

## DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **26 septembre 2024**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Monsieur CARRERE Adrien**

Titre de la thèse : « *Caractérisation de la microphase séparation hypoxique de Dictyostelium* »

### Résumé



Récemment, il a été observé chez *Dictyostelium Discoideum* une nouvelle forme d'agrégation sous un film millimétrique de milieu nutritif et après plusieurs jours de divisions cellulaires. Cette agrégation est caractérisée par l'apparition, sous un microscope en champ clair, de taches noires, qui sont des agrégats de cellules, entourées d'un gaz de cellules. Remarquablement ces agrégats se stabilisent rapidement en taille tout en continuant à rester très mobiles. L'objectif de cette thèse est de proposer une première caractérisation de cette agrégation.

Pour cela, nous avons développé une méthode de détection des agrégats. En parallèle, nous avons effectué des expériences dans différentes conditions de hauteur de milieu et atmosphérique. Cette première série de manipulations et d'analyses ont permis de démontrer que l'oxygène et plus précisément l'hypoxie est le moteur de notre agrégation. Nous avons alors développé un modèle et une simulation de séparation microphasique, qui ont reproduit avec succès les résultats expérimentaux. Néanmoins, cette première étude ne permet pas d'expliquer la dynamique observée. Nous avons donc ensuite utilisé des algorithmes de tracking et calculé le déplacement carré moyen (MSD) associé à ces trajectoires. Nous avons observé que ces agrégats ont une MSD suivant une loi à trois régimes. Les raisons, du premier régime diffusifs des agrégats n'a pas été déterminé. Les raisons du régime persistant et du régime diffusif à long termes est du aux mouvements naturelles des cellules mais leurs valeurs (largement supérieur à celle des cellules) semblent indiquer la présence de d'autre mécanisme et plus particulièrement la présence de coopération cellule-cellule. De plus, il existe une corrélation entre ces valeurs et la tailles des agrégats. Les agrégats les plus gros diffusent plus et sont plus persistant au temps long, tandis que les agrégats les plus petits sont plus diffusifs aux temps courts. Ce type d'observation a déjà été reporté dans une étude théorique. Nous donc décidé de développer une simulation qui combinerait les idées de séparation microphasique (compétition entre l'aérotaxis et l'adhésion) et de coopération à l'échelle cellulaire (alignement du vecteur polarisation). Nous avons utilisé le modèle de Potts Cellulaire (un algorithme de Monte-Carlo particulièrement adapté pour représenter les fluctuations membranaires des cellules). Nous avons alors obtenu une simulation avec des agrégats ayant une taille caractéristique et une dynamique

similaire à celle observée expérimentalement. Enfin nous avons aussi étudié le rôle d'un certains nombres de gènes et de mécanismes biologique dans cette nouvelle agrégation via l'utilisation de drogue, de criblage de mutant et de test QPCR. Ces premiers tests ont permis d'écarter un certain nombre de gène pouvant être impliqué. Nous avons aussi déterminé que plusieurs gènes d'adhésion sont nécessaire pour stabiliser notre agrégations.

En conclusion, Dictyostelium est un organisme modèle utilisé pour comprendre et étudier un grand nombre de phénomènes biologiques. L'adaptation de cet organisme à l'hypoxie et en particulier à l'aérotaxie reste encore peu étudiée. Nous avons étudié un nouveau phénomène d'agrégation chez Dictyostelium qui combine hypoxie, adhésion et aérotaxie. Lorsque des cellules proliférantes sont trop nombreuses, elles consomment tout l'oxygène et se regroupent en agrégats avec une taille préférée. Cette taille résulte d'un équilibre entre adhésion et répulsion aérotactique. Les agrégats montrent une mobilité surprenante, suggérant des mécanismes de coopération interne. En terme biologique, nous avons étudié l'expression d'un certain nombre de gènes classiquement reliés à l'oxygène et à l'adhésion pour tester leur implication dans cette nouvelle phase d'agrégation. De par de la modèle, la connaissance de paramètres clés et d'outils de modélisation mathématique, cette étude pourrait contribuer à une meilleure compréhension de l'hypoxie.