

# Résistance aux antibiotiques: purification et analyse structurale par CryoEM de transporteurs bactériens

 **ECTS**  
6 crédits

 **Volume horaire**  
70h

 **Période de  
l'année**  
Semestre 3

## Présentation

### DESCRIPTION

The goal of this teaching unit is to offer an hands-on training for master students for the purification of membrane proteins for functional and cryoEM structural characterisation as a model an ABC transporter involved in antibiotic efflux.

During the first week, students will purify a bacterial membrane protein responsible for antibiotic resistance. The purified transporter will then be reconstituted into a lipid environment using nanodiscs, which provide a native-like membrane setting suitable for both functional and structural characterization. Each student pair will work with a distinct lipid composition to assess how membrane composition influences the transporter enzymatic properties, particularly its drug-stimulated ATPase activity. Students will perform a full analysis of their purification results and enzymatic activity measurements.

In parallel, they will attend a series of lectures and seminars given by experts in membrane proteins, antibiotic resistance, biochemistry, and structural biology. These sessions aim to connect the experimental work carried out during practical sessions to a broader molecular understanding of resistance mechanisms and to current strategies for developing new therapeutic approaches. The week will conclude with a student driven scientific discussion, where they will compare, and discuss the collective results obtained by the different groups, reinforcing their scientific communication and collaborative analysis.

During the second week, students will use their purified and reconstituted transporter samples to prepare cryoEM grids. They will learn the practical aspects of grid preparation, vitrification, and data collection using the cryoEM instrumentation at the I2BC. The acquired micrographs will then be processed through all key computational steps, including motion correction, particle picking, 2D classification, 3D reconstruction, and map refinement, to obtain a high-resolution density map of the transporter. Using this map, students will build and refine an atomic model, allowing them to visualize the structural features underlying the protein function and its role in antibiotic resistance. This hands-on experience will be complemented by lectures and workshops focusing on cryoEM data processing workflows leading to cryoEM maps compatible with atomic model building and their analysis.

### OBJECTIFS

Objectifs d'apprentissage

- OAV 1 : Connaître et discuter les mécanismes moléculaires d'antibiorésistance au travers d'exemples diversifiés.

**Pour en savoir plus, rendez-vous sur > [u-paris.fr/choisir-sa-formation](https://u-paris.fr/choisir-sa-formation)**

OAV 2 : Connaître et discuter les techniques de purification et caractérisation fonctionnelle des protéines membranaires.

- OAV 3 : Connaître et discuter les techniques de préparation d'échantillon pour la cryo microscopie électronique.
- OAV 4 : Connaître et discuter les stratégies d'analyse des données de particules uniques en cryo microscopie électronique.
- OAV 5 : Partager ses résultats avec ses camarades et savoir faire une analyse synthétique de l'ensemble des résultats obtenus par le groupe (mise en commune d'une partie des résultats de TP).

OAV 6 : Communiquer à l'écrit et l'oral des résultats scientifiques (compte rendu et présentation orale de leurs résultats de TP).

**Compétences à acquérir :**

- CA 1 : Purification de protéine membranaire
- CA 2 : Reconstitution de protéine membranaire en détergent dans un environnement lipidique (nanodisques).
- CA 3 : Préparation d'échantillon et traitement de données issues pour la cryo microscopie électronique.
- CA 4 : Construction et analyse de modèle moléculaires à partir de carte de densité obtenue de carte de densité électronique.

## INFORMATIONS COMPLÉMENTAIRES

---

Lieu d'enseignement : Campus Paris-Saclay

**Pour en savoir plus, rendez-vous sur > [u-paris.fr/choisir-sa-formation](https://u-paris.fr/choisir-sa-formation)**