

Thérapie génique et culture cellulaire



Niveau d'étude
BAC +4



Composante
École
Supérieure
d'Ingénieurs en
Technologies
Innovantes

Présentation

Description

Cette matière comprend différentes parties :

1. Culture cellulaire
2. Thérapie génique
3. Séquençage nouvelle génération

Objectifs

Culture cellulaire

Maîtriser les concepts de cultures cellulaires eucaryotes et avoir des notions de leurs différent champs d'applications.

Thérapie génique

Sensibiliser les étudiants à la thérapie génique et aux thérapies régénératives innovantes

Séquençage nouvelle génération

Formation théorique aux bases du NGS, à ses applications et à ses évolutions. Introduction au traitement bioinformatique des données issues du NGS

Pré-requis obligatoires

Culture cellulaire

Notions de biologie cellulaire animales et végétales

Thérapie génique

Connaissance des techniques de culture. Design d'une amorce à partir d'une séquence d'ADN.

Séquençage nouvelle génération

Connaissances de base en biologie moléculaire

Contrôle des connaissances

Contrôle continu

Syllabus

Culture cellulaire

Cultures cellulaires : Les cellules animales (mammifères et insectes)

- * Généralités sur les cultures de cellules animales
- * Caractérisation des cultures cellulaires
- * Culture de cellules animales en bioréacteur
- * Principaux champs d'applications
- * Législation
- * Intérêts /limites des cultures cellulaires animales

Cultures cellulaires: Les cellules végétales (microalgues, cals et protoplastes)

- * Phylogénie, définition et présentation des groupes
- * Les conditions de cultures
- * Systèmes de culture, modes de production et récolte
- * L'utilisation dans l'industrie

Description des TP

Culture, suivi de croissance et conservation de cultures de cellules de mammifères, d'insectes et végétales et effet des modifications de paramètres de culture

Mise en évidence de la présence du gène codant pour la production d'une protéine d'intérêt chez une souche transformée de microalgue

Thérapie génique

Dans cette matière, les étudiants ont l'opportunité de réaliser les étapes principales d'une thérapie génique, c'est-à-dire de cloner une séquence codant pour une protéine fluorescente (mimant la ré-expression d'une protéine déficiente dans une pathologie ou un shRNA) dans un vecteur plasmidique eucaryote permettant l'obtention d'une protéine fluorescente. L'objectif est de comprendre comment corriger le défaut d'expression d'une protéine due à une mutation génétique pour traiter une pathologie.

1. Thérapie génique

- 1.1. Citer les différents types de virus (structure et génome) ainsi que leur mode de multiplication (virus à ADN, virus à ARN...)
- 1.2. Découverte des outils de génie génétique à visée de thérapie génique eucaryote (enzyme de restriction, vecteurs)
- 1.3. Construire un vecteur permettant de produire une protéine recombinante par une cellule eucaryote : TD et TP (processus de synthèse des amorces (design d'une amorce à partir d'une séquence d'ADN génomique)

TD#1 : choix du plasmide approprié et étude de sa carte (site de restriction, promoteur, éventuels éléments inductibles etc...)

TD#2 : choix et design de la séquence à insérer dans le vecteur préalablement choisi lors de la première séance de TD

TD#3 : lecture du protocole de TP en anglais et préparation des différentes étapes du TP

TP#1 : digestion du plasmide par l'enzyme de restriction, Oligos annealing et ligation dans le plasmide

TP#2 : Transformation E.coli

TP#3 : Repiquage clones bactériens transformés

TP#4 : Mini-prep et éventuellement vérification de l'insertion de la séquence par digestion avec une autre enzyme (augmentation de la taille du fragment en fonction de la carte du plasmide)

2. Edition du génome : CRISPR/Cas9

3. Applications de la thérapie génique

4. Bio-Ethique : utilisation cellules souches embryonnaire/adulte, doit-on systématiquement utiliser la thérapie génique (limites et contraintes éthiques) ?

Séquençage nouvelle génération

- * Historique : De la découverte de l'ADN au séquençage du premier génome humain.
- * Sanger vs NGS
- * Préparation des librairies
- * Stratégies de séquençage : WGS, WES, capture, amplicon...
- * Exemple du séquençage par synthèse d'Illumina
- * Workflow bioinformatique
- * Le service commun de génomique de Rouen : équipements, applications, prestations.
- * Les nouvelles générations de séquenceurs (Pacific Biosciences, Oxford Nanopore) : la révolution du séquençage en temps réel de reads longs
- * Les applications du NGS : DNA-Seq, RNA-Seq, ChiP-Seq, Single-Cell, Methyl-Seq...
- * Pipelines bioinformatiques : détection de SNV, CNV. Stratégies d'interprétation. Infrastructure informatique.

Liste des enseignements

Nature	CM	TD	TP	Crédits
Nature	CM	TD	TP	Crédits
Nature	CM	TD	TP	Crédits
