



Étude du Microbiote Intestinal Soumis à l'Impesanteur

Rapport d'expérience

Contact : Thibault CHESNEL

Email : thibault.chesnel@efrei.net

Tél : +33 (0)7 83 46 26 80



Table des matières

Participants	4
Introduction.....	5
Présentation de l'étude	6
Les souches.....	6
<i>E.coli</i> K12 (K12)	7
<i>Saccharomyces boulardii</i> (SB).....	7
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (SC)	7
<i>Lactobacillus</i> A1 (LA1) et <i>Lactobacillus casei</i> (LC)	7
<i>Bifidobacterium pseudolongum Patronus</i> (BP)	7
L'expérience	7
Les analyses	9
Transcriptomique	9
Morphologique	9
Théorie et Résultats attendus	9
Théorie	10
Résultats attendus.....	10
Préparation du projet	10
Défis administratifs	11
Défis techniques.....	11
Défis économiques	11
Défis logistiques	12
Semaine de campagne	12
Préparation de l'expérience.....	12
Intégration de l'expérience	12
Le jour J	13
Une semaine riche	15
Résultats obtenus.....	15
Analyse en Composantes Principales (ACP).....	15
K12.....	16
LA1 et LC.....	16
Distribution des transcrits par changement d'expression.....	16
LA1.....	17



LC	17
K12.....	17
Ontologie génique.....	18
LA1.....	18
LC	18
K12.....	18
Catégorisation des gènes de K12 après 0G.....	19
Adaptation au stress	19
Métabolisme	19
Traitement des protéines	19
Régulation.....	20
Transport et membrane	20
Discussion des résultats.....	20
Extinction de l'alimentation électrique	20
0G et 2G indistinguables	20
Déménagement du laboratoire.....	20
Rigueur dans les manipulations	21
Conclusion	21



Participants

Clarisse AUBERT, étudiant en 1^{er} année d'école d'ingénieurs à *EFREI Paris Panthéon Assas Université*.

Thibault CHESNEL, étudiant en 1^{er} année d'école d'ingénieurs à *EFREI Paris Panthéon Assas Université*.

Riccardo DAFFARA, étudiant en 1^{er} année d'école d'ingénieurs à *EFREI Paris Panthéon Assas Université*.

Louis GESLIN, étudiant en 1^{er} année d'école d'ingénieurs à *EFREI Paris Panthéon Assas Université*.

Nathan MASSICOT, étudiant en 1^{er} année d'école d'ingénieurs à *EFREI Paris Panthéon Assas Université*.

Dr. Mano Joseph MATHEW, responsable du département de biologie et de bioinformatique à *EFREI Paris Panthéon Assas Université*.

Dr. Irène MANGIN, ingénieur de recherche en biologie *au CNAM*.

Dr. Olivier SAWOO, microbiologiste, infectiologue et enseignant chercheur *au CNAM*.

Pr. Antonia SUAU-PERNET, microbiologiste et professeur des universités *au CNAM*.

Yannick BAILHÉ, ingénieur vols paraboliques à *Novespace*.

Damien DE SEZE, chargé de projets étudiants au *CNES*.



Introduction

EMISI est un projet d'Étude du Microbiote Intestinal Soumis à l'Impesanteur sélectionné pour participer à la 65^e campagne de vol parabolique étudiante organisée par le CNES. L'expérience a donc été embarquée à bord de l'Airbus A310 Zéro G de Novespace pour participer à un vol parabolique permettant de recréer l'impesanteur nécessaire à cette étude.

Le microbiote intestinal est un puissant allié de l'homme puisqu'il joue un rôle clé dans notre métabolisme (*David Laharie, 2022*). Avec plus de 160 espèces de bactéries différentes et une moyenne de 4×10^{13} micro-organismes en son sein, le microbiote intestinal est le plus peuplé et diversifié chez l'homme (*Dominique Gauguier et al., 2021*). Son état de santé et son activité exercent une influence directe et significative sur notre santé métabolique et psychologique (*Yong Fan et Oluf Pedersen, 2023*), justifiant ainsi sa désignation courante en tant que "second cerveau" (*Zhongli Yang et al., 2020*).

Des études ont prouvé que le microbiote des astronautes subissait des modifications au cours de leurs voyages spatiaux provoquant ainsi une dysbiose (*Stefan J. Green et al., 2019*). Dans un contexte où les projets d'exploration spatiale gagnent en envergure, avec des missions de plus en plus longues et complexes, il devient impératif de garantir la santé et le bien-être des astronautes. C'est dans cette optique qu'il convient d'étudier les effets de l'impesanteur sur le microbiote intestinal.

Présentation de l'étude

Des souches de bactéries et de levures modèles caractéristiques du microbiote intestinal ont été cultivées à la fois en laboratoire (échantillons témoins) et en vol 0G (échantillons tests). Le vol 0G est un modèle pour étudier l'impesanteur, l'avion suit une trajectoire parabolique pour recréer l'impesanteur pendant une vingtaine de secondes par manœuvre.

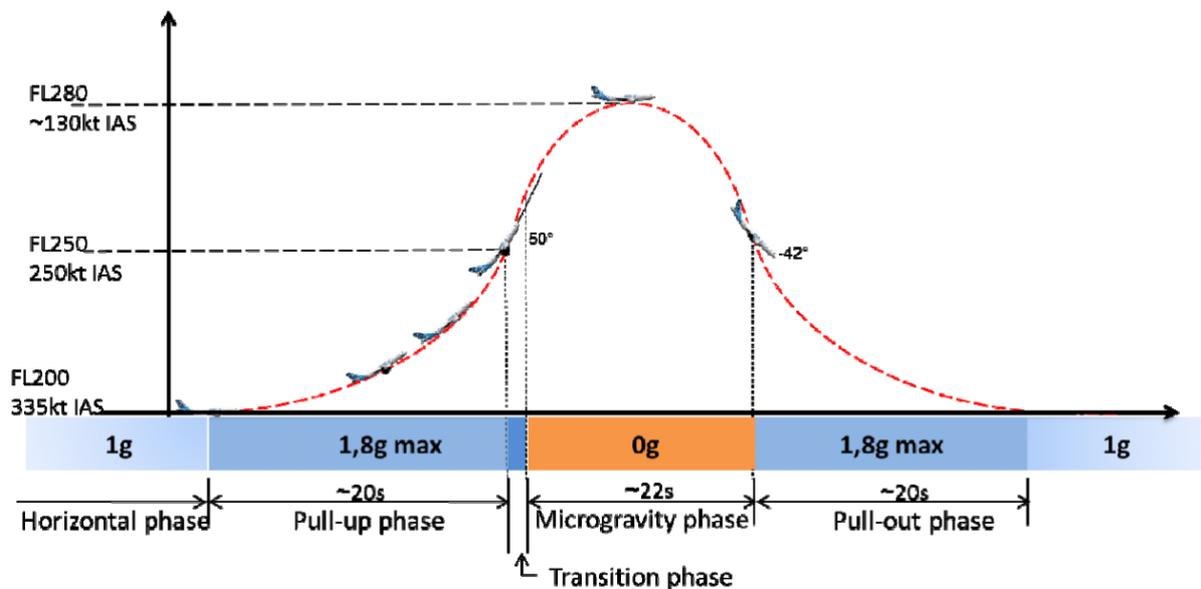


Figure 1 : Manœuvre parabolique suivie lors du vol 0G.

À la suite de cela, une étude transcriptomique a été réalisée pour déterminer les potentiels effets de l'impesanteur sur l'expression du génome des différentes souches, ainsi qu'une étude morphologique par observation au microscope électronique. Une modification d'un de ces paramètres pourrait avoir une influence significative sur l'évolution des micro-organismes (bactéries, levures, phages, etc.) et pourrait donc être à l'origine de cette dysbiose du microbiote intestinal observée chez les astronautes.

Les souches

Les micro-organismes étudiés sont des souches modèles caractéristiques du microbiote intestinal humain. Ces derniers ont été divisés en deux groupes identiques. L'un a été cultivé en laboratoire pour former un groupe témoin et en parallèle le second à bord de l'avion pour subir l'impesanteur, et ainsi former le groupe test. Les cultures ont été réalisées dans un milieu de culture liquide sélectif et spécifique à chaque souche pour favoriser leur développement.



E.coli K12 (K12)

Escherichia coli est une bactérie commensale souvent utilisée comme micro organisme modèle. La souche K12 est une souche largement caractérisée et étudiée, qui est connue par sa capacité à produire des protéines recombinantes, ce qui fait de cette souche une référence.

Saccharomyces boulardii (SB)

Saccharomyces boulardii est une levure non pathogène largement utilisée comme complément alimentaire probiotique qui permet de maintenir l'équilibre du microbiote intestinal.

Saccharomyces cerevisiae (SC)

Saccharomyces cerevisiae est également une levure couramment retrouvée dans le microbiote intestinal, également utilisée pour la production de probiotiques.

Lactobacillus A1 (LA1) et *Lactobacillus casei* (LC)

Lactobacillus A1 et *Lactobacillus casei* sont des bactéries lactiques bénéfiques connues pour leur capacité à produire de l'acide lactique et à maintenir l'équilibre du pH dans l'intestin contribuant alors à la santé intestinale.

Bifidobacterium pseudolongum Patronus (BP)

Les bifidobactéries sont des bactéries anaérobies commensales du microbiote intestinal humain, jouant un rôle clé dans la digestion des fibres alimentaires et la production de certains nutriments. La souche Patronus est une souche caractéristique du microbiote intestinal isolée et identifiée au CNAM par l'équipe de recherche du Pr. Antonia SUAU-PERNET.

L'expérience

L'expérience réalisée consiste en la culture des micro-organismes caractéristiques du microbiote intestinal. Cette expérience a été réalisée simultanément en laboratoire, en guise d'expérience témoin, et à bord d'un vol 0G pour subir le facteur impesanteur. Les cultures ont été réalisées en 4 exemplaires pour chacun des micro-organismes. Quarante-huit tubes ont donc été préparés (24 tubes test et 24 tubes témoins).

Expérience	Souche	Milieu de culture	Volume
Témoïn (Labo)	K12	LB	4 x 15mL
	SB	LB	4 x 15mL
	SC	LB	4 x 15mL
	LA1	TPY	4 x 15mL
	LC	TPY	4 x 15mL
	BP	TGYH	4 x 15mL
Test (0G)	K12	LB	4 x 15mL
	SB	LB	4 x 15mL
	SC	LB	4 x 15mL
	LA1	TPY	4 x 15mL
	LC	TPY	4 x 15mL
	BP	TGYH	4 x 15mL

Figure 2 : Tableau de répartition des micro-organismes, milieu de culture et volume associés.

L'expérience se déroule comme suit :

- 06h40 : Incubation des cultures à 37 °C dans incubateur.
- 09h20 – 12h40 : Vol 0G. Durant cette période, aucune manipulation n'est réalisée.
- 12h45 : Fin d'incubation, congélation à -80 °C dans la glace carbonique.

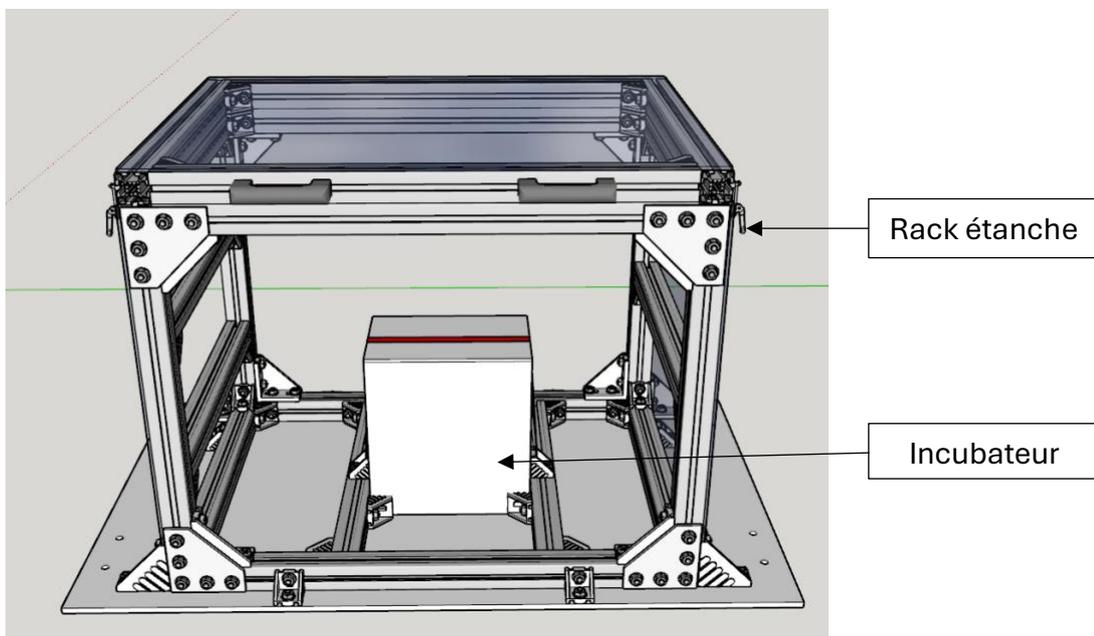


Figure 3 : Schéma de l'expérience Test. L'incubateur est immobilisé dans le rack étanche grâce à une sangle. L'incubateur est réglé à 37 °C, il contient l'ensemble des échantillons Test.

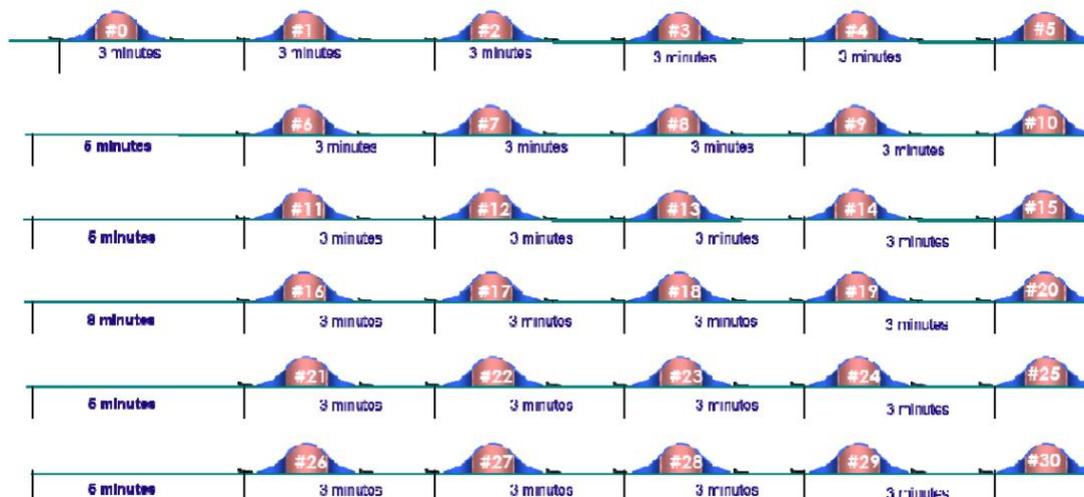


Figure 4 : Profil de vol standard. Un vol standard comprend 31 paraboles divisées en 6 séries de 5 paraboles. La durée d'un vol est comprise entre 3 et 5 heures.

Les analyses

Transcriptomique

Une analyse transcriptomique est réalisée pour étudier l'expression du génome des micro-organismes lorsqu'ils sont soumis à l'impesanteur. Pour ce faire, une extraction d'ARN est réalisée sur l'ensemble des 48 échantillons. Les séquences obtenues sont ensuite mappées sur le génome de référence de chaque souche respective, puis comparées grâce à des pipelines d'analyse transcriptomiques.

Morphologique

Une analyse morphologique est réalisée pour étudier la morphologie des micro-organismes soumis à l'impesanteur et ainsi déceler les potentielles déformations. Pour ce faire, une observation au microscope électronique à balayage est réalisée.

Théorie et Résultats attendus

Le changement d'environnement provoque un stress au sein des organismes. Ainsi, lorsqu'un organisme évolue dans des conditions inhabituelles, comme l'impesanteur, celui-ci tente de s'y adapter. Cette adaptation peut donc, entre autres, se manifester par un changement morphologique ou encore un changement dans l'expression du patrimoine génétique. Ces modifications sont susceptibles de modifier l'évolution des organismes et d'être potentiellement à l'origine de cette dysbiose du microbiote intestinal observée chez les astronautes.



Théorie

Le stress induit par l'impesanteur peut provoquer :

- **Des changements de forme** : En impesanteur, les bactéries peuvent s'allonger, se ramifier ou former des structures filamenteuses (Exemple : *E. coli* : filaments plus longs et plus épais en micropesanteur).
- **Perturbation de la division cellulaire** : La division cellulaire peut être asymétrique ou incomplète en impesanteur. Cela peut entraîner la formation de cellules de tailles différentes et de formes anormales.
- **Effets sur la paroi cellulaire** : Perturbation de la synthèse et de la composition de la paroi cellulaire rendant les bactéries plus sensibles aux facteurs externes.
- **Expression des gènes** : L'impesanteur peut modifier l'expression de certains gènes. La virulence, la résistance aux antibiotiques et d'autres fonctions importantes (qui peuvent être primordiales dans notre absorption de nutriments lors de la digestion) peuvent être affectées.

Résultats attendus

Les résultats attendus sont les suivants :

- Nous observons des **modifications dans l'expression génétique** des micro-organismes et/ou des **altérations morphologiques**. Cela suggère que, selon qu'il s'agisse de l'impesanteur ou de l'hyperpesanteur, ces conditions pourraient être des facteurs contribuant à la dysbiose observée chez les astronautes. Contrairement à un vol commercial classique, où la pesanteur terrestre reste constante et ne provoque pas de changements notables dans le comportement des micro-organismes, les vols paraboliques induisent des fluctuations extrêmes de la pesanteur, ce qui peut amplifier les effets physiologiques sur les micro-organismes.
- Soit, nous **ne pouvons pas mettre en évidence de différence** entre les souches témoins et les souches testes. Ceci nous permettrait d'écarter l'impesanteur comme facteur de cette dysbiose et orienterait les recherches sur d'autres causes possibles comme l'alimentation des astronautes, l'exposition aux rayonnements solaires dans l'espace, etc.

Préparation du projet

La mise en place du projet s'est étalée sur 8 mois à compter de l'annonce de sélection pour participer à la 65e campagne de vol parabolique du CNES. Durant cette période, de nombreux défis ont été surmontés.



Défis administratifs

Dans le cadre de ce projet, la partie administrative revêt une importance cruciale. Il est primordial que l'ensemble des documents exigés par le CNES et Novespace soient rigoureusement rassemblés et complétés. Tout d'abord, pour la partie juridique, il est essentiel d'avoir les bons contacts au sein de l'école pour s'assurer que l'accord exigé par le CNES soit étudié et signé par l'administration, sans quoi le projet ne pourrait être réalisé. Ensuite, rassembler l'ensemble des documents d'identité, fiches médicales et assurances éventuelles pour chaque participant du projet demande une organisation importante. Nous recommandons d'ailleurs de désigner au préalable une personne référente unique pour s'occuper de cette partie.

Défis techniques

Le vol en micropesanteur impose de nombreuses contraintes techniques, auxquelles s'ajoutent les contraintes de sécurité liées aux micro-organismes. Pour garantir la conformité de l'expérience, nous avons pu compter sur l'aide et l'expertise de M. Yannick BAILHÉ, notre ingénieur référent à Novespace. Tout au long des 8 mois de préparations, nous avons échangé afin de suivre l'avancée de la conception du projet, de valider les différentes composantes telles que le matériel utilisé ou le moyen de fixation de l'expérience dans l'avion.

Parallèlement, le Dr. Irène MANGIN, le Dr. Olivier SAWOO et le Pr. Antonia SUAUPERNET ont été d'une aide précieuse et indispensable. En effet, pendant toute la durée du projet, nous avons pu compter sur leur assistance et leur expertise. D'abord en amont de l'expérience avec, entre autres, la sélection des souches étudiées et de leur milieu de culture ; puis en aval du vol en micropesanteur avec l'élaboration des protocoles d'analyse et leur mise en œuvre.

Défis économiques

Pour concevoir et réaliser un projet comme celui-ci, nous nous sommes assurés, dès le début de la conception, de pouvoir obtenir les fonds nécessaires pour couvrir les coûts. Pour cela, nous avons pu compter, d'une part, sur les subventions accordées par l'EFREI pour couvrir les coûts du matériel nécessaire pour le vol et les frais de déplacement. D'autre part, le CNAM a également largement contribué en subventionnant l'ensemble des éléments biologiques et le matériel nécessaire aux analyses réalisées. Enfin, le CNES a également couvert les frais de repas et de nuitée lors de la semaine de campagne.



Défis logistiques

La logistique s'est révélée être un point essentiel dans la préparation et la mise en place du projet. Il a d'abord été nécessaire de nous assurer de l'accès à un laboratoire de biologie ainsi qu'à l'ensemble du matériel nécessaire, étant donné que l'EFREI ne dispose pas de laboratoire de biologie. Pour cela, nous avons à nouveau pu compter sur l'aide du Dr. Irène MANGIN, du Dr. Olivier SAWOO et du Pr. Antonia SUAU-PERNET pour accéder aux laboratoires du CNAM.

Semaine de campagne

L'ensemble de l'équipe a fait son retour en France pour concrétiser ce projet et participer à la semaine de campagne. Nous étions tous en semestre de mobilité à l'étranger pour les études. Pour cette raison, nous n'avons pu être présents pour la semaine d'intégration et avons seulement participé à la semaine de campagne du 06 octobre au 12 octobre 2023.

Membre	Samedi 07/10/2023		Dimanche 08/10/2023		Lundi 09/10/2023		Mardi 10/10/2023		Mercredi 11/10/2023		Jeudi 12/10/2023		Vendredi 13/10/2023		Samedi 14/10/2023	
	Matin	Aprém	Matin	Aprém	Matin	Aprém	Matin	Aprém	Matin	Aprém	Matin	Aprém	Matin	Aprém	Matin	Aprém
CHESNEL Thibault		Paris		Bordeaux	08:00											
DAFFARA Riccardo		Paris								Bordeaux	14:00					
GESLIN Louis		Paris								Bordeaux	14:00					
MASSICOT Nathan		Paris								Bordeaux	14:00					
AUBERT Clarisse																
Légende	Déplacement		Novespace		CNAM		Absence									

Figure 5 : Planning de la semaine de campagne du 07/10/2023 au 14/10/2023.

Préparation de l'expérience

La semaine de campagne a commencé le lundi 9 octobre 2023 à Novespace à Bordeaux avec la revue d'expérience, le checking des formalités administratives et une conférence de présentation de la semaine de campagne au cours de laquelle chacune des équipes a présenté son projet et leur objectif.

En parallèle, une partie du groupe est restée à Paris pour la préparation des cultures et le peaufinage de l'expérience. Les manipulations de préparation ont été réalisées dans les laboratoires au CNAM et encadrées par le Pr. ANTONIA SUAU-PERNET, le Dr. Olivier SAWOO et le Dr. Irène MANGIN. Au cours de cette phase préparative, les souches initiales sélectionnées ont été mises en culture dans leur milieu sélectif respectif pour les répliquer, puis réparties et inoculées dans les différents tubes pour l'expérience. Une coloration de Gram a également été réalisée pour s'assurer que l'ensemble des cultures n'aient pas été contaminées.

Intégration de l'expérience

Mercredi 11 octobre, nous nous sommes ensuite rendus en voiture à Novespace, avec à bord l'ensemble de notre expérience. Arrivés à Bordeaux, nous avons rapidement

compris que l'ambiance était au travail. Après un rapide mais impressionnant tour de l'Airbus A310 Zéro G, nous nous sommes attelés à la mise en place de l'expérience pour l'intégrer dans l'avion. Nous avons donc préparé le rack étanche mis à notre disposition, dans lequel nous avons fixé notre incubateur et vérifié l'installation électrique. Ensuite, une fois prêt, le rack contenant l'expérience a été chargé à bord de l'avion en vue du vol.



Figure 6 : Expérience test mise en place dans l'Airbus A310 Zéro G.

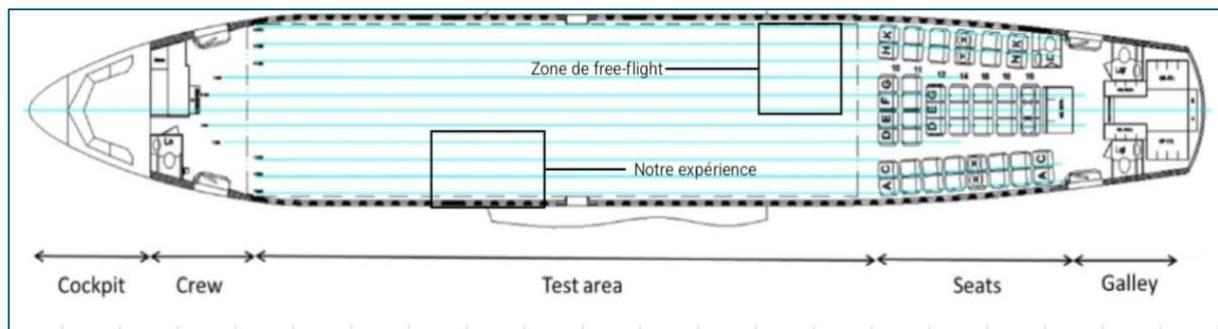


Figure 7 : Positionnement de l'expérience dans l'Airbus A310 Zéro G.

Le jour J

Jeudi 12 octobre 2024, jour J pour l'expérience et le vol parabolique. Nous avons débuté l'expérience et exécuté le protocole comme prévu, dès 06h40, heure à laquelle nous avons pu accéder au laboratoire et débiter l'incubation des cultures. Après avoir vérifié une dernière fois la fixation et la sécurité de notre expérience, nous sommes allés au briefing de vol obligatoire au cours duquel les conditions de vol, le déroulé du vol et les mesures de sécurité étaient présentés en détails. S'ensuit l'injection de Scopolamine, médicament qui limite le mal de transport causé par les mouvements en parabole de l'avion.

Enfin, embarquement des équipes, nous nous sommes tous regroupés à l'arrière du A-310, attachés et prêts à décoller. Le vol a duré 3h20, décollage à 9h20 et atterrissage à 12h40. Pendant cette période, comme prévu sur le protocole, aucune manipulation n'a

été effectuée sur l'expérience, si ce n'est vérifier son intégrité et s'assurer qu'il n'y ait pas de problème technique, comme une coupure d'alimentation. Cette situation privilégiée nous a d'ailleurs permis d'accéder à plusieurs reprises à la zone de *free floating* pour profiter de la sensation d'impesanteur si exceptionnelle. L'ensemble des micro-organismes tests présents à bord du vol a donc subi un total de 31 paraboles avec autant de phases de micropesanteurs d'une durée de 20 à 25 secondes chacune.

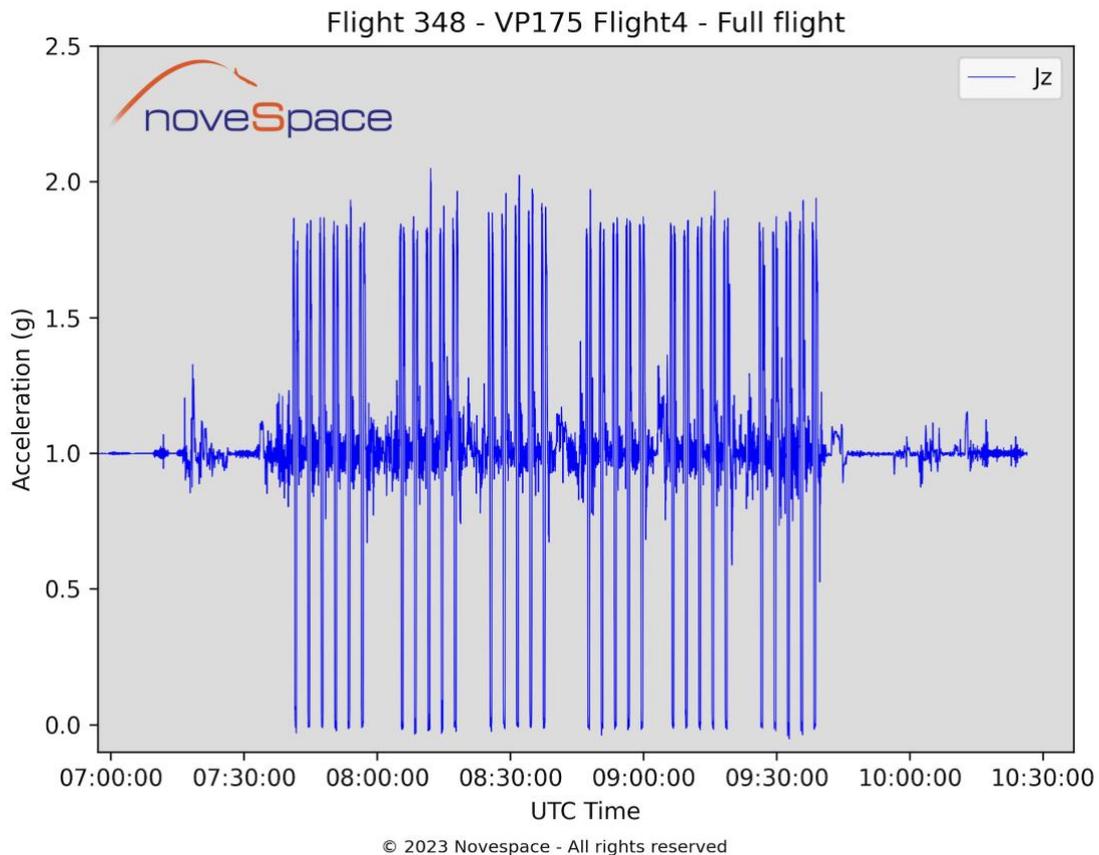


Figure 8 : Graphique de l'ensemble des manœuvres effectuées au cours du vol.

À l'issue du vol, l'ensemble des tubes (témoins et tests) ont été retirés de l'incubateur. L'état trouble du milieu de culture a permis de montrer que les micro-organismes se sont bien développés pendant l'expérience. L'ensemble des micro-organismes, tests et témoins restés au sol, ont été immédiatement fixés et congelés à -80°C dans de la glace carbonique afin de stopper l'expérience. Après un débriefing de vol où chaque équipe a présenté son ressenti et le déroulement de son expérience, nous avons immédiatement repris la route direction le CNAM à Paris. Les échantillons (toujours conservés dans la glace carbonique lors du trajet), ont été placés dans un congélateur à -80°C au CNAM pour les préserver jusqu'aux analyses réalisées en janvier 2024, date de fin de notre semestre d'études à l'étranger.



Une semaine riche

Cette semaine de campagne a été mémorable pour l'ensemble de l'équipe. Elle fut riche en expérience tant scientifique qu'humaine. Effectivement, au-delà de l'expérience en elle-même, nous avons eu l'opportunité de rencontrer et d'échanger avec des personnes de spécialités et d'horizons différents, mais toutes aussi passionnées et impliquées. L'ambiance était propice aux échanges notamment lors des pauses déjeuner ou encore lors de la soirée du jeudi soir où nous avons diné avec Kevin FIGUIER, chargé de communication et de projets au CNES. Tout au long de notre présence à Bordeaux, l'entraide et la bienveillance étaient de mise, qu'il s'agisse de conseils apportés par les uns, ou d'aide apportée par les autres.

Résultats obtenus

Dans un premier temps, une coloration de Gram a été réalisée pour s'assurer que les cultures de l'expérience n'aient pas été contaminées. Une fois assurés que nos échantillons sont purs, s'en est suivi une extraction d'ARN sur l'ensemble des cultures. Ces ARN ont été séquencés grâce à la technologie MinION. Après plusieurs tentatives de séquençage, seules les données concernant K12, LA1 et LC se sont avérées être exploitables. À propos de SB, SC et BP, les *reads* obtenus se sont révélés être aberrants et inexploitable pour une raison inconnue.

Analyse en Composantes Principales (ACP)

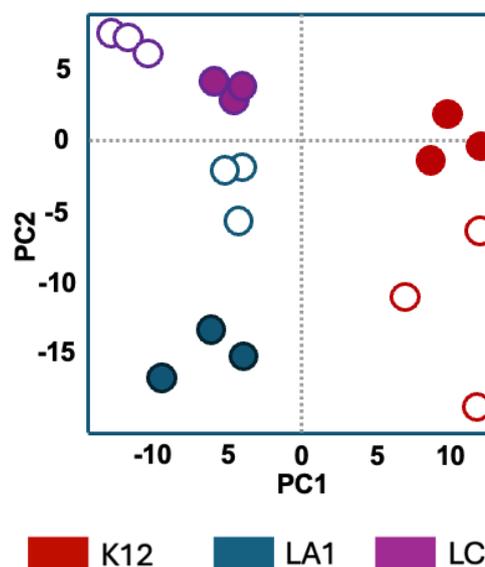


Figure 9: Analyse en Composantes Principales (ACP) des transcriptomes pour chaque échantillon, y compris les répliques. Contrôle (disques pleins) par rapport aux échantillons expérimentaux (cercles) pour K12 (rouge), LA1 (bleu), LC (violet).

Chaque groupe de points représente les répliques d'expériences distinctes. La cohérence de la position des répliques (cercles plus foncés pour les contrôles, cercles plus clairs pour les échantillons expérimentaux) indique une bonne reproductibilité au sein des groupes.

Les contrôles et les tests de chaque couleur sont séparés, ce qui suggère qu'il y a des différences significatives entre les cultures qui se sont développées en condition de pesanteur terrestre et en conditions expérimentales (impesanteur et hyperpesanteur).

K12

Il est intéressant de noter que les échantillons de *E. coli* (en rouge) montrent une séparation assez distincte entre les conditions de contrôle et les échantillons expérimentaux, ce qui indique que l'impesanteur, et / ou l'hyperpesanteur, pourrait avoir un impact significatif sur l'expression génétique de *E. coli*.

LA1 et LC

Les échantillons de LA1 (en bleu) et LC (en violet) présentent également une séparation, bien que moins marquée que celle observée pour *E. coli*. Cela suggère que l'effet des variations de pesanteur sur LA1 et LC est bien présent, mais peut-être moins prononcé.

Distribution des transcrits par changement d'expression

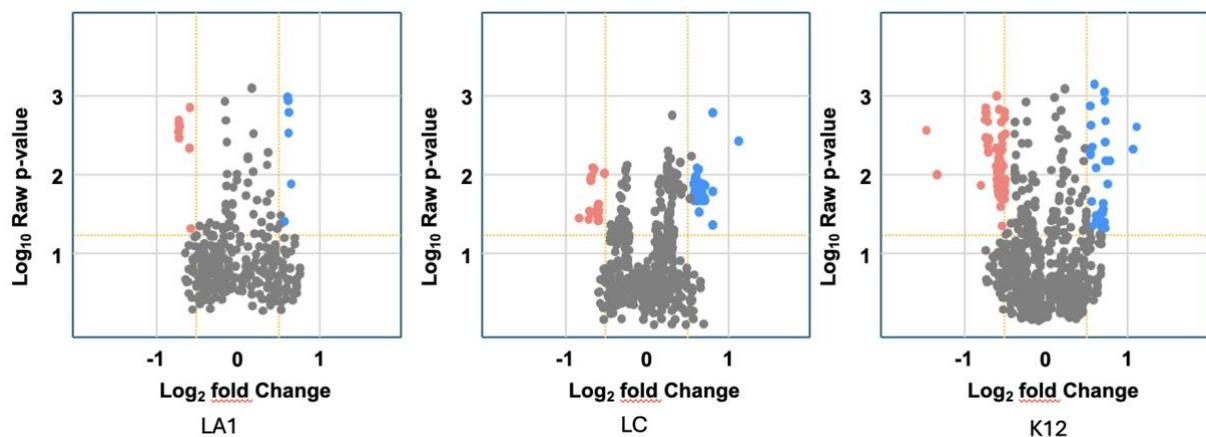


Figure 10 : Volcano plot montrant la distribution des transcrits par changement d'expression et signification. La ligne orange indique un niveau de signification de 5% dans l'échelle logarithmique des p-value ajustées. Les transcrits significativement sur-régulés et sous-régulés (pour une p-value ajustée < 0,05) sont colorés en rouge et en bleu respectivement pour LA1, LC et K12.

Les volcano plots sont couramment utilisés pour visualiser des données d'expression génétique différentielles. Ils montrent la relation entre la signification statistique (p-value)



et l'ampleur du changement d'expression (le fold change) pour chaque transcript ou gène mesuré.

- Sur l'axe horizontal (Log₂ fold Change), les points à droite du zéro indiquent une surexpression (up-regulation) des gènes dans l'échantillon traité par rapport au contrôle, tandis que les points à gauche indiquent une sous-expression (down-regulation).
- L'axe vertical (Log₁₀ Raw p-value) montre la significativité statistique des changements d'expression. Plus la valeur est basse (plus le point est haut sur l'axe), plus la significativité statistique est grande.
- La ligne horizontale orange indique le seuil de significativité statistique, souvent fixé à une p-value ajustée de 0,05. Les points au-dessus de cette ligne sont considérés comme statistiquement significatifs.
- Les points colorés représentent les gènes significativement régulés : en rouge pour l'up-regulation et en bleu pour la down-regulation.

LA1

Pour la souche LA1, il y a une répartition équilibrée des gènes régulés à la hausse et à la baisse, bien que peu d'entre eux passent le seuil de significativité ajusté (points colorés au-dessus de la ligne orange).

LC

Pour la souche LC, il semble y avoir un plus grand nombre de gènes significativement régulés à la baisse (en bleu) par rapport à ceux régulés à la hausse (en rouge). Cela pourrait indiquer un effet répressif global des variations de pesanteur, sur ces gènes.

K12

Pour la souche K12, il y a aussi un nombre considérable de gènes significativement régulés à la hausse et à la baisse. Il semble y avoir plus de gènes up-régulés (en rouge) que down-régulés (en bleu), ce qui pourrait suggérer que les variations de pesanteur induisent une activation de diverses voies métaboliques ou de stress.

La qualité des données semble appropriée pour l'analyse différentielle d'expression, avec un nombre significatif de gènes montrant des changements d'expression notables et significatifs dans les conditions expérimentales d'impesanteur et d'hyperpesanteur.

Ontologie génique

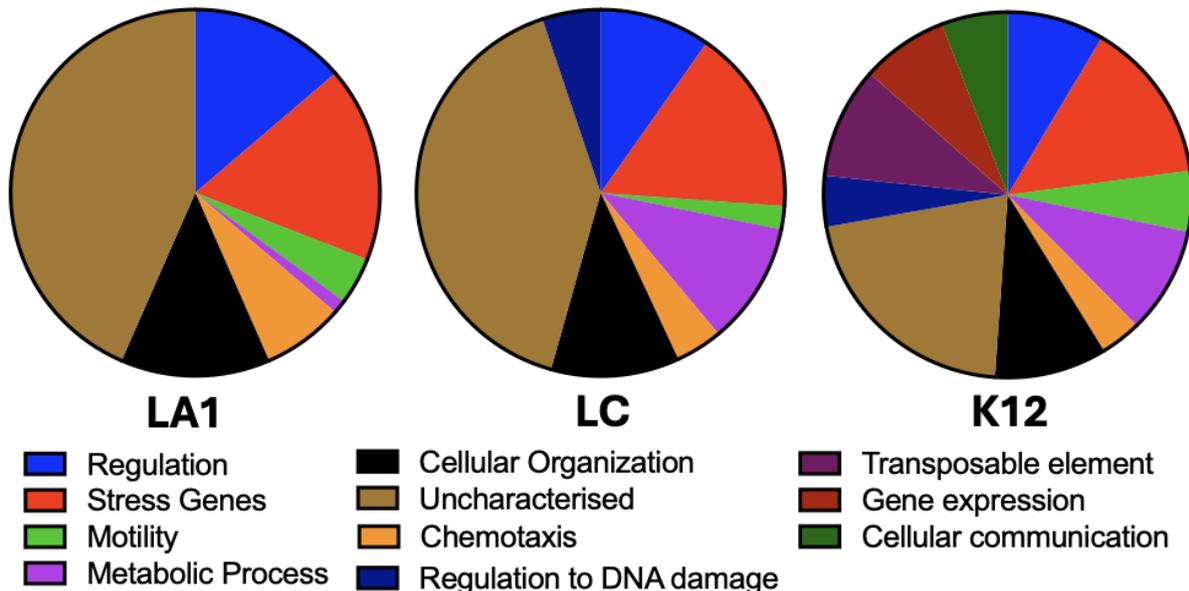


Figure 11 : Graphiques des analyses d'ontologie génique, qui classent les gènes en fonction de leur fonction biologique ou de leur rôle dans la cellule. Ces diagrammes circulaires donnent un aperçu de la répartition des catégories fonctionnelles affectées par l'exposition à la variation de pesanteur pour LA1, LC et K12.

LA1

Une grande partie des gènes affectés sont associés à des processus métaboliques, ce qui suggère que les variations de pesanteur pourraient induire des changements dans le métabolisme de cet organisme. La régulation, la réponse aux stimuli, et les gènes de stress sont également bien représentés, ce qui indique une réaction au changement d'environnement.

LC

Il y a une distribution plus équilibrée des fonctions, mais avec une portion significative de gènes impliqués dans la motilité et la chimiotaxie, ce qui pourrait refléter une adaptation aux conditions expérimentales par des changements dans la locomotion et le positionnement cellulaire. Les éléments transposables, la communication cellulaire, et la régulation de dommages à l'ADN sont des aspects notables, indiquant une possible réponse adaptative ou de réparation à l'environnement.

K12

Il montre une répartition similaire à LC, mais avec un accent plus prononcé sur les gènes de régulation et de stress. Cela pourrait indiquer que *E. coli* active des mécanismes de réponse au stress et des voies régulatrices en réponse à l'impesanteur et / ou à l'hyperpesanteur.

Globalement, ces diagrammes suggèrent que la variation de pesnateur a un effet significatif sur la fonction et la régulation génétique des micro-organismes testés, impactant une variété de processus biologiques.

Catégorisation des gènes de K12 après 0G

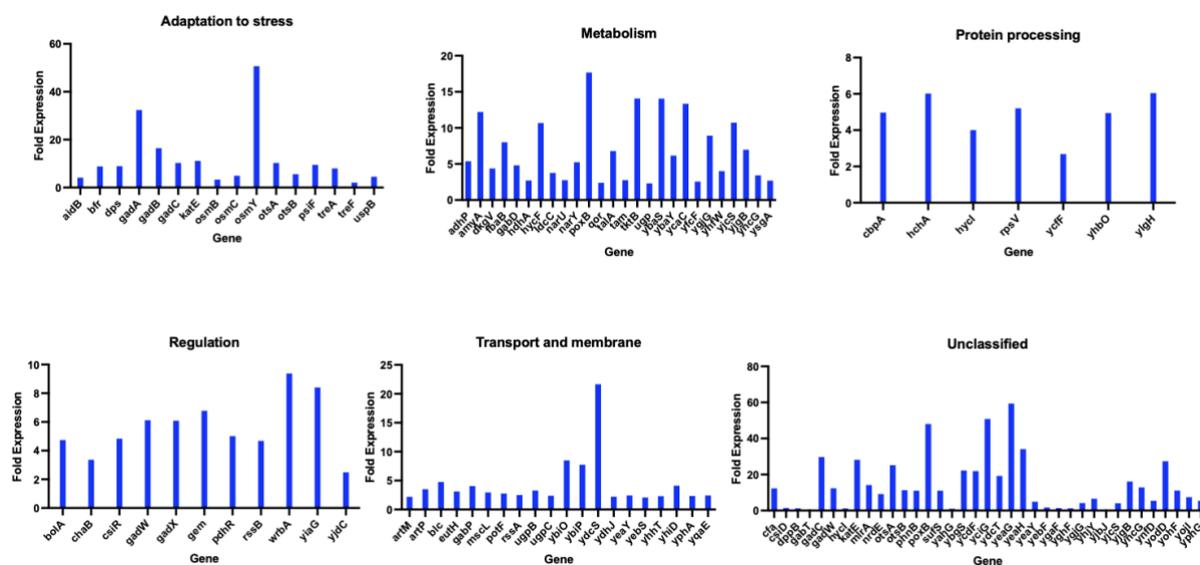


Figure 12 : Graphiques en barres catégorisant les gènes par fonction biologique et montrent leur changement d'expression (fold expression) à la suite d'une exposition à l'impesanteur et à l'hyperpesanteur.

Adaptation au stress

Certains gènes présentent une expression fortement modifiée, ce qui indique une réponse cellulaire marquée en condition expérimental, comme une activation de mécanismes de protection ou de réparation.

Métabolisme

Il y a une variété de changements d'expression parmi les gènes métaboliques. Cela suggère que la variation de pesnateur peut affecter divers aspects du métabolisme cellulaire.

Traitement des protéines

Plusieurs gènes impliqués dans le repliement des protéines, leurs modifications post-traductionnelles ou leur dégradation semblent être régulés lors de l'exposition à l'impesanteur et l'hyperpesanteur, ce qui pourrait influencer la fonction et la stabilité des protéines.



Régulation

Cette catégorie comprend des gènes impliqués dans la régulation de l'expression génique et d'autres processus cellulaires. Les changements observés pourraient refléter un ajustement des réseaux de signalisation et de transcription en réponse aux variations de pesanteur.

Transport et membrane

Un gène se détache par une expression extrêmement élevée, ce qui pourrait indiquer un rôle crucial dans l'adaptation membranaire ou le transport de molécules en réponse à l'impesanteur et / ou à l'hyperpesanteur.

Ces résultats suggèrent donc que les conditions de vol ont un impact diversifié sur la cellule, affectant de nombreux processus biologiques.

Discussion des résultats

La discussion des résultats des analyses effectuées sur l'effet de l'impesanteur sur les micro-organismes doit tenir compte de plusieurs facteurs susceptibles d'influencer la validité et l'interprétation des résultats.

Extinction de l'alimentation électrique

L'extinction de l'électricité à bord de l'avion avant le vol constitue un élément non négligeable. Cette interruption de 30 minutes de l'alimentation électrique pourrait avoir affecté les conditions environnementales à bord étant donné que la culture des micro-organismes s'effectue dans un environnement à 37°C. Ainsi, il n'est pas exclu que pendant ce temps, la température de l'étuve n'ait pas légèrement diminué et donc potentiellement perturbé le métabolisme des micro-organismes.

0G et 2G indistinguables

Il est essentiel de souligner que les effets de l'impesanteur et de l'hyperpesanteur sur les colonies bactériennes lors du vol sont indifférenciables. Cette superposition des niveaux de pesanteur pourrait générer une incertitude quant aux conditions exactes auxquelles les micro-organismes ont été exposés, ce qui pourrait affecter la précision des conclusions de l'étude.

Déménagement du laboratoire

Le déménagement du laboratoire est également un élément à prendre en compte. Ce changement d'environnement de travail peut avoir introduit des variations dans les



conditions expérimentales, telles que la température, l'humidité et les protocoles de manipulation des échantillons, ce qui pourrait avoir influencé les résultats des analyses.

Rigueur dans les manipulations

Les manipulations expérimentales sont effectuées par des humains, ce qui introduit un élément de variabilité potentiellement significatif. De plus, il est possible que plusieurs personnes aient manipulé les mêmes échantillons au cours des différentes étapes de l'expérience. Cette situation pourrait avoir entraîné des variations dans les techniques et les pratiques de manipulation.

Conclusion

En conclusion, les analyses des effets de l'impesanteur sur les micro-organismes du microbiote intestinal révèlent des réponses complexes et diversifiées. La variation de pesanteur induit des changements significatifs dans l'expression génétique, avec des variations subtiles entre les souches bactériennes étudiées. Ces changements touchent une multitude de processus biologiques, allant du métabolisme à la régulation génétique en passant par la réponse au stress et la communication cellulaire. Ces résultats indiquent donc que l'impesanteur joue potentiellement un rôle significatif sur l'évolution des micro-organismes caractéristiques du microbiote intestinal. Ainsi, l'impesanteur représente une piste fiable pour expliquer la dysbiose du microbiote intestinal observée chez les astronautes.

Par ailleurs, il a été démontré que la micropesanteur simulée induit des changements significatifs dans l'expression des ARN non codants intestinaux chez *Caenorhabditis elegans* (Sun et al., 2021). De plus, des altérations dans l'expression des gènes de réparation de l'ADN chez *C. elegans* exposés à des conditions de micropesanteur a été mis en évidence, suggérant ainsi une perturbation des mécanismes cellulaires fondamentaux (Zhao et al., 2022). D'autre part, des changements dans l'expression des microARN circulants chez des individus soumis à une micropesanteur simulée ont été observés (Jirak et al., 2020). Dans l'ensemble, ces études renforcent notre conclusion selon laquelle l'impesanteur exercerait un impact significatif sur les micro-organismes du microbiote intestinal, soulignant ainsi la nécessité de comprendre ces réponses pour garantir la santé des astronautes lors de missions spatiales prolongées.