

Université Pierre et Marie Curie

École Doctorale Complexité du Vivant

Centre Scientifique de Monaco / Département de Biologie Marine

Équipe de Physiologie et Biochimie

Approches physiologique et moléculaire de la calcification chez le corail rouge de Méditerranée

Corallium rubrum

par **Carine LE GOFF**

Thèse de doctorat en Sciences de la vie

Directrice de thèse : **Sylvie Tambutté**

Co-encadrant : **Philippe Ganot**

Présentée et soutenue publiquement le **14 Décembre 2016** à Monaco

Devant un jury composé de :

Dr. Daniel Vielzeuf	Rapporteur
Dr. Catherine Lorin-Nebel	Rapporteur
Pr. François Lallier	Examineur
Dr. Stéphanie Barnay-Verdier	Examineur
Dr. Clemente Capasso	Examineur
Dr. George Carle	Examineur
Dr. Sylvie Tambutté	Directrice de thèse
Dr. Philippe Ganot	Co-encadrant

Approches physiologique et moléculaire de la calcification chez le corail rouge de Méditerranée *Corallium rubrum*

RÉSUMÉ

Le processus de calcification chez *Corallium rubrum* conduit à la formation de deux structures squelettiques composées de carbonate de calcium, l'axe squelettique et les sclérites, de taille et de forme différentes. Comme chez de nombreuses espèces calcifiantes, la calcification se fait sous contrôle biologique impliquant notamment des enzymes et des transporteurs ioniques. Une question centrale est d'identifier les mécanismes communs ou propres à chaque espèce qui sous-tendent leur convergence fonctionnelle envers ce processus.

Deux approches ont été utilisées pour caractériser ces mécanismes chez *C. rubrum*: 1) Une approche physiologique avec le développement d'une technique de culture de microcolonies sur lamelles permettant d'observer différents stades de calcification, et de mesurer le pH aux sites de calcification par imagerie confocale ; 2) Une approche moléculaire afin de caractériser une famille d'enzymes, les anhydrases carboniques, qui jouent un rôle clef dans la calcification.

Nous avons réalisé une cartographie du pH en effectuant des mesures dans différents compartiments intra- et extracellulaires. Nos résultats montrent notamment que le pH aux sites de calcification est supérieur à celui du milieu circulant dans les canaux gastrodermiques et non à celui l'eau de mer. Les mesures d'expression différentielle des anhydrases carboniques dans différents tissus mettent en évidence une isozyme préférentiellement exprimée dans les cellules calcifiantes.

Ces résultats intégrés dans un contexte de calcification comparée pointent sur la convergence fonctionnelle des anhydrases carboniques et de la régulation du pH par les cellules calcifiantes, tout en soulignant des divergences évolutives.

Mots-clés : Corail ; *Corallium rubrum* ; Octocoralliaire ; Biominéralisation ; Calcification ; Anhydrase carbonique ; pH.

ABSTRACT

The calcification process in *Corallium rubrum* leads to the formation of two skeletal structures made of calcium carbonate, the skeletal axis and sclerites, of different size and shape. As in many calcifying species, calcification occurs under a biological control that involves enzymes and ion transporters. A central issue is to determine the common and the species-specific mechanisms of calcification in order to identify functional convergences in this process.

Two approaches were used to characterize these mechanisms in *C. rubrum*: 1) A physiological approach involving the development of a microcolony culture technique on glass coverslips, allowing the observation of the different stages of calcification, and the measurement of pH at the sites of calcification by the use of confocal microscopy; 2) A molecular approach to characterize an enzyme family, the carbonic anhydrases, which play a key role in calcification.

We performed pH mapping by making measurements in different intra- and extracellular compartments. Our results show higher pH values at the sites of calcification compared with the fluid circulating in the gastrodermal canals, but not with the seawater surrounding the microcolony. Measurements of differential expression of carbonic anhydrases in different tissue fractions highlight an isozyme preferentially expressed in the calcifying cells.

Within comparative calcification perspectives, these results point towards the functional convergence of carbonic anhydrases and pH regulation by the calcifying cells, while highlighting evolutionary divergences.

Keywords : Coral ; *Corallium rubrum* ; Octocorallia ; Biomineralization ; Calcification ; Carbonic anhydrase ; pH.