

Annexe IV

PROGRAMME DE TECHNOLOGIE

1 - Techniques d'analyse structurale et fonctionnelle des protéines

(Cours : 20 heures + 10 séances de TP-TD)

1.1 Analyse structurale

1.1.1 Structure des acides aminés

1.1.2 La structure primaire des peptides et des protéines

- La liaison peptidique.
- Méthodes de détermination de la composition en acides aminés et de la séquence d'un peptide ; application pratique à un oligopeptide.
- Détermination de la masse moléculaire et du pHi.

1.1.3 La structure tridimensionnelle des protéines

- Les différents niveaux de structure : secondaire, tertiaire, quaternaire ; exemples
- Liaisons stabilisatrices
- Dénaturation et renaturation

1.2 Relation structure-fonction

1.2.1 Motifs et domaines fonctionnels

1.2.2 Stéréospécificité

1.2.3 Interactions protéine-ligand

- Affinité
- Méthodes d'étude : Scatchard,
- compétition, RIA et ELISA, (thématiques à mettre notamment en œuvre dans les TIPE)

1.3 Méthodes de dosage et de purification

1.3.1 Méthodes de dosage par les techniques absorptiométriques

1.3.2 Méthodes d'extraction-purification :

- Précipitations sélectives
- Méthodes chromatographiques utilisant les principes d'exclusion-diffusion, d'échange d'ions, de chélation, d'affinité et d'interactions hydrophobes.

1.3.3 Quantification de la purification

- Enrichissement (taux de purification)
- Rendement
- Électrophorèses de contrôle : SDS-PAGE, focalisation isoélectrique, électrophorèse capillaire.
- Ultracentrifugation.

2 - Enzymologie et génie enzymatique

Cours : 25 heures + 13 séances de TP-TD

2.1 La catalyse enzymatique

- efficacité
- spécificité

2.2 Cinétiques enzymatiques

- Cinétique michaelienne à un substrat et multi-substrat bi/bi : modélisations
- Cinétiques allostériques

2.3 Effecteurs de la réaction enzymatique

- Température, pH
- Effecteurs moléculaires compétitifs, non compétitifs et incompétitifs ; effecteurs allostériques

2.4 L'activité enzymatique

- Grandeurs et unités d'enzyme

2.5 Utilisation des enzymes

- Les deshydrogénases à nucléotides pyridiniques
- Activité enzymatique ; différentes méthodes de mesure : méthode "deux points" et méthodes cinétiques
- Dosages de substrats en phase homogène : méthode "point final" et méthodes cinétiques
- Dosages immunoenzymatiques en phases homogène et hétérogène

2.6 L'immobilisation des enzymes

- Méthodes d'immobilisation
- Propriétés des enzymes immobilisées
- Réacteurs enzymatiques ; biocapteurs

3 - Microbiologie et génie microbiologique

Cours : 25 heures + 15 séances de TP-TD

3.1 Techniques microscopiques

- Examens de cellules vivantes.
- Examen de cellules en microscopie ordinaire après colorations.
- Examen de cellules après marquages fluorescents sous microscope à épifluorescence.

3.2 Isolement, quantification et identification des microorganismes :

3.3 Biochimie et physiologie microbiennes

3.3.1 Types trophiques

- ATP et transport d'électrons
- Les différents transports membranaires d'électrons :
 - . chez les phototrophes
 - . chez les chimiotrophes (chimioorganotrophie et chimiolithotrophie)
- Bactéries chimiotrophes :
 - . les métabolismes énergétiques fermentaires des chimioorganotrophes
- Les métabolismes énergétiques respiratoires (respirations aérobies et anaérobies)
- Bactéries phototrophes.
- Source de carbone (autotrophie, hétérotrophie, besoins spécifiques)
- Source d'azote et de soufre

3.3.2 Écologie microbienne

- Cycles du carbone, de l'azote et du soufre.
- Relations hôte-microorganisme. A partir de l'étude physiologique de quelques exemples : notions de mutualisme et de symbiose, de commensalisme, de saprophytisme, de parasitisme, flore protectrice. Toxines.

3.3.3 Cultures microbiennes

- Cultures en milieux liquides et solides.
- Croissances en milieu liquide. Conditions de milieu et d'environnement et paramètres des croissances.
- Culture en milieu non renouvelé (batch) : cinétique de croissance, cinétique d'utilisation du substrat, cinétique de formation des produits.
- Calculs des rendements et des productivités.
- Culture en milieu renouvelé (se limiter à la relation entre taux de croissance et taux de renouvellement).
- Procédés : chimostat, turbidostat, culture en milieu alimenté (fed-batch). Intérêt et limites des cultures en continu.

3.4 Génie fermentaire

- Préparation d'un fermenteur de laboratoire
- . Aération des milieux de culture : demande en oxygène, vitesse de transfert de l'oxygène, méthodes d'aération.
- . Stérilisation des milieux de culture et des gaz
- . Régulation des différents paramètres de la culture : agitation, pression, niveau de liquide, mousses, viscosité, température, pO₂, pH.
- Suivi de la fermentation :
 - . Analyses en ligne et hors ligne des variables de la culture : biomasse, substrats et produits (électrodes spécifiques, HPLC et CPG en continu,...).
 - . Applications du génie fermentaire * (thématiques à mettre notamment en œuvre dans les TIPE)

Exemples de production de biomasse.

Exemples de productions de molécules d'intérêt.

Biodégradation ou biotransformation des polluants.

4 - Biologie moléculaire et génie génétique

Cours : 30 heures + 15 séances de TP-TD

4.1 Structures et fonctions des acides nucléiques

4.1.1 Structure des acides nucléiques

- Structure et propriétés des nucléotides
- La structure primaire des acides nucléiques
- La structure tridimensionnelle de l'ADN : caractéristiques de la double hélice, surenroulements et topoisomérases, "compactage" intranucléaire
- Les différents types d'ARN : caractéristiques structurales et fonctionnelles

4.1.2 Organisation des gènes et des génomes

- Le flux des informations et le dogme central
- Les gènes morcelés des eucaryotes
- Les opérons des procaryotes
- Stabilité et évolution des génomes : les familles de gènes, les éléments génétiques mobiles
- Caractéristiques comparées de quelques génomes : viraux, bactériens, de levure, végétaux, de mammifères.

4.1.3 Les fonctions cellulaires de l'ADN

- La réplication de l'ADN des procaryotes et des eucaryotes
- Les systèmes de réparation de l'ADN
- Biosynthèse et maturation des ARN
- Contrôle transcriptionnel de l'expression des gènes chez les procaryotes et les eucaryotes

4.1.4 Biosynthèse des protéines chez les procaryotes et les eucaryotes

- biosynthèse,
- Maturation post-traductionnelle et transport
- Adressage moléculaire

4.2.1 Technologie de l'ADN

- Extractions d'ADN génomique, d'ADN plasmidique, d'ARN total
- Purifications d'ADN et d'ARN
- Électrophorèse d'ADN et d'ARN ; principe, mise en œuvre, exemples d'application
- Quantifications spectrophotométriques et fluorimétriques des acides nucléiques
- La dénaturation de l'ADN ; fusion thermique ; notions de T_m et stringence
- Notions sur l'hybridation moléculaire
- Notions sur le séquençage de l'ADN : méthodes et stratégies de séquençage

4.2.2 L'amplification de l'ADN

- Les méthodes du clonage moléculaire

- Vecteurs et grandes étapes chez les procaryotes et les eucaryotes
- Banques d'ADN génomique, banques d'ADN complémentaire : obtention, intérêt
- techniques de criblages (utilisation de sondes marquées, détection immunologique, recherche d'activités enzymatiques...)
- Notions sur la transfection des cellules eucaryotes et la transgénése :
 - Les technologies d'amplification in vitro (PCR)
- L'amplification spécifique d'ADN in vitro (PCR) : principe, mise en œuvre d'une PCR en point final, exemples d'applications analytiques et préparatives
- Synthèse d'ADN complémentaire par transcription réverse et PCR (RT-PCR) : principe et mise en œuvre

4.3 Les applications du génie génétique

On s'efforcera, à travers des exemples significatifs, de montrer l'apport du génie génétique dans différents domaines * (thématiques à mettre notamment en œuvre dans les TIPE)

4.3.1 Analyses du transcriptome et du protéome et notions de génomique fonctionnelle * (thématiques à mettre notamment en œuvre dans les TIPE)

4.3.2 Production de protéines hétérologues et recombinantes

* (thématiques à mettre notamment en œuvre dans les TIPE)

4.3.3 Applications diagnostiques et médicales du génie génétique

* (thématiques à mettre notamment en œuvre dans les TIPE)