Génie génétique et biochimie

UE 58

Enseignant(s) responsable de l'UE : Philippe MAURER

Année d'études	Bloc 4
Acronyme	TLU42BGGBIO
Nombre de crédits ECTS	5 (facteur de pondération)
Volume horaire	56 h (Q1 0 / Q2 56)
Période de l'année	Quadrimestre 2
Niveau du cycle	2e cycle
Cadre européen de certification	Niveau 7
Caractère dans le programme	Cours obligatoire dans le programme
Langue(s) d'enseignement	Français
Coordonnées du service	Campus de Bruxelles, Avenue Émile Gryson 1 (bât. 4C), 1070 Bruxelles
Mode d'évaluation	Unité évaluée en épreuves spécifiques par activité d'apprentissage
UE prérequises	Néant
UE corequises	Néant

Liste des activités d'apprentissage

Activité d'apprentissage	Volume horaire	ECTS	Présence obligatoire
TLB42GEN Génie génétique	26	3	NON
TLB42LGENGB Laboratoire de Génie génétique et Biochimie	30	2	OUI

Contribution de l'UE au profil d'enseignement du programme

- **RE01** ARES. 1 01. Identifier, conceptualiser et résoudre des problèmes complexes
- **RE01.1** ARES. 1.1 Intégrer les savoirs scientifiques et technologiques afin de faire face à la diversité et à la complexité des problèmes rencontrés
- **RE02** ARES. 2 02. Concevoir et gérer des projets de recherche appliquée
- **RE02.2** ARES. 2.2 Réaliser des simulations, modéliser des phénomènes afin d'approfondir les études et la recherche sur des sujets technologiques ou scientifiques
- **RE02.3** ARES. 2.3 Mener des études expérimentales, en évaluer les résultats et en tirer des conclusions
- **RE02.5** ARES. 2.5 Exploiter les résultats de recherche
- **RE03** ARES. 3 03. Développer et appliquer les ressources techniques et technologiques liées au domaine de la biochimie
- **RE03.1** ARES. 3.1 Rédiger, présenter, discuter, et argumenter des rapports techniques et expérimentaux, protocoles, synthèses bibliographiques, résultats d'analyses, bilans, synthèses bibliographiques ou autres documents scientifiques sur base des données scientifiques et techniques actuellement disponibles (recherche de données pertinentes).
- **RE03.2** ARES. 3.2 Sélectionner des matières premières ou nutriments, créer ou sélectionner une souche microbienne, une cellule animale, un vecteur, …, innover, améliorer, modéliser et schématiser des protocoles, modes opératoires, dispositifs d'analyse, des installations de « Up Stream Processing » ou « Down Stream Processing ».
- **RE03.4** ARES. 3.4 Connaitre et évaluer les risques liés à l'utilisation d'organismes vivants éventuellement recombinés.
- **RE03.6** ARES. 3.6 Respecter et faire respecter les législations et réglementations en vigueur, les normes et les procédures en termes d'assurance qualité, d'hygiène, de biosécurité, de systèmes de certification, et ce au travers par exemple des bonnes pratiques GMP/GLP, des normes internationales ISO ou européennes EN, des règles de biosécurité relative par exemple à l'utilisation d'OGM et/ou d'organismes

pathogènes, de protection des travailleurs exposés à des agents biologiques au travail, de normes HACCP, ...Assurer la production en respectant le cahier des charges (spécifications), les coûts et les délais.

- **RE04** ARES. 4 04. S'intégrer et contribuer au développement de son milieu professionnel
- **RE04.3** ARES. 4.3 Travailler en autonomie et en équipe dans le respect de la culture d'entreprise
- **RE07** ARES. 7 07. S'engager dans une démarche de développement professionnel
- **RE07.2** ARES. 7.2 S'autoévaluer pour identifier ses besoins de développement
- **RE07.4** ARES. 7.4 Organiser son savoir de manière à améliorer son niveau de compétence

Autres connaissances ou compétences prérequises

Génie génétique

Cours de Biochimie 3, de Microbiologie 2 et les laboratoires de Microbiologie 2 du Q1.

Laboratoire de Génie génétique et Biochimie

Cours de Biochimie 3, de Microbiologie 2 et les laboratoires de Microbiologie 2 du Q1.

Descriptif des objectifs et des contenus de l'UE

Génie génétique

Objectifs

- Donner une vision large des nombreux **intérêts et applications du Génie génétique dans les biotechnologies**.

- Étudier et comprendre les **principaux outils et les principales techniques d'étude des acides nucléiques**.

- Étudier et comprendre les **différentes étapes du clonage d'un gène**.

- Étudier et comprendre les **caractéristiques des différents vecteurs de clonage et des différents vecteurs d'expression** (de même que leurs avantages et leurs inconvénients) en bactéries, levures, cellules animales.

- Pouvoir **construire une souche** (procaryote versus eucaryote) **recombinante exprimant une transprotéine d'intérêt** (industriel vs thérapeutique vs écologique, ...).

- Acquérir et intégrer les **différents concepts du Génie génétique, pré requis** indispensable à la compréhension des cours de Biochimie appliquée, de Génie biochimique, de Biochimie industrielle, ...

Contenu

- Outils utilisés pour l'**étude des acides nucléiques** : extraction, purification, centrifugations, quantification, enzymes, électrophorèses, séquençage, synthèse d'oligonucléotides, ...

- Techniques utilisées pour l'**étude des acides nucléiques** : sondes (froides et chaudes), hybridations (Southern et Northern blot), PCR, RT-PCR, ...

- Principales **étapes du clonage d'un gène** : préparation de l'ADN donneur, préparation de l'ADN receveur, modifications des extrémités, différents vecteurs de clonage et/ou d'expression, ligature de l'insert dans le vecteur, modes de transfert du vecteur recombinant dans les cellules hôtes, sélection des cellules recombinantes, ...

- Différents **vecteurs de clonage et/ou d'expression** : caractéristiques, séquences utiles, avantages, inconvénients, analyses de cartes plasmidiques (plasmides synthétiques, vecteurs d'expression bactériens/levuriens/en cellules de mammifères (+ optimisation)), vecteurs navettes/shuttles, vecteurs phagiques de substitution-remplacement, cosmides, YAC, gènes rapporteurs, ...

- **Méthodes d'introduction des vecteurs recombinants dans des cellules hôtes, sélection, criblage et**

vérification des clones positifs.

Laboratoire de Génie génétique et Biochimie

Objectifs

- **Illustrer les cours théoriques de Biochimie et de Génie génétique** (ADN → ARNm → protéines → phénotype).

- Familiariser les étudiants aux **techniques classiques de laboratoire** en les sensibilisant particulièrement aux **règles strictes de manipulation**. Manipulation d'essai vs manipulation définitive.

- Former les étudiants à être **autonome au sein d'un laboratoire de Génie génétique/Biochimie** au point de vue organisationnel (gestion de son travail, du matériel et des produits).

- Former les étudiants à l'**analyse des macromolécules** (ADN, ARN, protéines) et les **sensibiliser aux nombreux contrôles** à effectuer), former les étudiants à l'expression des résultats et à l'interprétation rigoureuse de ceux-ci (cf. rédaction de rapports).

- Acquérir une **démarche de pensée logique, analytique, pertinente et rigoureuse** ; et développer son autonomie et son esprit critique dans la résolution de problèmes.

Contenu

- **Clonage complet d'un gène hétérologue** (cf. gène « rapporteur » gfp codant la *green fluorescent protein*) : préparation d'ADN plasmidique (vecteur de clonage et vecteur d'expression), dosages, digestions par des endonucléases de restriction, électrophorèse sur gel d'agarose, analyse des profils obtenus, récupération et purification des fragments d'intérêt, ligature (directionnelle) de l'insert dans un vecteur d'expression inductible (à l'arabinose), …

- **Transgénèse du vecteur recombinant dans une cellule hôte bactérienne** : transformation thermique des bactéries (chimio compétentes).

- **Criblage des clones positifs** (sélection Amp®, « blanche-bleue », digestions, …) et **amplification du candidat d'intérêt**.

- **Expression** (inductible) **transitoire et divers purifications** (sommaires) de la protéine rapportrice correspondante (GFP).

- **Manipulations annexes** : extraction d'ADN génomique, PCR, …

- **Exercices théoriques**.

Activités et méthodes d'apprentissage et d'enseignement

Génie génétique

- L'enseignement est principalement de type magistral : exposé verbo-iconique (supporté par une projection de présentations PowerPoint).

- Méthode interactive : une participation active à chaque séance du cours est vivement recommandée.

Laboratoire de Génie génétique et Biochimie

- Une **introduction** repositionnant la manipulation dans son contexte théorique est réalisée en début de chaque séance.

- Les étudiants réalisent, **individuellement ou en binôme, les manipulations** précitées sur base des protocoles présentés dans le syllabus (préparation à domicile).

- **Démonstrations pratiques**.

- Le titulaire des TP passe « d'étudiant en étudiant ».

Acquis d'apprentissage sanctionnés, spécifiques et contribuant à l'UE

Génie génétique

Aux termes du cours de Génie génétique, l'étudiant est capable de :

- De s'approprier les savoirs théoriques du Génie génétique et d'en maîtriser sa terminologie.

- De comprendre l'utilité et la praticité des principaux outils utilisés pour la « caractérisation des acides nucléiques : extraction, purification, centrifugations, quantification, enzymes, électrophorèses, séquençage, synthèse d'oligonucléotides, ...

- De comprendre l'utilité et la praticité des principales techniques de base utilisées pour l'étude des acides nucléiques : sondes (froides et chaudes), hybridations (Southern et Northern blot), PCR, RT-PCR, ... en apportant une attention particulière aux nombreux contrôles (positifs et négatifs) inhérents à l'interprétation des résultats.

- De développer et de maîtriser les différentes étapes d'une stratégie de clonage complète (cf. préparation de l'ADN donneur, choix du vecteur (de clonage vs d'expression), préparation de l'ADN receveur, modifications des extrémités, ligature de l'insert dans le vecteur, introduction du vecteur recombinant dans un hôte (intermédiaire vs final), sélection des cellules recombinantes, identification du clone recombinant d'intérêt, ...).

- D'analyser les avantages et les inconvénients des différents vecteurs de clonage et/ou d'expression (constitutive vs inductible) en cellules bactériennes, levuriennes, de mammifères.

- D'interpréter et de justifier l'utilité des différentes séquences nucléotidiques présentes sur la carte plasmidique d'un vecteur de clonage et/ou d'expression, de même que leur optimisation.

Laboratoire de Génie génétique et Biochimie

Aux termes des laboratoires de Biochimie, l'étudiant est capable de :

- De réaliser le clonage complet d'un gène : préparation d'ADN plasmidique (vecteur de clonage et vecteur d'expression), dosages, digestion par des endonucléases de restriction, séparation des produits de digestion sur gel d'agarose, analyse des profils obtenus, récupération et purification des fragments d'intérêt, ligature de l'insert dans un vecteur d'expression, ...

- D'introduire le vecteur recombinant dans une cellule hôte bactérienne : transformation thermique des bactéries (chimio compétentes).

- De cribler les clones positifs (sélection Amp®, « blanche-bleue », digestions, ...) et amplification du candidat d'intérêt.

- D'exprimer et de purifier (sommairement) la protéine d'intérêt.

- D'analyser qualitativement et quantitativement le produit du gène cloné : gels de protéines SDS-PAGE, coloration au bleu de Coomassie, ...

- De réaliser de manière autonome une expérience sur base du protocole fourni.

- De présenter de manière adéquate les résultats expérimentaux obtenus, de les analyser de manière rigoureuse et pertinente et de les interpréter en regards des résultats théoriques attendus. Validation des contrôles positifs et négatifs.

- De présenter une communication écrite de qualité.

- De répondre à différents questionnements : calculer un rendement d'extraction et de purification d'un plasmide, calculer la concentration d'un plasmide, de déterminer le profil de digestion d'un plasmide, choisir les meilleures enzymes, positionner des oligonucléotides sur une séquence nucléotidique, calculer un rendement de transformation, ...

Description des supports de cours indispensables

Description	Accès à la source	URL
Toute l'UE : Syllabus de TP, fiches techniques des réactifs et des kits utilisés sont distribuées aux étudiants en début de période.	Le support est distribué au cours	—
Toute l'UE : Table des matières détaillée. Les versions informatiques pdf des présentations PPT projetées en auditoires.	Ce support de cours est disponible sur le campus numérique	—

Description des références et des supports complémentaires

Description	Accès à la source	URL
Toute l'UE : Une liste complète de références bibliographiques est distribuée aux étudiants.	Ce support de cours est disponible sur le campus numérique	—

Mode d'évaluation et de pondération par activité au sein de l'UE

Cette unité d'enseignement est évaluée en épreuves spécifiques par activité d'apprentissage.

Méthode d'intégration :

- Si aucune des notes des différentes AA qui composent l'UE ne se situe en deçà de 8/20, c'est la technique de la moyenne arithmétique pondérée qui est appliquée.
- Si la note d'une ou plusieurs AA composant une UE se situe en deçà de 8/20, la note finale de l'UE correspondra à la plus mauvaise des notes reçues.

Juin			
Génie génétique — méthode d'intégration : 60 %			
Examen oral	100 %	Type de questions : Questions ouvertes	Examen à livre : Livre fermé
- Une liste de **questions « ouvertes », préparatoires à l'examen**, est distribuée en cours d'année aux étudiants. - Lors de l'**examen**, **deux questions « ouvertes » sont tirées au sort** par parmi la liste pré citée. - Après une **préparation écrite de 30 minutes**, **l'étudiant expose oralement ses réponses (30 minutes)**. - Ces questions préparées sont le **point de départ de l'examen qui, par la suite, vérifiera la maîtrise du cours dans son ensemble** (cf. mots-clés, concepts, propriétés, ... à expliquer à « brûle-pourpoint »).			
Laboratoire de Génie génétique et Biochimie — méthode d'intégration : 40 %			
Examen écrit	50 %	Type de questions : Questionnaire mixte (combinaison de plusieurs types de questions différentes)	Examen à livre : Livre fermé
Examen écrit sur la théorie (+ exercices) exploitée lors des laboratoires. Il compose 50 % de la note finale (↔ remédiable en 2ème session).			
Rapport / dossier (hors session)	50 %	Type de questions : —	Examen à livre : Livre ouvert
Le rapport individuel et global est remis au plus tard 10 jours après la dernière journée de laboratoire constitue 50 % de la note (↔ non remédiable). **Pour le % d'absence autorisé tout comme pour les arrivées tardives au laboratoire, se référer au RGEE.**			

Août			
Génie génétique — méthode d'intégration : 60 %			
Examen oral	100 %	Type de questions : Questions ouvertes	Examen à livre : Livre fermé
- Une liste de **questions « ouvertes », préparatoires à l'examen**, est distribuée en cours d'année aux étudiants. - Lors de l'**examen**, **deux questions « ouvertes » sont tirées au sort** par parmi la liste pré citée. - Après une **préparation écrite de 30 minutes**, **l'étudiant expose oralement ses réponses (30 minutes)**. - Ces questions préparées sont le **point de départ de l'examen qui, par la suite, vérifiera la maîtrise du cours dans son ensemble** (cf. mots-clés, concepts, propriétés, … à expliquer à « brûle-pourpoint »).			
Laboratoire de Génie génétique et Biochimie — méthode d'intégration : 40 %			
Examen écrit	50 %	Type de questions : Questionnaire mixte (combinaison de plusieurs types de questions différentes)	Examen à livre : Livre fermé
Examen écrit sur la théorie (+ exercices) exploitée lors des laboratoires. Il compose 50 % de la note finale (↔ remédiable en 2ème session).			
Rapport / dossier (hors session)	50 %	Type de questions : —	Examen à livre : Livre ouvert
Le rapport individuel et global remis au plus tard 10 jours après la dernière journée de laboratoire constitue 50 % de la note (↔ non remédiable). **Pour le % d'absence autorisé tout comme pour les arrivées tardives au laboratoire, se référer au RGEE.**			