

Fiche de proposition de stage de L3 et M1 UFR Chimie et Biologie

Cochez la spécialité correspondant à ce stage:

M1CV

L3C

L3CB

Adresse et appartenance du laboratoire :

Équipe « Poxvirus », groupe « Viral replication machines »
Institut de Biologie Structurale (IBS) CIBB
71 avenue des Martyrs
38000 Grenoble

Thématique générale du laboratoire ou du groupe de recherche (par mots clés)

Biologie structurale, cristallographie des protéines, méthodes biophysiques, poxvirus, virus large à ADN, machine de réplication d'ADN, ADN polymérase, hélicase-primase

Thème du stage proposé (en 10 lignes, si possible)

TITRE : Machine de réplication du virus de la vaccine

3 sujets au choix :

1. Génération de mutants de résistance de la polymérase E9 du virus de la vaccine dans le système d'expression baculovirus – cellules d'insecte
2. Production et cristallisation de domaines des protéines de la machine de réplication produites en *E. coli*
3. Mise en place d'un test d'activité polymérase et test de l'inhibition par des anti-viraux

DESCRIPTION : Nous travaillons sur la compréhension de l'ADN polymérase du virus de la vaccine dont nous avons résolu la structure ainsi que nous travaillons sur une seconde enzyme de la fourche de réplication, l'hélicase-primase. Les 3 propositions s'inscrivent dans cette thématique :

1. Génération de mutants résistants de la polymérase pour des études biochimiques et structurales
2. Cristallisation de fragments du facteur de processivité ou de l'hélicase-primase dont nous n'avons pas pu déterminer la structure à ce jour
3. Développement d'un test d'activité polymérase pour pouvoir analyser mutants et inhibiteurs.

Méthodologies et/ou techniques qui seront utilisées

1. Mutagenèse dirigée, clonage, culture de cellules d'insectes, transfection, purification de protéine sur colonne nickel
2. Clonage, expression en *E. coli*, purification sur colonne d'affinité, caractérisation biophysique et cristallisation
3. Sondes fluorescentes, électrophorèse sur gel, FRET, « quenching » de fluorescence, fluorimétrie, intercalant fluorescents.

Personne à contacter (préciser si nécessaire les créneaux horaires) :

Nom : Burmeister

Tel: 04 57 42 87 41

E-mail: wim.burmeister@ibs.fr

<http://www.ibs.fr/recherche/groupe-de-recherche/groupe-machines-de-replication-virale-m-jamin/equipe-burmeister/article/machine-de-replication-des-poxvirus>

Fiche de renseignements à retourner (document pdf) par E. mail à: Saioa.Cobo@ujf-grenoble.fr sous la forme :

Burmeister_replication_vaccine.pdf