

Séquençage du génome de *C. elegans* : les éclats du ver

Le nématode *Caenorhabditis elegans* est le premier organisme multicellulaire dont le génome est entièrement séquencé. Les retombées de ce projet sont immédiates pour la recherche sur le ver, mais elles sont aussi importantes pour les études d'autres espèces. L'accès au répertoire génétique complet associé au développement de nouvelles technologies annonce une évolution de la biologie vers une approche globale des mécanismes biologiques.

Qui aurait imaginé il y a 35 ans que *C. elegans*, ce petit ver transparent d'un millimètre, deviendrait le premier animal au génome entièrement séquencé ? Pourtant cet événement fait l'objet d'une série d'articles publiés dans la revue *Science* en décembre 1998 [1]. Bien que *C. elegans* ait été d'abord étudié en France, c'est au généticien Sydney Brenner qu'il doit sa célébrité pour avoir été choisi comme modèle du développement et du système nerveux. L'isolement d'un grand nombre de mutants, associé à un temps de génération très court (3,5 jours), ont hissé en quelques années *C. elegans* au rang d'organisme génétique modèle [2]. Sydney Brenner réunit autour de lui à Cambridge une petite équipe de chercheurs faisant preuve d'un esprit pionnier, qui ont ensuite développé leurs laboratoires dans le monde. Ainsi c'est l'un des premiers élèves de Sydney Brenner, John Sulston, qui a mis en route et co-dirigé le projet de séquençage. Il avait auparavant décrit le devenir cellulaire invariant des 959 cellules de l'animal (ou lignage) depuis la fécondation jusqu'à l'âge adulte [3]. Puis, au milieu des années 1980, il avait entrepris l'établissement de la carte phy-

sique du génome du nématode [4], préalable au projet, herculéen à l'époque, du séquençage complet du génome d'une espèce animale. Bob Waterston, l'autre père du projet de séquençage, est un ancien chercheur postdoctoral de Sydney Brenner qui avait contribué de manière décisive à l'établissement de la carte physique du génome.

Données de la séquence du génome de *C. elegans*

• Le génome

Les 97 Mb de séquence sont couverts par l'alignement de 2 527 cosmides, 257 YAC (*yeast artificial chromosome*), 113 fosmidés et 44 produits de PCR. Cela représente plus de 99 % du génome total. L'ADN non séquencé correspond principalement à 5 régions présentant des problèmes de clonage. Pour la plupart des régions, on estime le taux d'erreur de séquençage inférieur à 10^{-4} . Les informations issues de la séquence sont regroupées dans la banque de données « ACeDB » (*A C. elegans DataBase*; <http://www.sanger.ac.uk/Projects/C-elegans/>).

La séquence révèle une composition de l'ADN en bases G-C de 36 %, globalement stable le long du génome, ce qui représente une différence importante par rapport aux génomes de la levure ou de vertébrés. Les 6 chromosomes (5 autosomes et le chromosome X) ne présentent pas de structure localisée de type centromérique, que l'on trouve chez la plupart des métazoaires. Il existe assez peu de répétitions en tandem ou inversées (6,3 % du génome).

Chez *C. elegans*, 25 % des gènes sont associés en opérons. L'ensemble des

ARN messagers sont, en outre, épissés en *trans* par ajout en 5' d'un ARN très court nommé *spliced leader* [5]. Ces caractéristiques rendent l'analyse de début et de fin des gènes un peu plus délicate, mais les prédictions restent très fiables; de plus, il existe aujourd'hui des projets de caractérisation systématique des ADNc. L'analyse de la séquence prédit l'existence de 19 099 gènes codant pour des protéines et de 659 gènes correspondant à des ARN de transfert. Les gènes des ARN ribosomiques sont présents sous forme de longues répétitions en tandem. La densité moyenne est d'un gène tous les 5 kb. Chaque gène contient en moyenne 5 introns et le total des exons prédits correspond à 27 % du génome. Le nombre total de gènes est trois fois supérieur à celui de la levure *Saccharomyces cerevisiae* et 4 à 5 fois plus faible que celui estimé chez l'homme. La comparaison avec les banques protéiques montre que 42 % des protéines prédites ont une analogie faible avec des protéines d'autres espèces. Une autre fraction (34 %) révèle des analogies avec des protéines présentes uniquement dans le genre nématode. Le reste des protéines (24 %) ne présente pas d'analogie particulière. Les domaines protéiques les plus fréquents correspondent à des fonctions de communication intercellulaire et de régulation transcriptionnelle (*Tableau I*).

Pour ceux qui seraient intéressés à explorer ACeDB, il existe un petit guide très didactique de son contenu et de son utilisation [6]. Signalons également une perspective historique fort intéressante écrite par les acteurs du projet, que nous recommanderons tout particulièrement à ceux qui aimeraient connaître les dessous du

Tableau I

LES 10 DOMAINES PROTÉIQUES LES PLUS REPRÉSENTÉS
CHEZ *C. ELEGANS*

Nombre	Description
650	Chimiorécepteur à 7 domaines transmembranaires (récepteur olfactif)
410	Domaine protéine-kinase eucaryote
240	Doigt de zinc de type C4
170	Collagène
140	Récepteur à 7 domaines transmembranaires (famille rhodopsine)
130	Doigt de zinc de type C2H2
120	Domaine lectine de type C
100	Motif de reconnaissance de l'ARN (RRM, RBD ou RNP)
90	Doigt de zinc de type C3HC4
90	Tyrosine phosphatase

RRM: RNA recognition motif; RBD: RNA binding domain; RNP: ribonuclear protein motif (adapté de [1]).

projet de séquençage et, en particulier, les problèmes pratiques que le Consortium a dû résoudre pour boucler cette réalisation remarquable [7].

• Comparaison des protéines du nématode et de la levure

Pour la première fois il est possible d'établir des comparaisons au niveau de tout le génome entre un animal multicellulaire et un micro-organisme unicellulaire, la levure *S. cerevisiae* (génome séquencé en 1996 [8]). Les 19099 phases ouvertes de lectures du ver et les 6217 de la levure ont été comparées pour mettre en évidence les gènes communs et différents entre les deux espèces [9], et ainsi prédire si deux gènes apparentés sont de réels orthologues (descendant verticalement d'un seul gène ancestral).

– Le dénominateur commun entre ver et levure: les protéines orthologues

La proportion des protéines très conservées entre les deux organismes correspond à une minorité de l'ensemble des gènes (40 % pour la levure, 20 % pour le ver). Elles sont requises pour les fonctions biologiques «de base» partagées par les deux espèces (figure 1). Les fonctions biologiques de base sont assurées par sensiblement le même nombre de gènes dans les deux espèces.

Cette conservation entre deux espèces aussi différentes que la

levure et le ver, renforce l'importance du transfert des connaissances d'un organisme à un autre. Inversement, une fraction importante des gènes non retrouvés chez la levure doit sans doute représenter le noyau de gènes nécessaires à l'établissement d'un organisme pluricellulaire. Une autre fraction des gènes du ver est vraisemblablement caractéristique des animaux pourvus d'un système nerveux. Leur étude chez *C. elegans* devrait avoir une portée générale.

– Les différences entre un métazoaire et un unicellulaire

Chez le ver, le développement aboutit à la formation de nombreux types cellulaires qui assurent des fonctions très spécialisées. Un tel degré de complexité, comparé à celui d'un système unicellulaire, nécessite un ensemble beaucoup plus important de protéines impliquées dans la régulation et la communication cellulaire. La comparaison du nombre et de l'utilisation de 122 domaines protéiques, associés à la régulation génique ou à la transmission du signal, a été effectuée entre le ver et la levure (genome-www.stanford.edu/Saccharomyces/worm/). Elle met en évidence plusieurs mécanismes évolutifs utilisés pour engendrer des systèmes complexes de transmission de signal: (1) la création de nouveaux domaines; (2) le recrutement d'un domaine pour établir une nouvelle fonction de transmission; (3) l'amplification d'un domaine déjà associé à la transmission de signaux puis la diversification de ses fonctions (Tableau II).

En résumé, la plupart des protéines de transmission et de régulation du nématode ne présentent pas d'orthologue chez la levure. Les processus biologiques caractéristiques de la multicellularité sont assurés par des

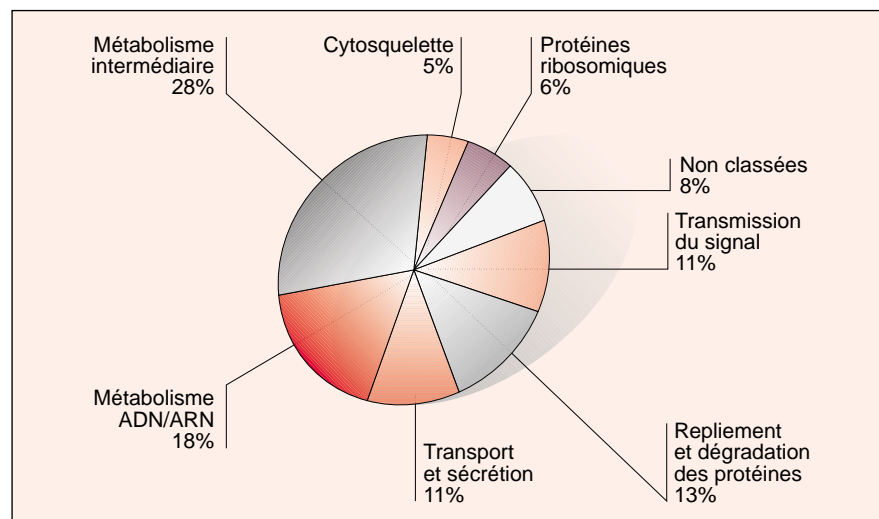


Figure 1. **Distribution des fonctions biologiques «de base» conservées entre le ver et la levure.** Les séquences protéiques ont été rassemblées en groupes de très forte analogie (BLASTP $p < 10^{-50}$ avec alignement $> 80\%$ de la longueur). Chaque groupe a été rattaché à une seule catégorie fonctionnelle, principalement fondée sur les annotations des séquences de levure. (Adapté de [9].)

protéines sans similitude importante avec celles responsables des fonctions « de base », même si elles peuvent partager certains domaines.

La séquence de *C. elegans*: quel impact ?

Pour la première fois on dispose de l'inventaire complet de tous les gènes d'un organisme modèle, dans lequel s'accomplissent de nombreux processus développementaux tels que la différenciation cellulaire, l'apoptose, l'élaboration d'un système nerveux, le vieillissement. Une telle mine d'informations est un outil puissant pour la compréhension des mécanismes biologiques chez le ver. En outre, elle renforce l'utilisation du nématode comme modèle d'étude de l'homme. Enfin, on peut prendre le pari que le projet de séquençage *C. elegans* sera très directement utile au projet de séquençage du génome humain, et cela par deux aspects. D'une part, le projet *C. elegans* aura permis de faire avancer de manière spectaculaire les techniques et les stratégies de séquençage de masse.

D'autre part, les homologies de séquence *C. elegans*/homme seront sûrement utiles pour affiner certaines prédictions de phase ouverte de lecture.

• La séquence en tant qu'outil pour mieux comprendre le nématode

La connaissance de la séquence dans son intégralité fournit un avantage immédiat: celui de faciliter grandement le clonage des gènes responsables de phénotypes particuliers. Cependant, une proportion importante de gènes révélés par le séquençage n'a pas de fonction connue. Afin de résoudre ce problème, on peut simuler ou induire une mutation dans un gène chez *C. elegans*.

– L'approche d'interférence par l'ARN

Une première approche est d'éteindre de façon transitoire un gène donné au moyen de la méthode dite d'interférence par l'ARN (RNAi), décrite tout récemment [10]. Elle consiste à injecter dans le nématode l'ARN double brin correspondant au gène que l'on veut inac-

tiver. Le ver injecté va alors donner naissance à près de 200 animaux phénotypant la perte de fonction totale de ce gène. Simplicité et rapidité sont les principaux atouts de cette méthode, qui rend son verdict en moins d'une semaine. Même si les mécanismes de la RNAi sont encore obscurs, on comprend aisément les avantages d'une telle technique: on peut l'appliquer à n'importe quel gène [11] et même envisager l'inactivation de tous les gènes d'une famille, afin de pallier les éventuels problèmes de redondance. Toutefois, des cas de gènes réfractaires à l'interférence ont été rapportés et il convient de rester prudent en cas d'absence de phénotype.

– De la séquence à la mutation

Outre le fait qu'elle renseigne sur la fonction d'un gène, l'obtention d'un mutant permet d'entreprendre des études génétiques. Dans les cas où aucun mutant n'a été isolé au préalable, il existe des méthodes permettant d'en créer [12]. Brièvement, il s'agit d'isoler un mutant qui porte une délétion dans un gène d'intérêt

Tableau II

QUELQUES EXEMPLES DE LA REPRÉSENTATION CHEZ LE VER ET LA LEVURE DE DOMAINES DE RÉGULATION OU DE TRANSMISSION DU SIGNAL

Domaine	Description	Levure	Ver	Rapport
I	Récepteurs des hormones nucléaires	0	270	–
	Cadhérine	0	18	–
	EGF	0	135	–
II	FNIII	2	55	9,3
	vWA	4	43	3,6
	LRR	8	85	3,6
III	cNMP cyclase	1	36	12,2
	PDZ	2	66	11,2
	Homéodomaine	8	93	3,9

Le nombre de protéines contenant le domaine est indiqué chez la levure et chez le ver, le rapport est normalisé par le nombre total de gènes (adapté de [9]).

I. Domaines présents uniquement chez *C. elegans*.

II. Domaines associés à une nouvelle fonction chez *C. elegans*.

III. Domaines associés à une même fonction mais dont le nombre est beaucoup plus important chez *C. elegans*.

au moyen d'un crible effectué par PCR (figure 2).

Soulignons que plusieurs laboratoires (dont ceux de Laurent Ségalat et de Michel Labouesse en France) ont entrepris l'inactivation systématique de tous les gènes du ver. Certains projets sont en partie soutenus par l'industrie pharmaceutique. Plus généralement, *C. elegans* a été choisi comme système modèle par plusieurs entreprises (Exelixis, Axys, Devgen)

afin d'identifier de nouveaux médicaments.

– *La connaissance du domaine d'expression*
Lorsque l'on étudie un gène nouveau, il est fondamental de savoir dans quelles cellules il s'exprime. Le fait que l'animal soit transparent, d'anatomie simple entièrement décrite, a développé l'utilisation de la GFP (*green fluorescent protein* [13]), d'autant qu'il est très facile de créer

des lignées transgéniques stables [14]. Les constructions GFP permettent de savoir où et quand un gène s'exprime chez un animal vivant, dans un contexte sauvage ou mutant (figure 3).

– *Et la génétique classique ?*

Est-ce que le séquençage va pour autant aboutir à la fin des expériences de génétique classique chez *C. elegans*? Non, bien au contraire! Le fait de connaître le phénotype de perte de fonction d'un gène n'est pas suffisant: il faut raisonner plus globalement en termes de voie de régulation. Les atouts traditionnels de la génétique classique, qui vise à déterminer les interactions entre gènes dans un organisme vivant, en feront plus que jamais une approche indispensable. Par exemple la génétique classique chez *C. elegans* a permis de mieux comprendre les processus qui sont altérés dans certaines maladies humaines. Ainsi, les gènes responsables de la mort cellulaire programmée (ou apoptose), souvent déréglés dans les cancers humains, ont été découverts chez le ver [15]. De même, les différents acteurs de la cascade de transmission du signal Ras, également impliquée dans certains cancers, ont été mis en évidence chez le ver en étudiant la formation de la vulve [16].

• *La séquence: une approche plus globale des questions biologiques*

– *Du gène à la famille... et aux cascades*
Nous l'avons vu plus haut, la séquence permet non seulement d'étudier des gènes mais aussi des familles de gènes. Désormais il devient possible de s'intéresser aux cascades de régulation. Par exemple, connaissant la séquence reconnue par un facteur de transcription, on peut à présent déterminer de façon statistique quels sont ses gènes cibles potentiels [17].

– *La technologie des puces à ADN (ou DNA chips)*

Comme cela a été mis en œuvre à la suite du séquençage de la levure, la fabrication de puces à ADN est en cours de développement chez *C. elegans*. Il s'agit d'empaqueter plusieurs milliers de molécules d'ADN, soit des

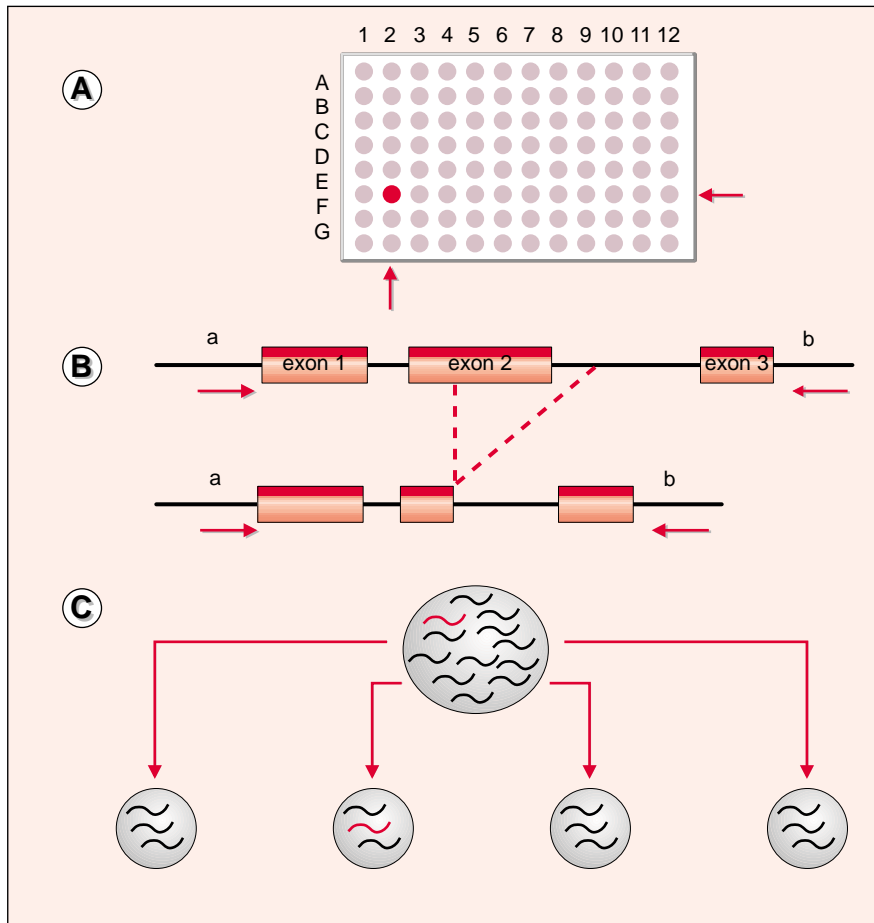


Figure 2. **Isolément d'un mutant à partir de la séquence.** **A.** Constitution d'une banque de mutants de délétion. Les animaux ont été traités par un agent mutagène et regroupés en populations. La moitié de chaque population est congelée, l'autre sert à la préparation d'ADN génomique. **B.** Recherche d'un événement de délétion par PCR. Les populations de la banque sont testées au moyen d'amorces situées de part et d'autre du gène d'intérêt (a et b). **C.** Les populations positives sont décongelées et séparées en sous-populations, lesquelles sont de nouveau testées par PCR. On répète la procédure jusqu'à isolement d'un animal porteur de la délétion (en rouge). Remarque: précisons que *C. elegans*, qui est hermaphrodite, peut se multiplier par autoreproduction, ce qui permet d'obtenir des populations clonales. D'autre part, ce crible peut également se faire par excision imprécise d'un élément transposable.

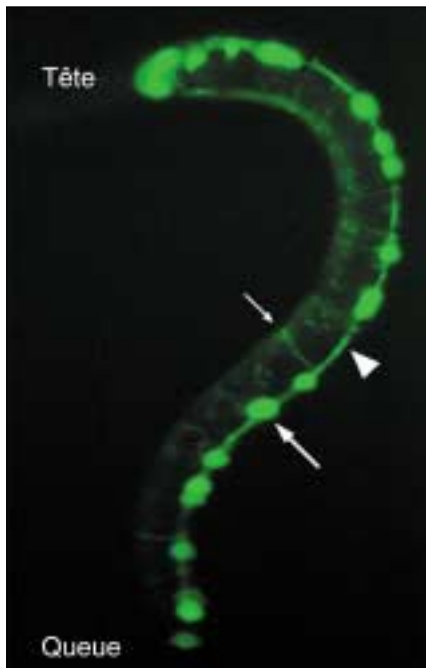


Figure 3. **Qui suis-je? Une jeune larve exprimant une construction GFP dans quelques motoneurones de la corde ventrale.** L'utilisation de ce marqueur fluorescent permet de distinguer non seulement les corps cellulaires (grande flèche) mais aussi les projections axonales (petite flèche et tête de flèche).

ces mutants on relève un récepteur de type IGF (*insulin-like growth factor*) et des messagers secondaires agissant sans doute en aval du récepteur IGF (*m/s* 1997, n° 10, p. 204) [20]. L'exploration de la voie de formation des *dauers* et de la longévité chez *C. elegans* permettra d'identifier des nouveaux acteurs de la réponse à l'insuline. Cette découverte soulève la possibilité d'un lien entre insuline et longévité chez l'homme.

Conclusions

Quels enseignements peut-on tirer après achèvement du séquençage du génome de *C. elegans*? Le premier constat est qu'il a permis de mettre au point les outils nécessaires à la réalisation des projets génome d'autres organismes. L'accès au répertoire génique complet d'un organisme demeure un atout indéniable pour les études fondamentales ; il offre la possibilité d'une nouvelle approche d'ensemble. Toutefois, à l'ère de la biologie-séquence il est bon d'insister sur la nécessité de conserver une approche traditionnelle, fondée entre autres sur la génétique classique et la physiologie, afin d'éviter certains écueils ■

Renaud Legouis

Chargé de recherche à l'Inserm.

Sophie Quintin

Étudiante en thèse.

Michel Labouesse

Directeur de recherche au Cnrs, Institut de génétique et de biologie moléculaire et cellulaire, Cnrs/Inserm/ULP, BP163, 67404 Illkirch Cedex, France.

RÉFÉRENCES

1. The *C. elegans* sequencing consortium. genome sequence of the nematode *C. elegans*: a platform for investigating biology. *Science* 1998; 282: 2012-8.
2. Brenner S. The genetics of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 1974; 77: 71-94.

ADNc, soit des oligonucléotides, sur une très petite surface [18]. De telles puces peuvent ensuite être hybridées avec différentes populations d'ARN. On pourra ainsi visualiser la différence de répertoire transcriptionnel entre par exemple deux génotypes, ou deux états de différenciation. Il est important de préciser que grâce à ce procédé on observe un état transcriptionnel à l'échelle de tout le génome et non plus de quelques gènes.

• La séquence en tant qu'outil pour mieux comprendre... l'homme

Un des constats frappants dégagé par les données du séquençage est que la plupart des gènes humains connus (74%) ont une séquence proche de celle d'un gène du nématode. *C. elegans* représente un système très avantageux pour étudier la fonction des gènes identifiés chez l'homme, mais à deux conditions. La première est d'oublier la biologie moléculaire pour revenir à la physiologie, qu'elle prenne pour objet d'étude la cellule ou l'animal dans son ensemble. La seconde, qui découle de la première, est de faire preuve d'imagination et de savoir faire des comparaisons à bon escient. Nous illustrerons ce point par deux exemples, en commençant par une comparaison à l'échelle cellulaire.

Les protéines PS1 et PS2 sont des protéines membranaires appelées présénilines en raison de leur association avec la forme familiale d'apparence précoce de la maladie d'Alzheimer. Les présénilines sont des orthologues d'une protéine appelée SEL-12 chez *C. elegans* qui participe au ciblage membranaire d'au moins deux types de récepteurs transmembranaires. L'expression chez *C. elegans* des présénilines humaines permet de sauver le phénotype des mutants de perte de fonction *sel-12* [19]. Il est donc probable que les présénilines ont aussi une fonction de ciblage chez l'homme (*m/s* 1997, n° 1, p. 106). S'il est vain de chercher un équivalent de la maladie d'Alzheimer chez le nématode, il est bien pertinent de rechercher une conservation du processus cellulaire impliquant les présénilines et SEL-12.

Dans un tout autre domaine, l'étude des mécanismes génétiques contrôlant la formation des *dauers* (larves en dormance capables de résister plusieurs semaines à l'absence de nourriture) a conduit à des observations fascinantes impliquant un lien entre métabolisme de l'insuline et vieillissement. Ainsi, certains mutants de formation de la larve *dauer* présentent une espérance de vie doublée à l'âge adulte. Parmi les gènes affectés chez

RÉFÉRENCES

3. Sulston JE, Schierenberg E, White JG, Thomson JN. The embryonic cell lineage of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Dev Biol* 1983; 100: 64-119.
4. Coulson A, Kozono Y, Lutterbach B, Shownkeen R, Sulston J, Waterston R. YACs and the *C. elegans* genome. *Bioessays* 1991; 13: 413-7.
5. Blumenthal T. Gene clusters and polycistronic transcription in eukaryotes. *Bioessays* 1998; 20: 480-7.
6. Kuwabara PE. Worming your way through the genome. *Trends Genet* 1997; 13: 455-60.
7. The *C. elegans* genome sequencing project. How the worm was won. *Trends Genet* 1999; 15: 51-8.
8. Goffeau A, Barrell BG, Bussey H, et al. Life with 6,000 genes. *Science* 1996; 274: 546, 563-7.
9. Chervitz SA, Aravind L, Sherlock G, et al. Comparison of the complete protein sets of worm and yeast: orthology and divergence. *Science* 1998; 282: 2022-8.
10. Fire A, Xu S, Montgomery MK, Kostas SA, Driver SE, Mello CC. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 1998; 391: 806-11.
11. Shi Y, Mello C. A CBP/p300 homolog specifies multiple differentiation pathways in *Caenorhabditis elegans*. *Genes Dev* 1998; 12: 943-55.
12. Jansen G, Hazendonk E, Thijssen KL, Plasterk RH. Reverse genetics by chemical mutagenesis in *Caenorhabditis elegans*. *Nat Genet* 1997; 17: 119-21.
13. Chalfie M, Tu Y, Euskirchen G, Ward WW, Prasher DC. Green fluorescent protein as a marker for gene expression. *Science* 1994; 263: 802-5.
14. Mello CC, Kramer JM, Stinchcomb D, Ambros V. Efficient gene transfer in *C. elegans*: extrachromosomal maintenance and integration of transforming sequences. *Embo J* 1991; 10: 3959-70.
15. Metzstein MM, Stanfield GM, Horvitz HR. Genetics of programmed cell death in *C. elegans*: past, present and future. *Trends Genet* 1998; 14: 410-6.
16. Sternberg PW, Han M. Genetics of RAS signaling in *C. elegans*. *Trends Genet* 1998; 14: 466-72.
17. Clarke ND, Berg JM. Zinc fingers in *Caenorhabditis elegans*: finding families and probing pathways. *Science* 1998; 282: 2018-22.
18. Lander ES. Array of hope. *Nat Genet* 1999; 21: 3-4.
19. Levitan D, Doyle TG, Brousseau D, Lee MK, Thinakaran G, Slunt HH, Sisodia SS, Greenwald I. Assessment of normal and mutant human presenilin function in *Caenorhabditis elegans*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 14940-4.
20. Johnson FB, Sinclair DA, Guarente L. Molecular biology of aging. *Cell* 1999; 96: 291-302.

TIRÉS À PART

M. Labouesse.



Enseignement organisé dans le cadre de la Faculté de Médecine Paris-Sud, et de l'Université Paris XI.

- **Début** : 3 novembre 1999
- **Enseignement de 2 ans à temps plein**, destiné aux jeunes oncologues diplômés, titulaires par ailleurs d'un DEA ou équivalent, et désireux de recevoir un enseignement de haut niveau en recherche clinique en oncologie. Ouvert aux spécialistes, Docteurs en médecine, Oncologues médicaux et pédiatres, Chirurgiens, Radiothérapeutes, Radiologues, Pathologistes, Biologistes, Statisticiens, etc., et aux Docteurs en Pharmacie.
- **De toutes nationalités**, mais une très bonne connaissance du français et de l'anglais est indispensable. Cours en Français, certains exposés et mémoires pourront être présentés en Anglais.
- **Une formation approfondie** dans le domaine de la recherche clinique en oncologie est offerte, comportant un enseignement théorique, et des stages cliniques ou de laboratoire.
 - > **Fonctions effectives avec responsabilités pendant 2 ans à plein temps**, dans sa spécialité d'origine, et 6 mois au minimum dans une autre, à l'institut Gustave-ROUSSY. Option : 1 année sur les 2 consacrée à un travail personnel dans un laboratoire de recherche de l'IGR.
 - > **Enseignement théorique, obligatoire et commun à tous, de 340 heures en 2 ans. Il comporte : 8 modules de 5 jours** (cours, discussions de dossiers, de documents ou de techniques, avec forte participation des élèves), les uns généraux, les autres spécialisés : 1 enseignement de statistiques, épidémiologie et santé publique réparti sur les 2 ans ; 1 séminaire de 2 à 3 h tous les 15 jours sur un sujet limité.
 - > **Travail personnel de recherche clinique ou biologique** aboutissant en 2 ans à la rédaction et la soutenance de 1 ou 2 mémoires.
 - > **Formation individualisée**, reposant sur un encadrement très proche : tuteur, directeur de stage et de mémoire.
- **L'attribution du Diplôme** fait suite à une évaluation finale portant sur les notes des examens suivant chaque module, l'évaluation des mémoires, l'avis du « tuteur » de chaque étudiant et celui des responsables de ses stages.
- **Les promotions sont limitées à 15 élèves chaque année.**
- **Les candidats pourront éventuellement bénéficier d'une bourse ou d'un salaire** de 2000 Euros par mois pour leur première année (# 2350 \$ US). Ils sont invités à se procurer une bourse pour la 2^e année.

Renseignements et dossier de candidature à demander à Mme Anne-Marie RIVIÈRE par courrier ou E-mail : arivière@igr.fr.
Candidatures par écrit avant le 1^{er} avril 1999, adressées au Professeur Jean LEMERLE, Directeur du D.U.E.R.C.C. (E-mail : lemerle@igr.fr.)
ou au Professeur Martin SCHLUMBERGER, Directeur des Études
(E-mail : schlumbg@igr.fr) - INSTITUT GUSTAVE-ROUSSY, 94805 VILLEJUIF (France)