

THÈSE

présentée par

François CHAMARAUX

pour obtenir le titre de

DOCTEUR de l'UNIVERSITÉ JOSEPH FOURIER-GRENOBLE I

Discipline : Physique

Motilité cellulaire : quelques aspects expérimentaux et théoriques

Date de soutenance : 4 juillet 2005

Composition du jury :

M. Franz BRUCKERT
M. Jacques DÉROUARD
M. Bertrand FOURCADE, Directeur de thèse
M. Frank JÜLICHER, Rapporteur
M. Albrecht OTT, Rapporteur
M. Frédéric PINCET

Table des matières

Préambule	5
1 Introduction générale	9
1.1 Acteurs principaux	9
1.1.1 La cellule motile	9
1.1.2 Le cytosquelette	10
1.1.3 La membrane	11
1.1.4 A l'extérieur : matrice extracellulaire	12
1.2 Moyens d'investigation biologiques	12
1.2.1 Utilisation de mutants - relocalisation de protéines	14
1.2.2 Micropipettes	14
1.2.3 Chambre à flux	15
1.2.4 RICM	15
1.3 Outils d'analyse	16
1.3.1 Outils de la physique - ordres de grandeur	16
1.3.2 Cinétique chimique	17
1.4 Objectifs du travail de thèse	19
2 Expériences	21
2.1 Motivation : avancée ou rétraction ?	21
2.2 Matériel et méthodes	21
2.2.1 Cellules et culture	21
2.2.2 Matériel	23
2.2.3 Protocole expérimental	24
2.2.4 Analyse des données - diagramme pression-vitesse	25
2.2.5 Reproductibilité et précautions	25
2.3 Résultats	26
2.3.1 Observations générales	26
2.3.2 Rôles de diverses protéines	28
2.3.3 Bilan des résultats	32
2.4 Discussion	32
2.4.1 Force et vitesse maximales développées par la cellule	32
2.4.2 Rôles du calcium et de quelques protéines : actine, myosines, protéines d'adhésion	33
2.4.3 Estimation du nombre de moteurs moléculaires impliqués	34
2.4.4 Mécanosensitivité de la cellule	36
2.5 Conclusion	36

3	Étude théorique de l'étalement cellulaire	39
3.1	Préliminaires	39
3.1.1	Motivation	39
3.1.2	La polymérisation de l'actine	43
3.1.3	Génération de force par polymérisation d'actine	45
3.2	Présentation du modèle	49
3.2.1	Géométrie du problème	49
3.2.2	Importance de la ceinture adhésive : localisation des stress	51
3.2.3	Limitation de l'étalement	54
3.3	Solution	55
3.3.1	Origine et expression de la tension de surface	56
3.3.2	Résolution du problème géométrique - forme de la membrane	59
3.3.3	Solution analytique	65
3.3.4	Comportement aux temps «très courts»	69
3.4	Discussion	71
3.4.1	Ordres de grandeur et comparaison avec l'expérience	71
3.4.2	Rôle des myosines II	73
3.4.3	Effet du calcium	74
3.5	Succès et limites du modèle	76
3.5.1	Succès du modèle	76
3.5.2	Limites : démarrage de l'étalement	76
3.5.3	Limites : La géométrie adoptée est-elle réaliste ?	76
3.5.4	Protrusion plate, fine et directionnelle	81
4	«Bascule» biochimique et oscillations	83
4.1	Motivation	83
4.1.1	Symétrie brisée	83
4.1.2	Exclusion mutuelle et contre-réactions	84
4.1.3	Oscillations	85
4.2	Réaction auto-catalytique	86
4.3	Résultats autour des systèmes oscillants	88
4.3.1	Cycle limite	88
4.3.2	Quelques conditions nécessaires d'oscillation	88
4.3.3	Flux de matière	89
4.3.4	Flux d'énergie	90
4.4	Combien de complexes d'actine ?	91
4.4.1	Deux complexes d'actine ne suffisent pas pour l'oscillation	91
4.4.2	Cycle à trois formes d'actine : aspect énergétique, lien avec le <i>treadmilling</i>	94
4.5	Modèle d'oscillations	97
4.5.1	Équations entre les trois formes d'actine	97
4.5.2	Résolution du modèle	98
4.5.3	Discussion et lien avec les expériences	108
4.6	Oscillations et étalement : lien avec le chapitre précédent	111
4.7	Conclusion	114
	Conclusion et perspectives	114

Annexes	117
A Calcul d'équivalents pour $\theta \sim \pi : r(\theta), \sigma(\theta), s_{max}$	117
B Exemple de cycle linéaire à trois espèces chimiques	119
Bibliographie	121

Préambule

Ce travail de thèse se situe à l'interface entre biologie et physique ; il a été mené en collaboration avec des chercheurs des deux domaines. Il ne s'agit pas d'une étude de biologie, mais de physique, où nous avons utilisé les moyens de celle-ci pour la compréhension d'objets biologiques. Ces objets présentant certaines spécificités intéressantes par rapport à la matière inerte, on parle désormais de *physique des systèmes biologiques*. C'est ainsi que de nombreux domaines de la physique ont pu s'avérer pertinents pour les systèmes vivants : hydrodynamique, physique statistique, etc.

Notre sujet s'inscrit dans le cadre de l'étude de la motilité cellulaire. Il s'agit d'un sujet biophysique du plus grand intérêt pour le physicien. L'étude de la façon dont se déplace les cellules relève en effet de plusieurs domaines de la physique : mécanique, bien sûr, mais aussi thermodynamique, chimie et physique statistique. On est ainsi amené à comprendre les efforts mécaniques à l'échelle microscopique, et à décrire la génération d'énergie mécanique à partir d'énergie chimique. Enfin, beaucoup de mécanismes cellulaires sont hors-équilibre, ce qui donne un attrait supplémentaire au sujet.

Le problème est également de première importance pour la biologie. A l'échelle humaine, la motilité cellulaire intervient dans de nombreux phénomènes, comme l'embryogenèse (déformation de la masse de cellules et formation des futurs organes), la réponse immunitaire (déplacement des macrophages en cas d'infection), la construction du système nerveux, la division cellulaire (cellule-fille et cellule-mère doivent se séparer, un mouvement est donc indispensable), le fonctionnement des muscles, et la compréhension des déplacements de cellules cancéreuses (formation de métastases). A l'échelle d'organismes unicellulaires, le mouvement est également indispensable, par exemple pour la recherche de nourriture et la division cellulaire. Dans tous ces exemples, les cellules migrent sur des distances de l'ordre du centimètre ou même du mètre, distance considérable par rapport à la taille de la cellule - de l'ordre du centième de millimètre. Les vitesses atteintes vont de 10 nm.s^{-1} à $10 \text{ }\mu\text{m.s}^{-1}$, c'est-à-dire jusqu'à la propre taille de la cellule couverte en quelques secondes.

Notre travail s'intéresse à la motilité d'un organisme unicellulaire particulier, *Dictyostelium discoideum*. Cette amibe possède un génome connu et se déplace très rapidement¹. De plus, sa culture est relativement aisée. Il s'agit donc d'un être vivant bien maîtrisé sur le plan génétique, et dont on pourra aborder le mouvement sur le plan physique. *Dictyostelium* est donc bien adaptée à une véritable collaboration entre biologistes et physiciens sur le sujet de la motilité cellulaire.

Notre travail comprend une partie expérimentale et une partie théorique. Les expériences (environ quatre mois) se sont déroulées à Paris en collaboration avec F. Pincet (laboratoire de Physique Statistique de l'ENS), la théorie a été développée à Grenoble (SPrAM, DRFMC/CEA).

¹«If *Dictyostelium* amoebae are not the Ferraris of moving cells, they are at least a respectable entrant in the cell motility grand Prix» [1]

Le chapitre 1 résume rapidement les éléments de biologie nécessaires pour la compréhension de la suite de l'exposé, ainsi que les techniques expérimentales d'observations qu'il nous sera utile de connaître.

Dans le chapitre 2, on présentera la partie expérimentale de notre travail : mesures de forces de rétraction développées par *Dictyostelium* et influence de diverses protéines.

Les chapitres 3 et 4 présentent les aspects théoriques du travail de thèse : dans le chapitre 3, on détaille un modèle d'étalement cellulaire et la confrontation avec les données biologiques. Le chapitre 4 traite d'un modèle d'échanges d'actine et de mécanisme d'oscillations pouvant en découler.

Chapitre 1

Introduction générale

Le physicien qui désire s'attaquer à un sujet aussi complexe qu'un objet vivant doit nécessairement s'initier à un minimum de biologie pour comprendre les grandes directions des processus à l'œuvre dans une cellule. Il ne s'agit cependant pas non plus de se transformer en biologiste : pour parvenir à des modèles efficaces et solubles, il faut utiliser les méthodes de la physique, c'est-à-dire simplifier la réalité tout en gardant suffisamment de paramètres pertinents pour comprendre le phénomène considéré. Nous n'avons donc pas jugé nécessaire dans cette introduction de présenter exhaustivement tous les détails biologiques relatifs à la cellule. Nous préférons donner brièvement quelques notions sur les objets considérés dans ce travail de thèse, et sur les moyens à notre disposition pour les étudier - qu'il s'agisse d'instruments de mesure habituellement réservés à la biologie ou d'outils théoriques de la physique.

1.1 Acteurs principaux

Les «acteurs principaux» que nous présentons ici sont les objets sur lesquels nous sommes penchés tout au long de ce travail de thèse. Comme on l'a dit plus haut, il ne s'agit pas de dresser une liste des fonctions biologiques de ces objets. Nous nous familiariserons plutôt avec grandeurs physiques qui leur sont associées et au vocabulaire dont nous aurons besoin dans la suite.

1.1.1 La cellule motile

Une cellule est évidemment un objet d'une immense complexité, non homogène, et comprenant des milliers d'espèces chimiques différentes. Cependant, pour notre étude physique, seul un petit nombre d'aspects que nous jugeons essentiels ont été pris en compte.

A notre niveau de simplification, une cellule motile peut être décrite par la figure 1.1. Elle se présente comme un «sac» rempli de cytoplasme, d'un noyau, et de filaments du cytosquelette. L'enveloppe de ce sac est une *membrane* composée de lipides et de protéines. A l'extérieur, des protéines de la *matrice extra-cellulaire* assurent le contact entre la cellule et le milieu extérieur.

La cellule motile est *polarisée*, c'est-à-dire qu'elle présente deux côtés bien distincts du point de vue des espèces chimiques présentes. La question de la polarisation est d'une grande difficulté biochimique (voir par exemple la petite revue [2]) et nous n'entrerons pas dans ses détails. Nous retiendrons que, dans les conditions ordinaires, comme par exemple l'observation en chambre à flux [3, 4, 3], la cellule présente un avant (pseudopode, et/ou lamellipodes) et un arrière (uropode), bien

distincts du point de vue de l'organisation spatiale et chimique. Chez *Dictyostelium*, les pseudopodes sont des extensions de longueur croissant avec la vitesse, émis à une fréquence relativement fixe [3]. Les lamellipodes sont des extensions analogues, de faible épaisseur.

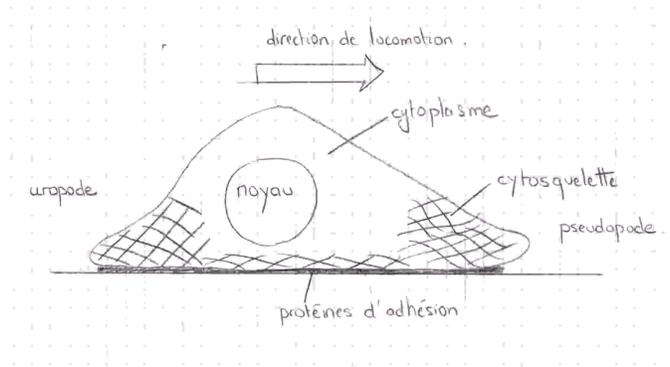


FIG. 1.1 – Schématisation d'une cellule.

Le mouvement des cellules comme *Dictyostelium* n'est pas continu (par opposition au mouvement très régulier des kératocytes [5] par exemple). On peut y distinguer trois étapes qui se répètent périodiquement. D'abord la cellule envoie une ou plusieurs protrusions vers l'avant. Ensuite l'adhésion est renforcée à l'avant, et celle de l'arrière est affaiblie. Enfin la cellule contracte son uropode. S'il est évident que la première étape est indispensable à la motilité, la troisième l'est tout autant. Une cellule incapable de ramener sa partie arrière voit son mouvement très ralenti : elle «traîne la patte» [6].

Ces étapes nécessitent une coordination précise, autant spatiale que temporelle, dans la transmission de signaux (mécaniques, chimiques) et dans la régulation de l'activité des protéines impliquées dans le phénomène. Le lecteur pourra se référer à de nombreux articles de revue sur le sujet [7, 8, 9].

1.1.2 Le cytosquelette

Le cytosquelette est un ensemble de filaments donnant sa forme et beaucoup de ses caractéristiques mécaniques à la cellule. Ces filaments, qui sont des polymères de protéines, sont de trois sortes : microtubules (polymères de tubuline), filaments d'actine, et filaments intermédiaires (figure 3.1). Sur ces filaments ainsi que sur les monomères peuvent se fixer de nombreuses protéines régulatrices (inhibant ou activant la polymérisation, par exemple), des «cross-linkers» (protéines groupant les filaments en faisceaux), ou des moteurs moléculaires (myosine II sur actine, par exemple) [10]. Dans le cas de l'actine, les recherches dans ces domaines font état de plusieurs dizaines de ces protéines (voir figure 3.1).

Le cytosquelette est absolument indispensable à la vie de la cellule. Il est par exemple impliqué dans le trafic intra-cellulaire : les vésicules destinées à sortir par exocytose ou celles rentrées par endocytose, par exemple, sont transportées le long de ces filaments. Le cytosquelette est également responsable des déformations de la cellule, et donc de ses capacités à la phagocytose : la cellule a

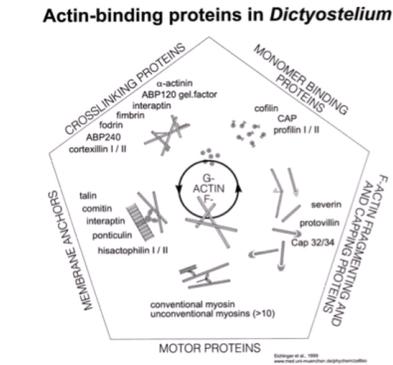
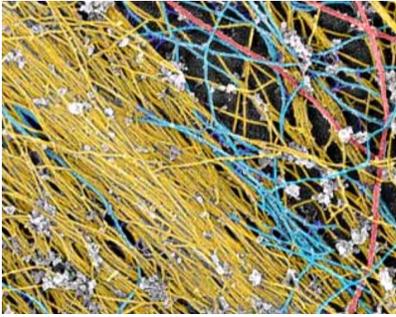


FIG. 1.2 – À gauche : Filaments du cytosquelette : actine (jaune), microtubules (rose) et filaments intermédiaires (bleu). D’après <http://www.bio.upenn.edu/faculty/svitkina>. A droite : différentes familles de protéines se liant à l’actine.

besoin de se déformer pour entourer sa proie. Sans le cytosquelette, la membrane seule ne serait pas stable et la cellule se décomposerait en petites gouttes. De plus, et c’est le point qui nous intéresse ici, de nombreuses expériences montrent que l’actine et la myosine sont spécialement impliquées dans la motilité et la division cellulaire. Par exemple, des mesures par relocalisation de protéines montrent que l’actine est préférentiellement située en bordure de la cellule, dans les pseudopodes et dans l’uropode, tandis que les myosines II se concentrent essentiellement dans l’uropode [11, 12, 13] (figure 1.5). Dans la suite, nous nous intéresserons uniquement au cytosquelette d’actine, donc le remodelage est à l’origine de nombreux aspects de la motilité cellulaire. Nous reviendrons plus loin sur le détail de ces mécanismes.

1.1.3 La membrane

La membrane plasmique constitue la limite entre l’intérieur et l’extérieur de la cellule. C’est une structure composée de lipides et de protéines. Les lipides sont organisés en bicouche, têtes polaires vers l’extérieur de la bicouche et queues hydrophobes vers l’intérieur. De nombreuses protéines transmembranaires y sont incluses. De plus, les protéines du cytosquelette sous-jacentes sont mécaniquement reliées à la membrane, ainsi que la matrice extra-cellulaire (figure 1.3). Ce sont ces protéines, ainsi que certains sucres et phospholipides, qui font la différence entre une simple membrane lipidique de vésicule et une membrane plasmique de «vraie» cellule.¹

Du point de vue de la modélisation physique, la faible épaisseur de la membrane (quelques nm) comparée à son extension latérale importante (des dizaines de $(\mu m)^2$) permettent de la considérer comme une surface sans épaisseur, présentant des propriétés mécaniques mesurables. Les mesures par micropipette et par RICM ont permis de progresser dans l’étude de ces propriétés [13, 15] : module de flexion (résistance de la membrane à la flexion), tension de surface, coefficient d’extension latérale, mesurant l’élasticité dans la direction du plan de la membrane (voir table ??).

¹Notons que la polymérisation de l’actine est justement régulée par certains phospholipides. Elle a donc lieu au voisinage immédiat de la membrane.

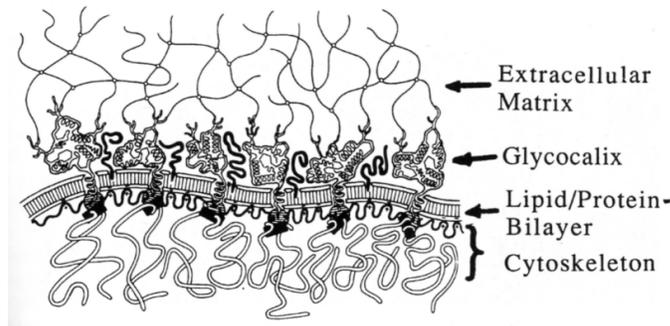


FIG. 1.3 – Schéma de la membrane plasmique : une bicouche de lipides où sont insérées des protéines. D'après [14].

1.1.4 A l'extérieur : matrice extracellulaire

L'interaction entre la membrane lipidique pure et un substrat n'est pas assez forte pour permettre une adhésion solide. La matrice extra-cellulaire permet donc à la cellule d'interagir mécaniquement avec son extérieur, que ce soit une autre cellule ou le substrat. Il existe de nombreuses classes de protéines d'adhésion, c'est-à-dire des protéines transmembranaires dont une extrémité adhère avec le substrat (ou l'autre cellule), et l'autre extrémité est arrimée à l'intérieur de la cellule. Chez *Dictyostelium*, l'adhésion sur un substrat se fait au moyen de protéines de la famille des intégrines, protéines que nous désignerons par le terme générique «pont adhésif». Du point de vue de la physique statistique, un pont adhésif peut se caractériser par son potentiel d'interaction au voisinage d'un substrat (figure 1.4). Ce potentiel comporte au moins deux minima, correspondant à différents états d'équilibre. L'état attaché correspond au premier minimum, l'état détaché au second. Remarquons que, dans un modèle plus complexe, rien n'interdit la présence de minima intermédiaires (attraction possible lorsque le pont est à distance moyenne du substrat). Le potentiel vu par un pont adhésif attaché étant en forme de puits, les ponts adhésifs, étendus ou contractés, génèrent une force de rappel. A l'échelle individuelle, ils peuvent être modélisés par des ressorts [16] ; à plus grande échelle, nous traiterons une distribution de ponts adhésifs comme un milieu adhérent élastique.

Les propriétés de la matrice extra-cellulaire qui nous intéressent (potentiel d'adhésion, élasticité) sont testées expérimentalement par les expériences de chambre à flux et RICM (voir section 1.2). Ces techniques permettent en effet de connaître des facteurs géométriques (angle de la membrane avec le substrat [13]) ou cinétiques (taux de décollement en fonction du flux [4]) directement reliées aux propriétés physiques des ponts adhésifs.

1.2 Moyens d'investigation biologiques

Les récents développements techniques de l'instrumentation biologique ont fait faire de grands progrès à l'étude de la cellule à l'échelle submicronique. Il est aujourd'hui relativement simple de manipuler une cellule unique (technique de micropipette par exemple), de voir où se situe telle protéine par marquage fluorescent, ou de connaître la distance, à quelques dizaines de *nm* près, entre une membrane et un substrat transparent. Cette accumulation de faits expérimentaux à une

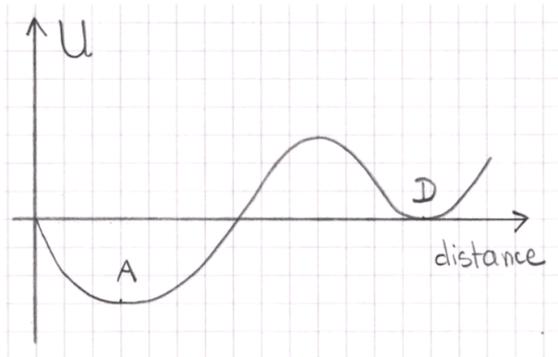


FIG. 1.4 – Allure du potentiel d'adhésion entre la membrane et le substrat, en fonction de la distance membrane-substrat. A et D sont les états attachés et détachés, respectivement.

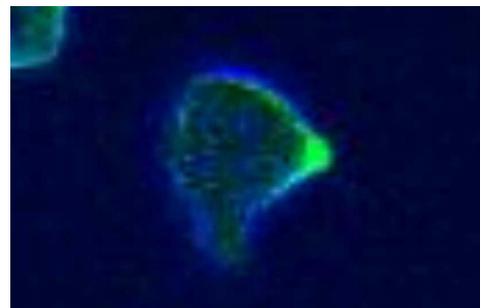


FIG. 1.5 – Expérience de relocalisation de protéines. Sur les deux images, la cellule se déplace *vers la gauche*. A gauche, la fluorescence dénote la présence d'actine fraîchement polymérisée, concentrée à l'avant (gauche) de la cellule. A droite, l'intensité de la fluorescence est proportionnelle au nombre de myosines, qui sont au contraire concentrées à l'arrière (à droite) de la cellule.

nouvelle échelle entre celles de la molécule et de la cellule (de l'ordre de 100 nm) est une importante source de motivation pour la biophysique.

Nous présentons ici les principales techniques utiles pour la compréhension du travail de thèse : soit que ces techniques ont été effectivement utilisées pour la partie expérimentale du travail de thèse (chapitre 2), soit qu'elles sont importantes pour l'établissement de faits expérimentaux qui ont inspiré la partie théorique.

1.2.1 Utilisation de mutants - relocalisation de protéines

Lorsqu'un organisme a un génome entièrement connu, comme c'est le cas pour *Dictyostelium discoideum*, le génie génétique permet en principe de produire des mutants pour lesquels une ou plusieurs protéines ont été sous- ou sur-exprimées. En pratique, les mutants ayant une protéine sous-exprimée ne contiennent plus la protéine visée. Cette technique, universellement utilisée en biologie cellulaire, est extrêmement intéressante lorsque l'on veut connaître l'influence de telle ou telle protéine sur la motilité (ou l'adhérence, ou l'étalement) de *Dictyostelium*. Nous testerons ainsi les capacités de cellules sans myosines, sans protéine d'adhésion, etc..

L'utilisation de mutants dont une protéine est rendue fluorescente grâce à la GFP (Green Fluorescent Protein) permet en outre de connaître sa localisation à l'intérieur de la cellule avec une précision d'une fraction de μm . Cette mesure est quantitative puisque l'intensité mesurée est proportionnelle à la concentration locale de protéines. C'est grâce aux mutants GFP que l'on peut observer, par exemple, que les myosines se concentrent à l'arrière de la cellule (figure 1.5).

1.2.2 Micropipettes

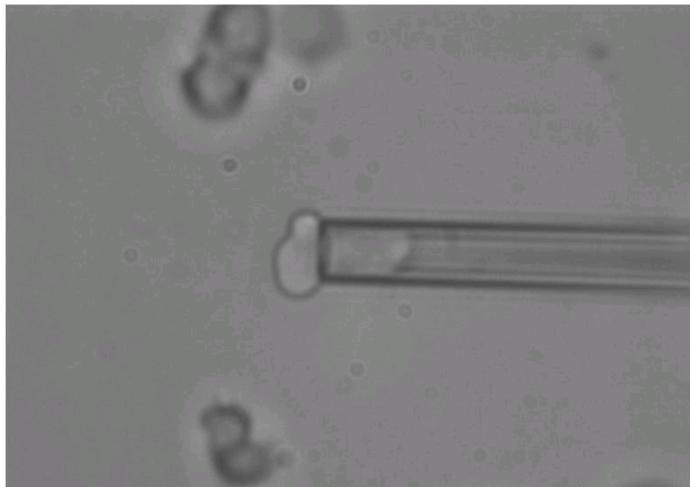


FIG. 1.6 – Exemple d'expérience de micropipette : la cellule est soumise à une aspiration et répond à ce stimulus en développant une force de rétraction. En mesurant la longueur de la «langue» (partie de la cellule rentrée dans la micropipette) au cours du temps, on pourra remonter à la caractéristique force-vitesse de la langue.

Les micropipettes sont des pipettes dont le diamètre intérieur est de l'ordre du μm . Des

étireuses, destinées à cet usage précis, permettent d'obtenir une bonne reproductibilité, en forme et en taille. Couplée à un système d'aspiration et de micromanipulation, une micropipette permet de saisir une cellule individuellement et de la soumettre à une force d'aspiration connue. La cellule est ensuite observée par microscopie optique.

Avec un système d'aspiration hydrostatique (réservoir de hauteur variable), la précision sur la force d'aspiration sera simplement reliée à la précision sur la hauteur du réservoir. On peut ainsi atteindre, en principe, de l'ordre de $1 Pa$ soit quelques pN ([15] est une revue complète sur le sujet).

Cette technique expérimentale a été utilisée avec succès [15] pour des mesures de grandeurs mécaniques comme la tension de surface de l'enveloppe de la cellule (membrane + cytosquelette d'actine), ou la viscosité effective de l'intérieur de cellules. Les paramètres de contrôle sont alors la pression d'aspiration, le diamètre de la micropipette et le type de cellule étudié. La géométrie fixe de la micropipette nous permet de mesurer des paramètres intéressants comme le rayon de la partie extérieure et la longueur de la langue intérieure (voir figure 1.6). C'est cette dernière mesure qui sera la base des expériences du chapitre 2.

1.2.3 Chambre à flux

La chambre à flux est un dispositif relativement simple (figure 1.7, à gauche) permettant d'explorer les comportements motiles de cellules adhérentes comme *Dictyostelium*. Le grand nombre de cellules observées en même temps permet un traitement statistique des données (figure à droite 1.7). Le principe est de soumettre des cellules en adhésion sur un substrat à un flux de liquide et observer son comportement par microscopie. L'observation se fait dans une petite chambre composée d'un support en plexiglass dans lequel est insérée une lame de verre, et d'un couvercle visé par-dessus. Des trous à chaque extrémité du couvercle permettent l'arrivée et l'évacuation du fluide. Le débit est simplement contrôlé par la différence de hauteur du fluide entre deux réservoirs. Le flux produit sur les cellules un stress de cisaillement que l'on peut évaluer à partir du débit et de la viscosité du liquide [4, 17]. Les cellules réagissent à ce stress en se déplaçant selon une direction qui n'est pas forcément celle du flux. Cette technique fournit des informations sur la vitesse des cellules et leur direction par rapport à celle du flux [3]. Différents paramètres peuvent être variés : débit (et donc cisaillement), nature du fluide, sur- ou sous-expression de protéines dans la cellule en utilisant des mutants.

Enfin, pour des flux suffisamment forts, on assiste au décollement de cellules. La chambre à flux permet donc également de remonter à des paramètres microscopiques d'adhésion [4, 17].

1.2.4 RICM

La technique de RICM (microscopie par réflexion à contraste interférentiel) permet d'avoir accès à l'observation de la surface de contact cellule-substrat avec une précision de l'ordre de la centaine de nm . On éclaire par-dessous l'échantillon posé sur le substrat transparent. Le principe de la mesure est de comparer la différence de marche entre des rayons réfléchis par la surface du substrat et ceux réfléchis par le bord de l'objet (membrane cellulaire). Lorsque la différence de marche est un multiple de la longueur d'onde λ , l'interférence est constructive. La surface de contact avec le substrat apparaît alors en noir ; en s'éloignant, la membrane apparaîtra alternativement claire, puis sombre, etc.. On a ainsi une précision de l'ordre d'une fraction de la longueur d'onde (560 nm) sur la distance substrat-membrane, ce qui permet de définir efficacement la surface d'adhésion d'une

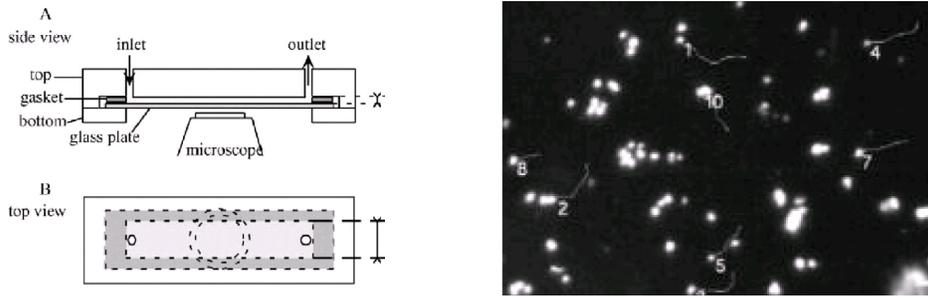


FIG. 1.7 – A gauche : le dispositif expérimental de chambre à flux. A droite : Une expérience de chambre à flux. La flèche donne le sens du flux. Les trajectoires sont étudiées une par une, puis un traitement statistique peut être effectué. D’après [17].

cellule [3] ou encore l’angle de la membrane avec le substrat [13]. Ce sont les mesures par RICM qui nous fourniront les courbes d’étalement cellulaire du chapitre 3.

1.3 Outils d’analyse

1.3.1 Outils de la physique - ordres de grandeur

Hormis la cellule elle-même, les plus grand objets que nous décrivons (membrane, cytosquelette, lamellipodes ...) ont une taille de l’ordre de la centaine de nanomètres. A titre de comparaison, une cellule comme *Dictyostelium* mesure $10 \mu m$, une protéine comme l’actine-G, $2.7 nm$. Nous sommes donc à une échelle intermédiaire entre microscopique et macroscopique, entre molécule et cellule. Cette échelle étant, comme on l’a vu plus haut, désormais accessible aux moyens d’investigation biologiques, les considérations théoriques peuvent être appuyées par différents types d’expériences telles que celles présentées en 1.2.

Le fait de travailler à une échelle supérieure à l’échelle moléculaire nous permet en particulier d’utiliser la mécanique des milieux continus : une couche de polymères de quelques centaines de nm d’épaisseur, par exemple, correspond à quelques dizaines de filaments, ce qui autorise une description en termes d’hydrodynamique, ou d’élasticité, selon les cas. Par exemple, [18] traite le gel d’actine croissant sur la bactérie *Listeria* comme un milieu élastique dont les auteurs mesurent le module d’Young.

Les plus petits objets que nous étudierons (molécules, petits assemblages moléculaires) ont une taille typique de quelques nanomètres, pour lesquels les énergies mises en jeu sont souvent de l’ordre de $k_B T$. Par exemple, l’énergie libérée par l’hydrolyse de l’ATP vaut environ $20 k_B T$, l’énergie de liaison d’un monomère d’actine à un filament vaut $14 k_B T$ [19]. Autrement dit, à cette échelle, les objets biologiques sont *sensibles au bruit thermique* et beaucoup de phénomènes seront thermo-activés. C’est la physique statistique qui sera donc pertinente à ce niveau-là, par exemple pour décrire la probabilité de détachement de deux molécules connaissant leur énergie de liaison.

L’échelle typique d’énergie des phénomènes considérés étant de l’ordre de $k_B T$, on est amené à utiliser comme unité commode d’énergie le $pN.nm$ ($10^{-21} J$). Cette unité est bien adaptée aux situations biologiques puisque $k_B T$ y vaut environ 4. L’unité de distance commode pour les phénomènes moléculaires étant le nm , on s’attend à ce que les forces générées par une ou quelques molécules

soient de l'ordre du pN . C'est par exemple, le cas de la force développée par un moteur moléculaire actine-myosine [20, 21]. Dans ce système d'unités, les tensions de surface et les énergies surfaciques s'expriment en $pN.nm^{-1}$ ($mN.m^{-1}$ ou $mJ.m^{-2}$); les pressions et modules d'élasticité sont en $pN.nm^{-2}$ (MPa). Le tableau 1.1 résume les ordres de grandeur de quelques données biologiques relatives aux objets qui nous intéressent, dans le système d'unité « pN, nm, s ».

Paramètres	Ordre de grandeur
Taille d'une protéine (monomère d'actine)	2.7 nm [22]
Tension de membrane (valeur typique)	0.03 $pN.nm^{-1}$ [23]
Coefficient d'extension de membrane lipidique pure	1000 $pN.nm^{-1}$ [24]
Vitesse typique d'événements cellulaires (rétraction, étalement)	10 – 100 $nm.s^{-1}$ [3]
Force développée par un moteur moléculaire actine-myosine	0.15 – 5 pN [20, 21]
Énergie libérée par l'hydrolyse de l'ATP	80 $pN.nm$
Module d'élasticité de l'actine	$10^{-3} - 10^{-2} pN.nm^{-2}$ [18], [19]
Module de flexion d'une membrane + cytosquelette	1000 $pN.nm$ [13]
Module de flexion d'une membrane lipidique pure	100 $pN.nm$ [13]
Énergie d'adhésion de cellule sur une surface	0.02 $pN.nm^{-1}$ [13]
Énergie de contact entre membrane et cellule	1 $pN.nm^{-1}$ [13]

TAB. 1.1 – Quelques grandeurs utiles dans les unités « pN, m, s ».

1.3.2 Cinétique chimique

Un grand nombre de réactions chimiques du vivant sont sous contrôle cinétique et non thermodynamique. Ainsi, des réactions thermodynamiquement favorisées peuvent être bloquées ou débloquentes selon les conditions biochimiques. Ceci vaut en particulier pour les réactions catalysées par une ou plusieurs enzymes, protéines accélérant la cinétique d'une réaction thermodynamiquement possible, mais bloquée par une barrière de potentiel importante. Nous nous servons tout au long de ce travail de la cinétique chimique, dont nous rappelons ici les principales données utiles.

Équilibre chimique

Lorsque R et P sont des espèces en solution, une réaction $R \rightleftharpoons P$ est caractérisée par une constante de réaction thermodynamique K , et deux constantes cinétiques k_{on} (sens $R \rightarrow P$) et k_{off} (sens $P \rightarrow R$) avec $K = k_{on}/k_{off}$. L'énergie libre molaire $\Delta_r G$ libérée par la réaction s'exprime en fonction de K selon :

$$\Delta_r G = RT \ln K \quad (1.1)$$

R étant la constante des gaz parfaits $k_B \mathcal{N}$.

En notant $[E]$ la concentration de l'espèce E, on a

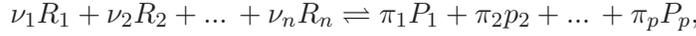
$$\frac{d[P]}{dt} = -\frac{d[R]}{dt} = k_{on}[R] - k_{off}[P] \quad (1.2)$$

Dans ce cas k_{on} et k_{off} sont exprimés en s^{-1} . Les ordres de grandeur pour les constantes de réaction rencontrées dans notre problème (échange entre différentes formes d'actine par exemple) sont de quelques s^{-1} [22].

A l'équilibre thermodynamique, $d[P]/dt$ s'annule, les deux flux $k_{on}[R]$ et $k_{off}[P]$ se compensent et :

$$\frac{[P]_{eq}}{[R]_{eq}} = K \quad (1.3)$$

De façon plus générale, pour un réaction



l'équation 1.2 est généralisée en :

$$\frac{d[P_j]}{dt} = \pi_j (k_{on}[R_1]^{\nu_1}[R_2]^{\nu_2}\dots[R_n]^{\nu_n} - k_{off}[P_1]^{\pi_1}[P_2]^{\pi_2}\dots[P_p]^{\pi_p}) \quad (1.4)$$

et l'équation 1.3 est généralisée en :

$$\frac{[P_1]^{\pi_1}[P_2]^{\pi_2}\dots[P_p]^{\pi_p}}{[R_1]^{\nu_1}[R_2]^{\nu_2}\dots[R_n]^{\nu_n}} = K \text{ (loi dite «d'action de masse»)} \quad (1.5)$$

Ainsi peuvent apparaître des relations non-linéaires si un coefficient ν_i ou π_j est différent de 1, un point important sur lequel nous reviendrons dans le chapitre 4.

D'autre part, nous serons amenés, aux chapitres 3 et 4, à nous intéresser au type de réaction suivant (polymérisation de l'actine) :



où $P(n)$ est un polymère contenant n monomères, et M le monomère en solution.

Si l'on s'intéresse à la longueur n d'un filament, on aura

$$\frac{dn}{dt} = k_{on}[M] - k_{off} \quad (1.7)$$

Notons que dans ce cas, les deux constantes cinétiques n'ont pas la même dimension : k_{off} est en s^{-1} mais k_{on} est en $L.s^{-1}.mol^{-1}$.

Lorsque l'équilibre est atteint, n ne varie plus, et

$$k_{on}[M]_{eq} = k_{off} \quad (1.8)$$

La constante thermodynamique de réaction K s'exprime en fonction de la concentration à l'équilibre :

$$K = \frac{1}{[M]_{eq}} \quad (1.9)$$

K est exprimée en $L.mol^{-1}$.

La concentration d'équilibre $[M]_{eq}$ est appelée *concentration critique* C_c , ou affinité. Elle correspond à la concentration de soluté donnant l'équilibre de la réaction 1.6. Au-delà, la réaction est favorisée vers la droite ; en-deçà, elle est favorisée vers la gauche.

La concentration critique pour la polymérisation de l'actine est de l'ordre du $\mu mol.L^{-1}$. La notion d'affinité s'élargit à toutes les réactions du type «substrat + molécule \rightleftharpoons produit» rencontrées en biologie. Elles sont de l'ordre d'une fraction de $\mu mol.L^{-1}$ jusqu'au $mmol.L^{-1}$.

Cas de la réaction «totale»

Une réaction $R \rightarrow P$ est dite totale quand tout R a entièrement disparu au profit de P . Aucune réaction n'est à proprement parler totale puisqu'il faudrait $k_{off} = 0$, donc K et $\Delta_r G$ infini (d'après les équations 1.3 et 1.1). Une réaction totale, *du point de vue de la thermodynamique*, est donc une singularité. Cependant, *du point de vue de la cinétique*, on pourra négliger $k_{off}[P]$ dans 1.2 si K est suffisamment grand. Si besoin est, selon le degré d'approximation désiré, on considèrera comme totale une réaction si $\Delta_r G$ est de l'ordre d'au moins quelques RT ($k_B T$ par molécule).

1.4 Objectifs du travail de thèse

Dans ce travail, on se propose d'étudier expérimentalement et théoriquement quelques aspects de la motilité cellulaire.

Nous verrons dans un premier chapitre la partie expérimentale qui consiste en des mesures de forces et vitesses de rétraction chez *Dictyostelium discoideum*. Au moyen d'une micropipette, nous avons mesuré ces grandeurs en faisant varier certains paramètres : pression d'aspiration, type cellulaire, état du cytosquelette, concentration en calcium extra-cellulaire.

Le deuxième chapitre présente le modèle d'étalement cellulaire construit autour de la polymérisation d'actine, en contact avec les données expérimentales, principalement celles de S. Fache et F. Bruckert (CEA Grenoble). Dans ce modèle, nous supposons que la polymérisation de l'actine constitue la force guidant l'étalement. La mécano-sensitivité de la cellule (sensibilité aux stress mécaniques) constituera un élément-clef du modèle, fournissant en particulier le «frein» nécessaire à l'arrêt de l'étalement. L'autre élément-clef sera la géométrie, c'est-à-dire la forme du profil cellulaire, calculé à partir des équations de la mécanique.

Au troisième chapitre, nous nous intéresserons à des modèles biochimiques possibles en relation avec le cycle de polymérisation et dépolymérisation de l'actine. Notre but ne sera pas de répondre à la question de savoir comment fonctionne dans le détail la machinerie de la polymérisation et dépolymérisation. En revanche, nous nous sommes attachés à simplifier autant que possible la situation biochimique en cherchant à obtenir un modèle minimal rendant compte d'un certains nombres de phénomènes : seuil, oscillations.

Chapitre 2

Expériences

2.1 Motivation : avancée ou rétraction ?

Nous avons présenté au chapitre 1 le principe des expériences utilisant les micropipettes. Depuis Evans [25], elles ont été utilisées avec succès dans l'étude de propriétés mécaniques de vésicules ou de cellules [15]. Le diamètre intérieur de la micropipette ainsi que la pression d'aspiration étant faciles à déterminer, cette technique permet de mesurer quantitativement des forces entre le pN et la centaine de nN . Les expériences de micropipettes, déjà utilisées par [26], quoique avec un protocole expérimental légèrement différent, nous ont semblé bien adaptées à la mesure de forces développées à l'échelle cellulaire.

Initialement, notre but était d'aborder l'étude de la motilité cellulaire en créant une langue au moyen de la micropipette, langue qui se comporterait comme un «pseudopode artificiel». Nous aurions eu ainsi dans la micropipette l'«avant» de la cellule, et ainsi nous aurions pu étudié *l'avancée* d'un pseudopode en géométrie confinée.

En réalité, la cellule s'est le plus souvent polarisée dans l'autre sens : le lobe aspiré dans la micropipette s'est trouvé être le siège de phénomènes de rétraction, comme à l'arrière de la cellule (uropode) et nous avons ainsi étudié non l'avancée, mais la *rétraction* de *Dictyostelium discoideum*. Cette situation *a priori* inattendue s'est révélée être intéressante : la rétraction de l'uropode est une des étapes indispensables pour le mouvement des cellules (voir chapitre 1). A ce titre, nos résultats entrent également dans le cadre de la motilité cellulaire. Nous présentons donc ici le détail du protocole et les résultats de ces expériences de rétraction.

2.2 Matériel et méthodes

2.2.1 Cellules et culture

Dictyostelium discoideum

Les cellules utilisées dans toutes les expériences sont des amibes *Dictyostelium discoideum*. A l'état naturel, cette espèce vit dans l'humus des forêts de feuillus d'Amérique du Nord et se nourrissent par phagocytose de micro-organismes. Le cycle de vie de *Dictyostelium discoideum* présente deux phases différentes : lorsque la nourriture est suffisamment abondante a lieu la phase dite *végétative*, où les cellules se divisent indépendamment les unes des autres et la population augmente de façon exponentielle. Quand la nourriture vient à manquer, a lieu la phase de *sporulation*,

Produit	Concentration massique (en g/l)
Peptone	14,30
Extrait de levure	7,15
Maltose	18,00
Na ₂ HPO ₄ , 12 H ₂ O	1,28
KH ₂ PO ₄	0,48
Dihydrostreptomycine sulfate	0,25

TAB. 2.1 – Composition du HL5, milieu nutritif pour la culture de *Dictyostelium discoideum*.

où les cellules se regroupent en un «organisme» et se différencient en cellules-tiges ou cellule-spores.

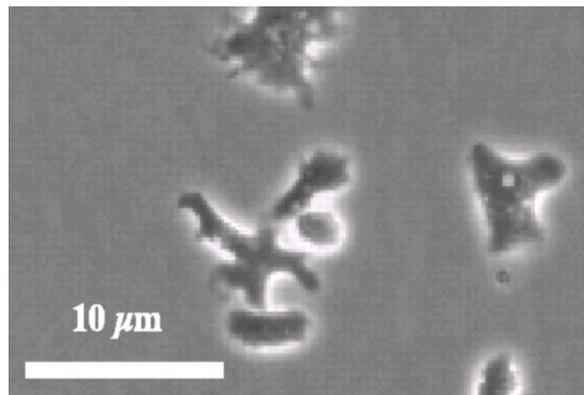


FIG. 2.1 – L'amibe *Dictyostelium discoideum* en adhésion sur un substrat solide. D'après [4]

Facile à cultiver, présentant de nombreux aspects intéressants pour le biologiste (phagocytose, division, motilité, apoptose), *Dictyostelium discoideum* est un organisme modèle bien connu et très utilisé en biologie cellulaire. Nous utilisons des types cellulaires se nourrissant par endocytose de liquide (pinocytose). Elles sont donc cultivées dans des boîtes remplies d'un milieu de culture liquide (HL5) conditionné en bouteilles stérilisées. Le tableau 2.1 donne la composition de ce milieu.

Mutants et traitements

Dans le but de mettre en évidence le rôle de différentes protéines, nous avons utilisé plusieurs types cellulaires : types «sauvages» (toutes les protéines exprimées normalement) AX 2 et DH 1, mutants DH 1 sans myosine II (myo2 Δ), DH 1 sans myosine VII (myo7 Δ), et enfin DH 1 n'adhérant pas sur le verre (phag 1a Δ).

Pour empêcher la polymérisation de l'actine, nous avons traité les cellules à l'isopropyl N-(3-chlorophényl)carbamate (CIPC, concentration 20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) ou à la cytochalasine A (2 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Ces concentrations sont suffisamment faibles pour ne pas tuer trop de cellules et suffisamment fortes pour obtenir le moins possible de cellules résistantes. L'idéal est d'obtenir un maximum de cellules

arrondies (donc sans cytosquelette) et adhérentes (donc vivantes).

Culture

Dans les conditions habituelles, le temps de doublement de population est de 10 heures. La culture des cellules consiste donc essentiellement à limiter la population par élimination d'une fraction de la culture et par ajout de milieu de culture frais. Ces opérations doivent être menées sous hotte stérile pour éviter les contaminations de bactéries indésirables.

Pour les expériences, le prélèvement de *Dictyostelium* a lieu de la façon suivante : comme les cellules sont adhérentes au fond de la boîte de culture, on commence par les resuspendre, c'est-à-dire les détacher au moyen d'un flux suffisant obtenu avec une pipette. On prélève ensuite 2 mL de liquide, qui contiennent de l'ordre de 10^6 amibes, que l'on place dans une petite boîte de Pétri sous le microscope.

2.2.2 Matériel

Le matériel de micromanipulation consiste essentiellement en une micropipette et un système d'aspiration pour la micromanipulation proprement dite, ainsi qu'un microscope, une caméra et un logiciel d'acquisition.

Micropipette

La micropipette est préparée par étirement d'un capillaire d'1 mm de diamètre extérieur et 0.58 mm de diamètre intérieur. Dans la phase d'étirement, un laser chauffe localement le milieu du capillaire, qui est ensuite étiré et se sépare en deux morceaux à pointe fine. Le programme utilisé fournit des pointes d'un diamètre terminal intérieur de 4,5 à 5 μm .

La microforge permet une cassure nette de la micropipette qui a ainsi des bords bien réguliers. En raison de risques d'encrassement, on a changé la micropipette à chaque série d'expériences.

Système d'aspiration

Le système d'aspiration est constitué d'un simple réservoir rempli d'eau distillée placé sur une plate-forme à hauteur variable (commandée par un moteur électrique) relié par un tuyau à la micropipette. Le point crucial à respecter pour le bon fonctionnement de l'aspiration est d'éviter la formation de bulles empêchant la transmission des pressions, en particulier aux différentes jonctions. La lecture de la hauteur du réservoir (à 10 μm près) ou l'utilisation d'un manomètre permet de connaître la pression d'aspiration. Le zéro de pression est fait en obtenant l'immobilité d'un débris (fragment de cellule, poussière).

Micromanipulateur et acquisition

L'échantillon à manipuler (boîte de Pétri) est placé sous la lampe du microscope. Le micromanipulateur (Narishige, MO 202 D) muni d'une commande XYZ permet d'amener la pointe de la micropipette dans l'échantillon ; en jouant sur la hauteur du réservoir, on parvient à aspirer les objets présents dans la boîte de Pétri (voir figure 2.2).

Le matériel d'observation et d'acquisition consiste en un microscope (microscope inverse Leica, objectif x63 + lentille x1.6), une caméra (Princeton Instruments, modèle Micromax 5MHz) et le logiciel Winview32.

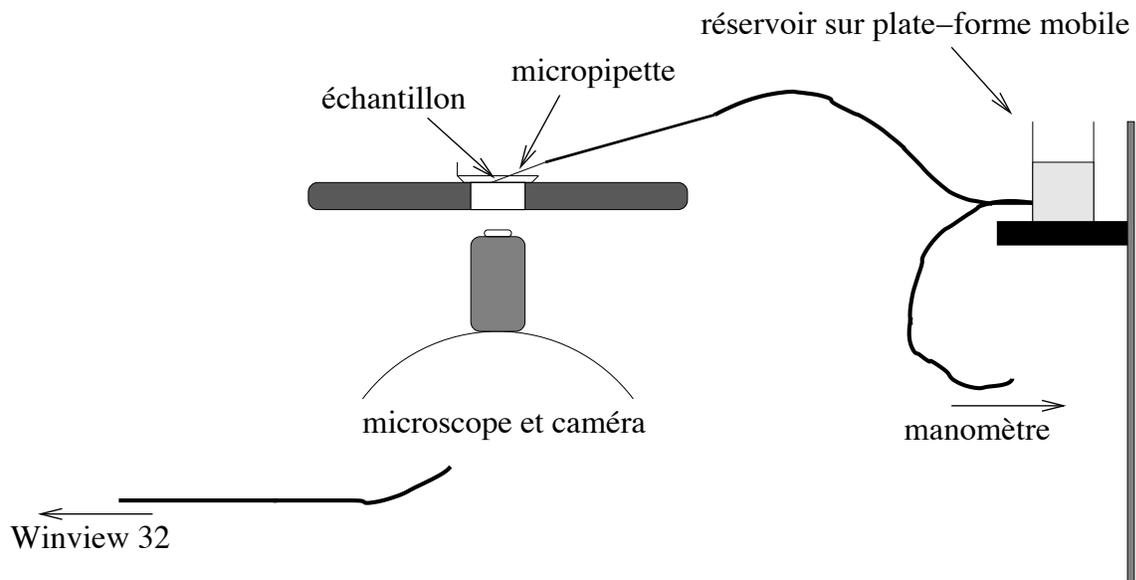


FIG. 2.2 – Schéma de la micromanipulation.

2.2.3 Protocole expérimental

La petite boîte de Pétri contenant les cellules étant ouverte sur la paroi latérale, elle permet le passage de la micropipette. On attend quelques dizaines de minutes la sédimentation des cellules au fond de la boîte. Au moyen du matériel de micromanipulation, c'est-à-dire en déplaçant la pointe de la micropipette jusqu'à une cellule et en jouant sur la hauteur du réservoir, on décolle et aspire une cellule de taille moyenne bien adhérente avec une aspiration «primaire» de -220 mm d'eau (-2200 Pa). Une langue se forme alors dans la micropipette. On surélève le tout de quelques μm afin que la cellule ne soit plus en contact avec le substrat (voir figure 2.3).

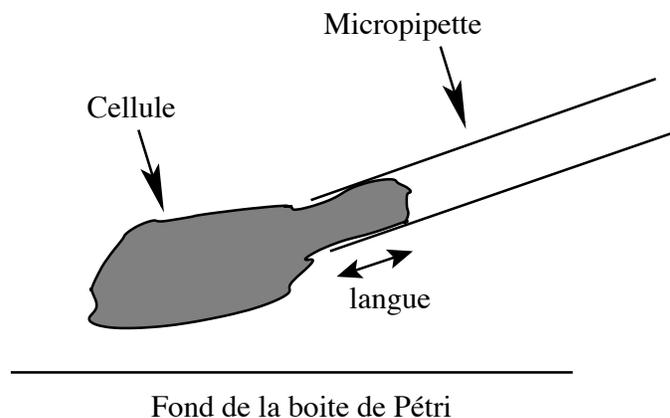


FIG. 2.3 – Schéma de la micromanipulation : détail de l'extrémité de la micropipette.

Au bout de dix secondes, on passe à une aspiration plus faible (aspiration secondaire). En maintenant constante cette aspiration, on enregistre ensuite la réaction de la cellule, à raison d'une

image toutes les 10 secondes pendant 5 minutes, ou éventuellement 10 ou 15 minutes pour les phénomènes lents. L'expérience est reproduite avec différentes cellules et différentes valeurs de la pression d'aspiration.

2.2.4 Analyse des données - diagramme pression-vitesse

Les images ont été analysées avec ImageProPlus V4 en utilisant la macro *TrackLangue*. En suivant avec le curseur l'extrémité de la langue et en entrant le facteur de conversion pixel/ μm , on obtient directement la taille de la langue en fonction du temps, avec une précision inférieure au μm . La micropipette étant presque horizontale pendant l'expérience (angle sur l'horizontale de l'ordre de $1/50$ rad), nous n'avons pas tenu compte d'une éventuelle correction de perspective pour la mesure de la langue.

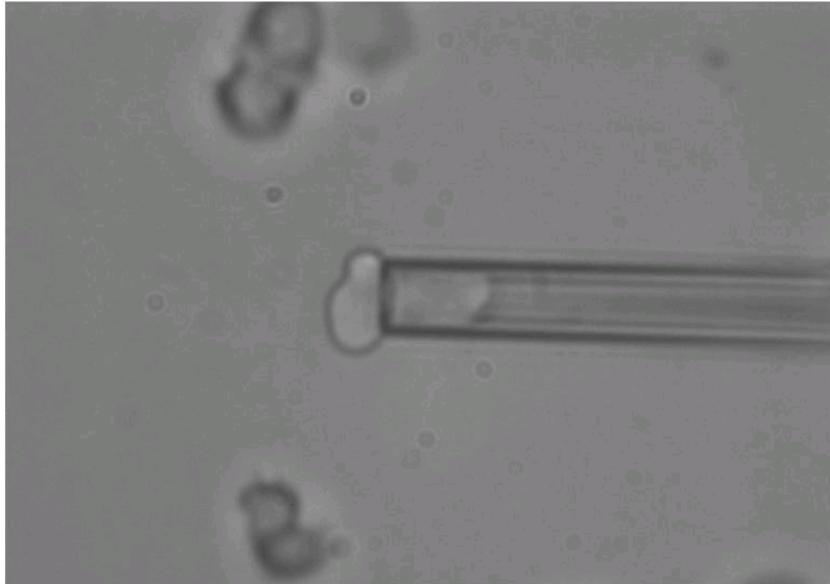


FIG. 2.4 – Le type d'image obtenue pour la mesure de la langue.

La vitesse moyenne de l'extrémité de la langue étant calculée pour chaque cellule et pour chaque valeur d'aspiration, on obtient finalement un diagramme pression-vitesse pour chaque type cellulaire.

2.2.5 Reproductibilité et précautions

Le problème de la reproductibilité est un souci constant dans l'étude de ces systèmes. Les cellules sont dispersées en taille, et nous avons tenté de choisir des cellules les plus «moyennes» possible. En effet, une cellule trop petite (à peine plus grosse que la pipette) est instantanément aspirée et ne forme donc pas de langue. De plus, après un temps d'expérience trop long, l'évaporation fait rétrécir les cellules (phénomène d'osmose) ; il faut donc veiller à utiliser des cellules «fraîches».

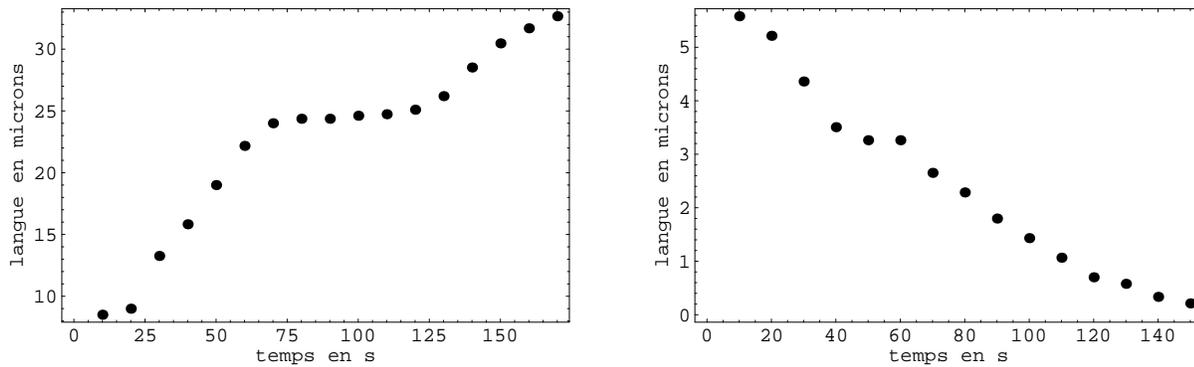


FIG. 2.5 – A gauche : Aspiration secondaire forte ($-1000 Pa$). La cellule rentre dans la micropipette. A droite : aspiration moyenne (quelques centaines de Pa). La cellule parvient à sortir.

Nous avons ainsi utilisé un même lot de cellules pendant deux heures au maximum. De même, des précautions doivent être prises avec l'éclairage, car une lumière trop forte tue rapidement *Dictyostelium*. L'éclairage de l'échantillon est donc réglé au minimum permettant l'acquisition d'images. Enfin, comme nous le verrons plus bas, nous avons mené la plupart des expériences en présence de calcium, ce qui semble donner des résultats plus réguliers. Nous espérons dans ces conditions avoir la meilleure reproductibilité possible.

2.3 Résultats

2.3.1 Observations générales

Contrairement à ce qui était attendu (formation d'un «pseudopode artificiel» et observation d'étalement), dans de très nombreux cas, les cellules aspirées cherchent à sortir de la micropipette : un comportement clairement réactif a été observé.

Les comportements typiques observés peuvent se classer comme suit :

- A aspiration forte (de l'ordre de $1200 Pa$), la cellule entre dans la micropipette à vitesse relativement régulière (voir figure 2.5¹). Les vitesses mesurées sont de l'ordre de $0.1 \mu m.s^{-1}$.
- A aspiration modérée (de l'ordre de $400 Pa$), *Dictyostelium* parvient à sortir de la micropipette à vitesse importante, également de l'ordre de $0.1 \mu m.s^{-1}$. Souvent, la sortie n'est effective qu'après une phase d'«hésitation» (figure 2.6, à gauche).
- A aspiration nulle ou très faible (moins de $20 Pa$), le comportement de *Dictyostelium* est bimodal. Certaines cellules rentrent, d'autres sortent, à des vitesses comparables en valeur absolue (figure 2.6, à droite)

Dans la suite nous nous intéresserons uniquement au comportement de rétraction, observé dans la grande majorité des cas. Nous laisserons donc de côté les quelques expériences à *aspiration nulle ou très faible* où les cellules rentrent dans la micropipette (figure 2.6, à droite), ces expériences relevant plus du phénomène d'*étalement* que du phénomène de *rétraction* que nous étudions ici. En revanche, nous prenons en considération les cas où la cellule rentre dans la micropipette *pour une aspiration importante* (figure 2.5, à gauche), supposant que dans ce cas le phénomène de rétraction a lieu, mais est insuffisant pour contrebalancer la force d'aspiration.

¹Sur ces figures, la grandeur en ordonnée est la longueur de la langue. Une courbe décroissante correspond donc à une sortie (longueur de la langue diminuant), une courbe croissante correspond à une cellule sortant de la micropipette.

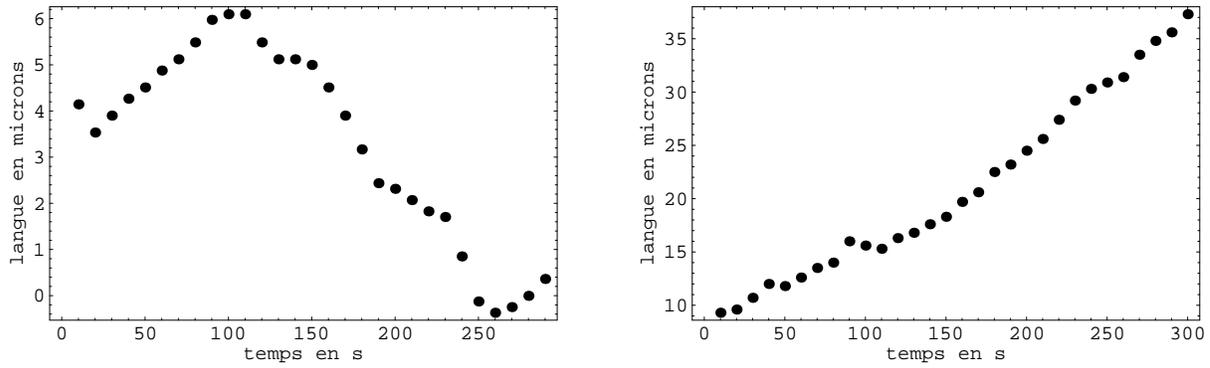


FIG. 2.6 – A gauche : la cellule peut « hésiter » avant de se rétracter. A droite : aspiration secondaire nulle. La cellule peut rentrer.

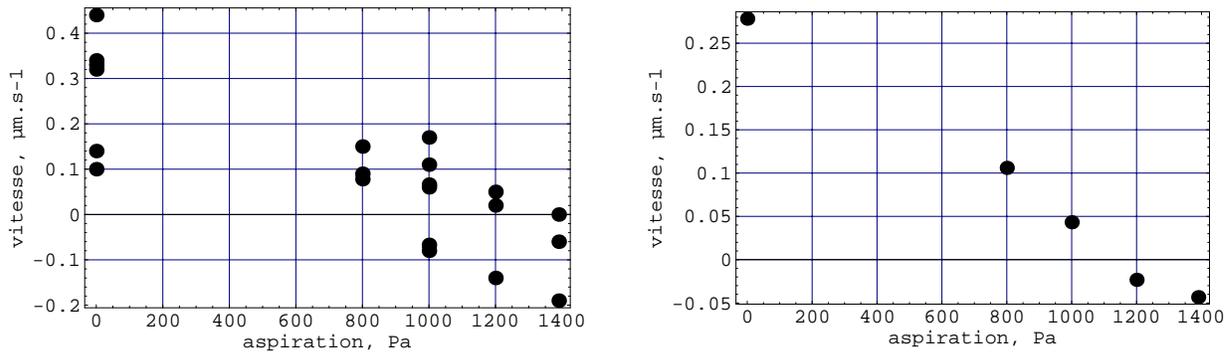


FIG. 2.7 – Vitesse de la langue en fonction de l’aspiration. Conventions de signe : une vitesse positive correspond à la sortie de la cellule (rétraction); une pression positive correspond à une aspiration. On reconnaît le comportement à aspiration moyenne et forte, où la langue sort et rentre respectivement. A gauche, les données brutes ; à droite, les points pour une même aspiration sont remplacés par leur moyenne.

Pour chaque expérience nous pouvons mesurer la vitesse moyenne de rétraction ou de rentrée. Pour une rétraction ou une entrée immédiate comme celles de la figure 2.5, la vitesse prise en considération est la pente moyenne de la courbe de mesure. Pour les cas « hésitants » (figure 2.6 à gauche), la vitesse moyenne que nous avons retenue prend en compte cette hésitation : elle vaut

$$V = \frac{\text{longueur initiale de la langue}}{\text{temps total de rétraction}}$$

En reportant chacune de ces expériences dans un diagramme pression-vitesse, nous obtenons la caractéristique pour chaque type cellulaire (figure 2.7).

On peut déduire de ces diagrammes deux données caractéristique : la pression P_s et la vitesse V_0 . P_s est la valeur particulière où la vitesse moyenne de rétraction est nulle : la cellule est « bloquée » dans la micropipette. Cette pression, multipliée par la section intérieure de la micropipette, donne la force que la cellule développe pour la rétraction. V_0 est la vitesse de rétraction quand la force d’aspiration appliquée est nulle.

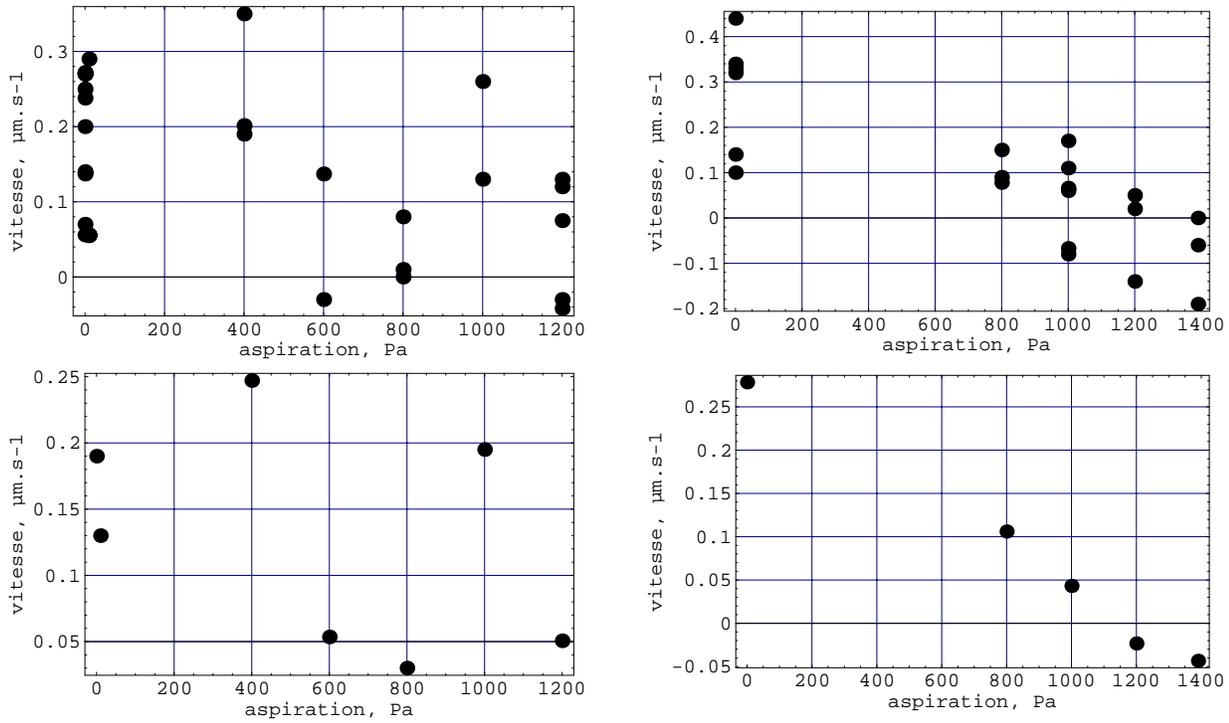


FIG. 2.8 – Diagramme pression-vitesse pour les cellules AX 2, sans calcium (à gauche), et en calcium (à droite). L'expérience en calcium donne des résultats plus réguliers. En bas, les mêmes diagrammes moyennés pour chaque aspiration.

Effet du calcium

L'ion calcium ayant un effet notable sur la motilité (multiplication par un facteur 4 de la vitesse pour les expériences de motilité sous flux [3]), il nous a paru intéressant de le tester sur notre expérience.

L'effet n'est pas certain : la pression d'arrêt P_s ne semble pas réellement modifiée (figures 2.8). En revanche, la vitesse de rétraction semble plus élevée. Des expériences menées plus tard ont confirmé ce résultat [27]. Enfin, les courbes obtenues semblent plus « propres » qu'en milieu HL5 (figure 2.8). Aussi nous avons mené toutes les expériences suivantes en milieu calcium, ceci afin d'avoir les résultats les plus réguliers possible.

Sans calcium :

$$P_s \simeq 1000 \text{ Pa}$$

$$V_0 \simeq 0.16 \mu\text{m.s}^{-1}$$

Avec calcium :

$$P_s \simeq 1000 \text{ Pa}$$

$$V_0 \simeq 0.28 \mu\text{m.s}^{-1}$$

2.3.2 Rôles de diverses protéines

Pour connaître le rôle de protéines potentiellement importantes pour la rétraction (actine, myosines, protéines d'adhésion), on utilise des mutants dans lesquels le gène codant pour des-

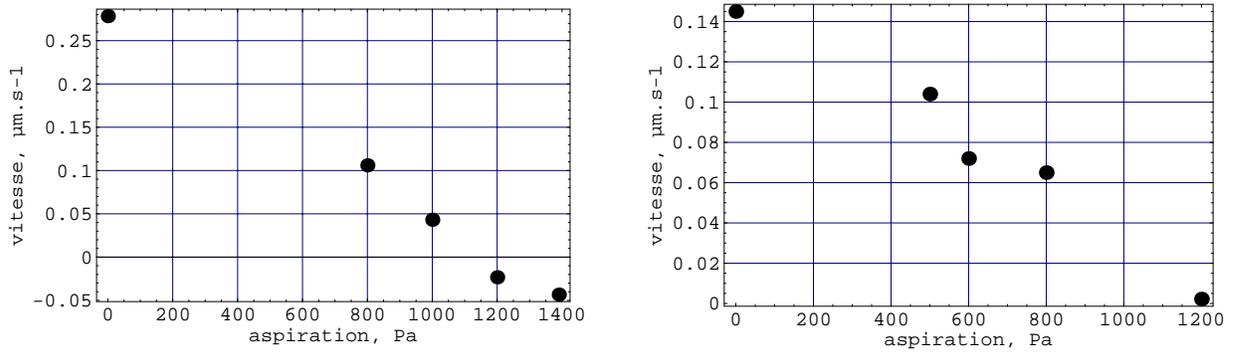


FIG. 2.9 – Diagramme pression-vitesse obtenu pour les cellules sauvages de souche AX 2 (à gauche) et DH 1 (à droite). La pression d'arrêt P_s est d'environ 1000 Pa, la vitesse maximale V_0 de $0.2 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$

protéines d'intérêt a été invalidé². Pour comprendre le rôle de l'actine *polymérisée*, nous avons employé des produits dépolymérisants sans supprimer l'actine. Nous avons testé successivement l'actine polymérisée, la myosine II, la myosine VII et les protéines d'adhésion sur le verre (phag1a).

Comme on l'a vu plus haut, l'actine est une des protéines impliquées dans la motilité. La myosine II est présente dans les muscles. En présence d'ATP, elle se lie aux filaments d'actine et peut engendrer une contraction. La myosine VII, quoique peu connue, semble jouer un rôle dans l'adhésion cellulaire et la phagocytose [28]. Comme l'adhésion est le processus permettant de transmettre la force générée par la cellule en mouvement par rapport au substrat, il nous a semblé également intéressant de tester l'adhésion cellulaire afin de voir si le mutant sans adhésion se rétracte moins bien.

Ceci nous a amenés à tester les protéines suivantes :

- actine, au moyen d'agent dépolymérisant ;
- myosine II, au moyen de mutant ;
- myosine VII, au moyen de mutant ;
- protéine d'adhésion, au moyen de mutant.

Types sauvages

Les types sauvages utilisés pour comparer avec les cellules mutantes sont été les cellules de souche AX 2 (pour la dépolymérisation du cytosquelette d'actine) et DH 1 (pour toutes les autres expériences).

La figure 2.9 montre les graphes pression-vitesse obtenus pour ces deux types cellulaires, à concentration de calcium élevé ($1 \mu\text{M}$). Pour les cellules AX2,

$$P_s \simeq 1000 \text{ Pa}$$

$$V_0 \simeq 0.28 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$$

Pour les DH1,

$$P_s \simeq 1200 \text{ Pa}$$

$$V_0 \simeq 0.14 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$$

²Ces mutants ont été fournis par P. Cosson (Genève) et G. Gerisch (Martinsried, Allemagne).

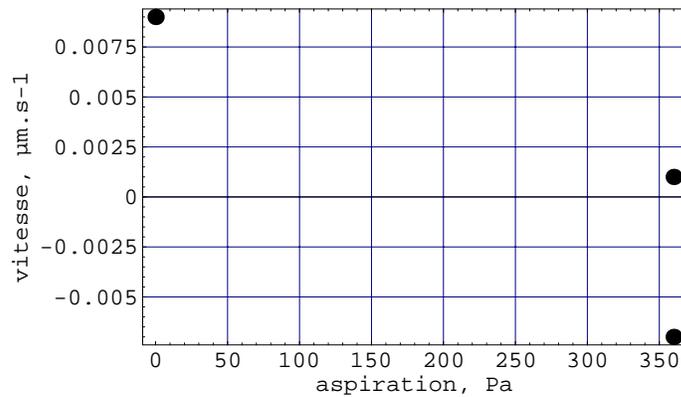


FIG. 2.10 – Diagramme pression-vitesse pour des cellules AX2 traitées au CIPC (agent dépolymérisant du cytosquelette). La cinétique est fortement ralentie par le produit (facteur au moins 20), pour la rétraction autant que pour l’aspiration.

Actine polymérisée

Deux produits dépolymérisants ont été utilisés : le CIPC et la cytochalasine A. Le CIPC dépolymérise l’actine et les microtubules, la cytochalasine empêche l’actine de polymériser. Ces deux produits ont donné des résultats analogues. Les cellules traitées ont une forme sphérique, due à l’absence de structure solide interne. Plus étonnante est l’augmentation de leur «rigidité» : après traitement, *Dictyostelium* rentre beaucoup plus difficilement dans la micropipette (à tel point que, pour former la langue, une aspiration non calibrée plus forte que 2200 Pa a dû être utilisée.). En fait, les cellules traitées au CIPC et à la cytochalasine ont une dynamique beaucoup plus lente que les cellules normales, autant pour la sortie que pour la rentrée de la langue (voir figures 2.3.2).

$$P_s \simeq 200(?) Pa$$

$$V_0 \simeq 0.007 \mu m.s^{-1}$$

Myosine II

L’effet de la myosine II est également clair. Les cellules auxquelles manquent cette protéine sont beaucoup plus «molles» à la manipulation, rentrant très facilement dans la micropipette. Leur réponse à l’aspiration est beaucoup moins vigoureuse : quantitativement, ceci se traduit par la diminution de la pression d’arrêt P_s qui est divisée par 3 à 4. La vitesse de rétraction est également affaiblie (figure 2.11).

Pour les cellules myoIIΔ :

$$P_s \simeq 250 Pa$$

$$V_0 \simeq 0.11 \mu m.s^{-1}$$

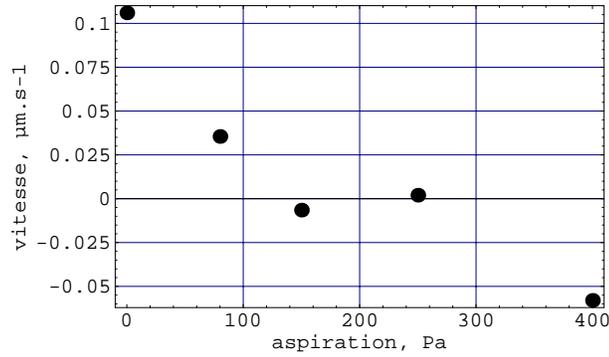


FIG. 2.11 – Graphe pression-vitesse pour les cellules à myosines II sous-exprimées. La pression P_s est abaissée de 1000 Pa à environ 250 Pa ; la vitesse V_0 est également diminuée, de 0.28 à $0.11\ \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$.

Myosine VII

Pour les mutants auxquels manque la myosine VII, aucun effet n'a été mesuré. Les cellules semblent indiscernables des types sauvages DH1. La rétraction s'effectue dans des conditions habituelles, et aucun comportement notable n'a été remarqué :

$$P_s \simeq 1000\text{ Pa}$$

$$V_0 \simeq 0.15\ \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$$

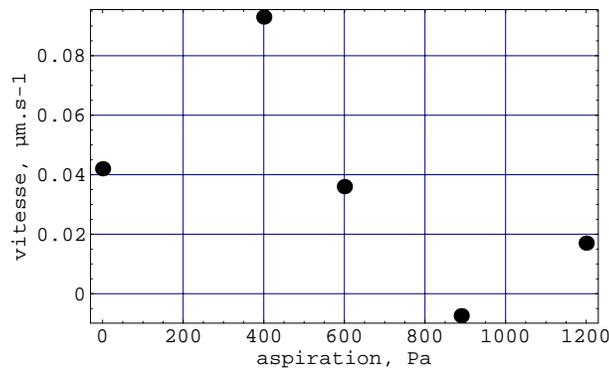


FIG. 2.12 – Graphe pression-vitesse pour les cellules à myosines VII sous-exprimées. Aucun effet sur la rétraction n'a été mesuré : la pression d'arrêt P_s ainsi que la vitesse V_0 ne semblent pas modifiées.

Cellules ayant un défaut d'adhérence

Les cellules *phag1aΔ* ont un défaut d'adhérence dans les conditions de l'expérience (milieu HL5). Leur défaut est facile à vérifier : les cellules se déposent au fond mais n'adhèrent pas, pas plus qu'elles n'adhèrent à la micropipette pendant l'expérience. Comme pour *myo7-*, le résultat est négatif : ces cellules se rétractent aussi bien que le type sauvage correspondant (DH1). Ce résultat est *a priori* étonnant : on peut se demander comment ces cellules tiennent dans la micropipette

sans se faire avaler immédiatement. En fait, elles tiennent non pas adhérence mais par leur rigidité qui leur procure une forme en bouchon : de même qu'un bouchon de cristal sur une carafe ne rentre pas dans la carafe.

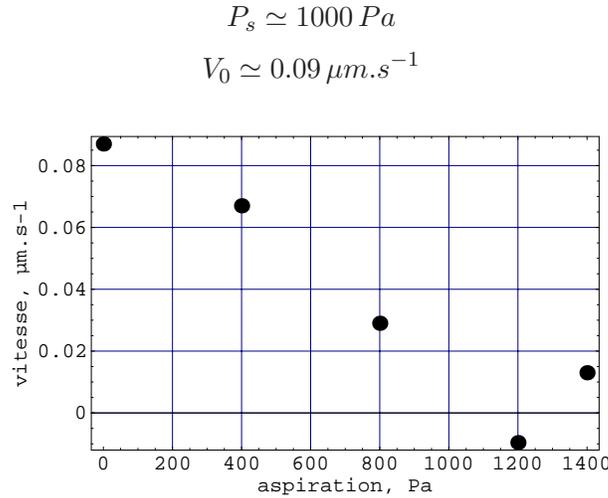


FIG. 2.13 – Graphe pression-vitesse pour les cellules non adhérentes. La pression d'arrêt P_s est toujours de l'ordre de $1000 Pa$.

2.3.3 Bilan des résultats

Le tableau 2.2 résume les résultats obtenus :

Type cellulaire	$[Ca^{2+}]$, μM	Pression d'arrêt P_s , Pa	Vitesse max V_0 , $\mu m.s^{-1}$
AX 2 (en HL5)	5	1000	0.16
DH 1	1000	1200	0.14
AX 2	1000	1000	0.28
AX2 Traitées CIPC	5	≤ 200 (?)	0.002
Myo II Δ	1000	250	0.2
Myo VII Δ	1000	1000	0.15
phag 1a Δ	1000	1000	0.09

TAB. 2.2 – Tableau récapitulatif des résultats

2.4 Discussion

2.4.1 Force et vitesse maximales développées par la cellule

Nous avons montré que, face à une force d'aspiration extérieure, *Dictyostelium discoideum* développe une réaction active en parvenant, si la force n'est pas trop importante, à s'extraire de la micropipette. Quantitativement, les manipulations suggèrent que, dans les conditions présentes,

cette réponse active est capable de générer une force compensant une aspiration d'environ $1000 Pa$, soit, compte tenu des dimensions de la pipette,

$$F = \pi r^2 \Delta P \simeq 17 \pm 2nN \quad (2.1)$$

Les vitesses maximales mesurées sont de l'ordre de quelques centaines de $nm.s^{-1}$. Ces vitesses sont du même ordre de grandeur que ce qui est mesuré sur des cellules motiles [3, 1]. Elles dépendent fortement de la présence d'actine polymérisée.

2.4.2 Rôles du calcium et de quelques protéines : actine, myosines, protéines d'adhésion

Les expériences sur cellules mutantes ou traitées permettent de dresser plusieurs conclusions.

- Premièrement, la rétraction est un phénomène totalement dépendant de la présence d'actine polymérisée. L'observation étonnante selon laquelle les cellules sans actine polymérisée ne peuvent pas rentrer dans la micropipette corrobore l'image d'un cortex d'actine en perpétuel remodelage : pour pouvoir changer sa forme, se couler dans une nouvelle géométrie, la cellule a besoin de l'élasticité et de la plasticité procurées par l'actine en polymérisation/dépolymérisation.
- La rétraction est largement dépendante de la myosine II : la force de rétraction des cellules auxquelles manque cette protéine est divisée par 4, et la vitesse est également plus faible. Ces résultats sont en accord avec ceux de [29], qui note également un facteur 4 entre type sauvage et *myo2Δ* dans les forces centrifuges auxquelles résistent les cellules. Remarquons tout de même que la situation expérimentale de [29] est fort différente de la nôtre, et les mécanismes en jeu sans doute ne sont pas les mêmes. Les auteurs centrifugent *Dictyostelium*; ses pseudopodes sont alors courbés par la force d'inertie. Il s'agit de voir contre quelle force l'amibe est capable de lutter, compte-tenu de cet effet de déformation des pseudopodes.

Avec le point précédent sur l'actine, on en déduit que le phénomène est essentiellement dû à l'action conjuguée de la myosine II et de l'actine, donc à des moteurs moléculaires. Ces moteurs sont de même nature que ceux trouvés dans les muscles. Même si le cytosquelette d'acto-myosine n'a pas le degré d'organisation d'un muscle, il n'est peut-être pas non plus totalement isotrope. Il a été suggéré qu'un faisceau même désordonné désordonné de myosines II et d'actine peut générer force et mouvement [30]. On verra plus bas (section 2.4.3) une estimation du nombre de myosines impliquées.

Ce résultat est en accord avec les schémas classiques de motilité : tandis que l'avancée du front dépend de la polymérisation de l'actine, l'arrière se rétracte au moyen de myosines. La mesure de relocalisation de myosine-GFP sur *Dictyostelium* montre une distribution nettement uropodiale [31].

- Les cellules sans myosine II parviennent tout de même à une rétraction. Ceci montre que les moteurs moléculaires ne sont pas le seul processus à l'œuvre pendant la rétraction. Par exemple, la cellule émet des protrusions vers l'extérieur de la micropipette ; ces protrusions sont capables, *via* la tension corticale, de générer une force de traction.
- Résultat négatif sur les myosines VII. Ce résultat est intéressant car il montre que ces myosines ne sont pas impliquées dans la rétraction. Ceci est compatible avec les observations de [28], qui ont mis en évidence l'utilité de *myo7* pour la phagocytose, donc pour des

phénomènes d'étalement plus que de rétraction.

- Résultat également négatif sur l'adhésion. Comme on l'a mentionné plus haut, ce résultat n'est pas si surprenant : la cellule évite de rentrer dans la micropipette non en raison de l'adhésion, mais plutôt grâce à sa rigidité qui maintient dans la partie extérieure un diamètre plus grand que celui de la micropipette (effet « bouchon de cristal »).
- La vitesse rétraction semble dépendre du calcium. Ce point mériterait d'être éclairci. Ceci serait en accord avec ce qu'on sait de l'interaction myosine-actine dans les muscles, stimulée par le calcium en solution (notons que ceci n'est pas connu pour *Dictyostelium discoideum*). De plus, les expériences de [3] montrent que le calcium en solution augmente substantiellement la vitesse de *Dictyostelium* sous flux (d'un facteur 3 à 4).
- La cellule a besoin d'une stimulation minimale pour mettre en place le phénomène de rétraction. Ainsi, à faible aspiration, la cellule a un comportement « bimodal », pouvant rentrer ou sortir de la micropipette. Ce fait est à rapprocher des expériences de chambre à flux de [3] : des cellules adhérentes au fond d'un canal peuvent, dans certaines circonstances, choisir de remonter ou descendre le flux si le débit est suffisamment faible. Ceci suggère également un mécanisme d'instabilité : d'un état initial immobile et instable, la cellule choisit une direction et la conserve relativement longtemps, idée qui nous a servi de point de départ pour une partie des modèles théoriques (chapitre 4).

2.4.3 Estimation du nombre de moteurs moléculaires impliqués

Les caractéristiques force-vitesse obtenues présentent deux valeurs intéressantes : $P_s = F_s/S$ (pression maximale) et V_0 (vitesse maximale). De façon approchée, on peut modéliser la caractéristique par une relation linéaire du type

$$V = V_0 \left(1 - \frac{P}{P_s}\right) = V_0 \left(1 - \frac{F}{F_s}\right) \quad (2.2)$$

Ce type de caractéristique est celle obtenue par l'étude théorique et expérimentale *in vivo* de moteurs moléculaires [20], [32] :

$$v = v_0 \left(1 - \frac{f}{f_s}\right) \quad (2.3)$$

En supposant que l'interaction actine-myosine est bien en grande partie responsable de la rétraction (ce qui est fortement suggéré par la section précédente), on peut tenter de vérifier si les forces et vitesses mesurées sont en accord avec ces caractéristiques, et le cas échéant en déduire la quantité de moteurs impliqués dans la rétraction.

Nous avons deux paramètres à disposition, F_s (ou P_s , ce qui revient au même) et V_0 . Chacun d'eux peut nous donner un renseignement. Supposons en effet, dans une vision très simplifiée, que les moteurs soient régulièrement disposés comme dans un muscle³ (figure 2.14) :

- Les moteurs disposés en parallèle ajoutent leurs forces. En comparant F_s à f_s , nous tirerons donc un renseignement sur la répartition surfacique (dans un plan perpendiculaire à la micropipette) des moteurs.

³Cette situation semble peu réaliste ; cependant, comme on l'a mentionné plus haut, des moteurs moléculaires disposés aléatoirement génèrent également force et mouvement [30]

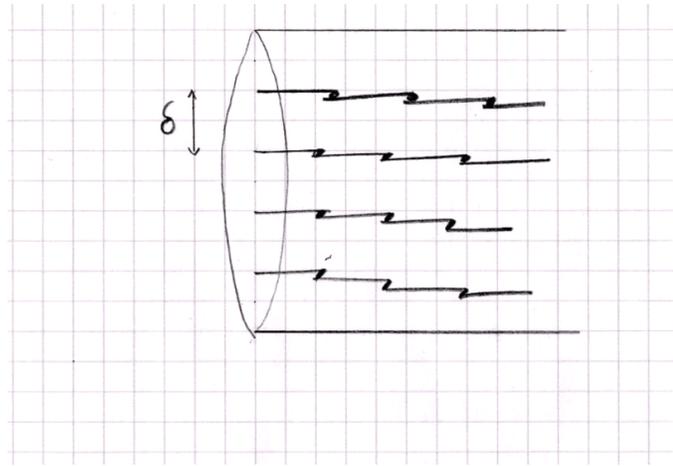


FIG. 2.14 – Hypothèse où les moteurs moléculaires sont alignés. La distance moyenne entre moteurs sur une section de langue est δ .

- Lorsqu'ils sont en série, ce sont les vitesses qui s'ajoutent. En comparant V_0 avec v_0 nous aurons un renseignement sur la répartition linéaire des moteurs, si toutefois l'action de ceux-ci est bien coopérative.

Forces

En supposant que les myosines ajoutent leurs forces, le nombre total de myosines actives est :

$$N_m = \frac{F_s}{f_s} \quad (2.4)$$

Avec $f_s = 0.5 \text{ pN}$ [20, 21] $N_m \simeq 30000$.

Nous pouvons en déduire δ , la distance moyenne entre moteurs dans une section de la langue (voir figure 2.14) :

$$\delta = \sqrt{\frac{S}{N}} = \sqrt{\frac{f_s}{P}} \quad (2.5)$$

Avec notre valeur de P_s de l'ordre du kPa , nous obtenons

$$\delta \simeq 20 \text{ nm} \quad (2.6)$$

Cette valeur semble raisonnable, quoique un peu élevée : à titre de comparaison, le pas du réseau d'actine est de quelques dizaines de nm et la proportion de myosine par rapport à l'actine est inférieure à 1. Comme on l'a mentionné plus haut, il est probable que d'autres mécanismes que les myosines soient partiellement responsables de la rétraction.

Vitesses

Notant n le nombre moyen de moteurs alignés le long de la langue, on a :

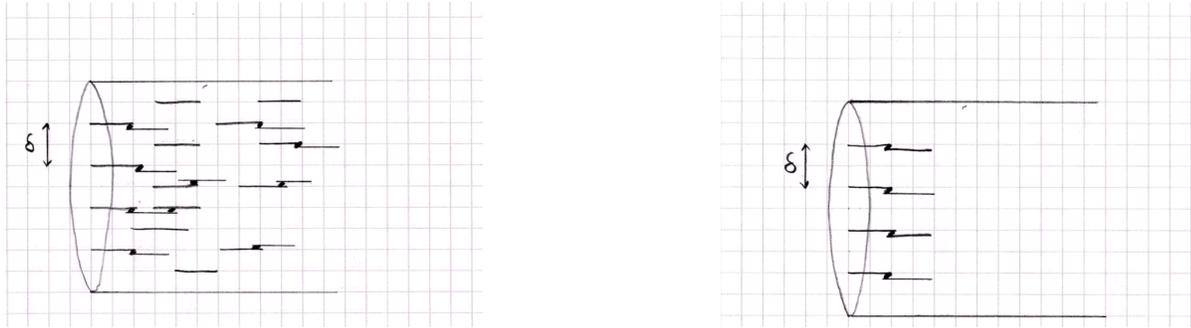


FIG. 2.15 – A gauche : Les moteurs sont distribués en volume, mais leur action n’est pas coopérative : seuls comptent ceux qui sont près de la membrane. A droite : distribution des moteurs uniquement surfacique.

$$V_0 = nv_0 \quad (2.7)$$

La situation est cette fois plus délicate : en effet, si la *stall-force* d’un moteur ne dépend pas ou peu des conditions expérimentales (il s’agit d’une grandeur thermodynamique), la vitesse à vide dépend de nombreux facteurs (viscosités, etc.) [32].

La vitesse mesurée V_0 n’est pas grande devant v_0 : elle est du même ordre de grandeur (fraction de $\mu m.s^{-1}$). n est donc de l’ordre de l’unité. Au moins deux explications sont possibles :

- L’action des moteurs en série n’est pas coordonnée, contrairement à la situation du muscle et de la figure 2.14 où les myosines sont «bout à bout» (figure 2.15, à gauche). Ainsi le «rendement» de la contraction, en termes de vitesse, est mauvais, et les vitesses ne s’ajoutent pas.
- La répartition des myosines actives est essentiellement surfacique (figure 2.15, à droite), de telle sorte que la coopérativité joue uniquement sur les forces et non sur les vitesses.

La dernière hypothèse semble compatible avec les observations de [26]. En effet, les auteurs y ont observé une accumulation de myosine II à la pointe de la langue avant la rétraction.

2.4.4 Mécanosensitivité de la cellule

Comment la cellule «sent»-elle la dépression et pourquoi émet-elle des pseudopodes du côté opposé? Ces observations sont à relier à celles de [4] qui ont montré que, dans le cas où le stimulus mécanique est un flot hydrodynamique, les pseudopodes sont généralement émis du côté aval du flot (sauf cas mentionné plus haut de cellules remontant le flux pour de faibles contraintes). Une explication possible compatible avec les deux phénomènes serait un mécanisme basé sur la sensibilité de la membrane à l’extension. En effet, dans les deux cas, l’émission de pseudopodes a lieu du côté opposé à la zone de la cellule où la membrane est étirée, tandis que cette zone est le siège de la rétraction. Cette idée de mécano-sensitivité nous a servi de guide pour la partie théorique (chapitre 3) qui va suivre.

2.5 Conclusion

Le protocole que nous avons mis au point par aspiration dans une micropipette est donc une méthode *quantitative* relativement simple à mettre en œuvre pour caractériser les capacités

mécaniques actives d'une cellule. Nous avons ainsi pu étudier la réactivité de *Dictyostelium discoideum* soumise à des forces extérieures. Les mesures ont montré que cette cellule est capable de résister à une force d'aspiration de l'ordre de quelques nN , valeur compatible avec [29] et [26]. La vitesse observée est également une valeur habituelle pour des phénomènes guidés par la polymérisation d'actine ou des moteurs moléculaires.

Nous pouvons résumer le travail expérimental en proposant différentes conclusions sur la motilité de *Dictyostelium*.

Les groupes de points à aspiration nulle et faible (en-dessous de $20 Pa$) témoignent d'un comportement bimodal. Dans ce régime, le stimulus n'est pas suffisant pour imposer une direction à la cellule. La cellule est donc sensible à des aspirations supérieures à $20 Pa$. En-dessous de cette valeur, elle agit comme si aucune force n'était appliquée. La cellule semble alors «choisir» sa direction d'évolution. Nous avons choisi de ne pas tenir compte des quelques cas où la cellule «choisit» de rentrer dans la micropipette, nous concentrant sur le phénomène de rétraction proprement dit.

Les points gardés pour nos courbes correspondent à un comportement réactif de la cellule vis-à-vis de l'aspiration. Dans ce cas, le rôle de l'actine dans la génération de force a été démontré. De même, le phénomène de rétraction dépend fortement de la présence de myosine II mais pas de myosine VII ni des protéines d'adhésion. Il apparaît donc que les moteurs moléculaires actine-myosine sont à l'œuvre dans le processus de rétraction observé. Une estimation du nombre de moteurs impliqués donne un résultat raisonnable, compatible avec d'autres observations [20].

Chapitre 3

Étude théorique de l'étalement cellulaire

La motilité cellulaire est un sujet complexe qui implique plusieurs mécanismes tout à fait différents : extension d'un pseudopode à l'avant, rétraction de l'uropode, transport du cytoplasme vers l'avant, etc.. Il peut être intéressant de séparer ces mécanismes pour tenter de modéliser un aspect précis de la motilité. Nous nous sommes donc intéressé au phénomène de l'étalement cellulaire, une problématique proche de ce qui se produit à l'avant d'une cellule motile : comment une cellule posée sur un substrat solide s'étend-elle sur ce substrat ? C'est à cette question que nous avons tenté de répondre, en travaillant en contact avec un maximum de données expérimentales disponibles : expériences d'étalement sur un substrat solide [33, 34, 35, 3] ou élastique [36, 37]. L'observable la plus commode lorsqu'on étudie l'étalement est l'aire d'adhésion de la cellule, c'est-à-dire l'aire de la surface de contact cellule-substrat. Notre modèle a donc pour but de fournir l'évolution de cette aire en fonction du temps.

3.1 Préliminaires

3.1.1 Motivation

Pour construire notre modèle, nous avons tenté de tenir compte des nombreuses expériences en relation avec l'étalement, ceci afin d'obtenir un modèle compatible avec plusieurs faits expérimentaux à caractère biologique, et principalement avec les expériences d'étalement menées par S. Fache et F. Bruckert (CEA Grenoble, DRDC).

Les éléments-clé que nous prendrons en considération seront :

- La polymérisation de l'actine ;
- L'adhésion de la cellule au substrat ;
- La sensibilité de la biochimie de polymérisation d'actine aux contraintes mécaniques.

L'actine

Des images montrant la localisation de l'actine dans une cellule montre que cette protéine se concentre essentiellement sur le bord, en particulier dans les parties avant (lamellipode) et arrière (uropode).

La figure 3.1 montre le réseau d'actine polymérisée dans un lamellipode de fibroblaste. La structure dendritique, typique de l'avant de la cellule, est bien visible. A l'arrière, la structure est

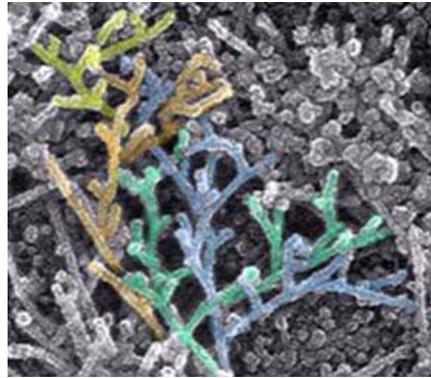


FIG. 3.1 – Actine polymérisée à l'avant d'une cellule. Le réseau est nettement dendritique (D'après <http://www.bio.upenn.edu/faculty/svitkina>)

différente [38], non pas dendritique mais plutôt filamenteuse. De nombreuses expériences montrent que l'actine et sa polymérisation en un réseau branché et dendritique (avant) ou filamenteuse (arrière) sont indispensables au mouvement cellulaire. Par exemple, la cytochalasine, qui empêche la polymérisation d'actine, stoppe les cellules rampant sur une surface. Celles-ci sont arrondies et n'émettent plus de pseudopodes. Leur cinétique d'étalement est bien plus lente [3].

Dans nos expériences de rétraction en micropipette décrites en 2, les cellules sans actine polymérisée sont incapables de mouvement, et même plus : sans actine, les cellules sont incapables de rentrer dans la micropipette pour des pressions d'aspiration allant jusqu'à plusieurs centaines de Pa . Pour pouvoir changer sa forme, se couler dans une nouvelle géométrie, la cellule a besoin de l'élasticité et de la plasticité procurées par l'actine en polymérisation/dépolymérisation.

D'autres observations appuient cette image : la cellule motile en adhésion présente une partie ventrale riche en actine polymérisée, tandis que le dos a peu de structure d'actine filamenteuse, comme c'est le cas pour une cellule en suspension [39]. Ceci laisse supposer qu'il y a, à la jonction entre surface en adhésion et surface dorsale (bord de la surface adhésive), une zone très active dans la construction de structures d'actine polymérisée. Ceci est visible par exemple sur les images prises avec la protéine LIME, qui s'associe à l'actine polymérisée (figure 3.2)

Mécano-sensitivité

Une question importante posée par notre problème est le lien entre le stimulus extérieur et la réponse de la cellule. Autrement dit, comment la cellule «sent»-elle son environnement ? Cette question se pose par exemple dans les expériences de [4] : pour un stimulus hydrodynamique suffisant, des pseudopodes sont émis du côté aval du flot, mais parfois du côté amont. Nos expériences de micropipettes du chapitre 2 vont dans ce sens : au-delà d'un stimulus-seuil, la cellule développe une réaction de rétraction du côté opposé à l'aspiration. Dans [23], les auteurs montrent par exemple que la croissance et l'étalement des lamellipodes est inversement corrélée à la tension de membrane, ce qui montre bien une sensibilité de la cellule aux stimuli mécaniques.

Ces questions concernent le domaine de l'étude de la *transduction*, c'est-à-dire le processus par lequel les signaux extracellulaires sont transformés en messages intracellulaires. De façon



FIG. 3.2 – L’actine chez *Dictyostelium discoideum*. La mesure est fait au moyen de la protéine LIME, qui se lie à l’actine et fluoresce lorsque celle-ci polymérise. La fluorescence est donc d’intensité proportionnelle à l’actine fraîchement polymérisée. Elle est localisée en bordure de zone d’adhésion, et plus précisément à l’avant (côté gauche, avec des protrusions). Image prise par J. Dalous [31].

générale, ceci concerne par exemple la sensibilité à la lumière, aux molécules odorantes, aux efforts mécaniques, etc..

Un de ces mécanismes les plus étudiés, impliqués dans les expériences d’étalement [3], est la transduction par récepteurs couplés à des protéines G. Ce type de transduction requiert l’interaction d’au moins trois composants. En amont se trouve un *récepteur* : il s’agit d’une protéine transmembranaire parmi les quelques centaines connues à ce jour. Ce récepteur, activé par le stimulus extérieur, par exemple les efforts mécaniques, catalyse la dissociation des sous-unités de la protéine G, ce qui a pour effet d’activer le composant le plus en aval, l’*effecteur*. L’effecteur peut être par exemple une enzyme, ou encore un canal ionique qui permettent le passage d’espèces chimiques de l’extérieur vers l’intérieur de la cellule. La variation de concentration de cette espèce peut ensuite stimuler la machinerie responsable de la régulation du mouvement cellulaire¹.

Ainsi, de façon indirecte, par exemple *via* des protéines G, le processus de motilité est sensible aux stress mécaniques [3, 41], et en particulier aux stress de cisaillement concentrés sur le bord de la zone adhésive, comme on le verra à la section 3.2.3.

Expériences d’étalement

Nous décrivons ici brièvement les expériences d’étalement menées par S. Fache et F. Bruckert. Ces expériences constituant une partie de la thèse de S. Fache, on pourra se reporter à son travail [3] pour plus de détails sur le protocole. De même que les faits expérimentaux présentés plus haut, ces expériences nous ont servi de point de départ à notre réflexion.

Les expériences d’étalement cellulaire consistent à observer la croissance des zones de contact, lors de la sédimentation des cellules sur une lamelle de verre.

On prélève des cellules cultivées en milieu de culture HL5. Elles sont centrifugées 3 minutes à 2000 g, lavées en tampon SB (Sörensen Buffer, un tampon phosphate) puis centrifugées à nouveau 3 minutes à 2000 g. On resuspend le culot dans du tampon SB de telle sorte que la concentration des cellules soit de 10^6 mL^{-1} , et on place cette suspension en agitation.

¹Pour une revue sur la transduction, voir par exemple [40].

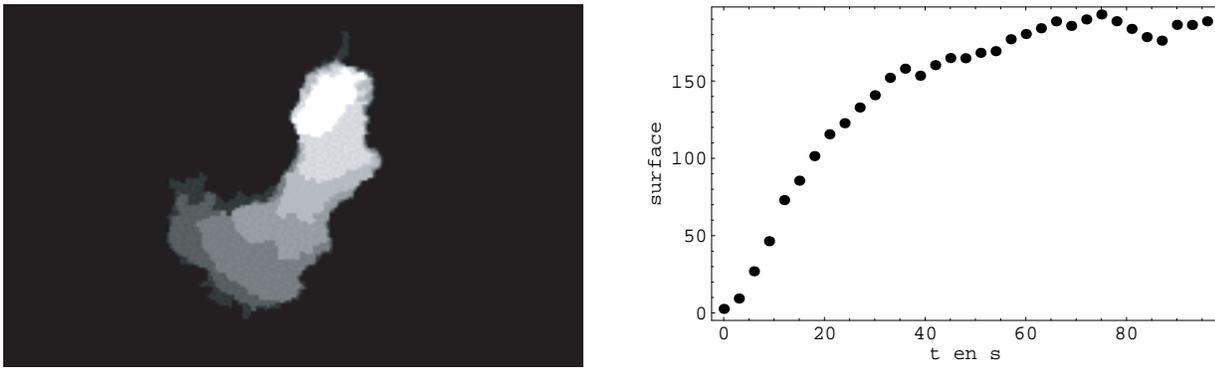


FIG. 3.3 – Expérience d'adhésion. A gauche, le film d'un étalement. La zone de contact est de plus en plus sombre avec le temps (un nouveau niveau de gris toutes les 15 s). La croissance de la zone de contact est directionnelle, et l'arrière ne bouge pas. A droite, la courbe d'étalement : l'aire d'adhésion en $\mu m.s^{-1}$ en fonction du temps.

Il a été remarqué qu'ajouter du calcium en solution (30 à 1000 μM) permet d'obtenir des courbes plus monotones sans changer significativement le temps caractéristique de croissance (table 3.2). Le calcium est un activateur de différentes protéines, parmi lesquelles des promoteurs de dépolymérisation d'actine comme la gelsoline et la séverine. Il active également l'interaction actine-myosine, et contrôle également l'attachement de la membrane au cytosquelette. C'est éventuellement cette dernière action qui jouerait sur la forme des courbes, les rendant plus «lisses».

Pour visualiser l'étalement cellulaire, on utilise des lamelles à 8 puits : chaque puits permet une observation ; on peut ainsi mener 8 expériences de suite avec une lamelle. On dépose 300 μL de la suspension de cellules dans un des puits, et on lance l'enregistrement par la caméra numérique commandée par l'ordinateur *via* le logiciel Image Pro plus. L'observation se fait en RICM, la mise au point étant faite sur la lame pour visualiser l'évolution de la surface de contact cellule-substrat.

Une photo est prise toutes les 3 secondes, l'expérience durant au maximum 5 minutes. Les contours de la zone de contact sont déterminés par un programme de seuillage. Pour mesurer le comportement d'une cellule individuelle et éviter les phénomènes dus à l'interaction de cellules entre elles, on choisit des cellules qui n'entrent pas en contact avec d'autres pendant la durée de l'expérience. Un programme mis au point par S. Fache donne l'aire de la zone de contact pour chaque image, et les données sont envoyées dans un fichier. On obtient ainsi les courbes d'évolution des aires de contact en fonction du temps. La figure 3.3 donne un résultat typique d'expérience d'étalement.

La croissance de la surface de contact (figure 3.3) montre bien que l'arrière ne bouge pas. Il s'agit bien d'un étalement, où seul l'avant se déplace. La croissance est également nettement directionnelle. A la fin de la phase d'étalement (quelques minutes), la rétraction, et donc la phase de motilité, commence. La cellule part alors dans la direction définie par l'étalement.

Plusieurs questions se posent au vu des expériences : pourquoi la surface, et non le rayon d'adhésion, croît-elle proportionnellement au temps (figure 3.3, à droite) ? Comment se peut-il que, bien que le volume reste constant, la surface extérieure augmente ? Qu'est-ce qui fixe l'arrêt de l'accroissement du rayon d'adhésion ? Telles sont les questions auxquelles le modèle essaiera de répondre, et le point de départ pour imaginer quels seront les ingrédients du modèle.

3.1.2 La polymérisation de l'actine

Vitesse de polymérisation

In vivo, la polymérisation de l'actine est régulée par des dizaines de protéines : protéines de «capping», enzymes catalysant la polymérisation, la dépolymérisation, la coupure de filaments en segments, etc.. (voir [22, 5] pour plus de détails). Nous retiendrons de cette biochimie très complexe qu'il existe deux voies majoritaires de polymérisation, voies qui s'excluent mutuellement [42]. L'une, initiée par la protéine Rac, concerne l'actine du bord avant de la cellule. L'autre voie (protéine Rho) fournit de l'actine pour le bord arrière, actine qui s'associera à des myosines pour la rétraction de l'uropode.

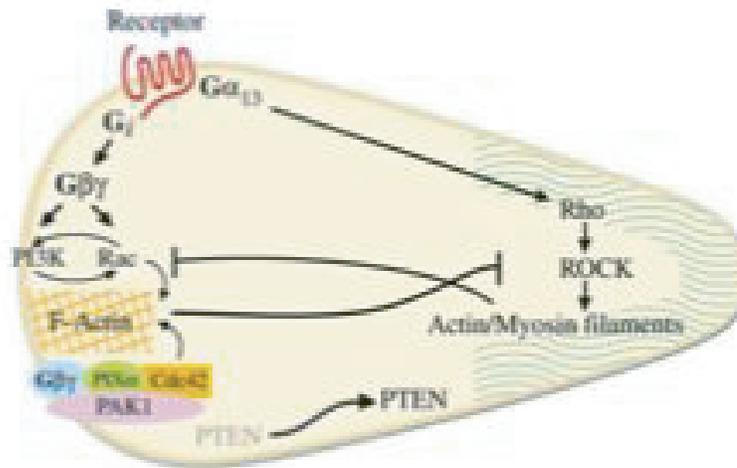


FIG. 3.4 – Les deux voies de polymérisation, initiées par Rho et Rac. Ces deux voies s'excluent mutuellement. D'après [42].

Dans ce qui suit, il sera suffisant de considérer une unique façon de polymériser l'actine (correspondant à l'avant de la cellule, puisque nous nous occupons d'étalement), en laissant de côté le grand nombre d'enzymes régulatrices. Nous ne retiendrons que l'existence d'un «accélérateur» (protéines favorisant la polymérisation) et d'un «frein» (protéines inhibitrices favorisant la dépolymérisation) pour l'étude du mouvement.

L'équation-bilan de polymérisation, déjà vue au chapitre 1, s'écrit :



Le taux de polymérisation (sens gauche \rightarrow droite) fait intervenir la concentration en sous-unité : $k_{pol} = k_{on}C$. Le taux de dépolymérisation (sens droite \rightarrow gauche) est en revanche indépendant de cette concentration : $k_{depol} = k_{off}$. Le bilan complet des flux de polymérisation et dépolymérisation s'écrit :

$$\begin{aligned}
k &= k_{pol} - k_{depol} = k_{on}C - k_{off} \\
&= k_{on}(C - C_c)
\end{aligned}
\tag{3.2}$$

La concentration C_c , comme définie dans l'introduction générale, est la concentration critique k_{off}/k_{on} .

En notant \mathcal{L} la taille de la sous-unité et C la concentration d'actine monomérique, on déduit la vitesse de polymérisation/dépolymérisation :

$$\begin{aligned}
V &= k\mathcal{L} = \mathcal{L}(k_{on}C - k_{off}) \\
&= \mathcal{L}k_{on}(C - C_c)
\end{aligned}
\tag{3.3}$$

Pour fixer les idées, dans le cas de l'actine pure *in vivo*, \mathcal{L} vaut 2.7 nm , $k_{on} \simeq 10^7 \text{ L.mol}^{-1}.\text{s}^{-1}$, $C \simeq 10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$, $C_c \simeq 7.10^{-8} \text{ mol.L}^{-1}$ soit $k_{off} \simeq 0.7 \text{ s}^{-1}$ [22] ce qui donne des vitesses, positives ou négatives, de l'ordre de quelques dizaines de nm.s^{-1} .

Recyclage des monomères : le *treadmilling*

La section précédente présente la croissance d'un filament d'actine à partir d'un réservoir de monomères. Or en général, la quantité d'actine globulaire disponible est limitée. Pour générer du mouvement à quantité d'actine monomérique constante (donc à longueur de filament constante) et ainsi recycler l'actine, il faut un apport d'énergie libre. Cette énergie est fournie par l'hydrolyse de l'ATP en ADP, réaction qui libère $13 k_B T$. Nous exposons ici le mécanisme en jeu, basé sur la polarité des filaments d'actine (on peut se référer à [22] et à la revue [43] pour plus de détails).

Les monomères d'actine ne sont pas symétriques et s'assemblent donc en «tête-à-queue» en filaments polarisés. On distingue ainsi une extrémité pointue (P) et une creuse (B, *barbed end* en anglais) (voir figure 3.5). A cause de cette différence de structure, les constantes k_{on} et k_{off} sont

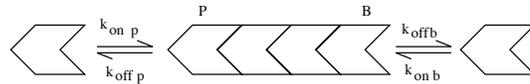


FIG. 3.5 – Polarité du filament d'actine : les constantes cinétiques sont différentes à chaque extrémité, mais les rapports k_{off}/k_{on} restent identiques.

plus élevées au bout (B) qu'à l'autre. Ainsi, si l'actine monomérique est en excès (concentration supérieure à C_c), B croît plus vite que P ; dans le cas du défaut de monomères, B se dépolymérise plus vite que P : B est donc l'extrémité à la dynamique la plus rapide, dans un sens ou dans l'autre.

De plus, les monomères d'actine sont rarement libres, mais le plus souvent impliqués dans des complexes mettant en jeu d'autres protéines, et éventuellement une molécule d'ATP ou d'ADP. Ces complexes permettent de contrôler la vitesse de polymérisation [22] et d'injecter de l'énergie dans le système (portée par l'ATP). Ainsi, fraîchement dépolymérisée, l'actine est sous forme CAD (cofiline-ADP). Puis la cofiline est échangé pour une profiline (complexe PAD). Ensuite l'ADP est remplacé par un ATP : l'actine se retrouve sous forme PAT, laquelle est prête à polymériser et rentrer dans un filament (figure 3.6).

La sous-unité récemment polymérisée est donc liée à un ATP, qui est *lentement* hydrolysée en ADP. Ainsi les monomères engagés dans le filament existent sous deux formes, la forme T (monomères «jeunes») et la forme D (monomères plus anciens). Si la constante de temps de l'hydrolyse est intermédiaire entre les constantes d'addition de monomères à l'extrémité P et l'extrémité B, les

monomères côté *barbed* seront plutôt liés à l'ATP (qui n'a pas encore eu le temps de s'hydrolyser) tandis que ceux côté pointu seront plutôt liés à l'ADP (figure 3.6).

Les monomères de type D, portant un ADP et non un ATP, sont plus bas en énergie que ceux de type T. Par conséquent, les «D» (côté pointu) se dépolymérisent plus facilement que les «T» (côté *barbed*), c'est-à-dire $C_c(D) > C_c(T)$. Si la concentration de monomères en solution est intermédiaire entre $C_c(T)$ et $C_c(D)$, on assistera au phénomène de *treadmilling* : l'extrémité pointue dépolymérise, tandis que l'extrémité *barbed* polymérise. Si les deux vitesses sont égales en valeur absolue,

$$k_{on}(B)(C - C_c(B)) = k_{on}(P)(C_c(P) - C); \quad (3.4)$$

la quantité d'actine monomérique est conservée et la chaîne avance à longueur constante (figure 3.6). Ainsi le mouvement de *treadmilling* permet de produire de l'énergie mécanique à partir de l'énergie chimique d'hydrolyse d'ATP et d'une quantité finie de monomères d'actine.

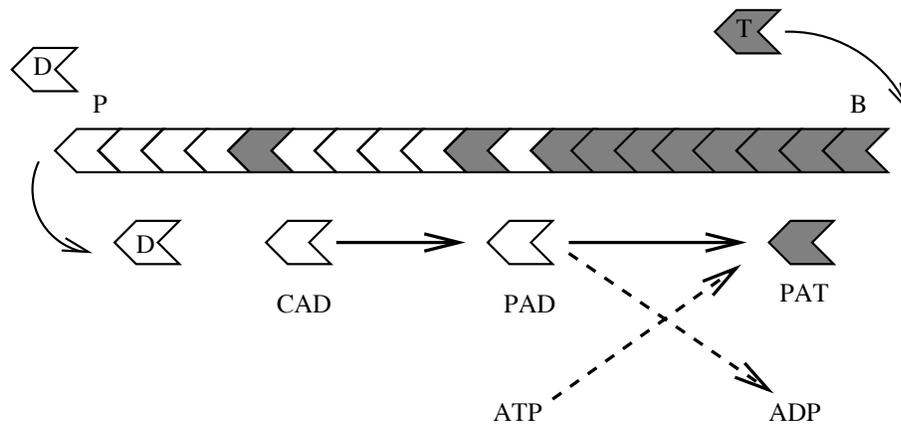


FIG. 3.6 – *Treadmilling* : un monomère rentre dans un polymère lié à un ATP (forme T, en gris). Dans la chaîne, l'ATP est hydrolysé en ADP, et l'actine passe sous forme D (blanc) avant de se dépolymériser. En solution, l'actine est dans des complexes CAD (cofiline-ADP), puis PAD (profilin-ADP), et enfin PAT (profilin-ATP).

3.1.3 Génération de force par polymérisation d'actine

Comment le filament d'actine peut-il croître tout en poussant une membrane? Plusieurs modèles ont été proposés. Comme point de départ, nous citons [44] qui décrit un modèle de «*Brownian ratchet*», par allusion à la machine thermique de «*ratchet and pawl*» (roue à cliquets) de R. Feynman [45]. Les auteurs y envisagent un filament d'actine poussant une charge. La charge, soumise au mouvement brownien, est gênée par le filament et diffuse donc préférentiellement dans la direction opposée au filament. Lorsqu'une fluctuation thermique élargit suffisamment l'interstice entre le filament et la charge, un monomère peut s'y introduire, décalant ainsi la charge vers la droite (figure 3.7). Petit à petit, le filament croît et pousse la charge vers la droite. On peut alors définir une vitesse et établir la caractéristique force-vitesse du moteur : la vitesse est toujours de la forme 3.3, mais k_{on} et k_{off} dépendront de la force :

$$k(f) = Ck_{on}(f) - k_{off}(f) \quad (3.5)$$

Une variante de ce modèle [46] propose d'introduire le bruit thermique dans l'énergie de courbure de la pointe des filaments : le rôle de la fluctuation est alors de plier suffisamment le filament pour créer l'interstice où s'attachera le monomère. L'article de revue [47] fait le bilan de ces différentes propositions.

Dans les deux cas, un travail mécanique est fourni, et la polymérisation d'actine donne l'énergie nécessaire : il ne s'agit donc pas d'une hypothétique « machine de Carnot monotherme », mais bien de mouvement brownien « redressé » par la polymérisation d'actine. Quel que soit le modèle, et sans calculer le détail de la caractéristique force-vitesse, il est facile de calculer une grandeur intéressante : la « stall-force » (force de blocage), force maximale que peut fournir un filament.

Le travail à fournir pour insérer un monomère est $F\mathcal{L}$, où F est la force donnée par le moteur et \mathcal{L} la taille du pas (taille du monomère). Le processus est thermiquement activé, c'est-à-dire que la fluctuation thermique doit être d'ordre $F\mathcal{L}$ pour permettre la polymérisation. La vitesse de polymérisation s'écrit donc :

$$k = Ck_{on}^0 \exp\left(-\frac{F\mathcal{L}}{k_B T}\right) - k_{off}^0 \quad (3.6)$$

et

$$F_{stall} = \frac{k_B T}{\mathcal{L}} \ln\left(\frac{k_{on}^0 C}{k_{off}^0}\right) \quad (3.7)$$

Il s'agit d'une force de l'ordre du pN pour les concentrations usuelles. Remarquons que les constantes cinétiques apparaissent sous la forme du quotient k_{on}^0/k_{off}^0 qui est une constante *thermodynamique* (constante de la réaction 3.1). F_{stall} est donc une limite thermodynamique et non cinétique au mouvement. Elle correspond simplement à la force dont le travail sur une distance \mathcal{L} est égal à l'énergie libérée par la réaction de polymérisation :

$$F_{stall} = \frac{\Delta G}{\mathcal{L}} \quad (3.8)$$

Nous pourrions aussi considérer que la force, au lieu de défavoriser la polymérisation, favorise la dépolymérisation. On aurait alors comme caractéristique :

$$k = Ck_{on}^0 - k_{off}^0 \exp\left(\frac{F\mathcal{L}}{k_B T}\right) \quad (3.9)$$

De façon générale, du moment que le rapport du taux de polymérisation et de dépolymérisation reste égal à k_{on}^0/k_{off}^0 , toute forme intermédiaire peut être envisagée, ainsi il existe une famille de caractéristiques possibles quand a décrit $[0, 1]$:

$$V = Ck_{on}^0 \exp\left(-a\frac{F\mathcal{L}}{k_B T}\right) - k_{off}^0 \exp\left((1-a)\frac{F\mathcal{L}}{k_B T}\right) \quad (3.10)$$

Dans tous ces cas, F_{stall} reste la même, donnée par la relation 3.7, même si le détail de la caractéristique force-vitesse change légèrement selon le modèle (figure 3.7 à droite) (pour plus de détails voir par exemple [21]).

Plusieurs objections ont été faites aux modèles de *Brownian ratchet*. Premièrement, la vitesse de croissance du filament devrait dépendre de la constante de diffusion de la charge, ce qui n'est pas observé. Cette objection est éliminée dans le cas où les fluctuations thermiques courbent les filaments au lieu de déplacer la charge. Ensuite, dans certains cas, il a été mesuré que l'actine

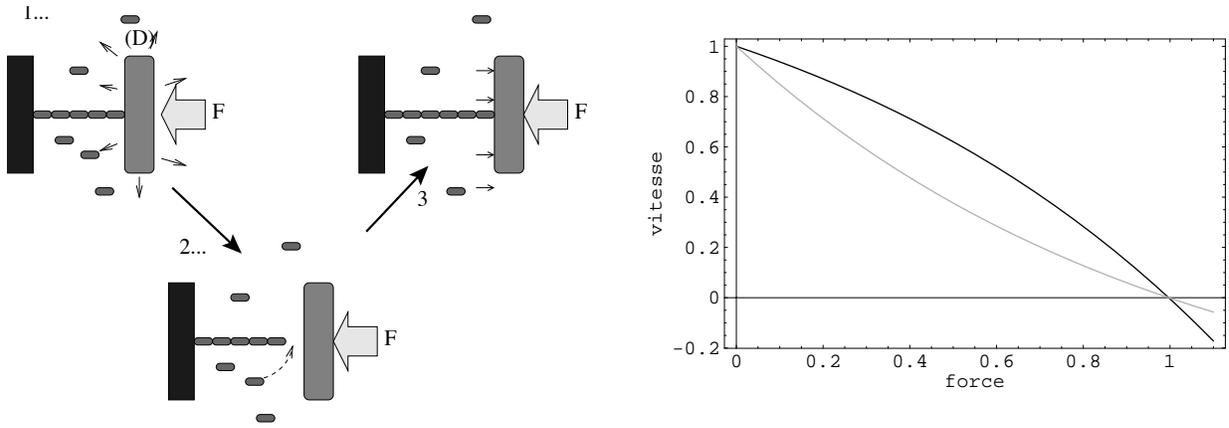


FIG. 3.7 – Le *Brownian ratchet* : à gauche, le schéma de principe. À droite, deux types de caractéristiques force-vitesse : en gris, la force défavorise la polymérisation (équation 3.9); en noir, la force favorise la dépolymérisation (équation 3.6). Dans les deux cas, F_{stall} est la même.

est fortement attachée à la charge [18], ce qui semble incompatible avec le modèle, qui requiert l'existence d'un intervalle entre le filament et la charge. Le détail de la liaison entre la pointe du filament et la charge, dans les cas biologiques où la charge est une membrane ou une bactérie, est sans doute très complexe.

Le modèle de [18] et de [19] ne traite pas ces détails microscopiques mais considère l'actine comme un milieu continu. Les auteurs montrent qu'à des temps suffisamment courts, la réponse du gel d'actine est élastique. On peut donc lui attribuer un module d'Young (de l'ordre de 100 kPa) et les équations des milieux élastiques. Ainsi, dans [19], on s'intéresse à des billes micrométriques dans une solution d'actine monomérique. Les billes sont traitées avec des protéines adéquates permettant la polymérisation de l'actine en surface (système biomimétique inspiré par la bactérie *Listeria*). Ainsi, couche après couche, un gel d'actine se forme à la surface de la bille. Chaque couche se dilate sous la poussée des couches inférieures (voir figure 3.8), les équations de l'élasticité prévoient l'apparition d'un stress qui se traduit par une pression à la surface de la bille. Lorsque cette pression atteint une certaine valeur seuil, la polymérisation s'arrête. L'épaisseur de la couche de gel sur la bille reste ainsi limitée.

Cette limitation de nature thermodynamique est en fait analogue à celle du *Brownian ratchet* : la dépolymérisation équilibre la polymérisation dès lors que chaque filament d'actine plaqué contre la paroi doit supporter la force :

$$F_{stall} = \frac{k_B T}{\mathcal{L}} \ln \left(\frac{k_{on}^0 C}{k_{off}^0} \right) \quad (3.11)$$

Le problème étant transposé du filament individuel en milieu continu, on parle non de force mais plutôt de pression de blocage, qui est la force de blocage divisée par la surface moyenne supportée par un filament (carré de l'espacement moyen ζ des filaments dans le gel) :

$$p_{stall} = \frac{F_{stall}}{\zeta^2} \quad (3.12)$$

Pour des concentrations habituelles de filaments (taille de réseau de l'ordre de la dizaine de nm), p_{stall} est de l'ordre de 10 à 100 kPa . Autrement dit, l'actine est capable de croître contre une pression de 0.1 à 1 atmosphère.

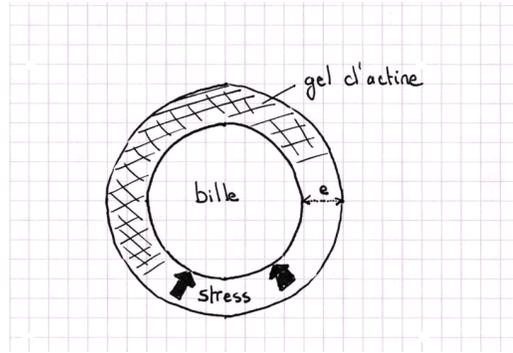


FIG. 3.8 – La bille sur laquelle croît l’actine. Quand e atteint une certaine valeur, le stress à la surface de la bille est trop fort pour que la polymérisation continue. D’après [19].

Ces modèles sont-ils pertinents pour notre problème ? Pouvons-nous imaginer une géométrie analogue au modèle précédent ? On aurait alors l’image de l’actine poussant à l’intérieur de la cellule à partir de la membrane concave et générant un stress croissant (figure 3.9). Lorsque ce stress atteint p_{stall} , la vitesse de polymérisation s’annulerait, de la même façon que dans le cas de la bille. On obtiendrait ainsi une épaisseur limite de la couche d’actine.

Un rapide calcul montre que cette image est difficilement envisageable : en effet, l’actine ne pousse pas contre un mur de polystyrène, ni une coque de bactérie, mais contre une membrane flexible qui ne peut pas supporter la force nécessaire à l’arrêt de la polymérisation.

Calculons en effet la pression que la tension de membrane σ oppose au mouvement, pression

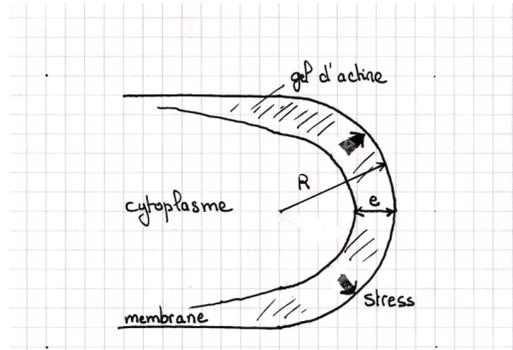


FIG. 3.9 – Configuration inverse de celle de la figure 3.8 : l’actine croît à l’intérieur d’une membrane rigide concave de rayon R . Quand e atteint une certaine valeur, le stress contre la membrane est trop fort pour que la polymérisation continue.

exercée sur la couche d’actine sous-jacente :

$$p_{opp} = \frac{\sigma}{r}, \quad (3.13)$$

où r est le rayon de courbure au point considéré. Dans notre cas, on peut estimer p_{opp} avec une tension de l’ordre de $0.01 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$ [23] et un rayon de 100 nm :

$$p_{opp} \simeq 100 \text{ Pa}$$

On est donc loin du stress d'arrêt de la polymérisation de l'actine («stall-pressure») de l'ordre de 10.000 à 100.000 Pa vus précédemment. Il faudrait une tension de membrane supérieure à la tension de lyse de la membrane pour arrêter la polymérisation par blocage thermodynamique, ou encore des rayons de courbures très petits.

Nous verrons plus loin comment procéder pour introduire un freinage «biochimique» qui permette de rendre compte de l'arrêt de la polymérisation d'actine.

3.2 Présentation du modèle

L'idée générale du modèle est de comprendre de quelle façon une croissance de l'actine polymérisée par l'intérieur peut mener à l'étalement de la cellule. L'observable principale pour les expérimentateurs étant la surface d'adhésion, notre but sera de trouver la forme de l'évolution de la surface d'adhésion en fonction du temps et de la confronter à l'expérience.

Les éléments clefs du modèle sont les suivants :

- Polymérisation préférentielle au bord de la zone adhésive ;
- Prise en compte de la force d'adhésion au substrat ;
- Prise en compte de la force d'adhésion entre la membrane et le cytosquelette ;
- Dépendance de la biochimie de polymérisation de l'actine envers les stress mécaniques.

Nous verrons d'abord (section 3.2.1) que, géométriquement, le problème ressemble à l'étalement d'une goutte liquide sur un substrat. Cette ressemblance n'est que superficielle car l'étalement cellulaire est un processus *actif*, c'est-à-dire que la cellule dépense de l'énergie pour s'étaler (elle convertit de l'énergie chimique en énergie mécanique), tandis que la goutte d'eau ne suit qu'un principe de minimum d'énergie interfaciale pour augmenter sa surface d'adhésion.

La simple observation que le dos de la cellule contient peu d'actine polymérisée et la partie ventrale en contient beaucoup [39] nous conduit naturellement à supposer que la zone de polymérisation principale est située à la «ceinture adhésive», c'est-à-dire sur la bande constituant le bord du disque d'adhésion. Nous mettrons en évidence dans 3.2.2 l'importance de cette ceinture adhésive : comme elle concentre les stress mécaniques, c'est là que la sensibilité aux stimulus mécaniques est la plus grande et qu'a lieu la transformation de l'actine.

Comme on l'a vu plus haut, l'actine ne peut pas être stoppée par un processus thermodynamique : une membrane n'est pas un «mur» capable de supporter la pression de la polymérisation. Dans la partie 3.2.3, nous modéliserons autrement le freinage du mouvement. Tenant compte de la mécano-dépendance de la biochimie de polymérisation de l'actine, le frein sera «mécano-chimique» et non thermodynamique.

3.2.1 Géométrie du problème

Les cellules ont dans le cas général une forme compliquée que nous devons modéliser pour les besoins des calculs. Macroscopiquement, nous traiterons la cellule comme une portion de sphère («goutte d'eau») : nous supposerons que la face dorsale de *Dictyostelium discoideum* (comprenant peu d'actine polymérisée) est une calotte sphérique de volume constant V et de rayon R . Nous discuterons plus bas (section 3.5) les limites de cette simplification.

A l'instant initial (sphère entière), $R = R_i$. Au cours du temps, le rayon R grandit, ainsi que le rayon d'adhésion r (figure 3.10), jusqu'à un rayon maximum r_m .

On note θ l'angle de raccordement macroscopique («angle de mouillage»). Le rayon de la

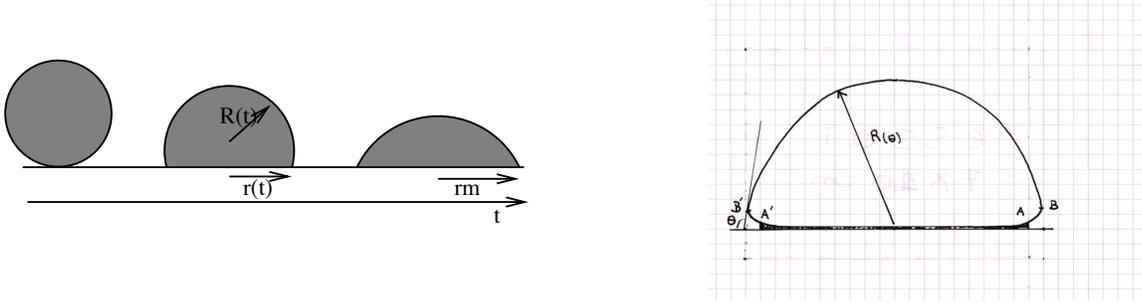


FIG. 3.10 – A gauche : Caricature de l'étalement. La cellule est une calotte sphérique se déposant sur le substrat. A droite : modélisation géométrique de la cellule. Le disque d'adhésion se trouve entre les deux points A et A'. En A, la cellule quitte le substrat. Entre A et B, se trouve une zone intermédiaire de membrane libre. En B commence la zone dorsale macroscopique : sphère de rayon $R(\theta)$.

calotte sphérique est donné par [48] :

$$\begin{aligned} R(\theta) &= \left(\frac{3V}{\pi}\right)^{1/3} \frac{1}{((1 + \cos \theta)^2(2 - \cos \theta))^{1/3}} \\ &= 4^{1/3} R_i \frac{1}{((1 + \cos \theta)^2(2 - \cos \theta))^{1/3}} \end{aligned} \quad (3.14)$$

La face ventrale de la cellule, riche en actine polymérisée, est donc un disque de rayon $r(\theta)$ donné par

$$\begin{aligned} r(\theta) &= R(\theta) \sin \theta \\ &= 4^{1/3} R_i \sin \theta \frac{1}{((1 + \cos \theta)^2(2 - \cos \theta))^{1/3}} \end{aligned} \quad (3.15)$$

On suppose, suivant la section 3.1.3, que l'actine polymérisée peut être considérée comme un milieu élastique. Nous traiterons le disque d'adhésion, d'épaisseur h , comme une plaque élastique de module d'Young E et de constante de flexion κ_a .

Au bord de la zone de contact, la cellule quitte le substrat, au sens où le dernier pont adhésif se trouve en ce point A. Comme nous supposons que la zone d'adhésion correspond aussi à la zone de polymérisation d'actine, la zone (microscopique) au-dessus de A correspond à de la membrane libre (détachée du cytosquelette). Nous verrons plus loin comment paramétrer cette zone.

Il peut être intéressant de refaire ce même calcul pour une autre symétrie, dans le cas cylindrique. En effet, la forme géométrique exacte de la cellule n'est pas une sphère et certaines protrusions peuvent avoir une forme plutôt cylindrique (étalement selon une seule direction, voir figure 3.11). Il sera utile dans la suite de montrer que la plupart des résultats «sphériques» sont conservés en «cylindriques», démontrant la robustesse du modèle vis-à-vis de la géométrie exacte.

On a alors

$$R_{2D}(\theta) = \pi^{1/2} R_i \left(\frac{1}{\pi - \theta + 0.5 \sin 2\theta} \right)^{1/2} \quad (3.16)$$

et

$$\begin{aligned} r_{2D}(\theta) &= R_{2D}(\theta) \sin \theta \\ &= \pi^{1/2} R_i \sin \theta \left(\frac{1}{\pi - \theta + 0.5 \sin 2\theta} \right)^{1/2} \end{aligned} \quad (3.17)$$

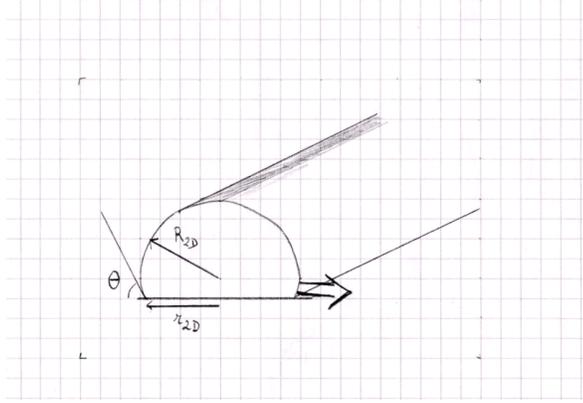


FIG. 3.11 – Étalement d’une protrusion cylindrique, dans la direction perpendiculaire à l’axe du cylindre.

3.2.2 Importance de la ceinture adhésive : localisation des stress

Un calcul d’élasticité

La bordure du disque d’adhésion, c’est-à-dire là où la cellule quitte le substrat, est la zone qui va nous intéresser ici. En effet, l’observation que la polymérisation de l’actine se produit dans les zones d’adhésion nous a conduit à supposer que l’adhésion est à l’origine de la voie de signalisation qui conduit à la polymérisation de l’actine. *Notre hypothèse de départ concernant la polymérisation est donc que celle-ci a lieu essentiellement dans la ceinture adhésive*, où les ponts adhésifs sont les plus stimulés, et où les contraintes mécaniques sont les plus fortes.

Nous présentons ici un calcul simple proposé par [49], qui met en évidence cette localisation des efforts mécaniques en bord de zone adhésive. Ce calcul donne l’équilibre mécanique des efforts dans la direction tangentielle à la membrane (direction horizontale).

Considérons deux bandes élastiques d’épaisseurs h et h_a , de modules d’Young E et E_a , et de modules de cisaillement μ et μ_a , solidaires l’une de l’autre comme montré sur la figure 3.12. La bande supérieure est tirée avec une tension $\sigma_l = \sigma(x \geq 0)$. On note $u(x)$ le déplacement horizontal, au cours de la traction, d’un point du milieu élastique d’abscisse x . Ce déplacement est supposé petit dans l’approximation linéaire de l’élasticité. La tension dans la bande supérieure est proportionnelle à la dérivée de ce déplacement horizontal :

$$\sigma_{xx}(x) = E \frac{du}{dx} \quad (3.18)$$

Le cisaillement dans la bande inférieure s’écrit au moyen du module de cisaillement μ_a :

$$\tau_{xy}(x) = \mu_a \frac{u}{h_a} \quad (3.19)$$

Enfin, l’équilibre d’une tranche de largeur dx soumise à la tension de la bande supérieure et au cisaillement de la bande inférieure fournit :

$$\frac{d\sigma_{xx}(x)}{dx} = \frac{\tau_{xy}(x)}{h} \quad (3.20)$$

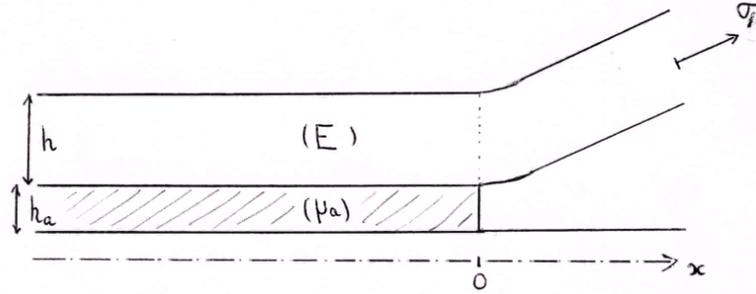


FIG. 3.12 – Notations pour le calcul du paragraphe 3.2.2. D'après [49].

D'où l'équation différentielle sur la fonction $\sigma_{xx}(x)$ pour $x \leq 0$:

$$\frac{d^2 \sigma_{xx}(x)}{dx^2} = \lambda_m^2 \sigma_{xx}(x) \quad (3.21)$$

avec

$$\lambda_m = \left(\frac{\mu_a}{E h h_a} \right)^{1/2}, \quad (3.22)$$

les conditions aux bords étant

$$\begin{aligned} \sigma_{xx}(0) &= \sigma_l \\ \sigma_{xx}(-\infty) &= 0 \end{aligned} \quad (3.23)$$

La solution pour $x \leq 0$ est exponentielle pour la tension et le cisaillement :

$$\sigma_{xx}(x) = \begin{cases} \sigma_l \exp(\lambda_m x) & \text{pour } x \leq 0 \\ \sigma_l & \text{pour } x \geq 0. \end{cases} \quad (3.24)$$

$$\tau_{xy}(x) = \begin{cases} h \lambda_m \sigma_{xx}(x) = \sigma_l h \lambda_m \exp(\lambda_m x) & \text{pour } x \leq 0 \\ 0 & \text{pour } x \geq 0. \end{cases} \quad (3.25)$$

Contrairement à la tension, qui est non nulle pour $x \geq 0$, les forces de cisaillement sont *entièrement localisées* dans une zone de taille λ_m^{-1} , qui apparaît comme une *longueur d'écrantage* de la force σ_l .

Nous proposons d'appliquer ce calcul à la situation biologique (bord du disque d'adhésion). La bande supérieure est l'ensemble cytosquelette-membrane, tiré avec une tension qui est la tension de surface de la calotte sphérique. La bande inférieure est la matrice extra-cellulaire. La matrice extra-cellulaire est un ensemble de protéines d'adhésion qui présentent une certaine élasticité dans

la direction verticale (voir partie 1.1.4). Elle a été modélisée par des ressorts dans, par exemple, [16]. On peut supposer que ce milieu possède également une élasticité dans la direction horizontale, donc un coefficient de cisaillement μ_a .

Il est intéressant ici de donner une idée de la valeur de cette longueur caractéristique. En supposant que la matrice extracellulaire est un milieu constitué d'un réseau enchevêtré de protéines, mécaniquement analogue au gel d'actine, E et μ_a sont du même ordre de grandeur. L'épaisseur h est de l'ordre de 100 nm, et h_a de l'ordre de 10 nm. On obtient, pour λ_m^{-1} , de l'ordre de quelques dizaines de nm.

Cette valeur donne donc une idée de la taille de la région sensible aux efforts de cisaillement transmis par le complexe membrane-cytosquelette. C'est cette région qui sera le siège du remodelage de l'actine, et donc zone motrice pour l'étalement cellulaire.

Expérimentalement, ce phénomène d'écrantage est visible sur les mesures de forces exercées par des cellules sur un substrat [50]. Notons que les cellules y sont plus grosses que *Dictyostelium* et λ_m^{-1} y est plus grand.

Rigidité du substrat

Les équations 3.22 et 3.25 permettent également de comprendre comment la rigidité du substrat influence l'étalement et la motilité cellulaires (expériences de [36]). Le module de cisaillement $\mu_{a, \text{association}}$ à prendre en compte dans 3.22 est celui résultant de l'association en série de la matrice extra-cellulaire et du substrat. Dans ce cas, ce sont les inverses des modules de cisaillement qui s'ajoutent (comme l'association de deux ressorts) :

$$\frac{1}{\mu_{a, \text{association}}} = \frac{1}{\mu_{\text{substrat}}} + \frac{1}{\mu_{a, \text{matrice}}} \quad (3.26)$$

Dans la limite où le substrat est plus rigide que la matrice extra-cellulaire, on a simplement :

$$\mu_{a, \text{association}} \simeq \mu_{a, \text{matrice}} \quad (3.27)$$

et les calculs précédents s'appliquent alors.

En revanche, si le substrat est *moins rigide que la matrice extra-cellulaire*, on aura

$$\mu_{a, \text{association}} \simeq \mu_{\text{substrat}} \leq \mu_{a, \text{matrice}} \quad (3.28)$$

Ainsi :

$$\mu_{a, \text{substrat «mou»}} \leq \mu_{a, \text{substrat «dur»}}$$

L'équation 3.22 assure que, pour le substrat mou, la longueur d'écrantage est plus grande. Les efforts mécaniques sont donc moins concentrés, et d'après 3.25, le taux de cisaillement est plus faible :

$$\tau_{xy, \text{«mou»}} \leq \tau_{xy, \text{«dur»}}$$

Comme le cisaillement est à l'origine de la polymérisation de l'actine, on en déduit qu'un substrat mou défavorise l'étalement, et qu'un substrat dur le favorise, ce qui est observé [36, 37].

Le modèle prédit que le régime intermédiaire doit s'observer pour $\mu_{\text{substrat}} \simeq \mu_{\text{matrice}} \simeq 10^4 \text{ Pa}$. Ceci est en bon accord avec les expériences de [37], où le changement de régime d'étalement s'obtient lorsque la rigidité du substrat est de l'ordre de 3000 Pa.

3.2.3 Limitation de l'étalement

Comment la cellule «sent-elle» qu'elle doit s'arrêter de s'étaler ? Nous avons vu plus haut que, dans les modèles où l'actine croît contre une paroi rigide (coque de *Listeria*, bille de polystyrène), la croissance est stoppée par un effet thermodynamique : lorsque le travail nécessaire à l'accrochage d'un nouveau monomère d'actine sur le filament excède l'énergie libre libérée par la réaction, le mouvement est thermodynamiquement défavorisé. Nous avons vu également au paragraphe 3.1.3 que dans notre situation, ce mécanisme ne semble pas pertinent.

Nous supposons donc que le freinage du mouvement a lieu de façon plus indirecte : la tension de la membrane et le cisaillement du cytosquelette, par un effet biochimique, favorisent la réaction de dépolymérisation au détriment de la polymérisation. Cet effet, localisé à la zone de taille λ_m^{-1} présentée plus haut, peut être un changement de conformation de protéines G (voir paragraphe 3.1.1), qui à leur tour stimulent l'ouverture de canaux ioniques, ou directement l'ouverture de canaux ioniques sensibles aux efforts mécaniques. Sans chercher à connaître en détail la biochimie exacte du problème, nous supposons qu'il existe un mécanisme sensible au cisaillement de la ceinture adhésive, les protéines G en étant un candidat possible. Le fait que l'activation préférentielle et le freinage de la polymérisation de l'actine soient localisés au bord de la ceinture adhésive indique que la tension ne peut agir directement sur la biochimie. En effet, d'après l'équation 3.24, la tension est non nulle sur toute la face extérieure de la cellule. En revanche, d'après 3.25, le cisaillement est localisé dans la région de taille λ_m^{-1} . Nous prenons donc comme hypothèse que seuls les efforts mécaniques de type cisaillement sont responsables de l'activation et du freinage de la polymérisation d'actine.

L'hypothèse des canaux ioniques nous a conduits à suivre [51] qui traite de l'activation mécanique des canaux ioniques. Nous présentons rapidement ce qui nous sera utile des caractéristiques physiques de ces canaux ioniques.

On note ΔG_o l'énergie libre d'ouverture du canal en l'absence de tension, de l'ordre de quelques $k_B T$. Si s est la surface du canal et σ la tension de surface, le travail mécanique nécessaire à l'ouverture d'un canal est $s\sigma$. En présence d'une tension de surface, la nouvelle énergie libre d'ouverture est diminuée de σ : $\Delta G = \Delta G_o - s\sigma$. Notant P_o et P_f les probabilités d'ouverture et de fermeture d'un canal lorsqu'on applique une tension :

$$\frac{P_o}{P_f} = \frac{P_o}{1 - P_o} = \exp\left(\frac{-\Delta G_o + s\sigma}{k_B T}\right) \quad (3.29)$$

On peut mettre P_o/P_f sous une forme utilisant $\sigma_{1/2}$, tension pour laquelle $P_o = 1/2$:

$$\frac{P_o}{1 - P_o} = \exp\left(\frac{s}{k_B T}(\sigma - \sigma_{1/2})\right) \quad (3.30)$$

avec

$$s\sigma_{1/2} = \Delta G_o$$

Nous prenons pour simplifier l'expression valide pour les faibles probabilités d'ouverture ; la probabilité d'ouverture varie comme :

$$P_o \simeq \exp\left(\frac{\sigma}{\sigma_s}\right) \quad (3.31)$$

où

$$\sigma_s = \frac{k_B T}{s}$$

Revenant à la forme du «frein biochimique» de la polymérisation, nous supposons que le frein est proportionnel à une espèce chimique entrant *via* les canaux proportionnellement à la probabilité d'ouverture. Le cisaillement τ_{xy} et la tension σ étant proportionnels (équation 3.25), nous écrivons le taux de dépolymérisation indifféremment en fonction du stress mécanique de cisaillement ou de tension :

$$k_{off}(\tau_{xy}) \simeq k_{off}^0 \exp\left(\frac{\tau_{xy}}{\tau_{xy,0}}\right) \quad (3.32)$$

ou encore

$$k_{off}(\sigma) \simeq k_{off}^0 \exp\left(\frac{\sigma}{\sigma_s}\right) \quad (3.33)$$

soit, pour la vitesse de polymérisation

$$V(\sigma) \simeq V_{on}^0 - V_{off}^0 \exp\left(\frac{\sigma}{\sigma_s}\right) \quad (3.34)$$

où $V_{on}^0 = \mathcal{L}k_{on}^0 C$, C concentration d'actine monomérique étant supposée constante.

L'hypothèse que l'effet du frein soit directement proportionnel à l'ouverture des canaux ioniques est très simplificatrice. Dans un schéma plus complet, on pourrait tenir compte de la capture avec une affinité $K_{1/2}$ par la cellule de l'espèce chimique entrant par les canaux, qui tient compte d'une éventuelle saturation. On pourrait écrire par exemple :

$$k_{off}(\sigma) \simeq k_{off}^0 \frac{\exp(\sigma/\sigma_s)}{K_{1/2} + \exp(\sigma/\sigma_s)} \quad (3.35)$$

$$V(\sigma) \simeq V_{on}^0 - V_{off}^0 \frac{\exp(\sigma/\sigma_s)}{K_{1/2} + \exp(\sigma/\sigma_s)}$$

le coefficient $K_{1/2}$ étant alors l'affinité de la réaction de capture par la cellule des molécules entrant par les canaux.

D'autres schémas encore moins simples sont possibles. Les détails biochimiques de ce mécanisme sans doute très complexe nous étant de toute façon inconnus, nous garderons l'expression 3.32. Anticipant 3.3.3, nous verrons que nous linéariserons cette expression au voisinage de la tension σ annulant $V(\sigma)$. Ce qui nous importe est donc d'obtenir une expression autorisant la vitesse $V(\sigma)$ à s'annuler pour un certain σ .

Soulignons que nous ne connaissons pas *le détail* du mécanisme freinant la polymérisation de l'actine (ou accélérant la dépolymérisation). Les canaux ioniques sont un exemple de transduction mécano-chimique fournissant une forme explicite de freinage. Enfin, remarquons que si la fonction exponentielle obtenue rappelle celle du freinage thermodynamique (équation 3.6), la physique sous-jacente est différente : ici l'arrêt de l'étalement ne provient pas de la limitation thermodynamique de la polymérisation, mais d'un effet indirect mécano-chimique.

3.3 Solution

Nous avons maintenant tous les éléments pour résoudre le modèle. Nous verrons d'abord comment tenir compte de l'étalement dans l'augmentation de la tension de surface, puis nous résoudrons le problème mécanique de la forme de la membrane. Enfin, nous donnerons les résultats du modèle : surface d'adhésion en fonction du temps.



FIG. 3.13 – A gauche : invaginations de la membrane dans le cytosquelette. Au centre : image montrant le détail de l’actine au voisinage de la membrane (d’après [52]) . A droite : schéma du bord de la zone de contact à θ et à $\theta + d\theta$. L’aire $A_d(\theta + d\theta)$ provient de l’extension de $A_d(\theta)$, à laquelle on retranche le petit morceau de surface dA_r .

3.3.1 Origine et expression de la tension de surface

Comme on l’a vu plus haut, une des particularités du phénomène d’étalement est qu’il s’effectue à volume constant mais à surface extérieure croissante. Les temps d’étalement sont trop courts pour invoquer un éventuel recours de la cellule à ses réserves de membrane (qui nécessite de l’ordre d’un quart d’heure) . Une explication simple part de la constatation que la membrane peut être très invaginée dans le cytosquelette (fig 3.13). Nous distinguons alors l’aire «vraie» de l’aire optique ou aire apparente. L’aire vraie tient compte des invaginations, tandis que l’aire apparente est l’aire de la surface moyenne «lissant» ces invaginations. Dans la suite, nous désignerons par «aire» l’aire apparente.

La complexité de l’attachement de la membrane au cytosquelette rend possible le dégrafage de liens, et ainsi l’augmentation de l’aire (apparente) de la cellule, *alors que l’aire vraie reste constante*. Ce détachement se fait au prix d’une énergie par unité de surface, que l’on peut assimiler à une tension de surface effective. C’est la démarche adoptée dans [26] et [13]. Les auteurs de [24] supposent de même que l’élasticité de l’enveloppe cellulaire est essentiellement contrôlée par le couplage entre le cortex d’actine et la membrane.

Nous présentons ici le calcul quantifiant cette apparition de tension de surface pendant l’étalement.

Formellement, la membrane possède une élasticité effective : quand on la tire, son aire augmente, alimentée par les replis contenus dans l’aire vraie. Nous supposons donc que, dans la limite des petites extensions où l’aire en réserve est encore disponible, l’augmentation de tension de surface est linéaire avec l’augmentation de surface de la partie dorsale :

$$\begin{aligned} d\sigma &= C \frac{dA}{A} \\ \sigma &\leq C \end{aligned} \quad (3.36)$$

L’aire extérieure $A_d(\theta)$ s’exprime en fonction de θ :

$$A_d(\theta) = 2\pi R^2(\theta)(1 + \cos \theta) \quad (3.37)$$

où $R(\theta)$ est donné par la relation 3.14.

À $t + dt$, la partie dorsale $A_d(\theta + d\theta)$ provient de l’extension de $A_d(\theta)$, à laquelle on retranche

le petit morceau de surface dA_r qui s'est retrouvé plaqué contre le substrat entre t et $t + dt$ (voir figure 3.13). L'extension de la partie dorsale est donc

$$\frac{dA}{A} = \frac{1}{A_d(\theta)}(A_d(\theta + d\theta) - (A_d(\theta) - dA_r(\theta))) \quad (3.38)$$

La surface $dA_r(\theta)$ s'exprime en fonction du rayon d'adhésion $r(\theta)$:

$$dA_r(\theta) = 2\pi r(\theta)dr(\theta) = 2\pi r(\theta)d\theta \frac{dr(\theta)}{d\theta} \quad (3.39)$$

le rayon d'adhésion $r(\theta)$ est donné par la relation 3.15. L'accroissement de tension est donc :

$$d\sigma = Cd\theta \frac{1}{A_d(\theta)} \frac{dA_d(\theta)}{d\theta} + C \frac{1}{A_d(\theta)} 2\pi r(\theta) \frac{dr(\theta)}{d\theta} d\theta \quad (3.40)$$

Par intégration de 0 à θ , on obtient la tension de surface

$$\sigma(\theta) = \sigma_0 + C \ln \frac{A_d(\theta)}{A_d(0)} + C \int_0^\theta \frac{1}{A_d(\theta')} 2\pi r(\theta') \frac{dr}{d\theta'} d\theta' \quad (3.41)$$

Remarquons que la tension à angle nul σ_0 n'a *a priori* rien à voir avec σ_s , tension caractéristique de fonctionnement du frein, rencontrée à la section 3.2.3. La figure 3.14 montre la fonction obtenue par l'équation 3.41.

Pour les petits angles, un développement limité donne pour $\sigma(\theta)$

$$\sigma(\theta) = \sigma_0 + \frac{1}{16}C\theta^4 + o(\theta^4) \quad (3.42)$$

Aux petits angles θ , la tension de surface croît donc très lentement avec l'angle macroscopique. C'est cette approximation que l'on utilisera par la suite (voir figure 3.15).

Nous pouvons transposer ce calcul au cas de la géométrie cylindrique. En notant avec l'indice $2D$ les quantités présentées précédemment, l'aire extérieure s'écrit alors

$$A_{d,2D} = 2R_{2D}(\pi - \theta) \quad (3.43)$$

et

$$\sigma_{2D}(\theta) = \sigma_0 + \ln \frac{(\pi - \theta)R_{2D}(\theta)}{\pi R_{2D}(0)} + \int_0^\theta 2 \frac{dr_{2D}(\theta')}{d\theta'} \frac{1}{R_{2D}(\theta')(\pi - \theta')} d\theta' \quad (3.44)$$

La figure 3.14 et 3.15 montrent la courbe obtenue ainsi que l'approximation pour les petits angles, pour lesquels un développement limité donne :

$$\sigma_{2D}(\theta) = \sigma_0 + bC\theta^3 + o(\theta^3) \quad (3.45)$$

avec $b \simeq 0.0530517$.

Enfin, nous donnons ici, pour les besoins de la section 3.3.2, l'équivalent du rayon et de la tension de surface quand θ est proche de π (calculs détaillés dans l'annexe A) :

$$R(\theta) = \begin{cases} R_{3D}(\theta) \simeq 2R_i \left(\frac{2}{3}\right)^{1/3} (\pi - \theta)^{-4/3} & \text{en géométrie sphérique} \\ R_{2D}(\theta) \simeq R_i \left(\frac{3\pi}{2}\right)^{1/2} (\pi - \theta)^{-3/2} & \text{en géométrie cylindrique} \end{cases} \quad (3.46)$$

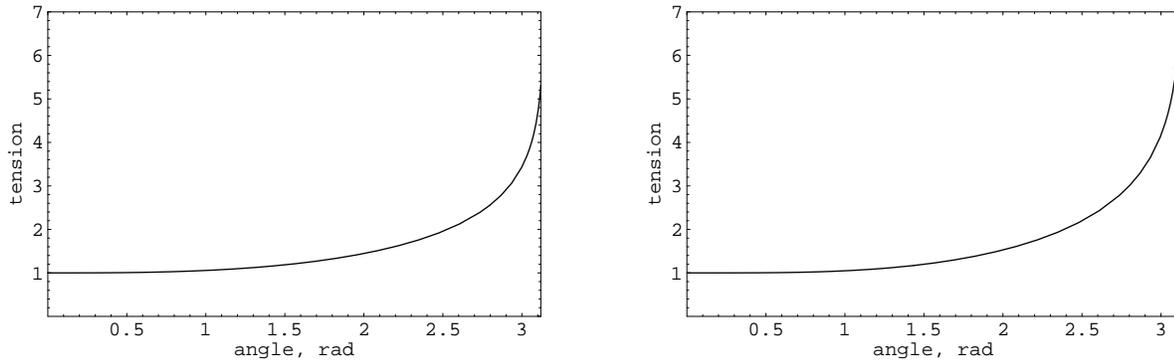


FIG. 3.14 – La tension de surface σ en fonction de l'angle macroscopique θ . A gauche, géométrie sphérique; à droite, géométrie cylindrique

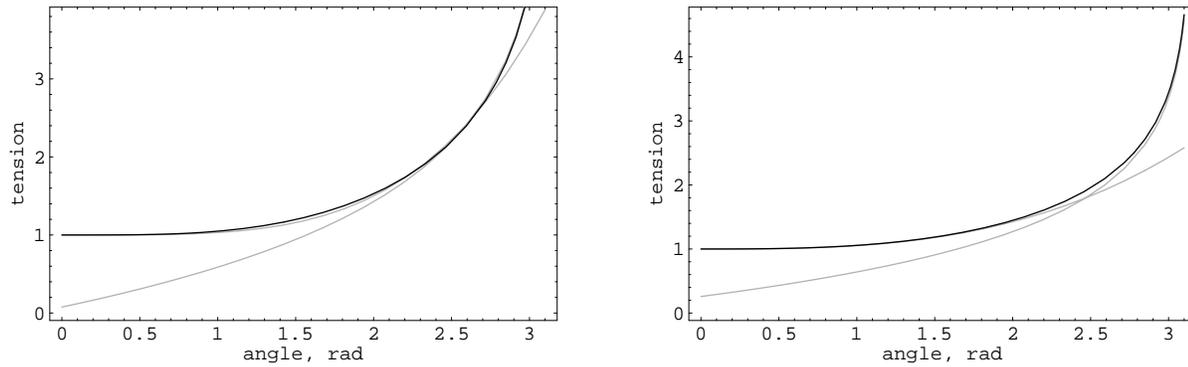


FIG. 3.15 – La tension de surface σ (en noir) en fonction de l'angle macroscopique θ , et les deux approximations (gris) : aux petits angles développement limité en θ^4 ; pour θ proche de π équivalent au voisinage de π . A gauche, géométrie sphérique; à droite, géométrie cylindrique. Dans les deux cas, l'approximation $\theta \sim \pi$ prend le relais de l'approximation des petits angles. $\sigma_0 = C = 1$.

En ce qui concerne la tension :

$$\sigma(\theta) = \begin{cases} \sigma_{3D}(\theta) \simeq -\frac{4}{3}C \ln(\pi - \theta) & \text{en géométrie sphérique} \\ \sigma_{2D}(\theta) \simeq -\frac{3}{2}C \ln(\pi - \theta) & \text{en géométrie cylindrique} \end{cases} \quad (3.47)$$

On retrouve la divergence de chacune de ces deux quantités quand $\theta \rightarrow \pi$; remarquons que la tension de surface ne diverge que logarithmiquement.

La figure 3.15 montre les graphes des tensions de surface avec les deux approximations (pour les petits angles et pour les angles proches de π).

On peut donner ici un ordre de grandeur pour la constante élastique C . Dans [24], les auteurs mesurent l'activité de canaux ioniques au moyen de micropipettes et y mesurent une tension de surface. Celle-ci y est de l'ordre de 1 à 5 $pN.nm^{-1}$, valeur comparable avec [26] (0.6 à 1.6 $pN.nm^{-1}$). Les auteurs estiment une constante élastique définie de la même façon que par l'équation 3.36 et trouvent 48 $pN.nm^{-1}$. Notons que cette valeur de C est faible par rapport au coefficient d'extension d'une membrane lipidique pure (1000 $pN.nm^{-1}$), qui concerne l'extension de l'aire vraie. Dans la suite nous retiendrons donc une valeur de C de l'ordre de quelques dizaines de $pN.nm^{-1}$. Le rapport σ_0/C est donc de l'ordre de 0.1, ce qui reste raisonnablement petit devant 1 (hypothèse des faibles extensions).

3.3.2 Résolution du problème géométrique - forme de la membrane

Pour connaître la vitesse d'avancée du front, il est nécessaire de connaître, d'une part, la vitesse de polymérisation perpendiculairement à la membrane, et d'autre part, l'angle de la tangente de la membrane en sortie de zone adhésive. En principe, chaque point M de la membrane sur laquelle pousse l'actine avance horizontalement à la vitesse (voir figure 3.16) :

$$V(M) = V_{pol} / \sin \psi(M) \quad (3.48)$$

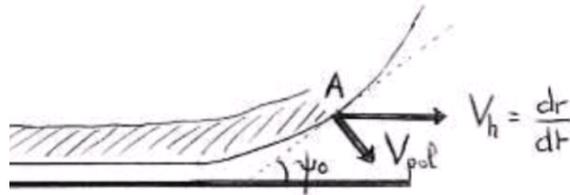


FIG. 3.16 – la vitesse d'avancée du front s'obtient en divisant la vitesse de polymérisation par l'angle ψ

Motivés par l'idée que la polymérisation a lieu dans les zones mécaniquement les plus stimulées, nous supposons pour simplifier que le point A est le «moteur», et donc que toute la zone adhésive avance à la vitesse $V(A) = V_{pol} / \sin \psi(A) = V_{pol} / \sin \psi_0$. C'est ce dernier facteur géométrique ψ_0 que nous allons calculer ici, en résolvant le problème d'équilibre mécanique de la membrane et du cytosquelette.

La cinétique de polymérisation étant lente devant les temps de réajustement mécaniques (donnés en principe par la taille de la cellule divisée par la vitesse du son), nous pourrions supposer que l'équilibre mécanique est toujours réalisé, et ce même si l'équilibre chimique de polymérisation n'est pas atteint. On calcule donc ici les profils d'après les équations d'équilibre mécanique, dans les différentes zones et les conditions de raccordement d'une zone à l'autre.

D'autre part, la taille de la zone adhésive étant faible devant celle du disque d'adhésion complet, nous traiterons le problème à une dimension. L'étude de plaque et de membrane devient celle de baguette et de fil, et le profil est simplement donné par la hauteur $z(x)$.

Nous avons vu plus haut que notre modélisation de la cellule implique trois zones différentes. La zone supérieure est une portion de sphère de rayon $R(\theta)$, la zone inférieure est une plaque mince élastique (module de flexion κ_a) en adhésion. Enfin, la zone de raccordement intermédiaire correspond à de la membrane libre soumise à la tension $\sigma(\theta)$ calculée précédemment, de module de flexion κ_m . Cette membrane étant détachée, elle est plus souple que le complexe membrane/actine de la zone d'adhésion. Dans cette zone où l'angle de la tangente $\psi(s)$ peut dépasser $\pi/2$, parler de $z(x)$ n'a plus de sens ; suivant [53], on paramètrera la membrane par $\phi(s) = \theta - \psi(s)$ (voir figure

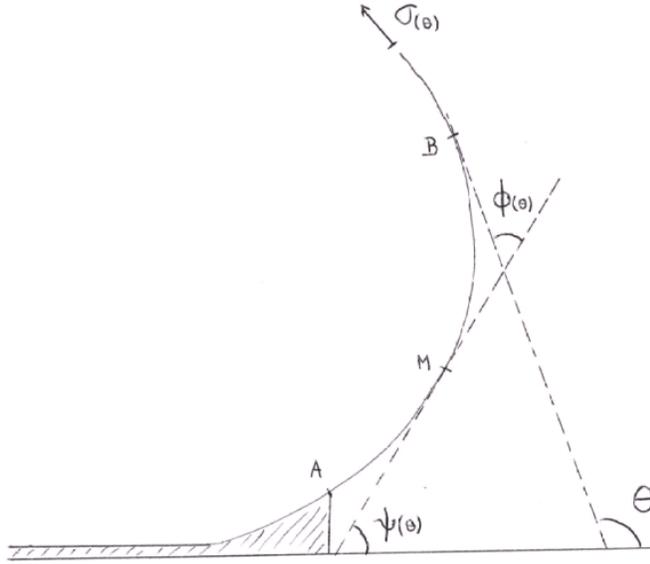


FIG. 3.17 – Notations utilisées : ψ est l'angle de la tangente avec l'horizontale. L'angle ϕ est la différence entre ψ et θ : $\phi(\theta) = \theta - \psi(\theta)$.

3.17).

Zone de membrane libre

Pour la zone de membrane libre, nous supposons comme [53] que la forme minimise le potentiel de Helfrich (avec une tension dépendant de θ selon le calcul de la section 3.3.1) :

$$\frac{1}{2}\kappa_m \int \left(\frac{d\phi}{ds}\right)^2 ds - \sigma(\theta) \int \cos \phi ds \quad (3.49)$$

On en tire l'équation d'équilibre de la membrane paramétrée par $\phi(s)$:

$$\kappa_m \frac{d^2\phi}{ds^2} - \sigma(\theta) \sin \phi(s) = 0 \quad (3.50)$$

Cette équation est celle d'un pendule inversé, l'abscisse curviligne s jouant le rôle du temps. Elle a été résolue, par exemple, dans [53]. Sans la résoudre, nous en tirons une intégrale première concernant la courbure $d\phi/ds$ en deux points quelconques M et N :

$$\frac{1}{2} \left(\frac{d\phi}{ds}\right)^2_{(M)} - \frac{1}{2} \left(\frac{d\phi}{ds}\right)^2_{(N)} = \lambda(\theta)^2 (\cos \phi_{(N)} - \cos \phi_{(M)}) \quad (3.51)$$

Ces équations font apparaître la longueur caractéristique

$$\lambda(\theta)^{-1} = \sqrt{\frac{\kappa_m}{\sigma(\theta)}}$$

La longueur $\lambda(\theta)^{-1}$ représente le rayon de courbure typique de la membrane libre, ou encore la distance caractéristique sur laquelle la tangente change de direction (longueur de corrélation de la tangente). Nous verrons plus bas que c'est aussi l'ordre de grandeur de la longueur de l'arc A-B. Pour une vésicule, λ^{-1} est une longueur submicronique. Une estimation donne $\lambda^{-1} \simeq 100 \text{ nm}$.

Pour avoir le droit de considérer que l'aspect macroscopique de la cellule est bien une portion de sphère (ce qui est essentiel pour pouvoir définir un angle de contact), il est capital de contrôler que la portion A-B reste bien microscopique. Ce n'est pas évident *à priori* : on pourrait imaginer une situation où la membrane est très courbée en A mais où l'angle ψ mette une grande distance pour rejoindre θ (figure 3.18). On serait alors dans l'impossibilité de déterminer θ .

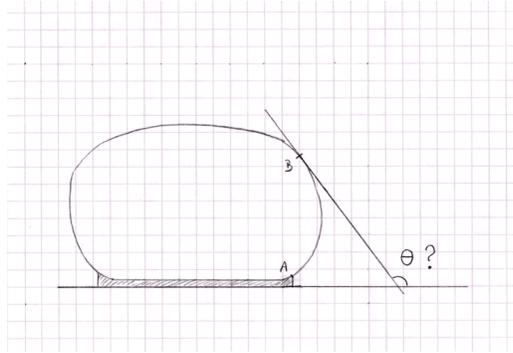


FIG. 3.18 – Cas où la zone intermédiaire A-B n'est pas microscopique : l'aspect macroscopique de la cellule n'est pas une calotte sphérique et on ne peut pas définir d'angle θ .

Calculons pour cela la longueur $s_{A,B}$ de la portion AB :

$$s_{A,B}(\phi_0) = \int_{\phi=0}^{\phi=\phi_0} \left(\frac{ds}{d\phi} \right) d\phi \quad (3.52)$$

ϕ_0 est l'angle ϕ au point A, *a priori* compris entre 0 et θ .

L'intégrale première 3.51 nous donne $ds/d\phi$:

$$\frac{ds}{d\phi} = \frac{1}{\lambda} \left(\frac{1}{2 + 1/\lambda^2 R^2 - 2 \cos \phi} \right)^{1/2} \quad (3.53)$$

d'où

$$s_{A,B}(\phi_0) = \int_{\phi=0}^{\phi=\phi_0} \frac{1}{\lambda} \left(\frac{1}{2 + 1/\lambda^2 R^2 - 2 \cos \phi} \right)^{1/2} d\phi \quad (3.54)$$

Cette intégrale donne une fonction elliptique. Notre but n'étant pas de calculer exactement la longueur $s_{A,B}(\phi_0)$, mais de montrer qu'elle reste faible, il nous suffira de la majorer par une quantité s_{max} . Comme l'intégrande est positif pour tout ϕ , et que ϕ est compris² entre zéro et θ , $s_{A,B}(\phi_0)$ est majorée par $s_{A,B}(\theta)$, elle même majorée par $s_{A,B}(\pi) = s_{max}$ (cas d'étalement total $\theta = \pi$). Il nous reste donc à évaluer l'équivalent quand $\theta \rightarrow \pi$ de la quantité s_{max} suivante :

$$s_{max} = \int_0^\theta \frac{1}{\lambda} \left(\frac{1}{2 + 1/\lambda^2 R^2 - 2 \cos \phi} \right)^{1/2} d\phi \quad (3.55)$$

²Nous verrons plus loin à la section 3.3.2 qu'en réalité, ϕ_0 n'atteint jamais tout à fait θ .

La contribution majeure de l'intégrale provient des valeurs de ϕ où le dénominateur de l'intégrand est petit, c'est-à-dire pour ϕ voisin de 0. Autrement dit, l'essentiel de la zone microscopique A-B a un angle de tangente proche de celui au point B, c'est-à-dire θ (figure 3.19). Pour estimer facilement s_{max} , nous remplaçons $\cos \phi$ par son équivalent $1 - \phi^2/2$, et l'intégrale devient :

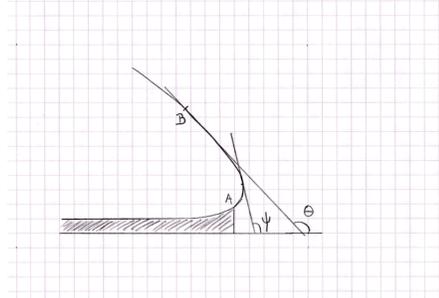


FIG. 3.19 – La majeure partie de la zone intermédiaire a un angle de tangente ψ proche de θ .

$$s_{max} = \int_0^\theta \frac{1}{\lambda(\theta)} \left(\frac{1}{1/\lambda(\theta)^2 R(\theta)^2 + \phi^2} \right)^{1/2} d\phi \quad (3.56)$$

Le résultat de cette intégrale est

$$s_{max} = \lambda(\theta)^{-1} \arg \sinh(\lambda(\theta)R(\theta)\theta) \quad (3.57)$$

Nous cherchons l'équivalent quand $\theta \rightarrow \pi$ de la quantité précédente. Lorsque θ tend vers π , $R(\theta)$ diverge d'après l'équation 3.14, de même pour $\lambda(\theta)$ qui se comporte comme $\sqrt{\sigma(\theta)}$. On a donc une forme indéterminée. Pour poursuivre, on utilise l'équivalent de la fonction $\arg \sinh$: quand $\theta \rightarrow \pi$,

$$\arg \sinh \lambda(\theta)R(\theta)\theta \simeq \ln(\lambda(\theta)\pi R(\theta)). \quad (3.58)$$

Donc

$$s_{max}(\theta) \sim \lambda(\theta)^{-1} \ln(\lambda(\theta)) + \lambda(\theta)^{-1} \ln(\pi R(\theta)) \quad (3.59)$$

Comme $\lambda(\theta)$ diverge, le premier terme est nul. Il reste donc

$$s_{max} \sim \kappa_m^{1/2} \sigma(\theta)^{-1/2} \ln(\pi R(\theta)) \quad (3.60)$$

Pour avoir les équivalents de $\sigma(\theta)$ et $R(\theta)$, nous utilisons les résultats des équations 3.46 et 3.47. Les équivalents de $s_{max}(\pi - \theta)$ sont alors (voir annexe A pour les détails de calcul)

$$s_{max}(\pi - \theta) \sim \begin{cases} \left(-\frac{4}{3} \frac{\kappa_m}{C} \ln(\pi - \theta)\right)^{1/2} \text{ en géométrie sphérique} \\ \frac{2}{3} \left(-\frac{\kappa_m}{C} \ln(\pi - \theta)\right)^{1/2} \text{ en géométrie cylindrique} \end{cases} \quad (3.61)$$

Comme la tension $\sigma(\theta = 0) = \sigma_0$ est normalement du même ordre ou plus petite que le module élastique C , $\sqrt{\kappa_m/C}$ est une longueur plus petite que $\lambda(\theta = 0)$; D'autre part, nous voyons que la divergence de s_{max} quand $\theta \rightarrow \pi$ n'est que logarithmique. La longueur s_{max} , en pratique, reste donc microscopique, comme le montre l'exemple de la figure 3.20.

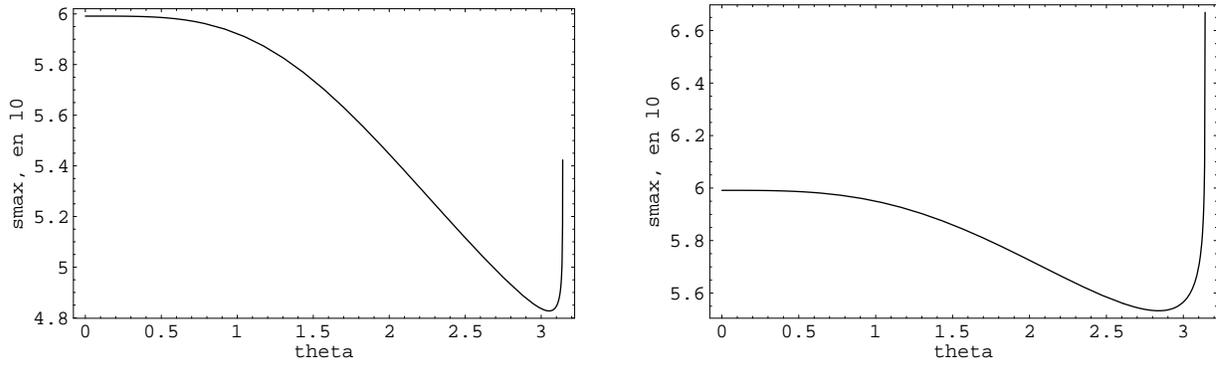


FIG. 3.20 – Exemple de croissance de s_{max} (donné en unités de $l_0 = \lambda_{\theta=0}^{-1}$) en fonction de θ . A gauche, géométrie sphérique ; à droite, géométrie cylindrique. La divergence discutée précédemment ne concerne pas les angles usuels. On a pris $\sigma_0 = C$, et $R_i = 50l_0$. s_{max} ne dépasse pas le μm (quelques l_0).

Zone adhésive

L'équation d'équilibre pour la plaque d'actine en adhésion soumise à une densité n_b de ressorts de raideur k s'écrit [54]

$$\kappa_a \frac{d^4 z}{dx^4} - \sigma \frac{d^2 z}{dx^2} - n_b k z(x) = 0 \quad (3.62)$$

Le coefficient κ_a est ici le module de courbure du complexe actine + membrane. On peut réécrire cette équation en faisant apparaître λ et une nouvelle longueur caractéristique :

$$\frac{d^4 z}{dx^4} - \lambda^2 \frac{d^2 z}{dx^2} - \lambda_a^4 z(x) = 0 \quad (3.63)$$

avec

$$\lambda_a = \left(\frac{kn_b}{\kappa_a} \right)^{1/4} \quad (3.64)$$

Anticipant la suite ($\lambda_a^{-1} \ll \lambda(\theta)^{-1}$) nous négligeons le deuxième terme (tension de surface dans la zone adhésive).³

La résolution donne le profil du bord de la plaque en adhésion :

$$z(x) = \exp(\lambda_a x) (\mathcal{A}(\theta) \sin(\lambda_a x) + \mathcal{B}(\theta) \cos(\lambda_a x)) \quad (3.65)$$

$\mathcal{A}(\theta)$ et $\mathcal{B}(\theta)$ étant des constantes d'intégration dépendant de l'angle macroscopique (θ). λ_a^{-1} apparaît donc naturellement comme distance caractéristique de soulèvement du bord cellulaire. Une estimation montre qu'il est de l'ordre de quelques dizaines de nm, du même ordre que λ_m^{-1} calculé plus haut mais plus petit que λ^{-1} . λ_m^{-1} et λ_a^{-1} traduisent d'ailleurs le même phénomène d'écrantage des forces de tension, λ_a^{-1} du point de vue d'un équilibre mécanique des forces verticales, et λ_m^{-1} du point de vue de l'équilibre des forces horizontales.

Résolution du problème géométrique

Pour déterminer complètement la forme du bord cellulaire et l'angle de la tangente en sortie de zone d'adhésion $\psi_0(\theta)$, il reste à trouver les constantes $\mathcal{A}(\theta)$ et $\mathcal{B}(\theta)$. Pour cela nous avons besoin

³Ceci revient à considérer que la tension de membrane n'exerce que peu d'influence devant les forces d'adhésion et de flexion. La prendre en considération ne modifierait pas la nature de la solution de 3.65.

des équations de passage entre les trois zones. Dans toute la suite on considèrera dz/dx petit, en assimilant l'angle et sa tangente à la dérivée du profil.

La continuité de la tangente au point A implique :

$$z'(x=0) = \lambda_a(\mathcal{A}(\theta) + \mathcal{B}(\theta)) = \psi_0(\theta) = \theta - \phi_0(\theta) \quad (3.66)$$

La continuité de la force de flexion impose la continuité du produit du module élastique de flexion (κ_a ou κ_m) par la dérivée troisième du profil (ou dérivée seconde de l'angle de la tangente) :

$$\begin{aligned} -\left(\frac{d^3z}{dx^3}\right)_{(A)} &= \frac{\kappa_m}{\kappa_a} \left(\frac{d^2\phi}{ds^2}\right)_{(A)} \\ &= \xi \left(\frac{d^2\phi}{ds^2}\right)_{(A)} \end{aligned} \quad (3.67)$$

où ξ désigne le rapport des modules de flexion de la membrane libre et de la plaque d'actine :

$$\xi = \kappa_m / \kappa_a$$

soit

$$2\lambda_a^3(\mathcal{B}(\theta) - \mathcal{A}(\theta)) = \xi\lambda(\theta)^2 \sin\phi_0(\theta) \quad (3.68)$$

Il nous manque encore une équation pour trouver les trois inconnues $\mathcal{A}(\theta)$, $\mathcal{B}(\theta)$ et $\phi_0(\theta)$. Nous utiliserons la continuité du moment \mathcal{M} des forces de flexion. Ce moment est le produit de la courbure par le module de flexion [54]. Au point A, ceci s'écrit

$$\begin{aligned} \mathcal{M}(A) &= -\xi \left(\frac{d^2z}{dx^2}\right)_{(A)} \\ &= \xi \left(\frac{d\phi}{ds}\right)_{(A)} \end{aligned} \quad (3.69)$$

Avec 3.51, on obtient la courbure en A connaissant celle en B qui vaut $(\xi R(\theta))^{-1}$ (calculée avec la continuité des moments de flexion en B) :

$$\left(\frac{d\phi}{ds}\right)_{(A)} = -\frac{1}{R(\theta)}\xi [1 + 2\xi^{-2}\lambda(\theta)^2 R(\theta)^2 (1 - \cos\phi(\theta))]^{1/2} \quad (3.70)$$

D'où la troisième équation cherchée :

$$2\lambda_a^2\mathcal{A} = \frac{1}{R(\theta)}\xi \left[1 + 4\xi^{-2}\lambda(\theta)^2 R(\theta)^2 \sin^2\frac{\phi_0(\theta)}{2}\right]^{1/2} \quad (3.71)$$

Les équations 3.66, 3.68 et 3.71 constituent le système en \mathcal{A} , \mathcal{B} , ψ permettant de résoudre le profil du bord de la zone d'adhésion pour les $x \geq 0$:

$$\begin{aligned} \lambda_a(\mathcal{A}(\theta) + \mathcal{B}(\theta)) &= \psi_0(\theta) \\ 2\lambda_a^3(\mathcal{B}(\theta) - \mathcal{A}(\theta)) &= \xi\lambda(\theta)^2 \sin(\theta - \psi_0(\theta)) \\ 2\lambda_a^2\mathcal{A} &= \frac{1}{R(\theta)}\xi \left[1 + 4\xi^{-2}\lambda(\theta)^2 R(\theta)^2 \sin^2\left(\frac{\theta}{2} - \frac{\psi_0(\theta)}{2}\right)\right]^{1/2} \end{aligned} \quad (3.72)$$

Pour résoudre ce système d'équations, on fait l'hypothèse des petits angles ψ_0 et le problème se ramène au système linéarisé suivant :

$$\begin{aligned}\lambda_a(\mathcal{A}(\theta) + \mathcal{B}(\theta)) &= \psi_0(\theta) \\ 2\lambda_a^3(\mathcal{B}(\theta) - \mathcal{A}(\theta)) &= \xi\lambda(\theta)^2(\sin\theta - \psi_0(\theta)\cos\theta) \\ 2\lambda_a^2\mathcal{A} &= \frac{1}{R(\theta)}\xi \left[1 + 4\xi^{-2}\lambda(\theta)^2R(\theta)^2 \left(\sin\frac{\theta}{2} - \frac{\psi}{2}\cos\frac{\theta}{2} \right)^2 \right]^{1/2}\end{aligned}\quad (3.73)$$

La solution de ce système est montrée sur la figure 3.21 : ψ est une fonction croissante pratiquement linéaire de θ pour les valeurs usuelles des paramètres. Pour les besoins de la solution analytique, on peut utiliser le classement des grandeurs caractéristiques : $\lambda(\theta)^{-1} \ll R(\theta)$ et $\xi \leq 1$.

Si on se place de plus dans la limite des *faibles tensions*, on peut écrire : $\lambda_a^{-1} \ll \lambda(\theta)^{-1}$:

$$\begin{aligned}\lambda_a(\mathcal{A}(\theta) + \mathcal{B}(\theta)) &= \psi_0(\theta) \\ \mathcal{A} &\simeq \mathcal{B} \\ \lambda_a^2\mathcal{A} &\simeq \lambda \sin\frac{\theta}{2}\end{aligned}\quad (3.74)$$

d'où la forme simple pour $\psi_0(\theta)$

$$\begin{aligned}\psi_0(\theta) &\simeq 2\frac{\lambda(\theta)}{\lambda_a}\sin\frac{\theta}{2} \\ &\simeq 2\sqrt{\frac{\sigma(\theta)}{\kappa_m}}\frac{1}{\lambda_a}\sin\frac{\theta}{2}\end{aligned}\quad (3.75)$$

L'angle $\psi_0(\theta)$ est bien une fonction croissante de θ , ce qui est intuitivement attendu : plus la cellule s'étale, plus la tension est grande et plus le bord cellulaire se soulève. D'autre part, on vérifie bien la consistance de l'approximation : l'angle ψ_0 reste petit.

La figure 3.21 compare ces deux solutions : celle utilisant le système linéarisé 3.73 et celle utilisant le système simplifié 3.75. Les deux graphes correspondent à deux valeurs différentes du paramètre λ_a/λ . L'approximation 3.75 est bonne lorsque la longueur λ^{-1} est suffisamment grande devant λ_a^{-1} . Même pour $\lambda_a \sim \lambda$, l'écart à la solution sinusoïdale n'est pas très important, et la variation de ψ en fonction de θ est essentiellement linéaire, ce qui sera important par la suite pour la résolution analytique de l'équation du mouvement. Nous garderons donc l'expression 3.75 même si l'approximation des faibles tension n'est plus valable.

Nous verrons plus loin (section 3.3.4) les limites de cette approximation aux temps très courts.

3.3.3 Solution analytique

Il nous reste à exposer la solution à proprement parler du modèle, c'est-à-dire le calcul conduisant à l'évolution de l'aire d'adhésion en fonction du temps.

Comme on l'a vu au début de cette section, la vitesse horizontale de croissance du front dr/dt s'obtient en divisant la vitesse de polymérisation de l'actine par $\sin\psi_0(\theta) \simeq \psi_0(\theta)$ obtenu à la section précédente. On obtient

$$\frac{dr}{dt} = \frac{V(\sigma(\theta))}{\psi_0(\theta)} = \frac{V(\sigma(\theta))}{2\frac{\lambda(\theta)}{\lambda_a}\sin(\theta/2)}\quad (3.76)$$

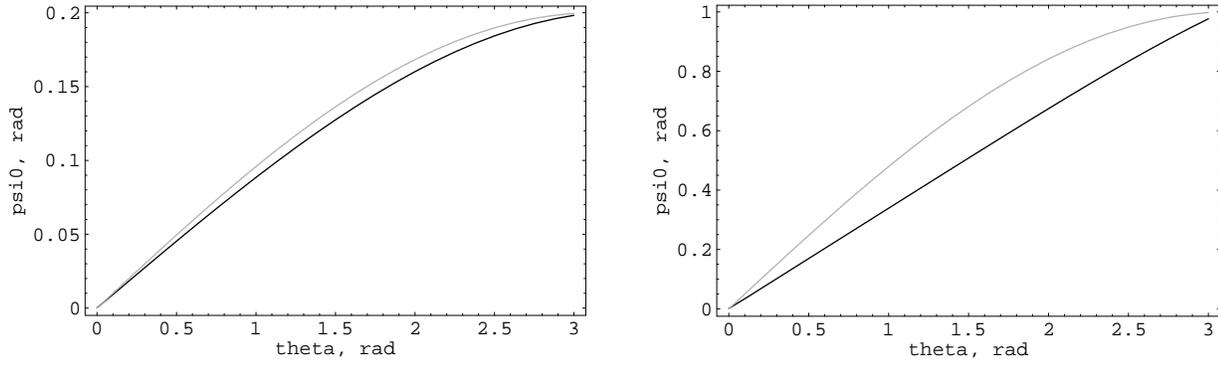


FIG. 3.21 – L'angle ψ_0 en fonction de l'angle macroscopique θ . En noir, la solution du système 3.73, en gris, la solution approchée 3.75. A gauche, $\lambda_a/\lambda = 10$, à droite, $\lambda_a/\lambda = 2$. L'approximation est d'autant meilleure que λ_a/λ est grand.

Pour obtenir une équation différentielle en θ , il faut exprimer dr/dt en fonction du volume de la cellule et θ en dérivant l'équation 3.15. L'expression exacte est compliquée. Pour les petits angles, on a simplement au premier ordre en θ :

$$\frac{dr(\theta)}{dt} = \frac{dr}{d\theta} \frac{d\theta}{dt} = R_i \frac{d\theta}{dt} \quad (3.77)$$

avec R_i rayon initial de la cellule. L'équation 3.76 devient l'équation différentielle en θ recherchée :

$$\frac{d\theta}{dt} = \frac{1}{R_i} \frac{V(\sigma(\theta))}{2 \frac{\lambda(\theta)}{\lambda_a} \sin(\theta/2)} \quad (3.78)$$

En supposant que la variation du cisaillement est faible pendant le mouvement ($\sigma(\theta_m) - \sigma_0 \leq \sigma_0$), on peut linéariser l'expression de $V(\sigma(\theta))$ au voisinage de la tension de blocage $\sigma_m = \sigma(\theta_m)$.

Pour justifier cette hypothèse, nous anticipons la section 3.4.1 pour un calcul d'ordre de grandeur : avec $C \simeq 20 \text{ pN.nm}^{-1}$, $\sigma_0 \simeq 5 \text{ pN.nm}^{-1}$ [24] et $\theta \simeq 1 \text{ rad}$ [13], on obtient $\sigma_m - \sigma_0 \sim 0.2\sigma_0$. Ceci nous assure en tous cas que σ_m reste raisonnablement proche de σ_0 .

$$V(\sigma(\theta)) = \left(\frac{dV}{d\sigma} \right)_{(\sigma(\theta_m))} (\sigma(\theta) - \sigma(\theta_m)) \quad (3.79)$$

On voit ici que, dans le cadre de cette hypothèse, la seule quantité que l'on retient de la caractéristique stress/vitesse de l'actine est $(dV/d\sigma)_{(\sigma(\theta_m))}$.

Géométrie sphérique

En géométrie sphérique, σ s'exprime pour les petits angles comme $\sigma = \sigma_0 + C\theta^4/16$ (équation 3.129). On obtient donc l'expression de la vitesse de polymérisation en fonction de θ :

$$V(\theta) = \frac{1}{16} C \left(\frac{dV}{d\sigma} \right)_{(\sigma_m)} (\theta^4 - \theta_m^4) \quad (3.80)$$

D'où l'équation différentielle cherchée :

$$\frac{d\theta}{dt} = \frac{1}{R_i} \frac{1}{16} C \left(\frac{dV}{d\sigma} \right)_{(\sigma_m)} \frac{\theta^4 - \theta_m^4}{2 \frac{\lambda(\theta)}{\lambda_a} \sin \frac{\theta}{2}} \quad (3.81)$$

Comme on suppose que σ varie peu au cours du mouvement, la longueur $\lambda(\theta)^{-1} = \sqrt{\kappa_m/\sigma(\theta)}$ est considérée, au premier ordre en θ , comme constante : $\lambda(\theta)^{-1} = \lambda_0^{-1}$. Ainsi nous pouvons isoler T , la quantité homogène à un temps, et son inverse α :

$$\begin{aligned} T &= 2R_i \frac{\lambda_0}{\lambda_a} \frac{4}{C} \frac{1}{\theta_m^2 \left(-\frac{dV}{d\sigma}\right)_{(\sigma_m)}} \\ &= R_i \frac{\lambda_0}{\lambda_a} \frac{2}{\sqrt{C}} \frac{1}{\left(-\frac{dV}{d\sigma}\right)_{(\sigma_m)}} \frac{1}{\sqrt{\sigma_m - \sigma_0}} \end{aligned} \quad (3.82)$$

$$\begin{aligned} \alpha &= \frac{1}{R_i} \frac{\lambda_a}{\lambda_0} \frac{C}{4} \theta_m^2 \left(-\frac{dV}{d\sigma}\right)_{(\sigma_m)} \\ &= \frac{1}{R_i} \frac{\lambda_a}{\lambda_0} \frac{\sqrt{C}}{2} \left(-\frac{dV}{d\sigma}\right)_{(\sigma_m)} \sqrt{\sigma_m - \sigma_0} \end{aligned} \quad (3.83)$$

Il ne nous reste plus qu'à résoudre

$$\frac{d\theta}{dt} = \alpha \frac{1}{\theta_m^2} \frac{\theta_m^4 - \theta^4}{4 \sin \frac{\theta}{2}} \quad (3.84)$$

Dans l'approximation des petits angles, $\sin(\theta/2)$ devient $\theta/2$ et l'équation 3.84 donne :

$$\frac{d(\theta^2)}{dt} = \alpha \frac{1}{\theta_m^2} (\theta_m^4 - \theta^4) \quad (3.85)$$

La surface d'adhésion étant proportionnelle à θ^2 , l'équation sur la surface S est :

$$\frac{d}{dt} \left(\frac{S}{S_m} \right) = \alpha \left(1 - \left(\frac{S}{S_m} \right)^2 \right) \quad (3.86)$$

avec la condition initiale

$$S(t=0) = 0. \quad (3.87)$$

La solution à 3.86 et 3.87 est

$$S(t) = S_m \tanh(\alpha t). \quad (3.88)$$

Autres géométries

Ce dernier calcul correspond au cas sphérique. On peut se demander ce qu'il en est du cas cylindrique, et dans des cas plus généraux. D'après la section 3.3.1, la tension aux petits angles pour la géométrie cylindrique varie comme θ^3 . On reprend l'équation 3.80 qui devient alors

$$V(\theta) = bC \left(\frac{dV}{d\sigma} \right)_{(\sigma_m)} (\theta_m^3 - \theta^3) \quad (3.89)$$

où b est une constante numérique (voir équation 3.45).

On est alors conduit à modifier 3.81 en :

$$\frac{d\theta}{dt} = \frac{1}{R_i} bC \left(\frac{dV}{d\sigma} \right)_{(\sigma_m)} \frac{\theta_m^3 - \theta^3}{2 \frac{\lambda(\theta)}{\lambda_a} \sin \frac{\theta}{2}} \quad (3.90)$$

Soit, en procédant comme dans le cas sphérique :

$$\frac{d\theta^2}{dt} = \frac{2}{R_i} bC \frac{\lambda_a}{\lambda(\theta)} \left(-\frac{dV}{d\sigma} \right)_{(\sigma_m)} (\theta_m^3 - \theta^3) \quad (3.91)$$

La nouveauté vient ici du fait que la surface d'adhésion est cette fois en θ et non en θ^2 . En effet

$$S = 2Lr \simeq 2LR_i\theta \quad (3.92)$$

où L est la longueur supposée fixe de la protrusion. Ceci donne finalement pour la surface :

$$\frac{d}{dt} \left(\frac{S}{S_m} \right)^2 = \alpha' \left(1 - \left(\frac{S}{S_m} \right)^3 \right) \quad (3.93)$$

avec la condition initiale

$$S(t = 0) = 0. \quad (3.94)$$

La constante de temps α' est légèrement différente de α :

$$\alpha' = \frac{1}{R_i} \frac{\lambda_a}{\lambda_0} 2bC\theta_m \left(-\frac{dV}{d\sigma} \right)_{(\sigma_m)} \quad (3.95)$$

L'équation 3.93 est qualitativement différente de 3.86 puisque cette fois S/S_m apparaît au carré dans la dérivée. Pour les temps courts, c'est S^2 qui croît proportionnellement au temps et non S . Donc :

$$S \sim \sqrt{t} \quad (3.96)$$

Du fait de la dépendance linéaire de la surface d'adhésion avec l'angle (et donc avec le rayon d'adhésion), le résultat pour la géométrie cylindrique est donc sensiblement différent du résultat en géométrie sphérique.

On peut enfin étendre ces calculs au cas général où $\sigma(\theta) \simeq \sigma_0 + b(\beta)\theta^{2\beta}$ où β est positif : l'angle d'étalement θ obéira à l'équation :

$$\frac{d\theta^2}{dt} = \frac{2}{R_i} b(\beta)C \frac{\lambda_a}{\lambda_0} \left(-\frac{dV}{d\sigma} \right)_{(\sigma_m)} (\theta_m^{2\beta} - \theta^{2\beta}) \quad (3.97)$$

Deux cas se présentent alors, selon que $S \sim \theta^2$ ou $S \sim \theta$.

Dans le premier cas (géométrie type «sphérique», par exemple portion de demi-sphère, etc.), l'équation obtenue sur S/S_m ressemble à 3.86 :

$$\frac{d}{dt} \left(\frac{S}{S_m} \right) = \alpha(\beta) \left(1 - \left(\frac{S}{S_m} \right)^\beta \right) \quad (3.98)$$

avec la condition initiale

$$S(t = 0) = 0. \quad (3.99)$$

La constante de temps $\alpha(\beta)$ est proche de α .

La solution de cette équation n'est simple que pour $\beta = 2$ (solution en tanh vue plus haut) et $\beta = 1$ ($S(t) = S_m(1 - \exp(-\alpha t))$). Mais dans le cas général, on peut explorer les comportements de S aux temps courts et aux temps longs. Pour t petit :

$$\frac{d}{dt} \left(\frac{S}{S_m} \right) \sim \alpha(\beta) \quad (3.100)$$

D'où $S(t) \simeq \alpha(\beta)t$: le comportement linéaire aux temps courts est bien conservé. Pour $t \rightarrow \infty$, on a quel que soit β :

$$\alpha(\beta)dt = \frac{1}{1 - (S/S_m)^\beta} d\frac{S}{S_m} \quad (3.101)$$

On a toujours une divergence du temps pour $S \rightarrow S_m$, ce qui nous assure que le rayon sature quel que soit β pour des temps de l'ordre de quelques $T(\beta) = 1/\alpha(\beta)$. Ainsi le comportement linéaire aux temps courts et de saturation aux temps longs est semblable à celui de la géométrie sphérique déjà vu plus haut, restant valable quel que soit le type de croissance de $\sigma(\theta)$.

Dans le deuxième cas (dépendance linéaire de la surface en fonction de l'angle θ , géométrie type «cylindrique»), l'équation sur la surface obtenue est comme pour l'équation 3.93

$$\frac{d}{dt} \left(\frac{S}{S_m} \right)^2 = \alpha'(\beta) \left(1 - \left(\frac{S}{S_m} \right)^\beta \right) \quad (3.102)$$

On observe alors un départ en \sqrt{t} aux temps courts :

$$S \sim \sqrt{t} \quad (3.103)$$

3.3.4 Comportement aux temps «très courts»

La solution analytique présentée dans la section précédente était basée sur l'approximation 3.75 :

$$\psi_0(\theta) \simeq 2 \frac{\lambda(\theta)}{\lambda_a} \sin \frac{\theta}{2} \quad (3.104)$$

Cette approximation avait permis d'avoir $\sin(\theta/2)$ au dénominateur dans l'équation 3.76, et une équation en θ^2 dans 3.85. Elle est donc à l'origine du comportement linéaire de la surface en fonction du temps.

L'approximation 3.104 donne $\psi_0(\theta = 0) = 0$. Or il est facile de voir que $\psi_0 = 0$ n'est pas solution du système 3.72 lorsque $\theta = 0$. En toute rigueur, 3.104 n'est pas correcte aux temps très courts, comme le montre la figure 3.23. En effet, la fonction $\psi_0(\theta)$ vaut en zéro :

$$\psi_0(\theta = 0) = \frac{2}{\lambda R_i} \eta \xi \left(\frac{1}{\xi^2 + 4\eta^2(\xi - 1) + 4\eta^4} \right)^{1/2} \quad (3.105)$$

où on a pris $\eta = \lambda_a/\lambda$. Le développement limité de $\psi_0(\theta)$ à l'ordre un au voisinage de zéro donne :

$$\psi_0(\theta) = \frac{2}{\lambda R_i} \eta \xi \left(\frac{1}{\xi^2 + 4\eta^2(\xi - 1) + 4\eta^4} \right)^{1/2} - \frac{4\eta^2 - 2\xi\eta^2 - \xi^2}{\xi^2 + 4\eta^2(\xi - 1) + 4\eta^4} \theta + o(\theta^2) \quad (3.106)$$

Dans la limite $\xi \ll 1$ et avec $\lambda_a^{-1} \sim \lambda^{-1}$, cette expression se simplifie en :

$$\begin{aligned} \psi_0(\theta) &= \sqrt{\xi} \frac{1}{\lambda_a R_i} - \frac{1}{\xi} \theta + o(\theta^2) \\ &= \psi_0(\theta = 0) - \frac{1}{\xi} \theta + o(\theta^2) \end{aligned} \quad (3.107)$$

$\psi_0(\theta)$ part de la valeur $\sqrt{\xi}/(\lambda_a R_i)$ avec une pente négative (voir figure 3.23). Pour θ très petit, on n'est donc pas dans le régime où $\psi(\theta)$ croît linéairement avec θ . Ceci conduit, pour les temps très courts, à modifier 3.76 de la façon suivante :

$$\frac{dr}{dt} = \frac{V(\sigma(\theta))}{\psi_0(\theta = 0)} = \lambda_a R_i V(\sigma(\theta)) \quad (3.108)$$

Prenant par exemple le cas de la géométrie sphérique, l'équation du mouvement 3.81 est modifiée en :

$$\frac{dr}{dt} = R_i \frac{1}{16} C \left(-\frac{dV}{d\sigma} \right)_{(\sigma_m)} \lambda_a (\theta_m^4 - \theta^4) \quad (3.109)$$

On voit apparaître la constante de temps α_{tc} donnée par :

$$\alpha_{tc} = \frac{1}{16} C \left(-\frac{dV}{d\sigma} \right)_{(\sigma_m)} \lambda_a \theta_m^4 \quad (3.110)$$

Aux temps très courts, $\theta(t)$ se comporte donc linéairement avec le temps :

$$\theta \sim \alpha_{tc} t \quad (3.111)$$

Comme plus haut, le comportement de S dépend si S est proportionnel à θ ou s'il est en θ^2 . Dans le premier cas (géométrie type sphérique), on aura

$$S \sim \alpha_{tc}^2 t^2 \quad (3.112)$$

Dans le second (géométrie cylindrique),

$$S \sim \alpha_{tc} t \quad (3.113)$$

Aux temps très courts pour une géométrie type sphérique la surface croît proportionnellement au carré du temps. Pour une géométrie type cylindrique, la surface croît proportionnellement au temps.

La durée de ce régime est donnée par l'angle θ_{cross} à partir duquel l'approximation 3.75 est valable :

$$2 \frac{\lambda(\theta)}{\lambda_a} \sin \frac{\theta_{cross}}{2} = \sqrt{\xi} \frac{1}{\lambda_a R_i} \quad (3.114)$$

soit, compte tenu de la faible valeur de cet angle :

$$\theta_{cross} \simeq \frac{1}{\lambda R_i} \sqrt{\xi} \quad (3.115)$$

Avec les valeurs usuelles des paramètres ($\lambda \simeq 100 \mu m^{-1}$, $\xi = 0.1$ et $R_i \simeq 5 \mu m$), on est conduit à $\theta_{cross} \simeq 0.6 \cdot 10^{-3} rad$, soit un rayon d'adhésion r_{cross} de quelques nanomètres (figure 3.23). Le régime quadratique ne devrait donc pas, en principe, être observable, ce qui justifie d'avoir pris 3.75 pour la suite des calculs. La figure 3.22 montre la solution numérique du problème complet, sans approximation. Le régime des temps très courts y est juste visible, ainsi que le régime linéaire des temps courts.

Peut-il y avoir des cas particulier où on puisse avoir expérimentalement accès à ce régime ? Il faudrait pour cela que r_{cross} soit de l'ordre de $100 nm$, soit $\theta_{cross} \sim 0.1 \lambda^{-1} \sim R_i$. Ceci peut éventuellement se produire pour une très faible tension de surface, ou encore pour un très faible rayon. Notons que dans ce cas, le rayon d'adhésion est si petit que la notion même de ceinture

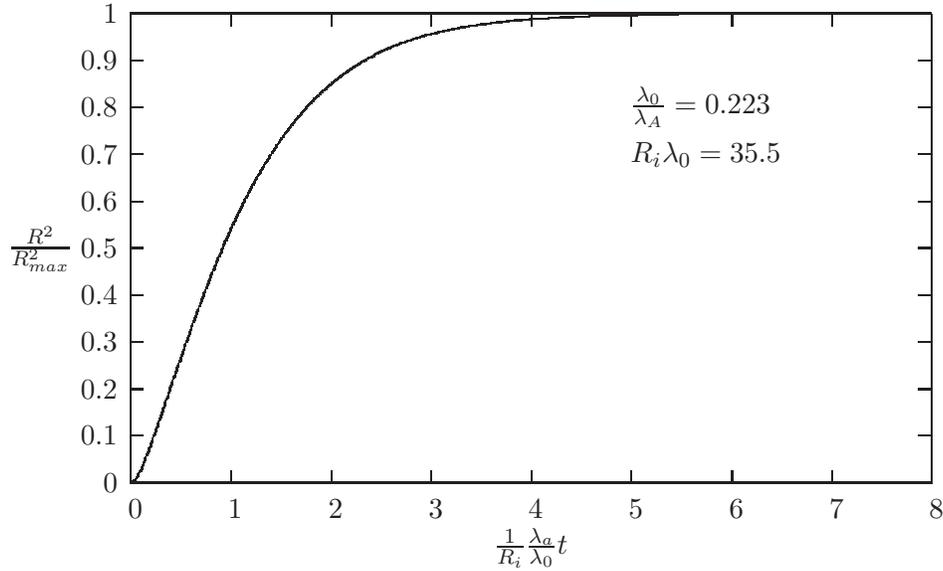


FIG. 3.22 – Un exemple de solution numérique au problème général. On y reconnaît le comportement linéaire aux temps courts. On distingue le départ horizontal (temps très courts).

adhésive est difficile à définir. Le modèle arrive là à ses limites.

Toutefois, ce dernier cas pourrait être envisagé pour une protrusion cylindrique très petite (filopode). Même si le modèle ne s’applique pas exactement au cas du filopode, dont les caractéristiques (adhésion, l’élasticité, etc.), sont sans doute différentes de celles d’un bord cellulaire entier, il permet peut-être d’entrevoir un régime particulier d’étalement d’une structure aussi petite. Nous verrons un peu plus bas (paragraphe 3.5) une ébauche de description pour le filopode.

3.4 Discussion

3.4.1 Ordres de grandeur et comparaison avec l’expérience

Le modèle nous fournit deux quantités : la constante de temps de croissance de la surface d’adhésion, α , et la surface à saturation, S_m . Nous allons ici donner un ordre de grandeur de α calculé à partir des données disponibles dans [24] et [51] :

$$\alpha = \frac{1}{R_i} \frac{\lambda_a}{\lambda_0} \frac{\sqrt{C}}{2} \left(-\frac{dV}{d\sigma} \right)_{(\sigma_m)} \sqrt{\sigma_m - \sigma_0} \quad (3.116)$$

La constante élastique C reliant l’extension de la membrane à sa tension de surface a été estimée dans la section 3.3.1. Une valeur de 10 pN.nm^{-1} semble raisonnable.

Pour estimer $\sqrt{\sigma_m - \sigma_0}$, on utilise

$$\frac{1}{16} C \theta_m^4 = \sigma_m - \sigma_0$$

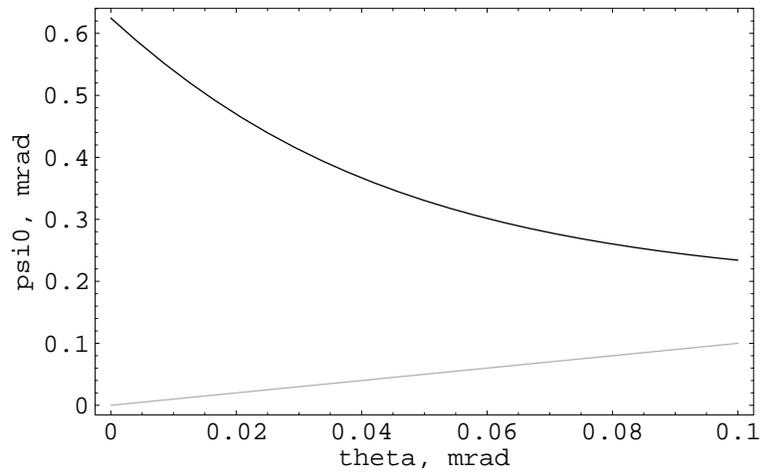


FIG. 3.23 – En noir : l'angle de sortie ψ_0 en fonction de l'angle macroscopique de contact θ , pour θ très petit (ψ_0 et θ sont en *mrad*). L'approximation de l'équation 3.75 (en gris) est valable pour $\theta \geq \theta_{cross} \sim 0.6 \text{ mrad}$.

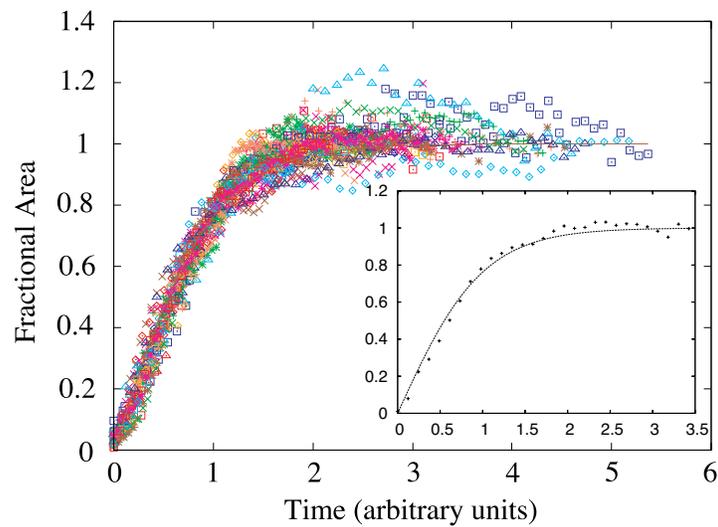


FIG. 3.24 – L'aire de contact normalisée en fonction du temps pour 37 expériences. Le temps a été dilaté de la constante de temps α dont la figure 3.25 montre la répartition. L'encadré montre un exemple d'ajustage sur une donnée expérimentale.

Avec $\theta_m \sim 1 \text{ rad}$ [13], $\sigma_m - \sigma_0 \sim 1 \text{ pN.nm}^{-1}$.

Le facteur crucial est la quantité reliant le stress dans le cytosquelette à la vitesse $(-dV/d\sigma)_{(\sigma_m)}$. Pour l'estimer, on revient à l'expression de la vitesse fonction du stress :

$$V(\sigma) = V_{on}^0 - V_{off}^0 \exp\left(\frac{\sigma}{\sigma_0}\right) \quad (3.117)$$

$(-dV/d\sigma)_{(\sigma_m)}$ sera donc de la forme :

$$\left(-\frac{dV}{d\sigma}\right)_{(\sigma_m)} = \frac{1}{\sigma_0} V_{off}^0 \exp\left(\frac{\sigma_m}{\sigma_0}\right) = \frac{V_{on}}{\sigma_0} \quad (3.118)$$

V_{on} est une vitesse typique de polymérisation. σ_0 peut s'estimer à partir de [24] qui donne une mesure de $\sigma_{1/2}$ (4 à 40 pN.nm^{-1}) et ΔG_0 (14 $k_B T$) d'un canal ionique. On en déduit $\sigma_0 \simeq 3 \text{ pN.nm}^{-1}$. Remarquons que, grâce à l'hypothèse des faibles variations de tension, seule la dérivée locale en σ_m de la fonction $V(\sigma)$ nous intéresse, et non le mécanisme précis du frein.

D'où

$$\alpha = \frac{1}{R_i} \frac{\lambda_a}{\lambda_0} \frac{\sqrt{C}}{2} \left(\frac{V_{on}}{\sigma_0}\right) \sqrt{\sigma_m - \sigma_0} \quad (3.119)$$

Avec les données du tableau 3.1, on en déduit α :

Paramètre	Notation	Estimation
Rayon initial de la cellule	R_i	5000 nm
Tension de membrane de freinage	σ_0	5 pN.nm^{-1} [24, 51]
Vitesse typique de polymérisation	V_{on}^0	100 nm.s^{-1}
Taille de la ceinture adhésive	λ_a^{-1}	qq 10 nm (partie 3.2.2)
Longueur de corrélation de la membrane	λ^{-1}	10 nm
Constante élastique actine/membrane	C	20 pN.nm^{-1} [24, 13]
Angle maximal d'étalement	θ_m	1 rad [13]

TAB. 3.1 – Paramètres pour le calcul de la constante de temps α

$$\alpha \simeq 0.01 \text{ s}^{-1}$$

Cette valeur est en bon accord avec les valeurs expérimentales obtenues par les expériences de S. Fache, portées sur l'histogramme de la figure 3.25.

Une autre façon de présenter les résultats expérimentaux est de représenter chaque expérience par un point dans un diagramme «rayon asymptotique/ α » (figure 3.25, à droite). On voit ainsi se dessiner un nuage de points légèrement oblique, traduisant la corrélation existant entre les deux paramètres (plus une cellule est grosse, plus son temps d'étalement est grand). Cette corrélation est d'ailleurs prédite par le modèle, car α est proportionnel à R_i taille de la cellule.

3.4.2 Rôle des myosines II

L'observation des cellules ne possédant pas de myosine II montre que leur surface d'adhésion croît plus lentement : $\alpha_{WT} \sim 1.6\alpha_{myo2\Delta}$. En revanche, leur rayon maximal d'adhésion $R_i\theta_m$ est inchangé.

Ceci pourrait être compatible avec une variation de la constante élastique C lorsque les

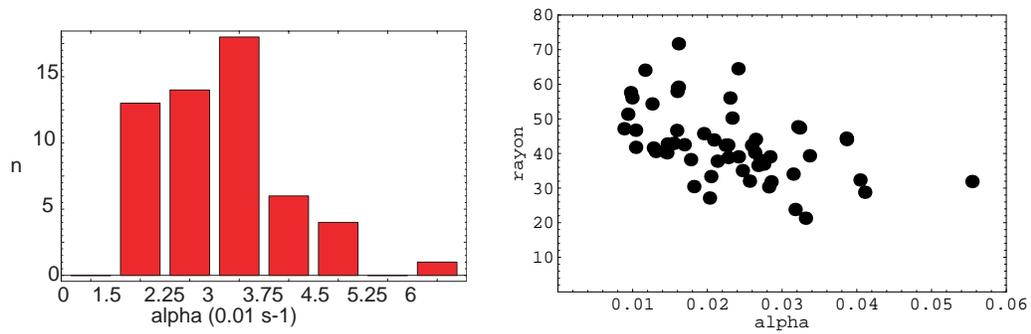


FIG. 3.25 – Deux façons de présenter les résultats d’expérience d’étalement : à gauche, histogramme des α (exprimé en 10^{-2} s^{-1}) obtenus en ajustant les expériences sur l’équation ?? . A droite : chaque point représente une expérience et donne le rayon asymptotique en fonction de la constante de temps α . Le nuage de point est oblique, indiquant une légère corrélation entre les deux paramètres.

[Ca] (μM)	10	30	100	300	1000
α (10^{-2} s^{-1})	2.1 ± 0.4	1.9 ± 0.4	2.3 ± 0.4	2.8 ± 0.4	2.1 ± 0.4
$\langle \ln \left(\frac{r_m}{R_i} \right) \rangle$	0.15 ± 0.2	0.40 ± 0.2	0.27 ± 0.2	0.26 ± 0.2	0.39 ± 0.2

TAB. 3.2 – L’effet du calcium sur α et r_m .

myosines sont absentes. En effet, toutes choses égales par ailleurs (ce qui semble ici être le cas), α dépend de C par sa racine carrée :

$$\alpha(C_2) = \alpha(C_1) \sqrt{\frac{C_2}{C_1}} \quad (3.120)$$

La délétion de myosines II diminuant la tension corticale de *Dictyostelium discoideum* ([55] donne un facteur 3), on peut supposer que le coefficient d’élasticité C est affecté (cellules plus molles, donc tension plus faible à déformation égale). Le facteur 1.6 observé entre α_{WT} et $\alpha_{myo2\Delta}$ correspondrait à un facteur 2.6 dans les constantes élastiques.

3.4.3 Effet du calcium

Nous présentons ici les paramètres d’étalement lorsque l’on ajoute du calcium extracellulaire à différentes concentrations. Comme on l’a dit plus haut, ni le temps d’étalement ni le rayon maximum ne semblent modifiés. L’interprétation des résultats est rendue difficile par le fait que de nombreuses courbes d’étalement sont irrégulières, montrant par exemple des successions complexes de deux, ou plus, lobes d’étalement. Ces expériences ne sont pas conservées pour l’ajustement avec la courbe théorique. Or il semble, comme on l’a mentionné en section 3.1.1, que la présence du calcium extracellulaire rend les expériences plus régulières, diminuant le nombre d’étalement complexes. L’effet du calcium n’est donc pas net au vu des résultats ci-dessous, où seules les résultats «simples» ont été conservés (table 3.2).

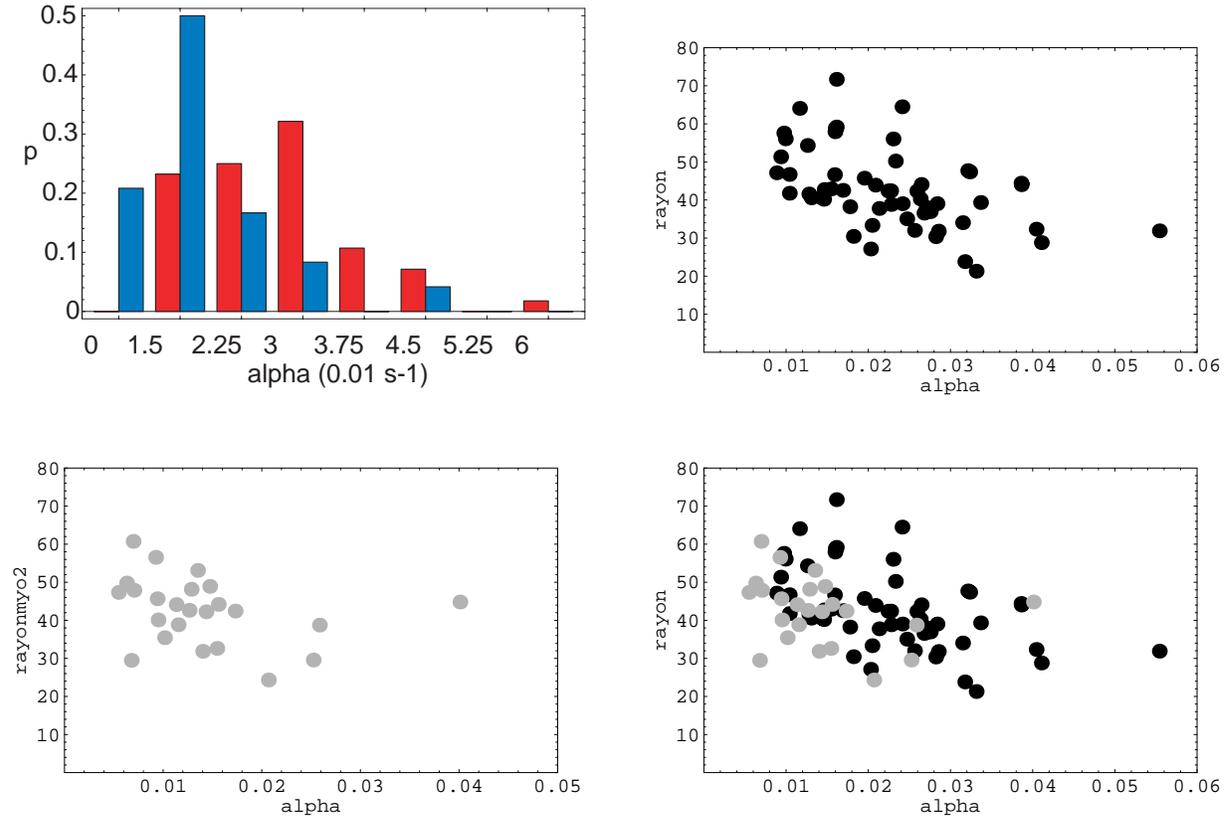


FIG. 3.26 – Influence des myosines II sur l'étalement. En haut à gauche : histogramme des valeurs α pour WT (à gauche, sombre) et myo 2Δ (à droite, clair). Pour pouvoir comparer, on a normalisé par le nombre d'expériences de chaque série : le diagramme donne donc des probabilités. Les cellules sans myosines II s'étaient plus lentement (α plus petit). Diagramme α -rayon asymptotique pour les cellules sauvages (en haut à droite, noir) et les cellules sans myosine II (en bas à gauche, gris). En bas à droite, les deux graphes superposés. Les deux nuages de points sont distincts, indiquant que les cellules sans myosine II sont plus lentes. De plus, on distingue une corrélation, au moins pour les WT : plus α est grand, plus le rayon asymptotique est grand.

3.5 Succès et limites du modèle

3.5.1 Succès du modèle

Notre modèle permet donc de rendre compte de plusieurs faits expérimentaux :

- Localisation des forces au bord de la zone adhésive ;
- Sensibilité de l'étalement à l'élasticité du substrat : lorsque le module d'élasticité du substrat devient inférieur au kPa , l'étalement s'effectue beaucoup moins vite [37] ;
- Comportement linéaire de l'aire d'adhésion en fonction du temps pour les temps courts ;
- Saturation aux temps longs ;
- Ordre de grandeur du temps d'étalement ;
- Comportement des cellules sans myosine II, dont l'étalement est plus lent.

Le modèle propose également la prédiction du comportement quadratique de l'aire de contact en fonction du temps pour les temps «très courts», prédiction qui semble sous la résolution des expériences classiques d'étalement. Cependant, comme on l'a mentionné plus haut, il est envisageable que ce phénomène soit visible dans certaines conditions particulières, comme pour des structures très petites. Nous reviendrons plus bas sur d'autres géométries (lamellipodes, filopodes) conduisant à ce type de comportement.

3.5.2 Limites : démarrage de l'étalement

Dans [35], les auteurs montrent les courbes d'étalement obtenues pour des fibroblastes de souris. Ils distinguent trois phases d'étalement : phase basale, continue, et contractile. Chaque phase ($i = 1, 2, 3$) est caractérisée par une loi de puissance pour la surface en fonction du temps :

$$S \sim t^{a_i} \quad (3.121)$$

Pour la phase basale, $a_1 = 0.4 \pm 0.2$; pour la phase continue, $a_2 = 1.6 \pm 0.9$; pour la phase contractile, $a_3 = 0.3 \pm 0.2$. Dans le deuxième régime on reconnaît un équivalent de la phase de croissance linéaire, suivi de la phase de saturation (phase contractile). En revanche, la phase initiale ne cadre pas avec notre modèle. Ceci met en évidence les limites du modèle pour les temps très courts. En effet, la notion de «ceinture adhésive» n'a pas de sens au tout début de l'étalement, comme on l'a mentionné plus haut (section 3.3.4). Le modèle ne traite pas des problèmes d'initialisation de l'étalement, qui intervient d'ailleurs souvent assez tard après la sédimentation [3]. Comment la cellule met-elle en place les ponts adhésifs au tout début de l'étalement ? Le modèle ne répond pas à cette question, qui reste ouverte.

Notons enfin que la phase contractile observée par [35] présente des oscillations du bord cellulaire. Ceci, entre autres faits expérimentaux, nous motivera pour le chapitre qui va suivre.

3.5.3 Limites : La géométrie adoptée est-elle réaliste ?

On peut également s'interroger sur les limites du modèle concernant sa modélisation géométrique. En effet, nous avons supposé que la cellule en étalement est une portion de sphère de centre fixe s'étalant dans toutes les directions, ce qui est assez loin de la réalité par au moins trois aspects.

- Premièrement, les bordures de la cellule sont tourmentées et non pas «lisses» : les images de *Dictyostelium* que nous avons rencontrées dans ce chapitre ainsi qu'au chapitre 1 montrent des bords nettement dentelés.
- Ensuite, l'étalement est directionnel (voir figure 3.3) et non symétrique.

- Enfin, il est sans doute plus pertinent de modéliser le pseudopode à l'avant de la cellule par une excroissance sortant de la forme sphérique : si on imagine cette excroissance comme un bourrelet épais (par exemple sphère ou cylindre), la forme générale de la cellule vue de profil, plutôt qu'une calotte sphérique, est plus proche de celle d'un igloo (figure 3.27). Si on suppose que l'excroissance est plate (lamellipode), la forme serait plus proche de l'œuf sur le plat que de la portion de sphère (figure 3.29, à gauche).

Dans ces conditions, comment les résultats que nous avons présentés peuvent-ils garder leur validité ?

Nous allons voir ici quelques exemples montrant que les résultats de ce chapitre restent valables, au moins en partie. Dans le cas contraire, ils peuvent donner des pistes pour l'amélioration du modèle.

Géométrie du bord cellulaire

Le premier point que nous avons soulevé est la forme précise du contour. Le calcul de la forme du bord cellulaire (section 3.3.2) reposait sur l'hypothèse que les efforts mécaniques étaient dans un plan vertical et non horizontal. Or, la forme réelle des cellules, dont le bord est souvent dentelé, suggère l'existence possible d'efforts mécaniques dans un plan horizontal. La condition permettant de négliger ces forces est en effet [54]

$$\rho\lambda_a \gg 1 \quad (3.122)$$

où ρ est le rayon de courbure (dans un plan horizontal) des indentations du bord cellulaire. Dans tout ce qui précède, en supposant un rayon de l'ordre du μm , nous avons supposé que cette condition est satisfaite.

Néanmoins, pour une description plus précise, on pourrait prendre en compte ces contraintes, qui donneraient un terme supplémentaire dans les efforts mécaniques. Ceci pourrait modifier la force du « frein » et donner une saturation plus rapide.

Protrusion épaisse et directionnelle : forme d'« igloo »

Les deux dernières objections mentionnées au début de cette section concernent la géométrie de la protrusion proprement dite. Si nous supposons que celle-ci est épaisse et directionnelle, nous sommes amenés à étudier l'étalement d'une petite excroissance sphérique sortant de la cellule elle-même sphérique (figure 3.27). Nous obtenons ici que les principaux résultats de la section 3.3.3 restent valables, en montrant que, à toutes fins pratiques, nous serons ramenés aux mêmes équations que pour l'étalement d'une sphère. De plus, nous verrons en quoi les conclusions de ce paragraphe permettent d'éclairer certains aspects mal compris des courbes d'étalement.

Si l'on conserve l'hypothèse de l'étalement à volume constant, l'étalement de la petite sphère est *géométriquement* analogue à l'étalement de la grande sphère tel qu'on l'a étudié plus haut. Pour poursuivre dans la comparaison, il faut revoir le calcul de la tension de surface. On peut alors faire deux hypothèses limites : soit l'aire de la petite sphère est indépendante de l'aire de la grande sphère (c'est-à-dire que la membrane ne peut pas passer de la grande à la petite sphère), soit au contraire la grande sphère joue le rôle de réservoir de membrane pour la petite.

Dans le premier cas, on est ramené au cas de l'étalement d'une sphère comme calculé au début de ce chapitre. Les conclusions restent les mêmes ; seul R_i est plus petit, conduisant à un α plus grand (étalement plus rapide pour une petite protrusion).

Dans le deuxième cas, sans doute plus réaliste, où la protrusion emprunte de la membrane

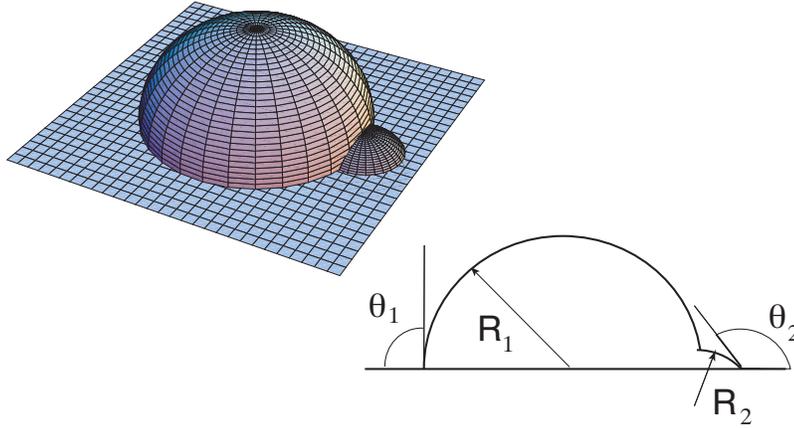


FIG. 3.27 – Notations pour le calcul de la protrusion sphérique. La cellule est une demi-sphère de rayon R_1 , la protrusion est une demi-calotte sphérique de rayon $R_2 \ll R_1$, caractérisée par l'angle d'étalement θ_2

au reste de la cellule, la situation est un peu plus délicate. A titre d'exemple, nous effectuons ici le calcul dans un cas particulier très simple, et nous verrons que la tension obtenue sera de la forme

$$\sigma(\theta) = \sigma_0 + bC\theta^3$$

On suppose pour simplifier que le centre de la protrusion est sous le point de contact du substrat et des deux sphères (figure 3.27). Les indices 1 se rapportent à la grande calotte, l'indice 2 à la protrusion. On distingue donc deux angles θ_1 et θ_2 , ainsi que deux rayons $R_1(\theta_1)$ et $R_2(\theta_2)$ avec $R_2(\theta_2) \ll R_1$. Toujours dans un souci de simplification, nous supposons que θ_1 reste fixé à $\pi/2$ (R_1 est donc également constant), tandis que θ_2 augmente, traduisant l'étalement de la protrusion sans changement de forme du reste de la cellule.

Reprenons alors le calcul de la section 3.3.1 : l'aire dorsale de l'ensemble est la somme de l'aire dorsale de la grande calotte et de celle de la petite demi-calotte, à laquelle il faut retrancher l'aire de contact entre les deux parties (une portion de demi-cercle si $R_1 \gg R_2$)

$$A_d(\theta_2) = A_{d,1}(\theta_1) + A_{d,2}(\theta_2) - A_{c,1,2}(\theta_2) \quad (3.123)$$

Comme θ_1 est supposé fixe, A_d est une fonction de θ_2 uniquement. Les $A_{d,i}$ se calculent comme en 3.3.1 :

$$A_{d,1}(\theta_1) = 2\pi R_1^2(\theta_1)(1 + \cos \theta_1) \quad (3.124)$$

Comme $R_2 \ll R_1$, la protrusion est pratiquement une demi-calotte sphérique, et

$$A_{d,2}(\theta_2) \simeq \pi R_2^2(\theta_2)(1 + \cos \theta_2) \quad (3.125)$$

Quant à $A_{c,1,2}(\theta_2)$, aire d'une portion de cercle, elle vaut

$$A_{c,1,2}(\theta_2) = (\pi - \theta)R_2^2(\theta_2) - \frac{1}{2}R_2^2(\theta_2) \sin(2\theta_2) \quad (3.126)$$

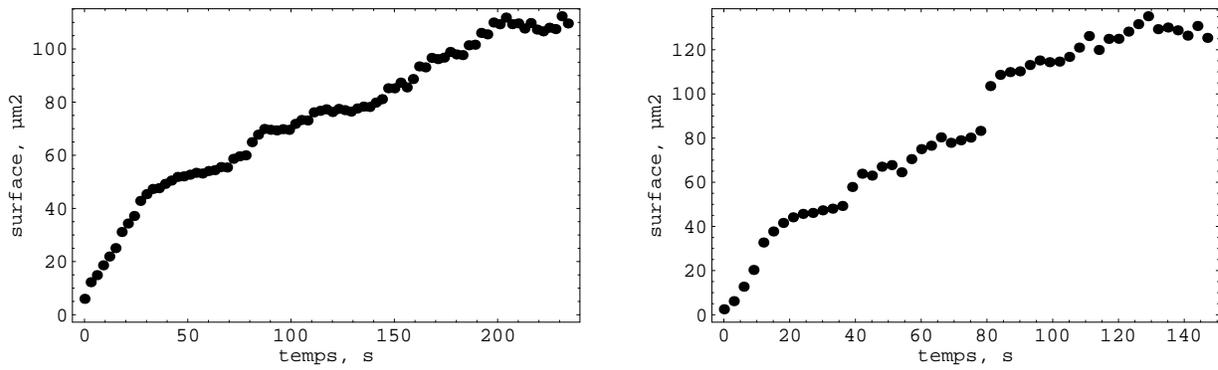


FIG. 3.28 – Exemple d'expérience d'étalement à plusieurs lobes, qui ont été rejetées pour les ajustements de la section 3.4.1. La surface d'étalement croît par paliers. Chaque palier correspond à l'étalement d'une protrusion.

La démarche est ensuite analogue à celle de la section 3.3.1 : à $t + dt$, l'aire $A_d(\theta_2 + d\theta_2)$ vient de l'extension de l'aire $A_d(\theta_2)$, à laquelle on a retranché le morceau $A_r(\theta_2)$ qui s'est retrouvé plaqué contre le substrat entre t et $t + dt$ (figure 3.13). L'extension de la partie dorsale est donc :

$$\begin{aligned} d\sigma &= C \frac{dA}{A_d} \\ &= C \frac{1}{A_d(\theta_2)} (A_d(\theta_2 + d\theta_2) - (A_d(\theta_2) - dA_{r,2}(\theta_2))) \\ &= C \frac{1}{A_d(\theta_2)} \left(\frac{dA_d(\theta_2)}{d\theta_2} d\theta_2 + dA_{r,2}(\theta_2) \right) \end{aligned} \quad (3.127)$$

Dans la limite $R_2 \ll R_1$, A_d est, à toutes fins pratiques, égale à l'aire de la cellule $A_{d,1}$. On peut donc remplacer A_d au dénominateur par $A_{d,1}$, constant. L'intégration est alors immédiate :

$$\sigma(\theta_2) = \sigma_0 + C(A_d(\theta_2) + A_r(\theta_2)) \quad (3.128)$$

Pour les petits angles, un développement limité donne

$$\sigma(\theta) = \sigma_0 + b_i C \theta^3 + o(\theta^3) \quad (3.129)$$

b_i étant une constante numérique.

Le résultat de la partie 3.3.3 nous assure alors (avec $\beta = 3$) que l'étalement conservera ses principales caractéristiques : départ linéaire ($S \sim t$) puis saturation. Ainsi l'étalement d'une petite protrusion sphérique où le reste de la cellule joue le rôle de réservoir d'aire conserve les propriétés de l'étalement d'une sphère simple telle qu'on l'a vu dans ce chapitre.

En particulier, l'étalement de plusieurs protrusions successives pourrait expliquer l'aspect irrégulier des courbes expérimentales parfois observées [3] et que nous n'avions pas conservées pour les ajustements par une courbe simple (voir paragraphe 3.4.1) : chaque lobe d'étalement correspondrait ainsi à l'étalement d'une protrusion, et un étalement cellulaire complet peut résulter de l'étalement de deux ou trois protrusions successives (figure 3.28).

Protrusion «plate», étendue et directionnelle : lamellipode

Si maintenant nous admettons que le pseudopode est plutôt un feuillet à étalement directionnel (figure 3.29, au milieu), nous pouvons modéliser la cellule comme un éventail d'angle q croissant

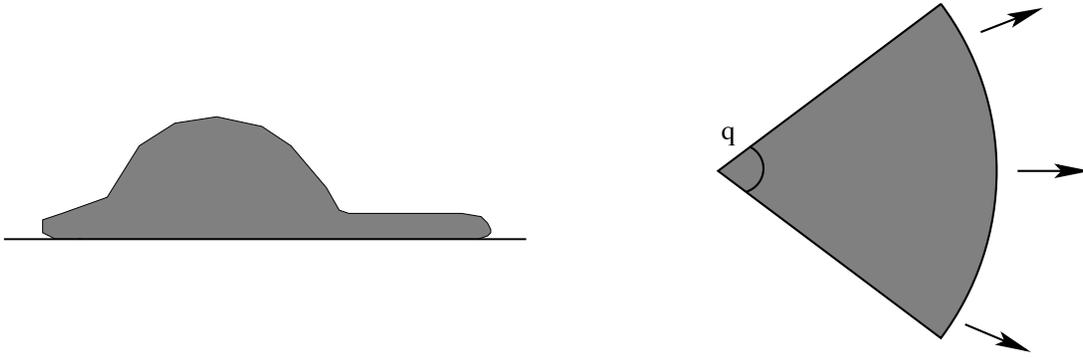


FIG. 3.29 – Géométrie de la cellule. A gauche, le profil plus plausible de *Dictyostelium discoideum*. A droite, un modèle en éventail d'angle q rendant compte de l'étalement directionnel.

par son bord (même figure, à droite). L'aire extérieure s'écrit :

$$A_d(r) = \frac{q}{2}r^2 \quad (3.130)$$

Selon un raisonnement analogue à 3.3.1, à $t + dt$, l'aire extérieure $A_d(r + dr)$ provient de l'extension de $A_d(r)$ à laquelle on a soustrait la frange de surface $qrdr$. Par conséquent,

$$\begin{aligned} d\sigma &= \frac{A_d(r + dr) - (A_d(r) - qrdr)}{A_d(r)} \\ &= 4\frac{dr}{r} \end{aligned} \quad (3.131)$$

D'où l'expression suivante pour la tension :

$$\sigma(r) = \sigma(r = r_0) + 4C \ln \left(\frac{r}{r_0} \right) \quad (3.132)$$

La vitesse de polymérisation, de la forme $V_{on}^0 - V_{off}^0 \exp(\sigma/\sigma_0)$ (voir paragraphe 3.2.3), sera donc :

$$V_{pol}(\sigma) \simeq V_{on}^0 - K \left(\frac{r}{r_0} \right)^{4C/\sigma_0} \quad (3.133)$$

Reste ensuite le problème de la géométrie et du $\sin \psi_0$ dont on a besoin pour calculer la vitesse d'avancée (voir paragraphe 3.3.3).

Ici deux cas se présentent : en premier lieu, si l'on suppose que la vision de la figure 3.16 (couche mince d'actine sous la membrane) est toujours valable, on peut refaire les calculs de la section 3.3.2 qui donneront l'expression de ψ_0 en fonction de r pour cette nouvelle géométrie, et en déduire la vitesse de croissance du front $V_{pol}/\sin \psi_0$. On aura alors comme pour l'étalement de la sphère $S \sim t$.

Mais dans cette configuration se pose le problème de la direction de croissance des filaments. En effet pour une protrusion fine d'épaisseur inférieure au micron (type lamellipode), il est probable que l'actine remplisse tout le volume [46] (voir figure 3.30) au lieu de tapisser la membrane comme sur la figure 3.16. Dans ce cas, la direction de croissance est essentiellement *horizontale* et on peut écrire :

$$\frac{dr}{dt} = V_{pol} \quad (3.134)$$

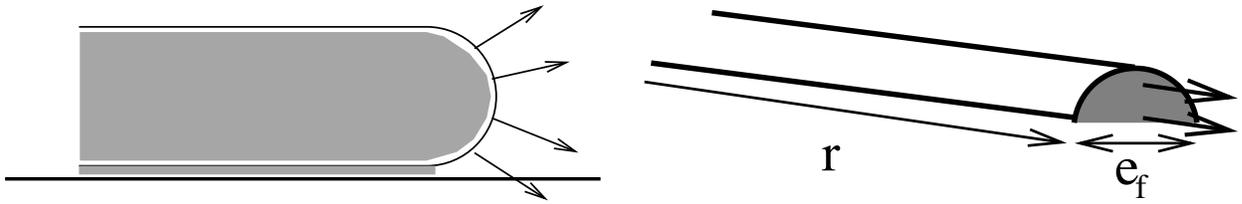


FIG. 3.30 – À gauche : croissance des filaments d’actine dans une géométrie «plate». L’actine remplit toute la protrusion, contrairement à la situation de la figure 3.16. La direction de croissance est cette fois essentiellement horizontale. À droite : notations pour la géométrie unidimensionnelle (filopode). Contrairement à la figure 3.11, la croissance du filopode se fait dans la direction axiale et non latérale.

D’où l’équation de croissance de l’«éventail» :

$$\frac{dr}{dt} = V_{on}^0 - K \left(\frac{r}{r_0} \right)^{4C/\sigma_0} \quad (3.135)$$

Aux temps courts, la vitesse de croissance du rayon d’adhésion est constante (elle vaut V_{on}^0). Le rayon, et non l’aire d’adhésion, croît linéairement avec le temps. La surface croît donc comme le carré du temps. Aux grands temps a lieu, comme dans tous les cas, la saturation à une valeur limite.

Ainsi, une croissance de l’aire d’adhésion comme le carré du temps pourrait être une caractéristique d’une géométrie «plate».

3.5.4 Protrusion plate, fine et directionnelle

Une géométrie encore plus simple que cet éventail est la forme unidirectionnelle, correspondant par exemple à une structure de type «filopode». On peut modéliser cette structure par un demi-cylindre de rayon $e_f/2$, de longueur $r(t)$, croissant *par son extrémité* dans une direction axiale (figure 3.30 ; la situation est différente de celle de la géométrie cylindrique de la figure 3.11, où la direction de croissance était *latérale*). Dans ce cas, l’aire extérieure vaut $\pi r e_f/2$, et la surface d’adhésion vaut $r e_f$. L’accroissement de tension de surface vaut alors

$$d\sigma = 2 \frac{dr}{r} \quad (3.136)$$

A un facteur 2 près, on est donc ramené à la situation précédente pour la croissance du rayon, linéaire avec le temps. En revanche, comme cette fois la surface d’adhésion est proportionnelle au rayon, l’aire d’adhésion est aussi proportionnelle au temps pour les temps courts :

$$S \sim t \quad (3.137)$$

Ainsi, dans le cadre de notre modèle, la croissance d’un filopode par son extrémité présente des caractéristiques différentes de celle d’un lamellipode.

Chapitre 4

«Bascule» biochimique et oscillations

Dans le chapitre 3, nous avons considéré que la concentration C d'actine-G en solution était constante ; le taux de polymérisation dépendait uniquement des stress mécaniques dans la ceinture adhésive. Dans ce chapitre, au contraire, nous envisageons la possibilité pour la concentration d'actine monomérique de varier au cours du temps. Comment, dans le cadre d'un modèle simplifié, tenir compte de la cinétique chimique des réactions de production et de destruction d'actine-G ?

Pour construire un modèle en tenant compte de la réalité biochimique, nous prendrons en compte au moins trois propriétés essentielles des voies de signalisation biochimiques :

- Différentes voies de signalisation conduisent à des façons de polymériser différentes ;
- Des boucles de contre-réaction permettent l'amplification et la fonction d'interrupteur ;
- Des voies de signalisation conduisant au même phénomène peuvent fonctionner en parallèle avec des échelles de temps différentes.

Après une courte présentation de ces propriétés, nous montrons que nous pouvons bâtir un modèle cinétique minimal conduisant à des phénomènes intéressants : seuil, bascule, oscillations.

4.1 Motivation

4.1.1 Symétrie brisée

Une cellule comme *Dictyostelium discoideum* n'est jamais immobile, mais perpétuellement en mouvement. L'observation de cette amibe montre que la cellule motile est toujours polarisée, présentant un avant (pseudopode) et un arrière (uropode). Les expériences de motilité sous flux [4, 3, 17] montrent dans certaines conditions un phénomène étonnant : pour certaines valeurs faibles du flux, les cellules «choisissent» leur sens de progression, apparemment aléatoirement, éventuellement dans le sens contraire du flux. Elles conservent cette direction relativement longtemps.

Dans les expériences de micropipette (voir chapitre 2) pour des aspirations faibles, on assiste à un phénomène analogue : après une durée de quelques secondes, la cellule choisit de sortir ou rentrer, et garde cette direction. Il y a donc une certaine «mémoire» de la direction prise apparemment aléatoirement à l'instant initial. Dans les expériences d'étalement enfin, *Dictyostelium*, d'abord symétrique tant qu'elle est en suspension, «brise sa symétrie» et se *polarise* (*i.e.* les processus moléculaires à l'avant et à l'arrière de la cellule sont différents) très rapidement, quelques secondes après avoir touché le substrat. Pourquoi choisit-elle une direction plutôt qu'un autre, alors que les conditions initiales semblent symétriques ? Une fois la polarité - qui implique des forts gradients d'espèces chimiques dans la cellule - établie, comment peut-elle être stabilisée ?

4.1.2 Exclusion mutuelle et contre-réactions

Les connaissances sur ce sujet très complexe de la polarisation (voir par exemple la revue [7]) font état de plusieurs types de mécanismes biochimiques. Le résultat publié dans [42], déjà mentionné au chapitre 3, propose un modèle basé sur l'exclusion entre deux phénomènes. Les auteurs y montrent qu'il existe dans la cellule deux mécanismes de polymérisation qui s'excluent mutuellement. La partie de la cellule polymérisant par la voie initiée par la protéine Rac devient son front, et la partie polymérisant selon l'autre voie (initiée par Rho) devient l'arrière (uropode). Rho et Rac étant mutuellement antagonistes (*i.e.* l'un réprime l'activité de l'autre), l'état de polarité est stabilisé et la cellule peut garder sa direction. Ceci constitue un mécanisme de *compétition* analogue à ce qu'on rencontre en biologie des populations [56] : il y aurait compétition entre différents types de protéines pour agir sur la polymérisation de l'actine. Lorsque une espèce domine (par exemple Rho), l'autre s'éteint et la zone concernée devient l'uropode (figure 4.1).

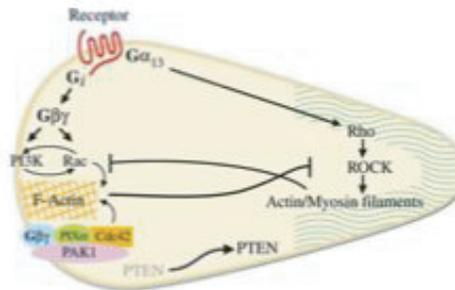


FIG. 4.1 – Les deux voies de polymérisation, initiées par Rho et Rac. Ces deux voies s'excluent mutuellement. Dessin d'après [42].

A ce phénomène d'exclusion, il faut ajouter celui de *boucles de contre-réaction positive*, qui nous intéressera dans la suite. Il s'agit du cas où, au sens large, un mécanisme s'auto-entretient par voie chimique ou mécanique. Les boucles de contre-réaction semblent jouer un rôle majeur dans le maintien de la polarité [7], en impliquant de nombreux acteurs de la motilité cellulaire (protéines, protéines d'adhésion, microtubules, etc.). A titre d'exemple, la protéine Rac et les microtubules formeraient une boucle de contre-réaction où la polymérisation de microtubules active Rac, et Rac stabilise les microtubules. Ainsi Rac entretient sa propre production, de même que la polymérisation de microtubules s'auto-active. Les deux phénomènes se renforcent mutuellement, et stabilisent la cellule dans l'état de polarité choisi.

Dans le même ordre d'idées, nous pouvons citer l'étude des relargages de calcium - un ion important dans les phénomènes de motilité, ([3], chapitre 2) - depuis les stocks internes dans une cellule. Il a été montré ou suggéré [56, 3] que dans certains systèmes biologiques, le relargage est stimulé par la concentration en calcium, constituant ainsi une boucle de contre-réaction positive

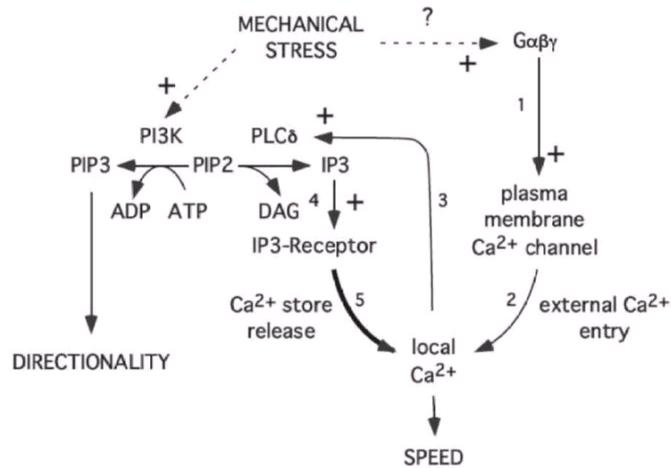


FIG. 4.2 – Le CICR (calcium-induced calcium release) chez *Dictyostelium*. Le calcium, entré par les canaux de la membrane plasmique (voir chapitre 3, paragraphe 3.1.1) stimule la PLC δ , qui stimule à son tour la production d'IP3, qui conduit finalement à la libération des stocks internes de calcium. Schéma proposé par Fache *et al.* [57]

(«calcium-induced calcium release», CICR). Chez l'œuf de *Medaka* (un Amphibien), au-delà d'une certaine concentration-seuil de calcium, le phénomène s'emballe et la quantité de calcium en solution bascule d'une valeur faible, devenue instable, à une valeur élevée, stable. Le phénomène démarre en un point précis, puis se propage de proche en proche en donnant naissance à une onde. On assiste alors à la progression du front de calcium le long de l'œuf [56].

En ce qui concerne *Dictyostelium*, la figure 4.2 montre le schéma de régulation de la vitesse de *Dictyostelium* proposé par S. Fache et F. Bruckert [3]. Comme on l'a vu au chapitre 3, paragraphe 3.1.1, le stress mécanique fait rentrer du calcium par l'intermédiaire des protéines G. Ce calcium active en cascade la phospholipase C (PLC δ) puis IP3 (un phospholipide membranaire), qui enfin active la libération des stocks internes de calcium. Ainsi la présence de calcium contribue à sa propre augmentation.

Pour le physicien, ces différentes situations évoquent des phénomènes d'instabilité. Le système devenant instable, une perturbation initiale peut s'amplifier et faire rapidement basculer le système (phénomène de bascule ou «*switch*») vers un nouvel état stationnaire. Dans le cas du phénomène de polarisation et d'exclusion mutuelle s'ajoute la dimension spatiale : l'état initial est isotrope, et l'état final a brisé cette symétrie, de même qu'un crayon posé sur sa pointe «choisit» une direction pour tomber.

4.1.3 Oscillations

Dans tous les cas que nous venons de citer, la situation initiale devient instable au profit d'un nouvel état stable. Mais il peut se présenter un autre cas, qui nous intéressera dans la suite, où la situation initiale devient instable au profit d'un état *oscillatoire* autour de la situation d'origine. Certains faits expérimentaux montrent de telles oscillations. Dans [58], les auteurs observent des

ondes de surface sur un lamellipode, dont ils mesurent la période. Des oscillations du bord cellulaire sont également visibles en phase finale de l'étalement cellulaire [35, 3] et en phase de motilité [3]. D'autre part, le phénomène perpétuel de «palpage» des environs immédiats de la cellule peut être également vu comme un comportement oscillatoire du bord cellulaire.

La cinétique chimique possède des équations non-linéaires pouvant conduire à ces phénomènes de bascule et d'oscillations. Coupler ces équations à l'équation de diffusion peut conduire à des modèles biologiquement pertinents. C'est l'idée de base des mécanismes de *réaction-diffusion* imaginés par Turing [59] : des motifs périodiques spatio-temporels peuvent apparaître. Ce résultat est *a priori* surprenant car, en principe, la diffusion tend à homogénéiser et donc à détruire les structures, et non à les créer. Ainsi Turing a proposé des modèles de morphogenèse («patterns» de peau de léopard, d'aile de papillon, etc.) découlant directement des équations de réaction-diffusion.

Nous nous intéresserons ici à des modèles plus simples n'incluant pas la dimension spatiale. Les schémas biochimiques que nous présenterons seront donc sans terme de diffusion. Pour une description précise des phénomènes d'exclusion et de progression d'un front, par exemple, un tel schéma sans diffusion est insuffisant ; nous laisserons donc de côté ce type de problème nécessitant au moins une dimension spatiale. Ainsi, nous ne prétendons pas nous attaquer au problème de la motilité dans son ensemble, avec les difficultés de description de la coordination des phases de protrusion à l'avant et de rétraction à l'arrière. Mais nous verrons que, même dans ce cadre «à zéro dimension», nous parviendrons à dégager certains comportements *locaux* intéressants (oscillations, phénomène de seuil) qui peuvent s'avérer pertinents pour certaines situations expérimentales.

4.2 Réaction auto-catalytique

Pour rendre compte des phénomènes de basculement, il faut un terme cinétique d'auto-amplification. En effet, un tel terme non-linéaire peut amplifier une petite variation de concentration et faire basculer celle-ci d'une valeur faible à une valeur élevée. La situation chimique la plus courante menant à une telle non-linéarité est l'auto-catalyse, c'est-à-dire, au sens large, le cas où un produit est impliqué dans sa propre réaction de formation. Le produit peut intervenir sur sa propre production soit en tant qu'activateur, soit en tant qu'inhibiteur. Dans le cas où le produit est activateur, on parle de contre-réaction (ou *feedback*) positive («*L'appétit vient en mangeant, ...*»). C'est le cas du *calcium-induced calcium release* de la figure 4.2, ainsi que des contre-réactions impliquant la protéine Rac citées plus haut. S'il est inhibiteur, la contre-réaction est négative («*...la soif s'en va en buvant*»¹).

La réaction suivante est le plus simple exemple de réaction auto-catalytique :



où A se combine à U pour donner deux molécules de U . Un analogue macroscopique de cette équation peut être «nourriture + bactérie \rightleftharpoons deux bactéries».

Si la concentration en A est constante, la réaction dans le sens $A + U \rightarrow 2U$ se traduit par une cinétique du type :

$$\frac{du}{dt} = k_d a u \quad (4.2)$$

¹F. Rabelais

Bien sûr, u ne saurait tendre vers l'infini, et un terme de saturation rend compte de la limitation de la réaction. On écrit alors

$$\frac{du}{dt} = k_d a u - k_g u^2 \quad (4.3)$$

Le terme retranché (feedback négatif) rend compte de la possible réaction inverse $2U \rightarrow A+U$. Pour notre analogue macroscopique, ce terme traduit la compétition pour la nourriture, la place, ou encore la propagation de maladies, etc., autant de facteurs qui limitent la population lorsqu'elle devient trop grande.

Nous nous intéresserons aux propriétés mathématiques des réactions un peu plus complexes, trimoléculaires, du type «nourriture + deux personnes \rightleftharpoons trois personnes» :



Cette réaction conduit à une cinétique du type

$$\frac{du}{dt} = k_d y u^2 - k_g u^3 \quad (4.5)$$

Si y est constant, cette cinétique rend compte d'un basculement possible à partir d'une valeur faible 0 vers une valeur élevée $k_d y / k_g$ (figure 4.3) : le point 0 devient instable vis-à-vis de petites perturbations², c'est-à-dire que la population colonise le milieu à partir d'un petit nombre d'individus. Ce type d'équation est également à la base de la description du relargage de calcium induit par calcium dont on a fait mention plus haut, depuis une valeur faible vers une valeur haute.

Nous verrons plus loin que ce type de réaction est indispensable pour obtenir un comportement oscillatoire. En particulier, un travail théorique [61] a montré que, dans le cas d'un système à deux espèces, la présence d'une réaction trimoléculaire est nécessaire pour faire apparaître des oscillations entretenues.

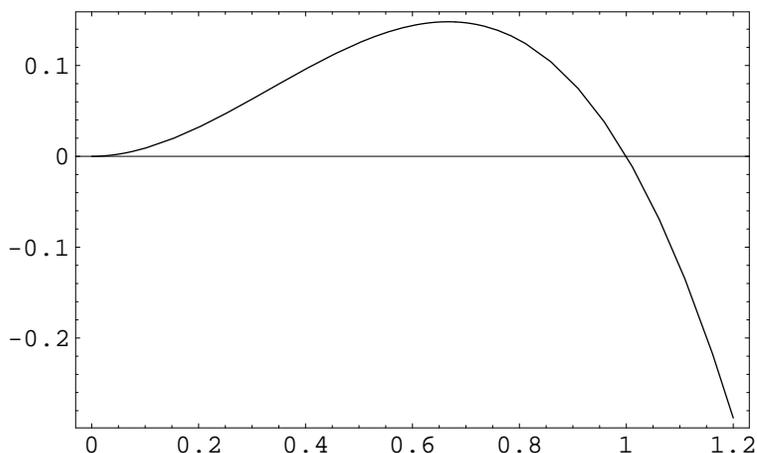


FIG. 4.3 – $du/dt(u)$ d'après l'équation 4.5. Le point 0 devient instable au profit de k_d/k_g ici pris à 1.

²Le problème du démarrage de l'instabilité n'est d'ailleurs pas simple, voir [60].

Il peut paraître irréaliste de prendre en compte une réaction trimoléculaire puisqu'un choc de trois corps est extrêmement peu probable par rapport aux chocs bimoléculaires. En réalité, différents mécanismes bimoléculaires peuvent revenir à ce type de réaction. Considérons par exemple, comme le propose [62], la série de réactions suivante impliquant un intermédiaire Z :



Si la première réaction, de constante K , est rapide (U toujours en équilibre avec Z), $z = Ku^2$ et la deuxième équation donne bien comme pour 4.5 : $du/dt = k_d y u^2 - k_g u^3$. Ainsi une réaction trimoléculaire peut être vue comme une contraction effective de deux réactions bimoléculaires.

Dans [61], l'auteur propose même une série de quatre mécanismes enzymatiques extraits de situations réelles de la biologie. Cette série donne une équation proche de (quoique non semblable à) 4.5. Ainsi, il semble biochimiquement raisonnable de s'intéresser à des réactions trimoléculaires, qui sont une commodité d'écriture pour résumer plusieurs processus à une ou deux molécules.

4.3 Résultats autour des systèmes oscillants

Depuis les années 60, les réactions oscillantes ont cessé d'être considérées comme des simples curiosités et ont été étudiées tant dans le cadre de la chimie pure (réaction de Belousov-Zhabotinskii) que de la biologie : glycolyse, oscillations de concentrations d'hormones, d'enzymes, etc. [56, 63, 64]. Les recherches théoriques se sont intéressées, entre autres, aux conditions d'apparition d'oscillations entretenues et au modèle chimique minimal pouvant conduire à ces oscillations [65, 61, 60, 66].

4.3.1 Cycle limite

Les systèmes oscillants, sauf cas atypiques qui ne nous intéressent pas, correspondent toujours à des *cycles limite stables*. Un cycle limite stable possède une définition mathématique rigoureuse dans le cadre d'équations différentielles couplées. Nous retiendrons simplement la définition suivante : étant donné un système d'équations différentielles du premier ordre faisant intervenir les variables (x_1, x_2, \dots, x_n) , un cycle limite stable Γ est une courbe fermée dans l'espace des (x_1, x_2, \dots, x_n) telle que, pour des conditions initiales suffisamment proches de Γ , le système emprunte une trajectoire s'en rapprochant asymptotiquement (voir figure 4.4 pour $n = 2$). En pratique, après quelques oscillations d'amplitude croissante ou décroissante, on peut considérer que le système est sur son cycle limite. La projection de Γ sur chacun des axes donnent les oscillations pour x_1, \dots, x_n .

Dans la suite, l'assertion «le système présente des oscillations entretenues» ou «le système est oscillant» sera donc équivalente à «il existe un cycle limite stable pour le système».

4.3.2 Quelques conditions nécessaires d'oscillation

Les systèmes oscillants sont des cas bien particuliers de systèmes chimiques, réunissant au moins trois particularités : ils doivent être non-linéaires, *ouverts* et *suffisamment loin de l'équilibre thermodynamique*. Nous présentons très rapidement ces propriétés. Pour plus de détails, on pourra se référer à l'article de revue [60], et à la classification des réactions simples oscillantes de [65].

Il a d'abord été montré [67] qu'un système chimique linéaire (dont toutes les réactions sont

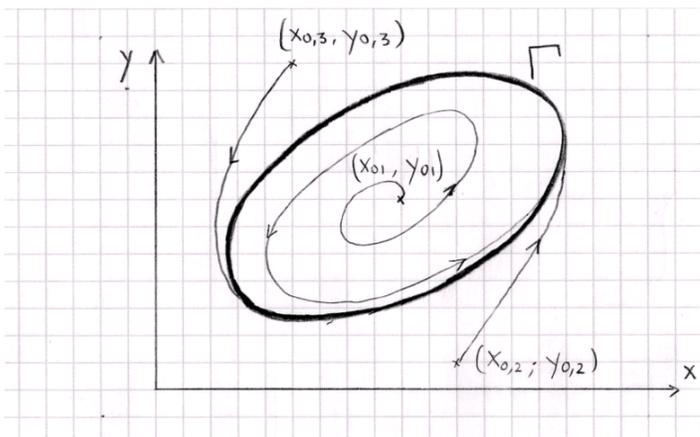


FIG. 4.4 – Cycle limite stable dans un plan x, y : les conditions initiales $(x_{0,i}, y_{0,i})$ donnent des trajectoires se rapprochant asymptotiquement de Γ .

du premier ordre) ne peut pas osciller : il y a alors convergence vers l'équilibre sans oscillation. Une cinétique non-linéaire apparaît donc comme une condition nécessaire pour obtenir des oscillations.

Dans [68], l'auteur montre qu'un système fermé, quel que soit le type de réaction envisagé obéissant à la loi d'action de masse, ne peut pas présenter des oscillations entretenues : le point d'équilibre est unique et stable. Pour présenter un cycle limite, un système doit être ouvert à un flux d'entropie, c'est-à-dire des flux de matière (consommer de la matière première et rejeter des déchets) ou bien d'énergie libre (consommer de l'énergie mécanique et rejeter de la chaleur, par exemple).

Un analogue mécanique utile est le battant d'une horloge à poids : l'analogie des concentrations des espèces est alors la position et la vitesse du pendule. Sans le système de « poids » que l'on remonte, les oscillations du seul battant convergent vers la position stable verticale. Le cycle limite (oscillations de période 2 s) ne doit son existence qu'à l'énergie apportée par le poids qui tombe progressivement, énergie transformée en chaleur par frottement. Pour osciller, le balancier doit donc être ouvert aux flux d'énergie.

Notons que cette condition d'ouverture à un flux est, encore une fois, nécessaire mais non suffisante : dans [66], l'auteur ont montré que pour des systèmes ouverts fonctionnant « près » de l'équilibre thermodynamique, l'état stationnaire est stable et aucun cycle limite n'est envisageable. Ce n'est qu'en s'éloignant substantiellement de l'équilibre thermodynamique que l'état stationnaire peut devenir instable et générer un cycle limite.

4.3.3 Flux de matière

Pour illustrer cette notion de flux de matière, considérons les espèces chimiques X et Y liés par une ou plusieurs réactions chimiques. Ces deux espèces seules dans un réacteur constituent un système fermé aux flux de matière. Si maintenant nous introduisons un réservoir de « matière première » A (dans le cas général il peut y avoir plusieurs A_i) en amont de la réaction et un réservoir de « déchets » B (éventuellement plusieurs B_j) en aval, nous obtenons par exemple



Dans ces réactions, X et Y deviennent des *intermédiaires* pour la réaction $A \rightarrow B$, dont les concentrations sont supposées très grandes et constantes. Il en est de même pour l'horloge, les oscillations du balancier étant des intermédiaires dans le processus de conversion de l'énergie potentielle du poids en chaleur.

Le système est alors dit *ouvert*, au sens où il est perméable à un flux net de matière (A entrant, B sortant). Ce flux *irréversible* de matière indique que, contrairement aux systèmes fermés, l'état où les concentrations sont fixes dans le temps ne peut plus être appelé «équilibre». On généralise alors la notion d'équilibre en définissant cet état comme *l'état stationnaire* du système, qui apparaît comme une prolongation du point d'équilibre dans le régime irréversible. Le résultat de Prigogine mentionné plus haut stipule que, au voisinage direct de l'équilibre, l'état stationnaire est stable. Pour avoir une chance d'osciller, le système doit opérer suffisamment loin de l'équilibre, donc pour un flux de matière suffisamment fort.

Notons enfin qu'au laboratoire, les expériences de réactions oscillantes ne portent pas sur des «vrais» systèmes ouverts, mais le plus souvent sur des systèmes fermés avec un grand excès de A et de B . Dans le cas de la réaction de Belousov-Zhabotinskii [56], par exemple, le système est, à proprement parler, fermé : on ne verse pas de réactant et on ne récupère pas de produits pendant la réaction. Cependant, comme A et B sont en large excès, tout se passe comme si le système était effectivement ouvert pendant les dizaines de minutes où leur concentration varie peu, et où les oscillations sont effectivement observées. Ce n'est qu'après ce laps de temps que A et B commencent à varier et que les oscillations cessent. De même, l'horloge qu'on oublie de remonter est un système fermé, mais pendant les quelques dizaines d'heures où elle fonctionne on peut considérer le poids comme un réservoir d'énergie, et le balancier comme un système ouvert.

4.3.4 Flux d'énergie

Un système ouvert aux flux d'énergie est formellement équivalent à un système ouvert aux flux de matière. Reprenons par exemple le système 4.7. La réaction $A \rightarrow B$ est irréversible, donc la réaction inverse $B \rightarrow A$ consomme de l'énergie libre. Si cette énergie libre est injectée dans le système, on peut imaginer le cycle suivant :



Ce cycle est fermé aux flux de matière mais ouvert à un flux d'énergie libre, et on est ramené au système 4.7. Acheter des légumes et rejeter les déchets (système ouvert aux flux de matière), ou récolter dans son potager ensoleillé en y recyclant les épluchures (système ouvert aux flux d'énergie) sont deux façons formellement équivalentes d'obtenir de la nourriture.

C'est un tel système ouvert aux flux d'énergie libre, dans le cadre des échanges d'actine, que nous proposerons dans la suite. Nous en discuterons les implications énergétiques, en particulier le «coût» pour obtenir des oscillations.

Notons que le résultat de [66], là aussi, indique que le flux d'énergie doit être suffisamment fort pour entretenir les oscillations. Pour un flux trop faible, l'état stationnaire est stable. Nous retrouverons ceci dans la partie 4.5.2.

4.4 Combien de complexes d'actine ?

On a vu au chapitre 3 que l'actine est en perpétuel remodelage, passant de la forme G (actine en solution) à la forme F (actine polymérisée). Considérer que actine-G et actine-F sont les deux seules formes possibles d'actine est une simplification, puisque dans la cellule l'actine peut être liée à différentes molécules régulant la polymérisation (ATP ou ADP, cofiline ou profiline ...). Par «complexe» d'actine nous entendons : «complexe comprenant un monomère d'actine lié à au moins une protéine ou à une molécule d'ATP ou d'ADP». Un modèle relativement complet tenant compte de plusieurs de ces complexes peut inclure une demi-douzaine de variables (comme cela a été fait par exemple pour l'étude du lamellipode de kératocyte dans [5]).

Notre approche sera plutôt de limiter le nombre de formes d'actine et de montrer quel est le nombre minimal de variables à introduire pour obtenir des comportements oscillatoires. De combien d'espèces chimiques avons-nous besoin pour obtenir un phénomène de seuil pour l'étalement ainsi que des oscillations ?

4.4.1 Deux complexes d'actine ne suffisent pas pour l'oscillation

En premier lieu, notre modèle inclut l'actine polymérisée. Elle est caractérisée par le rayon d'adhésion r . Cependant, comme les autres espèces chimiques que nous considérerons sont caractérisées par des concentrations, il est utile pour alléger les notations de se ramener à une grandeur homogène à une concentration. Nous utilisons donc une «concentration effective» ϕ .

Pour calculer cette concentration, nous procédons comme pour une espèce chimique en solution : nous divisons la quantité totale d'actine filamenteuse par un volume, en l'occurrence le volume qui nous intéresse, celui où a lieu les échanges d'actine. Ce volume, que nous notons \mathcal{V} , n'est pas le volume (disque d'adhésion) occupé par la couche d'actine filamenteuse $\pi r^2 h$. Il est plus petit que la cellule tout entière, car la diffusion des monomères localise ces réactions d'échange à un petit domaine (voir figure 4.5). D'après le chapitre 3, nous savons que ce domaine est localisé au bord de la ceinture adhésive, son volume est de l'ordre du $(\mu m)^3$. Pour un lamellipode, \mathcal{V} serait, par exemple, la taille du lamellipode.

Notons que ϕ , n'étant pas une «vraie» concentration, n'est pas directement observable et ne correspond pas à l'activité chimique de l'actine F. Ce qui est observable est le rayon d'adhésion r , auquel ϕ est directement relié (à grand rayon d'adhésion, quantité d'actine F importante). Notons h l'épaisseur de la couche d'actine du disque d'adhésion et ρ la densité (en $mol.L^{-1}$) du gel d'actine filamenteuse ; \mathcal{V} est le volume où ont lieu les échanges d'actine. D'après la façon dont on a défini ϕ , la relation entre ϕ et r est :

$$\phi \mathcal{V} = \rho \pi r^2 h \quad (4.9)$$

$$\phi = \frac{\pi r^2 h \rho}{\mathcal{V}} \quad (4.10)$$

Cette relation correspond à la géométrie sphérique, où la zone de contact est un disque. Pour la géométrie cylindrique (cylindre de longueur L) nous aurions

$$\phi \mathcal{V} = \rho \pi 2 L r h \quad (4.11)$$

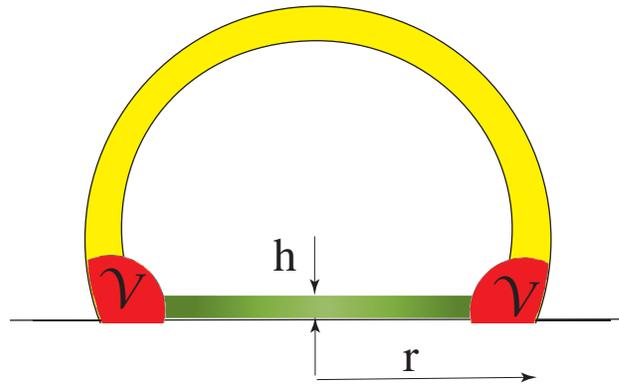


FIG. 4.5 – L'actine filamentuse occupe un disque d'épaisseur h et de rayon r , de volume $\pi r^2 h$. Pour se ramener à une concentration, nous divisons la quantité totale d'actine F par le volume \mathcal{V} , en forme d'anneau, où nous supposons que les échanges d'actine ont lieu. Ce volume est *a priori* différent de $\pi r^2 h$.

et une dépendance de ϕ envers r linéaire. En fait, nous verrons plus loin que, en linéarisant les équations au voisinage de l'état stationnaire, la dépendance de ϕ en fonction de r n'affectera pas les conclusions principales du calcul.

L'autre forme d'actine que nous devons impérativement inclure dans un modèle de polymérisation est l'actine monomérique ou actine-G. Nous notons u sa concentration, et nous supposons que la production d'actine U est auto-catalytique, selon le processus trimoléculaire de l'équation 4.4. Explorons alors le comportement du système formé par ϕ et u (voir figure 4.6).

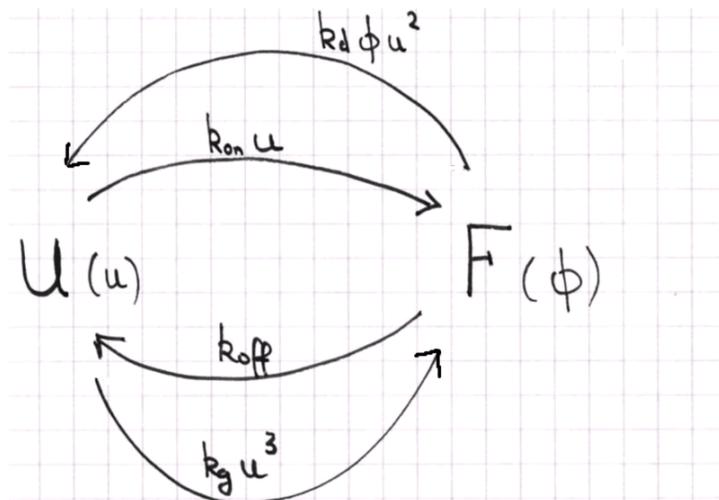


FIG. 4.6 – Cycle de l'actine prenant en compte deux formes. L'actine filamentuse (actine F) est caractérisée par l'angle θ et une concentration effective ϕ . Elle s'échange avec l'actine U à la concentration u .

Nous écrivons tout d'abord la conservation de la matière

$$\begin{aligned}\phi + u &= \mathcal{A} \quad \text{soit} \\ \frac{d\phi}{dt} + \frac{du}{dt} &= 0\end{aligned}\tag{4.12}$$

\mathcal{A} étant la concentration totale d'actine sous toutes ses formes.

D'autre part, en l'absence de réaction de production de u , le taux de polymérisation $k_{on}u - k_{off}$ est relié à l'accroissement du rayon d'adhésion par (voir chapitre 3) :

$$\frac{d(r^2)}{dt} = 2R_i \frac{\lambda_a}{\lambda} \mathcal{L}(k_{on}u - k_{off}(r))\tag{4.13}$$

où R_i est le rayon initial de la cellule, λ_a la taille de la zone adhésive, λ la longueur de corrélation de la tangente de la membrane libre, et \mathcal{L} la taille du monomère d'actine. *A priori* d'après le chapitre 3, k_{off} dépend de θ (donc de r). Pour simplifier, comme nous voulons étudier de petites oscillations au voisinage de l'état stationnaire défini au chapitre 3, nous prenons pour commencer un taux de dépolymérisation constant : $k_{off}(r) = k_{off}^3$. L'équation précédente devient donc

$$\frac{d(r^2)}{dt} = 2R_i \frac{\lambda_a}{\lambda} \mathcal{L}k_{on}(u - u_c)\tag{4.14}$$

De 4.14 et 4.10 on déduit la relation entre l'accroissement de ϕ et la concentration u :

$$\begin{aligned}\frac{d\phi}{dt} &= \frac{\pi h \rho}{\mathcal{V}} 2R_i \frac{\lambda_a}{\lambda} \mathcal{L}k_{on}(u - u_c) \\ &= c(u - u_c)\end{aligned}\tag{4.15}$$

Cette équation définit c comme le taux de polymérisation tenant compte de la géométrie du problème. Il vaut

$$c = \frac{\pi h \rho}{\mathcal{V}} 2R_i \frac{\lambda_a}{\lambda} \mathcal{L}k_{on}\tag{4.16}$$

Quant au taux de dépolymérisation, il vaut simplement cu_c .

En ajoutant à ce terme de polymérisation-dépolymérisation le terme issu de la réaction autocatalytique, on obtient les deux équations cinétiques pour ϕ et u :

$$\begin{aligned}\frac{du}{dt} &= k_d \phi u^2 - k_g u^3 - c(u - u_c) \\ \frac{d\phi}{dt} &= -\frac{du}{dt} \\ &= -k_d \phi u^2 + k_g u^3 + c(u - u_c)\end{aligned}\tag{4.17}$$

En remplaçant ϕ par sa valeur issue de la conservation de la matière 4.12, on peut l'éliminer de l'équation donnant du/dt :

$$\frac{du}{dt} = \mathcal{A}k_d u^2 - (k_g + k_d)u^3 - c(u - u_c)\tag{4.18}$$

Cette équation différentielle est du premier ordre. La solution de ce type d'équation est toujours monotone, convergeant asymptotiquement vers une des situations d'état stationnaire stable (figure 4.7), et cette situation ne peut en aucun cas mener à des oscillations. *Ainsi, inclure deux*

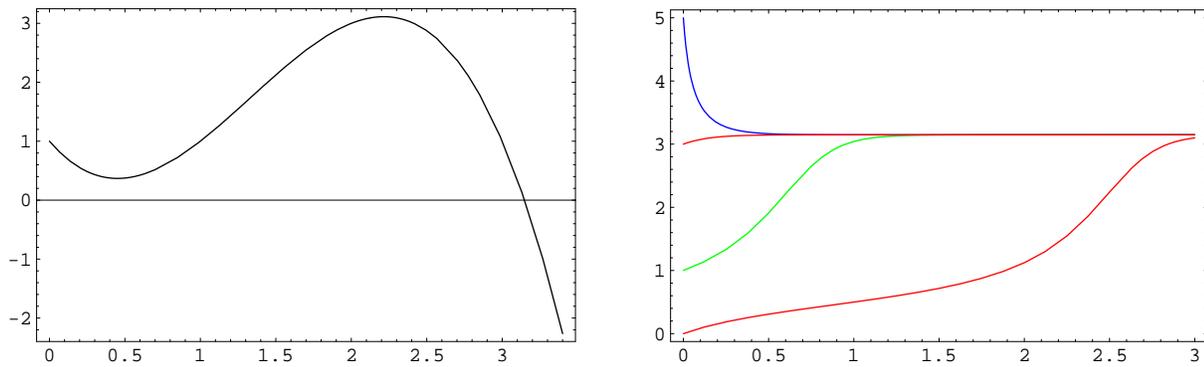


FIG. 4.7 – A gauche : Un exemple de du/dt dans le cas à deux formes d’actine. A droite : Concentration ϕ en fonction du temps dans le cas où on ne considère que deux formes d’actine, pour diverses conditions initiales. Les concentrations suivent une évolution monotone jusqu’à la valeur asymptotique, sans oscillation.

variétés d’actine, l’actine-G et l’actine-F, ne suffit pas à décrire des oscillations.

On peut comprendre ceci sans calcul : l’équation $du/dt = -d\phi/dt$ traduit le fait que l’actine dépolymérisée est immédiatement disponible pour la repolymérisation. Une diminution de la surface de contact a pour conséquence une augmentation *simultanée* de u . A titre d’exemple, partons d’une situation où u est petit et ϕ grand (grand rayon d’adhésion et peu d’actine en solution). La fonction du/dt sera alors positive, u augmente, grâce à l’actine libérée par la dépolymérisation ($d\phi/dt$ étant négatif.). Mais il est impossible que u dépasse la valeur d’état stationnaire, car si u passe à u_c , la dérivée du/dt est nulle.

La situation change radicalement si l’on prend en compte un «retard» entre la production d’actine-G et sa polymérisation en actine-F. Une façon d’introduire ce retard est d’envisager une réaction intermédiaire entre la dépolymérisation de l’actine-F et la formation d’actine-G prête à être repolymérisée. Nous verrons plus loin (section 4.5.2) que cette nouvelle réaction ajoute un terme en $-\phi u^2$ dans du/dt . Ainsi, diminuer ϕ augmente du/dt et *non* u . Une diminution de ϕ (recul du front) se traduira par une augmentation *retardée* des stocks de U .

Reprenons alors l’exemple précédent (ϕ grand et u petit). Le front recule et libère de l’actine-G, mais celle-ci n’est pas encore prête à être polymérisée. Si le retard est suffisant, le front continue de reculer sans que u augmente suffisamment, et c’est seulement *après que ϕ a dépassé l’état stationnaire* que l’actine-G commence enfin à polymériser, ramenant le front en avant. Le même phénomène de dépassement d’état stationnaire («overshoot») se produit dans l’autre sens, et ainsi de suite, donnant naissance à des oscillations de part et d’autre de cet état.

4.4.2 Cycle à trois formes d’actine : aspect énergétique, lien avec le *treadmilling*

C’est ce simple raisonnement qui nous a conduit à distinguer une forme supplémentaire d’actine monomérique, l’actine «Y», intermédiaire entre l’actine F et l’actine U . L’actine-G présente donc deux formes : l’actine juste dépolymérisée, Y , de concentration y , et l’actine prête à être polymérisée («armée»), U , de concentration u . Nous supposons que l’actine Y se polymérise peu ou pas en actine F , et que l’actine F se dépolymérise essentiellement en actine Y et pas en U . C’est le

³Nous verrons le cas général à la section 4.6



FIG. 4.8 – Cycle de l'actine comprenant trois complexes différents. L'actine F (concentration ϕ) donne l'actine Y (concentration y) en se dépolymérisant. Y n'est pas encore prête à être repolymérisée. Par réaction autocatalytique (équation 4.4), Y donne de l'actine U (concentration u) prête à être polymérisée. $U \rightarrow F$ et $F \rightarrow Y$ sont supposées quasi-totales. À droite : considérations énergétiques sur le cycle. U est situé plus haut que F , qui est plus haut que Y . Pour que le cycle puisse tourner dans le sens $U \rightarrow F \rightarrow Y \rightarrow U$, il faut injecter de l'énergie pour que la réaction $Y \rightarrow U$ soit possible.

passage de Y à U qui est autocatalytique, selon un réaction du type 4.5. Le temps caractéristique de cette réaction constitue le retard que nous venons d'évoquer.

Cette situation, certes encore très simplifiée, est plus réaliste que la précédente : l'actine juste dépolymérisée n'est effectivement pas de même nature que celle qui est prête à être polymérisée. Comme on l'a vu au chapitre 3, Les filaments se dépolymérisent en actine liée à l'ADP (forme «CAD», voir paragraphe 3.1.2), alors que l'actine prête à être repolymériser est liée à l'ATP. Entre les deux, la cellule apporte de l'énergie au cycle.

Ainsi notre modélisation à trois espèces chimiques plutôt que deux permet de mieux tenir compte des phénomènes associés au «treadmilling» en particulier du fait que de l'énergie est apportée par la cellule dans le système. Nous allons maintenant voir de quelle façon intervient cette énergie.

D'après notre schéma, les réactions $U \rightarrow F$ et $F \rightarrow Y$ sont supposées *quasi-totales* et le cycle de l'actine a donc le sens privilégié suivant : $U \rightarrow F \rightarrow Y \rightarrow U$ (figure 4.8).

Un tel «mouvement perpétuel» chimique serait interdit par la thermodynamique si le système n'était ouvert à des flux d'énergie : on sait (chapitre 3) que le recyclage des monomères d'actine n'est possible que grâce à l'apport d'énergie par l'ATP. Examinons de plus près la figure 4.8 pour mieux comprendre où intervient cette énergie :

La réaction de polymérisation $U \rightarrow F$ est thermodynamiquement favorisée, donc une mole de F se situe à un état d'énergie libre inférieur à une mole de U . Cela signifie que la constante de cette réaction est plus grande que 1, soit : $K_1 = k_{on,1}/k_{off,1} \geq 1$. De même, si on suppose que l'actine Y se polymérise mal, et que la dépolymérisation engendre essentiellement de l'actine Y , la réaction $F \rightarrow Y$ est thermodynamiquement favorisée ($K_2 = k_{off,2}/k_{on,2} \geq 1$). À ce niveau doit déjà intervenir la source d'énergie : en effet, les constantes thermodynamiques $K_i = k_{off,i}/k_{on,i}$ de réaction de polymérisation devraient être les mêmes des deux côtés du filament (côté *barbed* et côté *pointed*) [43], et les filaments F devraient se dépolymériser aussi bien en Y qu'en U . Mais du côté pointu, les monomères sont majoritairement sous forme ADP (voir figure 4.9, reprise du chapitre 3) : leur taux de dépolymérisation est plus grand que sous forme ATP (côté *barbed*). L'énergie d'hydrolyse de l'ATP permet ici de différencier K_1 de K_2 en favorisant la dépolymérisation de F en Y .

Ensuite, la thermodynamique (équilibre détaillé) impose que l'énergie de passage de U à U soit nulle, ce qui implique

$$K_1 K_2 K_3 = 1, \quad (4.19)$$

d'où $K_3 \leq 1$. L'équilibre détaillé implique donc que, sans apport d'énergie, la réaction d'«armage» de l'actine de Y vers U soit thermodynamiquement très défavorisée. À ce niveau encore interviennent les sources d'énergie de la cellule : de l'énergie est injectée dans le cycle et augmente K_3 . C'est bien ce qui se passe lorsque les monomères passent du complexe cofiline-ADP au complexe profiline-ATP *via* profiline-ADP (voir paragraphe 3.1.2), réaction qui demande de l'énergie libre.

En fait, dès lors que

$$K_3 > \frac{1}{K_1 K_2}, \quad (4.20)$$

la balance détaillée n'est plus respectée et le cycle est favorisé dans le sens $U \rightarrow F \rightarrow Y \rightarrow U$. On peut quantifier l'énergie nécessaire pour que la réaction d'armage de Y devienne thermodynamiquement favorisée : il suffit de donner au circuit une quantité d'énergie par monomère d'actine (voir figure 4.8) :

$$\epsilon > \epsilon_{min} = k_B T \ln(K_1 K_2) \quad (4.21)$$

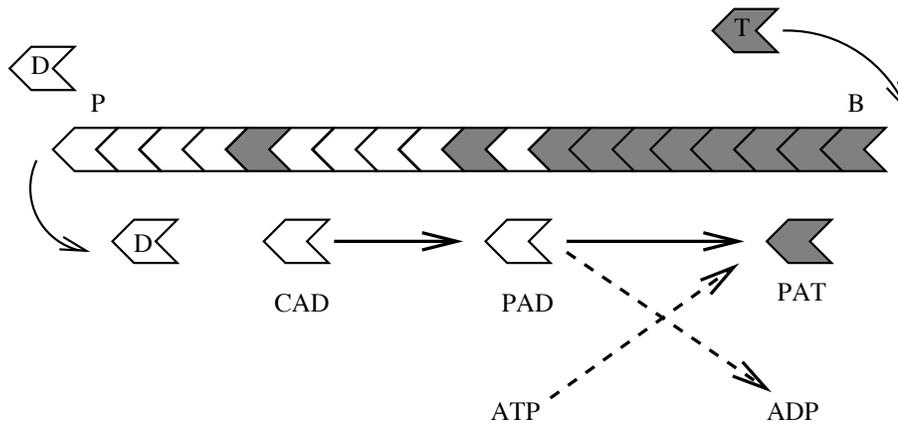


FIG. 4.9 – *Treadmilling* : un monomère rentre dans un polymère lié à un ATP (forme T, en gris). Dans la chaîne, l'ATP est hydrolysé en ADP, et l'actine passe sous forme D (blanc) avant de se dépolymériser. En solution, l'actine est dans des complexes CAD (cofiline-ADP), puis PAD (profiline-ADP), et enfin PAT (profiline-ATP).

On retrouve finalement bien le principe du «treadmilling» (figure 4.9) : pour recycler l'actine, la cellule doit impérativement fournir de l'énergie au cycle. Comme on vient de le voir, cette énergie sert d'une part à favoriser la dépolymérisation vers Y , mais aussi à «remonter» de Y à U .

En revenant aux constantes cinétiques du cycle de la figure 4.8, la condition 4.20 s'écrit :

$$\frac{k_d}{k_g} > \frac{k_{off,1} k_{on,2}}{k_{on,1} k_{off,2}} \quad (4.22)$$

Le paradoxe apparent du circuit fermé de matière est levé : de l'énergie est injectée dans le système de façon «cachée» dans les constantes cinétiques. Ainsi, choisir au hasard k_d sans faire attention à satisfaire 4.19, c'est déjà, implicitement, supposer que la cellule apporte de l'énergie

pour entretenir le cycle.

Notons que, selon le résultat de [66] déjà mentionné, s'éloigner de l'équilibre en violant l'équilibre détaillé est une condition nécessaire mais non suffisante à l'apparition d'oscillations (voir appendice B).

4.5 Modèle d'oscillations

4.5.1 Équations entre les trois formes d'actine

Ce qui précède nous conduit finalement au schéma suivant (figure 4.10) :

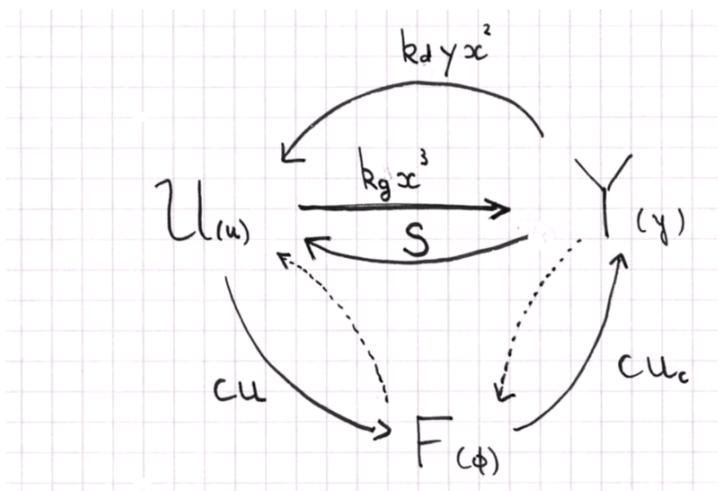


FIG. 4.10 – Cycle de l'actine. L'actine filamenteuse (actine F) est caractérisée par sa concentration effective ϕ . En se dépolymérisant elle donne une actine globulaire (actine Y) à la concentration y , pas encore prête à être repolymérisée. La réaction autocatalytique 4.5 donne de l'actine U prête à être polymérisée («armée»), à la concentration u . On suppose de plus qu'une voie parallèle forme U à partir de Y à la vitesse constante S . Les flèches en pointillés désignent les réactions négligées.

- L'actine-F (concentration ϕ) se forme par polymérisation à partir de U avec le taux de réaction cu (c est relié à $k_{on,1}$, le taux de polymérisation habituel, par la relation géométrique 4.16). Elle dépolymérise avec la constante cinétique cu_c (relié à $k_{off,2}$ par la même relation géométrique) pour donner de l'actine Y. On néglige la polymérisation de Y ($k_{on,2} = 0$) et la dépolymérisation de F en U ($k_{off,1} = 0$)⁴.
- L'actine Y provient de la dépolymérisation de l'actine-F (taux de production cu_c) et se transforme en actine U par réaction auto-catalytique. En outre, nous supposons l'existence d'une voie enzymatique parallèle produisant U avec le taux constant S , dont nous verrons l'importance plus loin.

⁴Comme on l'a vu en introduction générale, négliger $k_{on,2}$ et $k_{off,1}$ conduirait à des incohérences du point de vue de la thermodynamique, mais ne pose pas de problème maintenant qu'on traite un problème cinétique.

- L'actine U est produite par auto-catalyse depuis Y (réaction 4.4) et par la voie S , elle est détruite par la polymérisation en actine-F (taux cu).

les trois formes d'actines obéissent donc au système d'équations :

$$\begin{aligned}\frac{du}{dt} &= -cu + k_d y u^2 - k_g u^3 + S \\ \frac{d\phi}{dt} &= c(u - u_c) \\ \frac{dy}{dt} &= cu_c - k_d y u^2 + k_g u^3 - S\end{aligned}\tag{4.23}$$

Il nous faut discuter la présence de la réaction introduisant le terme S . En effet, toute réaction élémentaire fait en principe intervenir les espèces chimiques avec une puissance supérieure ou égale à un et on peut s'interroger sur le bien-fondé d'une telle cinétique.

En fait, comme le mentionne [69], les réactions enzymatiques présentent souvent une cinétique apparente d'ordre zéro : la fonction $du/dt(u)$, pour de tels processus, a un aspect sigmoïdal qui sature rapidement vers une valeur maximale S . Il s'agit de processus complexes mettant en jeu de nombreuses réactions élémentaires, dont l'ordre zéro n'est qu'une bonne approximation dans le régime de saturation.

Nous verrons plus loin l'importance de S , qui deviendra un paramètre de contrôle privilégié pour l'étude du comportement du système. Pour le moment, nous pouvons voir cette voie enzymatique comme une voie parallèle produisant, à taux constant, de l'actine U à partir d'actine Y . Il peut être pertinent de l'associer à l'adhésion : comme on l'a vu au chapitre 3, l'adhésion est à l'origine de la voie de signalisation conduisant à la polymérisation d'actine et à l'étalement.

Comme pour la section 4.4.1, l'équation de conservation de la matière s'écrit :

$$\phi + y + u = \mathcal{A}\tag{4.24}$$

\mathcal{A} est la quantité totale d'actine, supposée constante.

4.5.2 Résolution du modèle

L'équation de conservation de la matière nous permet d'éliminer y et il reste simplement :

$$\begin{aligned}\frac{du}{dt} &= \mathcal{A}k_d u^2 - (k_g + k_d)u^3 - cu - k_d \phi u^2 + S \\ \frac{d\phi}{dt} &= c(u - u_c)\end{aligned}\tag{4.25}$$

La première de ces deux équations appelle plusieurs commentaires.

- Le terme S (voie enzymatique supposée liée à l'adhésion) commande la hauteur de la courbe $f(u)$. Nous verrons un peu plus loin les conséquences mathématiques de cette constatation.
- L'unique terme de du/dt qui ait une dérivée positive est le terme en u^2 . La réaction auto-catalytique dans le sens $2X + Y \rightarrow 3X$ est donc à l'origine d'un *accroissement possible de du/dt avec u* , ce qui sera crucial dans la suite.

- D'autre part, ϕ joue sur du/dt par le terme $-k_d u^2 \phi$, traduisant une *régulation* des stocks de U par ϕ . Le signe - indique que, lorsque la quantité d'actine-F (ou, ce qui revient au même, le rayon d'adhésion) est suffisamment élevée, la quantité d'actine U *peut diminuer*. A l'inverse, quand le rayon d'adhésion est suffisamment faible, u augmente. Ceci est différent de la situation où l'actine dépolymérisée est directement disponible pour la repolymérisation (ce qui avait donné un terme en $-d\phi/dt$ dans du/dt) : ici, une faible valeur du rayon d'adhésion n'engendre pas une faible valeur de u , mais une faible valeur de du/dt . Par conséquent u ne diminuera qu'avec du retard par rapport à l'augmentation de ϕ . Ainsi, le but que nous nous étions fixé au paragraphe 4.4 (retard entre la dépolymérisation et la repolymérisation) est atteint.

Pour ce qui suit, il sera utile de considérer la forme la plus générale. En effet, le schéma 4.25 s'apparente à un développement de la cinétique à l'ordre trois, la valeur des coefficients du développement dépendant du schéma biochimique. Les termes en u^2 et u^3 résultent de la réaction trimoléculaire (ordre trois). Une réaction bimoléculaire (ordre deux) donnerait des termes en u et u^2 . Le terme en cu est la décroissance d'ordre un du stock d'actine U . Le terme constant S traduit une création constante de U à partir de Y , réaction d'ordre zéro qu'on peut supposer par exemple liée à l'adhésion, comme on l'a souligné plus haut.

Pour généraliser 4.25, nous introduisons des *coefficients effectifs* qui tiennent compte des symétries et des contraintes du problème. Nous écrivons donc, sans perdre la généralité du phénomène :

$$\begin{aligned}\frac{du}{dt} &= f(u, \phi) \\ \frac{d\phi}{dt} &= g(u, \phi)\end{aligned}\tag{4.26}$$

avec

$$\begin{aligned}f(u, \phi) &= -au^3 + (b - d\phi)u^2 - cu + S \\ g(u, \phi) &= c(u - u_c)\end{aligned}\tag{4.27}$$

Nous devons respecter certaines contraintes de signe : a est positif (sans quoi u pourrait tendre vers l'infini) ; le coefficient c est également positif, traduisant la perte de premier ordre de u en actine polymérisée. La constante b est positive pour traduire l'effet auto-catalytique de production de U . Quant à d , il est également positif, exprimant qu'une augmentation de la quantité d'actine-F diminue l'approvisionnement en actine U (mécanisme de régulation déjà mentionné). S est positif, traduisant la réaction d'ordre zéro produisant U à partir de Y (voir table 4.1).

La fonction $f(u, \phi)$ s'annule pour

$$\phi = \frac{1}{d} \left(-au + b - \frac{c}{u} + \frac{S}{u^2} \right)\tag{4.28}$$

et $g(u, \phi)$ s'annule pour

$$u = u_c.\tag{4.29}$$

On en déduit l'état stationnaire du système :

Dans eq. 4.27	Dans eq. 4.25	Signification
a	$k_g + k_d$	réaction auto-catalytique (sens $Y \rightarrow U$ et $U \rightarrow Y$)
b	$\mathcal{A}k_d$	réaction auto-catalytique (sens $Y \rightarrow U$)
c	c	taux de polymérisation de l'actine
d	k_d	influence de ϕ sur u (régulation)
S	S	terme constant de création de U
u_c	u_c	concentration critique de polymérisation de l'actine

TAB. 4.1 – Résumé des coefficients du schéma biochimique. Dans la colonne de gauche sont portés les coefficients «généralisés» de l'équation 4.27; au milieu, les coefficients correspondants dans 4.25. À droite, le sens physique de chacun d'eux.

$$\begin{aligned}
 u_{stat} &= u_c \\
 \phi_{stat} = \phi_c &= \frac{1}{d} \left(-au_c + b - \frac{c}{u_c} + \frac{S}{u_c^2} \right)
 \end{aligned}
 \tag{4.30}$$

Notons enfin qu'on peut encore écrire les équations précédentes sous la forme suivante, faisant apparaître la dérivée seconde de ϕ :

$$\begin{aligned}
 \frac{d^2\phi}{dt^2} + cd u^2 \phi &= -acu^3 + bcu^2 - c^2u + cS \\
 u &= \frac{1}{c} \frac{d\phi}{dt} + u_c
 \end{aligned}
 \tag{4.31}$$

Étude de $f(u, \phi)$

La figure 4.11 donne des exemples de fonctions $f(u, \phi)$ en fonction de u pour différentes valeurs de ϕ (à gauche) et différentes valeurs de S (à droite). Cette figure appelle plusieurs commentaires géométriques qui nous seront utiles par la suite :

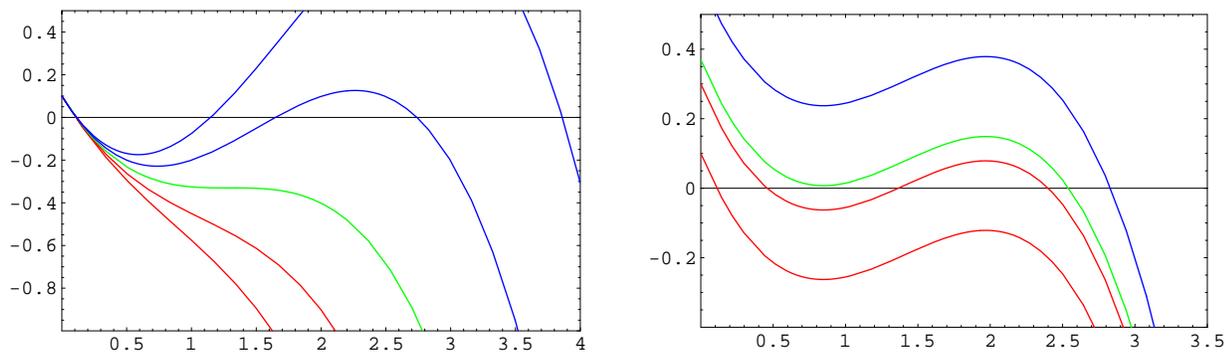


FIG. 4.11 – À gauche : La fonction $f(u, \phi)$ pour cinq valeurs de ϕ : de haut en bas $\phi_l - 0.25$, $\phi_l - 0.125$, ϕ_l , $\phi_l + 0.125$ et $\phi_l + 0.25$. Le maximum local n'existe que pour $\phi \leq \phi_l$. Pour $\phi \leq \phi_l$, les concentrations u donnant les extrema sont positives, de part et d'autre de u_l . ϕ_l vaut $1 - \sqrt{0.6} \simeq 0.22$ et $u_l \simeq 1.3$. À droite : $f(u, \phi)$ pour différentes valeurs de S : il peut y avoir un, deux ou trois points u annulant de du/dt

- Selon les cas, il peut y avoir un, trois ou marginalement deux points d'annulation de du/dt . Le nombre de ces points dépend de la valeur de ϕ (figure 4.11, à gauche) et de S (à droite).
- Dans certains cas ($\phi \leq \phi_l$ défini plus bas), f présente un extremum ; il y a alors jusqu'à trois solutions pour du/dt , $u_1 \leq u_2 \leq u_3$. Notons que l'existence de cet extremum, et donc d'un intervalle de u où $du/dt \geq 0$, est due au terme autocatalytique bu^2 dans l'équation 4.27, qui est le seul terme dans 4.25 à dérivée positive.
- Stabilité des points : u_1 et u_3 sont stables vis-à-vis des petites perturbations (car si on s'en éloigne vers des valeurs supérieures, la dérivée est négative, créant ainsi une «force de rappel»), tandis que u_2 est instable.

Le fait que deux positions stables soient possibles, provenant de la non-linéarité de l'équation 4.27, est le point central qui sera à l'origine de comportements intéressants. Ce type de bistabilité a été observé dans certains systèmes biologiques, comme dans [70]⁵.

Il est aisé de calculer ϕ_l , la valeur limite de ϕ permettant l'existence d'un maximum : en effet la condition d'annulation de la dérivée $\partial f/\partial u$ s'écrit :

$$-3au^2 + 2(b - d\phi)u - c = 0 \quad (4.32)$$

Les valeurs limite de ϕ pour lesquelles la dérivée s'annule en un point (point d'inflexion) correspondent à l'annulation du discriminant de l'équation précédente :

$$\begin{cases} \phi_{l+} = (b + \sqrt{3ac})/d \\ \phi_{l-} = (b - \sqrt{3ac})/d \end{cases} \quad \text{ou} \quad (4.33)$$

Les valeurs de u au point d'inflexion sont alors

$$\begin{cases} u_{l+} = -\sqrt{\frac{c}{3a}} \\ u_{l-} = \sqrt{\frac{c}{3a}} \end{cases} \quad \text{ou} \quad (4.34)$$

Les concentrations étant positives, seule la deuxième solution nous intéresse, d'où

$$\phi_l = \frac{1}{d}(b - \sqrt{3ac})$$

et $u_l = \sqrt{c/(3a)}$.

La condition sur ϕ d'existence d'un maximum de $f(u, \phi)$ pour une concentration u positive est donc :

$$\phi \leq \phi_l = \frac{1}{d}(b - \sqrt{3ac}) \quad (4.35)$$

Le fait que la dérivée $\partial f/\partial u$ en zéro soit négative (elle vaut $-c$) nous assure que les deux extrema de f correspondent à des valeurs de u positives, de part et d'autre de $\sqrt{c/(3a)}$ (figure 4.11).

Cas limite intéressant : oscillations de relaxation

Nous présentons ici un cas limite qui nous paraît intéressant sur le plan de la compréhension, qui de plus peut être fondé biologiquement. Il s'agit de considérer que les phénomènes chimiques de production d'actine U prête à être polymérisée sont bien plus rapides que les phénomènes de

⁵Sur le plan mathématique, la modélisation de [70] se ramène également à une équation du troisième degré.

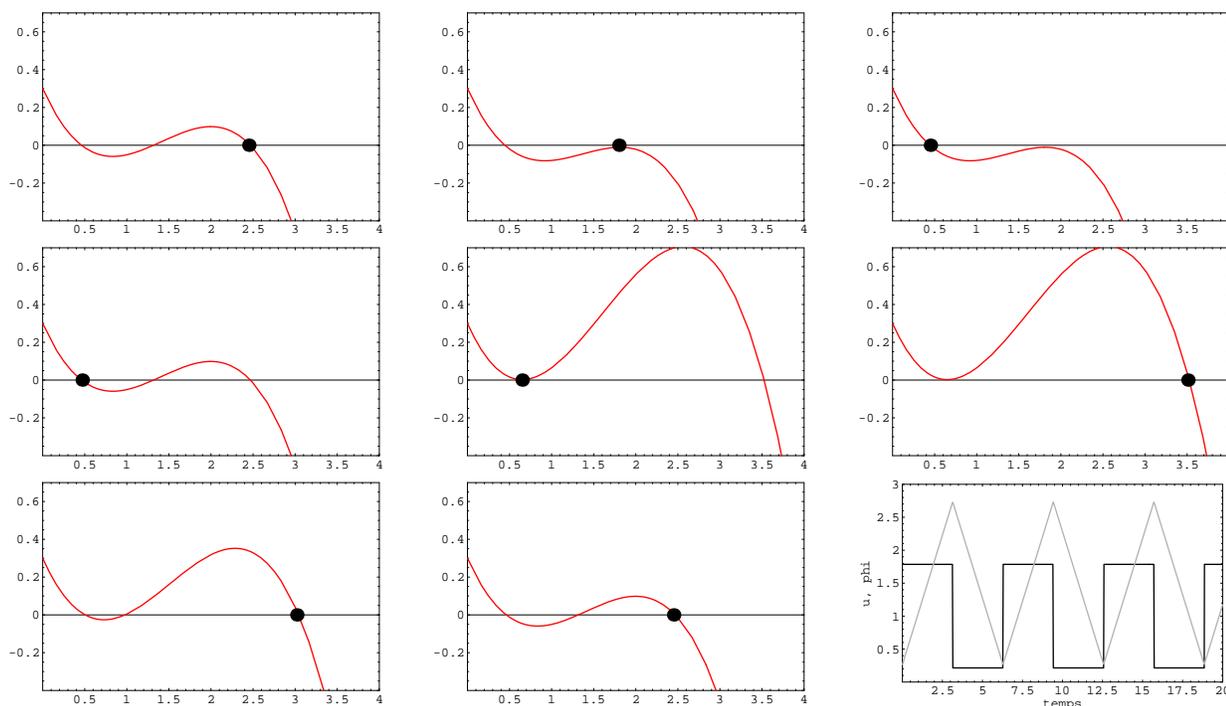


FIG. 4.12 – Les étapes de l’oscillation de relaxation. (1) ϕ petit, $u = u_3$: polymérisation. (2) u_3 devient instable en rejoignant u_2 . (3) basculement de u , de u_3 vers u_1 . (4) ϕ grand, $u = u_1$: dépolymérisation. (5) u_1 devient instable en rejoignant u_2 . (6) u bascule de u_1 vers u_3 . (7) $u = u_3$: polymérisation. (8) Retour à (1). (9) Schéma des oscillations de relaxation : $u(t)$ est en noir et $\phi(t)$ est en gris. Noter l’effet d’hystérésis entre les situations (1), (4) et (8) : la courbe est la même mais la position de u est différente. La concentration u_c vaut 1.

polymérisation et dépolymérisation (avancée du front). Autrement dit, en dehors de régimes transitoires très brefs, u est toujours à un point d’équilibre où $du/dt = 0$, donc à une des solutions u_1 , u_2 ou u_3 présentées précédemment. Notons que, par hypothèse, si u est à un équilibre vis-à-vis des réactions en solution, il n’est pas à un état stationnaire du système entier : si $du/dt = 0$, *a priori* $u \neq u_c$. Rappelons également que $u = u_2$ est instable vis-à-vis de petites perturbations, tandis que u_1 et u_3 sont stables.

Nous pouvons nous interroger sur la validité de cette approximation. Elle semble biologiquement raisonnable si l’on considère que les temps typiques de polymérisation d’actine sont de l’ordre de la minute, tandis que les durées en jeu dans les passages entre différentes formes d’actine globulaire se comptent plutôt en secondes [5]. Cette hypothèse, comme on le verra plus loin, n’est pas indispensable à l’apparition d’oscillations, mais elle est utile pour étudier un cas limite où on peut bien comprendre le phénomène.

Si ϕ est suffisamment grand, u sera faible (valeur $u_1(\phi) \leq \sqrt{c/(3a)}$), si ϕ est suffisamment petit, u est sur la grande solution $u_3(\phi) \geq \sqrt{c/(3a)}$. Pour les concentrations intermédiaires, deux solutions stables $u_1(\phi)$ ou $u_3(\phi)$ sont *a priori* possibles.

En retenant que «plus ϕ est grand, plus la courbe de du/dt est basse», on peut alors comprendre le phénomène d’oscillations de la manière suivante. Supposons que u_c soit dans le voisinage de $\sqrt{c/(3a)}$. On choisit l’instant initial par exemple quand ϕ est petit (figure 4.12). Alors d’après la figure 4.11, u est sur $u_3(\phi)$, qui est supérieur à u_c : on est donc en régime de polymérisation. Le

front d'actine avance donc ϕ augmente.

Si ϕ augmente, la courbe de du/dt s'abaisse et s'aplatit progressivement (1), donc u diminue également, jusqu'au point où $u_3(\phi)$ rejoint $u_2(\phi)$ et devient instable (2). La concentration u bascule alors instantanément (3) sur $u_1(\phi) \leq u_c$: l'actine se dépolymérise. Donc ϕ diminue ; la courbe du/dt remonte (4) jusqu'à ce que $u_1(\phi)$ rejoigne $u_2(\phi)$ et devienne à son tour instable (5). u bascule alors (6) sur $u_3(\phi)$. On est alors en régime de polymérisation, et la courbe s'abaisse jusqu'à retrouver la situation de départ (7,8). Notons le phénomène d'hystérésis : par exemple, sur la figure 4.12, (1) et (4) correspondent à la même équation pour du/dt mais à des positions différentes de u .

On obtient finalement des *oscillations de relaxation* (figure 4.12, (9)), caractérisées par des signaux proches d'une fonction créneau pour u , en fonction triangle pour ϕ .

Il est important de noter que ce phénomène est dû à la non-linéarité (vis-à-vis de u) de $f(u, \phi)$ et au fait qu'il peut exister deux valeurs u annulant du/dt . Il est donc indispensable pour l'apparition d'oscillations que $f(u, \phi_c)$ présente deux extrema de part et d'autre de u_c .

Cas général : oscillations quasi-sinusoidales

Si l'hypothèse du rapide ajustement chimique était utile pour comprendre le phénomène, elle n'est pas nécessaire pour voir apparaître des oscillations. En linéarisant les équations au voisinage de la situation stationnaire, nous pouvons obtenir l'allure des solutions dans cette région.

Une figure simple nous permet, sans calcul, d'entrevoir ces oscillations : sur la figure 4.13, on a porté les signes de $f(u, \phi) = du/dt$ et de $g(u, \phi) = d\phi/dt$ dans le plan (u, ϕ) . Le plan est ainsi divisé en quatre régions dont les frontières sont données par les équations 4.28 et 4.29. Si le système à l'instant t est représenté par un point situé dans la région I contenant $(0,0)$, par exemple, on aura $du/dt \geq 0$ et $d\phi/dt \leq 0$: le point représentatif va se déplacer vers le «SE», passant ainsi vers la région II. Là, les deux dérivées sont positives, donc le point se déplace vers le «NE», jusqu'à (III). Puis il passe dans (IV), puis (I), oscillant autour de l'état stationnaire. Ceci montre que des oscillations sont possibles, même si, à ce niveau, on ne peut pas encore déterminer si les oscillations sont amorties ou entretenues.

Avant de passer à la résolution mathématique du problème, nous proposons une analogie mécanique qui pourra éclairer la suite de l'exposé. Nous avons vu que les équations sur u , y et ϕ peuvent se réduire à l'équation suivante :

$$\begin{aligned} \frac{d^2\phi}{dt^2} + cdu^2\phi &= -acu^3 + bcu^2 - c^2u + cS \\ u &= \frac{1}{c} \frac{d\phi}{dt} + u_c \end{aligned} \tag{4.36}$$

Cette équation ressemble à celle d'un oscillateur harmonique, où ϕ est la position et u la vitesse (mesurée dans un référentiel à vitesse u_c). Pour cet oscillateur un peu particulier, la force de rappel $cdu^2\phi$ augmente quadratiquement avec la vitesse, et le mouvement est soumis à un étrange «frottement fluide» : ce pseudo-frottement est donné par un polynôme du troisième ordre de la vitesse, où le terme en u^2 est moteur ... Si ce terme est petit, le frottement est normal : on attend donc des oscillations amorties. S'il est suffisamment grand, le «frottement» sera moteur. On peut s'attendre à ce que l'équilibre devienne instable, ce qui peut donner des oscillations entretenues.

Pour la résolution au voisinage de l'état stationnaire, on revient au système 4.27 :

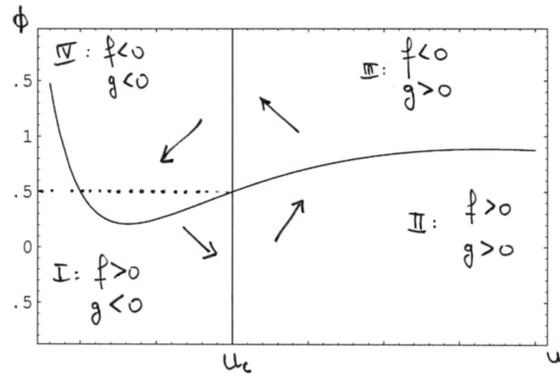


FIG. 4.13 – Le plan (u, ϕ) est divisé en quatre régions selon le signe des fonctions $f(u, \phi)$ et $g(u, \phi)$. On peut prévoir les oscillations autour de l'état stationnaire par des considérations de signe. Par exemple, dans la région (I), $f \geq 0$ et $g \leq 0$, donc le point représentatif du système se déplace vers le bas, à droite.

$$\begin{aligned}\frac{du}{dt} &= -au^3 + (b - d\phi)u^2 - cu + S \\ \frac{d\phi}{dt} &= c(u - u_c)\end{aligned}\quad (4.37)$$

Ce système n'est pas intégrable analytiquement mais il est aisé de calculer le comportement au voisinage de l'état stationnaire ($u = u_c; \phi = \phi_c$). Notant $\delta_u = u - u_c$ et $\delta_\phi = \phi - \phi_c$, le développement limité au premier ordre au voisinage de l'état stationnaire donne :

$$\frac{d}{dt} \begin{pmatrix} \delta_u \\ \delta_\phi \end{pmatrix} = M \begin{pmatrix} \delta_u \\ \delta_\phi \end{pmatrix}\quad (4.38)$$

avec

$$M = \begin{pmatrix} \frac{\partial f}{\partial u}(u_c, \phi_c) & \frac{\partial f}{\partial \phi}(u_c, \phi_c) \\ \frac{\partial g}{\partial u}(u_c, \phi_c) & \frac{\partial g}{\partial \phi}(u_c, \phi_c) \end{pmatrix}\quad (4.39)$$

Nous notons, par commodité, $\partial f / \partial u(u_c, \phi_c) = \Omega_c$, et les quatre dérivées s'écrivent :

$$\begin{aligned}\frac{\partial f}{\partial u}(u_c, \phi_c) &= \Omega_c \\ \frac{\partial f}{\partial \phi}(u_c, \phi_c) &= -du_c^2 \\ \frac{\partial g}{\partial u}(u_c, \phi_c) &= c \\ \frac{\partial g}{\partial \phi}(u_c, \phi_c) &= 0\end{aligned}\quad (4.40)$$

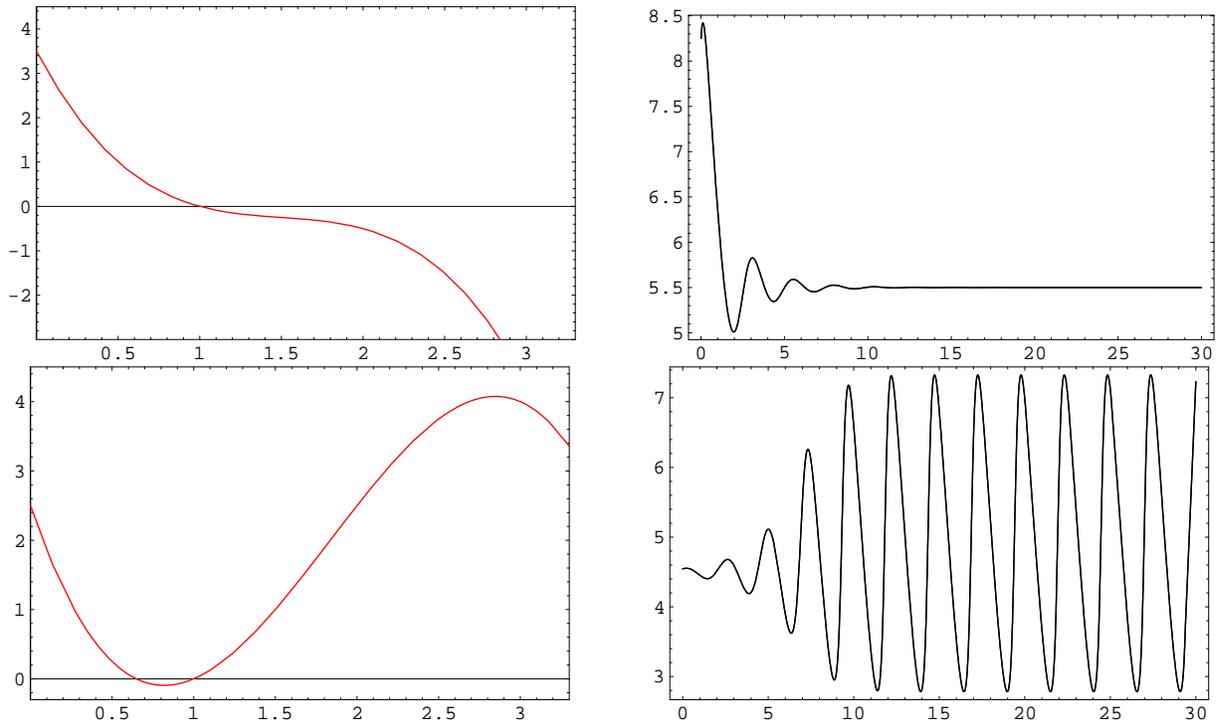


FIG. 4.14 – En haut : lorsque $\partial f / \partial u(u_c, \phi_c) = \Omega_c$ est négatif au point d'équilibre (ici $u_c = 1$), les oscillations (la courbe représente $\phi(t)$) s'amortissent. En bas : lorsque $\Omega_c \geq 0$, les oscillations s'amplifient et saturent rapidement : le système atteint son cycle limite

La nature du mouvement au voisinage du point fixe est donnée par les valeurs propres de M . On cherche donc les racines du polynôme caractéristique :

$$\begin{vmatrix} \Omega_c - X & -du_c^2 \\ c & -X \end{vmatrix} = X^2 - \Omega_c X + cd u_c^2 = 0 \quad (4.41)$$

Le discriminant de cette équation vaut

$$\Delta = \Omega_c^2 - 4cd u_c^2.$$

Plusieurs cas de figure se présentent alors :

$$(1) \quad \Omega_c \leq -2\sqrt{cd} u_c$$

Les racines sont réelles négatives : le système est suramorti (sans dépassement de l'état stationnaire)

$$(2) \quad -2\sqrt{cd} u_c \leq \Omega_c \leq 0$$

Les racines sont complexes à partie réelle négative : les solutions correspondent à une oscillation amortie de type $\exp(-\omega_c t) \cos(\omega_c t)$ (analogue d'un pendule amorti à frottement ordinaire). Le cas limite d'égalité $\Omega_c = 0$ (bifurcation) correspond à une oscillation sinusoïdale sans cycle limite stable (pendule sans frottement).

$$(3) \quad 0 \leq \Omega_c \leq 2\sqrt{cd} u_c$$

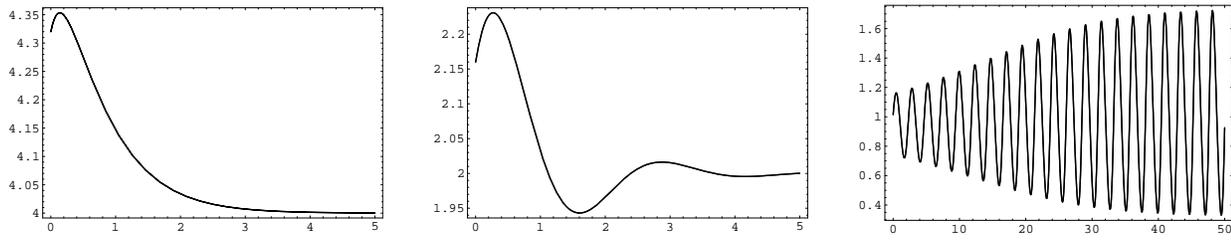


FIG. 4.15 – La quantité d’actine polymérisée $\phi(t)$ pour différentes valeurs décroissantes de S . A gauche, $S \geq 0.5(-au_c^3 + cu_c + 2\sqrt{cd}u_c)$: système suramorti. Au centre, $0.5(-au_c^3 + cu_c) \leq S \leq 0.5(-au_c^3 + cu_c + 2\sqrt{cd}u_c)$: oscillations amorties. A droite, $S \leq 0.5(-au_c^3 + cu_c)$: oscillations entretenues.

Les racines sont complexes à partie réelle positive : les solutions correspondent à des oscillations entretenues quasi-sinusoidales dont l’amplitude converge vers une amplitude limite (analogue d’un oscillateur «à résistance négative» en électronique.). Cette amplitude limite, ainsi que l’écart à la sinusoïde, augmentent à mesure que Ω_c s’éloigne de 0.

$$(4) \quad 2\sqrt{cd}u_c \leq \Omega_c$$

Les racines sont réelles positives : la solution diverge. L’analyse linéaire ne prévoit *a priori* pas d’oscillation, mais elles sont présentes : en effet l’état stationnaire est instable et les équations chimiques ne permettent pas de divergence. Il y a donc un cycle limite.

Les troisième et quatrième cas, que nous ne distinguerons pas dans la suite puisqu’ils mènent tous les deux au même phénomène, nous intéressent particulièrement : ce sont ceux où des oscillations peuvent apparaître spontanément et durer. Ils correspondent à une dérivée $\partial f / \partial u(u_c, \phi_c) = \Omega_c$ positive (figures 4.14, en bas) : on retrouve la condition d’oscillation énoncée dans le cadre du cas limite précédent (partie 4.5.2).

Il est intéressant de traduire ces conditions en termes de valeur de S , qui apparaît comme un paramètre privilégié pour étudier la bifurcation du système d’un état stationnaire stable vers un cycle limite.

Ω_c vaut en effet :

$$\Omega_c = -3au_c^2 + 2(b - d\phi_c)u_c - c \quad (4.42)$$

Compte tenu de la valeur de ϕ_c donnée par l’équation 4.30 :

$$\Omega_c = -au_c^2 + c - \frac{2S}{u_c} \quad (4.43)$$

Les trois conditions précédentes s’expriment donc en fonction de S qui doit par ailleurs être positif (voir figure 4.15) :

– **système suramorti**, sans dépassement de l’état stationnaire lorsque

$$S \geq S_{am}(u_c) = \frac{1}{2}(-au_c^3 + cu_c + 2\sqrt{cd}u_c) \geq 0 \quad (4.44)$$

– **oscillations amorties** pour

$$S_M(u_c) = \frac{1}{2}(-au_c^3 + cu_c) \leq S \leq \frac{1}{2}(-au_c^3 + cu_c + 2\sqrt{cd}u_c) = S_{am}(u_c) \text{ et } S \geq 0 \quad (4.45)$$

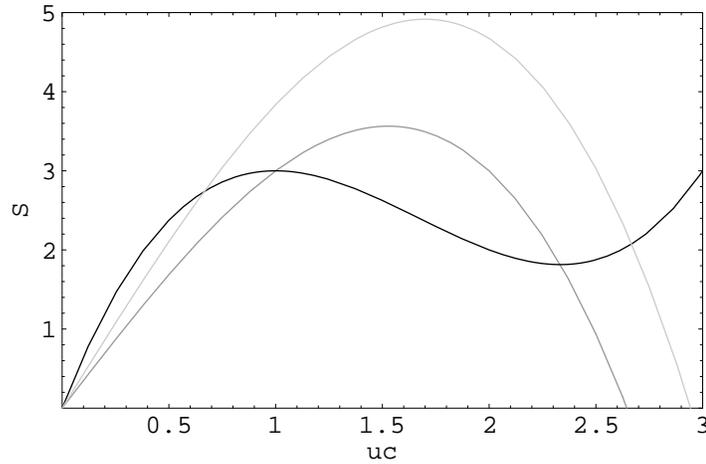


FIG. 4.16 – Dans le plan (u_c, S) on a porté les conditions 4.45 et 4.48 pour $a = 1$, $b = 5$, $c = 7$, $d = 0.1$. En gris sombre, $S_M(u_c)$, en noir, $S_m(u_c)$, en gris pâle, $S_{am}(u_c)$. Les points sous la courbe noire correspondent à des systèmes où $\phi_c \leq 0$, donc sans sens physique. Au-dessus de la courbe gris pâle, le système est suramorti. Entre les deux courbes grises, les oscillations sont amorties. Sous la courbe gris sombre, les oscillations sont entretenues.

– **oscillations entretenues** convergeant vers un cycle limite pour

$$0 \leq S \leq \frac{1}{2}(-au_c^3 + cu_c) = S_M(u_c) \quad (4.46)$$

Enfin, les concentrations devant être positives, il est nécessaire qu'au moins ϕ_c le soit, ce qui donne, d'après 4.30, une borne inférieure à S :

$$S \geq au_c^3 - bu_c^2 + cu_c, \quad (4.47)$$

d'où finalement un encadrement de S (voir figure 4.16) :

$$S_m(u_c) = au_c^3 - bu_c^2 + cu_c \leq S \leq \frac{1}{2}(-au_c^3 + cu_c) = S_M(u_c) \quad (4.48)$$

$$\text{et } S \geq 0 \quad (4.49)$$

Mais S doit aussi être positif, donc $S_M(u_c)$, le membre de droite de 4.46, doit l'être. Ceci fournit alors une condition nécessaire d'oscillations portant sur les constantes cinétiques :

$$cu_c - au_c^3 \geq 0 \quad (4.50)$$

Le coefficient a étant relié à la vitesse de la réaction auto-catalytique ($a = k_g + k_d$), on en déduit la condition suivante : *pour pouvoir osciller, il faut que la réaction de polymérisation soit suffisamment rapide devant la réaction auto-catalytique lorsque u est au voisinage de la concentration critique.*

Ce résultat n'est pas si surprenant : si la réaction autocatalytique va trop vite, les stocks de U sont toujours pleins et le système n'oscille pas, restant à une valeur élevée de u .

Enfin, pour que l'intervalle défini par 4.48 existe, il faut que :

$$au_c^3 - bu_c^2 + cu_c \leq \frac{1}{2}(-au_c^3 + cu_c) \quad (4.51)$$

soit

$$\frac{3}{2}au_c^3 + \frac{1}{2}cu_c \leq bu_c^2 \quad (4.52)$$

Cette condition mesure l'importance du coefficient b du terme autocatalytique de production de U . S'il est trop petit, il n'y a pas de solution positive pour ϕ_c .

4.5.3 Discussion et lien avec les expériences

Le schéma que nous venons de proposer dans ce chapitre est un modèle minimal pour obtenir le phénomène de bascule, et donne la possibilité d'obtenir des oscillations entretenues par apport extérieur d'énergie, avec un petit nombre de types de complexes d'actine (trois suffisent). Ce schéma est spéculatif en ce sens qu'il repose sur certaines hypothèses non vérifiées : en particulier, il n'a pas encore été précisément identifié de processus auto-catalytique dans les réactions de préparation de l'actine à la polymérisation. Cette hypothèse n'est cependant pas absurde dans la mesure où de nombreuses boucles de contre-réaction ont été mises en évidence dans le domaine de la motilité et de la polarisation de la cellule. De plus, comme on l'a mentionné dans la section 4.2, une telle réaction est plus qu'une simple curiosité de la chimie : des mécanismes enzymatiques bimoléculaires simples peuvent facilement y mener.

Comment relier ce modèle à la réalité expérimentale ? Le principal renseignement que l'on peut tirer du modèle pour le soumettre à la comparaison expérimentale est la période des oscillations. Au voisinage de l'état stationnaire, la pulsation est donnée par la partie imaginaire des valeurs propres de la matrice M :

$$\omega = \sqrt{-\frac{1}{4}\Omega_c^2 + cd u_c^2} \quad (4.53)$$

avec

$$\Omega_c = \frac{\partial f}{\partial u}(u_c, \phi_c) \quad (4.54)$$

Pour simplifier, nous supposons que les oscillations sont proches du régime sinusoïdal, c'est-à-dire⁶ $\Omega_c \simeq 0$. Dans ce cas, la période est donnée par :

$$\begin{aligned} T &= \frac{2\pi}{\sqrt{dc} u_c} \\ &= \left(\frac{2\pi \mathcal{V}}{h\rho} \frac{1}{R_i \mathcal{L} k_{on} du_c^2} \frac{\lambda}{\lambda_a} \right)^{1/2} \end{aligned} \quad (4.55)$$

La quantité du_c^2 vaut, dans notre schéma biochimique de la figure 4.10, $k_d u_c^2$, c'est-à-dire le taux de production de U par voie autocatalytique lorsque u est à u_c . En assimilant cette valeur aux constantes cinétiques d'«armage» de l'actine, relativement rapide, on peut l'estimer à 10 s^{-1} [5, 22].

⁶Comme on l'a mentionné plus haut, les oscillations sont d'autant plus proches d'une sinusoïde que Ω_c est proche de 0.

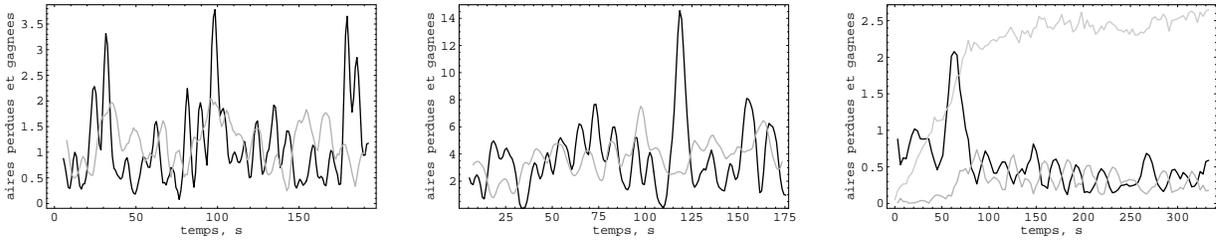


FIG. 4.17 – Différents résultats expérimentaux montrant des oscillations, d'après [3]. A gauche : expériences de motilité. Les courbes représentent l'aire gagnée (noir) et l'aire perdue (gris) par la cellule entre chaque image, en $\mu\text{m}^2.\text{s}^{-1}$. Des oscillations sont visibles. Au centre, la même expérience, en présence de calcium (1mM). Les surfaces mises en jeu sont plus importantes, et la cellule est plus rapide. A droite : cas d'une cellule en étalement. Au temps courts, il n'y a pratiquement pas de rétraction. Rétractions de l'arrière et protrusions de l'avant sont ensuite en opposition de phase. La courbe d'étalement (du type de celles rencontrées au chapitre 3) est en gris pâle.

k_{on} , \mathcal{L} sont des constantes bien connues. Les autres paramètres géométriques ont été estimés dans le chapitre précédent. Le volume \mathcal{V} est supposé de l'ordre du $(\mu\text{m})^3$. Les données nécessaires sont finalement rassemblés dans le tableau 4.2.

Grandeur	Notation	Estimation
Rayon initial de la cellule	R_i	5000 nm
Constante d'association	k_{on}	$10^7 \text{L.mol}^{-1}.\text{s}^{-1}$ [5]
Taille de la ceinture adhésive	λ_a^{-1}	quelques 10 nm (chapitre 3)
Longueur de corrélation de la membrane libre	λ^{-1}	quelques 10 nm (chapitre 3)
Taux d'«armage» de l'actine	$k_d u_c^2$	10s^{-1} [5]
Épaisseur de la couche d'actine	h	100 nm
Densité d'actine filamenteuse	ρ	$2.10^{-4} \text{mol.L}^{-1}$
Taille du monomère d'actine	\mathcal{L}	2.7 nm [22]
Volume d'échange des complexes d'actine	\mathcal{V}	$1 (\mu\text{m})^3$ (paragraphe 4.4.1)

TAB. 4.2 – Paramètres pour le calcul de la période des oscillations.

On déduit de ces données

$$T \simeq 0.1 \text{ à } 10 \text{ s} \quad (4.56)$$

De quels faits expérimentaux rapprocher ces calculs ?

Dans les expériences de motilité sous flux [3], ainsi que dans [71], les auteurs observent l'aire d'adhésion d'une cellule en mouvement. L'avancée n'est pas constante : à l'avant, la cellule alterne des phases d'étalement et de repos. A l'arrière, alternent des phases de rétraction et de repos, si bien que la cellule a un mouvement moyen vers l'avant. On peut quantifier ces résultats en mesurant, en fonction du temps, l'aire gagnée et l'aire perdue entre deux enregistrements successifs. Ces deux grandeurs montrent des oscillations de périodes relativement bien définies et en général légèrement différentes, si bien que les oscillations de l'avant et de l'arrière semblent décorréées, tantôt en phase, tantôt en opposition de phase (figure 4.17, à gauche et au milieu).

Dans [35], les auteurs observent également des oscillations, cette fois dans la phase finale (*i.e.* «contractile») de l'étalement cellulaire. Le même type de résultat est donné par [3]. Ce résultat est

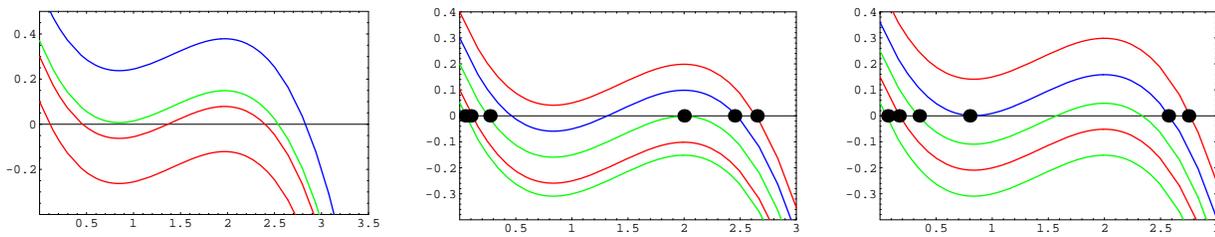


FIG. 4.18 – A gauche : du/dt pour différentes valeurs de S . Le nombre de valeurs de u annulant du/dt varie de un à trois selon la valeur de S . Au centre : en diminuant S , on assiste à un effet de seuil : u bascule de la valeur haute à la valeur basse. A droite : le phénomène de seuil en sens inverse : lorsqu'on augmente S , u passe de la valeur basse à la valeur haute.

différent du précédent (oscillation pour une cellule motile) car il montre que l'oscillation peut en principe avoir lieu localement, ici uniquement à l'avant de la cellule⁷. Notre schéma biochimique est bien sûr très simplifié mais peut servir de point de départ pour comprendre ce type d'oscillations. En effet, n'impliquant pas la diffusion, il ne peut décrire que des oscillations locales.

Dans [58], les auteurs montrent des oscillations dont la période vaut de l'ordre de 20 s. Cette période dépend de la taille du lamellipode : plus celui-ci est épais, plus la période est grande, ce que les auteurs interprètent en terme de temps de diffusion de monomères d'actine à travers le lamellipode. Notre modèle, sans invoquer le retard dû à la diffusion, va également dans ce sens, car la dépendance de la période envers le volume est croissante avec le volume⁸ :

$$T \sim \sqrt{V} \quad (4.57)$$

Cependant, la présence d'ondes dans leurs observations (ainsi que, par exemple celles de [72] et [73]) suggère, pour aller plus loin, d'inclure la diffusion dans les équations chimiques par un terme de diffusion du type $D\partial^2u/\partial x^2$.

D'autre part, la période relativement rapide trouvée en 4.56 évoque les oscillations de «palpage» constamment observé chez *Dictyostelium discoideum*. Encore une fois, notre simple schéma biochimique peut peut-être servir de point de départ pour comprendre ces oscillations de petite amplitude.

Le modèle prédit donc qu'en changeant certains paramètres, différents régimes d'oscillation se succèdent : régime suramorti, oscillations amorties, oscillations entretenues. Le paramètre qui semble se distinguer pour piloter le phénomène est S , le terme constant dans la cinétique de production de U .

Sans aller jusqu'aux oscillations, le modèle prévoit un intéressant effet de seuil dû à la bistabilité de l'équation 4.27. Plaçons-nous en effet dans le cadre de l'approximation de la section 4.5.2 : on suppose alors que u satisfait toujours à $du/dt(u) = 0$. Supposons ensuite qu'on puisse contrôler S (par exemple lié à l'adhésion). La figure 4.18 montre qu'en baissant progressivement S , on passe brutalement d'un régime de polymérisation ($u = u_3$) à un régime de dépolymérisation ($u = u_1$). Ceci constitue un *effet de seuil*, qui peut également s'observer dans l'autre sens, en augmentant S

⁷Rappelons que, pour une cellule en étalement, la rétraction de l'uropode n'a pas encore commencé : l'arrière est donc fixe.

⁸Comme nous l'avons fait remarquer dans 4.4.1, cette conclusion reste valable quelle que soit la géométrie exacte de la zone considérée

(phénomène analogue aux observations de [70]).

4.6 Oscillations et étalement : lien avec le chapitre précédent

Depuis l'équation 4.14, nous avons supposé que le taux de dépolymérisation est constant, ce qui a conduit à la forme simple pour g : $g(u, \phi) = c(u - u_c)$. Nous pouvons maintenant inclure l'hypothèse qui nous a servi tout au long au cours de partie 3, à savoir la dépendance du taux de dépolymérisation envers le rayon d'adhésion r , donc envers la concentration ϕ (r et ϕ étant reliés par l'équation 4.10). Sans rentrer dans les détails de l'étude mathématique des solutions, nous explorons les types de comportements possibles. Nous montrons en particulier qu'on peut retrouver la situation du chapitre 3 et de la section 4.5 du présent chapitre comme cas limite.

Revenant à 4.27, le système à résoudre est donc :

$$\begin{aligned} \frac{du}{dt} &= f(u, \phi) = -au^3 + u^2(b - d\phi) - cu + S \\ \frac{d\phi}{dt} &= \tilde{g}(u, \phi) = c(u - u_c(\phi)) \end{aligned} \quad (4.58)$$

où $\tilde{g}(u, \phi)$ tient compte, *via* $u_c(\phi)$, de la dépendance du taux de dépolymérisation en fonction de la quantité d'actine polymérisée ϕ .

Pour le calcul de la fonction $u_c(\phi)$, on reprend simplement la forme de l'équation de la vitesse de dépolymérisation en fonction de la tension σ , puis l'expression de σ en fonction du rayon d'adhésion r (voir chapitre 3) :

$$u_c(\phi) = u_c \exp \left(\frac{1}{\sigma_s} \left(\sigma_0 + \frac{1}{16} C \frac{1}{R_i^4} \left(\frac{\mathcal{V}}{\pi h \rho} \right)^2 \phi^2 \right) \right) \quad (4.59)$$

avec u_c défini comme auparavant :

$$u_c = \frac{k_{off}^0}{k_{on}^0} \quad (4.60)$$

La nouvelle fonction $\tilde{g}(u, \phi)$ ainsi définie est un peu plus compliquée qu'en 4.27. Pour comprendre comment la situation est modifiée, la figure 4.19 montre, comme pour la figure 4.13, l'ensemble des points annulant f ou \tilde{g} , dans le plan (u, ϕ) . L'intersection des deux courbes donne le nouvel état stationnaire $(\tilde{u}_c, \tilde{\phi}_c)$. Celui-ci est déplacé vers la droite par rapport à l'état stationnaire précédent : $\tilde{u}_c \geq u_c$. Lorsqu'on inclut la dépolymérisation, la concentration d'actine libre doit être plus élevée pour atteindre l'état stationnaire que si on ne l'inclut pas.

En linéarisant au voisinage de la position d'équilibre comme on l'a fait au chapitre 3, on obtient :

$$\tilde{g}(u, \phi) = c(u - \tilde{u}_c) + \tilde{c}(\tilde{\phi}_c^2 - \phi^2) \quad (4.61)$$

avec

$$\begin{aligned} c &= \frac{\pi h \rho}{\mathcal{V}} 2R_i \frac{\lambda_a}{\lambda} \mathcal{L} k_{on} \\ \tilde{c} &= \frac{\mathcal{V}}{\pi h \rho} \frac{\lambda_a}{\lambda} \frac{1}{8} C \frac{1}{R_i^3} \left(\frac{\partial V}{\partial \sigma} \right)_{(\sigma_m)} \end{aligned} \quad (4.62)$$

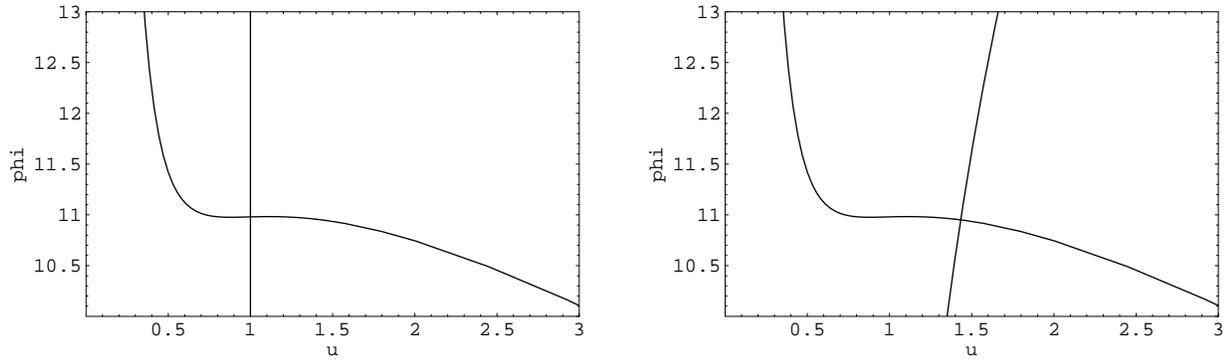


FIG. 4.19 – A gauche : le même type de figure que fig 4.13, donnant les lignes où du/dt ou $d\phi/dt$ s’annule. A droite : la figure modifiée compte tenu de la cinétique de dépolymérisation. Le point d’équilibre $(\tilde{u}_c, \tilde{\phi}_c)$ est déplacé vers la droite par rapport à (u_c, ϕ_c)

qui équation définit \tilde{c} comme étant le taux de dépolymérisation au voisinage de l’état stationnaire, compte tenu de la géométrie.

Il peut être intéressant de comparer les ordres de grandeur de c et de \tilde{c} , pour savoir si $\tilde{c}(\tilde{\phi}_c^2 - \phi^2)$ est comparable à $c(u - \tilde{u}_c) = g(u, \phi)$ ou s’il ne s’agit que d’une petite perturbation :

$$\frac{\tilde{c}}{c} = \frac{1}{16} \left(\frac{\mathcal{V}}{\pi h \rho} \right)^2 \frac{1}{R_i^4} C \frac{1}{\mathcal{L}k_{on}} \left(\frac{\partial V}{\partial \sigma} \right)_{(\sigma_m)} \quad (4.63)$$

Le tableau 4.2 permet de conclure que

$$\frac{\tilde{c}}{c} \sim 1 \quad (4.64)$$

A priori, le terme de frein $\tilde{c}(\tilde{\phi}_c^2 - \phi^2)$ n’est donc pas une petite perturbation de $g(u, \phi)$: les deux termes semblent comparables. Au chapitre 3, c’était ce terme qui avait conduit à l’arrêt de la polymérisation de l’actine et à la saturation du rayon d’adhésion.

La nouvelle matrice donnant le comportement de $\delta_u = u - \tilde{u}_c$ et $\delta_\phi = \phi - \tilde{\phi}_c$ est :

$$\tilde{M} = \begin{pmatrix} \frac{\partial f}{\partial u}(\tilde{u}_c, \tilde{\phi}_c) & \frac{\partial f}{\partial \phi}(\tilde{u}_c, \tilde{\phi}_c) \\ \frac{\partial \tilde{g}}{\partial u}(\tilde{u}_c, \tilde{\phi}_c) & \frac{\partial \tilde{g}}{\partial \phi}(\tilde{u}_c, \tilde{\phi}_c) \end{pmatrix} \quad (4.65)$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial f}{\partial u}(\tilde{u}_c, \tilde{\phi}_c) &= \tilde{\Omega}_c \\ \frac{\partial f}{\partial \phi}(\tilde{u}_c, \tilde{\phi}_c) &= -d\tilde{u}_c^2 \\ \frac{\partial \tilde{g}}{\partial u}(\tilde{u}_c, \tilde{\phi}_c) &= c \\ \frac{\partial \tilde{g}}{\partial \phi}(\tilde{u}_c, \tilde{\phi}_c) &= -2\tilde{\phi}_c\tilde{c} \end{aligned} \quad (4.66)$$

Par conséquent, la condition d’oscillation $\Omega_c \geq 0$ est remplacée par la nouvelle condition :

$$\tilde{\Omega}_c \geq 2\tilde{\phi}_c\tilde{c} \quad (4.67)$$

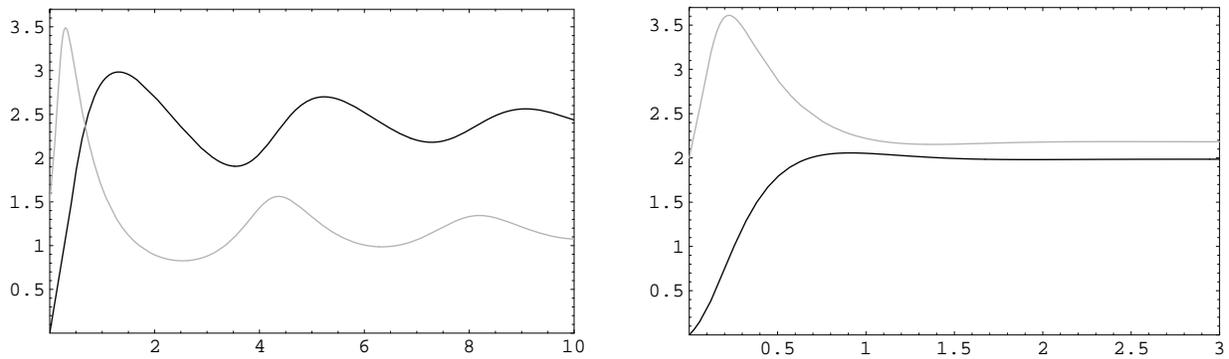


FIG. 4.20 – L'étalement suivi d'oscillations. La concentration d'actine monomérique $u(t)$ est en gris ; $\phi(t) \sim S(t)$ est en noir. A gauche : cas où le frein \tilde{c} est relativement faible. Les oscillations sont peu ou pas amorties, comme lorsque $\tilde{c} = 0$ (début du chapitre). On remarque un fort pic de u aux temps courts (phase d'étalement). Le démarrage de $S(t)$ n'est pas linéaire. A droite : cas où le frein (\tilde{c}) est plus fort. Les oscillations sont fortement amorties. La situation est proche de celle du chapitre 3, où u était pris constant. Le démarrage de $\phi(t) \sim S(t)$ est quasiment linéaire.

Plus le frein \tilde{c} est grand, plus les oscillations seront amorties.

La résolution complète du système 4.58, en prenant comme condition initiale $\phi = 0$ (rayon d'adhésion nul) donne la façon dont une cellule s'étale puis, une fois son rayon d'équilibre atteint, oscille autour de ce rayon. Sur la figure 4.20 gauche, on observe, aux premiers instants de l'étalement, un pic de u : pour permettre l'étalement, une grande quantité d'actine polymérisable est fabriquée par la cellule. La présence de ce pic implique que, dans ce cas, la concentration d'actine U n'est pas constante. Le départ de $\phi \sim S$ n'est alors pas linéaire, résultat en contradiction avec le chapitre 3.

Un départ linéaire peut en revanche s'observer si on augmente l'importance du frein. Sur la figure 4.20 à droite, le frein \tilde{c} est pris plus fort. En vertu de l'équation 4.67, les oscillations sont très amorties. Le terme de freinage issu du chapitre 3 domine alors les phénomènes d'oscillations ; le comportement obtenu est alors très analogue aux résultats de ce même chapitre : croissance linéaire de S aux temps courts et saturation aux temps longs.

Le même type de comportement est également observé si on diminue $f(u) = du/dt$, ce qui revient à ralentir la dynamique de U . Dans ce cas, u n'a pas le temps de former le pic et reste relativement constant pendant la phase d'étalement. Encore une fois, on est ramené à une situation proche de celle du chapitre 3 où on avait considéré u constant. On observe donc un départ linéaire pour $\phi \sim S$ (figure 4.21, à gauche).

Notons que si, toutes choses égales par ailleurs, on choisit la condition initiale particulière $u(t=0) = u_c = 1$, pour t petit $d\phi/dt = 0$ et

$$\begin{aligned} \frac{d^2\phi}{dt^2} &= \frac{du}{dt}(t=0) \\ &= f(u_c) \geq 0, \end{aligned} \quad (4.68)$$

il s'ensuit que pour les temps courts, le départ de ϕ est parabolique et non linéaire (figure 4.21, à droite) :

$$\frac{d\phi}{dt} = \frac{f(u_c)t^2}{2} \quad (4.69)$$

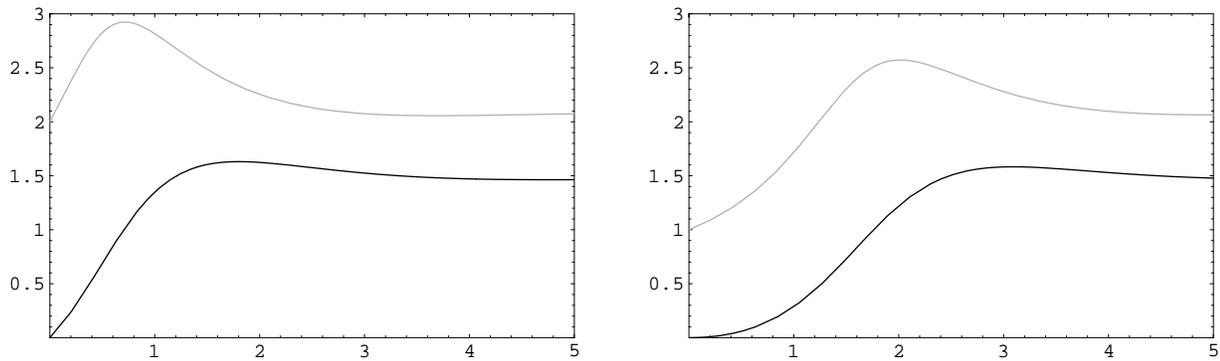


FIG. 4.21 – A gauche : cas où la cinétique de u est ralentie d'un facteur 3 ($du/dt = 0.3f(u, \phi)$). On obtient alors une situation analogue aux résultats du chapitre 3. A droite : cas particulier où $u(t = 0) = u_c$. Le départ est alors linéaire pour u (gris) et quadratique pour $\phi(t)$ (en noir).

4.7 Conclusion

Le schéma que nous venons de proposer pourrait décrire un certain nombre de phénomènes d'oscillations de bord cellulaire et fournit certaines prédictions. D'une part un phénomène de bistabilité (deux états possibles pour un système, avec hystérésis lorsqu'on change le paramètre S par exemple). D'autre part, toujours en contrôlant un paramètre, le schéma biochimique prédit une succession de comportements caractéristiques, depuis le régime suramorti jusqu'aux oscillations entretenues.

En incluant le taux de dépolymérisation dépendant de la forme de la cellule comme au chapitre 3, nous retrouvons un comportement d'étalement suivi d'oscillations. Les résultats de ce chapitre ainsi que ceux de la section 4.5 apparaissent alors comme des cas limite d'un modèle incluant les deux phénomènes.

Cependant, les expériences montrant des *patterns* spatio-temporels (ondes) montrent que, pour aller plus loin, il faudrait inclure la diffusion des différentes formes d'actine à travers le cytoplasme. On aurait alors possibilité de décrire de nouveaux phénomènes, par exemple des ondes. Puis en introduisant différentes voies de polymérisation on pourrait revenir sur ce qui nous avait servi de point de départ : le phénomène d'exclusion mutuelle entre différentes voies de polymérisation et la possibilité pour la cellule de maintenir sa polarisation.

Conclusion et perspectives

Dans cette thèse, nous avons étudié différents aspects de la motilité cellulaire. Nous revenons rapidement sur les principaux résultats avant de conclure sur les perspectives ouvertes par ce travail.

Du côté des expériences, le protocole expérimental mis en place permet, de façon relativement simple, de caractériser la réactivité de *Dictyostelium* soumis à des forces extérieures. Les mesures ont montré que cette cellule est capable de résister à une force d'aspiration de l'ordre de la dizaine de nN , et de se rétracter à quelques centaines de $nm.s^{-1}$. L'effet de différentes protéines a été testé, et il apparaît que la rétraction hors d'une micropipette est essentiellement due au cytosquelette d'actine et myosine II, et pas aux protéines d'adhésion ni à la myosine VII. L'effet du calcium reste peu clair, même s'il semble augmenter les vitesses de rétraction.

Sur le plan théorique, notre travail présente deux volets : modélisation de l'étalement cellulaire, et construction d'un schéma biochimique de *treadmilling* d'actine. Dans les deux cas, nous avons posé et simplifié des problèmes complexes tout en essayant de tenir compte du plus grand nombre possible de données expérimentales biologiques. Ceci nous a menés à des modèles originaux où nous avons tenté de comprendre des principes de fonctionnement cellulaires à l'échelle supra-moléculaire.

Le modèle d'étalement a pris comme éléments-clé différents phénomènes physiques : polymérisation de l'actine ; localisation des forces le long de la ceinture adhésive ; influence de la mécanique sur la biochimie de polymérisation de l'actine. Si la polymérisation de l'actine est connue depuis longtemps comme actrice principale de l'étalement et de la motilité, l'originalité du modèle réside dans l'introduction de la localisation des forces et la prise en compte explicite des stress mécaniques dans la biochimie de polymérisation.

Même si la situation réelle est largement simplifiée, nous estimons que ces éléments sont suffisants pour obtenir un modèle d'étalement cellulaire compatible avec de nombreuses données biochimiques [3, 33, 34, 35, 36, 37, 50], et de comprendre pourquoi la surface d'étalement croît proportionnellement au temps avant d'atteindre une phase de saturation.

Le schéma de bascule et oscillations du chapitre 4 est certes spéculatif, mais s'appuie néanmoins sur des données biochimiques réelles concernant le «treadmilling» :

- Selon l'extrémité du filament considérée, la constante de réaction de la polymérisation/dépolymérisation d'actine est différente ;
- Les monomères d'actine doivent être liés à certaines protéines avant de pouvoir polymériser ;
- Le système est globalement hors-équilibre ;
- Le système est ouvert aux échanges de matière et d'énergie ;
- De nombreuses réactions enzymatiques sont auto-catalytiques.

Ces éléments, pris comme points de départ, ajoutés à l'hypothèse d'une réaction autocatalytique,

nous ont mené à la construction d'un schéma minimal montrant une série de comportements intéressants (oscillations entretenues). Pour cela, nous avons vu qu'impliquer deux complexes d'actine ne suffit pas à faire apparaître ces comportements : trois formes d'actine constituent un minimum. Des comparaisons à certaines données expérimentales [3, 35, 58, 73] permettent de contrôler les ordres de grandeur obtenus et de montrer la compatibilité du modèle avec les réalités biologiques.

Ce travail appelle plusieurs développements possibles. Le chapitre 2 montre qu'il est possible de caractériser rapidement et quantitativement les capacités mécaniques (forces et vitesses) d'une cellule. Le protocole expérimental utilisé reste disponible pour tester l'influence d'autres protéines (en particulier les protéines G, impliquées dans la motilité cellulaire [3, 40]), et éventuellement clarifier l'effet du calcium.

Le modèle d'étalement suggère différentes expériences qui pourraient confirmer ou infirmer certaines prédictions. Par exemple, jouer sur l'adhésion membrane-cytosquelette permettrait d'obtenir d'autres courbes d'étalement. Sur le plan théorique, il serait intéressant d'introduire dans le modèle la dynamique des ponts adhésifs dans la membrane comme cela a été fait dans [16]. De plus, comme on l'a suggéré à la section 3.5, des développements du modèle sont possibles pour mieux tenir compte de la géométrie du pseudopode.

Quant au modèle biochimique du chapitre 4, il fait différentes prédictions : existence d'hystérésis (phénomènes de bistabilité dans les concentrations d'actine, comme dans [70]), succession de comportements observés en variant un paramètre de contrôle : système suramorti, puis oscillations amorties et enfin entretenues. Sur le plan théorique, ce modèle n'est qu'un point de départ vers un schéma plus complet qui devra inclure la dimension spatiale : il serait tout à fait pertinent, pour aller plus loin, d'introduire un terme de diffusion dans les équations de réaction.

Annexe A

Calcul d'équivalents pour $\theta \sim \pi$: $r(\theta)$, $\sigma(\theta)$, s_{max}

Nous calculons ici les équivalents quand $\theta \sim \pi$ de différentes quantités : rayon de la calotte sphérique $R(\theta)$, rayon d'adhésion $r(\theta)$, tension de surface $\sigma(\theta)$ et longueur s_{max} . Le calcul est d'abord fait en géométrie «sphérique», puis plus rapidement en géométrie «cylindrique».

Reprenons l'expression du rayon de la calotte sphérique et du rayon d'adhésion vus au chapitre 3, section 3.2.1 :

$$R(\theta) = 4^{1/3} R_i \frac{1}{((1 + \cos \theta)^2 (2 - \cos \theta))^{1/3}} \quad (\text{A.1})$$

et

$$\begin{aligned} r(\theta) &= R(\theta) \sin \theta \\ &= 4^{1/3} R_i \sin \theta \frac{1}{((1 + \cos \theta)^2 (2 - \cos \theta))^{1/3}} \end{aligned} \quad (\text{A.2})$$

En notant $\epsilon = \pi - \theta$, l'équivalent quand $\theta \sim \pi$ de $\cos \theta$ et $\sin \theta$ sont :

$$\begin{aligned} \cos \theta &\sim -1 + \frac{\epsilon^2}{2} \\ \sin \theta &\sim \epsilon \end{aligned} \quad (\text{A.3})$$

d'où

$$\begin{aligned} R(\theta) &\sim \left(\frac{2}{3}\right)^{1/3} 2R_0 \epsilon^{-4/3} \\ r(\theta) &\sim \left(\frac{2}{3}\right)^{1/3} 2R_0 \epsilon^{-1/3} \end{aligned} \quad (\text{A.4})$$

On en déduit la dérivée de $r(\theta)$ par rapport à θ :

$$\frac{dr(\theta)}{d\theta} \sim \left(\frac{2}{3}\right)^{4/3} R_0 \epsilon^{-4/3} \quad (\text{A.5})$$

puis l'expression de l'aire extérieure $A_d(\theta)$ définie dans la section 3.3.1 :

$$A_d(\theta) \sim 4\pi \left(\frac{2}{3}\right)^{2/3} \epsilon^{-2/3} \quad (\text{A.6})$$

L'équivalent de $A_d(\theta)^{-1}2\pi r(\theta)dr/d\theta$ est :

$$\frac{1}{A_d(\theta)}2\pi r(\theta)\frac{dr}{d\theta} \sim \frac{2}{3}\epsilon^{-1} \quad (\text{A.7})$$

La tension de surface s'obtient par intégration :

$$\sigma(\theta) = \sigma_0 + C \ln \frac{A_d(\theta)}{A_d(0)} + C \int_0^\theta \frac{1}{A_d(\theta')}2\pi r(\theta')\frac{dr}{d\theta'} d\theta' \quad (\text{A.8})$$

soit

$$\sigma(\theta) \sim -\frac{2}{3}C \ln \epsilon + C \int_\epsilon^{\epsilon_0} \frac{2}{3}\epsilon'^{-1} \quad (\text{A.9})$$

ϵ_0 est un angle quelconque non nul pour obtenir la constante d'intégration, qui disparaîtra en cherchant l'équivalent.

D'où finalement l'équivalent en ϵ de la tension :

$$\sigma(\theta) \sim -\frac{4}{3}C \ln \epsilon \quad (\text{A.10})$$

Pour calculer le s_{max} défini à la section 3.3.2,

$$\begin{aligned} s_{max} &\sim \kappa_m^{1/2} \sigma(\theta)^{-1/2} \ln(\pi R(\theta)) \\ &\sim \kappa_m^{1/2} \left(-\frac{4}{3}C \ln \epsilon\right)^{-1/2} \ln \left(\pi \left(\frac{2}{3}\right)^{1/3} 2R_0 \epsilon^{-4/3}\right) \\ &\sim \left(-\frac{4}{3} \frac{\kappa_m}{C} \ln \epsilon\right)^{1/2} \end{aligned} \quad (\text{A.11})$$

d'où le résultat annoncé section 3.3.2.

En géométrie «cylindrique», le calcul est de même nature :

$$\begin{aligned} R_{2D}(\theta) &\sim \left(\frac{3\pi}{2}\right)^{1/2} R_0 \epsilon^{-3/2} \\ r_{2D}(\theta) &\sim \left(\frac{3\pi}{2}\right)^{1/2} R_0 \epsilon^{-1/2} \end{aligned} \quad (\text{A.12})$$

L'expression de l'aire extérieure est alors :

$$A_{d,2D}(\theta) \sim \sqrt{6\pi} R_0 \epsilon^{-1/2} \quad (\text{A.13})$$

et finalement

$$\sigma(\theta) \sim -C \ln \epsilon \quad (\text{A.14})$$

puis pour s_{max} :

$$\begin{aligned} s_{max} &\sim \kappa_m^{1/2} \sigma(\theta)^{-1/2} \ln(\pi R(\theta)) \\ &\sim \kappa_m^{1/2} (-C \ln \epsilon)^{-1/2} \ln \left(\pi \left(\frac{3\pi}{2}\right)^{1/2} R_0 \epsilon^{-1/2}\right) \\ &\sim \frac{3}{2} \left(-\frac{\kappa_m}{C} \ln \epsilon\right)^{1/2} \end{aligned} \quad (\text{A.15})$$

d'où le résultat de 3.3.2.

Annexe B

Exemple de cycle linéaire à trois espèces chimiques

Suivant [74], on montre dans cet appendice que violer la balance détaillée n'est pas une condition suffisante pour obtenir des oscillations.

Considérons le simple cycle triangulaire suivant (figure B.1). Ce type de cycle, dans le cas général, est étudié en détail par exemple dans [74]. On suppose par exemple que $k_1 k_2 k_3 = Z k_{-1} k_{-2} k_{-3}$, où Z est très grand. On néglige donc les réactions inverses dans la cinétique, et le sens $A \rightarrow B \rightarrow C \rightarrow A$ est fortement favorisé.

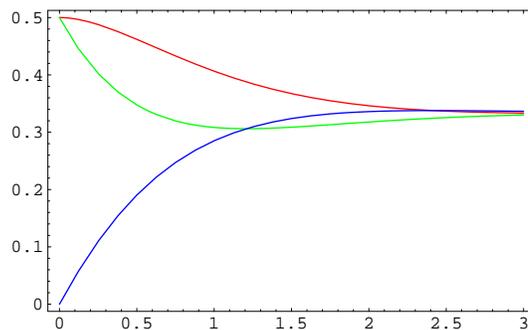
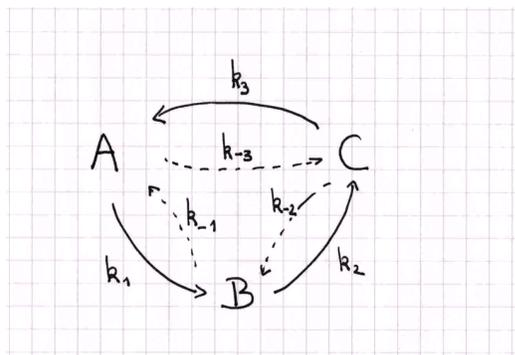


FIG. B.1 – A gauche : schéma du cycle étudié. Le sens $A \rightarrow B \rightarrow C \rightarrow A$ est favorisé. On néglige les réactions représentées par les flèches en pointillés. A droite : exemple de solution pour les concentrations a , b , c . La concentration totale est prise égale à 1. La violation de la balance détaillée ne conduit pas nécessairement à des oscillations entretenues.

On obtient alors le système (prenons les k_i égaux à 1 pour simplifier) :

$$\begin{aligned} \frac{da}{dt} &= -a + b \\ \frac{db}{dt} &= -b + c \\ \frac{dc}{dt} &= -c + a \end{aligned} \tag{B.1}$$

Sous forme matricielle :

$$M = \begin{pmatrix} -1 & 1 & 0 \\ 0 & -1 & 1 \\ 1 & 0 & -1 \end{pmatrix} \quad (\text{B.2})$$

Les valeurs propres de la matrice sont données par l'annulation du polynôme caractéristique

$$\begin{aligned} 0 &= (X + 1)^3 - 1 \\ &= X(X^2 + 3X + 3) \end{aligned} \quad (\text{B.3})$$

Les racines sont donc $0, -3/2 + -i\sqrt{3}/2$: les solutions sont des oscillations très amorties vers l'état stationnaire $a = b = c = 1/3(a_0 + b_0 + c_0)$ (figure B.1, à droite). Dans ce cas l'énergie injectée dans le système, de l'ordre de $k_B T \ln(3Z)$ par molécule, ne permet pas au système d'osciller ; elle permet simplement à un flux net $A \rightarrow B \rightarrow C \rightarrow A$ de s'établir.

Ce calcul illustre les résultats de [67] : un système chimique régi par des lois linéaires ne peut pas osciller.

Bibliographie

- [1] R. Kessin. *Dictyostelium : Evolution, Cell Biology, and the Development of Multicellularity*. Cambridge University Press, 2001.
- [2] R. Meili *et al.* Two Poles and a Compass. *Cell*, 114 :153–156, 2003.
- [3] S. Fache. *Motilité sous flux et étalement de Dictyostelium discoideum*. PhD thesis, Université Joseph Fourier-Grenoble I, 2005.
- [4] E. Décavé *et al.* Shear Flow-Induced Detachment Kinetics of *Dictyostelium discoideum* Cells from Solid Substrate. *Biophysical Journal*, 82 :2383–2395, 2002.
- [5] V. Mogilner *et al.* Regulation of actin dynamics in rapidly moving cells : a quantitative analysis. *Biophysical Journal*, 83 :1237–1258, 2002.
- [6] Jay *et al.* A mechanical function of myosin II in cell motility. *Journal of Cell Science*, 108 :387–393, 1995.
- [7] A. J. Ridley. Cell migration : Integrating signals from front to back. *Science*, 302 :1704–1709, 2003.
- [8] Y. Fukui *et al.* Mechanistics of amoeboid locomotion : Signal to forces. *Cell Biology International*, 26, 11 :933–944, 2002.
- [9] A. Mogilner *et al.* Polymers Motors : Pushing out the Front and Pulling up the Back. *Current Biology*, 13 :R721–R733, 2003.
- [10] M. Welch. The Actin Cytoskeleton. Cours de l'Université de Berkeley, <http://mcb.berkeley.edu>.
- [11] S. L. Moores *et al.* Myosin dynamics in live *Dictyostelium* cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93 :443–446, 1996.
- [12] E. Sackmann. Physics of composite cell membrane and actin based cytoskeleton, École des Houches «physics of bio-molecules and cells», édité par H. Flyvbjerg, F. Jülicher, P. Ormos, F. David.
- [13] R. Simson *et al.* Membrane Bending Modulus and Adhesion Energy of Wild-Type and Mutant Cells of *Dictyostelium* Lacking Talin or Cortexillins. *Biophysical Journal*, 74, 1 :514–522, 1998.
- [14] R. Lipowsky and S. Sackmann, editors. *Structure and Dynamics of Membranes : From Cells to Vesicles*, volume 1A. Elsevier Science B.V., 1995.
- [15] R. Hochmuth. Micropipette aspiration of living cells. *Journal of Biomechanics*, 33 :15–22, 2000.
- [16] D. Garrivier *et al.* Peeling model for cell detachment. *Eur. Phys. J. E.*, 8 :79–97, 2002.
- [17] E. Décavé *et al.* Shear flow-induced motility of *Dictyostelium discoideum* cells on solid substrate. *J. Cell Sci.*, 116 :4331–4343, 2003.

- [18] F. Gerbal *et al.* An Elastic Analysis of *Listeria monocytogenes* Propulsion. *Biophysical Journal*, 79 :2259–2275, 2000.
- [19] V. Noireaux *et al.* Growing an Actin gel on Spherical surfaces. *Biophysical Journal*, 78 :1643–1654, 2000.
- [20] D. Riveline *et al.* Acting on actin : the electric motility assay. *Eur Biophys J*, 27 :403–408, 1998.
- [21] J. Howard. *Mechanics of Motor Proteins and the Cytoskeleton*. Sinauer Associates, 2001.
- [22] D. Pantaloni *et al.* Mechanism of Actin-Based Motility. *Science*, 292 :1502–1506, 2001.
- [23] D. Raucher *et al.* Cell Spreading and Lamellipodial Extension Rate Is Regulated by Membrane Tension. *The Journal of Cell Biology*, 148, 1 :127–136, 2000.
- [24] M. Sokabe *et al.* Quantitative video microscopy of patch clamped membranes stress, strain, capacitance, and stretch channel activation. *Biophysical Journal*, 59 :722–728, 1991.
- [25] E. Evans. New membrane concept applied to the analysis of fluid shear and micropipette-deformed red blood cells. *Biophysical Journal*, 13 :941–954, 1973.
- [26] R. Merkel *et al.* A Micromechanic Study of Cell Polarity and Plasma Membrane Cell Body Coupling in *Dictyostelium*. *Biophysical Journal*, 79 :707–719, 2000.
- [27] F.-O. Pincot. Mémoire de DEA, Université Joseph Fourier-Grenoble 1, 2004.
- [28] M. A. Titus. A class VII unconventional myosin is required for phagocytosis. *Curr. Biol.*, 9(22) :1297–1303, 1999.
- [29] Y. Fukui. How well can an amoeba climb? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97, 18 :10020–10025, 2000.
- [30] F. Kruse *et al.* Actively contracting Bundles of Polar Filaments. *Physical Review Letters*, 85, 8 :1778–1781, 2000.
- [31] J. Dalous. Communication personnelle.
- [32] F. Jülicher. Force and Motion Generation of Molecular Motors : A Generic Description, in *Transport and Structure : Their Competitive Poles in Biophysics and Chemistry*, 1999.
- [33] A. Pierres *et al.* Cell Membrane Alignment along Adhesive Surfaces : Contribution of Active and Passive Cell Processes. *Biophysical Journal*, 84 :2058–2070, 2003.
- [34] A. Pierres *et al.* Cell fitting to adhesive surfaces : A prerequisite to firm attachment and subsequent events. *European Cells and Materials*, 3 :31–45, 2002.
- [35] H-G. Döbereiner *et al.* Dynamic Phase Transition in Cell Spreading. *Physical Review Letters*, 93, 10 :1081051, 2004.
- [36] A. Engler *et al.* Substrate Compliance versus Ligand Density in Cell on Gel Responses. *Bio. Phys. J.*, 86 :617–628, 2004.
- [37] Yeung *et al.* Effects of Substrate Stiffness on Cell Morphology, Cytoskeletal Structure, and Adhesion. *Cell Motility and the Cytoskeleton*, 60 :24–34, 2005.
- [38] S. H. Zigmond. Formin-induced nucleation of actin filaments. *Current Opinion in Cell Biology*, 16 :1–7, 2003.
- [39] N. Gerald *et al.* A Role for *Dictyostelium* RacE in Cortical Tension and Cleavage Furrow Progression. *The Journal of Cell Biology*, 141 :483–492, 1998.

- [40] P. Vernier. G-protein Coupled Receptors : Themes and Variations on Membrane Transmission of Extracellular Signals, École des Houches «From Cell to Brain», édité par J. Zaccai, J. Massoulié et F. David.
- [41] J. Lee *et al.* Regulation of cell movements is mediated by stretch-activated calcium channels. *Nature*, 400 :382–386, 1999.
- [42] V. XU *et al.* Divergent signals and cytoskeletal assemblies regulate self-organizing polarity in neutrophils. *Cell*, 114 :201–214, 2003.
- [43] J. A. Theriot. The Polymerization Motor. *Traffic*, 1 :19–28, 2000.
- [44] C. Peskin *et al.* Cellular Motions and Thermal Fluctuations : The Brownian Ratchet. *Biophysical Journal*, 65 :316–324, 1993.
- [45] R. Feynman. *The Feynman Lectures on Physics, Vol.1.* Addison Wesley Longman, 1970.
- [46] A. Mogilner *et al.* Cell Motility Driven by Actin Polymerization. *Biophysical Journal*, 71 :3030–3045, 1996.
- [47] A. Mogilner *et al.* Force Generation by Actin Polymerization II : The Elastic Ratchet and Tethered Filaments. *Biophysical Journal*, 84 :1591–1605, 2003.
- [48] B. Widom. Line Tension and the Shape of a Sessile Drop. *J. Phys. Chem*, 99 :2803–2806, 1995.
- [49] D. Maugis. *Contact, Adhesion and Rupture of Elastic Solids.* Springer, 2000.
- [50] O. du Roure *et al.* Force mapping in epithelial cell migration. *PNAS*, 102 :2390–2395, 2005.
- [51] O. P. Hamill *et al.* Molecular Basis of Mechanotransduction in Living Cells. *Physiological Reviews*, 81 :685–740, 2001.
- [52] O. Medalia *et al.* Macromolecular architecture in eukaryotic cells visualized by cryoelectron tomography. *Science*, 298(5596) :1209–1213, Nov 2002.
- [53] C. Tordeux, J.-B. Fournier, and P. Galatola. Analytical Characterization of Adhering Vesicles. *Phys. Rev. E.*, 65 :041912(1–9), 2002.
- [54] L. Landau and E. Lifchitz. *Théorie de l'élasticité.* Ed. Mir, Moscou, 1967.
- [55] J. Dai *et al.* Myosin I Contributes to the Generation of Resting Cortical Tension. *Biophysical Journal*, 77 :1168–1176, 1999.
- [56] J. D. Murray. *Mathematical Biology.* Springer-Verlag, New York, 1989.
- [57] S. Fache *et al.* Calcium Mobilization Stimulates *Dictyostelium* Shear-flow induced Motility. *Journal of Cell Science*, sous presse, 2005.
- [58] G. Giannone *et al.* Periodic lamellipodial contractions correlate with rearward actin waves. *Cell*, 116 :431–443, 2004.
- [59] A. Turing. The chemical basis of morphogenesis. *Phil. Trans. Roy. Soc. Lond.*, B237 :37–72, 1952.
- [60] C. Nicolis *et al.* Chemical Oscillations. *Chemical Reviews*, 73, 4 :365–384, 1973.
- [61] J. J. Tyson. Properties of two-component bimolecular and trimolecular chemical reaction systems. *The Journal of Chemical Physics*, 59, 8 :4164–4173, 1973.
- [62] J. J. Tyson. Some further studies of nonlinear oscillations in chemical systems. *The Journal of Chemical Physics*, 58, 9 :3919–3930, 1973.

- [63] M. R. Atkinson *et al.* Development of Genetic Circuitry Exhibiting Toggle Switch or Oscillatory Behavior in *Escherichia coli*. *Cell*, 113 :597–607, 2003.
- [64] K. Kruse *et al.* Oscillations in cell biology. *Current Opinion in Cell Biology*, 17 :20–26, 2005.
- [65] J. Schnakenberg. Simple Chemical Reaction Systems with Limit Cycle Behaviour. *J. Theor. Biol.*, 81 :389–400, 1979.
- [66] I. Prigogine. *Introduction to Thermodynamics of Irreversible Processes*. Wiley-Interscience, New York, 1967.
- [67] J.Z. Hearon. *Bull. Math. Biophys.*, 15 :121, 1953.
- [68] D. Shear. An analog of the Boltzmann H-Theorem (a Liapunov Function) for Systems of Coupled Chemical Reactions. *J. Theoret. Biol.*, 16 :212–228, 1967.
- [69] E.J. Crampin *et al.* Mathematical and computational techniques to deduce complex biochemical reaction mechanisms. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 86 :77–112, 2004.
- [70] E. M. Ozbudak *et al.* Multistability in the lactose utilization network of *Escherichia coli*. *Nature*, 427 :737–740, 2004.
- [71] K. S. K. Uchida *et al.* Myosin II contributes to the posterior contraction and the anterior extension during the retraction phase in migrating *Dictyostelium* cells. *Journal of Cell Science*, 116 :51–60, 2003.
- [72] G. Gerisch *et al.* Mobile Actin Clusters and Traveling Waves in Cells Recovering from Actin Depolymerization. *Biophys. J.*, 87 :3493–3503, 2004.
- [73] T. Bretschneider *et al.* Dynamic Actin Patterns and Arp2/3 Assembly at the Substrate-Attached Surface of Motile Cells. *Current Biology*, 14 :1–10, 2004.
- [74] J. Premanand. Approach to Equilibrium of a relaxing System. I. Classical 3-Level System. *Physical Review*, 138, 5B :1320–1322, 1965.
- [75] Y. Fukui *et al.* Myosin II-independent F-actin flow contributes to cell locomotion in *Dictyostelium*. *Journal of Cell Science*, 112 :877–886, 1999.
- [76] D. Bottino *et al.* How nematode sperm crawl. *Journal of Cell Science*, 115 :367–384, 2002.
- [77] L. Vonna *et al.* Local force induced conical protrusions of phagocytic cells. *Journal of Cell Science*, 116 :785–790, 2002.
- [78] S. Hübner *et al.* Enhancement of phosphoinositide 3-kinase (PI 3-kinase) activity by membrane curvature and inositol-phospholipid-binding peptides. *Eur. J. Biochem.*, 258(2) :846–853, 1998.
- [79] T. Wakatsuki *et al.* Effects of cytochalasin D and latrunculin B on mechanical properties of cells. *Journal of Cell Science*, 114 :1025–1036, 2000.
- [80] L. Eichinger *et al.* Mechanical Perturbation Elicits a Phenotypic Difference between *Dictyostelium* Wild-Type Cells and Cytoskeletal Mutants. *Biophysical Journal*, 70 :1054–1060, 1996.
- [81] J. Faix *et al.* Cortexillins, Major Determinants of Cell Shape and Size, Are Actin-Bundling Proteins with a Parallel Coiled-Coil Tail. *Cell*, 86 :631–642, 1996.
- [82] D. Hanein *et al.* An anatomic model of fimbrin binding to F-actin and its implications for filament crosslinking and regulation. *Nature Structural biology*, 5,9 :787–792, 1998.
- [83] M. Goulian *et al.* Gramicidin Channel Kinetics under Tension. *Biophysical Journal*, 74 :328–337, 1998.

- [84] P. Hanusse. De l'existence d'un cycle limite dans l'évolution des systèmes chimiques ouverts. *C. R. Acad. Sc. Paris - Série C*, 274 :1245–1247, 1972.
- [85] F. Jülicher *et al.* Modeling Molecular Motors. *Reviews of Modern Physics*, 69 :1269–1281, 1997.
- [86] Y. Fukui *et al.* Haematopoietic cell-specific CDM family protein DOCK2 is essential for lymphocyte migration. *Nature*, 412 :826–831, 2001.
- [87] I. B. Bischofs *et al.* Elastic interactions of active cells with soft materials. *Physical Review E*, 69 :021911–1–021911–17, 2004.
- [88] M. Denny. A quantitative model for the adhesive locomotion of the terrestrial slug, *Ariolimax columbianus*. *J. exp. Biol.*, 91 :195–217, 1981.
- [89] F. Chamaraux *et al.* Kinetics of cell spreading. *Physical Review Letters*, 94,15 :158102, 2005.
- [90] T. Svitkina *et al.* Arp2/3 Complex and Actin Depolymerizing Factor/Cofilin in Dendritic Organization and Treadmilling of Actin Filament Array in Lamellipodia. *The Journal of Cell Biology*, 145 :1009–1026, 1999.
- [91] Weber *et al.* A talin fragment as an actin trap visualizing actin flow in chemotaxis, endocytosis, and cytokinesis. *Cell Motil Cytoskeleton*, 53(2) :136–149, 2002.
- [92] R. I. Tuxworth *et al.* A role for myosin VII in dynamic cell adhesion. *Curr. Biol.*, 11 :318–329, 2001.
- [93] A. Van Oudenaarden *et al.* Cooperative symmetry-breaking by actin polymerization in a model for cell motility. *Nature Cell Biology*, 1 :493–499, 1999.
- [94] S. Yumura *et al.* Spatiotemporal dynamics of actin concentration during cytokinesis and locomotion in *Dictyostelium*. *Journal of Cell Science*, 111 :2097–2108, 1998.