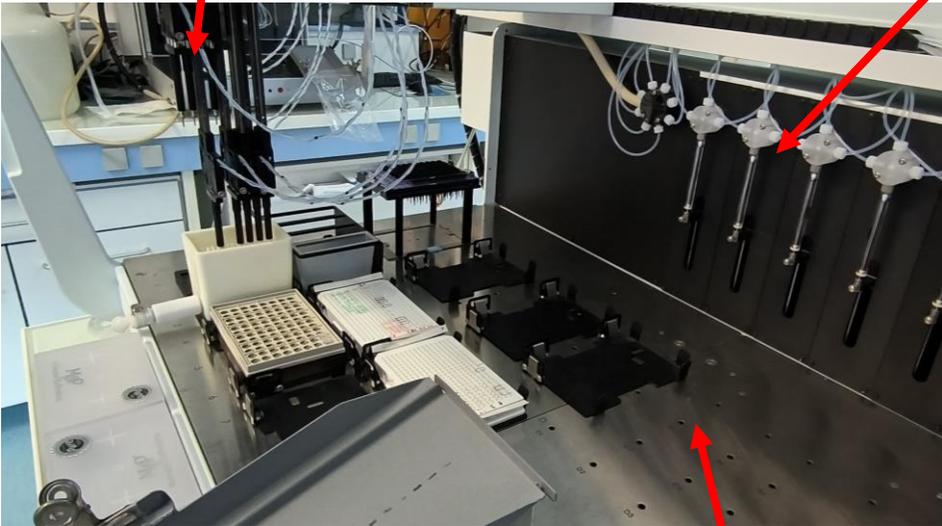
# 1. Présentation d'un équipement



« versatip »

seringue

Tête 96



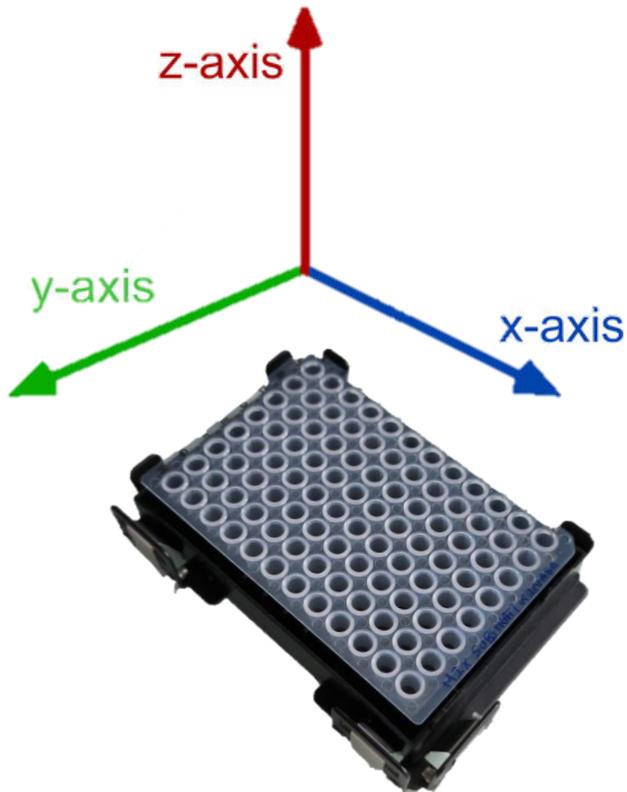
plan de travail

« Labware »

Tuile support



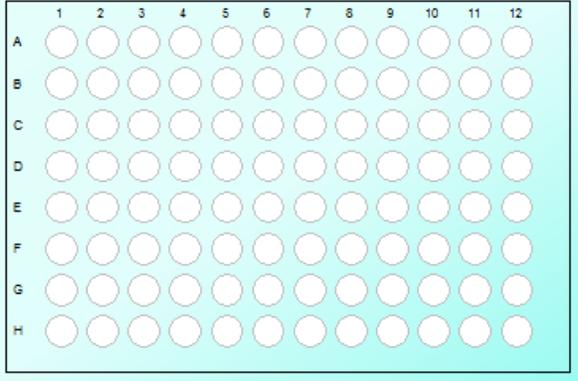
# 1- préparation du matériel : Paramétrage des labwares à utiliser



Properties of 96 well round Sterilin (STARLAB)

Details MDT Evaluate

Description	X (mm)	Y (mm)	Z (mm)
Safe travel height			18.91
<b>Well array details</b>			
First well, first column	14.2	-11.03	
Last well, last column	113.2	-74.03	
<b>Well details</b>			
Search height			30.13
Top of well			15.56
Dispense height			8.38
Aspirate height			5.79
Well bottom			4.97



Well plate grid diagram showing columns 1-12 and rows A-H.

Update Z for all wells

X/Y Motors: Back, Left, Right, Front, X: 0, Y: 0

Z Motor: Home, Up, Down, Z: 0

Step size: 0.1 mm, 1 mm, 10 mm, 100 mm

Tip: 1

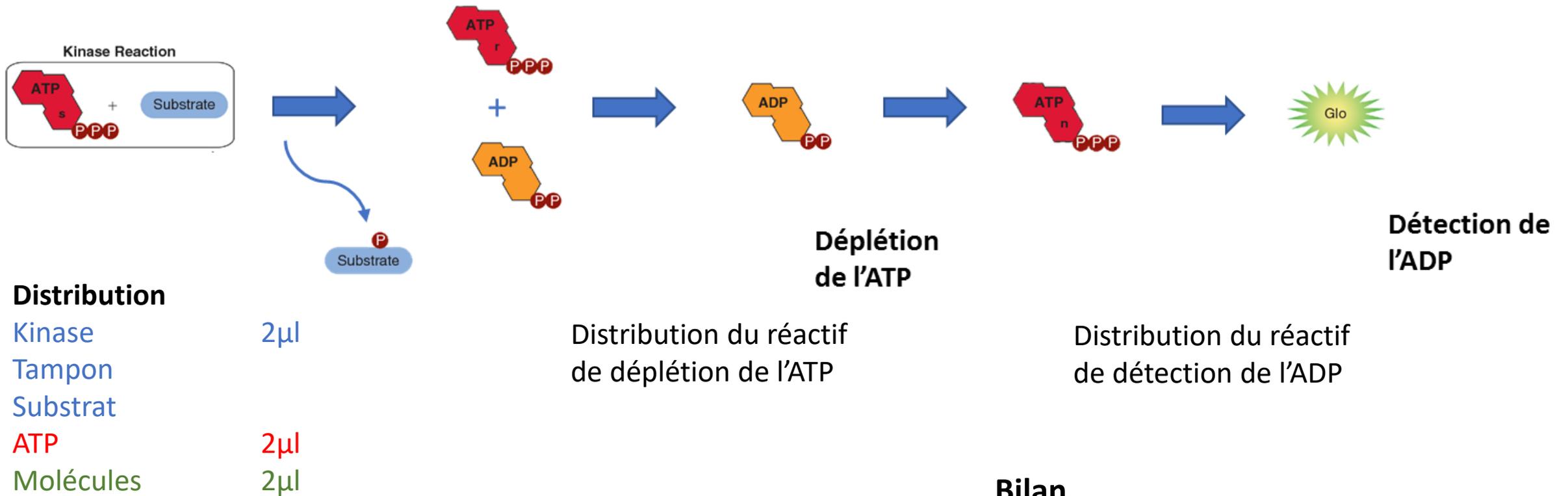
Go to, Correct XY Cal, Update, Undo

Keypad Shortcuts: 2=Forward 8=Back 4=Left 6=Right 3=Z-Down 9=Z-Up 5=Z-Home 1=Smaller Step Size 7=Larger Step Size

OK Cancel Help

## 2. Que favoriser sur un process de distribution ?

=> Bien identifier les étapes du process à automatiser

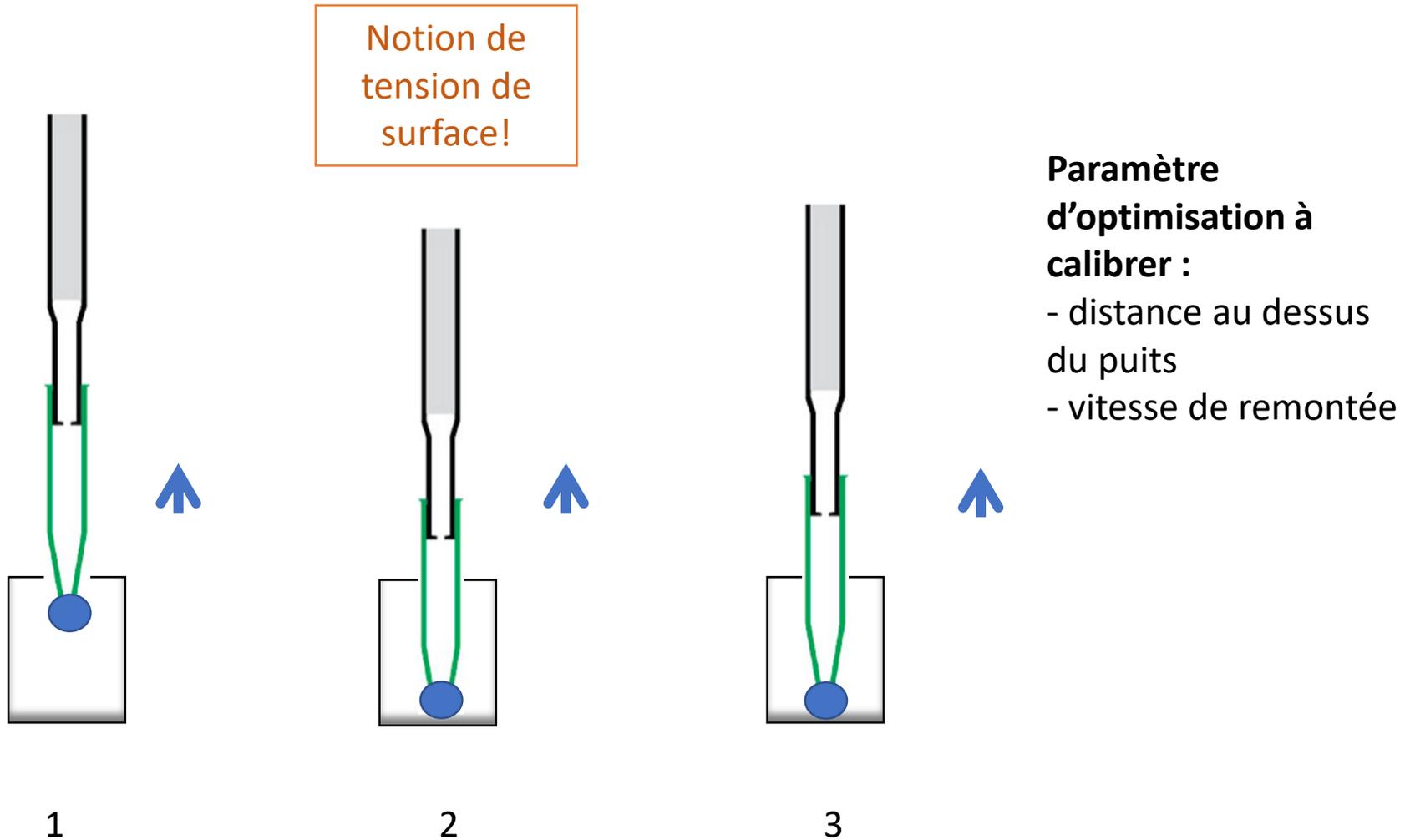


### Bilan

- 1- Définir tous les volumes réactionnels
- 2- Prioriser l'ordre
- 3- Envisager tous les Contrôles

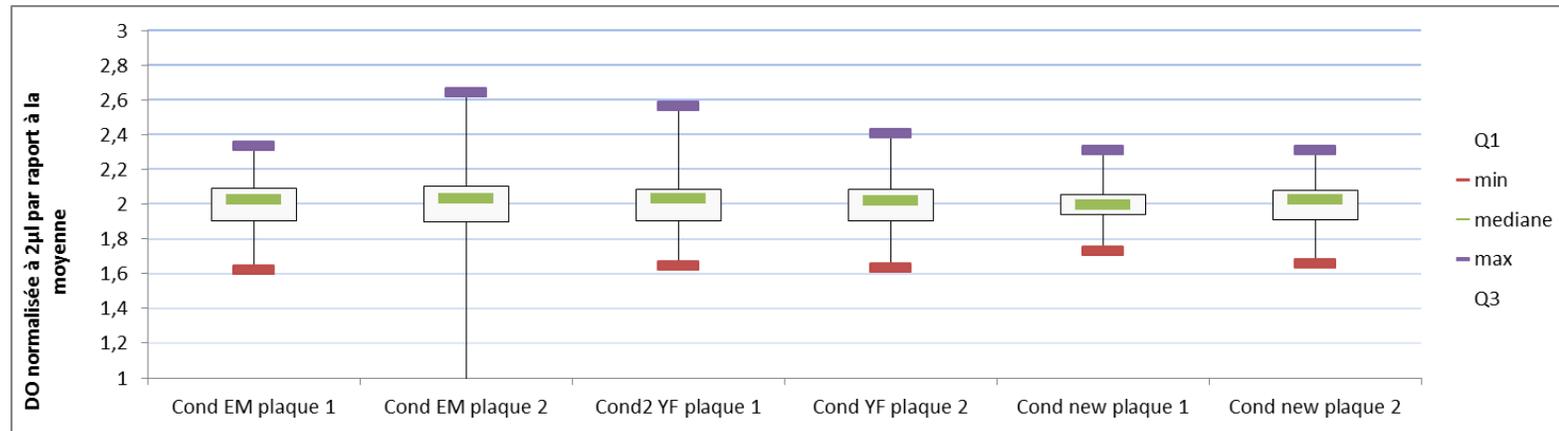
# 3. Comment optimiser son process de criblage?

## 3.1. La distribution



# 3.1. La distribution: Méthode d'évaluation de la distribution

## Evaluation de la distribution en box plot



## Evaluation de la distribution par coefficient de variation

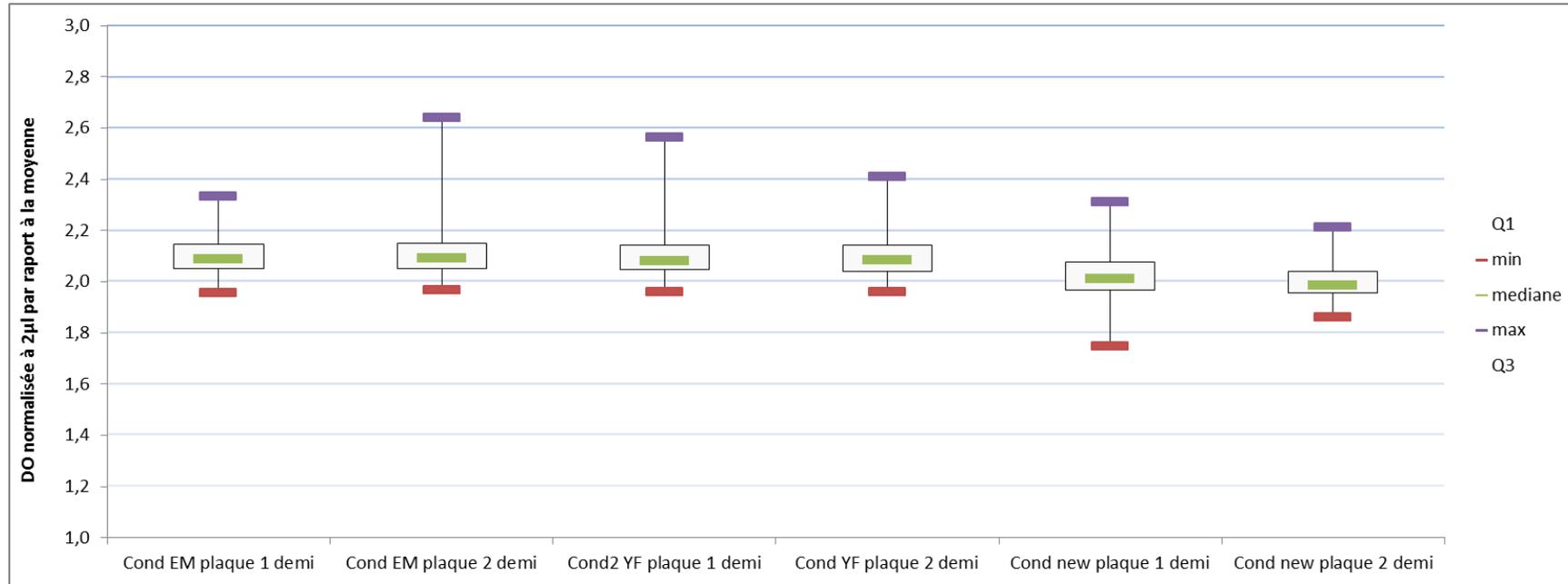
	Cond EM plaque 1	Cond EM plaque 2	Cond2 YF plaque 1	Cond YF plaque 2	Cond new plaque 1	Cond new plaque 2
moyenne	1,461	1,426	1,475	1,485	1,372	1,515
ecart type	0,101	0,276	0,099	0,103	0,062	0,096
CV	<b>0,069</b>	<b>0,193</b>	<b>0,067</b>	<b>0,069</b>	<b>0,045</b>	<b>0,063</b>

$$\text{Coef Var} = \frac{\text{Ecart Type}}{\text{Moyenne}}$$

### Precision Pipetting

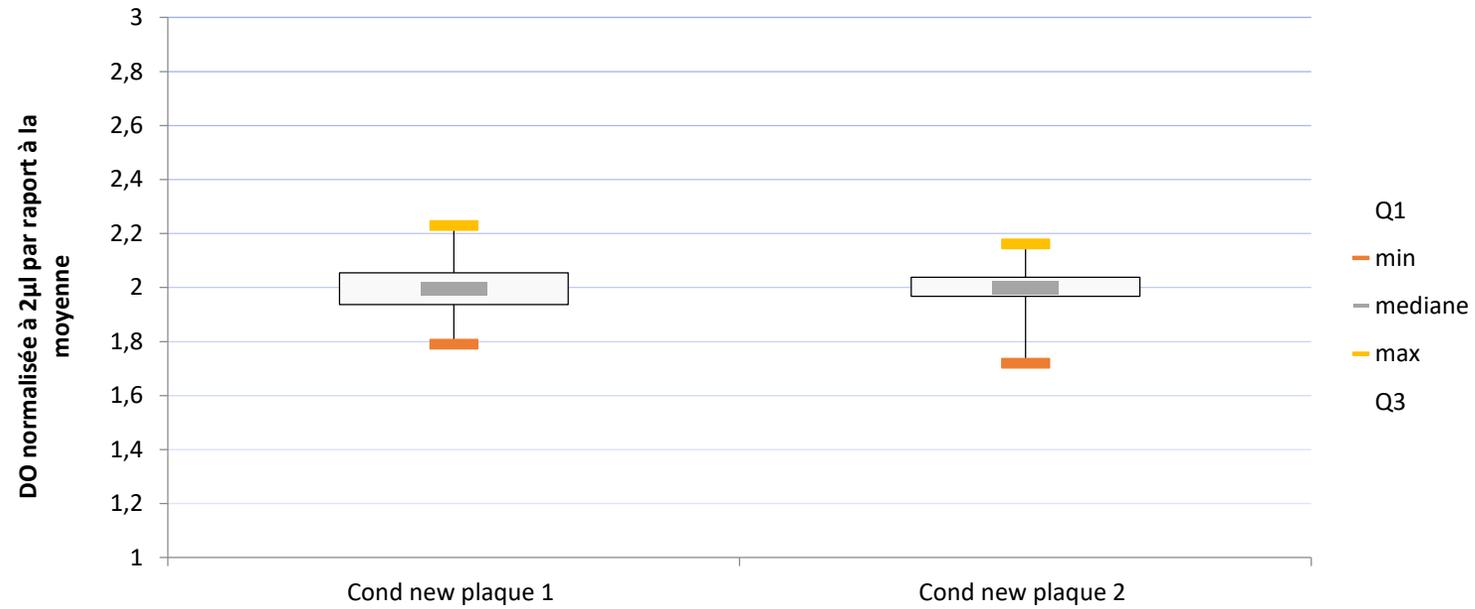
Pipetting arm	Volume	% CV	Tip/Head	Condition
Varispan	5 ul	< 2%	20 ul disposable tip	Distilled water, 500 ul syringe
	50 ul	< 1%	Fixed tip	Distilled water, 500 ul syringe
MDT	1 ul	< 2%	P20 disposable tip on P50 96-tip Head	
	1 ul	< 5%	P30 or P10 disposable tips on P30 384-tip Head	
	5 ul	< 1%	P50 disposable tips on P50 96-tip Head	
	50 ul	< 1%	P235 disposable tips on P235 96-tip Head	

## Exemple de paramétrages



	Cond EM plaque 1 demi	Cond EM plaque 2 demi	Cond2 YF plaque 1 demi	Cond YF plaque 2 demi	Cond new plaque 1 demi	Cond new plaque 2 demi
moyenne	1,535	1,541	1,546	1,558	1,389	1,581
ecart type	0,054	0,064	0,057	0,061	0,063	0,056
CV	<b>0,035</b>	<b>0,042</b>	<b>0,037</b>	<b>0,039</b>	<b>0,046</b>	<b>0,035</b>

## Exemple de paramétrages

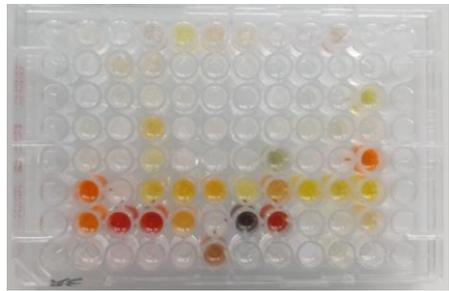
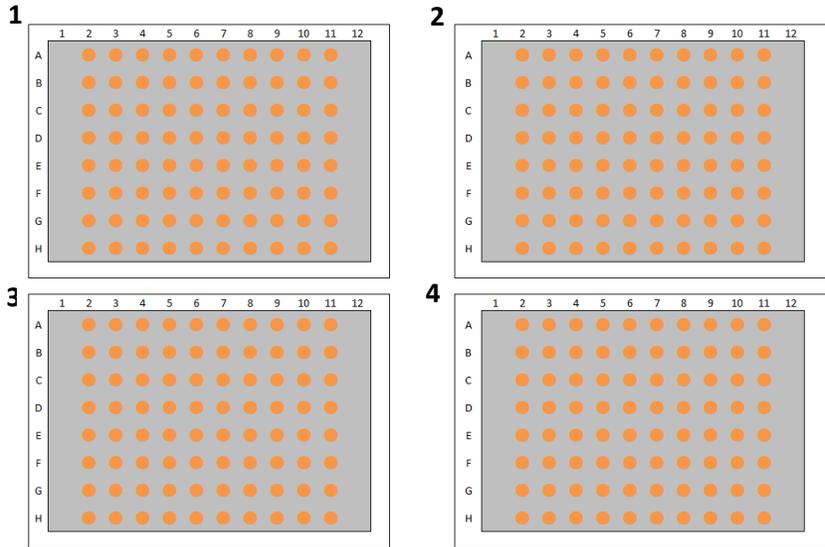


	Cond new plaque 1	Cond new plaque 2
moyenne	0,882	0,847
ecart type	0,034	0,024
CV	<b>0,039</b>	<b>0,029</b>

# 3. Comment optimiser son process de criblage?

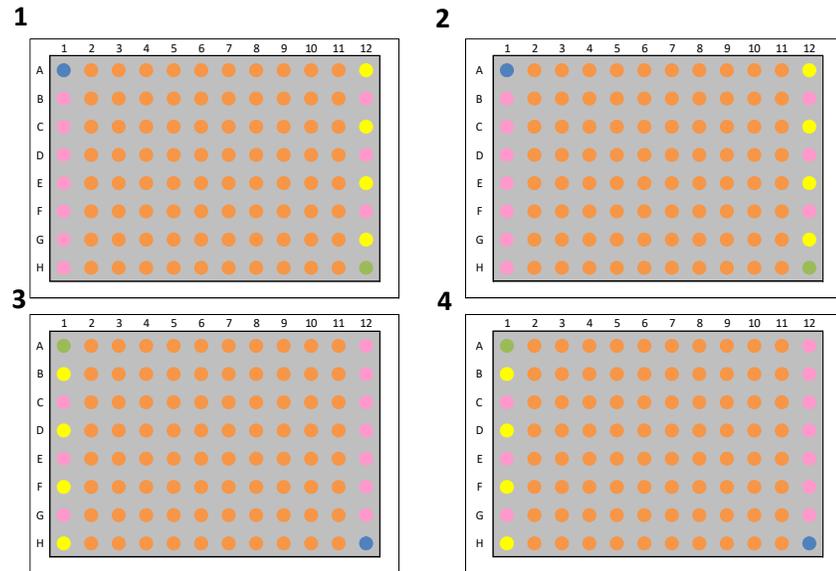
## 3.2. Elaboration des protocoles de criblage

Plaque de chimiothèque

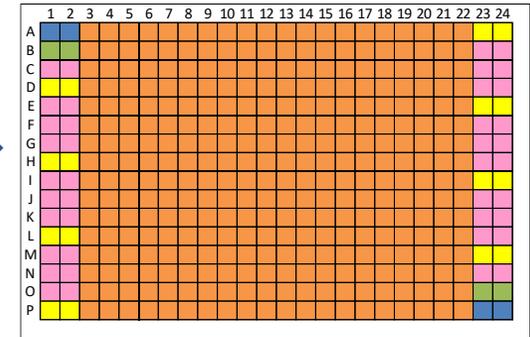


Collection de LYON, Arnaud Comte

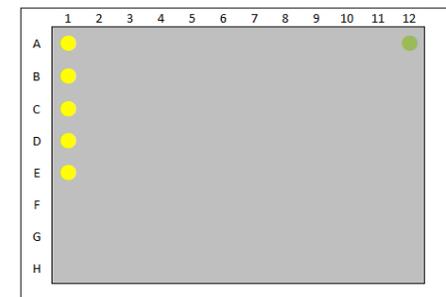
Plaque de dilution



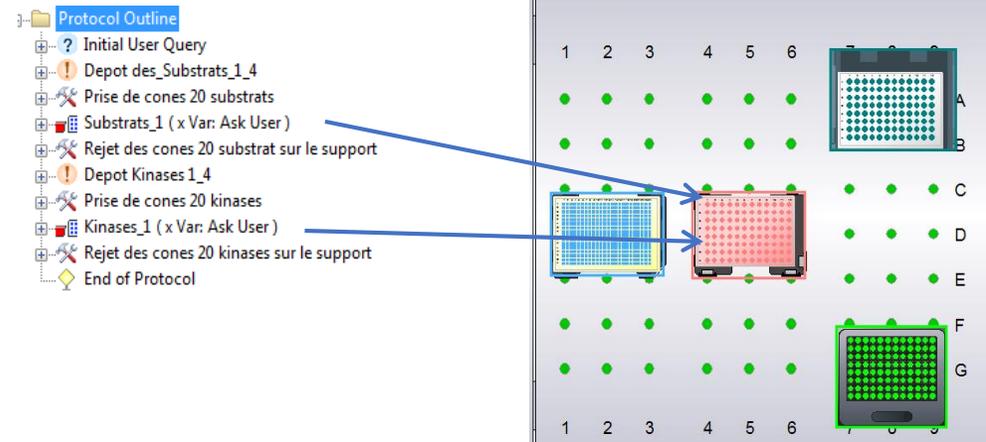
Molécule distribuée en plaque 384 puits



Contrôle d'activité : ajout de DMSO  
Contrôle d'inhibition : ajout de NVP-2  
Contrôle bruit de fond (sans kinase): ajout de DMSO  
molécules



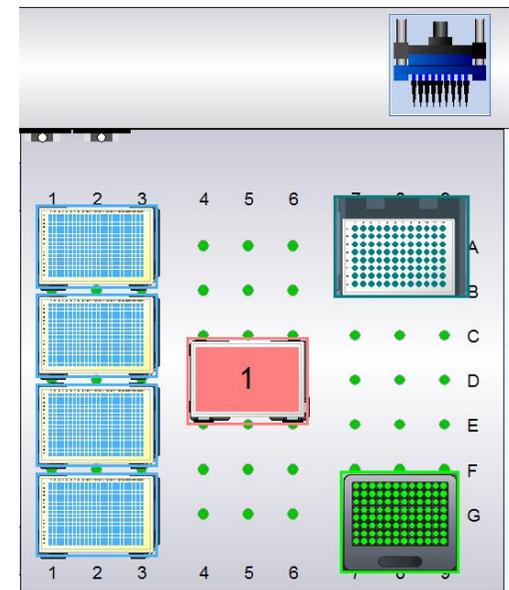
## Etape 2 distribution substrat Kinase tampon



Etape 3 distribution ATP

Etape 4 distribution ADP Glo reagent

Etape 5 distribution Kinase détection





- **Résultats bruts**

	Contrôle sans kinase	Contrôle sans substrat	L	H	M	L	H	M	L	H	M	L	H	M	L	H	M	L	H	M	L	H	Contrôle sans kinase	Contrôle sans substrat
A	2200	3320	5280	17280	11000	6520	16160	10440	6160	16080	9200	5440	16080	8440	6160	17680	9800	5200	18960	11280	5360	17280	2240	3760
C	2440	3040	5480	18160	8600	5520	19040	8520	6280	16920	9800	5760	18560	8200	6800	21120	9600	5800	18840	8640	5880	18520	2480	3360
E	2040	3160	6760	20160	9200	5520	21200	8720	5880	20760	10800	5720	20360	8640	5600	21200	8560	6160	18560	9600	5640	17200	2040	2880
G	2200	3120	6640	19200	9040	5080	18560	10160	5560	20960	8640	5480	20800	8560	5720	20400	11800	7720	20680	7840	5720	20720	2200	3360
I	1920	2960	5360	16560	7720	5280	18360	6600	5520	17240	7800	5360	18880	8880	5120	17640	9600	5520	18840	8200	4920	17920	2480	3200
K	1880	3720	4480	14560	8280	4320	19360	8720	5080	17320	12720	5240	20200	7600	4840	19360	7880	4880	18040	9200	5200	18440	2360	3160
M	2280	2960	4880	16000	6880	4440	15920	7160	5200	17600	8480	5000	17840	10080	4800	18680	8960	5640	17800	7240	4760	20760	2120	3120
O	1920	2920	5440	19360	9120	5440	20640	8200	5160	19320	9480	4760	20400	9920	6160	20960	10760	5320	22800	9920	5040	20640	2480	3440

Contrôle sans kinase	Contrôle sans substrat
2061,25	3191,25

	Low	High	Mid
Moyenn	5500,0	18801,4	9051,7
Ecart-type	630,11	1733,54	1261,78
CV	11%	9%	14%

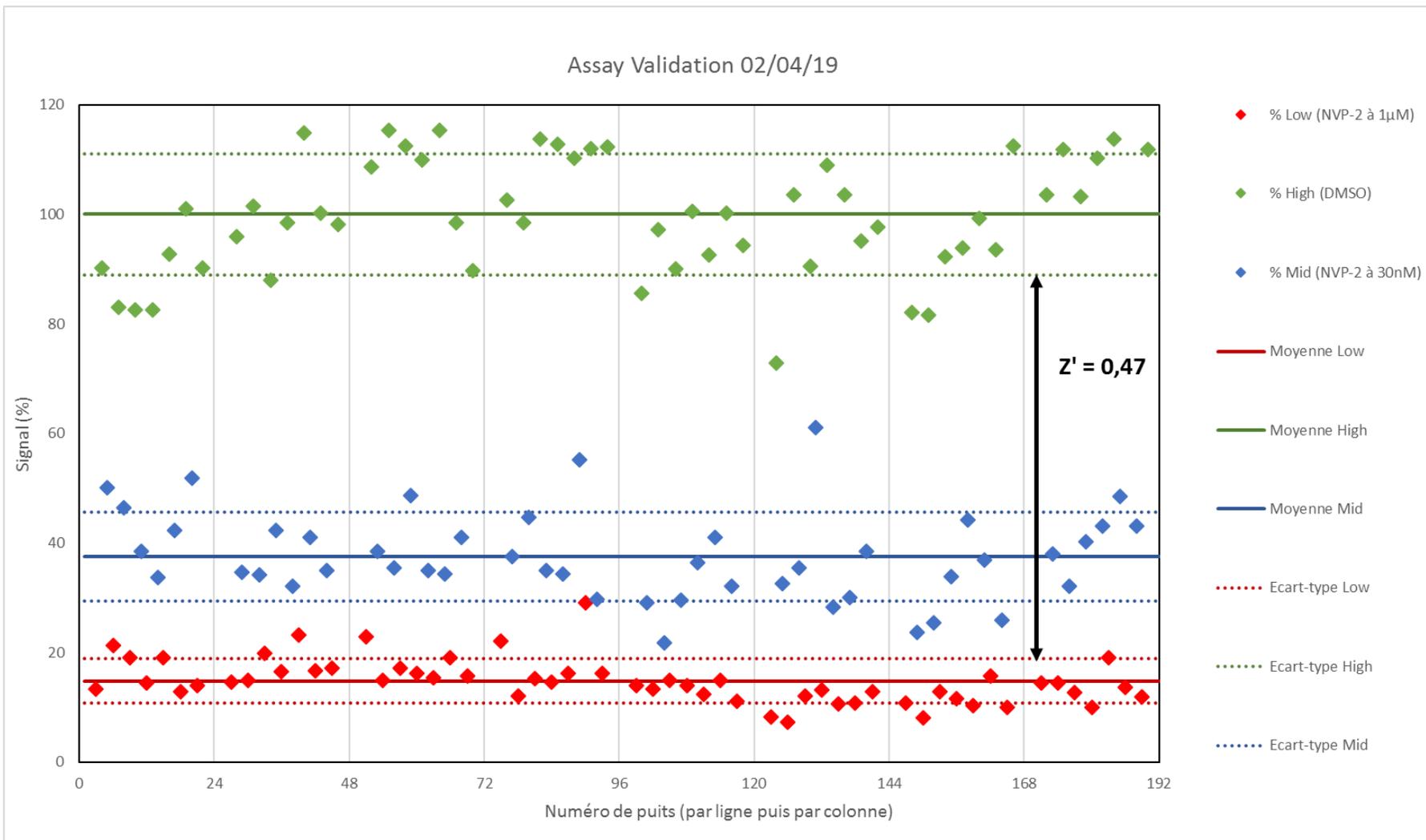
Critères d'acceptation  $CV_{low} < 20\%$

ou  $Ecart\text{-}type_{low} < \text{écart}\text{-}type_{mid} \text{ et } high$

- **Activités résiduelles en %**

	L	H	M	L	H	M	L	H	M	L	H	M	L	H	M	L	H	M	L	H
Pourcentages	13	90	50	21	83	46	19	83	38	14	83	34	19	93	42	13	101	52	14	90
	15	96	35	15	102	34	20	88	42	16	98	32	23	115	41	17	100	35	17	98
	23	109	38	15	115	35	17	113	49	16	110	35	15	115	34	19	98	41	16	90
	22	103	37	12	98	45	15	114	35	15	113	34	16	110	55	29	112	30	16	112
	14	86	29	13	97	22	15	90	30	14	101	36	12	93	41	15	100	32	11	94
	8	73	33	7	104	35	12	91	61	13	109	28	11	104	30	11	95	38	13	98
	11	82	24	8	82	25	13	92	34	12	94	44	10	99	37	16	94	26	10	113
	14	104	38	14	112	32	13	103	40	10	110	43	19	114	48	14	126	43	12	112

- **Courbe du facteur Z' (Signal = f(numéro de puits))**



Critères d'acceptation :  
 $SW > 2$  ou  $Z' > 0,4$

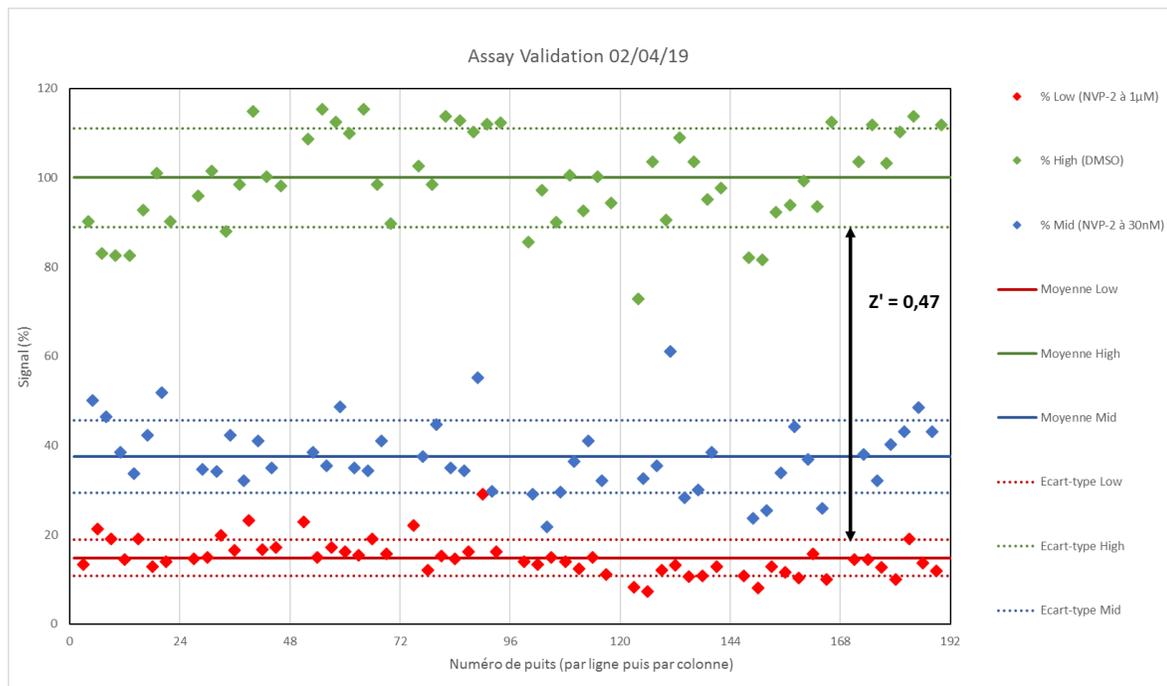
Moyenne	0,73
Ecart-type	9%

<20

SW	3,58
Z'	0,47

Obligatoirement < 1

- **Calcule du facteur Z'**



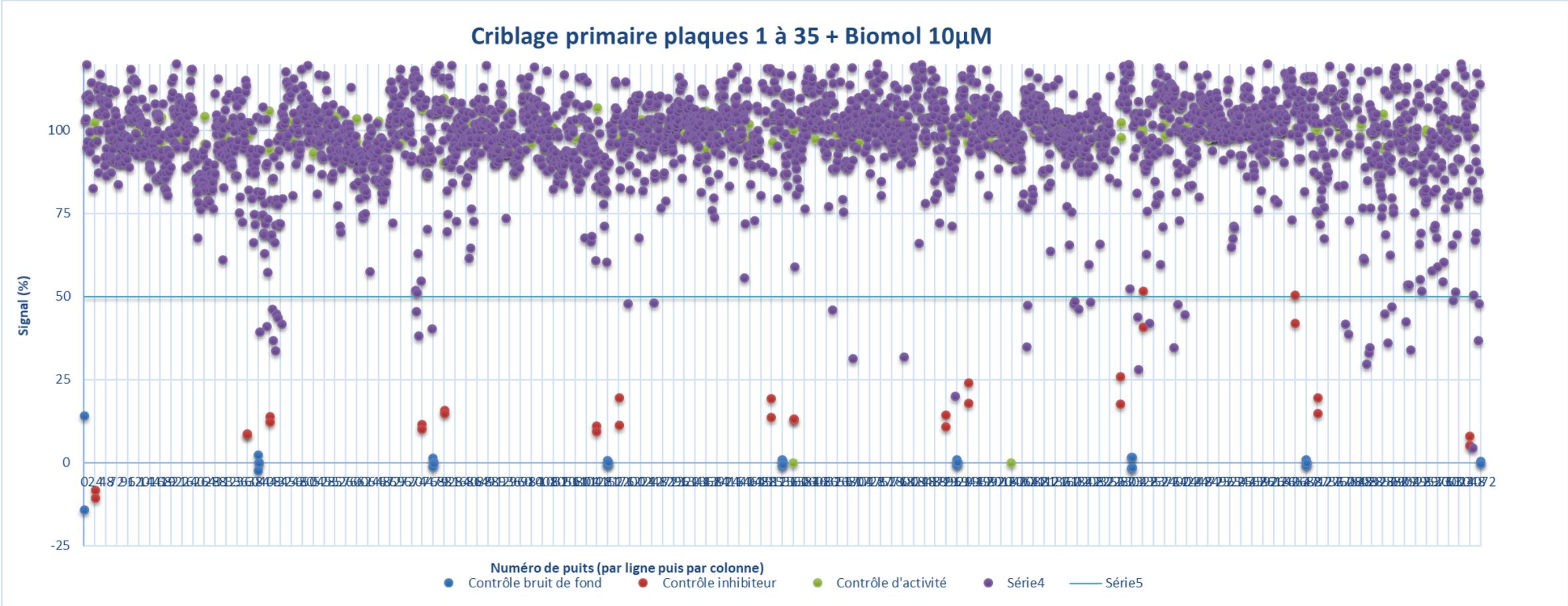
Critères  
d'acceptation :  
 SW > 2 ou Z' > 0,4

Moyenne	0,73	<20
Ecart-type	9%	

SW	3,58	Obligatoirement < 1
Z'	0,47	

$$\text{Facteur } Z' = \frac{(\text{Moyenne } \textit{high} - 3 \times \text{Ecart type } \textit{high}) - (\text{Moyenne } \textit{low} + 3 \times \text{Ecart type } \textit{low})}{(\text{Moyenne } \textit{high} - \text{Moyenne } \textit{low})}$$

# Réalisation de la campagne de criblage



2800 composés de la Collection de LYON, Arnaud Comte