



ACTIONS PROPOSEES PAR
LE CENTRE D'INNOVATION DES SCIENCES DE LA VIE

**Action au bénéfice de
La Région Languedoc Roussillon**



Intitulé du programme

Sciences de la Vie Expérimentales « Scivex » en Languedoc Roussillon
(Valorisation Expérimentale et Innovation pour les Sciences de la Vie au Lycée)

Revaloriser la perception des métiers issus des Sciences de la Vie aux lycéens au travers de la perception de l'innovation locale et susciter l'intérêt des jeunes du Languedoc Roussillon pour les filières scientifiques.

Actions proposées dans le cadre
des programmes Européens FEDER 2014 – 2020

Dépôt : Mai 2014



I. Informations générales

1) L'action

Titre de l'action :

Scivex En LR

Domaine(s) scientifique(s) concerné(s) :

Sciences du vivant, biotechnologie, agrobioindustrie, environnement, diagnostic (humain animal et environnemental)

Calendrier des opérations (date de mise en œuvre, durée...) :

septembre 2014 – septembre 2020 (72 mois)

Chaque année du 1^{er} septembre au 31 août (12 mois)

Personnes concernées au total :

Nombre de lycéens concernés au total sur le programme :

Mise à disposition de kits pédagogiques : tous les lycéens des lycées de voie générale en région Languedoc Roussillon toutes filières et ministères confondus.

Par ans sur les missions d'enseignement ateliers – tutorat :

Deux mille cinq cents (2500) environ

Enseignants : sur 6 ans, c'est l'ensemble des enseignants des sciences de la vie et de la Terre (SVT) en Région qui sont concernés.

L'objet de ce programme et de constituer un programme pilote de diffusion de la technologie de pointe en matière d'enseignement des sciences du vivant.

La Région Languedoc Roussillon sera pilote à l'échelle nationale pour expérimenter cette diffusion de la technologie. L'Institut de Formation de L'Ecole de l'ADN participera financièrement et matériellement sur les stratégies opérationnelles.

Liste des établissements d'enseignements secondaires concernés par le projet

Tous les établissements d'enseignement secondaire du Languedoc Roussillon, soit au total : 82 (77 plus 5) liste en annexe

2) Le bénéficiaire porteur de projet

Nom de l'organisme : École de l'ADN

Nature juridique : Association déclarée

N° SIRET : 434 683 587 00019

Siège social : 19 Grand-rue, 30000 Nîmes

Adresse postale : BP 81295 30015 Nîmes Cedex 1

Téléphone : 04 6667 8229

Télécopie : 04 6667 8229

Courriel : siatka@ecole-adn.fr

Nom, fonctions du représentant légal :

Raphaël Belaiche, président

et par délégation,

Christian Siatka, directeur général

Service instructeur régional pour ce programme :

Direction de l'Education service Accompagnement Educatif

Moyens humains :

Salariés : 3 pour 3 équivalents temps plein (CDI)

Bénévoles : 6 personnes membres du Bureau et du Conseil d'Administration

Structures Annexes : Cabinet Comptable (Thomas-Fabréga),
Cabinet de Gestion Sociale et Paye (DPS)
Commissaire aux comptes (Philippe Sillohl, Commissaire aux comptes)

Bilan comptable & compte de résultat (2013 certifiés) : cf. pièces jointes

Statuts de l'association : cf. pièces jointes

II. L'action

- 1) Nature de l'action

Objet de l'organisation

L'École de l'ADN pilote deux structures centrées sur le même cœur de compétence : les ingénieries des sciences de la vie.

La première structure est un **Institut de Formation** centré sur les avancées de la biologie moléculaire et de la génétique. Sa mission principale consiste en la conception, la réalisation et la présentation d'ateliers scientifiques de haut niveau technologique à l'adresse de différents publics. La spécificité et la force essentielles de l'École de l'ADN résident dans son savoir-faire : une de ses priorités consiste à rendre accessible l'ensemble des ateliers, du plus simple au plus complexe, à tous les publics grâce à la capacité de son équipe de formateurs à délivrer un message scientifique adapté à chacun, quel que soit son niveau, son bagage et son exigence.

Cet Institut dispense un enseignement pratique et/ou théorique des méthodes utilisées en biologie moléculaire et en génétique. Il est destiné aux élèves et enseignants du secondaire ainsi qu'aux étudiants et enseignants chercheurs des premiers et seconds cycles universitaires.

L'Institut organise des stages de formation payants spécialement adaptés aux exigences de professionnels concernés par le génie génétique.

L'École de l'ADN équipée de trois laboratoires de biologie moléculaire complets, a la possibilité de présenter ses ateliers scientifiques sous forme itinérante dans les établissements du secondaire, les universités, les musées, les centres de culture scientifique et technique, etc.

La deuxième structure est un **Centre d'Innovation sur les Sciences de la Vie** qui propose une offre matérielle de productions de kits pédagogique accompagnée d'une offre de services et de conseils sur projets. Le Centre d'Innovation développe et produit des outils techniques pour réaliser des expérimentations dans les lycées conformes aux exigences de l'éducation nationale et conformes aux programmes. La structure produit et édite des produits pédagogiques ou didactiques (prêts-à-monter de travaux pratiques de biologie moléculaire, vidéos, bandes sonores, programmes enregistrés, animations, cédéroms, livres, revues, etc.) sur tout type de support.

L'Ecole de l'ADN au travers de ses deux structures est au service du citoyen

L'Ecole garantit un service d'information, mais aussi de diffusion et de rayonnement de la culture scientifique et technique en matière de biologie moléculaire, de génétique et des applications qui en découlent.

Le Centre d'Innovation de l'Ecole de l'ADN prépare et coordonne la conduite de conférences, débats, séminaires ou soirées thématiques destinées à un large public.

• 2) Objet de l'action

Le projet SCIVEX s'inscrit dans le programme opérationnel au titre de l'objectif d'investissement pour la croissance et l'emploi. Notre projet correspond à une logique de contribution à la croissance qui s'appuie sur l'axe de l'investissement durable dans la croissance intelligente (FEDER).

Ainsi le projet SCIVEX se définit dans l'objectif thématique qui renforce la recherche, le développement technologique et l'innovation et, correspond à la priorité d'investissement qui contribue à améliorer les infrastructures de recherche et d'innovation (R&I) et les capacités à développer l'excellence en R&I, et faire la promotion des centres de compétence, en particulier dans les domaines présentant un intérêt européen notamment celui des sciences de la vie.

Selon le programme Opérationnel FEDER-FSE Languedoc- Roussillon 2014-2020, le projet SCIVEX est inscrit dans :

- L'Axe 1
- L'objectif thématique 1
- La priorité d'investissement mobilisé 1a

Au sein de l'école de l'ADN, notre projet répond à une nécessité de développer un programme pilote sur l'accessibilité des enseignements de haut niveau technologiques en sciences de la vie :

- **La démocratisation de l'enseignement des sciences**
- **Susciter un intérêt citoyen responsable auprès des plus jeunes**
- **Une prérogative de l'Europe**
- **Une valorisation des enjeux économiques régionaux**
- **Une nécessité de maintenir les enseignements performants**
- **Innovation en Languedoc Roussillon : Région pilote**
- **Un objectif de compétitivité nationale potentiellement transposable**

Préambule

État des lieux et problématique

La désaffection des jeunes pour la science, un enjeu majeur pour le développement de l'économie de la connaissance

L'évolution des effectifs d'étudiants en sciences et en technologie aux divers niveaux du système éducatif est une question qui a suscité un intérêt considérable dans de nombreux pays de l'OCDE ces dernières années étant donné que l'économie dépend de plus en plus d'un savoir complexe et de compétences cognitives de haut niveau¹.

Dans une économie de la connaissance, le vivier de diplômés en science et technologie (S&T) devient un enjeu majeur dans la compétition internationale. Aussi, la question du développement des formations scientifiques fait l'objet d'un intérêt croissant dans les pays industrialisés, comme dans les pays émergents.

Les craintes d'une désaffection des étudiants, en termes relatif et absolu, pour les filières scientifiques ne cessent de prendre de l'ampleur en Europe et plus particulièrement en France².

Selon les résultats de l'Eurobaromètre n° 224³ le niveau de savoir en sciences et technologies semble s'améliorer. Il s'agit néanmoins d'une vision en trompe l'œil comme le signalent les conclusions de l'Eurobaromètre, confirmées par un ensemble

¹ Organisation de Coopération et de Développement Economiques, Forum mondial de la science, Evolution de l'intérêt des jeunes pour les études scientifiques et technologiques, Rapport d'orientation, 4 mai 2006.

² Centre d'Analyse Stratégique, Note externe de veille n° 30, 16 octobre 2006.

d'études récentes qui portent sur l'intérêt des jeunes vis-à-vis des S&T. Toutes les études concordent : si les jeunes européens estiment les S&T et les métiers qui s'y réfèrent, reconnaissent l'importance de l'innovation en matière de développement économique et de progrès social, trop rares sont ceux qui envisagent de s'orienter vers les carrières scientifiques et techniques.

Il semble en effet que cette désaffection ne soit pas due à un désintérêt des jeunes envers les S&T, mais plutôt de leur manque d'affinité pour les études et les carrières scientifiques.

Susciter des vocations, accroître le vivier de scientifiques, répondre à la commande européenne selon les critères de la stratégie de Lisbonne... La question de l'enseignement des sciences est, pour la plupart des auteurs, prioritaire. Si le scientifique bénéficie d'une bonne image, les vocations doivent s'éveiller tôt, de même que la représentation des sciences et des métiers scientifiques.

En outre, une formation de qualité est indispensable car, si les initiatives pédagogiques ne manquent pas à l'école, l'enquête Eurobaromètre souligne que si, pour les jeunes, la science est facteur de progrès et d'emplois, plus de la moitié d'entre eux n'envisagent pas de l'étudier, et 69 % trouvent que l'enseignement des sciences n'est pas attrayant.

Le Forum mondial de la science rapporte lui aussi que le contenu des études scientifiques est souvent jugé « inintéressant et difficile » et que les mauvaises opinions sont souvent « liées à des expériences négatives à l'école ». Selon ce rapport portant sur 19 pays, le temps imparti à l'expérimentation est trop court, les savoirs enseignés sans rapport explicite avec la science de pointe ou ses récentes applications, et l'intérêt des recherches scientifiques pour la société ne fait pas sens pour l'élève.

Enfin, en France notamment, l'image que les jeunes se font des carrières scientifiques se limite trop souvent à l'enseignement ou à la recherche fondamentale. Les sciences de l'ingénieur, par ailleurs jugées trop élitistes, dissuadent les élèves, majoritairement les filles. La relation, pourtant essentielle, entre les études scientifiques, l'innovation et la valorisation de la recherche par l'entreprise demeurent, hélas, totalement opaques au regard des jeunes.

Aussi ne faut-il pas se démarquer de l'enseignement académique, jugé rébarbatif, et de le compléter par une approche pédagogique basée sur l'expérimentation, qui mette en valeur les applications de la recherche dans les domaines qui concernent la société et les jeunes, sans omettre leurs dimensions éthique et socio-économique ?

Dévoiler aux jeunes les relations entre la recherche d'une part, les produits et services innovants de l'autre, répond à leurs attentes en matière d'enseignement des sciences, selon les conclusions de toutes les enquêtes menées à ce sujet. Mais par ailleurs, pour parfaire cette démarche, encore faut-il sensibiliser les élèves sur la dimension entrepreneuriale de l'innovation. En abordant des cas concrets, il s'agit de montrer aux lycéens quels sont les ressorts qui permettent la création innovante, de l'idée au projet, du projet à la création d'entreprise. Susciter une vocation pour les S&T ne saurait suffire. Les métiers scientifiques, dans l'économie de la connaissance, ne se limitent pas à l'enseignement et la recherche publique, qui n'offrent de toute façon pas de débouchés suffisants. Pour que la science soit un moteur de développement économique et de progrès social, il faut plus que jamais sensibiliser et former les jeunes pour qu'ils se destinent aux métiers scientifiques et contribuent aux nouvelles phases de croissance économiques.

Stratégies du programme

Réf. : Rapport de Graciela Padoani-David, Docteur en Sciences de l'Education
PROFÉOR – CIREL ; Aide et Action International, ONG (organisation non gouvernementale) spécialisée en éducation

Les points forts :

- **La démocratisation de l'enseignement des sciences**
- **Une prérogative de l'Europe**
- **La nécessité de susciter un intérêt citoyen responsable auprès des plus jeunes**
- **Une valorisation des enjeux économiques régionaux**
- **Une nécessité de maintenir les enseignements performants : actions tuteurées**
- **Le bénéfice, la plus value apportés à l'ensemble de l'établissement : Innovation en Languedoc Roussillon : Région Pilote**
- **Un objectif de compétitivité nationale potentiellement transposable**

La démocratisation de l'enseignement des sciences

Les inégalités dans le domaine de l'éducation renvoient à de nombreuses formes d'inégalités sociales. Ces inégalités sont en partie liées à l'accès aux formations sélectives en France. Les politiques européennes en matière d'éducation et de jeunesse ont trois missions principales :

- Bâtir l'Europe de la connaissance,
- Développer l'espace culturel européen,
- Associer les citoyens à la construction européenne.

En France, force est de constater qu'actuellement ces filières scientifiques et techniques sont presque exclusivement fréquentées par des élèves issus des classes sociales les plus favorisées. Ces observations amènent à un constat évident un désintérêt de ces filières avec une baisse d'inscription dans l'enseignement supérieur sur les filières scientifiques.

Afin de remédier à cette injustice, une nouvelle politique de compensation des inégalités de destin a été mise en place, en 2005, avec une stratégie d'aide aux enseignements des sciences. Cette stratégie vise à se doter du bagage et des motivations nécessaires pour mieux réussir.

Le programme que L'école de l'ADN ambitionne, permettra d'améliorer le capital culturel, l'orientation, mais aussi accroîtra l'intérêt et la motivation pour entrer dans une formation supérieure orientée sur les sciences.

En France, le gouvernement a souhaité, qu'à partir de la rentrée 2006, la Charte pour **l'égalité des chances** se décline régionalement dans tous les établissements d'enseignements secondaire et supérieurs, publics et privés.

Le dispositif « PSE » : « Projet soutien à l'Excellence »

Le dispositif PSE porte sur le tutorat assuré dans des lycées. Les élèves bénéficient d'heures de tutorat par semaine en petits groupes. Les meilleures activités et stratégies pédagogiques mises en place dans les écoles ont été utilisées afin d'accroître l'accès des élèves à des enseignements très diversifiés.

Une nécessité de maintenir les enseignements performants : actions tuteurées

Les élèves vont bénéficier d'heures de tutorat par semaine en petits groupes. Les meilleures activités et stratégies pédagogiques mises en place sont utilisées afin d'accroître l'accès des élèves à l'éducation supérieure et par là, d'améliorer leurs connaissances et susciter de la curiosité scientifique. Le but était également d'accroître l'intérêt et la motivation des élèves, grâce à l'apport d'activités différentes leur permettant d'élargir leurs modes traditionnels d'apprentissage, et, de les aider à explorer la possibilité de continuer des études supérieures orientées en science.

Le tutorat semble forger chez les élèves « méritants » des dispositions plus favorables à la réussite scolaire mais aussi à l'élaboration d'ambitions, d'un sentiment d'excellence et d'un meilleur projet de carrière. Alors qu'ils n'ont pas de vues précises sur leur avenir en début d'année, les élèves, sont capables de définir le type d'études qu'ils envisagent de poursuivre pour entrer dans la carrière de leur choix.

L'objet de ces actions est de leur fournir un élargissement d'options de poursuite des études.

L'école de l'ADN au travers de ses ateliers peut proposer de réaliser des tutorats sous forme d'ateliers pour accompagner les élèves sur les expérimentations en science de la vie.

La réussite scolaire

Du point de vue des performances scolaires, tous les élèves ayant bénéficié du tutorat lors du «Projet soutien à l'excellence» ont des moyennes supérieures sur les deux années scolaires consécutives. On pouvait s'y attendre puisque ces élèves avaient été choisis parce qu'ils avaient de bons résultats scolaires. Par contre, à partir du second trimestre, la progression de leur moyenne générale est supérieure à celle des élèves n'ayant pas bénéficié du tutorat. Ces résultats sont statistiquement significatifs.

Les élèves de première qui avaient bénéficié du tutorat en seconde mais qui ne l'avaient pas poursuivi en première ont perdu leur avance sur leurs pairs (tous les autres élèves de première). La poursuite du tutorat en classe de première semble nécessaire pour en garder le bénéfice. Ces résultats restent à l'état de tendances car ils ne sont pas statistiquement significatifs.

Le dispositif semble avoir également facilité chez les élèves le développement des connaissances et des savoir-faire, des méthodes de travail, des capacités cognitives (développement de l'esprit critique), des attitudes envers autrui et vers la découverte du monde (savoir-être). Le dispositif semble également les avoir aidés à mobiliser l'intelligence pour réfléchir sur ce qu'on est en train de faire (métacognition) et sur le plaisir d'apprendre. Ces deux savoirs, savoir-faire et savoir être, sont utilisés dans les écoles supérieures et les grandes écoles en vue d'une meilleure formation de futurs cadres en entreprise.

Le bénéfice, la plus value apportés à l'ensemble des établissements : Innovation en Languedoc Roussillon - Région pilote

En plus des résultats prometteurs des élèves en ce qui concerne les performances scolaires, l'accroissement de l'intérêt et de la motivation pour apprendre (grâce à l'apport des activités leur permettant d'élargir leur manière traditionnelle d'apprendre), et l'accroissement de l'intérêt et de la motivation pour explorer la possibilité d'entrer dans une formation supérieure longue et/ou d'excellence, les résultats du projet PSE ont mis en relief un troisième aspect : la revalorisation de l'image du lycée. Le lycée est « tiré vers le haut », par cette implantation d'un lieu « d'excellence » dans une zone désqualifiée en tant que défavorisée.

Les professionnels du lycée affirment que, tout en étant conscients que le projet ne concerne qu'une minorité d'élèves, le dispositif a un effet « d'entraînement », « un effet d'osmose », sur les élèves, sur les professeurs, et sur l'établissement en général.

La Région Languedoc Roussillon sera la première à expérimenter un tel processus et modèle de travail : Coordonner un accompagnement en enseignement des sciences de la vie et fournir des matériels pour réaliser les expérimentations.

La prérogative des objectifs d'enseignements européens souhaite consolider ces actions qui englobent élèves, enseignants et établissement. Une troisième composante serait aussi la sensibilisation des parents sur les actions menées. Cette dernière composante sera gérée en partie par l'Ecole de l'ADN par des campagnes de médiatisation sur tous types de support media, (télévisuel, radiophonique, et presse écrite).

Un objectif de compétitivité nationale potentiellement transposable

Ce programme s'inscrit dans l'objectif thématique 11 (OT11) listé par l'union européenne et contribuant à l'UE 2020.

OT10 - Investir dans l'éducation, les compétences et la formation tout au long de la vie

L'objet d'un tel projet est d'expérimenter l'impact d'un service proactif à une échelle régionale, Au terme du contrat européen il s'agira de pouvoir le sous forme de « Concept » à l'échelle nationale. Un suivi européen sera réalisé par un rapport transversal des impacts attendus dans chaque disciplines (éducation, économie, compétitivité).

Les principaux objectifs du projet sont

- 1) d'accompagner matériellement et immatériellement sous forme de formations, d'enseignement des sciences de la vie ;
- 2) d'évaluer au moyen au moyen de formations des enseignants le bénéfice d'un soutien matériel pour l'enseignement des sciences de la vie;
- 3) de comparer et évaluer les résultats obtenus en 1) et 2);
- 4) de développer une action pilote innovante dans une région au cœur de la compétitivité nationale et de l'innovation.

- **3) Concept & objectifs**

Résumé du programme d'action

Pour répondre à ces problématiques, l'Ecole de l'ADN propose au travers de ce programme deux actions distinctes mais hautement complémentaires:

1/ Mise à disposition de kits pédagogiques

Au moyen du Centre d'Innovation, il s'agit de mettre à disposition dans chaque lycée un ensemble de kits pédagogiques constitués de 4 éléments pour illustrer simplement les thématiques des programmes de biologie depuis la seconde jusqu'à la terminale. Ce programme financera cette mise à disposition, de sorte que chaque lycée puisse avoir accès gracieusement aux outils pédagogiques.

2/ Formations des enseignants et ateliers tuteurés dans les lycées

L'Institut de Formation garantie :

- la formation des enseignants sur l'utilisation des kits,
- l'animation d'ateliers tuteurés en conditions réelles avec des élèves dans les établissements.

La répartition des actions se fera au travers de :

- De sessions de formations dans une douzaines de lycées différents par an de la région Languedoc-Roussillon pour environ 2 500 élèves et enseignants par an,
- De formations basées sur l'expérimentation et l'utilisation des kits :
 - en relation avec la science de pointe,
 - focalisées sur des applications récentes,
 - d'intérêt pour la société et notamment les jeunes,
 - qui valorisent l'innovation de la Région.

○ 1/ Mise à disposition de kits

Les kits de l'Ecole de l'ADN

Les kits de travaux pratiques de L'Ecole de l'ADN sont élaborés pour répondre aux programmes d'enseignement secondaire et supérieur. Ils comportent une phase expérimentale importante menée directement par l'élève avec des exigences de rigueur, d'habileté et de respect des principes d'hygiène et de sécurité.

Une telle phase pratique se replace dans l'ensemble d'un raisonnement scientifique expérimental. La méthodologie, alliée à la technique, correspond très bien à l'optique du programme et des objectifs des enseignements en sciences de la vie. De plus, le contact avec des aspects pratiques correspondant réellement à des processus de biotechnologie, concourt à une orientation positive vers des études scientifiques, en particulier dans le domaine des sciences biologiques. Il s'agit de travaux pratiques comportant une phase expérimentale importante menée directement par l'élève avec des exigences de rigueur, d'habileté et de respect des principes d'hygiène et de sécurité (fiche de donnée de sécurité disponible en ligne).

L'utilisation des kits de travaux pratiques a fait l'objet d'une mise en conformité relative à l'usage des organismes génétiquement modifiés auprès de la Commission de Génie Génétique

Les kits de l'école de l'ADN ont été développés spécifiquement pour répondre aux besoins techniques d'illustrations de programmes d'enseignements secondaire. Les kits proposés pour la mise à disposition gracieuse ont fait l'objet d'une validation dans le cadre de l'évaluation de capacités expérimentales (ECE) phase du programme scolaire obligatoire. Les notices techniques de chaque kit sont jointes en annexe, avec les fiches de données de sécurité. L'exploitation des résultats relatifs à l'exploitation des kits est disponible sur notre site en ligne sous format PDF, il est proposé de mettre à disposition ces résultats pour les élèves avec l'OrDi.

Proposition des quatre kits

Le choix de ces quatre kits est orienté sur les besoins d'enseignements depuis la seconde jusqu'à la terminale toutes filières confondues. L'ensemble de ces 4 kits permet de réaliser 3 expérimentations, dont chacune peut être mise à profit pour 50 binômes soit au total pour au moins plus de 150 élèves.

a) Premier kit proposé : Transgénèse

Ce kit pour 50 binômes, permet d'illustrer par la pratique, d'une part le principe de transgénèse et d'autre part les concepts de gène, de génotype et de phénotype. Il offre aussi la possibilité d'ouvrir la discussion sur la production de protéines recombinantes à usage thérapeutique (insuline ou hormone de croissance, par exemple), la technologie OGM, les antibiotiques, etc.

Il s'agit de transformer des bactéries de la souche *Escherichia coli* par un plasmide en utilisant la méthode du choc thermique.

Un plasmide est un ADN circulaire bactérien qui existe à l'état naturel et que les bactéries sont capables de se transmettre, notamment par conjugaison. Les plasmides contiennent plusieurs gènes parmi lesquels figurent fréquemment des gènes de résistance. Ils se répliquent de façon autonome au sein de la cellule bactérienne et sont transmis à sa descendance au cours de la division cellulaire.

Certains plasmides sont utilisés dans les laboratoires à des fins de transgénèse bactérienne. Grâce au génie génétique, il est très facile d'y insérer des séquences d'ADN choisies qui seront ainsi produites, voire même dans certains cas, exprimées par la bactérie hôte. C'est cette technologie du génie génétique qui a permis, entre autre, la production d'insuline ou d'hormone de croissance humaine recombinante.

Dans le protocole proposé, les bactéries sont transformées par un plasmide qui n'a pas été recombiné. Il conserve néanmoins sa capacité naturelle à transformer génétiquement une bactérie en lui conférant un génotype dont le phénotype est observable, en l'occurrence une résistance à un antibiotique, l'ampicilline. En effet, les bactéries transformées s'avèrent capables de croître sur un milieu qui contient cet antibiotique alors que les bactéries non transformées n'en sont pas capables.

Place dans les programmes

L'étude pratiquée à l'aide de ce kit s'accorde depuis la seconde jusqu'aux programmes de TS spécialité « Les enjeux actuels des biotechnologies » ; « La transgénèse et la construction d'organismes génétiquement modifiés (OGM).

L'élève reconnaît dans un document le principe, les étapes, les résultats et l'intérêt escompté de la pratique d'une transgénèse. De même, dans un texte ou une étude expérimentale, il repère et explique en utilisant ses connaissances, les problèmes soulevés par l'utilisation des OGM. L'élève doit saisir le lien entre la transgénèse qui s'effectue au niveau cellulaire et sa traduction à l'échelle de l'organisme entier.

b) Deuxième kit proposé : Diagnostic génétique

Pour de nombreuses maladies le diagnostic génétique reste souvent incontournable.

Ce kit développé pour 50 binômes illustre, le polymorphisme de longueur des fragments de restriction (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP) fait partie des méthodes de biologie moléculaire les plus employées. Cette technique permet de révéler des marqueurs génétiques, courtes séquences d'ADN qui diffèrent selon les individus, les espèces ou les genres. À la différence des cartes de liaison génétique qui ont longtemps reposé sur des mutations identifiées grâce à leurs effets sur le phénotype, le polymorphisme de restriction s'adresse indifféremment à des séquences d'ADN codant ou non codant. Le polymorphisme de restriction est basé sur la spécificité des enzymes de restriction en matière de reconnaissance d'une courte séquence d'ADN et de l'hydrolyse qu'elles y opèrent. De nombreux marqueurs génétiques dépendent ainsi de la manière dont de petites différences dans une séquence d'ADN peuvent modifier le profil de coupure par des enzymes de restriction.

Les applications sont multiples, cette technique peut être à la fois appliquée dans le cadre de l'identification d'un individu ou de la recherche d'une anomalie génétique à l'origine d'une pathologie.

Ce kit, dans sa conception, propose des ADN hydrolysés qui illustrent le diagnostic d'une pathologie génétique au travers de l'analyse de profils de restrictions.

La problématique posée est la suivante :

Deux ADN sont analysés par digestion enzymatique, sous l'action d'endonucléases de restriction. Identifiez l'ADN pathologique, sachant que l'un des deux ADN est représentatif de la population saine, et que la pathologie au niveau génétique est causée par une perte d'ADN (une délétion).

Grâce à cette version de réactifs, l'élève se contente de déposer uniquement les échantillons d'ADN sur gel d'agarose en vue de l'analyse et de l'interprétation du diagnostic génétique.

Place dans les programmes

L'étude pratiquée à l'aide de ce kit s'accorde avec le programme de TS spécialité les méthodes de diagnostic et variation du génome.

Une telle phase pratique se replace dans l'ensemble d'un raisonnement scientifique expérimental. Cette méthodologie, alliée à une technique, correspond très bien à l'optique du programme et des objectifs de spécialité SVT de terminale S. De plus, ce contact avec des aspects correspondant réellement à des processus de biotechnologie concourt à une orientation positive vers des études scientifiques, en particulier dans le domaine des sciences de la vie.

c) Troisième kit proposé : Empreintes génétiques

Les techniques d'investigation criminalistiques rendent incontournables les tests ADN dans un cadre judiciaire.

Ce kit développé pour 50 binômes, comme le précédent illustre l'analyse de polymorphisme de longueur des fragments de restriction (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP) fait partie des méthodes de biologie moléculaire les plus employées. Cette technique permet de révéler des marqueurs génétiques, courtes séquences d'ADN qui diffèrent selon les individus, les espèces ou les genres. À la différence des cartes de liaison génétique qui ont longtemps reposé sur des mutations identifiées grâce à leurs effets sur le phénotype, le polymorphisme de restriction s'adresse indifféremment à des séquences d'ADN codant ou non codant.

Le polymorphisme de restriction est basé sur la spécificité des enzymes de restriction en matière de reconnaissance d'une courte séquence d'ADN et de l'hydrolyse qu'elles y opèrent. De nombreux marqueurs génétiques dépendent ainsi de la manière dont de petites différences dans une séquence d'ADN peuvent modifier le profil de coupure par des enzymes de restriction.

Les applications sont multiples, cette technique peut être à la fois appliquée dans le cadre de l'identification d'un individu ou de la recherche d'une anomalie génétique à l'origine d'une pathologie.

Ce kit, dans sa conception, propose des ADN hydrolysés qui illustrent l'analyse de polymorphismes au travers des empreintes génétiques. Les premiers profils génétiques dans les années 1980, ont été pratiqués grâce à des endonucléases de restriction.

Ces quatre ADN hydrolysés sont prêts à être déposés sur gel pour être comparés entre eux. L'un d'eux étant une empreinte génétique de référence, à comparer à celles de 3 individus mis en cause. Les réactifs permettent l'obtention de profil qui sont comparés à la scène de crime.

Grâce à cette version, l'élève se contente de déposer uniquement les échantillons d'ADN sur gel d'agarose en vue de l'analyse et de l'interprétation des empreintes génétiques.

Place dans les programmes

Ce kit peut s'adapter depuis la seconde jusqu'à la terminale, il exploite en seconde la part du programme consacré aux Méthode et Pratiques Scientifiques (MPS). En première ce kit illustre le polymorphisme du génome, en terminale le programme en spécialité SVT traite de la complexité des caractères transmissibles, dans les autres filières ce kit peut être utilisé de manière ludoéducative pour illustrer notre génome.

d) Quatrième kit proposé : Préparation de gels d'agarose

L'analyse des fragments d'ADN en fonction de leur taille est un procédé usuel en biologie moléculaire. Cette méthode repose sur une technique électrophorétique qui peut s'utiliser sur différents supports. L'électrophorèse est une méthode de séparation de particules chargées électriquement par migration différentielle sous l'action d'un champ électrique. Elle se réalise sur des supports gélamineux, de type acrylamide, agarose ou semi solide de type capillaire. Le gel d'acrylamide ou l'électrophorèse capillaire, méthodes délicates et onéreuses, permettent d'analyser des fragments d'ADN de très petites tailles et donnent la possibilité d'une résolution de l'ordre de la paire de base. L'agarose, qui est un polysaccharide extrait

d'une algue, la Rhodophyceae, permet d'analyser de manière très simple des fragments d'ADN d'une centaine à quelques dizaines de milliers de nucléotides, obtenus après hydrolyse par des endonucléases de restriction ou amplifiés par PCR.

Ce kit propose les réactifs nécessaires à la fabrication d'un gel d'agarose, ainsi qu'à la coloration des fragments d'ADN.

Place dans les programmes

Il s'agit de réactifs complémentaires destinés aux enseignants ou aux techniciens de laboratoire, mais l'utilisation peut être aussi étendue aux élèves.

La réalisation d'un gel d'agarose est une application concrète d'un processus de biotechnologie et concourt à une orientation positive vers des études scientifiques, en particulier dans le domaine des sciences de la vie.

○ Modalités de mise à disposition

Les kits seront expédiés dans chaque établissement de la région, à la demande des enseignants sur les périodes proposées par l'Ecole : soit en début d'année scolaire soit en début d'année civile. Deux créneaux d'expéditions leurs seront donc proposés.

Le suivi des expéditions est assuré par un suivi courrier de type Colissimo®.

Le plan de financement intègre la préparation, la production, le suivi et l'expédition des 4 kits.

Le montant de cette dotation matérielle par établissement par an est de 350 euros frais de port inclus.

La TVA n'est pas applicable.

2/ Formations des enseignants et ateliers tuteurés dans les lycées

- Les formations pour les enseignants:

Les sessions de formations sont réalisées par le personnel de l'Ecole de l'ADN dans un environnement de laboratoire, le plus souvent dans une salle du Lycée. Pendant les formations, les enseignants réalisent des expérimentations de manière autonome, soutenus par les formateurs. Le contenu des formations est complémentaire des programmes d'enseignement de sciences de la vie et de physique chimie. Ils allient pratique et théorie par une approche didactique cohérente et progressive qui permet d'introduire les éléments théoriques et discuter des applications de la recherche en mettant à profit les temps morts de l'expérimentation. Chaque formation peut durer de quelques heures à plusieurs jours.

L'objectif pédagogique consiste à dévoiler simultanément aux enseignants la dimension expérimentale des sciences, la valorisation des avancées technologiques, ainsi que les dimensions éthique et socio-économique des applications de la recherche. Ainsi, enseignants et lycéens acquièrent-ils une vision plus globale des S&T, comme ils développent des compétences en matière d'identification de problèmes, de formulation d'hypothèses, de méthodologie expérimentale...

Pour les élèves, montrer ce que la science est, par l'approche expérimentale, et comment les découvertes scientifiques génèrent le progrès social, en insistant sur la valorisation de la recherche par l'entrepreneuriat mais aussi sur les problèmes de risque / bénéfice, stimule l'intérêt des jeunes pour les carrières scientifiques et donne du sens à leurs représentations des S&T.

Les sessions de formations sont, pour la plupart, réalisées directement dans les établissements à la demande des enseignants, grâce aux trois laboratoires mobiles dont dispose l'École de l'ADN. Chaque session de formation s'étale sur 1 à 2 demi-journées, par établissement, et concerne les enseignants de SVT désireux de se former.

Seront proposées deux sessions de formations par trimestre pour les enseignants. Ces sessions seront proposées les mercredi après midi, le nombre maximal de participants sera de 16 enseignants par session.

Coût d'une session de formation : 900 euros tous frais compris (déplacements et matériels).

Le plan de financement englobe ces coûts.

- Les ateliers pour les lycéens :

Pour cette action nous appliquons notre cœur d'activité validé depuis la création de l'Ecole de l'ADN, et réalisé lors du précédent FEDER 2009-2013 « Science et Innovation au Lycée ».

Les formations sont réalisées sur les temps d'enseignement dévoués aux sciences de la vie et de la terre ou à la physique chimie.

Elles se présentent sous la forme d'ateliers scientifiques, dédiés à la biotechnologie et aux sciences de la vie (cf. liste des ateliers ci-dessous).

Chaque session de formation est organisée en étroite collaboration avec un ou plusieurs professeurs de l'établissement afin de définir les contenus et les emplois du temps. Une convention décrivant toutes les modalités d'intervention est signée avec chaque établissement où intervient l'école de l'ADN. Un bilan est fourni pour chaque intervention, qui rend compte des formations réalisées, sur les plans quantitatifs et qualitatifs, grâce à des questionnaires d'évaluation renseignés par les enseignants. La plupart des sessions de formation sont assorties de débats sociétaux qui visent à sensibiliser les jeunes sur les avancées des technologies en sciences de la vie.

Par ailleurs, tous les domaines de l'innovation en rapport avec la S&T peuvent être abordés, sans le moindre cloisonnement disciplinaire ou sectoriel :

- Innovation et technologies du futur ;
- Développement de nouveaux produits, procédés ou services, en utilisant des technologies de rupture ou en émergence ;
- Innovation patrimoine et technologie ;
- Approche innovante d'un marché existant, développement d'une évolution technologique ;

- Innovation et société ;
- Innovation dans le domaine du développement durable, des services à la personne, développement des technologies sociétales ;
- Innovation et formation ;
- Innovation et stratégie ;
- Innovations dans les domaines du marketing ou de la propriété intellectuelle...

Principe et contenus des ateliers

L'objet d'un atelier de l'école de l'ADN est le plus souvent une technique ou une méthode expérimentale plutôt qu'un thème théorique, qui va permettre d'illustrer une ou plusieurs applications d'un domaine scientifique et technique. La spécificité des ateliers de l'école de l'ADN tient en cet objectif : présenter de façon simultanée, cohérente, dynamique et rythmée, méthodes, concepts et applications.

Le stagiaire est placé très rapidement en situation d'acteur réalisant une expérimentation. Il va mettre en œuvre un protocole expérimental qui sera commenté étape par étape. La pleine compréhension de ce protocole est indispensable à la réussite de l'atelier. Les temps morts de l'expérimentation sont employés pour introduire les concepts utiles à la compréhension des méthodes présentées d'une part, des applications d'autre part. La présentation des concepts s'articule de manière progressive et cohérente et s'appuie le plus possible sur l'interactivité.

Les applications des méthodologies abordées sont présentées sans omettre leurs éventuelles dimensions éthique et socio-économique, qui peuvent servir de support à la discussion ou au débat qui suit l'analyse des résultats. Si le formateur abonde en arguments pour alimenter le débat, il doit s'abstenir de le diriger. Le groupe de stagiaires est en mesure de débattre par lui-même. Lorsque les applications sont sujettes à controverse, les différents arguments qui nourrissent la polémique sont exposés sous un angle critique. Sur cette base argumentaire, les stagiaires peuvent débattre et se forger une opinion selon leur propre sensibilité. Les enseignants sont invités à compléter cette approche par un travail en classe, individuel ou collectif, ou par des travaux personnels encadrés (TPE).

Présentation des ateliers proposés

Les informations exhaustives sur le contenu de nos ateliers sont disponibles sur notre site: www.ecole-adn.fr

1/ Unité et diversité du monde vivant

Durée : 1h30 à 3h00 selon les modules choisis.

Thèmes abordés : ADN, cellule, organisation des êtres vivants.

2/ L'ADN, support de l'information génétique

Durée : 2h00.

Thèmes abordés : phénotype / génotype ; structure et fonction de l'ADN ; mutation génétique ; recombinaison ; transgénèse, OGM

3/ Transgénèse

Durée : 2h30.

Thèmes abordés : phénotype / génotype ; recombinaison ; transgénèse ; antibiotique ; antibiothérapie ; protéine recombinante ; génie génétique.

4/ L'ADN, support d'identité

Durée : 2h00.

Thèmes abordés : Structure de l'ADN ; enzymes de restriction et RFLP ; empreintes génétiques / sélection variétale ; électrophorèse.

5/ De la mutation génétique à la pathologie

Durée : 2h00.

Thèmes abordés : Structure et fonction de l'ADN ; mutation ; transcription et traduction ; RFLP ; structure des gènes et du génome ; myopathies ; médecine prédictive ; thérapie génique.

6/ Identification humaine : les empreintes génétiques en pratique judiciaire

Durée : 2h30.

Thèmes abordés : Structure de l'ADN ; réplication de l'ADN ; réaction de polymérisation en chaîne (PCR) appliquée à l'identification humaine ; empreintes génétiques en pratique judiciaire (civil & pénal).

7/ La phylogénie moléculaire

Durée : 2h00

Thèmes abordés : enzyme de restriction, RFLP ; électrophorèse ; homologues de séquence ; phylogénie ; évolution ; classification ; génotype, phénotype ; biodiversité.

8/ Criminalistique

Durée : 2h00

Thèmes abordés : oxydo-réduction ; identification humaine ; RFLP ; PCR appliquées à l'administration de la preuve (civil & pénal).

- **4) Gratuité pour les usagers**

Les opérations proposées par l'École de l'ADN aux lycées sont gratuites. Seuls les frais de déplacement et d'hébergement sont facturés aux établissements au profit desquels l'École de l'ADN se déplace.

- **5) Accessibilité à d'autres publics**

Les opérations proposées par l'École de l'ADN sont accessibles à tous les publics, gratuitement à l'échelle régionale, exception faite de la mission de formation professionnelle et continue.

Néanmoins, les opérations destinées aux publics non lycéens ne font pas partie de l'action dont relève la présente demande de financement.

- **6) Historique de l'action**

Les opérations prévues dans le cadre de cette action sont récurrentes. L'École de l'ADN a débuté ses actions de formation auprès des lycées dès son ouverture, en novembre 1998. Elle a mis en place les formations en itinérance, directement dans les établissements, en 2000.

La liste des ateliers scientifiques proposée aux lycées a été enrichie à deux reprises, en 2002 et 2005. Ceux-ci ont été régulièrement réévalués pour répondre aux exigences des programmes d'enseignement d'une part, aux demandes des enseignants de l'autre. Enfin, l'accent est mis sur la sensibilisation des lycéens en matière d'innovation dans le domaine des sciences de la vie.

- **6) Les partenaires scientifiques de l'action et autres partenariats**

Cf. pièces jointes, Bilan 2013 — Programme 2014, page 14.

- **7) Impacts attendus de l'action**

La présente action poursuit un double objectif selon deux approches complémentaires.

Par des formations, sous forme d'ateliers scientifiques basés sur l'expérimentation et des technologies récentes, qui mettent en avant des applications de pointe, d'intérêt pour la société et les jeunes, l'action vise à promouvoir l'intérêt des lycéens pour les S&T et à susciter les vocations pour les métiers scientifiques et techniques.

Les ateliers seront complétés par une sensibilisation des lycéens à l'innovation industrielle, de sorte qu'ils appréhendent les ressorts et les problématiques liés à la valorisation de la recherche, nécessaires au maintien et au développement du progrès économique et social dans une économie de la connaissance dépendante des S&T.

Globalement, l'objet de cette action consiste à inciter les lycéens, au moment de leur cursus où ils vont choisir l'orientation de leurs études supérieures, à envisager avec plus d'enthousiasme les carrières S&T et pour vocation d'entreprendre dans les domaines les plus variés de l'innovation.

Pour couvrir le territoire régional, l'École de l'ADN réalise ses formations directement dans les lycées qui en font la requête. Les formateurs de l'École de l'ADN, équipés de leurs laboratoires mobiles, s'installent dans les établissements pendant plusieurs jours. Ils y occupent une salle de travaux pratiques où les classes défilent pour des formations dont la durée moyenne est de 2h00.

Cette méthode permet de diversifier les lieux et thèmes de formation et de culture scientifique en Région d'une part, d'assurer un service pérenne d'autre part.

La mission sera réalisée de façon homogène sur toute la Région, les départements de l'Aude, la Lozère, des Pyrénées-Orientales feront l'objet d'un effort particulier

- **8) Articulation de l'action avec d'autres actions de culture scientifique**

L'École de l'ADN accomplit ses missions auprès des lycées de façon autonome.

- **9) Méthodes d'évaluation prévues**

À l'issue du programme opérationnel, un compte-rendu détaillé de la fréquentation des lycéens sera fourni. Une synthèse statistique qui rende compte de la fréquentation par département et par lycée et du volume horaire de formation complètera ce compte-rendu.

Un récapitulatif exact des moyens mis en œuvre et des dépenses sera rendu avec justificatifs.

Le coût par lycéen sera calculé de sorte à le comparer au prévisionnel et évaluer le budget de l'exercice suivant.

Rappel : Une convention décrivant toutes les modalités d'intervention est signée avec chaque établissement où intervient l'école de l'ADN. Un bilan est rédigé à l'issue de chaque intervention, qui rend compte des formations réalisées, sur les plans quantitatifs et qualitatifs par le biais de questionnaires d'évaluation renseignés par les enseignants.

III. Budget

1) Coût du projet sur 3 ans

L'école de l'ADN n'est pas assujettie à la TVA, les budgets sont donc présentés TTC.

Intitulé de l'action :	SCIVEX
Années concernées :	2015-2016-2017
Calendrier prévisionnel :	2015-2027
Commencement d'exécution :	1er janvier 2015
Fin d'exécution prévue :	31 décembre 2017.

Le plan de financement est détaillé dans le dossier financier:

CALENDRIER DETAILLE DE L'OPERATION

Prévisionnel des actions sur 3 ANS

Année 2015

- Du 1er au 31 janvier expéditions des kits dans 40 lycées
- Du 1^{er} février au 30 mai, ateliers et tutorat dans 10 établissements, et accompagnement des enseignants
- Du 1 juin au 31 août production des kits et des documents associés
- Du 1^{er} au 30 septembre expéditions des kits dans 40 lycées
- Du 1^{er} octobre au 31 décembre ateliers et tutorat dans 10 établissements, et accompagnement des enseignants

Année 2016

- Du 1er au 31 janvier expéditions des kits dans 40 lycées
- Du 1^{er} février au 30 mai, ateliers et tutorat dans 10 établissements, et accompagnement des enseignants
- Du 1 juin au 31 août production des kits et des documents associés
- Du 1^{er} au 30 septembre expéditions des kits dans 40 lycées
- Du 1^{er} octobre au 31 décembre ateliers et tutorat dans 10 établissements, et accompagnement des enseignants

Année 2017

- Du 1er au 31 janvier expéditions des kits dans 40 lycées
- Du 1^{er} février au 30 mai, ateliers et tutorat dans 10 établissements, et accompagnement des enseignants
- Du 1 juin au 31 août production des kits et des documents associés
- Du 1^{er} au 30 septembre expéditions des kits dans 40 lycées
- Du 1^{er} octobre au 31 décembre ateliers et tutorat dans 10 établissements, et accompagnement des enseignants

2) Montant du financement FEDER sollicité

Montant global du financement FEDER: 277 708,00 €

- Une participation de la Région Languedoc-Roussillon à hauteur de 0 % ;
- Une participation de l'Union Européenne (FEDER) à hauteur de 53,3 % ;
- Un apport en ressources propres de l'École de l'ADN à hauteur de 46,7 %.

IV. Signatures

Date : 15 janvier 2015

Représentant légal et

Responsable de l'action :

A blue ink signature, appearing to be 'R. Belaiche', written in a cursive style.

Raphaël Belaiche, président,
et,
par délégation,
Christian Siatka, directeur général

A blue ink signature, appearing to be 'C. Siatka', written in a cursive style.

Christian Siatka, directeur général

V. Pièces jointes

- Statuts de l'association ;
- Bilan 2014, programme 2015 ;
- Bilan et compte de résultat 2014 ;
- Notices techniques des kits mis à disposition

NOTICE TECHNIQUE

Expérimentation

Transgénèse bactérienne

Ce document est un support pour l'enseignant utilisateur et pour les élèves qui réalisent l'expérience. Les instructions décrites ont pour objectifs de présenter la préparation de la séance et la part d'expérimentation liée aux élèves. Il appartient à l'enseignant d'adapter au mieux la part expérimentale pour les élèves.

1- PRESENTATION

1-1 OBJECTIF

Ce kit permet d'illustrer par la pratique, d'une part le principe de transgénèse et d'autre part les concepts de gène, de génotype et de phénotype. Il offre aussi la possibilité d'ouvrir la discussion sur la production de protéines recombinantes à usage thérapeutique (insuline ou hormone de croissance, par exemple), la technologie OGM, les antibiotiques, etc.

Il s'agit de transformer des bactéries de la souche *Escherichia coli* par le plasmide pUC18 en utilisant la méthode du choc thermique.

Un plasmide est un ADN circulaire bactérien qui existe à l'état naturel et que les bactéries sont capables de se transmettre, notamment par conjugaison. Les plasmides contiennent plusieurs gènes parmi lesquels figurent fréquemment des gènes de résistance. Ils se répliquent de façon autonome au sein de la cellule bactérienne et sont transmis à sa descendance au cours de la division cellulaire.

Certains plasmides sont utilisés dans les laboratoires à des fins de transgénèse bactérienne. Grâce aux enzymes de restriction, il est très facile d'y insérer des séquences d'ADN choisies qui seront ainsi produites, voire même dans certains cas, exprimées par la bactérie hôte. C'est cette technologie du génie génétique qui a permis, entre autre, la production d'insuline ou d'hormone de croissance humaine recombinante.

Dans le protocole proposé, les bactéries sont transformées par un plasmide qui n'a pas été recombiné. Il conserve néanmoins sa capacité naturelle à transformer génétiquement une bactérie en lui conférant un génotype dont le phénotype est observable, en l'occurrence une résistance à un antibiotique, l'ampicilline. En effet, les bactéries transformées s'avèrent capables de croître sur un milieu qui contient l'antibiotique alors que les bactéries non transformées n'en sont pas capables.

1-2 Méthodologie

Il s'agit de travaux pratiques comportant une phase expérimentale importante menée directement par l'élève avec des exigences de rigueur, d'habileté et de respect des principes d'hygiène et de sécurité. Une telle phase pratique se replace dans l'ensemble d'un raisonnement scientifique expérimental. Cette méthodologie, alliée à une technique, correspond très bien à l'optique du programme de seconde.

De plus, ce contact avec des aspects correspondant réellement à des processus de biotechnologie concourt à une orientation positive vers des études scientifiques, en particulier dans le domaine des sciences de la vie.

1-3 Place dans les programmes

Ce kit s'accorde avec le nouveau programme de seconde dans le chapitre : « THÈME I – LA TERRE DANS L'UNIVERS, LA VIE ET

L'EVOLUTION DU VIVANT : UNE PLANÈTE HABITÉE » au niveau « La nature du vivant ».

L'élève reconnaît dans un document le principe, les étapes, les résultats et l'intérêt escompté de la pratique d'une transgénèse. De même, dans un texte ou une étude expérimentale, il repère et explique en utilisant ses connaissances, les problèmes soulevés par l'utilisation des OGM.

L'élève doit saisir le lien entre la transgénèse qui s'effectue au niveau cellulaire et sa traduction à l'échelle de l'organisme entier.

2- PRESENTATION DU KIT

Ce kit permet la réalisation de 50 expériences complètes.

2-1 Constitution du coffret 50 postes

- 13 g de poudre de milieu de culture LB ;
- 64 g de poudre de milieu de culture LA ;
- 3 ml de solution de chlorure de calcium à 0,5 mol / l ;
- 1 tube de billes de verre ;
- 5 ml d'ampicilline à 20 g / l ;
- 700 µl de plasmide pUC18 ;
- 1 isolement d'*E.coli* sur boîte de pétri.

2-2 Caractéristiques

- Les bactéries :
Souche : *E. coli*, fournie en isolement sur milieu LA (1 boîte de petri).
- Le plasmide pUC18 :
Il exprime un gène de résistance à l'ampicilline (classe I des antibiotiques), solution à 10 microgrammes / ml, prête à l'emploi.
- Le chlorure de calcium :
Solution à 0,5 mol / l, à diluer au 1 / 10ème et à autoclaver.
- L'ampicilline :
Solution à 20 g / l, prête à l'emploi.
- Les milieux de culture :
Fournis sous forme de poudre.
 - Luria Broth (LB) : préparer une suspension de LB à 25 g / l d'eau distillée et autoclaver. Ce milieu liquide peut se conserver plusieurs semaines au réfrigérateur si les conditions de stérilité sont respectées.
 - Luria Agar (LA) : préparer une suspension de LA à 40 g / l d'eau distillée et autoclaver. L'ampicilline doit impérativement être rajoutée, à (0,1 g / l), après l'autoclave et refroidissement du milieu à une température inférieure à 50°C. Le milieu est alors réparti sans attendre dans les boîtes de pétri. Les boîtes peuvent être conservées au réfrigérateur plusieurs semaines, emballées dans du papier cellophane, couvercle vers le bas, à condition de respecter les conditions de stérilité.
- Les billes de verre pour étaler :
Fournies dans le kit, à autoclaver avant usage.

2-3 Conseils d'utilisation des réactifs :

- Stockage à température ambiante des milieux de culture en poudre LA et LB ainsi que des billes de verre.
- Stockage à 2-8°C du chlorure de calcium et des boîtes d'*E.coli* (à repiquer tous les mois minimum).

- Stockage à -20°C de l'ampicilline et du plasmide.

Dans tous les cas se référer aux spécifications de stockage mentionnées sur l'étiquette

3- PROTOCOLE

Matériels complémentaires nécessaires au laboratoire (non fournis):

- Microtubes 1,5 ml ;
- Boîtes de petri diamètre 60 x15 mm ;
- Ensemenceurs stériles ;
- Liquepettes ou pipettes polypropylène 0,5 ml ;
- Micropipettes (facultatif : voir protocole expérimental alternatif) ;
- Microfuge (facultatif : voir protocole expérimental alternatif) ;
- Bain-marie (facultatif : voir protocole expérimental alternatif).

Opérations préalables aux travaux pratiques

- Stérilisation du matériel et des réactifs

Les billes de verre, les pointes de micropipettes, le chlorure de calcium et l'eau distillée doivent être stérilisés avant utilisation. La stérilisation peut être réalisée à l'aide d'un autoclave ou d'une cocotte minute (20 minutes après que la soupape chuchote).

- Préparation des milieux de culture :

- Le milieu de culture LB s'utilise à la concentration de 25 g par litre d'eau distillée que l'on ajoute à la poudre avant de stériliser. Après stérilisation, le milieu est réparti pour l'expérimentation dans des tubes stériles à raison de 0,5 ml de milieu par tube. Il sera également utilisé pour la culture des bactéries préalable à l'expérimentation (prévoir un récipient stérile d'un volume cinq fois supérieur à celui de la culture désirée).

- Le milieu de culture LA s'utilise à la concentration de 40 g par litre d'eau distillée et doit être également stérilisé. Après stérilisation, lorsque le milieu atteint environ 50°C l'ampicilline peut être rajoutée à la concentration de 1 ml d'ampicilline pour 200 ml de milieu de culture (l'ampicilline ne doit en aucun cas être autoclavée). Les boîtes peuvent ensuite être coulées à raison de 6 à 7 ml de milieu par boîte. Les boîtes sans ampicilline peuvent être coulées immédiatement après stérilisation.

- Préparation des solutions :

- Le chlorure de calcium doit être dilué au dixième avec de l'eau distillée, puis stérilisé avant d'être réparti dans des tubes stériles à raison de 0,5 ml par tube.

- Le plasmide est prêt à l'emploi et doit être réparti à raison de 12 microlitres dans des tubes stériles.

- Préparation des bactéries :

- Piquer une ou plusieurs colonies d'une boîte de pétri à l'aide d'un cure-dent ou d'un ensemenceur stérile, puis ensemencer (les mettre en culture) dans un flacon stérile contenant du milieu LB, à 37°C, de préférence sous agitation.

- Au bout de 12 à 24h le milieu devient trouble. Répartir alors les bactéries à raison de 1 ml par tube stérile.

4- PREPARATION DE L'EXPERIMENTATION

4-1 Préparation préalable de la séance

Pour chaque poste, préparer préalablement la veille ou le jour même:

- 2 microtubes contenant 1 millilitre chacun de culture bactérienne (en milieu LB) ;
- 1 microtube d'eau stérile (12 microlitres) ;
- 1 microtube contenant 500 microlitres de chlorure de calcium à 50 mmol / l ;
- 1 microtube contenant 12 microlitres de plasmide pUC18 ;
- 1 microtube contenant 500 microlitres de milieu LB ;
- 2 boîtes de pétri contenant le milieu LA sans ampicilline et 3 ou 4 billes de verre stériles ;
- 2 boîtes de pétri contenant le milieu LA avec ampicilline et 3 ou 4 billes de verre stériles.

4-2 Déroulement de la séance (manipulation par les élèves)

- Marquer un tube contenant la culture bactérienne « pUC + » ; marquer le second tube contenant la culture bactérienne « pUC - » ;
- Centrifuger les deux tubes « pUC + » et « pUC - » à 3 500 tours / minute, 3 à 4 minutes ;
- Eliminer le surnageant ;

Reprenre le culot bactérien dans :

- tube « pUC + » : 200 microlitres de chlorure de calcium et 10 microlitres de pUC18 ;
- tube « pUC - » : 200 microlitres de chlorure de calcium et 10 microlitres d'eau stérile ;

- Mélanger par retournements du tube ou par aspirations refoulements à l'aide de la micropipette. La suspension doit être homogène.

- Disposer les 2 tubes dans la glace pendant 10 minutes minimum ;

- Placer les 2 tubes au bain-marie à 42°C pendant précisément 90 secondes ;

- Replacer les 2 tubes dans la glace pendant 10 minutes minimum ;

- Rajouter 200 microlitres de milieu LB à chacun des deux tubes ;

- Ensemencer les boîtes de petri en déposant :

100 microlitres du tube « pUC + » dans une boîte avec ampicilline ;

100 microlitres du tube « pUC + » dans une boîte sans ampicilline ;

100 microlitres du tube « pUC - » dans une boîte avec ampicilline ;

100 microlitres du tube « pUC - » dans une boîte sans ampicilline.

Penser à identifier les boîtes.

- Faire rouler les billes sur la gélose en les agitant par glissement sur la paillasse pour bien étaler la suspension bactérienne ;

- Éliminer les billes ;

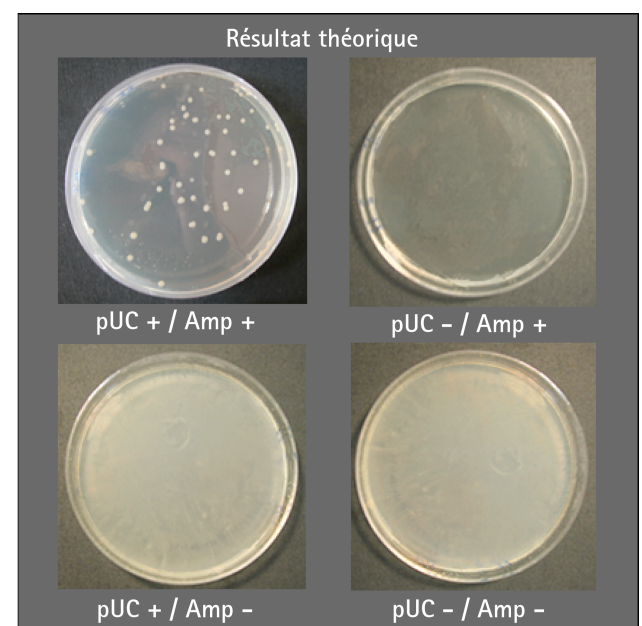
- Emballer sous papier cellophane les 4 boîtes et les incuber 24 heures à 37°C ou 48 heures à température ambiante, couvercle en bas ;

Passé ce délai, stocker les boîtes au réfrigérateur jusqu'à ce que les élèves puissent les observer (emballées sous cellophane, les colonies se maintiennent six semaines).

4-3 Résultats attendus

Dans les boîtes contenant l'ampicilline, les bactéries transformées par pUC18 forment quelques colonies éparées, les bactéries non transformées ne forment pas de colonies.

Dans les boîtes ne contenant pas d'ampicilline, les bactéries, qu'elles soient transformées ou non par pUC18, forment généralement des colonies confluentes (tapis de bactéries).



4-4 Protocole expérimental alternatif

Ce protocole permet aux élèves de réaliser l'expérimentation dans d'excellentes conditions sans employer ni centrifugeuse, ni micropipettes, ni bain-marie.

- **Préparation préalable de la séance**

Pour chaque poste, préparer préalablement la veille ou le jour même:
1 microtube, marqué « pUC + », contenant 200 microlitres de chlorure de calcium 50 mM et 10 microlitres de pUC18 ;
1 microtube, marqué « pUC - », contenant 200 microlitres de chlorure de calcium 50 mM et 10 microlitres d'eau distillée stérile ;
1 microtube contenant 500 microlitres de milieu LB ;
2 boîtes de petri contenant le milieu LA sans ampicilline et 3 ou 4 billes de verre stériles ;
2 boîtes de petri contenant le milieu LA avec ampicilline et 3 ou 4 billes de verre stériles ;
Quelques boîtes de petri ensemencées d'E. coli (isolements).

- **Déroulement de la séance (manipulation par les élèves)**

Prélever 3 à 4 colonies d'E.coli avec un ensemenceur stérile à partir des isolements, puis les déposer dans les tubes « pUC + » et « pUC - ».

Mélanger par retournements successifs, 2 à 3 minutes, la suspension doit être homogène ;

Disposer les 2 tubes dans la glace pendant 10 minutes minimum ;
Placer les 2 tubes au bain-marie à 42°C pendant précisément 90 secondes (le bain-marie peut être préparé dans un cristalliseur en mélangeant eau chaude et eau froide en contrôlant la température grâce à un thermomètre) ;

Replacer les 2 tubes dans la glace pendant 10 minutes minimum ;
À l'aide de liquipettes ou de pipettes en polyéthylène, ajouter 200 microlitres environ de milieu LB à chacun des deux tubes (6 à 7 gouttes) ;

À l'aide de liquipettes ou de pipettes polyéthylène stériles, ensemencer les boîtes de pétri en déposant :

100 microlitres du tube « pUC + » dans une boîte avec ampicilline ;
100 microlitres du tube « pUC + » dans une boîte sans ampicilline ;
100 microlitres du tube « pUC - » dans une boîte avec ampicilline ;
100 microlitres du tube « pUC - » dans une boîte sans ampicilline.

100 microlitres équivalent à 3 à 4 gouttes de solution.

Faire rouler les billes sur la gélose en les agitant par glissement sur la paillasse pour bien étaler la suspension bactérienne ;

Éliminer les billes ;

Emballer sous papier cellophane les 4 boîtes et les incuber 24 heures à 37°C ou 48 heures à température ambiante, couvercle en bas ;

Passé ce délai, stocker les boîtes au réfrigérateur jusqu'à ce que les élèves puissent les observer (emballées sous cellophane, les colonies se maintiennent six semaines).

5- CONSIGNES DE SECURITE

Ce kit de travaux pratiques a reçu l'agrément 4056 de la Commission du Génie Génétique. L'utilisation de ce kit de travaux pratiques doit faire, de la part de l'établissement, l'objet d'une mise en conformité relative à l'usage des organismes génétiquement modifiés. Il est conseillé de respecter toutes les précautions de manipulation spécifiques aux laboratoires de Classe L1.

Les réactifs qui constituent ce kit pédagogique ne présentent aucun caractère dangereux, toxique ou pathogène. La fiche de sécurité MSDS est disponible, sur simple demande auprès de l'École de l'ADN.

Au début de chaque formation, il est néanmoins important de sensibiliser les élèves aux risques encourus lors des manipulations :

Mesures d'hygiène : se laver les mains avant et après l'expérimentation ;

Se référer aux mesures de sécurité d'utilisation des appareils électriques et matériels ;

Utiliser les précautions d'usage pour toutes manipulations de produits dangereux ou toxiques.

En cas d'ingestion informez le médecin responsable ou contactez le centre antipoison le plus proche.

Précautions spécifiques :

Le port de gants et de la blouse est conseillé.

Les réactifs usagés ne doivent pas être répandus dans l'environnement.

Tous les déchets doivent faire l'objet d'une récupération en vue d'une décontamination (javel à 4° de chlore ou autoclave).

Cette consigne est applicable pour tout objet souillé y compris les billes de verre, les pointes, les liquipettes...

La fiche de consigne de sécurité MSDS est disponible en ligne sur le site www.ecole-adn.fr/MSDS

NOTICE TECHNIQUE

Expérimentation

Tests ADN

Empreintes génétiques

Ce document est un support pour l'enseignant utilisateur et pour les élèves qui réalisent l'expérience. Les instructions décrites ont pour objectifs de présenter la préparation de la séance et la part d'expérimentation liée aux élèves. Il appartient à l'enseignant d'adapter au mieux la part expérimentale pour les élèves.

1- PRESENTATION

1-1 Principe

Le polymorphisme de longueur des fragments de restriction (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP) fait partie des méthodes de biologie moléculaire les plus employées. Cette technique permet de révéler des marqueurs génétiques, courtes séquences d'ADN qui diffèrent selon les individus, les espèces ou les genres. À la différence des cartes de liaison génétique qui ont longtemps reposé sur des mutations identifiées grâce à leurs effets sur le phénotype, le polymorphisme de restriction s'adresse indifféremment à des séquences d'ADN codant ou non codant.

Le polymorphisme de restriction est basé sur la spécificité des enzymes de restriction en matière de reconnaissance d'une courte séquence d'ADN et de l'hydrolyse qu'elles y opèrent. De nombreux marqueurs génétiques dépendent ainsi de la manière dont de petites différences dans une séquence d'ADN peuvent modifier le profil de coupure par des enzymes de restriction.

Les applications sont multiples, cette technique peut être à la fois appliquée dans le cadre de l'identification d'un individu ou de la recherche d'une anomalie génétique à l'origine d'une pathologie.

Ce kit, dans sa conception, propose des ADN hydrolysés qui illustrent l'analyse de polymorphismes au travers des empreintes génétiques. Les premiers profils génétiques dans les années 1980, ont été pratiqués grâce à des endonucléases de restriction.

Ces quatre ADN hydrolysés sont prêts à être déposés sur gel pour être comparés entre eux. L'un d'eux étant une empreinte génétique de référence, à comparer à celles de 3 suspects.

Grâce à cette version, l'élève se contente de déposer uniquement les échantillons d'ADN sur gel d'agarose en vue de l'analyse et de l'interprétation des empreintes génétiques.

1-2 Méthodologie

Il s'agit de travaux pratiques comportant une phase expérimentale simplifiée, menée directement par l'élève avec des exigences de rigueur, d'habileté et de respect des principes d'hygiène et de sécurité. Une telle phase pratique se replace dans l'ensemble d'un raisonnement scientifique expérimental.

2- PRESENTATION DU KIT

Ce kit présente des réactifs qui sont prêts à être déposés aussi bien sur « FlashGel® Cassettes » ou avec un système utilisant un gel d'agarose 1 %.

Les réactifs sont fournis de sorte à réaliser 50 dépôts de 5 µl pour chaque échantillon avec le système « FlashGel® Cassettes ».

2-1 Constitution du kit

- ADN du suspect A 250 µl
- ADN du suspect B 250 µl
- ADN du suspect C 250 µl
- ADN lieu du crime 250 µl

2-2 Caractéristiques et conseils d'utilisation des réactifs

Tous les réactifs sont directement prêts à l'emploi ; Les réactifs doivent être maintenus à 2 – 8°C, conservés à cette température ils ont une stabilité de 4 mois à 2 – 8 °C ou 48 heures s'ils sont maintenus à température ambiante.

- Il est recommandé de ne pas maintenir les réactifs de façon prolongée à température ambiante.
- Ne pas congeler.
- Dans tous les cas se référer aux spécifications de stockage mentionnées sur l'étiquette.

3- PROTOCOLE

3-1 Matériels complémentaires nécessaires au laboratoire (non fournis):

- Micro-pipettes ;
- Cuve à électrophorèse ;
- Appareil photo Polaroid® Gelcam pour biologie moléculaire (option);
- Portoirs pour tubes Eppendorfs® ;
- système « FlashGel® Cassettes »

3-2 Consommables

- Embouts pour micro-pipettes 200 µl ;
- tubes de type Eppendorfs® ;

3-3 Réactifs complémentaires nécessaires

Tous les réactifs nécessaires pour réaliser une électrophorèse en gel d'agarose de 1% ou avec système « FlashGel® Cassettes ».

3-4 Opérations préalables aux travaux pratiques

- **Stérilisation du matériel et des réactifs**
Aucune stérilisation ni préparation de matériel spécifique.

- **Préparation des gels d'agarose:**

Il est conseillé de préparer le gel d'agarose pour l'électrophorèse avant la séance de travaux pratiques. Se référer à votre procédure et protocole interne au laboratoire.

- **Préparation des solutions :**

Les solutions sont directement prêtes à l'emploi, il convient à l'enseignant de faire des aliquots de chaque échantillon avant la séance.

4- PREPARATION DE L'EXPERIMENTATION

4-1 Préparation préalable de la séance

Pour chaque poste, préparer des échantillons d'au moins 5 microlitres de chaque ADN.

- 5 μ l d' ADN du suspect A ;
- 5 μ l d' ADN du suspect B ;
- 5 μ l d' ADN du suspect C ;
- 5 μ l d' ADN lieu du crime ;

4-2 Déroulement de la séance

- **Manipulation par les élèves**

Les élèves déposent directement 5 μ l de chaque ADN dans un puits du gel avec le système « FlashGel® Cassettes ».

La révélation des fragments d'ADN se fait après une migration à 250 volts entre 4 et 5 minutes.

Ces échantillons sont également adaptés par le système qui utilise le gel d'agarose à 1%. Pour cela, il faut avec ce système déposer **15 microlitres** d'échantillon par puit.

Dans tous les cas d'utilisation de gels d'agaroses spécifiques se reporter aux spécificités d'utilisation décrites dans le kit "Préparation gel d'agarose".

Résultats des empreintes génétiques

Résultats attendus

Photo de gel coloré à l'azure A

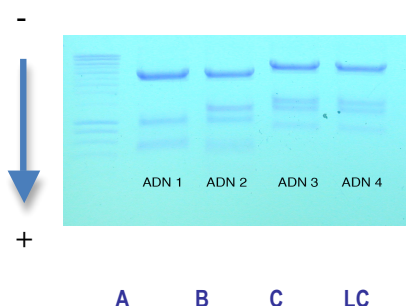


Photo de gel sur système FlashGel:



Interprétation des résultats :

Problématique :

La comparaison est immédiate, le polymorphisme génétique est traduit par la présence de séquences d'ADN spécifiques et uniques chez tous les individus d'une même espèce. Les profils génétiques avec les fragments sont bien spécifiques de chaque individu.

Le profil génétique issu de l'échantillon biologique du lieu du crime, présente les mêmes caractéristiques que le suspect C. Il est possible de supposer que ce suspect était présent sur la scène de crime sans pour autant préjuger de sa culpabilité. Bien entendu ces résultats méritent confirmation, la culpabilité du suspect est soumise uniquement à l'autorité judiciaire.

5- CONSIGNES DE SECURITE

Les réactifs qui constituent ce kit pédagogique ne présentent aucun caractère dangereux, toxique ou pathogène. La fiche de sécurité MSDS est disponible, sur simple demande auprès de l'École de l'ADN. Au début de chaque formation, il est néanmoins important de sensibiliser les élèves aux risques encourus lors des manipulations :

Se référer aux mesures de sécurité d'utilisation des appareils électriques et matériels ;
Utiliser les précautions d'usage pour toutes manipulations de produits dangereux ou toxiques.

En cas d'ingestion informez le médecin responsable ou contactez le centre antipoison le plus proche.

Précautions spécifiques :

Le port de gants et de la blouse est conseillé.

Mesures d'hygiène : se laver les mains avant et après l'expérimentation ;

Dans le cadre d'une révélation des fragments d'ADN au BET, il est important de veiller à respecter rigoureusement ces recommandations :

- Interdire formellement aux élèves de manipuler le gel d'agarose chargé en BET, (manipulation effectuée par le professeur préalablement formé) ;
- Porter des lunettes de protection en utilisant la table UV ;
- Pour l'élimination du BET chaque établissement doit se référer à sa procédure interne de « traitement des déchets ».

NOTICE TECHNIQUE

Expérimentation

Tests ADN

Diagnostic génétique

Ce document est un support pour l'enseignant utilisateur et pour les élèves qui réalisent l'expérience. Les instructions décrites ont pour objectifs de présenter la préparation de la séance et la part d'expérimentation liée aux élèves. Il appartient à l'enseignant d'adapter au mieux la part expérimentale pour les élèves

1- PRESENTATION

1-1 Principe

Le polymorphisme de longueur des fragments de restriction (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP) fait partie des méthodes de biologie moléculaire les plus employées. Cette technique permet de révéler des marqueurs génétiques, courtes séquences d'ADN qui diffèrent selon les individus, les espèces ou les genres. À la différence des cartes de liaison génétique qui ont longtemps reposé sur des mutations identifiées grâce à leurs effets sur le phénotype, le polymorphisme de restriction s'adresse indifféremment à des séquences d'ADN codant ou non codant.

Le polymorphisme de restriction est basé sur la spécificité des enzymes de restriction en matière de reconnaissance d'une courte séquence d'ADN et de l'hydrolyse qu'elles y opèrent. De nombreux marqueurs génétiques dépendent ainsi de la manière dont de petites différences dans une séquence d'ADN peuvent modifier le profil de coupure par des enzymes de restriction.

Les applications sont multiples, cette technique peut être à la fois appliquée dans le cadre de l'identification d'un individu ou de la recherche d'une anomalie génétique à l'origine d'une pathologie.

Ce kit, dans sa conception, propose des ADN hydrolysés qui illustrent le diagnostic d'une pathologie génétique au travers de l'analyse de profils de restrictions.

La problématique posée est la suivante :

Deux ADN sont analysés par digestion enzymatique, sous l'action d'endonucléases de restriction. Identifiez l'ADN pathologique, sachant que l'un des deux ADN est représentatif de la population saine, et que la pathologie au niveau génétique est causée par une délétion.

Grâce à cette version, l'élève se contente de déposer uniquement les échantillons d'ADN sur gel d'agarose en vue de l'analyse et de l'interprétation du diagnostic génétique.

1-2 Méthodologie

Il s'agit de travaux pratiques comportant une phase expérimentale simplifiée, menée directement par l'élève avec des exigences de rigueur, d'habileté et de respect des principes d'hygiène et de sécurité. Une telle phase pratique se replace dans l'ensemble d'un raisonnement scientifique expérimental.

2- PRESENTATION DU KIT

Ce kit présente des réactifs qui sont prêts à être déposés aussi bien sur « FlashGel® Cassettes » ou avec un système utilisant un gel d'agarose 1%.

2-1 Constitution du kit

Les ADN 1 et 2 digérés séparément par les enzymes PstI et XhoI

- ADN Sain /Pst I 250 µl;
- ADN Pathol /Pst I 250 µl;
- ADN Sain /Xho I 250 µl ;
- ADN Pathol /Xho I 250 µl;

2-2 Caractéristiques et conseils d'utilisation des réactifs

Tous les réactifs sont directement prêts à l'emploi ;
Les réactifs doivent être maintenus à 2 – 8°C, conservés à cette température ils ont une stabilité d'au moins 4 mois à 2 – 8 °C ou 48 heures s'ils sont maintenus à température ambiante.

- Il est recommandé de ne pas maintenir les réactifs de façon prolongée à température ambiante.
- Ne pas congeler.
- Dans tous les cas se référer aux spécifications de stockage mentionnées sur l'étiquette.

3- PROTOCOLE

3-1 Matériels complémentaires nécessaires au laboratoire (non fournis):

- Micro-pipettes ;
- Cuve à électrophorèse ;
- Appareil photo Polaroid® Gelcam pour biologie moléculaire (option);
- Portoirs pour tubes Eppendorfs® ;
- système « FlashGel® Cassettes »

3-2 Consommables

- Embouts pour micro-pipettes 200 µl ;
- tubes de type Eppendorfs® ;

3-3 Réactifs complémentaires nécessaires

Tous les réactifs nécessaires pour réaliser une électrophorèse en gel d'agarose de 1% ou avec système « FlashGel® Cassettes ».

3-4 Opérations préalables aux travaux pratiques

- **Stérilisation du matériel et des réactifs**
Aucune stérilisation ni préparation de matériel spécifique.

- **Préparation des solutions :**

Les solutions sont directement prêtes à l'emploi, il convient à l'enseignant de faire des aliquots de chaque échantillon avant la séance.

4- PREPARATION DE L'EXPERIMENTATION

4-1 Préparation préalable de la séance

Pour chaque poste, préparer des échantillons de 5 µl de chaque ADN.

- 5 µl ADN Sain /Pst I ;
- 5 µl ADN Pathol /Pst I ;
- 5 µl ADN Sain /Xho I ;
- 5 µl ADN Pathol /Xho I ;

4-2 Déroulement de la séance

• Manipulation par les élèves

Les élèves déposent directement 5 µl de chaque ADN dans un puits du gel avec le système « FlashGel® Cassettes ».

La révélation des fragments d'ADN se fait après une migration à 250 volts entre 4 et 5 minutes.

Ces échantillons sont également adaptés par le système qui utilise le gel d'agarose à 1%. Pour cela, il faut avec ce système déposer **15 microlitres** d'échantillon par puit.

Dans tous les cas d'utilisation de gels d'agaroses spécifiques se reporter aux spécificités d'utilisation décrites dans le kit "Préparation gel d'agarose".

Résultats attendus :

Photo de gel coloré à l'azure A :

P : ADN pathologique
S : ADN sain

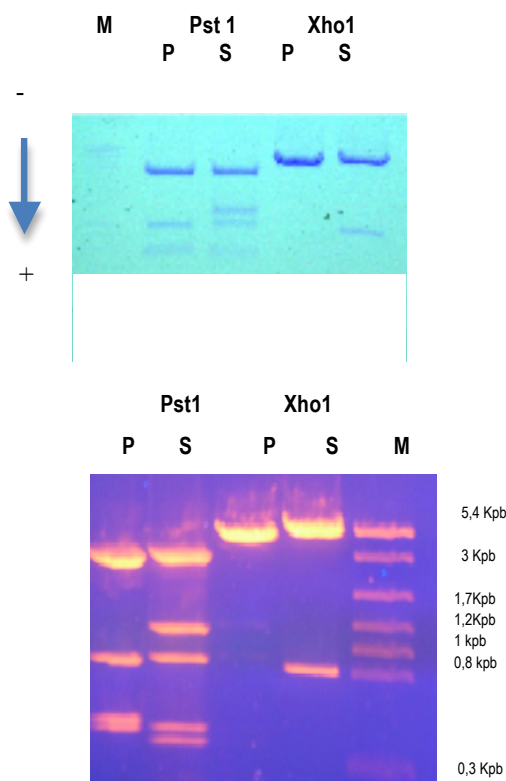


Photo de gel avec le système FkashGel

Il y a deux possibilités pour avancer la problématique :

Problématique 1 :

Deux ADN sont coupés par digestion enzymatique, sous l'action d'endonucléases de restriction. Identifiez l'ADN pathologique, sachant que l'un des deux ADN est représentatif de la population saine, et que la pathologie est due, au niveau génétique, à une perte d'ADN (une délétion).

Dans le cadre de cette problématique, il s'agit de regarder les fragments d'ADN qui sont les plus nombreux avec chaque enzyme. Il ressort que les ADN hydrolysés avec les enzymes Pst ou Xho présentent une différence dans le nombre de fragments. Afin d'identifier l'anomalie, compte tenu des informations données dans l'énoncé, il s'agit de compter les fragments. Ils sont plus nombreux pour l'ADN sain que pour l'ADN pathologique. Par conséquent l'ADN ayant perdu du matériel génétique, et donc ayant subi une délétion, est celui considéré comme porteur de la pathologie.

Problématique 2 : Analyse fine de la délétion.

L'ADN 2 est un échantillon issu d'une population saine qui sert de contrôle dans le cadre de pathologie génétique. Que peut-on conclure sur l'ADN 1 ? Quel est l'intérêt d'utiliser deux enzymes ?

L'analyse des résultats se fait de façon similaire à ce qui est décrit précédemment, l'intérêt de deux enzymes se justifie par le contrôle des résultats afin de réellement confirmer une anomalie génétique et permet, à l'aide de la carte de restriction de l'ADN sain (voir ci dessous), d'affiner la détermination de la position de la délétion.

5- CONSIGNES DE SECURITE

Les réactifs qui constituent ce kit pédagogique ne présentent aucun caractère dangereux, toxique ou pathogène. La fiche de sécurité MSDS est disponible sur simple demande, auprès de l'École de l'ADN.

Au début de chaque formation, il est néanmoins important de sensibiliser les élèves aux risques encourus lors des manipulations :

Se référer aux mesures de sécurité d'utilisation des appareils électriques et matériels ;

Utiliser les précautions d'usage pour toutes manipulations de produits dangereux ou toxiques.

En cas d'ingestion informez le médecin responsable ou contactez le centre antipoison le plus proche.

Précautions spécifiques :

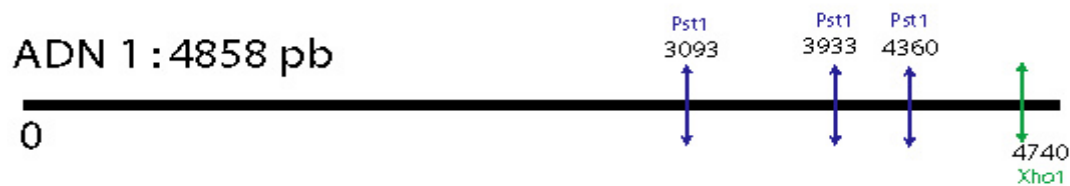
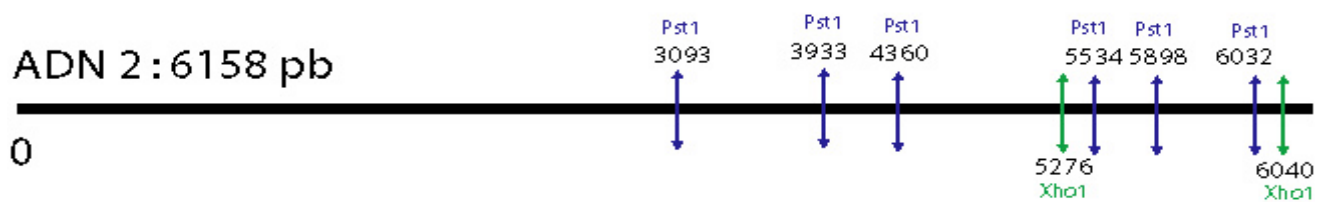
Le port de gants et de la blouse est conseillé.

Mesures d'hygiène : se laver les mains avant et après l'expérimentation ;

Dans le cadre d'une révélation des fragments d'ADN au BET, il est important de veiller à respecter rigoureusement ces recommandations :

- Interdire formellement aux élèves de manipuler le gel d'agarose chargé en BET, (manipulation effectuée par le professeur préalablement formé) ;
- Porter des lunettes de protection en utilisant la table UV ;
- Pour l'élimination du BET chaque établissement doit se référer à sa procédure interne de « traitement des déchets ».

Cartes de restriction ADN 1 et 2



↑ sites de restriction
Xho1
↓

↑ sites de restriction
Pst1
↓

NOTICE TECHNIQUE

Expérimentation

Préparation de gels d'agarose

Ce document est un support pour l'enseignant utilisateur et pour les élèves qui réalisent l'expérience. Les instructions décrites ont pour objectifs de présenter la préparation de la séance et la part d'expérimentation liée aux élèves. Il appartient à l'enseignant d'adapter au mieux la part expérimentale pour les élèves.

1- PRESENTATION

1-1 Principe

L'analyse des fragments d'ADN en fonction de leur taille est un procédé usuel en biologie moléculaire. Cette méthode repose sur une technique électrophorétique qui peut s'utiliser sur différents supports. L'électrophorèse est une méthode de séparation de particules chargées électriquement par migration différentielle sous l'action d'un champ électrique. Elle se réalise sur des supports gélamineux, de type acrylamide, agarose ou semi solide de type capillaire. Le gel d'acrylamide ou l'électrophorèse capillaire, méthodes délicates et onéreuses, permettent d'analyser des fragments d'ADN de très petites tailles et donnent la possibilité d'une résolution de l'ordre de la paire de base. L'agarose, qui est un polysaccharide extrait d'une algue, la *Rhodophyceae*, permet d'analyser de manière très simple des fragments d'ADN d'une centaine à quelques dizaines de milliers de nucléotides, obtenus après hydrolyse par des endonucléases de restriction ou amplifiés par PCR.

Ce kit propose les réactifs nécessaires à la fabrication d'un gel d'agarose, ainsi qu'à la coloration des fragments d'ADN.

Dans ce kit sont fournis l'agarose, le tampon TBE en poudre et l'Azure A concentré.

1-2 Méthodologie

Il s'agit de réactifs complémentaires destinés aux enseignants ou aux techniciens de laboratoire, mais l'utilisation peut être aussi étendue aux élèves.

La réalisation d'un gel d'agarose est une application concrète d'un processus de biotechnologie et concourt à une orientation positive vers des études scientifiques, en particulier dans le domaine des sciences de la vie.

2- PRESENTATION DU KIT

Ce kit présente des réactifs qui permettent de réaliser 1 litre de gel à 1% d'agarose, la solution de TBE pour la migration ainsi que le colorant Azure A concentré.

2-1 Constitution du kit

- 1 flacon de 10 g d'Agarose;
- 1 bouteille de TBE 10 X en poudre à reconstituer avec 200 ml d'eau distillée;
- 5 x 1ml de solution d'Azure A à diluer 100 fois dans une solution à 20° d'éthanol.

2-2 Caractéristiques et conseils d'utilisation des réactifs

L'agarose est à dissoudre à la concentration souhaitée selon le protocole ci-après. Le TBE doit être reconstitué, la solution d'Azure A est à diluer dans de l'eau distillée.

Tous ces réactifs se conservent exclusivement à température ambiante. Ne pas congeler.

Dans tous les cas se référer aux spécifications de stockage mentionnées sur l'étiquette.

3- PROTOCOLE

3-1 Matériels complémentaires nécessaires au laboratoire:

- Éprouvette, cristalliseur, erlenmeyer;
- Balance;
- plaque chauffante, ou micro-onde ;
- Cuve d'électrophorèse ;
- Plaque de moulage pour gel.

3-2 Consommables

- Pas de consommables spécifiques

3-3 Réactifs complémentaires non fournis

- Eau distillée ;

3-4 Opérations préalables avant la préparation du gel:

- **Stérilisation du matériel et des réactifs**
Aucune stérilisation ni préparation de matériel spécifique.

- **Préparation des solutions:**

Flacon de TBE 10 X :

Ajouter 200ml d'eau distillée, homogénéiser et laisser stabiliser 30 minutes à température ambiante.

À partir de cette solution réaliser une dilution au 1/10^e afin d'obtenir une solution 1 X.

Exemple :

Pour obtenir 500 ml de TBE 1 X :

À l'aide d'une éprouvette mesurer 50 ml de solution TBE 10 X ;

Compléter à 500 ml avec de l'eau distillée ;

Homogénéiser l'ensemble ;

La solution 1 X est prête à l'emploi.

4- PREPARATION DU GEL D'AGAROSE

4-1 Protocole

Note : les réactifs sont fournis de sorte à réaliser 1 litre de gel à 1%, il est important de se référer à la méthode utilisée pour ajuster la concentration du gel.

Choix de la concentration du gel en % (c'est un pourcentage massique pour un volume donné).

Dans cette expérience le gel doit être à 1 % d'agarose.

Méthode de calcul :

masse à peser (m en gramme), pour un volume (v en ml) :

$$m = v \times \text{pourcentage} / 100$$

Exemple de calcul :

gel à 1 % pour un volume de 100 ml

$$100 \times 1 / 100 = 1 \text{ g à peser}$$

- Peser précisément (+/- 0,1g) sur la balance la masse d'agarose dans un erlenmeyer taré ;
- Préparer une solution de TBE à 1 X à partir de la solution fournie;
- Mesurer le volume de TBE 1 X dans une éprouvette (+/- une demi-graduation);
- Ajouter le TBE 1 X à l'agarose et chauffer (micro-onde ou plaque chauffante) de sorte à dissoudre totalement l'agarose ;
- Verser le gel dans les plaques de moulage.
- Attendre 30 minutes à température ambiante la solidification du gel.

4-2 Coloration et décoloration du gel

Coloration à l'Azure A

Préparation de la solution d'Azure A :

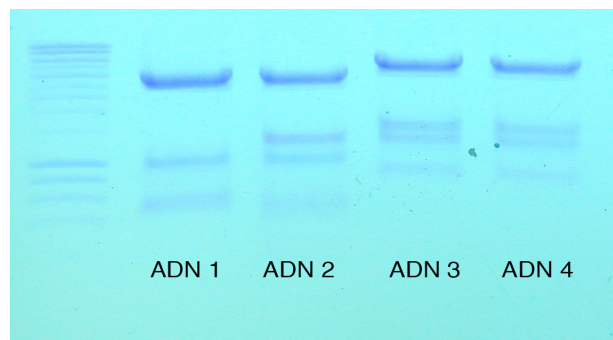
Ajouter 1 ml de solution Azure A fournie pour 100 ml d'éthanol à 20°, homogénéiser et laisser reposer. Vous avez une solution d'Azure A prête à l'emploi.

Après la migration, sortir le gel et le traiter comme indiqué :

- Coloration de l'ADN : Plonger le gel pendant 6 min dans la solution d'Azure A préparée. Récupérer la solution et la stocker à 4°C, elle est réutilisable une dizaine de fois.
- Décoloration du gel : Après l'incubation de coloration, placer le gel dans un bac, puis le rincer à l'eau froide du robinet, en agitant doucement le gel et en renouvelant l'eau du bac régulièrement. Le résultat est visible au bout de vingt minutes de décoloration. Pour une lecture plus nette, décolorer le gel vingt minutes supplémentaires, puis le déposer au réfrigérateur emballé dans un film plastique. La coloration y sera ainsi optimale au bout de quelques heures, et se maintiendra une semaine minimum.

EXEMPLE DE RESULTATS

Photos de gels après coloration et décoloration :



5- CONSIGNES DE SECURITE

Les réactifs qui constituent ce kit pédagogique ne présentent aucun caractère dangereux, toxique ou pathogène. La fiche de sécurité MSDS est disponible, sur simple demande, auprès de l'École de l'ADN.

Dans le cadre d'une manipulation réalisée par les élèves, il est néanmoins important de les sensibiliser sur les risques encourus lors des manipulations :

Mesures d'hygiène : se laver les mains avant et après l'expérimentation ;

Se référer aux mesures de sécurité d'utilisation des appareils électriques et matériels. Utiliser les précautions d'usage pour toutes manipulations de produits dangereux ou toxiques. En cas d'ingestion informez le médecin responsable ou contactez le centre antipoison le plus proche.

Annexe : Liste des lycées visés par le programme « Scivex », au total 82

Académie de Montpellier, Carcassonne, lycées
[Lycée d'enseignement général et technologique agricole Charlemagne](#)

lycée, Aude (11), Carcassonne

[Lycée des métiers Jules Fil](#)

lycée, Aude (11), Carcassonne

[Lycée Paul Sabatier](#)

lycée, Aude (11), Carcassonne

[Lycée privé Saint-Stanislas](#)

lycée, Aude (11), Carcassonne

Académie de Montpellier, Castelnaudary, lycée

[Lycée Jean Durand \(voie générale et technologique\)](#)

lycée, Aude (11), Castelnaudary

Académie de Montpellier, Limoux, lycées

[Institut privé agricole Saint-Joseph](#)

lycée, Aude (11), Limoux

[Lycée Jacques Ruffié \(voie générale et technologique\)](#)

lycée, Aude (11), Limoux

Académie de Montpellier, Narbonne, lycées

[Lycée Diderot](#)

lycée, Aude (11), Narbonne

[Lycée Docteur Lacroix](#)

lycée, Aude (11), Narbonne

[Lycée privé Beauséjour \(voie générale et technologique\)](#)

lycée, Aude (11), Narbonne

Académie de Montpellier, Alès, lycées

[Lycée Jean-Baptiste Dumas \(voie générale et technologique\)](#)

lycée, Gard (30), Alès

[Lycée privé Bellevue](#)

lycée, Gard (30), Alès

[Lycée privé des métiers de la Salle \(voie générale et technologique\)](#)

lycée, Gard (30), Alès

Académie de Montpellier, Bagnols-sur-Cèze, lycée

[Lycée Albert Einstein \(voie générale et technologique\)](#)

lycée, Gard (30), Bagnols-sur-Cèze

Académie de Montpellier, Milhaud, lycée

[Lycée Geneviève De Gaulle-Anthonioz \(voie générale et technologique\)](#)

lycée, Gard (30), Milhaud

Académie de Montpellier, Nîmes, lycées

[Lycée Albert Camus](#)

lycée, Gard (30), Nîmes

[Lycée Alphonse Daudet](#)

lycée, Gard (30), Nîmes

[Lycée Dhuoda](#)

lycée, Gard (30), Nîmes

[Lycée Ernest Hemingway \(voie générale et technologique\)](#)

lycée, Gard (30), Nîmes

[Lycée Philippe Lamour](#)

lycée, Gard (30), Nîmes

[Lycée privé Saint-Stanislas-Sacré-Coeur](#)

lycée, Gard (30), Nîmes

[Lycée privé Saint-Vincent de Paul \(voie générale et technologique\)](#)

lycée, Gard (30), Nîmes

[Sports Etudes Concept \(voie générale et technologique\)](#)

lycée, Gard (30), Nîmes

Académie de Montpellier, Rodilhan, lycée

[Lycée d'enseignement général, technologique et professionnel agricole Marie Durand](#)

lycée, Gard (30), Rodilhan

Académie de Montpellier, Saint-Christol-lès-Alès, lycée
[Lycée Jacques Prévert \(voie générale et technologique\)](#)
 lycée, Gard (30), Saint-Christol-lès-Alès
 Académie de Montpellier, Saint-Hippolyte-du-Fort, lycée
[Ecole privée Scholae](#)
 lycée, Gard (30), Saint-Hippolyte-du-Fort
 Académie de Montpellier, Uzès, lycée
[Lycée Charles Gide](#)
 lycée, Gard (30), Uzès
 Académie de Montpellier, Vigan (Le), lycée
[Lycée André Chamson \(voie générale et technologique\)](#)
 lycée, Gard (30), Vigan (Le)
 Académie de Montpellier, Villeneuve-lès-Avignon, lycée
[Lycée Jean Vilar](#)
 lycée, Gard (30), Villeneuve-lès-Avignon
 Académie de Montpellier, Agde, lycée
[Lycée Auguste Loubatières \(voie générale et technologique\)](#)
 lycée, Hérault (34), Agde
 Académie de Montpellier, Baillargues, lycée
[Ecole technique privée bilingue internationale](#)
 lycée, Hérault (34), Baillargues
 Académie de Montpellier, Bédarieux, lycée
[Lycée Ferdinand Fabre](#)
 lycée, Hérault (34), Bédarieux
 Académie de Montpellier, Béziers, lycées
[Lycée Henri IV](#)
 lycée, Hérault (34), Béziers
[Lycée Jean Moulin \(voie générale et technologique\)](#)
 lycée, Hérault (34), Béziers
[Lycée La Trinité](#)
 lycée, Hérault (34), Béziers
 Académie de Montpellier, Castelnau-le-Lez, lycée
[Lycée Georges Pompidou \(voie générale et technologique\)](#)
 lycée, Hérault (34), Castelnau-le-Lez
 Académie de Montpellier, Clermont-l'Hérault, lycées
[Lycée privé Saint Paul](#)
 lycée, Hérault (34), Clermont-l'Hérault
[Lycée René Gosse](#)
 lycée, Hérault (34), Clermont-l'Hérault
 Académie de Montpellier, Grande-Motte (La), lycée
[Lycée La Merci Littoral \(voie générale et technologique\)](#)
 lycée, Hérault (34), Grande-Motte (La)
 Académie de Montpellier, Lattes, lycée
[Lycée Champollion](#)
 lycée, Hérault (34), Lattes
 Académie de Montpellier, Lodève, lycée
[Lycée Joseph Vallot \(voie générale et technologique\)](#)
 lycée, Hérault (34), Lodève
 Académie de Montpellier, Lunel, lycées
[Lycée Louis Feuillade \(voie générale et technologique\)](#)
 lycée, Hérault (34), Lunel
[Lycée Victor Hugo \(voie générale et technologique\)](#)
 lycée, Hérault (34), Lunel
 Académie de Montpellier, Montferrier-sur-Lez, lycée
[Lycée privé St Joseph Pierre Rouge](#)
 lycée, Hérault (34), Montferrier-sur-Lez
 Académie de Montpellier, Montpellier, lycées
[Lycée enseignement général et technologique agricole Frédéric Bazille](#)
 lycée, Hérault (34), Montpellier
[Lycée Georges Clémenceau](#)

lycée, Hérault (34), Montpellier
[Lycée Jean Mermoz \(voie générale et technologique\)](#)
 lycée, Hérault (34), Montpellier
[Lycée Jean Monnet](#)
 lycée, Hérault (34), Montpellier
[Lycée Joffre](#)
 lycée, Hérault (34), Montpellier
[Lycée Jules Guesde \(voie générale et technologique\)](#)
 lycée, Hérault (34), Montpellier
[Lycée Nevers](#)
 lycée, Hérault (34), Montpellier
[Lycée Notre-Dame de la Merci](#)
 lycée, Hérault (34), Montpellier
[Lycée privé Rabelais](#)
 lycée, Hérault (34), Montpellier
 Académie de Montpellier, Pézenas, lycée
[Lycée Jean Moulin](#)
 lycée, Hérault (34), Pézenas
 Académie de Montpellier, Saint-Clément-de-Rivière, lycée
[Lycée Jean Jaurès \(voie générale et technologique\)](#)
 lycée, Hérault (34), Saint-Clément-de-Rivière
 Académie de Montpellier, Sète, lycées
[Lycée Irène et Frédéric Joliot-Curie](#)
 lycée, Hérault (34), Sète
[Lycée Paul Valéry](#)
 lycée, Hérault (34), Sète
[Lycée Saint-Joseph](#)
 lycée, Hérault (34), Sète
 Académie de Montpellier, Langogne, lycée
[Lycée privé Saint Pierre - Saint Paul \(voie générale et technologique\)](#)
 lycée, Lozère (48), Langogne
 Académie de Montpellier, Marvejols, lycée
[Lycée privé des métiers Saint-Joseph \(voie générale et technologique\)](#)
 lycée, Lozère (48), Marvejols
 Académie de Montpellier, Mende, lycées
[Lycée Chaptal](#)
 lycée, Lozère (48), Mende
[Lycée général et technologique Emile Peytavin](#)
 lycée, Lozère (48), Mende
[Lycée privé Notre-Dame \(voie générale et technologique\)](#)
 lycée, Lozère (48), Mende
 Académie de Montpellier, Saint-Chély-d'Apcher, lycées
[LEGTPA de la Lozère site Rabelais](#)
 lycée, Lozère (48), Saint-Chély-d'Apcher
[Lycée privé Sacré-Coeur \(voie générale et technologique\)](#)
 lycée, Lozère (48), Saint-Chély-d'Apcher
[Lycée Théophile Roussel \(voie générale et technologique\)](#)
 lycée, Lozère (48), Saint-Chély-d'Apcher
 Académie de Montpellier, Andorra-la-Vella, lycée
[Lycée Comte de Foix](#)
 lycée, Principauté d'Andorre (960), Andorra-la-Vella
 Académie de Montpellier, Canet-en-Roussillon, lycée
[Lycée Rosa Luxemburg \(voie générale et technologique\)](#)
 lycée, Pyrénées-Orientales (66), Canet-en-Roussillon
 Académie de Montpellier, Céret, lycée
[Lycée Déodat de Séverac \(voie générale et technologique\)](#)
 lycée, Pyrénées-Orientales (66), Céret
 Académie de Montpellier, Font-Romeu-Odeillo-Via, lycée
[Lycée climatique et sportif Pierre de Coubertin \(voie générale et technologique\)](#)
 lycée, Pyrénées-Orientales (66), Font-Romeu-Odeillo-Via

Académie de Montpellier, Perpignan, lycées
[Lycée Aristide Maillol \(voie générale et technologique\)](#)
lycée, Pyrénées-Orientales (66), Perpignan
[Lycée François Arago](#)
lycée, Pyrénées-Orientales (66), Perpignan
[Lycée Jean Lurçat \(voie générale et technologique\)](#)
lycée, Pyrénées-Orientales (66), Perpignan
[Lycée Notre-Dame du Bon Secours](#)
lycée, Pyrénées-Orientales (66), Perpignan
[Lycée Pablo Picasso \(voie générale et technologique\)](#)
lycée, Pyrénées-Orientales (66), Perpignan
[Lycée privé Saint-Louis de Gonzague](#)
lycée, Pyrénées-Orientales (66), Perpignan
Académie de Montpellier, Prades, lycée
[Lycée Charles Renouvier \(voie générale et technologique\)](#)
lycée, Pyrénées-Orientales (66), Prades

[Lycée d'enseignement général et technologique agricole Charlemagne](#)
lycée, Aude (11), Carcassonne
Académie de Montpellier, Limoux, lycée
[Institut privé agricole Saint-Joseph](#)
lycée, Aude (11), Limoux
Académie de Montpellier, Rodilhan, lycée
[Lycée d'enseignement général, technologique et professionnel agricole Marie Durand](#)
lycée, Gard (30), Rodilhan
Académie de Montpellier, Montpellier, lycée
[Lycée enseignement général et technologique agricole Frédéric Bazille](#)
lycée, Hérault (34), Montpellier
Académie de Montpellier, Saint-Chély-d'Apcher, lycée
[LEGTPA de la Lozère site Rabelais](#)
lycée, Lozère (48), Saint-Chély-d'Apcher