



Laboratoire de Physique  
UMR CNRS 5672  
École Normale Supérieure de Lyon

– SUJET DE STAGE DE M2 ET DE THESE –

**Étude de la dynamique de processus biologiques à l'intérieur du noyau d'une cellule par diffusion dynamique de la lumière.**

*Directeur de stage/thèse* : Éric Freyssingeas (M&C ENSL, HDR)

*Contacts* : eric.freyssingeas@ens-lyon.fr ; 04 72 72 81 93

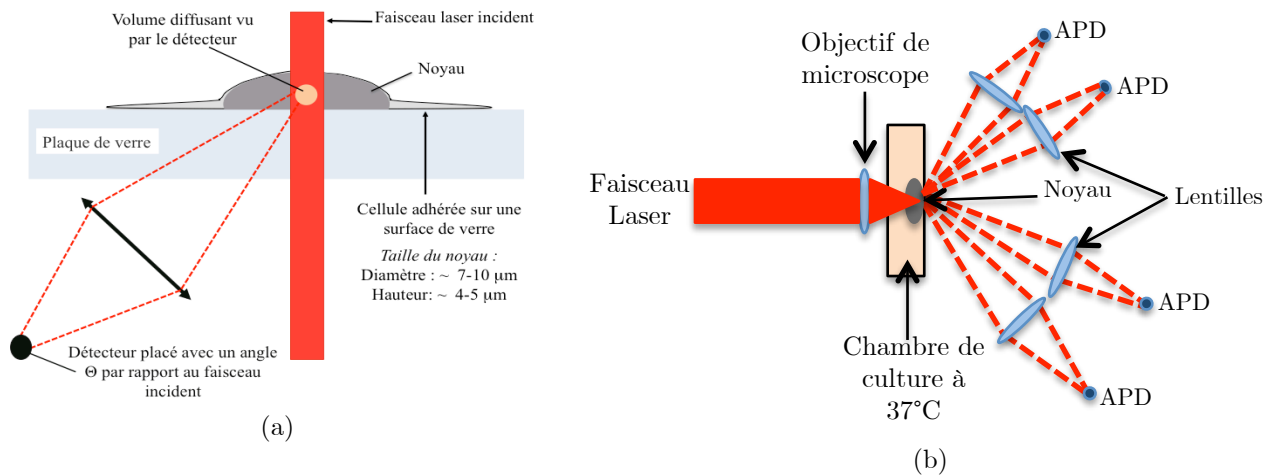
La connaissance de la dynamique interne du noyau d'une cellule vivante est essentielle pour la compréhension du fonctionnement de la cellule eucaryote. Depuis plus d'une quinzaine d'année, de très nombreuses études ont été conduites pour étudier les propriétés dynamiques du noyau d'une cellule. Ces études, qui utilisent des techniques de fluorescence, montrent que cette dynamique est à la fois riche et complexe, impliquant une multitude de phénomènes différents hors-équilibre (transcription, réplication, trafic intracellulaire) et qui se produisent sur des échelles de temps (de  $1 \mu\text{s}$  à  $1 \text{j}$ ) et d'espace (de  $1 \text{nm}$  à  $10 \mu\text{m}$ ) très différentes. Ces résultats, cependant, donnent seulement une vision partielle de cette dynamique puisque les études par fluorescence ne peuvent donner des informations que sur des processus associés à des objets qui ont été marqués.

Le projet de recherche proposé ici a pour but d'étudier la dynamique interne globale du noyau d'une cellule vivante, par une technique bien connue en physique, la diffusion dynamique de la lumière. Jusqu'à récemment aucune étude de ce type n'avait été menée. Nous avons précédemment développé un dispositif expérimental original et des techniques spécifiques d'analyse du signal qui, ensemble, nous permettent de sonder la dynamique interne du noyau sur une gamme importante d'échelles de temps ; de  $10^{-5}$  à  $100 \text{s}$  (voir Figure ci-dessous et [1]). Grâce à cela, nous avons pu, étudier la dynamique interne du noyau au cours du cycle cellulaire pour deux lignées cellulaires (SHEP et HeLa). Les résultats obtenus indiquent que cette approche est très prometteuse pour ce genre d'études [1].

À la suite de ces travaux, nous souhaitons mettre en avant le lien entre ces mesures et les processus biologiques spécifiques à l'intérieur du noyau. En combinant l'utilisation de protocoles permettant de contrôler l'activité à l'intérieur du noyau, de marquages à l'aide de nanosondes métalliques spécifiques et des expériences de diffusion dynamique de la lumière, nous souhaitons obtenir des mesures quantitatives sur la dynamique interne de noyaux de cellules vivantes dont les processus auront été modifiés de façon contrôlée. Grâce à ces résultats, nous pourrions déduire la contribution de chacun des processus testés et identifier leur influence sur le spectre caractéristique total. Nous pourrions, entre autres, mettre en avant le rôle de l'activité hors équilibre du noyau sur la dynamique des territoires chromosomiques, ou sur le trafic de facteurs de transcription au sein du noyau cellulaire.

Pour mener à bien ce projet, l'étudiant devra utiliser un certain nombre d'outils, aussi bien des techniques de physique : diffusion dynamique de la lumière, microscopie de fluorescence et traitement du signal (ce qui impliquera l'utilisation de logiciels tel que Labview et Matlab) que des

techniques de biologie cellulaire et de biochimie. Il est à noter que ce travail bénéficiera de collaborations fortes avec d'autres chercheurs de l'École Normale Supérieure de Lyon, en particulier de Fabien Montel et Pierre Borgnat (du Laboratoire de Physique), ainsi que d'Evelyne Goillot (du Laboratoire de Biologie et Modélisation de la Cellule).



(a) Principe de l'expérience, il consiste à « éclairer » le noyau d'une cellule vivante avec un faisceau laser. La lumière diffusée par le noyau est collectée dans une direction  $\theta$  par une lentille qui fait l'image du volume diffusant sur la surface photosensible d'un détecteur. En pratique, pour avoir des cellules immobiles pendant les mesures on les fait adhérer sur une surface de verre. (b) Schéma de l'expérience : les cellules sont dans une chambre de culture ce qui permet de les garder dans des conditions physiologiques correctes ; le faisceau laser est focalisé sur le noyau grâce à un objectif de microscope et on mesure simultanément le signal diffusé à 4 angles différents, ce qui donne des indications sur les liens entre dynamique et échelles spatiales.

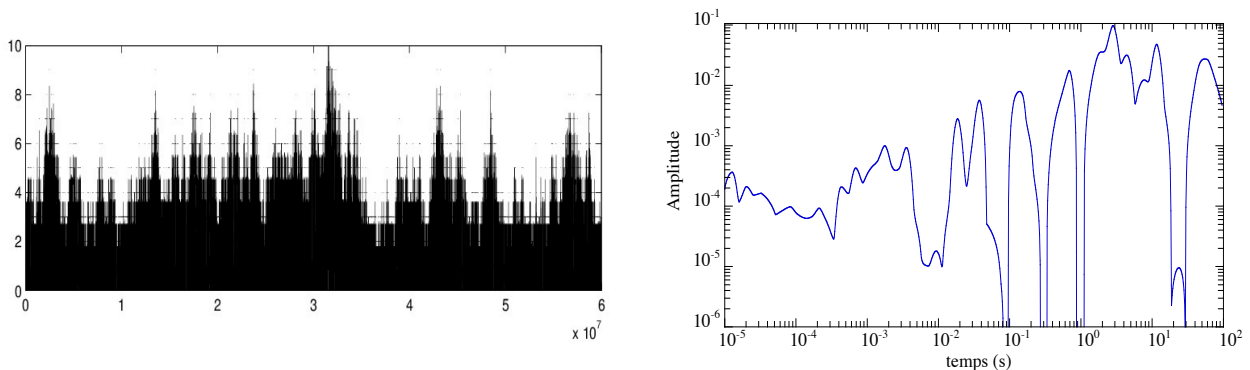


Figure de gauche : intensité lumineuse diffusée par le noyau d'une cellule vivante en fonction du temps, *i.e.* le nombre de photons diffusés détectés pendant des intervalles de temps de  $10^{-5}$  s (en ordonnée) ; durée de l'acquisition 600 s. Mesure réalisée sur le noyau d'une cellule grâce à notre montage de diffusion de la lumière ; à un angle de diffusion de  $25^\circ$ , cellule SHEP en phase G1 [1]. Figure de droite : Spectre de la dynamique interne du noyau d'une cellule vivante, entre  $10^{-5}$  et 100 s, obtenu à partir du signal à côté. Spectre extrait du signal brut grâce aux techniques d'analyse du signal spécifiques que nous avons développées [1].

[1] Z. Mokhtari, Thèse de doctorat de l'École Normale Supérieure de Lyon dirigée par É. Freyssingeas : *Étude par diffusion dynamique de la lumière de la dynamique interne du noyau d'une cellule vivante* ; thèse soutenue en mai 2015.