

sur le cortex, comme les autres cellules. Pourtant, il se rapproche bien d'un bord. Comment ? C'est ce que j'ai voulu comprendre en m'intéressant à ce cas extrême de division asymétrique, chez la souris.

Si les ovocytes ne présentent pas de microtubules astraux, on sait depuis longtemps que, dans ces cellules, le positionnement du fuseau dépend d'une autre protéine, l'actine, capable de s'organiser en filaments. L'actine forme un « superfuseau », une sorte de cage faite de filaments qui entourent le fuseau.

Lorsque je commence cette thèse, on vient de découvrir que les ovocytes ne durcissent pas, mais, au contraire, se ramollissent pendant leur division. Une question se pose donc : qu'est-ce qui permet au fuseau de se positionner en périphérie de la cellule ? Par ailleurs, Jessica Azoury, une ancienne doctorante, a découvert qu'au moment de la division de l'ovocyte, une couche très épaisse d'actine se forme sous le cortex de la cellule, ce qui suggère un cortex durci, l'actine étant une protéine capable d'engendrer de la tension. Comment le cortex se ramollit-il donc ? C'est sur cette question que Marie-Émilie me propose de me pencher, en juillet 2010, par téléphone, car je suis alors en vacances dans le sud-ouest de la France. Je suis tout de suite emballée par le projet.

La première chose à faire, quand il s'agit de forces, c'est d'en parler avec un physicien. « Mes » physiciens, ceux avec qui j'ai travaillé, sont Cécile Sykes et Clément Campillo, de l'institut Curie, à Paris. Ils se sont intéressés au projet et nous avons décidé de collaborer. Pour cela, nous avons observé des ovocytes ayant une couche de filaments d'actine au cortex, et d'autres qui n'en présentaient pas. Jessica a constaté que cette couche dépendait d'une protéine nommée mos : dans des ovocytes issus de souris mutantes dépourvues de cette protéine, la couche d'actine ne se forme pas. Le fuseau reste alors au centre et les ovocytes se divisent de façon symétrique.

À l'institut Curie, Clément et moi avons passé des heures dans une pièce sombre à mesurer la tension du cortex d'ovocytes normaux et d'ovocytes dénués de cette couche d'actine. Pour effectuer cette mesure, nous aspirons les ovocytes

dans une micropipette : la façon dont ils se déforment lors de cette aspiration permet de calculer la tension (voir l'encadré page ci-contre).

Surprise : ce sont bien les ovocytes ayant le plus d'actine qui sont les plus mous. Comment est-ce possible ? En réalité, l'actine engendre une tension quand elle est associée à une autre protéine, la myosine-II. Cette dernière forme de petits filaments qui peuvent s'accrocher à l'actine, tirer dessus et créer ainsi des forces, comme celles que produisent les muscles.

J'ai donc décidé de regarder ce qu'il advenait de la myosine-II pendant le ramollissement de la cellule. Dans une cellule normale, quand la cellule durcit au début de la division, la myosine-II est recrutée au cortex, où il y a un peu d'actine, et c'est cela qui permet à la cellule de durcir. Pour observer ce qui se passe, j'injecte une sonde fluorescente spécifique de la myosine-II dans l'ovocyte (cette technique délicate consiste à planter une pipette très fine dans la cellule sans la tuer), puis je filme l'ovocyte grâce à un microscope qui détecte la fluorescence. Et là, je constate que le ramollissement de l'ovocyte est concomitant à un retrait de la myosine-II du cortex.

Il me faut maintenant comprendre pourquoi la myosine-II s'en va.

■ L'AUTEURE



Agathe CHAIGNE est chercheuse postdoctorale au MRC-Laboratory for molecular cell biology, au

University College London. Elle a été lauréate en 2015 du prix *Le Monde* de la recherche universitaire.

Cet article est adapté du chapitre « Mécanique de la cellule et œuf mollet » d'Agathe Chaigne paru dans l'ouvrage *Cédric Villani présente les lauréats du prix Le Monde de la recherche*, Le Pommier, 2016.

**Chercher
la protéine qui contrôle
la protéine qui contrôle
la protéine qui fait
que c'est mou**

Remonter la piste de la protéine mos

Comme nous l'avons vu, la protéine mos, qui est synthétisée quand la division commence, est nécessaire à la présence et à l'épaississement de l'actine au cortex. Mais est-elle suffisante ? Pour le savoir, j'injecte mos dans un ovocyte qui n'a pas entamé sa division et constate que cette injection suffit pour créer une couche d'actine au cortex de la cellule et chasser la myosine-II de celui-ci. La présence de mos est donc nécessaire et suffisante pour former la couche d'actine. Je montre aussi que, chez des souris mutantes qui n'expriment pas mos, on trouve de la myosine-II dans le cortex. Par conséquent, lorsque mos est présente, il y a de l'actine et il n'y a pas de myosine-II. Il me reste à chercher s'il existe un lien entre la présence de l'actine et l'absence de la myosine-II,

indépendamment de la présence ou de l'absence de mos.

C'est un peu compliqué à tester : il faut parvenir à modifier l'actine sans modifier la myosine-II, ou l'inverse. Nous avons une première idée : inhiber la myosine-II (certaines molécules permettent d'y parvenir) et observer si cela suffit pour que de l'actine apparaisse au tout début de la division, quand mos n'est pas encore là. Ça ne fonctionne pas.

On imagine alors le scénario inverse : au lieu de vérifier si l'absence de myosine-II induit l'apparition de l'actine, nous décidons de vérifier si la présence de l'actine induit la disparition de la myosine-II du cortex. Mais comment nous y prendre ? Pour nous assurer que mos ne joue aucun rôle, il nous faut former des filaments d'actine au cortex au début de la division, avant l'apparition de mos. Nous devons donc

découvrir comment l'actine est polymérisée au cortex.

Plusieurs protéines peuvent polymériser de l'actine. En observant des ovocytes dépourvus de certaines de ces protéines ou des ovocytes traités pour inhiber l'une ou l'autre de ces protéines, Jessica, Claudia (une stagiaire de Master 1), Marie-Émilie et moi finissons par conclure que la coupable est Arp2/3, une protéine souvent responsable de la polymérisation d'actine au cortex des cellules.

Arp2/3 a toujours besoin d'être activée par d'autres protéines, les NPF (*Nucleating Promoting Factors* ou facteurs promouvant la nucléation). Il y en a beaucoup – Wave1, Wave2, Wasp, Wash, N-Wasp... –, et elles ont toutes un petit motif en commun : une petite séquence d'acides aminés (les éléments qui constituent les protéines) cruciaux pour activer Arp2/3. Nous décidons donc

Modéliser la migration du fuseau

Pourquoi, lors de la division de l'ovocyte, la migration du fuseau vers un bord de la cellule dépend-elle de la mollesse du cortex, la couche épaisse d'actine qui sous-tend la membrane cellulaire ? Pour le savoir, nous avons demandé de l'aide aux physiciens théoriciens Raphaël Voituriez, de l'université Pierre-et-Marie-Curie, et Nir Gov, de l'institut Weizmann, en Israël.

Nous avons envisagé plusieurs hypothèses et, pour chacune, nos collègues physiciens ont construit un modèle que nous avons ainsi affiné peu à peu.

La première hypothèse que nous avons faite stipulait que si la tension du cortex restait élevée, le mouvement du fuseau devait être très lent. Un premier

modèle a été construit décrivant cette idée. Puis nous nous sommes rendu compte que le fuseau ne semblait pas bouger du tout. Nous avons donc introduit cette idée dans le modèle.

De même, au début, nous avons considéré que les filaments d'actine étaient symétriques de chaque côté de la

cage d'actine qui enserrait le fuseau. Puis nous avons constaté qu'en réalité, plus le fuseau est proche du cortex, plus l'actine est abondante du côté du fuseau proche du cortex. Nous avons donc rajouté cette contrainte au modèle.

Enfin, nous avons pris en compte le fait que si le cortex est mou, les filaments d'actine peuvent être tirés plus facilement hors du cortex. Ou, plus exactement, que les filaments provenant de la cage d'actine pouvaient pénétrer le cortex plus facilement aussi (ce qui revient au même en terme d'équations, mais est plus

complet d'un point de vue biologique, puisqu'on ne sait pas vraiment ce qui se passe à l'interface de la cage d'actine et du cortex).

Au fil des ajustements, nous avons abouti à l'hypothèse suivante : le fuseau (ci-dessous en vert) est tiré des deux côtés par la myosine-II, ce qui produit les forces F_+ et F_- . Le cortex se déforme de h_+ d'un côté et de h_- de l'autre. Sur le graphe, les points sont les paramètres mesurés ; les deux courbes sont prédites par le modèle et ajustées en fonction des points expérimentaux.

– A. C.

