

Génie génétique et biochimie	UE 54
-------------------------------------	--------------

CATEGORIE : TECHNIQUE	SECTION : Sciences Industrielles
	OPTION : Biochimie
Année : BLOC 4	
Acronyme : TLU42BGGBIO	
Langues d'enseignement : Français	
Coordonnées du service : HELdB - CAMPUS CERIA Bâtiment 4C - 1er étage Avenue Emile Gryson 1 - 1070 Bruxelles	
Enseignant responsable : MAURER P. - philippe.maurer@cnldb.be	
Autre(s) enseignant(s) de l'UE :	
Nombre d'heures : 60 h	Nombre de crédits : 5 ECTS (Facteur de pondération)
Niveau du cycle : 2	Période : Q2
Cadre européen de certification : Niveau 7	
Liste des UE pré requises : Néant	
Liste des UE co requises : Néant	
Caractère obligatoire ou au choix dans le programme ou option de l'étudiant :	
Cours obligatoire dans le programme.	

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

Au terme de sa formation, le master en **Sciences Industrielles** est capable de :

- Rédiger des rapports, fiches techniques, protocoles ou manuels d'utilisation en les rendant accessibles et adaptés au public cible (AAT 2).
- Seul ou en groupe, d'organiser son temps, de planifier son travail et de respecter les délais en tenant compte des priorités et des moyens (AAT 4).
- De fait preuve de réflexivité, d'assumer la responsabilité de ses choix et de s'autoévaluer dans le cadre de ses projets (AAT 7).
- D'identifier, de traiter et de synthétiser les données pertinentes pour ses projets scientifiques (AAT 8).
- De concevoir des protocoles expérimentaux pour des dosages, des synthèses, ou des préparations d'échantillons (AAT 9).
- A partir d'une analyse critique d'une situation spécifique au domaine industriel, l'étudiant élabore des procédures pour la conception, le dimensionnement, la mise en œuvre et l'optimisation de procédés des industries chimiques et biochimiques (AAT 10).
- D'utiliser de manière appropriée les techniques expérimentales (tests, mesures ou réglages), les outils informatiques et scientifiques permettant de résoudre des problèmes complexes et de réaliser un projet de l'industrie chimique ou biochimique (AAT 13).

Autres connaissances ou compétences prérequis :

UE 49 (Biochimie et Microbiologie), UE 53 (Microbiologie II)



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.
- Etudier et comprendre les principaux outils et les principales techniques d'étude des acides nucléiques.
- Etudier et comprendre les différentes étapes du clonage d'un gène.
- Etudier et comprendre les caractéristiques des différents vecteurs de clonage et des différents vecteurs d'expression (de même que leurs avantages et leurs inconvénients).
- 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 :

(Une table des matières très détaillée est présentée au début de la matrice du cours)

- 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, ...

Laboratoire de génie génétique :

Objectifs :

Les laboratoires de génie génétique sont intégrés aux laboratoires de biochimie.

- 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 versus 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).
- Analyse qualitative et quantitative du produit du gène cloné : gels de protéines SDS-PAGE, coloration au bleu de Coomassie, ...
- Manipulations annexes : ADN génomique, PCR, ...



- Exercices théoriques.

Laboratoire de biochimie :

Objectifs :

Les laboratoires de biochimie sont intégrés aux laboratoires de génie génétique.

Voir ci-dessus.

Contenu :

Voir ci-dessus.

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 :

Les laboratoires de génie génétiques sont intégrés aux laboratoires de Biochimie.

- Une introduction repositionnant la manipulation dans son contexte théorique est réalisée en début de chaque séance.
- Les étudiants réalisent, individuellement, 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 ».
- Les périodes d'incubation seront mises à profit pour des exercices théoriques.

Laboratoire de biochimie :

Les laboratoires de biochimie sont intégrés aux laboratoires de génie génétique.

Voir ci-dessus.

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

Cours Concernés	H	ECTS	Pond.	Janvier				Juin *				Deuxième session				
				Eval Continue	Travaux	Ecrit	Oral	Eval Continue	Travaux	Ecrit	Oral	NR	Travaux	Ecrit	Oral	
Génie génétique	30	0	60%								100%					100%
Laboratoire de génie génétique	15	0	20%					66%		34%		66%		34%		
Laboratoire de biochimie	15	0	20%					66%		34%		66%		34%		

NR = Note reportée

Informations sur le mode d'évaluation :

Pour le cours théorique de Génie génétique :

- 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 l'étudiant parmi la liste pré citée.
- Après une préparation écrite de 30 minutes, l'étudiant expose oralement ses réponses.
- 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 »).
- Ce mode d'évaluation est valable tant pour l'examen de 1ère session (juin) que pour celui de 2ème session (septembre).

La note est calculée selon les modalités suivantes :

- si aucune des notes n'est strictement inférieure à 8/20, la note finale est la moyenne arithmétique pondérée des notes des activités d'apprentissage;
- si au moins une note est inférieure à 8/20, la note attribuée à l'UE est la note la plus basse obtenue.

Justifier la NR en 2de session :

Pour les laboratoires de Génie génétique et de Biochimie : évaluation partiellement remédiable

- L'attitude générale de l'étudiant est évaluée à chaque séance de TP (participation active et « autonomie » des étudiants, respect des consignes). Elle constitue 33% de la note finale (↔ non remédiable).
- Le rapport final constitue également 33% de la note (↔ non remédiable). Celui-ci, individuel et intégré, reprendra l'ensemble des résultats expérimentaux et leur(s) interprétation(s) critique(s). Ce rapport est remis, au plus tard, 7 jours après la fin de la manipulation.
- Lors de la dernière séance de TP (ou lors de la semaine tampon), interrogation écrite sur la théorie (+ exercices) exploitée lors des TP. Elle compose 34% de la note finale (↔ remédiable en septembre).

Note commune à celle des TP de Biochimie.

* Le cas échéant, les évaluations de la session d'examens de janvier ne sont reportées en juin que si la note est $\geq 10/20$.

Informations complémentaires :

L'absence à une évaluation entraîne la notification d'une absence pour l'ensemble de l'UE.



Acquis d'apprentissages sanctionnés, spécifiques et contribuant à l'UE :

À l'issue 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.

À l'issue du cours de Laboratoire de génie génétique, 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^R, « 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, ...

À l'issue du cours de Laboratoire de biochimie, l'étudiant est capable de :
Voir ci-dessus.

Description des sources, des références et des supports OBLIGATOIRES :

Génie génétique :

- Table des matières (très détaillée).

Laboratoire de génie génétique :

- Syllabus de TP, fiches techniques des réactifs et des kits utilisés.

Laboratoire de biochimie :

- Syllabus de TP, fiches techniques des réactifs et des kits utilisés.



Description des sources, des références et des supports SUGGERES :

Génie génétique :

- Photocopies des présentations PowerPoint projetées en auditoire. Volontairement incomplètes (pour favoriser l'interaction et susciter des moments d'apprentissage participatifs et réflexifs), ces présentations contiennent les mots-clés, les définitions, les schémas, les tableaux récapitulatifs, ... Ces photocopies ne constituent donc pas un ensemble rédigé en tant que notes de cours et ne doivent être considérées que comme « aide-mémoire » des aspects présentés. Les versions informatiques pdf de celles-ci sont disponibles sur le CNLdB.
- Certains chapitres sont, néanmoins, rédigés sous forme de texte continu.
- Une liste complète de références bibliographiques est distribuée aux étudiants. Différents ouvrages sont à la disposition des étudiants au sein du Laboratoire de Microbiologie.

Laboratoire de génie génétique :

- Une liste complète de références bibliographiques est distribuée aux étudiants. Différents ouvrages sont à la disposition des étudiants au sein du Laboratoire de Microbiologie.

Laboratoire de biochimie :

- Une liste complète de références bibliographiques est distribuée aux étudiants. Différents ouvrages sont à la disposition des étudiants au sein du Laboratoire de Microbiologie.