

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

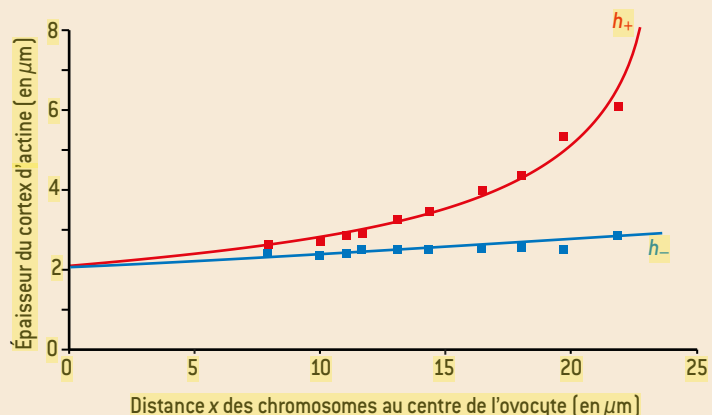
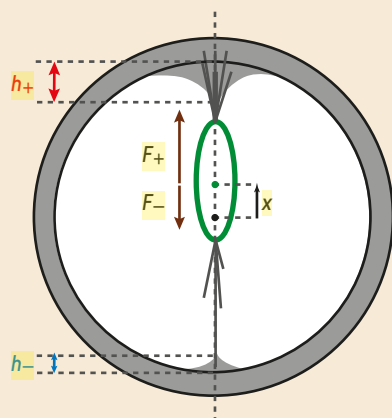
cage d'actine qui enserrait le fuseau. Puis nous avons constaté qu'en réalité, plus le fuseau est proche du cortex, plus l'actine est abondante du côté du fuseau proche du cortex. Nous avons donc rajouté cette contrainte au modèle.

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.



d'injecter ce petit motif dans les ovocytes, espérant ainsi activer Arp2/3.

C'est un échec : nous obtenons bien une polymérisation de l'actine, mais partout dans la cellule et pas seulement au cortex. Qu'à cela ne tienne : j'ajoute à ce petit motif une séquence qui devrait l'envoyer en périphérie de la cellule. Échec. J'essaie un autre motif, puis un autre. Toujours rien. Pendant que je suis en vacances, Marie-Émilie, en désespoir de cause, lance une bouteille à la mer avant de renoncer : elle colle la séquence de ce motif à une protéine, l'eitrine, qui est toujours située au cortex dans les ovocytes, et injecte l'ensemble. Ça marche ! Le petit motif est envoyé au cortex et il y déclenche la polymérisation de l'actine par Arp2/3... Et cela suffit à chasser la myosine-II. Nous vérifions qu'en injectant juste l'eitrine, sans notre motif, nous ne modifions pas la tension cellulaire et que les cellules se divisent normalement.

Nous avons ainsi démontré que c'est bien la présence de l'actine qui est responsable de la disparition de la myosine-II du cortex et donc de la baisse de la tension corticale. Pourquoi n'est-ce pas le cas dans les cellules classiques, celles qui se divisent de façon symétrique, me direz-vous ? C'est un grand mystère. Peut-être est-ce dû à l'épaisseur de leur cortex, de quelques centaines de nanomètres, bien inférieure à celle du cortex des ovocytes, qui atteint parfois quatre micromètres. Ou à la structure même du cortex, qui diffère dans les deux types de cellules...

Mais revenons aux ovocytes, car il reste encore une question : comment *mos* entraîne-t-elle la polymérisation de l'actine ? Pour y répondre, nous nous tournons vers la littérature qui existe sur *mos* et Arp2/3. Quelques études ont montré que des protéines activées par *mos*, nommées ERK1/2, sont capables d'activer Wave2, une des protéines NPF, qui peut elle-même activer Arp2/3 en lui ajoutant un groupement phosphate. Est-ce aussi le cas dans les ovocytes ? Pour répondre à cette question, nous faisons l'inventaire – en les purifiant – des protéines présentes dans des ovocytes normaux ou privés de *mos*, et nous recherchons la présence du groupement phosphate dans la fraction obtenue. Nous obtenons qu'en présence de *mos*,

ERK1/2 est présent et Wave2 est activé (phosphorylé), alors qu'en l'absence de *mos*, Wave2 n'est pas activé. Cela suggère fortement que Wave2 est l'intermédiaire entre *mos* et Arp2/3.

Pourquoi il est important que ce soit mou

J'ai donc compris comment le cortex devenait mou. Mais finalement, est-ce important ? Pour répondre à cette question, il faut trouver une façon de durcir le cortex. Il

Ce fut le moment de faire appel à des physiciens théoriciens

existe un composé, la concanavaleine-A, qui durcit le cortex des ovocytes. Et lorsqu'on traite des ovocytes avec ce composé, le fuseau ne migre pas. Le cortex doit donc bien être mou pour que la division ait lieu. En ayant lu ce qui précède, vous ne serez pas étonné d'apprendre que l'obtention de ce résultat, le plus important de ma thèse, aura nécessité cinq mois de tâtonnements pour trouver les conditions parfaites d'utilisation de la concanavaleine-A !

Évidemment, il nous a fallu ensuite comprendre pourquoi la migration du fuseau dépendait de la mollesse du cortex. Ce fut le moment de faire appel à des physiciens théoriciens – Raphaël Voituriez, de l'université Pierre-et-Marie-Curie à

Paris, et Nir Gov, de l'institut Weizmann en Israël –, qui nous ont proposé différents modèles correspondant aux diverses hypothèses (voir l'encadré page ci-contre). Concrètement, je leur présente les faits connus et les inconnues. Pour chaque scénario possible, ils nous proposent un modèle (ce qui correspond à une mise en équations) ; nous les orientons ensuite en fonction de nos résultats et de ceux publiés par d'autres groupes.

Après quelques tâtonnements, l'hypothèse que nous formulons est la suivante : l'emplacement où le fuseau se forme est un peu excentré dans l'ovocyte ; puis il est attaché au cortex par la cage d'actine. Au départ, un pôle est donc déjà plus proche du cortex que l'autre. La myosine-II étant présente aux pôles de la cage d'actine, elle tire le fuseau vers le cortex, un peu plus fort du côté le plus proche du pôle. Puis vient l'action de *mos*. Le cortex se ramollit alors et se déforme sous la traction du fuseau, ce qui permet aux filaments d'actine aux extrémités de la cage de pénétrer plus facilement dans le cortex, augmentant ainsi la traction du fuseau et permettant sa migration complète jusqu'au cortex.

C'est un modèle qu'il faut essayer de démontrer. À cette fin, tous les mécanismes qui lui sont associés sont mis en équations. Il faut alors contraindre le modèle, c'est-à-dire minimiser le nombre de paramètres que l'on ne connaît pas. Pour y parvenir, je mesure certains des paramètres, par exemple la déformation du cortex des deux côtés du fuseau en fonction de la migration de celui-ci.

Une fois qu'un maximum de paramètres sont ajoutés au modèle, il faut tester ce dernier. Pour ce faire, je vérifie si le modèle prédit des valeurs pour d'autres paramètres que nous pouvons mesurer. En comparant plusieurs prédictions à nos mesures, j'arrive à la conclusion que notre modèle semble très fidèle à la réalité.

Finalement, les physiciens remarquent que le modèle donne aussi des prédictions sur la migration du fuseau en fonction de la valeur de la tension du cortex : si la tension est trop élevée, le fuseau ne peut pas migrer (cela, je l'avais déjà démontré) ; et si elle est trop basse, le fuseau ne