

## Impact of liquid-liquid phase separation on the sensitivity to mechanical stresses in *S. cerevisiae*

### Context

Cells are naturally confined by their environment. Cell proliferation in a spatially-limited environment lead to the emergence, at the population level, of growth-induced pressure. The typical response to growth-induced pressure is a reduction of cell proliferation.

Using novel microfluidic devices to confine cells (Fig. 1a), we have shown in the eukaryote model *S. cerevisiae* that proliferation reduction is intrinsically linked to modulations of a key cellular property: macromolecular crowding. Crowding relates to the high packing fraction of macromolecules in cells, and increases with growth-induced pressure [1]. An increase in crowding induces a slowdown in protein synthesis, which has important consequences on cell physiology, and in particular, is ultimately lead to proliferation reduction.

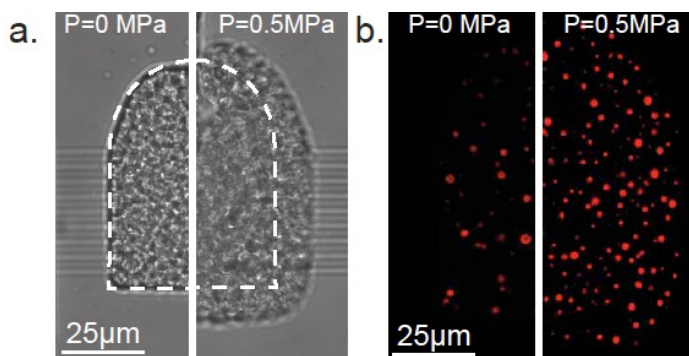


Fig. 1 a. Microfluidic chamber allowing cellular confinement which leads to the emergence of growth-induced pressure. b. Cells containing the synthetic SUMO-SIM system tagged with mCherry under different growth-induced pressure intensities.

During this internship, we wish to study the cellular mechanisms which could be associated with the regulation to crowding. One of these mechanisms could be phase separation, which is the capacity some proteins which are naturally diluted in the cytoplasm to form liquid droplets in another liquid phase of the cytoplasm (we speak of liquid-liquid phase separation, or LLPS) [2]. We observed in particular that confined growth leads to the formation of synthetic LLPS (Fig. 1b).

### Objectives of this internship

Le goal of this internship will be to study the potential link between the formation of LLPS, macromolecular crowding, and the cellular ability to proliferate under confinement. This project will allow the student to acquire competences in microfluidics, imaging and image analysis.

### Compétences recherchées et candidature

For this essentially experimental internship, we are primarily looking for a candidate with knowledge in cell biology and/or microfluidic, imaging. The candidate must have a strong will to work at the interface between physics and biology. The student will be trained in microbe cell culture and imaging, as well as microfabrication principles.

For more information or to apply, please send your motivation letter and a CV to [morgan.delarue@laas.fr](mailto:morgan.delarue@laas.fr).

- [1] B. Alric, C. Formosa-Dague, E. Dague, L. J. Holt, and M. Delarue, "Macromolecular crowding limits growth under pressure," *bioRxiv*, p. 2021.06.04.446859, Jun. 2021, doi: 10.1101/2021.06.04.446859.
- [2] M. Delarue *et al.*, "mTORC1 Controls Phase Separation and the Biophysical Properties of the Cytoplasm by Tuning Crowding," *Cell*, 2018.

## Etude de la formation de la séparation de phase sur la sensibilité aux contraintes mécaniques chez *S. cerevisiae*

### Contexte

Les cellules sont naturellement confinées par leur environnement. La prolifération dans un espace spatialement contraint entraîne l'émergence, à l'échelle de la population, d'une pression de croissance. La réponse typique à cette pression de croissance est une réduction de la prolifération cellulaire.

Nous avons récemment montré, en utilisant de nouveaux dispositifs microfluidiques chez le modèle eucaryote *S. cerevisiae* qui permettent leur confinement et l'étude de pression de croissance (Fig. 1a), que cette réduction de prolifération cellulaire aurait pour origine une augmentation d'une propriété clé de la cellule : l'encombrement macromoléculaire. Ce dernier est relié à la grande concentration de macromolécules dans les cellules, augmente significativement lorsque la pression de croissance augmente [1]. Une augmentation de l'encombrement induit un ralentissement de la synthèse protéique ce qui a des effets importants sur la physiologie des cellules, avec en particulier une diminution du taux de croissance cellulaire.

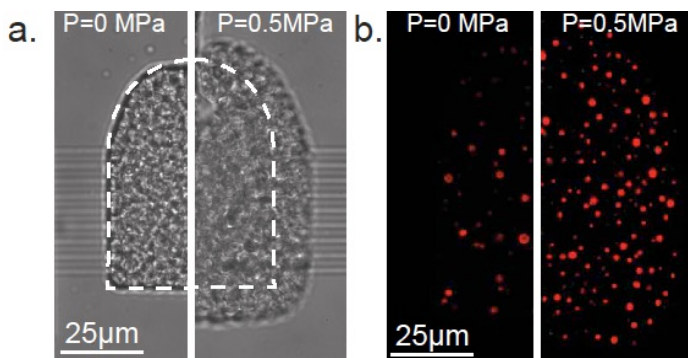


Fig. 1 a. Chambre microfluidique permettant le confinement des cellules qui vont développer une pression induite par la croissance. b. Cellules avec un marquage en fluorescence mCherry du complexe SUMO-SIM sous contraintes mécaniques.

Durant ce stage, nous voulons étudier quels mécanismes cellulaires pourraient permettre à la cellule de réguler leur encombrement. L'un de ces mécanismes pourrait être la séparation de phase, c'est-à-dire la capacité qu'ont certaines protéines normalement diluées dans le cytoplasme de former des gouttelettes liquides dans une autre phase liquide du cytoplasme (LLPS, pour « liquid-liquid phase separation ») [2]. Nous observons ainsi que la croissance confinée entraîne la formation de ces LLPS dans des systèmes synthétiques (Fig. 1b).

### Objectifs du stage

Le but de ce stage sera d'étudier le potentiel lien entre la formation de ces structures, l'encombrement macromoléculaire, et la capacité de prolifération sous confinement. Ce sujet permettra d'acquérir des compétences en microfluidique, imagerie, et analyse d'image.

### Compétences recherchées et candidature

Pour ce stage principalement expérimental nous recherchons préférentiellement un.e candidat.e ayant des connaissances en biologie cellulaire et/ou en microfluidique ainsi qu'en microscopie, et une volonté de travailler à l'interface entre la physique et la biologie. L'étudiant.e sera formé.e à la culture cellulaire de microbes et l'imagerie cellulaire ainsi qu'à la fabrication de dispositif microfluidique.

Pour plus d'information ou pour candidater, merci d'envoyer une lettre de motivation ainsi qu'un CV à [morgan.delarue@laas.fr](mailto:morgan.delarue@laas.fr).

- [1] B. Alric, C. Formosa-Dague, E. Dague, L. J. Holt, and M. Delarue, "Macromolecular crowding limits growth under pressure," *bioRxiv*, p. 2021.06.04.446859, Jun. 2021, doi: 10.1101/2021.06.04.446859.
- [2] M. Delarue *et al.*, "mTORC1 Controls Phase Separation and the Biophysical Properties of the Cytoplasm by Tuning Crowding," *Cell*, 2018.