

Texte de la 588^e conférence de l'Université de tous les savoirs prononcée le 10 juillet 2005

Par Cécile Sykes: « **La physique à l'échelle de la cellule** »

Cette conférence se situe dans le cadre des applications de la physique, et nous allons nous intéresser ce soir aux applications de la physique à la biologie cellulaire.

L'histoire de la biologie a démarré avec les premières observations de cellules faites par le physicien Robert Hooke. Il est très connu des physiciens en particulier pour sa théorie sur l'élasticité et on lui doit le fait de comprendre pourquoi la force sur un ressort est proportionnelle à l'allongement de celui-ci. Il a également développé la microscopie optique dans la suite des travaux de Galilée et de Descartes et, sous son microscope, a eu l'idée de mettre une fine couche de liège dont le dessin vous est représenté ici. Il a ainsi publié en 1665 les travaux décrivant le fait qu'une fine couche d'un matériel vivant comme le liège était formée de petites alvéoles qu'il a lui-même appelées cellules. Ce fut donc la première image de biologie cellulaire. Quelques années plus tard, Van Leeuwenhoek observe les premières bactéries, c'est-à-dire les premiers organismes vivants qu'il voit bouger sous l'objectif de son microscope. Il continue à développer la microscopie optique et observe également des levures, en particulier celles de la bière.

C'est seulement 100 ans plus tard que la théorie cellulaire a pu naître, théorie selon laquelle tout tissu vivant est formé de cellules capables de se diviser. Les nouveaux progrès de la microscopie ont permis ensuite de visualiser le noyau de cellules animales. Pour mémoire, Pasteur a développé la microbiologie à partir des années 1860 et c'est depuis les années 1950 que l'on connaît la morphologie de la cellule et quels en sont les constituants. Ces études de biologie cellulaire ont pu vraiment exploser à partir des années 1970 avec le développement et l'essor considérable de la biologie moléculaire et de la biochimie. Je ne citerai pas dans cet exposé les techniques de microscopie, que ce soit la microscopie optique ou électronique, mais les progrès dans ces domaines ont évidemment permis de connaître ces objets complexes que sont les cellules.

On peut se demander, quand on est physicien, où intervient la physique dans une cellule animale. Je parlerai dans la suite principalement de cellules animales eucaryotes, c'est-à-dire possédant un noyau. La taille de ces cellules est de l'ordre du 10^{ème} au 100^{ème} de millimètre. On peut décrire une cellule de manière extrêmement simple comme un sac avec une membrane, élément sur lequel je vais revenir dans quelques secondes. Ce sac contient, comme vous le savez sûrement, un noyau dans lequel l'ADN, élément à la base de la vie, est fortement compacté. Par ailleurs ce sac contient de nombreux morceaux de membrane qui servent au transfert de toutes les protéines synthétisées auprès du noyau vers le reste de la cellule, mais je ne reviendrai presque pas sur ces fonctions par la suite. Cette membrane est assez complexe, vous voyez ici qu'elle est attachée à des polymères extérieurs, mais elle est également liée à de longs filaments à l'intérieur de la cellule. Cette membrane va permettre des échanges entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule. Si on regarde d'un peu plus près sa constitution, on remarque la présence d'une double couche de molécules. Celles-ci ont une partie hydrophile et une partie hydrophobe. En d'autres termes, elles ont une petite tête polaire qui aime l'eau et une queue hydrophobe qui n'aime pas l'eau. Elles vont donc s'arranger pour être le plus heureuses possible et vont mettre leurs têtes vers l'eau. Il faut noter que la cellule contient tout un tas de matériel mais le milieu interne est néanmoins principalement de l'eau, de même que l'extérieur de la cellule. Cette petite tête polaire va donc se mettre vers l'eau que ce soit à l'intérieur ou à l'extérieur de la cellule et former une

double couche qui constitue la paroi du sac cellulaire. Dans cette membrane sont enfichées des protéines transmembranaires qui, contrairement aux autres protéines présentes dans la cellule, sont là pour assurer les échanges entre l'intérieur et l'extérieur, faire passer des protons, des molécules, de la nourriture... tout ce qui est nécessaire à la vie de la cellule. Un autre point sur lequel on va largement revenir dans la suite est la structure qui sous-tend cette cellule. Vous avez certainement déjà vu des images de cellules qui sont souvent rondes ou qui ont au moins une partie ronde, et sont donc des objets à trois dimensions. Ils sont à trois dimensions car ils sont sous-tendus par cette structure très complexe de filaments enchevêtrés, accrochés entre eux, qui forment finalement une structure en forme de filet de pêche à trois dimensions. Vous savez que nos cellules se divisent mais vous savez peut-être moins que nos cellules se déplacent. Il y a plusieurs phénomènes dans lesquels on voit des cellules se déplacer. J'ai choisi de vous montrer celui-ci : une cicatrisation. Sur l'image en haut à gauche (figure 1), vous pouvez voir une monocouche de cellules, chaque cellule est une des petites alvéoles que l'on voit ici. On a donc une couche unique de cellules sur un substrat de verre, sur laquelle on fait une plaie artificielle. On peut, par exemple, aller ouvrir une plaie avec une pipette de verre. Ensuite, au bout de quelques heures, les cellules sont capables de migrer, de se déplacer sur la surface pour aller cicatrifier cette blessure et vous voyez qu'au bout de plusieurs heures (22h) on ne distingue presque plus la plaie initiale. Quand on se blesse, les cellules se déplacent donc pour aller cicatrifier la blessure. Un autre cas dans lequel les cellules se déplacent et ceci anormalement rapidement, est dans la maladie du cancer. Vous savez peut-être déjà qu'un des dysfonctionnements caractéristiques du cancer est une division anormalement rapide des cellules, mais un autre de ces dysfonctionnements est un déplacement anormalement rapide des cellules atteintes, ce que nous allons détailler dans quelques minutes.

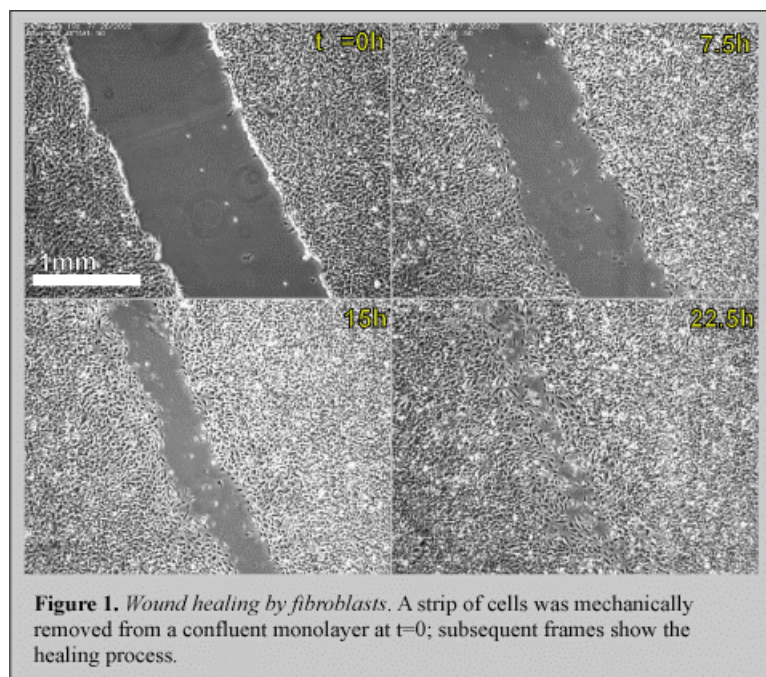


Figure 1: [M. Bindschadler, University of Rochester, USA]

Dans toute la suite je parlerai de motilité cellulaire, qui est définie dans le dictionnaire comme le mouvement d'un organisme vivant. Je vais donc parler alternativement du mouvement

d'une cellule ou de motilité. Voici un schéma pour expliquer en quoi la motilité cellulaire a des implications dans le cancer. Vous voyez ici une tumeur au sein de laquelle les cellules se sont divisées anormalement rapidement, ce qui procure d'ailleurs une tension à ces tissus. Et ces cellules s'échappent de ce foyer infectieux et sont capables de migrer pour être ensuite transportées dans le sang et elles sont ensuite capables de migrer pour sortir des vaisseaux sanguins et infecter un autre organe. Elles vont ainsi créer un nouveau foyer cancéreux. Les cellules cancéreuses se déplacent anormalement vite et sont donc à l'origine du développement des métastases.

La protéine dont l'assemblage et la dynamique sont responsables du mouvement cellulaire décrit ci-dessus est très conservée dans la plupart des types cellulaires. Par exemple vous pouvez voir ici une amibe en train de se déplacer vers la droite. Les amibes sont des organismes unicellulaires que l'on trouve entre autres dans les mares ou les eaux stagnantes. Ceux-ci se déplacent par le même mécanisme qu'utilisent nos cellules pour se déplacer. Vous voyez sur ce film une cellule qui étend ce que l'on appelle des pseudopodes, c'est-à-dire qu'elle pousse la membrane pour être capable d'aller sonder le substrat. Dans son mouvement elle transporte bien sûr le noyau cellulaire. On voit également sur ce film que l'intérieur de la cellule est rempli de petits objets qui ont tous un rôle dans la vie de la cellule. On va revenir un peu plus tard sur ceux-ci.

Je vous proposerai trois parties dans la suite de l'exposé. Dans une première partie on va décrire l'environnement physique d'un objet passif à l'intérieur de la cellule. Vous avez vu que la cellule était en mouvement, et ce par un mécanisme actif qui consomme de fait de l'énergie chimique. Mais nous nous intéresserons plutôt dans la première partie à un objet inerte, qui ne sait pas bouger, en nous attelant à décrire son environnement physique. Dans une deuxième partie je vous décrirai l'architecture, l'organisation interne de la cellule. Nous étudierons donc la structure qui lui donne ses propriétés mécaniques. Enfin, dans la dernière partie, nous étudierons ensemble les mouvements actifs dans la cellule. Nous nous pencherons plus précisément sur certains d'entre eux : ceux de bactéries qui se déplacent à une vitesse de l'ordre du micron par minute. Nous analyserons donc les mécanismes physiques de ce mouvement. Ce film est accéléré 900 fois et on va ensemble étudier le mécanisme physique de ce mouvement.

Pour évoquer le mouvement dans un fluide, on a l'habitude de se situer plutôt à l'échelle d'une rivière ou d'un lac, embarqués sur un bateau. On sait alors que, si on coupe les moteurs, le bateau va continuer à avancer. C'est ce que l'on appelle l'inertie. Et vous savez comme moi que sur un bateau classique la distance d'arrêt est bien supérieure au mètre. C'est-à-dire que pour arriver à un ponton, j'ai intérêt à arrêter les moteurs bien avant pour ne pas casser mon bateau. Par contre vous pouvez imaginer que si mon bateau n'est plus dans de l'eau mais dans un liquide extrêmement visqueux, par exemple de la mélasse ou encore du miel, ce temps d'arrêt va pouvoir diminuer puisqu'on sait que le miel ou la mélasse coulent très lentement. Mon bateau va donc avancer lui aussi plus lentement et va être moins sensible à cette distance d'arrêt nécessaire pour accoster. Pour parler en termes d'hydrodynamique, la question est de savoir si l'on est dans le cas d'un phénomène inertiel ou d'un phénomène gouverné par la viscosité. On définit pour cela le nombre de Reynolds (figure 4).

$$R = \frac{\text{forces inertielles}}{\text{forces visqueuses}} = \frac{a \times V \times \rho}{\eta}$$

[O. Reynolds, *Philosophical Transactions Royal Society*, 1883]

Si $R \gg I$, l'inertie domine
Si $R \ll I$, la viscosité domine

[E.M. Purcell, *Am. J. of Physics*, 1977]

Il est le rapport entre les forces dues à l'inertie, c'est-à-dire la force qu'il faudrait que j'applique pour arrêter pour bateau et les forces visqueuses, celles que je dois combattre pour pouvoir avancer dans un fluide. Ce nombre de Reynolds est sans dimension puisque c'est un rapport de forces. Il est proportionnel à la taille et à la vitesse de l'objet, à la densité du fluide dans lequel il est plongé mais aussi inversement proportionnel à la viscosité du fluide. Donc si ce nombre de Reynolds est très grand devant 1 ce sont les forces inertielles qui vont dominer et on va pouvoir négliger les effets de la viscosité, c'est le cas du bateau dans l'eau. Mais si le nombre de Reynolds du problème est très petit devant 1, c'est la viscosité qui domine. A l'échelle d'une cellule, on est dans le cas d'un nombre de Reynolds bien inférieur à 1. C'est donc la viscosité qui domine, on n'a pas de forces d'inertie. Voici quelques exemples des ordres de grandeur des nombres de Reynolds de situation courantes. Pour un nageur dans une piscine il est égal à 10000 donc bien supérieur à 1 ; pour des poissons dans une rivière, il est de l'ordre de 100. Pour un spermatozoïde par contre, il est de l'ordre de 10^{-4} donc bien inférieur à 1, donc, encore une fois, ce sont les effets de viscosité qui dominent. On pourrait se demander dans quel environnement mettre un nageur pour qu'il se retrouve dans les mêmes conditions hydrodynamiques que son propre spermatozoïde. Je vous ai dit tout à l'heure que le nombre de Reynolds était de 10^{-4} pour un spermatozoïde alors qu'il valait 10^4 pour un nageur. Il va donc falloir que je divise le nombre de Reynolds du nageur 2 fois par 10^4 . Si on rappelle la formule du nombre de Reynolds, cela signifie qu'il faut que je mette ce nageur dans un liquide 10 000 fois plus visqueux que l'eau et il faut qu'il nage à une vitesse 10 000 fois plus faible. Si on considère qu'un nageur moyen tel que vous et moi va à une vitesse de 3km/h, il faudrait alors que ce nageur nage à 0.3m/h, ce qui est bien sûr extrêmement faible. Imaginez-vous alors comme un spermatozoïde l'espace de deux minutes et vous devez réaliser que vous ne bougez pas beaucoup et pas très vite. Un autre aspect important est le fait que, dans ce milieu très visqueux, vous n'allez pas pouvoir utiliser l'inertie pour nager. En effet, dès que vous arrêtez de bouger vous vous arrêtez complètement. On peut estimer quelques valeurs caractéristiques relatives à ce spermatozoïde lorsqu'il arrête son mouvement. On trouve qu'entre le moment où il décide de s'arrêter et le moment où il s'arrête vraiment, il parcourt une distance de l'ordre de 0.1 Angström ce qui est au-dessous de l'atome donc totalement négligeable. Il mettra également 0.3 microsecondes pour s'arrêter, c'est-à-dire $3 \cdot 10^{-7}$ s, ce qui est aussi extrêmement faible. Le message que je veux faire passer ici est le fait qu'il y a absence d'inertie dans la cellule. Les phénomènes sont gouvernés par la viscosité et on peut alors définir la force de frottement fluide. Elle est proportionnelle à la viscosité, à la taille de l'objet et à la vitesse. Il faut se souvenir pour la suite de son ordre de grandeur qui est de 10^{-15} à 10^{-17} Newton pour un spermatozoïde dans un liquide qui ressemble à de l'eau. Je vous rappelle que 10 Newtons représentent la force exercée par une masse de 1kg, c'est-à-dire la force que je devrais appliquer avec ma main pour éviter qu'un poids de 1kg ne tombe par terre.

Les éléments constitutifs de la cellule sont, à cette échelle, soumis à un autre phénomène important : le mouvement Brownien. On peut observer le mouvement Brownien sur ce film en mettant simplement des petites billes de latex d'un demi micron de diamètre en solution dans de l'eau. Une observation au microscope permet alors de remarquer une agitation incessante. La première observation de ce mouvement est due à Brown qui, en 1827, a observé cette agitation sur des particules de pollen. Imaginez-vous, à l'époque, les conséquences de la découverte de ce type de mouvements. La première chose à laquelle les chercheurs ont pensé

fut un mouvement actif, c'est-à-dire un mouvement vivant. Ils en ont donc conclu que les particules de pollen étaient des cellules vivantes. On sait maintenant que c'est faux. Et il a fallu attendre 1898 pour que les premières expériences quantitatives soient faites sur ce système. Il fut observé en particulier que ce mouvement est plus rapide quand la taille diminue. C'est encore une expérience que j'ai réalisée pour vous. A gauche vous voyez des particules d'un demi micron de diamètre, à droite des particules de 3 microns de diamètre. Vous voyez facilement que la vitesse mais aussi l'amplitude des mouvements sont beaucoup plus grandes à gauche qu'à droite. Il faut préciser que tous ces films sont en temps réel. Une fois ces observations effectuées, il a fallu attendre Einstein qui a proposé en 1905 la théorie cinétique du mouvement Brownien. Cette année marque le centenaire de nombreuses découvertes d'Einstein et celle-ci en fait partie. Cette théorie a pu ensuite être confirmée par Jean Perrin. Il montra également que le mouvement augmente avec la température. Ces phénomènes dépendent d'une énergie appelée l'énergie thermique. Elle est proportionnelle à la température par un facteur nommé le facteur de Boltzmann et vaut un demi de kT par degré de liberté. Par exemple, en trois dimensions, j'ai trois degrés de liberté x , y et z , donc on aura $3/2$ de kT . On peut alors donner un ordre de grandeur de cette énergie : à température ambiante, la température de cette salle par exemple qui est d'environ 300 Kelvin, cette énergie vaut 4×10^{-21} Joules. Jean Perrin a ensuite montré que le mouvement brownien était géométriquement le même à toute échelle, ce qui a marqué le début de la physique des fractales dont vous avez sans doute entendu parler. On sait maintenant que les objets à l'intérieur de la cellule sont soumis uniquement aux forces de viscosité et pas aux forces d'inertie. On sait également que, même inertes, ils sont soumis à cette agitation Brownienne. On va donc pouvoir étudier ces objets et comment l'énergie qui est consommée dans la cellule leur donne la faculté de se mouvoir, de bouger à l'intérieur de la cellule et de faire bouger ainsi la cellule elle-même.

Je vais maintenant décrire dans cette deuxième partie ce qu'il y a à l'intérieur de la cellule, ce qui lui permet d'avoir ces propriétés mécaniques et dynamiques. Si vous observez une image de cellule dans laquelle ont été marquées toutes les parties denses avec un marqueur spécifique, vous voyez que la figure obtenue n'est pas du tout homogène. Cela ressemble plutôt à une tour Eiffel écrasée (figure 2).

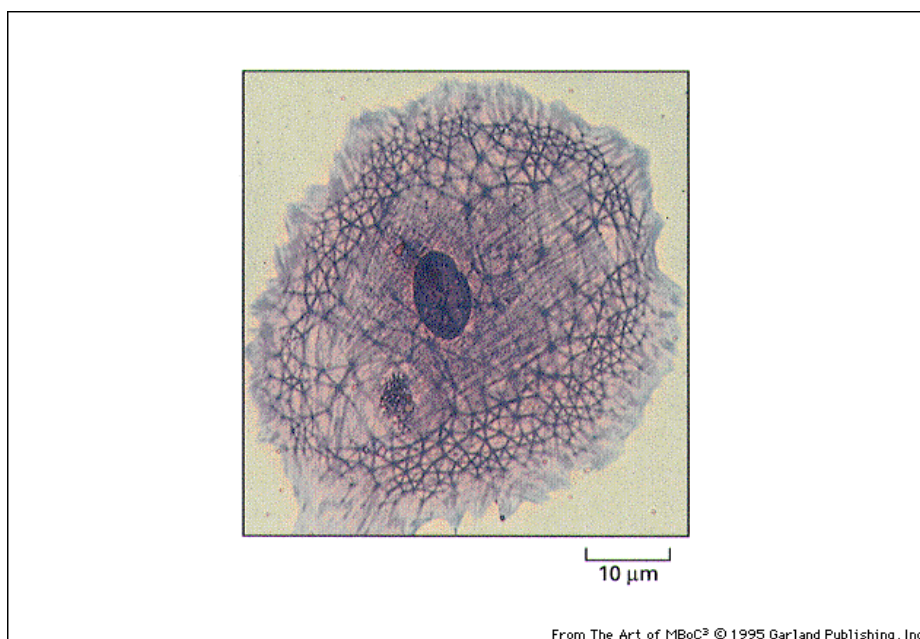
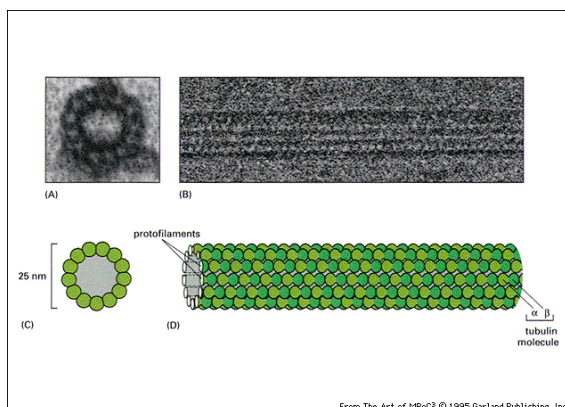


Figure 2

Malgré un certain désordre, on voit bien qu'il y a une structure sous-jacente dans cette cellule et vous pouvez en particulier noter l'existence de différentes zones. Ici vous avez des filaments branchés, ici des structures plus ténues, et vers l'intérieur, près du noyau, des filaments plutôt allongés et alignés. Tous ces filaments peuvent être classés en trois types et assurent à la cellule la capacité à garder sa forme ou au contraire de changer de forme. Ce sont des polymères car ils se présentent sous forme de longs filaments à l'intérieur desquels le même motif est répété de nombreuses fois. Seules deux des trois sortes de filaments existants seront étudiées par la suite, ce sont les microtubules et les filaments d'actine, ces polymères dynamiques qui assurent le mouvement de la cellule. Dans la suite on va se concentrer sur les filaments d'actine qui sont vraiment essentiels au mouvement cellulaire.

Vous voyez qu'un microtubule est un tube creux de diamètre 25nm. Vous pouvez également observer sur l'image du dessus tous les petits filaments qui forment ce tube, puisque l'on est capable de les résoudre en microscopie électronique. Ces filaments sont hélicoïdaux comme ceux d'actine pour lesquels la période de d'hélice est de 36nm (figure 3). Les filaments d'actine sont plus fins. Leur épaisseur varie entre 5 et 8 nm selon l'endroit où l'on se place puisque la structure en hélice présente des zones plus fines que d'autres. Sur cette image de microscopie électronique vous pouvez ainsi distinguer des parties plus épaisses et des parties plus fines.

Microtubules



Filaments

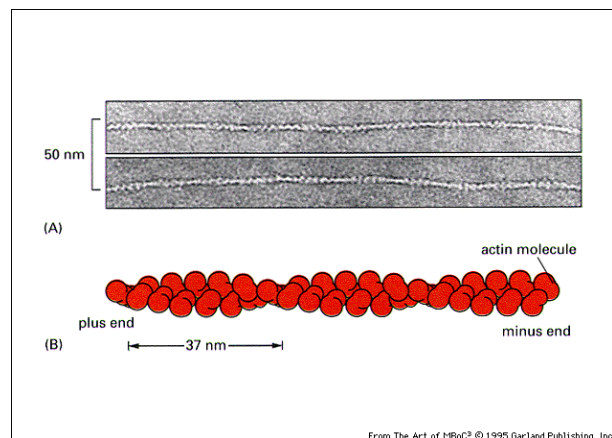


Figure 3

On trouve ces filaments d'actine en de nombreux endroits de nos cellules et de notre corps. On peut en particulier les voir dans les cellules de l'intestin représentées ici (figure 4). Ces cellules, dites épithéliales, se trouvent au bord de notre intestin et présentent un grand nombre de doigts du côté intérieur de l'intestin. Cela leur permet ainsi d'être en contact avec ce qui passe dans celui-ci. L'intérêt pour la cellule de présenter ces doigts, sous-tendus de filaments d'actine pour leur assurer longueur et élongation, est d'augmenter la surface de contact avec l'intérieur de l'intestin et donc d'augmenter les possibilités d'échanges entre l'extérieur et l'intérieur de la cellule et de faire ainsi passer les nutriments. Un autre exemple de cellules dans lesquelles les filaments d'actine sous-tendent la structure, l'architecture de celles-ci, est celui des cellules de l'oreille interne. Vous voyez ici des touffes ciliaires (figure 4). Elles présentent

un assemblage de doigts de membrane remplis de filaments d'actine qui assurent leur rigidité. Ces cellules présentes dans l'oreille interne ont une partie en contact avec le fluide de l'oreille. Lorsqu'une onde acoustique est reçue, ces petites touffes ciliaires se mettent à osciller et transmettent ainsi le signal, en particulier la fréquence de l'oscillation, au reste du système nerveux. Les muscles sont également riches en actine. En effet, ils sont constitués de filaments d'actine sur lesquels courent des myosines, moteurs moléculaires capables de se déplacer sur ces filaments. Si les moteurs courent sur deux filaments en sens opposé, il va y avoir une contraction de l'ensemble. On décrit ainsi le mécanisme de contraction de nos muscles.

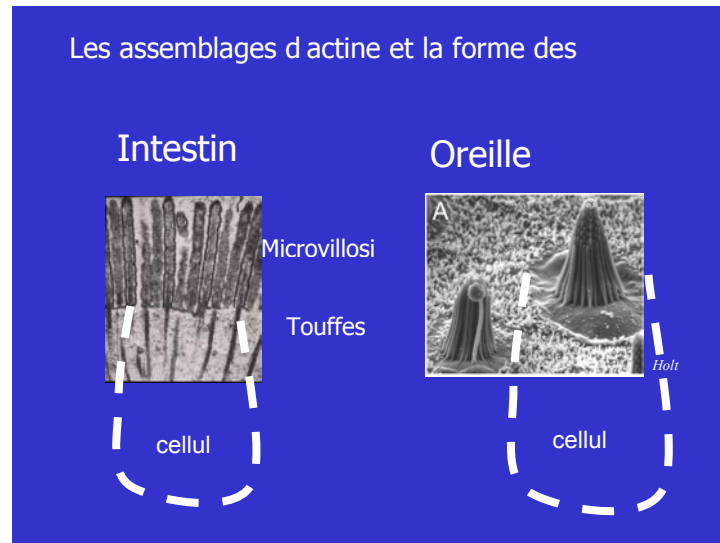


Figure 4

L'actine est une protéine qui se retrouve donc en grande quantité et dans de nombreuses cellules. Elle donne non seulement une structure à la cellule mais est aussi un polymère dynamique puisque c'est celui-ci qui est à la base du mouvement des cellules. C'est un polymère dynamique dans la mesure où le filament est polarisé. En effet les monomères s'assemblent d'un côté tandis qu'ils se dissocient de l'autre. Vous pouvez alors obtenir un régime stationnaire dans lequel la longueur du filament est constante alors que le filament se renouvelle en permanence puisqu'il s'assemble d'un côté et se désassemble de l'autre. Pour mieux le voir on peut peindre d'une couleur différente deux monomères. Si le bout +, celui qui croît, est à gauche et le bout -, où se fait la dépolymérisation, à droite, on voit les monomères se déplacer dans le filament du bout + vers le bout - pour enfin être perdus et rejetés dans la cellule. Ils vont ensuite se transformer dans le milieu cellulaire pour recommencer cette réaction. La cellule tire évidemment parti de ce genre de réactions puisqu'elle peut réutiliser les monomères une fois que ceux-ci sont rechargés. Elle va aussi pouvoir avoir un mouvement net vers l'avant puisque ce filament, bien qu'ayant conservé la même longueur, est parvenu à se constituer un mouvement vers l'avant. Il faut bien sûr une source d'énergie pour ce processus, celle-ci est l'hydrolyse de l'ATP, Adénosinetriphosphate, en ADP, Adénosinediphosphate. Ce mécanisme est polaire dans un filament d'actine puisque d'un côté se trouve de l'ATP lié à de l'actine, de l'autre de l'ADP. En outre, l'ADP-actine se défait plus facilement que l'ATP-actine. C'est ce qui engendre les propriétés de polarisation évoquées ci-dessus. Comment relier alors cette polarisation des filaments avec la motilité

cellulaire ? Je vais vous présenter un modèle établi par Abercrombie en 1980 dans une conférence à la Royal Society of London publiée juste après sa mort. Il y proposa un modèle de mouvement des cellules en trois étapes. Ce schéma a été conservé depuis et ne cesse d'être confirmé par les expériences effectuées en laboratoire.

La première étape est la polymérisation de l'actine sous la membrane. Les monomères s'additionnent donc sous la membrane et la déforment ainsi vers l'avant. La deuxième étape est l'adhésion. Il faut en effet que les filaments d'actine s'appuient sur la surface et sur la membrane cellulaire pour pouvoir générer cette protrusion vers l'avant. Il y a donc développement de points d'adhésion, autrement qualifiés de points focaux, pour accrocher le lamellipode à la surface. Enfin, la troisième étape est une étape de rétraction à l'arrière de la cellule. Celle-ci se fait sous l'effet des myosines, les moteurs dont je vous ai parlé tout à l'heure. Ces moteurs vont courir sur les filaments d'actine et générer comme dans nos muscles une contraction. A l'arrière, ce petit muscle va donc rétracter la cellule et lui permettre d'avoir un mouvement net vers l'avant. En résumé (figure 5) les trois étapes sont : 1-polymérisation de l'actine à la membrane, 2-adhésion et 3-rétraction grâce au muscle actine/ moteurs moléculaires.

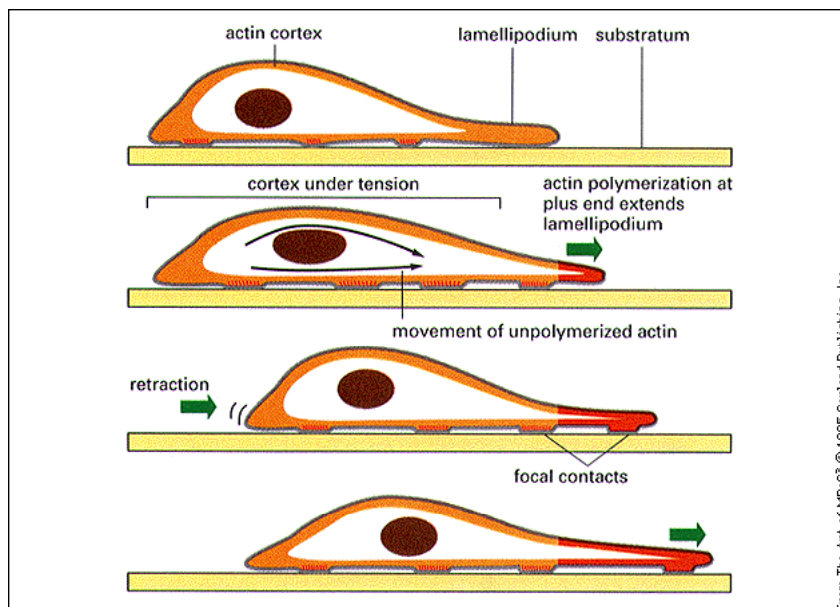


Figure 5 : [Alberts, Molecular Biology of the Cell, 2002]

Dans la suite je vais me focaliser sur le problème suivant : comment produire une force, un mouvement, avec la polarisation d'un polymère près d'une membrane ? Pour vous convaincre qu'une cellule avance effectivement je vous montre ici un film représentant un kératocyte de poisson. Son mouvement est très conservé dans toutes les cellules comme dans l'exemple de l'amibe tout à l'heure. C'est une cellule d'écaille de poisson et il suffit de la poser dans une boîte de pétri pour la voir avancer. Ce film est très accéléré puisque la vitesse de ces cellules est de l'ordre du micron par minute, soit 10^{-6} m/min. Si le mouvement était bien permis par la polymérisation d'actine à la membrane, par cet assemblage de monomères à la membrane, alors en prenant un morceau de membrane contenant de l'actine et de l'ATP (Adenosinetriphosphate), source d'énergie de la cellule, je devrais être capable de faire bouger un petit fragment de la cellule. C'est effectivement ce qui a été montré. Voici un

schéma sur lequel on a pris un petit fragment de cette cellule, assez loin du noyau. Dans un premier temps, le système continue à fonctionner et on a une poussée, due à la polymérisation de l'actine, à la fois en haut, en bas, à droite et à gauche. Le système va donc continuer à fonctionner mais ne va pas réussir à avoir un mouvement net dans une direction. Par contre si on donne un petit coup à l'arrière de cet objet, on brise la symétrie initiale qui l'empêchait de bouger. On va arriver à le pousser vers l'avant et ensuite la même rétraction aura lieu puisque l'on a bien ici des moteurs moléculaires. Ce petit fragment est donc capable de produire lui-même un mouvement vers l'avant. C'est ce que vous voyez ici : ce petit fragment est rond au départ et arrive ensuite à se déplacer tout seul, sans noyau. Cette expérience montre donc que le noyau et tout ce qui l'entoure ne sont absolument pas nécessaires pour expliquer et pour faire fonctionner le mouvement de la cellule. Il suffit d'un sac rempli entre autres d'actine, de myosines et de sa source d'énergie.

Nous allons maintenant nous intéresser à un mouvement un peu plus simple que celui décrit ci-dessus. C'est le mouvement des bactéries *Listeria monocytogenes*. Vous pouvez voir sur ce film une cellule infectée de ces bactéries. Celles-ci se déplacent en laissant derrière elles une traînée dense qui est faite de filaments d'actine. C'est donc la polymérisation de l'actine qui fait avancer ces bactéries. C'est par conséquent le même mécanisme qui fait avancer les cellules et qui fait avancer ces bactéries. Ces bactéries détournent ainsi la machinerie cellulaire pour elles-mêmes se déplacer à l'intérieur d'une cellule. En poussant cet argument plus loin, on peut imaginer stopper une cellule en la surinfectant avec ces bactéries *Listeria* puisque celles-ci utilisent cette machinerie du mouvement. Mais ce n'est bien sûr pas raisonnable. Le cycle d'infection de ces bactéries est schématisé ici (figure 6). On les trouve dans le fromage cru et le poisson cru. La listériose est la maladie créée par ces bactéries. Une fois ingérées, elles entrent dans nos cellules et la membrane se reforme autour d'elles. Elles ont ensuite un mécanisme biochimique capable de détruire cette membrane et ont également à leur surface une protéine capable de polymériser l'actine. Elles développent ainsi à leur surface les petits filaments dont je vous ai parlé tout à l'heure qui croissent par un seul bout. Donc les filaments vont croître à partir de la surface pour générer cette auréole d'actine qu'on peut ici voir en gris. Ensuite la bactérie va se diviser ce qui lui procure une asymétrie. On pourra donc distinguer l'avant de la bactérie et l'arrière où se trouve le nuage d'actine. Cette comète d'actine va être capable de propulser la bactérie en avant et de lui donner une force de propulsion telle qu'elle pourra déformer la membrane et même aller infecter les cellules voisines. Ensuite, le cycle recommence, elle est entourée cette fois-ci d'une double membrane, celle de la cellule qu'elle quitte et celle de la cellule dans laquelle elle rentre. Et, comme tout à l'heure, elle est alors capable de détruire cette membrane et de recommencer son cycle infectieux. Cette capacité qu'a la bactérie *Listeria* à se déplacer, à être propulsée à l'intérieur de la cellule, est responsable de sa virulence puisqu'elle peut facilement passer d'une cellule à l'autre. Je vais m'intéresser dans la suite à ce mécanisme physique étonnant qui permet à ces bactéries d'avancer.

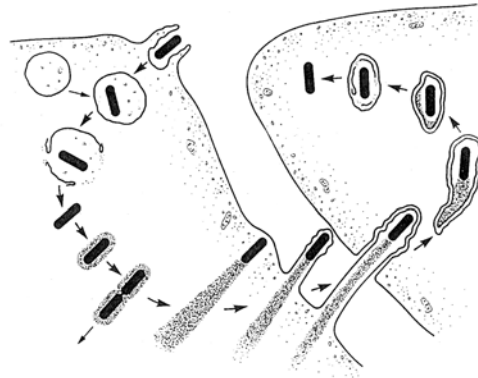


Figure 6 : [L. Tilney, D. Portnoy, 1989]

On sait que ce mouvement est dû à l'assemblage, à l'arrière, d'un nuage d'actine. Sa structure est celle d'un gel, constitué des filaments d'actine évoqués précédemment. En fait la bactérie a beaucoup de désavantages pour faire une étude physique du mouvement puisque sa taille est fixée par la nature, et que la composition de l'activateur de polymérisation à la surface est elle-même imposée par la bactérie. La réalisation en laboratoire d'un système qui mime le mouvement de ces bactéries va alors pouvoir nous permettre d'en étudier les propriétés physiques. Tout porte à croire que cet objectif est réalisable puisqu'on sait que ces bactéries utilisent la machinerie extérieure, celle de la cellule, pour se déplacer. Il suffirait alors d'introduire dans le système une sorte de catalyseur, un activateur de l'assemblage de ces filaments à la surface de ces objets. Peut-on alors produire des billes recouvertes de l'activateur de la polymérisation d'actine pour ensuite les plonger dans un milieu cellulaire ? On peut ensuite modifier la nature du nucléateur présent à la surface car la cellule utilise de nombreux moyens biochimiques pour faire polymériser l'actine pour son mouvement. On peut donc faire varier la densité, la quantité de ces activateurs à la surface, chacun correspondant ensuite à un filament d'actine. Il est ainsi possible de jouer sur le nombre de filaments présents à l'arrière. On peut également modifier la taille et la déformabilité de nos objets. Cette expérience a été réalisée sur une bille de 2 microns. On la voit se déplacer dans un milieu cellulaire comme les bactéries *Listeria*, avec une comète apparaissant ici en noir. Elle croît à l'arrière de la bille et disparaît à l'opposé, reflétant le phénomène de polymérisation / dépolymérisation qui entretient le mouvement. On atteint avec ce système des vitesses de l'ordre de celles des bactéries dans une cellule, c'est-à-dire de l'ordre du micron par minute. On se pose alors la question suivante : comment peut-on, avec un objet parfaitement sphérique, créer cette comète qui ne pousse que d'un côté alors que la bactérie est asymétrique, suite à sa division, ce qui lui permet de ne générer le gel d'actine que d'un côté. Dans la suite je vous parlerai en termes de comètes d'actine ou de gels d'actine puisque l'on peut voir sur les images de microscopie électronique que cette comète ressemble à un plat de spaghetti constitué de nombreux filaments qui confèrent des propriétés élastiques à la cellule. C'est donc un réseau de filaments à trois dimensions.

Nous allons maintenant étudier les mécanismes de cette brisure de symétrie. Je vous rappelle dans ce but que les monomères d'actine viennent réagir à la surface de la bille. Imaginez une pièce de monnaie entourée d'un caoutchouc. Si je veux alors insérer un nouveau caoutchouc entre la pièce et le caoutchouc déjà tendu, il va falloir étirer le premier caoutchouc. De même il va falloir étirer la première couche d'actine afin d'en insérer une nouvelle. De cet étirement va résulter une contrainte appliquée au matériau, contrainte qu'il va essayer de relâcher. Voici

une expérience réalisée avec une bille assez grosse de 14 microns. On va passer d'un état symétrique à un état dans lequel la comète va croître. La couche extérieure est sous contrainte, mais peut aussi présenter des défauts dans l'organisation du gel. En effet certains liens peuvent être plus ou moins éloignés les uns des autres sur toute la surface du gel. Ces imperfections vont induire une cassure sur l'extérieur et permettre à ces objets de se propulser. On peut observer ce phénomène sur ce film dans lequel les monomères d'actine sont marqués. Le gel apparaît alors comme brillant tandis que la bille est sombre. On voit l'épaisseur du gel croître suite à l'addition des monomères à la surface, poussant le gel déjà formé vers l'extérieur. On assiste ensuite à l'éclatement de la couche d'un côté. Puis la première couche va vouloir relaxer, c'est-à-dire retourner dans une situation normale où elle n'est plus tendue par cette géométrie sphérique. Cela conduit alors à la formation d'une comète. La bille va pouvoir partir dans une direction et laisser sa comète derrière elle.

Si on a vraiment des phénomènes d'élasticité qui permettent la brisure de symétrie et le mouvement en résultant, alors l'utilisation d'un matériau déformable comme support doit permettre d'en observer l'effet. On fait donc la même expérience sur une bille déformable, qui est ici une bille d'huile recouverte de l'activateur de la polymérisation de l'actine (figure 14). Une fois la symétrie brisée et la comète formée, on observe un petit pincement à l'arrière de la bille. On comprend aisément que le mouvement vient de ce pincement à l'arrière. Le même phénomène se produit si je pince l'arrière d'un pépin de melon : celui-ci va partir à l'autre bout de la pièce. Mais il n'y a pas d'inertie dans notre problème, donc il faudrait constamment presser sur ce pépin pour le faire avancer dans un milieu de viscosité dominante. C'est exactement ce qui se passe ici avec les filaments d'actine. Ceux-ci s'assemblent en continu à l'arrière, procurant en permanence une contrainte sur l'arrière de cet objet qui veut donc constamment s'échapper de cette contrainte. On peut tirer des mesures physiques de ces expériences. Si on analyse la forme de cet objet, il est possible d'y relier les forces mises en jeu grâce à l'équation de Laplace. Celle-ci nous dit que la différence de pression de chaque côté d'une interface liquide est proportionnelle à la tension superficielle et inversement proportionnelle au rayon de courbure. Si on applique cette équation du côté dénué d'actine, la différence de pression entre l'intérieur et l'extérieur de la goutte est inversement proportionnelle au rayon de courbure. Mais si je veux appliquer l'équation de Laplace du côté de la comète, il faut ajouter un terme supplémentaire lié à la présence des filaments d'actine. On le note σ et il représente l'effet de mes doigts sur le pépin de melon ou, pour notre problème, la contrainte appliquée par le gel d'actine sur la goutte. La résolution des équations montre alors que la pression est dirigée vers l'intérieur sur le bord du pincement, cela va donc pousser sur le bord, alors que cela va tirer à l'arrière. Pour comprendre cet effet vous pouvez vous représenter un ballon de football que vous pressez. Vous pouvez presser le ballon en le pinçant, mais le bout du ballon va vous rentrer dans la main. On en déduit de façon étonnante que cette traction est capable d'arracher le gel à l'arrière de cet objet, ce qui a pu être démontré expérimentalement.

Je vous ai donc décrit deux types d'expériences. La croissance d'un gel d'actine sur une bille dure est ainsi semblable à un caoutchouc poussant continûment autour d'une sphère. Il se casse ensuite par l'extérieur pour générer une comète. Celle-ci effectue un pincement sur l'objet et le propulse vers l'avant. Je vous ai également montré que l'utilisation d'objets mous permet de révéler une traction à l'arrière. Dans certains cas on peut donc arracher le gel et produire des comètes creuses.

Maintenant, sans rentrer dans les détails, nous allons étudier un autre aspect de ce système. Comme la comète croît à partir de la surface on a un frottement surface/surface puisque cet objet croît tout en restant attaché à la surface. Par conséquent, si on se place dans des conditions qui altèrent les propriétés physiques de ces objets, au lieu d'un mouvement

continu, on verra apparaître un mouvement dit saltatoire, c'est-à-dire par sauts. La bille s'arrête pendant que l'actine polymérise pour constituer son gel. Quand elle a accumulé assez de contrainte pour reconstituer l'effet de pression ci-dessus, elle est propulsée en avant pour s'arrêter à nouveau quand elle n'a plus assez de moteur de propulsion, se repolymérise et ainsi de suite... Ce mécanisme de mouvement par sauts rappelle l'effet d'une craie qui crisse sur un tableau qui n'est autre qu'un phénomène de broutement ou de *stick-slip* en anglais. En effet, la craie s'accroche et se décroche successivement sur la surface d'ardoise. Le moteur de propulsion est votre main qui manie la craie tandis que celle-ci a plutôt envie de s'accrocher au tableau ce qui la fait froter sur le tableau. On a le même cas de figure ici : le gel frotte à la surface de la bille, et, dans certaines conditions, peut être du même ordre de grandeur que la force de propulsion et s'opposer au mouvement, donnant naissance à ce type de mouvements saltatoires. La fréquence d'une craie qui crisse est reliée à la fréquence des sauts qu'elle effectue. On a pu de façon étonnante recréer ce type de mouvements par sauts sur des bactéries de type *Listeria* génétiquement modifiées. Sur ce film on observe une bactérie qui met 30 s pour s'échapper de son nuage d'actine puis est capable de parcourir une longueur en 6 s. Il se produit donc le même type de phénomènes dans le cas de modifications génétiques que dans celui d'altérations des propriétés physiques de notre système biomimétique. Cela ouvre une nouvelle voie d'étude de la génétique car il est possible, comme l'indique ce cas, que la génétique passe par la physique pour donner de nouveaux phénotypes.

On peut naturellement s'interroger sur l'intérêt de ces expériences d'un point de vue biologique. On comprend maintenant que le mouvement des *Listeria* résulte d'une pression, d'un pincement de l'objet vers l'avant, mais ceci permet-il de répondre à des questions purement biologiques ou biochimiques ?

Vous pouvez voir sur cette image (figure 7) une cellule se déplaçant vers la droite. Elle présente des protrusions plutôt étendues et d'autres plutôt filiformes que l'on peut analyser plus en détail sur des images de microscopie électronique. On a, dans un cas, un réseau assez branché, dans l'autre, un réseau plus parallèle de filaments. Ces deux mécanismes résultent de deux chemins biochimiques différents, correspondant par exemple à deux protéines distinctes, mais menant tous deux à l'assemblage d'actine en polymère. Notre système de billes permet, par greffage d'une protéine ou de l'autre, de reconstituer la structure présente dans la cellule. On retrouve alors un réseau branché ou plus aligné selon la protéine introduite. On peut donc reconstituer ces mécanismes biologiques sur notre système simplifié de billes. Ces systèmes peuvent alors être utilisés pour la détection de drogues, de médicaments qui agissent sur la polymérisation de l'actine.

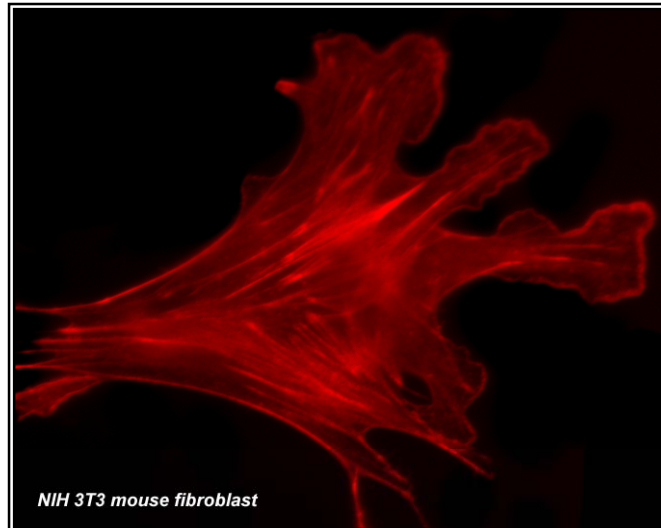


Figure 7 : Golsteyn, 1999

Je passe à une dernière partie axée sur la physique : la mesure de la force générée par ce processus. Pour résumer, nous savons que la croissance de cette comète d'actine est capable de pincer l'objet pour le propulser en avant, et on aimerait avoir une idée de la force générée dans ce processus. Nous savons qu'elle est forcément plus grande que 10^{-15} ou 10^{-17} Newton puisque cela représente la force visqueuse à laquelle il faut s'opposer pour avancer. Nous allons essayer maintenant d'aller sonder cette force directement in situ par l'expérience suivante. On utilise pour ceci une microfibre sur laquelle on attache une bille (figure 8). Cette microfibre va permettre la mesure de force grâce à la loi de Hooke. En effet le déplacement du bout de cette fibre qui est élastique pour les petits déplacements va être proportionnel à la force appliquée pour le déplacer. Nous allons ainsi étudier la déflexion de notre sondeur de force ce qui nous informera sur la force appliquée. La bille sera préparée de sorte que la comète croisse à partir de la bille, en maintenant cette bille dans une micropipette par une légère aspiration négative.

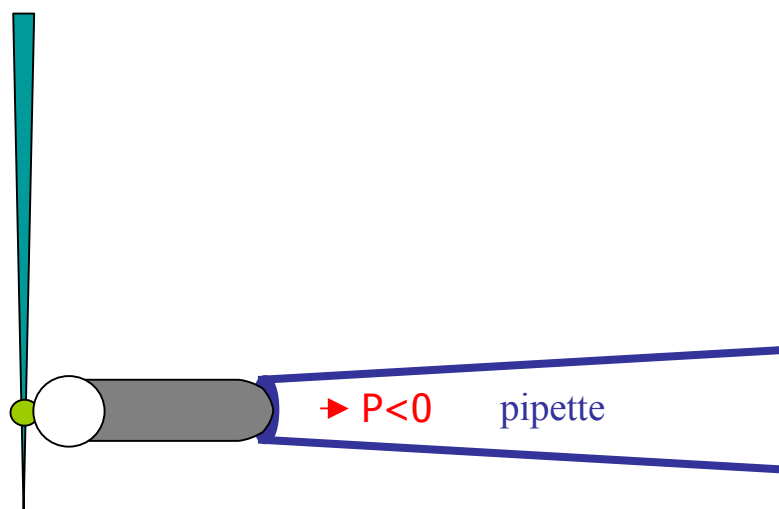


Figure 8 : [Y. Marcy, J. Prost, M.-F. Carrier, C. Sykes, *PNAS* 2004]

Avec ce système il est possible d'imposer soit la vitesse soit la force par un système de boucle de rétroaction. Il faut également connaître la rigidité des fibres, ce qui est possible grâce à l'étude de leur mouvement Brownien, car les petites fibres de taille bien inférieure au micron sont elles-mêmes soumises au mouvement brownien. Avec un microscope, on peut voir osciller le bout de la fibre sous l'effet de la température. Si on écrit que l'énergie mécanique $\frac{1}{2}kx^2$ est égale à l'énergie thermique proportionnelle à la température, on en déduit la constante de raideur de cette fibre : ce sera kT divisé par la valeur moyenne du carré des fluctuations. Les rigidités que l'on peut obtenir avec ces fibres de verre étirées à chaud vont de 0.4 à 4 nN par micron, ce qui signifie qu'un déplacement d'un micron correspond à une force de l'ordre d'un nanonewton. Pour la mise en œuvre expérimentale, on met une goutte de colle au bout de la fibre et on y colle la bille immobilisée dans une micropipette. Cette colle sèche sous UV, ce qui permet d'utiliser un petit pulse UV local pour arriver à rigidifier cette colle. On mesure ensuite sa rigidité et l'étape suivante est la préparation de la bille qu'il faut recouvrir d'un activateur de la polymérisation d'actine. Pour cela on met la solution d'activateur dans une micropipette on met le tout dans l'air, puis on vient mettre uniquement en contact le bout de la micropipette avec la bille de 2 microns. On utilise cette méthode pour ne pas recouvrir l'ensemble de la surface de la bille et éviter d'avoir polymérisation d'actine partout, ce qui rendrait impossibles les mesures de force spécifiques. On a donc au final la microfibre avec la petite goutte de colle solidifiée et la bille recouverte de la polymérisation de l'actine. On met le tout dans l'équivalent de l'intérieur d'une cellule. Sur ce film on est à force constante, ce qui signifie que la fibre ne bouge pas, puis on calcule la vitesse correspondant à cette force ici d'environ 3 nN. Si on tire très vite à un moment, on va arriver à arracher la comète de la bille, mais on va surtout mesurer la force maximale associée à une déflexion très rapide de la petite microfibre. On voit aussi que la comète est capable de repousser après avoir été arrachée, ce qui signifie que l'activateur de polymérisation est toujours à la surface et est capable de continuer le phénomène. Cette expérience nous enseigne plusieurs choses : D'une part la force générée est de l'ordre du nN, soit 10^{-9} N, donc bien plus grande que la force visqueuse de 10^{-15} N. On se demande d'ailleurs pourquoi le système choisit d'utiliser une énergie si grande alors qu'il n'y a que 10^{-15} N à contrer. On apprend aussi que la force d'arrêt du mouvement est de 7 nN et que la force d'arrachage est de 3 nN. Ces expériences nous renseignent donc sur la valeur de la force de propulsion.

Pour conclure on peut noter que si l'on est capable de mesurer la force en fonction de l'allongement, on est capable de mesurer l'élasticité de ces objets. Dans tout l'exposé je les ai décrits comme des objets très élastiques, comparables à du caoutchouc. Si on fait une expérience donnant l'allongement en fonction de la force sur ce genre de comètes, on obtient une droite qui n'est rien d'autre que la loi de Hooke qui nous dit que la force divisée par la surface est proportionnelle à l'allongement relatif de cet objet, comme pour un élastique. Le facteur de proportionnalité est alors le module élastique qui est estimé dans ces expériences de l'ordre 10^{-3} Pa. Ce module élastique est bien sûr plus faible que celui d'un seul filament d'actine, puisque la structure organisée de cet objet présente des trous réduisant son module élastique. On peut néanmoins le comparer à des modules élastiques de caoutchouc ordinaire.

En conclusion, je vous ai montré ici une étude physique d'un système cellulaire qui est ici la motilité. Beaucoup d'autres études physiques se développent en France et à travers le monde sur d'autres mécanismes cellulaires. Je vous ai également montré que les progrès extraordinaires de la biologie moléculaire ont permis de concevoir des modèles expérimentaux simplifiés et d'isoler des phénomènes étudiables par des approches physiques. Je vous ai montré comment on pouvait évaluer les forces mises en jeu dans ces processus

actifs et comprendre leur origine. Je les appelle processus actifs en opposition avec les processus passifs présentés au départ, à savoir le mouvement brownien et la force visqueuse donnée par le fluide. Enfin je terminerai sur une petite note futuriste : sera-t-on capable, dans les années qui viennent, de faire en chimie de synthèse cette fois-ci un mouvement de propulsion par polymérisation ?