

Avis de Soutenance

Madame Fabiola CHACON CHALE

Ingénierie pour le vivant

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés

Outils microfluidiques pour le tri et la caractérisation biophysiques des spores fongiques

dirigés par Madame Magalie FAIVRE

Soutenance prévue le **vendredi 12 décembre 2025** à 14h00

Lieu : Salle de thèse Bâtiment Irène Joliot-Curie 1 rue Enrico Fermi 69100 Villeurbanne France

Composition du jury proposé

Mme Magalie FAIVRE	CNRS Lyon	Directrice de thèse
Mme Gwennou COUPIER	CNRS Grenoble	Rapporteuse
Mme Myriam CUBIZOLLES	CEA Grenoble	Examinatrice
Mme Marie FRENEAT ROBIN	Université Claude Bernard Lyon 1	Examinatrice
M. Christophe BRUEL	Université Claude Bernard Lyon 1	Co-encadrant de thèse
M. Jean-François CHATEAUX	Université Claude Bernard Lyon 1	Co-encadrant de thèse
M. Francesco FAVARON	Université de Padoue (Italie)	Examineur
Mme Thérèse LEBLOIS	Université Marie et Louis Pasteur - Besançon	Rapporteuse

Mots-clés : biomécanique cellulaire, tri cellulaire, spectroscopie d'impédance électrique,

Résumé :

B. cinerea est un phytopathogène nécrotrophe qui peut infecter plus de 200 espèces de plantes dans le monde entier et qui est considéré comme le deuxième champignon pathogène le plus important. Les biologistes produisent souvent des souches génétiquement modifiées afin d'étudier l'influence de gènes spécifiques sur la pathogenèse fongique. Cependant, comme les spores de *B. cinerea* sont généralement multi-nucléées, l'obtention d'une population purifiée dans laquelle tous les noyaux contiennent la mutation souhaitée est un processus long et fastidieux qui peut prendre jusqu'à plusieurs mois. Une stratégie pour accélérer le processus de purification consiste à isoler des spores mono-nucléées, ce qui garantit un ADN homogène. Pour ce faire, nous examinons d'abord la possible corrélation entre la taille des spores et le nombre de noyaux qu'elles contiennent, démontrant ainsi qu'une spore contenant un noyau unique a tendance à être plus petite qu'une spore contenant de multiples noyaux. Nous proposons donc un outil microfluidique mettant en œuvre une séparation basée sur la taille, exploitant le déplacement latéral déterministe (DLD), dans le but d'obtenir un enrichissement d'une suspension de spores en spores mono-nucléées. Nous avons d'abord caractérisé la puce DLD grâce à une suspension de billes commerciales, afin d'optimiser le design du dispositif, les paramètres d'écoulement et la composition du milieu suspendant, avant de quantifier son efficacité de tri. Finalement, nous avons testé le dispositif avec des spores de *B. cinerea* et étudié sa capacité à enrichir une suspension contenant initialement un

mélange de spores mono-nucléées et multi-nucléées. Après traitement, l'échantillon est enrichi en spores mono-nucléées, ce qui augmente la probabilité d'obtenir un ADN homogène et démontre le potentiel de la puce à accélérer la purification génétique des champignons. En outre, les signatures biophysiques de la paroi cellulaire fongique (FCW) ont été étudiées pour donner un aperçu de ses propriétés mécaniques et électriques, en utilisant la microscopie à force atomique (AFM) et la spectroscopie d'impédance électrique (EIS), respectivement. Pour les expériences AFM, nous avons utilisé un cantilever sans pointe pour comparer la réponse à l'indentation de la souche sauvage et de la souche mutante Δ AGS, cette dernière ayant une mutation impactant le FCW. Cela nous a permis d'évaluer les différences de rigidité mécanique entre les deux souches. Pour les mesures d'impédance, nous avons fabriqué un dispositif microfluidique pour le piégeage de spores uniques sur des paires intégrées d'électrodes en or. Des tests préliminaires ont été effectués avec des billes de polystyrène pour valider le dispositif. À notre connaissance, cette question n'a jamais été abordée auparavant sur cette souche de spores fongiques et notre objectif est de savoir comment la paroi fongique peut être affectée par des mutations perturbant les gènes impliqués dans sa synthèse ainsi que de trouver une signature corrélée au nombre de noyaux.