

Avis de Soutenance

Madame Josipa CECIC VIDOS

Biologie

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés

Cinétiques enzymatique de remodelage de la matrice extracellulaire: caractérisations analytique et biophysique de modèles synthétiques

dirigés par Monsieur Josef HAMACEK et Monsieur Anand YETHIRAJ
Ecole doctorale : Santé, Sciences Biologiques et Chimie du Vivant - SSBCV
Unité de recherche : CBM - Centre de Biophysique Moléculaire

Soutenance prévue le **jeudi 06 novembre 2025** à 14h00
Lieu : CNRS - CBM Rue Charles Sadron CS 80054 45071 ORLEANS CEDEX 2
Salle : de conférence

Composition du jury proposé

M. Josef HAMACEK	Université d'Orléans / CBM - CNRS Orléans	Directeur de thèse
M. Alexandre CHENAL	Institut Pasteur	Rapporteur
M. Fabio STERPONE	Laboratoire de Biochimie Théorique - Institute of Physico-Chemical Biology	Rapporteur
Mme Charlotte VENDRELY	Laboratoire des matériaux et du génie physique	Examinatrice
Mme Reine NEHMÉ	Institut de Chimie Organique et Analytique	Examinatrice
M. Anand YETHIRAJ	University of Guelph	Co-directeur de thèse
M. Francesco PIAZZA	University of Florence	Invité

Mots-clés : cinétiques enzymatique, la matrice extracellulaire, encombrement,,

Résumé :

Couramment, dans la recherche biochimique on mesure la cinétique et l'activité enzymatiques in vitro dans des milieux aqueux dilués. Cependant, ces conditions ne reflètent pas la réalité de l'organisme humain, en particulier du cytosol ou de la matrice extracellulaire (MEC). La MEC constitue un environnement riche en macromolécules telles que protéines fibreuses, protéoglycanes, récepteurs cellulaires et molécules de signalisation. Elle joue un rôle central dans la communication cellulaire lors de processus comme la différenciation, la migration ou la croissance. Une dérégulation de ces mécanismes peut conduire à la formation de tumeurs ou à d'autres pathologies. Le projet X-CROWD, financé par l'ANR, réunit plusieurs laboratoires autour d'un objectif commun : mieux comprendre la cinétique des enzymes de la MEC en conditions encombrées. Il vise également à caractériser l'environnement encombré lui-même, ses interactions avec les composants du milieu et leur diffusion. À la suite de travaux sur l'enzyme hyaluronidase en présence de PEG comme agent encombrant artificiel, l'idée est née d'étudier d'autres enzymes de la MEC avec divers agents. Cette étude s'est centrée sur deux enzymes : une sérine-protéase, l'élastase neutrophile humaine (HNE), et une métalloprotéase matricielle, la métalloprotéase 1 (MMP-1). L'effet de l'encombrement a été introduit à l'aide du polymère dextrane afin d'évaluer si la taille et la concentration de l'agent influencent la cinétique enzymatique. Pour répondre à cette question, la spectrophotométrie de fluorescence a été utilisée afin de suivre la dégradation des substrats par la récupération de fluorescence après clivage. Travailler à forte concentration en substrat et en agent encombrant a entraîné une diminution de l'intensité de fluorescence du produit, nécessitant le développement d'une approche théorique pour corriger ce biais et quantifier correctement le produit libéré. Par ailleurs, la viscosité et la densité du milieu, la diffusion du dextrane et celle de l'eau ont été caractérisées. Les résultats montrent qu'une augmentation de la concentration en dextrane accroît viscosité et densité, tout en réduisant l'autodiffusion et la

diffusion de l'eau. De plus, la diffusion des substrats en milieu encombré a été suivie par RMN et a révélé une diminution exponentielle des coefficients de diffusion, indépendante de la taille de l'agent. Comme l'encombrement exerce un effet non universel sur les protéines, en particulier les enzymes et leur cinétique, il reste difficile de prédire son impact par rapport aux mesures classiques en conditions diluées. Cette étude apporte un éclairage sur la cinétique des deux enzymes en présence du dextrane comme agent artificiel, dans le but de comprendre d'abord un système moins complexe, puis de progresser vers l'étude d'environnements plus réalistes incluant des molécules naturelles de la MEC, telles que l'élastine, le collagène ou l'acide hyaluronique, utilisées comme agents encombrants et avec des substrats physiologiques.