



Classes préparatoires aux grandes écoles

Filière scientifique

Voie Technologie et biologie (TB)

Annexe 4

Programmes de biotechnologies

1^{ère} et 2^{nde} années

PROGRAMME DE BIOTECHNOLOGIES

PRÉAMBULE COMMUN AUX PROGRAMMES DE BIOTECHNOLOGIES ET DE SVT

La mise en œuvre des programmes de Biotechnologies et de sciences de la vie et de la Terre (SVT) doit permettre aux futurs ingénieurs, vétérinaires, chercheurs et enseignants de se constituer une culture scientifique et technologique solide dans le domaine des sciences du vivant et aux interfaces avec les sciences de la Terre.

Ces programmes, avec ceux des autres disciplines scientifiques, visent à développer chez les étudiants « la connaissance et la compréhension d'un large champ de sciences fondamentales et la capacité d'analyse et de synthèse qui leur est associée » (Commission des Titres d'Ingénieur). Les connaissances et les compétences travaillées au lycée sont nécessairement approfondies et développées en classe préparatoire, afin d'élaborer un panorama scientifique et technologique actualisé et de permettre ensuite un développement plus spécialisé, en rapport avec la formation choisie en école. Pour cela, ces deux programmes ont été élaborés par des groupes de travail intégrant des professeurs des écoles nationales vétérinaires, écoles d'ingénieurs et écoles normales supérieures aux côtés d'enseignants des classes concernées. Ils sont destinés aux professeurs de TB et à leurs étudiants, mais également aux professeurs de lycée, comme aux interrogateurs de concours et aux enseignants des écoles.

À l'issue de la formation, les étudiants issus de TB disposent des bases scientifiques et technologiques solides dans tous les champs nécessaires pour répondre aux enjeux-clefs du XXI^e siècle : changement climatique, préservation de la biodiversité et des écosystèmes, alimentation de qualité pour tous, santé dans une logique *One Health*, gestion des ressources naturelles, gestion durable des sols, transition énergétique, bioéthique, etc.

Les enseignements de Biotechnologies et de SVT sont complémentaires dans l'étude d'objets et de phénomènes communs. Les liens entre ces deux programmes sont nombreux. Afin de donner du sens aux apprentissages et de construire une progression conceptuelle cohérente, une coordination est indispensable entre les enseignants de Biochimie - Génie Biologique (BGB) et de SVT au service de la compréhension des concepts par les étudiants. Il est en effet essentiel d'aider les étudiants à articuler les apports des deux disciplines et de ne pas laisser à leur charge la mise en cohérence des savoirs construits en Biotechnologies et en SVT. Le programme a été élaboré pour faciliter le repérage de la complémentarité des enseignements et les liens sont précisés pour chaque thème d'étude au sein des programmes de Biotechnologies et de SVT. Des phénomènes biologiques sont étudiés conjointement mais avec des regards différents, comme l'illustrent les quatre exemples suivants, parmi de nombreux liens existants.

- **Le métabolisme** est étudié dans ses processus biochimiques à l'échelle cellulaire et moléculaire en Biotechnologies. La compréhension fondamentale de ces mécanismes est mise au service d'applications biotechnologiques comme l'identification bactérienne, le choix de milieux de culture et le génie fermentaire. En SVT, le métabolisme est envisagé dans un cadre physiologique. Il s'agit alors, à partir du bilan global des voies métaboliques étudiées en amont en Biotechnologies ou approfondies en aval, de comprendre notamment l'importance du stockage de molécules de réserve et de leur mobilisation dans le fonctionnement de la plante à différentes échelles temporelles ainsi que dans le fonctionnement de la cellule musculaire.

- **En génétique**, les Biotechnologies se focalisent sur le modèle bactérien dans une visée technologique : amplification génique, hybridation moléculaire, séquençage et génie génétique. Les SVT envisagent le modèle eucaryote, afin de comprendre l'expression, le maintien et la diversification

génétique et afin de remobiliser ces concepts dans plusieurs thèmes de SVT tels que le développement des animaux et des plantes ou l'évolution biologique.

- **Les cycles biogéochimiques du carbone et de l'azote** sont étudiés en Biotechnologies sous l'angle du rôle des microorganismes et des processus métaboliques responsables des flux de carbone ou d'azote d'origine biologique. Les SVT traitent quant à elles la dimension systémique des cycles en intégrant les différents réservoirs et les flux d'origine géologique afin d'appréhender les différentes échelles spatiales et temporelles ainsi que la place des actions anthropiques dans la modification des cycles.

- **La systématique des microorganismes** est étudiée de façon complémentaire par les deux disciplines. Les Biotechnologies permettent d'identifier les différents types de microorganismes à l'aide de la classification alors que les SVT les positionnent dans l'arbre du vivant et élaborent des scénarios évolutifs sur la base d'analyses phylogénétiques.

Ces différences d'approche et de points de vue visent à favoriser le développement conceptuel ainsi que l'appropriation des finalités propres à chaque discipline et à éviter toute dissonance préjudiciable à la compréhension des étudiants.

La contribution des Biotechnologies et des SVT au développement de compétences

• **Compétences scientifiques et technologiques**

Les Biotechnologies et les SVT contribuent au développement de compétences scientifiques et technologiques. Des formes d'enseignement interdisciplinaire pratique mis en œuvre au laboratoire dans le cadre de travaux pratiques, et sur le terrain, permettent aux étudiants de mobiliser des compétences spécifiques aux deux disciplines au service de la résolution de problématique sur des objets scientifiques communs. Chaque équipe pédagogique définit les activités permettant aux étudiants de développer ces compétences, chaque fois que possible par une approche interdisciplinaire. Les compétences disciplinaires spécifiques, scientifiques et technologiques, sont présentées dans chaque programme.

Les Biotechnologies et les SVT contribuent avec les autres enseignements de TB au développement de compétences transversales, linguistiques et préprofessionnelles.

• **Compétences transversales et linguistiques**

Le développement de compétences transversales et linguistiques atteste d'une autonomie de travail et d'analyse, d'une capacité d'engagement dans des projets collectifs, d'une capacité de distance critique et d'une communication aisée, que ce soit par les outils mobilisés ou l'expression personnelle en français et dans au moins une langue vivante étrangère.

- Adopter un comportement éthique, déontologique et responsable.
- Coopérer et collaborer dans le cadre d'activités ou de démarches de projet, dans et hors la classe.
- Se mettre en recul d'une situation, s'autoévaluer et se remettre en question pour apprendre.
- Utiliser les outils numériques de référence et les règles de sécurité informatique pour acquérir, traiter, produire et diffuser de l'information ainsi que communiquer.
- Se servir aisément de la compréhension et de l'expression écrites et orales dans au moins une langue vivante étrangère.

• **Compétences préprofessionnelles**

La formation est aussi l'occasion d'aborder avec les étudiants des questions liées à la construction de leur projet de poursuite d'étude. La rencontre avec des professionnels, comme avec les grandes écoles est un levier de développement des compétences préprofessionnelles. Les TIPE participent au développement de ces compétences.

- Identifier les différents champs professionnels et les parcours permettant d'y accéder.
- Identifier les enjeux et contraintes des champs professionnels.

- Caractériser et valoriser ses compétences scientifiques, techniques et psychosociales (sociales, cognitives et émotionnelles) en fonction d'un contexte.

PRÉAMBULE SPÉCIFIQUE AU PROGRAMME DE BIOTECHNOLOGIES

Les différents domaines des biotechnologies utilisent des éléments du vivant pour produire des biens et des services. Les modalités didactiques et pédagogiques en enseignement de biotechnologies combinent approches scientifiques fondamentales et activités technologiques en laboratoire ; elles permettent ainsi l'acquisition de concepts scientifiques et de concepts technologiques. Ils ont été sélectionnés pour répondre aux attendus des grandes écoles, et sont indispensables pour s'approprier les problématiques et agir dans les différents domaines des biotechnologies. Abordant les domaines de la biochimie, de l'enzymologie, de la microbiologie, de la biologie moléculaire, de la microbiologie et du génie fermentaire, de l'ingénierie des protéines et du génie génétique, ils sont complémentaires de ceux visés par l'enseignement de SVT.

Objectifs de formation et structure du programme

Le programme de Biotechnologies est constitué de quatre parties thématiques et d'une cinquième partie « compétences expérimentales technologiques ».

Les concepts transversaux de biotechnologies, explicités dans la partie « compétences expérimentales technologiques » et se rapportant aux quatre parties thématiques, font partie intégrante des objectifs de formation et des attendus du programme. Ces compétences dépassent l'aspect technique et intègrent une dimension d'amélioration, de transposition, d'optimisation voire de conception d'une procédure opératoire afin de viser une formation adaptée à la préparation aux écoles et formations du supérieur.

Chaque partie est structurée en deux colonnes qui présentent, en regard, les concepts mobilisés dans la colonne de gauche et les compétences attendues dans la colonne de droite. Pour faciliter la construction du plan de formation, le programme propose en second lieu des activités expérimentales support de la formation, des limites et commentaires, ainsi que des liens entre les différentes parties et avec les autres enseignements scientifiques.

Les savoirs et les compétences acquis au cours de la formation doivent permettre à l'étudiant, futur ingénieur, chercheur, enseignant ou vétérinaire, de développer ses capacités de synthèse. D'autre part, l'esprit critique doit s'exercer pour permettre le recul nécessaire sur les technologies qui entraînent des modifications du vivant. Une réflexion éthique, menée à partir de documents d'actualité évoquant l'impact des biotechnologies sur la santé et sur l'environnement conduit à développer des arguments pour répondre aux questions sociétales.

Les compétences argumentatives sont également développées, à partir d'une réflexion portant sur des objets d'étude scientifique ou technologique, inédits pour l'étudiant. L'analyse de nouvelles informations est alors à confronter avec un modèle connu et cette application du modèle sur l'objet permet de vérifier la compréhension des éléments du modèle.

Place des activités expérimentales dans la formation

Les compétences expérimentales technologiques visées seront mises en œuvre tout au long de la formation et intégrées à chacune des parties thématiques selon le plan de formation élaboré par l'enseignant.

Les biotechnologies étant fondées sur la pratique expérimentale au laboratoire, les analyses, calculs et déterminations de grandeurs se font à partir de l'exploitation de données expérimentales, obtenues par l'étudiant lors d'activités technologiques support de la formation, ou issues de la littérature scientifique.

Les activités expérimentales support de la formation apparaissent à la fin de chaque sous-partie thématique. Ces activités expérimentales proposées sont indispensables pour construire les compétences attendues. Il ne s'agit pas de faire une présentation exhaustive des techniques étudiées

mais de permettre aux étudiants de faire des liens entre les différentes parties et de prendre du recul vis-à-vis des technologies présentées. Elles permettent à la fois de faciliter l'acquisition des concepts et de développer les compétences expérimentales.

Les biotechnologies reposant sur une mise en œuvre expérimentale, la démarche de prévention des risques est totalement intégrée à l'enseignement des biotechnologies dans tous ses aspects, quelle que soit la thématique étudiée. Cette démarche présentée dans la partie « compétences expérimentales technologiques », est mise en œuvre systématiquement tout au long de la formation des étudiants.

Articulation des parties et liens avec les autres enseignements scientifiques

Les interactions entre les différentes parties se traduisent par des liens internes au programme de Biotechnologies, qui permettent à plusieurs reprises de réinvestir les concepts et de renforcer les compétences visées par la formation. Ce réinvestissement est au cœur de l'approche par compétences, afin que les savoirs soient réellement opérationnels. Les concepts doivent donc être mobilisés dans des situations de complexité croissante pour développer des compétences transférables à des situations inédites. Ces concepts sont construits à l'aide d'exemples issus des biotechnologies, choisis par l'enseignant responsable de la formation. Si plusieurs exemples peuvent être nécessaires pour la construction des savoirs, il importe d'en limiter le nombre. L'étudiant pourra choisir l'exemple qu'il souhaite présenter pour éclairer ou illustrer un concept dont il veut montrer la maîtrise.

Les liens externes, avec la SVT, la physique-chimie, et les mathématiques sont également indiqués dans la partie « liens » à la fin de chaque sous-partie.

RÉPARTITION SUR LES DEUX ANNÉES	TB 1	TB 2
PARTIE 1 – BIOCHIMIE DES PROTÉINES ET PROCÉDÉS DE PURIFICATION		
1.1. LES PROTÉINES, DES BIOMOLÉCULES DONT LES CARACTÉRISTIQUES CONDITIONNENT L'EXTRACTION ET LA PURIFICATION		
1.1.1. Structure des protéines	X	
1.1.2. Du matériel biologique à l'extrait protéique purifié	X	
1.2. LA PURIFICATION DES PROTÉINES, UNE DÉMARCHÉ À CONTRÔLER		
1.2.1. Suivi qualitatif	X	
1.2.2. Suivi quantitatif	X	X
1.2.3. Caractérisation structurale de la protéine purifiée	X	
1.3. LES PROTÉINES, DES BIOMOLÉCULES PRÉSENTANT DES INTERACTIONS SPÉCIFIQUES AVEC D'AUTRES CONSTITUANTS		
1.3.1. Interactions protéine-ligand		X
1.3.2. Interactions antigène-anticorps		X
PARTIE 2 – ENZYMOLOGIE ET GÉNIE ENZYMATIQUE		
2.1. LES BIOMOLÉCULES, DES SUBSTRATS D'INTÉRÊT		
2.1.1. Glucides	X	
2.1.2. Lipides	X	
2.1.3. Protides	X	
2.1.4. Acides nucléiques	X	
2.2. LES ENZYMES, DES BIOMOLÉCULES PRÉSENTANT UNE ACTIVITÉ CATALYTIQUE		
2.2.1. Catalyse enzymatique	X	
2.2.2. Cinétique à un substrat des enzymes michaeliennes	X	
2.2.3. Activité enzymatique des enzymes michaeliennes		X
2.2.4. Modulation de l'activité enzymatique des enzymes michaeliennes	X	
2.2.5. Cinétique des enzymes allostériques		X
2.3. LES ENZYMES, DES OUTILS BIOTECHNOLOGIQUES		
2.3.1. Des enzymes pour analyser		X

2.3.2. Des enzymes pour produire		X
PARTIE 3 – MICROBIOLOGIE ET GÉNIE FERMENTAIRE		
3.1. LE MONDE MICROBIEN, UNITÉ ET DIVERSITÉ		
3.1.1. Unité du monde microbien	X	
3.1.2. Diversité des microorganismes	X	X
3.1.3. Virus		X
3.2. LA DIVERSITÉ DES MÉTABOLISMES MICROBIENS, UN INTÉRÊT ÉCOLOGIQUE		
3.2.1. Métabolisme énergétique	X	
3.2.2. Microorganismes chimiotrophes	X	
3.2.3. Microorganismes phototrophes autotrophes	X	
3.2.4. Écologie microbienne		X
3.3. LES MICROORGANISMES, DES OUTILS BIOTECHNOLOGIQUES		
3.3.1. Nutrition et culture des microorganismes	X	
3.3.2. Quantification des microorganismes	X	
3.3.3. Croissance des microorganismes	X	
3.3.4. Cultures en bioréacteur		X
3.3.5. Choix et sélection des souches d'intérêt		X
PARTIE 4 – BIOLOGIE MOLÉCULAIRE DES ACIDES NUCLÉIQUES ET GÉNIE GÉNÉTIQUE		
4.1. LES ACIDES NUCLÉIQUES, DES BIOMOLÉCULES DONT LES CARACTÉRISTIQUES CONDITIONNENT L'EXTRACTION ET LA PURIFICATION		
4.1.1. Structure des acides nucléiques	X	
4.1.2. Du matériel biologique à l'extrait nucléique purifié	X	
4.2. L'HYBRIDATION MOLÉCULAIRE, UNE ASSOCIATION SPÉCIFIQUE DE SÉQUENCES NUCLÉOTIDIQUES		
4.2.1. Hybridation		X
4.2.2. Applications de l'hybridation		X
4.3. L'AMPLIFICATION <i>IN VITRO</i> DES SÉQUENCES NUCLÉOTIDIQUES, DES POLYMÉRISATIONS EN CHAÎNE		
4.3.1. PCR en point final		X
4.3.2. Contrôle de l'amplification		X
4.3.3. Techniques avancées de PCR		X
4.4. LE SÉQUENÇAGE DE L'ADN, DES TECHNIQUES EN CONSTANTE ÉVOLUTION		
4.4.1. Évolution des techniques de séquençage de l'ADN		X
4.4.2. Applications du séquençage de l'ADN		X
4.5. LES ACIDES NUCLÉIQUES, DES BIOMOLÉCULES MANIPULABLES PAR GÉNIE GÉNÉTIQUE		
4.5.1. Clonage d'une séquence nucléotidique		X
4.5.2. Expression hétérologue de protéines recombinées chez les microorganismes		X
4.5.3. « Édition » du génome		X
PARTIE 5 – COMPÉTENCES EXPÉRIMENTALES TECHNOLOGIQUES		
5.1. EXTRACTION ET PURIFICATION DE BIOMOLÉCULES	X	X
5.2. SÉPARATION DE BIOMOLÉCULES	X	X
5.3. ANALYSE D'UN ÉCHANTILLON PAR DOSAGE SPECTROPHOTOMÉTRIQUE	X	X
5.4. IDENTIFICATION ET QUANTIFICATION SPÉCIFIQUE DE BIOMOLÉCULES	X	X
5.5. OBSERVATION, DESCRIPTION ET CARACTÉRISATION D'UN OBJET	X	X
5.6. CULTURE ET QUANTIFICATION DES MICROORGANISMES	X	X
5.7. MODÉLISATION EN BIOTECHNOLOGIES	X	X
5.8. CHOIX ET OPTIMISATION D'UNE MÉTHODE	X	X
5.9. DÉMARCHE DE PRÉVENTION DES RISQUES BIOLOGIQUES ET CHIMIQUES	X	X

PARTIE 1 – BIOCHIMIE DES PROTÉINES ET PROCÉDÉS DE PURIFICATION

Les protéines sont des molécules de première importance dans le monde vivant ; de nombreuses applications des biotechnologies sont fondées sur les interactions spécifiques qui s'établissent entre protéines ou entre protéine et ligand, notamment les interactions antigène-anticorps.

L'étude structurale et fonctionnelle des protéines, d'une part, et leur utilisation en tant qu'outil biotechnologique, d'autre part, nécessitent leur extraction et leur purification à partir d'un matériel biologique. Les méthodes permettant l'obtention d'un extrait protéique purifié ont pour fondement la structure et les propriétés physico-chimiques des protéines.

NOTIONS & CONCEPTS	COMPÉTENCES ATTENDUES	
1.1. LES PROTÉINES, DES BIOMOLÉCULES DONT LES CARACTÉRISTIQUES CONDITIONNENT L'EXTRACTION ET LA PURIFICATION		
<p>1.1.1. STRUCTURE DES PROTÉINES</p> <p>Les protéines sont des polymères d'acides α-aminés. Les chaînes latérales des acides aminés protéinogènes présentent des propriétés physico-chimiques variées.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Fonction α-carboxylique / fonction α-amine ● Chaîne latérale ● pKa ● Liaison peptidique ● Structure primaire ● Séquence ● Polymère ● Molécule orientée ● Extrémité N-terminale / extrémité C-terminale <p>Les différents niveaux de structure des protéines sont déterminés par les propriétés de la liaison peptidique, du squelette carboné et des chaînes latérales des résidus d'acides aminés. Certaines protéines contiennent des groupements non protidiques.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Interactions ou liaisons de faible énergie ● Pont disulfure ● Encombrement stérique ● Structure secondaire / tertiaire / quaternaire ● Domaine ● Protomère (sous-unité) ● Conformation native ● Repliement ● Dynamique conformationnelle ● Holoprotéine / hétéroprotéine ● Apoprotéine ● Groupement prosthétique 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Représenter la structure générique d'un acide α-aminé. ▶ Classer les acides aminés selon la polarité de leur chaîne latérale, leurs propriétés acido-basiques, leurs propriétés spectrales d'absorption. ▶ Écrire l'équation de la réaction modélisant la formation de la liaison peptidique. ▶ Présenter la géométrie de la liaison peptidique, ainsi que les propriétés associées. ▶ Caractériser chaque niveau de structure en lien avec les liaisons ou interactions stabilisatrices. ▶ Présenter le principe d'une technique de séquençage de protéine, à l'aide d'une documentation. 	TB1

<p>Les protéines sont organisées en trois catégories structurales, avec des conséquences sur leur localisation et leur extraction.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Scléroprotéines (protéines fibreuses) ● Protéines globulaires ● Protéines membranaires <p>Le maintien de la structure native des protéines dépend des conditions physico-chimiques et de la présence de protéases.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Conformation native ● Dénaturation ● Hydrolyse 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Dégager les particularités structurales et biochimiques d'une protéine fibreuse (fibrillaire) et d'une protéine membranaire à l'aide d'une documentation. ▶ Analyser la répartition des acides aminés polaires et apolaires dans des protéines ayant différentes localisations cellulaires. ▶ Distinguer dénaturation et hydrolyse des protéines. ▶ Écrire l'équation de la réaction modélisant l'hydrolyse de la liaison peptidique. ▶ Énoncer le mode d'action de quelques agents dénaturants : chaleur, pH extrêmes, agents chaotropiques, agents réducteurs, détergents. ▶ Expliquer comment mettre en œuvre expérimentalement une cinétique de dénaturation. 	
<p>1.1.2. DU MATÉRIEL BIOLOGIQUE À L'EXTRAIT PROTÉIQUE PURIFIÉ</p> <p>Les étapes d'extraction des protéines aboutissent à l'obtention d'un extrait brut. Le choix d'une méthode d'extraction dépend de l'environnement dans lequel se trouve la protéine d'intérêt.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Lyse ● Matériel biologique ● Tampon d'extraction ● Centrifugation <p>Les étapes de purification d'une protéine d'intérêt se basent sur les propriétés particulières de celle-ci par rapport aux autres solutés. Elles font appel à différentes techniques : précipitations différentielles, chromatographies, dialyse, ultrafiltration.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Solubilisation / précipitation ● Force ionique / température / pH ● Phase stationnaire / phase mobile ● Domaine de fractionnement ● Capacité d'une colonne ● Interactions biospécifiques 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Argumenter le choix d'une méthode d'extraction et des conditions opératoires à partir de l'analyse de la procédure, des caractéristiques structurales et/ou physico-chimiques, et de la localisation de la protéine d'intérêt. ▶ Identifier, dans une procédure opératoire, les précautions à prendre lors de l'extraction afin de préserver la structure native de la protéine d'intérêt. ▶ Exploiter les propriétés des protéines et les liaisons de faible énergie pour expliquer le principe d'une méthode de séparation des protéines. ▶ Argumenter le choix d'une méthode de 	TB1

- Membrane semi-perméable
- Seuil de coupure

purification et des conditions opératoires à partir de l'analyse de la procédure et des caractéristiques structurales et/ou physico-chimiques de la protéine d'intérêt.

- ▶ Proposer l'allure du chromatogramme attendu lors d'une séparation chromatographique en identifiant les fractions d'intérêt.
- ▶ Analyser un chromatogramme.

ACTIVITÉS EXPÉRIMENTALES SUPPORT DE LA FORMATION :

- Analyse de la structure d'une protéine grâce à un logiciel de visualisation de structure 3D.
- Extraction et purification d'une protéine.

À TRAVAILLER EN LIEN AVEC LES COMPÉTENCES TECHNOLOGIQUES DU MODULE 5 :

- 5.1. EXTRACTION ET PURIFICATION DE BIOMOLÉCULES
- 5.2. SÉPARATION DE BIOMOLÉCULES
- 5.6. CULTURE ET QUANTIFICATION DES MICROORGANISMES
- 5.8. CHOIX ET OPTIMISATION D'UNE MÉTHODE
- 5.9. DÉMARCHE DE PRÉVENTION DES RISQUES BIOLOGIQUES ET CHIMIQUES

LIMITES & COMMENTAIRES :

Le concept de protéine intrinsèquement désordonnée est à présenter.

Seule la formule du groupe fonctionnel caractéristique des chaînes latérales de chaque acide aminé est à connaître en lien avec leurs propriétés.

Les méthodes chromatographiques dont les principes sont à maîtriser se limitent à :

- chromatographie d'exclusion ;
- chromatographie échangeuse d'ions ;
- chromatographie d'interaction hydrophobe ;
- chromatographie d'affinité biospécifique ;
- chromatographie de chélation.

La présentation des techniques HPLC est limitée à l'intérêt de leurs performances résolutives.

L'étude la spectrométrie de masse est limitée à son utilisation dans le cadre du séquençage des protéines et de l'identification des microorganismes. Son principe n'est pas attendu.

LIENS :

□ BIOTECHNOLOGIES :

- 1.1.1. : propriétés des acides aminés, structures tridimensionnelles des protéines
⇔ 2.2.1. - 2.2.4. : catalyse enzymatique, modulation de l'activité enzymatique
- 1.1.1. : liaison peptidique, hydrolyse des protéines
⇔ 2.1.3. : hydrolyse de la liaison peptidique
- 1.1.1. : structure et propriétés des protéines, dénaturation des protéines
⇔ 1.2.1. : migration électrophorétique des protéines
- 1.1.1. : structures tridimensionnelles des protéines, sous-unités
⇔ 1.2.3. : structure d'une protéine purifiée
- 1.1.1. - 1.1.2. : protéines membranaires
⇔ 2.1.2. : bicouches phospholipidiques
- 1.1.1. - 1.1.2. : purification de protéines d'intérêt
⇔ 2.3.2. : génie enzymatique
⇔ 3.3.4. - 3.3.5. : génie fermentaire
⇔ 4.5.2. - 4.5.3. : ingénierie des protéines, génie génétique

□ SVT :

- SV-C-1 Les cellules au sein d'un organisme
- SV-C-3 Membranes et échanges membranaires

- PHYSIQUE-CHIMIE : liaisons ou interactions de faible énergie – notion de temps de demi-réaction – étude des propriétés acido-basiques – solution tampon – étude des propriétés d'oxydo-réduction – mésométrie.

- MATHÉMATIQUES : dérivation – primitives – fonctions exponentielles – fonction logarithme népérien.

1.2. LA PURIFICATION DES PROTÉINES, UNE DÉMARCHÉ À CONTRÔLER

<p>1.2.1. SUIVI QUALITATIF</p> <p>Le suivi qualitatif d'une purification peut se faire grâce à une électrophorèse analytique.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Conditions dénaturantes / non dénaturantes ● Conditions réductrices / non réductrices ● Révélation non spécifique <p>L'électrophorèse SDS-PAGE peut être suivie d'une identification de la protéine d'intérêt en western blot.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● <i>Blotting</i> ● Interactions spécifiques / non spécifiques ● Anticorps primaire / secondaire ● Conjugué ● Amplification du signal ● Immunodétection 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Identifier le(s) critère(s) de séparation lors d'une électrophorèse de protéines en fonction des conditions de sa réalisation. ▶ Expliquer le principe d'une électrophorèse dénaturante ou non dénaturante. ▶ Réaliser un schéma à l'échelle moléculaire des différentes étapes d'un mode opératoire de western blot. ▶ Conclure quant à la pureté d'une solution protéique à partir de résultats expérimentaux qualitatifs. 	<p>TB1</p>
<p>1.2.2. SUIVI QUANTITATIF</p> <p>L'évaluation du rendement et de l'enrichissement à chaque étape d'un processus de purification nécessite un dosage des protéines totales et un dosage spécifique de la protéine d'intérêt.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Spectrophotométrie UV-Visible ● Dosage des protéines totales ● Dosage d'activité biologique 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Argumenter le choix d'une procédure de dosage des protéines totales, à l'aide d'une documentation. ▶ Déterminer un rendement. ▶ Déterminer un enrichissement. ▶ Commenter les valeurs de rendement et d'enrichissement en fonction de l'objectif de purification. 	<p>TB1 TB2</p>
<p>1.2.3. CARACTÉRISATION STRUCTURALE DE LA PROTÉINE PURIFIÉE</p> <p>La chromatographie d'exclusion et la SDS-PAGE sont des méthodes complémentaires pour caractériser la structure d'une protéine.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Conditions dénaturantes / non dénaturantes ● Conditions réductrices / non réductrices ● Protéine native / protéine dénaturée 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Déterminer la masse moléculaire d'une protéine ou d'une sous-unité protéique par comparaison avec un marqueur de masses moléculaires. ▶ Déterminer la structure quaternaire d'une 	<p>TB1</p>

<ul style="list-style-type: none"> ● Monomère / oligomère ● Homo / hétéro-multimère 	protéine à partir de résultats obtenus dans différentes conditions expérimentales.	
<p><u>ACTIVITÉS EXPÉRIMENTALES SUPPORT DE LA FORMATION :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Dosage des protéines. - Suivi quantitatif et qualitatif d'une purification. - Caractérisation structurale d'une protéine par SDS-PAGE. <p><u>À TRAVAILLER EN LIEN AVEC LES COMPÉTENCES TECHNOLOGIQUES DU MODULE 5 :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - 5.2. SÉPARATION DE BIOMOLÉCULES - 5.3. ANALYSE D'UN ÉCHANTILLON PAR DOSAGE SPECTROPHOTOMÉTRIQUE - 5.4. IDENTIFICATION ET QUANTIFICATION SPÉCIFIQUE DE BIOMOLÉCULES - 5.7. MODÉLISATION EN BIOTECHNOLOGIES - 5.8. CHOIX ET OPTIMISATION D'UNE MÉTHODE - 5.9. DÉMARCHÉ DE PRÉVENTION DES RISQUES BIOLOGIQUES ET CHIMIQUES 		
<p><u>LIMITES & COMMENTAIRES :</u></p> <p>Seul le principe général du dosage absorptiométrique est à maîtriser à partir d'exemples traités au choix de l'enseignant, et en se limitant à quelques méthodes.</p> <p>Le principe chimique des réactions de dosage n'est pas à connaître mais peut être analysé à partir d'une documentation. De même, à partir d'une documentation, les qualités de quelques méthodes de dosages de protéines sont analysées en fonction de la méthode de purification et de la protéine à purifier.</p>		
<p><u>LIENS :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> □ BIOTECHNOLOGIES : <ul style="list-style-type: none"> ○ 1.2.1. : migration électrophorétique des protéines ⇔ 1.1.1. : structure et propriétés des protéines, dénaturation des protéines ○ 1.2.1. : immunodétection en western blot ⇔ 1.3.2. : interactions antigène-anticorps ○ 1.2.2. : dosage d'activité biologique ⇔ 2.2.3. : activité enzymatique ○ 1.2.3. : structure d'une protéine purifiée ⇔ 1.1.1. : structures tridimensionnelles des protéines, sous-unités □ PHYSIQUE-CHIMIE : déplacement d'entités chargées dans un champ électrique – point isoélectrique. 		
<p>1.3. LES PROTÉINES, DES BIOMOLÉCULES PRÉSENTANT DES INTERACTIONS SPÉCIFIQUES AVEC D'AUTRES CONSTITUANTS</p>		
<p>1.3.1. INTERACTIONS PROTÉINE-LIGAND</p> <p>La fonction de nombreuses protéines est liée à leur faculté d'interagir spécifiquement avec de petites molécules appelées ligands.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Complexe protéine-ligand ● Interactions ou liaisons de faible énergie ● Site de reconnaissance ● Stéréospécificité ● Ajustement induit ● Constante de dissociation ● Affinité 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Repérer les acides aminés impliqués dans la liaison d'un ligand sur une représentation 2D ou 3D du site d'interaction. ▶ Établir l'équation de la droite de Scatchard. ▶ Déterminer la constante thermodynamique de dissociation et le nombre de sites récepteur par protéine à partir de la modélisation de Scatchard. ▶ Comparer l'affinité de différents complexes protéine-ligand à l'aide des constantes 	TB2

	thermodynamiques de dissociation.	
<p>1.3.2. INTERACTIONS ANTIGÈNE-ANTICORPS</p> <p>L'interaction antigène-anticorps est très largement utilisée dans le domaine des biotechnologies. Elle peut servir de modèle à l'étude des interactions protéine-ligand.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Complexe antigène-anticorps ● Domaine constant / domaine variable ● Fragment F_c ● Paratope ● Antigénicité ● Épitope séquentiel / épitope conformationnel ● Affinité ● Spécificité ● Anticorps monoclonal / sérum polyclonal 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Schématiser la structure d'une immunoglobuline de type G. ▶ Expliquer la spécificité de la reconnaissance antigène-anticorps. ▶ Discuter des avantages et des inconvénients de l'utilisation des anticorps monoclonaux par rapport aux sérums polyclonaux. 	TB2
<p><u>À TRAVAILLER EN LIEN AVEC LES COMPÉTENCES TECHNOLOGIQUES DU MODULE 5 :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - 5.3. ANALYSE D'UN ÉCHANTILLON PAR DOSAGE SPECTROPHOTOMÉTRIQUE - 5.4. IDENTIFICATION ET QUANTIFICATION SPÉCIFIQUE DE BIOMOLÉCULES - 5.7. MODÉLISATION EN BIOTECHNOLOGIES 		
<p><u>LIMITES & COMMENTAIRES :</u></p> <p>L'expression du quotient de réaction associé à la réaction de dissociation permet de réinvestir des concepts vus en physique-chimie.</p> <p>Les interactions protéine-ligand peuvent être l'occasion d'aborder des exemples d'applications pharmacologiques.</p> <p>Seules les immunoglobulines de type G et le cas de l'interaction non coopérative avec des sites équivalents et indépendants sont traités.</p> <p>L'origine de la diversité des anticorps n'est pas à traiter.</p>		
<p><u>LIENS :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> □ BIOTECHNOLOGIES : <ul style="list-style-type: none"> ○ 1.3.2. : interactions antigène-anticorps <ul style="list-style-type: none"> ⇔ 1.2.1. : immunodétection en western blot ⇔ 2.3.1. : dosages immunoenzymatiques □ PHYSIQUE-CHIMIE : évolution spontanée d'un système chimique – quotient de réaction et constante thermodynamique d'équilibre. □ MATHÉMATIQUES : applications affines – régression linéaire. 		

PARTIE 2 : ENZYMOLOGIE ET GÉNIE ENZYMATIQUE

Les enzymes sont des outils biotechnologiques utilisés dans de nombreux domaines : agronomie, industries agroalimentaires, préservation de l'environnement, santé animale ou humaine. Les enzymes sont des catalyseurs biologiques dont l'activité catalytique repose sur des interactions avec d'autres molécules. L'activité enzymatique traduit la quantité d'enzyme active dans un échantillon dans des conditions données.

NOTIONS & CONCEPTS	COMPÉTENCES ATTENDUES	
2.1. LES BIOMOLÉCULES, DES SUBSTRATS D'INTÉRÊT		
<p>2.1.1. GLUCIDES</p> <p>Les oses sont des polyalcools, possédant un groupement carbonyle.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Cyclisation ● Anomérie α / β <p>Les diholosides et les polyholosides résultent de l'association covalente d'oses.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Condensation ● Liaison O-osidique ● Monomère / oligomère / polymère ● Relation structure-fonction <p>Les hétérosides résultent de l'association covalente de glucides avec d'autres molécules organiques.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Condensation ● Liaison O-osidique / liaison N-osidique 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Représenter la formule semi-développée des principaux pentoses et hexoses sous forme cyclique. ▶ Représenter la formule semi-développée des principaux diholosides et identifier les liaisons mises en jeu. ▶ Relier l'organisation en polymère et la structure tridimensionnelle de l'amidon et de la cellulose à leur fonction de réserve d'énergie ou de structure. ▶ Écrire l'équation de la réaction modélisant l'hydrolyse du lactose, maltose et saccharose par les hydrolases spécifiques. ▶ Écrire les équations des réactions modélisant l'hydrolyse de l'amylopectine par les hydrolases spécifiques. ▶ Exploiter la formule chimique d'un hétéroside pour repérer la fraction glucidique et identifier la liaison mise en jeu. 	TB1
<p>2.1.2. LIPIDES</p> <p>Les acides gras sont des acides carboxyliques à longue chaîne hydrocarbonée.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Saturé / insaturé ● Cis / trans (Z/E) ● Amphiphile 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Exploiter la formule chimique semi-développée d'un acide gras pour identifier sa nature saturée ou insaturée, ses régions hydrophiles et hydrophobes. ▶ Relier la température de fusion d'un acide gras à son nombre d'atomes de carbone, à son nombre d'insaturations et à la configuration de celles-ci à 	TB1

<p>Les triglycérides résultent de l'estérification du glycérol par des acides gras. Les triglycérides sont des molécules apolaires.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Condensation ● Liaison ester ● Hydrophobe <p>Les phospholipides et les glycolipides résultent de l'association covalente entre des acides gras, un alcool (ou un amino-alcool) et d'autres constituants. Ces molécules amphiphiles forment des micelles et des bicouches lipidiques (membranes biologiques, liposomes).</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Condensation ● Liaison ester / phosphoester / amide ● Hydrophile / hydrophobe ● Amphiphile ● Relation structure-fonction 	<p>partir de données expérimentales.</p> <ul style="list-style-type: none"> ▶ Représenter la formule semi-développée d'un triglycéride, les formules des constituants de base étant fournies. ▶ Écrire l'équation d'une réaction modélisant l'hydrolyse d'un triglycéride par une lipase. <ul style="list-style-type: none"> ▶ Représenter la formule semi-développée d'un phospholipide, les formules des constituants de base étant fournies. ▶ Exploiter la formule chimique semi-développée d'un phospholipide ou d'un glycolipide pour repérer les régions hydrophiles et hydrophobes. ▶ Relier la structure d'un phospholipide à sa fonction dans l'organisation des bicouches lipidiques. 	
<p>2.1.3. PROTIDES</p> <p>Les structures et les propriétés des acides aminés, des peptides et des protéines sont détaillées dans la PARTIE 1, en relation avec leur extraction, leur purification, leur analyse et leur utilisation.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Écrire l'équation de la réaction modélisant l'hydrolyse d'une liaison peptidique par une peptidase. 	TB1
<p>2.1.4. ACIDES NUCLÉIQUES</p> <p>Les structures et les propriétés des bases azotées, des nucléotides et des acides nucléiques sont détaillées dans la PARTIE 4, en relation avec leur extraction, leur purification, leur analyse et leur utilisation.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Écrire l'équation d'une réaction modélisant l'hydrolyse d'une liaison phosphodiester par une nucléase. 	TB1
<p><u>LIMITES & COMMENTAIRES :</u></p> <p>Les formules semi-développées des molécules suivantes sont à connaître : D-glucopyranose, D-ribofuranose, D-2-désoxyribofuranose. La numérotation de leurs atomes de carbone est exigible.</p> <p>La composition en ose et la configuration de la liaison osidique des molécules suivantes sont à connaître :</p> <ul style="list-style-type: none"> - diholosides : maltose, saccharose, lactose ; - polyholosides : amidon (amylose et amylopectine), cellulose. 		
<p><u>LIENS :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> □ BIOTECHNOLOGIES : <ul style="list-style-type: none"> ○ 2.1.1. : hétérosides, oses ⇔ 3.1.2. : structure bactérienne (NAM, NAG, inclusions) ⇔ 3.2.2. : catabolisme oxydatif des glucides ○ 2.1.1. - 2.1.2. - 2.1.3. - 2.1.4. : substrats 		

- ⇔ 2.2.1. : spécificité enzymatique
- 2.1.2. : lipides, bicouches phospholipidiques
 - ⇔ 1.1.1. - 1.1.2. : protéines membranaires
 - ⇔ 3.1.2. : structure bactérienne (membrane)
- 2.1.3. : hydrolyse de la liaison peptidique
 - ⇔ 1.1.1. : liaison peptidique, hydrolyse des protéines
- 2.1.4. : hydrolyse de la liaison phosphodiester
 - ⇔ 4.1.1. : liaison phosphodiester
 - ⇔ 4.1.2. : enzymes de restriction
- SVT :
 - SV-C-1 Les cellules au sein d'un organisme
 - SV-C-3 Membranes et échanges transmembranaires
 - SV-C-4 Intégration physiologique du métabolisme cellulaire
- PHYSIQUE-CHIMIE : familles fonctionnelles en chimie organique – configuration et conformation d'une biomolécule.

2.2. LES ENZYMES, DES BIOMOLÉCULES PRÉSENTANT UNE ACTIVITÉ CATALYTIQUE

2.2.1. CATALYSE ENZYMATIQUE

Les catalyseurs biologiques présentent des particularités par rapport aux catalyseurs chimiques.

- Spécificité
- Efficacité
- Conditions physiologiques
- Chemin réactionnel
- État de transition
- Énergie d'activation
- Loi d'Arrhénius
- Stabilisation du complexe activé
- Régulation
- Dénaturation

La classification des enzymes est basée sur leurs spécificités de réaction et de substrat.

- Nomenclature EC
- Spécificité de réaction / spécificité de substrat

Les enzymes ont un site actif formé par des acides aminés rapprochés par le repliement tridimensionnel de l'enzyme, faisant parfois intervenir des cofacteurs associés de manière covalente ou non.

- Liaison du substrat / transformation du substrat
- Complexe enzyme-substrat
- Dynamique conformationnelle
- Cofacteur
- Holoenzyme / apoenzyme
- Mécanismes réactionnels

- ▶ Comparer les propriétés des catalyseurs chimiques et des catalyseurs biologiques.
- ▶ Présenter les particularités de la catalyse biologique au niveau moléculaire et énergétique.

- ▶ Identifier la classe de l'enzyme selon l'équation de la réaction qu'elle catalyse, à l'aide d'une documentation.

- ▶ Préciser le(s) type(s) d'interactions mises en jeu entre une enzyme et son substrat.
- ▶ Exploiter des données expérimentales de mutagenèse au niveau du site actif pour mettre en évidence l'importance des propriétés de certains acides aminés et leur rôle probable dans la spécificité de substrat et le mécanisme catalytique.

TB1

<p>2.2.2. CINÉTIQUE À UN SUBSTRAT DES ENZYMES MICHAELIENNES</p> <p>La vitesse initiale est la vitesse de réaction enzymatique en début de réaction lorsqu'elle est quasi-constante.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Vitesse volumique de réaction ● Vitesse initiale v_i ● Phase quasi-stationnaire initiale ● Réaction non catalysée / réaction catalysée <p>La vitesse initiale d'une réaction enzymatique dépend de la concentration totale en enzyme, de la concentration initiale en substrat, ainsi que des conditions opératoires.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Milieu réactionnel ● Conditions initiales ● Approximation de l'état quasi-stationnaire ● Courbe primaire / courbe secondaire ● Formalisation de Michaelis-Menten ● Saturation <p>Les paramètres cinétiques sont déterminés à partir de résultats expérimentaux traités selon différentes modélisations.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Vitesse initiale maximale $v_{i\ max}$ ● Constante de Michaelis K_M ● Efficacité catalytique / affinité ● Constante catalytique ● Constante de spécificité ● Modélisations linéaires / non linéaires 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Tracer une courbe cinétique (primaire) de formation du produit ou de consommation du substrat en fonction du temps. ▶ Déterminer la durée de la phase quasi-stationnaire initiale. ▶ Analyser une procédure expérimentale de détermination d'une vitesse initiale de réaction enzymatique en justifiant la méthode de mesure, les conditions opératoires et les témoins réalisés. ▶ Déterminer une vitesse initiale de réaction. ▶ Exprimer la vitesse initiale de réaction dans une unité appropriée. ▶ Tracer la courbe secondaire de saturation de Michaelis-Menten. ▶ Commenter l'allure de la courbe de saturation à l'aide de l'équation de Michaelis-Menten. ▶ Déterminer les paramètres cinétiques d'une enzyme à l'aide d'une modélisation linéaire. ▶ Déterminer les paramètres cinétiques d'une enzyme à l'aide d'un logiciel de modélisation non linéaire. ▶ Argumenter le choix d'une enzyme en fonction des besoins technologiques et de ses paramètres cinétiques. 	<p>TB1</p>
<p>2.2.3. ACTIVITÉ ENZYMATIQUE DES ENZYMES MICHAELIENNES</p> <p>L'activité catalytique se détermine par mesure de la vitesse initiale de transformation de la réaction dans des conditions expérimentales données. Elle traduit une quantité d'enzyme active.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Conditions standardisées ● Réactions couplées 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Analyser une procédure expérimentale de détermination de l'activité catalytique d'une 	<p>TB2</p>

<ul style="list-style-type: none"> ● Réaction principale / réaction auxiliaire / réaction indicatrice ● Réaction non catalysée / réaction catalysée ● Étape cinétiquement déterminante <p>Différentes grandeurs permettent de caractériser une préparation enzymatique afin de suivre la purification d'une enzyme.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Concentration d'activité catalytique / activité catalytique spécifique ● Rendement / enrichissement 	<p>enzyme, en justifiant la méthode de mesure, les conditions opératoires, les couplages éventuels de réaction et les témoins réalisés.</p> <ul style="list-style-type: none"> ▶ Déterminer une activité catalytique. ▶ Exprimer l'activité catalytique dans une unité appropriée. ▶ Déterminer une concentration d'activité catalytique. ▶ Déterminer une activité catalytique spécifique. ▶ Conclure quant à la qualité d'une purification d'enzyme à partir des valeurs de rendement et d'enrichissement. 	
<p>2.2.4. MODULATION DE L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE DES ENZYMES MICHAELIENNES</p> <p>Les performances des enzymes michaeliennes dépendent des conditions expérimentales.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Température optimale ● Activation thermique / dénaturation thermique ● Loi d'Arrhénius ● pH optimal / pH d'arrêt <p>Les performances des enzymes michaeliennes dépendent de la présence d'effecteurs.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Activation ● Inhibition compétitive / non compétitive pure ● Inhibition par excès de substrat 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Déterminer la température optimale et le pH optimal de fonctionnement d'une enzyme. ▶ Expliquer l'évolution de l'activité enzymatique en fonction de la température ou en fonction du pH. ▶ Argumenter le choix des conditions opératoires lors d'une utilisation d'enzymes au laboratoire. ▶ Identifier l'effet inhibiteur ou activateur d'un ligand à partir de résultats expérimentaux. ▶ Déterminer les paramètres cinétiques apparents pour distinguer une inhibition compétitive d'une inhibition non compétitive pure. ▶ Relier la modification des paramètres cinétiques et le schéma réactionnel. 	TB1
<p>2.2.5. CINÉTIQUE DES ENZYMES ALLOSTÉRIQUES</p> <p>La vitesse initiale des enzymes allostériques dépend de leur conformation, qui est influencée par la fixation de ligands.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Oligomère / protomère ● Site actif / site allostérique ● Sites interdépendants ● Effecteur ● Homotropie / hétérotropie ● Forme R / forme T ● Transition allostérique 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Argumenter le comportement michaelien ou allostérique d'une enzyme sur la base de la comparaison des courbes $v_i = f([S]_0)$. ▶ Commenter l'allure de la courbe de saturation d'une enzyme allostérique en lien avec la transition conformationnelle. 	TB2

<ul style="list-style-type: none"> ● Vitesse initiale maximale ● Constante $K_{0,5}$ ● Affinité 	<p>► Reconnaître un effet activateur allostérique et un effet inhibiteur allostérique à partir des courbes $v_i = f([S]_0)$ d'un système K.</p>	
---	--	--

ACTIVITÉS EXPÉRIMENTALES SUPPORT DE LA FORMATION :

- Détermination d'une vitesse initiale.
- Détermination des paramètres cinétiques d'une enzyme michaelienne.
- Détermination d'une activité catalytique.
- Étude de la modification d'une activité catalytique par un effecteur.

À TRAVAILLER EN LIEN AVEC LES COMPÉTENCES TECHNOLOGIQUES DU MODULE 5 :

- 5.3. ANALYSE D'UN ÉCHANTILLON PAR DOSAGE SPECTROPHOTOMÉTRIQUE
- 5.4. IDENTIFICATION ET QUANTIFICATION SPÉCIFIQUE DE BIOMOLÉCULES
- 5.7. MODÉLISATION EN BIOTECHNOLOGIES
- 5.8. CHOIX ET OPTIMISATION D'UNE MÉTHODE
- 5.9. DÉMARCHE DE PRÉVENTION DES RISQUES BIOLOGIQUES ET CHIMIQUES

LIMITES & COMMENTAIRES :

Les classes d'enzymes ne sont pas à connaître.

La démonstration de l'équation de Michaelis-Menten n'est pas exigible.

L'utilisation des différentes modélisations n'impose pas que ces modèles soient sus. Les variables des différentes modélisations sont données afin de déterminer les paramètres cinétiques.

Seuls les modèles de l'inhibition compétitive et non compétitive sont traités.

Les modulations de l'activité enzymatique par modification covalente ne sont pas traitées en Biotechnologies.

Seuls les systèmes allostériques à coopérativité positive de type K sont abordés.

Les explications de la transition allostériques sont limitées aux modèles concerté (Monod-Wyman-Changeux) et séquentiel (Koshland-Nemethy-Filmer).

LIENS :

- BIOTECHNOLOGIES :
 - 2.2.1. : spécificité enzymatique
 ⇔ 2.1.1. - 2.1.2. - 2.1.3. - 2.1.4. : substrats
 - 2.2.1. - 2.2.4. : catalyse enzymatique, modulation de l'activité enzymatique
 ⇔ 1.1.1. : propriétés des acides aminés, structures tridimensionnelles des protéines
 - 2.2.3. : activité enzymatique
 ⇔ 1.2.2. : dosage d'activité biologique
- SVT :
 - SV-B-1 La respiration : une fonction en interaction directe avec le milieu
 - SV-C-4 Intégration physiologique du métabolisme cellulaire
- PHYSIQUE-CHIMIE : catalyse – profil réactionnel – cinétique chimique – loi d'Arrhénus – point isoélectrique.
- MATHÉMATIQUES : asymptotes d'une hyperbole – changement de variable – régression linéaire.

2.3. LES ENZYMES, DES OUTILS BIOTECHNOLOGIQUES

2.3.1. DES ENZYMES POUR ANALYSER

Les enzymes permettent de doser des substrats en phase homogène.

- Méthode en point final
- Réaction principale / réaction auxiliaire / réaction indicatrice
- Spécificité

► Analyser une démarche expérimentale de dosage d'un substrat en point final, en justifiant la méthode de mesure, les conditions opératoires, les couplages éventuels de réactions et les

TB2

<ul style="list-style-type: none"> ● Étalonnage ● Sensibilité de la méthode ● Seuil de détection / seuil de quantification ● Domaine de mesurage ● Interférences <p>Les enzymes permettent de révéler un complexe antigène-anticorps dans le cadre de dosages immunoenzymatiques en phase hétérogène.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Complexe antigène-anticorps ● ELISA ● Méthode directe / indirecte ● Méthode non compétitive / compétitive ● Méthode simple / méthode sandwich ● Témoins ● Spécificité ● Étalonnage ● Sensibilité de la méthode ● Seuil de détection / seuil de quantification ● Domaine de mesurage ● Réactions croisées 	<p>témoins réalisés.</p> <ul style="list-style-type: none"> ▶ Déterminer la concentration d'un substrat lors d'un dosage en point final. ▶ Réaliser un schéma à l'échelle moléculaire des différentes étapes d'un mode opératoire de dosage immunoenzymatique. ▶ Analyser une démarche expérimentale de dosage immunoenzymatique pour déterminer le type de dosage réalisé. ▶ Expliquer le rôle de chaque étape d'un dosage immunoenzymatique. ▶ Proposer le protocole de réalisation d'un témoin en précisant son rôle. ▶ Relier l'allure de la courbe de dosage au principe de la méthode. ▶ Déterminer la concentration en antigène ou en anticorps d'un échantillon à l'aide d'une courbe d'étalonnage. 	
<p>2.3.2. DES ENZYMES POUR PRODUIRE</p> <p>Les enzymes sont utilisées industriellement comme agents de production.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Bioconversion ● Biodégradation <p>Les enzymes ou les cofacteurs enzymatiques peuvent être immobilisés selon différentes techniques. Les enzymes sont alors stabilisées et réutilisables. Certaines de leurs propriétés sont modifiées.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Immobilisation par méthode physique / chimique ● Activité enzymatique ● Paramètres cinétiques ● Macroenvironnement / microenvironnement ● Partage / diffusion ● Stabilité thermique ● Structure tridimensionnelle <p>Les enzymes dans l'industrie sont utilisées dans des bioréacteurs.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Paramètres cinétiques ● Débit ● Continu / discontinu ● Réacteur à lit fixé 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Illustrer l'utilisation d'enzymes dans le domaine industriel par des exemples. ▶ Comparer différentes méthodes d'immobilisation à partir d'une documentation ou de données expérimentales. ▶ Déterminer le rendement d'immobilisation d'une enzyme. ▶ Argumenter le choix d'une méthode d'immobilisation au vu des exigences de production et des performances de la méthode d'immobilisation. ▶ Comparer le fonctionnement des différents types de bioréacteurs enzymatiques à partir d'une documentation ou de données expérimentales. 	TB2

- Optimisation

- ▶ Déterminer un taux de conversion pour un réacteur discontinu ou continu.

ACTIVITÉS EXPÉRIMENTALES SUPPORT DE LA FORMATION :

- Dosage d'un substrat par méthode enzymatique en point final.
- Dosage immunoenzymatique.
- Immobilisation d'une enzyme.

À TRAVAILLER EN LIEN AVEC LES COMPÉTENCES TECHNOLOGIQUES DU MODULE 5 :

- 5.3. ANALYSE D'UN ÉCHANTILLON PAR DOSAGE SPECTROPHOTOMÉTRIQUE
- 5.4. IDENTIFICATION ET QUANTIFICATION SPÉCIFIQUE DE BIOMOLÉCULES
- 5.7. MODÉLISATION EN BIOTECHNOLOGIES
- 5.8. CHOIX ET OPTIMISATION D'UNE MÉTHODE
- 5.9. DÉMARCHE DE PRÉVENTION DES RISQUES BIOLOGIQUES ET CHIMIQUES

LIMITES & COMMENTAIRES :

La représentation des architectures moléculaires se limite aux immunoglobulines de type G

Deux exemples permettent d'illustrer l'utilisation d'enzymes dans le domaine industriel.

Les méthodes d'immobilisation à envisager sont : inclusion (en matrice, encapsulation), liaison (interactions ou liaisons ioniques, adsorption, liaisons covalentes), réticulation (enzymatique, chimique).

La comparaison des méthodes d'immobilisation permet de faire émerger les points critiques et les avantages de ces techniques.

La modélisation mathématique du fonctionnement d'un bioréacteur n'est pas attendue.

LIENS :

- BIOTECHNOLOGIES :
 - **2.3.1.** : dosages immunoenzymatiques
⇔ **1.3.2.** : interactions antigène-anticorps
 - **2.3.2.** : génie enzymatique
⇔ **1.1.1.** - **1.1.2.** : purification de protéines d'intérêt
⇔ **3.3.4.** - **3.3.5.** : génie fermentaire
⇔ **4.5.2.** - **4.5.3.** : ingénierie des protéines, génie génétique
- SVT :
 - SV-F Le développement embryonnaire chez les vertébrés
- PHYSIQUE CHIMIE : catalyse.

PARTIE 3 : MICROBIOLOGIE ET GÉNIE FERMENTAIRE

La diversité des microorganismes présente un intérêt écologique (cycle du carbone, cycle de l'azote, rumen, microbiote), et peut être exploitée par l'homme dans diverses applications biotechnologiques : fertilisation des sols, fermentations industrielles, traitement des eaux, production de biocarburants, dépollution. En effet, cette diversité se décline du point de vue structural et métabolique, expliquant l'implantation des microorganismes dans tous les biotopes et leur permettant de jouer un rôle clé dans tous les écosystèmes.

NOTIONS & CONCEPTS	COMPÉTENCES ATTENDUES	
3.1. LE MONDE MICROBIEN, UNITÉ ET DIVERSITÉ		
<p>3.1.1. UNITÉ DU MONDE MICROBIEN</p> <p>Les microorganismes sont des êtres vivants microscopiques. La place des virus dans le vivant est discutée.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Échelle microscopique ● Organisation eucaryote / procaryote / acaryote ● Unité du vivant ● Cellulaire / acellulaire 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Discriminer les trois domaines du vivant (Bactéries, Archées, Eucaryotes). ▶ Dégager les points communs à tous les microorganismes pour montrer que la cellule est l'unité structurale et fonctionnelle du vivant. 	TB1
<p>3.1.2. DIVERSITÉ DES MICROORGANISMES</p> <p>Les microorganismes d'intérêt sont des bactéries, des levures, des moisissures, des microalgues.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Critères de description <p>Les bactéries présentent des éléments structuraux communs caractéristiques et des éléments structuraux variables en lien avec les conditions environnementales.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Éléments communs / éléments variables ● Structure / ultrastructure ● Structure-fonction ● Coloration différentielle ● Perméabilité pariétale <p>Les méthodes d'identification permettent d'attribuer un nom aux microorganismes par référence à une classification. La démarche d'identification est adaptée à l'objectif. Les méthodes d'identification ont évolué.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Classification / identification ● Taxon / niveau taxonomique ● Base de données de référence ● Approches dichotomique / probabiliste / moléculaire 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Décrire un microorganisme en utilisant la taille, la forme, la mobilité, le mode de groupement et la coloration, selon les modes opératoires mis en œuvre. ▶ Identifier les éléments constituant une cellule bactérienne à partir d'observations expérimentales ou d'électronographies. ▶ Expliquer le rôle des étapes d'une coloration différentielle, en reliant l'action des réactifs aux propriétés des éléments structuraux pariétaux mis en évidence. ▶ Appliquer une démarche raisonnée d'identification phénotypique pour déterminer un genre et une espèce, à l'aide d'une documentation. 	TB1 TB2

<ul style="list-style-type: none"> ● Pouvoir discriminant ● Critères d'efficacité / de performance 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Comparer une méthode d'identification phénotypique à une méthode d'identification moléculaire ou à une méthode d'identification par spectrométrie de masse, à l'aide d'une documentation. 	
<p>3.1.3. VIRUS</p> <p>Les virus ne sont pas des microorganismes, ce sont des entités nucléoprotéiques qui ne sont pas autonomes pour se multiplier.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Parasite intracellulaire obligatoire ● Hôte <p>Un cycle viral dépend de la nature du virus et de l'hôte infecté.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Multiplication virale ● Sensibilité / permissivité 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Montrer le caractère parasite intracellulaire obligatoire à l'aide d'un cycle viral. ▶ Repérer les grandes étapes de multiplication d'un virus à partir de l'étude de son cycle. ▶ Relier le déroulement des étapes du cycle viral à l'organisation moléculaire du virus. 	TB2
<p><u>ACTIVITÉS EXPÉRIMENTALES SUPPORT DE LA FORMATION :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Réalisation d'une coloration différentielle (Gram, coloration des spores...) à l'aide d'une fiche technique. - Réalisation d'examens microscopiques de cellules vivantes et de frottis après coloration. - Réalisation d'une identification phénotypique. <p><u>À TRAVAILLER EN LIEN AVEC LES COMPÉTENCES TECHNOLOGIQUES DU MODULE 5 :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - 5.5. OBSERVATION D'UN OBJET OU D'UNE RÉACTION EN VUE DE SA DESCRIPTION PUIS DE SA CARACTÉRISATION - 5.6. CULTURE ET QUANTIFICATION DES MICROORGANISMES - 5.9. DÉMARCHE DE PRÉVENTION DES RISQUES BIOLOGIQUES ET CHIMIQUES 		
<p><u>LIMITES & COMMENTAIRES :</u></p> <p>En biotechnologies, l'identification des microorganismes (levures, moisissures, microalgues) est à visée applicative et s'appuie sur une nomenclature. En SVT, l'approche est essentiellement phylogénétique et s'intéresse aux liens de parentés entre organismes.</p> <p>L'identification se limite aux bactéries et aux levures. Aucune galerie d'identification n'est à connaître.</p> <p>Les méthodes d'identification moléculaires ne sont pas à connaître mais seulement présentées à partir d'une documentation. Le principe de la spectrométrie de masse n'est pas exigible.</p> <p>Aucune monographie de virus n'est attendue. Il s'agit de montrer la diversité structurale (organisation structurale, taille, présence ou non d'une enveloppe, nature de l'information génétique) et la diversité d'hôte à l'aide de trois exemples dont un bactériophage à ADN.</p>		
<p><u>LIENS :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> □ BIOTECHNOLOGIES : <ul style="list-style-type: none"> ○ 3.1.2. : structure bactérienne (NAM, NAG, inclusions, membrane) <ul style="list-style-type: none"> ⇔ 2.1.1. : hétérosides ⇔ 2.1.2. : lipides ○ 3.1.2. : identification <ul style="list-style-type: none"> ⇔ 3.2.1. : métabolisme énergétique ⇔ 3.3.3. : diauxie ⇔ 4.5.1. : opéron lactose □ SVT : <ul style="list-style-type: none"> ○ SV-C La cellule dans son environnement ○ SV-D-1 Génome des cellules, transmission de l'information génétique 		

3.2. LA DIVERSITÉ DES MÉTABOLISMES MICROBIENS, UN INTÉRÊT ÉCOLOGIQUE

3.2.1. MÉTABOLISME ÉNERGÉTIQUE

Le métabolisme des microorganismes permet de les catégoriser en types trophiques.

- Anabolisme / catabolisme
- Métabolisme énergétique
- Sources d'énergie / d'électrons / de matière / de facteurs de croissance
- Versatilité métabolique

Le potentiel énergétique existe sous différentes formes.

- Enthalpie libre de réaction
- Énergie lumineuse
- Énergie chimique
- Énergie osmotique
- Couplages énergétiques
- Transduction

L'ATP est produit par différents mécanismes de phosphorylation.

- Composé à haut potentiel d'hydrolyse
- Couplage chimio-chimique / osmo-chimique
- Transduction
- Moteur moléculaire
- Dynamique conformationnelle

Les chaînes de transporteurs membranaires d'électrons présentent une unité dans leur diversité.

- Donneur primaire / accepteur final d'électrons
- Potentiel d'oxydo-réduction
- Gradient électrochimique de cations
- Translocation de cations
- Couplage chimio-osmotique / photo-chimique

Le pouvoir réducteur peut être créé dans le

▶ Relier la couverture des besoins des microorganismes en énergie, en électrons, en matière et en facteurs de croissance éventuels à leurs types trophiques.

▶ Réaliser un schéma de synthèse pour montrer les transductions entre les formes d'énergie à partir de documents présentant différentes voies métaboliques.

▶ Expliquer le rôle central de l'ATP dans le métabolisme énergétique.

▶ Expliquer la notion de couplage énergétique.

▶ Expliquer le couplage chimio-chimique à l'origine de la phosphorylation au niveau du substrat.

▶ Expliquer le couplage osmo-chimique au niveau de l'ATP synthase.

▶ Distinguer les types de transporteurs (électrons / électrons-cations) dans une chaîne de transporteurs membranaires.

▶ Identifier le donneur primaire et l'accepteur final d'électrons d'une chaîne de transporteurs membranaires.

▶ Expliquer le couplage chimio-osmotique à l'origine de la création du gradient transmembranaire de cations.

▶ Comparer l'organisation fonctionnelle d'une chaîne membranaire respiratoire et l'organisation fonctionnelle d'une chaîne membranaire photosynthétique.

▶ Comparer le fonctionnement de chaînes membranaires de transfert d'électrons en utilisant les variations de potentiel d'oxydoréduction et d'enthalpie libre de réaction.

TB1

<p>cytoplasme ou à l'issue d'un transport membranaire d'électrons.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Production cytosolique ● Flux membranaire direct ● Flux membranaire inverse 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Distinguer les modes de production des cofacteurs réduits lors de l'analyse de voies métaboliques. 	
<p>3.2.2. MICROORGANISMES CHIMIOTROPHES</p> <p>Les microorganismes chimiotrophes oxydent un composé chimique réduit pour produire de l'ATP et du pouvoir réducteur.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Chimioorganotrophie / chimiolithotrophie ● Respiration aérobie / respirations anaérobies ● Fermentations ● Couplage chimio-chimique / chimio-osmotique / osmo-chimique ● Rendement énergétique ● Donneur primaire / accepteur final d'électrons ● Réoxydation des coenzymes ● Carrefour métabolique 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Écrire les bilans de matière et d'énergie de la glycolyse et des fermentations éthanolique et homolactique à partir du glucose chez les chimioorganotrophes. ▶ Établir les bilans de matière et d'énergie de voies métaboliques chez les chimioorganotrophes. ▶ Établir les bilans de matière et d'énergie de voies métaboliques chez les chimiolithotrophes ▶ Expliquer le rôle métabolique central du cycle de Krebs chez les chimioorganotrophes à partir d'une documentation. ▶ Schématiser l'organisation fonctionnelle d'une chaîne membranaire respiratoire. ▶ Expliquer le fonctionnement de la chaîne membranaire respiratoire en utilisant les variations de potentiel d'oxydoréduction et d'enthalpie libre de réaction. ▶ Repérer les réactions faisant intervenir des couplages énergétiques et identifier le type de couplage mis en jeu. ▶ Comparer des voies métaboliques en termes de donneur primaire et d'accepteur final d'électrons, de voie de réoxydation des coenzymes, de mode de production d'ATP, et de rendement énergétique, à l'aide d'une documentation. ▶ Présenter l'intérêt des fermentations éthanolique et homolactique dans le cadre de productions d'intérêt industriel et/ou agroalimentaire. 	TB1
<p>3.2.3. MICROORGANISMES PHOTOTROPHES AUTOTROPHES</p> <p>Les microorganismes phototrophes utilisent une source d'énergie lumineuse pour produire de l'ATP et du pouvoir réducteur. Chez les microorganismes autotrophes, l'ATP et le pouvoir réducteur sont réinvestis pour la synthèse de matière organique.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Phototrophie / photosynthèse ● Photosynthèse oxygénique ● Réaction photo-chimique 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Schématiser l'organisation fonctionnelle de la chaîne photosynthétique des cyanobactéries. 	TB1

<ul style="list-style-type: none"> ● Photosystèmes / antennes collectrices / centre réactionnel ● Couplage photo-chimique / chimio-osmotique / osmo-chimique /chimio-chimique ● Donneur primaire / accepteur final d'électrons ● Autotrophie vis-à-vis du carbone 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Expliquer le fonctionnement de la chaîne membranaire photosynthétique en utilisant les variations de potentiel d'oxydoréduction lors de la production d'ATP et de pouvoir réducteur chez les cyanobactéries. ▶ Écrire l'équation de la réaction catalysée par la RuBisCO. ▶ Établir le bilan de matière et d'énergie du cycle de Calvin. ▶ Montrer l'importance de l'ATP et du pouvoir réducteur pour la fixation autotrophe du CO₂ au niveau du cycle de Calvin. ▶ Repérer les réactions faisant intervenir des couplages énergétiques dans la photosynthèse et identifier le type de couplage mis en jeu. 	
<p>3.2.4. ÉCOLOGIE MICROBIENNE</p> <p>Les microorganismes présentent une diversité de métabolismes et de modalités pour s'implanter dans les écosystèmes. Ils jouent un rôle clé dans certaines étapes des cycles de l'azote et du carbone.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Biotope / biocénose ● Biofilms ● Coopération entre microorganismes ● Cycle de la matière ● Interconversions matière minérale-matière organique 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Montrer la coopération au niveau nutritionnel d'une association de microorganismes. ▶ Identifier le type trophique des microorganismes intervenant à chaque étape d'un cycle de la matière. ▶ Distinguer les réactions d'assimilation et de dissimilation dans les cycles de la matière. ▶ Construire un schéma simple du cycle de l'azote ou du carbone en indiquant les différentes formes de la matière et les types trophiques des microorganismes intervenant dans les interconversions. 	TB2
<p><u>ACTIVITÉS EXPÉRIMENTALES SUPPORT DE LA FORMATION :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Détermination du type respiratoire. - Réalisation de tests enzymatiques en vue de l'étude du métabolisme. <p><u>À TRAVAILLER EN LIEN AVEC LES COMPÉTENCES TECHNOLOGIQUES DU MODULE 5 :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - 5.4. IDENTIFICATION ET QUANTIFICATION SPÉCIFIQUE DE BIOMOLÉCULES - 5.5. OBSERVATION D'UN OBJET OU D'UNE RÉACTION EN VUE DE SA DESCRIPTION PUIS DE SA CARACTÉRISATION - 5.6. CULTURE ET QUANTIFICATION DES MICROORGANISMES - 5.9. DÉMARCHE DE PRÉVENTION DES RISQUES BIOLOGIQUES ET CHIMIQUES 		
<p><u>LIMITES & COMMENTAIRES :</u></p> <p>Seules les formules semi-développées du D-glucopyranose, du pyruvate, du groupement acétyl (de l'acétyl-coenzyme A), de l'éthanol et du lactate sont à connaître.</p> <p>Les valeurs des potentiels d'oxydoréduction standards apparents des couples suivants sont à connaître : NAD⁺/NADH et O₂/H₂O.</p> <p>L'étude du fonctionnement de l'ATP synthase se limite au principe général de son fonctionnement.</p>		

La présentation des voies métaboliques se fait à partir d'exemples choisis pour leur intérêt écologique et/ou biotechnologique : respiration aérobie, respiration anaérobie des nitrates (dénitrification), méthanogenèse, nitrification, fermentations éthanolique et homolactique... Ils permettent d'illustrer les interconversions entre les formes d'énergie et de mettre en évidence la diversité des couplages énergétiques.

Une coordination entre les enseignants de SVT et de biotechnologies est indispensable lors de l'étude de la photosynthèse. Les photosynthèses anoxygéniques ne sont pas traitées.

La comparaison de ces voies métaboliques se fait à plusieurs niveaux : comparaison de respirations chez les chimoorganotrophes, comparaison de fermentations chez les chimoorganotrophes, comparaisons entre les respirations et les fermentations chez les chimoorganotrophes, comparaison des respirations entre les chimoorganotrophes et les chimolithotrophes.

Une coordination entre les enseignants de SVT et de biotechnologies est indispensable lors de l'étude des cycles de la matière.

L'étude des cycles de l'azote et du carbone permet d'illustrer la diversité métabolique des microorganismes, en lien avec les métabolismes des chimiotrophes (dénitrification, nitrification, méthanogenèse) et des phototrophes (photosynthèse oxygénique) présentés par ailleurs.

Les associations de microorganismes peuvent être abordés à l'aide d'exemples simples : biofilms (corrosion de tuyau, plaque dentaire, environnement...), bioréacteurs naturels (rumen...).

LIENS :

- BIOTECHNOLOGIES :
 - 3.2.1. - 3.2.2. : métabolisme énergétique
 - ⇔ 3.1.2. : identification
 - ⇔ 3.3.1. : types trophiques, nutrition, culture
 - 3.2.2. : catabolisme oxydatif des glucides
 - ⇔ 2.1.1. : oses
- SVT :
 - SV-A-1 Regards sur un organisme Métazoaire : un Bovidé
 - SV-A-2 Regards sur un organisme Angiosperme : une Fabacée
 - SV-C-4 Intégration physiologique du métabolisme cellulaire
 - SV-H-2 Les écosystèmes : structure, fonctionnement et dynamique
 - BG-A-1 Le cycle du carbone
 - BG-A-2 Le cycle de l'azote
 - BG-B-1 Le sol
- PHYSIQUE-CHIMIE : évolution spontanée d'un système physico-chimique modélisée par une réaction d'oxydo-réduction – modélisation de la transformation d'un système chimique par une réaction d'oxydo-réduction – osmose et diffusion de particules à travers une membrane – loi de Fick.

3.3. LES MICROORGANISMES, DES OUTILS BIOTECHNOLOGIQUES

3.3.1. NUTRITION ET CULTURE DES MICROORGANISMES

La connaissance des besoins nutritionnels et des exigences physico-chimiques des microorganismes permet de concevoir des milieux de culture appropriés et de mettre en place des conditions de culture adaptées.

- Types trophiques
- Température optimale / pH optimal
- Atmosphère de culture
- Milieux sélectifs
- Milieux différentiels

► Expliquer l'influence des paramètres physico-chimiques sur le développement des microorganismes.

► Relier les résultats de culture d'un

TB1

	<p>microorganisme dans des conditions données à ses exigences nutritionnelles ou physico-chimiques.</p> <ul style="list-style-type: none"> ▶ Relier la composition biochimique d'un milieu de culture et son(s) utilisation(s) : isolement, enrichissement, sélection, identification, production. 	
<p>3.3.2. QUANTIFICATION DES MICROORGANISMES</p> <p>La quantification d'une population microbienne permet d'estimer sa concentration dans un milieu de culture, au cours d'une croissance, dans un produit biotechnologique, lors de contrôles d'hygiène.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Cellules totales / revivifiables / viables non cultivables ● Seuil de quantification ● Facteur de proportionnalité 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Expliquer le principe d'une technique de quantification usuelle des microorganismes. ▶ Dégager le principe d'une technique de quantification à l'aide d'une documentation. ▶ Comparer des techniques de quantification en termes d'informations apportées, de rapidité, de simplicité, de robustesse, de seuil de quantification et d'intérêt selon les objectifs. ▶ Déterminer une concentration en microorganismes dans un échantillon. ▶ Interpréter des résultats de quantification en lien avec le contexte. 	TB1
<p>3.3.3. CROISSANCE DES MICROORGANISMES</p> <p>La croissance des microorganismes unicellulaires en milieu liquide non renouvelé peut être modélisée.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Division bactérienne ● Vitesse volumique de croissance / vitesse spécifique de croissance ● Temps de génération / taux horaire de croissance ● Bactériostase / bactéricidie ● Diauxie 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Expliquer la courbe d'évolution de la biomasse en fonction du temps. ▶ Représenter une courbe de croissance microbienne à partir de résultats expérimentaux. ▶ Nommer les phases de croissance et déterminer leur durée. ▶ Déterminer les paramètres cinétiques de croissance. ▶ Présenter les facteurs influençant la durée des phases et les valeurs des paramètres cinétiques de croissance. ▶ Relier la croissance en présence d'un inhibiteur à son effet bactériostatique ou bactéricide. ▶ Relier la croissance diauxique à la consommation successive de deux substrats. 	TB1

<p>3.3.4. CULTURES EN BIORÉACTEUR</p> <p>La culture des microorganismes en bioréacteur permet la bioproduction, la bioconversion et la biodégradation.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Culture en milieu non renouvelé (<i>batch</i>) / culture en milieu alimenté (<i>fed-batch</i>) / culture en milieu renouvelé (culture continue) ● Biomasse ● Métabolites associés à la croissance / non associés à la croissance ● Rendement ● Productivité <p>Le bioréacteur de laboratoire permet d'optimiser la culture des microorganismes, à plus ou moins grande échelle.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Culture contrôlée ● Boucle de régulation ● Analyses en ligne / hors ligne 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Présenter les caractéristiques générales de la culture discontinue en milieu non renouvelé (<i>batch</i>). ▶ Déterminer à partir de résultats expérimentaux de croissance en milieu non renouvelé : <ul style="list-style-type: none"> - le rendement global de conversion d'un substrat en biomasse ; - le rendement global de conversion d'un substrat en produit ; - la productivité volumique horaire ou la productivité horaire. ▶ Interpréter les paramètres cinétiques et de production caractérisant une croissance en milieu non renouvelé. ▶ Distinguer métabolites associés à la croissance et métabolites non associés à la croissance à partir de résultats expérimentaux de bioproduction. ▶ Comparer les cultures discontinues en milieu non renouvelé, les cultures semi-discontinues en milieu alimenté et les cultures continues en milieu renouvelé du point de vue de leurs applications et de leurs contraintes. ▶ Relier les différents éléments du bioréacteur à leur(s) rôle(s) dans le contrôle et la régulation des paramètres physico-chimiques (agitation, température, pH, gaz dissous) lors de la culture de microorganismes. ▶ Présenter les particularités de la culture en bioréacteur par rapport à une croissance en milieu liquide agité thermostaté. 	<p>TB2</p>
<p>3.3.5. CHOIX ET SÉLECTION DES SOUCHES D'INTÉRÊT</p> <p>Les principaux microorganismes d'intérêt industriel sont les levures, les moisissures et les bactéries.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Cahier des charges ● Risque biologique ● Performance ● Rendement <p>Ces microorganismes peuvent être utilisés tels quels, être sélectionnés spécifiquement pour leurs propriétés ou encore être améliorés.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Expliciter quelques critères de choix d'une souche d'intérêt industriel. 	<p>TB2</p>

- Sélection

► Analyser des stratégies d'obtention et de sélection d'une souche d'intérêt à partir d'une documentation.

ACTIVITÉS EXPÉRIMENTALES SUPPORT DE LA FORMATION :

- Cultures bactériennes : isolement, enrichissement, sélection.
- Quantification d'une population microbienne.
- Étude d'une croissance de microorganismes en milieu liquide thermostaté.
- Étude d'une croissance de microorganismes en milieu non renouvelé dans un bioréacteur.
- Exploitation d'analyses quantitatives en ligne et hors ligne.

À TRAVAILLER EN LIEN AVEC LES COMPÉTENCES TECHNOLOGIQUES DU MODULE 5 :

- 5.4. IDENTIFICATION ET QUANTIFICATION SPÉCIFIQUE DE BIOMOLÉCULES
- 5.5. OBSERVATION D'UN OBJET OU D'UNE RÉACTION EN VUE DE SA DESCRIPTION PUIS DE SA CARACTÉRISATION
- 5.6. CULTURE ET QUANTIFICATION DES MICROORGANISMES
- 5.7. MODÉLISATION EN BIOTECHNOLOGIES
- 5.8. CHOIX ET OPTIMISATION D'UNE MÉTHODE
- 5.9. DÉMARCHE DE PRÉVENTION DES RISQUES BIOLOGIQUES ET CHIMIQUES

LIMITES & COMMENTAIRES :

La composition des différents milieux de culture ou le mode d'action des agents sélectifs n'est pas à connaître. En revanche, à l'aide d'une documentation, chaque étudiant doit être capable d'analyser la composition d'un milieu de culture pour en déduire son utilisation et effectuer un choix raisonné, en relation avec le microorganisme à cultiver et l'objectif suivi.

Le principe des techniques usuelles par comptage direct, par mise en culture sur milieu solide, par photométrie des milieux troubles, par mesure du poids sec est exigible.

La cytométrie en flux, l'impédancemétrie, le dosage de l'ATP par bioluminescence sont présentés à partir d'une documentation.

Le principe de fonctionnement des électrodes utilisées dans les bioréacteurs n'est pas à connaître.

Le caractère non pathogène, la facilité de culture ainsi que le rendement et la facilité de purification du produit d'intérêt constituent des critères de choix d'une souche d'intérêt industriel.

LIENS :

- BIOTECHNOLOGIES :
 - 3.3.1. : types trophiques, nutrition, culture
⇔ 3.2.1. - 3.2.2. : métabolisme énergétique
 - 3.3.3. : diauxie
⇔ 3.1.2. : identification des bactéries (test ONPG)
⇔ 3.3.1. : nutrition et culture des microorganismes
⇔ 4.5.1. : opéron lactose
 - 3.3.4. - 3.3.5. : génie fermentaire
⇔ 3.3.1. : types trophiques, nutrition, culture
⇔ 3.3.3. : croissance, suivi de croissance
 - 3.3.4. - 3.3.5. : génie fermentaire
⇔ 1.1.1. - 1.1.2. : purification de protéines d'intérêt
⇔ 2.3.2. : génie enzymatique
⇔ 4.5.2. - 4.5.3. : ingénierie des protéines, génie génétique
- SVT :
 - SV-H-1 Les populations et leur démographie
- MATHÉMATIQUES : fonction logarithme népérien – fonction exponentielle – dérivation.

PARTIE 4 : BIOLOGIE MOLÉCULAIRE DES ACIDES NUCLÉIQUES ET GÉNIE GÉNÉTIQUE

Les outils du génie génétique permettent de modifier des microorganismes d'intérêt afin d'optimiser leur utilisation en biotechnologies. L'extraction et la purification des acides nucléiques sont des étapes essentielles dans une démarche de génie génétique. Elles s'appuient sur la structure et les propriétés physico-chimiques des acides nucléiques. La spécificité d'appariement des bases azotées est le fondement de l'hybridation moléculaire, concept central en biologie moléculaire dont découlent de nombreuses applications biotechnologiques telles que la PCR ou le séquençage.

NOTIONS & CONCEPTS	COMPÉTENCES ATTENDUES	
4.1. LES ACIDES NUCLÉIQUES, DES BIOMOLÉCULES DONT LES CARACTÉRISTIQUES CONDITIONNENT L'EXTRACTION ET LA PURIFICATION		
<p>4.1.1. STRUCTURE DES ACIDES NUCLÉIQUES</p> <p>Les acides nucléiques sont des polymères de nucléotides.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Polymère ● Nucléotide ● Base azotée ● Liaison phosphodiester ● Molécule orientée ● Orientation 5'-3' <p>Les acides nucléiques adoptent une structure tridimensionnelle. La stabilité de celle-ci dépend de leur séquence et des conditions physico-chimiques du milieu.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Complémentarité ● Brins antiparallèles ● Interaction d'empilement ● Liaison hydrogène ● Dénaturation ● Température de fusion T_m 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Représenter la formule semi-développée d'un nucléotide, les formules des bases azotées étant fournies. ▶ Distinguer bases puriques et bases pyrimidiques. ▶ Représenter une liaison phosphodiester. ▶ Repérer l'orientation d'un acide nucléique. ▶ Distinguer acides ribonucléique et désoxyribonucléique. ▶ Représenter par un schéma la structure bicaténaire de l'ADN-B permettant de mettre en évidence les interactions entre bases complémentaires et successives. ▶ Relier la stabilité d'une structure bicaténaire à sa taille, à son pourcentage en GC, et aux conditions physico-chimiques du milieu. 	TB1
<p>4.1.2. DU MATÉRIEL BIOLOGIQUE À L'EXTRAIT NUCLÉIQUE PURIFIÉ</p> <p>Les méthodes d'extraction et de purification des acides nucléiques reposent sur leurs propriétés physico-chimiques.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Polyanion ● Polarité ● Solubilité 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Relier la structure des acides nucléiques à leurs propriétés physico-chimiques. ▶ Analyser les différentes étapes d'une procédure opératoire d'extraction d'acides nucléiques. ▶ Analyser les différentes étapes d'une procédure 	TB1

<p>La purification des acides nucléiques est contrôlée par spectrophotométrie et par électrophorèse.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Propriété spectrale ● Pureté ● Rendement ● Enzyme de restriction 	<p>opérateur de purification d'acides nucléiques.</p> <ul style="list-style-type: none"> ▶ Identifier, dans une procédure opératoire, les précautions à prendre lors de l'extraction et de la purification, afin de préserver la structure de l'acide nucléique d'intérêt. ▶ Justifier l'intérêt du rapport A_{260}/A_{280}. ▶ Argumenter les choix de réalisation d'une électrophorèse de contrôle : pourcentage d'agarose, témoin de migration, marqueur de tailles. ▶ Analyser un électrophorégramme d'une préparation d'ARN totaux purifiés. ▶ Analyser un électrophorégramme d'une préparation d'ADN plasmidique avec ou sans restriction dans le cadre d'un contrôle de purification. ▶ Déterminer la taille d'un ADN double brin linéaire par comparaison avec un marqueur de tailles. ▶ Conclure quant à la qualité de la purification d'un ADN génomique, d'un ADN plasmidique ou d'ARN à partir de résultats expérimentaux. 	
--	---	--

ACTIVITÉS EXPÉRIMENTALES SUPPORT DE LA FORMATION :

- Purification d'ADN génomique et d'ADN plasmidique à l'aide de kits.
- Vérification de la qualité des produits de purification d'ADN génomique par méthode spectrophotométrique.
- Vérification de la qualité des produits de purification d'ADN plasmidique par restriction / électrophorèse.

À TRAVAILLER EN LIEN AVEC LES COMPÉTENCES TECHNOLOGIQUES DU MODULE 5 :

- 5.1. EXTRACTION ET PURIFICATION DE BIOMOLÉCULES
- 5.2. SÉPARATION DE BIOMOLÉCULES
- 5.3. ANALYSE D'UN ÉCHANTILLON PAR DOSAGE SPECTROPHOTOMÉTRIQUE
- 5.6. CULTURE ET QUANTIFICATION DES MICROORGANISMES
- 5.8. CHOIX ET OPTIMISATION D'UNE MÉTHODE
- 5.9. DÉMARCHE DE PRÉVENTION DES RISQUES BIOLOGIQUES ET CHIMIQUES

LIMITES & COMMENTAIRES :

Les formules semi-développées des molécules suivantes sont à connaître : D-ribofuranose, D-2-désoxyribofuranose. La numérotation de leurs atomes de carbone est exigible.

La structure des phosphates et la nomenclature liée à leur positionnement au sein du nucléotide est exigible.

La formule semi-développée des bases n'est pas exigible.

Seules les méthodes d'extraction et de purification des acides nucléiques à l'aide d'un kit d'extraction-purification sont attendues.

Seules les méthodes de purification par chromatographie sur colonne ou en *batch* sont attendues : purification d'ADN génomique, plasmidique, des ARN totaux ou des ARN messagers eucaryotes.

D'autres méthodes pourront cependant être présentées en formation.

LIENS :

- BIOTECHNOLOGIES :
 - 4.1.1. - 4.1.2. : liaison phosphodiester, enzymes de restriction
 - ⇔ 2.1.4. : hydrolyse de la liaison phosphodiester
 - ⇔ 4.5.1. : contrôle d'un clonage par restriction
 - 4.1.1. : complémentarité des bases, orientation 5'-3'
 - ⇔ 4.2.1. : hybridation de séquences complémentaires antiparallèles
 - ⇔ 4.3.1. - 4.3.3. : amorces
 - ⇔ 4.4.2. : alignement de séquences
 - 4.1.1. : structure bicaténaire
 - ⇔ 4.3.1. - 4.3.3. : dénaturation, température de fusion
 - 4.1.2. : polyanion
 - ⇔ 4.3.2. : migration électrophorétique des acides nucléiques
- SVT :
 - SV-D Génomique structurale et fonctionnelle

4.2. L'HYBRIDATION MOLÉCULAIRE, UNE ASSOCIATION SPÉCIFIQUE DE SÉQUENCES NUCLÉOTIDIQUES

4.2.1. HYBRIDATION

L'hybridation moléculaire en phase homogène ou hétérogène est basée sur la spécificité d'appariement de séquences complémentaires.

- Séquence cible (matrice)
- Sonde (chaude / froide)
- Hybride

La spécificité d'appariement des séquences complémentaires dépend des conditions physico-chimiques de l'hybridation.

- Liaison hydrogène
- Complémentarité des bases
- Brins antiparallèles
- Interactions spécifiques / non spécifiques
- Stringence

► Expliquer le principe général de l'hybridation moléculaire.

► Classer des conditions d'hybridation en fonction de leur stringence.

► Relier les conditions de stringence à la spécificité de l'hybridation souhaitée.

TB2

4.2.2. APPLICATIONS DE L'HYBRIDATION

Certains outils d'analyse du génome et du transcriptome se basent sur le concept d'hybridation.

- Phase hétérogène
- Southern blot / northern blot
- Puce à ADN
- Approche "-omique"
- *Blotting*
- Sonde
- Amplification du signal

► Expliquer le principe du northern blot en comparaison avec celui du Southern blot.

► Présenter les intérêts de l'utilisation d'une puce à ADN par rapport à ceux du northern blot.

TB2

LIMITES & COMMENTAIRES :

Le concept d'hybridation est réinvesti en SVT lors de la présentation du processus de réplication et lors de l'analyse de résultats expérimentaux obtenus par hybridation *in situ*, FISH ou autres...

Le Southern blot est abordé pour sa dimension historique.

LIENS :

- BIOTECHNOLOGIES :
 - 4.2.1. : hybridation de séquences complémentaires antiparallèles
 - ⇔ 4.1.1. : complémentarité des bases, orientation 5'-3'
 - ⇔ 4.3.1. - 4.3.3. : amorces de PCR
- SVT :
 - SV-D-1 Génome des cellules, transmission de l'information génétique
- PHYSIQUE-CHIMIE : énergies caractéristiques des interactions entre entités chimiques

4.3. L'AMPLIFICATION *IN VITRO* DES SÉQUENCES NUCLÉOTIDIQUES, DES POLYMÉRISATIONS EN CHAÎNE

4.3.1. PCR EN POINT FINAL

Les ADN polymérases thermostables sont les enzymes clés de la PCR.

- Amorce
- Polymérisation orientée
- Processivité
- Activité polymérase
- Activité exonucléase
- Correction sur épreuve

La PCR en point final est la technique historique d'amplification de l'ADN. La PCR est un processus cyclique. Elle se déroule en trois étapes bien définies temporellement et thermiquement.

- Dénaturation
- Hybridation
- Élongation
- Température de fusion / température d'hybridation

La PCR en point final nécessite des réactifs particuliers.

- ADN matrice cible
- ADN polymérase thermostable
- dNTP
- Couple d'amorces

- ▶ Représenter le mécanisme d'ajout orienté d'un nucléotide à une chaîne nucléotidique en formation.
- ▶ Expliquer le principe de la PCR en point final.
- ▶ Identifier les points critiques de chaque étape d'un cycle PCR.
- ▶ Réaliser un schéma à l'échelle moléculaire des trois premiers cycles d'une PCR aboutissant à un amplicon.
- ▶ Expliquer le rôle des principaux constituants du milieu réactionnel.
- ▶ Argumenter le choix d'un couple d'amorces sur des critères de position, de longueur, de température de fusion.
- ▶ Expliquer comment il est possible d'ajouter une séquence particulière (site de restriction par exemple) en bordure d'un amplicon grâce à une amorce.

TB2

4.3.2. CONTRÔLE DE L'AMPLIFICATION

L'amplification par PCR doit être contrôlée.

- Efficacité
- Spécificité

Les produits de l'amplification par PCR en

- ▶ Proposer la composition de témoins de spécificité et d'efficacité.

TB2

<p>point final sont analysés par électrophorèse.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Marqueur de tailles ● Amplicon ● Spécificité de l'amplification 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Analyser des résultats expérimentaux de PCR en point final. ▶ Argumenter le choix d'éventuelles actions correctives proposées pour limiter les amplifications non spécifiques. 	
<p>4.3.3. TECHNIQUES AVANCÉES DE PCR</p> <p>Il existe de nombreuses variantes de la technique de PCR.</p> <p>La RT-PCR permet la production de fragments d'ADNc à partir d'ARNm.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Transcriptase inverse ● ADNc <p>La PCR en temps réel (qPCR) permet la quantification d'ADN ou d'ARN présents dans un échantillon.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Cycle seuil ● Quantification absolue / relative ● Étalonnage ● Normalisation ● Gène de référence 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Expliquer le principe de la transcription inverse (RT) et son application à la RT-PCR avec amorces spécifiques (RT-PCR en une étape). ▶ Tracer une droite d'étalonnage à partir de résultats expérimentaux de qPCR ou de RT-qPCR. ▶ Déterminer la quantité initiale de séquence cible dans une démarche de quantification absolue. ▶ Déterminer le niveau d'expression d'un gène par rapport à celui d'un gène de référence dans une démarche de quantification relative en RT-qPCR. 	TB2
<p><u>ACTIVITÉS EXPÉRIMENTALES SUPPORT DE LA FORMATION :</u></p>		
<ul style="list-style-type: none"> - Amplification d'une séquence cible par PCR en point final. 		
<p><u>À TRAVAILLER EN LIEN AVEC LES COMPÉTENCES TECHNOLOGIQUES DU MODULE 5 :</u></p>		
<ul style="list-style-type: none"> - 5.2. SÉPARATION DE BIOMOLÉCULES - 5.3. ANALYSE D'UN ÉCHANTILLON PAR DOSAGE SPECTROPHOTOMÉTRIQUE - 5.4. IDENTIFICATION ET QUANTIFICATION SPÉCIFIQUE DE BIOMOLÉCULES - 5.7. MODÉLISATION EN BIOTECHNOLOGIES - 5.8. CHOIX ET OPTIMISATION D'UNE MÉTHODE - 5.9. DÉMARCHE DE PRÉVENTION DES RISQUES BIOLOGIQUES ET CHIMIQUES 		
<p><u>LIMITES & COMMENTAIRES :</u></p>		
<p>La conception d'amorces peut être l'occasion de sensibiliser les étudiants à l'utilisation des banques de données de séquences et des outils informatiques d'aide à la conception.</p> <p>On s'attache à montrer la diversité des domaines d'application de la PCR au travers de quelques exemples concrets.</p> <p>Les principes des techniques de PCR exigibles se limitent à ceux cités dans le paragraphe ci-dessus.</p>		
<p><u>LIENS :</u></p>		
<ul style="list-style-type: none"> □ BIOTECHNOLOGIES : <ul style="list-style-type: none"> ○ 4.3.1. - 4.3.3. : PCR <ul style="list-style-type: none"> ⇔ 4.5.1. : contrôle d'un clonage par PCR ○ 4.3.1. - 4.3.3. : amorces <ul style="list-style-type: none"> ⇔ 4.1.1. : complémentarité des bases, orientation 5'-3' ⇔ 4.2.1. : hybridation de séquences complémentaires antiparallèles 		

- 4.3.1. - 4.3.3. : dénaturation, température de fusion
⇔ 4.1.1. : structure bicaténaire
- 4.3.2. : migration électrophorétique des acides nucléiques
⇔ 4.1.2. : polyanion
- SVT :
 - SV-D-1 Génome des cellules, transmission de l'information génétique
- PHYSIQUE-CHIMIE : mobilité d'entités chargées dans un champ électrostatique uniforme.

4.4. LE SÉQUENÇAGE DE L'ADN, DES TECHNIQUES EN CONSTANTE ÉVOLUTION

<p>4.4.1. ÉVOLUTION DES TECHNIQUES DE SÉQUENÇAGE DE L'ADN</p> <p>Les méthodes de séquençage ont connu des ruptures technologiques majeures.</p> <p>La méthode de Sanger est la méthode historique de séquençage, dite de première génération. Des évolutions ont permis son automatiser.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● ddNTP ● Traceurs fluorescents ● Électrophorèse capillaire <p>Les technologies de seconde génération (dites NGS, <i>Next Generation Sequencing</i>) permettent un séquençage haut-débit générant un flux de données massif.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Haut-débit ● Données massives <p>Les technologies de troisième génération (dites SMS, <i>Single Molecule Sequencing</i>) permettent le séquençage de molécules uniques.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Miniaturisation ● Données massives 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Expliquer le principe du séquençage par la méthode de Sanger avec marqueurs fluorescents. ▶ Présenter les particularités de l'électrophorèse capillaire. ▶ Dégager les principales différences entre une technologie NGS et la méthode de Sanger à l'aide d'une documentation. ▶ Dégager l'intérêt des ruptures technologiques successives dans l'évolution des méthodes de séquençage à l'aide d'une documentation. 	TB2
<p>4.4.2. APPLICATIONS DU SÉQUENÇAGE DE L'ADN</p> <p>Les résultats de séquençage permettent d'alimenter les bases de données ou d'effectuer des comparaisons avec des séquences connues. Ces comparaisons utilisent des algorithmes informatiques permettant d'aligner les séquences entre elles.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● BLAST ● Alignement ● Recherche d'homologies 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Analyser les résultats d'un alignement de séquences. ▶ Discuter des enjeux éthiques liés à la collecte et l'utilisation des données de séquençage à l'aide d'une documentation. 	TB2

ACTIVITÉS EXPÉRIMENTALES SUPPORT DE LA FORMATION :		
<ul style="list-style-type: none"> - Utilisation d'un logiciel d'alignement de séquence pour vérifier la validité d'un clone, mettre en évidence des variants viraux ou détecter des anomalies génétiques provoquant des pathologies. 		
LIMITES & COMMENTAIRES :		
<p>Les principes des méthodes de deuxième et troisième générations ne sont pas exigibles.</p> <p>Les évolutions des méthodes de séquençage se limitent aux critères suivants : augmentation de débit, réduction des coûts et temps d'analyse, miniaturisation.</p> <p>Le vocabulaire spécifique au traitement des données brutes de séquençage en bio-informatique (<i>Contigs, gap, scaffold...</i>) tout comme la maîtrise d'un logiciel d'alignement n'est pas attendu.</p> <p>Les très nombreuses applications du séquençage sont abordées au travers d'un ou deux exemples maximum.</p>		
LIENS :		
<ul style="list-style-type: none"> □ BIOTECHNOLOGIES : <ul style="list-style-type: none"> ○ 4.4.1. : séquençage <ul style="list-style-type: none"> ⇔ 4.1.1. : complémentarité des bases, orientation 5'-3' ⇔ 4.5.1. : contrôle d'un clonage par séquençage ○ 4.4.2. : alignement de séquences <ul style="list-style-type: none"> ⇔ 4.1.1. : complémentarité des bases, orientation 5'-3' 		
4.5. LES ACIDES NUCLÉIQUES, DES BIOMOLÉCULES MANIPULABLES PAR GÉNIE GÉNÉTIQUE		
<p>4.5.1. CLONAGE D'UNE SÉQUENCE NUCLÉOTIDIQUE</p> <p>Le clonage de l'ADN fait appel à un vecteur adapté à un hôte.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Origine de réplication ● Marqueur de sélection ● Site de clonage multiple <p>Différentes étapes permettent d'obtenir un microorganisme recombiné.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Insert ● Restriction ● Ligation ● Cellule compétente ● Transformation ● Sélection / criblage ● Opéron 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Identifier les séquences indispensables portées par un vecteur de clonage plasmidique. ▶ Expliquer le rôle des séquences portées par un vecteur de clonage plasmidique. ▶ Argumenter le choix d'un hôte adapté au vecteur utilisé à l'aide d'une documentation. ▶ Schématiser les étapes d'un clonage par restriction-ligation chez un microorganisme. ▶ Expliquer le principe de transformation par électroporation ou choc thermique. ▶ Expliquer le principe de sélection des microorganismes transformés, grâce à un marqueur d'auxotrophie ou une résistance à un antibiotique. ▶ Analyser une stratégie de clonage à l'aide d'une documentation. ▶ Schématiser l'organisation de l'opéron lactose. ▶ Expliquer le fonctionnement et la régulation de l'opéron lactose. 	TB2

<p>Le résultat d'un clonage doit être vérifié.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● PCR ● Restriction ● Séquençage 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Expliquer le principe de l'α-complémentation (criblage blanc-bleu). ▶ Analyser les résultats expérimentaux d'un clonage. 	
<p>4.5.2. EXPRESSION HÉTÉROLOGUE DE PROTÉINES RECOMBINÉES CHEZ LES MICROORGANISMES</p> <p>Des protéines recombinées peuvent être produites grâce à des vecteurs d'expression chez les microorganismes.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Promoteur fort ● Promoteur constitutif / inducible ● Promoteur spécifique d'un hôte ● Protéine hétérologue ● Protéine étiquetée ● Protéine de fusion ● Clonage directionnel ● Cadre de lecture ouvert ● Clonage en phase 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Identifier les séquences particulières portées par un vecteur d'expression. ▶ Expliquer le rôle des séquences portées par un vecteur d'expression. ▶ Distinguer vecteur de clonage, vecteur d'expression et vecteur navette. ▶ Argumenter le choix d'un hôte adapté à la production de protéines recombinées à l'aide d'une documentation. ▶ Schématiser les différentes étapes du processus conduisant à la production d'une protéine recombinée. ▶ Analyser une stratégie de production de protéine recombinée à l'aide d'une documentation et proposer des optimisations. 	TB2
<p>4.5.3. « ÉDITION » DU GÉNOME</p> <p>De nouvelles méthodes facilitent grandement les modifications ciblées du génome.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● « Édition » du génome ● Séquences CRISPR ● Endonucléases ● ARN guide ● Réparation (avec ou sans recombinaison homologue) ● Bioéthique <p>Le génie génétique permet de modifier le génome de microorganismes afin d'optimiser leur utilisation dans différents processus industriels.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Voie métabolique ● Enzyme 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Expliquer l'intérêt physiologique du système CRISPR/Cas chez les procaryotes. ▶ Réaliser un schéma à l'échelle moléculaire du complexe « séquence cible / ARN guide / endonucléase ». ▶ Analyser une stratégie d'« édition » de génome par le système CRISPR/Cas. ▶ Discuter des enjeux éthiques liés aux techniques de modification du génome à l'aide d'une documentation. ▶ Analyser ou proposer des optimisations de voies métaboliques à partir d'une souche sauvage 	TB2

- Génie des « procédés »
- Organisme génétiquement modifié

dans le cadre d'une production en génie fermentaire, à l'aide d'une documentation.

- ▶ Discuter des enjeux éthiques liés aux organismes génétiquement modifiés en lien avec la réglementation en vigueur.

ACTIVITÉS EXPÉRIMENTALES SUPPORT DE LA FORMATION :

- Transformation bactérienne.

À TRAVAILLER EN LIEN AVEC LES COMPÉTENCES TECHNOLOGIQUES DU MODULE 5 :

- 5.5. OBSERVATION D'UN OBJET OU D'UNE RÉACTION EN VUE DE SA DESCRIPTION PUIS DE SA CARACTÉRISATION
- 5.6. CULTURE ET QUANTIFICATION DES MICROORGANISMES
- 5.8. CHOIX ET OPTIMISATION D'UNE MÉTHODE
- 5.9. DÉMARCHE DE PRÉVENTION DES RISQUES BIOLOGIQUES ET CHIMIQUES

LIMITES & COMMENTAIRES :

La production de protéines recombinées à partir d'un exemple choisi peut permettre de mobiliser les concepts abordés en purification des protéines et génie fermentaire.

Les méthodes de sélection se limitent à la résistance aux antibiotiques et aux marqueurs d'auxotrophie.

Les microorganismes hôtes étudiés seront limités aux seules bactéries et levures.

Les mécanismes moléculaires de réparation avec ou sans recombinaison homologue ne sont pas exigibles.

Les enjeux éthiques liés à la modification du génome seront envisagés à l'aide de documents émanant des organismes de réflexion sur les innovations en biotechnologies. Les aspects éthiques en lien avec la réglementation sur les OGM en particulier seront analysés.

LIENS :

- BIOTECHNOLOGIES :
 - 4.5.1. : opéron lactose
 - ⇔ 3.1.2. : identification des bactéries (test ONPG)
 - ⇔ 3.3.1. : nutrition et culture des microorganismes
 - ⇔ 3.3.3. : diauxie
 - 4.5.1. : contrôle d'un clonage par restriction, PCR, séquençage
 - ⇔ 4.1.1. - 4.1.2. : liaison phosphodiester, enzymes de restriction
 - ⇔ 4.3.1. - 4.3.3. : PCR
 - ⇔ 4.4.1. : séquençage
 - 4.5.2. - 4.5.3. : ingénierie des protéines, génie génétique
 - ⇔ 1.1.1. - 1.1.2. : purification de protéines d'intérêt
 - ⇔ 2.3.2. : génie enzymatique
 - ⇔ 3.3.4. - 3.3.5. : génie fermentaire
- SVT :
 - SV-D Génomique structurale et fonctionnelle

PARTIE 5 : COMPÉTENCES EXPÉRIMENTALES TECHNOLOGIQUES

En biotechnologies, la mise en œuvre des activités expérimentales s'appuie sur des procédures rigoureuses et exigeantes qui nécessitent une maîtrise des technologies associées. Ces technologies s'appuient sur des concepts qu'il est nécessaire de maîtriser pour leur mise en œuvre raisonnée. Les compétences expérimentales technologiques mobilisées sur l'ensemble des champs thématiques sont ainsi développées.

Cette partie doit notamment permettre aux étudiants de faire des liens entre les différentes parties thématiques du programme et ainsi prendre du recul vis-à-vis des différentes technologies, en identifiant les analogies et les différences.

Les compétences technologiques visées vont au-delà de la maîtrise technique : gestes techniques, maîtrise de l'utilisation des outils et appareils, gestion des risques, appropriation de l'environnement du laboratoire, elles intègrent une dimension d'optimisation ou de conception de procédure ou d'éléments de procédure expérimentale.

Les parties concernant la modélisation à partir de nuages de points obtenus par l'expérience sont à mettre en lien avec les mathématiques (fonction hyperbole, fonction linéaire ou affine, fonction exponentielle, fonction logarithmique, régression linéaire ou polynomiale).

NOTIONS & CONCEPTS	COMPÉTENCES ATTENDUES
5.1. EXTRACTION ET PURIFICATION DE BIOMOLÉCULES	
<p>L'extraction de biomolécules nécessite la rupture de l'enveloppe d'une structure d'un matériel biologique.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Enveloppe cellulaire <p>La purification met en jeu une ou plusieurs étapes de séparation de biomolécules.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Critères de séparation <p>La purification entraîne une perte de matière qui doit être évaluée.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Rendement <p>Le degré de pureté peut être évalué quantitativement ou semi-quantitativement.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Activité / reconnaissance spécifique ● Dosage spécifique ● Évaluation semi-quantitative ● Enrichissement ● Valeur ajoutée d'un produit 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Analyser une procédure opératoire d'extraction pour identifier la ou les étapes clés. ▶ Réaliser une extraction en suivant une procédure opératoire. ▶ Analyser une procédure opératoire de purification pour identifier la ou les étapes clés. ▶ Réaliser une purification en suivant une procédure opératoire. ▶ Réaliser les techniques de dosage permettant d'évaluer la qualité d'une purification. ▶ Réaliser des techniques de séparation par électrophorèse semi-quantitative permettant d'évaluer la qualité d'une purification. ▶ Établir les équations aux grandeurs, aux unités, aux valeurs numériques pour calculer un rendement. ▶ Établir les équations aux grandeurs, aux unités, aux valeurs numériques pour calculer un enrichissement. ▶ Analyser les résultats obtenus en fonction de l'objectif.

À TRAITER EN LIEN AVEC :

- 1.1 LES PROTÉINES, DES BIOMOLÉCULES DONT LES CARACTÉRISTIQUES CONDITIONNENT L'EXTRACTION ET LA PURIFICATION
- 1.2. LA PURIFICATION DES PROTÉINES, UNE DÉMARCHE À CONTRÔLER
- 2.2. LES ENZYMES, DES BIOMOLÉCULES PRÉSENTANT UNE ACTIVITÉ CATALYTIQUE
- 4.1. LES ACIDES NUCLÉIQUES, DES BIOMOLÉCULES DONT LES CARACTÉRISTIQUES CONDITIONNENT L'EXTRACTION ET LA PURIFICATION

5.2. SÉPARATION DE BIOMOLÉCULES

Les biomolécules peuvent être séparées par une méthode chromatographique choisie en fonction de leur nature biochimique et de la finalité préparative ou analytique.

- Phase stationnaire / phase mobile
- Éluion
- Référence
- Identification
- Volume moléculaire / polarité / liaison spécifique / charge de l'ion
- Haute performance

- ▶ Expliquer le principe de séparation des biomolécules par une méthode chromatographique.
- ▶ Réaliser une chromatographie sur colonne en suivant une procédure opératoire.
- ▶ Présenter les arguments pour expliquer l'ordre d'éluion des biomolécules d'un mélange.
- ▶ Interpréter et exploiter un chromatogramme.
- ▶ Analyser la qualité de la séparation en fonction de l'objectif.
- ▶ Adapter une technique chromatographique en fonction de l'objectif.

Les biomolécules peuvent être séparées par électrophorèse en fonction de leurs caractéristiques biochimiques.

- Réticulation du gel
- Champ électrique
- Électrode
- Tampon
- Révélation
- Référence
- Taille / charge / forme

- ▶ Expliquer le principe de séparation des biomolécules par une méthode électrophorétique.
- ▶ Choisir les conditions expérimentales permettant la séparation de biomolécules dans des conditions données.
- ▶ Réaliser une électrophorèse en suivant une procédure opératoire.
- ▶ Interpréter et exploiter un électrophorégramme.
- ▶ Adapter une technique électrophorétique en fonction de l'objectif.

À TRAITER EN LIEN AVEC :

- 1.1. LES PROTÉINES, DES BIOMOLÉCULES DONT LES CARACTÉRISTIQUES CONDITIONNENT L'EXTRACTION ET LA PURIFICATION
- 1.2. LA PURIFICATION DES PROTÉINES, UNE DÉMARCHE À CONTRÔLER
- 4.1. LES ACIDES NUCLÉIQUES, DES BIOMOLÉCULES DONT LES CARACTÉRISTIQUES CONDITIONNENT L'EXTRACTION ET LA PURIFICATION

5.3. ANALYSE D'UN ÉCHANTILLON PAR DOSAGE SPECTROPHOTOMÉTRIQUE

L'analyse quantitative d'un échantillon peut être réalisée grâce à un dosage spectrophotométrique.

- Absorbance
- Spectre d'absorption
- Matériaux des cuves
- Étalonnage
- Domaine de mesurage
- Limite de linéarité
- Sensibilité de la méthode
- « Témoin/blanc » échantillon
- « Témoin/blanc » réactif

- ▶ Analyser une procédure opératoire de dosage spectrophotométrique pour identifier les paramètres clés ou les points critiques.
- ▶ Choisir la longueur d'onde optimale à partir d'un spectre d'absorption.
- ▶ Choisir le type de cuve adapté à la procédure opératoire.
- ▶ Établir un tableau de procédure opératoire de construction de gamme d'étalonnage.
- ▶ Déterminer la prise d'essai d'un échantillon biologique pour être dans le domaine de mesurage.
- ▶ Exercer un regard critique pour valider les points expérimentaux de la gamme d'étalonnage.
- ▶ Déterminer une quantité ou une concentration à l'aide d'une régression linéaire.
- ▶ Établir les équations aux grandeurs, aux unités, aux valeurs numériques pour calculer une concentration dans un produit biologique.
- ▶ Concevoir une procédure opératoire permettant le dosage d'un échantillon.

À TRAITER EN LIEN AVEC :

- 1.2. LA PURIFICATION DES PROTÉINES, UNE DÉMARCHÉ À CONTRÔLER
- 2.2. LES ENZYMES, DES BIOMOLÉCULES PRÉSENTANT UNE ACTIVITÉ CATALYTIQUE
- 2.3. LES ENZYMES, DES OUTILS BIOTECHNOLOGIQUES
- 4.1. LES ACIDES NUCLÉIQUES, DES BIOMOLÉCULES DONT LES CARACTÉRISTIQUES CONDITIONNENT L'EXTRACTION ET LA PURIFICATION

5.4. IDENTIFICATION ET QUANTIFICATION SPÉCIFIQUE DE BIOMOLÉCULES

Les interactions spécifiques permettent la détection et la quantification de biomolécules dans un milieu complexe.

- Spécificité
- Phase hétérogène / phase homogène
- Immunodétection / hybridation
- Activité biologique
- Immunoenzymatique

L'amplification ciblée et spécifique d'une séquence nucléotidique peut permettre l'identification d'un amplicon et/ou la quantification de la séquence matrice d'origine.

- Spécificité
- PCR / RT-PCR / qPCR

- ▶ Comparer Southern, northern et western blot.
- ▶ Exploiter des résultats expérimentaux de Southern, northern et western blot.
- ▶ Détecter ou quantifier spécifiquement une molécule dans un milieu complexe en suivant une procédure opératoire.
- ▶ Réaliser l'amplification par PCR d'une séquence nucléotidique en suivant une procédure opératoire.

- Amplicon

À TRAITER EN LIEN AVEC :

- 1.2. LA PURIFICATION DES PROTÉINES, UNE DÉMARCHÉ À CONTRÔLER
- 1.3. LES PROTÉINES, DES BIOMOLÉCULES PRÉSENTANT DES INTERACTIONS SPÉCIFIQUES AVEC D'AUTRES CONSTITUANTS
- 2.2. LES ENZYMES, DES BIOMOLÉCULES PRÉSENTANT UNE ACTIVITÉ CATALYTIQUE
- 2.3. LES ENZYMES, DES OUTILS BIOTECHNOLOGIQUES
- 4.2. L'HYBRIDATION MOLÉCULAIRE, UNE ASSOCIATION SPÉCIFIQUE DE SÉQUENCES NUCLÉOTIDIQUES
- 4.3. L'AMPLIFICATION *IN VITRO* DES SÉQUENCES NUCLÉOTIDIQUES, DES POLYMÉRISATIONS EN CHAÎNE

5.5. OBSERVATION, DESCRIPTION ET CARACTÉRISATION D'UN OBJET

L'observation microscopique d'un microorganisme ou d'une cellule permet de le décrire pour l'identifier.

- Critères de différenciation
- Luminosité
- Fluorescence
- Optique
- Dessin / schéma
- Grossissement
- Mise au point

- ▶ Réaliser une coloration, différentielle ou non, adaptée aux structures à observer.
- ▶ Choisir l'objectif du microscope en fonction des particularités de l'objet à observer.
- ▶ Effectuer la mise au point et choisir le champ pour observer une cellule.
- ▶ Rendre compte avec concision d'une observation par un dessin, un schéma ou une description.
- ▶ Présenter les caractéristiques de l'objet à l'aide des critères pertinents.

L'observation macroscopique d'une colonie ou d'un clone sur un milieu permet de caractériser pour identifier ou pour sélectionner une souche d'intérêt.

- Critères macroscopiques
- Identification
- Plurimicrobien / souche pure
- Milieu d'orientation
- Différenciation
- Révélateur
- Clone / colonie
- Sélection

- ▶ Réaliser un isolement sur milieu solide à partir d'une suspension.
- ▶ Réaliser un étalement d'une suspension de microorganismes.
- ▶ Décrire avec concision une observation macroscopique de colonies.
- ▶ Décrire avec précision la couleur observée, pour orienter l'identification d'une colonie, sélectionner un clone, déterminer le virage d'un indicateur coloré.

À TRAITER EN LIEN AVEC :

- 3.1. LE MONDE MICROBIEN, UNITÉ ET DIVERSITÉ
- 3.2. LA DIVERSITÉ DES MÉTABOLISMES MICROBIENS, UN INTÉRÊT ÉCOLOGIQUE
- 3.3. LES MICROORGANISMES, DES OUTILS BIOTECHNOLOGIQUES
- 4.5. LES ACIDES NUCLÉIQUES, DES BIOMOLÉCULES MANIPULABLES PAR GÉNIE GÉNÉTIQUE

5.6. CULTURE ET QUANTIFICATION DES MICROORGANISMES

La culture d'un microorganisme nécessite de prendre en compte les caractéristiques de celui-ci, les conditions de culture et l'objectif visé.

- Type trophique
- Milieu de culture / atmosphère de culture
- Isolement / enrichissement / sélection / identification / production

La quantification d'une population microbienne permet d'estimer sa concentration dans un milieu.

- Cellules totales / viables / viables non cultivables
- Seuil de quantification
- Facteur de proportionnalité

- ▶ Réaliser une culture de microorganismes en suivant une procédure opératoire.
- ▶ Choisir un milieu et des conditions de culture en fonction des besoins nutritionnels et des exigences physico-chimiques des microorganismes, ainsi que de l'objectif suivi.
- ▶ Réaliser une quantification de microorganismes en suivant une procédure opératoire.
- ▶ Choisir une technique de quantification en fonction des contraintes et de l'objectif visé.
- ▶ Adapter un protocole opératoire permettant d'estimer la concentration cellulaire d'une population microbienne dans un échantillon en fonction de l'objectif.

À TRAITER EN LIEN AVEC :

- 1.1. LES PROTÉINES, DES BIOMOLÉCULES DONT LES CARACTÉRISTIQUES CONDITIONNENT L'EXTRACTION ET LA PURIFICATION
- 3.1. LE MONDE MICROBIEN, UNITÉ ET DIVERSITÉ
- 3.3. LES MICROORGANISMES, DES OUTILS BIOTECHNOLOGIQUES
- 4.5. LES ACIDES NUCLÉIQUES, DES BIOMOLÉCULES MANIPULABLES PAR GÉNIE GÉNÉTIQUE

5.7. MODÉLISATION EN BIOTECHNOLOGIES

Les phénomènes biologiques peuvent être modélisés afin de faciliter leur exploitation, leur analyse et leur optimisation.

- Modélisation
- Grandeur caractéristique d'un système

L'outil informatique facilite le traitement des données.

- Bio-informatique
- Banque de données
- Logiciel de traitement de données

- ▶ Utiliser une modélisation mathématique pour établir les équations aux grandeurs, aux unités, aux valeurs numériques et calculer les grandeurs spécifiques d'un système.
- ▶ Rechercher une séquence ou un domaine fonctionnel à l'aide d'un logiciel ou d'une banque de données en suivant une procédure opératoire.
- ▶ Traiter et exploiter des données expérimentales à l'aide de l'outil numérique.

À TRAITER EN LIEN AVEC :

- 1.3. LES PROTÉINES, DES BIOMOLÉCULES PRÉSENTANT DES INTERACTIONS SPÉCIFIQUES AVEC D'AUTRES CONSTITUANTS
- 2.2. LES ENZYMES, DES BIOMOLÉCULES PRÉSENTANT UNE ACTIVITÉ CATALYTIQUE
- 2.3. LES ENZYMES, DES OUTILS BIOTECHNOLOGIQUES
- 3.3. LES MICROORGANISMES, DES OUTILS BIOTECHNOLOGIQUES
- 4.3. L'AMPLIFICATION *IN VITRO* DES SÉQUENCES NUCLÉOTIDIQUES, DES

5.8. CHOIX ET OPTIMISATION D'UNE MÉTHODE

Le choix d'une méthode pour analyser ou préparer des biomolécules nécessite d'identifier les critères adaptés.

- Performance du résultat
- Justesse / fidélité
- Sensibilité
- Seuil de détection / de quantification
- Spécificité
- Robustesse
- Rendement
- Contraintes techniques
- Coût

La mise en œuvre d'une procédure opératoire doit être vérifiée.

- Témoin d'efficacité / témoin négatif

L'amélioration d'une procédure nécessite d'optimiser certaines étapes.

- Point critique
- Conjecture / hypothèse

La mise en œuvre d'une méthode utilisant ou modifiant le vivant doit se faire avec esprit critique et dans le respect la réglementation.

- Balance bénéfice-risque
- Modification du génome
- Transmission héréditaire

- ▶ Présenter des arguments en faveur d'une technique en fonction de ses performances et des objectifs.
- ▶ Mener une analyse comparative de différentes procédures opératoires à l'aide des critères pertinents en fonction de la finalité.

- ▶ Analyser la procédure opératoire pour identifier le composant à introduire ou à remplacer lors de l'élaboration d'un témoin.
- ▶ Concevoir un témoin d'efficacité à partir d'une procédure opératoire.
- ▶ Concevoir un témoin négatif à partir d'une procédure opératoire.

- ▶ Analyser la procédure opératoire pour identifier les points critiques.
- ▶ Mettre en œuvre une procédure opératoire pour objectiver un point critique.
- ▶ Proposer une solution pour améliorer une procédure au niveau d'un point critique.
- ▶ Argumenter une solution pour améliorer une procédure au niveau d'un point critique.

- ▶ Argumenter un choix de méthode à l'aide d'arguments scientifiques et techniques, éthiques et environnementaux.

À TRAITER EN LIEN AVEC :

- 5.1. EXTRACTION ET PURIFICATION DE BIOMOLÉCULES
- 5.2. SÉPARATION DE BIOMOLÉCULES
- 5.3. ANALYSE D'UN ÉCHANTILLON PAR DOSAGE SPECTROPHOTOMÉTRIQUE
- 5.4. IDENTIFICATION ET QUANTIFICATION SPÉCIFIQUE DE BIOMOLÉCULES
- 5.5. OBSERVATION D'UN OBJET OU D'UNE RÉACTION EN VUE DE SA DESCRIPTION PUIS DE SA CARACTÉRISATION
- 5.6. CULTURE ET QUANTIFICATION DES MICROORGANISMES

5.9. DÉMARCHE DE PRÉVENTION DES RISQUES

En biotechnologies, la démarche de prévention des risques est essentielle. Elle débute par une analyse et une évaluation des risques biologiques et des risques chimiques. Elle se poursuit par la détermination des mesures de prévention et leur mise en œuvre en situation.

- Danger
- Risque
- Situation exposante
- Évènement déclenchant
- Mesures de prévention
- Protection individuelle
- Protection collective
- Classe de danger
- Groupe d'agents biologiques

- ▶ Analyser la procédure opératoire pour identifier les dangers auxquels le manipulateur est exposé.
- ▶ Conduire une évaluation des risques chimiques à l'aide des fiches de données de sécurité.
- ▶ Proposer des mesures de prévention permettant de réduire voire de supprimer le risque.
- ▶ Conduire une évaluation des risques biologiques en étudiant les réservoirs et les chaînes de transmission.
- ▶ Expliquer le classement d'un microorganisme dans un groupe d'agents biologiques.
- ▶ Conduire une démarche d'analyse des risques en vue de choisir les mesures de prévention.

À TRAITER EN LIEN AVEC :

- 1.1. LES PROTÉINES, DES BIOMOLÉCULES DONT LES CARACTÉRISTIQUES CONDITIONNENT L'EXTRACTION ET LA PURIFICATION
- 1.2. LA PURIFICATION DES PROTÉINES, UNE DÉMARCHE À CONTRÔLER
- 2.2. LES ENZYMES, DES BIOMOLÉCULES PRÉSENTANT UNE ACTIVITÉ CATALYTIQUE
- 2.3. LES ENZYMES, DES OUTILS BIOTECHNOLOGIQUES
- 3.1. LE MONDE MICROBIEN, UNITÉ ET DIVERSITÉ
- 3.2. LA DIVERSITÉ DES MÉTABOLISMES MICROBIENS, UN INTÉRÊT ÉCOLOGIQUE
- 3.3. LES MICROORGANISMES, DES OUTILS BIOTECHNOLOGIQUES
- 4.1. LES ACIDES NUCLÉIQUES, DES BIOMOLÉCULES DONT LES CARACTÉRISTIQUES CONDITIONNENT L'EXTRACTION ET LA PURIFICATION
- 4.3. L'AMPLIFICATION *IN VITRO* DES SÉQUENCES NUCLÉOTIDIQUES, DES POLYMÉRISATIONS EN CHAÎNE
- 4.5. LES ACIDES NUCLÉIQUES, DES BIOMOLÉCULES MANIPULABLES PAR GÉNIE GÉNÉTIQUE
- 5.1. EXTRACTION ET PURIFICATION DE BIOMOLÉCULES
- 5.2. SÉPARATION DE BIOMOLÉCULES
- 5.3. ANALYSE D'UN ÉCHANTILLON PAR DOSAGE SPECTROPHOTOMÉTRIQUE
- 5.4. IDENTIFICATION ET QUANTIFICATION SPÉCIFIQUE DE BIOMOLÉCULES
- 5.5. OBSERVATION D'UN OBJET OU D'UNE RÉACTION EN VUE DE SA DESCRIPTION PUIS DE SA CARACTÉRISATION
- 5.6. CULTURE ET QUANTIFICATION DES MICROORGANISMES