|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | Matin | | Après-midi |
| Lundi 9h | Présentation du TP  Amplification par PCR de *lamAcat*  Dépôt sur gel d’agarose pour vérification  Culture *E. coli* avec vecteur d’expression vide pFO4  Analyse Primer ? (si salle info dispo) | | |
| Mardi 9h | Extraction plasmidique du vecteur pFO4 et quantification  Purification des produits de PCR  Dépôt sur gel des amplicons purifiés et du vecteur pFO4  Digestion des fragments PCR et du vecteur  Purification des produits digérés  Ligation du gène digéré dans le vecteur  Transformation du produit de ligation dans les cellules DH5α | | |
| Mercredi 9h | PCR sur colonie | | Mises en culture liquide des clones |
| Jeudi 9h | Extraction des vecteurs  Transformation en souche d’expression | | |
| Vendredi 9h | Intervenant :  Pi Nyvall-Collen, Responsable R&D Amadeite (Olmix)  Culture en milieu ZYP 3 j à 20°C | TD Bio-informatique Salle IGM | |
| Lundi 9h | Centrifugation des cultures  Congélation des culots  Vérification de la surexpression de LamAcat sur gel SDS-PAGE | Cassage des cellules  Début de purification | |
| Mardi 9h | Suite de la purification des protéines  Vérification sur gel SDS-PAGE  Concentration et changement de tampon de la protéine purifiée | | |
| Mercredi 9h | Etudes des paramètres cinétiques de LamAcat  Expériences de cristallogenèse sur LamAcat (intervention d’A. Jeudy, AI CNRS) | | |
| Jeudi 9h | Intervenant :  Morgane Rousselot (Agrival) | Résultats et discussion  Mise en forme du compte rendu | |
| Vendredi 9h | Compte rendu oral | | |