

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.

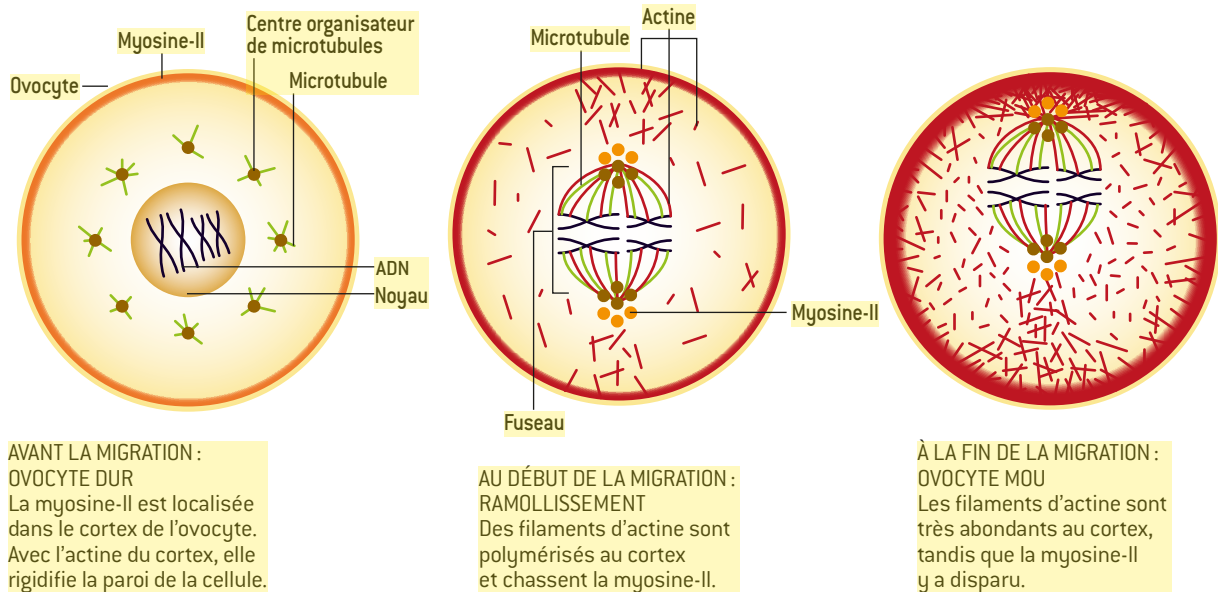
Une fois qu'un maximum de paramètres sont ajoutés au modèle, il faut tester ce dernier. Pour ce faire, je vérifie si le modèle prédit des valeurs pour d'autres paramètres que nous pouvons mesurer. En comparant plusieurs prédictions à nos mesures, j'arrive à la conclusion que notre modèle semble très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

LE MODÈLE DE L'ŒUF MOLLET

Dans l'ovocyte de souris, le positionnement asymétrique du fuseau durant la métaphase I de la méiose est le fruit d'un déséquilibre de forces favorisé par un ramollissement du cortex. À la fin de la prophase I (*à gauche*), le cortex est rigide et le fuseau se forme légèrement excentré. C'est le début de la métaphase I (*au centre*). Puis des filaments d'actine arrivent

le fuseau au cortex et la myosine-II, présente aux pôles du fuseau, tire celui-ci en s'appuyant sur le réseau d'actine. La traction est un peu plus forte sur le pôle le plus proche du cortex. Devenu mou, le cortex se déforme et s'enrichit en filaments d'actine sur lesquels tire la myosine-II des pôles (*à droite*). La traction est ainsi amplifiée du côté le plus proche.



Cassandra Von

BIBLIOGRAPHIE

A. Chaigne, *Cortical stiffness : A gatekeeper for spindle positioning in mouse oocytes*, Thèse soutenue le 4 juillet 2014, disponible sur : <http://bit.ly/2f1mi0M>

A. Chaigne et al., *Ramollir le cortex : un prérequis à l'asymétrie de la division ovocytaire*, *Médecine/Sciences*, vol. 30, n° 1, pp. 18-21, 2014.

M. Piel et J.-F. Joanny, *L'arrondissement des cellules en mitose*, *Médecine/Sciences*, vol. 27, n° 6-7, pp. 590-592, 2011.

migre pas non plus, car le cortex est trop mou pour supporter la tension du fuseau – c'est comme si l'on essayait d'escalader une paroi rocheuse en s'aidant d'une corde plantée dans un élastique.

Un cortex ni trop dur ni trop mou

Pour tester cette seconde prédiction, il faut diminuer la tension du cortex. Or nous avons déjà l'outil pour y parvenir : notre petit motif qui, associé à l'eitrine, déclenche la polymérisation de l'actine au cortex ! Je retourne voir Clément et, ensemble, nous vérifions que l'injection de ce motif couplé à l'eitrine dans l'ovocyte suffit à ramollir ce dernier ; puis je confirme que, dans ce contexte, le fuseau ne peut pas migrer. Pour faire une bonne division asymétrique, il faut donc un cortex ni trop dur ni trop mou, mais mollet !

Toutes ces observations montrent que le modèle décrit très bien la réalité et nous pouvons donc en conclure que nos hypothèses initiales étaient correctes (*voir l'encadré ci-dessus*).

À la fin d'une thèse, on se pose souvent plus de questions encore qu'au début. En ce qui me concerne, la plus importante d'entre elles, qui n'a pas encore de réponse à ce jour, est celle de l'absence de microtubules astraux dans l'ovocyte. Pourquoi cette machinerie disparaît-elle ? Pourquoi y a-t-il un positionnement dépendant de l'actine et de la tension du cortex ? Est-ce parce que ce système existe qu'il n'y a pas de microtubules astraux, car ils sont alors inutiles, ou bien est-ce au contraire l'absence des microtubules qui rend la présence de ce système nécessaire, l'absence des microtubules pouvant être expliquée par un tout autre mécanisme ?

Une autre question intéressante concerne la suite du développement embryonnaire après la fécondation par un spermatozoïde. Il n'y a toujours pas de microtubules astraux, et pourtant la première division est symétrique. Pour le comprendre, j'ai décidé de poursuivre mes recherches après ma thèse (en arrivant régulièrement au labo à cinq heures du matin, car, malheureusement pour la chercheuse et son mari, les cellules des

embryons se divisent à des moments précis, très tôt le matin) et j'ai découvert que, comme dans l'ovocyte non fécondé, le fuseau de l'ovocyte fécondé est entouré d'une cage d'actine qui est tirée par la myosine-II à ses pôles et ancrée dans un cortex qui durcit au lieu de ramollir, ce qui permet de centrer le fuseau. Cela signifie donc que ce mécanisme dépendant de la présence de l'actine pourrait en fait être un mécanisme universel pour positionner les fuseaux dans les cellules dépourvues de microtubules astraux (par exemple chez les bactéries ou dans les cellules végétales).

Symétrie et ruptures

Comment l'ovocyte réussit-il à rompre sa parfaite symétrie pour faire une division asymétrique ? Il me semble que la réponse réside dans le concept d'équilibre instable. Imaginez une balle placée en haut d'une colline : elle est en équilibre, mais, si vous la bougez un tant soit peu, elle dévalera la pente – sa position initiale constitue ce que l'on appelle un « pic de potentiel ». Dans

le cas de l'ovocyte, l'équilibre instable repose sur la position du noyau contenant les chromosomes avant la formation du fuseau. Le fuseau se forme là où se trouve le noyau. Avant la division, le noyau est positionné au centre de la cellule, mais, quelle que soit la précision du système de positionnement, il sera toujours très légèrement décentré, ce qui provoquera la rupture de symétrie.

De nombreuses ruptures de symétrie reposent sur le fait que de toutes petites fluctuations aléatoires peuvent être amplifiées. Finalement, une toute petite asymétrie ou la fluctuation de l'orientation d'une protéine dans l'espace suffit sûrement à expliquer pourquoi vous avez le cœur à gauche et le foie à droite...

Quant à moi, j'ai finalement décidé de continuer à faire de la recherche. Je suis partie à Londres, au University College London, et j'y étudie la manière dont de petites fluctuations dans le milieu mécanique des cellules permettent de contrôler la géométrie de leur division. La suite au prochain épisode... ■

■ SUR LE WEB

Le site de George von Dassow, biologiste de l'université de l'Orégon, aux États-Unis, rassemble de superbes images et films de division cellulaire : <http://www.gvondassow.com>



LES { Partagez
les savoirs }

**RENDEZ-
VOUS DU
MUSÉUM**

Entrée
gratuite

**Au Jardin
des Plantes**

Détails sur mnhn.fr, rubrique :
"Les rendez-vous du Muséum"

SCIENCE

COURS PUBLICS

Cycle 3 paléontologues du 19^e siècle face à l'évolution

Judi 1^{er} décembre - 18h : La fureur de d'Archiac contre Darwin

Judi 8 décembre - 18h : Le génie inventif de Cope

Avec *M. Godinot*, paléontologue, directeur d'Étude à l'École Pratique des Hautes Études, Muséum

Grand Amphithéâtre du Muséum - 57 rue Cuvier, Paris 5^e

UNE EXPO / DES DÉBATS

Lundi 5 décembre - 18h :

L'ours dans l'imaginaire. Quelles perceptions et relations à l'Homme ?

Échanges animés par *D. Fiévet*, journaliste.

Avec *D. Armand*, préhistorienne et archéozoologue, Bordeaux 1. *S. Bobbé*, anthropologue, Centre Edgar Morin. *J.-J. Camarra*, coordinateur du réseau "Ours brun", Office National des Forêts. *D. Samson* Normand de Chambourg, maître de conférences en études sibériennes, INALCO.

UN CHERCHEUR / UN LIVRE

Lundi 12 décembre - 18h : Les histoires vraies du Jardin des Plantes

Avec *F. Bernard*, auteur, *J. Faulques*, illustratrice, *M.C. Bomsel*, vétérinaire, Muséum

FILMS

Cycle Expéditions : l'usage du monde (dès 10 ans)

Samedi 17 décembre - 15h : Les Hommes

Ce film propose une expérience étonnante au spectateur : se caler dans le regard d'une île sauvage pour observer la présence des Hommes venus l'étudier.

Réalisation : *A. Michel*, France, 2006, 95 min.

Auditorium de la Grande Galerie de l'Évolution — 36 rue Geoffroy St-Hilaire, Paris 5^e