

## **DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT**

**(Arrêté du 25 mai 2016)**

Date de la soutenance : **04 septembre 2025**

Nom de famille et prénom de l'auteur. e : **Madame Julie HESNARD**

Titre de la thèse : Caractérisation de la réponse génique à l'hypoxie et identification de facteurs moléculaires impliqués dans l'aérotaxie chez *Dictyostelium discoideum*

### **Résumé**



Les eucaryotes aérobiques utilisent l'oxygène (O<sub>2</sub>) pour oxyder des métabolites et générer de l'ATP. Pour survivre au manque d'oxygène, les cellules peuvent adapter leur métabolisme mais certaines sont aussi capables de migrer vers des zones où les niveaux d'oxygène sont plus favorables (aérotaxie). Bien que les mécanismes induisant l'aérotaxie soient encore mal compris dans la plupart des types cellulaires, l'adaptation métabolique a été largement étudiée chez les mammifères. Il a été montré que le facteur de transcription HIF-1 est continuellement exprimé, mais qu'il est modifié en présence d'O<sub>2</sub> par des prolyl hydroxylases (PHDs), entraînant sa dégradation par le protéasome. En revanche, en condition hypoxique, HIF-1 n'est plus modifié ni dégradé et s'accumule dans le noyau des cellules pour réguler l'expression de certaines de gènes. Chez les organismes dépourvus de HIF-1, comme les protistes, les mécanismes d'adaptation hypoxique restent largement inexplorés. Parmi ces protistes, l'amibe sociale *Dictyostelium discoideum* est un organisme aérobie vivant dans le sol, se nourrissant de bactéries. Lors de carence nutritive, les amibes individuelles peuvent s'agréger pour former des limaçons multicellulaires qui migrent vers la surface du sol où ils se différencieront en

corps fructifères avec des spores supportés par une tige cellulaire. L'O<sub>2</sub> est un signal important pour Dictyostelium, influençant l'aérotaxie des cellules individuelles, la migration des limaçons, la polarité des limaçons, la culmination et la différenciation terminale des spores. Dans ce contexte, ma thèse s'est concentrée sur la caractérisation de la réponse génétique à l'hypoxie et l'identification des facteurs moléculaires impliqués dans l'aérotaxie chez Dictyostelium. Pour étudier l'aérotaxie, j'ai réalisé un essai de motilité dans lequel les cellules étaient confinées afin de générer un gradient d'O<sub>2</sub> dû à la consommation d'oxygène par les cellules. En réponse à ce gradient, les cellules de Dictyostelium montrent une migration collective formant un anneau de cellules en expansion, caractéristique de la réponse aérotactique. À l'aide de mutants nuls et de divers inhibiteurs cellulaires, j'ai démontré que l'aérotaxie ne dépend pas des activités des prolyl hydroxylases, du stress oxydatif, du stress nitrosatif ou de l'activité mitochondriale. J'ai également étudié la capacité respiratoire des cellules de Dictyostelium, qui montrent une affinité globale pour l'O<sub>2</sub> d'environ 2,5 µM. Pour examiner les changements d'expression génique en hypoxie, j'ai caractérisé les altérations transcriptomiques de cellules soumises à 1% d'O<sub>2</sub> dans des conditions nutritives pendant 24 heures, suivies d'une période de réoxygénation de 5 heures. De manière remarquable, 32 % des transcrits quantifiés étaient différentiellement exprimés pendant l'hypoxie, les plus grands changements se produisant lors des phases précoces (1h) et tardives (24h). Des changements ont été observés dans diverses voies métaboliques, anaboliques et cataboliques. Fait intéressant, les transcrits associés à la voie de signalisation de l'AMPc, généralement déclenchée par la carence nutritive, étaient également induits pendant l'hypoxie chronique. De plus, j'ai étudié les mécanismes moléculaires à l'origine de la réponse transcriptomique. L'analyse de quatre gènes marqueurs par RT-qPCR a suggéré plusieurs mécanismes d'induction sous-jacents à la réponse transcriptomique. En particulier, mes données montrent que certains gènes sont fortement induits en 10 minutes. Plusieurs mécanismes régulateurs distincts sont impliqués, incluant un système de type HIF avec une protéine clé inconnue qui est sans cesse synthétisée puis dégradée.

**Mots-clés :**

aérotaxie, hypoxie, Dictyostelium discoideum, adaptation génique,