

**FICHE SUJET DE THESE**

Sujet N° (à remplir par l'ED) :	<b>FINANCEMENT :</b> <input checked="" type="checkbox"/> <b>Demandé</b> <input type="checkbox"/> <b>Acquis</b>	Origine du financement : <b>ARED/Ligue 35</b>
Titre de la thèse : <b>Remodelage des jonctions cellulaires et acquisition d'identité cellulaire lors de la division asymétrique des cellules souches mammaires</b>		3 mots-clés : <b>Epithélia</b> <b>Division asymétrique</b> <b>Signalisation Notch</b>
Unité de Recherche : <b>CNRS UMR 6290-Institut de Génétique et Développement-Rennes</b> Equipe : <b>Dynamique et Mécanique des Epithélia</b>		
Directeur de thèse : <b>Roland LE BORGNE</b>		N° de tél : <b>0686058923</b> Mail : <b>roland.leborgne@univ-rennes1.fr</b>
Contexte socioéconomique et scientifique (env. 10 lignes) : Les épithélia sont des tissus abondants qui assurent les fonctions de barrières mécanique et chimique essentielles à la fonction physiologique de tous les organes. Cette propriété découle de l'association étroite entre les cellules soutenues par les complexes jonctionnels. Tout au long du développement et de la vie adulte les épithélia croissent, se régénèrent ou réparent, en grande partie grâce aux divisions cellulaires. En utilisant la drosophile comme système modèle, l'équipe d'accueil a contribué à caractériser les mécanismes moléculaires sous jacents: 1- au remodelage des complexes jonctionnels au cours de la division cellulaire pour assurer le maintien de l'intégrité du tissu en croissance. 2- à l'activation différentielle de la voie Notch au cours de la division asymétrique de progéniteurs épithéliaux qui génèrent deux cellules filles aux identités distinctes. Ce projet pluridisciplinaire vise à étendre ces connaissances sur le maintien de l'intégrité tissulaire, l'identité cellulaire et la morphogénèse tridimensionnelle dans un épithélium en croissance dans un système modèle de vertébré.		
Hypothèses et questions posées (env. 8 lignes) : Pour ce faire nous proposons de développer les organoïdes mammaires murins constitués de cellules souches bipotentes (MaSCs) et de cellules différenciées de deux lignages, luminal et basal, formant deux monocouches de cellules épithéliales contigües qui communiquent entre elles. Notch régule la fonction des MaSCs et l'acquisition de l'identité des cellules luminales. Dans ce système d'organoïdes générés à partir de MaSCs, nous proposons d'investiguer : 1) le remodelage des composants de jonctions cellulaires, jonctions adhérentes et serrées, pour décrypter comment l'intégrité du tissu est maintenue lors des divisions épithéliales; 2) l'orientation et le nombre de divisions cellulaires pour comprendre comment deux épithélia en contact peuvent croître de façon synchrone et concourir à l'organogénèse ; 3) le rôle des forces mécaniques dans la régulation de l'activation de la voie Notch et la morphogénèse 3D.		
Grandes étapes de la thèse (env. 12 lignes) : - Implémenter le modèle d'organogénèse ex vivo au sein de l'équipe. Les MaSCs, CD29 <sup>+</sup> , CD49f <sup>+</sup> , CD24 <sup>+</sup> sont purifiées à partir de glandes mammaires adultes murines, puis mises en culture. Les MaSCs seront infectées par lentivirus ou modifiées génétiquement par CRISPR/Cas9 (aide du Dr. C. Bruelle (IE sous contrat dans l'équipe) experte en culture de cellules, utilisation de lentivirus et du système CRISPR/Cas9, et collaboration avec le Dr. Vincent Guen, équipe Cycle cellulaire, IGDR) pour permettre de générer des clones de MaSCs exprimant des rapporteurs fluorescents. - Décrypter, par microscopie confocale quantitative, le remodelage des complexes jonctionnels lors de la cytotdiérèse et tester le rôle des régulateurs identifiés dans les cribles génétiques chez la drosophile et les cellules humaines en culture (mutagénèse par CRISPR/Cas9, collaboration avec le Dr. A. Echard, partenaire ANR CytoSign). - Cartographier/Investiguer les orientations des divisions cellulaires lors de la morphogénèse coordonnée des compartiments basal et luminal. - Etudier les liens entre propriétés mécaniques de l'épithélium et celles du microenvironnement dans l'acquisition d'identité Notch-dépendante et la morphogénèse tubulaire en utilisant des approches de la physique de la matière molle (nano-ablation laser, micro-rhéologie passive à l'aide de GEMs, avec le Dr. M. Pinot, biophysicien dans l'équipe d'accueil).		
Compétences scientifiques et techniques requises par le candidat (2 lignes) : <b>expérience en biologie moléculaire et cellulaire, culture cellulaire, maîtrise des techniques de microscopie confocale et d'analyse quantitative des données de microscopie optique.</b>		
3 publications de l'équipe d'accueil relatives au domaine (5 dernières années) : 1- E. Daniel, I. Kolotueva, M. Daudé, K. Charish, V. Auld and R. Le Borgne (2017) Coordination of septate junctions assembly and completion of cytokinesis in proliferative epithelial tissues, <i>Curr Biol</i> . 2018 May 7;28(9):1380-1391.e4. doi: 10.1016/j.cub.2018.03.034. Epub 2018 Apr 26. 2- K. Bellec, I. Gicquel and R. le Borgne (2017) Mss4/Stratum activates Rab8 to regulate Golgi exit and basolateral sorting of Notch and Sanpodo, <i>Development</i> . 2018 Jul 2;145(13). pii: dev163469. doi: 10.1242/dev.163469. 3- Founounou, N., Loyer, N., and Le Borgne, R. (2013). Septins regulate the contractility of the actomyosin ring to enable adherens junction remodeling during cytokinesis of epithelial cells. <i>Developmental cell</i> 24, 242-255.		
Collaborations nationales et internationales : - Dr Arnaud Echard, Institut Pasteur Paris		