

Journée nationale de formation : du laboratoire de recherche à la classe

Amphithéâtre de Sorbonne Université - 19 octobre 2021 - de 9h00 à 17h00

Notes prises par L. Fadat, professeur de SVT, chargé de mission d'inspection, lycée A. Camus, Nîmes.



Cet évènement marque le lancement de l'année de la biologie au centre national de la recherche scientifique - CNRS - en partenariat avec le ministère de l'éducation nationale, de la jeunesse et des sports. Il a comme principal objectif de présenter les avancées et les enjeux de la biologie du 21^{ème} siècle. Il survolera les grandes ruptures scientifiques, les enjeux de la diversité du vivant, face aux défis de l'environnement et aux changements climatiques. Il établira le lien entre les avancées de la biologie et l'apport des nouvelles technologies qui facilite l'interdisciplinarité et fait évoluer la diversité des métiers de la biologie du 21^{ème} siècle.

→ Discours introductifs

Dominique PATERON, administrateur provisoire de Sorbonne université

Dans cette journée le CNRS veut rapprocher les mondes de l'enseignement et de la Recherche qui ne sont qu'un seul et même monde à la Sorbonne. L'enseignement de la biologie doit être articulé à l'apprentissage de la démarche scientifique du fait du nombre de croyances et opinions croissantes... il faut pouvoir répondre de manière éclairée à ces phénomènes notamment grâce à un partenariat entre la biologie et les autres disciplines. Ainsi, la Maison pour la Science sous l'égide de la main à la pâte cherche à lutter contre les idées préconçues, le scientisme et le déni.

Frédérique VIDAL, ministre de l'enseignement supérieur, de la recherche et de l'innovation

Pour cette inauguration, Madame la ministre de l'enseignement supérieur, de la recherche et de l'innovation a laissé un message en visioconférence. La pandémie actuelle a montré l'importance de la biologie et la nécessité des connaissances qu'elle apporte pour éviter un débat public brouillé par de fausses informations. La biodiversité est un continent qui reste très largement à explorer et les outils actuels permettent une exploration à toutes les échelles d'observation du vivant. La science a besoin de passeurs de notions et la biologie est un pacte pour former des citoyens.

Antoine PETIT, président directeur général du CNRS

Cette année de la biologie fait suite à l'année de la biochimie et des mathématiques et précède celle des géosciences, la physique... ces années sont des moments importants où on rapproche école et recherche. On vit une période durant laquelle la science est remise en question et il est important de réexpliquer ce qu'est la démarche scientifique sans préjuger de ce qui est mis en œuvre par les

politiques publiques. La démarche scientifique doit être remise au cœur des enseignements au travers d'une biologie qui interagit avec beaucoup d'autres disciplines. Le CNRS fait de la recherche fondamentale et le met au service de la société notamment dans l'aide à la compréhension et à la prise de décision.

André LE BIVIC, directeur de l'Institut des sciences biologiques du CNRS

La biologie est au centre de nos vies. Cette période (syn et post-COVID) nous rappelle que la biologie est au centre de notre vie. Le virus a été identifié, séquencé et des vaccins basés sur l'ARNm ont été mis en place dans des temps records ce qui montre que la science a fait des progrès énormes. Les enseignants sont au cœur de la lutte contre l'ignorance et dans l'acquisition de bases pour les jeunes afin qu'ils ne se fassent pas prendre par des théories complotistes ou autres. Ils stimulent des vocations en faisant appréhender et comprendre le vivant (la biologie concernant beaucoup de métiers et de formations). La recherche en biologie est riche en France et évolue fortement au niveau des technologies. Il y aura des formations dans toute la France avec des conférences introductives avec des sommités et des conférences thématiques plus spécifiques pour faire rentrer dans l'actualité de la recherche en biologie et visites de laboratoires pour la science qui se fait en temps réel.

→ **Grandes avancées et enjeux de la biologie au 21ème**

Catherine JESSUS, directrice de recherche CNRS, Laboratoire de biologie du développement

Les bouleversements contemporains s'observent à la lumière des bouleversements antérieurs de la biologie.

1- Comprendre le vivant, une vieille obsession de l'humanité

- Observer : le réalisme scientifique des peintures rupestres des animaux sur les parois des grottes, comme la grotte de Chauvet, montre l'intérêt à l'observation du vivant par l'Homme. Ces observations ont d'abord été réalisées par des naturalistes et ont permis de réaliser des classements et de construire des connaissances. Ce fut le cas des travaux d'Aristote, Linné, Lamarck et Darwin.
- Expérimenter : parallèlement à ces observateurs, une lignée de médecin et physiologistes tels qu'Hypocrate, Gacien, Claude Bernard intervient par l'intermédiaire de l'expérimentation directe sur le vivant.
- De la convergence des **naturalistes** (comme Darwin qui pose un cadre conceptuel) et **physiologistes** (comme Claude Bernard qui pose un cadre méthodologique) est née à la fin du XIXème siècle la **biologie moderne**.

2- Des outils d'exploration du vivant

- 1683 : Découverte des **animalcules** (bactéries, bacilles, cocci, spirilles ...) par Antoni Van Leeuwenhoek grâce au premier microscope.
- Depuis la fin du siècle dernier, l'avancée des technologies est le moteur essentiel des progrès
 - **L'imagerie** : permet de voir à l'échelle atomique et l'observation des objets vivants (jusqu'au siècle dernier, les objets devaient être tués pour être observés) ;
 - **La génomique** qui permet le séquençage du génome ;
 - **La métagénomique** : qui permettent désormais d'avoir une vision de l'ensemble des génomes qui peuplent une goutte d'un prélèvement.
 - **L'analyse ADN de génomes fossilisés** ;
 - **La manipulation des génomes** : Enzymes de restrictions, ciseaux génomiques Crispr-cas9 ;
 - **La micromanipulation** de cellules et tissus.

Ces progrès technologiques permettent de **passer d'une idée réductionniste au big-data**. En effet, le réductionnisme (démarche de Claude Bernard : problème, hypothèse, résultats, interprétation, qui débouchaient sur une nouvelle question, hypothèse...) se heurte à la complexité du vivant. Par exemple, une « simple » cellule comme une levure, ce sont déjà 6000 protéines, alors étudier protéine par protéine devient compliqué, sans parler des redondances possibles des protéines distinctes. L'approche actuelle de big-data est beaucoup plus globale et permet de regarder tout le génome, le transcriptome, le protéome et le métabolome. Ce sont des milliards d'informations à organiser ensuite en réseaux génétiques, en interactions protéiques et en réseaux métaboliques pour avoir un système biologique intégré présentant le réseau complet des interactions et intervenants dans la dynamique temporelle. Ce sont des milliards de milliards d'informations. Cette approche au niveau cellulaire est répliquable au niveau de l'organe, de l'organisme et des interactions entre communautés du vivant. Toute cette approche par des big-data n'est possible qu'avec des ordinateurs, des mathématiciens et des informaticiens. Ce genre d'approche propose des modèles prédictifs qu'il faut éprouver, ce qui nécessite un changement d'approche qu'effectuera le biologiste !

3- Qu'est-ce que le vivant ?

La définition de base fait l'objet d'un consensus chez les biologistes : Il y a une structure de base qui est la **cellule** (théorie cellulaire) eucaryote ou procaryote, une **auto-organisation** d'édifices **macromoléculaire**, une **dynamique énergétique** pour maintenir cette organisation et un **système** capable **de reproduction et de multiplication**.

Néanmoins il reste à découvrir l'immensité et la diversité insoupçonnées du monde vivant, en particulier, du monde microbien qui représente la première quantité de biomasse sur Terre et qu'on ne connaît pas bien : 60% des bactéries de la planète sont dans l'eau et on en connaît à peine 5%. Des ordres de grandeurs analogues sont valables pour les virus dans l'eau des océans (résultats Tara Océan et diversité du plancton). Ce monde microbien ont une diversité de métabolismes qui leur permet de peupler tous les environnements de la planète même ceux définis comme impropres à la vie : arides, acides, chaud, salés, obscurs, à forte pression, à radioactivité importante, voire intra-terrestre avec des bactéries vivant dans la croûte à plusieurs kilomètres de profondeur. Des extrémophiles existent aussi chez les eucaryotes, avec par exemple la microalgue *Coccomyxa actinabiotis* capable de survivre dans les piscines des réacteurs nucléaires ou les Tardigrades qui supportent l'altitude et l'anoxie des sommets himalayens, l'eau bouillante, la congélation, les fortes pressions ou les UV... Indestructibles !

Et comment catégoriser les « virus géants », baptisés ainsi faute de mieux : Mimivirus, Mégavirus, Pandoravirus, Pitovirus, Mollivirus. Ils sont certes des parasites intracellulaires mais ont un génome énorme et une taille aussi (avoisinant celle d'une bactérie ou d'une petite cellule eucaryote), ne présentent pas de capsid « rigide » mais souple et entrent dans la cellule de façon non virale. Est-ce que ce sont des virus, des bactéries ? On sait qu'ils ont le même code génétique, mais on a du mal à classer ces populations dans le monde vivant. **Le concept de vie est à revoir car elle est plus créative qu'initialement imaginée.**

Ce monde microscopique est à étudier car ils jouent un rôle fondamental pour la planète et pour les êtres vivants : ils sont source d'innovation : ils apportent des informations immenses sur de nouvelles molécules, de nouvelles énergies. Ce sont de nouvelles formes de vie et ont un rapport avec les origines de la vie sur la Terre mais aussi aux origines de la vie ailleurs... Ils permettent ainsi d'accompagner l'a compréhension de l'histoire de la vie, notamment au travers de l'étude de leur génome. Ils ont été les seuls occupants de la Terre pendant des milliards d'années.

4- L'histoire du vivant a été revisitée

Jusqu'à la fin du **XX^{ème} siècle**, le **schéma** était **simple** : la chimie prébiotique permet l'émergence des bactéries dont sont issus les eucaryotes qui se séparent en 3 branches, animaux, végétaux et champignons... Puis les **progrès de la génomique** rebattent les cartes et les archées sont venues compliquer le scénario : la chimie prébiotique, indemne, permet l'émergence de « LUCA » seul survivant d'une diversification initiale perdue ; s'ensuit un immense foisonnement dont émergent **3 lignées : bactéries, eucaryotes et archées avec des interpénétrations importantes**. Ces méthodes d'analyse des génomes permettent de rapprocher plus le manchot de l'ibis que du pingouin !

Comment créer de la nouveauté ? Pendant longtemps, on pensait que les **mutations ponctuelles** étaient à l'origine des modifications sélectionnées du génome. Maintenant, on sait que ce qui est encore plus important ce sont les **sybioses et transferts de génome**. Par exemple, la naissance des Eucaryotes par symbiose d'une bactérie et d'une archée pour former une cellule avec un compartiment de type mitochondrie ; avec une répétition de cette histoire pour la naissance de la lignée verte par endosymbiose d'une bactérie chlorophyllienne par une cellule eucaryote initiant le chloroplaste. Ces transferts géniques sont massifs tout au long de l'histoire du vivant, histoire au cours de laquelle les virus occupent aussi une place importante par l'implantation de génome viral dans le génome cellulaire :

- 8% de notre génome est représenté par des séquences rétrovirales qui la plupart du temps ne s'expriment pas.
- l'invention du placenta serait virale. L'infection d'un ancêtre qui pondait des œufs par un virus qui aurait intégré dans le génome des cellules reproductrice de son hôte le gène Env produisant des syncytines serait à l'origine du placenta.
- les brassages et mixités ont contribué à faire évoluer les génomes. Nous avons ainsi 1 à 4% du génome de Neandertal ; de Denisova entre 1% de son génome pour les populations d'Extrême-Orient à 4 à 6% pour les Papous (odorat), Aborigènes, Inuits (résistance au froid et tissus gras brun) et Tibétains (capacité à la vie en altitude par le transport de l'oxygène).

5- Décoder le fonctionnement des génomes

Chez l'homme, 2 m d'ADN dans une sphère de 5 µm de diamètre... C'est un Paris-Marseille dans une balle de ping-pong ! Le fonctionnement du génome reste un challenge actuellement. Ainsi, on peut se demander comment la conformation spatiale de l'ADN assure-t-elle d'autres fonctions que la compaction et permet l'expression des gènes ? Quelles sont les interactions entre les régions génomiques ? Sur ces 2 m, il n'y a que 6 cm de gène au sens « codant » des protéines, quid des 1,94m qu'il reste ? C'est un nouveau monde extrêmement important d'ADN non-codants, ainsi nommés de préférence à « ADN poubelle » car ils sont bien transcrit en ARN mais pas traduits en protéines. Ces ARN non-codants ont des rôles essentiels : par exemple, chez les plantes, ils les protègent contre les infections virales et bactériennes ; chez les mammifères, le grand ARN non codant Xist recouvre l'un des deux chromosomes X afin de l'inactiver de d'en empêcher son expression...

L'**épigénétique** par ailleurs, rassemble tous les mécanismes modifiant de manière réversible l'expression des gènes et qui est transmissible, au moins lors des divisions cellules et ce sans changer la séquence d'ADN. Par analogie avec la langue française, on pourrait comparer cela à l'accentuation des voyelles :

- « le colon est informe » : ATGTTTCGGAATCCTGAAATAAGCGCTAGT => protéine X peut devenir
- « le côlon est informé » : ATGT*TTTCG*GAATCC*TGAAATAAGC*GCTAGT => pas protéine X

L'épigénétique recouvre toutes les modifications chimiques qui changent le sens du message ou de l'accessibilité aux processus de transcription, ce qui peut aboutir à une protéine qui n'est plus produite.

6- Interactions au sein du vivant

C'est un challenge du XXI^{ème} siècle. La complexité du vivant se traduit par des chiffres énormes : 10³⁰ bactéries, 10³¹ virus, 10 à 100 milliards de micro-organismes dans un litre d'eau de mer, 10 000

milliards de micro-organismes dans notre intestin. Cependant, ce qui est encore plus important, ce sont les interactions qui donnent les fonctionnalités et induisent les notions **d'intelligence collective, d'auto-organisation, de super organisation**. On peut citer les vols en nuée des oiseaux, les bancs de poissons sans que chaque individu ait conscience du groupe, c'est le groupe qui a cette intégration ; il en serait de même pour les termitières, les siphonophores des Physalies où les organismes ont perdu l'individualisation pour avoir une unité collective qui accomplit les tâches et prend les décisions. Cette approche est à **reproduire pour les organes** qui sont des collectifs de cellules, des sociétés cellulaires. Au sein d'un organisme, c'est une société de **cellules qui travaillent de concert** dans une collaboration qui dépasse le niveau individuel cellulaire. Cette société de cellule travaille en interaction grâce à une communication, une collaboration et une orchestration qui permet l'agencement de l'ensemble. Société qui peut être mise à mal par des cellules dissidentes, les cellules cancéreuses notamment. Ce fonctionnement pose la question du soi et du non soi car des cellules du soi se comportent comme du non soi et le système immunitaire peine à les identifier comme telles. Il y a des situations où l'organisme tolère le non soi : le fœtus chez les mammifères, le microbiote intestinal qui représente 10 fois plus de cellules que les nôtres et 150 fois plus de gènes. Cette communauté est essentielle à la digestion, à la détoxification, à la production de vitamines, de métabolites, à la maturation du système immunitaire, au fonctionnement des organes, dont le cerveau. Une communauté qui n'est donc pas du non soi et sans laquelle nous ne pouvons pas vivre. Tout être vivant est soit contenu dans un plus grand, soit en contient des plus petits. Ces associations sont réciproquement essentielles.

En plus des **symbioses**, d'autres interactions existent : le commensalisme, le mutualisme, le **parasitisme**. Pour ce dernier, l'exemple de la toxoplasmose est marquant. *Toxoplasma gondii* ne peut se reproduire que dans l'intestin du chat. Or il a pour hôte intermédiaire notamment la souris qui a normalement une aversion pour l'urine du chat. Parasitée par *T. gondii*, il y a une modification totale du comportement de la souris qui maintenant est attirée par l'urine du chat. Le parasite modifie complètement le comportement de la souris.

Les mycorhizes, symbiose entre une plante et un champignon. Ces symbioses ont été importantes pour la conquête du milieu terrestre par les plantes. Elles ont permis de compenser le déficit en eau d'une part mais aussi de permettre la réalisation d'un « web-fongique » : les champignons font des associations entre plusieurs plantes et permettent ainsi que des messages passent d'une plante à l'autre. Une plante non attaquée par un parasite est informée de l'attaque parasitaire d'une plante plus ou moins proche si elles sont reliées par un champignon commun.

7- Vivant et environnement

On peut observer des **anéomorphoses** où les cellules qui sécrètent de l'auxine de manière asymétrique dans la plante pour répondre aux contraintes de l'environnement comme le port en drapeau des arbres lié à une croissance différentielle des deux faces (exposée ou non au vent) sous l'action de l'auxine qui initie cette croissance inégale, évitant ainsi que l'arbre ne casse. On peut aussi observer la croissance des racines sous l'influence des vibrations sonores : les racines poussent vers la source des vibrations sonores ; le développement différent d'une espèce suivant la texture du substrat (lisse ou rugueux).

On peut aussi voir des interactions **vivant et climat** : le plancton constitue une pompe à CO₂, en sédimentant, ils piègent ainsi ce CO₂, mais il ne fait pas que cela, il produit aussi du dioxygène qui a notamment été très important à deux grandes périodes de la vie sur notre planète : production essentielle il y a 2 Ga (grande oxydation) et il y a 500 Ma (explosion cambrienne). 50% d'O₂ que nous respirons provient du plancton !

8- Des applications insoupçonnées et non programmables

Exemple des « **ciseaux génétiques** » **Crispr-Cas9** :

- 1987 - Découverte de séquences d'ADN palindromiques et répétées chez *E.coli*.
- 2002 - Ces mêmes séquences sont retrouvées chez d'autres bactéries, et sont appelées Crispr, sans vraiment avoir identifié leur fonction.
- 2005 - Séquences retrouvées chez des virus et les bactéries qui portent ces séquences sont protégées des virus : rôle dans l'immunité.
- 2007 - Mécanismes compris : reconnaissance du matériel génétique viral et destruction.
- 2012 - Utilisation de ces mécanismes par les chercheurs pour en faire un outil de biotechnologie.

Conclusion :

Un souhait, **que l'enseignement de la biologie utilise ces avancées et ces enjeux pour :**

- révéler l'immensité des terrains à explorer,
- susciter la curiosité et le goût pour les découvertes actuelles ;
- montrer que la biologie est un gisement pour l'innovation de demain ;
- promouvoir la méthode scientifique ;
- émerveiller et faire rêver ;
- responsabiliser

Cela contribuera à former, si ce n'est des bataillons de biologues, au moins de futurs citoyens éclairés.

Enfin les biologistes sont des gens doux : il existe donc plusieurs définitions possibles du vivant selon l'angle de perception. Selon ces définitions, les virus en font ou non partie, mais pour autant, les biologistes étudient les virus sans passer des congrès à se battre sur leur intégration ou non au vivant...

➔ **La diversité du vivant**

Eric Karsenti, médaille d'or du CNRS

Le problème de la biologie c'est la complexité. La question est de savoir comment on en est arrivé là ! L'objectif est de replacer cette diversité dans un contexte général pour montrer comment on en est arrivé à une vie si complexe sur Terre.

L'eau c'est la vie, elle représente 75% des surfaces terrestres. La vie a commencé sans oxygène il y a 4 Ga mais dans l'eau et ce pendant 2 Ga, puis s'est accommodée de 1 à 2% d'O₂ pendant 1,5 Ga de plus avant l'explosion cambrienne sous un taux de 10 à 20% de O₂.

Exemple de la diversité humaine

Sapiens est une espèce unique dans le genre *Homo*, elle est aussi diverse avec 1% de diversité génétique entre 2 humains... et 98,8% de similitudes avec les chimpanzés.

L'évolution humaine, c'est l'histoire d'un grand mélange : la **diversification humaine** c'est peu de diversité génétique finalement mais des **migrations** extrêmement importantes : des migrations entre 300 000 et 70 000 ans au sein de l'Afrique, des échanges génétiques entre groupes qui se sont diversifiés en circulant d'un site à l'autre sur de longues périodes. Vers 70 000 ans, la population d'*Homo sapiens* est tombée à 2000 individus qui ont migré dans le monde entier, ils ont rencontré d'autres hommes dans d'autres parties du monde dont 1 million de néandertaliens, qui ont fini par disparaître. Les échanges génétiques avec Neandertal sont par exemples visibles à travers un haplotype sur le chromosome 12 qui donne une protection contre les formes graves de la COVID-19 (article Hugo Zebbar et ..., 2021).

Nous sommes tous des migrants et c'est important de se mélanger. Les progrès de la génomique et de la bio-informatique illuminent notre histoire. *Homo sapiens*, c'est 20 000 gènes, ce qui représente

250 livres de 300 pages, ainsi pour lire notre génome il faudrait 5 ans de lecture à 1 livre par semaine, et ce, sans rien comprendre à cette lecture.

La génomique nous montre que pour faire de *Homo sapiens*, il a fallu que des espèces proches échangent de gènes ou des morceaux de génomes. On commence alors à entrevoir la notion d'espèce et les mécanismes de spéciation. Les réseaux de gènes sont plus importants que les gènes individuels, il n'y a plus qu'une espèce humaine et la sélection naturelle réduit la complexité. Nous avons conservé les gènes de nos ancêtres qui nous sont utiles, mais si la sélection naturelle réduit la complexité, qu'est-ce qui la crée ? Les mutations génétiques, les échanges et réorganisation des génomes.

Biodiversité : de quoi parle-t-on ?

- Une approche quantitative inhabituelle : l'équivalent en **Gigatonnes (Gt) de carbone**. Végétaux : 450 Gt de C, bactéries 80 Gt, animaux 2 Gt, protistes et champignons 16 Gt, les virus : 0,2 Gt. Plus les organismes sont gros, moins il y en a en termes de diversité d'espèces.
- Une **macrodiversité** qui correspond aux espèces de toute la phylogénie ; et une **microdiversité** qui correspond aux variants génétiques.
- Un nombre d'espèces connues. C'est ainsi que d'après « *Diversité microbienne – Exploration d'écosystèmes naturels et des microbiomes* » de Sean M Gibbons and Jack A Gilbert, *Curr Opin Genet Dev.* 2016 May 02, on peut lire : « Les débuts du 21^{ème} siècle ont vu l'émergence d'un nouveau genre de naturaliste, focalisé sur la vie invisible qui peuple notre planète. A l'inverse de ses prédécesseurs, comme Alexander Humboldt ou Alfred Russell Wallace qui ont documenté "l'infini des formes d'une grande beauté", vue par Darwin comme étant le fruit de la sélection naturelle, ces nouveaux explorateurs ont affronté un monde immense d'organismes unicellulaires imperceptibles. Ce monde nous était largement inaccessible et sous-estimé avant l'arrivée des méthodes de bar-coding moléculaire et des technologies de séquençage à haut débit »
- Ainsi, le « Earth Microbiome Project » a révélé l'existence de 6 millions « d'espèces » de bactéries en 2016 et les modélisations actuelles avancent des chiffres de l'ordre du milliard d'espèces de bactéries.

La complexification de l'univers et de la vie

L'univers c'est 15 milliards d'années. La vie présente 4 milliards d'années de complexification au niveau de la taille des organismes, de la durée de vie, du comportement, des interactions inter-organismes et avec l'environnement, des génomes et des formes.

Un exemple, la diversité océanique, une approche holistique, l'expérience Tara Océan

Cette expérience a permis l'étude de la structure et des diversités des écosystèmes océaniques (bactéries, protistes, virus, métazoaires) et les interactions avec l'environnement (nutriments, carbone, Ph, oxygène, salinité, température, profondeur, lumière, masses d'eau, courants, latitude).

Les technologies utilisées sont importantes pour la compréhension de la biodiversité. Plus les organismes sont grands, moins ils sont abondants et donc cela a une conséquence sur la méthode d'échantillonnage. Ainsi, la quantité de matériel nécessaire pour échantillonner les organismes qu'il contient est liée à la taille de ces organismes : pour échantillonner des virus et des bactéries, 100L d'eau suffisent ; pour les protistes et le plancton, il faut en entre 100 000 et 1 million de litres d'eau. Il y a eu une fraction de taille qui a été importante pour la génomique et l'imagerie. On fait de la **métagénomique** et donc tout mélanger serait problématique et cette fraction de taille permet notamment de voir les interactions entre organismes car si on retrouve des petits organismes dans la fraction des grands alors c'est qu'ils interagissent. En plus de la métagénomique et **métatranscriptomique** qui a nécessité tout un système d'échantillonnage en fonction de l'analyse

envisagée. Les méthodes de repérage des espèces par IA a favorisé également le travail de détermination de la diversité des morphologies d'organismes que l'on découvre.

La diversité morphologique des organismes trouvés est fiable à 70-80%. Les résultats obtenus donnent :

- 500 000 populations virales (« espèces ») liées à des signatures génomiques différentes qui représentent 1,3 millions de gènes pour les seuls virus à ADN (les calculs sont en cours pour les virus à ARN) ;
- 35 000 populations bactériennes (« espèces »), ce qui est assez peu ! représentant 50 millions de gènes de bactéries, dont $6 \cdot 10^6$ sont connus sur les 10^{12} prédits qui restent inconnus.
- 150 000 genres de Protistes (plus de 1 000 000 d'espèces) ont été identifiés, représentant 116 millions de gènes (résultats probablement partiels, probablement proche des 200 millions de gènes).

Il faut en moyenne 500 gènes pour faire une bactérie, 20 000 gènes pour un humain et le génome océanique représente plus de 200 millions de gènes, ce qui montre que la complexification génétique et morphologique est considérable, reste à peine abordée et ne pourrait pas se réduire à des mutations ponctuelles.

La diversité n'est pas statistique, elle **évolue en permanence** et peut prendre différentes directions. Les grandes questions qui restent posées sont alors les rôles respectifs :

- des transferts de gène, des mutations,
- des symbioses,
- de la reproduction sexuée et des remaniements chromosomiques lors de la formation des gamètes mâles et femelles + contribution des génomes mâles et femelles.

Les génomes sont dynamiques

- par délétions et transposition d'importants groupes de gènes,
- par modifications de réseaux de gènes, les bifurcations morphogénétiques (un bon exemple : évolution des humains vers *Homo sapiens*), mécanismes d'apparition des premiers organismes multicellulaires et de la fabrication de nouveaux organismes. Ce n'est pas un gène et sa fonction, mais l'ensemble des gènes qui fonctionnent dans un environnement donné. Si le réseau change, on change aussi le fonctionnement des gènes. Pour faire un organisme complexe multicellulaire, une série d'évènements se produisent les uns après les autres et chaque évènement prépare à ce qui va se passer après. Les cellules eucaryotes ont acquis un réseau de gènes qui permettent la morphogénèse et ces gènes s'activent de façon différentielle au cours du développement en fonction des étapes. Ainsi, des réseaux s'allument successivement, chaque nouvelle étape étant déterminée par l'étape précédente et le nouvel environnement. L'évolution (complexification et diversification) est probablement causée par des modifications de ces réseaux produisant des bifurcations morphogénétiques et il peut suffire de mutations dans peu de gènes ou de réorganisations génomiques pour générer des structures assez différentes. Ces bifurcations créent de nouvelles formes d'organismes qui s'éloignent et donnent naissance à des espèces.

Exemples de l'importance pour les organismes des gènes impliqués dans la morphogénèse et du mouvement. Le polynucléaire qui cherche une bactérie partage des gènes avec des amibes ayant la capacité de se déplacer. L'architecture des structures actine/myosine et leur nombre va modifier les types cellulaires et leur fonctionnement et ce au cours de la morphogénèse. Les gènes qui codent la tubuline (structures de types tubes) servent aussi à la ségrégation des chromosomes qui interviennent à un certain moment de la morphogénèse des cellules ; notamment lors de la morphogénèse de la ligne latérale chez le poisson zèbre. Elle est issue de la migration d'une population de cellules le long d'une ligne de migration et dépôt à des espaces « constants » de massifs cellulaires selon des contraintes physiques. Cela montre aussi que des événements successifs conduisent à la construction

de la complexité de l'organisme. Nous connaissons encore peu de choses sur ces mécanismes, mais les nouveaux outils d'imagerie et de génomique ouvrent une voie royale pour aborder ces questions fascinantes.

Importance de l'environnement pour la structure des écosystèmes et évolution : le projet TARA a montré que la biodiversité se remodèle au cours du temps. Des modifications de la diversité liées aux changements climatiques des espèces océaniques sont observables : croisement des données relevées avec les modèles climatiques. Résultats : globalement la diversité augmente aux pôles (bactéries, protistes, copépodes, endo-photo-symbiotes) et diminue en zones de latitudes médianes (copépodes). Il faut pouvoir compléter ces informations par des données sur l'évolution de la diversité génétique en parallèle.

→ **L'apport des nouvelles technologies d'imagerie dans les sauts d'échelle en biologie : de l'infiniment petit à l'organe entier**

Daniel Choquet, directeur de recherche CNRS, directeur de l'Institut interdisciplinaire des neurosciences, directeur du Bordeaux imaging center

« Les progrès de la science dépendent de nouvelles techniques, de nouvelles découvertes, et de nouvelles idées, probablement dans cet ordre » Sydney Brenner biologiste sud-africain, pionnier de la biologie moléculaire, qui a obtenu le prix Nobel de physiologie / médecine en 2002

Les grands jalons de l'imagerie biologique : du premier microscope composé à l'imagerie de la transcriptomique spatiale.

- Fin du XVI^{ème} siècle - Hans et Zacharias HENSSSENS, invention du premier **microscope composé (x9)**
- 1665 - Robert HOOKE, observation systématique d'objets biologiques **(x50)**
- 1675 - Antoni Van Leeuwenhoek, premier **microscope à lentilles biconvexes (x 200)**.
- 1850-1900 - Carl Zeiss, Otto Schott et Ernst Abbe, amélioration des microscopes **(x500)** : découvertes des premières bactéries pathogènes (tuberculose, peste...)
- 1873 - Camillo Golgi, invention de la technique de **marquage au nitrate d'argent**.
- Exemple : Ramon y Cajal en 1887, observation neurones et synapses. Observation de protrusions correspondant à des synapses variables suivant la zone de contact, ce qui a laissé penser qu'elles avaient un rôle variable dans la communication au sein du cerveau.
- Dans le cerveau 100 milliards de neurones dans le cerveau, chacun ayant en moyenne 7000 synapses, ce sont environ 10^{15} synapses dans le cerveau parmi celles-ci, 90% sont des synapses excitatrices.
- 1930 - Max Knoll et Ernst Ruska, développement des techniques de **microscopie électronique** qui a permis d'observer à l'échelle moléculaire. Usages : premières visualisations des virus (poliomyélite 1930), découvert des ribosomes (1953).
- Depuis, deux avancées majeures : la **cryogénie** et la **tomographie**.
 - La Microscopie par **cryo-tomographie électronique** (congeler avant de couper) pour analyser les tissus en 3D. Les images sont en noir et blanc, la colorisation est secondaire et donc artificielle. Par cette même technique, on cherche à comprendre les structures moléculaires et leurs conformations dans le vivant ; il s'agit d'observer de milliers de particules uniques sous tous les angles puis de reconstruire, à partir de ces images, la diversité des conformations, voire celles les plus fréquentes.
 - La **cryo-microscopie électronique** de particules uniques a quant à elle permis de comprendre l'organisation de complexes moléculaires, comme les protéines du canal à GABA. Cette connaissance de l'organisation des complexes moléculaire permet par la suite de créer des molécules intervenant dans ces complexes moléculaires notamment à visée thérapeutique (médicament contre l'épilepsie par exemple). Evolution attendue : mettre ces techniques in

situ pour voir les interactions entre configurations. Inconvénient : utilise des électrons, doit être dans le vide, et donc on ne peut regarder que des tissus morts ainsi on ne voit pas la dynamique du vivant.

- **L'imagerie photonique** permet quant à elle cette observation du vivant.
 - 1930 et 1952 Frédéric, contraste de phase mais limite moléculaire, on ne voit que les formes.
 - La puissance de la vidéo-microscopie permet de voir la dynamique du vivant. Cela a permis de comprendre notamment que les récepteurs à neurotransmetteurs sont mobiles à la surface des neurones. Cependant, on n'a pas d'information sur la nature moléculaire des objets que l'on observe.
- L'imagerie de **fluorescence** qui ouvre la voie de la microscopie du vivant avec une spécificité moléculaire.
 - 1845 – W. Herschel, découvre la fluorescence (réémission d'un photon de niveau d'énergie inférieur à celui absorbé, ce qui permet de discriminer les photons émis des photons qui balayent le matériau).
 - 1890 - Emil Von Behring, découvre les anticorps.
 - Dans l'imagerie par fluorescence, les couleurs sont réelles désormais. En effet, les couleurs de fluorescences sont décidées préalablement à l'obtention de l'image et non colorée a posteriori (on marque les cellules par fluorescence en non plus en fausse couleur).
 - 1962 - Osamu Shimomura, découvre des protéines naturellement fluorescentes (la GFP). La découverte des protéines naturellement fluorescente permettant de travailler sur du tissu vivant : on peut tagger/étiqueter une expression de gène avec une protéine fluorescente.
 - 1990 - Martin Chalfie et Roger Y. Tsien, différents fluorochromes. Exemple : the Brainbow mouse (Livet et al, Nature, 2007). Visualisation des dynamiques intracellulaires par la réalisation de biosenseur (= dispositif biologique permettant de capter des changements biochimiques à l'intérieur de la matière vivante et de les transmettre via un système de réception à un appareil pouvant les interpréter). Par exemple de l'association GFP + calcium permet de visualiser l'action du Ca^{2+} intracellulaire.
- **L'imagerie confocale et multi-photonique** pour une imagerie en profondeur.
 - 1955 - Marvin Minsky, invention de l'imagerie confocale, parallèlement, le développement des laser permet le développement des microscopes confocaux à balayage en 1970. Elle permet d'éliminer les photons qui ne sont pas dans le plan optique et donc d'avoir une image plus nette. Une limite est qu'elle utilise les longueurs d'onde dans le domaine du visible or de nombreux tissus sont opaques à ces longueurs d'ondes.
 - 1963, découverte de la multi-focale qui se traduit en 1990 par le premier microscope à confocale (cibler un endroit excité pour mieux le voir). Le principe repose sur l'utilisation de deux photons dont l'énergie globale permet d'exciter le fluorochrome.
- **L'optogénétique** est l'activation de canaux ioniques sensibles à la lumière, dans le tissu souhaiter pour voir son action. Découverts chez les organismes extrêmophiles, dont on peut déclencher ou éteindre l'activité neuronale et donc comprendre leur rôle.
- La révolution de la **nanoscopie** : la super résolution vise la limite de diffraction et à dépasser cette limite. On ne peut pas séparer deux objets si leur distance est inférieure à celle équivalent à la longueur d'onde de la lumière. Mais en fait, on peut contourner cette limite (Eric Betzig, prix Nobel de chimie, 2014).
 - 1995 - Stefan Hell, invente de **l'imagerie par déplétion d'émission stimulée**, microscopie STED en 2000. Un faisceau de déplétion présent un trou central dont le diamètre est choisi permet de ne voir que dans le trou.
 - 1989-90 – Moerner et Michel Orritt, capacité à détecter des molécules uniques.
 - 1995 - Eric Betzig, reconstruit une image à partir des molécules individuelles. Mise en œuvre en 2006 : d-STORM, la **microscopie pointilliste**. Exemple d'utilisation : compréhension de l'organisation du cytosquelette dans les neurones ; cette organisation est périodique de type

« tube d'aspirateur » ; l'organisation des synapses par les protéines d'échafaudage a permis de voir l'organisation des récepteurs neuronaux en paquets.

- **Microscopie à feuille de lumière** (IDISCO) qui permet de s'affranchir du plan focal et qui consiste à illuminer avec une feuille de lumière et à observer à la perpendiculaire, cette technique est associée à la transpiration des tissus (dissolution des lipides).
- A l'autre bout du spectre, à l'échelle de l'individu en entier : les technologies d'imagerie sont l'**IRM**, 1980. Cette technique est sans marquage, de façon non invasive. Avec l'IRM fonctionnelle et l'IRM de diffusion.

Le futur de l'imagerie

- Acquisition de données à haut débit qui permet, par exemple, d'ouvrir la voie au criblage pour l'identification de nouveaux médicaments.
- Réussir à analyser et comprendre les téra-octets de données générées
- De nouvelles méthodes d'imagerie combinées aux techniques « omiques » (ex. transcriptomiques)
- Mettre les différentes échelles ensemble...

« *Le futur est lumineux pour l'imagerie* ». Le challenge sera donc de réussir à mettre ensemble toutes ces échelles et donc faire de l'imagerie corrélative multimodale multi-échelles. Ceci avec des machines qui ont de coûts de plusieurs millions d'euros et un temps d'espérance de vie d'un microscope de 5 ans...

➔ **Discours de clôture**

Jean-Marc Moullet, *Inspecteur général de l'éducation, du sport et de la recherche, doyen du groupe sciences et technologies du vivant, de la santé et la Terre*

170 000 élèves dans un diplôme professionnalisant ; 70 000 élèves en voie technologique ; 100 000 élèves avec la spécialité SVT en terminale et 150 000 en première ; 500 000 étudiants en biologie ; 150 000 emplois annuels, 180 milliards de chiffre d'affaires, sans parler ni de la médecine, ni de la pharmacie... L'année de la biologie est le temps de montrer l'importance de la biologie pour la France.