

Annexe**Programme d'enseignement de biotechnologies
Classe terminale de la série technologique STL****Démarche technologique et conduite accompagnée d'un projet expérimental en laboratoire de biotechnologies**

L'enseignement des biotechnologies en classe terminale s'inscrit dans la continuité pédagogique de la classe de première. Les concepts et les techniques étudiés en classe de première seront consolidés et complétés par de nouvelles compétences technologiques notamment dans les domaines de l'immunologie, l'enzymologie et la biologie moléculaire.

Les compétences acquises lors de la mise en œuvre de techniques de biotechnologies cellulaires (croissance, dénombrement, identification bactérienne, etc.) et moléculaires (séparation, identification, dosages des biomolécules, etc.) abordées en classe de première seront systématiquement réinvesties et approfondies en classe terminale dans le cadre de projets.

Démarche de projet technologique et projet accompagné de l'élève

En classe terminale, le projet technologique s'affirme comme l'outil pédagogique privilégié. Concevoir et réaliser une méthode, évaluer des résultats constituent les étapes essentielles de toute démarche biotechnologique moderne dans le cadre de la production d'un bien ou d'un service à l'aide d'un procédé. Ce processus actif permet de mettre les élèves dans une situation de résolution de problèmes facilitant l'acquisition de l'autonomie et l'esprit d'initiative. En laboratoire, le rapport professeur-élève permettant de passer d'une organisation « face à face » à une organisation « côte à côte » favorise ainsi la construction de compétences transversales fondamentales pour prendre une place d'adulte dans la société. Chaque activité technologique sera contextualisée par le professeur et fera l'objet d'une démarche de projet. La contextualisation des projets technologiques n'est pas une fin en soi ; les activités doivent également permettre l'acquisition des connaissances qui constituent l'objectif de formation et le support théorique de terminale. Les projets permettront de répondre à une problématique technologique dans l'un des domaines de biotechnologies (cf. « thématiques de projet de première » élargies aux nouveaux contenus technologiques de terminale). Tout en étant à l'origine de l'acquisition de compétences technologiques nouvelles, ils feront appel, de façon intégrée, aux connaissances et aux compétences acquises dans les enseignements technologiques transversaux. En cours d'année, l'élève, ayant acquis de l'autonomie et de l'esprit d'initiative, sera à même de construire un projet personnel en étant accompagné par le professeur. Cette démarche de « **projet technologique accompagné** » sera enrichie par un travail collectif entre élèves.

Organisation annuelle du projet technologique accompagné

La définition du projet et de sa problématique se fera en concertation avec l'équipe pédagogique. Afin de renforcer le travail d'équipe et l'autonomie des élèves, des groupes de 3 à 4 élèves seront constitués afin de mener un projet s'inscrivant dans les thématiques proposées (cf. « thématiques de projet de première » élargies aux nouveaux contenus technologiques de terminale). Les listes des projets et des groupes seront arrêtées au milieu du premier trimestre.

- 1 séance sera consacrée à la recherche documentaire, l'inventaire des matériels et des réactifs nécessaires. Ce travail pourra être complété par un travail en autonomie des élèves hors temps de classe.
- 4 à 5 séances, au rythme d'une séance par groupe, seront consacrées à la réalisation pratique par les élèves des expérimentations choisies. Lors de ces séances de mise en œuvre, tous les groupes travaillent sur le projet d'un seul groupe. Les porteurs de projets seront amenés à organiser le déroulement de la séance avec le professeur. Les autres élèves seront sollicités pour tester, par exemple, les différents paramètres d'un protocole.
- 1 à 2 séances seront consacrées à l'analyse et la synthèse des résultats et la présentation orale devant le groupe.

Objectifs de formation visés par le projet technologique accompagné

Les objectifs de formation visés par le projet technologique accompagné sont les suivants :

- rigueur de la démarche scientifique expérimentale ;
- degré de technicité permettant d'obtenir des résultats exploitables ;
- qualité des résultats obtenus ;
- traitement pertinent des données brutes et présentation synthétique ;
- analyse critique des résultats ;
- degré d'autonomie dans la démarche ;
- développement durable et gestion des déchets ;
- mise en œuvre de la démarche de prévention ;
- créativité et esprit d'initiative ;
- présentation des résultats et des conclusions à l'aide des technologies de l'information et de la communication.

Biotechnologies : éthique, impact économique et démarche technologique

Biotechnologies et société

Objectifs de formation et supports théoriques	Compétences transversales et technologiques
<ul style="list-style-type: none"> - Impact économique, valeur ajoutée d'un produit. - Regard critique sur la médiatisation des biotechnologies. - Éthique (en lien avec l'enseignement de philosophie). <p>L'objectif est de développer chez les élèves un sens critique et de dépasser la réflexion purement scientifique et technologique.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Se questionner sur les conséquences des applications et des procédés des biotechnologies, en lien avec l'actualité. - Développer sa responsabilité de citoyen face aux questions de la bioéthique. - Conduire une recherche documentaire. - Travailler en équipe. <p>À partir d'articles scientifiques ou non, choisis dans l'actualité, les élèves seront sensibilisés à l'impact des biotechnologies à l'aide d'un questionnement judicieux.</p>

Démarche spécifique aux activités de biotechnologies

Objectifs de formation et supports théoriques	Compétences transversales et technologiques
<ul style="list-style-type: none"> - Principes scientifiques des méthodes utilisées. - Principes technologiques des techniques utilisées. - Prévention des risques. - Gestion des déchets. - Obtention du résultat : <ul style="list-style-type: none"> . mesurage objectif et observation subjective, . notion de référence absolue ou relative. <p>L'objectif est de construire une démarche technologique commune à chaque projet pédagogique de l'enseignant, transférable par l'élève pour son projet technologique.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Justifier les étapes essentielles d'un protocole et faire le lien avec le principe. - Identifier les paramètres-clés (points critiques) d'une méthode influençant les résultats. - Mettre en œuvre un protocole en modifiant l'un des paramètres. - Identifier les étapes critiques d'une méthode pour prévenir les risques. - Respecter un protocole, une méthode normalisée. - Identifier le caractère objectif (mesurage) ou subjectif (observation) d'un critère de détermination d'un résultat. <p>Le caractère objectif ou subjectif d'un résultat expérimental pourrait être présenté, par exemple, par comparaison entre un résultat obtenu au spectrophotomètre et par comparaison visuelle.</p>

Exploitation des résultats et qualité

Objectifs de formation et supports théoriques	Compétences transversales et technologiques
<ul style="list-style-type: none"> - Fidélité, justesse d'une méthode. - Exactitude d'une mesure. - Étalonnage. - Incertitude sur la mesure. - Qualité d'une manipulation. - Logigramme de décision. <p>Les concepts de qualité développés dans l'enseignement de « Mesures et instrumentation » en classe de première seront réinvestis pour la mise en œuvre des manipulations et l'exploitation des résultats.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Évaluer une méthode : <ul style="list-style-type: none"> . prendre en compte la dispersion des résultats (fidélité sous condition de répétabilité ou de reproductibilité), . déterminer le biais pour apprécier la justesse d'une méthode. - Étalonner un appareil de mesure (pH mètre, etc.). - Étalonner une méthode dans des conditions opératoires données (obtenir une courbe d'étalonnage, utilisation de marqueurs de masse moléculaires). - Rendre un résultat : <ul style="list-style-type: none"> . utiliser un contrôle (étalon de travail) pour valider la qualité d'une manipulation, . déterminer l'erreur de mesure pour quantifier l'exactitude d'un résultat, . exprimer un résultat avec une incertitude associée à un niveau de confiance, . comparer un résultat à un critère, . critiquer un résultat. <p>Ces compétences seront mises en œuvre lors de chaque activité technologique afin de permettre aux élèves d'acquérir de l'autonomie dans la maîtrise des concepts de qualité des résultats.</p>

Analyse microbiologique d'un produit polymicrobien

La démarche de l'analyse microbiologique : recherche et/ou dénombrement

Objectifs de formation et supports théoriques	Compétences transversales et technologiques
<ul style="list-style-type: none"> - Méthode qualitative et méthode quantitative : mise en évidence d'au moins un microorganisme ou estimation de la concentration cellulaire. - Pour l'analyse d'un produit pathologique en biologie médicale : <ul style="list-style-type: none"> . flore commensale, . flore pathogène stricte, . flore pathogène opportuniste, . notion d'équilibre de la flore. - Pour le contrôle de la qualité microbiologique d'un produit en bio-industries : <ul style="list-style-type: none"> . normes et critères microbiologiques (critères de sécurité et critères d'hygiène de procédés), . diagrammes de décision : plans à 2 classes et plans à 3 classes. <p>Les compétences développées en classe de première seront réinvesties dans l'analyse microbiologique d'un produit polymicrobien. Les notions seront illustrées par un ou plusieurs exemples choisis parmi les domaines de la santé, de l'environnement et des bioindustries.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Comparer deux protocoles d'analyse d'un produit biologique. - Mettre en relation l'objectif recherché et la démarche de dénombrement ou de recherche en fonction du contexte. <p>L'objectif est de comprendre la démarche choisie, dénombrement ou recherche, et de permettre à l'élève de différencier les deux méthodologies.</p>

Les étapes de la recherche d'une flore particulière dans un produit polymicrobien

Objectifs de formation et supports théoriques	Compétences transversales et technologiques
<ul style="list-style-type: none"> - Revivification. - Enrichissement sélectif ou non. - Isolement sélectif ou non. - Discrimination des colonies suspectes. - Identification. - Groupage ou sérotypage. <p>La mise en œuvre de la démarche prendra appui sur des exemples contextualisés qui seront choisis parmi les thématiques de projet. La dernière étape proposée sera étudiée en lien avec la partie « analyse immunologique des échantillons biologiques ».</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Isoler des microorganismes : <ul style="list-style-type: none"> . isoler les microorganismes recherchés dans un produit polymicrobien, . choisir des milieux sélectifs pertinents pour la recherche d'une catégorie de microorganisme. - Identifier des microorganismes : <ul style="list-style-type: none"> . choisir les tests discriminants pour identifier un microorganisme, . mettre en œuvre une identification de bactérie ou de levure par une galerie miniaturisée, . utiliser un logiciel d'identification et/ou une base de données taxonomique, . analyser un résultat de sérotypage sur un microorganisme. <p>En classe terminale, les compétences sur la culture et l'identification des bactéries seront renforcées et pourront être appliquées à l'étude des levures.</p>

Les méthodes de dénombrement d'une flore d'un produit polymicrobien

Objectifs de formation et supports théoriques	Compétences transversales et technologiques
<ul style="list-style-type: none"> - Filtration sur membrane. - Dénombrement en milieu liquide. - Dénombrement en masse ou en surface. - Dénombrement par observation directe. <p>Pour approfondir les méthodes de dénombrement vues en classe de première, l'étude visera les caractéristiques essentielles des différentes méthodes de dénombrement et les paramètres qui les différencient.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Choisir une méthode de dénombrement adaptée. - Exploiter les résultats de dénombrement d'une unité d'échantillonnage en la comparant à un critère microbiologique. - Exploiter une méthode normalisée de dénombrement d'une catégorie de microorganismes. - Mettre en œuvre au moins deux méthodes de dénombrement. - Comparer deux méthodes de dénombrement. <p>En classe terminale, les compétences sur le dénombrement des bactéries seront renforcées et pourront être appliquées à l'étude de levures.</p>

Croissance microbienne

Modélisation de la croissance en milieu non renouvelé

Objectifs de formation et supports théoriques	Compétences transversales et technologiques
<ul style="list-style-type: none"> - Courbe de croissance. - Phases de la croissance. - Paramètres cinétiques de la croissance. - Effecteurs de la croissance : <ul style="list-style-type: none"> . concentration en substrat, . température, . oxygénation, . pH. - Notion de croissance optimale. - Applications industrielles de la croissance en bioréacteurs. <p>La modélisation de la cinétique de croissance en milieu non renouvelé fera appel aux acquis de mathématiques sur les fonctions logarithmiques et exponentielles après intégration de l'équation différentielle de l'accroissement de la population bactérienne.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Mettre en œuvre un suivi de croissance d'une bactérie ou d'une levure. - Exploiter une courbe de croissance. - Déterminer les paramètres cinétiques. - Identifier/étudier les paramètres d'influence ou effecteurs. <p>La mise en œuvre d'une croissance bactérienne constituera un support de modélisation mathématique d'un phénomène biologique et de l'influence des conditions expérimentales sur les résultats, en particulier les paramètres physico-chimiques ou nutritionnels.</p>

Les agents antimicrobiens inhibiteurs de la croissance

Objectifs de formation et supports théoriques	Compétences transversales et technologiques
<ul style="list-style-type: none"> - Notion d'antiseptie, de désinfection et de stérilisation. - Techniques de réduction de la charge microbienne : <ul style="list-style-type: none"> . action de la chaleur (thermisation, pasteurisation, tyndallisation, autoclavage, chaleur sèche, etc.), . filtration, . rayonnements, . produits chimiques. - Étude de l'effet des procédés de destruction ou des molécules antimicrobiennes : <ul style="list-style-type: none"> . notion d'indicateur biologique de pasteurisation, de stérilisation, etc. . modélisation mathématique de la destruction et ses limites : notion de barème durée-température, . effet microbicide ou microbiostatique CMI (d'une molécule antibiotique ou désinfectante), . principe de l'antibiogramme et standardisation de la méthode, . notion de spectre d'action. - Antibiotiques et antibiothérapie : <ul style="list-style-type: none"> . relation entre concentration critique et sensibilité, . notions sur le mode d'action des antibiotiques. <p>Les notions de concentrations critiques seront présentées simplement afin de définir sensibilité et résistance au sens thérapeutique.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Réaliser un test microscopique de viabilité cellulaire. - Étudier l'effet de la température et de la durée d'exposition sur la destruction bactérienne. - Réaliser une technique de réduction de charge microbienne et déterminer une réduction décimale de population bactérienne. - Mettre en évidence l'effet d'un antimicrobien, conservateur, antiseptique ou désinfectant. - Déterminer la CMI d'un antimicrobien vis-à-vis d'une bactérie ou d'une levure. - Réaliser un antibiogramme. - Exploiter les résultats d'un antibiogramme. <p>L'importance du respect des conditions standardisées dans la réalisation de l'antibiogramme pourra faire l'objet d'un projet technologique accompagné.</p>

Les bactériophages, virus lytiques ou lysogènes des bactéries

Objectifs de formation et supports théoriques	Compétences transversales et technologiques
<ul style="list-style-type: none"> - Cycle phagique : <ul style="list-style-type: none"> . phage virulent et phage tempéré, . principales étapes du cycle lytique et du cycle lysogène, . transduction phagique généralisée ou restreinte. - Applications au laboratoire : <ul style="list-style-type: none"> . contaminant d'une production au cours d'une fermentation, . lysotypie et identification bactérienne, . phage indice de contamination fécale en contrôle microbiologique d'une eau, . phage comme outil de génie génétique. <p>Cette partie sera étudiée en lien avec le cours de CBSV. Il s'agit de montrer comment des phages, naturellement contaminants, peuvent être utilisés au laboratoire en s'appuyant sur le caractère lytique ou lysogène.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Réaliser un dénombrement de phages par plages de lyse sur une souche sensible par la méthode en double couche ou la méthode des spots. - Analyser une courbe de croissance ou de fermentation en présence d'un bactériophage lytique. - Analyser une méthode de microbiologie appliquée en mettant en évidence le rôle particulier des bactériophages. <p>L'analyse pourra se traduire par une synthèse ou un schéma synthétique faisant apparaître les particularités technologiques dues à l'utilisation des bactériophages. Le rôle des phages intervenant dans un vecteur de gène d'intérêt sera étudié en lien avec la partie biologie moléculaire et génie génétique.</p>

Microorganismes eucaryotes

Culture de cellules eucaryotes

Objectifs de formation et supports théoriques	Compétences transversales et technologiques
<ul style="list-style-type: none"> - Type trophique et conditions de culture : <ul style="list-style-type: none"> . métabolisme photosynthétique et autotrophie de cellules végétales et des microalgues, . métabolisme organotrophe et hétérotrophie des cellules animales. - Composition d'un milieu de culture cellulaire eucaryote. - Conditions de culture de cellules eucaryotes animales ou végétales. <p>Cette partie sera étudiée en lien avec le cours de CBSV. On s'attachera à mettre en évidence les caractères culturels des cellules eucaryotes par comparaison avec ceux exigés par la culture des bactéries. Le rôle particulier de la lumière dans le cas des organismes photosynthétiques sera étudié.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Étudier l'influence des paramètres de la culture cellulaire, éventuellement à partir de documents technologiques. - Mettre en évidence l'influence de la lumière sur la culture de cellules photosynthétiques. <p>Cette partie peut faire l'objet d'un projet conduit par les élèves, par exemple sur la mise au point d'une culture de microalgues en réinvestissant les connaissances et compétences acquises dans la culture de microorganismes.</p>

Les champignons microscopiques

Objectifs de formation et supports théoriques	Compétences transversales et technologiques
<ul style="list-style-type: none"> - Moisissures : <ul style="list-style-type: none"> . thalle, appareils reproducteurs, hyphes, comme outils d'identification, . existence d'une reproduction sexuée et d'une reproduction asexuée. <p>Il s'agit de faire comprendre aux élèves les principaux critères de la classification des moisissures.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Observer et décrire les caractéristiques morphologiques macroscopiques et microscopiques des moisissures : caractéristiques communes, caractéristiques spécifiques. - Utiliser les caractéristiques spécifiques pour la classification : appareil reproducteur, cloisonnement du mycélium. <p>On étudiera au moins deux moisissures pour faire acquérir la démarche d'utilisation des caractères morphologiques pour l'identification du genre.</p>
<ul style="list-style-type: none"> - Levures : <ul style="list-style-type: none"> . existence d'une reproduction sexuée et asexuée par bourgeonnement, . les capacités métaboliques comme critères d'identification, . rôle des levures en fermentation industrielle et au laboratoire de génie génétique. <p>Les principaux éléments de classification seront étudiés à partir de documents. À l'aide d'exemples de stratégies mises en œuvre en laboratoire de recherche, le rôle particulier de la levure comme outil de génie génétique sera envisagé en lien avec la partie « initiation à la biologie moléculaire et au génie génétique ».</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Observer et décrire les caractéristiques morphologiques des levures. - Réaliser un auxanogramme pour identifier une levure. - Conduire une démarche d'identification à partir de résultats obtenus pour les principaux caractères d'identification discriminants. <p>Cette partie peut faire l'objet d'un projet conduit par les élèves en réinvestissant les connaissances et compétences acquises dans l'étude du métabolisme des bactéries.</p>

Préparation et analyse biochimique des produits biologiques

Méthodes de fractionnement

Objectifs de formation et supports théoriques	Compétences transversales et technologiques
<p>- Intérêt du fractionnement pour l'étude d'un produit biologique.</p> <p>- Principe du suivi d'une purification d'une molécule au sein d'un produit complexe.</p> <p>- Méthodes de fractionnement, préparatives ou analytiques, en lien avec les propriétés des biomolécules :</p> <ul style="list-style-type: none"> . centrifugation, . électrophorèse, . chromatographie par adsorption, partage, exclusion-diffusion, échange d'ions, affinité, . solubilité différentielle, . dialyse, . distillation. <p>- Technologies du fractionnement et de la détection associée, appareillages intégrés.</p> <p>Les techniques de fractionnement ont été abordées en classe de première. En classe terminale, l'analyse sera approfondie et complétée en s'appuyant sur la diversité des principes et des technologies dans le cadre de l'étude d'un produit biologique complexe. La démarche de suivi de purification pourra être conduite en lien avec le suivi de purification d'une enzyme par son activité enzymatique.</p> <p>Cette partie sera traitée en lien avec paragraphe 1.5 « Les molécules des organismes vivants présentent des structures et des propriétés spécifiques » de CBSV.</p>	<p>- Choisir et mettre en œuvre une méthode de fractionnement en fonction des propriétés des biomolécules à séparer.</p> <p>- Associer des techniques unitaires pour extraire ou purifier des biomolécules.</p> <p>Le nombre de techniques approfondies en classe terminale sera limité ; les techniques ne seront pas étudiées pour elles-mêmes, mais dans l'objectif d'en comprendre les principales caractéristiques permettant à terme aux élèves de justifier le choix d'une méthode de fractionnement.</p>

Méthodes de détection et d'identification

Objectifs de formation et supports théoriques	Compétences transversales et technologiques
<p>- Propriétés structurales :</p> <ul style="list-style-type: none"> . coloration spécifique, . temps de rétention, Rf, volume d'élution. <p>- Propriétés biologiques.</p> <p>À l'aide d'exemples contextualisés, les principes seront illustrés afin de mettre en évidence la spécificité de la caractérisation de la molécule identifiée. Il s'agit en outre de faire acquérir le concept d'analyse qualitative d'un produit complexe.</p>	<p>- Mettre en évidence qualitativement une biomolécule.</p> <p>- Analyser des résultats expérimentaux et identifier la méthode de détection utilisée.</p> <p>- Séparer et identifier deux molécules de structures proches par une méthode simple.</p> <p>- Comparer deux méthodes d'analyse qualitative d'un produit complexe.</p> <p>La réalisation pratique et/ou l'analyse de documents serviront de support à l'analyse comparée de méthodes de mise en évidence pour en identifier les points critiques.</p>

Méthodes de dosage

Objectifs de formation et supports théoriques	Compétences transversales et technologiques
<ul style="list-style-type: none"> - Mesure d'absorbances par spectrophotométrie. - Courbe d'étalonnage. - Volumétrie directe, indirecte. - Analyse quantitative d'un chromatogramme par mesure d'aire. - Analyse quantitative d'un électrophorégramme par comparaison visuelle ou au densitomètre. - Détermination mathématique d'un volume équivalent par mesure au pH mètre. <p>L'analyse de résultats d'électrophorèse s'appuiera sur les résultats obtenus dans le cadre des méthodes de biologie moléculaire. La quantification pourra nécessiter d'utiliser des fonctions développées dans le cours de mathématiques. Il s'agit en outre d'acquérir le concept d'analyse quantitative d'un produit complexe.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Choisir et mettre en œuvre une méthode de dosage en fonction des propriétés des biomolécules. - Concevoir et réaliser une gamme d'étalonnage. - Étalonner un appareil de mesure à l'aide d'un échantillon d'étalonnage unique ou d'une gamme d'échantillons d'étalonnage. - Évaluer quantitativement des résultats d'électrophorèse ou de chromatographie. - Rendre un résultat définitif en prenant en compte la préparation éventuelle d'un échantillon. - Comparer les résultats à une donnée de référence. <p>Le nombre de techniques approfondies en classe terminale sera limité ; les techniques ne seront pas étudiées pour elles-mêmes, mais dans l'objectif d'en comprendre les principales caractéristiques permettant à terme aux élèves d'en saisir l'intérêt et de choisir une méthode de dosage plutôt qu'une autre.</p>

Analyse immunologique des échantillons biologiques

Objectifs de formation et supports théoriques	Compétences transversales et technologiques
<ul style="list-style-type: none"> - Spécificité de la réaction antigène-anticorps. - Paramètres d'influence de la réaction antigène-anticorps (pH, concentration relative, nature du support, etc.). - Validation des techniques. - Principes des techniques immunologiques : <ul style="list-style-type: none"> . approche qualitative (détection ou dépistage), . approche quantitative (dosage ou titrage). 	<ul style="list-style-type: none"> - Caractériser la spécificité de la réaction. - Réaliser une réaction antigène-anticorps en tenant compte des paramètres d'influence. - Réaliser une réaction antigène-anticorps pour mettre en évidence un antigène ou un anticorps. - Réaliser une méthode immunologique de quantification ; mettre en œuvre une gamme de dilution géométrique. - Choisir les témoins pour valider la technique : témoin de spécificité, témoin d'efficacité. - Contrôler la technique. <p>Deux techniques de principes différents seront réalisées au minimum.</p>

Les enzymes, catalyseurs biologiques et outil de transformation spécifique des molécules

Les enzymes, protéines catalytiques à site actif

Objectifs de formation et supports théoriques	Compétences transversales et technologiques
<ul style="list-style-type: none"> - Propriétés structurales des enzymes : <ul style="list-style-type: none"> . protéines globulaires, monomériques ou oligomériques, . notions de cofacteurs enzymatiques : ions métalliques et coenzymes (cosubstrats et groupements prosthétiques), . formes multiples d'une enzyme et isoenzymes, . notion de complexe multienzymatique. - Propriétés catalytiques des enzymes : <ul style="list-style-type: none"> . notion de site actif : site de fixation du substrat, site catalytique, . spécificités de substrat et de réaction, . classification et nomenclature des enzymes : notion de classes d'enzymes. <p>La notion de catalyse a été abordée dans le thème 2 du programme de chimie-biochimie-sciences du vivant de la classe de première. À l'aide de plusieurs exemples, on s'attachera à dégager les concepts de site actif et de spécificité de substrat, ainsi que ceux d'affinité et de spécificité de réaction.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Exploiter des ressources documentaires et des activités expérimentales pour présenter les propriétés structurales des enzymes. - Exploiter des ressources documentaires et des activités expérimentales pour présenter les propriétés catalytiques des enzymes : <ul style="list-style-type: none"> . comparer les spécificités de substrat et de réaction sur plusieurs exemples. - Identifier dans une molécule la partie spécifique reconnue par l'enzyme. - Identifier la classe d'enzyme en étudiant la réaction catalysée.

Étude cinétique des enzymes michaeliennes

Objectifs de formation et supports théoriques	Compétences transversales et technologiques
<p>- Cinétique d'une réaction enzymatique à un substrat :</p> <ul style="list-style-type: none"> . allures des courbes : produit formé = f(temps) et substrat transformé = f(temps), . notion de vitesse initiale, . méthodologies de mesure d'une vitesse de réaction. <p>Il s'agit de montrer que l'efficacité d'une enzyme se traduit par une vitesse de transformation. Cette vitesse doit être déterminée dans des conditions expérimentales choisies : conditions initiales où la vitesse est constante.</p>	<p>- Déterminer la vitesse initiale d'une réaction enzymatique en suivant le produit formé ou le substrat consommé :</p> <ul style="list-style-type: none"> . méthode cinétique « deux points », . méthode cinétique en continu. <p>- Analyser les courbes :</p> <ul style="list-style-type: none"> . produit formé = f(temps), . substrat transformé = f(temps).
<p>- Influence de la concentration en substrat sur la vitesse initiale :</p> <ul style="list-style-type: none"> . représentation graphique et interprétation de la courbe de Michaelis-Menten, . signification des paramètres cinétiques : constante de Michaelis (K_M), vitesse initiale maximale ($v_{(c, s) i \max}$). <p>Dans cette partie, on s'attachera à montrer comment les paramètres cinétiques permettent de caractériser les performances d'une enzyme pour une réaction donnée.</p>	<p>- Déterminer les paramètres cinétiques, constante de Michaelis et vitesse initiale maximale, d'une réaction enzymatique à l'aide des courbes de Michaelis-Menten et de la méthode de linéarisation en double inverse.</p> <p>- Comparer les performances de deux méthodes de détermination des paramètres cinétiques.</p> <p>- Comparer, à partir des valeurs des paramètres cinétiques, les performances :</p> <ul style="list-style-type: none"> . d'une catalyse enzymatique en fonction de conditions opératoires choisies (pH, température, nature du substrat, présence d'un inhibiteur), . de deux enzymes capables de catalyser une même réaction. <p>La notion d'affinité de l'enzyme pour son substrat pourra être amenée par la comparaison de valeurs de K_m.</p>
<p>- Inhibition de la catalyse enzymatique :</p> <ul style="list-style-type: none"> . représentations graphiques et influence sur les paramètres cinétiques, . inhibition compétitive, . inhibition non compétitive, . notion d'analogue structural d'un substrat. <p>Il s'agit ici de montrer comment l'utilisation des paramètres cinétiques permet d'identifier le type d'inhibition.</p>	<p>- Représenter en parallèle une courbe en présence et en absence d'inhibiteur.</p> <p>- Identifier le type d'inhibition à partir des résultats graphiques et/ou des paramètres cinétiques.</p>
<p>- Activité catalytique d'une enzyme :</p> <ul style="list-style-type: none"> . activité catalytique ($z_{(s)}$) : définitions de l'unité internationale (U) et de l'unité du système international le katal (kat), . concentration d'activité catalytique ($b_{(s)}$), . activité catalytique spécifique, . activité catalytique molaire, . influence de la concentration en enzyme sur la vitesse initiale. <p>On veillera à indiquer l'intérêt d'exprimer les différentes formes d'activités catalytiques. La détermination de l'activité spécifique permet de comparer deux préparations enzymatiques.</p>	<p>- Déterminer expérimentalement une concentration d'activité enzymatique dans des conditions expérimentales données.</p> <p>- Doser les protéines totales dans une préparation enzymatique.</p> <p>- Exprimer les différentes activités avec leurs unités.</p>

Les enzymes, protéines sensibles aux effecteurs

Objectifs de formation et supports théoriques	Compétences transversales et technologiques
<ul style="list-style-type: none"> - Influence de la température sur la catalyse enzymatique : <ul style="list-style-type: none"> . courbe représentant l'activité catalytique en fonction de la température, . augmentation réversible de la vitesse avec la température, . notion de température critique, . notions d'inactivation et de dénaturation (irréversible), . standardisation de la température (thermostatisation). - Influence du pH sur la catalyse enzymatique : <ul style="list-style-type: none"> . courbes représentant l'activité catalytique en fonction du pH, . notion de pH optimum, . exemples d'enzymes fonctionnant à différents pH : amylase salivaire, pepsine gastrique, chymotrypsine pancréatique, etc. . standardisation du pH (système tampon). <p>L'objectif est de mettre en évidence la nécessité de travailler à pH constant et température constante pour mesurer une activité enzymatique.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Déterminer une activité enzymatique dans différentes conditions de température. - Réaliser une courbe de dénaturation thermique. - Déterminer un pH optimum d'activité catalytique. <p>On s'attachera à montrer que la température module l'activité enzymatique dans une gamme de températures données mais l'inactive à partir d'un seuil. On mettra en évidence la différence d'allure des deux courbes et en particulier le caractère dissymétrique de la courbe $V_i = f(\text{température})$.</p>

Enzymologie appliquée

Objectifs de formation et supports théoriques	Compétences transversales et technologiques
<p>Dosage de substrats par méthode en point final :</p> <ul style="list-style-type: none"> . notions de réaction principale (indicatrice ou non) et de réaction auxiliaire, . notion de chromogène ou coenzyme d'oxydo-réduction (NADH, H⁺ ou NADPH, H⁺) absorbant dans l'UV, . spectres d'absorption de chromophores : de NADH ou NADPH, ou autre molécule (quinonéine, etc.), . notion de réaction totalement déplacée, . notion de substrat limitant. <p>L'objectif de cette partie est de mettre en évidence que l'enzyme est un outil spécifique pour doser un substrat dans des conditions où le substrat à doser est limitant et où il doit être totalement consommé.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Identifier les réactions principale, auxiliaire et indicatrice dans un protocole de dosage de substrat. - Analyser les conditions expérimentales d'un coffret de dosage de substrat permettant un dosage en point final. - Déterminer une longueur d'onde de travail à l'aide d'un spectre. - Réaliser expérimentalement le dosage d'une substance d'intérêt avec ou sans étalon.
<ul style="list-style-type: none"> - Dosage d'enzyme par mesure d'activité enzymatique : <ul style="list-style-type: none"> . influence de la concentration en enzyme sur l'activité enzymatique, . notion de substrat saturant, . concentration d'enzyme limitante. <p>On s'attachera à mettre en évidence que les conditions expérimentales du dosage d'enzyme nécessitent que l'enzyme à doser soit le facteur limitant. Le substrat doit être saturant si l'on souhaite effectuer la mesure en conditions optimales. Il est cependant possible de comparer deux activités enzymatiques en condition non saturante.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Déterminer une activité enzymatique dans un milieu biologique : <ul style="list-style-type: none"> . méthode cinétique en continu, . méthode cinétique « deux points ». - Analyser les conditions expérimentales d'un dosage d'enzyme dans un coffret de dosage. - Exploiter le résultat d'une concentration d'activité catalytique à l'aide de valeurs de référence dans un but diagnostic ou de contrôle industriel.
<ul style="list-style-type: none"> - Purification d'une enzyme : <ul style="list-style-type: none"> . principe de séparation de l'enzyme des autres protéines, . principales étapes, . rapport des activités spécifiques et facteur de purification ou enrichissement, . rapport des activités totales et rendement de purification. <p>Cette partie permettra de montrer que la purification d'une préparation enzymatique entraîne une perte d'enzyme mais aboutit à l'enrichissement de la préparation.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Effectuer une purification d'enzyme et établir le tableau de suivi : <ul style="list-style-type: none"> . exprimer la pureté d'une préparation enzymatique par son activité spécifique, . calculer l'enrichissement pour une étape, . calculer le rendement de la purification pour une étape, . calculer l'enrichissement total, . calculer le rendement total. - Analyser un tableau de purification par étapes successives. - Vérifier la pureté d'une préparation enzymatique.

Initiation à la biologie moléculaire et au génie génétique

Sensibilisation à l'environnement de travail et aux exigences spécifiques à la pratique de la biologie moléculaire

Objectifs de formation et supports théoriques	Compétences transversales et technologiques
<ul style="list-style-type: none"> - Sensibilité des acides nucléiques aux hydrolases. - Aspect ubiquitaire des acides nucléiques et des hydrolases. 	<ul style="list-style-type: none"> - Identifier les points critiques d'un pipetage de micro volumes. - S'assurer de la qualité du matériel de prélèvement. - Conditionner, étiqueter et conserver (congélation ou non) les échantillons, les réactifs, etc. - Analyser les risques d'altération du matériel biologique, soit par contamination (ADN exogène), soit par dégradation (nucléases). - Prendre des mesures adéquates de protection du matériel biologique. <p>Pour identifier les points critiques d'un pipetage, on pourra, par exemple, vérifier le fonctionnement mécanique d'une pipette, contrôler visuellement le volume et être amené à consulter la fiche de vie de la micro pipette.</p>
<ul style="list-style-type: none"> - Structures monocaténaire et bicaténaire des acides nucléiques. - Étude des propriétés physicochimiques de l'ADN et de l'ARN : <ul style="list-style-type: none"> . propriétés spectrales, . stabilité thermique et températures de fusion, effet hyperchrome, . solubilité en fonction des conditions de pH et de force ionique et de la nature du solvant, . hydrolyse non spécifique (enzymatique ou chimique) de l'ADN et de l'ARN. <p>Cette partie sera traitée en liaison avec l'enseignement de CBSV et s'appuiera sur les activités pratiques de purification et dosage de l'ADN.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Extraire et purifier l'ADN : <ul style="list-style-type: none"> . analyser un protocole d'extraction et de purification d'ADN, . réaliser une extraction et une purification d'ADN, . contrôler la pureté de la solution d'ADN préparée par la réalisation d'un spectre d'absorption dans l'UV, . doser l'ADN par absorptiométrie à 260 nm. <p>L'ADN à purifier et quantifier pourra être d'origine génomique ou plasmidique. On privilégiera les protocoles permettant de mettre en évidence l'intérêt technologique des différentes étapes (lyse cellulaire, déprotéinisation, élimination de l'ARN et concentration après précipitation). On choisira de préférence les techniques douces sans utilisation de solvants organiques.</p>

Du gène à la protéine

Objectifs de formation et supports théoriques	Compétences transversales et technologiques
<ul style="list-style-type: none"> - Code génétique et traduction de séquence nucléotidique. - Notion d'opéron et de séquence codante, notion de cadre de lecture. - Rôle du promoteur inductible. - Comparaison de la transcription et de la traduction chez les organismes procaryotes et eucaryotes : <ul style="list-style-type: none"> . notions d'intron/exon et ADN, complémentaire, . queue polyA des ARNm eucaryotes. <p>Les propriétés des molécules « informatives » et les notions nécessaires pour comprendre les stratégies fondamentales du génie génétique seront envisagées. On différenciera les propriétés nécessaires et/ou spécifiques aux procaryotes et aux eucaryotes.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Analyser statistiquement des séquences nucléotidiques et peptidiques (GC %, % acides aminés aliphatiques, etc.). - Rechercher et exploiter des informations dans des banques de données (sites de coupure des enzymes de restriction, séquence codante d'un gène, etc.). - Traduire à l'aide d'un logiciel une séquence de nucléotides et déterminer la séquence peptidique probable avec une banque de protéines. <p>Les manipulations technologiques feront appel à l'outil bio-informatique. L'utilisation des logiciels libres de bio-informatique est recommandée pour mettre en œuvre ces différentes analyses sur des exemples simples et connus.</p>

Outils essentiels de la biologie moléculaire

Objectifs de formation et supports théoriques	Compétences transversales et technologiques
<ul style="list-style-type: none"> - Enzymes : polymérases, enzymes de restriction. - Polymérisation des acides nucléiques et amplification en chaîne par polymérisation (ACP ou PCR). - Vecteurs d'amplification et d'expression : <ul style="list-style-type: none"> . marqueur de sélection, . origine de réplication, . promoteur, . site de clonage multiple, . gène rapporteur, . gène d'intérêt. <p>Seules les notions nécessaires à la compréhension de la technique d'amplification de l'ADN seront abordées (ADN matrice, amorces, enzymes, nucléotides). Le lien avec le cours sur la réplication étudié en CBSV sera effectué.</p> <p>Le rôle des deux types de vecteurs sera présenté par une comparaison des éléments constitutifs des deux types de vecteurs.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Réaliser une électrophorèse en gel d'agarose. - Réaliser une digestion enzymatique par une enzyme de restriction : <ul style="list-style-type: none"> . déterminer la taille de fragments de restriction par une digestion virtuelle à l'aide d'un logiciel de bio-informatique adapté, . mettre en œuvre le protocole expérimental, . analyser les résultats après électrophorèse ; - Réaliser une amplification d'un fragment d'ADN <ul style="list-style-type: none"> . identifier le rôle des différentes molécules impliquées, . analyser les conditions opératoires, . mettre en œuvre une APC (PCR) et analyser les résultats. <p>Le choix des enzymes de restriction adaptées à l'objectif recherché pourra être réalisé à l'occasion d'un projet. Les conditions de l'électrophorèse en gel d'agarose pourront être analysées lors du projet.</p>

Quelques applications de la biologie moléculaire et du génie génétique

Objectifs de formation et supports théoriques	Compétences transversales et technologiques
<ul style="list-style-type: none"> - Méthodes d'identification moléculaire : <ul style="list-style-type: none"> . spectrométrie de masse, gènes de l'ARN 16S, profils de restriction, séquençage, PCR, etc. - Clonage et OGM. - Séquençage des génomes. - Caractère génétique d'une maladie héréditaire et thérapie génique. - Identification des organismes et individus : médecine légale, contrôle alimentaire et vétérinaire, phylogénie, etc. <p>Il s'agira de sensibiliser les élèves à la diversité des applications de la biologie moléculaire et du génie génétique ainsi qu'à leurs limites actuelles, sans pour autant entrer dans le détail des technologies utilisées.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Exploiter des documents pour appréhender les limites, l'intérêt et le contexte d'utilisation de différentes méthodes. <p>Les compétences techniques peuvent être acquises de manière indépendante ou intégrées dans une démarche de projet comme la réalisation et l'exploitation d'un marqueur de taille ou encore le clonage d'un insert.</p>