

FICHE UE 6.22

Mention et/ou parcours dont relève cette UE : **Licence Sciences de la Vie**
Parcours-type : Biochimie Biologie Moléculaire

Numéro de l'UE : **6.22 EC 6.22A EC 6.22B EC 6.22C**

Nom complet de l'UE : **Mise en situation**
EC 6.22A Génie génétique
EC 6.22B Purification et caractérisation de protéines recombinantes
EC 6.22C Caractérisation des propriétés enzymatiques

Section CNU de rattachement de la discipline : **64**

Composante de rattachement : UFR Sciences et Technologies – Secteur Biologie (Nancy)

Nom du responsable de site : F. Talfournier francois.talfournier@univ-lorraine.fr

Semestre : 6

Volume horaire enseigné : 90 h

Nombre de crédits européens (ECTS) : 9

Volume horaire personnel de l'étudiant : 180 h

Langue d'enseignement de l'UE : Français

% d'intervenants extérieurs aux établissements cohabilités : 0%

Origine des intervenants (industrie....) : Université de Lorraine

Enseignements composant l'UE	Coef.	Volume horaire par type d'enseignement			
		CM	TD	TP	Autres
EC 6.23A Génie génétique Responsable : C. Jacob	0.33		6	24	
EC 6.23B Purification et caractérisation de protéines recombinantes Responsable : B. Chagot	0.33		10	20	
EC 6.23C Caractérisation des propriétés enzymatiques Responsable : F. Talfournier	0.33		6	24	

Descriptif:

L'objectif de cette UE est de concevoir puis de mettre en œuvre une démarche expérimentale intégrée type « du gène à la fonction » permettant d'aboutir à la caractérisation des propriétés d'une enzyme de réparation des protéines : la méthionine sulfoxyde réductase A (MsrA) de *Neisseria meningitidis*.

EC 6.23A Génie génétique :

- amplification d'un fragment d'ADN db portant l'ORF du gène *msrA* par PCR sur colonie suivi d'un clonage A-T puis d'un sous-clonage dans un vecteur d'expression type pET
- mutagenèse dirigée par PCR : substitution d'un des résidus Cys de la MsrA
- tests de production des formes sauvage et mutées dans des souches d'*Escherichia coli* : choix de la souche d'*E. coli*, milieux de culture, conditions d'induction

EC6.23B Purification et caractérisation de protéines recombinantes :

- analyse de la structure et des propriétés structurales et fonctionnelles de la structure de MsrA sur ordinateur.
- mise en place d'un protocole permettant la purification de la protéine exprimée.
- purification de la protéine MsrA sur système type FPLC.
- caractérisation de la protéine purifiée par des techniques biophysiques.

EC 6.23C Caractérisation des propriétés enzymatiques :

- La MsrA de *N. meningitidis* : Détermination des constantes catalytiques à l'état stationnaire de la forme sauvage et des

mutants des résidus Cys à l'aide d'un système enzymatique couplé (thiorédoxine/thiorédoxine réductase/NADPH). Stœchiométrie de formation de la méthionine en conditions de cycles catalytiques uniques ou multiples (CCM) et identification des intermédiaires formés (titration des SH en conditions natives et dénaturantes, analyse des profils électrophorétiques). Détermination de la constante de vitesse associée à l'étape réductase (stopped-flow).

Pré-requis : Notions abordées dans les enseignements théoriques du parcours

Acquis d'apprentissage :

Concevoir et mettre en œuvre une stratégie expérimentale pour répondre à une question scientifique.

Compétences visées :

- Mobiliser les concepts fondamentaux et les technologies de génie génétique, biochimie/biophysique et enzymologie pour traiter une problématique du domaine.
- Mener en autonomie les différentes étapes d'une démarche expérimentale.
- Analyser et synthétiser des données en vue de leur exploitation.