

DUVAL
Marianne
3^{ème} Anatole France
Collège Marmoutier

Lundi 2 décembre au vendredi 6 décembre 2013



Institut National de la Recherche Agronomique-Centre de Tours
UR 83 Recherches avicoles
37380 Nouzilly
02-47-42-78-51
www.tours.inra.fr
Recherche agronomique

SOMMAIRE

| | |
|--|----|
| • Introduction | 2 |
| • Compte rendu des activités : | 3 |
| 1) L'INRA | 3 |
| 2) Les activités | 4 |
| a. Séparation des compartiments de l'œuf | 4 |
| b. Le couvoir | 4 |
| c. Un œuf embryonné | 5 |
| d. La purification des protéines du jaune | 6 |
| e. La préparation des échantillons pour l'analyse en gel | 7 |
| f. L'analyse en gel des protéines purifiées | 8 |
| g. Des œufs embryonnés et non embryonnés | 10 |
| h. Découverte d'une conférence d'étudiants | 11 |
| i. Découverte d'un chantier d'abattage et de découpe de poulets | 11 |
| 3) Les personnes rencontrées | 11 |
| • Présentation du maître de stage | 13 |
| 1) L'aspect professionnel | 13 |
| 2) L'aspect personnel | 14 |
| • Conclusion | 15 |
| • Lexique | 16 |
| • Bibliographie | 17 |
| • Annexes | |
| • Fiche de suivi de stage | |
| • Fiche évaluation du compte-rendu donné avec le dossier DP3 | |

INTRODUCTION

Le stage

C'est un stage de 5 jours dans une entreprise de son choix. Les enjeux de ce stage en entreprise sont de responsabiliser l'élève en lui faisant découvrir un univers souvent inconnu. Il doit s'adapter à un environnement et à des personnes nouvelles et se soumettre à de nouvelles règles. Ce stage doit permettre à l'élève de concevoir un projet professionnel.

J'ai effectué mon stage à l'Unité de Recherches Avicoles (URA) de l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) de Tours, dans l'équipe Fonction et Régulation des Protéines de l'œuf (FRPO). Sophie Réhault est ma maîtresse de stage.

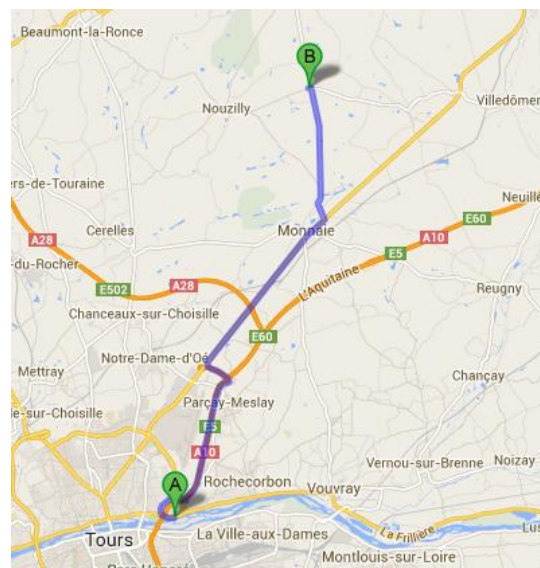
L'INRA

L'Institut National de la Recherche Agronomique est un organisme de recherche qui étudie différents aspects et thèmes de l'agronomie : l'Alimentation (aliments de différentes qualités), l'Agriculture (optimisation et compétitivité des terres) et l'Environnement (ressources naturelles, limitation de pollution...) pour faire avancer le développement durable. Les recherches ont pour but de comprendre l'interaction entre un individu et son environnement, ses besoins, d'explorer les propriétés d'un composé (à but médical par exemple).

La situation géographique

Le centre est à environ 20 kilomètres au nord de Marmoutier sur la commune de Nouzilly.

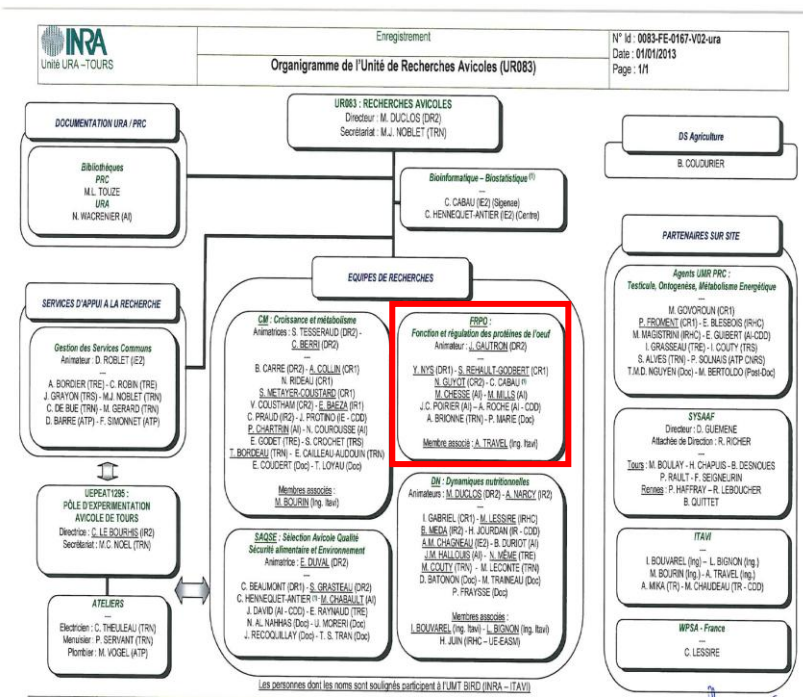
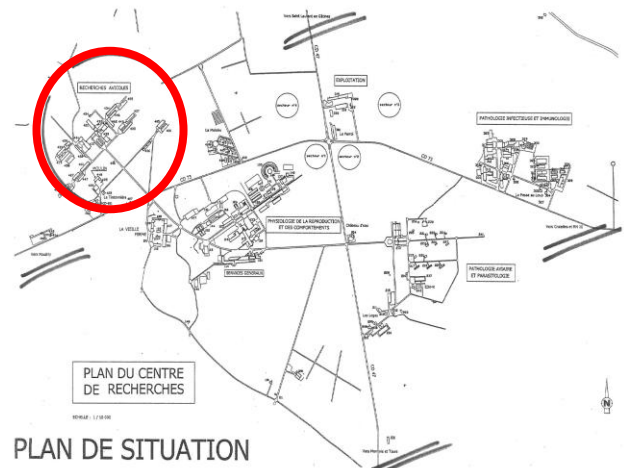
Il est traversé par plusieurs routes départementales. Un bus est à disposition du personnel pour relier le centre à Monnaie et Tours.



COMpte-REndU DES ACTIVITÉS

1) L'INRA

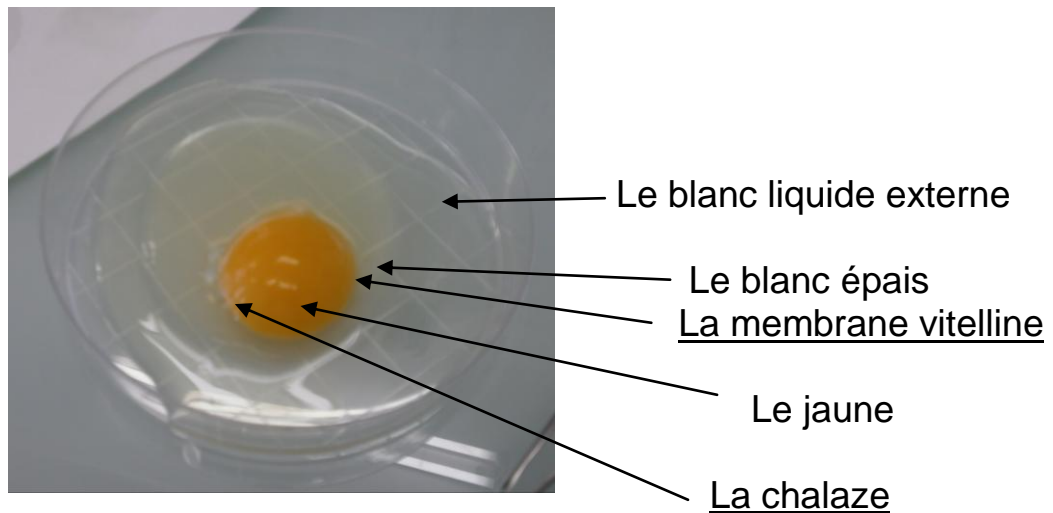
L'INRA a été créé en 1946 pour répondre aux besoins alimentaires de la France. Il est représenté par 19 centres de recherches distribués sur l'ensemble de la France. Le centre INRA Val de Loire a, lui, été créé en 1966. Il est réparti sur 2 sites, le site de Nouzilly et celui d'Orléans. Le site de Nouzilly comporte trois unités de recherches et trois unités expérimentales. Ses recherches portent sur l'animal, sa santé, sa biologie et la santé publique. Sur ce centre, il y a 552 agents dont 239 chercheurs et ingénieurs, 313 techniciens et agents administratifs. 60 salariés sont des contractuels (emploi non permanent) et l'INRA compte aussi 156 étudiants par an en fin d'étude. L'équipe FRPO est au sein de l'Unité de Recherches Avicoles



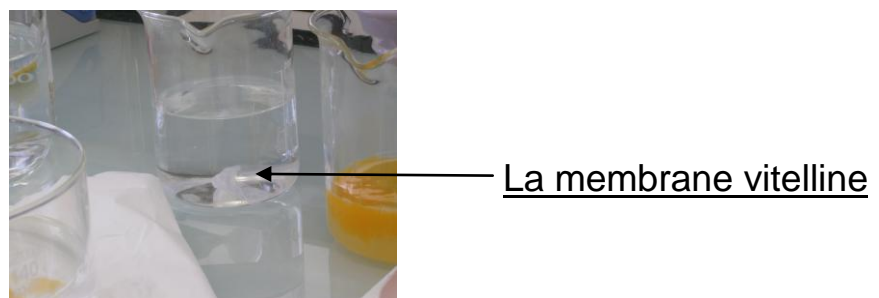
2) Les activités

a. Séparation des compartiments de l'œuf

Nous avons étudié les différents compartiments d'un œuf non fécondé (œuf de table). J'ai pu observer ceci :



Nous avons pu apercevoir le blanc liquide externe, la membrane vitelline, la coquille, ses membranes coquillères et la cuticule. Mais le blanc liquide interne s'est mélangé à l'externe quand l'œuf s'est cassé. Le jaune d'œuf est séparé du blanc d'œuf et roulé sur du papier buvard puis incisé et prélevé avec une seringue. Pour extraire la membrane vitelline peu visible, Sophie Réhault a plongé le jaune dans de l'eau froide pour pouvoir « peler » cette membrane qu'elle a ensuite extraite à l'aide d'une pince.



b. Le couvoir

Sophie Réhault nous a emmenées avec Marion Friconnet au couvoir pour comprendre la mise en incubation à 37,8 °C des œufs fécondés. Joël Delaveau et Christophe Rat, responsables de l'activité du couvoir sur l'Unité expérimentale, nous l'ont fait visiter après avoir respecté les

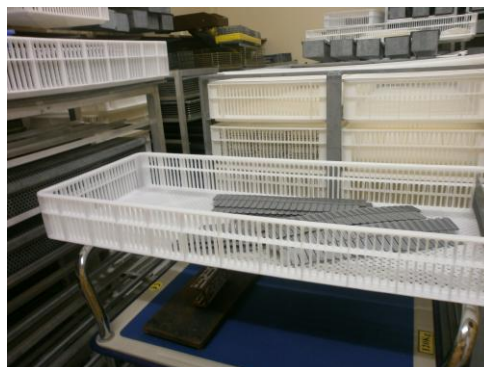
règles de sécurité (port d'une charlotte, de surbottes, d'une blouse et de gants).

Les œufs fécondés sont d'abord conservés dans une pièce à 14°C avant l'incubation.

Les œufs sont tournés régulièrement pour éviter que les jaunes ne se collent à la coquille.

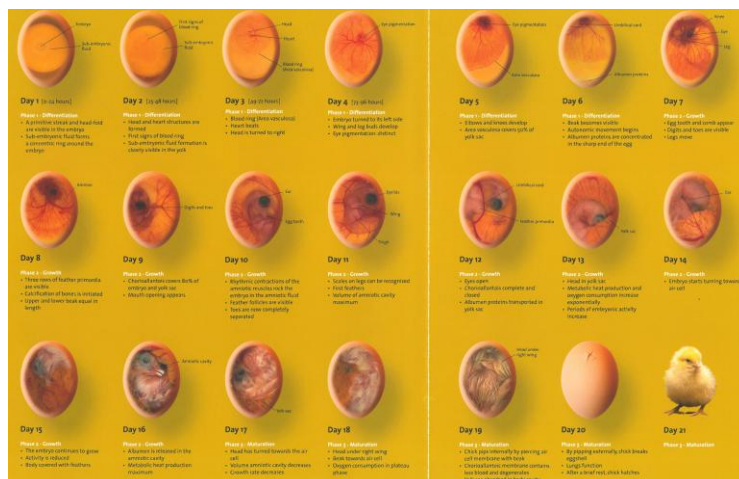


À 19 jours les œufs sont transférés dans des casiers qui seront incubés jusqu'à l'éclosion.

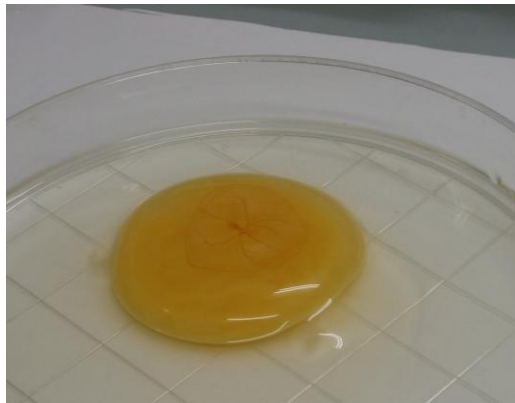


c. Un œuf embryonné

Ensuite, nous avons dû, avec Marion Friconet, reconnaître le stade d'un œuf embryonné à l'aide de cette plaquette :

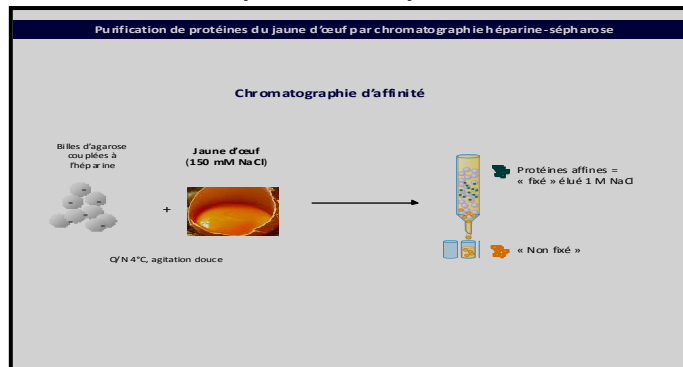


L'œuf était fécondé depuis 3 jours.



d. La purification des protéines du jaune

Sophie Réhault a mélangé du jaune d'œuf avec des billes à charge négative pour accrocher les protéines positives.



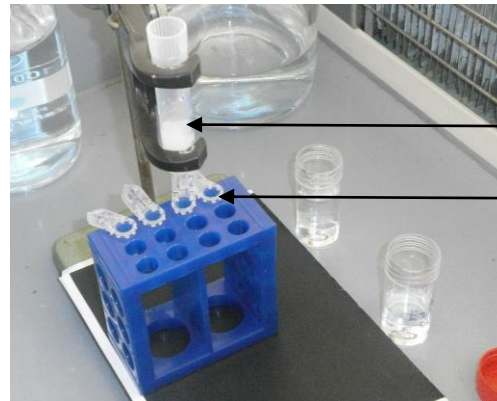
Avec Maryse Mills (Assistante Ingénieur dans l'équipe), on a utilisé une centrifugeuse pour séparer le non spécifique (les protéines non fixées) des protéines de l'œuf que l'on cherche à récolter (les protéines fixées).



À chaque lavage on vide le non spécifique pour remettre du tampon et recommencer l'opération. Une fois que le tube a été suffisamment lavé, on a mesuré la concentration en protéines (mg/ml) du non spécifique grâce à un nanodrop.

Des pipettes vérifiées régulièrement pour la précision et la répétabilité sont nécessaires pour ces manipulations.

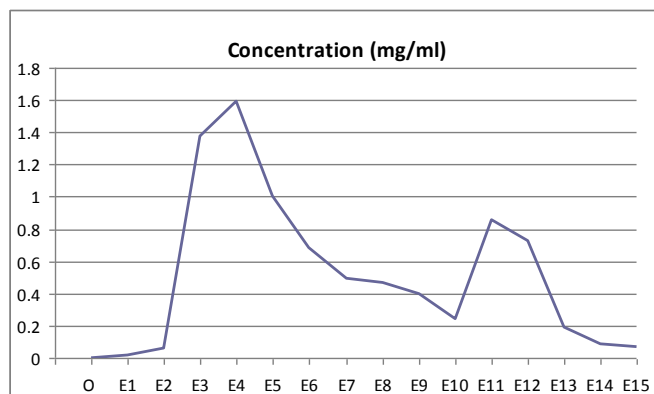
Après le déjeuner, Maryse Mills a continué la purification avec mon aide. Elle a changé de tampon pour un autre plus salé afin de décrocher les protéines des billes dans 15 micro-tubes différents, que j'avais nommés au préalable.



Le tampon

Un micro-tube

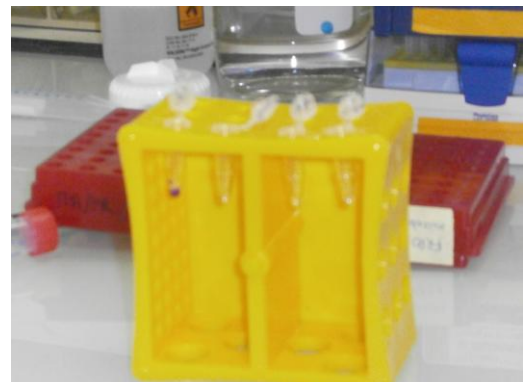
Nous sommes parties mesurer la quantité de protéines par rapport au volume (mg/ml) dans chaque tube au nanodrop.



Graphique de l'évolution de la concentration (mg/ml) des échantillons

e. La préparation des échantillons pour l'analyse en gel

Pour pouvoir analyser les protéines, Sophie Réhault a mélangé le contenu des micro-tubes E3 à E7 et E8 à E10. J'ai mélangé le contenu des micro-tubes E11 à E14 à l'aide d'une pipette.



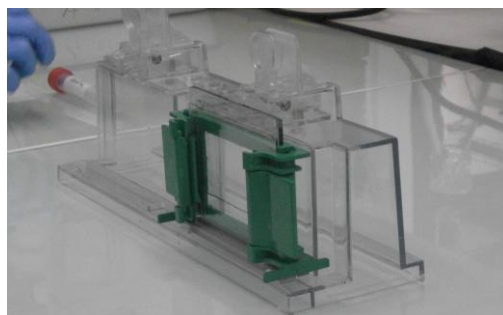
Puis on a mesuré la quantité de protéines et on a calculé le volume d'échantillons à mettre dans 20 μ L pour obtenir 5 μ g de protéines. On a ensuite rajouté du tampon échantillon contenant un colorant bleu et un détergent. Les échantillons ont été conservés au réfrigérateur jusqu'au lendemain.

f. L'analyse en gel des protéines purifiées

Afin de connaître la taille des protéines et donc de, peut-être, les identifier, Sophie Réhault a fabriqué deux gels pour y verser les échantillons. Le premier gel composé d'eau, d'un tampon (Tris 1,5 M pH 8,8), d'acrylamide /bis-acrylamide, de sodium dodecyl sulfate (SDS), de persulfate d'ammonium et de TEMED est un gel de résolution. Le deuxième gel a les mêmes composants à part le tampon qui est différent (Tris 0,5 M pH 6,8). C'est un gel de concentration.



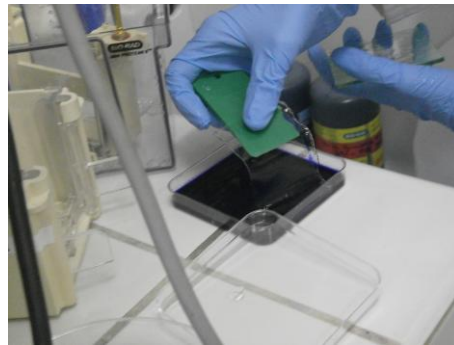
Elle a ensuite placé ces gels entre deux plaques et ajouté un peigne. Une fois le gel polymérisé (solidifié), le peigne aura formé des puits pour y déposer les échantillons.



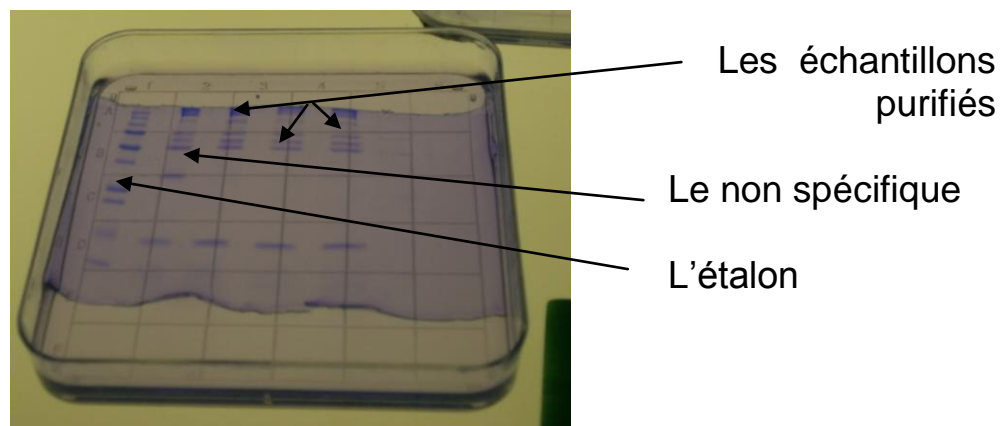
Après avoir déposé les échantillons purifiés, le non-spécifique et l'étalon dans les puits du gel, elle a branché et relié le courant à la cuve renfermant le support contenant le gel.



Après une heure, Sophie Réhault a débranché le courant et sorti les gels de leur support. Elle a sectionné le premier gel et plongé le deuxième dans un colorant, le bleu de Coomassie.



Après encore une heure d'attente, elle a vidé le colorant et versé un décolorant composé d'acide acétique, d'éthanol et d'eau. Une nuit plus tard, nous avons pu constater que le décolorant avait bien agi sur le gel ne laissant apparaître que les protéines des échantillons purifiés, celles du non-spécifique et celle de l'étalon.

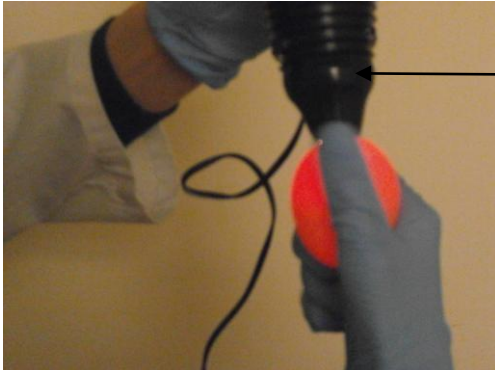


Sophie Réhault m'a demandé de trouver environ la taille des protéines contenues dans les échantillons grâce à l'étalon. Les tailles des bandes de l'étalon sont écrites sur une petite fiche :



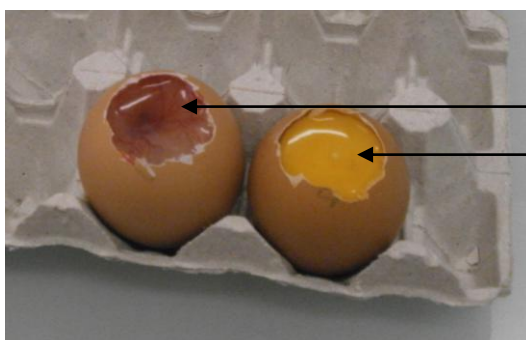
g. Des œufs embryonnés et non embryonnés

Sophie Réhault nous a remontrées, avec Marion Friconnet, la différence entre des œufs où il y a un embryon et ceux où il n'y en a pas. Avec une mireuse, nous avons sélectionné des œufs selon qu'ils étaient fécondés ou non. Les œufs non fécondés donnent une image homogène orangée. Dans les œufs fécondés, on aperçoit des stries qui correspondent aux vaisseaux sanguins et une masse sombre qui correspond à l'embryon.



Une mireuse

Sophie Réhault les a ensuite cassés pour vérifier nos sélections qui se sont toutes avérées justes.



Un œuf embryonné

Un œuf non embryonné

h. Découverte d'une conférence d'étudiants

Le dernier jour nous avons assisté, avec Sophie Réhault et Marion Friconnet, à une conférence menée par des étudiants : le « master inversé ». Des étudiants y exposent des idées présentées sous forme de diaporama à des chercheurs.

Nous avons écouté deux présentations, une sur l'optogénétique et une autre sur la nutrition en lien avec la reproduction chez les mammifères femelles.

i. Découverte d'un chantier d'abattage et de découpe de poulets

Marion Friconnet et moi-même sommes parties assister à un chantier d'abattage. Il mobilise une vingtaine de personnes.

Les poulets âgés de six semaines sont suspendus par les pattes, puis étourdis par électronarcose et saignés. Ils sont ensuite déplumés et dépecés de leurs pattes et de leurs intestins. Les chercheurs prélèvent des morceaux de muscles et contrôlent le pH.

Lors de la découpe le lendemain, les mêmes personnes sont présentes. Elles déterminent le sexe, contrôlent les filets (présence de défauts), la couleur et le pH de la viande des poulets.

3) Les personnes rencontrées

Dès mon arrivée, je suis allée voir Claudette De Bue, secrétaire de l'Unité de Recherches Avicoles, pour récupérer mon badge (qui me sert pour rentrer dans le bâtiment et pour manger au self). Elle m'a beaucoup aidée pour récupérer les documents de l'INRA (livrets d'accueil, plan, etc.) nécessaires à la rédaction de mon rapport.

La première journée, Sophie Réhault m'a présentée à l'équipe : Maryse Mills et Magali Chessé (assistantes ingénieurs), Joël Gautron (directeur de recherche), Aurélien Brionne (technicien) et Nicolas Guyot (chargé de recherche). Au couvoir j'ai rencontré Joël Delaveau (technicien de recherche) et Christophe Rat (adjoint technique).

Entre deux lavages mardi, j'ai pu discuter avec Magali Chessé (Assistante-Ingénieur) sur les études qu'elle a faites, les différents emplois qu'elle a eus et son rôle dans l'équipe. J'ai donc appris qu'elle a étudié 3 ans à l'IUT (Institut Universitaire Technologique), une formation qui est plus tournée vers la pratique, où il n'y a pas de thèse mais l'évolution de carrière est plus longue. Magali Chessé a eu plusieurs

CDD (Contrat à Durée Déterminée) avant d'être embauchée dans l'équipe. Son travail est de tester les protéines de l'œuf sur les bactéries pour déterminer si elles ont une action bactéricide.

J'ai rencontré Madeleine Gérard, qui est responsable du magasin, où sont stockés toutes les fournitures de bureau et les produits courants du laboratoire (cônes, microtubes, sopalin, gants, etc.)

J'ai aussi parlé avec Isabelle Grasseau, animatrice qualité. Elle est responsable de la traçabilité des résultats, des équipements, des animaux aux moyens de puces, de codes, de cahiers de laboratoire et de procédure de manipulation.



PRESENTATION DU MAITRE DE STAGE

1) L'aspect professionnel

Sophie Réhault est arrivée à l'INRA en décembre 2004. Elle est chargée de recherche de classe 1. Pour ce métier il faut avoir des compétences informatiques (savoir utiliser un ordinateur, Internet, faire des diaporamas...), des compétences techniques (savoir utiliser le matériel de laboratoire et les outils à disposition), des compétences rédactionnelles (savoir rédiger des articles, des projets, des demandes pour avoir des subventions...), des compétences en langue (anglais parlé et écrit obligatoire) et surtout des compétences en biologie animale et biochimie des protéines.



Tableau de rémunérations / Primes

Mise à jour : 1er janvier 2013

| | Corps | Catégorie statutaire | Grade | Indices nouveaux majorés (INM) | | Primes annuelles (PR ou PPRS) en euros | Traitements bruts annuels en euros* | |
|---------------------------|--|----------------------|------------------------|--------------------------------|-------|--|-------------------------------------|-----------------|
| | | | | Min | Max | | Début de carrière | Fin de carrière |
| Chercheurs | Directeur de recherche (DR) | A | Classe exceptionnelle | HED | HEE | 796 | 65 471 | 74 138 |
| | | | 1ère classe | 821 | HEC | 796 | 46 413 | 65 471 |
| | | | 2ème classe | 658 | HEA | 796 | 37 356 | 54 303 |
| | Chargé de recherche (CR) | A | 1ère classe | 476 | 821 | 987 | 27 435 | 46 604 |
| | | | 2ème classe | 454 | 564 | 987 | 26 212 | 32 324 |
| | Attaché scientifique contractuel (ASC) | A | | 395 | 500 | 796 | 22 743 | 28 577 |
| Ingénieurs et Techniciens | Ingénieur de recherche (IR) | A | Hors classe | 658 | HEA | 6 889 | 43 429 | 60 376 |
| | | | 1ère classe | 582 | 821 | 6 308 | 38 645 | 51 925 |
| | | | 2ème classe | 412 | 713 | 4 792 | 27 684 | 44 408 |
| | Ingénieur d'études (IE) | A | Hors classe | 696 | 783 | 4 013 | 42 684 | 47 518 |
| | | | 1ère classe | 555 | 673 | 4 013 | 34 850 | 41 406 |
| | | | 2ème classe | 370 | 619 | 3 351 | 23 909 | 37 744 |
| | Assistant ingénieur (AI) | A | | 339 | 604 | 2 734 | 21 570 | 36 294 |
| | Technicien de la recherche (TR) | B | Classe exceptionnelle | 365 | 562 | 2 308 | 22 588 | 33 534 |
| | | | Classe supérieure | 327 | 515 | 2 153 | 20 322 | 30 788 |
| | | | Classe normale | 314 | 486 | 2 060 | 19 507 | 29 063 |
| | Adjoint technique de la recherche (AT) | C | Principaux 1ère classe | 325 | 430 | 1 752 | 19 810 | 25 644 |
| | | | Principaux 2ème classe | 311 | 392 | 1 752 | 19 032 | 23 532 |
| 1ère classe | | | 310 | 369 | 1 712 | 18 936 | 22 215 | |
| 2ème classe | | | 309 | 355 | 1 712 | 18 881 | 21 437 | |

2) L'aspect personnel

Après avoir eu un bac SVT, elle a d'abord suivi une licence et une maîtrise en biochimie, puis un doctorat de 3 ans et un post-doctorat à l'étranger de 2 ans (Caroline du Nord-Etats-Unis).

Elle est adroite, précise, réfléchie et sait travailler en équipe.

Pour obtenir ce poste, elle a dû se tenir au courant des dates de concours de l'INRA. Ensuite elle a envoyé un dossier de candidature comprenant son CV, le descriptif de ses activités de recherche et la liste de ses publications ; puis une fois qu'elle était admissible, elle a passé un oral et a été reçue au concours après un vote des membres du jury. Après 1 mois de papiers administratifs, elle a été recrutée en tant que Chargée de Recherche de Classe 2. Après 4 ans, elle a obtenu une promotion : elle est maintenant Chargée de Recherche de Classe 1.

CONCLUSION

Pendant ce stage d'une semaine j'ai appris de nouvelles notions et de nouveaux termes en biochimie qui me serviront sûrement très prochainement au lycée et dans ma vie en général plus tard.

J'ai aussi découvert des appareils et des techniques jusqu'alors inconnus.

Je connais à présent mieux le monde de la recherche et ses métiers très diversifiés.

Le travail en équipe, les variétés du matériel utilisé et la fabrication du gel m'ont plu.

Cependant, je ne pense pas m'orienter dans cette direction car le métier me semble un peu répétitif. De plus, il faut de la patience, qui n'est pas une de mes qualités, car les résultats ne sont pas toujours immédiats. Mais ce stage reste quand-même une expérience positive et enrichissante.

Je remercie Sophie Réhault de m'avoir accepté comme stagiaire, d'avoir su me guider, répondre à mes questions tout au long de cette semaine et de m'avoir montré beaucoup d'expériences. Et je remercie aussi l'équipe FRPO qui m'a bien accueillie, où il règne une bonne ambiance et où on sent une forte solidarité dans le groupe.

Je remercie également le personnel de l'Unité Expérimentale PEAT, pour m'avoir fait visiter le couvoir ainsi que les membres de l'équipe « Métabolisme des Oiseaux, Croissance et Adaptation » pour m'avoir expliqué les différentes étapes d'abattage et de découpe des poulets.

Merci également aux autres personnes de l'unité qui m'ont accueillie (Claudette De Bue, Madeleine Gérard, etc.)

LEXIQUE

Une centrifugeuse : appareil qui tourne très vite pour séparer les masses lourdes au fond, des masses plus légères en haut.

La chalaze : partie du blanc d'œuf qui retient le jaune au milieu de l'œuf. Il y en a deux de chaque côté par jaune.

L'étalon : échantillon composé de protéines de taille connue et qui permet de connaître la taille des protéines d'un échantillon inconnu.

Le gel de concentration : concentre toutes les protéines à la surface du gel de résolution.

Le gel de résolution : gel de séparation (de protéines).

La membrane vitelline : membrane autour du jaune.

Incubation : mise des œufs fécondés dans des incubateurs (armoires à température et humidité contrôlées).

Le nanodrop : appareil pour mesurer la concentration de protéines en mg/mL sur une petite goutte.

Le pH : mesure l'acidité ($\text{pH} < 7$) ou la basicité ($\text{pH} > 7$) d'une solution.

La répétabilité : lorsque l'on vérifie la pipette, c'est la répétition des résultats pour une même mesure.

Un tampon : solution liquide pour stabiliser le pH.

Le tampon échantillon : tampon rajouté à l'échantillon pour suivre la migration à l'aide d'un colorant et mettre des charges négatives sur toutes les protéines.

BIBLIOGRAPHIE

- Le livret d'accueil du centre INRA de Tours
 - Le livret d'accueil de L'Unité de Recherches Avicoles
 - www.tours.inra.fr
 - www.inra.fr
 - www.pasreform.com (plaquette développement embryonnaire)
 - <http://mycor.nancy.inra.fr/> (logo)
- + Documents de l'INRA

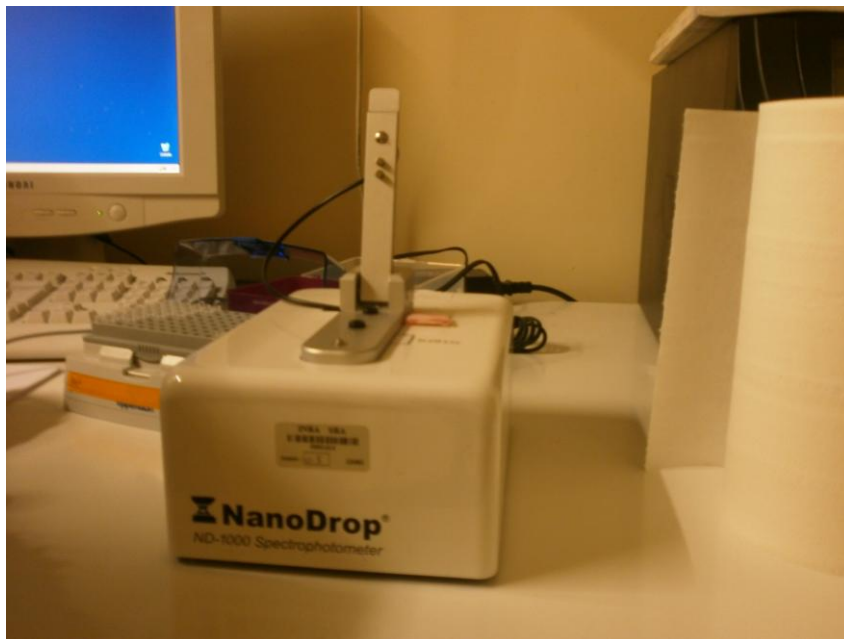
ANNEXES



Plan d'accès



Le laboratoire



Le nanodrop