

Biologie cellulaire et moléculaire et technologies d'analyse

Objectifs

L'enseignement de biologie cellulaire et moléculaire regroupe 6 modules : biologie cellulaire ; pharmacologie-toxicologie ; réaction antigène-anticorps ; biologie moléculaire ; virologie ; biologie végétale. Il a pour objectifs essentiels :

- de permettre l'acquisition de connaissances scientifiques générales. Cet enseignement donne ainsi, dans ces disciplines, les bases nécessaires à l'exercice et à l'évolution de l'activité professionnelle inhérente au diplôme ainsi qu'à d'éventuelles poursuites d'études ;
- d'apporter les connaissances indispensables à la compréhension et à la maîtrise des principes de certaines technologies d'analyse : c'est particulièrement le cas, par exemple, pour le module « réaction antigène-anticorps » ;
- de renforcer la connaissance des produits (médicament plus spécialement) sur lesquels le technicien supérieur bioanalyses et contrôles exerce ses activités.

Certains chapitres auraient pu être traités dans les cours de microbiologie ou de biochimie. Le choix de les intégrer au cours de biologie cellulaire et moléculaire et technologies d'analyse, est motivé par le souhait de permettre une présentation globale et comparative de certains mécanismes (réplication de l'ADN, synthèse protéique,...) ou structures biologiques chez les eucaryotes et chez les procaryotes, ce qui devrait conduire à une vision plus cohérente et plus synthétique. De plus, ce choix recentre les enseignements de microbiologie et de biochimie sur des thèmes plus spécifiques permettant ainsi une approche plus axée sur des contenus professionnels.

Cette conception exige une coordination précise entre les enseignants chargés des cours et activités technologiques de biochimie, microbiologie et biologie cellulaire et moléculaire, afin d'harmoniser les acquisitions et d'organiser une progression logique dans les trois disciplines.

La répartition horaire suggérée dans les repères pour la formation pour chacun des modules de ce programme a surtout pour objet de définir, à titre indicatif, la part respective de chacun, et ainsi, d'encadrer leur développement.

Prérequis

Pour certains modules, l'enseignement de biologie cellulaire et moléculaire est dans la continuité de celui du cycle première - terminale des séries STL, spécialité biologie - génie biologique, ou S ; il s'appuie sur un certain nombre de connaissances acquises dans ce cycle. Ainsi, immunologie cellulaire, génétique humaine « classique » et quelques aspects de biologie cellulaire sont considérés comme des prérequis.

Une connaissance simple et maîtrisée de l'anatomie et de la physiologie humaine est indispensable à la compréhension de certaines parties de ce programme (pharmacologie et toxicologie en particulier). Là aussi, il s'agit de prérequis dont on devra cependant vérifier la maîtrise.

Module 1

Biologie cellulaire

Contenus	Commentaires
<p>1. Méthodes d'étude de la cellule</p> <p>1.1. Techniques d'examen microscopique</p> <p>1.2. Techniques de séparation, de purification et de marquage cellulaire</p> <p>1.3. Techniques de fractionnement cellulaire</p> <p>2. Etude des structures et ultrastructures cellulaires</p> <p>2.1 Membranes cellulaires</p> <p>2.1.1. Architecture membranaire : la membrane unité</p> <p>2.1.2. Systèmes membranaires des cellules eucaryotes</p> <ul style="list-style-type: none"> - Membrane plasmique - Système endomembranaire <p>2.1.3. Membrane bactérienne</p> <p>2.2. Compartiment cytosolique</p> <p>2.2.1. Des cellules eucaryotes</p> <ul style="list-style-type: none"> - Cytosquelette - Constituants cytosoliques (protéasomes, ribosomes, ..) <p>2.2.2. Des cellules procaryotes</p> <p>2.3. Mitochondries</p> <p>2.4. Peroxysomes</p> <p>2.5. Noyau et constituants nucléaires</p> <p>2.5.1. Noyau des cellules eucaryotes</p>	<p>Ce chapitre traite l'ensemble des méthodes d'étude des cellules, y compris celles relatives aux bactéries, non étudiées en cours de microbiologie.</p> <p>On envisagera la structure, les propriétés, les fonctions et la biogenèse des différents éléments.</p> <p>Les interactions moléculaires, (lipides - lipides ; lipides -protéines , ...) à la base de l'architecture et des propriétés membranaires seront détaillées (leur étude n'étant pas effectuée en cours de biochimie). On présentera les liposomes (obtention, applications). On étudiera les phénomènes de transport transmembranaires (chez les eucaryotes et chez les procaryotes).</p> <p>On étudiera les interactions protéines acides nucléiques et on montrera leur importance, ces thèmes ne faisant pas partie du programme de biochimie.</p>

<p>2.5.2. Chromosome bactérien</p> <p>2.6. Ultrastructures spécifiques de la cellule végétale</p> <p>2.6.1. Paroi cellulaire</p> <p>2.6.2. Vacuole</p> <p>2.6.3. Chloroplastes</p> <p>3. Communications entre cellules eucaryotes par message chimique</p> <p>3.1. Différentes catégories de messagers : hormones, neurotransmetteurs, cytokines, phytohormones</p> <p>3.2. Récepteurs cellulaires</p> <p>3.3. Interactions messagers –récepteurs et leurs conséquences</p> <p>4. Cycle cellulaire et mort des cellules eucaryotes</p> <p>4.1. Cycle cellulaire : phases et régulation</p> <p>4.2. Différenciation cellulaire</p> <p>4.3. Dérèglements du cycle : transformation cellulaire</p> <p>4.4. Mort cellulaire : nécrose et apoptose</p>	<p>Cette étude sera centrée sur les interactions moléculaires messagers - récepteurs et leurs conséquences.</p> <p>On présentera ce chapitre en lien avec les cultures cellulaires. La mitose ne sera pas réétudiée.</p>
---	--

Module 2 Pharmacologie et toxicologie

Contenus	Commentaires
<p>1. Eléments de physiologie</p> <p>1.1. Compartiments liquidiens de l'organisme : composition et échanges</p> <p>1.2. Eléments de physiologie digestive et rénale</p> <p>2. Eléments de toxicologie</p> <p>2.1. Définitions ; les différents types de toxicité</p>	<p>Ces éléments seront limités aux seules notions indispensables à la compréhension des études toxicologiques et pharmacologiques.</p> <p>Cette étude sera abordée à partir d'exemples de toxiques impliqués dans les secteurs alimentaire , pharmaceutique ou cosmétique.</p>

<p>2.2. Méthodes d'étude et d'évaluation de la toxicité d'une substance (animal entier , tissu, organe , culture cellulaire , culture bactérienne, extrait acellulaire)</p> <p>3. Absorption, distribution et métabolisme des xénobiotiques</p> <p>3.1. Voies d'absorption</p> <p>3.2. Transport sanguin et distribution tissulaire</p> <p>3.3. Biotransformations et détoxifications</p> <p>3.4. Voies d'excrétion</p> <p>3.5. Méthodes d'investigation</p> <p>4. Modes et sites d'action des médicaments : notions de pharmacodynamie</p>	<p>On prendra appui pour cette étude sur des exemples de toxiques ou de médicaments (notions de pharmacocinétique).</p> <p>On décrira le devenir du médicament depuis sa pénétration jusqu'à son site d'action. Cette étude comprend :</p> <ul style="list-style-type: none"> - la résorption (ensemble des phénomènes concourant au passage d'un médicament dans la circulation générale) ; - la distribution (processus de répartition dans les tissus) ; - les biotransformations ; - l'élimination du médicament. <p>On présentera les différents types de récepteurs :</p> <ul style="list-style-type: none"> - récepteurs jouant un rôle enzymatique ; - récepteurs intervenant dans le passage transmembranaire d'ions ou de molécules ; - récepteurs pour des neurotransmetteurs. <p>A l'aide d'exemples, les effets de la liaison entre médicament et récepteur, seront exposés, en définissant les termes d'agoniste et d'antagoniste.</p>
--	---

Module 3

Les anticorps et la réaction antigène-anticorps in vitro

Contenus	Commentaires
<p>1. Structure et rôle des anticorps</p> <p>2. Obtention du réactif anticorps</p> <p>2.1. Anticorps polyclonaux</p> <p>2.2. Anticorps monoclonaux</p> <p>3. La réaction antigène - anticorps in vitro</p> <p>3.1. Caractères thermodynamiques : affinité , zone d'équivalence , ...</p>	<p>On étudiera la structure et le rôle des Ig G, Ig M et Ig E. On mettra en relation les structures avec les spécificités des différents anticorps.</p> <p>La connaissance de l'idiotypie ne sera pas exigée.</p> <p>On développera les différentes étapes de l'obtention des anticorps polyclonaux (protocoles d'immunisation ; réponses primaire ou secondaire) et des anticorps monoclonaux (obtention , culture et sélection des hybridomes ; production des anticorps).</p>

<p>3.2. Réactions d'agglutination</p> <p>3.3. Réactions de précipitation</p> <p>3.4. Réactions utilisant des anticorps marqués : marques radioactive, fluorescente et enzymatique</p>	<p>On envisagera uniquement les réactions utilisées dans les méthodes d'analyse concernant les produits alimentaires, cosmétiques ou pharmaceutiques.</p>
---	---

Module 4 Biologie moléculaire

Contenus	Commentaires
<p>1. Génome et expression</p> <p>1.1. Organisation moléculaire des génomes eucaryote et procaryote</p> <p>1.2. Réplication de l'ADN</p> <p>1.3. Transcription de l'ADN</p> <p>1.3.1. Sites, mécanismes et régulation</p> <p>1.3.2. Modifications post - transcriptionnelles</p> <p>1.4. Traduction</p> <p>1.4.1. Code génétique</p> <p>1.4.2. Sites et mécanismes</p> <p>1.4.3. Modifications post - traductionnelles</p> <p>1.4.4. Mécanismes d'adressage</p> <p>2. Modifications du génome et génie génétique</p> <p>2.1. Mutations et mécanismes de réparation de l'ADN</p> <p>2.1.1. Altérations de la structure de l'ADN : nature, origine et conséquences</p> <p>2.1.2. Mécanismes de réparation</p> <p>2.2. Transferts génétiques</p>	<p>Le contenu de l'enseignement de biologie moléculaire concerne les eucaryotes et les procaryotes.</p> <p>Présentation simple dont l'un des objectifs principaux est de donner les clés de la compréhension des diagnostics basés sur la recherche de séquences génomiques spécifiques.</p> <p>Pour les procaryotes, l'étude sera limitée à trois exemples : l'opéron lactose, un opéron d'une voie de biosynthèse et le système SOS.</p> <p>Pour les eucaryotes, on soulignera surtout, dans une présentation simple, les différences avec les procaryotes.</p>

<p>2.2.1. Transferts chez les procaryotes : conjugaison, transformation et transduction</p> <p>2.2.2. Transferts chez les eucaryotes</p> <p>2.3. Génie génétique</p> <p>2.3.1. Définition des termes</p> <p>2.3.2. Les outils du génie génétique : enzymes, vecteurs de clonage,...</p> <p>2.3.3. Présentation des étapes successives du clonage et des stratégies de clonage</p> <p>2.3.4. Exemples d'application</p>	<p>Le développement de ce chapitre, qui a pour objet l'acquisition des connaissances de base, sera limité.</p>
--	--

Module 5

Virus et agents transmissibles non conventionnels

Contenus	Commentaires
<p>1. Bactériophages</p> <p>1.1. Méthodes d'étude, de recherche et de caractérisation</p> <p>1.2. Structure</p> <p>1.3. Cycles lytique et lysogène</p> <p>2. Virus animaux et végétaux</p> <p>2.1. Méthodes d'étude</p> <p>2.2. Structure et classification</p> <p>2.3. Différents types de cycle</p>	<p>On axera l'étude sur des exemples de virus présentant une importance particulière dans les domaines professionnels où intervient le titulaire du diplôme (ex : bactériophages des levains lactiques, virus de l'hépatite A, virus de la poliomyélite, virus de Norwalk,) et dans le génie génétique (Retroviridae), en tant que vecteurs de clonage.</p> <p>On étudiera le cycle d'un virus à ADN, le cycle d'un virus à ARN(+) et celui d'un virus à ARN (-) ainsi que celui d'un virus appartenant à la famille des Retroviridae à partir d'un exemple appartenant à chacune de ces catégories.</p>

3. Notions sur les agents transmissibles non conventionnels	On réalisera une étude succincte basée, par exemple, sur une approche historique ; on présentera les techniques de dépistage ainsi que l'incidence des prions mis en cause dans les pathologies humaines.
--	---

Module 6

Biologie et physiologie végétales

Contenus	Commentaires
<p>1. Anatomie végétale : les différents organes d'une plante</p> <p>2. Germination des graines</p> <p>3. Croissance végétale</p> <p>4. Multiplication végétative</p> <p>5. Notions sur les végétaux OGM</p>	<p>Ce module a pour objet de donner des connaissances simples et générales, de façon à :</p> <ul style="list-style-type: none"> - permettre une meilleure compréhension des travaux pratiques de culture cellulaire végétale ; - compléter l'information sur certains aliments (à base de céréales) ; - donner les éléments indispensables sur les OGM, tant au niveau de leur obtention qu'au niveau de leur recherche dans les aliments (ce dernier point en liaison avec le module de biologie moléculaire).

Activités technologiques en biologie cellulaire et moléculaire

Ces enseignements sont dispensés dans des laboratoires spécialisés, en groupe d'atelier dont l'effectif ne peut être supérieur à 15 étudiants. Ce maximum est impératif en raison des problèmes de sécurité inhérents à la nature des manipulations effectuées, des réactifs, produits et appareillages utilisés.

L'horaire qui leur est imparti est de 2 heures par semaine, en première comme en seconde année. Cependant, rares sont les manipulations de ce programme qui peuvent être effectuées dans cette durée. Pour cette raison, cet horaire a été associé à celui des activités technologiques de biochimie pour la première année, de microbiologie pour la seconde.

Cet affichage ne signifie pas que l'enseignement pratique de biologie cellulaire et moléculaire doit être assuré par l'enseignant en charge des activités technologiques de biochimie ou de microbiologie. Il a pour simple objet de permettre une organisation dégageant une plage horaire suffisante pour réaliser dans les conditions adéquates ces activités technologiques.

Ces activités technologiques complètent les cours de biologie cellulaire et végétale, virologie, pharmacologie toxicologie, et biologie moléculaire. Elles doivent permettre au technicien bioanalyses et contrôles de maîtriser les techniques relevant de la culture cellulaire, des caractérisations, détections et dosages immunologiques, des principales techniques de la biologie moléculaire.

Une attention toute particulière sera accordée :

- à la mise en oeuvre des différentes étapes de la démarche de prévention des risques professionnels ;
- au respect des consignes de sécurité et des bonnes pratiques de laboratoire ;
- aux notions de démarche qualité et de tracabilité ;
- aux principes de validation de méthodes et à la démarche de certification et / ou accréditation.

Par ailleurs, il sera largement fait appel à l'outil informatique et on sensibilisera les étudiants au coût des appareils (achat et maintenance), matériels et produits.

Ces activités technologiques permettent d'acquérir les compétences C13 ,C14 ,C15 et contribuent à l'acquisition des compétences C23, C24, C42 , C44, C52 et C53.

Module 1 Techniques de culture des cellules eucaryotes

Contenus	Commentaires
1. Préparation et étude des cellules 1.1. Séparation des cellules 1.2 . Observation et reconnaissance microscopiques 1.3. Dénombrement en cellule de comptage	Les observations réalisées permettront un entraînement à la reconnaissance et à l'étude des cellules différenciées et des lignées cellulaires, indispensable dans l'étude des effets cytopathogènes Pour l'essentiel, ces activités seront mises en oeuvre dans les manipulations suivantes du programme.

<p>2. Obtention d'une culture primaire</p> <p>2.1. Prélèvement de fragment d'organe ou de tissu, d'origine animale et végétale</p> <p>2.2. Obtention et contrôle des cellules d'intérêt (dilacération, broyage, centrifugation ou autre mode de séparation)</p> <p>2.3. Préparation des milieux de culture</p> <p>2.4. Mise en culture</p> <p>2.5. Suivi de l'évolution</p>	<p>L'influence des facteurs physico-chimiques et/ou des phyto-régulateurs sur la multiplication et la différenciation des cellules pourra être étudiée.</p> <p>Un parallèle sera fait avec les techniques de culture, d'entretien et de conservation des souches microbiennes.</p>
<p>3. Conservation et entretien d'une lignée cellulaire</p> <p>3.1. Préparation des milieux de culture et du matériel</p> <p>3.2. Décongélation et ensemencement</p> <p>3.3. Repiquage d'une culture (observation du tapis cellulaire, conduite de la trypsination, dénombrement cellulaire et ajustage, ensemencement)</p> <p>3.4 Préparation des suspensions à conserver, quantification et congélation dans l'azote liquide</p>	<p>On réalisera ce travail sur une lignée cellulaire animale éloignée de l'homme.</p> <p>On effectuera la validation des milieux de culture.</p>
<p>4. Mise en évidence et quantification d'un effet cytotoxique sur des cellules en culture</p> <p>4.1. Effet cytotoxique d'une molécule ou d'une substance par une méthode spectrophotométrique</p> <p>4.2. Effet cytopathogène d'une souche virale ou vaccinale</p>	<p>Ces techniques nécessitent la maîtrise des cultures cellulaires et des quantifications.</p>
<p>5. Obtention d'un vitroplant par micropropagation in vitro</p>	

Module 2

Méthodes d'analyse utilisant des anticorps

Les différentes techniques de caractérisation et d'identification utilisant les anticorps seront mises en œuvre sur les produits les plus variés relevant du domaine des bio-industries (analyse de produits alimentaires, cosmétiques ou pharmaceutiques).

Contenus	Commentaires
<p>1. Analyses fondées sur une réaction d'immunoagglutination ou d'immunoprécipitation</p> <p>1.1. Recherche et caractérisation, par réaction d'immunoagglutination, de molécules et de microorganismes ou de virus</p> <p>1.2. Recherche et caractérisation de molécules par réaction d'immunoprécipitation</p> <p style="padding-left: 20px;">1.2.1. Double diffusion en gélose</p> <p style="padding-left: 20px;">1.2.2. Electrosynérèse</p> <p>1.3. Dosage de molécules par réaction d'immunoprécipitation</p> <p style="padding-left: 20px;">1.3.1. Immunodiffusion radiale</p> <p style="padding-left: 20px;">1.3.2. Electroimmunodiffusion</p>	<p>Les exemples présentés pourront être pris dans les domaines suivants:</p> <ul style="list-style-type: none"> - contrôle d'un réactif anticorps (pureté, spécificité) ; - analyse de solutions ; - caractérisation de l'origine animale d'un produit alimentaire.
<p>2. Analyses faisant intervenir des anticorps marqués</p> <p>2.1. Recherche et caractérisation d'une molécule, d'un microorganisme ou d'un virus par réaction d'immunofluorescence</p> <p>2.2. Détection de molécules, de microorganismes par réaction immunoenzymatique, par immunocapture</p> <p>2.3. Dosage de molécules par réaction immunoenzymatique</p> <p>2.4. Etablissement ou adaptation d'un protocole de dosage d'une molécule par une réaction immunoenzymatique</p>	<p>On réalisera une réaction d'immunofluorescence directe ou indirecte.</p> <p>Les applications seront choisies dans les domaines suivants :</p> <ul style="list-style-type: none"> - détection de fraudes ; - détection de microorganismes ; - détection de mycotoxines, de pesticides ou produits phytosanitaires. <p>On réalisera une méthode de type sandwich et une méthode de type compétitif.</p> <p>A partir d'une documentation théorique fournie ou recherchée, on concevra le principe du dosage ou de ses adaptations. A partir de catalogues de fournisseurs, on établira la commande des réactifs et matériels nécessaires.</p> <p>On rédigera un document synthétique et on en effectuera une présentation orale.</p>

3. Purification d' une molécule par une méthode faisant intervenir des anticorps fixés : chromatographie d'affinité	<p>On tiendra compte des techniques chromatographiques abordées en biochimie.</p> <p>On pourra choisir comme exemple d'application un produit pharmaceutique (facteurs plasmatiques, ...).</p>
--	---

Module 3

Techniques de biologie moléculaire

Loin d'être exhaustives, les activités proposées ont pour objectif l'acquisition d'un savoir-faire essentiel au technicien réalisant des techniques de biologie moléculaire, au travers de quelques techniques de base.

Elles s'appuient sur les acquis en biochimie et les savoir-faire développés lors des activités technologiques en biochimie (techniques enzymatiques et électrophorétiques par exemple).

Ces techniques pourront être réalisées séquentiellement ou intégrées dans une démarche plus organisée.

La prise en compte des risques chimiques, électriques et biologiques est particulièrement nécessaire dans ces différentes manipulations.

Contenus	Commentaires
1. Extraction d'acides nucléiques 1.1. Broyage et lyse cellulaire 1.2. Extraction d'ADN plasmidique par lyse alcaline et d'ADN chromosomique 1.3. Déprotéinisation 1.4. Analyse qualitative et quantitative par spectrophotométrie UV	On réalisera deux techniques différentes à partir de microorganismes et/ou de tissus vivants.
2. Utilisation des endonucléases de restriction	
3. Amplification d'acides nucléiques par PCR	On étudiera les caractéristiques du protocole (températures et durées) et les effets de la modification d'un paramètre du mélange réactionnel.
4. Analyse de fragments nucléiques par électrophorèse	On réalisera l'analyse et l'exploitation des gels à l'aide des marqueurs de taille.
5. Mise en œuvre d'une technique d'hybridation	
6. Mise en œuvre d'une analyse ou d'un contrôle. Détection par hybridation moléculaire	On utilisera un kit de biologie moléculaire permettant l'identification de gènes ou de microorganismes pathogènes. On étudiera les étapes et les points critiques du protocole ; on comparera ses caractéristiques à d'autres kits du commerce.