

## Rapport de stage

« Quelles sont les différentes défenses naturelles de l'œuf et comment pourrait-on s'en servir ? »



Val de Loire Site de Tours 37380 NOUZILLY

Tuteur en entreprise : REHAULT Sophie, chargée de recherches

Professeur tuteur : Mme SAVY

Collège Philippe de Commines 16 avenue Beethoven 37200 TOURS	Stage du 14 au 18 Décembre Année scolaire 2015-2016
--	--

# Sommaire

Sommaire .....	2
Remerciements.....	3
Introduction.....	4
Présentation de l'entreprise .....	5
Déroulement du stage.....	7
Première journée (lundi) : .....	7
Deuxième journée (mardi) : .....	9
Troisième journée (jeudi) : .....	11
Dernière journée (vendredi):.....	12
Métiers au sein de l'INRA et formation .....	13
Conclusion .....	15
Photos.....	16
Photo 1 : filtre.....	16
Photo 2 : échantillon .....	16
Photo 3 : gel.....	16
Photo 4 : préparation gel.....	16
Photo 5 : pipettes .....	17
Photo 6 : centrifugeuse .....	17
Photo 7 : détection de molécule par taille .....	17
Photo 8 : spectrophotomètre (Nanodrop) .....	17
Feuille d'évaluation.....	18

## Remerciements

Je voudrais tout d'abord remercier Marie Bourin de m'avoir aidée à trouver ce stage, ainsi que toute l'équipe FRPO, tous souriants et sympathiques, de m'avoir accueillie pendant ma semaine de stage, mais aussi et surtout Sophie Rehault, ma tutrice, qui m'a fait découvrir son lieu de travail, son métier et qui m'a appris beaucoup de choses en une semaine. Merci à Maryse Mills, Jean-Paul Poirier et Magali Berges qui m'ont accompagnée lorsque Sophie était absente et qui m'ont montré leurs machines et des petites expériences.

Merci aussi à Mylène Da Silva qui m'a accueillie dans son bureau pour que je puisse rédiger mon rapport de stage.

## Introduction

### Comment ai-je trouvé ce stage ?

J'ai trouvé ce stage grâce à une connaissance de ma mère qui travaille à l'INRA, elle nous a présenté Sophie Rehault qui a accepté de me prendre comme stagiaire.

Sophie travaille dans l'équipe FRPO (Fonction et régulation des protéines de l'œuf) à l'Unité de Recherches Avicoles

## Présentation de l'entreprise

L'INRA, Institut National de la Recherche Agronomique est le premier organisme de recherche agronomique européen et emploie près de 8 300 chercheurs, ingénieurs et techniciens L'INRA contribue à la production de connaissances et à l'innovation dans l'alimentation, l'agriculture et l'environnement. Il comprend près de 200 unités de recherche et de 50 unités expérimentales implantées dans 17 centres en région.

Catherine Beaumont est la présidente du centre INRA Val de Loire qui a été fondé en 1946 pour répondre à la demande sociale « nourrir la France ». Les recherches s'organisent en 4 pôles : « Dynamique des sols et gestion de l'environnement », « Biologie intégrative des arbres et organismes associés », « Biologie intégrative animale et gestion durable des productions animales », « Santé animale et santé publique ». L'INRA Centre Val de Loire compte 961 agents dont 660 titulaires, qui en font le sixième centre le plus important. L'INRA Centre Val de Loire mène des recherches autour de différentes spécialités : la santé animale et publique ; la biologie animale et un meilleur élevage ; la qualité et la sécurité sanitaire des aliments ou autres d'origines animales ; le comportement, l'adaptation et le bien-être des animaux. Ces activités sont réparties sur trois sites : Orléans, Tours et Bourges.

Le centre contient plus de 55400 animaux (bovins, chevaux, volailles, porcs, rongeurs...).

### Situation géographique :



## Les trois grandes parties de l'INRA Centre Val de Loire :

### 1-Département Physiologie Animale et Système d'Élevage

Unités de recherche	Unités expérimentales
-UMR PRC → physiologie de la reproduction et des comportements (directeur : F.Guillou) -URA → recherches avicoles (directeur M.Duclos)	-UEPAO → unité expérimentale physiologie animale (directeur : E.Guettier) -UEPEAT → unité d'expérimentation avicole de Tours

### 2-Département Santé Animale

Unité de recherche	Unité expérimentale
-IASP → infectiologie animale et santé publique (directeur : D.Buzoni-Gatel)	-PFIE → plate-forme d'infectiologie expérimentale (directeur : B.Schwartz)

### 3-Département Mission de Coordination

-SDAR → services déconcentrés d'appui à la recherche (directeur : F.Gelis)
--

## Déroulement du stage

Présentation de l'équipe d'accueil « Fonctions et Régulation des Protéines de l'œuf » :

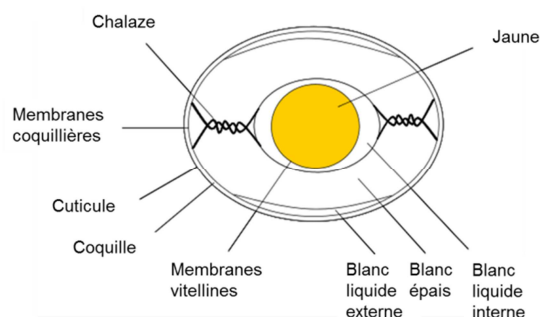
Stage au sein d'Unité de Recherches Avicoles qui comprend 4 équipes de recherche (les nommer). L'équipe de recherche « Fonction et Régulation des Protéines de l'œuf » est composée de 4 chercheurs, deux assistantes-ingénieures, deux ingénieurs d'études et accueille actuellement une doctorante.

### Première journée (lundi) :

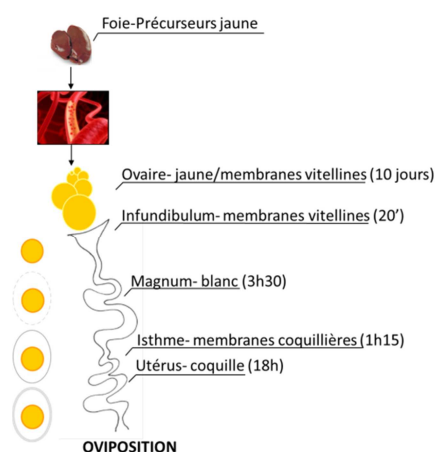
#### Matin :

A mon arrivée Sophie Réhault, ma tutrice, m'a amenée à l'accueil pour que la secrétaire me donne un badge. Puis elle m'a présenté son équipe avec laquelle elle travaille chaque jour et leurs différents métiers. Nous sommes allées dans son bureau et elle m'a expliqué en quoi consiste son travail de chercheur. Elle et son équipe font des tests et des recherches sur les défenses naturelles de l'œuf (coquille et antibiotiques naturels) qui lui permettent de se protéger contre certaines bactéries. Ils font ce travail afin de limiter la contamination des œufs qui est à l'origine de maladies infectieuses chez le consommateur (Salmonelloses) et car ils espèrent pouvoir créer de nouveaux antibiotiques qui contiendraient des molécules d'œuf. Elle m'a aussi expliqué la formation d'un œuf et sa composition.

#### Composition de l'œuf :



#### Formation de l'œuf :



Sophie m'a présenté le parcours qu'elle a suivi jusqu'à aujourd'hui (décrit dans la dernière partie du rapport) puis elle m'a montré le programme qu'elle avait organisé pour la semaine. Ensuite j'ai commencé à faire mon rapport de stage.

Pour le repas du midi, on doit sortir du bâtiment pour prendre le bus et aller à la cantine, pour payer on se sert des badges sur lesquels on met de l'argent et qui peuvent être « rechargés ».

#### Après-midi :

Sophie m'a montré une expérience qui sert à purifier des protéines de blancs d'œuf. Pour cela, elle a besoin de petites billes de gel (billes d'agarose couplées à l'héparine) qu'elle doit bien nettoyer avant de les utiliser car elles sont conservées dans de l'alcool. Pour enlever l'alcool, elle mélange les billes avec de l'eau dans deux tubes et les place dans la centrifugeuse (photo 6 : il doit y avoir deux tubes (en rouge sur la photo) car la masse doit être équitablement répartie dans la centrifugeuse, il ne peut pas y avoir qu'un seul tube). Les billes doivent être bien purifiées donc elle les passe deux fois dans la centrifugeuse. Une fois que la centrifugeuse s'arrête, elle enlève l'eau des tubes pour ne garder que les petites billes.

On prend deux tubes remplis de blanc d'œuf qu'on a décongelés avant, on les transvase tous les deux dans une éprouvette et on rajoute un tampon qui permet de maintenir un pH constant et qui contient un peu de sels. Ensuite on a versé ce mélange dans les deux tubes qui contenaient les billes et on les a laissés reposer jusqu'au lendemain sur un plateau qui se balance légèrement dans la chambre froide.



## Deuxième journée (mardi) :

Matin : En arrivant j'ai rencontré Magali Berges, qui est assistante ingénieure. Elle m'a parlé de son métier et de son parcours, elle m'a expliqué le fonctionnement de l'INRA et ses différentes parties ainsi que les métiers qu'on peut y trouver. (Ces informations sont décrites dans la dernière partie du rapport).

J'ai aussi pu voir les machines que les chercheurs utilisent (par exemple celles pour différencier les protéines par tailles), plusieurs pièces de travail et quelques instruments qui leur sont très utiles dans leurs recherches.

Une fois le tour du laboratoire fini, j'ai continué mon rapport de stage.

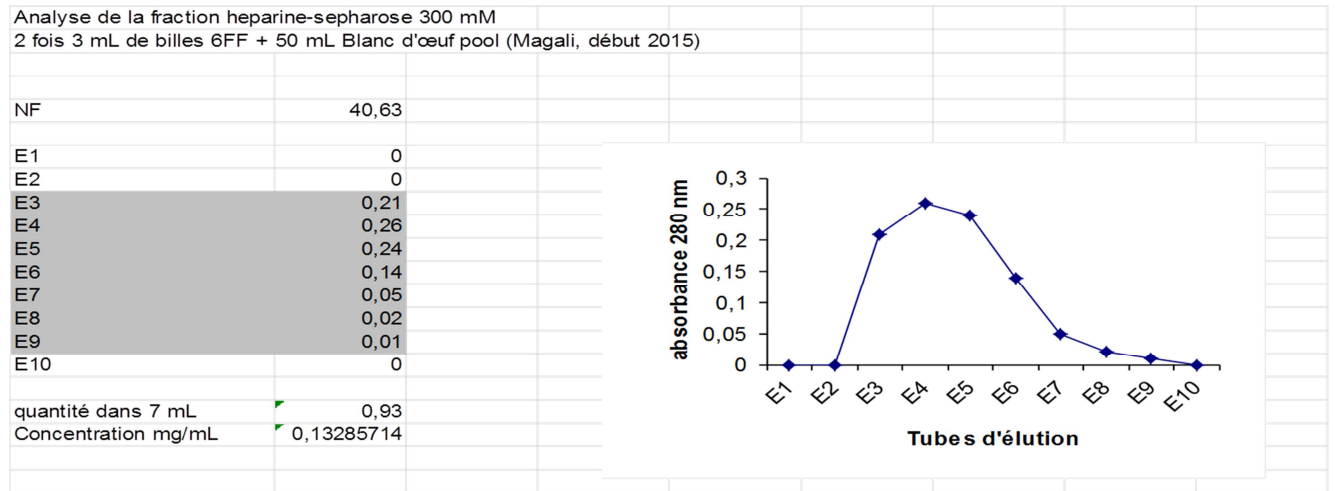
Puis Magalie m'a amené voir les machines qu'elle utilise le plus.

Après-midi : Nous avons continué l'expérience avec Sophie, d'abord nous avons prélevé à l'aide d'une pipette (photo 5) un peu de blanc d'œuf dans un des tubes puis nous avons jeté le reste pour ne garder que les billes de gel avec les protéines de blanc qui étaient restées accrochées à l'héparine des billes. Après, il a fallu les laver six fois pour retirer les protéines visqueuses du blanc d'œuf.

Pour laver les billes, il faut rajouter un tampon (eau+sel) dans les tubes avec les billes, puis secouer doucement les tubes puis les mettre dans la centrifugeuse.

Ensuite, nous avons mis les billes dans une petite colonne en plastique contenant un filtre (photo 1) puis nous avons décroché les protéines liées à l'héparine des billes en utilisant un tampon très salé. On appelle cette étape, l'élution ». Elle se fait en ajoutant 1 mL de tampon salé, 9 fois. La quantité de protéines dans les tubes est évaluée grâce à une petite machine un à un. Nous avons pu faire un graphique par rapport à la quantité de protéines (milligrammes) par mL dans chacun des tubes (photo 2).

Tableau et graphique obtenus pour nos échantillons avec le spectrophotomètre (Nanodrop photo 8):



Nous avons ensuite réunis tous les petits tubes qui contenaient des protéines puis nous les avons versés dans un plus grand qui permet de « trier » les protéines par taille. L'utilisation de ces colonnes d'ultrafiltration ont permis de récupérer 2 échantillons, l'un contenant des protéines supérieures à une taille de 30000 Daltons et l'autre les protéines entre 3000 et 30000 Daltons. Pour ça il faut le laisser vingt minutes dans la centrifugeuse, à 4°C, 3500 g.

### Troisième journée (jeudi) :

Matin : Mercredi, pendant mon absence, Sophie a préparé les tubes pour qu'on puisse continuer l'expérience.

Pour pouvoir observer les protéines et les différencier par tailles, il faut les introduire dans un gel qu'on colore par la suite (photo 3). C'est un mélange de deux gels qui sont coulés successivement entre deux plaques de verre (photo 4). Le premier gel permet de séparer les protéines en fonction de leur taille et le deuxième permet de charger les protéines de charge négative. Nous avons dû faire des puits dans le gel avec une sorte de peigne pour pouvoir y faire glisser les protéines. Il est cancérigène tant qu'il est liquide, il faut donc le préparer avec des gants, une blouse et sous hotte.

Une fois le gel prêt, on doit attendre qu'il se solidifie, on le place ensuite dans une boîte en plastique avec un tampon autour, puis on prélève les protéines avec une pipette. Les protéines sont dans des petits tubes et un tube correspond à un puit dans le gel, on ne peut pas mettre ce que contiennent deux tubes dans un seul puit. Pour savoir la taille des protéines on doit mettre un standard dans le premier puit et les protéines dans les autres.

Quand les protéines ont été déposées dans les puits, on applique un courant électrique. Les protéines de charge négatives vont se déplacer vers la charge positive et se séparer en fonction de leur taille dans le gel. Les grosses protéines restent dans la partie haute du gel et les petites protéines migrent vers la partie basse du gel. Cette étape dure environ 2h30.

Ensuite on colore le gel avec un colorant bleu qui va permettre de colorer les protéines, on laisse le gel dans un peu d'eau sur un plateau qui se balance pour enlever le surplus de colorant.

Pendant le nettoyage du gel, j'ai pu faire une autre petite expérience facile à reproduire chez soi, qui sert à prélever la membrane vitelline de l'œuf (membrane qui entoure le jaune d'œuf). Il suffit de casser un œuf et de séparer le blanc du jaune. On garde le jaune et on le fait glisser de droite à gauche sur du sopalin puis on le met dans un bol d'eau froide. Ensuite à l'aide de pinces, on perce la membrane et on la retire.

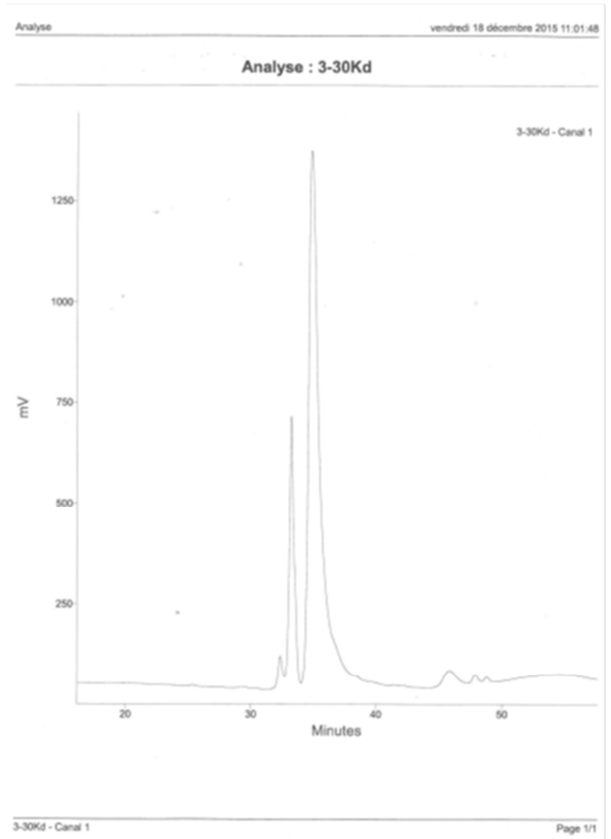
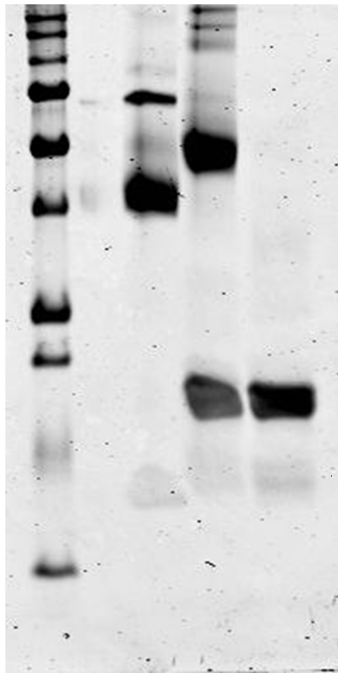
Après-midi : Sophie m'a montré l'état du gel, on arrivait déjà à voir des protéines mais le gel n'était pas assez nettoyé donc on l'a laissé sur le plateau.

J'ai continué mon rapport de stage.

Dernière journée (vendredi):

Matin :

Nous avons analysé les résultats du gel.



Pour savoir avec certitude qu'il y a plusieurs protéines ici, on doit prendre un échantillon et les placer dans une machine reliée à l'ordinateur. Dans la machine (photo 7), l'échantillon passe dans une colonne qui sépare les protéines et qui permet de les purifier. Grâce à un logiciel qui construit des courbes, on suit en direct le passage de l'échantillon. Lorsqu'il y a une protéine dans la colonne, le logiciel dessine un pic. Là, il y avait deux pics majoritaires, donc il y a deux protéines qu'on va pouvoir analyser.

## Métiers au sein de l'INRA et formation

### Les différents métiers à l'INRA :

- adjoint technique → expériences en labo, manipulations
- technicien (bac +2) → expériences en labo, manipulations
- assistant ingénieur (bac +3) → expériences en labo
- ingénieur d'étude → travail derrière un ordinateur
- ingénieur de recherche → manipulations
- chargé de recherche/chercheur (faire une thèse) → manipulations + articles
- directeur de recherche → plus que des articles et autres à rédiger

### Formation qu'a suivie ma tutrice pour être chargé de recherche à l'INRA :

Première année de FAC

Seconde année de FAC

Master 1 (1 mois de stage)

Master 2 (6 mois de stage)

Thèse (3 ans) → post doc. (2 ans aux Etats-Unis)

→ Retour en France, 1 an de chômage, concours

Embauchée à l'INRA en 2004 après 8 ans d'études (salaire : environ 2000 euros par mois en début de carrière).

A l'INRA, on trouve plusieurs « grades » (CR2, CR1, DR2, DR1 le plus élevé étant DR1), dans chacun desquels il y a 7 échelons différents.

Formation et métier d'assistant ingénieur :

L'exemple de Magali Berges :

Pour obtenir ce poste on peut suivre son parcours :

IUT + une année de spécialisation

6 ans de CDD (1an CNRS institut Transgénose, 2ans labo Virbac spécialisé dans les virus, 18mois laboratoire Touraine, 2ans à l'INRA dans la partie spécialisée dans les virus et la santé public : l'IASP)

Et maintenant :

Missions → travail personnel + missions collectives

Activités, expertises → biologie moléculaire, microbiologie, biochimie

Tâches collectives → par exemple responsable de la radioactivité, surveillance des congélateurs à -80°C, organisation des réunions...

## Conclusion

J'ai apprécié ce stage à l'INRA, j'ai pu apprendre beaucoup de choses sur le métier de chercheur, l'équipe dans laquelle j'étais été bien accueillie et j'ai aimé l'ambiance de cette équipe. De plus, j'ai pu participer à des tests et des expériences ce qui était très intéressant.

Le travail d'équipe est très important dans ce métier car si vous n'avez pas certaines compétences, il y aura toujours quelqu'un d'autre dans votre équipe qui saura faire ces choses-là. C'est essentiel de savoir comment bien s'entendre avec les personnes de son équipe pour travailler dans de bonnes conditions.

Pendant les tests, il faut aussi savoir être patient car une expérience peut durer longtemps.

En étant chercheur, on travaille beaucoup sur ordinateur, par exemple pour écrire des articles ou pour analyser des échantillons.

Pour que les expériences se déroulent au mieux, il faut respecter toutes les consignes de sécurité, par exemple lorsque l'on manipule des produits dangereux, ne pas oublier de mettre des gants et/ou une blouse et de travailler sous hotte (sur les bouteilles des produits on peut voir différents panneaux selon leur dangerosité).

En faisant ce stage, j'ai appris beaucoup de choses, comme la formation d'un œuf et le fait qu'une coquille se forme en 18 heures alors que le jaune et la membrane vitelline en seulement 10 jours. Ou encore la constitution d'un œuf, ce qu'était la membrane vitelline...

Je pense que je pourrais m'orienter vers ce métier plus tard car ce stage m'a plus et de pouvoir découvrir des choses auxquelles les gens ne s'attendent pas me plaît.

## Photos

Photo 1 : filtre



Photo 2 : échantillon



Photo 3 : gel



Photo 4 : préparation gel





Photo 5 : pipettes



Photo 6 : centrifugeuse



Photo 7 : détection de molécule par taille

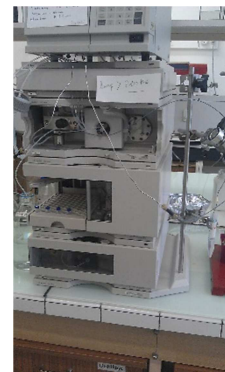


Photo 8 : spectrophotomètre (Nanodrop)



**BILAN DU STAGE EN ENTREPRISE**

Bilan établi par M. M<sup>me</sup>... SARAH... REMAULT-GODDEAT.....

Pour l'entreprise... INSITU... NATIONAL... DE... LA RECHERCHE... AERONAUTIQUE.....

Tutrice, Tuteur de M. M<sup>me</sup>... SARAH... REMAULT-GODDEAT.....

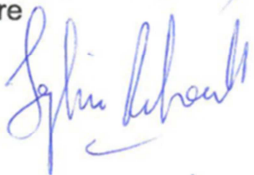
Pour son stage effectué du 14 au 18 décembre 2015.

**Observations générales :**

Eloise a parfaitement respecté les exigences d'un milieu professionnel (ponctualité, respect, disponibilité, politesse, sérieux). Elle a pris soin de rédiger son rapport, tous les jours en s'aidant des documents mis à disposition. Elle doit maintenant prendre davantage d'assurance pour oser s'exprimer plus spontanément et favoriser ainsi les échanges avec son entourage.

Fait à : TORS  
Le : 18-12-15

Signature



Ponctualité : exemplaire

Assiduité : Exemplaire

Aptitudes à établir de bonnes relations : Eloise s'est montrée très réservée mais elle a su s'adapter aux différentes personnes rencontrées.

Compréhension des consignes : Eloise a parfaitement intégré les consignes de chaque atelier. Elle a très bien compris les différentes tâches missions proposées (Élaboration des protéines, utilisation des pipettes, pesée de sels pour la préparation de tampons, prélèvement des membranes intelligentes etc.).

Persévérance : Bonne

Rythme d'exécution :

Bon

Faculté d'observation : Bonne. Eloise a su reproduire sans trembler et sans se tromper les petits détails des expérimentations proposées. Elle a parfaitement suivi le déroulé et la logique des expérimentations.

Esprit d'initiative :

Eloise possède tous les outils pour être face de propositions mais est restée très discrète tout au long de son stage.

Aptitude à accepter les critiques ou remarques :

Bonne. Eloise a rédigé son rapport de stage en prenant en compte mes remarques et suggestions. J'ai également échangé avec elle sur le contenu de cette feuille d'évaluation.