

PUBLIC

Techniciens de laboratoire,
ingénieurs, chercheurs.

PRÉ-REQUIS

Notions en ADN, structure et
transmission de l'information
génétique chez les bactéries
(réplication, transcription,
traduction, transferts génétiques)

DURÉE

4.5 jours (27h)

DATES

2^e semestre 2024

PRIX SESSION/PERSONNE

2 200€ / personne
Maximum 10 personnes

LIEU

IUT de Montpellier-Sète
99 Avenue d'Occitanie
34 296 Montpellier cedex 5



COMPÉTENCES VISÉES

- **Mettre en œuvre des techniques d'ingénierie moléculaire en biologie de la santé et manipuler les génomes** dans le respect de la réglementation en vigueur
- **Initiation à l'utilisation de *benchling*** (logiciel open-source de biologie moléculaire pour désigner les primers et prédire un clonage)
- **Réalisation d'un clonage par PCR en entier** (de la création des primers jusqu'à l'obtention des bactéries permettant l'expression inductible de la protéine d'intérêt codée par le plasmide obtenu par clonage)

PROGRAMME DE LA FORMATION

Partie théorique : 12h

Gènes / amplification par PCR / design de primers avec sites enzymatiques / Bactéries DH5α

Plasmides d'expression inductible de protéines : ex du pET30

Digestion enzymatique (enzymes de restriction) et analyse

Clonage / sélection par antibiotique ou système blanc/bleu

Ligation/ transformation

Minipréparation d'ADN pour avoir le plasmide pour analyse par digestion enzymatique

Dosage par spectrophotométrie de l'ADN plasmidique (DIFRRAC.EVA)

LES +

La formation est basée sur une approche pratique en groupe réduit (maximum 10 participants).

Intervenante : Normalienne agrégée de l'ENS Cachan, Mary Arnould enseigne à l'IUT dans les domaines de la biochimie, de la biologie moléculaire et cellulaire. Elle est également chercheuse associée à l'Institut de Recherche en Infectiologie de Montpellier (IRIM).

PUBLIC

Techniciens de laboratoire,
ingénieurs, chercheurs.

PRÉ-REQUIS

Notions en ADN, structure et
transmission de l'information
génétique chez les bactéries
(réplication, transcription,
traduction, transferts génétiques)

DURÉE

4.5 jours (27h)

DATES

2^e semestre 2024

PRIX SESSION/PERSONNE

2 200€ / personne
Maximum 10 personnes

LIEUX

IUT de Montpellier-Sète
99 Avenue d'Occitanie
34 296 Montpellier cedex 5



PROGRAMME DE LA FORMATION

Partie pratique : 15h

À l'issue des TD et TP, vous serez capable de :

Créer un couple d'amorces (= primer) de PCR pour amplifier un CDS (Coding DNA Sequence) d'intérêt en ajoutant les sites de restriction nécessaires au clonage dans le vecteur plasmidique choisi tout en respectant le cadre de lecture

Réaliser une PCR de clonage à partir d'un plasmide contenant le CDS à amplifier (préparer les réactifs, mettre en œuvre la PCR et programmer le thermocycleur avec les bons paramètres en fonction du Tm des amorces et de la taille du CDS)

Vérifier l'obtention du produit de PCR par migration sur gel d'agarose et purifier le produit de PCR en utilisant le Kit InnuPREP PCRpure d'Eurobio scientifique

Digérer le produit de PCR purifié et le plasmide vecteur en utilisant les enzymes adaptées pour le clonage du CDS amplifié par PCR et faire migrer les produits de digestion du vecteur digéré sur gel d'agarose

Purifier le produit de PCR digéré et le produit de digestion du vecteur découpé du gel d'agarose en utilisant le Kit Wizard® SV Gel and PCR Clean-up System (Promega)

Faire la ligation du produit de PCR digéré avec le produit de digestion du vecteur et faire une transformation de bactéries DH5α compétentes par choc thermique avec le produit de ligation

Choisir un couple d'amorces adapté pour une PCR sur colonies (une amorce sur l'insert, une amorce sur le vecteur), mettre en œuvre une PCR sur colonies (utilisation de la GoTaq) et l'analyser par migration sur gel d'agarose

Mettre en culture une colonie contenant le plasmide d'intérêt, les congeler, et réaliser une miniprep d'ADN plasmidique et le doser au nanodrop

Transformer des bactéries d'expression protéique (BL21 Rosetta) avec le plasmide obtenu par miniprep et faire une culture en présence d'IPTG pour vérifier l'expression de la protéine