

APPEL à CANDIDATURE Projet « GENOME à l'École »

Développé à l'occasion de l'année mondiale de la biodiversité, le projet « GENOME à l'École » s'adresse aux lycéens de série générale et technologique et aux élèves des classes préparatoires. Cette opération est conçue et pilotée par « Sciences à l'École », en partenariat avec l'École de l'ADN, le centre national de séquençage, l'unité de recherche en génomique végétale, l'INRA d'Orléans (Unité Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières), le conservatoire national de la biodiversité forestière, et sur une proposition de l'inspection générale des sciences de la Vie et de la Terre. A l'image des autres plans d'équipement de « Sciences à l'École » (ASTRO, COSMOS, METEO, NANO et SISMOS à l'École), elle consiste en un prêt de matériel scientifique, support d'activités pédagogiques conduites à l'échelle de l'établissement ou du réseau sur le thème de la diversité génétique.

Une des dimensions de la biodiversité est la diversité génétique intra-spécifique, « matériau » de l'évolution. Les techniques développées depuis une trentaine d'années donnent accès à la séquence du génome, niveau fondamental d'organisation du vivant qui constituait jusqu'alors une boîte noire. Le volume de données génomiques croît désormais de façon exponentielle. La connaissance intégrale de l'information héréditaire d'êtres vivants toujours plus nombreux et l'accès aux variations interindividuelles révolutionnent la biologie et donnent lieu à de nouvelles applications en médecine, en agronomie... Ces thèmes ont fait l'objet de développements dans les nouveaux programmes du lycée. En participant à l'opération « GENOME à l'École », les lycéens disposeront des outils pour étudier concrètement la diversité génétique.

Objet

Le projet « GENOME à l'École » comprend deux axes :

- un projet commun aux 10 équipes sélectionnées, le projet « *Populus* », dont l'objet est le peuplier noir ; il sera mis en œuvre en 2011-2012 et permettra d'expérimenter les outils proposés. Il pourra être poursuivi les années suivantes. Pour plus de détails, merci de vous reporter à l'**annexe A**.
- un projet propre à chaque équipe, qui devra être formulé sur la fiche de candidature (annexe C) et sur la base duquel les équipes seront sélectionnées. Ce projet sera mis en œuvre en 2012-2013 (ou plus tôt si la charge de travail et l'expertise de l'enseignant le permettent). Des thèmes possibles sont proposés dans l'**annexe B**.

Pilotage, contact

L'opération est pilotée par « Sciences à l'École », appuyé par un comité scientifique présidé par Dominique Rojat, doyen de l'inspection générale des sciences de la Vie et de la Terre. Ce comité réunit notamment des enseignants, des chercheurs et des universitaires. Pour tout renseignement, contacter Yann Esnault (cellule de ressources de « Sciences à l'École », yann.esnault@obspm.fr) 01 40 51 23 27.

Objectifs

Ils sont conformes à l'esprit des nouveaux programmes du lycée (*entre parenthèses, les capacités et attitudes*) :

- Mettre l'élève en situation de recherche, le confronter à une tâche complexe, approcher des situations complexes réelles sur le terrain (*Pratiquer une démarche scientifique ; Comprendre la nature provisoire, en devenir, du savoir scientifique*).
- Développer les capacités expérimentales de l'élève (*Manipuler et expérimenter*).
- Permettre à l'élève de communiquer les résultats d'un travail de recherche original (*Exprimer et exploiter des résultats ; Communiquer dans un langage scientifiquement approprié*).
- Développer l'autonomie de pensée et d'organisation de l'élève, lui donner le goût de l'investigation scientifique (*Recenser, extraire et organiser des informations ; Manifester sens de l'observation, curiosité, esprit critique*).
- Développer le sens des responsabilités de l'élève, au laboratoire et sur le terrain (*Respecter les règles de sécurité*).
- Faire découvrir les biotechnologies et les sciences de l'environnement : leurs techniques (*Percevoir le lien entre sciences et techniques ; Montrer de l'intérêt pour les progrès scientifiques et techniques*), leurs métiers (*Savoir choisir un parcours de formation*) et leurs enjeux (*Être conscient de sa responsabilité face à l'environnement, la santé, le monde vivant ; Être conscient de l'existence d'implications éthiques de la science ; Manifester de l'intérêt pour la vie publique et les grands enjeux de la société*).

Modalités

Le projet peut être mis en œuvre :

- **Au lycée en série générale :**
 - En classe de seconde, avec l'enseignement de tronc commun de SVT sur les thèmes suivants : « variabilité génétique et universalité de l'ADN ; la diversité génétique, composante de la biodiversité ; effets des actions de l'homme sur la biodiversité ; relations de parenté ; diversité allélique et dérive génétique ; le sol ; agrosystèmes et biodiversité » ; ainsi que dans les **enseignements d'exploration** « Méthodes et pratiques scientifiques » (avec le thème « Sciences et aliments »), « Sciences et Laboratoire » (avec les thèmes « Utilisation des ressources de la nature » et « Prévention des pollutions et des risques ») et « Biotechnologies ».
 - En classe de première scientifique profil « sciences expérimentales », avec les thèmes « Expression, stabilité et variation du patrimoine génétique ; Nourrir l'humanité ; Variation génétique et santé » en SVT, et dans le cadre de l'**accompagnement personnalisé** et des **travaux personnels encadrés (TPE)**.
 - En classe de première scientifique profil « biologie-écologie » dans les lycées agricoles.
 - En classe de terminale scientifique, selon les nouveaux programmes à paraître.
 - Dans le cadre d'un **atelier scientifique et technique (AST), cadre particulièrement approprié**.
- **Au lycée en série technologique :**
 - Dans la série « Sciences et technologie de laboratoire » (STL), spécialité Biotechnologie, avec l'enseignement « Chimie, Biochimie, science du Vivant ». **Ce cadre est particulièrement approprié**.
- **En classe préparatoire :**
 - Dans la série BCPST, dans le cadre d'un **travail d'initiative personnelle encadré (TIPE)**
 - Dans la série Technologie-Biologie (TB), dans l'enseignement de techniques biochimiques et biologiques, ainsi qu'en TIPE. **Ce cadre est particulièrement approprié**.

Idéalement, le projet devrait impliquer un groupe d'une dizaine d'élèves au plus, si l'enseignant souhaite que tous manipulent simultanément avec l'équipement fourni. Il appartient toutefois à l'enseignant d'organiser les séances de travail et de décider de leur fréquence et de leur nombre. Une configuration particulièrement adaptée est celle de l'AST, mais d'autres configurations en effectif réduit existent, comme indiqué plus haut : accompagnement personnalisé, enseignement d'exploration, TPE et TIPE, voire même séances de travaux pratiques dans l'enseignement de tronc commun. Le projet pourra être conduit à l'échelle de l'établissement, en impliquant différentes classes et niveaux ; il pourra être poursuivi par les mêmes élèves l'année suivante, au fil de leur scolarité.

A la fin de l'année 2011-12, le travail accompli donnera lieu à un **rapport d'activité**. Celui-ci devra inclure un descriptif plus détaillé du projet propre qui sera entrepris à la rentrée 2012. Les besoins spécifiques à la mise en œuvre du projet propre (amorces pour les gènes cibles, nouveaux kits d'extraction d'ADN, ...) devront être formulés à cette occasion.

Calendrier

- Vendredi 1^{er} avril : date limite de réception des dossiers de candidature (*voir fiche de candidature en annexe C*)
- Semaine du 4 avril 2011 : examen des candidatures par le comité de pilotage, sélection des 10 établissements, annonce aux enseignants
- Du 23 au 25 mai 2011 : stage à l'Ecole de l'ADN à Nîmes pour les enseignants des 10 établissements sélectionnés
- Septembre 2011 : livraison de l'équipement, mise en œuvre du projet « *Populus* »
- Septembre 2012 : mise en œuvre du projet propre (si non commencé en 2011)

Moyens

Les équipes pédagogiques (enseignants, techniciens) sélectionnées en avril 2011 recevront à la rentrée 2011 un équipement adapté au projet collaboratif « *Populus* » (*voir l'annexe A*). Ces moyens pourront être adaptés à l'étude d'autres organismes que le peuplier si cette essence n'est pas présente dans l'environnement de l'établissement, selon le projet alternatif soumis par l'équipe pédagogique. Le matériel prêté sera également adapté si l'établissement possède déjà certains équipements (STL, TB). Enfin, le matériel sera adapté pour la mise en œuvre du projet propre en 2012-2013 (*voir l'annexe B*).

L'équipement comprend :

- Des kits pour l'extraction d'ADN végétal (en quantité suffisante pour 200 extractions, dotation pour un an)
- Des amorces oligonucléotidiques, des nucléotides, des ADN de référence quantifiés et l'enzyme permettant l'amplification de gènes cibles du peuplier et/ou de régions polymorphes de ce génome (en quantité suffisante pour 200 amplifications).
- Un thermocycleur (susceptible de circuler entre les établissements, selon le nombre d'unités) pour effectuer la réaction d'amplification (PCR, pour *Polymerase Chain Reaction*).
- Un système d'électrophorèse sur gel d'agarose pour visualiser les produits d'amplification. La révélation des gels ne fait pas appel au bromure d'éthyldium, substance mutagène.
- Du matériel de paille : micropipettes et cônes, portoirs, gants, centrifugeuse, agitateur, plaques 96 puits.
- Un service de séquençage au centre national de séquençage (Genoscope) à Evry. L'envoi postal reste à la charge de l'établissement.
- Des suggestions de logiciels pour l'étude et la comparaison des séquences ; un site internet et une base de données pour la mise en commun des séquences et des informations.

L'équipement reste propriété de l'Observatoire de Paris, gestionnaire des fonds de « Sciences à l'Ecole ». Il est mis à disposition des établissements retenus pour une durée de trois ans, renouvelable après avis du comité de pilotage de « GENOME à l'Ecole » sur les actions réalisées. Au cas où le matériel ne serait pas utilisé au cours d'une année entière, l'équipement pourra être réaffecté par « Sciences à l'Ecole » à un autre établissement.

Les réparations éventuelles sont à la charge de « Sciences à l'Ecole », si les dysfonctionnements ont eu lieu dans des conditions d'usage normal du matériel. En revanche, les dégradations dues à la négligence ou au vandalisme ainsi que les vols sont à la charge de l'établissement (qui devra inclure le matériel prêté dans son contrat d'assurance). Les sorties sur le terrain et l'envoi des échantillons d'ADN pour séquençage restent à la charge de l'établissement. Les dotations horaires, si elles s'avèrent nécessaires pour les porteurs de projet, doivent être trouvées auprès des rectorats et/ou des inspections académiques.

Formation et assistance

Un **stage de formation** aura lieu du lundi 23 au mercredi 25 mai à l'Ecole de l'ADN à Nîmes. Ce stage, à la fois théorique et pratique, sera en effet l'occasion de « prendre en main » concrètement les équipements et activités proposés. Il est très important que la participation à l'opération « GENOME à l'Ecole » soit fondée sur des « bonnes pratiques » partagées. Le programme du stage est proposé dans l'annexe D.

Des demandes d'ordre de mission sans frais seront adressées aux rectorats, le transport et l'hébergement étant pris en charge par « Sciences à l'Ecole » (hébergement dans la nuit du 22 au 23 mai pour ceux qui voyageront le dimanche ; retour dans l'après-midi du 25 mai). La présence à ce stage est impérative pour l'un des enseignants de chaque équipe sélectionnée (la présence éventuelle d'un second enseignant devra être motivée auprès de « Sciences à l'Ecole »).

Une fois équipés, les enseignants pourront solliciter une **aide technique** auprès de l'Ecole de l'ADN, partenaire du projet, ainsi que l'assistance des référents scientifiques qu'ils auront contactés.

Critères de sélection

La candidature (fiche en annexe C), **qui sera accompagnée de l'accord écrit du chef d'établissement** et si possible inscrite au projet d'établissement, sera essentiellement évaluée sur la faisabilité du projet au sein de l'établissement, sur la qualité et l'originalité du **projet propre** et sur la présence d'un **référent scientifique** pour accompagner l'équipe pédagogique dans le projet (en cas de recherches infructueuses, un référent pourra être recherché avec les équipes). Le projet propre, tel que présenté dans la fiche de candidature, **sera nécessairement une ébauche** : après leur formation en mai 2011, les équipes sélectionnées auront le temps et le recul pour développer ce projet au cours de l'année 2011-2012.

La candidature pourra également mettre en avant :

- la visibilité au sein de l'établissement,
- le rayonnement en dehors de l'établissement (information, publication des travaux...),
- la présence ou la création à cette occasion d'un atelier scientifique et technique (AST),
- éventuellement, le caractère interdisciplinaire des actions envisagées,
- les partenariats éventuels (autres établissements, collectivités, entreprises, laboratoires de recherche...),
- les sources de financements éventuelles (collectivités, entreprises,...) pour l'extension du projet, les sorties...
- l'adhésion du rectorat et/ou de l'inspection académique (octroi d'HSE, ...).

Annexe A : le projet « *Populus* »

Intérêt du peuplier et ressources disponibles

Les arbres du genre *Populus* sont des essences communes sur une grande partie du territoire métropolitain¹: *Populus alba* (peuplier blanc), *Populus nigra* (peuplier noir), *Populus tremula* (tremble) et l'hybride *Populus x canescens*² (grisard). L'intérêt scientifique du peuplier réside dans la juxtaposition de populations sauvages et de compartiments clonaux : arbres d'alignement - peuplier d'Italie (*P. nigra var. italica*) - et peupleraies, destinées notamment à la fabrication de cageots, d'allumettes ainsi qu'à l'industrie papetière. Les cultivars *P. trichocarpa x P. deltoïdes* (obtenus par croisement de deux espèces nord-américaines) et *P. deltoïdes x P. nigra* y sont les plus fréquents. La populiculture, qui tire profit de la croissance très rapide des peupliers (récolte au bout de 15 à 20 ans seulement), représente 1,6% de la superficie forestière en France et 1,5 millions de m³ de bois en 2003. La très faible diversité de ce compartiment cultivé (petit nombre de cultivars) l'expose au développement des agents pathogènes. Le compartiment sauvage est quant à lui menacé par les aménagements du territoire et par le changement climatique global. Il est donc crucial de connaître le niveau de diversité génétique présent dans les populations naturelles de peuplier noir pour mieux préserver et gérer cette diversité.

Du fait de son intérêt économique, le peuplier est intensément étudié au plan génétique. Le séquençage du génome du peuplier nord-américain *Populus trichocarpa* (485 mégabases, 38 chromosomes) a été achevé en 2006. Il s'agit du premier arbre et de la troisième plante entièrement séquencé(e). Le génome annoté (45 500 gènes délimités) est consultable sur <http://www.phytozome.net/poplar>. Le degré de polymorphisme est important (1 SNP toutes les 100 bases, 1 indel toutes les 900 bases). La séquence montre la trace de deux événements de duplication globale du génome. Des outils moléculaires pour l'étude de ce génome sont disponibles (sondes, amorces, collection de plus de 300 000 EST). De nombreuses études sont en cours pour identifier des loci ou des gènes impliqués dans certains traits d'intérêt agronomique comme le port, la vitesse de croissance, les besoins en eau, la résistance aux maladies, la qualité du bois... Il peut s'agir de candidats fonctionnels (gènes sélectionnés pour leur fonction putative), expressionnels (gènes présentant une expression différentielle dans telle ou telle condition de culture) ou positionnels (QTL identifiés par des études de liaison).

Un échantillonnage de la diversité génétique des peupliers est offert par le **conservatoire national de biodiversité forestière de Guéméné-Penfao** (Loire atlantique) : cette pépinière (http://www.draf.pays-de-la-loire.agriculture.gouv.fr/article.php3?id_article=263) comprend près de 1000 arbres obtenus par boutures d'individus sauvages de différentes régions (Pyrénées, Allier, Rhin, Loire, Alpes), repérés par leurs coordonnées GPS. Ces arbres sont en cours de test pour la résistance aux maladies et la qualité du bois. La personne ressource est Il existe également une banque de feuilles lyophilisées en Autriche, où des échantillons d'ADN peuvent être achetés.

¹ Les peupliers peuvent être absents de l'environnement de votre établissement. Cela peut être le cas pour certains départements métropolitains (pour une carte de la répartition des peupleraies : <http://www.peupliersdefrance.org/repartition-geographique-791702.html>) ainsi que pour les établissements des DOM-TOM et les établissements français à l'étranger. Les établissements concernés peuvent alors candidater sur d'autres espèces pour lesquelles des ressources génomiques existent (canne à sucre, par exemple) et se rapprocher des laboratoires susceptibles de les aider à monter leur projet. Voir l'annexe « Projet propre ».

² Le grisard est un hybride probable de peuplier blanc et de tremble. Il faut noter que le peuplier noir, auquel est consacré le projet, ne s'hybride pas avec le peuplier blanc ni avec le tremble (mais il peut s'hybrider avec des cultivars).

Thèmes et activités

Le travail sera centré sur le peuplier noir. Voici des thèmes possibles (l'enseignant indiquera sur sa candidature celui ou ceux qu'il souhaite développer) :

- Quantifier la diversité génétique en plusieurs loci au sein de populations naturelles de peupliers noirs (corrélation possible avec la taille de la population, pour illustrer la notion de dérive génétique ; estimation de l'importance de la multiplication végétative : boutures, rejets, drageons).
- Participer à une cartographie de la diversité génétique du peuplier à l'échelle du territoire (collaboration entre les 10 établissements)
- Explorer les voies de dissémination du peuplier en établissant les parentés entre différentes populations et en étudiant l'hydrographie et la topographie ; proposer un scénario pour l'histoire du peuplement.

Ces études pourront illustrer la fragmentation des populations naturelles, l'érosion de la diversité génétique ainsi que l'existence de corridors biologiques (voies d'eau).

- Identifier les parents putatifs de jeunes semis prélevés sur les berges de la rivière (succès reproducteur des individus).
- Mesurer le degré d'hétérozygotie des individus.
- Etudier les dates de débourrement, de floraison, de chute des feuilles pour différents individus clonaux ou non d'une même population (phénétique) : montrer la part du génotype dans le phénotype. Des clones présentent-ils les mêmes dates de débourrement au même endroit ? En deux stations différentes ? Peut-on corrélérer diversité génotypique et phénotypique ? Ce travail pourrait être conduit avec l'Observatoire des saisons (<http://www.obs-saisons.fr/>).
- Démontrer le caractère clonal d'une peupleraie.
- Identifier les cultivars d'une peupleraie (sous réserve de l'accord du propriétaire).
- Identifier des hybrides de peuplier en cas de diagnose ambiguë (barcoding).
- Suivre l'introgression des cultivars fertiles avec le peuplier noir dans une population naturelle de cette essence, pour discuter la notion de « pollution génétique ».
- Sélectionner des individus dans une population naturelle pour planter les boutures dans l'enceinte du lycée et participer ainsi à la politique de conservation des ressources génétiques de l'espèce.
- Nous sommes ouverts à vos suggestions...

Le travail sur le terrain et à l'échelle génomique peut être utilement complété par une **activité de plantation**, qui l'ancre davantage encore dans une dimension naturaliste : nous reprenons ici une proposition d'activité pédagogique extraite du site « Peuplier noir » (<http://peupliernoir.orleans.inra.fr/pedagogiques.html>) géré par Marc Villar, chargé de recherches à l'INRA d'Orléans, avec son aimable autorisation (*Contact : contact.peuplier@orleans.inra.fr*). Nous invitons vivement les équipes pédagogiques candidates à adhérer à cette proposition.

« Le peuplier noir, grâce à sa facilité de multiplication végétative et à sa croissance très rapide (jusqu'à 15 cm de hauteur par semaine !), peut être le support d'expérimentations simples. En plantant des peupliers noirs dans un jardin proche de l'établissement scolaire, il est possible d'illustrer aisément les notions de **diversité génétique entre espèces** ou de **diversité génétique intraspécifique**.

Dans le premier cas, plusieurs espèces de peuplier seront comparées. Dans le second cas, plusieurs individus de l'espèce peuplier noir seront comparés. Des observations simples (croissance de la tige, de la feuille, phénologie, forme, etc.) pourront également être le support d'expériences simples de mathématiques appliquées à la biologie : croissance de la tige (en fonction de la température), évolution de la surface de la feuille, mesure d'angle de branches, etc.

En multipliant le nombre de sites d'expérimentation (en plantant strictement les mêmes individus à la même période), on peut comparer les croissances de ces plants et illustrer les notions de **phénotype**, **génotype** et d'**interactions entre génotype et environnement**. Un réseau pourrait se créer, permettant de responsabiliser des jeunes à la conduite d'une expérimentation simple, d'autres jeunes pouvant gérer la communication (Internet ou autre). Ce type de réseau pourrait se constituer entre divers pays européens bien sûr ! »

Déroulement et organisation du travail

On l'aura compris à la lecture de ces thèmes, le travail inclura dans la mesure du possible **une ou plusieurs sorties sur le terrain**, qui devront être préparées avec soin par l'enseignant (risques liés au milieu : berges instables, crues, chutes de bois mort ; autorisation d'accès aux domaines privés pour les peupleraies). Un préalable sera de former les élèves à l'identification du peuplier noir, à l'aide de clés (les différentes espèces de peuplier seront présentées).

Une contrainte forte sur le projet est le **cycle végétatif du peuplier**. Les feuilles tombant au cours du mois d'octobre, et n'atteignant leur maturité qu'en mai, les possibilités sont peu nombreuses : **A)** sortie sur le terrain **dès le mois de septembre**, ce qui implique d'avoir déjà élaboré le projet et de l'avoir présenté très tôt aux élèves. L'ADN extrait de ces feuilles vieillissantes ne sera pas de qualité optimale. **B)** sortie aux mois de mai ou juin 2011 (puis 2012), avec les élèves qui reprendront le projet à la rentrée : cela se conçoit mieux dans une organisation de type AST, où l'enseignant peut suivre les élèves sur plusieurs années. **C)** sortie de l'enseignant seul au printemps ou en été pour congeler les feuilles en vue du travail ou **D)** travail sur des feuilles prélevées à l'avance par nos partenaires dans la pépinière de Guéméné : cela prive les élèves des bénéfices pédagogiques de la sortie et du prélèvement (mais ils pourront sortir après coup, au printemps, pour réaliser des observations sur les individus prélevés l'année précédente). **E)** Sortie au cours de l'hiver pour prélever des **boutures** : ces boutures seront expédiées à la pépinière de Guéméné, passées en chambre froide, puis mises en serre, ce qui permettra d'obtenir de jeunes feuilles (et de l'ADN d'excellente qualité) dès le mois de mars. Les établissements qui disposent d'une serre pourront cultiver leurs boutures sur place. **F)** Extraction d'ADN sur le cambium, à l'étude.

Un soin particulier sera apporté aux **conditions du prélèvement**. Une dimension du projet est en effet la sensibilisation à l'importance de l'échantillonnage et aux biais associés. Les élèves prélèveront des feuilles jeunes, non infectées, sur des rameaux à bonne distance du sol (à l'aide d'une perche télescopique au besoin : éviter les échelles !). Les feuilles, seront immédiatement ensachetées et gardées dans la glace jusqu'à leur congélation. Enfin, les élèves devront recueillir un maximum d'informations lors de cette sortie (photos, croquis, traces de crues, étude du sol à la tarière, niveau piézométrique, groupements végétaux et entomofaune, maladies et parasites, localisation précise par GPS, marquage des individus prélevés...), ainsi qu'avant et après (étude cartographique, climatique, cartes de végétation, cartes de répartition...).

Le travail se poursuit ensuite au laboratoire, à partir des feuilles. Des élèves **extraient l'ADN** au moyen des kits fournis. En même temps, d'autres élèves préparent un mix pour la **réaction d'amplification (PCR)**. L'équipement fourni (micropipettes) permet à deux groupes de deux élèves de travailler simultanément dans chacun de ces ateliers, soit 8 élèves au total. La réaction de PCR est effectuée dans un thermocycleur. Les élèves testent ensuite la présence et l'abondance des produits d'amplification par électrophorèse sur gel d'agarose. Enfin, les produits d'amplification sont envoyés au Genoscope pour séquençage. Les séquences seront versées dans une base de données et consultables en ligne. Là encore, l'accent sera mis sur les bonnes pratiques et la traçabilité des échantillons. Les élèves disposeront d'amorces qui amplifieront 4 à 5 gènes d'intérêt sur différents chromosomes du peuplier noir. Des amorces spécifiques de *P. nigra*, *P. trichocarpa* et *P. deltoides* sont également disponibles et permettront d'identifier à coup sûr les cultivars. L'usage d'amorces pour amplifier un microsatellite, et d'une sonde pour révéler un polymorphisme de fragment de restriction (RFLP), est à l'étude.

Il s'agira enfin d'aligner et de comparer les séquences, d'identifier les polymorphismes, de produire des arbres et de rapprocher les résultats obtenus des observations de terrain. Ce travail pourra donner lieu à une collaboration avec une équipe de recherche, voire à une publication. Les séquences d'intérêt pourront être déposées dans des bases de données publiques.

Ressources, contacts

- **Consortium international pour le séquençage du peuplier** : <http://www.ornl.gov/sci/ipgc/>
- **Le génome du peuplier au Joint Genome Institute en Californie**. <http://www.phytozome.net/poplar>. Possibilité de naviguer dans le génome et d'y rechercher des séquences homologues à une séquence donnée (BLAST).
- ... et l'article associé : Tuksan *et al.* (2006). The Genome of Black Cottonwood *Populus trichocarpa* (Torr. & Gray). *Science*. 313, 5793. (<http://www.sciencemag.org/content/313/5793/1596.abstract>)
- **Dossier Biofutur (2004)**. Le peuplier à l'ère génomique. *Biofutur*, vol. 247, pp. 19-58.
- **Unité Amélioration, génétique et physiologie forestières** à l'INRA d'Orléans (http://www.orleans.inra.fr/les_unites/ur_agpf) et sa page sur le peuplier noir (<http://peupliernoir.orleans.inra.fr/>), à consulter absolument.
- **Unité de recherche en génomique végétale (URGV)** à Evry (<http://www.versailles.inra.fr/urgv/analysis-genomeOrg-grapevine.htm>)
- **Un article d'intérêt** : *Le peuplier noir : une ressource génétique à l'interface entre habitats naturels d'intérêt communautaire et sylviculture intensive*. François Lefèvre, INRA Avignon (<http://www.inra.fr/dpenv/pdf/lefevd21.pdf>).

Annexe B : le projet propre

Chaque équipe pédagogique doit proposer un projet propre, distinct du projet commun « *Populus* ». Ce projet propre sera mûri au cours de l'année 2011-2012 et ne sera mis en œuvre qu'au bout d'un an, lorsque l'équipe sera rôdée à l'utilisation du matériel et avertie des possibilités offertes. La candidature ne peut donc contenir qu'une esquisse. Il revient à chaque équipe d'identifier les scientifiques qui pourront la guider et lui fournir les outils moléculaires pour son projet. Un premier contact pourra avoir lieu avant l'envoi du dossier de candidature. « Sciences à l'Ecole », conseillé par le comité scientifique de « GENOME à l'Ecole », assistera les équipes dans cette démarche et les aidera à préciser leurs besoins. Les projets les plus innovants pourront être présentés au **concours C.Génial**, que pilote « Sciences à l'Ecole » (détails sur notre site).

Voici une liste de thèmes possibles pour le projet propre. Nous avons fait le choix d'éviter le matériel humain, pour des raisons éthiques et réglementaires. Ces thèmes peuvent être repris, mais ils devront alors être développés. En plus du séquençage de gènes connus pour identification de polymorphismes, les méthodes suivantes sont envisageables : AFLP, RAPD, RFLP, microsatellites.

- Etude de variétés anciennes de fruitiers pour lesquels on dispose d'outils moléculaires (par exemple, pommier) : estimation de la variété génétique résiduelle, du degré de parenté entre variétés, en lien avec des caractères d'intérêt des variétés (production, qualités gustatives, précocité, résistance...) ; comparaisons avec le pommier sauvage (*Malus sylvestris*).
- Etude de la diversité génétique de plantes cultivées (bien étudiées au niveau moléculaire) et de leurs parents sauvages : par exemple, la betterave et sa parente du littoral *Beta maritima* ; le fraisier cultivé et le fraisier des bois (*Fragaria vesca*).
- Diversité génétique chez la vigne (*Vitis vinifera*), caractérisation des cépages. Application à la traçabilité des vins.
- Etude de l'ADN chloroplastique du chêne pédonculé (*Quercus robur*), montrant la répartition du polymorphisme à grande échelle. Application à l'étude de la progression de cette essence depuis le dernier maximum glaciaire.
- Corrélation entre la diversité morphologique (couleur...) et la diversité génétique de populations d'escargots des haies (*Cepea nemoralis*).
- Assistance à un plan de conservation d'une espèce végétale, en lien avec un conservatoire botanique.
- Assistance à un programme de reproduction en captivité pour une espèce animale de votre choix, en lien avec un parc zoologique.
- Etat sanitaire de produits alimentaires, diagnostic de maladies de cultures (recherche d'ADN d'agents pathogènes).
- Analyse qualité pour des produits agroalimentaires (ou autres : bois, cuir) pour recherche de contaminants, traçabilité OGM, certification d'origine, garantie d'authenticité variétale...
- Etude métagénomique d'une communauté microbienne, par exemple, celle du sol brun forestier, ou d'une mare : amplification des séquences d'un gène ribosomique, réalisation d'un arbre, estimation de la diversité des taxons.
- Inventaire de la biodiversité par « barcoding » (courtes lectures de séquence sur des gènes adaptés à un usage en systématique) : identification d'une espèce de ravageur, distinction d'espèces cryptiques, quantification rapide de la diversité spécifique d'un écosystème, contribution à une expédition scientifique du type « Santo »...
- Génotypage, sexage (oiseaux, reptiles)...
- Aide à la création variétale, en lien avec un laboratoire de recherches agronomiques : suivi de marqueurs au fil des croisements, pour la recherche de QTL ou en sélection assistée par marqueurs.

Annexe C : fiche de candidature au projet « GENOME à l'Ecole »

A renvoyer à « Sciences à l'Ecole » par voie postale (Sciences à l'Ecole Projet « GENOME à l'Ecole » Observatoire de Paris, Bâtiment Perrault, bureau 226, 61, avenue de l'Observatoire 75014 Paris) ou par mail (yann.esnault@obspm.fr) avant le 1^{er} avril 2011. Envoi parallèle à votre correspondant académique (voir la liste sur <http://www.sciencesalecole.org/>), si possible une semaine avant.

- Prénom, nom de l'enseignant référent :
- Discipline enseignée :
- Numéro de téléphone et mail de l'enseignant référent :
.....
- Autre(s) enseignant(s), technicien(s) dans l'équipe pédagogique :
.....
- Etablissement :
- Adresse, académie et numéro de téléphone de l'établissement :
.....
.....
- Niveaux concernés, nombre de classes et d'élèves :
.....
- Cadre dans lequel s'inscrirait le projet :
- Nombre de séances prévues dans l'année, durée :
- Matériel éventuellement disponible (thermocycleur, centrifugeuse, micropipettes...) :
.....
- Expérience éventuelle dans le domaine des biotechnologies et de la génomique (formation, projets scolaires, collaborations...) :
.....
- Référent scientifique (organisme de rattachement, thème de recherche, téléphone, adresse mail, adresse postale)
.....
.....

- Thème(s) sur le(s)quel(s) vous souhaitez travailler dans le cadre du projet « *Populus* » (voir l'annexe A) :

.....

.....

.....

- Description du projet propre à l'établissement (15 lignes minimum, une page maximum) (voir l'annexe B) ; si la mise en œuvre du projet « *Populus* » est impossible, projet alternatif :

- Tampon de l'établissement et signature du chef d'établissement, pour accord :

Annexe D : programme du stage « GENOME à l'Ecole »

Ecole de l'ADN à Nîmes, du 23 au 25 mai 2011

Cette formation est axée sur les techniques d'amplification des acides nucléiques (ARN et ADN) par PCR et leurs applications, la validation de méthodes et de protocoles, le stockage et la conservation d'échantillons et l'analyse de résultats. Tous ces aspects sont abordés de façon pratique, les notions théoriques sont introduites progressivement. Les stagiaires, avec le soutien du formateur, réalisent eux-mêmes les expériences, avec des instruments et appareils fournis par l'Ecole de l'ADN (micropipettes type Gilson® ou Eppendorf®, thermocycleurs, cuves à électrophorèse, bain à sec, etc.). Toutes les analyses en biologie moléculaire, tous les réactifs seront fournis par l'Ecole de l'ADN.

JOUR 1

Matin :

- 8h30 – 9h30 Accueil des participants, présentation des stagiaires, la stratégie de cette formation
Présentation du programme Génome à l'Ecole
Objectifs et variantes du projet
- 9h30 – 10h30 Application des bonnes pratiques en laboratoire
Présentation : la sécurité et la qualité au laboratoire – QHSE ;
Application des bonnes pratiques en laboratoire;
- 10 h 00 - 11 h 00 : Rappels des bases théoriques de la biologie moléculaire :
Structure des nucléotides ;
Structure des génomes végétaux ;
Réplication ; Synthèse d'ADN *in vitro*.
- 11 h 00 - 12 h 00 : Généralités sur la PCR :
Principe ; choix de l'enzyme ; choix des amorces ;
Principe du phénomène de fluorescence, molécules et sondes fluorescentes.

Après midi :

- 13 h 30 - 14h 45 : Présentations des projets des candidats (15 minutes maximum)
- 14 h 45 - 16h 30 : Stratégies en PCR : Présentation des différents principes de la PCR
Extraction d'ADN de 3 variétés différentes ;
Choix des amorces ;
Calculs de taille et Tm.
- 16 h 30 - 17h 30 : Préparation des mix PCR ;
Lancement des PCR ;
Débriefing, questions diverses.

JOUR 2

Matin :

- 09 h 00 - 12 h 00 : Développement de méthodes – Mise au point de protocoles :
Programmation et entretien de thermocycleurs
Analyse de paramètres critiques ;
Dilutions limites ;

Après midi :

- 13 h 30 - 14h 45 : Présentations des projets des candidats (15 minutes maximum)
- 14 h 45 - 16 h 00 : Analyses de résultats :
Conditions de travail ;
Choix de réactifs, validation de méthode ;
Contrôles en PCR
- 16 h 00 - 17 h 30 : Applications de la PCR :
Caractérisation fonctionnelle des gènes ;
Sélection variétale ; Détection des OGM ;
Phylogénie, structuration de la diversité, dérive génétique.

JOUR 3

Matin :

- 09 h 00 – 10 h 00 : Présentation des fournitures spécifiques au projet :
Mise en place d'un modèle de gestion des réactifs ;
Standardisation de la traçabilité ;
Gestion, stockage et conservation des échantillons.
- 10 h 00 - 12 h 00 : Analyses de séquences :
Phylogénie moléculaire et reconstruction d'arbre sur BLAST ;
Génétique : Recherche de motifs et de parties codantes ;
Stratégies sur la recherche sur l'identification, le choix de séquences nucléotidique.

Après midi :

- FIN du Stage

DETAIL DU CONTENU

- Introduction aux bases de la biologie moléculaire :
 - Structure des nucléotides ;
 - Analyse de la transcription, transcriptome ;
 - Structure du génome ;
 - Structure des nucléotides, structure des gènes ;
 - Rappels théoriques sur la PCR ;
- Pour illustrer la PCR:
 - Organisation d'un laboratoire de PCR ;
 - Réalisation de plusieurs PCR ;
 - Méthode de quantification relative d'ADN ;
 - Analyse des différentes étapes lors du développement d'une technique de PCR ;
 - Validation de méthode ;
 - Interprétation et discussion des résultats ;
 - Analyse/critique de protocoles ;
- Un point théorique sur les techniques appliquées à l'analyse des génomes:
 - PCR, RT-PCR ;
 - PCR quantitative en temps réel ;
 - Dilutions limites, standards externes/internes, PCR compétitive ;
 - Applications en biologie : expression relative ;
 - Applications en génomique : discrimination allélique ;
 - Indications de la PCR ;
 - Séquençage, pyroséquençage ;
 - Bioinformatique, analyses de séquences.
- Applications:
 - Caractérisation fonctionnelle des gènes ;
 - Extraction d'ADN ;
 - Conservation d'échantillons ;
 - PCR quantitative ;
 - Purification d'amplicons et analyse de séquences ;
 - Validation de méthodes et de protocoles.

Pour illustrer ces concepts, 4 ateliers scientifiques sont prévus :

- Techniques d'extractions d'acides nucléiques;
- Technique de PCR ;
- Stockage et conservation d'échantillons;
- Analyse de séquences.