



Modélisation des instabilités du cortex d'actine

Guillaume Salbreux

► To cite this version:

Guillaume Salbreux. Modélisation des instabilités du cortex d'actine. Biophysique [physics.bio-ph]. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2008. Français. NNT : . tel-00382577

HAL Id: tel-00382577

<https://theses.hal.science/tel-00382577>

Submitted on 8 May 2009

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ PIERRE & MARIE CURIE - PARIS 6

École doctorale : Physique de la Région Parisienne

Spécialité : Interface Physique - Biologie

Présentée par :

Guillaume SALBREUX

Sujet de la thèse :

Modélisation des instabilités du cortex d'actine

Thèse dirigée par Jacques PROST et Jean-François JOANNY

soutenue publiquement le 17 Octobre 2008 devant un jury composé de :

M. Guillaume CHARRAS	Rapporteur
M. Jean-Baptiste FOURNIER	Rapporteur
Mme. Martine BENAMAR	
M. Frank JULICHER	
M. Jacques PROST	
M. Jean-François JOANNY	Membre invité
M. Stephan GRILL	Membre invité

REMERCIEMENTS

La fin de la thèse est un moment très agréable : on peut regarder derrière soi et faire des bilans. Je me revois en effet il y a trois ans, à la rentrée scolaire 2005, avec ma règle et mon cahier de texte : à cette époque, je n'étais pas encore docteur, et j'étais donc bien naïf. En particulier je croyais encore que l'ATP était un classement de tennis, que le cortex était une souris désireuse de conquérir le monde, et des Prost célèbres je ne connaissais que le coureur automobile.

Heureusement mes deux directeurs de thèse, Jean-François Joanny et Jacques Prost, m'ont rapidement montré l'ampleur du travail. Leur culture, leur vivacité, leur intarissable curiosité, leur rapidité dans l'échange des idées, sont presque spectaculaires. Chaque discussion avec eux est une leçon en soi : non seulement à travers les connaissances scientifiques qu'ils transmettent, mais aussi par la façon d'aborder les problèmes, d'en sélectionner les aspects intéressants, de rebondir pour proposer de nouvelles idées. Leur côté humain est tout aussi impressionnant : toujours à l'écoute, jamais ils n'inhibent leurs étudiants, ni n'imposent une vision des choses a priori : tout ce qu'ils enseignent est par la force de l'exemple. J'ai du mal à imaginer un environnement plus favorable pour un thésard, et je suis content d'avoir l'occasion de leur exprimer toute ma reconnaissance et mon admiration.

Plus largement je remercie les membres de mon jury : Martine Ben Amar, Jean-Baptiste Fournier, Guillaume Charras, Stephan Grill et Frank Jülicher se sont joints à Jacques et Jean-François pour constituer un jury impressionnant, dont les questions ont été particulièrement riches et perspicaces. Merci en particulier à mes deux rapporteurs, G. Charras et J.B. Fournier, d'avoir pris le temps de lire mon manuscrit et d'en avoir fait des rapports détaillés.

Et bien sûr le théoricien serait vraiment triste s'il n'avait pas son ami l'expérimentateur pour lui montrer ses manip et faire le vrai travail. Je remercie donc Pramod Pullarkat, qui est maintenant à l'université de Bangalore mais qui, lorsque nous avons travaillé ensemble, était à l'université de Bayreuth. J'ai beaucoup apprécié nos discussions sur ses oscillations, ainsi que ces petits cabanons à vin chaud qui font le charme des marchés de Noël bavarois. Plus à l'Est, je remercie également Ewa Paluch et son groupe au MPICBG à Dresde, et en particulier ceux avec qui nous avons parlé de blebs : Jean-Yves Tinevez, Ulrike Schulze, Julia Roensch et Jakub Sedzinski. Lors de mes trois voyages dans cette ville nous avons beaucoup parlé, commenté la vie du bleb sous toutes ses formes, et nous avons passé de nombreux moments dans le quartier cool et branché de Dresde que je n'hésiterai pas à qualifier de sympatoches. Cette collaboration a été particulièrement agréable grâce à l'écoute, à l'énergie déployée, au souci de vraiment répondre aux questions qui animent Ewa et son groupe. Dans le même labo, j'ai beaucoup apprécié les discussions que nous avons eu avec Mirjam Mayer et Stephan Grill à propos de leur travaux sur C. Elegans, et pas très loin au PKS, je remercie également Frank Jülicher qui m'a reçu l'an dernier dans son labo pour une journée qui m'a beaucoup appris. De retour à

Paris j'ai eu également l'occasion de collaborer avec Cécile Sykes et Léa-Laetitia Pontani, que je remercie et dont j'espère que les vésicules sont promises à un grand avenir.

La vie d'un thésard ce n'est pas que du travail, c'est aussi quelques pauses astucieusement disséminées dans la journée. Ah la cafète, qui pendant toutes ces années a senti si bon le café et le poulet au basilic du chinois de la rue Saint Jacques ! C'est surtout elle qu'il faudrait remercier, mais mentionnons également la longue liste de personnalités hautes en couleurs qui font de Curie un lieu si agréable, et dont les prénoms sont tous plus beaux les uns que les autres : Marco, Nicolas D, Nicolas B, Martial, Pascal, Giovanni, Jean-Yves, Otger, Jan, Philippe, Faris, Andrew, Aurélie, Laure, Sandrine, Anne, Virginie, Rafaele, Lea-Laetitia, Nelly, Pierre, Jérémie, Thomas R., Thomas G., Ludwig, Benoit C., Sébastien, Benoit S., Benoit M., Mathilde, Simon. Et bien sûr un big up tout particulier aux mousquetaires de la blagounette, aux héros du calembour, bref à ces inénarrables francs-tireurs de l'humour que sont Boris, Pierre-Yves et Jonathan, avec qui j'ai eu la chance de connaître une camaraderie franche et virile qui sentait bon l'eau de Cologne et le mauvais vin. Sachez que si une forte envie de pêche a la mouche vous prend à la gorge, la porte de ma future maison du Michigan vous est toujours ouverte !

Dans un registre plus personnel, je remercie aussi mes amis de l'extérieur, ceux qui ne font pas de recherche mais qui sont sympas quand même : tous les Ludo et les Nico, Aurélien, Céline, Matthieu, Tristan, Anas, Sandrine, Fabien, Antoine, Sébastien, Elie bien sûr, et tout ceux que j'ai temporairement oublié mais qui savent que je pense à eux. Et j'ai une pensée particulière pour Fred Choquet, qui m'a donné des leçons de jazz pendant deux ans mais a également essayé de m'apprendre à écouter mon intuition et à prendre le temps de traiter les difficultés les unes après les autres, conseils qui peuvent paraître banals si on ne regarde que les mots, mais qui m'ont été d'un grand secours dans le travail de recherche !

La préparation d'un docteur commence dès la maternelle, et à cet égard mes parents se sont montrés exemplaires : pains au chocolat à la récré, achat d'une encyclopédie méga junior, cours de rattrapage pour apprendre à ne pas dépasser en coloriage, sont quelques exemples du soutien qu'ils m'ont donné sans compter. Mais je ne voudrais pas cacher la vérité sous les dehors d'un cynisme à la mode : je ne peux même pas leur dire vraiment merci car ce serait bien en dessous de ce que je pense. Ce qui est également valable pour ma petite sœur, Aurélie « Pouss pouss » Salbreux, dont l'énergie et la curiosité me rassurent toujours sur la marche du monde. Et pour que ces remerciements se terminent de belle manière, Marie tu m'as soutenu dans les moments difficiles, supporté dans les moments faciles, ta présence a tout simplement été le sel de ces années.

Table des matières

I	Introduction	3
A	Quelques aspects du cytosquelette	3
A.1	-Principaux constituants	3
A.2	-Le cortex d'actine	12
B	Modélisation du cytosquelette : les gels actifs	20
B.1	-Principe d'une description hydrodynamique	21
B.2	-Le cas des gels actifs	23
B.3	-Dérivation pour un nématique	26
II	Le cortex d'actine : régulation de l'épaisseur et instabilités actives	31
A	Cortex dans une cellule sphérique	31
A.1	-Géométrie du problème et orientation des filaments	31
A.2	-Polymérisation et dépolymérisation de la couche	34
A.3	-Pression hydrostatique et osmotique	37
A.4	-Contraintes dans la couche et tension du cortex	38
A.5	-Régulation de l'épaisseur par le treadmilling	41
B	Instabilités induites par les myosines : formation de trous	47
B.1	-Instabilité dans une couche en l'absence de treadmilling	48
B.2	-Instabilité dans une couche en présence de treadmilling	57
B.3	-Lien avec la formation de blebs	65
C	Conclusions	68
III	Oscillations de forme de fibroblastes en suspension	71
A	Résultats expérimentaux	71
A.1	-Caractéristiques de l'oscillation	71
A.2	-Role de l'adhésion au substrat	73
A.3	-Influence du calcium externe	74
A.4	-Influence des traitements agissant sur la myosine	75
B	Description du modèle	76
B.1	-Canaux mécanosensibles	77
B.2	-Régulation de l'activité des myosines par le calcium	79
B.3	-Dynamique de la couche	89
C	Diagramme des phases	100
C.1	-Comparaison entre les modes	100
C.2	-Diagramme de stabilité du mode 1	102
C.3	-Influence du treadmilling	104

D	Conclusions	105
IV	Formation d’anneaux contractiles	107
A	Description du modèle	108
	A.1 -Couplage hydrodynamique entre flux et paramètre d’ordre	108
	A.2 -Modèle effectif à deux dimensions	110
B	Applications	114
	B.1 -Formation d’un anneau dans une cellule à géométrie cylindrique .	114
	B.2 -Fermeture d’un anneau contractile dans le plan du cortex	119
	B.3 -Cytocinèse dans une cellule sphérique suspendue	123
	B.4 -Flux corticaux dans l’embryon de C. Elegans	133
C	Conclusions	142
V	Blebs induits par ablation du cortex	145
A	Expériences	147
	A.1 -Montage expérimental	147
	A.2 -Résultats expérimentaux	149
B	Equilibre du bleb et élasticité de la cellule	153
	B.1 -Elasticité du cortex	155
	B.2 -Elasticité du milieu interne	163
C	Dynamique	171
	C.1 -Perméation du cytosol à travers le cytoplasme	172
	C.2 -Friction de la membrane	180
	C.3 -Comparaison aux données	186
D	Repolymérisation du cortex	188
	D.1 -Influence sur le volume du bleb	188
	D.2 -Ouverture du trou	191
E	Conclusions	195
A	Notations	203
B	Polynômes de Legendre	205
C	Théorie de coque mince active pour une sphère faiblement déformée	207

Préambule

Le cytosquelette est l'ossature physique de la cellule, il lui donne sa rigidité, lui permet de se déplacer et de se diviser, et plus généralement d'exercer des forces mécaniques. Trois types de filaments le constituent : les microtubules, les filaments intermédiaires et les microfilaments d'actine. Ces derniers dominent la réponse mécanique de la cellule, au moins aux faibles déformations. Ils sont constitués de monomères d'actine, une protéine très abondante dans la cellule, qui polymérise en filaments de façon très contrôlée, eux-mêmes intégrés dans des structures plus complexes. Le cortex d'actine en particulier (du mot latin qui signifie écorce) est une couche de filaments d'actine reliée à la membrane, présente dans différents types de cellules animales. Des moteurs moléculaires, les myosines, s'accrochent aux filaments et exercent des forces entre eux. De ce fait la couche corticale est une structure contractile, qui donne sa tension à la cellule, et contrôle ses variations de formes. Le cytosquelette n'est pas, à quelques exceptions près, fait de structures statiques : ses constituants sont sans cesse renouvelés et il peut être remodelé très rapidement pour répondre aux besoins de la cellule. Ainsi les filaments du cortex polymérisent et dépolymérisent constamment, et peuvent être réorganisés pour par exemple favoriser l'adhésion cellulaire, participer à la locomotion, ou permettre la cytokinèse, l'étape succédant à la mitose au cours de laquelle la cellule se divise physiquement en deux cellules filles.

Au vu de son importance dans la compréhension du vivant, la physique du cytosquelette est un sujet très étudié. L'observation directe des processus cellulaires, de plus en plus performante grâce à l'emploi de nouvelles techniques d'observations, ou encore la reconstitution simplifiée de ceux-ci *in vitro* dans des systèmes biomimétiques, fournissent des données expérimentales. Sa compréhension théorique constitue cependant un véritable défi : un grand nombre de protéines interagissent avec le cytosquelette et régulent ses propriétés. Les structures sont très dynamiques. La cellule est loin de l'équilibre thermodynamique car elle utilise l'hydrolyse de l'ATP comme source d'énergie externe.

L'objet de la physique de la matière molle est de comprendre le comportement de systèmes complexes à l'aide d'une analyse théorique identifiant leurs caractéristiques physiques essentielles. De la physique des polymères aux cristaux liquides, cette approche s'est montrée fructueuse dans de nombreux domaines. Les outils théoriques ainsi développés paraissent constituer un bon point de départ pour comprendre la mécanique du vivant. Le modèle des gels actifs, que nous utilisons tout au long de cette thèse, s'inscrit dans cette approche : les équations pour le comportement du cytosquelette sont dérivées sur la base d'arguments physiques généraux, en ignorant le détail des mécanismes moléculaires. En fonction de la physique du problème ren-

contre, une description des phénomènes non-linéaires dominants peut être ajoutée à ce modèle générique.

Dans cette thèse, nous utilisons cette approche pour étudier quelques problèmes relatifs à la couche d'actine corticale. Le cortex étant une structure dynamique, nous sommes fréquemment amenés à interpréter son comportement par une analyse de stabilité. En fonction du contexte, nous cherchons à identifier les paramètres pertinents contrôlant les instabilités et à établir les seuils critiques au-delà desquels elles se développent.

Dans le premier chapitre, nous donnons un aperçu des connaissances de biologie cellulaire nécessaires à notre étude, et nous introduisons le modèle des gels actifs. Dans le chapitre 2, nous discutons de différents mécanismes par lesquels la cellule pourrait contrôler l'épaisseur de la couche corticale, et nous montrons qu'elle peut se déstabiliser spontanément sous l'effet des contraintes exercées par les myosines. Dans le chapitre 3, nous présentons les travaux expérimentaux de P. Pullarkat sur l'oscillation spontanée de fibroblastes en suspension, et nous exposons une analyse de ce phénomène où l'instabilité évoquée dans le chapitre 2 est couplée à la réponse calcique de canaux mécanosensibles. Des prédictions théoriques sont obtenues en accord avec l'expérience. Dans le chapitre 4, nous incluons dans notre description du cortex un paramètre d'ordre nématique correspondant à l'orientation des filaments, et nous dérivons des équations effectives à deux dimensions pour le cortex. Nous montrons que le phénomène de flux cortical et de formation d'anneau de filaments, à l'œuvre dans divers systèmes biologiques, peut être interprété par la réponse hydrodynamique du cortex à un gradient de concentration des myosines. Les blebs sont des protusions membranaires dépourvues de couche corticale : dans le chapitre 5 nous exposons les résultats d'une collaboration avec le groupe d'E. Paluch au MPI-CBG à Dresde sur la croissance de blebs formés artificiellement par ablation laser du cortex. Nous proposons diverses hypothèses pour les mécanismes contrôlant l'équilibre et la dynamique du bleb, et nous dérivons systématiquement des prédictions théoriques que nous comparons aux résultats expérimentaux.

Chapitre I

Introduction

A Quelques aspects du cytosquelette

Le cytosquelette désigne l'ensemble des constituants cellulaires qui déterminent l'architecture de la cellule. Trois familles sont généralement distinguées : les structures impliquant l'actine et la myosine, les microtubules et une troisième catégorie moins étudiée, les filaments intermédiaires. Le cytosquelette assure les tâches mécaniques de la cellule : il contrôle sa forme, lui permet de migrer et de se diviser physiquement en deux cellules filles lors de la cytokinèse. La source d'énergie pour tous ces mécanismes est l'hydrolyse de l'adénosine triphosphate (ATP), un nucléotide utilisé par tous les êtres vivants et qui constitue la réserve énergétique de la cellule. Cette énergie est utilisée pour polymériser des filaments ou actionner des moteurs moléculaires, ces deux processus pouvant générer des forces. Dans cette partie nous présentons les mécanismes fondamentaux impliqués dans le fonctionnement du cytosquelette.

A.1 Principaux constituants

A.1.1 L'actine et les protéines qui la régulent

Actine G et actine F

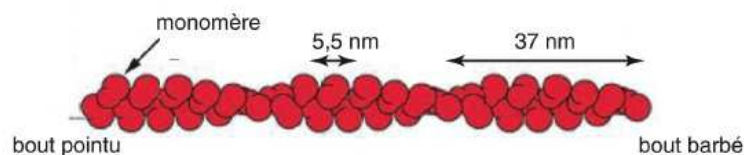


FIG. I.1: Représentation schématique d'un filament d'actine

L'actine est une protéine très abondante : elle représente de 5 à 10% du nombre total de protéines d'une cellule non musculaire [12]. Elle existe dans la cellule sous forme monomérique (actine G) et sous forme de filaments polymérisés (actine F). Le monomère d'actine est une petite protéine, d'une masse moléculaire de 43kDa,

et d'une taille d'environ 5nm [2]. Les filaments en revanche peuvent être très longs, de l'ordre de plusieurs micromètres. Ils ont une structure en double hélice, formé de deux protofilaments qui s'enchevêtrent avec un pas de 37 nm (fig. I.1). Les filaments sont polaires, les deux protofilaments ayant la même polarité, et sont orientés du bout barbé au bout pointu. Cette appellation provient des premières expériences de mise en évidence de la polarité [66], dans lesquelles les filaments étaient décorés avec des fragments de myosine qui se lient avec un angle ouvert par rapport à l'orientation du filament, ce qui lui donne une allure de flèche.

La polarité du filament d'actine est une propriété importante, à la fois parce qu'elle conditionne l'interaction du filament avec d'autres protéines (en particulier la myosine, voir partie A.1.2) et parce que les deux extrémités ne sont pas équivalentes vis à vis de leurs propriétés de polymérisation et dépolymérisation.

Polymérisation et dépolymérisation d'un filament

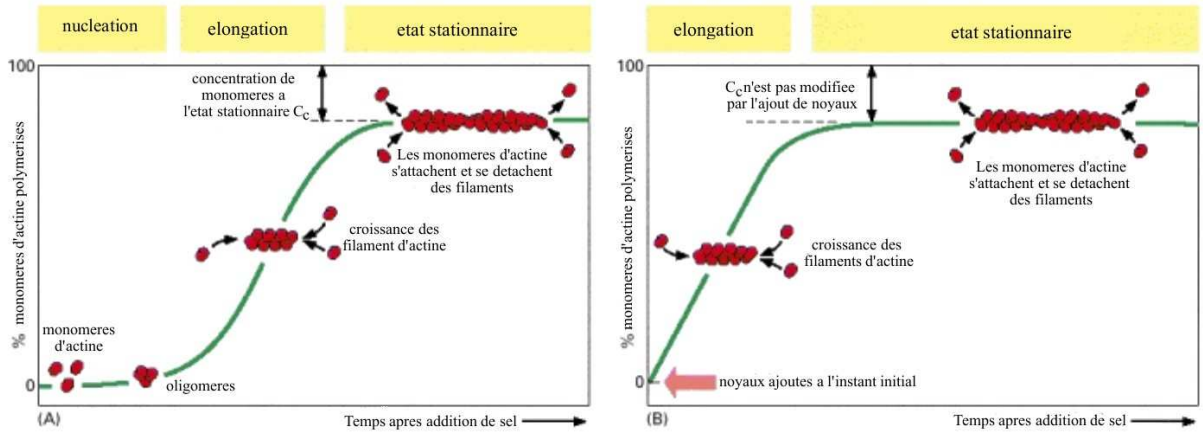


FIG. I.2: Cinétique de polymérisation de l'actine au cours du temps. Image de gauche : à partir d'une solution de monomères, image de droite : en ajoutant des filaments courts déjà formés. La polymérisation se fait en deux étapes : la nucléation d'un oligomère est suivie de l'élongation du filament. La nucléation est cinétiquement limitante.

La première étape de la formation d'un filament est la création d'un oligomère à partir de monomères d'actine. Ce processus, appelé nucléation, est cinétiquement limitant (voir fig. I.2) car les dimères et les trimères d'actine sont instables. Pour accélérer la formation de filaments il faut donc un nucléateur, une protéine qui catalyse la formation d'un oligomère, ou ajouter des courts filaments déjà stabilisés (des "noyaux", voir fig. I.2, image de droite).

Une fois l'oligomère formé, le filament d'actine entre dans une phase d'élongation où il peut polymériser et dépolymériser à chacune de ses extrémités, selon la cinétique

$$\frac{dn_p}{dt} = k_{on}^p C_m - k_{off}^p \quad (I.1)$$

$$\frac{dn_b}{dt} = k_{on}^b C_m - k_{off}^b \quad (I.2)$$

où C_m est la concentration de monomères dans le milieu, k_{off}^p et k_{off}^b sont les taux de dépolymérisation et $k_{on}^p C_m$ et $k_{on}^b C_m$ les taux de polymérisation. En l'absence d'ATP, le filament doit être à l'équilibre thermodynamique, ce qui impose que ses deux extrémités aient la même constante de dissociation K_D , qui est aussi la concentration de monomères à l'équilibre C_m^c :

$$C_m^c = K_d = \frac{k_{off}^p}{k_{on}^p} = \frac{k_{off}^b}{k_{on}^b} \quad (I.3)$$

La concentration C_m^c , de l'ordre de $1\mu M$, est aussi appelée concentration critique, car pour une concentration de monomères qui lui est inférieure, les filaments polymérisent, alors que pour une concentration plus élevée ils dépolymérisent. En présence

	actine-ATP bout barbé	actine-ATP bout pointu	actine-ADP bout barbé	actine-ADP bout pointu
$k_{on}(\mu M^{-1}.s^{-1})$	11.6	1.3	3.8	0.16
$k_{off}(s^{-1})$	1.4	0.8	7.2	0.27
$K_d(\mu M)$	0.12	0.62	1.9	1.7

TAB. I.1: Cinétique de polymérisation et de dépolymérisation des bouts barbés et pointus d'un filament d'actine, en présence d'ATP (reproduit de [116])

d'ATP, l'énergie apportée par l'hydrolyse de l'ATP lié aux monomères d'actine place le filament hors d'équilibre et les constantes de dissociation au bout barbé et au bout pointu deviennent différentes (les taux et constantes sont reproduits dans le tableau A.1.1). Le mécanisme est le suivant : les monomères d'actine possèdent un site de liaison à l'ATP. Les monomères d'actine-ATP sont incorporés au bout barbé, puis ils sont hydrolysés dans le filament en monomères d'actine-ADP, qui ont une constante de dissociation plus élevée. Dans ce cas il n'y a pas de vrai équilibre pour le filament, mais selon la valeur des concentrations l'une des deux extrémités polymérise plus que l'autre. Les valeurs du tableau A.1.1 montrent que le filament polymérise préférentiellement sous forme ATP et au bout barbé. Pour cette raison on appelle aussi le bout barbé "bout plus" et le bout pointu "bout moins". En particulier, et comme illustré sur la fig. I.3, pour une concentration en monomères $K_D^b < C_m < K_D^p$ les filaments polymérisent au bout barbé et dépolymérisent au bout pointu : dans cette situation les monomères sont insérés à un bout du filament sous forme ATP, progressent dans le filament, sont hydrolysés en ADP et finalement se détachent au bout pointu. Par analogie avec la progression d'un tapis roulant, on appelle ce mécanisme le "treadmilling". En particulier pour une concentration $C_m = \frac{k_{off}^b - k_{off}^p}{k_{on}^b - k_{on}^p} \simeq 0.14\mu M$ il existe un état stationnaire qui vérifie $\frac{dn_p}{dt} = \frac{dn_b}{dt}$, pour lequel les filaments ont une longueur constante.

Les protéines associées à l'actine

La concentration d'actine dans la cellule est très élevée (entre 10 et $300\mu M$, [116]), très au-delà des constantes de dissociation des deux bouts du filament. Malgré

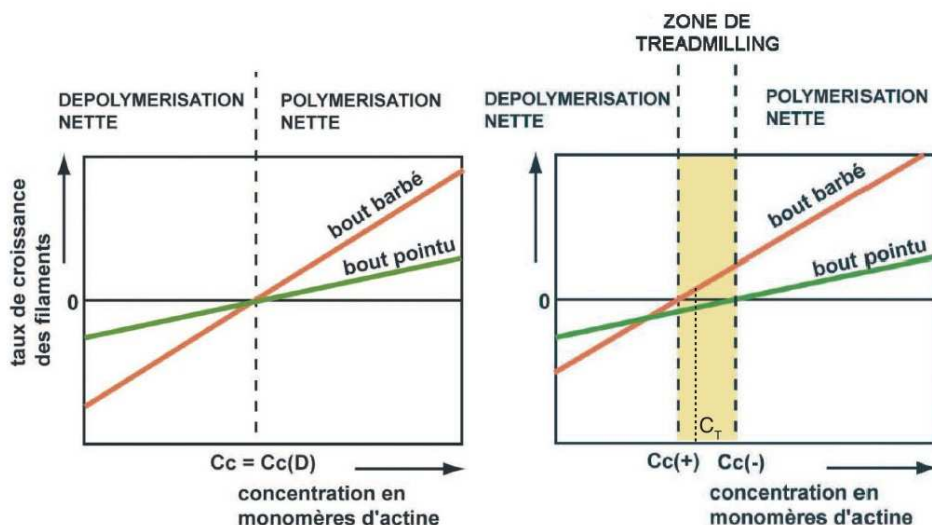


FIG. I.3: Courbe de gauche : en l'absence d'ATP les deux extrémités ont la même concentration critique, qui est aussi la concentration d'équilibre. Courbe de droite : en présence d'ATP les concentrations critiques sont différentes. Dans la région centrale les filaments polymérisent au bout barbé et dépolymérisent au bout pointu : la position des monomères dans le filament évolue t comme sur un tapis roulant, un phénomène appelé "treadmilling"

cela, les filaments ne se forment pas spontanément, car *in vivo* la polymérisation et la dépolymérisation des filaments sont contrôlées par des protéines ayant des fonctions diverses vis-à-vis de l'actine (voir tableau I.2) :

- Des protéines de séquestration s'attachent aux monomères et les empêchent de polymériser. La thymosine s'attache assez faiblement à l'actine ($K_d \simeq 1.2 - 1.6 \mu M$ avec l'actine ATP [116]), mais est très abondante dans certaines cellules en regard de l'actine ($20 \mu M$ pour $18 \mu M$ d'actine dans les oeufs de *Xenopus* par exemple [116]), suffisamment pour séquestrer la plupart des monomères d'actine. Dans les régions où la polymérisation de l'actine est requise, une seconde protéine est activée, la profiline. La profiline entre en compétition avec la thymosine pour la liaison aux monomères, et est capable de s'attacher à l'actine plus fortement ($K_D \simeq 0.1 \mu M$ [116]). Contrairement à la thymosine la profiline contribue à la polymérisation de l'actine en catalysant l'échange de l'ADP en ATP dans le monomère. Elle empêche également la polymérisation aux bouts pointus, ce qui favorise la directionnalité de la polymérisation, du bout plus vers le bout moins.
- La protéine de coiffage (capping protein) recouvre le bout barbé avec une grande affinité ($K_d = 0.1 nM$ [129]) et inhibe ainsi la polymérisation des filaments. Sa cinétique d'attachement est rapide ($4 s^{-1}$ [116]), ce qui semble être un facteur important dans la régulation de la longueur des filaments [19]. A la membrane une famille de lipides, les phosphoinositides, peuvent sous leur forme phosphorylée enlever la coiffe du filament, ce qui stimule localement la polymérisation (PIP2 [129]). La tropomoduline est une protéine qui coiffe le bout pointu des filaments.

Nom de la protéine	Rôle	Localisation
Thymosine	séquestration de l'actine-G empêche la polymérisation	
Profiline	séquestration de l'actine-G	
Capping protein	coiffage du bout barbé	
Tropomoduline	coiffage du bout pointu	
Gelsoline	sectionne les filaments coiffe le bout barbé	
ADF-cofiline	sectionne les filaments	Lamellipode, cortex
Arp2/3	nucléation	Lamellipode cortex de certaines cellules
Formines	nucléation	cortex ?

TAB. I.2: Quelques protéines associées à l'actine.

- La nucléation de nouveaux filaments est initiée par des protéines nucléatrices d'actine. Le complexe Arp2/3 est le nucléateur le plus connu, et il intervient en particulier dans le lamellipode (voir plus bas). Arp2/3 nucléé un oligomère d'actine, se lie à son bout pointu, et s'attache au côté d'un filament d'actine déjà existant avec un angle de 70° , raison pour laquelle on appelle ce procédé nucléation dendritique. Le filament croît alors par le bout barbé, jusqu'à ce qu'une protéine de coiffage le recouvre. Arp2/3 est donc à la fois un nucléateur, et un point de réticulation d'un réseau.

La famille des formines constitue un second type de nucléateurs plus récemment découverts [152]. Les formines ont toutes en commun le domaine FH2, responsable de la nucléation et de l'élongation, et le domaine FH1 qui semble être un site de liaison de la profiline et serait donc impliqué dans le recrutement de monomères d'actine. Dans la sous-famille DRF (diaphanous related formin), dont font partie les nucléateurs mDia1 et mDia2, s'ajoute à ces deux domaines une partie régulatrice qui autoinhibe la protéine. En s'y associant, la GTPase Rho la réactive partiellement, un signal supplémentaire inconnu étant nécessaire pour activer complètement la protéine [44]. Au contraire de Arp2/3, les formines coiffent le bout barbé des filaments d'actine et les allongent de manière processive [79]. La croissance n'étant pas limitée par l'attachement d'une protéine de coiffage, les formines semblent capables de former des filaments plus longs qu'Arp2/3. Elles sont responsables en particulier de la polymérisation de l'actine dans les filopodes, et sont impliquées dans la polymérisation de l'anneau contractile lors de la division cellulaire [44].

- Les filaments sont assemblés en faisceaux ou en réseaux à l'aide de protéines de réticulation qui lient plusieurs filaments. L'une d'entre elles, la filamine, a deux sites d'attachement à l'actine très espacés dans la protéine, de sorte que la liaison qu'elle forme entre deux filaments est presque à angle droit [2]. Elle est présente en très grande quantité dans la cellule (environ une molécule pour 50 monomères d'actine). La fimbrine a deux sites directement adjacents et maintient très proches les deux filaments de même polarité auxquels elle

s'attache (distance $\sim 14nm$). L' α -actinine forme également des liaisons entre filaments parallèles, mais de façon plus lâche (distance $\sim 40nm$).

- Des protéines de coupure (severing protein), telles que la gelsoline ou l'ADF-cofiline, s'attachent aux filaments et les sectionnent. L'ADF-cofiline applique une torsion au filament qui entraîne sa rupture [93]. La gelsoline est activée par le calcium et par PIP2, et peut à la fois sectionner les filaments et coiffer leur bout barbé [138] : ces deux effets contribuent à diminuer la taille typique des filaments dans un réseau, ce pourquoi elle porte ce nom, étant susceptible d'induire des transitions sol-gel dans les réseaux d'actine [155].

L'ensemble de ces mécanismes donne lieu à une cinétique complexe de fabrication et d'élimination d'un réseau, que nous détaillons dans le paragraphe suivant dans le cas du lamellipode.

Un réseau d'actine dans la cellule : le lamellipode

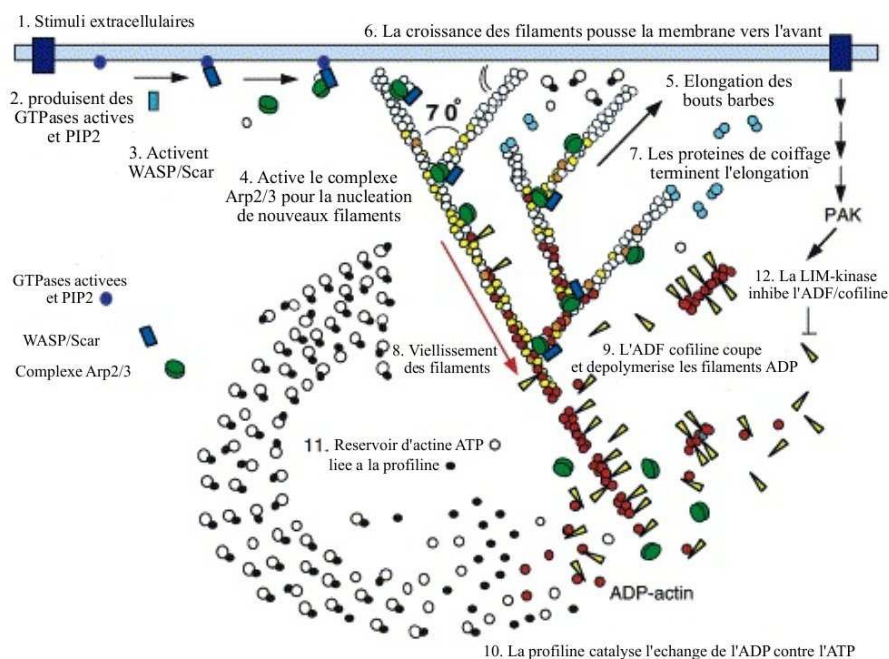


FIG. I.4: Formation, croissance et dépolymérisation du gel d'actine dans le lamellipode, adapté de [117]

Comme nous venons de le mentionner, des protéines régulent la formation des filaments et leur assemblage en structures plus complexes. Le lamellipode est une protusion cellulaire impliquée de façon essentielle dans la motilité cellulaire sur un substrat. Il se forme à l'avant de la cellule en mouvement et fournit une partie de la force mécanique nécessaire à son avancée [136]. Sa forme plane rend son observation plus facile que celle des autres structures du cytosquelette : de ce fait il a été beaucoup étudié, et a permis de comprendre la façon dont les interactions moléculaires décrites dans le paragraphe précédent donnent naissance à une structure à l'échelle de la cellule (fig. I.4). L'actine est polymérisée sous sa forme ATP à la membrane par

Arp2/3, selon le mécanisme de nucleation dendritique : Arp2/3 est activé, nucléé un nouveau filament qui s’allonge rapidement, jusqu’à ce qu’une protéine de coiffage arrête sa croissance. Les nouveaux filaments étant ajoutés aux anciens avec un angle de 70° , le réseau d’actine du lamellipode est branché avec cet angle caractéristique. Le gel croît ainsi globalement depuis la membrane à une vitesse d’environ $1\mu m.min^{-1}$ [146], puis il est dépolymérisé par l’ADF-cofiline. Seuls les monomères d’actine-ADP peuvent être rompus par l’ADF-cofiline, le temps d’hydrolyse de l’ATP maintient donc une distance minimale de gel non dépolymérisé [117]. Le gel du lamellipode se déplace globalement en un mouvement de tapis roulant (treadmilling), différent du treadmilling évoqué dans la partie A.1.1 pour un filament d’actine simple en ce que le réseau entier est impliqué dans le mouvement.

A.1.2 La myosine II

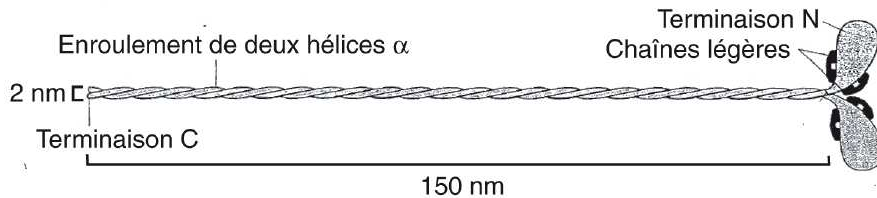


FIG. I.5: Structure générale de la myosine II : les deux têtes globulaires contiennent les sites de liaison à l’actine, la queue permet aux myosines de s’associer entre elles pour former des oligomères (adapté de [2])

Les myosines sont des moteurs moléculaires qui utilisent l’énergie produite par l’hydrolyse de l’ATP pour fournir une force en interagissant avec un filament d’actine. Près de 150 types de myosines ont été répertoriés [2], mais nous ne nous intéressons ici qu’à la myosine II non-musculaire qui interagit avec la couche d’actine corticale. Notons que d’autres isoformes de la myosine II existent dans toutes les cellules musculaires. Elles sont associées à l’actine dans une structure contractile, le sarcomère, responsable de la contraction des fibres musculaires.

La molécule de myosine II est constituée des éléments suivants (fig. I.5) :

Têtes

Les deux têtes globulaires sont constituées d’un domaine catalytique ATP-ase, qui contient également le site de fixation à l’actine, et d’un domaine régulateur (ou cou) qui relie la tête à la queue. L’hydrolyse de l’ATP induit un changement de conformation qui déplace le cou avec un angle de $\sim 70^\circ$ vers le bout barbé. Dans le modèle du “coup de force” la myosine utilise ce changement conformationnel pour exercer une force sur un filament d’actine. L’interaction actine/myosine décrit le cycle suivant, schématisé sur la fig. I.6 :

- *Configuration attachée* : Lorsque ni ATP, ni ADP ne sont liés à la myosine, la tête est fortement attachée au filament d’actine, on parle d’état “rigor”.

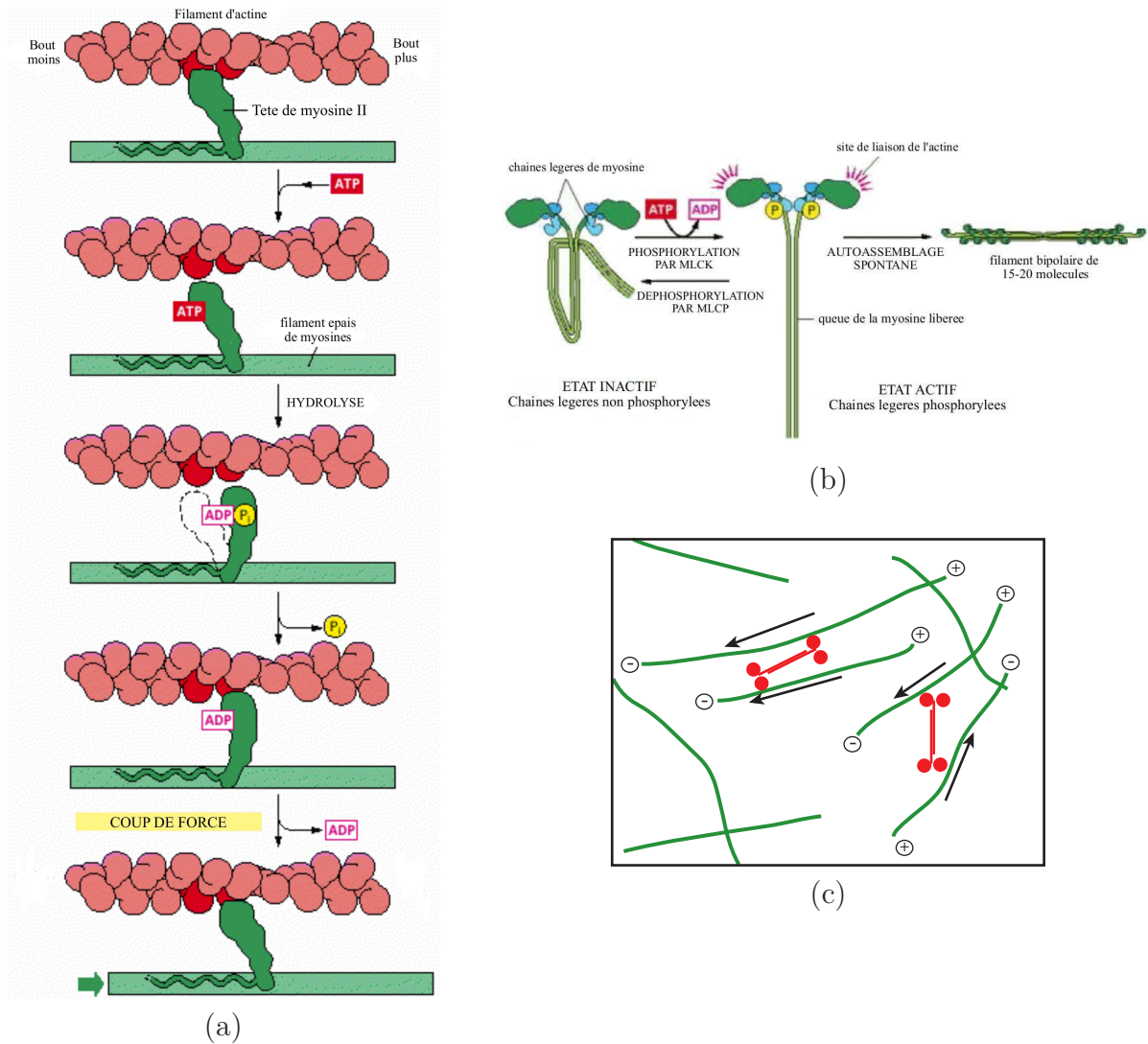


FIG. I.6: Quelques aspects de la régulation de la myosine et de son interaction avec l'actine : (a) Modèle du "coup de force" pour l'interaction actine-myosine. L'hydrolyse de l'ATP fournit de l'énergie pour un changement de conformation de la myosine. Le relargage du phosphate rétablit la configuration d'origine, ce qui s'accompagne de la production d'une force orientée vers le bout moins du filament. (b) Régulation de la myosine par phosphorylation de la chaîne légère, nécessaire pour la formation de filaments bipolaires. Les protéines MLCK et MLCP régulent la phosphorylation (c) Interaction de la myosine avec un gel d'actine : les oligomères induisent des mouvements relatifs entre les filaments ((a) et (b) sont adaptés de [2])

- *Configuration libre* Lorsqu’une molécule d’ATP se lie à la myosine, cette dernière se détache du filament. L’hydrolyse de l’ATP en ADP-Pi provoque un changement de conformation, déplaçant la tête d’environ $10nm$, et armant la myosine pour la production de force à l’étape suivante du cycle.
- *Coup de force* L’accrochage au filament d’actine provoque la libération du phosphate inorganique Pi. La myosine retrouve alors sa configuration initiale, énergétiquement favorable, et est ainsi capable d’exercer une force sur le filament. Simultanément, la tête perd la molécule d’ADP et retourne à l’état rigor, fortement attaché au filament.

Queue

La queue mesure environ $150nm$ de long et $2nm$ de diamètre, et elle permet à la myosine de polymériser en filaments bipolaires (contenant plusieurs têtes de chaque côté de la queue). Cette propriété est cruciale puisqu’elle permet à la myosine d’exercer des forces relatives entre plusieurs filaments (fig. I.6c)

Chaînes légères de régulation

A l’ensemble têtes+queue, constitué de deux chaînes lourdes d’environ 2000 acides aminés, s’ajoute deux chaînes légères à chaque tête de moins de 200 acides aminés. L’une de ces deux chaînes est importante pour la régulation de l’activité de la myosine, et est appelée RLC pour “regulatory light chain”, ou chaîne légère régulatrice (l’autre chaîne est appelée chaîne légère essentielle et stabilise la queue des chaînes lourdes). Lorsque les RLC sont non phosphorylées, la queue de la myosine recouvre le site de liaison à l’actine présent sur la tête, ce qui empêche à la fois l’attachement aux filaments et l’oligomérisation (voir fig. I.6b) . Les protéines MLCK (pour myosin light chain kinase) et MLCP (myosin light chain phosphatase) régulent la phosphorylation des chaînes légères : la première active les myosines en les phosphorylant et la seconde a l’effet inverse. Ces deux protéines sont elles-mêmes régulées par des voies de signalisation sur lesquelles nous revenons dans la partie A.2.1.

A.1.3 Les microtubules

Les microtubules sont des polymères résultants de l’assemblage dynamique de dimères de tubuline α et β en protofilaments, eux-mêmes associés en un cylindre creux d’une épaisseur de $25nm$. Leur nucléation est assurée par des complexes appelés MTOC (microtubule organizing center), dont font partie en particulier les centrosomes. Un complexe de γ -tubuline présent dans le MTOC assure la formation du cylindre et coiffe le bout moins des filaments. Les microtubules croissent donc par polymérisation à leur bout plus, de façon très dynamique : des événements de “catastrophe” et de “sauvetage”, au cours desquels le filament dépolymérise très rapidement, alternent avec les phases de croissance. Ces instabilités sont dues à la présence d’une couronne de tubuline-GTP au bout pointu qui est déstabilisée par l’hydrolyse des monomères GDP en tubuline-GDP [2] Le rôle des microtubules dans les mécanismes cellulaires sont multiples [2], mais nous ne nous intéressons ici

qu'à leur rôle en association avec le cortex d'actine. On peut distinguer deux types d'interactions entre l'actine et les microtubules : régulatrices, lorsqu'une voie de signalisation est impliquée, ou structurelles, lorsqu'il existe un lien physique entre les deux éléments [125]. Un lien physique entre le cortex et le bout plus des microtubules astraux pourrait ainsi contrôler mécaniquement la position des centrosomes, et jouer un rôle essentiel dans le positionnement du fuseau central lors de la division cellulaire [142]. Dans le lamellipode, un flux conjoint de microtubule et d'actine a été observé [148], les microtubules étant entraînés par le flux rétrograde. L'interaction régulatrice semble essentiellement médiée par les petites GTP-ases : la dépolymérisation des microtubules active RhoA [123], et leur assemblage active Rac1. A l'aide des ces voies de régulations, les microtubules spécifient ainsi le site de constriction dans la cytokinèse (voir partie A.2.3). Ils déterminent également la polarité de la cellule dans la motilité sur un substrat [125]. Celle-ci pourrait s'établir grâce à une boucle de retroaction positive entre les GTPases et les microtubules [150] : Rho active la formine mDia, ce qui déstabilise les MTs et favorise donc Rho. Symétriquement, Rac active la kinase Pak1 qui stimule la croissance des microtubules.

A.2 Le cortex d'actine

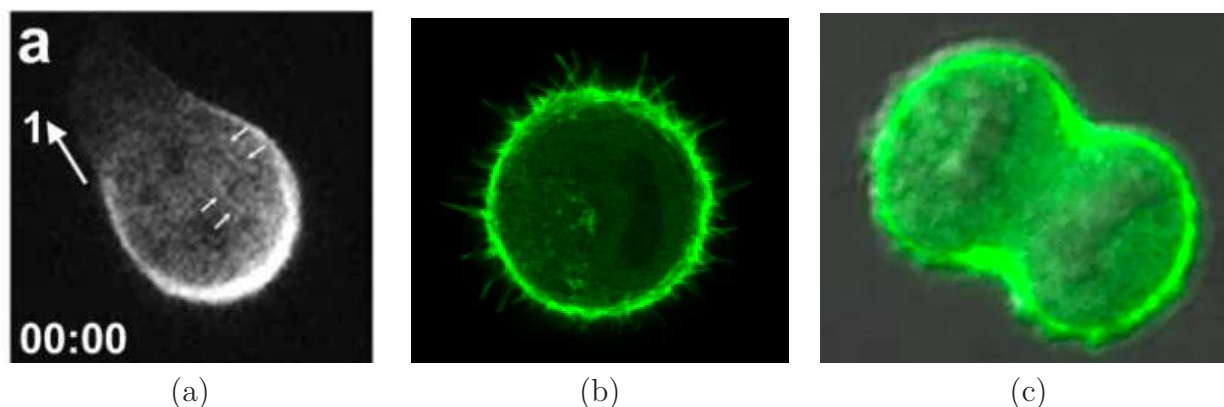


FIG. I.7: Cortex d'actine visualisé dans différentes conditions. (a) cellule motile : la cellule migre dans la direction de la flèche et un lamellipode est présent à l'avant de la cellule. (image actine-GFP) (b) Fibroblaste dont les microtubules ont été dépolymérisés : sous l'effet de la tension du cortex la cellule s'arrondit (image myosine-GFP) (c) Cellule en division : le cortex d'actomyosine est plus dense dans le plan équatorial qui se contracte (image DIC/myosine GFP) (a) reproduit de [48], (b) et (c) groupe E. Paluch.

A.2.1 Propriétés

Organisation du cortex

Le cortex d'actine est une couche de filaments d'actine reliés à la membrane de la cellule, d'environ $1\mu\text{m}$ d'épaisseur (fig. I.7). Les myosines II y sont très concentrées, et les forces qu'elles y font naître en font une structure contractile qui donne

sa tension à la cellule. La structure de la couche corticale a été beaucoup moins étudiée que le lamellipode, et en particulier l'organisation des filaments y est peu connue. Quelques études expérimentales donnent cependant des informations sur l'organisation du gel :

- Des images directes des filaments du cortex en microscopie électronique semblent montrer que les filaments sont orientés parallèlement à la membrane [100]. Morone&al [101] ont imagé en particulier les 100 premiers nanomètres de la couche corticale d'un fibroblaste (fig. I.8). Les filaments forment un réseau aléatoire, parallèle à la membrane, à l'exception de courts filaments qui émanent perpendiculairement de la membrane. La maille typique correspondante est de $230nm$ pour une lignée de fibroblastes et $41nm$ pour un kératinocyte.
- L'épaisseur du cortex semble varier selon le type cellulaire : chez *Dictyostelium* par exemple le cortex est épais d'environ $100 - 200nm$ [59], dans des fibroblastes SVT (transformés par un virus, SV40) une estimation indirecte donne une épaisseur d' $1\mu m$ [6]. Cette valeur est également l'ordre de grandeur de l'épaisseur de gels croissants sur des billes fonctionnalisées [107].
- En isolant des anneaux contractiles d'oeuf de triton et en décorant l'actine avec un sous-fragment de myosine, Mabuchi&Al [92] montrent que les filaments y ont des polarités opposées, ce qui suggère qu'il n'y a pas d'ordre polaire dans le plan du cortex.

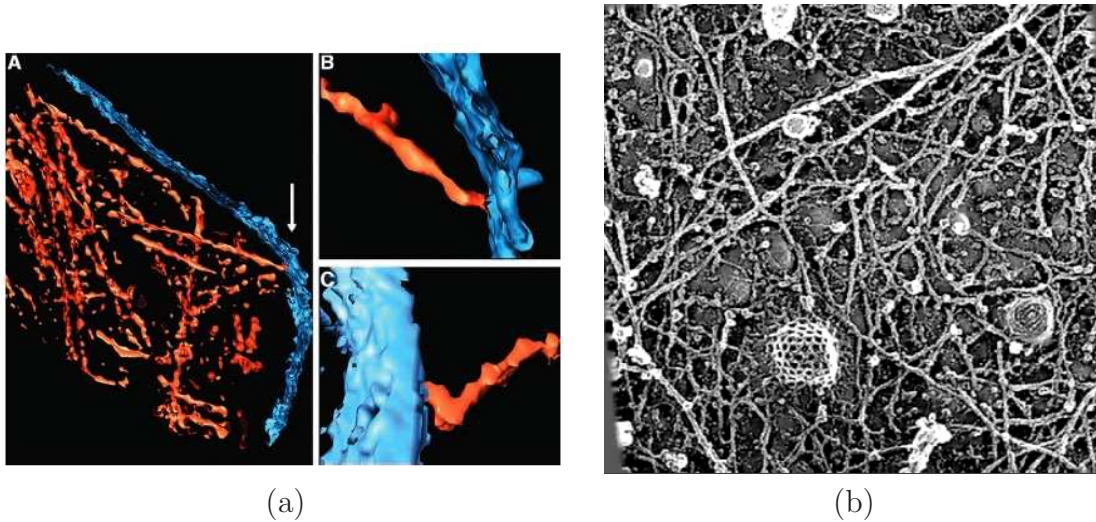


FIG. I.8: Visualisation du cortex en microscopie électronique (a)section reproduite de [100] : les filaments d'actine sont en rouge et la membrane en bleu. A droite un lien entre la membrane et le cortex est magnifié (b)image 3D reconstituée extraite de [101], vue avec un léger angle par rapport au plan de la membrane : les filaments ont une organisation aléatoire dans le plan de la membrane.

Attachement du cortex à la membrane

Les acteurs moléculaires de la liaison du cortex avec la membrane ne sont pas non plus très bien connus. Deux questions se posent : quelles protéines nucléent et polymérisent les filaments, et quelles protéines assurent l'adhésion de la membrane au cortex.

- *Polymérisation* Arp2/3, le nucléateur d'actine dans le lamellipode, paraît être un candidat naturel pour polymériser le cortex. Il est effectivement présent dans le cortex de *Dictyostelium*, mais il est absent de son anneau contractile lors de la division cellulaire [67], il n'est pas présent à la membrane d'un bleb de cellule tumorale humaine lors de la reformation du cortex [23], et il n'est pas nécessaire à la polymérisation de l'actine dans *C. Elegans* [132], au contraire des formines. Ces dernières (voir la partie sur la nucléation de l'actine) pourraient jouer le rôle de nucléateur, bien que mDia1 ne soit pas non plus présent au cortex des blebs. mDia2 pourrait être un candidat plausible : des cellules Hela soumises à DIP, une protéine inhibitrice de mDia2, forment des blebs de façon anormale, ce qui suggère que le cortex est affaibli en son absence [39].
- *Adhésion cortex-membrane* Des protéines qui lient spécifiquement l'actine et des protéines transmembranaires existent : la ponticuline est une glycoprotéine transmembranaire qui se lie au côté des filaments d'actine [153], et est nécessaire au maintien du cortex dans *Dictyostelium* [64]. La famille ERM, constituée de trois protéines très proches (ezrine-radéine-moésine), aurait un rôle essentiel dans l'adhésion membrane-cortex. Ces trois protéines possèdent un site d'attachement au bout barbé des filaments à leur bout C-terminal, et pourraient s'attacher à la queue cytoplasmique de nombreuses protéines transmembranaires à leur bout N-terminal [15]. Elles sont normalement auto-inhibées et sont activées par phosphorylation d'un de leurs résidus, ce qui permet à la cellule de les réguler. La Rho-kinase en particulier est capable de les activer. Elles sont localisées dans la cellule à l'interface cortex/membrane au niveau de l'anneau contractile, des microvilli ou des sites d'adhésion [145]. L'ezrine est nécessaire à la liaison du cortex à la membrane lors de sa reformation dans un bleb mais n'est pas requise pour la nucléation de l'actine [23]. Un article récent [85] montre que la moésine est essentielle à l'arrondissement de la cellule qui précède la mitose, et peut même la déclencher en l'absence de myosine. Les auteurs attribuent cette propriété à l'apparition d'un fort couplage membrane/cortex qui augmente le module de courbure du cortex.

Régulation de l'actine et de la myosine : Rho et MLCK

Dans cette thèse nous avons été amenés à décrire en particulier deux voies de signalisation de la régulation du cortex (voir fig. I.9) :

- La petite GTPase RhoA a un double effet sur le cortex : d'une part elle active la polymérisation d'actine en activant les formines [53], d'autre part elle active la Rho-kinase (également appelée ROCK ou ROK) qui phosphoryle la chaîne légère régulatrice des myosines (RLC) [4] et inhibe la MLCP (myosin light chain phosphatase) qui déphosphoryle RLC [75]. Ces deux derniers effets contribuent à augmenter l'activité des myosines.

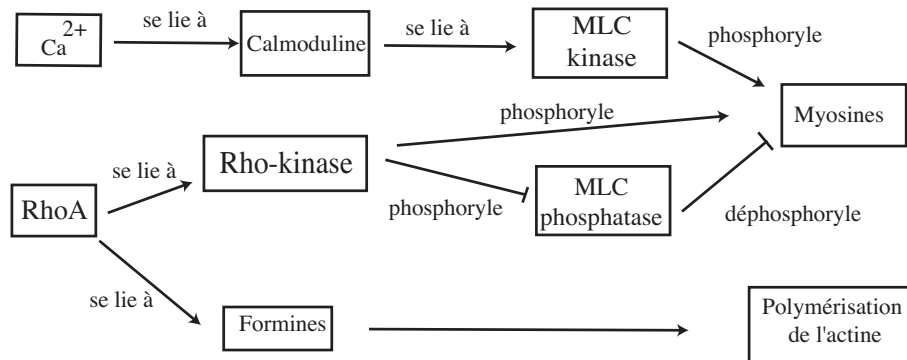


FIG. I.9: Régulation de l'actine et de la myosine par Rho et MLCK. Nous indiquons par une flèche l'activation et par une barre l'inhibition d'une protéine.

- MLCK (pour myosin light chain kinase) phosphoryle également RLC, et est régulée par le calcium et la calmoduline. Dans le chapitre III nous décrirons en détail ces interactions.

D'autres protéines régulatrices de l'actine existent : mentionnons les petites GT-Pases Rac et Cdc42. Ces deux protéines peuvent activer les protéines WASP, qui elles-mêmes activent Arp2/3 et donc la polymérisation d'actine. Rac a également pour cible la PI(4)P-5 kinase, qui active à la membrane les phospholipides phosphoinositides en PIP2. PIP2 a plusieurs effets favorisant la polymérisation de filaments : il peut activer Wasp et inhiber le facteur de dépolymérisation ADF-cofiline [154]. Dans la cellule motile, Rac et Cdc42 seraient plutôt actifs à l'avant de la cellule, et contrôlerait ainsi le lamellipode, alors que Rho régulerait la contraction du cortex à l'arrière de la cellule en activant la myosine II. C'est pourquoi les travaux expérimentaux sur le cortex que nous décrivons dans cette thèse utilisent principalement la voie de régulation par Rho.

A.2.2 Motilité et blebs

Une des fonctions du cytosquelette d'actine est de participer à la locomotion des cellules. La motilité cellulaire est nécessaire à un grand nombre de phénomènes biologiques essentiels : elle permet la migration des fibroblastes dans la réparation des blessures, les mouvements de cellule impliqués dans la morphogénèse, ou la progression des cones de croissance neuronaux dans le développement du système nerveux.

Role dans la motilité induite par un lamellipode

Le cortex intervient dans la motilité sur un substrat en assurant la contraction de la partie arrière de la cellule (fig. I.10). La cellule motile est polarisée dans la direction du mouvement : le lamellipode assure l'extension d'un front de migration à l'avant de la cellule, et le cortex la contraction du corps cellulaire [12]. Cette dernière propriété est indispensable : les cellules dont le gène de la myosine II a été supprimé ne peuvent plus se déplacer. Il est remarquable en revanche qu'en dépolymérisant le lamellipode et le cortex à l'avant d'une cellule de tumeur épithéliale, la motilité est

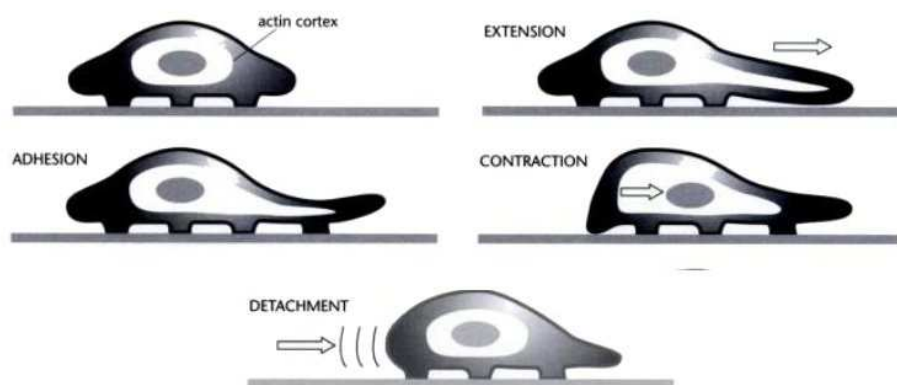


FIG. I.10: Description schématique de la motilité cellulaire sur un substrat. Le lamellipode assure l’extension vers l’avant de la cellule, et la rétraction est assurée par la contraction du cortex [12]

accélérée. Seule la contraction du corps cellulaire produit alors le mouvement [74]. Ce phénomène se rapproche d’un second type de motilité, par formation de blebs, ou “motilité amiboïde” [47], qui fait l’objet du paragraphe suivant.

Les blebs

Les blebs sont des protusions membranaires sphériques qui apparaissent à la surface de la cellule. A la différence des autres protusions, la formation de blebs ne fait pas intervenir la force produite par la polymérisation de l’actine. Le mécanisme semble plutôt provenir du détachement local d’une région de la membrane, qui croît sous l’effet de la pression intracellulaire. L’événement initiateur du détachement de la membrane pourrait être une rupture de l’adhésion cortex/membrane, ou la formation d’une fracture dans le cortex [110]. Après une phase de croissance le bleb atteint un état stationnaire approximativement hémisphérique, d’un rayon de l’ordre de $2-5\mu m$. Un nouveau cortex y est alors repolymérisé, qui se contracte et réintègre le bleb dans la cellule. Le temps de vie total d’un bleb est d’environ 1 minute : il croît en 10s et contracte pendant le temps restant. Les blebs apparaissent en particulier dans les conditions physiologiques suivantes :

- lors de l’apoptose les cellules forment un grand nombre de blebs qui suivent des cycles de formation et de rétraction. Cette propriété n’est pas essentielle à l’apoptose [133] et semble plutôt être un effet secondaire de la suractivation des myosines II.
- aux pôles des cellules en division, à partir de la fin de l’anaphase et jusqu’à la fin de la cytokinèse [63].
- dans les cellules s’étalant sur un substrat, avant la formation du lamellipode.
- dans certaines cellules cancéreuses. De façon remarquable les cellules cancéreuses amenées à se déplacer dans un environnement 3D adoptent deux modes de locomotion, l’un par dégradation de la matrice extracellulaire et l’autre par formation de bleb, selon un mode de migration décrit ci-dessous [126].

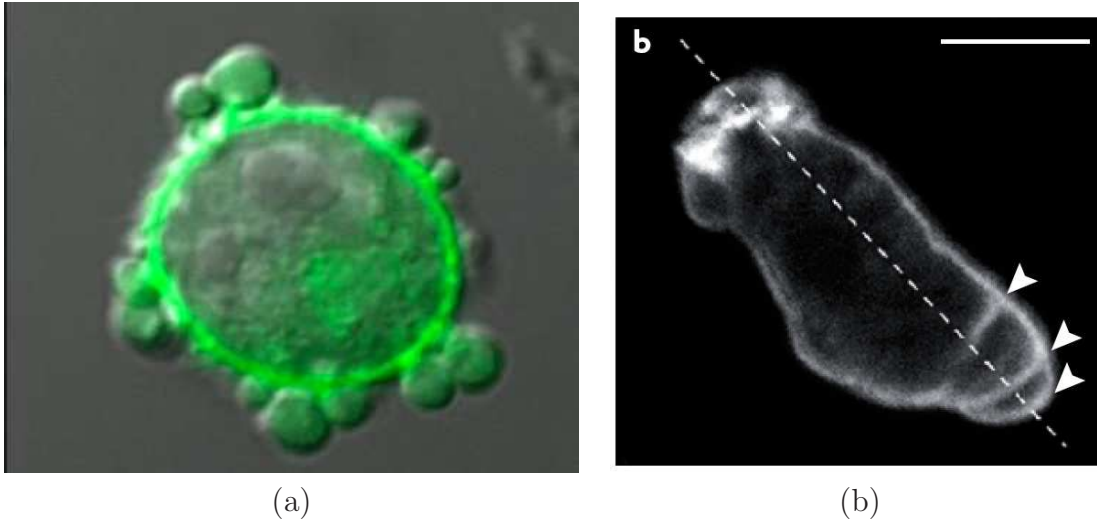


FIG. I.11: Formation de blebs. (a) Fibroblaste en apoptose : des protusions sphériques n'ayant pas de cortex apparaissent en différents points de la surface (DIC/myosine GFP) (b) Motilité par formation de bleb dans Dictyostelium : les flèches indiquent les blebs successifs. (a) image groupe E. Paluch, (b) reproduit de [156]

- à l'avant de certaines cellules en migration. Le mode de locomotion correspondant, par formation de blebs successifs (ou motilité amiboïde, [47]), peut se décrire ainsi : un signal cause la rupture du cortex ou le détachement de la membrane à l'avant de la cellule. Le corps de la cellule se contracte et le bleb grossit, puis sa progression s'arrête, éventuellement par la repolymérisation d'un nouveau cortex. La formation d'un nouveau bleb à l'avant du premier continue le processus. Si le corps de la cellule adhère à la matrice extracellulaire, ou à un substrat à deux dimensions, cette suite d'événement la fait progresser dans une direction, à condition que les positions des blebs successifs soient corrélées. Ce type de locomotion est connu depuis longtemps chez les amibes et les cellules tumorales, mais il pourrait être plus général et même constituer, à côté du lamellipode, un second paradigme de la motilité cellulaire.[43][20]

La formation des blebs dépend de façon essentielle du cortex d'actomyosine et de son couplage avec la membrane. Deux types d'expériences le montrent en particulier :

- Les traitements de la cellule qui conduisent à une suractivation des myosines favorisent la formation des blebs. Des blebs se forment ainsi lorsque les microtubules sont dépolymérisés [110], ou lorsqu'on agit sur une des protéines de régulation de la myosine : Rho (en ajoutant du serum activateur LPA), ou MLCK (en ajoutant de la calyculine)[57]. A l'inverse les blebs disparaissent d'une cellule traitée avec une drogue inhibitrice de la myosine : Y27632 ou la blebbistatine [25].
- Les cellules tumorales dont le niveau d'expression de filamine A est affecté forment des blebs, et ce de façon réversible si on restaure le gène manquant [29]. La filamine A est une protéine de liaison des filaments d'actine, qui jouerait

un rôle dans l'adhésion membrane/cortex.

A.2.3 La cytokinèse

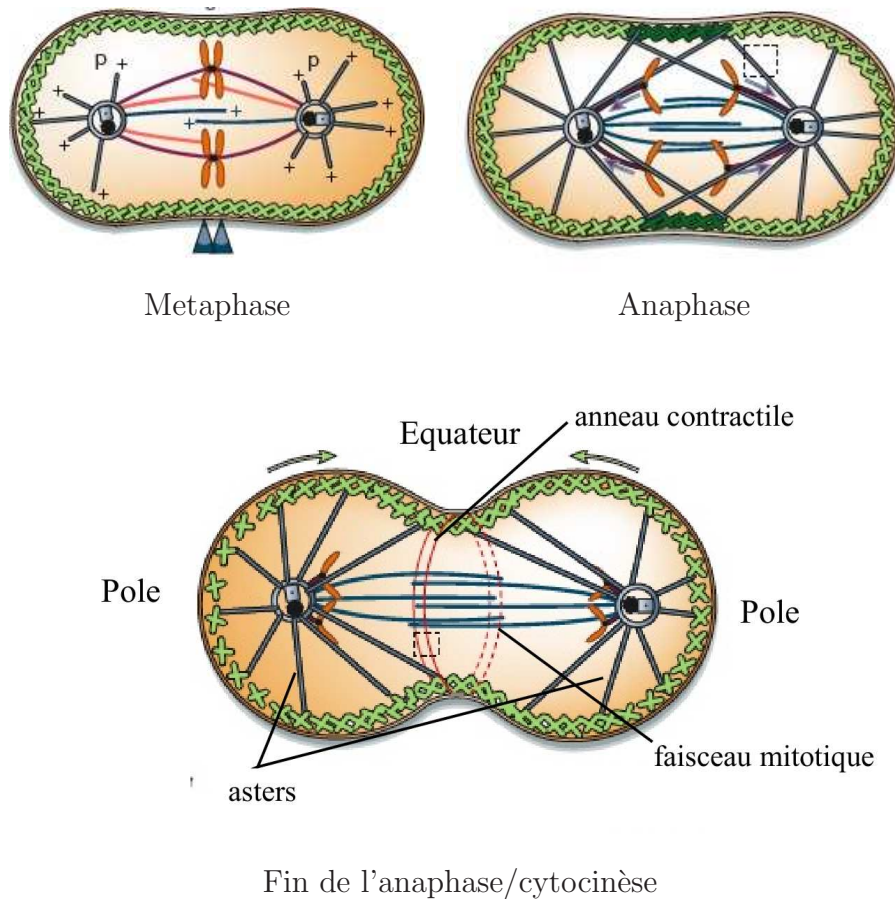


FIG. I.12: Dernières phases de la mitose. Métaphase : les microtubules (en bleu) alignent les chromosomes dans le plan équatorial. Anaphase : les microtubules sont reliés au cortex (en vert) et séparent les chromatides vers les deux pôles. Fin de l'anaphase : le faisceau central de microtubule et les deux asters définissent le plan équatorial dans lequel le cortex se contracte. Dessins reproduits de [130].

Le cortex joue un rôle essentiel dans la cytokinèse : il subit de profondes transformations et est responsable de la division mécanique de la cellule en deux cellules filles.

La division cellulaire débute par la mitose, pendant laquelle le matériel génétique qui a été dupliqué pendant l'interphase est séparé et réassemblé en deux noyaux à chaque pôle de la cellule. Pour réaliser cette opération les microtubules s'organisent en une machinerie complexe. Deux ensembles de microtubules, émanant chacun d'un centrosome, séparent les chromosomes du noyau pendant la métaphase, puis tractent les chromatides à chaque pôle au cours de l'anaphase. A la fin de l'anaphase les microtubules sont organisés en trois ensembles : deux asters émanent radialement des centrosomes et sont reliés aux deux pôles du cortex, et un faisceau de microtubules

antiparallèles dit “interpolaire” (voir fig. I.12) relie les deux centrosome. A ce stade la cellule a une polarité clairement définie : on appelle plan équatorial le plan normal au faisceau, et pôles les régions qui jouxtent chaque centrosome (fig. I.12).

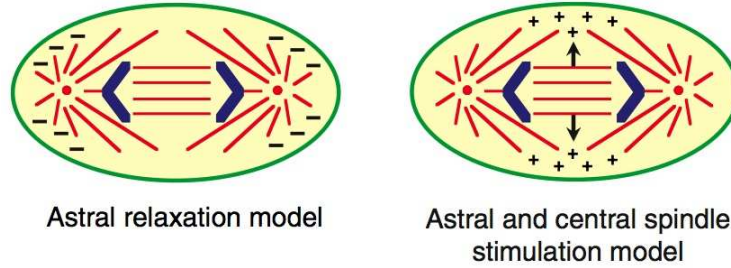


FIG. I.13: Modèles de régulation de la cytokinèse par les microtubules : relaxation astrale ou stimulation à l'équateur (adapté de [31])

Au début de la mitose, une élévation globale de RhoA entraîne une élévation de la tension du cortex et l'arrondissement de la cellule [94]. De façon surprenante, ce processus peut avoir lieu même en l'absence de myosine II [158]. A la fin de la mitose, la cellule est donc approximativement sphérique. Un signal émanant des microtubules réorganise alors le cortex et conduit à l'accumulation de myosines dans la région équatoriale et à la formation d'un anneau de filaments orientés le long de l'équateur. La position de l'anneau dépend entièrement de la position du fuseau et des deux asters de microtubules [121] : plusieurs anneaux peuvent ainsi être générés en déplaçant artificiellement le fuseau central [119]. Il semble que les membres de la famille de GTPase Rho soient impliqués dans la formation de l'anneau : RhoA est indispensable à la cytokinèse [113], est présent en excès à l'équateur sous sa forme GTP [7] et active ainsi ROCK et les formines [53], ce qui pourrait entraîner la suractivation de la myosine et de l'actine dans le plan équatorial. La façon dont l'ensemble fuseau+aster régule le profil de concentration de RhoA n'est cependant pas parfaitement comprise. Deux hypothèses ont été débattues [31] : le modèle de relaxation astrale suppose que les asters inhibent la contractilité aux deux pôles, tandis que le modèle de stimulation astrale ou équatoriale suppose que les microtubules activent les myosines à l'équateur, éventuellement par un signal induit par le faisceau mitotique (fig. I.13). Il est possible que le profil de concentration de Rho soit dépendent de la densité locale de microtubules [36], ou de différences régionales dans leur dynamique de polymérisation et dépolymérisation. Un candidat pour cette signalisation est la protéine GEF (facteur d'échange de guanine) ECT2 qui possède un site de liaison aux microtubules et est capable d'activer la forme passive RhoGDP en sa forme active RhoGTP [81].

Sous l'effet de cet excès de matériel contractile, l'anneau d'actine se contracte et sépare la cellule en deux. L'ADF-cofiline, qui favorise la dépolymérisation de l'actine, est essentielle à ce processus : sans elle les filaments s'accumulent dans l'anneau, ce qui empêche la contraction [109]. La formation de l'anneau s'accompagne d'un phénomène remarquable de déplacements de filaments d'actine dans le cortex appelé *flux cortical* [13]. Le flux est orienté des pôles vers l'équateur, et pourrait contribuer à la formation de l'anneau. De façon remarquable, des flux corticaux ont été observés

dans deux autres phénomènes biologiques, qui semblent également contrôlés par des gradients d'activité de myosines régulés par les microtubules : la fermeture de trou dans le cortex d'oeuf de xénope et la polarisation de l'embryon de *C. Elegans*. Nous revenons extensivement sur ces flux corticaux dans le chap. IV.

Remarquons enfin que la formation d'un anneau contractile n'est peut être pas l'unique mécanisme utilisé par la cellule pour se diviser : dans les clones de *Dicystostelium* n'exprimant pas la myosine II, la division cellulaire est encore possible, à condition que la cellule puisse adhérer sur un substrat [106]. Dans ce cas la cellule se divise sans formation d'un anneau, au cours d'un processus appelé cytokinèse B, dont la force motrice semble être produite par des lamellipodes polaires exerçant des forces de traction [51]. La façon dont cette production de force permet la constriction équatoriale n'est cependant pas parfaitement comprise.

B Modélisation du cytosquelette : les gels actifs

La physique du cytosquelette est très complexe : il faut prendre en compte l'interaction de quatre constituants (monomères, filaments, moteurs, solvant), maintenus hors d'équilibre par consommation d'ATP. Trois approches de ce problème peuvent être distinguées :

- *Simulations* Les simulations numériques permettent de prendre en compte les mécanismes microscopiques de façon détaillée. Les auteurs des réf. [105], [139] reconstituent ainsi des motifs existants in vitro dans des systèmes de microtubules+kinésine. Les filaments sont modélisés par des tiges élastiques, et l'attachement des moteurs est paramétré par trois quantités : les taux d'attachement et de détachement du moteur au filament, et le taux de détachement à l'un des deux bouts du filament polaire. Ce dernier point est essentiel : cette dissymétrie est à l'origine des propriétés contractiles des gels d'actomyosine.
- *Modèles mésoscopiques* Dans ce type de modèle, des équations cinétiques de champ moyen sont dérivées à partir de considérations sur les mécanismes microscopiques. C'est l'approche adoptée par les auteurs de la réf. [84], qui écrivent des équations cinétiques pour un gel à une dimension et montrent qu'au-delà d'un seuil de contractilité le gel est cinétiquement instable. Les auteurs des réf. [88], [1] étendent cette approche à plusieurs dimensions, en décrivant la cinétique des filaments par une équation de Smoluchowski.
- *Modèles hydrodynamiques* C'est l'approche du modèle des "gels actifs" adoptée dans cette thèse : la dynamique du système à grande échelle de temps et d'espace est décrite par un ensemble réduit de variables macroscopiques. Les équations d'évolution sont obtenues à partir de considérations de symétrie très générales.

Ces trois approches se complètent car elles décrivent la physique de l'interaction moteur/filament à des échelles différentes. Comme nous nous intéressons à des mécanismes ayant lieu à l'échelle cellulaire, le choix du modèle à plus grande échelle paraît indiqué. Dans la partie suivante nous exposons la dérivation d'un modèle hydrodynamique adapté au gel d'actomyosine.

B.1 Principe d'une description hydrodynamique

Le principe d'un modèle hydrodynamique est d'explorer les comportements d'un système aux grandes échelles de temps et d'espace. On ne retient qu'un certain nombre de variables macroscopiques relaxant lentement, et on suppose que localement le système est à l'équilibre thermodynamique, ce qui permet d'éliminer les variables rapides du problème. Cette approche a un double intérêt : d'une part seul un petit nombre de variables est conservé pour décrire le système, entre lesquelles sont écrites des équations d'évolution que l'on peut simplifier par des arguments de symétrie, et d'autre part aucune hypothèse n'est faite sur les détails microscopiques du système : toute l'information est contenue dans un petit nombre de coefficients macroscopiques. Cela rend cette modélisation très générique : tous les systèmes qui partagent les mêmes variables macroscopiques et les mêmes propriétés de symétrie peuvent être décrits par les mêmes équations.

La dérivation générale des équations hydrodynamiques d'un système continu est établie dans De Groot&Mazur [34] et de façon plus générale dans Martin&Al [99]. Très schématiquement, le principe est le suivant :

- On commence par identifier les variables thermodynamiques qui relaxent lentement. Il s'agit des variables conservées et des variables associées à une brisure de symétrie :
- Les premières obéissent à une équation de conservation

$$\frac{dx}{dt} + \vec{\nabla} \cdot \vec{J}_x = 0 \quad (\text{I.4})$$

de sorte qu'en mode de Fourier $\omega(q) = O(q^2)$, c'est-à-dire que quand $q \rightarrow 0$ $\omega \rightarrow 0$, ce qui est bien la définition d'une variable relaxant lentement aux grandes échelles d'espace.

- On peut modifier de façon globale les secondes sans changer l'énergie du système (par exemple en faisant tourner la polarité de tous les filaments dans le cas des gels d'actine). Soit x une variable associée à une symétrie brisée : les variations d'énergie ne dépendent donc que des dérivées spatiales de x , soit de $\vec{y}$ défini par $\vec{y} = \vec{\nabla} x$. Si on définit le courant X par

$$\frac{dx}{dt} = -X \quad (\text{I.5})$$

alors la variable hydrodynamique y vérifie

$$\frac{d\vec{y}}{dt} + \vec{\nabla} X = 0 \quad (\text{I.6})$$

et on voit qu'elle relaxe infiniment lentement dans la limite $q \rightarrow 0$.

- On écrit la différentielle de l'entropie du système contenu dans le volume dV à l'équilibre

$$Tds = - \sum_i \lambda_i dx_i \quad (\text{I.7})$$

où les x_i sont les variables thermodynamiques et les λ_i les forces généralisées. Comme on étudie l'évolution de variables qui relaxent lentement, on peut sup-

poser que le système est localement à l'équilibre, et l'énergie libre varie localement dans le temps de façon quasi-statique

$$T \frac{ds}{dt} = - \sum_i \lambda_i \frac{dx_i}{dt} \quad (\text{I.8})$$

et la différentielle pour tout le système s'écrit

$$T \frac{dS}{dt} = - \int dV \sum_i \lambda_i \frac{dx_i}{dt} \quad (\text{I.9})$$

- En utilisant les équations de conservation ou en introduisant des courants associés aux variables de symétrie brisée on a en général $\frac{dx_i}{dt} = -\nabla J_i$. La variation d'énergie libre s'écrit alors

$$T \frac{dS}{dt} = \int \left[\sum_i \lambda_i \nabla J_i \right] dV \quad (\text{I.10})$$

$$= - \int \left[\sum_i \nabla \lambda_i J_i \right] dV \quad (\text{I.11})$$

où la seconde ligne résulte d'une intégration par parties.

- A l'ordre le plus bas dans les différentes variables on écrit que les flux dépendent linéairement des forces :

$$J_i = \sum L_{ij} \nabla \lambda_j \quad (\text{I.12})$$

Le deuxième principe de la thermodynamique impose que la variation d'énergie libre soit toujours négative, ce qui en reportant l'éq. I.12 dans l'éq. I.11 conduit à la condition que la matrice L_{ij} soit positive, et donc en particulier que les coefficients satisfont

$$L_{ii} L_{kk} \geq \frac{1}{4} (L_{ik} + L_{ki})^2 \quad (\text{I.13})$$

En outre le théorème de réciprocité impose certaines restrictions sur la matrice L_{ij} . Certains des couplages introduits dans l'éq. I.12 sont réactifs, c'est-à-dire peuvent se produire sans dissipation, et les autres sont dissipatifs. L_{ij} est un couplage réactif si J_i et λ_j ont la même parité vis-à-vis du renversement du temps $t \rightarrow -t$, et un couplage dissipatif s'ils ont une parité opposée. Le théorème d'Onsager assure alors les propriétés de symétrie suivantes

$$L_{ij}^r = -L_{ji}^r \quad (\text{I.14})$$

$$L_{ij}^d = L_{ji}^d \quad (\text{I.15})$$

ou r et d désignent des couplages respectivement réactifs et dissipatifs. On peut vérifier en particulier qu'avec la propriété I.14 seuls les couplages dissipatifs apparaissent dans la production d'entropie (eq. I.11). Ces propriétés permettent de réduire le nombre de coefficients phénoménologiques du modèle contenus dans la matrice L_{ij} et imposent des restrictions sur leurs valeurs.

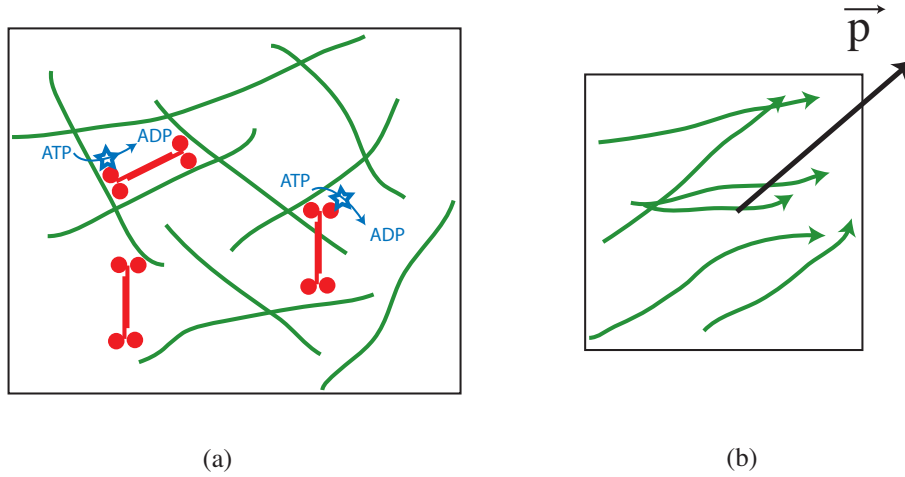


FIG. I.14: (a) Principe des gels actifs : les myosines transforment l'énergie produite par l'hydrolyse de l'ATP en travail mécanique. (b) Les filaments sont orientés et ont un axe privilégié, on peut donc définir un ordre polaire à partir de la moyenne des orientations.

B.2 Le cas des gels actifs

L'idée sous-jacente au modèle des gels actifs est que :

- Comme tout système contenant de nombreux composants, la densité est l'une des variables thermodynamiques décrivant le gel d'actine. En outre les filaments ont une structure cylindrique et donc une orientation, et même une polarité puisqu'on peut distinguer le bout barbé et le bout pointu. Ces caractéristiques sont partagées par les cristaux liquides et les élastomères. L'hydrodynamique des cristaux liquides s'est révélée fonctionnelle dans de nombreux exemples [33], il est donc naturel de décrire le gel d'actine par une approche similaire.
- Les gels d'actomyosine (ou les ensembles microtubules-kinésine) utilisent l'énergie issue de l'hydrolyse de l'ATP et sont donc intrinsèquement hors d'équilibre. Ce sont les myosines qui au niveau microscopique transforment l'énergie chimique disponible en travail mécanique ; mais les détails de ce mécanisme ne sont pas décrits : on insère simplement le taux d'hydrolyse d'ATP comme une variable hydrodynamique supplémentaire. Toute l'information sur les propriétés des myosines est contenue dans les paramètres phénoménologiques du modèle.

Variation d'entropie

Pour dériver les équations hydrodynamiques, et comme exposé dans la partie B.1, nous devons commencer par calculer la variation d'entropie résultant d'une perturbation des paramètres du système. L'énergie libre totale du système s'écrit

$$F = \frac{1}{2}\rho v^2 + F_0 \quad (\text{I.16})$$

où la différentielle de F_0 s'écrit pour un système polaire, en présence d'ATP, d'ADP et du phosphate inorganique Pi

$$dF_0 = -h_\alpha dp_\alpha + \mu_{ATP} dc_{ATP} + \mu_{ADP} dc_{ADP} + \mu_{Pi} dc_{Pi} - p dV \quad (\text{I.17})$$

où $h_\alpha = -\frac{\delta F}{\delta p_\alpha}$ est le champ moléculaire associé à la polarité p et μ_{ATP} , μ_{ADP} et μ_{Pi} sont les potentiels chimiques associés à l'ATP, à l'ADP et au phosphate. On suppose que le gel est incompressible et la pression p apparait donc comme un multiplicateur de Lagrange contraignant le volume. La variation d'entropie d'un système localement à l'équilibre est donc donnée par

$$T \frac{dS}{dt} = -\frac{dF}{dt} = \int d^3r \left[\sigma_{\alpha\beta}^{tot} \partial_\alpha v_\beta + h_\alpha \frac{dp_\alpha}{dt} + r \Delta\mu + p u_{\alpha\alpha} \right] \quad (\text{I.18})$$

où $\Delta\mu = \mu_{ATP} - \mu_{ADP} - \mu_{Pi} > 0$ est la différence de potentiel chimique entre l'ATP et les dérivées de son hydrolyse ADP et Pi. $r = -\frac{dc_{ATP}}{dt}$ est le taux de consommation d'ATP. Dans un souci de simplicité nous n'avons pas inclus les termes correspondants aux échanges chimiques entre actine monomérique et polymérisée, ou entre moteurs libres et attachés, mais ils sont donnés dans la réf. [83]. En intégrant par partie l'éq. I.18, en ignorant les termes de surface, en séparant la contrainte en ses parties symétrique $\sigma_{\alpha\beta}^s$ et antisymétrique $\sigma_{\alpha\beta}^a$, et en utilisant

$$\sigma_{\alpha\beta}^a = \frac{1}{2} (p_\alpha h_\beta - p_\beta h_\alpha) \quad (\text{I.19})$$

qui découle d'arguments généraux sur les moments des forces appliquées au système [33] on obtient l'expression de la dissipation

$$T \frac{dS}{dt} = \int d^3r \left[(\sigma_{\alpha\beta}^s + p \delta_{\alpha\beta} u_{\alpha\beta} + h_\alpha \frac{Dp_\alpha}{Dt} + r \Delta\mu) \right] \quad (\text{I.20})$$

où on a introduit le tenseur symétrique de gradient de vitesse $u_{\alpha\beta} = \frac{\partial_\alpha v_\beta + \partial_\beta v_\alpha}{2}$ et où $\frac{D}{Dt}$ désigne la dérivée convective

$$\frac{Dp_\alpha}{Dt} = \frac{\partial p_\alpha}{\partial t} + v_\gamma \partial_\gamma p_\alpha + \omega_{\alpha\beta} p_\beta \quad (\text{I.21})$$

où $\omega_{\alpha\beta} = \frac{\partial_\alpha v_\beta - \partial_\beta v_\alpha}{2}$ est la partie antisymétrique du gradient de vitesse. Les équations constitutives se déduisent des flux et forces qu'on peut identifier dans l'expression de la variation d'entropie I.20. Les différents choix possibles de flux et de forces sont équivalents, au prix d'une redéfinition des paramètres. Dans la théorie des gels actifs on fait le choix de flux et de forces suivant :

Flux	Force
$\sigma_{\alpha\beta}$	$u_{\alpha\beta}$
$\frac{Dp_\alpha}{Dt}$	h_α
r	$\Delta\mu$

Modèle de Maxwell

L'expansion des flux en fonction des forces est ensuite compliquée par le choix de la description de la rhéologie du gel. Ici nous choisissons d'utiliser le modèle de Maxwell, qui assimile la réponse du gel à celle d'un piston et d'un ressort en série, ce qui correspond à une réponse élastique aux temps courts avec un module élastique E , et visqueuse aux temps longs avec une viscosité η . La contrainte est donc reliée au gradient de déformation par

$$\left(1 + \tau \frac{d}{dt}\right) \sigma_{\alpha\beta} = 2\eta u_{\alpha\beta} \quad (\text{I.22})$$

Les deux régimes sont séparés par un temps $\tau = \frac{\eta}{E}$: aux temps courts $\sigma_{\alpha\beta} = 2Eu_{\alpha\beta}$ et aux temps longs $\sigma_{\alpha\beta} = 2\eta v_{\alpha\beta}$ le gradient de vitesse. Le gel étant réticulé par des protéines de liaison, on s'attend en effet à ce que la réponse du réseau d'actine à une force soit d'abord élastique, les protéines résistant à la déformation, puis visqueuse lorsque les liens se défont et permettent la séparation des filaments. Dans ce cas le temps τ est relié au temps de détachement des protéines. La rhéologie du gel pourrait être plus compliquée que celle décrite par le modèle de Maxwell, ainsi que suggéré par la réponse en loi de puissance de la déformation d'une cellule à un seuil de force [37], mais ce choix de description permet d'incorporer de façon simple les propriétés viscoélastiques élémentaires du gel. Il est difficile d'estimer le temps τ ; cependant certains travaux expérimentaux interprétant la réponse d'une cellule entière par un modèle similaire mesurent un temps de relaxation $\sim 1 - 40s$ [151][143], qui doit être de l'ordre de τ si le cortex est l'élément mécanique dominant.

Equations constitutives

Pour écrire les équations constitutives, et dans le cadre du modèle de Maxwell, il faut distinguer les couplages dissipatifs et réactifs et écrire tous les termes possibles. Le calcul est détaillé dans la réf. [83], ici nous donnons directement le résultat final :

$$\begin{aligned} \left(1 + \tau \frac{D}{Dt}\right) (\sigma_{\alpha\beta} + p\delta_{\alpha\beta}) &= 2\eta u_{\alpha\beta} + \frac{\nu_1}{2} \left(p_\alpha h_\beta + p_\beta h_\alpha - \frac{2}{3} p_\gamma h_\gamma \delta_{\alpha\beta} \right) \\ &\quad + \left(1 + \tau \frac{D}{Dt}\right) \left(\zeta \Delta \mu (p_\alpha p_\beta - \frac{1}{3} \delta_{\alpha\beta}) \right) \end{aligned} \quad (\text{I.23})$$

$$\left(1 - \tau^2 \frac{D^2}{Dt^2}\right) \frac{Dp_\alpha}{Dt} = - \left(1 - \tau \frac{D}{Dt}\right) (\nu_1 p_\beta u_{\alpha\beta}) + \left(1 - \tau^2 \frac{D^2}{Dt^2}\right) \left(\frac{1}{\gamma_1} h_\alpha + \lambda_1 p_\alpha \Delta \mu \right) \quad (\text{I.24})$$

$$r = -\zeta p_\alpha p_\beta u_{\alpha\beta} + \lambda_1 p_\alpha h_\alpha + \Lambda \Delta \mu \quad (\text{I.25})$$

où nous avons introduit 6 coefficients phénoménologiques (η , ν_1 , ζ , γ_1 , λ_1 et Λ). Nous considérons le gel incompressible donc les termes isotropes ont été absorbé dans l'expression de la contrainte I.23. Nous avons par ailleurs modifié la définition de ζ en $-\zeta$ par rapport à la réf. [83] afin que la contrainte active $\zeta \Delta \mu$ soit positive lorsque l'effet des myosines est contractile et crée une tension dans le gel, ce qui est le cas expérimentalement. Précisons la signification des termes ainsi obtenus :

- *Contrainte* La contrainte est la somme de 3 termes : le premier correspond à la contrainte viscoélastique dans le modèle de Maxwell, introduite dans l'éq. I.22.

Le second terme proportionnel au champ moléculaire est réactif et correspond à la contrainte induite dans le gel par une perturbation de la polarité. Le troisième est proportionnel à $\Delta\mu$ et est donc dépendant de l'énergie produite par l'hydrolyse de l'ATP. On assimile donc le terme $\zeta\Delta\mu$ à la contrainte exercée par les myosines dans le gel, et nous l'appelons contrainte active. Ce terme est essentiel dans notre description car il est spécifique à un système actif, et est à l'origine de la plupart des effets que nous décrivons.

- *Polarité* L'éq. I.24 fixe l'évolution de la polarité. Le terme proportionnel à ν_1 couple le flux à l'orientation des filaments (nous revenons sur le sens de ce couplage dans le chap. IV). Le second terme est dissipatif et décrit, en l'absence d'autres forces, la relaxation de la polarité à l'équilibre thermodynamique. γ_1 est la viscosité rotationnelle. Le dernier terme proportionnel à $\Delta\mu$ est actif et pourrait être dû à un effet d'alignement actif des myosines.
- *Consommation d'ATP* L'éq. I.25 fixe le taux de consommation de l'ATP, qui dépend du potentiel chimique $\Delta\mu$, mais aussi du champ de déformation et du champ moléculaire h . A quantité d'ATP finie cette équation décrirait la relaxation du réservoir d'énergie chimique correspondant. Dans la cellule la situation est différente car l'ATP est constamment renouvelé, nous considérons donc que le taux de consommation est compensé par la production de la cellule, de sorte que la différence de potentiel chimique $\Delta\mu$ est maintenue constante. Dans les conditions explorées dans cette thèse, nous n'utilisons donc que les éqs. I.23 et I.24.

B.3 Dérivation pour un nématique

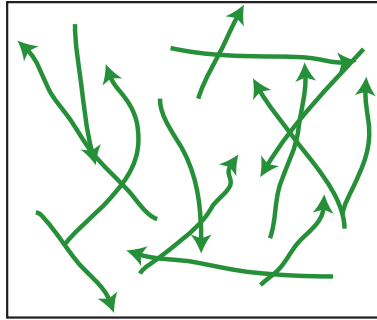


FIG. I.15: Schéma d'un ensemble de filaments qui n'a pas d'ordre polaire global ($p = 0$), mais pour lesquels un ordre nématique existe ($Q \neq 0$)

Variation d'énergie libre

Dans le développement d'un modèle pour la couche corticale nous avons été amenés à chercher les équations des gels actifs dans le cas d'un gel n'ayant pas d'orientation polaire ($p=0$), et qui n'est pas non plus nématique uniaxial, de sorte que le paramètre d'ordre pertinent pour décrire le système est le tenseur nématique

Q défini par

$$Q_{\alpha\beta} = \langle p_\alpha p_\beta - \frac{1}{3} \delta_{\alpha\beta} \rangle \quad (\text{I.26})$$

où p_α est le vecteur directeur d'un filament et la moyenne est sur une collection de filaments. Q est nul pour un système de filaments ne possédant pas d'orientation privilégiée. Lorsque Q est non nul, ses directions propres indiquent les directions privilégiées du système et les valeurs propres dépendent du degré d'organisation des filaments. De par sa définition, ce tenseur a une trace nulle. Dans le chap V nous revenons plus précisément sur sa signification.

Pour obtenir les équations constitutives nous suivons la même démarche que dans la section précédente. Dans un souci de simplicité, nous nous restreignons à la limite visqueuse qui est celle dans laquelle nous nous plaçons au chap. V.

Production d'entropie

Comme dans le cas polaire l'énergie libre s'écrit en général

$$F = \int \frac{1}{2} \rho v^2 + F_0 \quad (\text{I.27})$$

où la variation de F_0 s'écrit

$$\delta F_0 = -H_{\alpha\beta}^{tl} \delta Q_{\alpha\beta} + \sigma_{\alpha\beta}^d \partial_\alpha \delta u_\beta + \mu_{ATP} \delta c_{ATP} + \mu_{ADP} \delta c_{ADP} + \mu_{Pi} \delta c_{Pi} - p \delta V \quad (\text{I.28})$$

où nous avons introduit les termes suivants :

- $H_{\alpha\beta}$ est le tenseur défini par

$$H_{\alpha\beta} = - \frac{\delta F_0}{\delta Q_{\alpha\beta}} \quad (\text{I.29})$$

Si on ajoute à l'énergie libre du système un multiplicateur de Lagrange qui contraint la trace de Q à être nulle (c'est-à-dire un terme $\lambda \text{Tr} Q$), à l'équilibre $H_{\alpha\beta} = \lambda \delta_{\alpha\beta}$, de sorte que $\lambda = \frac{1}{3} \text{Tr} H$ et on peut remplacer H par le champ moléculaire sans trace

$$H_{\alpha\beta}^{tl} = H_{\alpha\beta} - \frac{1}{3} \text{Tr} H \delta_{\alpha\beta} \quad (\text{I.30})$$

qui s'annule à l'équilibre.

- $\sigma_{\alpha\beta}^d$ est la contrainte correspondant à la variation de l'ordre nématique associé à la déformation du gel. Sa valeur est égale à

$$\sigma_{\alpha\beta}^d = - \frac{\delta F_0}{\delta (\partial_\alpha Q_{\delta\gamma})} \partial_\beta Q_{\delta\gamma} \quad (\text{I.31})$$

La variation de dissipation totale s'écrit donc

$$\frac{dF}{dt} = \int d^3r \left[(-\sigma_{\alpha\beta}^{tot} - p \delta_{\alpha\beta} + \sigma_{\alpha\beta}^d) \partial_\alpha v_\beta - H_{\alpha\beta}^{tl} \left(\frac{d}{dt} + v_\gamma \partial_\gamma \right) Q_{\alpha\beta} - r \Delta \mu \right] \quad (\text{I.32})$$

En introduisant la contrainte $\sigma_{\alpha\beta} = \sigma_{\alpha\beta}^{tot} - \sigma_{\alpha\beta}^d$, et en séparant les tenseurs dans leurs parties symétriques et antisymétriques,

$$\frac{dF}{dt} = - \int d^3r \left(\sigma_{\alpha\beta}^s + p \delta_{\alpha\beta} \right) u_{\alpha\beta} + \sigma_{\alpha\beta}^a w_{\alpha\beta} + H_{\alpha\beta}^{tl} \left(\frac{d}{dt} + v_\gamma \partial_\gamma \right) Q_{\alpha\beta} + r \Delta \mu \right] \quad (\text{I.33})$$

A partir de considérations de symétrie sur les rotations globales du système [33], on peut montrer que

$$\sigma_{\alpha\beta}^a = \frac{1}{2}(Q_{\alpha\gamma}H_{\gamma\beta}^{tl} - Q_{\beta\gamma}H_{\gamma\alpha}^{tl}) \quad (\text{I.34})$$

et on obtient donc

$$\frac{dF}{dt} = - \int d^3r \left[\sigma_{\alpha\beta}^s u_{\alpha\beta} + H_{\alpha\beta}^{tl} \frac{D}{Dt} Q_{\alpha\beta} + r \Delta\mu \right] \quad (\text{I.35})$$

Equations constitutives

A partir de l'éq. I.35 on obtient les équations constitutives en dérivant les flux en fonction des forces. Nous choisissons le même ensemble de flux et de forces, en remplaçant les vecteurs p et h par les tenseurs Q et H . Les coefficients phénoménologiques dépendent en général du tenseur Q : nous supposons que le gel est faiblement ordonné ($|Q_{\alpha\beta}| \ll 1$) et nous ne gardons donc que les termes d'ordre le plus bas en $Q_{\alpha\beta}$. Les équations constitutives deviennent alors

$$\sigma_{\alpha\beta}^s + p\delta_{\alpha\beta} = 2\eta u_{\alpha\beta} - \beta_1 H_{\alpha\beta}^{tl} + \zeta \Delta\mu Q_{\alpha\beta} \quad (\text{I.36})$$

$$\frac{D}{Dt} Q_{\alpha\beta} = \beta_1 u_{\alpha\beta} + \frac{1}{\beta_2} H_{\alpha\beta}^{tl} + \lambda \Delta\mu Q_{\alpha\beta} \quad (\text{I.37})$$

$$r = -\zeta Q_{\alpha\beta} u_{\alpha\beta} + \lambda Q_{\alpha\beta} H_{\alpha\beta}^{tl} + \Lambda \Delta\mu \quad (\text{I.38})$$

et la contrainte totale est donnée par

$$\sigma_{\alpha\beta}^{tot} = \sigma_{\alpha\beta}^s + \sigma_{\alpha\beta}^a + \sigma_{\alpha\beta}^d \quad (\text{I.39})$$

où les trois contraintes du membre de droite sont définies respectivement par I.36, I.34 et I.31. Les équations constitutives I.36 à I.38 ont la même forme que les équations polaires I.23 à I.23, et lorsque cela est possible nous avons conservé les mêmes notations pour les variables. Les éqs. I.36 et I.37 sont également celles obtenues dans la réf. [62], au prix d'une redéfinition des paramètres phénoménologiques. En l'absence du terme actif, les éqs. I.36 et I.37 se ramènent aux équations pour un cristal liquide nématique en dessous de la transition isotrope/nématique dérivées dans la réf. [108], et nous avons conservé les mêmes notations pour les coefficients impliqués. Nous revenons dans le chap. V sur la signification des différents termes. Ici nous remarquons simplement qu'on peut faire la connection avec la théorie polaire en supposant qu'un ordre uniaxial existe dans le gel, auquel cas le tenseur nématique s'écrit $Q_{\alpha\beta} = S(n_\alpha n_\beta - \frac{1}{3}\delta_{\alpha\beta})$ où n est le directeur du nématique. En développant les éqs. I.36 à I.38, et en les comparant aux éqs. I.23 à I.25 on obtient la connection suivante entre les différents paramètres :

$$\nu_1 = -\frac{\beta_1}{S} + O\left(\frac{1}{S}\right) \quad (\text{I.40})$$

$$\frac{1}{\gamma_1} = \frac{1}{2\beta_2 S} + O\left(\frac{1}{S}\right) \quad (\text{I.41})$$

$$\lambda_1 = \frac{2\lambda}{3S} + O\left(\frac{1}{S}\right) \quad (\text{I.42})$$

Remarquons enfin que Q n'est pas une vraie variable hydrodynamique, puisque ce n'est pas une variable à symétrie brisée et l'énergie libre contient des termes en Q et pas uniquement dans ses dérivées spatiales $\partial_\alpha Q$. Il faut donc supposer a priori qu'elle relaxe assez lentement pour que l'hypothèse d'équilibre locale soit encore valide. C'est généralement ce qui est considéré dans le cas des cristaux liquides [33] [108].

Chapitre II

Le cortex d'actine : régulation de l'épaisseur et instabilités actives

Dans ce chapitre nous présentons les hypothèses du modèle que nous utilisons pour décrire la couche d'actine corticale. Notre approche générale consiste à introduire, lorsque cela est possible, des paramètres physiques macroscopiques qui nous affranchissent des détails des mécanismes microscopiques en jeu, et à fournir ainsi une description aussi générique que possible. Dans la partie A nous appliquons le modèle des gels actifs à une couche corticale dans une cellule sphérique, et nous essayons de passer en revue différents mécanismes susceptibles de contrôler l'épaisseur de la couche. Dans la partie B nous montrons que si le gel d'actine se comporte comme un fluide aux temps longs, les myosines doivent théoriquement déstabiliser la couche, sous des hypothèses minimales.

A Cortex dans une cellule sphérique

Dans cette section nous utilisons le modèle des gels actifs pour calculer les contraintes dans la couche et la tension exercée par le cortex dans une cellule sphérique, et nous essayons de conjecturer différents mécanismes susceptibles de contrôler son épaisseur. Nous introduisons les grandeurs nécessaires à la description de la couche, et nous les utiliserons ensuite dans toute la suite de cette thèse (les notations employées sont résumées dans l'appendice A).

A.1 Géométrie du problème et orientation des filaments

Nous considérons une couche de gel d'actine d'épaisseur e , connectée à la membrane d'une cellule approximativement sphérique de rayon R (fig. II.1). Nous repérons les points de l'espace à l'aide des coordonnées sphériques (r, θ, ϕ) , la membrane de la cellule étant repérée par $r = R(\theta, \phi)$ et la frontière de la couche avec le cytoplasme par $r = r_0(\theta, \phi)$. Le cortex a donc une épaisseur $e = R - r_0$. En accord avec les observations expérimentales nous supposons que la couche est mince (de faible épaisseur par rapport aux longueurs pertinentes le long de la membrane) et nous supposons donc $e \ll R$. Afin de disposer d'une coordonnée adaptée à la description du gel nous définissons $z = R - r$, de sorte que $z = 0$ à la membrane et $z = e$ à

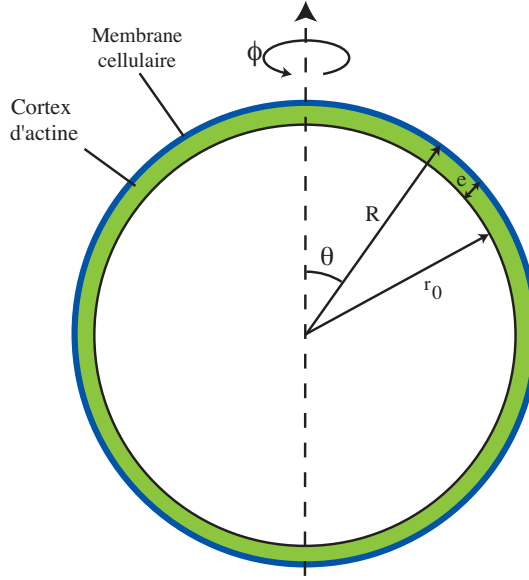


FIG. II.1: Cortex dans une cellule sphérique et coordonnées sphériques. Le cortex est connecté à la membrane cellulaire en $r = R$ le rayon de la cellule et il a une épaisseur $e \ll R$.

l'interface avec le cytoplasme. Dans cette partie nous supposons que le cortex a une symétrie sphérique.

Le gel est formé de filaments d'actines qui sont reliés par des protéines d'adhésion à la membrane. Nous considérons que les filaments sont nucléés puis polymérisés par des protéines (éventuellement des formines) situées ou activées près de la membrane. Le cortex étant présent à la membrane de la cellule, il paraît en effet naturel que la polymérisation y ait lieu préférentiellement. Les filaments d'actine sont polaires (voir chapitre I) et polymérisent à leur bout barbé ; nous supposons donc qu'ils ont une polarité orientée de la membrane vers le cytoplasme (fig. II.3). Nous considérons enfin que les filaments croissent dans une direction fixe par rapport à la membrane, en formant un angle φ avec celle-ci, et dans une direction aléatoire dans le plan de la membrane, que nous repérons par un angle χ (voir fig.II.2). Soit p le vecteur unitaire dirigeant un filament : ses coordonnées dans la base sphérique sont donc

$$p_r = \sin \varphi \quad (\text{II.1})$$

$$p_\theta = \cos \varphi \cos \chi \quad (\text{II.2})$$

$$p_\phi = \cos \varphi \sin \chi \quad (\text{II.3})$$

Pour obtenir les contraintes dans le gel à partir du modèle des gels actifs, nous devons calculer le tenseur nématique associé à cette distribution. Q est défini par $Q_{ij} = \langle p_i p_j - \frac{1}{3} \delta_{ij} \rangle$, où la moyenne $\langle \rangle$ est sur un ensemble de filaments. Ici la moyenne s'applique sur l'angle χ , ce qui nous donne

$$Q_{ij} = \begin{pmatrix} -\frac{1}{3} + \sin^2 \varphi & 0 & 0 \\ 0 & \frac{1}{6} - \frac{\sin^2 \varphi}{2} & 0 \\ 0 & 0 & \frac{1}{6} - \frac{\sin^2 \varphi}{2} \end{pmatrix} \quad (\text{II.4})$$

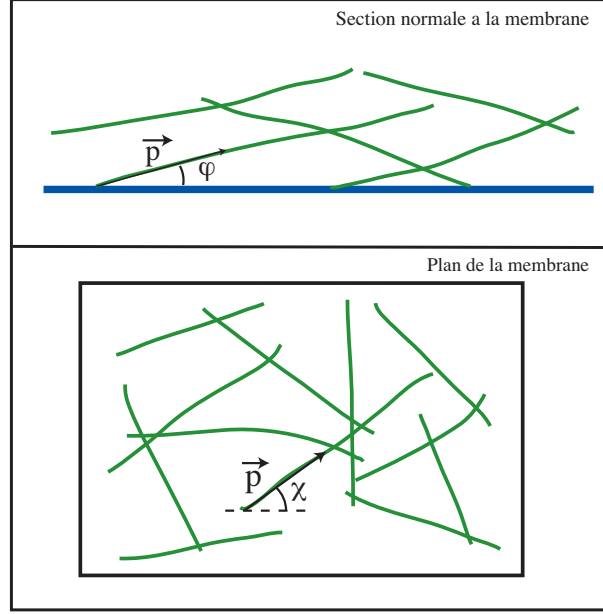


FIG. II.2: Orientation des filaments dans le cortex. On suppose que les filaments forment en moyenne un angle φ avec la membrane, et sont distribués de façon isotrope dans le plan de la membrane (l'angle χ est distribué de façon aléatoire)

Le signe de Q_{ij} dépend de la valeur de φ . Le tenseur des contraintes actives $\zeta \Delta \mu Q_{ij}$ étant proportionnel à Q_{ij} , le signe de la pression exercée par le cortex (voir éq. II.39) dépend également de φ : le cortex exerce une pression intracellulaire positive pour un angle $\varphi < \arcsin \frac{1}{\sqrt{3}} \simeq 35^\circ$. Expérimentalement cela semble être le cas, ce qui indique que les filaments sont presque parallèles à la membrane.

Ici nous nous restreignons à la limite quasiparallèle $\varphi \ll 1$: dans cette limite l'angle φ ne contribue qu'au deuxième ordre, et nous écrivons donc approximativement

$$Q_{ij} = \begin{pmatrix} -\frac{1}{3} & 0 & 0 \\ 0 & \frac{1}{6} & 0 \\ 0 & 0 & \frac{1}{6} \end{pmatrix} \quad (\text{II.5})$$

Remarquons que si l'angle φ est en fait plus grand, nos résultats restent inchangés tant que $\varphi < 35^\circ$: il suffit en effet de renormaliser la contrainte $\zeta \Delta \mu Q_{ij}$ par un terme $\zeta \Delta \mu (1 - \frac{\sin^2 \varphi}{3}) Q_{ij}$ pour retrouver le résultat dans le cas général.

Dire que l'angle χ a une valeur aléatoire est équivalent à supposer que les filaments sont orientés de façon isotrope dans le plan de la membrane. Dans le chapitre V nous relaxons cette hypothèse et nous proposons un modèle pour la formation d'anneaux contractiles où les filaments sont orientés selon une direction privilégiée. Dans ce cas le tenseur nématique n'a plus la forme II.5.

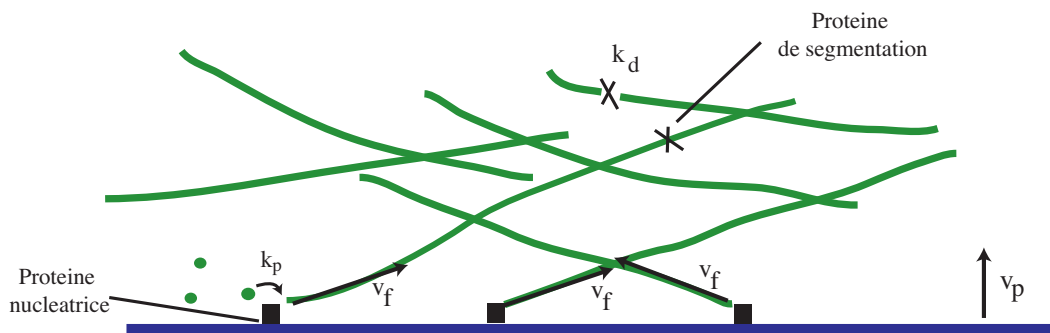


FIG. II.3: Polymérisation et dépolymérisation des filaments. Nous supposons que des protéines reliées à la membrane nucléent et polymérisent des filaments avec un taux k_p . Les filaments polymérisant dans une direction aléatoire dans le plan de la membrane, leur vitesse de polymérisation individuelle v_f donne lieu à une vitesse d'avancée de la couche purement normale v_p . Des protéines de segmentation cassent les filaments qui dépolymérisent avec un taux k_d .

A.2 Polymérisation et dépolymérisation de la couche

A.2.1 Polymérisation

Nous supposons que les filaments sont polymérisés à la membrane avec un taux k_p de monomères insérés par seconde. Les filaments sont polymérisés individuellement tangentiellement à eux-mêmes, mais leur direction étant aléatoire dans le plan de la membrane, en moyenne la vitesse de polymérisation de la couche est purement radiale (voir fig. II.3) et donnée par

$$v_p = a_m \sin \varphi k_p \quad (\text{II.6})$$

où a_m est la longueur d'un monomère d'actine, de l'ordre de $5nm$, et k_p est le taux de monomères insérés par filaments et par seconde.

Il est difficile d'estimer précisément la valeur de cette vitesse. Le cortex d'actine se renouvelle entièrement en un temps de l'ordre de $\tau_{to} = \frac{e}{v_p}$. Des expériences de FRAP permettent d'évaluer ce temps : la fluorescence est localement éteinte par photoblanchiment, et le temps de retour de la fluorescence correspond au temps de remplacement de l'actine du cortex. On obtient un temps qui est de l'ordre de $40s$ [104]. L'épaisseur e valant environ $0.5\mu m$, on en déduit $v_p \sim 0.012\mu m.s^{-1}$ et donc $k_p \sim 14s^{-1}$ pour $\varphi = 10^\circ$. Cette valeur est dans l'intervalle des taux de polymérisation d'un filament d'actine par les formines ($5-50 \text{ mon.s}^{-1}$ selon les concentrations d'actine et de profiline, [78]).

A.2.2 Dépolymérisation en surface

Le cortex a une épaisseur finie, donc il doit également dépolymériser. Plusieurs mécanismes microscopiques participant à la dépolymérisation peuvent être envisagés :

- En général les filaments dépolymérisent rapidement à leur bout pointu (a un taux de $0.27s^{-1}$, voir chapitre I). Dans le cas des réseaux nucléés par Arp2/3,

le nucléateur stabilise le bout pointu. Dans le cas du cortex on ne connaît pas de protéine remplissant ce rôle. Il est possible qu'une protéine de coiffage (capping protein) recouvre le bout pointu pour éviter la dépolymérisation : la tropomoduline par exemple remplit ce rôle dans les cellules musculaires.

- Les points de réticulation stabilisent le gel (cela doit être vrai en particulier pour les gels formés à partir de Arp2/3 ou le nucléateur est attaché à l'extrémité des filaments), et leur rupture favorise la dépolymérisation.
- Des protéines de segmentation ("severing proteins" telles que ADF-cofiline ou gelsoline) cassent les filaments. L'effet de ces protéines est complexe : d'une part, en cassant le filament elles entraînent la dépolymérisation du bout pointu libéré, tant que celui-ci n'est pas recouvert d'une protéine de coiffage. Mais d'autre part, comme le bout barbé repolymérise également, cela n'entraîne une dépolymérisation nette que si la cinétique de coiffage du bout barbé est bien plus rapide que celle du bout pointu. Enfin en rompant les filaments à plusieurs endroits, elles augmentent la dépolymérisation en éliminant des fragments entiers de la structure du gel.

Pour simplifier nous supposons que ces effets donnent lieu à un seul taux de dépolymérisation macroscopique. Nous commençons par supposer que la dépolymérisation a lieu essentiellement en surface : seule la frontière avec le cytoplasme dépolymérise avec une vitesse v_d . Dans ce cas les équations cinétiques pour les deux frontières de la couche s'écrivent

$$\frac{\partial R}{\partial t} = v_r(R) + v_p \quad (\text{II.7})$$

$$\frac{\partial e}{\partial t} = v_p - v_d + v_r(R) - v_r(R - e) \quad (\text{II.8})$$

Le champ de vitesse d'un gel incompressible doit avoir une divergence nulle $\text{div } \vec{v} = 0$. En symétrie sphérique et pour une couche incompressible, cette équation donne $\partial_r v_r + \frac{2}{r} v_r = 0$ dont la solution est $v_r = \frac{-v_p R^2}{r^2} \simeq -v_p$, de sorte que l'équation pour l'épaisseur s'écrit simplement

$$\frac{de}{dt} = v_p - v_d \quad (\text{II.9})$$

On atteint donc un état stationnaire lorsque les deux vitesses sont égales $v_p = v_d$. Une description semblable a déjà été introduite dans l'analyse de la comète d'actine formée par la bactérie *Listeria* [50], et pour analyser l'épaisseur de gels d'actine formés sur l'extérieur de billes sphériques [107]. Dans ces références les résultats sont analysés en supposant que la vitesse de dépolymérisation dépend exponentiellement des contraintes tangentielles existant dans la couche, ce qui dans la géométrie que nous étudions ici s'écrit

$$v_d = v_d^0 e^{-\frac{(\sigma_{\theta\theta} + P_{int}) + (\sigma_{\phi\phi} + P_{int})}{\sigma_0}} \quad (\text{II.10})$$

où P_{int} est la pression du fluide intracellulaire, de sorte que dans un modèle à 2 fluides $\sigma_{\theta\theta} + P_{int}$ est la contrainte dans le gel uniquement. La forme de la dépendance du taux en la contrainte est déduite du résultat de Kramers [80] montrant que le temps de sortie d'une particule d'un puits de potentiel est modifié d'un facteur $e^{-\frac{W}{kT}}$ lorsqu'un travail W est appliqué au système. Ici nous considérons un point de réticulation du gel, ou un filament devant être cassé par une protéine de segmentation. Dans ce cas le

36 Chapitre II. Le cortex d'actine : régulation de l'épaisseur et instabilités actives

travail appliqué au point de réticulation ou au filament est d'ordre $a_l(\sigma_{tt} + P_{int})\xi^2$ où $\sigma_{tt} + P_{int}$ est la contrainte tangentielle dans le gel, ξ la maille du gel et a_l une distance moléculaire correspondant à la distance de détachement d'un lien ($a_l \sim 2nm$). La contrainte caractéristique σ_0 est donc de l'ordre de

$$\sigma_0 \sim \frac{kT}{a_l \xi^2} \quad (\text{II.11})$$

et pour $\xi \simeq 50nm$ on trouve $\sigma_0 \sim 10^3 Pa$. Nous revenons dans la partie A.5 sur l'effet de cette dépendance dans la couche corticale.

A.2.3 Dépolymérisation en volume

On peut également supposer que la dépolymérisation a lieu en volume. Dans ce cas on doit introduire un taux de dépolymérisation k_d qui correspond au nombre de monomères dépolymérisés par filament et par unité de temps. Pour tenir compte de la dépolymérisation et pour définir la frontière du gel nous devons faire intervenir sa densité ρ . ρ doit satisfaire à l'équation de conservation de la matière

$$\frac{d\rho}{dt} + \partial_z(v_z \rho_g) = k\delta(z) - k_d \rho_g \quad (\text{II.12})$$

où nous utilisons la coordonnée z définie plus tôt, et nous nous restreignons à une dimension. k correspond à la masse d'actine polymérisée par unité de temps et unité de surface de membrane. Si nous appelons $\rho_0 = \rho(z=0)$ la densité d'actine polymérisée par les nucléateurs, fixée par leurs propriétés, k est relié à la vitesse de polymérisation par $k = \rho_0 v_p$. Nous supposons que le gel est incompressible, ce qui s'écrit ici $\partial_z v_z = 0$. Remarquons que cette affirmation n'est pas contradictoire avec le fait que nous considérons des variations de ρ , car la vitesse v désigne la vitesse de l'ensemble à deux fluides (eau+filaments), dont nous supposons la densité totale, différente de ρ , constante. Dans ce cas on a simplement $v_z = v_p$ et à l'état stationnaire ρ doit satisfaire

$$v_p \partial_z \rho + k_d \rho = k\delta(z) \quad (\text{II.13})$$

Si de plus k_d est constant dans la couche (et en particulier ne dépend pas des contraintes appliquées), la densité décroît exponentiellement selon

$$\rho = \rho_0 e^{-\frac{k_d}{v_p} z} \quad (\text{II.14})$$

On peut définir l'espace occupé par le gel comme la région où la densité est supérieure à une densité critique ρ_c . L'épaisseur du gel est alors donnée par $\rho(z=e) = \rho_c$, et donc ici

$$e = \ln\left(\frac{\rho_0}{\rho_c}\right) \frac{v_p}{k_d} \quad (\text{II.15})$$

et en particulier k_d correspond simplement à l'inverse du temps de renouvellement de la couche τ_{to} , soit $k_d \sim \frac{1}{\tau_{to}} \sim 0.025s^{-1}$ pour $\tau_{to} = 40s$.

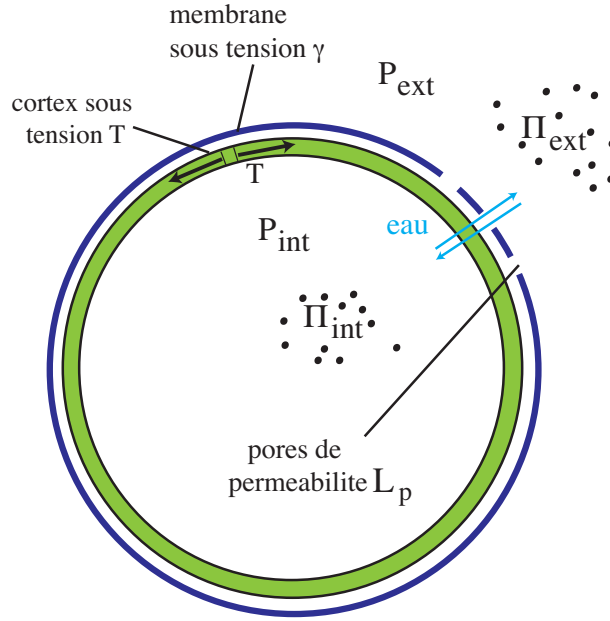


FIG. II.4: Pression hydrostatique et osmotique dans la cellule : le cortex et la membrane sous tension imposent une pression intracellulaire P_{int} . Les milieux intra et extracellulaires ont des osmolarités différentes ce qui donne lieu a une différence de pression osmotique $\Delta\Pi$. En fonction de la différence de pression effective $\Delta P - \Delta\Pi$ un flux d'eau peut traverser la membrane perméable.

A.3 Pression hydrostatique et osmotique

Soient P_{int} et P_{ext} les pressions hydrostatiques intracellulaires et extracellulaires, et Π_{in} et Π_{out} les pressions osmotiques correspondantes (fig. II.4). Le cortex étant considéré comme une couche mince, l'équilibre des forces impose que la différence de pression hydrostatique $\Delta P = P_{int} - P_{ext}$ soit reliée a la tension exercée par le cortex T par la loi de Laplace

$$\Delta P = \frac{2(T + \gamma)}{R} \quad (\text{II.16})$$

où γ est la tension de la bicouche lipidique seule. Plus loin nous déduisons du calcul des contraintes dans la couche la valeur de la tension T , et au chapitre V nous présentons des resultats de mesure expérimentale directe : elle est de l'ordre de $4 \cdot 10^{-4} \text{ N.m}^{-1}$, ce qui pour une cellule d'un rayon de $10 \mu\text{m}$ donne une différence de pression $\Delta P = 80 \text{ Pa}$.

La différence de pression osmotique $\Delta\Pi = \Pi_{in} - \Pi_{ext}$ dépend de la concentration totale en solutés c_t , selon la loi de Van't Hoff

$$\Pi = c_t R T \quad (\text{II.17})$$

Le volume de la cellule peut varier si de l'eau traverse les pores de la membrane cellulaire. Le flux d'eau est alors perpendiculaire à la surface de la membrane et est égal à

$$j = L_p \rho_p (\Delta\Pi - \Delta P) \quad (\text{II.18})$$

38 Chapitre II. Le cortex d'actine : régulation de l'épaisseur et instabilités actives

où L_p est la perméabilité d'un pore, et ρ_p est la densité de pores dans la surface de membrane. La variation de volume est alors donnée par l'intégrale de ce flux sur la surface de la cellule S , soit

$$\frac{dV}{dt} = L_p \rho_p S (\Delta \Pi - \Delta P) \quad (\text{II.19})$$

On peut faire plusieurs remarques à propos de cette équation :

- *Statique* : A l'équilibre on doit avoir

$$\Delta \Pi = \Delta P \quad (\text{II.20})$$

ce qui donne l'équation fixant le volume de la cellule

$$\frac{n_t R T}{V_c} = \Pi_{ext} + \Delta P \quad (\text{II.21})$$

où ΔP dépend du rayon selon la loi de Laplace II.16. L'osmolarité du milieu physiologique dans lequel les cellules vivent est d'ordre 200mM, soit une pression osmotique externe $\Pi_{ext} = 5.10^5 Pa$. Cette pression est largement supérieure à celle imposée par le cortex ($\sim 80 Pa$), et le terme ΔP peut donc être négligé, le volume de la cellule étant entièrement fixé par l'équilibration des pressions osmotiques :

$$\Pi_{int} \simeq \Pi_{ext} \quad (\text{II.22})$$

De plus les variations de pression du cortex ont un effet très faible sur le volume : pour une variation de $\Delta P = 10 Pa$ par exemple le volume varie de $\frac{\Delta P}{\Pi_{in}} = 0.002\%$, soit une variation du rayon de 0.2 nm, imperceptible en réalité.

- *Dynamique* : Pour une cellule sphérique l'éq. II.19 s'écrit

$$\frac{dR}{dt} = L_p \rho_p \left[\frac{n_t R T}{\frac{4}{3} \pi R^3} - \Pi_{ext} - \Delta P \right] \quad (\text{II.23})$$

de sorte que si l'on perturbe Π_{ext} (dans une expérience de choc osmotique) ou ΔP le temps nécessaire pour atteindre l'équilibre est de l'ordre de $\sim \frac{R}{L_p \rho_p \Pi_{int}}$. Les valeurs données dans la littérature indiquent que $L_p \rho_p \simeq 3.6 \cdot 10^{-13} m.s^{-1}.Pa^{-1}$ [40], ce qui donne pour $R = 10 \mu m$ et $\Pi_{int} = 2.10^5 Pa$ un temps d'environ 70s. Ce temps est en effet celui observé dans les expériences de choc osmotique [40]. Le temps d'équilibre du volume cellulaire en réponse à une perturbation du cortex est du même ordre, mais la variation de volume est très faible.

Aux échelles de pression impliquées dans la mécanique du cortex on peut donc considérer que le volume de la cellule est conservé.

A.4 Contraintes dans la couche et tension du cortex

Nous appliquons maintenant la théorie des gels actifs exposée dans le chapitre I au cas de la couche corticale. Dans la symétrie sphérique que nous avons imposée

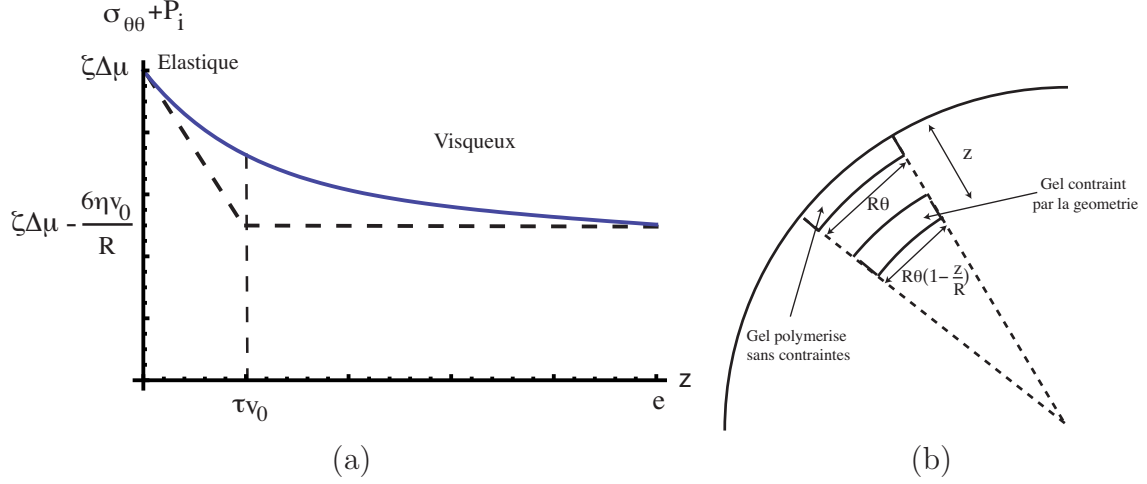


FIG. II.5: (a) Contrainte tangentielle dans la couche : la contrainte est d'abord fixée par la contrainte active $\zeta\Delta\mu$, puis elle décroît du fait de la courbure. (b) Schéma explicitant l'origine de la contrainte viscoélastique : le gel est déformé dans la géométrie courbe où il progresse.

elles s'écrivent

$$\left(1 + \tau \frac{d}{dt} + v_r \frac{d}{dr}\right) \left(\sigma_{rr} + p + \frac{1}{3}\zeta\Delta\mu\right) = 2\eta \partial_r v_r \quad (\text{II.24})$$

$$\left(1 + \tau \frac{d}{dt} + v_r \frac{d}{dr}\right) \left(\sigma_{\theta\theta} + p - \frac{1}{6}\zeta\Delta\mu\right) = 2\eta \frac{v_r}{r} \quad (\text{II.25})$$

$$\left(1 + \tau \frac{d}{dt} + v_r \frac{d}{dr}\right) \left(\sigma_{\phi\phi} + p - \frac{1}{6}\zeta\Delta\mu\right) = 2\eta \frac{v_r}{r} \quad (\text{II.26})$$

où nous avons remplacé Q_{ij} par la valeur donnée par l'éq. II.5. Nous considérons que le gel d'actine est incompressible, c'est-à-dire

$$\partial_r v_r + 2 \frac{v_r}{r} = 0 \quad (\text{II.27})$$

Comme le volume est conservé, en symétrie sphérique le rayon de la cellule est constant ($\frac{dR}{dt} = 0$) et donc l'éq. II.7 donne simplement $v_r(R) = -v_p$ la vitesse de polymérisation. Le champ de vitesse est donc donné par $v_r(r) = -v_p \frac{R^2}{r^2} \simeq -v_p(1 - 2\frac{z}{R})$. L'équilibre radial des forces s'écrit :

$$\partial_r \sigma_{rr} + \frac{1}{r}(2\sigma_{rr} - \sigma_{\theta\theta} - \sigma_{\phi\phi}) = 0 \quad (\text{II.28})$$

En intégrant les éqs. II.24 à II.26 et en utilisant l'équilibre des forces on trouve la valeur de la pression. Pour déterminer complètement les contraintes on utilise alors les conditions aux limites

$$\sigma_{rr}(R) = -P_{ext} - \frac{2\gamma}{R} \quad (\text{II.29})$$

$$\sigma_{rr}(R - e) = -P_{int} \quad (\text{II.30})$$

$$\sigma_{\theta\theta}(R) + P_{int} = 0 \quad (\text{II.31})$$

40 Chapitre II. Le cortex d'actine : régulation de l'épaisseur et instabilités actives

Les deux premières conditions découlent de l'équilibre des forces à l'interface avec la membrane et avec le cytoplasme. La troisième condition à imposer est moins évidente : nous supposons que la couche est polymérisée sans déformation à la membrane, il n'y a donc pas de contrainte élastique tangentielle dans le gel en $r = R$. Dans un modèle à deux fluides la contrainte dans le gel uniquement s'écrit $\sigma_{ij} + P_{int}\delta_{ij}$ où P_{int} est la pression hydrostatique intracellulaire, d'où nous tirons la condition II.31. On obtient alors les contraintes tangentielles, dans la limite $z < e \ll R$ et $\tau v_p \ll R$:

$$\sigma_{\theta\theta} = \sigma_{\phi\phi} = -P_{int} + \frac{\zeta\Delta\mu}{2} \left(1 - 2\frac{z}{R}\right) + \frac{6\eta v_p - \zeta\Delta\mu e}{R} \left(e^{-\frac{z}{\tau v_p}} - 1\right) \quad (\text{II.32})$$

Le profil correspondant est tracé sur la fig. II.5. τv_p est la longueur sur laquelle la couche répond élastiquement aux déformations induites par le treadmilling. Pour $z \ll \tau v_p$ la contrainte tangentielle est simplement

$$\sigma_{\theta\theta} = \frac{\zeta\Delta\mu}{2} - \frac{6Ez}{R} \quad (\text{II.33})$$

où nous avons supposé $\zeta\Delta\mu \ll E$. Le second terme est la contrainte tangentielle en réponse au champ de déformation $\frac{z}{R}$ (fig. II.5(b)). Pour $z \gg \tau v_p$ la couche est visqueuse et la contrainte devient

$$\sigma_{\theta\theta} = \frac{\zeta\Delta\mu}{2} \left(1 + 2\frac{z-e}{R}\right) - \frac{6\eta v_p}{R} \quad (\text{II.34})$$

On peut également déterminer la pression imposée par la couche

$$\Delta P - \frac{2\gamma}{R} = \sigma_{rr}(R) - \sigma_{rr}(R-e) \quad (\text{II.35})$$

$$= \frac{2}{R} \int_0^e (\sigma_{\theta\theta} - \sigma_{rr}) dz \quad (\text{II.36})$$

$$= \frac{2}{R} \left[\gamma + \frac{\zeta\Delta\mu e}{2} - \frac{6\eta v_p e}{R} \left(1 + \frac{\tau v_p}{e} (e^{-\frac{e}{\tau v_p}} - 1)\right) \right] \quad (\text{II.37})$$

où la deuxième ligne découle de l'équilibre des forces II.28. Si on définit T la tension intégrée de la couche, son expression est

$$T = \int_0^e (\sigma_{\theta\theta} - \sigma_{rr}) dz \quad (\text{II.38})$$

$$T = \frac{\zeta\Delta\mu e}{2} - \frac{6\eta v_p e}{R} \left(1 + \frac{\tau v_p}{e} (e^{-\frac{e}{\tau v_p}} - 1)\right) \quad (\text{II.39})$$

qui satisfait à la loi de Laplace $\Delta P = \frac{2T+2\gamma}{R}$ (eq. II.16). La tension donnée par l'éq. II.39 est la somme de deux termes :

- $\frac{\zeta\Delta\mu e}{2}$ est la tension active générée par l'activité des myosines dans la couche. Elle dépend à la fois de la quantité d'actine polymérisée au cortex et de la quantité de myosines actives.
- Le second terme correspond à la tension générée par les contraintes associées à la courbure. Il est toujours négatif : la couche doit en effet être compressée vers un rayon plus petit au cours du treadmilling (fig. II.5(b)), ce qui génère une force tendant à augmenter la surface du cortex, et donc une tension négative.

On peut mesurer la tension de la couche en aspirant la cellule dans une micropipette : une valeur typique est $T = 4.10^{-4} N.m^{-1}$ (voir chapitre V ou la tension cellulaire est mesurée dans différentes conditions). Si on néglige le second terme dans l'éq. II.39, la tension est égale à $\frac{\zeta \Delta \mu e}{2}$. En supposant $e \sim 1 \mu m$, on a donc accès à une mesure de la contrainte active

$$\zeta \Delta \mu \simeq 800 Pa \quad (II.40)$$

Cette valeur est en très bon accord avec l'évaluation de $\zeta \Delta \mu = 10^3 Pa$ obtenue en appliquant le modèle des gels actifs à l'étude du lamellipode [82].

A.5 Régulation de l'épaisseur par le treadmilling

On sait peu de choses sur la façon dont la cellule maintient l'épaisseur du cortex. Des travaux réalisés précédemment au laboratoire sur la croissance de gels d'actine autour d'une bille [107][114] ont mis en valeur certains phénomènes physiques pouvant également jouer un rôle dans la croissance de la couche. En utilisant les mêmes approches, nous discutons ici de différents mécanismes susceptibles de réguler la croissance de la couche, tout en étant conscient qu'à notre connaissance les observations expérimentales ne suffisent pas à apporter de conclusion claire.

A.5.1 Diffusion des monomères d'actine

Pour ajouter de nouveaux monomères d'actine au cortex, les protéines permettant de nucléer et de polymériser les filaments d'actine utilisent les monomères présents à la membrane, ce que nous décrivons simplement par une réaction du premier ordre

$$\frac{dn_{mon}}{dt} = k_p = k_p^c c_{mon}(z=0) \quad (II.41)$$

ou c_{mon} est la concentration en monomères, et n_m est le nombre de monomères insérés par filament (le taux de monomères insérés par filament k_p a été défini dans la section A.2.1). Le flux de monomères ainsi consommés doit être compensé par un flux de diffusion J à travers la couche. La diffusion des monomères est décrite par la loi de Fick

$$\frac{dc_{mon}}{dt} = D \partial_z^2 c_{mon} \quad (II.42)$$

A l'état stationnaire qui nous intéresse ici le profil de concentration est donc linéaire. Comme au bord de la couche on doit avoir $c_{mon}(z=e) = c_{mon}^0$ la concentration cellulaire, le flux de diffusion $J = -D \partial_z c_{mon}$ s'écrit

$$J = -D \frac{c_{mon}^0 - c_{mon}(z=0)}{e} \quad (II.43)$$

Tous les monomères consommés pour la polymérisation doivent provenir du flux de diffusion, ce qui correspond à l'équation de conservation

$$J + \frac{1}{\xi^2} \frac{dn_{mon}}{dt} = 0 \quad (II.44)$$

42 Chapitre II. Le cortex d'actine : régulation de l'épaisseur et instabilités actives

où ξ est la maille du gel, et est aussi approximativement la distance entre nucléateurs. En utilisant l'éq. II.44 ainsi que les éqs. II.41 et II.43 on obtient la concentration de monomères à la membrane

$$c_{mon}(z=0) = \frac{c_{mon}^c}{1 + \frac{k_p^c e}{\xi^2 D}} \quad (\text{II.45})$$

et à l'aide de l'éq. II.6 on trouve la vitesse de polymérisation

$$v_p = k_p^c a_m \sin \varphi \frac{c_{mon}^c}{1 + \frac{k_p^c e}{\xi^2 D}} \quad (\text{II.46})$$

$$= \frac{v_p^0}{1 + \frac{e}{e_a}} \quad (\text{II.47})$$

où la deuxième ligne résulte de la définition de $v_p^0 = a_m \sin \varphi k_p^c c_{mon}^0$, la vitesse de polymérisation à épaisseur nulle, et de $e_a = \frac{\xi^2 D}{k_p^c}$, qui est la longueur caractéristique du processus de diffusion. Dans un modèle de dépolymérisation en surface où $\frac{de}{dt} = v_p - v_d$ la cinétique de la couche est donnée par l'équation

$$\frac{de}{dt} = \frac{v_p^0}{1 + \frac{e}{e_a}} - v_d \quad (\text{II.48})$$

Physiquement lorsque la couche croît, les monomères mettent plus de temps à la traverser, la polymérisation est ralentie et l'épaisseur diminue. Il est clair que ce mécanisme de régulation permet d'atteindre une valeur stationnaire stable :

$$e = e_a \left(\frac{v_p^0}{v_d} - 1 \right) \quad (\text{II.49})$$

L'épaisseur est donc essentiellement fixée par la longueur e_a , que nous essayons maintenant d'évaluer. La maille du gel ξ est de l'ordre de $50nm$ et le coefficient de diffusion $D = 2.10^{-12}m^2.s^{-1}$, estimé dans le cas d'un gel sur une bille [114]. La valeur de k_p^c est plus délicate à estimer : pour un filament d'actine seul, le taux de polymérisation au bout barbé est in vitro $11.6\mu M.s^{-1}$ (voir table A.1.1), ce qui donne une valeur plausible $e_a = 250nm$; cependant ce taux est probablement très différent in vivo où, comme nous l'avons présenté dans l'introduction, de nombreuses protéines régulent la polymérisation. Dans la section A.2.1 nous avons estimé $k_p = 14s^{-1}$ à partir d'une vitesse de polymérisation $v_p \sim 0.012\mu m.s^{-1}$: pour une concentration cellulaire d'actine monomérique de $10\mu M$ cela donne $k_p^c = 0.14\mu M^{-1}.s^{-1}$ et une longueur $e_a = 21\mu m$, beaucoup trop élevée. Ce calcul ne tient cependant pas compte de ce qu'une grande partie de l'actine monomérique est séquestrée, ce qui pourrait réduire la concentration effective d'actine : si celle-ci atteint une valeur de $1\mu M$ par exemple, on revient à une valeur pertinente $e_a = 2.1\mu m$.

A.5.2 Dépendance de la dépolymérisation en fonction de la contrainte

Une seconde possibilité est que la contrainte dans le gel influence le taux de dépolymérisation et détermine ainsi l'épaisseur du cortex. On considère que la dépolymérisation augmente exponentiellement avec la contrainte tangentielle (eq. II.10)

et en tenant compte de cet effet l'équation cinétique s'écrit

$$\frac{de}{dt} = v_p - v_d^0 e^{\frac{2(\sigma_{\theta\theta} + P_{int})}{\sigma_0}} \quad (\text{II.50})$$

où nous avons utilisé pour simplifier $\sigma_{\phi\phi} = \sigma_{\theta\theta}$ en symétrie sphérique. Supposons que la valeur stationnaire de l'épaisseur soit fixée par l'éq. II.50, alors si on la perturbe autour de cette valeur stationnaire

$$\frac{d\delta e}{dt} = -k_d \frac{d(\sigma_{\theta\theta} + P_{int})}{dz}(e) \delta e \quad (\text{II.51})$$

Sur la fig. II.5(a) nous avons tracé l'allure de la contrainte tangentielle dans le gel $\sigma_{\theta\theta} + P_{int}$: on voit qu'elle décroît avec l'épaisseur. Ceci est dû au fait que dans la géométrie courbe où le cortex progresse, le gel est comprimé car il doit s'adapter à un rayon plus faible. La contrainte élastique ainsi créée s'oppose à la tension exercée par les myosines (eq. II.32). On a donc $\frac{d(\sigma_{\theta\theta} + \sigma_{\phi\phi})}{dz}(e) < 0$ et l'éq. II.51 est toujours instable autour de la valeur stationnaire admise par l'éq. II.50 : l'épaisseur ne peut pas être fixée uniquement par ce mécanisme.

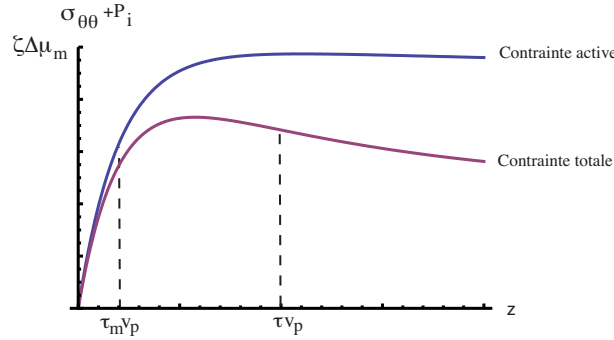


FIG. II.6: Contrainte dans la couche en tenant compte de la cinétique d'accrochage des myosines : la contrainte active s'établit sur une longueur $\tau_m v_p$. Courbe bleue : contrainte active, courbe rouge : contrainte totale en incluant les effets viscoélastiques.

Une autre possibilité considérée dans la ref. [72] est que la contrainte active augmente avec l'épaisseur (jusqu'ici nous avons supposé qu'elle était homogène dans le gel). Cela se produit si les myosines sont fortement accrochées aux filaments, et donc s'accumulent sur un morceau de gel au fur et à mesure de son éloignement de la membrane. Lorsque la contrainte ainsi créée devient trop grande et atteint le seuil σ_0 (eq. II.10) le gel est dépolymérisé. Précisons cela mathématiquement : les myosines s'accrochent et se décrochent du gel, et les myosines accrochées sont entraînées par le cortex avec une vitesse v_p , elles satisfont donc à l'équation de conservation

$$\frac{\partial c_m^a}{\partial t} + v_p \partial_z c_m^a = k_{on} c_m^d - k_{of} c_m^a \quad (\text{II.52})$$

où c_m^d est la concentration en myosines libres et c_m^a la concentration en myosines attachées. Si les myosines libres diffusent suffisamment rapidement, la concentration

44 Chapitre II. Le cortex d'actine : régulation de l'épaisseur et instabilités actives

libre est constante : $c_m^d = c_m^0$, ou c_m^0 est la concentration dans le cytoplasme. Dans ce cas la concentration en myosines attachées à l'état stationnaire est donnée par

$$c_m^a = c_m^0 \left(1 - e^{-\frac{k_{off}}{v_p} z} \right) \quad (\text{II.53})$$

Nous supposons de façon naïve que la contrainte active est proportionnelle à la concentration en myosines attachées $\zeta \Delta\mu = \zeta_0 \Delta\mu c_m^a$. Dans ce cas le profil d'activité suit le profil de concentration II.53 et sature exponentiellement

$$\zeta \Delta\mu(z) = \zeta \Delta\mu_m \left(1 - e^{-\frac{z}{\tau_m v_p}} \right) \quad (\text{II.54})$$

où $\zeta \Delta\mu_m = \zeta_0 \Delta\mu c_m^0$ est l'activité maximale, et nous avons défini le temps typique de décrochage des myosines τ_m . La contrainte totale $\sigma_{\theta\theta} + P_{int}$ augmente donc sur une longueur $\tau_m v_p$, puis décroît à cause des effets de courbure (fig. II.6). Supposons qu'on néglige ces derniers : dans ce cas $\sigma_{\theta\theta} + P_{int} = \frac{\zeta \Delta\mu_m}{2} \left(1 - e^{-\frac{z}{\tau_m v_p}} \right)$ et l'équation cinétique II.50 admet une solution stationnaire

$$e = -\tau_m v_p \ln \left(1 - \frac{\sigma_0}{\zeta \Delta\mu_m} \ln \frac{v_p}{v_d^0} \right) \quad (\text{II.55})$$

qui n'existe que pour $v_p < v_d e^{\frac{\zeta \Delta\mu_m}{\sigma_0}}$: sinon le taux de dépolymérisation n'est jamais assez grand pour compenser la polymérisation et la couche croît infiniment. Cette solution est stable car $\frac{d\sigma_{\theta\theta} + P_{int}}{dz} > 0$ (voir éq. II.51). Elle est essentiellement fixée, à un terme logarithmique d'ordre 1 près, par la distance $\tau_m v_p$.

Ce mécanisme est peut-être dominant dans certains cas mais ne semble pas correspondre aux mesures de FRAP ou FLIP réalisées sur les myosines du cortex dans la réf. [157], dans des cellules en interphase ou en division. L'auteur mesure un demi-temps de retour $t_{\frac{1}{2}} = 7s$, qui peut être comparé au demi-temps de retour typique de la fluorescence de l'actine $t_{\frac{1}{2}} = 40s$ [104]. Le temps est le même pour des mesures de FRAP, ou on éteint la fluorescence d'une partie du cortex, et pour des mesures de FLIP, ou on éteint toute la fluorescence sauf dans une partie du cortex. Cela indique que les myosines s'échangent dans le gel en un temps plus rapide que le temps typique de treadmilling, soit $e \gg \tau_m v_p$.

A.5.3 Dépolymérisation en volume

Une possibilité alternative que nous avons déjà évoquée dans la partie A.2.2 est que la dépolymérisation ne soit pas localisée sur la surface, mais ait lieu dans tout le gel. Nous rappelons l'équation de conservation du gel

$$\frac{d\rho}{dt} + v_p \partial_z \rho = -k_d \rho \quad (\text{II.56})$$

qui admet, si k_d est constant, la solution stationnaire $\rho = \rho_0 e^{-\frac{k_d}{v_p} z}$. Dans la partie A.2.2, nous avons défini la densité critique ρ_c en dessous de laquelle on considère

que le gel est détruit. L'épaisseur doit alors satisfaire $\rho(e) = \rho_c$, ce qui donne en l'absence de dépendance à la contrainte

$$e^0 = e^* \ln \frac{\rho_0}{\rho_c} \quad (\text{II.57})$$

où nous avons défini $e^* = \frac{v_p}{k_d}$ la longueur caractéristique de décroissance de la densité et e^0 est l'épaisseur du gel dans la limite où la dépolymérisation ne dépend pas de la contrainte. On obtient donc une épaisseur qui dépend intrinsèquement du processus de polymérisation et de dépolymérisation.

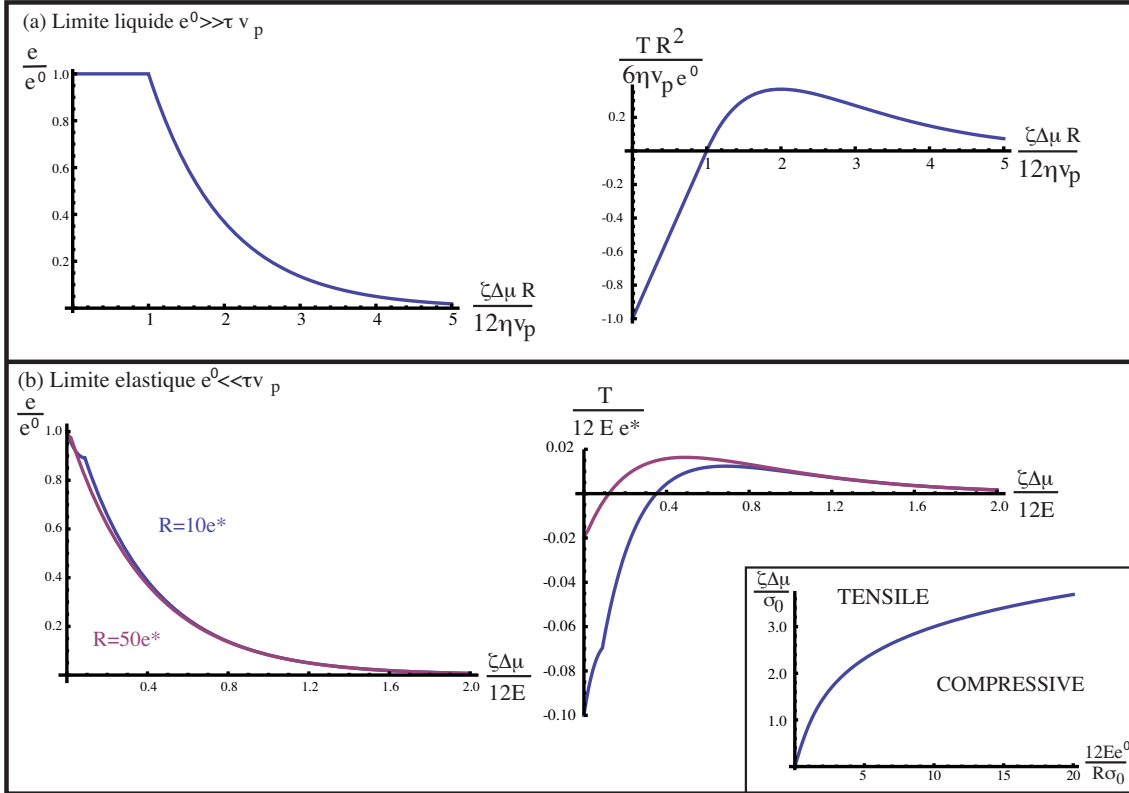


FIG. II.7: Epaisseur et tension du cortex en fonction de l'activité, dans un modèle de dépolymérisation en volume où le taux de dépolymérisation dépend de la contrainte tangentielle. (a) limite liquide, (b) limite visqueuse. Encart : régions de tension positive et négative en fonction des paramètres $\frac{\zeta \Delta \mu}{\sigma_0}$ et $\frac{12 E e^0}{R \sigma_0}$

Supposons maintenant que le taux de dépolymérisation dépend de la contrainte selon

$$k_d = k_d^0 \exp \left(2 \frac{\sigma_{\theta\theta} + P_{int}}{\sigma_0} H(\sigma_{\theta\theta} + P_{int}) \right) \quad (\text{II.58})$$

où H désigne la fonction de Heaviside, $H(x) = 1$ pour $x > 0$ et $H(x) = 0$ pour $x < 0$. Nous avons modifié l'éq. II.10, en supposant que seules les contraintes positives, associées à une tension dans le gel, agissent sur la dépolymérisation. En effet les contraintes compressives pourraient défavoriser la dépolymérisation (en comprimant les filaments, ce qui augmente le travail nécessaire pour les rompre), comme

46 Chapitre II. Le cortex d'actine : régulation de l'épaisseur et instabilités actives

la favoriser (en déstabilisant les points de réticulation, ou en induisant le flambage des filaments). Ce point étant difficile à prévoir nous supposons ici qu'elles sont sans effet. Le profil stationnaire de densité devient alors $\rho = \rho_0 \exp\left(-\int_0^z \frac{k_d(z')}{v_p} dz'\right)$ et l'épaisseur est donc fixée par l'équation

$$\int_0^e \exp\left(2 \frac{\sigma_{\theta\theta} + P_{int}}{\sigma_0} H(\sigma_{\theta\theta} + P_{int})\right) dz = e^0 \quad (\text{II.59})$$

où $\sigma_{\theta\theta} + P_{int}$ est donné par l'éq. II.32, et e^0 est l'épaisseur à $\sigma_0 \rightarrow \infty$, donné par l'éq. II.57. Pour résoudre cette équation nous séparons la limite liquide ($e^0 \gg \tau v_p$) de la limite élastique ($e^0 < \tau v_p$). Dans la limite liquide l'épaisseur est donnée par

$$\zeta \Delta\mu < \frac{12\eta v_p}{R} \quad e = e^0 \quad (\text{II.60})$$

$$\zeta \Delta\mu > \frac{12\eta v_p}{R} \quad e = e^0 \exp\left(-\frac{1}{\sigma_0} \left(\zeta \Delta\mu - \frac{12\eta v_p}{R}\right)\right) \quad (\text{II.61})$$

et dans la limite élastique

$$\zeta \Delta\mu < \sigma_0 \ln\left(1 + \frac{12Ee^0}{R\sigma_0}\right) \quad e = R \frac{\zeta \Delta\mu - \sigma_0}{12E} + \left(\frac{R\sigma_0}{12E} + e^0\right) e^{-\frac{\zeta \Delta\mu}{\sigma_0}} \quad (\text{II.62})$$

$$\zeta \Delta\mu > \sigma_0 \ln\left(1 + \frac{12Ee^0}{R\sigma_0}\right) \quad e = -\frac{R\sigma_0}{12E} \ln\left(1 - \frac{12Ee^0}{R\sigma_0} e^{-\frac{\zeta \Delta\mu}{\sigma_0}}\right) \quad (\text{II.63})$$

Les solutions correspondantes sont tracées sur la fig. II.7, en fonction de $\zeta \Delta\mu$ et pour différentes valeurs de R : l'épaisseur décroît en général avec l'activité. En conséquence, la tension totale de la couche (eq. II.39, fig. II.7) décroît avec l'activité lorsque le taux de dépolymérisation devient trop élevé. En outre la tension peut être positive ou négative, selon que la contrainte active ou la contrainte viscoélastique domine. La tension devient positive au-delà d'une activité critique

$$\zeta \Delta\mu > \frac{12\eta v_p}{R} \quad (\text{II.64})$$

$$\zeta \Delta\mu > -\sigma_0 \ln\left(-\frac{6Ee^*}{R\sigma_0} + \sqrt{1 + \left(\frac{6Ee^0}{R\sigma_0}\right)^2}\right) \quad (\text{II.65})$$

respectivement dans la limite liquide et élastique. Remarquons finalement que pour une couche plane l'épaisseur est simplement fixée par

$$e = e^0 \exp\left(-\frac{\zeta \Delta\mu}{\sigma_0}\right) \quad (\text{II.66})$$

et elle décroît donc exponentiellement avec la contrainte active.

Quelques observations expérimentales vont dans le sens des résultats obtenus avec ce modèle :

- Lorsque le volume de différentes cellules est modifié par un choc osmotique, l'épaisseur du cortex diminue lorsque la cellule gonfle et croît quand son volume se réduit. [111] C'est également ce que nous obtenons : quand R croît,

les contraintes compressives sont moins importantes, la dépolymérisation augmente et l'épaisseur diminue. Il n'est pas évident cependant que cet effet soit purement physique : de nombreuses cascades de régulation sont déclenchées par un choc osmotique [112].

- Les auteurs de la ref. [54] montrent qu'en ajoutant de la blebbistatine, une drogue inhibitrice de la myosine, à une cellule en division, ils arrêtent la contraction de l'anneau de division, et observent également une accumulation anormale de filaments dans l'anneau. Dans notre description cela correspond à une augmentation de l'épaisseur. Le graphe de la fig. II.7 montre qu'on s'attend en effet à ce que l'épaisseur augmente lorsque $\zeta\Delta\mu$ diminue, puisque le taux de dépolymérisation est moins important.

B Instabilités induites par les myosines : formation de trous

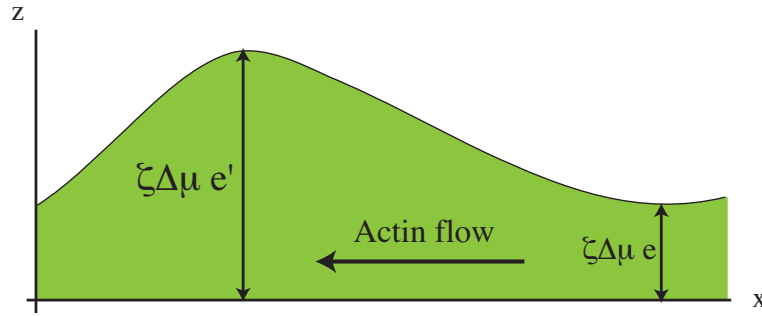


FIG. II.8: Mécanisme de l'instabilité active : la tension étant proportionnelle à l'épaisseur, dans un modèle liquide les filaments se dirigent vers les régions de plus grande épaisseur.

Nous avons étudié jusqu'ici la croissance du cortex qui est un problème à une dimension. Si on s'intéresse aux directions tangentes au plan de la couche, on s'attend à ce que les myosines introduisent des instabilités dans le gel. En effet, physiquement, si la surface de la couche est localement perturbée (voir fig. II.8) de façon à ce que l'épaisseur augmente, la tension $T = \frac{\zeta\Delta\mu e}{2}$ augmente localement. De ce fait un gradient de tension apparaît dans la couche qui tend dans la limite visqueuse à faire couler le gel dans la région de plus grande tension, et la perturbation est amplifiée. On a donc le mécanisme d'une instabilité qui s'apparente à l'effet Marangoni (voir par exemple [32]), mais pour un système actif pour lequel il n'y a pas de tension de surface. Nous supposons ici que $\zeta\Delta\mu$ est constant dans la couche, c'est-à-dire que les myosines se répartissent de façon homogène dans la couche. Cette hypothèse est justifiée à condition que le renouvellement des myosines dans la couche soit suffisamment rapide (voir section A.5.2).

On s'attend également à ce que l'existence du phénomène de treadmilling dans la couche compense cet effet : le gel tant constamment polymérisé et dépolymérisé, les filaments apportés en excès par les myosines sont détruits et remplacés par ceux

qui sont polymérisés à la membrane. Nous montrons dans cette section que, en effet, l'apparition de l'instabilité dépend du rapport entre le temps typique de déplacement des filaments sous l'effet des myosines $\frac{\eta}{\zeta\Delta\mu}$ et le temps de renouvellement de la couche $\frac{e}{v_p}$.

Nous nous restreignons à une étude au premier ordre dans la déformation du profil de la couche $\delta e(x)$. Nous ne pouvons donc prédire complètement l'évolution de cette instabilité. Il est possible qu'elle se développe jusqu'à aboutir à la formation de trous dans la couche, ce qui est observé dans le mécanisme d'oscillation de Paluch & Al [110]. Nous proposons également qu'elle puisse conduire à la formation de blebs, la membrane étant davantage susceptible de se détacher du cortex dans les régions où celui-ci s'affine.

Dans cette section nous précisons ces quelques idées à partir d'un modèle simple de couche plane à deux dimensions.

B.1 Instabilité dans une couche en l'absence de treadmilling

B.1.1 Modèle

Geometrie

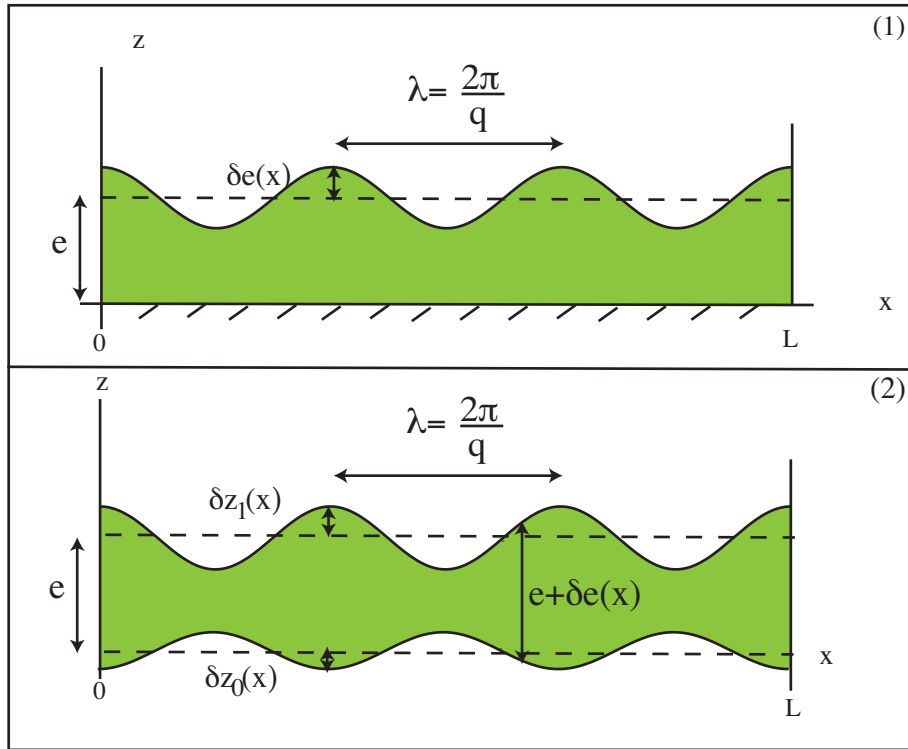


FIG. II.9: Perturbation de la surface de la couche par une fonction sinusoïdale (a) la couche repose sur une surface solide, (b) les deux surfaces sont libres

Nous commençons par le problème le plus simple d'une couche d'actine qui n'est ni polymérisée, ni dépolymérisée, mais qui est soumise au champ actif uniforme $\zeta\Delta\mu$. Nous supposons cependant que les filaments sont connectés à une membrane.

La couche a une épaisseur e petite devant les grandeurs transversales, le long de l'axe x (voir fig. II.9). Nous appliquons des conditions aux bords périodiques selon x . Notre modèle s'apparente donc à un cortex placé sur un cylindre, pour lequel nous négligeons les effets associés à la courbure R .

Nous envisageons deux situations possibles (fig. II.9) :

- (1)- “Membrane solide” : la membrane ne peut pas se déformer. Seule l'épaisseur du gel e peut varier.
- (2) - “Membrane flexible” : la membrane se déforme aussi, il y a alors deux coordonnées pour décrire les frontières du gel : la position de la membrane $z_0(x)$ et la deuxième interface du cortex $z_1(x)$. Dans ce cas l'épaisseur est donnée par $e(x) = z_1(x) - z_0(x)$.

Nous choisissons un état de référence pour lequel z_0 et z_1 sont uniformes, et nous perturbons alors l'une ou les deux surfaces du gel avec une sinusoïde de vecteur d'onde q :

$$z_0 = 0 + \delta z_0 e^{iqx} \quad (\text{II.67})$$

$$z_1 = e + \delta z_1 e^{iqx} \quad (\text{II.68})$$

Les frontières du gel sont définies géométriquement par $z = z_0(x, t)$ et $z = z_1(x, t)$. En dérivant ces relations par rapport au temps on obtient les deux équations cinétiques

$$\frac{dz_0}{dt} = v_z(x, z_0) - \partial_x z_0 v_x(x, z_0) \quad (\text{II.69})$$

$$\frac{dz_1}{dt} = v_z(x, z_1) - \partial_x z_1 v_x(x, z_1) \quad (\text{II.70})$$

qui s'écrivent simplement au 1er ordre de la perturbation

$$\frac{d\delta z_0}{dt} = \delta v_z(x, e) \quad (\text{II.71})$$

$$\frac{d\delta z_1}{dt} = \delta v_z(x, 0) \quad (\text{II.72})$$

Friction entre le cortex et la membrane

Dans cette partie nous essayons de calculer la friction ζ qui existe lorsqu'une vitesse relative apparaît entre la membrane lipidique et le cortex. Nous envisageons deux sources de dissipation entraînées par cette vitesse relative (voir fig. II.10) :

- On peut raisonnablement supposer que le cortex entraîne avec lui le solvant (ici le cytosol), du fait de la friction hydrodynamique entre celui-ci et les filaments. Si le flux de lipides ne va pas à la même vitesse que le cortex, cela entraîne un flux de cisaillement pour le cytosol sur la distance séparant le cortex de la membrane, qu'on suppose être de l'ordre de la maille du gel ξ . A ce flux est donc associé une contrainte $\sigma_{xz} = \frac{\eta_{cyt}}{\xi} v_x$, où η_{cyt} est la viscosité du cytosol fluide, de l'ordre de 5 fois celle de l'eau [140]. Avec $\xi \simeq 50nm$ on trouve un coefficient de friction $\frac{\eta_{cyt}}{\xi} \sim 10^5 Pa.s.m^{-1}$.
- Les filaments du cortex sont attachés à des protéines qui elles-mêmes sont encastrées dans la membrane lipidique. Le déplacement des filaments entraîne

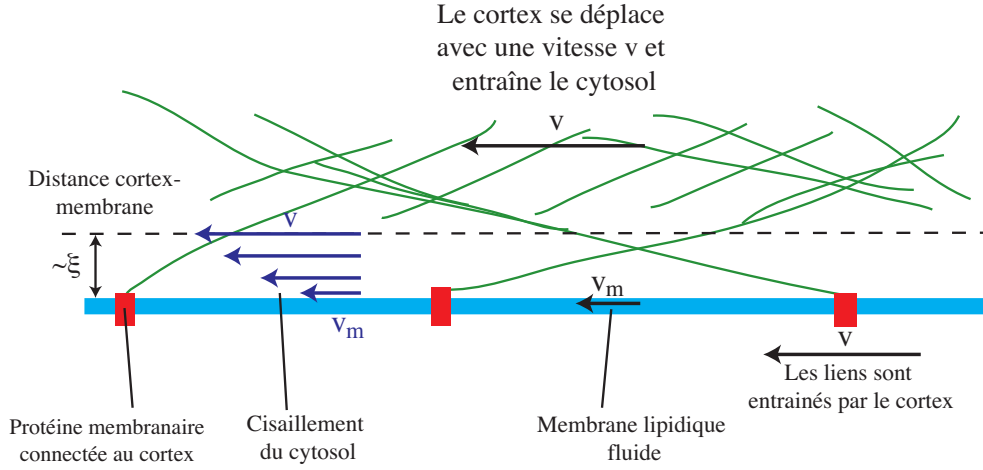


FIG. II.10: Schéma illustrant les possibles sources de friction entre le cortex et la membrane.

donc un flux de protéines à travers la bicouche lipidique (fig. II.10). La bicouche pouvant être assimilée à un fluide visqueux, ce flux peut s'accompagner d'un coût de perméation. Ce mécanisme est celui proposé par F. Brochard & Al. pour expliquer les relations force-vitesse observées dans l'extraction de tubes de membrane depuis des cellules [16]. Les deux problèmes sont similaires puisque dans le cas de l'extraction d'un tube, un flux de lipides coule à travers les protéines transmembranaires reliées au cortex pour répondre à l'aspiration initiée par l'extraction du tube. Ici le problème est inverse, les protéines se déplaçant dans la bicouche. Les auteurs de la ref. [16] distinguent 3 régimes possibles :

- Aux vitesses très lentes $v < v_1$ ou $v_1 \sim 0.01 \mu m.s^{-1}$ est la vitesse de dissociation spontanée des liens, les protéines attachées au cortex se détachent trop rapidement pour être entraînées. Nous considérons qu'il n'y a pas de friction dans ce régime.
- Aux vitesses intermédiaires $v_1 < v < v_2$, les liens sont entraînés par les filaments, ce qui crée une contrainte de perméation αv , où α est un coefficient de perméation donné par

$$\alpha = \frac{4\pi\eta_m}{\xi^2 \ln \frac{\xi}{b}} \quad (II.73)$$

où η_m est la viscosité de la bicouche lipidique, ξ est la distance entre liens que nous supposons égale à la maille du gel et b est le rayon d'un lien. Pour $\eta_b = 10^{-8} Pa.s.m$ [38], $\xi \sim 50nm$ et $b \sim 1nm$ on trouve $\alpha = 2.10^7 Pa.s.m^{-1}$.

- Aux grandes vitesses $v > v_2$ les filaments vont suffisamment vite pour que les liens se détachent. La force critique de détachement dépend de la vitesse imposée selon $f^* = \frac{k_B T}{a} \ln \frac{v}{v_1}$ où $a \sim 1nm$ est la longueur de détachement du lien [41]. La force de friction subie par un lien vaut environ $\eta_m v$, de sorte que le détachement se produit pour la vitesse critique v_2 qui satisfait $\eta_m v = f^*$,

soit pour

$$\eta_m v_2 = \frac{k_B T}{a} \ln \frac{v_2}{v_1} \quad (\text{II.74})$$

ce qui donne $v_2 \simeq 30 \mu m.s^{-1}$. Cette vitesse est largement supérieure à celle induite par les flux corticaux (le cortex devrait faire le tour de la cellule en une seconde). Ce régime n'est donc jamais atteint dans notre problème.

En revanche selon les vitesses atteintes on pourrait se trouver dans le premier ou le deuxième régime, et la friction due à la perméation des liens pourrait contribuer ou non.

Physiquement, les flux de filaments dans le cortex entraînent les lipides membranaires. Les deux vitesses ne sont toutefois pas toujours égales car l'incompressibilité de la bicouche lipidique interdit certains flux. C'est de la vitesse relative entre les lipides et le cortex que naît la force de friction sur le cortex. Pour connaître la friction exercée sur le cortex, il faut donc calculer la vitesse dans la membrane. Précisons cela mathématiquement, dans une situation plane à deux dimensions. $v_x(z=0)$ et $v_y(z=0)$ sont les composantes de la vitesse du cortex à la membrane (en réalité à une distance $\sim \xi$ de la membrane), et soient w_x et w_y les composantes de la vitesse de la membrane lipidique. Nous considérons la bicouche incompressible, ce qui s'écrit

$$\partial_x w_x + \partial_y w_y = 0 \quad (\text{II.75})$$

La membrane étant faiblement visqueuse, nous négligeons sa viscosité propre η_m : la tension de la membrane γ est donc isotrope. L'équilibre des forces pour la membrane s'écrit alors

$$\partial_x \gamma = -\sigma_{xz}^f + \alpha (w_x - v_x(z=0)) \quad (\text{II.76})$$

$$\partial_y \gamma = -\sigma_{yz}^f + \alpha (w_y - v_y(z=0)) \quad (\text{II.77})$$

où σ^f est le tenseur des contraintes du cytosol fluide, et α a été défini plus haut. Dans notre problème de cisaillement simple on a

$$\sigma_{xz}^f = \frac{\eta_f}{\xi} (v_x(z=0) - w_x) \quad (\text{II.78})$$

$$\sigma_{yz}^f = \frac{\eta_f}{\xi} (v_y(z=0) - w_y) \quad (\text{II.79})$$

où η_f est la viscosité du cytosol. On a donc pour la membrane

$$\partial_x \gamma = \left(\frac{\eta_f}{\xi} + \alpha \right) (w_x - v_x(z=0)) \quad (\text{II.80})$$

$$\partial_y \gamma = \left(\frac{\eta_f}{\xi} + \alpha \right) (w_y - v_y(z=0)) \quad (\text{II.81})$$

En combinant les éqs. II.80 et II.81 pour éliminer γ puis en utilisant l'équation d'incompressibilité II.75 on obtient

$$(\partial_x^2 + \partial_y^2) w_x = (\partial_x^2 + \partial_y^2) v_x(z=0) - \partial_x (\partial_x v_x(z=0) + \partial_y v_y(z=0)) \quad (\text{II.82})$$

$$(\partial_x^2 + \partial_y^2) w_y = (\partial_x^2 + \partial_y^2) v_y(z=0) - \partial_y (\partial_x v_x(z=0) + \partial_y v_y(z=0)) \quad (\text{II.83})$$

52 Chapitre II. Le cortex d'actine : régulation de l'épaisseur et instabilités actives

et la contrainte tangentielle pour le cortex s'écrit :

$$\sigma_{xz}(z=0) = \zeta(v_x(z=0) - w_x) \quad (\text{II.84})$$

$$\sigma_{yz}(z=0) = \zeta(v_y(z=0) - w_y) \quad (\text{II.85})$$

où $\zeta = \frac{\eta_f}{\xi^2} + \alpha$ est un coefficient de friction effectif qui, selon les remarques que nous avons faites précédemment, dépend de la vitesse relative entre le cortex et la membrane : pour $v < 0.01\mu m.s^{-1}$ seule la friction du cytosol compte et $\zeta \simeq 10^5 Pa.s.m^{-1}$, pour $v > 0.01\mu m.s^{-1}$ le travail de perméation des liens contribue et $\zeta \sim 2.10^7 Pa.s.m^{-1}$.

Les éqs. II.82 et II.83 relient la vitesse de la membrane à la vitesse du cortex, et on peut les résoudre en w une fois connues les conditions aux bords en x et y . Les éqs. II.84 et II.85 fixent alors la friction exercée en retour sur le cortex. On voit que, comme nous l'avons annoncé, la friction existe parce que la membrane est incompressible : en particulier elle s'annule pour les flux qui satisfont $\partial_x v_x(z=0) + \partial_y v_y(z=0) = 0$, pour lesquels la membrane a la même vitesse que le cortex. Ces flux ne modifient pas non plus l'épaisseur du cortex et ne sont donc pas importants pour le problème d'instabilité de l'épaisseur que nous étudions.

Dans le cas où seule une dimension transversale est considérée, la vitesse de la membrane est nulle : en effet l'éq. II.75 se réduit dans ce cas à $\partial_x w_x = 0$. L'équation à la limite pour le cortex prend alors la forme la plus classique

$$\sigma_{xz}(z=0) = \zeta v_x(z=0) \quad (\text{II.86})$$

Enfin remarquons que la membrane cellulaire contient également des réservoirs de lipides [122] qui pourraient contribuer des termes sources dans l'éq. II.75. Nous considérons en particulier leur rôle dans la formation d'un bleb dans le chapitre V. Ici nous considérons que la perturbation de la tension induite par le cortex dans la membrane est trop faible pour entraîner leur ouverture. En effet on peut estimer l'amplitude de la variation de tension à partir de l'éq. II.80, qui donnerait $\Delta\gamma \sim R\zeta v^c$ ou R est le rayon de la cellule. Avec $R \sim 10\mu m$, $\zeta \sim 10^7 Pa.s.m^{-1}$ et $v^c \sim 0.01\mu m.s^{-1}$ une vitesse typique du cortex, on trouve $\Delta\gamma \sim 10^{-6} N.m^{-1}$, qu'on peut comparer à la tension de la bicouche mesurée par aspiration de micropipette (chapitre V) ou extraction de tube de membrane [30] et qui est d'ordre $\gamma \sim 3.10^{-5} N.m^{-1}$.

Nous négligeons la friction se produisant sur la frontière entre le cortex et le cytoplasme, qui pourrait être induite par la viscosité du cytosol fluide. Celle-ci est en effet d'ordre $\sigma \sim \eta_{cyt} \frac{v}{R}$ où v est la vitesse du cortex, ce qui est négligeable en comparaison de la friction sur la membrane (eq. II.84), car on a $R \gg \xi$.

Orientation des filaments

Comme dans la partie A, nous supposons que les filaments restent quasiment parallèles à la membrane, et qu'ils sont orientés isotropiquement dans le plan de la membrane. La membrane pouvant ici être déformée, nous devons préciser la valeur du tenseur nématique correspondant, dans les coordonnées à deux dimensions que nous utilisons ici. Dans l'espace (x,y,z) et au premier ordre dans la perturbation du

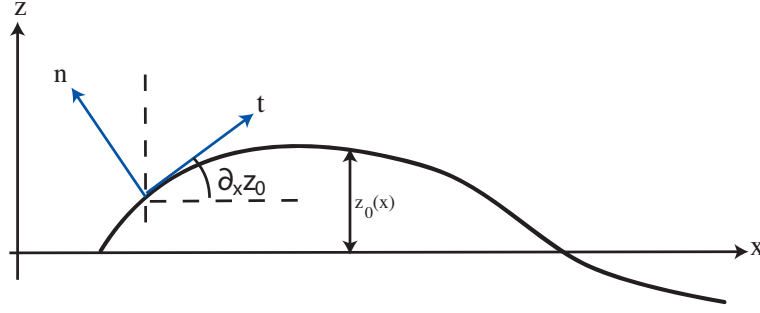


FIG. II.11: Vecteurs normaux et tangents au profil perturbé de la couche

profil de la membrane $z_0(x,y)$, le vecteur tangent t s'écrit (voir fig.II.11)

$$t = \begin{pmatrix} 1 \\ \partial_x z_0 \end{pmatrix} \quad (\text{II.87})$$

Le vecteur unitaire p dirigeant un filament est égal au vecteur local t , et donc en utilisant $Q_{ij} = \langle p_i p_j - \frac{1}{3} \delta_{ij} \rangle$ on obtient

$$Q_{ij} = \begin{pmatrix} \frac{1}{2} & \partial_x z_0 \\ \partial_x z_0 & -\frac{1}{2} \end{pmatrix} \quad (\text{II.88})$$

qui est la forme pour une membrane perturbée et à deux dimensions de l'éq. II.5. On utilise ce tenseur pour obtenir les contraintes actives dans les équations constitutives (voir chapitre I, équation I.36).

On pourrait aussi supposer que les filaments gardent leur direction initiale le long de l'axe x , ce qui revient à enlever les termes non diagonaux dans la matrice II.88. En faisant le même calcul avec cette hypothèse on voit que le résultat final, où nous prenons la limite des grandes longueurs d'onde, est en fait indépendant de ce choix.

Conditions aux limites

Les conditions aux limites pour ce problème s'écrivent donc selon les situations (1) ou (2) que nous considérons

$$(1) \sigma_{nn}(x,0) = 0 \quad \text{ou} \quad (2) v_z(x,0) = 0 \quad (\text{II.89})$$

$$\sigma_{nn}(x,e) = 0 \quad (\text{II.90})$$

$$\sigma_{tn}(x,0) = \zeta v_{//}(x,0) \quad (\text{II.91})$$

$$\sigma_{tn}(x,e) = 0 \quad (\text{II.92})$$

où t et n désignent les directions localement parallèles et normales à la surface du gel. Les vecteurs directeurs correspondants sont respectivement $t = \begin{pmatrix} 1 \\ \partial_x \delta z_i \end{pmatrix}$ et $n = \begin{pmatrix} -\partial_x \delta z_i \\ 1 \end{pmatrix}$ à l'ordre le plus bas dans la perturbation de la surface δz_i

54 Chapitre II. Le cortex d'actine : régulation de l'épaisseur et instabilités actives

(fig.II.11). En réexprimant les contraintes de la base (x, z) vers la base (n, t) , on obtient les relations $\sigma_{nn} = \sigma_{xx}$ et $\sigma_{nt} = \sigma_{xz} + \partial_x \delta z_i (\sigma_{zz} - \sigma_{xx})$. Nous rappelons que dans la limite plane qui nous intéresse ici, la solution isotrope d'ordre 0 obtenue dans la partie A.4 donne les contraintes dans la couche $\sigma_{zz} = 0$ et $\sigma_{xx} = \zeta \Delta \mu$. Les eqs. II.89 à II.92 donnent alors les conditions aux limites perturbées dans la base (x, z) :

$$(1) \delta \sigma_{zz}(0) = 0 \quad \text{ou} \quad (2) \delta v_z(0) = 0 \quad (\text{II.93})$$

$$\delta \sigma_{zz}(e) = 0 \quad (\text{II.94})$$

$$\delta \sigma_{xz}(0) = \zeta v_x(0) + \zeta \Delta \mu \partial_x \delta z_0 \quad (\text{II.95})$$

$$\delta \sigma_{xz}(e) = \zeta \Delta \mu \partial_x \delta z_1 \quad (\text{II.96})$$

B.1.2 Etude de stabilité

Les équations constitutives des gels actifs (chapitre I, eqs. I.36 et I.37) deviennent dans la géométrie considérée ici et dans la limite liquide $\tau = 0$

$$\sigma_{xx} + p - \frac{\zeta \Delta \mu}{2} = 2\eta \partial_x v_x \quad (\text{II.97})$$

$$\sigma_{zz} + p + \frac{\zeta \Delta \mu}{2} = 2\eta \partial_z v_z \quad (\text{II.98})$$

$$\sigma_{xz} - \zeta \Delta \mu \partial_x z_0 = \eta (\partial_x v_z + \partial_z v_x) \quad (\text{II.99})$$

qui introduites dans les équations d'équilibre des forces $\partial_x \sigma_{xx} + \partial_z \sigma_{xz} = 0$ et $\partial_z \sigma_{zz} + \partial_x \sigma_{xz} = 0$ donnent les deux équations

$$\partial_x p = \frac{1}{2} \partial_x \zeta \Delta \mu + \partial_z \zeta \Delta \mu \partial_x z_0 + \eta (\partial_x^2 + \partial_z^2) v_x \quad (\text{II.100})$$

$$\partial_z p = -\frac{1}{2} \partial_z \zeta \Delta \mu + \partial_x \zeta \Delta \mu \partial_z z_0 + \zeta \Delta \mu \partial_x^2 z_0 + \eta (\partial_x^2 + \partial_z^2) v_z \quad (\text{II.101})$$

L'élimination de p et l'utilisation de la condition d'incompressibilité $\partial_x v_x + \partial_z v_z = 0$ donne alors

$$(\partial_x^2 + \partial_z^2)(\partial_x^2 + \partial_z^2) v_z = \partial_x^2 \partial_z \frac{\zeta \Delta \mu}{\eta} - \zeta \Delta \mu \partial_x^4 \delta z_0 \quad (\text{II.102})$$

Le terme de gauche correspond à l'équation classique de l'hydrodynamique à faible nombre de Reynolds $\Delta \Delta v = 0$, le terme de droite correspond à la perturbation par des inhomogénéités du terme actif. Dans cette partie nous considérons que les myosines sont distribuées de façon homogène dans la couche et donc $\partial_x \zeta \Delta \mu = \partial_z \zeta \Delta \mu = 0$. Nous imposons une perturbation sinusoïdale du profil, et les équations étant linéaires la vitesse varie de la même façon, soit $\delta v_z(x, z) = \delta v_z e^{iqx}$. L'équation II.102 admet alors comme solution

$$v_z = A e^{qz} + B e^{-qz} + C q z e^{qz} + D q z e^{-qz} - \frac{\zeta \Delta \mu}{\eta} \delta z_0 \quad (\text{II.103})$$

où A , B , C , et D sont à déterminer à l'aide des conditions aux limites. Pour cela nous réexprimons les contraintes

$$\sigma_{zz} = 2\eta q [A e^{qz} - B e^{-qz} + C q z e^{qz} - D q z e^{-qz}] \quad (\text{II.104})$$

$$\sigma_{xz} = 2\eta i q [(A + C) e^{qz} + (B - D) e^{-qz} + C q z e^{qz} + D q z e^{-qz}] \quad (\text{II.105})$$

Utilisant les équations II.93 à II.96, nous devons alors résoudre pour le cas (1)

$$\begin{pmatrix} 1 & 1 & 0 & 0 \\ 1 - \frac{q_f}{q} & 1 + \frac{q_f}{q} & 1 - \frac{q_f}{q} & -(1 + \frac{q_f}{q}) \\ e^{qe} & -e^{qe} & qee^{qe} & -qee^{-qe} \\ e^{qe} & e^{-qe} & e^{qe}(1 + qe) & e^{-qe}(-1 + qe) \end{pmatrix} \begin{pmatrix} A \\ B \\ C \\ D \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ 0 \\ \frac{\zeta\Delta\mu}{2\eta}\delta e \end{pmatrix} \quad (\text{II.106})$$

et pour le cas (2)

$$\begin{pmatrix} 1 & -1 & 0 & 0 \\ 1 - \frac{q_f}{q} & 1 + \frac{q_f}{q} & 1 - \frac{q_f}{q} & -(1 + \frac{q_f}{q}) \\ e^{qe} & -e^{qe} & qee^{qe} & -qee^{-qe} \\ e^{qe} & e^{-qe} & e^{qe}(1 + qe) & e^{-qe}(-1 + qe) \end{pmatrix} \begin{pmatrix} A \\ B \\ C \\ D \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 \\ \frac{\zeta\Delta\mu}{2\eta}\delta z_0 \\ 0 \\ \frac{\zeta\Delta\mu}{2\eta}\delta z_1 \end{pmatrix} \quad (\text{II.107})$$

où nous avons introduit $q_f = \frac{\zeta}{2\eta}$, vecteur d'onde caractéristique de la friction. En inversant ce système et en utilisant les équations cinétiques II.71 et II.72 on a alors dans le cas (1)

$$\frac{d\delta e}{dt} = \frac{\zeta\Delta\mu}{\eta} \frac{(qe)^2(1 + q_f e)}{q_f e + 2(qe)^2(1 + q_f e) + q_f e \cosh 2qe + qe \sinh 2qe} \delta e \quad (\text{II.108})$$

et dans le cas (2)

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt} \begin{pmatrix} \delta z_0 \\ \delta e \end{pmatrix} &= \frac{\zeta\Delta\mu}{\eta} \frac{qe}{qe + 2(qe)^3 + 2qe q_f e - q \cosh 2qe - q_f e \sinh 2qe} \\ &\times \begin{pmatrix} q_f e (\cosh qe - 2 + \frac{\sinh 2qe}{qe}) + \cosh 2qe + qe \sinh qe - (qe)^2 & qe(q_f e \cosh qe + qe \sinh qe) \\ qe q_f e (\cosh qe - 1) & (qe)^2 - qe \sinh qe + q_f e (1 - \cosh qe) \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \delta z_0 \\ \delta e \end{pmatrix} \end{aligned} \quad (\text{II.109})$$

où nous avons utilisé $\delta e = \delta z_1 - \delta z_0$. Ces deux équations donnent l'évolution dynamique d'une perturbation de la surface. Pour étudier la stabilité de ce système linéaire nous cherchons les solutions sous la forme $\delta z_0 \sim e^{wt}$, $\delta z_1 \sim e^{wt}$. Ceci nous permet de remplacer l'opérateur $\frac{d}{dt}$ par w , le taux de croissance de la solution. Dans le cas (1) on a alors directement

$$w(q, q_f) = \frac{\zeta\Delta\mu}{\eta} \frac{(qe)^2(1 + q_f e)}{q_f e + 2(qe)^2(1 + q_f e) + q_f e \cosh 2qe + qe \sinh 2qe} \quad (\text{II.110})$$

et dans le cas (2) les valeurs de w sont obtenues en étudiant les valeurs propres de la matrice de l'éq. II.109. $w > 0$ correspond à un mode instable croissant exponentiellement selon e^{wt} , $w < 0$ à un mode stable relaxant comme e^{-wt} . La fonction $w(q)$ est tracée dans les deux cas sur la figure II.12 pour différentes valeurs de q_f . Tous les modes sont instables mais la fonction $w(q)$ admet un maximum pour un mode qui est cinétiquement favorisé. Pour $q_f = 0$ ce mode est celui de plus grande longueur d'onde $q = 0$, en pratique limité par la longueur du cortex ($q_{max} = \frac{1}{R}$ dans le cas d'un cylindre par exemple). Pour $q_f \neq 0$ on peut chercher ce mode et une expression simplifiée de $w(q)$ dans la limite de faible friction $q_f e \ll 1$ (soit $\zeta e \ll \eta$) et de couche mince $qe \ll 1$. Dans cette limite les équations dynamiques II.108 et II.109 donnent pour le cas (1) (où une seule frontière est perturbée, voir fig. II.9)

$$w(q, q_f) \simeq \frac{\zeta\Delta\mu}{4\eta} \left[1 - \frac{(qe)^2}{3} - \frac{q_f e}{2(qe)^2} \right] \quad (\text{II.111})$$

et pour le cas (2) où les deux frontières de la couche sont perturbées

$$w_1(q, q_f) \simeq -\frac{\zeta \Delta \mu}{4\eta} \frac{12}{(qe)^2} \quad (\text{II.112})$$

$$w_2(q, q_f) \simeq \frac{\zeta \Delta \mu}{4\eta} \left[1 - \frac{(qe)^2}{12} - \frac{q_f e}{2(qe)^2} \right] \quad (\text{II.113})$$

Dans ce dernier cas la première valeur propre correspond à un mode stable qui relaxe très rapidement quand $qe \rightarrow 0$. Le mode propre correspondant $\delta e - \frac{1}{2}\delta z_0$ peut donc être considéré nul, ce qui impose $\delta e = \frac{1}{2}\delta z_0$, soit $\delta z_0 = -\delta z_1$: dans cette limite de faible friction la perturbation est donc symétrique par rapport au milieu de la couche.

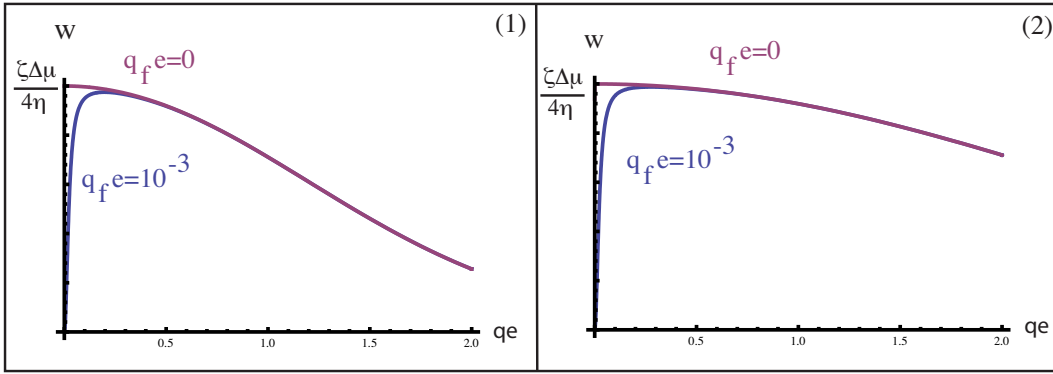


FIG. II.12: Taux de croissance w des modes instables dans les cas (1) et (2) en fonction de la longueur d'onde de la perturbation q . Sans friction le mode $q = 0$ est celui qui croît le plus rapidement, avec friction un mode $q_m \neq 0$ domine les autres (maximum de w)

A partir de ces équations simplifiées on peut obtenir le mode le plus instable en fonction de la friction en imposant $\frac{\partial w}{\partial q} = 0$, ce qui nous donne

$$(1) \quad q_m e = \left(\frac{3}{2} q_f e \right)^{\frac{1}{4}} \quad (\text{II.114})$$

$$(2) \quad q_m e = (6 q_f e)^{\frac{1}{4}} \quad (\text{II.115})$$

Les lois d'échelle sont donc les mêmes pour les deux situations. La dépendance en $q_f^{1/4}$ implique que même de très faibles valeurs de la friction ont une influence importante sur la longueur d'onde $\lambda_m = \frac{2\pi}{q_m}$. Celle-ci peut être réexprimée en fonction des paramètres du problème

$$(1) \quad \lambda_m = 2\pi \left(\frac{4\eta}{3\zeta} e^3 \right)^{\frac{1}{4}} \quad (\text{II.116})$$

$$(2) \quad \lambda_m = 2\pi \left(\frac{\eta}{3\zeta} e^3 \right)^{\frac{1}{4}} \quad (\text{II.117})$$

Dans la partie B.1.1 nous avons évalué $\zeta \sim 10^5 - 2.10^7 Pa.s.m^{-1}$, ce qui donne pour la friction la plus faible respectivement (1) $71\mu m$, (2) $50\mu m$ et pour la friction la plus élevée (1) $18\mu m$ et (2) $13\mu m$. Les éqs. II.116 et II.117 montrent que cette distance caractéristique ne dépend pas de l'activité : cependant ζ peut en dépendre puisque nous avons montré dans la partie B.1.1 qu'aux faibles vitesses la friction doit diminuer. La vitesse étant proportionnelle à $\frac{\zeta \Delta \mu}{\eta}$ il est donc possible qu'aux faibles valeurs d'activité, par un effet indirect, la longueur λ_m soit plus grande.

B.2 Instabilité dans une couche en présence de treadmilling

B.2.1 Densité du gel et équations cinétiques

A partir de cet exemple plus simple nous nous tournons maintenant vers le problème d'une couche qui, comme décrit dans la section A.2.2, polymérise à la membrane avec une vitesse v_p et une densité ρ_0 et dépolymérise en volume avec un taux k_d . Rappelons que ce processus est appelé "treadmilling", car les monomères insérés dans le gel progressent à la vitesse v_p avant d'être dépolymérisés, et leur mouvement s'apparente ainsi à celui d'un tapis roulant. Avec ce modèle simple de treadmilling, la couche a un profil de densité qui décroît exponentiellement sur une longueur caractéristique $e^* = \frac{v_p}{k_d}$

$$\rho = \rho_0 e^{-\frac{k_d}{v_p} z} \quad (\text{II.118})$$

Ce profil de densité constitue notre état de référence. Pour définir les limites physiques de la couche nous considérons que le gel n'est défini qu'au-delà d'une densité critique ρ_c (fig. II.13), ce qui peut s'écrire

$$\rho(z_1(x), x) = \rho_c \quad (\text{II.119})$$

Avec cette définition pour la frontière du cortex, le gel a dans l'état de référence une épaisseur

$$e = \ln \left(\frac{\rho_0}{\rho_c} \right) e^* \quad (\text{II.120})$$

On peut considérer que cette épaisseur est de l'ordre de $e^* = \frac{v_0}{k_d}$, car $\ln \left(\frac{\rho_0}{\rho_c} \right)$ est un facteur d'ordre 1 pour des valeurs raisonnables du rapport $\frac{\rho_0}{\rho_c}$.

Enfin nous considérons que les variations de densité sont suffisamment faibles pour que les propriétés physiques du gel (viscosité η et contrainte active $\zeta \Delta \mu$) puissent être considérées comme constantes. Cette hypothèse nous permet d'utiliser la solution de la section B.1 pour le champ de vitesse, puisque ni les équations constitutives ni les conditions aux limites ne sont changées. Dans le paragraphe suivant nous montrons qu'il faut cependant modifier les équations cinétiques pour la frontière du gel.

Equation cinétique

La frontière du gel étant maintenant définie par l'éq. II.119, nous devons établir une équation cinétique remplaçant l'éq. II.72. Supposons que nous perturbions la

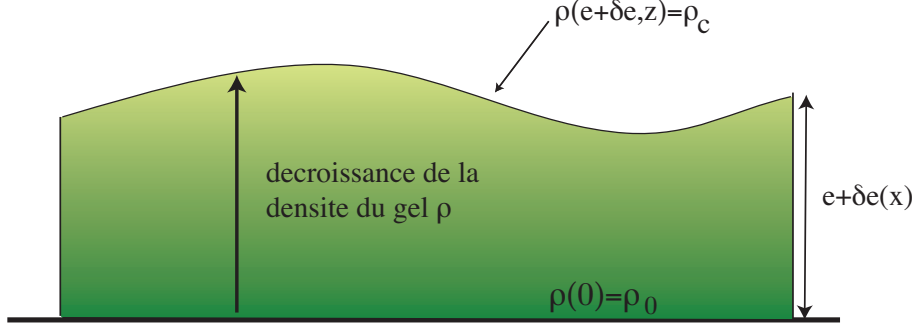


FIG. II.13: Schéma illustrant la définition des frontières du gel à partir de la densité : le gel est polymérisé avec une densité ρ_0 . La densité décroît jusqu'à la densité critique ρ_c qui limite l'autre frontière du gel. Perturber l'épaisseur e revient à perturber le profil $\rho(e(x), x) = \rho_c$.

surface du gel de $\delta z_1(x)$: ce changement s'accompagne d'une perturbation de la densité $\rho(x, z) = \rho + \delta\rho$ où ρ est fixé par l'éq. II.118. L'éq. II.119 impose qu'à la frontière du gel

$$\frac{\delta\rho(z_1, x)}{\rho_c} = \frac{\delta z_1}{e^*} \quad (\text{II.121})$$

Nous pouvons considérer cette équation comme une condition aux limites imposée au champ $\delta\rho$ (fig. II.13) dont l'évolution est gouvernée par l'équation de conservation de la matière

$$\frac{d}{dt}\rho + v_z\partial_z\rho + v_x\partial_x\rho = -k_d\rho \quad (\text{II.122})$$

dont la forme perturbée s'écrit en utilisant la transformée de Laplace temporelle

$$(v_p\partial_z + w + k_d) \frac{\delta\rho}{\rho_0} = e^{-\frac{z}{e^*}} \frac{\delta v_z}{e^*} \quad (\text{II.123})$$

qui s'intègre en

$$\frac{\delta\rho}{\rho_c} = \left[\frac{\delta\rho}{\rho_0}(0) + \frac{1}{v_p e^*} \int_0^z \delta v_z e^{\frac{w}{v_p} z'} dz' \right] e^{-\frac{w}{v_p} z} \quad (\text{II.124})$$

Pour obtenir la solution complète nous devons préciser la condition aux limites pour $\delta\rho(0)$. Cette valeur dépend des propriétés de la polymérisation de l'actine ; $\rho(0)$ correspondant à la densité d'actine polymérisée à chaque instant à la membrane. Nous prenons la limite où les protéines nucléatrices et polymérisatrices diffusent rapidement dans la membrane, de sorte que leur concentration est uniforme, et nous supposons que la quantité de filaments formés est indépendante de la quantité de filaments déjà existants. Dans ce cas la quantité d'actine polymérisée à la membrane est invariante, égale à ρ_0 , et on a donc

$$(\rho + \delta\rho)(z = 0 + \delta z_0) = \rho_0 \quad (\text{II.125})$$

$z = 0 + \delta z_0$ étant la position de la membrane. Dans ce cas on a au premier ordre

$$\delta\rho(0) = \rho_0 \frac{\delta z_0}{e^*} \quad (\text{II.126})$$

A partir de l'éq. II.121, de l'équation pour la vitesse de la membrane II.71 $\frac{dz_0}{dt} = \delta v_z(0)$ et en utilisant $\delta e = \delta z_1 - \delta z_0$ on en déduit donc les deux équations

$$w\delta z_0 = \delta v_z(0) \quad (\text{II.127})$$

$$\delta e = \left[\int_0^e \frac{\delta v_z}{v_p} e^{\frac{w}{v_p} z} dz \right] e^{-\frac{we}{v_p}} + \delta z_0 \left[e^{-\frac{we}{v_p}} - 1 \right] \quad (\text{II.128})$$

qui constituent les équations cinétiques pour la couche en présence de treadmilling ; elles remplacent les éqs. II.71 et II.72.

Limites simples

Avant d'aller plus loin faisons une parenthèse à propos des limites simples de l'éq. II.128. Soit w_d le taux caractéristique du treadmilling, définie par

$$w_d = \frac{v_p}{e} = \frac{k_d}{\ln \frac{\rho_0}{\rho_c}} \quad (\text{II.129})$$

dont l'inverse est également le temps de renouvellement de la couche. Dans la limite de treadmilling lent $w_d \ll w$, qui correspond à un processus rapide devant le temps de renouvellement de la couche, on a approximativement $e^{-\frac{w}{w_d}(1-\frac{z}{e})} \simeq e^{\frac{w}{w_d}} \delta(z - e)$ et on retrouve l'équation cinétique sans treadmilling

$$\frac{d\delta z_1}{dt} = \delta v_z(e) \quad (\text{II.130})$$

qui est la limite que nous utilisons dans le chapitre III.

Considérons maintenant la limite de treadmilling rapide $w_d \gg w$, qui correspond à un processus lent devant le temps de renouvellement de la couche. Dans ce cas l'éq. II.128 prend la forme particulièrement simple

$$\delta e = \int_0^e \frac{\delta v_z}{v_p} dz - \frac{w}{w_d} \delta z_0 \quad (\text{II.131})$$

Si de plus on suppose qu'on peut appliquer une approximation de lubrification (qui correspond à la limite $qe \rightarrow 0$) pour laquelle $\partial_z v_x \simeq 0$, on tire de l'équation d'incompressibilité $\partial_x v_x + \partial_z v_z = 0$ l'expression de v_z

$$v_z(z) = v_z(0) + z\partial_x v_x \quad (\text{II.132})$$

et l'éq II.128 devient alors simplement

$$\delta e = \frac{e^2}{2v_p} \partial_x v_x \quad (\text{II.133})$$

soit

$$\frac{\delta e}{e} = \frac{\ln \frac{\rho_0}{\rho_c}}{2} \frac{\partial_x v_x}{k_d} \quad (\text{II.134})$$

ou dans le cas plus général où on considère deux directions transverses x et y

$$\frac{\delta e}{e} = \frac{\ln \frac{\rho_0}{\rho_c}}{2} \frac{\partial_x v_x + \partial_y v_y}{k_d} \quad (\text{II.135})$$

On obtient donc simplement l'épaisseur qui s'exprime, à un coefficient numérique près, comme le rapport entre le gradient de vitesse laterale et le taux de dépolymérisation. Physiquement, ce terme provient de l'équilibre qui s'établit entre le flux qui apporte de la matière et la dépolymérisation qui compense cet effet en détruisant les filaments en excès. Nous utilisons cette approche en particulier au chapitre V, où le processus étudié, la cytokinèse, est lent devant le temps de treadmilling.

B.2.2 Application a l'instabilité active

Nous souhaitons maintenant analyser l'instabilité étudiée dans la section II.141 en incluant le treadmilling. Dans la limite simple où les propriétés du gel (viscosité et champ actif) sont constantes malgré la variation de densité, le champ δv_z a la forme de la solution II.103, où on a fait intervenir les constantes A, B, C, D . On peut écrire explicitement les éqs. II.127 et II.128 en fonction de ces constantes :

$$w\delta z_0 = A + B - \frac{\zeta\Delta\mu}{\eta}\delta z_0 \quad (\text{II.136})$$

$$w_d\delta e = \frac{A}{\frac{w}{w_d} + qe} \left(e^{qe} - e^{-\frac{w}{w_d}} \right) + \frac{B}{\frac{w}{w_d} - qe} \left(e^{-qe} - e^{-\frac{w}{w_d}} \right) + Cqe \left(\frac{e^{qe}}{\frac{w}{w_d} + qe} - \frac{e^{qe} - e^{-\frac{w}{w_d}}}{\left(\frac{w}{w_d} + qe \right)^2} \right) + Dqe \left(\frac{e^{-qe}}{\frac{w}{w_d} - qe} - \frac{e^{-qe} - e^{-\frac{w}{w_d}}}{\left(\frac{w}{w_d} - qe \right)^2} \right) + \delta z_0 \left(e^{-\frac{w}{w_d}} - 1 \right) \quad (\text{II.137})$$

où nous avons utilisé $\delta e = \delta z_1 - \delta z_0$.

Dans notre hypothèse où les propriétés de la couche et l'activité dépendent faiblement des variations de ρ , les constantes A, B, C, D sont fixées par les éqs. II.106 ou II.107 selon qu'on se place dans le cas (1) ou (2). Elles dépendent linéairement de δz_0 et δz_1 , de sorte qu'en éliminant δz_0 et δz_1 entre les éqs. II.136 et II.137 on doit trouver une équation fixant la valeur de w en fonction de $q, q_f, \frac{\zeta\Delta\mu}{\eta}$ et w_d .

Limite de friction nulle

La solution générale est compliquée, mais nous pouvons étudier certaines limites particulières. Commençons par le cas où on peut négliger la friction ($q_f = 0$), et plaçons nous dans le cas (1). Nous traçons numériquement la solution w en fonction de q sur la fig. II.14(a) pour différentes valeurs des paramètres : on voit que le mode $q = 0$ est toujours le plus instable. Nous nous plaçons donc dans l'approximation de couche mince $qe \rightarrow 0$; dans ce cas l'équation donnant la dynamique de la couche II.137 s'écrit

$$\frac{w^2}{w_d w_a} = \frac{w}{w_d} - 1 + e^{-\frac{w}{w_d}} \quad (\text{II.138})$$

où nous avons introduit le taux caractéristique du flux induit par l'activité des myosines

$$w_a = \frac{\zeta\Delta\mu}{4\eta} \quad (\text{II.139})$$

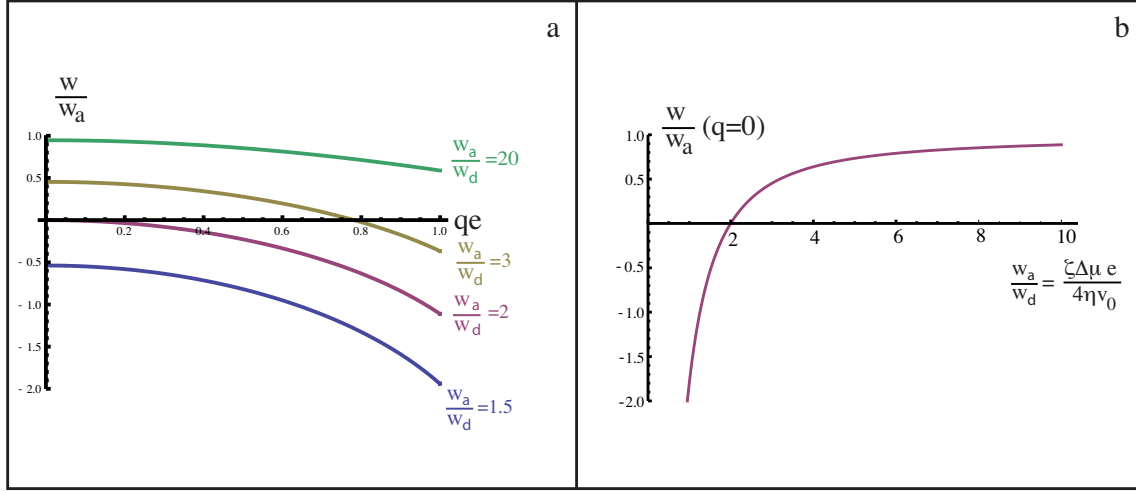


FIG. II.14: Solution pour le taux de croissance w d'une perturbation de la couche dans le cas (1), dans la limite $q_f = 0$ et en tenant compte du treadmilling ($w > 0$ correspond à un mode instable, $w < 0$ à un mode stable). (a) w en fonction de q , pour différentes valeurs du rapport $\frac{w_a}{w_d} = \frac{\zeta \Delta \mu}{4 \eta}$. Le mode le plus instable est toujours le plus large $q = 0$. (b) Taux de croissance du mode $q = 0$ en fonction du rapport $\frac{w_a}{w_d}$: en-deçà d'une activité critique $\zeta \Delta \mu e < 8 \eta k_d$ la couche est stable, au-delà elle est déstabilisée.

Nous traçons la solution de l'éq. II.138 sur la fig. II.14(b) en fonction de l'activité w_a . On peut distinguer 3 limites simples :

- Dans la limite de treadmilling rapide $w_d \gg w$ elle s'écrit

$$w = 3w_d \left(1 - 2 \frac{w_d}{w_a} \right) \quad (\text{II.140})$$

Pour être consistante, cette équation n'est donc valable que pour $w_a \sim 2w_d$. Elle montre qu'il existe une valeur de transition pour laquelle la couche devient instable ($w > 0$), quand $w_a > 2w_d$, c'est-à-dire pour

$$\zeta \Delta \mu > \frac{8}{\ln \frac{\rho_0}{\rho_c}} \eta k_d \quad (\text{II.141})$$

Cette équation constitue le résultat essentiel de cette partie : il existe une tension active critique au-delà de laquelle une instabilité se développe dans la couche. Cette tension critique dépend du taux de dépolymérisation et donc du temps de renouvellement de la couche : si la couche se renouvelle rapidement, l'instabilité ne peut pas se développer.

- Dans la limite de treadmilling lent, et où la couche est instable, on a $w > 0$ et $w_d \ll w$ et donc l'éq. II.138 devient

$$w^2 - w_a w + w_d w_a = 0 \quad (\text{II.142})$$

dont la solution est $w = \frac{w_a}{2} \left(1 + \sqrt{1 - 4 \frac{w_d}{w_a}} \right)$. Pour que cette solution soit cohérente on doit avoir $w \gg w_d$, et donc $w_a \gg w_d$. La solution peut donc

62 Chapitre II. Le cortex d'actine : régulation de l'épaisseur et instabilités actives

encore être simplifiée en

$$\text{pour } w_a \gg w_d : w = w_a - w_d \quad (\text{II.143})$$

Il s'agit de la correction à la solution sans treadmilling (eq. II.111), dans la limite où le treadmilling est lent.

- Dans la limite de treadmilling lent, et où la couche est stable, on a $w < 0$ et $w_d \ll |w|$, de sorte que l'éq II.138 devient

$$w = -\sqrt{w_d w_a} e^{-\frac{w}{2w_d}} \quad (\text{II.144})$$

qui admet comme solution approximative

$$\text{pour } w_d \gg w_a : w \sim -w_d \ln \frac{w_d}{w_a} \quad (\text{II.145})$$

valable comme nous l'indiquons, pour $w_d \gg w_a$.

Nous récapitulons dans le tableau II.1 les différentes limites obtenues, qui correspondent également aux différentes parties de la solution numérique tracée sur la fig. II.14(b). Pour le cas (2) nous suivons la même démarche : sur la fig. II.15 nous

Domaine	$w_a \ll w_d$	$w_a \sim 2w_d$	$w_a \gg w_d$
Stabilité	Stable	Seuil d'instabilité	Instable
Expression limite de w	$w \sim -w_d \ln \frac{w_d}{w_a}$	$: w = 3w_d(1 - 2\frac{w_d}{w_a})$	$w = w_a - w_d$

TAB. II.1: Domaine de stabilité de la couche en fonction des valeurs relatives de $w_a = \frac{\zeta \Delta \mu}{4\eta}$ et $w_d = \frac{v_p}{e}$

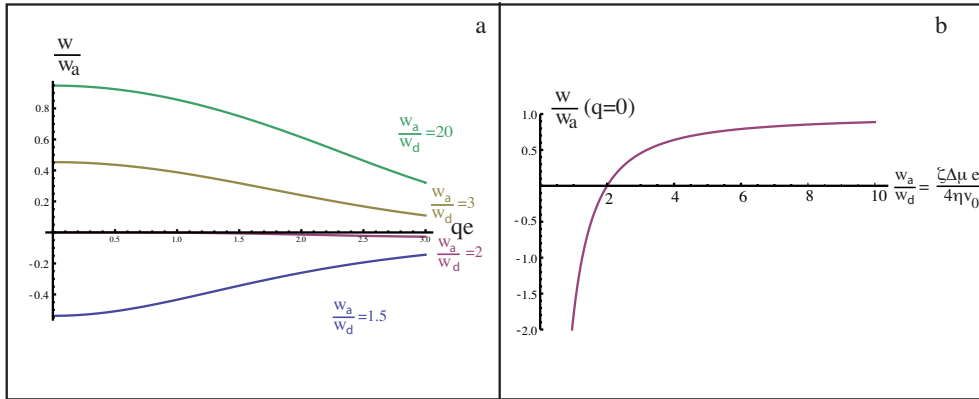


FIG. II.15: Solution pour le taux de croissance w d'une perturbation de la couche dans le cas (2) (voir fig. II.14 pour le cas (1)). (a) w en fonction de q , pour différentes valeurs du rapport $\frac{w_a}{w_d} = \frac{\zeta \Delta \mu}{4\eta}$. Lorsque l'instabilité existe, le mode le plus instable est toujours le plus large $q = 0$. (b) Taux de croissance du mode $q = 0$ en fonction du rapport $\frac{w_a}{w_d}$: cette courbe est identique à celle du cas 1 (fig. II.14)

traçons la fonction $w(q)$ pour différentes valeurs de w_a et w_d : là encore le mode

$q = 0$ est le plus instable. Dans la limite de couche mince $qe \rightarrow 0$, on obtient à l'aide des éqs. II.136 et II.137 le système

$$\frac{w}{w_a} \delta z_0 = -\frac{3}{q^2} (\delta e + 2\delta z_0) \quad (\text{II.146})$$

$$\frac{w}{w_a} \delta z_1 = \left[\frac{1}{2} + 3\frac{w_d^2}{w^2} - 2\frac{w_d}{w} - e^{-\frac{w}{w_d}} \left(3\frac{w_d^2}{w^2} + \frac{w_d}{w} \right) \right] \delta e - 3\frac{w_d^2}{w^2} \left[\left(2 + \frac{w}{w_d} \right) e^{-\frac{w}{w_d}} + \frac{w}{w_d} - 2 \right] \delta z_0 \quad (\text{II.147})$$

La première équation donne simplement $\delta z_0 = -\frac{\delta e}{2}$, et la couche évolue de façon symétrique par rapport à son milieu, comme dans la partie B.1. La deuxième équation peut alors être simplifiée, ce qui donne

$$\frac{w^2}{w_a w_d} = \frac{w}{w_d} - 1 + e^{-\frac{w}{w_d}} \quad (\text{II.148})$$

On retrouve la même équation que dans le cas (1), et les limites sont donc les mêmes. En particulier le seuil critique d'activité pour l'instabilité est encore fixé par l'éq. II.141.

Effet de la friction

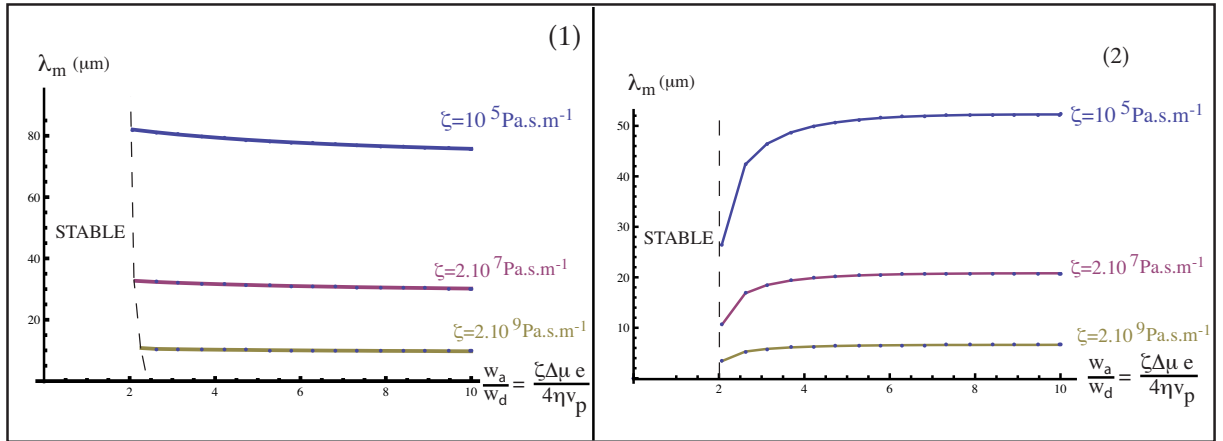


FIG. II.16: Longueur d'onde en μm du mode le plus instable pour différentes valeurs de la friction ζ , en fonction du rapport $\frac{w_a}{w_d} = \frac{\zeta \Delta \mu}{4\eta}$, dans les cas (1) et (2). ($\eta = 10^4 Pa.s$, $e = 1\mu m$).

En tenant compte de la friction du cortex sur la membrane, le mode $q = 0$ n'est pas le plus instable, on est donc amené à chercher le mode dominant $q_m(q_f, \frac{w_a}{w_d})$ et son taux de croissance $w_m(q_f, \frac{w_a}{w_d})$. Nous traçons la longueur d'onde du mode dominant sur la fig. II.16 en fonction de $\frac{w_a}{w_d}$ et pour différentes valeurs de la friction ζ . La solution analytique complète est trop compliquée à écrire, mais on peut chercher la ligne de bifurcation dans l'espace de paramètres $(q_f, \frac{w_a}{w_d})$ ainsi que le mode q le plus instable à la transition. Pour cela nous nous plaçons dans la limite de faible friction $q_f e \rightarrow 0$: dans ce cas on sait que la transition $w = 0$ a lieu pour $\frac{w_a}{w_d} \sim 2$, $qe \sim 0$ qui sont les valeurs critiques à $q_f = 0$. En développant les éqs. II.136, II.137 autour de

64 Chapitre II. Le cortex d'actine : régulation de l'épaisseur et instabilités actives

ces valeurs de paramètres on trouve la solution pour w près de la transition. Dans le cas (1) et en ne gardant que les termes dominants on a

$$w = \frac{3}{4} \left(\frac{w_a}{w_d} - 2 \right) - \frac{7}{8} (qe)^2 - \frac{3q_f e}{4(qe)^2} \quad (\text{II.149})$$

et pour le cas (2)

$$w = \frac{3}{4} \left(\frac{w_a}{w_d} - 2 \right) - \frac{1}{480} (qe)^4 - \frac{3q_f e}{4(qe)^2} \quad (\text{II.150})$$

En résolvant $\frac{\partial w}{\partial q} = 0$ on obtient le mode dominant près de la transition :

$$\text{cas (1)} \quad q_m e = \left(\frac{6}{7} q_f e \right)^{\frac{1}{4}} \text{ soit } \lambda_m = 2\pi \left(\frac{7\eta}{3\zeta} e^3 \right)^{\frac{1}{4}} \quad (\text{II.151})$$

$$\text{cas (2)} \quad q_m e = (180 q_f e)^{\frac{1}{6}} \text{ soit } \lambda_m = 2\pi \left(\frac{\eta}{90\zeta} e^5 \right)^{\frac{1}{6}} \quad (\text{II.152})$$

et on obtient la ligne critique de stabilité dans l'espace $(\frac{w_a}{w_d}, q_f)$

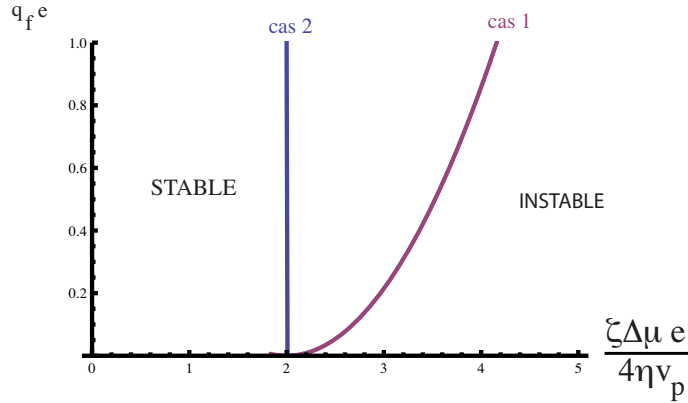


FIG. II.17: Ligne critique de stabilité dans l'espace $q_f e, \frac{w_a}{w_d} = \frac{\zeta \Delta \mu}{4 \eta v_p}$, donnée par les éqs. II.153 et II.154 pour les cas (1) et (2). Pour le cas (2) la ligne de stabilité est quasiment indépendante de la friction.

$$\text{cas (1)} \quad \frac{w_a}{w_d} = 2 + \sqrt{\frac{14 q_f e}{3}} \quad (\text{II.153})$$

$$\text{cas (2)} \quad \frac{w_a}{w_d} = 2 + \left(\frac{q_f e}{180} \right)^{\frac{2}{3}} \quad (\text{II.154})$$

que l'on obtient en imposant que le mode dominant satisfasse $w = 0$. La longueur d'onde des éqs. II.151 et II.151, valable près de la transition définie par les éqs. II.153 et II.154, peut être comparée à celle des éqs. II.116 et II.117, valables en l'absence de treadmilling, soit pour $w_a \gg w_d$. On voit que dans le cas (1) la loi d'échelle est la même et la longueur d'onde de l'instabilité est quasiment constante. Dans le cas (2) la loi d'échelle varie de $\frac{1}{6}$ à $\frac{1}{4}$ et la longueur d'onde de l'instabilité est plus

petite près de la transition. Ces comportements se reflètent sur la courbe II.16. Par exemple, avec la valeur de la friction calculée dans la partie B.1 $\zeta = 2.10^7 Pa.s.m^{-1}$ la longueur d'onde dans le cas (2) varie de $8\mu m$ près de la transition à $20\mu m$ à grande valeur de l'activité.

B.3 Lien avec la formation de blebs

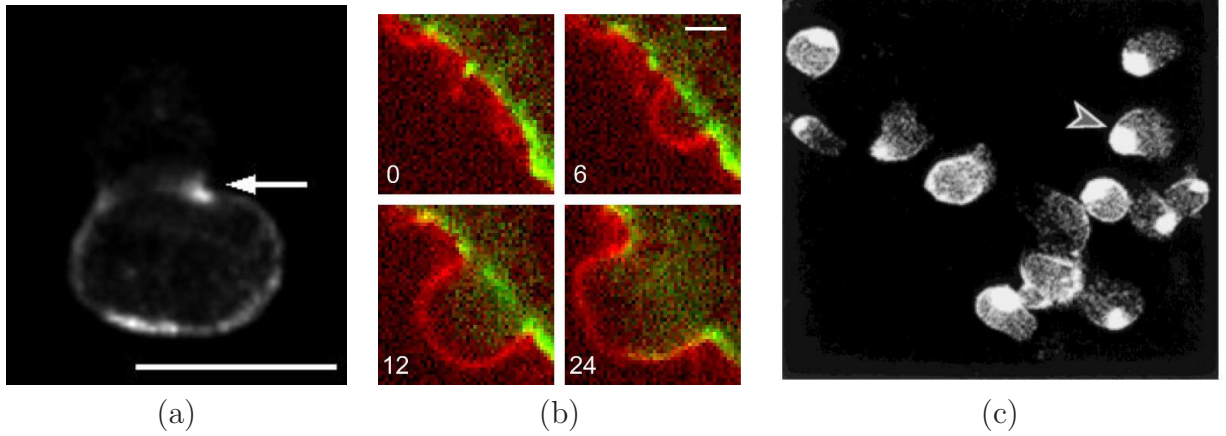


FIG. II.18: Différents phénomènes biologiques peuvent découler de l'instabilité active que nous étudions. (a) Rupture spontanée du cortex dans une cellule L929 dont les microtubules ont été dépolymérisés, reproduit de [110] (b) Formation de blebs par détachement de la membrane (rouge : membrane, vert : GFP-myosine), reproduit de [25] (c) Apparition d'agrégats de filaments d'actine dans l'amibe *Dictyostelium* en présence d'une drogue stabilisant les filaments d'actine (reproduit de [86])

Nous avons montré qu'au-delà d'une valeur critique de l'activité, et donc de la concentration en myosines, le cortex devient instable et s'affine par endroits. Cette instabilité se produit sous des hypothèses minimales : il suffit que le cortex ait un comportement visqueux et que les myosines se distribuent de façon homogène. Nous proposons que certains phénomènes biologiques puissent être interprétés comme des conséquences de cette instabilité :

Rupture du gel

Les auteurs de la réf. [110] montrent qu'en dépolymérisant les microtubules d'une cellule L929, on initie une oscillation de forme qui débute par la formation d'un trou dans le cortex (voir fig. II.18(a)). Cette brisure du cortex pourrait résulter du mécanisme que nous avons décrit : en effet la dépolymérisation des microtubules augmente l'activité de Rho et donc l'activité des myosines (voir ref. [87] et chapitre I), ce qui pourrait entraîner le franchissement du seuil $\zeta \Delta\mu > \frac{8}{\ln \frac{\rho_0}{\rho_c}} \eta k_d$. Lorsque le cortex s'affine, la contrainte dans le gel augmente puisque la tension doit être conservée à travers la couche. La force supportée par chaque filament dépend de la

tension et de l'épaisseur comme

$$f_{fil} \sim (\sigma_{xx} + P_{int}) \xi^2 \quad (\text{II.155})$$

$$\sim \frac{T}{e} \xi^2 \quad (\text{II.156})$$

où T est la tension du cortex et ξ la maille du gel. La première ligne résulte de la définition de la contrainte $\sigma_{xx} + P_{int}$, qui est la force dans le gel par unité de surface. Si chaque filament exerce en moyenne une force f_{fil} , la contrainte est donc $\sigma_{xx} + P_{int} \sim \frac{f_{fil}}{\xi^2}$ (voir fig. II.19a). La seconde ligne résulte de la définition de la tension intégrée $T = e(\sigma_{xx} + P_{int})$.

Il est peu probable que sous l'effet de cette force les filaments se rompent seuls : en effet la force de rupture d'un filament est de l'ordre de $f_{rupt} \sim 4 \cdot 10^{-10} \text{ N}$ [144], ce qui pour $T \sim 3 \cdot 10^{-4} \text{ N.m}^{-1}$ et $\xi = 50 \text{ nm}$ conduit à une épaisseur de rupture $e_{rupt} \sim 2 \text{ nm}$ qui est très faible. Cependant cette force pourrait être suffisante pour accélérer localement la dépolymérisation : en effet nous avons vu dans la partie A.2.2 que lorsque la contrainte tangentielle dans la couche $\sigma = \frac{T}{e}$ atteint le seuil σ_0 , la dépolymérisation augmente exponentiellement et donc entraîne la rupture du gel. Ceci se produit donc approximativement lorsque le cortex s'affine au point d'atteindre l'épaisseur critique $e_c = \frac{T}{\sigma_0}$. Avec $\sigma_0 \sim 10^3 \text{ Pa}$ évalué dans la partie A.2.2 et $T \sim 3 \cdot 10^{-4} \text{ N.m}^{-1}$ l'épaisseur e_c est de l'ordre de 30 nm .

Remarquons que si on tient compte de la dépendance de la dépolymérisation à la contrainte tangentielle, un gel d'actine élastique est également instable. Cette instabilité est décrite dans le cas d'un gel élastique croissant sur une bille sphérique dans la ref. [131], mais elle existe également sous l'effet de la tension active dans une couche plane, ainsi que mentionné dans la réf. [110]. Le mécanisme est le suivant : si la couche s'affine localement, la tension exercée par les myosines induit une déformation élastique qui tend encore davantage la région de faible épaisseur. Cela accroît le taux de dépolymérisation (voir éq. II.10), ce qui déstabilise la couche. Le seuil d'instabilité correspondant est

$$\zeta \Delta\mu > \sigma_0 \quad (\text{II.157})$$

Détachement de la membrane et formation spontanée de blebs

Les blebs sont des protusions membranaires qui se forment par détachement de la membrane (voir fig. II.18b et chapitre I). Nous montrons ici que l'instabilité accroît localement la force supportée par les liens entre la membrane et le cortex. Si celle-ci atteint la force de rupture des liens, la membrane doit se détacher et un bleb se former. En effet le gel étant incompressible, dans un modèle naïf de déformation affine, la diminution de l'épaisseur δe s'accompagne d'un étirement du gel dans la direction latérale, de sorte que la maille du gel ξ varie comme (fig. II.19 b)

$$\frac{\delta \xi}{\xi} \sim -\frac{\delta e}{e} \quad (\text{II.158})$$

Donc aux endroits où le cortex s'affine, la maille du gel augmente. Or les liens supportent une pression $\Delta P = \frac{2T}{R}$, et sont séparés d'une distance ξ : chacun supporte

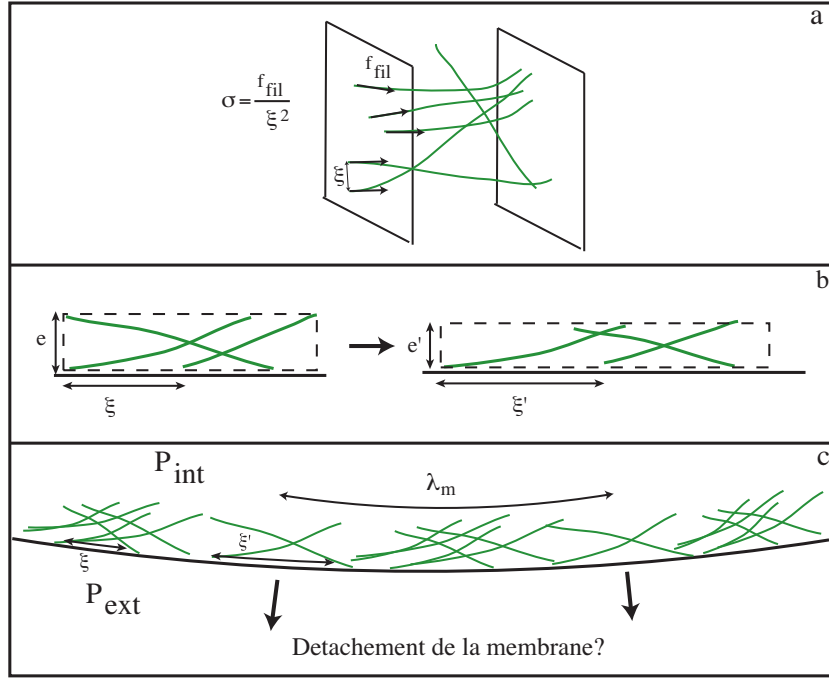


FIG. II.19: Schéma illustrant notre discussion qualitative des effets de l'instabilité. (a) Du fait des contraintes globales dans le gel les filaments sont soumis à une force f_{fil} . (b) Le gel étant considéré incompressible, si l'épaisseur de la couche diminue, le cortex doit également être étiré dans le sens transversal, et donc la maille du gel ξ augmente (c) Mécanisme possible initiant la formation de blebs : la force supportée par les liens cortex/membrane est plus élevée dans la région où le cortex a une plus faible épaisseur. Si cette force est assez grande pour rompre les liens, la membrane se détache et initie la formation d'un bleb.

donc la force

$$f_{fil} \sim \frac{2T}{R} \xi^2 \sin \varphi \quad (\text{II.159})$$

où le terme $\sin \varphi$ vient de ce que nous considérons que le lien ne supporte que la force normale à la membrane. Lorsque le cortex s'affine, ξ augmente et la force supportée par les liens cortex/membrane augmente. Mathématiquement la variation de l'épaisseur δe entraîne une variation de la force

$$\delta f_{fil} \sim -4 \frac{T}{R} \frac{\xi}{e} \delta e \quad (\text{II.160})$$

Si la force de détachement des liens est proche de la force f_{fil} , ils se détachent donc préférentiellement dans les régions où l'épaisseur du cortex est plus faible (fig. II.19c). La longueur d'onde λ_m de l'instabilité que nous avons décrites pourrait dans ce cas correspondre à la distance caractéristique entre les points de formation des blebs.

Formation d'agrégat

Si les forces exercées dans le cortex ne sont pas suffisantes pour le rompre ou pour induire le détachement de la membrane, ou bien si la pression intracellulaire

est trop faible pour former un bleb (au chapitre V nous montrons qu'en dessous d'une tension corticale critique les blebs ne peuvent pas apparaître, même si le cortex est rompu), on s'attend à ce que certaines régions du cortex deviennent très épaisses au détriment d'autres régions. C'est ce qu'observent les auteurs de la ref. [86] (fig. II.18(c)) : les filaments d'actine de *Dictyostelium* s'accumulent dans une région du cortex lorsqu'on ajoute de la jasplakinolide, une drogue qui stabilise les filaments d'actine, ce qui revient dans notre description à diminuer le taux de dépolymérisation k_d . On peut donc penser que l'ajout de cette drogue provoque le franchissement du seuil de l'instabilité $\zeta \Delta\mu > \frac{8}{\ln \frac{\rho_0}{\rho_c}} \eta k_d$ par une diminution de k_d . Les auteurs attribuent ce phénomène à l'existence d'un flux cortical, ce qui est également l'explication que nous proposons ici.

Les conséquences de l'instabilité pourraient donc varier en fonction des propriétés d'adhésion du cortex à la membrane.

C Conclusions

Dans ce chapitre nous avons présenté notre modèle de couche corticale, et proposé différents mécanismes pouvant contrôler l'épaisseur du gel. La diffusion des monomères d'actine à travers le gel pourrait limiter l'épaisseur lorsque la concentration de monomères disponibles est assez faible, comme c'est le cas pour les gels croissant sur des billes [107]. Plus généralement, et en supposant que les monomères dépolymérisent en volume et pas seulement à la surface du gel, la densité du gel décroît sur une longueur $e^* = \frac{v_p}{k_d}$, qu'on peut définir comme l'épaisseur caractéristique du gel. En introduisant un taux de dépolymérisation dépendant de la contrainte, l'épaisseur dépend de façon non triviale des autres paramètres physiques : en particulier on prévoit dans ce cas que le gel soit plus épais lorsque le rayon de la cellule diminue, et plus fin lorsqu'on augmente la concentration de myosines. Cette dernière observation pourrait expliquer qu'en l'absence de myosines les filaments s'accumulent en excès dans l'anneau contractile [54].

Une collaboration expérimentale avec L-L. Pontani dans le groupe de C. Sykes nous a permis d'exploiter ces modèles pour analyser l'épaisseur d'une couche d'actine polymérisée in vitro à la membrane d'un liposome [118]. Des nucléateurs (Arp2/3) sont insérés dans la vésicule et sont activés par des protéines WASP attachés spécifiquement à la membrane du liposome. On peut ensuite évaluer l'épaisseur du cortex en mesurant l'intensité de sa fluorescence. Les données sont ensuite comparées à notre modèle en tenant compte de ce qu'un réservoir limité de monomères est disponible pour la polymérisation.

Nous avons également montré sous des hypothèses minimales que le cortex doit être instable dans la limite visqueuse lorsque l'activité franchit le seuil critique

$$\zeta \Delta\mu > \frac{8}{\ln \frac{\rho_0}{\rho_c}} \eta k_d \quad (\text{II.161})$$

où k_d est le taux de dépolymérisation du cortex. La longueur d'onde de l'instabilité dépend de l'amplitude de la friction du cortex sur la membrane lipidique. Nous proposons qu'une telle instabilité soit l'évènement initiateur de la formation spontanée

de blebs. Comme nous l'avons vu dans le chapitre I, les traitements qui augmentent l'activité des myosines induisent des blebs, ce qui est cohérent avec le critère II.161.

Dans le chapitre suivant nous analysons un autre résultat expérimental qui pourrait découler de cette instabilité : l'oscillation de forme d'un fibroblaste en suspension.

Chapitre III

Oscillations de forme de fibroblastes en suspension

Le modèle du chapitre II montre que le cortex d'actine peut devenir instable si l'activité des myosines est suffisante. Il paraît donc naturel de supposer que cette instabilité intervienne dans certains comportements biologiques. Nous avons proposé au chapitre précédent qu'elle soit à l'origine de la formation de blebs. Un autre phénomène observé expérimentalement, l'oscillation de fibroblastes non-adhérents, pourrait en être une autre conséquence. Dans ce chapitre nous présentons les observations expérimentales relatives à ce système et le modèle avec lequel nous les avons analysées. Toutes les expériences qui y sont décrites ont été réalisées par Pramod Pullarkat à l'université de Bayreuth. Un article en commun est publié dans *Physical Biology* [128].

A Résultats expérimentaux

A.1 Caractéristiques de l'oscillation

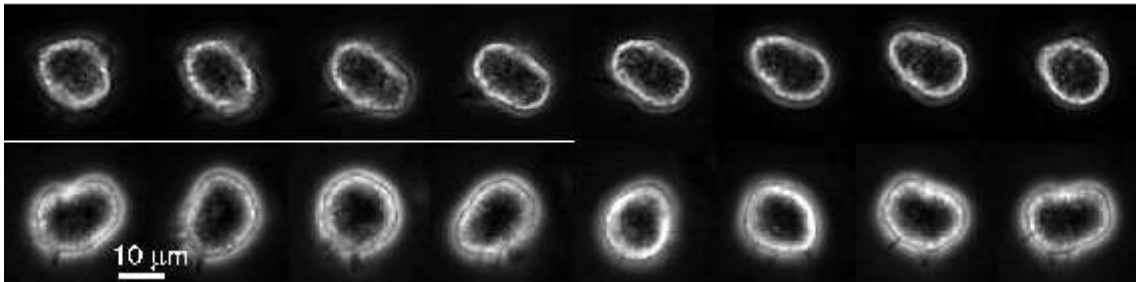


FIG. III.1: Deux exemples d'oscillation de forme dans les fibroblastes non-adhérents. Les séquences d'images correspondent à une période d'oscillation pour, sur la séquence du haut, une cellule oscillant selon une direction préférée (temps entre chaque image 3s), et sur la séquence du bas, une cellule de plus grande taille montrant une dynamique plus complexe, ressemblant à la propagation d'une vague (temps entre chaque image 5s)

Les oscillations de cellules fibroblaste Swiss-3T3 observées par P. Pullarkat s'obtiennent simplement en détachant les cellules du substrat sur lequel elles s'étalent

normalement. Un traitement appliqué à la surface du substrat les empêchent d'y adhérer à nouveau. En les maintenant ainsi en suspension, on observe une oscillation de forme très régulière qui peut durer plusieurs heures et qui ne nécessite l'ajout d'aucune drogue. En particulier, il n'est pas nécessaire de dépolymériser les microtubules à l'aide de nocodazole comme c'est le cas pour d'autres oscillations de forme observées précédemment [11, 115, 110].

Environ 40 à 60% des cellules détachées se mettent à osciller. Les cellules les plus petites oscillent selon une direction préférentielle, de part et d'autre de la cellule. Cela est particulièrement perceptible si l'on regarde le flux de cytoplasme qui y est associé (fig. III.1), les objets intracellulaires montrant un net mouvement d'aller-retour. Les cellules les plus grosses ont un comportement plus complexe, qui peut se décrire qualitativement par la propagation d'une vague à la surface de la cellule. De façon générale, les cellules étant en suspension, leur mouvement global perturbe l'observation et il est difficile de quantifier précisément la forme de l'oscillation. C'est pourquoi dans notre analyse théorique nous nous sommes limités à une analyse de stabilité linéaire qui donne des résultats qualitatifs, et nous n'avons pas cherché à reproduire la variation de forme exacte de la cellule.

Pour mesurer la période, le mouvement de la cellule est enregistré avec une caméra et l'évolution de l'aire de la projection de la cellule sur le plan focal est tracée en fonction du temps. Cette mesure ne donne pas d'information sur la forme de la cellule mais elle donne accès à la période de l'oscillation (fig. III.2). La transformée de Fourier du signal donne un pic très précis à une période qui, en fonction des cellules, va de 25 à 45s.

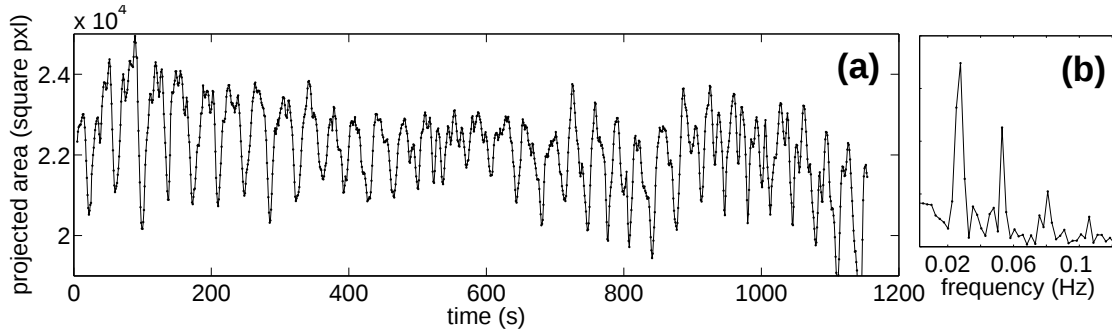


FIG. III.2: (a) Variation temporelle de l'aire projetée d'un fibroblaste. La cellule est maintenue à 35 °C, et l'oscillation se maintient pendant plusieurs heures sans changement significatif de la fréquence. (b) Spectre de Fourier des données de (a) montrant un pic à la fréquence principale de 0.028 Hz (période 37s) et ses harmoniques les plus élevées.

L'oscillation est très robuste : elle se maintient aussi longtemps que P. Pullarkat a pu les observer, pendant plusieurs heures, avec une période constante (fig. III.2). Quand la température du milieu est modifiée, la période de l'oscillation varie (fig. III.3) mais le processus est complètement réversible : en retournant à la température initiale on retrouve la même période. Les autres perturbations testées expérimentalement et que nous décrivons dans les parties A.2 à A.4, modification des propriétés d'adhésion du substrat, ajout de drogues ou tamponnage du calcium montrent les mêmes propriétés de réversibilité.

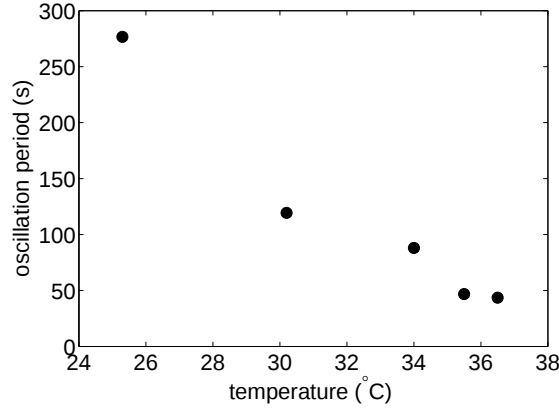


FIG. III.3: Variation de la période de l'oscillation en fonction de la température, mesurée pour une seule cellule.

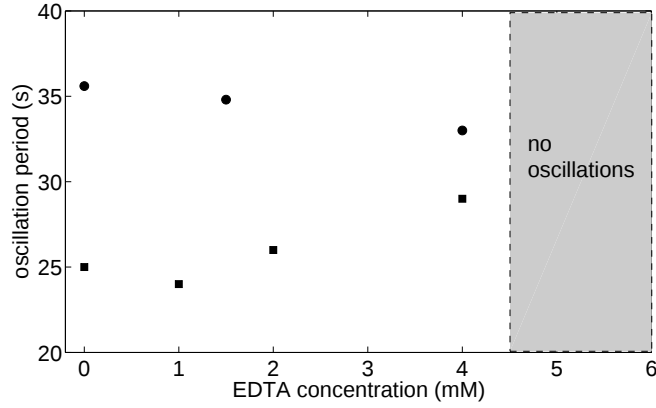


FIG. III.4: La concentration en calcium extracellulaire n'affecte pas la période de l'oscillation d'une façon significative (des symboles différents correspondent à des cellules différentes), mais au-delà de 4mM d'EDTA, une concentration suffisante pour tamponner tout le calcium, l'oscillation s'arrête. Elles reprennent dans les mêmes cellules si l'on ajoute du CaCl_2 dans le milieu extracellulaire.

A.2 Role de l'adhésion au substrat

Le détachement de la cellule du substrat est l'événement déclencheur de l'oscillation, il est donc important de se demander quelle perturbation il induit. Plusieurs éléments tendent à montrer que l'effet est essentiellement mécanique :

- Les cellules qui flottent librement en solution et celles qui ont encore un point de contact avec le substrat oscillent de la même manière.
- Les cellules qui sont à nouveau exposées à un substrat non traité s'y étalent. Au fur et à mesure de l'étalement, l'amplitude de l'oscillation diminue et finalement elle disparaît. Si le fibroblaste est à nouveau détaché, l'oscillation recommence avec la même période. Le temps nécessaire pour que l'oscillation reprenne est assez court, de l'ordre de quelques secondes.
- Quand deux fibroblastes se rencontrent et forment un patch d'adhésion ($\sim$

5 μ m), l'oscillation continue sans modification.

- L'attachement d'une ou plusieurs billes recouvertes de fibronectine à la cellule ne perturbe pas l'oscillation.

Ces différentes observations montrent que la présence d'une faible zone d'adhésion spécifique ou non-spécifique ne perturbe pas l'oscillation. La cellule doit pouvoir s'étaler sur une large surface pour que celle-ci s'arrête. Tout ceci suggère que l'oscillation n'est déclenchée que par la modification des conditions physiques dans lesquelles elle se trouve.

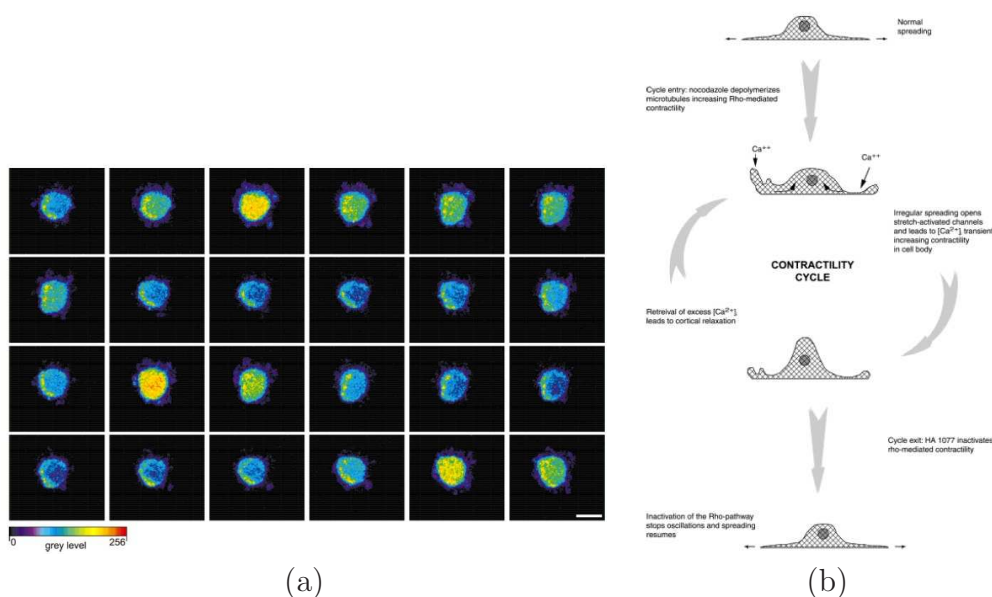


FIG. III.5: Oscillation de fibroblastes adhérents dont les microtubules ont été dépolymérisés, reproduit de Pletjushkina&al ([115]). (a) Mesure de la variation de la concentration en calcium interne dans le temps (b) Mécanisme proposé par les auteurs : le corps de la cellule alterne des phases de contraction et de relâchement

A.3 Influence du calcium externe

Ces oscillations se sont révélées dépendantes de la présence de calcium. Deux expériences le montrent :

- L'ajout d'EDTA dans la solution diminue la concentration effective de calcium libre en s'accrochant à une fraction du calcium disponible. En ajoutant graduellement de l'EDTA dans la solution, on diminue donc en proportion la concentration de calcium externe. La fréquence de l'oscillation n'est pas corrélée avec la concentration de calcium (fig. III.4), mais au-delà d'une concentration critique de 4mM, suffisante pour chélater tout le calcium, l'oscillation s'arrête.
- L'exposition des cellules aux ions gadolinium, un bloqueur potentiel de canaux calciques mécanosensibles présent dans la membrane[134, 160], arrête immédiatement l'oscillation.

Le calcium externe joue donc un rôle important. Ce n'est pas le cas de toutes les oscillations de forme connues : l'oscillation générée par rupture du cortex (voir ref. [110] et chapitre I) ne dépend apparemment pas du calcium (E. Paluch, communication privée). En revanche les auteurs de la réf. [115] ont étudié l'oscillation de formes de fibroblastes adhérents à un substrat, dont les microtubules ont été dépolymérisés, et qui sont dépendantes du calcium. Dans ce cas la cellule est en partie étalée sur le substrat, et le corps de la cellule qui n'est pas encore étalé montre des périodes de contraction et relaxation périodiques (fig III.5). Les auteurs de cet article ont pu montrer que l'évolution de la concentration de calcium interne est très bien corrélée avec l'oscillation.

Dans notre cas nous n'avons pas pu observer précisément l'évolution du calcium interne, à cause du photoblanchiment de la sonde calcique utilisée (Fluo4-AM), et de la difficulté d'observer des variations spatiales de fluorescence dans une cellule en suspension qui peut librement subir des rotations et des translations globales.

A.4 Influence des traitements agissant sur la myosine

Nous supposons que cette oscillation est due au comportement de la couche corticale, elle doit donc être sensible aux traitements qui perturbent la myosine. L'application de quatre traitements différents le montre :

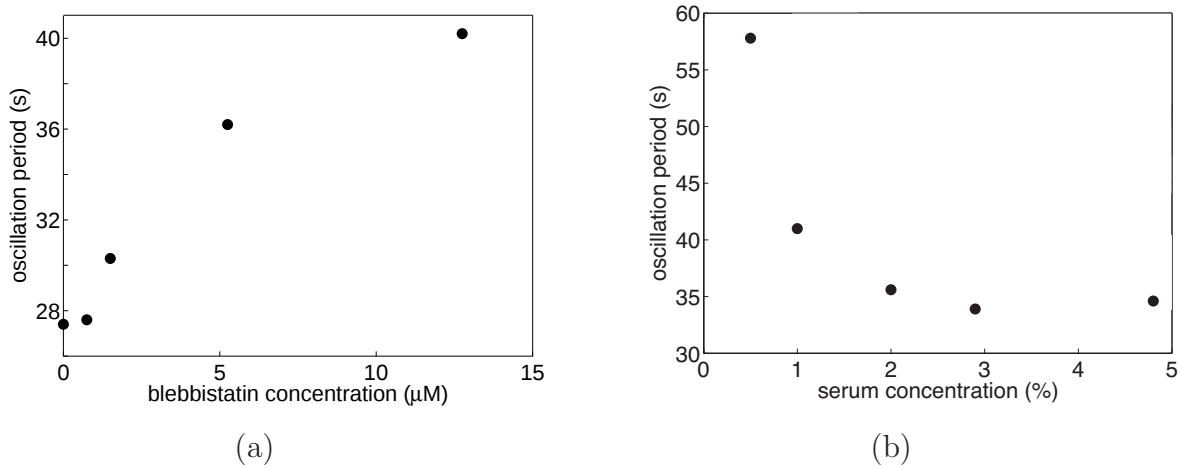


FIG. III.6: Période d'oscillation d'une cellule en fonction de la concentration de blebbistatine (a) et de la concentration en sérum activateur de Rho (LPA) à 35.5 °C. Les oscillations s'affaiblissent, deviennent erratiques en approchant de $15\mu M$, et s'arrêtent au-delà de cette concentration.

- La blebbistatine, un agent qui bloque l'attachement des myosines aux filaments d'actine[77], ralentit l'oscillation (fig. III.6)(a). A une concentration suffisamment élevée ($\sim 15\mu M$) l'oscillation s'arrête.
- Y27632 est un inhibiteur de Rho-kinase [68] qui est une protéine activatrice de myosine (voir chapitre I). L'ajout de $25\mu M$ de cette drogue arrête l'oscillation.
- L'acide lisophosphatidic (LPA) est un activateur de Rho[98, 97]. L'ajout graduel de cette drogue augmente la fréquence de l'oscillation (fig III.6(b))

- ML-7 bloque MLCK [127], la kinase directement responsable de la phosphorylation de la myosine. En présence de ML-7 l'oscillation s'arrête.

Toutes ces données sont cohérentes et montrent que la fréquence de l'oscillation dépend du niveau d'activité des myosines dans la cellule : plus il y a de myosines actives, plus l'oscillation est rapide.

B Description du modèle

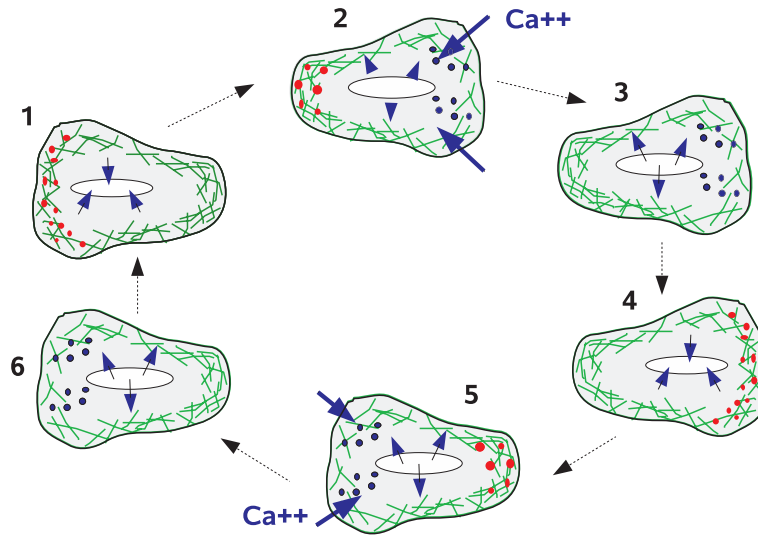


FIG. III.7: Schéma du mécanisme de l'oscillation que nous proposons. Le calcium est représenté par des points bleus et les myosines phosphorylées par des points rouges. Initialement le cortex d'actine se contracte en un côté de la cellule (1), (2), ce qui entraîne l'étirement du côté opposé et l'ouverture des canaux mécanosensibles (2). Un flux de calcium entre dans la cellule (3) et active indirectement la phosphorylation de myosines qui s'attachent au gel (4) et y exercent des contraintes qui le contractent. Le cycle se répète alors de l'autre côté de la cellule (5), (6), (1).

Les différentes observations réalisées par P. Pullarkat, ainsi que l'observation directe d'oscillation du calcium reportée dans Pletjushkina&al[115], nous ont conduit à penser que la dynamique du cortex devait être couplée à celle du calcium. Certaines expériences tendent à montrer que des canaux mécanosensibles sont présents dans la membrane de ces fibroblastes[5], et l'oscillation semble dépendante de leur fonctionnement(A.3), ces canaux sont donc susceptibles d'être à l'origine du couplage.

Il est également important de noter que l'oscillation n'est probablement pas dominée par un mécanisme spatialement homogène. En effet pour les raisons exposées dans le chapitre II, le volume de la cellule ne peut pas varier sensiblement en réponse à la pression exercée dans le cortex et dans les temps caractéristiques de l'oscillation. En d'autres termes, la variation du mode 0 de la déformation de la cellule est négligeable, ce que nous explicitons dans le paragraphe *Mode isotrope* de la section B.3.2.

En conséquence, nous proposons le mécanisme suivant pour l'oscillation (fig III.7) : du fait de l'instabilité du cortex, il s'étire et devient plus fin dans une région de la cellule. Les canaux calciques s'ouvrent en réponse à cette déformation, ce qui fait rentrer du calcium dans la cellule. Le calcium s'attache à la calmoduline, qui s'attache à la kinase MLCK. Le complexe ainsi formé phosphoryle localement les myosines, ce qui génère une contrainte dans le cortex qui tend à le comprimer. Cette compression entraîne l'étirement d'une autre région du cortex, ce qui déclenche la même cascade d'événement dans un autre lieu de la cellule. Si la contrainte se propage sur une région suffisamment large, l'instabilité a lieu de part et d'autre de la cellule. Dans les sections suivantes nous précisons comment nous modélisons chacun de ces mécanismes.

B.1 Canaux mécanosensibles

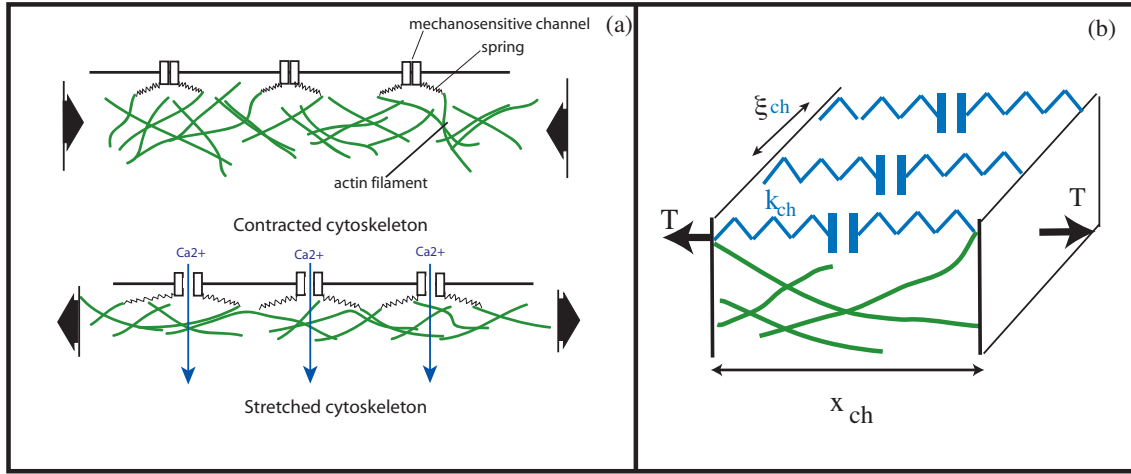


FIG. III.8: Couplage entre le cortex et les canaux mécanosensibles : nous supposons que des ressorts de raideur k_{ch} relient les canaux aux filaments d'actine. (a) Les canaux s'ouvrent lorsque le cortex est étiré (b) Schéma des grandeurs associées à un canal

A notre connaissance les seules expériences qui montrent l'existence de canaux mécanosensibles dans les fibroblastes [5, 52] sont indirectes : la cellule est attachée à un substrat déformable. En réponse à une déformation de l'ordre de 1 à 2% le niveau de calcium intracellulaire s'élève du niveau de base $100nM$ à des concentrations de l'ordre de 200-500 nM. Un deuxième type d'expérience consiste à tirer sur une cellule reliée à une deuxième cellule à travers une jonction cellulaire, les résultats sont similaires [76].

Le substrat étant attaché à des complexes d'adhésion qui sont eux-mêmes reliés au cytosquelette, il est probable que les canaux sont reliés au cortex, par une protéine jouant le rôle de ressort par exemple, et qu'ils s'ouvrent en réponse à la contrainte développée dans le cortex. En effet certains canaux (MLSC, canaux de large conductance par exemple) sont sensibles à la déformation de la membrane lipidique directement, leur rôle étant d'assurer une réponse aux déformations de

grande amplitude de la surface de la cellule [58]. Il paraît cependant improbable que le même type de canal joue un rôle dans la réponse calcique, du fait de la faible déformation imposée, et de l'impossibilité pour les complexes focaux de transmettre une contrainte latérale à la membrane fluide.

Notre hypothèse est donc que le cortex lui-même transmet la contrainte. Cela supposerait que la réponse mécanosensible peut avoir lieu non seulement en réponse à une déformation extérieure, mais aussi à une perturbation interne du cortex (fig. III.8(a)). Cela est cohérent avec les oscillations de calcium de Pletjushkina & al qui sont observées dans des cellules non perturbées mécaniquement [115]. Il n'existe pas cependant à notre connaissance de preuve directe de l'existence de ce type de canaux [58].

Nous considérons que les canaux sont contrôlés par la déformation locale du cortex : ceci se produit si le lien élastique entre le canal et le cortex a une faible raideur comparée au module élastique du cortex. Considérons en effet l'exemple le plus simple de canaux parallèles séparés d'une distance ξ_{ch} , et reliés par des ressorts de raideur k_{ch} au cortex, l'ensemble du système étant soumis à une tension T (voir fig. III.8(b)). L'équilibre des forces impose que

$$T = \frac{k_{ch}\Delta x}{\xi_{ch}} + Ee \frac{\Delta x}{x_{ch}} \quad (\text{III.1})$$

où x_{ch} est la longueur totale du canal et des ressorts, ξ_{ch} est la distance transversale entre canaux, et Δx est la déformation du système en réponse à la tension T . Dans la limite $k \frac{x_{ch}}{\xi_{ch}} \ll Ee$ la déformation ne dépend que du cortex, et vaut dans cet exemple :

$$\Delta x = x_{ch} \frac{T}{Ee} \quad (\text{III.2})$$

et la force subie par le canal est

$$f = k_{ch}\Delta x \quad (\text{III.3})$$

et ne dépend que de la déformation imposée par le cortex. Dans le cas viscoélastique on peut tenir le même raisonnement, la partie viscoélastique de la tension s'écrivant en transformée de Fourier $Ee \frac{\tau\omega}{1+\tau\omega} \frac{\Delta x}{x_{ch}}$. En supposant que l'oscillation est sinusoïdale on peut écrire $\omega = \frac{2\pi}{\tau_{osc}}$ ou τ_{osc} est le temps typique de l'oscillation. On peut donc négliger l'élasticité des canaux dans la limite

$$k \frac{x_{ch}}{\xi_{ch}} \ll \frac{Ee}{1 + \frac{\tau_{osc}}{2\pi\tau}} \quad (\text{III.4})$$

que nous supposons vérifiée.

Dans un modèle à deux états pour le canal, la probabilité d'ouverture est donnée par une équation de Fermi [26]

$$p_0(x) = \frac{1}{1 + \exp(-\frac{x-x_c}{x_{\frac{1}{2}}})} \quad (\text{III.5})$$

où x est donc la déformation locale du cortex : ici nous supposons que les canaux n'ont pas de direction privilégiée et nous prenons la déformation surfacique

$$x = \frac{\Delta S}{S} = u_{t1t1} + u_{t2t2} \quad (\text{III.6})$$

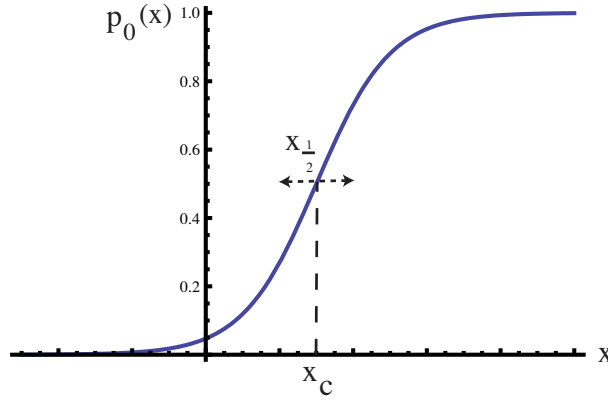


FIG. III.9: Probabilité d'ouverture du canal en fonction de la déformation du cortex x : sigmoïde centrée sur la déformation critique x_c et de largeur $x_{\frac{1}{2}}$

où $t1$ et $t2$ sont les directions tangentes au cortex. Les paramètres x_c et $x_{\frac{1}{2}}$ sont respectivement la déformation critique pour ouvrir le canal et la sensibilité du canal à la déformation. Le profil correspondant a une allure sigmoïdale (fig. III.9), centrée sur x_c et de largeur caractéristique $x_{\frac{1}{2}}$. Il est difficile d'estimer ces paramètres : la technique du substrat élastique [5] donne une limite supérieure (2%) de la déformation critique car les auteurs ne font pas varier l'amplitude de la déformation. Les auteurs des références [22] et [24] obtiennent des courbes de réponse dans le cas des ostéoblastes (les ostéoblastes comme les fibroblastes élèvent leur concentration en calcium interne en réponse à la déformation de leur surface), mais les valeurs de déformation critique varient de 2% avec une technique utilisant un AFM, à une valeur de 800% en utilisant l'aspiration par micropipette et un modèle élastique du milieu interne de la cellule. x_c et $x_{\frac{1}{2}}$ nous sont donc inaccessibles, mais nous supposons que leur valeur est dans le domaine de déformation linéaire du cortex ($x_c \ll 1$). L'ouverture du canal déclenche un flux de calcium dans la cellule qui est dû à la somme du transport par diffusion et par la force électrique, et qui s'écrit

$$J^{Ca}(x) = \left(\frac{kT}{2e} \ln \left(\frac{[Ca]_{out}}{[Ca]_{in}} \right) + \Delta V \right) \frac{g}{2e} p_0(x) \quad (\text{III.7})$$

où le terme logarithmique est dû à la diffusion, ΔV est le potentiel membranaire et g est la conductance d'un canal ouvert. En pratique la cellule maintient une grande différence de concentration de part et d'autre de la membrane ($[Ca]_{out} = 1mM$, $[Ca]_{in} = 100nM$) de sorte que le flux de calcium est dû principalement à la diffusion. Pour une conductance de $g = 60pS$ [137] le flux molaire par canal est de l'ordre de $4 \cdot 10^{-17} p_o(x) mol.s^{-1}$.

B.2 Régulation de l'activité des myosines par le calcium

B.2.1 Effet du calcium interne

L'élévation de calcium interne peut avoir plusieurs effets :

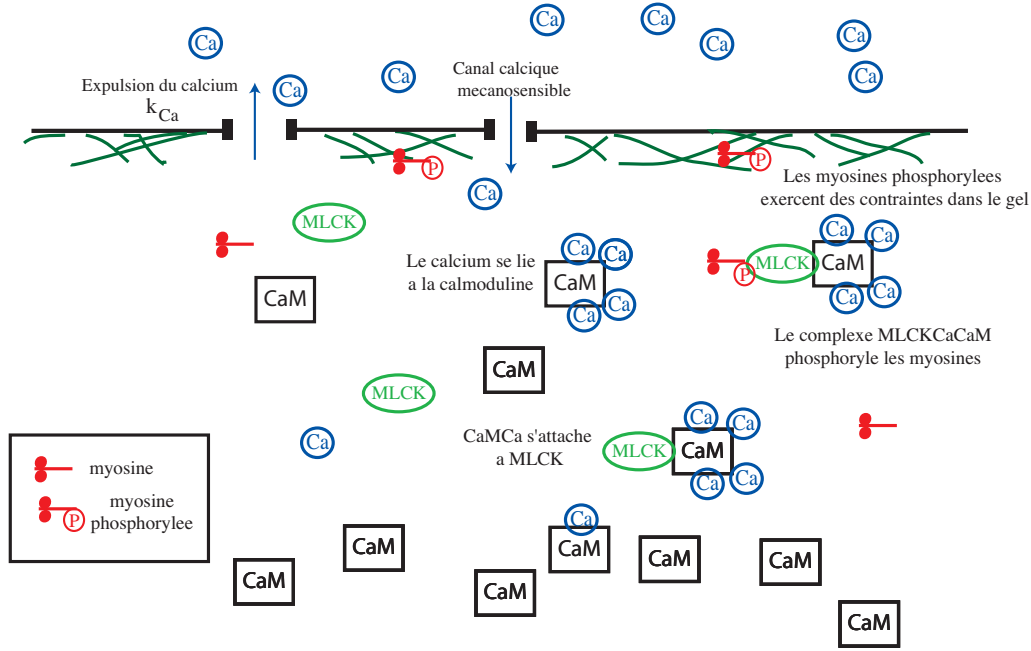


FIG. III.10: Action du calcium sur les myosines : le calcium se lie à la calmoduline, qui forme un complexe avec MLCK, capable de phosphoryler la chaîne légère régulatrice des myosines. Les myosines phosphorylées peuvent s'assembler en oligomères et exercer des contraintes dans le cortex. La cellule expulse activement du calcium pour réguler la concentration interne en calcium libre.

- Activation de la gelsoline, qui est une protéine régulatrice de l'actine, capable de couper et coiffer ses filaments. En moyenne elle semble réduire le module élastique du gel E [69].
- Activation de la calmoduline, qui régule MLCK, une protéine régulatrice de la chaîne légère des myosines.

Ces deux effets vont dans le même sens : ils augmentent le rapport $\frac{\zeta \Delta \mu}{E}$ qui est le paramètre important puisqu'il contrôle la déformation du gel. Dans ce qui suit nous n'avons considéré que ce second effet, mais inclure le premier à l'ordre linéaire ou nous développons les équations ne nécessite qu'une renormalisation des paramètres du modèle.

B.2.2 Diffusion dans la cellule

Le premier problème concerne la distribution spatiale de la réponse à l'entrée locale de calcium dans la cellule. Le calcium diffuse très rapidement dans la cellule ($D_{Ca} \simeq 225 - 300 \mu m^2 . s^{-1}$ [3, 162]), mais il est cependant raisonnable de supposer que la réponse est locale, pour les raisons suivantes :

- Une grande partie du calcium entrant dans la cellule est tamponné par des protéines, et particulièrement par la calmoduline. Les estimations réalisées ci-dessous montrent que dans les conditions physiologiques, environ 90% des nouveaux ions calcium entrant dans la cellule s'attachent à la calmoduline. De plus dans ces conditions la cinétique de la réaction d'accrochage du calcium

à la calmoduline est rapide devant la diffusion du calcium : celle-ci est donc écrantée sur une longueur $l_D^{Ca} \sim \sqrt{\frac{D_{[Ca]}}{k_{on}[CaM]}}$ où k_{on} est le taux d'accrochage du calcium à la calmoduline. Avec les valeurs $k_{on} \sim 100\mu M.s^{-1}$ et $[CaM] = 10\mu M$ on trouve $l_D^{Ca} \simeq 0.5\mu m$.

- La calmoduline diffuse beaucoup plus lentement dans le cytosol que le calcium ($D_{CaM} = 0.2\mu m^2.s^{-1}$ [90]). La longueur caractéristique sur laquelle elle diffuse peut être estimée par $l_D \sim \sqrt{D_{CaM}k_{Ca}^{-1}} \sim 6\mu m$ où $k_{Ca}^{-1} \simeq 200s$ est le temps typique de réabsorption du calcium introduit plus bas dans l'éq. III.8.

Nous supposons donc dans ce qui suit que toutes les réactions ont lieu localement. En particulier nous négligeons la diffusion latérale qui pourrait coupler les harmoniques sphériques que nous introduisons plus loin, une approximation valable pour les modes $n < \sqrt{\frac{R}{l_D}}$ ou n est le numéro de l'harmonique.

B.2.3 Equation de perméation du calcium

Ayant supposé que la diffusion était écrantée nous pouvons écrire des équations de conservation globales appliquées à la concentration moyenne sur la longueur d'écrantage. Nous supposons que la cellule régule sa concentration interne en calcium avec un taux k_{Ca} , du fait de la présence de pompes dans la membrane expulsant activement le calcium, ou de l'absorption du calcium dans des réservoirs internes. La concentration de repos $[Ca]_{cell}$ est de l'ordre de $100nM$ et les expériences d'induction de flux de calcium par déformation de la cellule [76] montrent que le temps typique de rétablissement du niveau interne de calcium est de l'ordre de $100s$, soit $k_{Ca} \sim 0.01s^{-1}$.

La variation de calcium totale peut donc être écrite

$$\frac{d[Ca]_{total}}{dt} = -k_{Ca}([Ca]_{free} - [Ca]_{cell}) + \frac{\rho J_{[Ca]}}{l_D} \quad (III.8)$$

où ρ est la concentration surfacique de canaux dans la membrane, dont nous ne connaissons pas la valeur et $J_{[Ca]}$ est le flux d'un seul canal défini dans la section précédente.

Le réticulum endoplasmique est également capable de produire un influx de calcium en réponse à une faible augmentation de calcium à travers la membrane. Nous n'incluons pas explicitement cet effet ici, la réf. [76] montrant que dans des conditions similaires aux nôtres les réservoirs internes de calcium ne sont pas en jeu dans l'influx de calcium. On peut remarquer cependant que si la signalisation conduisant à l'ouverture des réservoirs est suffisamment rapide et locale, inclure ces effets ne modifiera pas la forme de l'équation.

En introduisant la concentration de calcium liée $[Ca]_{bound}$ et en écrivant $[Ca]_{total} = [Ca]_{free} + [Ca]_{bound}$, la variation de calcium libre locale est donnée par

$$\frac{d[Ca]_{free}}{dt} = \frac{1}{1 + \frac{d[Ca]_{bound}}{d[Ca]_{free}}} \left[-k_{Ca}([Ca]_{free} - [Ca]_{cell}) + \lambda p_0(x) \right] \quad (III.9)$$

où

$$\lambda = \frac{\rho}{a N_A 2e} \left(\frac{kT}{2e} \ln \left(\frac{[Ca]_{out}}{[Ca]_{in}} \right) + \Delta V \right) \quad (III.10)$$

est le taux effectif de variation de la concentration en calcium, et $[Ca]_{bound} \left([Ca]_{free} \right)$ est la fonction donnant la concentration de calcium lié à la calmoduline à l'équilibre.

Comme nous l'avons précisé plus tot notre hypothese d'écrantage ne tient que si une grande partie du calcium est attachée, c'est-à-dire si $\frac{d[Ca]_{bound}}{d[Ca]} \gg 1$. Dans la section suivante nous étudions plus précisément les conditions de validité de cette hypothèse.

B.2.4 Réactions chimiques

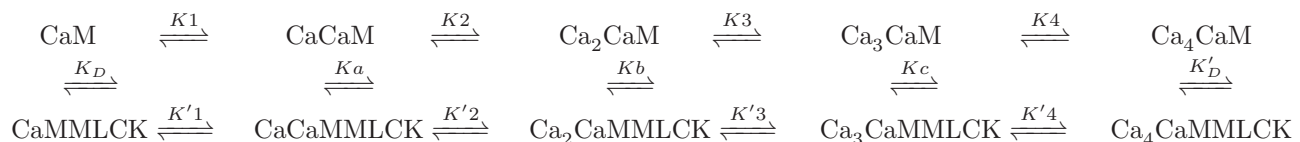
Dans cette section nous essayons de décrire les réactions chimiques déclenchées par l'arrivée du calcium. Nous considérons 4 protéines en jeu : la calmoduline (notée CaM), la kinase de la chaine légère des myosines (notée MLCK pour myosin light chain kinase), la phosphatase de la chaine légère des myosines (notée MLCP pour myosin light chain phosphatase), et la myosine elle-même, notée MLC dans sa forme déphosphorylée et MLC-P dans sa forme phosphorylée. Le tableau III.1 donne les concentrations cellulaires typiques de chacune de ces proteines telle que nous les avons trouvées dans la litterature, et la figure III.10 récapitule schématiquement l'ensemble des réactions.

protéine	concentration totale (μM)	Références
CaM	8.8	[10]
MLCK	10	[91]
MLCP	1.2	[61]
MLC	24	[91]

TAB. III.1: Concentrations totales des protéines intervenant dans la régulation des myosines par le calcium

Formation des complexes MLCKCaCaM

La calmoduline peut se lier à 4 calciums et à la protéine MLCK. Le complexe peut donc exister sous 10 formes différentes et l'ensemble de réactions le plus général est résumé ci-dessous :



Les taux de réaction donnés dans la littérature [71] sont supérieurs à $1\mu Ms^{-1}$, nous pouvons donc supposer qu'aux concentrations physiologiques, (supérieures à $1\mu M$, voir tab. III.1) l'équilibre est atteint rapidement, en moins d'une seconde, donc beaucoup plus rapidement que la période d'une oscillation. Nous nous intéressons donc uniquement à l'équilibre et omettons l'aspect cinétique. A l'équilibre chimique, seules 9 des 13 constantes de dissociation introduites sont indépendantes. Nous gardons donc uniquement $K1, K2, K3, K4, K_D, K'1, K'2, K'3, K'4$. En minimisant l'energie de Gibbs et en utilisant la conservation de la matière on obtient

la série d'équations suivante (l'indice T indique la quantité totale d'une espèce chimique)

$$[\text{CaM}]_T = [\text{CaM}] \left(1 + \frac{[\text{Ca}]}{K_1} + \frac{[\text{Ca}]^2}{K_1 K_2} + \frac{[\text{Ca}]^3}{K_1 K_2 K_3} + \frac{[\text{Ca}]^4}{K_1 K_2 K_3 K_4} + \frac{[\text{MLCK}]}{K_D} \left(1 + \frac{[\text{Ca}]}{K'_1} + \frac{[\text{Ca}]^2}{K'_1 K'_2} + \frac{[\text{Ca}]^3}{K'_1 K'_2 K'_3} + \frac{[\text{Ca}]^4}{K'_1 K'_2 K'_3 K'_4} \right) \right) \quad (\text{III.11})$$

$$[\text{Ca}]_{\text{bound}} = [\text{CaM}] \left(\frac{[\text{Ca}]}{K_1} + 2 \frac{[\text{Ca}]^2}{K_1 K_2} + 3 \frac{[\text{Ca}]^3}{K_1 K_2 K_3} + 4 \frac{[\text{Ca}]^4}{K_1 K_2 K_3 K_4} + \frac{[\text{MLCK}]}{K_D} \left(\frac{[\text{Ca}]}{K'_1} + 2 \frac{[\text{Ca}]^2}{K'_1 K'_2} + 3 \frac{[\text{Ca}]^3}{K'_1 K'_2 K'_3} + 4 \frac{[\text{Ca}]^4}{K'_1 K'_2 K'_3 K'_4} \right) \right) \quad (\text{III.12})$$

$$[\text{MLCK}]_{\text{bound}} = [\text{CaM}] \frac{[\text{MLCK}]}{K_D} \left(1 + \frac{[\text{Ca}]}{K'_1} + 2 \frac{[\text{Ca}]^2}{K'_1 K'_2} + 3 \frac{[\text{Ca}]^3}{K'_1 K'_2 K'_3} + 4 \frac{[\text{Ca}]^4}{K'_1 K'_2 K'_3 K'_4} \right) \quad (\text{III.13})$$

$$[\text{MLCK}]_{\text{bound}} + [\text{MLCK}] = [\text{MLCK}]_T \quad (\text{III.14})$$

$$[\text{Ca}]_{\text{bound}} + [\text{Ca}] = [\text{Ca}]_T \quad (\text{III.15})$$

où nous notons $[\text{Ca}] = [\text{Ca}]_{\text{free}}$ pour simplifier. L'équilibre est complètement décrit par ces équations. Le calcul nécessiterait la connaissance de toutes les constantes de dissociation, mais malgré une littérature abondante sur le sujet, nous n'avons pas pu les obtenir : les mesures sont en général réalisées à une concentration donnée de calmoduline ou de MLCK, puis elles sont ajustées à une fonction de Hill phénoménologique

$$\frac{[\text{Ca}]_{\text{bound}}}{[\text{CaM}]_T} = 4 \frac{[\text{Ca}]_{\text{free}}^\alpha}{K^\alpha + [\text{Ca}]_{\text{free}}^\alpha} \quad (\text{III.16})$$

où le coefficient de Hill $1 < \alpha < 4$ est considéré comme une mesure de la coopérativité de l'association de calcium à la protéine : si $\alpha = 1$ les 4 calciums s'attachent indépendamment les uns des autres, si $\alpha = 4$ ils se lient à la protéine simultanément. Pour $[\text{Ca}] \ll K$, $[\text{Ca}]_{\text{bound}} \simeq 0$ et pour $[\text{Ca}] \gg K$, $[\text{Ca}]_{\text{bound}} \simeq 4[\text{CaM}]_T$ (tous les sites disponibles de la calmoduline sont occupés). L'intérêt de cet ajustement est de rendre bien compte de l'allure sigmoïdale des courbes de liaison du calcium. K en particulier est la concentration de demi-occupation des sites d'attachement. Son inconvénient est de n'être valable que dans certaines conditions de concentration de MLCK et CaM. Comme par ailleurs il est difficile de remonter de ce type de mesure au calcul des constantes de dissociation K_i (car il y en a 9 à obtenir et nous n'avons que peu de valeurs) nous ne pouvons pas appliquer le calcul le plus général. Nous utilisons donc une fonction de Hill, dont les paramètres sont obtenus en utilisant les mesures existantes dans les conditions les plus proches du notre : à une concentration de calmoduline $[\text{CaM}] = 5\mu\text{M}$ et en présence d'une forme homologue de MLCK exprimée dans les cellules du squelette, la MLCK squelettale, à une concentration $[\text{skMLCK}] = 1.5\text{CaM}$ (proches des concentrations physiologiques $[\text{CaM}] \simeq 8.8\mu\text{M}$ et $[\text{MLCK}] \simeq 10\mu\text{M}$, voir tab. III.1), les données mesurées par les auteurs de la réf.[141] donnent $\alpha = 1.33$ et $K = 1.88\mu\text{M}$.

Nous pouvons utiliser ces données pour évaluer la fraction de calcium entrant dans la cellule s'attachant à la calmoduline : supposons que le calcium ait une

concentration interne $[\text{Ca}]_{\text{free}}^0$, perturbée par une quantité $\delta[\text{Ca}]$ de calcium entrant dans la cellule. Une partie de ce calcium se lie à la calmoduline de sorte que $\delta[\text{Ca}] = \delta[\text{Ca}]_{\text{free}} + \delta[\text{Ca}]_{\text{bound}}$ et donc $\frac{\delta[\text{Ca}]_{\text{bound}}}{\delta[\text{Ca}]} = \frac{\frac{d[\text{Ca}]_{\text{bound}}}{d[\text{Ca}]_{\text{free}}}}{1 + \frac{d[\text{Ca}]_{\text{bound}}}{d[\text{Ca}]_{\text{free}}}}$ soit

$$\frac{\delta[\text{Ca}]_{\text{bound}}}{\delta[\text{Ca}]} = \frac{1}{1 + \frac{K}{4\alpha[\text{CaM}]_T} \frac{[\text{Ca}]}{K} \left(1 + \left(\frac{K}{[\text{Ca}]}\right)^\alpha\right) \left(1 + \left(\frac{[\text{Ca}]}{K}\right)^\alpha\right)} \quad (\text{III.17})$$

Cette fonction est tracée sur la fig. III.11. Pour des valeurs du calcium libre interne $10nM < [\text{Ca}]_{\text{free}}^0 < 2\mu M$, ce qu'il est raisonnable de supposer sachant que pour une cellule au repos $[\text{Ca}]_{\text{free}} = 100nM$, le rapport est d'ordre $\frac{1}{1 + \frac{K}{[\text{CaM}]_T}} \sim 0.9$. En d'autres termes 90% du calcium entrant est tamponné par la calmoduline. Au delà d'une concentration en calcium libre de $2\mu M$ la courbe décroît rapidement : tous les sites de liaison des calmodulines présentes dans la cellule sont occupés et dans ce cas le calcium entrant n'est plus tamponné.

Pour en déduire la fraction de calmoduline attachée à MLCK, nous notons que la calmoduline liée au calcium s'attache très fortement à MLCK ($K_{\text{MLCK}} = 0.001\mu M$, [73]). Pour simplifier nous supposons donc que cette réaction est totale, et donc que tous les complexes CaCaM comportant au moins un calcium sont liés à MLCK (au moins dans le régime où MLCK n'est pas limitant). Nous notons donc MLCKCaMCa l'ensemble de ces complexes.

On peut remarquer à la lecture des équations III.11 que si on note P le polynôme $P([\text{Ca}]) = 1 + \frac{[\text{Ca}]}{K_1} + \frac{[\text{Ca}]^2}{K_1 K_2} + \frac{[\text{Ca}]^3}{K_1 K_2 K_3} + \frac{[\text{Ca}]^4}{K_1 K_2 K_3 K_4}$, alors on peut écrire de façon générale

$$[\text{CaM}] = \frac{[\text{CaM}]_T}{P([\text{Ca}])} \quad (\text{III.18})$$

$$[\text{Ca}]_{\text{bound}} = [\text{CaM}]_T [\text{Ca}] \frac{P'([\text{Ca}])}{P([\text{Ca}])} \quad (\text{III.19})$$

Supposant maintenant que l'équation phénoménologique III.16 donnant $[\text{Ca}]_{\text{bound}}([\text{Ca}])$ est valable, l'élimination de $P([\text{Ca}])$ entre les équations III.18 et III.19 donne

$$[\text{CaM}] = [\text{CaM}]_T \frac{1}{\left(1 + \left(\frac{[\text{Ca}]}{K}\right)^\alpha\right)^{\frac{4}{\alpha}}} \quad (\text{III.20})$$

$$[\text{MLCKCaMCa}] = [\text{CaM}]_T \left[1 - \frac{1}{\left(1 + \left(\frac{[\text{Ca}]}{K}\right)^\alpha\right)^{\frac{4}{\alpha}}} \right] \quad (\text{III.21})$$

L'eq. III.21 donne la concentration de complexe formé en fonction de la concentration en calcium libre. Précisons qu'elle n'est plus valable quand $[\text{MLCKCaMCa}] > [\text{MLCK}]_T$: dans ce cas la kinase est saturée et $[\text{MLCKCaMCa}] = [\text{MLCK}]_T$. Nous considérons dans la suite que tous ces complexes MLCKCaMCa sont capables de phosphoryler les myosines.

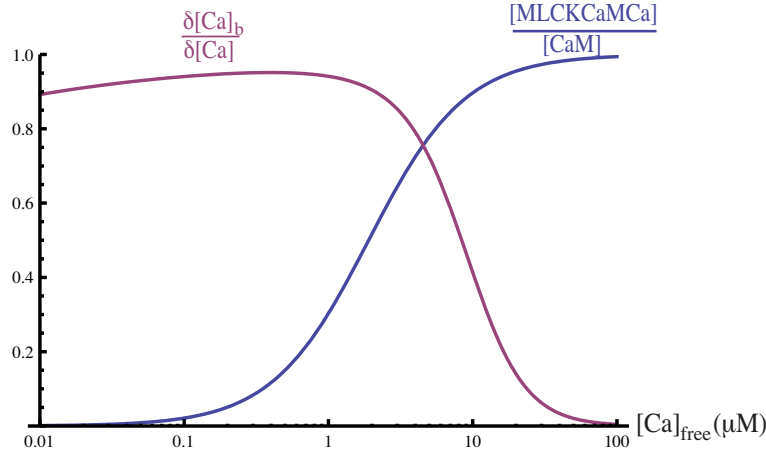


FIG. III.11: Fraction à l'équilibre de complexe formé à partir de la calmoduline (courbe bleue) et fraction de calcium entrant se liant à la calmoduline $\frac{\delta[Ca]_b}{\delta[Ca]}$ (courbe rouge) en fonction de la concentration en calcium libre $[Ca]_{\text{free}}$. Ces 2 courbes sont calculées à partir du modèle décrit dans le texte.

Phosphorylation de la chaîne légère de régulation des myosines

Le deuxième ensemble de réactions concerne la régulation de la chaîne légère de la myosine, qui fait intervenir deux protéines : les complexes MLCKCaMCa qui catalysent la phosphorylation de la chaîne et la phosphatase MLCP qui catalyse sa déphosphorylation. MLCP est a priori insensible au calcium. Notant respectivement MLCP et MLC les formes phosphorylée et non phosphorylée des myosines, on peut écrire les deux réactions du tableau III.2 ([91]) : L'équilibre entre ces deux réactions

Cinétique de l'enzyme	K_m	Taux de catalyse
$MLC + MLCKCaMCa \rightleftharpoons MLC-P$	$K_m^+ = 10\mu M$	$k^+ = 27s^{-1}$
$MLC-P + MLCP \rightleftharpoons MLC$	$K_m^- = 15\mu M$	$k^- = 16s^{-1}$

TAB. III.2: Réaction de phosphorylation et déphosphorylation des myosines, reproduit de [91]

antagonistes donne la quantité de forme phosphorylée MLC-P. La phosphorylation stimule l'activité ATP-ase des myosines et permet leur assemblage en oligomères [14] : ce sont donc les myosines phosphorylées qui exercent des contraintes dans le gel. Nous obtenons leur concentration en équilibrant deux cinétiques de Michaelis-Menten et en écrivant la conservation du nombre de myosines :

$$k^+[MLCKCaMCa]\frac{[MLC]}{K_m^+[MLC]} = k^-[MLCP]\frac{[MLC-P]}{K_m^-+[MLC-P]} \quad (\text{III.22})$$

$$[MLC] + [MLC-P] = [MLC]_T \quad (\text{III.23})$$

En résolvant les eqs. III.22 et III.23 on obtient la concentration en myosines phosphorylées $[MLC-P]$ en fonction de la concentration en complexe MLCKCaMCa. La

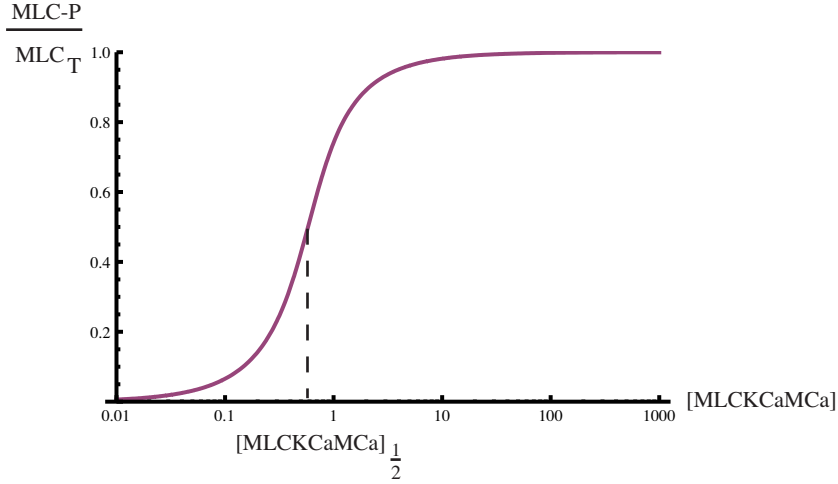


FIG. III.12: Fraction à l'équilibre de myosines phosphorylées, en fonction de la concentration en complexe MLCKCaM (eqs. III.22-III.23)

solution est tracée sur la fig. III.12 avec les paramètres des tableaux III.1 et III.2 : elle est d'allure sigmoïdale, centrée sur une concentration de demi-phosphorylation

$$[\text{MLCKCaM}]_{\frac{1}{2}} = \frac{k^-}{k^+} \frac{2K^+ + [\text{MLC}]_T}{2K^- + [\text{MLC}]_T} [\text{MLCP}] \quad (\text{III.24})$$

On peut donc déduire la concentration de myosines phosphorylées en fonction de la concentration de calcium libre à l'équilibre, l'éq. III.21 donnant la quantité de complexe MLCKCaM formé en fonction de $[\text{Ca}]_{\text{free}}$ et les eqs. III.22 et III.23 la quantité de MLC-P. Nous traçons la fonction obtenue $[\text{MLC-P}]/([\text{Ca}])$ avec les valeurs numériques que nous avons introduites jusqu'ici sur la figure III.13(a). Le profil est encore d'allure sigmoïdale, et a une concentration de demi-phosphorylation maximale de 100 nM . Afin de vérifier que notre modèle est plausible nous essayons également de reproduire les données expérimentales de Taylor&Stull [141], qui mesurent directement la fraction de myosines phosphorylées dans des cellules de muscle lisse soumises à différentes concentrations de calcium. Il faut remarquer que ces résultats sont obtenus dans un type de cellule différent des fibroblastes. En corrigeant les concentrations $[\text{MLCP}] = 12\mu\text{M}$ et $[\text{CaM}] = 15\mu\text{M}$ (non précisées dans l'article) nous pouvons cependant ajuster leurs résultats avec une bonne précision (fig. III.13(b)). Une détermination exacte de la forme de la courbe est de toute façon difficile : les concentrations des protéines impliquées ne sont pas connues avec assez de précision, et elles peuvent varier d'un type de cellule à l'autre, de même que les constantes de réaction. Soulignons cependant que les résultats expérimentaux semblent valider notre modélisation et les valeurs choisies pour les paramètres.

Nous tirons de ces calculs une conclusion essentielle : ce système de signalisation a un profil sigmoïdal de réponse au calcium avec une concentration caractéristique ($\sim 100 - 300\text{ nM}$) très proche de la concentration intracellulaire de référence maintenue par la cellule ($[\text{Ca}] \sim 100\text{ nM}$). En d'autres termes, cela suggère que la cellule a un point de fonctionnement qui lui permet de phosphoryler beaucoup de myosines en réponse à une faible élévation de calcium.

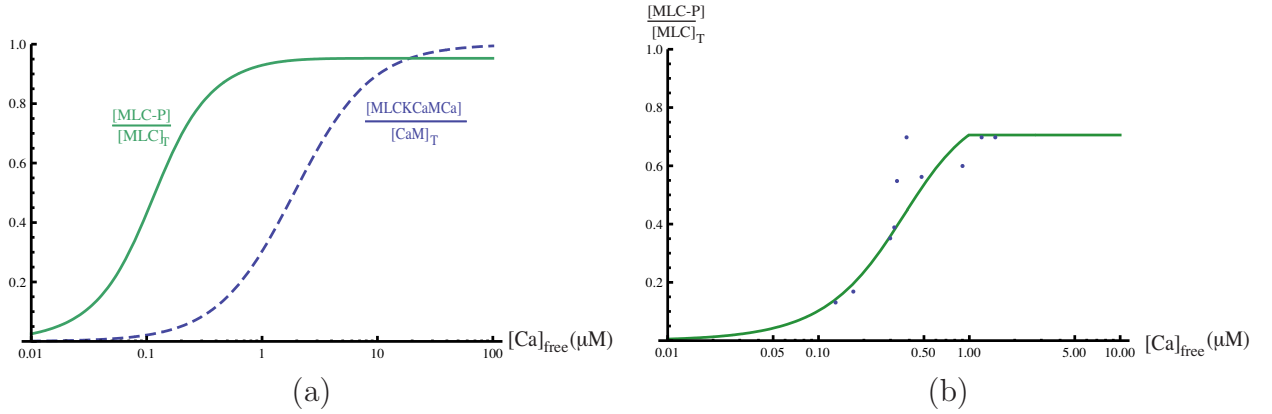


FIG. III.13: Fraction de myosine phosphorylée $\frac{[MLC-P]}{[MLC]_T}$ (courbe verte) en fonction de la concentration en calcium libre $[Ca]_{free}$: (a) avec les valeurs du tableau III.1. Près de la concentration en calcium libre de la cellule $[Ca]_{free} \simeq 100nM$ la sensibilité de la phosphorylation des myosines au calcium est maximale et une large fraction du calcium entrant se lie à la calmoduline. La courbe en pointillé donne la quantité de complexe formé avec la calmoduline (fig III.11). : on voit qu'aux concentrations physiologiques on est loin de la saturation. (b) Ajustement aux points expérimentaux reproduits de Taylor et Stull [141], avec le modèle décrit dans le texte et pour $[MLCP] = 12\mu M$ et $[CaM] = 15\mu M$.

Contrainte active

Les myosines phosphorylées s'attachent et se détachent du gel avec les taux k_a^+ et k_a^- , de sorte qu'à l'équilibre

$$[MLC-P]_{attache} = \frac{k_a^+([Bb])}{k_a^-} [MLC-P] \quad (III.25)$$

où nous avons explicitement introduit la dépendance du taux d'attachement à la blebbistatine, une drogue qui empêche la myosine de s'attacher aux filaments [77].

La contrainte active $\zeta \Delta \mu$ dépend en dernier lieu de la concentration de myosines attachée au gel. Dans un modèle naïf nous écrivons qu'elle lui est proportionnelle :

$$\zeta \Delta \mu = \zeta_0 [MLC-P] ([Ca]) \quad (III.26)$$

B.2.5 Linéarisation

Notre objectif étant de faire l'étude de la stabilité linéaire du système, nous devons linéariser les équations de réponse au calcium.

Définissons d'abord l'état stationnaire. En l'absence de perturbation de la couche, l'eq. III.9 donne la concentration de calcium dans la cellule

$$[Ca]_0 = [Ca]_{cell} + \frac{\lambda([Ca]_0, [Ca]_{out})}{k_{Ca}} p_0(x_0) \quad (III.27)$$

où λ défini dans l'eq. III.10 dépend des concentrations externes et internes en calcium. La concentration $[Ca]_0$ peut être différente de la concentration intracellulaire

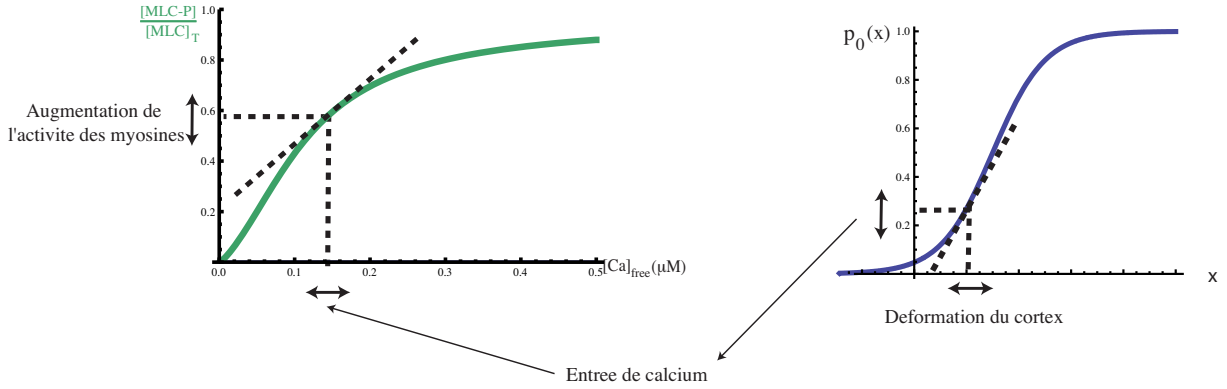


FIG. III.14: Schéma explicitant la définition du taux de rétroaction k_f . À droite, la réponse des canaux à la déformation est linéarisée autour de l'état stationnaire. Cette réponse crée un flux de calcium qui augmente la fraction de myosine phosphorylée : nous linéarisons également cette seconde réponse (courbe de gauche, reproduit de la fig. III.13 mais tracée en échelle linéaire). Le taux k_f rassemble ces deux mécanismes.

de référence $[Ca]_{cell}$ maintenue par les canaux qui ne sont pas mécanosensibles. Le calcium présent en excès déplace l'équilibre des réactions chimiques décrites ci-dessus (eq. III.26), ce qui crée une contrainte active $\zeta \Delta \mu_0 = \zeta_0 [MLC-P]([Ca]_0)$. x_0 est la déformation du cortex à l'état stationnaire : comme nous considérons que le gel est polymérisé sans déformation on doit avoir $x_0 = 0$, mais un autre choix ne modifierait pas notre calcul.

Cela définit de façon consistante les valeurs de $[Ca]_0$ et $\zeta \Delta \mu_0$, qui peuvent être calculées en fonction des paramètres du problème. Comme la plupart d'entre eux ne sont pas connus, nous n'essayons pas de donner une estimation numérique. Nous remarquons simplement que le blocage des canaux par le gadolinium ou le tamponnage du calcium externe annule ou diminue le coefficient λ (proportionnel à $\ln \frac{[Ca]_{out}}{[Ca]_{in}}$), ce qui en retour doit diminuer le calcium interne et donc l'activité des myosines $\zeta \Delta \mu_0$. Ceci peut expliquer, comme nous le verrons plus loin, que ces manipulations arrêtent également la formation de bleb.

Nous linéarisons maintenant l'équation III.9 autour de cet état en réponse à une perturbation de la déformation du cortex δx , ce qui donne

$$\frac{d\delta[Ca]_{free}}{dt} = \frac{-k_{[Ca]}}{1 + \frac{d[Ca]_{bound}}{d[Ca]}} \delta[Ca]_{free} + \frac{\lambda}{1 + \frac{d[Ca]_{bound}}{d[Ca]}} \left. \frac{dp_0}{dx} \right|_{x=x_0} \delta x \quad (III.28)$$

où nous avons négligé la variation du rapport $\frac{d[Ca]_{bound}}{d[Ca]_{free}}$, ce qui au vu de l'allure de la courbe correspondante de la fig. III.11 est une bonne approximation. Cette variation de calcium modifie la concentration de myosines phosphorylées $[MLC-P]([Ca])$ et donc l'activité des myosines, selon

$$\delta \zeta \Delta \mu = \zeta_0 \left. \frac{d[MLC-P]}{d[Ca]} \right|_{[Ca]=[Ca]_0} \delta[Ca]_{free} \quad (III.29)$$

soit en utilisant la valeur de référence $\zeta\Delta\mu = \zeta_0[\text{MLC-P}]([\text{Ca}])$

$$\frac{\delta\zeta\Delta\mu}{\zeta\Delta\mu} = \frac{1}{[\text{MLC-P}]} \frac{d[\text{MLC-P}]}{d[\text{Ca}]} \Big|_{[\text{Ca}]=[\text{Ca}]_0} \delta[\text{Ca}]_{\text{free}} \quad (\text{III.30})$$

En reportant dans l'équation III.9 on obtient donc une équation directe pour $\delta\zeta\Delta\mu$

$$\frac{d}{dt}\delta\zeta\Delta\mu = \frac{-k_{[\text{Ca}]}}{1 + \frac{d[\text{Ca}]_{\text{bound}}}{d[\text{Ca}]}} \delta\zeta\Delta\mu + \zeta\Delta\mu k_f \delta x \quad (\text{III.31})$$

où nous avons introduit le “taux de retroaction” k_f , défini par

$$\begin{aligned} k_f &= \frac{\lambda}{1 + \frac{d[\text{Ca}]_{\text{bound}}}{d[\text{Ca}]}} \frac{1}{[\text{MLC-P}]} \frac{d[\text{MLC-P}]}{d[\text{Ca}]} \Big|_{[\text{Ca}]=[\text{Ca}]_0} \frac{dp_0}{dx} \Big|_{x=x_0} \\ &\simeq \frac{\rho}{a} \frac{g}{N_A 2e} \frac{kT}{2e} \ln \left(\frac{[\text{Ca}]_{\text{out}}}{[\text{Ca}]_{\text{in}}} \right) \frac{1}{1 + \frac{d[\text{Ca}]_{\text{bound}}}{d[\text{Ca}]}} \frac{1}{[\text{MLC-P}]} \frac{d[\text{MLC-P}]}{d[\text{Ca}]} \Big|_{[\text{Ca}]=[\text{Ca}]_0} \frac{dp_0}{dx} \Big|_{x=x_0} \end{aligned} \quad (\text{III.32})$$

k_f a la dimension de l'inverse d'un temps. Comme illustré sur la figure III.14 nous avons linéarisé à la fois la courbe de réponse des canaux à la déformation $p_0(x)$ et la courbe donnant la concentration de myosines phosphorylées en fonction du calcium. Le taux k_f est la mesure de la sensibilité linéarisée de ces deux courbes de réponse. Nous l'appelons taux de rétroaction car il donne une mesure de l'échelle de temps nécessaire pour augmenter localement l'activité des myosines en réponse à une déformation. Sa valeur est indépendante de l'activité $\zeta\Delta\mu$, au moins pour des petites perturbations de la concentration stationnaire de $[\text{MLC-P}]$ pour lesquelles on peut négliger la variation de $\frac{1}{[\text{MLC-P}]} \frac{d[\text{MLC-P}]}{d[\text{Ca}]}$.

B.3 Dynamique de la couche

Dans la partie précédente nous avons supposé que le calcium pouvait stimuler localement la phosphorylation des myosines, et ainsi faire varier les contraintes dans le gel. Nous essayons donc de calculer la réponse viscoélastique du gel lorsqu'il est soumis à une distribution non homogène d'activité de myosine $\zeta\Delta\mu(\theta)$ (fig. III.15). On s'attend à ce que des déformations et des flux naissent dans la couche, qui entraînent des variations de l'épaisseur du cortex e et du rayon de la cellule R .

Les équations complètes de la dynamique de la couche sont assez compliquées, pour ce problème nous souhaitons donc faire certaines approximations. Dans le cas de l'oscillation trois temps caractéristiques interviennent : le temps de relaxation viscoélastique τ , le temps de renouvellement de la couche $\tau_{to} = \frac{e}{v_p}$ et la période de l'oscillation τ_{osc} qui est de l'ordre de 30s. Le temps τ est de l'ordre de 5 à 60 s en fonction des auteurs [151][143], de l'ordre de la période de l'oscillation, nous choisissons donc d'inclure les propriétés viscoélastiques du gel dans notre modèle et de négliger le treadmilling. Cela suppose que $\tau_{osc} \ll \tau_{to}$. Nous ne connaissons pas le temps de renouvellement de la couche pour un fibroblaste en phase G1 ou G2, mais pour une cellule en division il est de l'ordre de 50s [104]. Ce temps pourrait être plus long dans une cellule en interphase. Il est donc difficile de savoir si cette

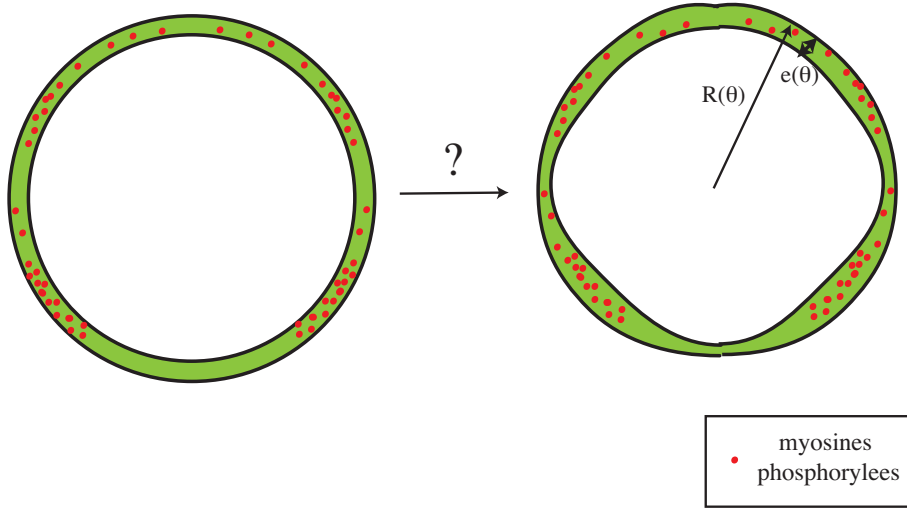


FIG. III.15: Problème posé dans cette partie : nous souhaitons calculer l'évolution de l'épaisseur du cortex et du rayon de la cellule en réponse à une distribution inhomogène de myosines, et donc de champ actif $\zeta\Delta\mu$.

approximation est valable : nous discutons à la fin de ce chapitre des effets possible du treadmilling.

Pour décrire la dynamique de la couche nous prenons pour état de référence une cellule sphérique de rayon R et une couche corticale d'épaisseur e , soumise à une contrainte active homogène $\zeta\Delta\mu$. Nous souhaitons décrire la variation de la forme de la cellule et de l'épaisseur du cortex en réponse à une concentration inhomogène de myosines, qui perturbent le profil d'activité d'une quantité $\delta\zeta\Delta\mu(\theta) \ll \zeta\Delta\mu$. Nous perturbons donc l'état de référence à l'ordre linéaire $e(\theta) = e + \delta e(\theta)$ et $R(\theta) = R + \delta R(\theta)$ et nous cherchons l'évolution temporelle de δe et δR en fonction de $\delta\zeta\Delta\mu$.

Comme précisé dans le chapitre II, nous supposons que la couche corticale est soumise aux conditions aux limites

$$\sigma_{nn}(R) = P_{ext} - \gamma H \quad (\text{III.33})$$

$$\sigma_{nn}(r_0) = P_{in} \quad (\text{III.34})$$

$$\sigma_{nt_i}(R) = 0 \quad (\text{III.35})$$

$$\sigma_{nt_i}(r_0) = 0 \quad (\text{III.36})$$

Les notations utilisées sont celles du chapitre II. Les vecteurs $\vec{n}$ et $\vec{t}$ en particulier dénotent les vecteurs normaux et tangents au cortex localement. Ici nous négligeons la friction du cortex sur la membrane. Remarquons que dans les termes du chapitre II, cela conduit à ce que l'instabilité de plus grande longueur d'onde soit cinétiquement favorisée. Nous montrons plus loin qu'en effet le mode 1, qui est le plus grand mode possible, est aussi le plus instable : en incluant la friction on peut s'attendre à ce que des modes de plus faible longueur d'onde soient sélectionnés.

Nous rappelons les équations constitutives appliquées à la couche

$$(1 + \tau \frac{d}{dt} + \tau v_p \frac{d}{dr})(\sigma_{rr} + p + Q_{rr}\zeta \Delta\mu) = 2\eta v_{rr} \quad (\text{III.37})$$

$$(1 + \tau \frac{d}{dt} + \tau v_p \frac{d}{dr})(\sigma_{\theta\theta} + p + Q_{\theta\theta}\zeta \Delta\mu) = 2\eta v_{\theta\theta} \quad (\text{III.38})$$

$$(1 + \tau \frac{d}{dt} + \tau v_p \frac{d}{dr})(\sigma_{\phi\phi} + p + Q_{\phi\phi}\zeta \Delta\mu) = 2\eta v_{\phi\phi} \quad (\text{III.39})$$

$$(1 + \tau \frac{d}{dt} + \tau v_p \frac{d}{dr})(\sigma_{r\theta} + Q_{r\theta}\zeta \Delta\mu) = 2\eta v_{r\theta} \quad (\text{III.40})$$

où le tenseur des vitesses s'écrit

$$v_{rr} = \partial_r v_r \quad (\text{III.41})$$

$$v_{\theta\theta} = \frac{1}{r} \partial_\theta v_\theta + \frac{v_r}{r} \quad (\text{III.42})$$

$$v_{\phi\phi} = \frac{v_r}{r} + \frac{v_\theta}{r} \cot \theta \quad (\text{III.43})$$

$$v_{r\theta} = \frac{1}{2} \left[\partial_\theta v_r - \frac{v_\theta}{r} + \partial_r v_\theta \right] \quad (\text{III.44})$$

A ceci nous devons ajouter la condition d'incompressibilité et les équations d'équilibre des forces qui s'écrivent en géométrie sphérique avec symétrie axiale

$$\partial_r v_r + 2 \frac{v_r}{r} + \frac{1}{r} \partial_\theta v_\theta + \frac{v_\theta}{r} \cot \theta = 0 \quad (\text{III.45})$$

pour l'incompressibilité et

$$\partial_r \sigma_{rr} + \frac{1}{r} \partial_\theta \sigma_{r\theta} + \frac{1}{r} (2\sigma_{rr} - \sigma_{\theta\theta} - \sigma_{\phi\phi} + \sigma_{r\theta} \cot \theta) = 0 \quad (\text{III.46})$$

$$\partial_r \sigma_{r\theta} + \frac{1}{r} \partial_\theta \sigma_{\theta\theta} + \frac{1}{r} (3\sigma_{r\theta} + (\sigma_{\theta\theta} - \sigma_{\phi\phi}) \cot \theta) = 0 \quad (\text{III.47})$$

pour l'équilibre des forces.

La solution isotrope de ces équations, qui constitue l'état de référence de notre problème, est obtenue au chapitre II. Dans ce qui suit nous décrivons le calcul de perturbation de ces équations à l'ordre lineaire.

B.3.1 Perturbation des équations au premier ordre

Harmoniques sphériques

Toutes nos équations étant linéaires dans le champ de vitesse, et comme nous nous plaçons en géométrie sphérique, nous pouvons décomposer toutes les quantités en harmoniques sphériques (n,m) sur l'espace des fonctions élémentaires $P_n^m(\cos \theta) e^{im\phi}$ où P_n^m est la fonction associée de Legendre d'ordre (n,m) (voir l'appendice B). Ici nous nous restreignons aux perturbations axiales pour lesquelles $m = 0$ (fig. III.16). Suivant la démarche introduite dans la réf. [60], nous décomposons alors le champ

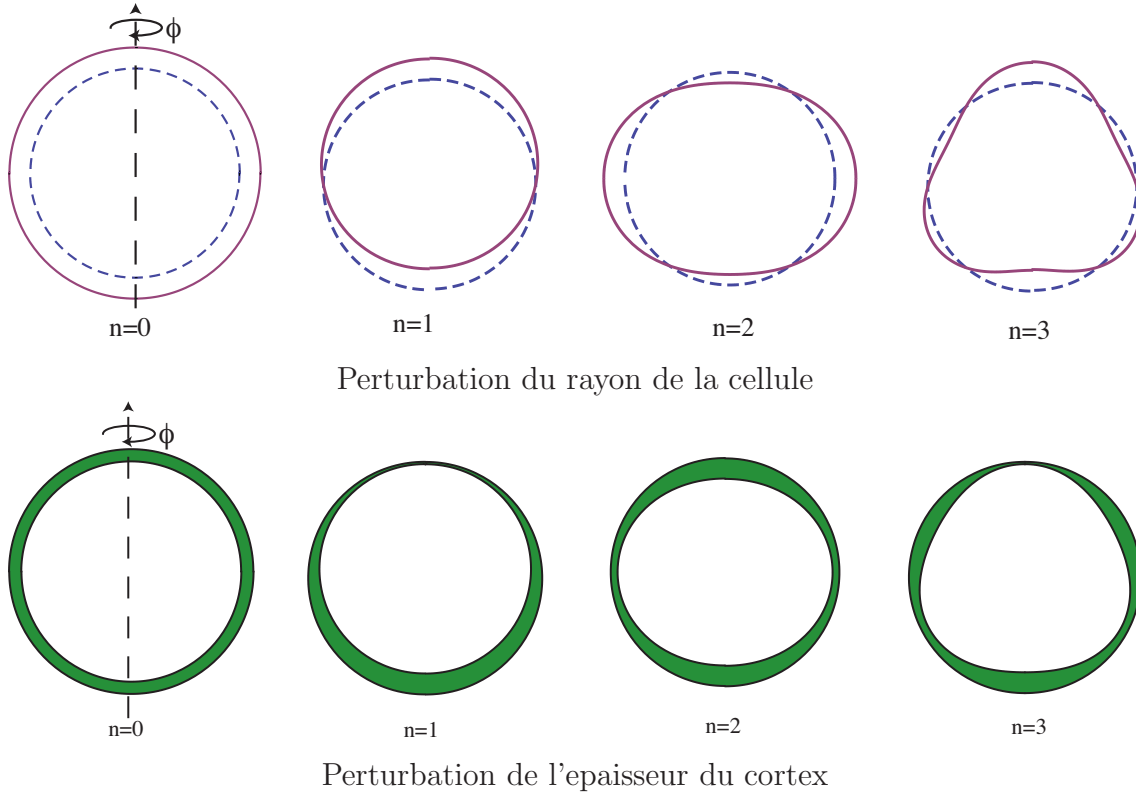


FIG. III.16: Premiers modes dans la décomposition de la déformation de la cellule et de la variation de l'épaisseur en harmoniques sphériques. L'axe de symétrie cylindrique va de bas en haut. Dessin du haut : déformation du rayon de la cellule R : le mode $n = 0$ correspond à une variation isotrope du volume, le mode $n = 1$ à une translation de la cellule, les modes suivants 2, 3 et plus correspondent à des déformations ayant un ordre de symétrie de plus en plus élevé. A l'exception du mode 0, les modes conservent le volume à l'ordre lineaire. Dessin du bas : déformation de l'épaisseur du cortex e . Le mode $n = 0$ correspond à une variation isotrope de l'épaisseur, le mode $n = 1$ à une situation où le cortex s'affine en un pôle de la cellule et s'épaissit dans l'autre.

de vitesse en

$$\delta v_r(\theta) = \sum_{n=0}^{\infty} \delta v_r^n P_n(\cos \theta) \quad (\text{III.48})$$

$$\delta v_\theta(\theta) = \sum_{n=1}^{\infty} \delta v_\theta^n \frac{I_{n+1}(\cos \theta)}{\sin \theta} \quad (\text{III.49})$$

Dans cette décomposition le mode 0 est particulier car purement radial. I_{n+1} est le polynôme de Gegenbauer relié à P_n par

$$I_{n+1} = \frac{P_{n-1} - P_{n+1}}{2n + 1} \quad (\text{III.50})$$

Dans l'appendice B nous donnons quelques relations utiles entre ces deux familles de polynôme.

Equations constitutives

Nous perturbons les équations constitutives à l'ordre linéaire

$$(1 + \tau \frac{d}{dt} + \tau v_p \frac{d}{dr})(\delta \sigma_{rr} + \delta p + \frac{1}{3} \delta \zeta \Delta \mu - \delta Q_{rr} \zeta \Delta \mu) = 2\eta \delta v_{rr} \quad (\text{III.51})$$

$$(1 + \tau \frac{d}{dt} + \tau v_p \frac{d}{dr})(\delta \sigma_{\theta\theta} + \delta p - \frac{1}{6} \delta \zeta \Delta \mu + \delta Q_{\theta\theta} \zeta \Delta \mu) = 2\eta \delta v_{\theta\theta} \quad (\text{III.52})$$

$$(1 + \tau \frac{d}{dt} + \tau v_p \frac{d}{dr})(\delta \sigma_{\phi\phi} + \delta p - \frac{1}{6} \delta \zeta \Delta \mu + \delta Q_{\phi\phi} \zeta \Delta \mu) = 2\eta \delta v_{\phi\phi} \quad (\text{III.53})$$

$$(1 + \tau \frac{d}{dt} + \tau v_p \frac{d}{dr})(\sigma_{r\theta} + \delta Q_{r\theta} \zeta \Delta \mu) = 2\eta \delta v_{r\theta} \quad (\text{III.54})$$

Ces expressions font intervenir l'opérateur de dérivation convective $\frac{d}{dt} + v_p \frac{d}{dr}$: dans cette expression le premier terme est d'ordre $\frac{1}{\tau_{osc}}$ et le second d'ordre $\frac{v_p}{e} = \frac{1}{\tau_{to}}$ le temps de renouvellement de la couche. Nous négligeons donc le second terme dans notre approximation $\tau_{osc} \ll \tau_{to}$. Par ailleurs nous prenons la transformée de Laplace temporelle de toutes les quantités linéarisées ce qui nous donne

$$\delta \sigma_{rr} + \delta p + \frac{1}{3} \delta \zeta \Delta \mu - \delta Q_{rr} \zeta \Delta \mu = \frac{2\eta}{1 + \tau s} \delta v_{rr} \quad (\text{III.55})$$

$$\delta \sigma_{\theta\theta} + \delta p - \frac{1}{6} \delta \zeta \Delta \mu - \delta Q_{\theta\theta} \zeta \Delta \mu = \frac{2\eta}{1 + \tau s} \delta v_{\theta\theta} \quad (\text{III.56})$$

$$\delta \sigma_{\phi\phi} + \delta p - \frac{1}{6} \delta \zeta \Delta \mu - \delta Q_{\phi\phi} \zeta \Delta \mu = \frac{2\eta}{1 + \tau s} \delta v_{\phi\phi} \quad (\text{III.57})$$

$$\sigma_{r\theta} - \delta Q_{r\theta} \zeta \Delta \mu = \frac{2\eta}{1 + \tau s} \delta v_{r\theta} \quad (\text{III.58})$$

Dans ce qui suit nous notons $\tilde{\eta} = \frac{\eta}{1 + \tau s}$ afin d'alléger les notations.

Conditions aux limites

Pour inclure l'effet de la tension de la membrane nous devons calculer la perturbation de la courbure locale pour appliquer la loi de Laplace. Localement les deux vecteurs tangents à la membrane t_θ et t_ϕ et le vecteur normal associé n (orienté vers l'extérieur) s'écrivent au premier ordre dans la perturbation de la sphère $\frac{\delta R}{R}$

$$\begin{aligned} t_\theta &= \frac{\partial_\theta \delta R}{R} e_r + e_\theta \\ t_\phi &= e_\phi \\ n &= e_r - \frac{\partial_\theta \delta R}{R} e_\theta \end{aligned}$$

Le tenseur de courbure s'écrit $C_{ij} = -(\partial_i t_j) \cdot n$, où la dérivée est selon les coordonnées euclidiennes, et le signe $-$ est dû au choix d'orientation de n . Nous avons donc

$$C_{\theta\theta} = -\frac{1}{R + \delta R} (\partial_\theta t_\theta) \cdot n = \frac{1}{R} - (\partial_\theta^2 + 1) \frac{\delta R}{R} \quad (\text{III.59})$$

$$C_{\phi\phi} = -\frac{1}{\sin \theta (R + \delta R)} (\partial_\phi t_\phi) \cdot n = \frac{1}{R} - (\cot \theta \partial_\theta + 1) \frac{\delta R}{R} \quad (\text{III.60})$$

et la courbure totale est donc égale à

$$H = \frac{2}{R} + (-\partial_\theta^2 - \cot \theta \partial_\theta - 2) \frac{\delta R}{R} \quad (\text{III.61})$$

Sa variation est donc

$$\delta H^n = (n(n+1) - 2) \frac{\delta R^n}{R} \quad (\text{III.62})$$

en utilisant la décomposition en harmoniques sphériques.

Nous pouvons maintenant perturber les conditions aux limites. Au premier ordre en $\frac{\delta R}{R}$ les contraintes s'écrivent

$$\sigma_{t_1 t_1} = \sigma_{\theta\theta} + \delta\sigma_{\theta\theta} \quad (\text{III.63})$$

$$\sigma_{nn} = \sigma_{rr} + \delta\sigma_{rr} \quad (\text{III.64})$$

$$\sigma_{nt_1} = \sigma_{r\theta} + \delta\sigma_{r\theta} - (\sigma_{\theta\theta} - \sigma_{rr}) \frac{\partial_\theta \delta R}{R} \quad (\text{III.65})$$

La perturbation des conditions aux limites III.33 à III.36 donne donc

$$\delta\sigma_{rr}(R) = -\frac{d\sigma_{rr}}{dr}(R)\delta R + \frac{\gamma}{R}(\partial_\theta^2 + \cot \theta \partial_\theta + 2) \frac{\delta R}{R} + \frac{2}{R}\delta\gamma \quad (\text{III.66})$$

$$\delta\sigma_{rr}(r_0) = -\delta P_{in} - \frac{d\sigma_{rr}}{dr}(r_0)\delta r_0 \quad (\text{III.67})$$

$$\delta\sigma_{r\theta}(R) = -\frac{d\sigma_{r\theta}}{dr}(R)\delta R + (\sigma_{\theta\theta} - \sigma_{rr})(R) \frac{\partial_\theta \delta R}{R} \quad (\text{III.68})$$

$$\delta\sigma_{r\theta}(r_0) = -\frac{d\sigma_{r\theta}}{dr}(r_0)\delta r_0 + (\sigma_{\theta\theta} - \sigma_{rr})(r_0) \frac{\partial_\theta \delta r_0}{r_0} \quad (\text{III.69})$$

Nous supposons dans la suite que $\delta\gamma = 0$, ce qui est cohérent si la friction entre le cortex et la membrane est effectivement négligeable (sinon elle donne naissance à des gradients de tension dans la membrane). La variation de la pression intérieure δP_{in} est couplée avec les équations du fluide à l'intérieur de la sphère. Nous négligeons la viscosité du cytosol η_{cyt} , et la pression à l'intérieur de la cellule s'équilibre donc rapidement par rapport au temps de l'oscillation. Ceci nous permet d'écrire que $\partial_\theta \delta P_{in} = 0$ et donc $\delta P_{in}^n = 0$ pour $n > 1$. En d'autres termes, seul le mode $n = 0$ peut entraîner une variation de la pression interne. Cela est cohérent physiquement car les autres modes n'entraînent pas de variation du volume interne à l'ordre le plus bas.

En utilisant la solution isotrope donnée dans le chapitre II, que nous considérons pour simplifier dans la limite liquide et dans la limite $\zeta \Delta\mu \gg \frac{\eta v_p}{R}$, nous pouvons réécrire les conditions aux limites perturbées III.66 à III.69 pour chaque mode $n > 0$:

$$\delta\sigma_{rr}^n(R) = -\zeta \Delta\mu \frac{\delta R^n}{R} - \frac{(n(n+1) - 2)\gamma}{R} \frac{\delta R^n}{R} \quad (\text{III.70})$$

$$\delta\sigma_{rr}^n(r_0) = -\zeta \Delta\mu \frac{\delta r_0^n}{r_0} \quad (\text{III.71})$$

$$\delta\sigma_{r\theta}^n(R) = -n(n+1) \frac{\zeta \Delta\mu}{2} \frac{\delta R^n}{R} \quad (\text{III.72})$$

$$\delta\sigma_{r\theta}^n(r_0) = -n(n+1) \frac{\zeta \Delta\mu}{2} \frac{\delta r_0^n}{r_0} \quad (\text{III.73})$$

et pour le mode 0

$$\delta\sigma_{rr}^0(R) = -\zeta\Delta\mu\frac{\delta R^0}{R} - \frac{(n(n+1)-2)\gamma}{R}\frac{\delta R^0}{R} \quad (\text{III.74})$$

$$\delta\sigma_{rr}^0(r_0) = -\delta P_{in}^0 - \zeta\Delta\mu\frac{\delta r_0^n}{r_0} \quad (\text{III.75})$$

Nous ne connaissons pas a priori la variation de la pression interne δP_{in}^0 , nous traitons ce problème dans le premier paragraphe de la section B.3.2.

Equations cinétiques

Nous devons également perturber les équations cinétiques, qui sont simplement données par :

$$\frac{d\delta R}{dt} = \delta v_r(R) \quad (\text{III.76})$$

$$\frac{d\delta r_0}{dt} = \delta v_r(r_0) \quad (\text{III.77})$$

où en introduisant l'épaisseur de la couche $\delta e = \delta R - \delta r_0$,

$$\frac{d\delta R}{dt} = \delta v_r(R) \quad (\text{III.78})$$

$$\frac{d\delta e}{dt} = \delta v_r(R) - \delta v_r(r_0) \quad (\text{III.79})$$

Orientation des filaments

Comme dans le chapitre II nous supposons que les filaments restent parallèles à la membrane. Les vecteurs tangents à la membrane étant t_θ et t_ϕ , nous pouvons comme dans la section A.1 du chapitre II repérer l'orientation d'un filament par l'angle qu'il forme avec t_θ , soit

$$p = \cos \chi t_\theta + \sin \chi t_\phi \quad (\text{III.80})$$

soit dans l'espace (e_r, e_θ, e_ϕ)

$$p = \begin{pmatrix} \partial_\theta \frac{\delta R}{R} \cos \chi \\ \cos \chi \\ \sin \chi \end{pmatrix} \quad (\text{III.81})$$

En utilisant $Q_{ij} = \langle p_i p_j - \frac{1}{3} \delta_{ij} \rangle$ et en moyennant sur l'angle χ on obtient le tenseur nématique dans la même base

$$Q_{ij} = \begin{pmatrix} -\frac{1}{3} & \frac{1}{2} \frac{\partial_\theta \delta R}{R} & 0 \\ \frac{1}{2} \frac{\partial_\theta \delta R}{R} & \frac{1}{6} & 0 \\ 0 & 0 & \frac{1}{6} \end{pmatrix} \quad (\text{III.82})$$

On utilise ce tenseur pour obtenir les contraintes actives dans les équations constitutives III.37 à III.40. Nous avons vérifié que si on suppose que l'orientation des filaments n'est pas modifiée lorsque la membrane se déplace, au contraire de ce que nous considérons ici, on obtient le même résultat final à l'ordre le plus bas en $\frac{e}{R}$ auquel nous nous restreignons.

B.3.2 Résolution des équations

Mode isotrope

Nous commençons par étudier le mode isotrope $n = 0$: il doit être traité séparément car sa variation est contrôlée par l'échange d'eau à travers la membrane de cellule. Comme nous l'avons précisé dans la section A.3 le volume total de la cellule ne peut en effet varier que si de l'eau traverse la membrane perméable, ce qui est contrôlé par l'équation II.19 que nous rappelons ici

$$\frac{dV}{dt} = 4\pi R^2 L_p \rho_p (\Delta\Pi - \Delta P) \quad (\text{III.83})$$

où L_p est la constante de perméation d'un pore, ρ_p est la densité de pores dans la membrane, $\Delta P = P_{in} - P_{out}$ la différence de pression hydrostatique entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule, et $\Delta\Pi = \Pi_{in} - \Pi_{out}$ la différence de pression osmotique.

Pour perturber cette équation nous devons calculer la variation de volume induite par la déformation de la cellule δR . Pour cela nous calculons le volume total

$$V_{total} = \frac{2\pi}{3} \int_0^\pi (R + \delta R)^3 \sin \theta d\theta \simeq \frac{4}{3}\pi R^3 + 2\pi R^2 \int_0^\pi \delta R \sin \theta d\theta \quad (\text{III.84})$$

$$\delta V = 2\pi R^2 \int_0^\pi \delta R \sin \theta d\theta = 2\pi R^2 \sum \delta R^n \int_0^\pi P_n(\cos \theta) \sin \theta d\theta \quad (\text{III.85})$$

La dernière intégrale est un produit scalaire entre les polynômes de Legendre $P_n(\cos \theta)$ et $P_0(\cos \theta) = 1$. Du fait de leur orthogonalité, à l'ordre le plus bas seul le mode 0 contribue à la variation du volume, et $\delta V = 4\pi R^2 \delta R^0$. La pression osmotique dépend du volume à travers $\Pi_{int} = \frac{n_t}{V} RT$, où n_t est la force ionique totale dans la cellule. En perturbant l'équation III.83 nous obtenons donc

$$\frac{d\delta R^{(0)}}{dt} = L_p \rho_p \left(-\frac{3n_t RT}{V} \frac{\delta R^{(0)}}{R} - \delta P_{in}^{(0)} \right) \quad (\text{III.86})$$

Pour obtenir la pression intérieure nous devons calculer explicitement le champ de vitesse. La conservation du volume pour le mode 0 s'écrit $\partial_r \delta v_r^0 + \frac{2\delta v_r^0}{r} = 0$, ce qui combiné avec les équations cinétiques III.78 et III.79 donne

$$\delta v_r^{(0)} = \frac{R^2}{r^2} \frac{d\delta R^{(0)}}{dt} \quad (\text{III.87})$$

$$\frac{\delta e^{(0)}}{e} = -2 \frac{\delta R^{(0)}}{R} \quad (\text{III.88})$$

En utilisant les équations constitutives III.55 et III.56, ainsi que l'équilibre radial des forces III.46, on obtient une expression pour $\partial_r \sigma_{rr}$. En l'intégrant et en la comparant aux conditions aux limites III.74 et III.75 on obtient finalement

$$\frac{6\eta e}{R^2} \frac{d\delta R^{(0)}}{dt} = \left(1 + \tau \frac{d}{dt} \right) \left[\delta P_{in}^{(0)} + 3 \left(\zeta \Delta\mu + \frac{2\gamma}{R} \right) \frac{\delta R^{(0)}}{R} - \frac{e}{R} \delta \zeta \Delta\mu^{(0)} \right] \quad (\text{III.89})$$

L'élimination de la pression entre les équations III.86 et III.89 donne l'équation pour le mode 0

$$\left[\frac{R}{L_p \rho_p} \left(1 + \tau \frac{d}{dt} \right) + \frac{6\eta e}{R} \right] \frac{d}{dt} \frac{\delta R^{(0)}}{R} = \left(1 + \tau \frac{d}{dt} \right) \left[-3\Pi_{ext} \frac{\delta R^{(0)}}{R} - \frac{e}{R} \delta \zeta \Delta\mu^{(0)} \right] \quad (\text{III.90})$$

où nous avons utilisé l'équation d'équilibre de l'état de référence $\Delta\Pi = \frac{\zeta\Delta\mu e + 2\gamma}{R}$, et nous avons supposé pour simplifier $\zeta\Delta\mu \gg \frac{12\eta v_p}{R}$ et $\zeta\Delta\mu R \gg \gamma$ (ces approximations sont justifiées plus précisément au paragraphe suivant).

L'expression entre crochets dans le membre de gauche contient deux termes qui correspondent respectivement à la dissipation due à la perméation de l'eau dans la membrane et à la friction interne du cortex. La comparaison entre ces deux quantités $\frac{L_p \rho_p \eta e}{R^2} \simeq 10^{-5} \ll 1$ (pour $L_p \rho_p \simeq 3.610^{-13} m.s^{-1}.Pa^{-1}$, [40] et $\eta \sim 10^4 Pa.s$) indique que la perméation à travers la membrane domine largement. Cela nous permet d'écrire l'équation simplifiée

$$\frac{d}{dt} \frac{\delta R^{(0)}}{R} = \frac{L_p \rho_p}{R} \left[-3\Pi_{ext} \frac{\delta R^{(0)}}{R} - \frac{e}{R} \delta\zeta \Delta\mu^{(0)} \right] \quad (\text{III.91})$$

Le coefficient devant $\delta R^{(0)}$ assure que la pression osmotique stabilise le volume de la cellule. Le second terme correspond à un effet mécanique : en réponse à une augmentation homogène de l'activité des myosines, la tension du cortex augmente, ce qui tend à le contracter et à réduire le volume de la cellule.

Nous pouvons cependant négliger cette perturbation, car elle est très faible, l'équation III.91 donnant à l'équilibre $\delta R \sim \frac{e\delta\zeta\Delta\mu}{2\Pi_{ext}}$. En général et comme détaillé dans la section A.3, les pressions osmotiques en jeu sont de l'ordre de 1 atm = $10^5 Pa$, une valeur bien plus importante que la pression exercée par le cortex $\simeq 100 Pa$. En particulier elle est plus faible que la perturbation induite par les modes suivants pour lesquels $\delta R \sim R \frac{\delta\zeta\Delta\mu}{\zeta\Delta\mu}$ (voir paragraphe suivant). Dans ce qui suit nous considérons donc simplement $\delta R^{(0)} = 0$ et le volume de la cellule est conservé dans l'oscillation.

Modes $n > 0$

L'équation de conservation du volume III.45 nous donne une relation entre les modes de δv_θ et δv_r

$$\partial_r \delta v_r^{(n)} + \frac{2\delta v_r^{(n)}}{r} + \frac{\delta v_\theta^{(n)}}{r} = 0 \quad (\text{III.92})$$

qui nous permet d'éliminer v_θ des équations constitutives III.55 à III.58. Afin d'obtenir une équation pour δv_r , nous insérons les équations donnant les contraintes III.55 à III.58 dans les équations d'équilibre des forces III.46 et III.47. Nous obtenons alors deux équations

$$\partial_r \delta p^{(n)} = 2\tilde{\eta} \left[\frac{1}{2} \partial_r^2 + \frac{2}{r} \partial_r - \frac{u_n - 2}{2r^2} \right] \delta v_r^{(n)} - \left[\left(\frac{1}{3} \partial_r + \frac{1}{r} \right) \delta\zeta \Delta\mu^{(n)} + \frac{u_n}{4r} \frac{\delta R^{(n)}}{R} \zeta \Delta\mu \right] \quad (\text{III.93})$$

$$-u_n \delta p^{(n)} = 2\tilde{\eta} \left[-\frac{r^2}{2} \partial_r^3 - 3r \partial_r^2 + \frac{u_n - 6}{2} \partial_r \right] \delta v_r^{(n)} - \frac{1}{r} \left[\frac{3u_n}{4} \frac{\delta R^{(n)}}{R} \zeta \Delta\mu + \frac{u_n}{6} \delta\zeta \Delta\mu \right] \quad (\text{III.94})$$

Dans un souci de compacité nous avons introduit la notation $u_n = n(n+1)$. L'élimination de la pression p entre les équations III.93 et III.94 nous donne alors l'équation différentielle

$$\left[r^4 \partial_r^4 + 8r^3 \partial_r^3 - 2(u_n - 6)r^2 \partial_r^2 - 4u_n r \partial_r + u_n(u_n - 2) \right] \delta v_r^{(n)} = -\frac{r u_n}{\tilde{\eta}} \left(\left(\frac{r}{2} \partial_r + 1 \right) \delta\zeta \Delta\mu^{(n)} - \frac{\zeta \Delta\mu}{4} \frac{\delta R^{(n)}}{R} \right)$$

qui se simplifie si $\delta\zeta\Delta\mu$ ne varie pas à travers la couche :

$$[r^4\partial_r^4 + 8r^3\partial_r^3 - 2(u_n - 6)r^2\partial_r^2 - 4u_nr\partial_r + u_n(u_n - 2)]\delta v_r^{(n)} = -\frac{ru_n}{\tilde{\eta}}\left(\delta\zeta\Delta\mu^{(n)} - \frac{\zeta\Delta\mu}{4}\frac{\delta R^{(n)}}{R}\right) \quad (\text{III.95})$$

Cette équation peut être résolue en cherchant une solution de la forme $\delta v_r^{(n)} = r^\alpha$, ce qui donne l'équation suivante pour α :

$$u_n(u_n - 2) + (-2 - 2u_n)\alpha + (-1 - 2u_n)\alpha^2 + 2\alpha^3 + \alpha^4 = 0 \quad (\text{III.96})$$

dont les solutions sont $\alpha \in \{n+1, n-1, -n, -n-2\}$. La solution pour δv_r s'écrit donc de façon générale

$$\delta v_r^{(n)} = Ar^{n+1} + Br^{n-1} + Cr^{-n} + Dr^{-n-2} - \frac{r}{\eta(u_n - 6)}\left(\delta\zeta\Delta\mu^{(n)} - \frac{\zeta\Delta\mu}{4}\frac{\delta R^{(n)}}{R}\right) \quad (\text{III.97})$$

Tous les champs peuvent maintenant s'exprimer en terme de A, B, C et D qui doivent être déterminés à partir des 4 conditions aux limites III.66 à III.69. Pour cela nous réexprimons les contraintes $\delta\sigma_{rr}$ et $\delta\sigma_{r\theta}$ en fonction de ces constantes, ce qui donne

$$\begin{aligned} \delta\sigma_{rr}^{(n)} &= 2\tilde{\eta}\left[\frac{n^2 - n - 3}{n}Ar^n + (n-1)Br^{n-2} - \frac{n^2 + 3n - 1}{n+1}Cr^{-n-1} - (n+2)Dr^{-n-3}\right] \\ &\quad - \frac{u_n^2 - 12}{u_n(u_n - 6)}\delta\zeta\Delta\mu^{(n)} + \frac{3(u_n - 4)}{2u_n(u_n - 6)}\zeta\Delta\mu\frac{\delta R^{(n)}}{R} \\ \delta\sigma_{r\theta}^{(n)} &= -2\tilde{\eta}\left[(n+2)nAr^n + (n^2 - 1)Br^{n-2} + (n^2 - 1)Cr^{-n-1} + n(n+2)Dr^{-n-3}\right] \\ &\quad + \frac{u_n}{u_n - 6}\delta\zeta\Delta\mu - \frac{3}{2(u_n - 6)}\zeta\Delta\mu\frac{\delta R^{(n)}}{R} \end{aligned}$$

En incluant ces expressions dans les conditions aux limites III.66 à III.69 nous obtenons un système linéaire à 4 inconnues A, B, C et D

$$\begin{aligned} \tilde{\eta}\begin{pmatrix} \frac{n^2-n-3}{n} & n-1 & -\frac{n^2+3n-1}{n+1} & -(n+2) \\ \frac{n^2-n-3}{n}\left(\frac{r_0}{R}\right)^n & (n-1)\left(\frac{r_0}{R}\right)^{n-2} & -\frac{n^2+3n-1}{n+1}\left(\frac{r_0}{R}\right)^{-n-1} & -(n+2)\left(\frac{r_0}{R}\right)^{-n-3} \\ (n+2)n & n^2-1 & n^2-1 & n(n+2) \\ (n+2)n\left(\frac{r_0}{R}\right)^n & (n^2-1)\left(\frac{r_0}{R}\right)^{n-2} & (n^2-1)\left(\frac{r_0}{R}\right)^{-n-1} & n(n+2)\left(\frac{r_0}{R}\right)^{-n-3} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} AR^n \\ BR^{n-2} \\ CR^{-n-1} \\ DR^{-n-3} \end{pmatrix} = \\ \frac{\delta\zeta\Delta\mu^{(n)}}{4u_n(u_n - 6)}\begin{pmatrix} u_n^2 - 12 \\ u_n^2 - 12 \\ 2u_n^2 \\ 2u_n^2 \end{pmatrix} - \frac{3\zeta\Delta\mu}{4u_n(u_n - 6)}\frac{\delta R^{(n)}}{R}\begin{pmatrix} u_n - 4 \\ u_n - 4 \\ u_n \\ u_n \end{pmatrix} + \frac{1}{2}\frac{\delta R^{(n)}}{R}\begin{pmatrix} -\zeta\Delta\mu - (u_n - 2)\frac{\gamma}{R} \\ -\frac{R}{r_0}\zeta\Delta\mu \\ \frac{u_n}{2}\zeta\Delta\mu \\ \frac{R}{r_0}\frac{u_n}{2}\zeta\Delta\mu \end{pmatrix} \\ + \frac{\zeta\Delta\mu}{2}\frac{\delta e^{(n)}}{r_0}\begin{pmatrix} 0 \\ 1 \\ 0 \\ -\frac{u_n}{2} \end{pmatrix} \quad (\text{III.98}) \end{aligned}$$

Le calcul fait également apparaître des termes en $\left(\frac{r_0}{R}\right)^n$, que pour simplifier nous développons en $\left(\frac{r_0}{R}\right)^n \simeq 1 - n\frac{r_0}{R}$, ce qui suppose que nous nous restreignons à des petits modes pour lesquels $n \ll \frac{R}{r_0}$.

Nous pouvons inverser ce système pour obtenir les 4 constantes A, B, C et D, sauf pour $n = 1$ pour lequel il est singulier. Physiquement cela est dû au fait que le mode

1 est un mode de translation le long de l'axe de symétrie (voir fig. III.16). Une perturbation de δR^1 correspond donc à une translation de toute la cellule, qui n'est pas fixée par les forces internes dans le cortex mais par les forces externes appliquées à la cellule. Mathématiquement on voit que la deuxième colonne du système est identiquement nulle, ce qui laisse le choix de B libre. Nous nous plaçons dans un référentiel attaché à la cellule, nous imposerons donc B pour assurer $\delta R^1 = 0$. Nous remarquons en outre que multiplier à gauche l'équation III.98 par $\begin{pmatrix} 1 & -r_0^2 & 1 & -r_0^2 \end{pmatrix}$ laisse les deux membres égaux à 0, ce qui indique qu'on peut réduire le système à un système 3×3 sans condition supplémentaire. En éliminant par exemple la seconde ligne, on trouve les valeurs des coefficients A, C et D. L'équation cinétique III.79 et l'équation de la vitesse III.97 donnent

$$\begin{aligned} \frac{d\delta e^{(1)}}{dt} &= \delta v_r^{(1)}(R) - \delta v_r(r_0) \\ &= e \left(2AR - \frac{C}{R^2} - 3\frac{D}{R^4} \right) + \frac{\delta\zeta\Delta\mu^{(1)}}{4\eta} \end{aligned}$$

qui ne dépend pas de B. En remplaçant A, C, et D par les valeurs obtenues du système III.98 on obtient finalement l'équation du mode 1

$$\frac{d}{dt} \frac{\delta e^1}{e} = \frac{1}{1 - \frac{\zeta\Delta\mu}{6E}} \left[\frac{\zeta\Delta\mu}{6\eta} \frac{\delta e^1}{e} + \left(1 + \tau \frac{d}{dt} \right) \frac{\delta\zeta\Delta\mu}{6\tilde{\eta}} \right] \quad (\text{III.99})$$

où nous avons supposé pour simplifier $\zeta\Delta\mu \gg \frac{12\eta v_p}{R}$ et nous avons remplacé $\frac{1}{\eta}$ par $\frac{1}{\tilde{\eta}} \left(1 + \tau \frac{d}{dt} \right)$.

Revenons aux modes $n > 1$. Dans ce cas nous pouvons inverser directement le système III.98, le calcul des 4 constantes nous donne v_r et de là nous obtenons les deux quantités, en ne gardant que les termes d'ordre le plus élevé en $\frac{e}{R}$:

$$\begin{aligned} \tilde{\eta} \frac{\delta v_r(R)}{R} &= \left[-\frac{1}{12} \right] \delta\zeta\Delta\mu + \left[\frac{1-2u_n}{12} \zeta\Delta\mu - \frac{2u_n-1}{6} \frac{\gamma}{e} \right] \frac{\delta R}{R} - \frac{1}{12} [\zeta\Delta\mu] \frac{\delta e}{e} \\ \tilde{\eta} \frac{\delta v_r(R) - \delta v_r(r_0)}{R} &= \left[\frac{1}{6} \frac{e}{R} \right] \delta\zeta\Delta\mu + \left[\left(\frac{u_n-2}{12} \right) \zeta\Delta\mu + \frac{u_n-2}{6} \frac{\gamma}{e} \right] \frac{e}{R} \frac{\delta R}{R} + \frac{1}{6} [\zeta\Delta\mu] \frac{\delta e}{R} \end{aligned}$$

Ce qui donne en utilisant les équations cinétiques III.78 et III.79

$$\begin{aligned} \tilde{\eta} \frac{1}{R} \frac{d\delta R}{dt} &= \left[-\frac{1}{12} \right] \delta\zeta\Delta\mu + \left[\left(\frac{1-2u_n}{12} \right) \zeta\Delta\mu - \frac{2u_n-1}{6} \frac{\gamma}{e} \right] \frac{\delta R}{R} - \frac{\zeta\Delta\mu}{12} \frac{\delta e}{e} \\ \tilde{\eta} \frac{1}{R} \frac{d\delta e}{dt} &= \left[\frac{1}{6} \frac{e}{R} \right] \delta\zeta\Delta\mu + \left[\left(\frac{u_n-2}{12} \right) \zeta\Delta\mu + \frac{u_n-2}{6} \frac{\gamma}{e} \right] \frac{e}{R} \frac{\delta R}{R} + \frac{\zeta\Delta\mu}{6} \frac{\delta e}{R} \end{aligned}$$

Pour appliquer ces équations à notre problème nous remplaçons $\frac{1}{\eta}$ par $\frac{1}{\tilde{\eta}} \left(1 + \tau \frac{d}{dt} \right)$ et nous supposons $\zeta\Delta\mu e \gg \gamma$. Cette approximation est justifiée expérimentalement : dans le chapitre V en particulier nous montrons que la tension de la membrane est d'ordre $\gamma \simeq 3.10^{-5} N.m^{-1}$ alors que la tension du cortex $\zeta\Delta\mu e \simeq 4.10^{-4} N.m^{-1}$. Nous

obtenons alors

$$\tau \frac{d}{dt} \frac{\delta e}{e} = \frac{1}{1 + (u_n - 1) \frac{\zeta \Delta \mu}{6E}} \left[\frac{\zeta \Delta \mu}{6E} \left(1 + \frac{3u_n}{4} \frac{\zeta \Delta \mu}{6E} \right) \frac{\delta e}{e} + \frac{u_n}{2} \frac{\zeta \Delta \mu}{6E} \frac{\delta R}{R} + \left(1 + \frac{3u_n}{4} \frac{\zeta \Delta \mu}{6E} \right) \left(1 + \tau \frac{d}{dt} \right) \frac{\delta \zeta \Delta \mu}{6E} \right] \quad (\text{III.100})$$

$$\tau \frac{d}{dt} \frac{\delta R}{R} = \frac{1}{1 + (u_n - 1) \frac{\zeta \Delta \mu}{6E}} \left[-u_n \frac{\zeta \Delta \mu}{6E} \left(1 - \frac{3}{4} \frac{\zeta \Delta \mu}{6E} \right) \frac{\delta R}{R} - \frac{1}{2} \frac{\zeta \Delta \mu}{6E} \frac{\delta e}{e} - \frac{1}{2} \left(1 + \tau \frac{d}{dt} \right) \frac{\delta \zeta \Delta \mu}{6E} \right] \quad (\text{III.101})$$

C Diagramme des phases

Les équations III.31, III.99 pour le mode 1 et III.31, III.100 et III.101 pour les modes $n > 1$ forment un système dynamique linéaire à 2 (respectivement 3) composants dont la matrice d'évolution s'écrit dans la limite $y \ll 1$

$$\tau \frac{d}{dt} \begin{pmatrix} \frac{\delta e}{e} \\ \frac{\delta \zeta \Delta \mu}{6E} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \frac{\zeta \Delta \mu}{6E} (1 - \tau k_f) & 1 - \tau \bar{k}_{Ca} \\ -\frac{\zeta \Delta \mu}{6E} \tau k_f & -\tau \bar{k}_{Ca} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \frac{\delta e}{e} \\ \frac{\delta \zeta \Delta \mu}{6E} \end{pmatrix} \quad (\text{III.102})$$

pour le mode 1 et

$$\tau \frac{d}{dt} \begin{pmatrix} \frac{\delta e}{e} \\ \frac{\delta R}{R} \\ \frac{\delta \zeta \Delta \mu}{6E} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \frac{\zeta \Delta \mu}{6E} (1 - \tau k_f) & \frac{u_n}{2} \frac{\zeta \Delta \mu}{6E} & 1 - \tau \bar{k}_{Ca} \\ -\frac{1 - \tau k_f}{2} \frac{\zeta \Delta \mu}{6E} & -u_n \frac{\zeta \Delta \mu}{6E} & -\frac{1}{2} (1 - \tau \bar{k}_{Ca}) \\ -\tau k_f \frac{\zeta \Delta \mu}{6E} & 0 & -\tau \bar{k}_{Ca} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \frac{\delta e}{e} \\ \frac{\delta R}{R} \\ \frac{\delta \zeta \Delta \mu}{6E} \end{pmatrix} \quad (\text{III.103})$$

pour les modes suivants. Nous avons renormalisé le taux d'expulsion du calcium $\bar{k}_{Ca} = \frac{k_{Ca} \tau}{1 + \frac{d[C_{a_{bound}}]}{d[C_a]}}$, et nous avons supposé $\frac{\zeta \Delta \mu}{6E} \ll 1$. Cette dernière approximation est nécessaire pour rester dans le domaine de l'élasticité linéaire car $\frac{\zeta \Delta \mu}{6E}$ est une valeur caractéristique de la déformation induite dans le cortex par les myosines.

C.1 Comparaison entre les modes

Notre objectif est maintenant de déterminer le diagramme de stabilité linéaire de ce système. Pour cela nous cherchons les valeurs propres w , éventuellement complexes, des matrices des éqs. III.102 et III.103. Les modes propres correspondants croissent comme e^{wt} , de sorte que :

- $\text{Re}(w) < 0$ correspond à un mode stable, $\text{Re}(w) \geq 0$ à un mode instable
- $\text{Re}(w) > 0$ et $\text{Im}(w) = 0$ correspond à une instabilité croissant exponentiellement, $\text{Re}(w) > 0$ et $\text{Im}(w) \neq 0$ à une oscillation instable de période $\frac{2\pi}{\text{Im}(w)}$

w peut dépendre de 4 paramètres de contrôle, $\frac{\zeta \Delta \mu}{6E}$, k_f , τ et $\bar{k}_{Ca}$. Les deux derniers correspondent à des propriétés du gel ou de la cellule : on peut donc les considérer constants, et nous nous intéressons aux différentes phases en fonction des valeurs de $\frac{\zeta \Delta \mu}{6E}$ et k_f .

Nous commençons par étudier la stabilité du système en examinant la partie réelle des valeurs propres. Sur la fig. III.17 (graphique du haut), nous cherchons la ligne $\text{Re}(w) = 0$ pour les modes $n = 1, 2$, et 3. Le mode $n = 1$ est le premier à devenir

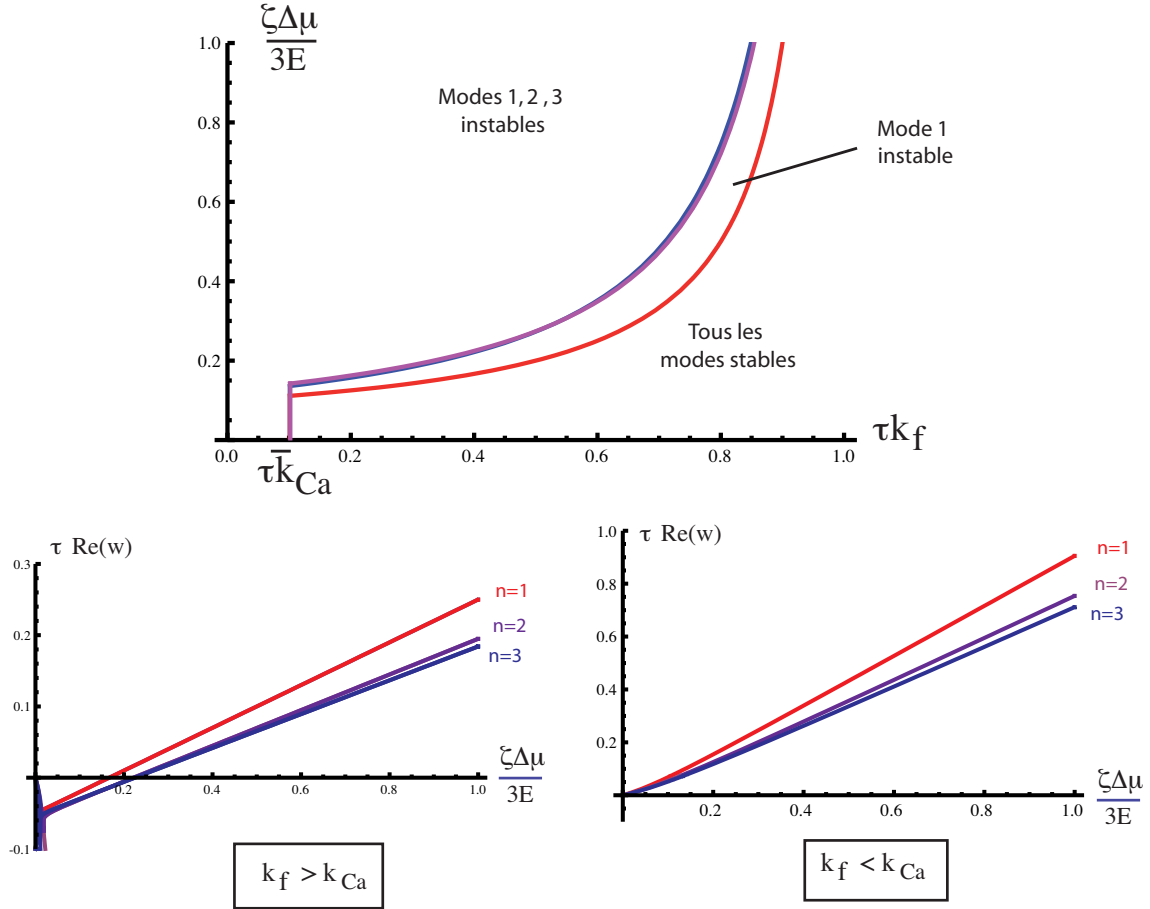


FIG. III.17: **Courbe du haut : seuil d'instabilité pour les 3 premiers modes** ($\bar{k}_{Ca} = 0.01$). Pour chaque mode on résout $Re(w) = 0$ en fonction des paramètres $\frac{\zeta\Delta\mu}{6E}$ et τk_f (rouge : mode $n = 1$, violet : mode $n = 2$, bleu : mode $n = 3$). Quand on augmente l'activité tous les modes deviennent instables. Courbe du bas : Maximum des parties réelles des valeurs propres pour les trois premiers modes. Graphique de gauche : $\tau k_f = 0.4$, $\tau \bar{k}_{Ca} = 0.1$, graphique de droite : $\tau k_f = 0.05$, $\tau \bar{k}_{Ca} = 0.1$. Dans tous les cas le mode 1 est le plus instable.

instable quand l'activité moyenne $\zeta\Delta\mu$ augmente. En outre si nous comparons les parties réelles de chaque mode (fig III.17, graphique du bas), le mode $n = 1$ est toujours celui qui a la plus grande partie réelle. Il est donc cinétiquement favorisé (il a le plus grand taux de croissance) et doit donc, à l'ordre linéaire tout au moins, dominer le comportement de l'instabilité. Comme nous l'avons mentionné plus haut ce mode correspond à une variation de l'épaisseur du cortex de part et d'autre de l'axe de symétrie (voir fig III.16). Il n'y a pas de variation de forme qui lui est associé, puisque le mode $n = 1$ pour la forme de la cellule correspond à une translation globale de la cellule qui n'est pas fixée par la mécanique du cortex. On s'attend cependant à ce que la déformation induite à l'ordre supérieur par les couplages à l'ordre non-linéaire conserve la symétrie du mode le plus instable à l'ordre linéaire. Or les vidéos de l'oscillation montrent que le flux de cytoplasme dans la cellule effectue un mouvement d'aller-retour qui possède cette symétrie (voir fig. III.1, bien

que cela soit difficile à percevoir sur une séquence d'images).

C.2 Diagramme de stabilité du mode 1

Nous nous concentrons donc maintenant sur le mode 1, et essayons d'établir le diagramme des phases complet pour ce mode, en étudiant les valeurs propres de la matrice M_1 du système dynamique III.103. Le système admet une bifurcation vers une solution oscillante quand $\det M_1 > 0$ et $\text{tr } M_1 = 0$, soit pour

$$k_f > \bar{k}_{Ca}, \quad \frac{\zeta \Delta \mu}{6E} = \frac{\tau \bar{k}_{Ca}}{1 - \tau k_f} \quad (\text{III.104})$$

Nous n'incluons pas de termes non-linéaires donc nous ne pouvons pas savoir si la bifurcation est supercritique ou sous-critique. Supposons tout de même que près de la ligne de bifurcation la partie imaginaire des valeurs propres donne une estimation de la pulsation de l'oscillation. Dans la limite simple d'absorption lente du calcium $\bar{k}_{Ca} \ll \frac{1}{\tau}$ la période de l'oscillation est donnée par

$$\tau_{osc} = 2\pi \frac{\tau}{\sqrt{\frac{\zeta \Delta \mu}{6E} (4\tau k_f - (1 - \tau k_f)^2 \frac{\zeta \Delta \mu}{6E})}} \quad (\text{III.105})$$

qui implique en particulier la condition $\tau k_f < 1$. Nous traçons sur la figure III.18 la période de l'oscillation en fonction du paramètre $\frac{\zeta \Delta \mu}{6E}$, pour des valeurs de k_f et $\bar{k}_{Ca}$ satisfaisant la condition III.104. La période décroît lorsqu'on augmente l'activité. Cette courbe est qualitativement semblable aux courbes expérimentales donnant la variation de la période avec la concentration de blebbistatine ou de Y27 (fig. III.6). En outre nous obtenons une valeur de la période cohérente, de l'ordre de 60s. Remarquons que dans la limite liquide $\tau \rightarrow 0$ la période n'est pas nulle mais est donnée par

$$\tau_{osc} = 2\pi \frac{1}{\sqrt{\frac{\zeta \Delta \mu}{6\eta} (4k_f - \frac{\zeta \Delta \mu}{6\eta})}} \quad (\text{III.106})$$

L'estimation précise de k_f (voir eq. III.32) est difficile. Le temps de relaxation viscoélastique τ est de l'ordre de 10s. Avec le modèle développé dans la partie B.2 on trouve $\frac{1}{[\text{MLC-P}]} \frac{d[\text{MLC-P}]}{d[Ca]} \sim 0.2 \mu M^{-1}$ pour $[Ca]_0 = 100 nM$. Comme nous l'avons vu plus haut une grande partie du calcium est lié : d'après nos calculs on peut estimer $\frac{dCa_{bound}}{dCa} = 40$. La force pour l'entrée du calcium λ est de l'ordre de $3mMs^{-1}$ si on suppose qu'il y a 1000 canaux dans une cellule de rayon $10 \mu m$. Nous n'avons pas de données sur la probabilité d'ouverture des canaux pour estimer $\frac{dp_0}{dx}$. Si nous nous appuyons sur les données précédentes, le seuil d'instabilité $\tau k_f < 1$ correspond à $\frac{dp_0}{dx} < 0.01$. Comme le profil de $p_0(x)$ est sigmoïdal, cette condition pourrait être satisfaite ou non en fonction de l'état de référence de la cellule. Cela n'est pas surprenant puisque expérimentalement certaines cellules oscillent et d'autres non, ce qui indique qu'elles sont proches du seuil d'instabilité. L'instabilité de la couche corticale n'est pas toujours oscillatoire. En particulier pour $(\text{Tr } M_1)^2 > 4 \det M_1$ et $\det M_1 = 0$ une valeur propre initialement réelle négative devient réelle positive, ce

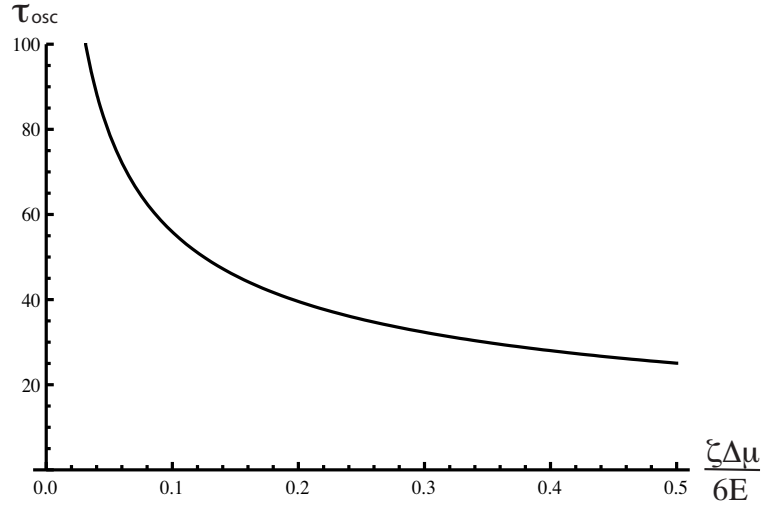


FIG. III.18: **Periode de l'instabilite oscillatoire en fonction del'activite**
 $\frac{\zeta \Delta \mu}{6E}$ ($\tau = 5s, k_f = 0.16s^{-1}, \bar{k}_{Ca} = 0.01s^{-1}$)

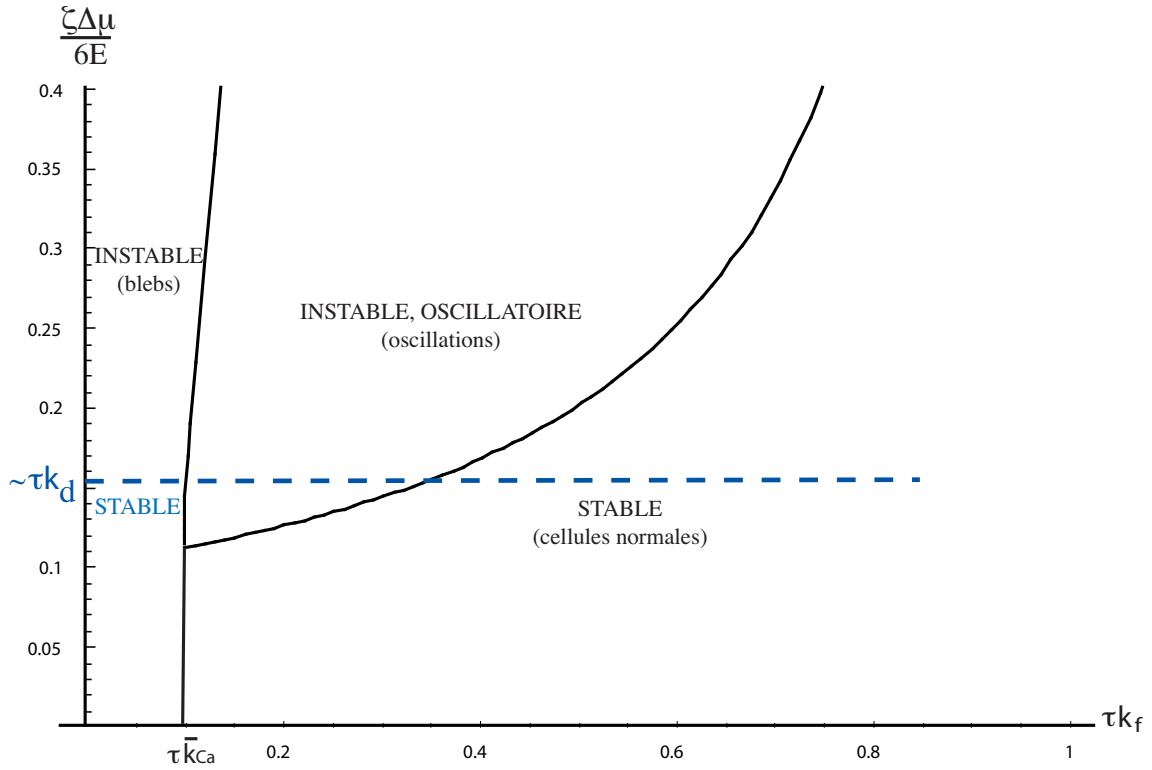


FIG. III.19: **Diagramme des phases du mode 1 en fonction des deux paramètres**
 $\frac{\zeta \Delta \mu}{6E}$ et k_f , pour $\tau \bar{k}_{Ca} = 0.1$. Entre parenthèses nous indiquons les états de la
 cellule auxquels nous relierons les différentes régions. La ligne bleue correspond à la
 stabilisation par le treadmilling, que nous n'avons pas inclus en détail dans notre
 calcul.

qui correspond à une transition stable/instable-non oscillatoire. L'équation de cette frontière est

$$\frac{\zeta \Delta \mu}{6E} < \frac{\bar{k}_{Ca}}{1 - \bar{k}_{Ca}}, \quad k_f = \bar{k}_{Ca} \quad (\text{III.107})$$

Enfin l'équation de la frontière entre l'état instable oscillant et l'état instable non-oscillant s'obtient en écrivant $(\text{Tr } M_1)^2 = 4 \det M_1$ et $\text{Tr } M_1 < 0$. L'équation de cette frontière est compliquée en general mais se simplifie dans la limite $\tau \bar{k}_{Ca} \ll 1$, ou elle s'écrit

$$y > \frac{4\tau k_f}{(1 - \tau k_f)^2} \quad (\text{III.108})$$

Sur la figure III.19 nous traçons le diagramme de stabilité linéaire correspondant, où nous séparons 3 régions : la région stable, la région instable oscillatoire et la région instable non oscillatoire.

Nous proposons de relier ces différentes phases à des états de la cellule : la région instable oscillatoire pourrait conduire à l'établissement d'un cycle limite qui correspond à l'oscillation des cellules. Dans la région instable non-oscillatoire l'instabilité est celle décrite dans le chapitre II. On peut l'interpréter, comme nous l'avons fait précédemment, comme l'événement initiateur de la formation d'un bleb, soit parce qu'elle conduit à la formation d'un trou, soit que la membrane se détache avant même que le trou soit nucléé. Cette interprétation est soumise aux mêmes restrictions que celles évoquées dans le chapitre II : notre théorie de perturbation linéaire n'est pas adaptée pour comprendre le problème de nucléation et de croissance qui y est associé. Nous appelons donc la région d'instabilité non-oscillatoire du mode 1 la "région de formation de bleb", avec les restrictions que cette dénomination impose.

Physiquement les deux régions sont approximativement séparées par la limite $k_f = \bar{k}_{Ca}$. Cette valeur critique correspond à la compétition entre l'absorption du calcium et la réponse de la rétroaction. Si l'absorption du calcium est trop rapide ($\bar{k}_{Ca} \gg k_f$), l'activité augmente peu en réponse à l'influx de calcium et l'instabilité de la couche n'est pas stoppée. Si la réponse de la rétroaction est rapide ($k_f \gg \bar{k}_{Ca}$), une forte activation de myosine répond à l'affinement de la couche et cet effet compense l'instabilité.

Expérimentalement, on observe que les cellules passent parfois d'un état oscillant à un état où elles forment des blebs, sans manipulation de l'expérimentateur. Cela pourrait correspondre au franchissement de la limite $k_f = \bar{k}_{Ca}$ sous l'effet de perturbations, bien que nous n'ayons pas de contrôle expérimental sur k_f pour le vérifier.

C.3 Influence du treadmilling

Nous avons négligé le treadmilling jusqu'ici, nous pouvons cependant essayer de prévoir brièvement son effet. Nous avons négligé à trois reprises les termes associés au treadmilling : nous avons supposé $\frac{\tau v_p}{e} \ll 1$ pour négliger le terme convectif dans les équations constitutives III.55 à III.58 ; nous avons simplifié les éqs. III.66 à III.66 en supposant $\zeta \Delta \mu \gg \frac{6\eta v_p}{R}$; enfin nous avons écrit les équations cinétiques III.77 et III.76 sans tenir compte de la polymérisation et dépolymérisation. Comme

nous l'avons vu dans le chapitre II, cela revient à supposer $\zeta\Delta\mu \gg \frac{\eta v_p}{e}$. Cette dernière condition est la plus exigeante : supposons qu'on la relaxe. Nous l'avons vu dans le chapitre II que le treadmilling tend à stabiliser l'instabilité active qui est à l'origine du mécanisme que nous décrivons ici. Nous avons vérifié, en appliquant la méthode développée au chapitre II, que pour $\zeta\Delta\mu < \zeta\Delta\mu_c \sim \eta k_d$, soit pour $\frac{\zeta\Delta\mu}{6E} < \sim \tau k_d$, le système d'équations étudié dans ce chapitre est stable. Nous incluons cette ligne en pointillé dans le diagramme des phases de la fig. III.19. Remarquons qu'expérimentalement on arrête l'oscillation en bloquant les canaux mécanosensibles ou en tamponnant le calcium externe, mais on arrête également la formation de blebs. Dans notre modèle ces deux traitements diminuent où annulent le coefficient λ , ce qui fait tendre k_f vers 0 et diminue également le calcium interne (eq. III.27) et donc $\zeta\Delta\mu$. Dans le diagramme de la fig. III.19 on se dirige donc vers l'origine (0,0), qui est dans une région stable si on tient compte du treadmilling.

D Conclusions

Pour essayer d'expliquer les données de P. Pullarkat nous avons introduit un modèle dans lequel la mécanique du cortex est couplée à une voie de signalisation. Notre modélisation est très générique : l'éq. III.31, qui décrit la réponse de l'activité à la déformation, a une forme très générale qui fait intervenir un paramètre de contrôle et un temps de relaxation, ici $\bar{k}_{Ca}^{-1}$: d'autres voies de régulation pourraient donc être modélisées par une approche similaire. Le paramètre de contrôle est ensuite relié à l'évolution du cortex pour former un système de rétroaction complet. Nous étudions alors la stabilité linéaire de ce système et nous essayons de relier les différents états à un comportement cellulaire. Bien que cette approche ignore de nombreux effets non-linéaires, elle nous permet de décrire des comportements complexes avec un nombre limité de paramètres libres. Nous avons fait varier expérimentalement l'un d'entre eux, l'activité des myosines, mais il serait intéressant dans l'avenir de parvenir à en manipuler d'autres afin de tester notre modèle. De nouvelles expériences sont en cours dans le groupe de P. Pullarkat à Bangalore : nous espérons que de nouveaux résultats expérimentaux pourront nous permettre d'affiner notre description.

Nous avons supposé dans tout ce chapitre que l'arrangement des filaments dans le cortex n'était pas perturbé par les flux qui y ont lieu. Dans le chapitre suivant nous relaxons cette hypothèse et nous étudions les effets d'un couplage entre l'organisation des filaments et les mouvements de la couche corticale.

Chapitre IV

Formation d'anneaux contractiles

Comme nous l'avons vu dans l'introduction, le cortex joue un rôle central dans la division cellulaire : il permet à la cellule de se diviser physiquement en deux cellules filles. Cela est possible grâce à l'assemblage et à la contraction d'un anneau, dans le plan perpendiculaire au faisceau mitotique qui relie les deux noyaux. Ce phénomène se produit à la fin de la mitose et est appelé cytokinèse. L'orientation du faisceau fixe une direction dans la cellule, à partir de laquelle on peut définir le plan équatorial, dans lequel l'anneau est formé, et les régions polaires (ch. I).

A la formation de cet anneau est associé un phénomène remarquable, l'apparition d'un flux cortical [13] : des filaments d'actine se déplacent des régions polaires vers la région équatoriale, à une vitesse caractéristique de $1\mu\text{m}.\text{min}^{-1}$. La visualisation directe de ce phénomène a été réalisée dans un article récent [161]. Seuls les filaments d'actine se déplacent de façon notable : il n'y a pas de flux de myosines associé [157]. Ceci est cohérent avec ce que nous avons supposé jusqu'ici : les myosines s'assemblent en oligomères qui se défont rapidement (avec un temps typique d'1s), et leur distribution n'est donc pas modifiée par l'entraînement par le gel. Les myosines sont par contre maintenues avec une concentration plus élevée dans la région équatoriale, par un mécanisme probablement associé au faisceau de microtubules [45]. En particulier lorsqu'on dépolymérise les filaments d'actine de la cellule, les myosines conservent leur localisation, ce qui montre que la régulation du profil de concentration des myosines est indépendante du cortex [159]. Cela suggère le mécanisme suivant : un signal émanant du faisceau mitotique augmente localement la concentration de myosine. C'est la réponse du cortex à ce gradient de concentration qui est responsable de la formation de l'anneau.

Nous avons jusqu'ici négligé le problème de l'orientation des filaments dans le cortex en supposant qu'ils restaient orientés au hasard dans le plan de la membrane. Pendant la cytokinèse cependant les filaments s'alignent dans le plan équatorial [2]. Nous devons donc inclure la dynamique d'évolution de l'orientation des filaments. Cela est possible grâce aux équations des gels actifs, dont nous avons établi dans le chapitre I la forme pour un nématique faiblement aligné $Q_{\alpha\beta} \ll 1$.

Notre idée est la suivante : ces équations indiquent qu'il existe en général un couplage entre le champ de vitesse dans le gel et l'orientation des filaments. Dans le cas de la cytokinèse, les myosines s'accumulent à l'équateur, ce qui crée un gradient de tension qui a deux effets : d'une part l'équateur se contracte radialement, ce qui crée un sillon dans la forme de la cellule, et d'autre part dans le plan du cortex

un flux se crée en direction de l'équateur. Ce flux est tel que les filaments sont comprimés dans le plan équatorial, ce qui tend à les aligner perpendiculairement à la direction du faisceau. Par des arguments physiques sur la nature du gel on peut donc expliquer différentes observations expérimentales associées à la cytokinèse.

Dans ce qui suit nous précisons cette idée à l'aide de notre modèle de gels actifs. Nous montrons aussi que l'introduction de ces couplages permet de proposer des explications pour d'autres mécanismes biologiques qui ont en commun la formation d'un anneau : la cicatrisation de blessure dans le cortex de l'oeuf de xénope [8][95][96] et la formation d'un pseudo-anneau dans l'embryon de *C.Elegans* [103].

A Description du modèle

Dans cette section nous dérivons les équations d'évolution de l'orientation des filaments appliquées au cortex, à partir du modèle nématique introduit dans le chapitre I.

A.1 Couplage hydrodynamique entre flux et paramètre d'ordre

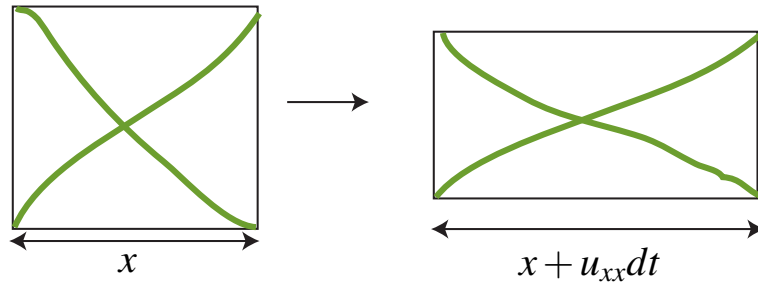


FIG. IV.1: Schéma explicitant l'origine microscopique du couplage entre flux et paramètre d'ordre (terme proportionnel au coefficient β_1 dans l'éq. IV.2) : en étirant les filaments on tend à les aligner dans le sens de l'étirement

Comme nous l'avons noté les filaments sont apparemment distribués de façon isotrope dans le cortex dans des conditions normales (en dehors de la cytokinèse) [101][100]. Ils s'alignent dans l'anneau contractile mais ils sont indifféremment ordonnés vis à vis de leur polarité bout pointu/bout barbé [92]. Ils n'ont donc pas en moyenne d'ordre polaire, nous écrivons donc $\vec{p} = 0$. Nous ne conservons donc comme paramètre d'ordre que le tenseur nématique $Q_{\alpha\beta}$ défini dans le chapitre I. Les temps caractéristiques de formation et de contraction de l'anneau sont assez longs (de l'ordre de 45 minutes pour contracter complètement l'anneau [2]), nous nous restreignons donc à la limite visqueuse pour décrire la rhéologie du gel. Les équations constitutives s'écrivent alors (voir chap. I, eqs. I.36-I.37) :

$$\sigma_{\alpha\beta} + p\delta_{\alpha\beta} = 2\eta u_{\alpha\beta} - \beta_1 H_{\alpha\beta} + \zeta \Delta\mu Q_{\alpha\beta} \quad (\text{IV.1})$$

$$\frac{D}{Dt} Q_{\alpha\beta} = \beta_1 u_{\alpha\beta} + \frac{1}{\beta_2} H_{\alpha\beta} + \lambda \Delta\mu Q_{\alpha\beta} \quad (\text{IV.2})$$

où H est le champ moléculaire sans trace associé à Q ($H_{\alpha\beta} = H_{\alpha\beta}^0 - \frac{1}{3}H_{\gamma\gamma}^0\delta_{\alpha\beta}$), où H_0 est défini par

$$H_{\alpha\beta}^0 = -\frac{\delta F_d}{\delta Q_{\alpha\beta}} \quad (\text{IV.3})$$

où F_d est l'énergie libre du gel. Nous précisons plus loin la forme choisie pour cette énergie dans le cas du cortex (eq. IV.5). L'équation constitutive pour Q fait intervenir trois termes :

- β_1 est un terme réactif qui couple le champ de vitesse à la dynamique d'orientation. On s'attend à ce qu'étirer le gel dans une direction tende à aligner les filaments dans le sens de l'étirement (voir le schéma de la figure IV.1). Ceci implique $\beta_1 > 0$. Par ailleurs pour les cristaux liquides ce terme est en général d'ordre 1 [33], ce que nous supposons vérifié également pour un gel d'actine.
- $\frac{1}{\beta_2}H_{\alpha\beta}$ est un terme dissipatif qui décrit le retour à l'équilibre thermodynamique en l'absence de perturbation. β_2 est la viscosité rotationnelle et on a nécessairement $\beta_2 > 0$. On considère en général que $\beta_2 \simeq \eta$, les deux termes correspondant à des mécanismes microscopiques similaires, la dissipation due respectivement à la rotation et à la translation des filaments.
- $\lambda\Delta\mu$ est un terme proportionnel à $\Delta\mu$ et qui est donc actif. Il décrit un effet possible des myosines sur l'orientation des filaments. Nous supposons que les myosines tendent à aligner les filaments, ce qui impose $\lambda > 0$. Cette hypothèse n'est pas essentielle dans notre description.

Le terme actif dans l'équation d'évolution de Q est proportionnel à Q et donc il ne fixe pas de direction en général : son effet est d'amplifier l'apparition d'un ordre nématique. Nous nous attendons donc à ce que β_1 soit le couplage essentiel, car il impose une direction favorisée en fonction du champ de vitesse dans le gel.

A.1.1 Energie libre pour l'orientation des filaments dans le cortex

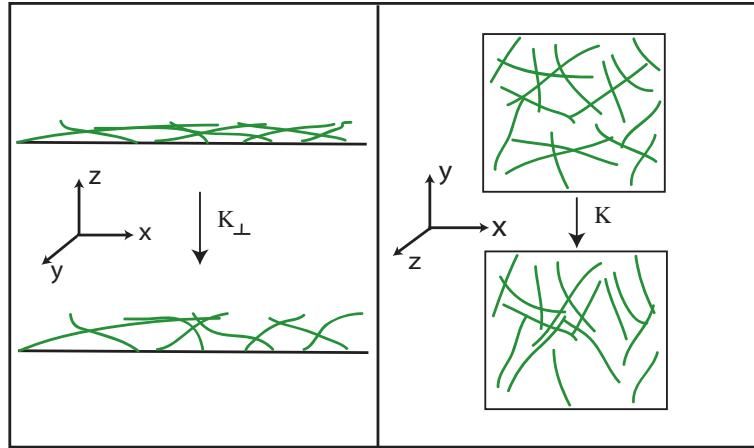


FIG. IV.2: Schéma explicitant l'origine des coefficients $K_{\perp}$ et K : $K_{\perp}$ est l'énergie nécessaire pour faire sortir les filaments du plan de la membrane, K l'énergie nécessaire pour perturber leur isotropie dans le plan de la membrane.

Nous souhaitons écrire la partie de l'énergie libre impliquant le tenseur nématique Q . Nous nous plaçons dans le plan de la membrane, et nous fixons localement une direction normale z et deux directions parallèles au plan de la membrane x et y . Nous supposons qu'à l'équilibre les filaments du cortex sont en moyenne parallèles à la membrane, et orientés au hasard dans le plan de la membrane. L'expression correspondante du tenseur nématique $Q = \langle n_\alpha n_\beta - \frac{1}{3}\sigma_{\alpha\beta} \rangle$ est alors

$$Q_0 = \begin{pmatrix} \frac{1}{6} & 0 & 0 \\ 0 & \frac{1}{6} & 0 \\ 0 & 0 & -\frac{1}{3} \end{pmatrix} \quad (\text{IV.4})$$

où la matrice est écrite dans l'espace (x, y, z) . Nous développons alors l'énergie libre F autour de cet état de référence, ce qui nous permet d'écrire

$$F_a = \frac{1}{2}K \left(\left(Q_{xx} - \frac{1}{6} \right)^2 + 2Q_{xy}Q_{yx} + \left(Q_{yy} - \frac{1}{6} \right)^2 \right) + \frac{1}{2}K_\perp \left(\left(Q_{zz} + \frac{1}{3} \right)^2 + 2Q_{xz}Q_{zx} + 2Q_{yz}Q_{zy} \right) \quad (\text{IV.5})$$

Nous avons introduit les deux susceptibilités nématiques inverses, K et $K_\perp$, qui correspondent respectivement à l'énergie nécessaire pour créer un angle entre l'orientation des filaments et le plan de la membrane, et pour perturber l'orientation des filaments parallèlement à la membrane (fig. IV.2). L'origine microscopique de ces termes énergétiques pourrait provenir de l'entropie du système, mais aussi de la nature des liens formés par les protéines de liaison ou les protéines d'adhésion à la membrane.

Nous incluons également les termes élastiques qui décrivent la réaction du gel à une distorsion spatiale du paramètre d'ordre. Cette énergie s'écrit en général en développant à l'ordre le plus bas en Q [108]

$$F_{el} = \frac{1}{2}L_1(\partial_\alpha Q_{\beta\gamma})^2 + \frac{1}{2}L_2(\partial_\alpha Q_{\alpha\beta})^2 \quad (\text{IV.6})$$

L_1 et L_2 sont les équivalents pour un nématique des constantes de Frank, décrivant les distorsions du directeur d'un nématique uniaxial. Pour simplifier on écrit en général dans "l'approximation à une constante" $L_2 = 0$, ce qui est équivalent à écrire pour un nématique uniaxial que toutes les constantes de Frank sont égales $K_1 = K_2 = K_3$. L'énergie élastique contribue alors au champ moléculaire d'un terme

$$H_{\alpha\beta}^{el} = L_1 \Delta Q_{\alpha\beta} \quad (\text{IV.7})$$

qui est simplement proportionnel au Laplacien de Q .

A.2 Modèle effectif à deux dimensions

A.2.1 Equations constitutives

Les observations expérimentales indiquent que les filaments changent leur orientation dans le plan de la membrane mais restent parallèles à la membrane [46]. Cela suggère que l'énergie $K_\perp$ requise pour écarter les filaments de la membrane est très

supérieure à K et aux autres énergies en jeu. Nous écrivons donc les équations constitutives dans la limite $K_\perp \rightarrow \infty$. Pour cela nous commençons par écrire explicitement les équations dynamiques pour Q_{xz} , Q_{yz} et Q_{zz} :

$$\frac{D}{Dt}Q_{iz} = \beta_1 u_{iz} - \frac{1}{\beta_2} K_\perp Q_{iz} + \frac{L_1}{\beta_2} \Delta Q_{zz} + \lambda \Delta \mu Q_{iz} \quad (\text{IV.8})$$

$$\frac{D}{Dt}Q_{zz} = \beta_1 u_{zz} - \frac{1}{3\beta_2} (K + 2K_\perp) (Q_{zz} + \frac{1}{3}) + \frac{L_1}{\beta_2} \Delta Q_{zz} + \lambda \Delta \mu Q_{zz} \quad (\text{IV.9})$$

desquelles nous obtenons les expressions limites pour $K_\perp \rightarrow \infty$:

$$Q_{iz} = 0 \quad (\text{IV.10})$$

$$Q_{zz} = -\frac{1}{3} \quad (\text{IV.11})$$

$$K_\perp Q_{iz} = \beta_1 \beta_2 u_{iz} \quad (\text{IV.12})$$

$$K_\perp (Q_{zz} + \frac{1}{3}) = \frac{\beta_2}{2} (3\beta_1 u_{zz} - \lambda \Delta \mu) \quad (\text{IV.13})$$

de sorte que le tenseur nématique s'écrit dans la base (x,y,z)

$$Q = \begin{pmatrix} \frac{1}{6} + \tilde{Q} & Q_{xy} & 0 \\ Q_{xy} & \frac{1}{6} - \tilde{Q} & 0 \\ 0 & 0 & -\frac{1}{3} \end{pmatrix} \quad (\text{IV.14})$$

où nous avons introduit la notation $Q_{xx} = \frac{1}{6} + \tilde{Q}$ et $Q_{yy} = \frac{1}{6} - \tilde{Q}$, de sorte que la condition de trace nulle $Q_{xx} + Q_{yy} = -Q_{zz} = \frac{1}{3}$ soit satisfaite. Nous obtenons également pour H

$$H = (-K + L_1 \Delta) \begin{pmatrix} \tilde{Q} & Q_{xy} & 0 \\ Q_{xy} & -\tilde{Q} & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{pmatrix} - \beta_1 \beta_2 \begin{pmatrix} -\frac{1}{2} u_{zz} & 0 & u_{xz} \\ 0 & -\frac{1}{2} u_{zz} & u_{yz} \\ u_{xz} & u_{yz} & u_{zz} \end{pmatrix} + \beta_2 \lambda \Delta \mu \begin{pmatrix} -\frac{1}{6} & 0 & 0 \\ 0 & -\frac{1}{6} & 0 \\ 0 & 0 & \frac{1}{3} \end{pmatrix}$$

En utilisant cette expression dans les équations pour la dynamique d'évolution de Q_{xx} , Q_{yy} et Q_{xy} IV.2, on voit qu'il ne reste que deux équations pertinentes :

$$\frac{D}{Dt} \tilde{Q} = \frac{\beta_1}{2} (u_{xx} - u_{yy}) + \left(\lambda \Delta \mu - \frac{K}{\beta_2} + \frac{L_1}{\beta_2} \Delta \right) \tilde{Q} \quad (\text{IV.15})$$

$$\frac{D}{Dt} Q_{xy} = \beta_1 u_{xy} + \left(\lambda \Delta \mu - \frac{K}{\beta_2} + \frac{L_1}{\beta_2} \Delta \right) Q_{xy} \quad (\text{IV.16})$$

ou, si nous définissons $\frac{1}{\tau_Q} = \frac{K}{\beta_2} - \lambda \Delta \mu$ le temps de relaxation du tenseur nématique,

$$\frac{D}{Dt} \tilde{Q} = -\frac{1}{\tau_Q} \tilde{Q} + \frac{L_1}{\beta_2} \Delta \tilde{Q} + \frac{\beta_1}{2} (u_{xx} - u_{yy}) \quad (\text{IV.17})$$

$$\frac{D}{Dt} Q_{xy} = -\frac{1}{\tau_Q} Q_{xy} + \frac{L_1}{\beta_2} \Delta Q_{xy} + \beta_1 u_{xy} \quad (\text{IV.18})$$

On voit que τ_Q est positif si la tendance des myosines à aligner les filaments ne dépasse pas la susceptibilité nématique inverse, soit pour

$$\lambda < \frac{K}{\beta_2 \Delta \mu} \quad (\text{IV.19})$$

A l'activité critique $\lambda > \frac{K}{\beta_2 \Delta\mu}$ l'état de référence devient instable et il y a une transition vers un état ordonné. Pour décrire ce nouvel état nous devons introduire des termes d'ordre supérieur dans l'énergie IV.5, ce que nous ferons dans la partie B.1.2. Nous pouvons déjà remarquer que, comme pour la transition du modèle d'Ising vers un état magnétique par exemple, le signe du paramètre d'ordre au-delà de cette transition n'est pas spécifié : ce qui le fixe est la valeur du gradient de vitesse u , qui agit comme un champ extérieur. En général nous supposons que nous sommes en dessous de cette transition et que λ satisfait la condition IV.19.

L'équation pour la contrainte IV.2 devient dans la limite $K_\perp \rightarrow \infty$

$$\begin{aligned} \sigma_{\alpha\beta} + p\delta_{\alpha\beta} = & 2\eta u_{\alpha\beta} + \beta_1^2 \beta_2 \begin{pmatrix} -\frac{1}{2}u_{zz} & 0 & u_{xz} \\ 0 & -\frac{1}{2}u_{zz} & u_{yz} \\ u_{xz} & u_{yz} & u_{zz} \end{pmatrix} \\ & + (\zeta\Delta\mu + \lambda\Delta\mu\beta_1\beta_2) \begin{pmatrix} \frac{1}{6} & 0 & 0 \\ 0 & \frac{1}{6} & 0 \\ 0 & 0 & -\frac{1}{3} \end{pmatrix} + (\zeta\Delta\mu + \beta_1 K - L_1\beta_1\Delta) \begin{pmatrix} \tilde{Q} & Q_{xy} & 0 \\ Q_{xy} & -\tilde{Q} & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{pmatrix} \end{aligned} \quad (\text{IV.20})$$

Le second terme du membre de droite introduit une anisotropie dans la viscosité, de même ordre de grandeur car $\beta_1 \sim 1$ et $\beta_2 \sim \eta$. Cette anisotropie existe en général pour un cristal liquide, dont l'équation constitutive s'écrit $\sigma_{\alpha\beta} + p\delta_{\alpha\beta} = 2\eta_{\alpha\beta\delta\gamma} u_{\delta\gamma}$, et ce n'est que pour simplifier que nous l'avons réduite à un seul coefficient diagonal η . Dans le même ordre d'idée nous négligeons donc ce second terme. Nous avons vérifié dans certains cas que cela ne change les résultats que d'un facteur numérique d'ordre $\frac{\eta}{\beta_2}$. On voit également que le terme d'alignement actif λ contribue à la contrainte active $\zeta\Delta\mu + \lambda\Delta\mu\beta_1\beta_2$. Nous introduisons donc le paramètre sans dimension $Z = \frac{\zeta + \lambda\beta_1\beta_2}{\zeta}$ qui renormalise la contrainte à $Z\zeta\Delta\mu$. Nous supposons également dans ce qui suit que $Z \sim 1$.

A.2.2 Épaisseur du cortex

Comme dans le chap. II, nous supposons que l'épaisseur du cortex est régulée par le treadmilling. Nous supposons que le cortex dépolymérise en volume, de sorte que sa densité décroît exponentiellement selon $\rho(z) = \rho_0 \exp(-\frac{v_p}{k_d}z)$, et que son épaisseur est donnée par

$$e = \frac{v_p}{k_d} \ln \frac{\rho_c}{\rho_0} \quad (\text{IV.21})$$

où la densité critique ρ_c a été définie dans le chap. II.

Les flux corticaux tangentiels perturbent cette distribution. Nous proposons ici une version simplifiée des calculs du chap. II, dans le cas où on peut appliquer une approximation de lubrification à la couche. Le profil de densité satisfait en général à l'équation de conservation

$$\frac{d\rho}{dt} + v_x \partial_x \rho + v_y \partial_y \rho = -k_d \rho \quad (\text{IV.22})$$

Intégrons cette équation entre $z = 0$ et $z = +\infty$, et définissons l'épaisseur du gel par $e = \frac{1}{\rho_0} \int_0^{+\infty} \rho dz$. Nous choisissons cette définition car pour le profil exponentiel

$\rho(z) = \rho_0 \exp(-\frac{v_p}{k_d} z)$ on obtient $e = \frac{v_p}{k_d}$, proche de l'eq. IV.21 à un facteur logarithmique proche de 1 près. On obtient alors l'équation

$$\frac{de}{dt} \simeq v_p - k_d e - (\partial_x v_x + \partial_y v_y) e \quad (\text{IV.23})$$

où nous avons supposé que $\int_0^{+\infty} v_x \rho dz \simeq v_x \int_0^{+\infty} \rho dz$ et $\int_0^{+\infty} v_y \rho dz \simeq v_y \int_0^{+\infty} \rho dz$. Cette approximation revient à supposer que la vitesse tangentielle varie peu à travers la couche dans la direction z , ce qui est bien une approximation de lubrification. Le temps caractéristique de la cytokinèse (~ 30 min, [2]) est bien plus grand que celui du turn-over dans la couche (de l'ordre de 40s [104]). Nous supposons donc que les flux corticaux sont également lents devant le temps de renouvellement du cortex, c'est-à-dire que $\partial_x v_x + \partial_y v_y \ll k_d$. La solution de l'eq. IV.23 relaxe donc rapidement vers sa solution stationnaire

$$e = \frac{v_p}{k_d} \left(1 - \frac{\partial_x v_x + \partial_y v_y}{k_d} \right). \quad (\text{IV.24})$$

En d'autres termes, nous considérons que la matière apportée ou enlevée par les flux corticaux constituent une perturbation au mécanisme de régulation de l'épaisseur par le treadmilling. Remarquons que l'approximation $\partial_x v_x \ll k_d$ revient généralement à supposer $\Delta\zeta\Delta\mu \ll \eta k_d$, où $\Delta\zeta\Delta\mu$ est la différence d'activité caractéristique donnant naissance au flux cortical.

A.2.3 Equations effectives à deux dimensions

Pour obtenir les équations dynamiques dans le plan du cortex nous calculons les tensions intégrées sur l'épaisseur du cortex $t_{ij} = \int_{z=0}^{z=e} \sigma_{ij} dz$

$$\begin{aligned} t_{xx} = & 2\eta e(2u_{xx} + u_{yy}) + \frac{Z\zeta\Delta\mu e}{2} \\ & + e(\zeta\Delta\mu + \beta_1 K - L_1\beta_1\Delta)\tilde{Q} \end{aligned} \quad (\text{IV.25})$$

$$\begin{aligned} t_{yy} = & 2\eta e(u_{xx} + 2u_{yy}) + \frac{Z\zeta\Delta\mu e}{2} \\ & - e(\zeta\Delta\mu + \beta_1 K - L_1\beta_1\Delta)\tilde{Q} \end{aligned} \quad (\text{IV.26})$$

$$t_{xy} = 2\eta e u_{xy} + e(\zeta\Delta\mu + \beta_1 K - L_1\beta_1\Delta)Q_{xy} \quad (\text{IV.27})$$

où u_{ij} désigne ici le gradient de la vitesse moyenne de la couche $\bar{v}_i = \frac{1}{e} \int_{z=0}^{z=e} v_i dz$. Nous avons fixé ici la pression de référence P_0 à 0. Ces équations sont complétées par l'équilibre mécanique

$$\partial_x t_{xx} + \partial_y t_{xy} = \alpha v_x \quad (\text{IV.28})$$

$$\partial_x t_{xy} + \partial_y t_{yy} = \alpha v_y \quad (\text{IV.29})$$

Le coefficient α correspond à la friction du cortex sur la membrane lipidique (voir chap. II). Les équations IV.15, IV.16, IV.25, IV.26, IV.27, IV.28 et IV.29 sont les équations effectives à deux dimensions qui décrivent le cortex d'actine.

B Applications

B.1 Formation d'un anneau dans une cellule à géométrie cylindrique

Comme nous l'avons vu dans l'introduction, pendant la cytokinèse la cellule maintient une concentration plus élevée de myosines dans la région équatoriale. Dans les termes de la théorie des gels actifs cela correspond à une valeur plus élevée de $\zeta\Delta\mu$. Nous examinons donc le problème d'une couche corticale soumise à des variations spatiales de $\zeta\Delta\mu$. Dans cette section en particulier nous considérons un cylindre de cortex d'actine de longueur L et de rayon R , soumis à un champ actif ayant le profil d'une fonction en créneaux selon z , telle que $\zeta\Delta\mu$ est égal à $\zeta\Delta\mu_1$ dans une bande centrale de largeur $2a$ et à $\zeta\Delta\mu_2$ en dehors de cette région (fig. IV.3). Nous supposons qu'un élément mécanique externe empêche le cylindre de se contracter dans la direction radiale de sorte que R est constant, et que le gel ne peut pas se déplacer aux frontières du cylindre, ce qui impose $v_z(L) = v_z(-L) = 0$. Nous négligeons tous les effets associés à la courbure du cortex, nous ne gardons donc que les termes d'ordre le plus élevé en $\frac{e}{R}$.

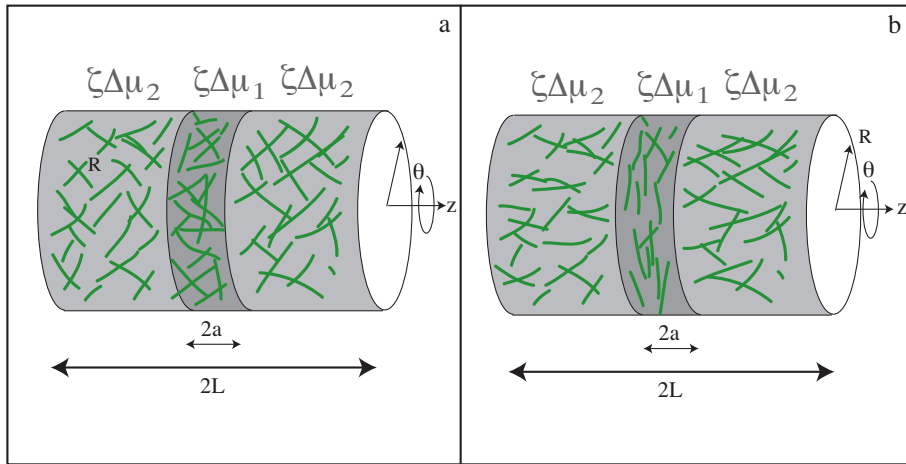


FIG. IV.3: Représentation schématique de l'alignement des filaments dans un cylindre de cortex d'actine soumis à une distribution spatiale inhomogène d'activité de myosines. Dans une bande centrale de taille $2a$, $\zeta\Delta\mu = \zeta\Delta\mu_1$ et à l'extérieur de cette région, $\zeta\Delta\mu = \zeta\Delta\mu_2 < \zeta\Delta\mu_1$. (a) conditions initiales, (b) état stationnaire induit par cette distribution.

Dans cette géométrie tous les termes non-diagonaux s'annulent, et en particulier $Q_{\theta z} = 0$. Les directions propres du tenseur Q sont donc θ et z , et $\tilde{Q}$ est une mesure de l'alignement dans l'une ou l'autre direction : en effet on a $-\frac{1}{2} < \tilde{Q} < \frac{1}{2}$, où les extrema correspondent à un alignement parfait, dans la direction θ pour $\tilde{Q} = -\frac{1}{2}$ et dans la direction z pour $\tilde{Q} = \frac{1}{2}$.

Du fait de la symétrie cylindrique on peut imposer $v_\theta = 0$ et pour toutes les quantités la dérivée par rapport à θ est nulle : $\partial_\theta = 0$. Nous supposons que le gel peut glisser sans friction sur la membrane, de sorte que l'équation d'équilibre

dans le plan de la membrane s'écrit $\partial_z t_{zz} = 0$ et donc $t_{zz} = t$ où t est une constante. L'équation IV.25 appliquée aux directions $x = z$ et $y = R\theta$ donne ensuite le gradient de vitesse $8\eta u_{zz} = 2t - Z\zeta\Delta\mu - 2(\zeta\Delta\mu + \beta_1 K - L_1\beta_1\Delta)\tilde{Q}$, et en insérant cette valeur dans l'éq. IV.15, on obtient à l'état stationnaire et pour chaque région $i = 1, 2$

$$\begin{aligned} \left(\frac{K}{\beta_2} \left(1 + \frac{\beta_1^2 \beta_2}{8\eta} \right) + \frac{\beta_1 \zeta \Delta\mu_i}{8\eta} - \lambda \Delta\mu \right) \tilde{Q} - v_z \partial_z \tilde{Q} \\ - L_1 \left(\frac{1}{\beta_2} + \frac{\beta_1^2}{8\eta} \right) \partial_z^2 \tilde{Q} = \frac{\beta_1}{16\eta} \left(2\frac{t}{e} - Z\zeta\Delta\mu_i \right) \end{aligned} \quad (\text{IV.30})$$

B.1.1 Solution faiblement ordonnée

Avant d'entrer dans la résolution détaillée du problème, on peut voir que les solutions spatialement uniformes de l'éq. IV.30 sont de l'ordre de $\tilde{Q} \sim \frac{\beta_1}{16\eta} \zeta \Delta\mu / \left(\frac{K}{\beta_2} \left(1 + \frac{\beta_1^2 \beta_2}{8\eta} \right) + \frac{\beta_1 \zeta \Delta\mu}{8\eta} - \lambda \Delta\mu \right)$. Nous supposons que le dénominateur est positif : dans le cas contraire, et comme nous l'avons vu plus tôt, l'éq. IV.15 devient instable et on doit inclure des termes d'ordre plus élevé dans l'énergie libre, ce que nous ferons dans la section suivante. On peut voir cependant que $\tilde{Q}$ diverge pour des valeurs trop élevées de λ . Pour être cohérent avec notre développement en $Q - Q_0$ de l'énergie libre du gel on doit supposer que les filaments sont faiblement alignés dans le plan de la membrane, c'est-à-dire que $\tilde{Q} \ll 1$. Pour que la solution de l'éq. IV.30 remplisse cette condition on doit donc supposer que l'effet d'alignement actif est faible, c'est-à-dire $\lambda \Delta\mu \ll K \left(\frac{1}{\beta_2} + \frac{\beta_1^2}{8\eta} \right) + \frac{\beta_1 \zeta \Delta\mu}{8\eta}$, et que la contrainte active est petite devant la partie passive du champ moléculaire, c'est-à-dire $\zeta \Delta\mu \ll K \left(\beta_1 + \frac{8\eta}{\beta_1 \beta_2} \right)$. Dans cette section nous supposons donc que $\lambda = 0$, et nous considérons la limite $\zeta \Delta\mu \ll K$, ce qui nous permet de négliger le terme convectif dans l'éq. IV.30. L'éq. IV.30 est alors linéaire et fait intervenir la longueur caractéristique

$$l_i = \sqrt{\frac{L_1}{K + \frac{\beta_1 \beta_2}{8\eta + \beta_1^2 \beta_2} \zeta \Delta\mu}} \quad (\text{IV.31})$$

l_i est la longueur de corrélation nématique sur laquelle le gel peut relaxer d'une valeur de $\tilde{Q}$ à une autre. Dans notre limite simple $\zeta \Delta\mu \ll K$ on a $l_i \simeq l = \sqrt{\frac{L_1}{K}}$. En résolvant séparément l'équation dans les deux régions, puis en imposant la continuité de $\tilde{Q}$, $\partial_z \tilde{Q}$ et v_z à la frontière, et enfin en imposant que le gel soit maintenu aux extrémités du cylindre $v_z(L) = v_z(-L) = 0$ on trouve

$$|z| < a \quad \tilde{Q} \simeq \frac{\beta_1 \beta_2}{16\eta + 2\beta_1^2 \beta_2} \frac{\zeta \Delta\mu_1 - \zeta \Delta\mu_2}{K} \times \left(e^{-\frac{a}{l}} \cosh \frac{z}{l} - 1 \right) \quad (\text{IV.32})$$

$$|z| > a \quad \tilde{Q} \simeq \frac{\beta_1 \beta_2}{16\eta + 2\beta_1^2 \beta_2} \frac{\zeta \Delta\mu_1 - \zeta \Delta\mu_2}{K} \times \left(\frac{a}{L} + 2e^{-\frac{L}{l}} \sinh \frac{z}{l} \sinh \frac{|z| - L}{l} \right) \quad (\text{IV.33})$$

où nous avons supposé que le cylindre est suffisamment long pour assurer $L \gg l$ et $L \gg a$. Si on suppose en plus $a \gg l$ alors

$$\tilde{Q}(0) \sim -\frac{\zeta \Delta\mu_1 - \zeta \Delta\mu_2}{K} \quad (\text{IV.34})$$

$$\tilde{Q}(x \gg a) \sim \frac{\zeta \Delta\mu_1 - \zeta \Delta\mu_2}{K} \frac{a}{L} \quad (\text{IV.35})$$

On voit que le gel est orienté dans la direction θ dans la région centrale et en dehors dans la direction z . Cette distribution des orientations dans le cortex est très proche de celle observée expérimentalement dans la ref. [46] (voir fig. IV.5). Dans cet article les auteurs observent des cellules en division sur un substrat, adhérentes aux cellules voisines. La géométrie de la cellule est donc différente d'un cylindre : les cellules ont une forme aplatie et les conditions ne sont pas isotropes. La situation d'un cortex cylindrique que nous décrivons peut cependant être considérée comme un modèle idéalisé de ce système expérimental plus complexe.

Physiquement, du fait d'une activité des myosines plus élevée, le gel est comprimé dans l'anneau et étiré en dehors, ce qui, par le biais du couplage hydrodynamique entre flux et orientation, conduit au profil d'orientation que nous venons de décrire (fig. IV.4).

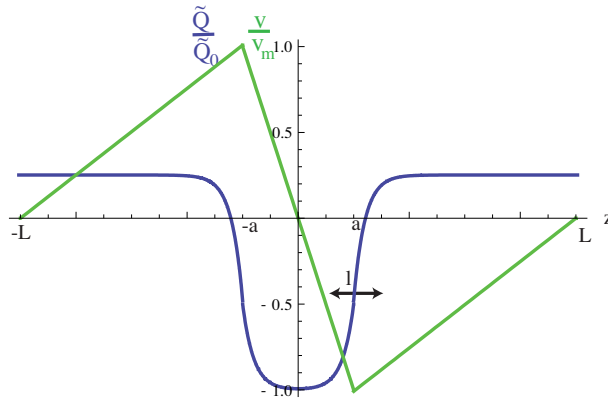


FIG. IV.4: Paramètre d'ordre ($\tilde{Q}$, courbe bleue) et vitesse du flux (v_x , courbe verte) en fonction de la coordonnée z du cylindre. Les filaments sont orientés perpendiculairement à la direction de l'inhomogénéité appliquée dans la région centrale, et dans la direction z en dehors. La transition entre les deux niveaux d'alignements a lieu sur une région de taille l . v_m est la vitesse maximale (éq. IV.38) et $\tilde{Q}_0$ l'alignement maximum en valeur absolue.

Le flux d'actine s'écrit dans les mêmes limites, en incluant $a \gg l$:

$$|z| < a \quad v_z = \frac{\zeta \Delta\mu_2 - \zeta \Delta\mu_1}{8\eta + \beta_1^2 \beta_2} z \quad (\text{IV.36})$$

$$|z| > a \quad v_z = \frac{\zeta \Delta\mu_1 - \zeta \Delta\mu_2}{8\eta + \beta_1^2 \beta_2} \frac{a}{L} (|z| - L) \frac{|z|}{z} \quad (\text{IV.37})$$

de sorte que le gel s'écoule avec une vitesse maximale

$$v_m = \frac{(\zeta \Delta\mu_1 - \zeta \Delta\mu_2) a}{8\eta + \beta_1^2 \beta_2} \quad (\text{IV.38})$$

Pour des valeurs raisonnables des paramètres ($\zeta\Delta\mu = 10^3$ Pa, $\eta = 10^4$ Pa.s, $a = 1\mu\text{m}$, voir appendice A) on obtient $v_m \sim 0.01\mu\text{m.s}^{-1}$ qui est dans l'intervalle des vitesses corticales observées expérimentalement ($1\mu.\text{min}^{-1}$, [18]). Le flux est orienté des pôles vers l'anneau. En l'absence de treadmilling, la conservation de la matière impliquerait que les deux régions externes perdent progressivement leur cortex, au bénéfice de l'anneau qui deviendrait très épais. Ici nous supposons cependant que la polymérisation de nouveaux filaments compense cette perte, et qu'à l'inverse, dans l'anneau, une partie de la matière en excès est dépolymérisée.

Remarquons enfin qu'à partir de l'éq IV.32 on voit que l'alignement maximal $\tilde{Q}(z=0) \sim \frac{\zeta\Delta\mu_1 - \zeta\Delta\mu_2}{K} (e^{-\frac{a}{\tau}} - 1)$ décroît à 0 quand $\frac{l}{a} \rightarrow \infty$. Il est donc nécessaire que l'énergie associée à la distorsion et donc le coefficient L_1 ne soient pas trop grands pour que l'on puisse observer l'alignement.

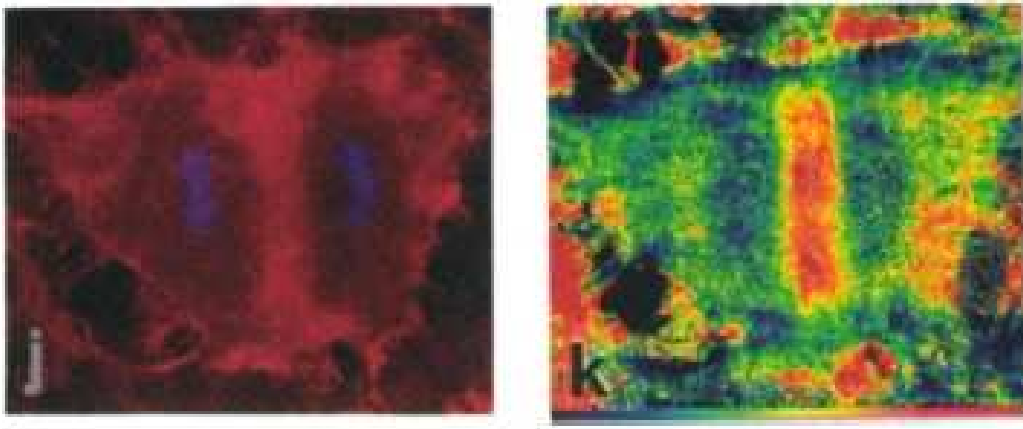


FIG. IV.5: Cellule en fin de mitose et début de cytokinèse, reproduit de [46]. Image de gauche : marquage à la phalloïdine et au Hoechst-33258, qui font apparaître l'actine (rouge), et les deux noyaux (bleu). Image de droite : vue de la même cellule en microscopie à dichroïsme linéaire détecté par fluorescence (FDLD) : la couleur rouge indique que les filaments sont orientés dans l'axe bas/haut, la couleur bleue dans l'axe gauche/droite et le vert indique une distribution isotrope. La cellule est entourée d'autres cellules auxquelles elle adhère. Le motif d'orientation observé est proche de celui que nous obtenons (voir fig. IV.4).

B.1.2 Alignement dans l'anneau à forte activité

Nous souhaitons maintenant obtenir la valeur du paramètre d'ordre dans le cas où nos approximations précédentes $\lambda = 0$ et $\zeta\Delta\mu \ll K$ ne sont plus vérifiées. Pour simplifier nous supposons $l = 0$, $\zeta\Delta\mu_2 = 0$ et $a \ll L$, nous redéfinissons $\zeta\Delta\mu = \zeta\Delta\mu_1$ et nous nous restreignons à l'étude de l'état stationnaire dans l'anneau (région 1). Pour des valeurs plus élevées du paramètre d'ordre il est nécessaire d'inclure des termes de rang supérieur dans l'énergie libre du gel donnée dans l'éq. IV.5. Nous développons donc l'énergie au sixième ordre

$$F'_a = F_a + \frac{K_3}{3}(\text{Tr } Q)^3 + \frac{K_4}{4}(\text{Tr } Q)^4 + \frac{K_5}{5}(\text{Tr } Q)^5 + \frac{K_6}{6}(\text{Tr } Q)^6 \quad (\text{IV.39})$$

Ce développement n'est pas le plus général pour un nématique à 3 dimensions mais il suffit ici à saisir la physique du problème. En suivant la même démarche que dans la section A.2 et qu'au début de la section B.1, l'éq. IV.15 s'écrit dans la région centrale

$$\frac{d}{dt}\tilde{Q} = \left(\lambda\Delta\mu - \frac{\beta_1\zeta\Delta\mu}{8\eta} - K\left(\frac{1}{\beta_2} + \frac{\beta_1^2}{8\eta}\right) \right) \tilde{Q} - \left(\frac{1}{\beta_2} + \frac{\beta_1^2}{8\eta} \right) (K_4\tilde{Q}^3 + K_6\tilde{Q}^5) - \frac{\beta_1 Z\zeta\Delta\mu}{16\eta} \quad (\text{IV.40})$$

qui peut être comparée à l'éq. IV.30. Les termes impairs dans l'énergie IV.39 s'annulent en prenant la limite $K_\perp \rightarrow \infty$. Ce résultat peut être compris par des arguments de symétrie : pour un nématique à deux dimensions, deux valeurs opposées du tenseur nématique Q et $-Q$ décrivent deux situations identiques physiquement, à une rotation de $\frac{\pi}{2}$ près. L'énergie doit donc être la même, ce qui interdit les termes impairs.

L'éq. IV.40 peut être vue comme une équation de relaxation vers le minimum d'une énergie effective comprenant une partie passive et une partie active proportionnelle à $\Delta\mu$

$$F_{\text{eff}}(\tilde{Q}) = \frac{K}{2}\tilde{Q}^2 + \frac{K_4}{4}\tilde{Q}^4 + \frac{K_6}{6}\tilde{Q}^6 + \frac{\beta_2\Delta\mu}{8\eta + \beta_1^2\beta_2} \left(\frac{\beta_1 Z\zeta}{2}\tilde{Q} + (\beta_1\zeta - 8\eta\lambda)\tilde{Q}^2 \right) \quad (\text{IV.41})$$

Cette énergie admet un minimum stable de $\tilde{Q}$, négatif pour toutes les valeurs de λ : comme nous l'avons vu même en présence d'un effet d'alignement actif c'est le sens de l'écoulement qui impose le sens de l'orientation. Sa solution pour différents paramètres est tracée sur la fig. IV.6, en supposant que λ et ζ sont tous les deux proportionnels à la concentration en myosines actives c_m . Dans tous les cas le degré d'alignement augmente avec l'activité.

Un cas particulièrement intéressant se produit lorsque la partie passive de l'énergie effective F_{eff} admet deux minima, $\tilde{Q} = 0$ et une autre solution que nous supposons fortement ordonnée. Cela se produit pour $K_4 < 0$ et $|K_4| > 2\sqrt{K_6 K_2}$. Cette situation pourrait être réalisée physiquement lorsque, par exemple, le gel est mélangé à deux types différents de protéines de liaison, l'un favorisant une distribution aléatoire de filaments et l'autre stabilisant des faisceaux de filaments parallèles. Cela pourrait se produire si au niveau microscopique certaines protéines de liaisons favorisent certains angles entre filaments. Dans ce cas il y a une transition du premier ordre pour $\tilde{Q}$ d'un état faiblement ordonné à un état fortement ordonné (fig IV.6) : l'effet actif conduit le système d'un état stable à un autre. La différence majeure entre cette situation et les cas précédents est que la transition n'est pas réversible : si les myosines sont inactivées le gel reste dans l'état nématique puisqu'il a atteint un nouveau minimum de l'énergie passive.

Dans ce qui suit et dans un souci de simplicité nous nous restreignons principalement à la limite faiblement ordonnée comme dans la partie précédente.

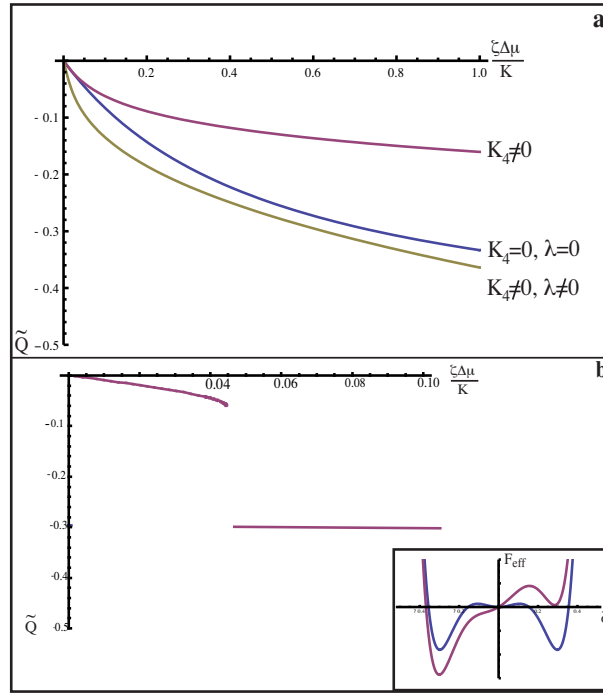


FIG. IV.6: Valeur stationnaire de $\tilde{Q}$ en fonction de $\frac{\zeta \Delta \mu}{K}$ pour $\eta = \beta_2$ et $\beta_1 = 2$. a- $K_6 = 0$, courbe bleue : solution faiblement ordonnée de l'équation IV.32 pour $\zeta \Delta \mu_2 = 0$, courbe rouge : solution pour $\frac{K_4}{K} = 100$: ce terme induit une saturation de $\tilde{Q}$, courbe jaune : effet du terme d'alignement actif, on suppose que λ est proportionnel à ζ selon $\lambda = \frac{\zeta}{\eta}$, et on garde $\frac{K_4}{K} = 100$. b - Transition du premier ordre pour un profil énergétique bistable. Insert : F_{eff} en l'absence de champ actif $\zeta \Delta \mu = 0$ (courbe bleue) et pour un champ actif au-delà de la transition $\zeta \Delta \mu > \zeta \Delta \mu_c$ (courbe rouge).

B.2 Fermeture d'un anneau contractile dans le plan du cortex

Nous nous tournons maintenant vers un autre phénomène biologique dans lequel un anneau contractile se forme, et qui est observé dans les oeufs de Xénope (voir [8], [95], [96] et fig. IV.7) : après la formation d'une blessure dans le cortex par ablation laser, de l'actine et de la myosine sont recrutées dans un anneau qui se contracte jusqu'à ce que le trou soit refermé. Un flux rapide et radial de filaments d'actine apporte de la matière à l'anneau, qui lui même se contracte plus lentement. Les données expérimentales montrent que les myosines sont recrutées dans un anneau autour du trou même lorsque l'actine corticale est dépolymérisée, nous supposons donc comme dans la partie précédente qu'une activité de myosines plus élevée est maintenue dans l'anneau, grâce à un mécanisme qui pourrait être relié à la distribution de microtubules dans le cortex [96]. Nous considérons donc une couche d'actine percée d'un trou de rayon r_0 , à laquelle est appliquée une fonction en créneau d'activité de myosine $\zeta \Delta \mu = \zeta \Delta \mu_1$ pour $r_0 < r < r_1$ et $\zeta \Delta \mu = \zeta \Delta \mu_2$ pour $r > r_1$ (fig IV.8). Il y a donc une symétrie radiale, de sorte que toutes les dérivées par rapport à θ s'annulent. Comme précédemment, nous considérons que l'épaisseur e est approximativement uniforme du fait du treadmilling, bien que cela

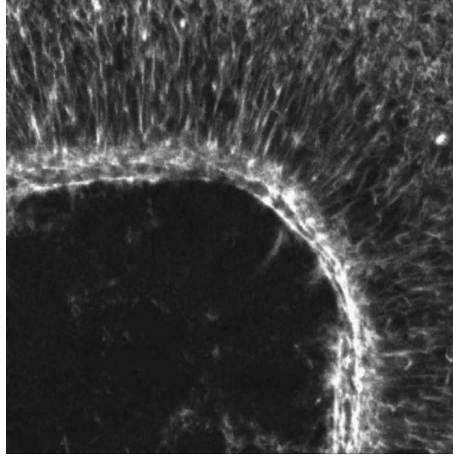


FIG. IV.7: Observation de l'anneau contractile et du flux cortical dans un cortex d'oeuf de Xénope dont on a détruit une région (au centre) par ablation laser (reproduit de [95]). Les filaments d'actine sont marqués avec de la phalloïdine.

soit clairement une simplification puisque des variations importantes de densité sont observées expérimentalement [95].

Dans cette géométrie l'équilibre mécanique devient

$$\partial_r t_{rr} + \frac{1}{r}(t_{rr} - t_{\theta\theta}) = \alpha v_r \quad (\text{IV.42})$$

où α est un coefficient de friction entre la couche et la membrane. Ce problème

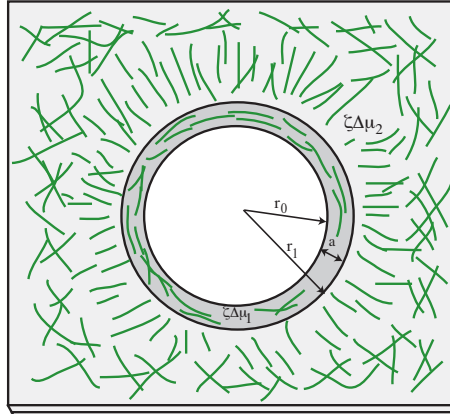


FIG. IV.8: Géométrie du problème de fermeture de trou : un niveau élevé d'activité de myosine $\zeta\Delta\mu_1$ est maintenu dans un anneau de largeur a , entourant un trou circulaire de rayon r_0 . En vert nous représentons schématiquement l'orientation des filaments d'actine.

est similaire au cas cylindrique de la section précédente, nous introduisons donc les mêmes approximations : dans la limite faiblement ordonnée on peut négliger le terme convectif dans l'éq. IV.15. Nous supposons également que la longueur de distorsion l est petite devant les autres longueurs (en particulier $l \ll a$) de sorte

que les termes en L_1 peuvent être négligés, et nous imposons pour simplifier $\lambda = 0$. A partir de l'équilibre des forces (eq. IV.42) et de l'équation dynamique pour le tenseur nématique (eq. IV.15) nous obtenons deux équations :

$$de4\eta\partial_r(\partial_r + \frac{1}{r})v_r + \frac{1}{2}\partial_r\zeta\Delta\mu + (\partial_r + \frac{2}{r})(\zeta\Delta\mu + \beta_1K)\tilde{Q} = \frac{\alpha}{e}v_r \quad (\text{IV.43})$$

$$\frac{d\tilde{Q}}{dt} = -\frac{K}{\beta_2}\tilde{Q} + \frac{\beta_1}{2}(\partial_r - \frac{1}{r})v_r \quad (\text{IV.44})$$

Le temps caractéristique de relaxation du paramètre d'ordre est d'ordre $\frac{\beta_2}{K}$. Nous supposons que $\tilde{Q}$ est à l'état stationnaire, une supposition qui est valable à condition que $\tilde{Q}$ relaxe rapidement en comparaison du flux. Comme à la fin du calcul on voit que le gel s'écoule avec un temps caractéristique $\frac{\eta}{\zeta\Delta\mu}$, cette supposition est valable dans la limite faiblement ordonnée $\zeta\Delta\mu \ll K$ que nous avons considérée précédemment. Si on la suppose valable, la solution pour $\tilde{Q}$ est immédiate et l'équation pour v_r s'écrit

$$\eta\partial_r(\partial_r + \frac{1}{r})v_r + \frac{\beta_1\beta_2}{2K}(\partial_r + \frac{2}{r})(\zeta\Delta\mu + \beta_1K)(\partial_r - \frac{1}{r})v_r = \frac{\alpha}{e}v_r \quad (\text{IV.45})$$

Si nous négligeons la friction, et dans les régions où $\zeta\Delta\mu$ est uniforme cela se réduit à

$$\partial_r(\partial_r + \frac{1}{r})v_r = 0 \quad (\text{IV.46})$$

dont la solution générale est $v_r = Ar + \frac{B}{r}$, où les constantes A et B doivent être déterminées dans chaque région en utilisant les conditions aux limites

$$\sigma_{rr}(r_0) = 0 \quad (\text{IV.47})$$

$$\sigma_{rr}(r_1^-) = \sigma_{rr}(r_1^+) \quad (\text{IV.48})$$

$$v_r(r_1^-) = v_r(r_1^+) \quad (\text{IV.49})$$

$$v_r(r \rightarrow \infty) = 0 \quad (\text{IV.50})$$

La solution générale est compliquée mais se simplifie si on suppose également $\zeta\Delta\mu_1 \gg \zeta\Delta\mu_2$:

$$\text{pour } r_0 < r < r_1 : \quad (\text{IV.51})$$

$$v_r(r) = -\frac{\zeta\Delta\mu_1 r_0}{16\eta} \left[\frac{r}{r_0} - \frac{r_0}{r} + \frac{\zeta\Delta\mu_1 \beta_2 \beta_1}{2\eta K} (1 - \frac{r_0^2}{r_1^2}) \frac{r}{r_0} \right] \quad (\text{IV.52})$$

$$\text{pour } r > r_1 : \quad (\text{IV.53})$$

$$v_r(r) \simeq -\frac{\zeta\Delta\mu_1}{16\eta} \frac{r_1^2}{r} (1 - \frac{r_0^2}{r_1^2}) \quad (\text{IV.54})$$

et le paramètre d'ordre nématique est donné par

$$r_0 < r < r_1 \quad \tilde{Q}(r) = -\frac{\zeta\Delta\mu_1 \beta_1 \beta_2}{16\eta K} \frac{r_0^2}{r^2} \quad (\text{IV.55})$$

$$r > r_1 \quad \tilde{Q}(r) = \frac{\zeta\Delta\mu_1 \beta_1 \beta_2}{16\eta K} \frac{r_1^2}{r^2} (1 - \frac{r_0^2}{r_1^2}) \quad (\text{IV.56})$$

$\tilde{Q}$ est négatif dans l'anneau, les filaments y sont donc orientés orthoradialement, et à l'extérieur de l'anneau $\tilde{Q}$ est positif, les filaments sont donc orientés radialement. L'anneau se contracte avec la vitesse

$$v_{anneau} = v_r(r_0) = -\frac{r_0}{16\eta} \left[\frac{\zeta \Delta \mu_1^2 \beta_1 \beta_2}{2\eta K} \left(1 - \frac{r_0^2}{r_1^2}\right) - 8\zeta \Delta \mu_2 \right] \quad (\text{IV.57})$$

et donc l'anneau se contracte quand

$$\zeta \Delta \mu_1 > 4 \sqrt{\frac{\zeta \Delta \mu_2 \eta K}{\beta_1 \beta_2} \frac{r_0}{1 - \frac{r_0^2}{r_1^2}}} \quad (\text{IV.58})$$

Si cette condition est satisfaite largement ($\zeta \Delta \mu_1 \gg 4 \sqrt{\frac{\zeta \Delta \mu_2 \eta K}{\beta_1 \beta_2} \frac{r_0}{1 - \frac{r_0^2}{r_1^2}}}$) et dans la limite $a = r_1 - r_0 \ll r_0$ la vitesse de l'anneau s'écrit

$$v_{anneau} = v_r(r_0) = -\frac{\zeta \Delta \mu_1^2 \beta_1 \beta_2}{16\eta^2 K} a \quad (\text{IV.59})$$

et si la largeur de l'anneau a est constante (du fait d'un processus externe de régulation) la vitesse de l'anneau est donc également constante, ce qui est approximativement vérifié expérimentalement. La vitesse maximale du flux est atteinte à $r = r_1$:

$$v_{max} = v_r(r_1) \simeq -\frac{\zeta \Delta \mu_1}{16\eta} \left(1 - \frac{r_0^2}{r_1^2}\right) r_1 \quad (\text{IV.60})$$

$$\simeq -\frac{\zeta \Delta \mu_1}{8\eta} a \quad (\text{IV.61})$$

où la deuxième ligne est obtenue en appliquant l'approximation $a \ll r_0$. En utilisant les données de la ref. [95] on trouve $v_{anneau} \simeq 0.04 \mu m.s^{-1}$, $v_{max} \simeq 0.12 \mu m.s^{-1}$ et une largeur d'anneau $a \simeq 2 \mu m$. En utilisant les expressions théoriques correspondantes pour $\beta_1 = 2$ et $\beta_2 = \eta$ on trouve $\frac{\zeta \Delta \mu}{\eta} \sim 0.5 s^{-1}$ et $\frac{\zeta \Delta \mu}{K} \sim 0.3$, en accord correct avec nos approximations et les valeurs connues des paramètres que nous utilisons ($\eta \sim 10^4 Pa.s$ et $\zeta \Delta \mu \sim 10^3 Pa$, voir appendice A)

Les observations expérimentales indiquent également que la vitesse en dehors de l'anneau décroît plus vite que la dépendance en $\frac{1}{r}$ que nous avons trouvée, sur une longueur d'environ $5 \mu m$ [95]. Cette décroissance rapide pourrait provenir de la friction du cortex sur la membrane : comme nous l'avons décrit dans le chap. II les filaments corticaux sont attachés à des protéines membranaires qui sont entraînées par le cortex et qui doivent donc couler dans la bicouche lipidique visqueuse, ce qui génère une friction approximativement égale à $\alpha \sim \frac{\eta_b}{\xi^2}$ où η_b est la viscosité 2D de la bicouche et ξ la distance entre les protéines [16]. En résolvant l'éq. IV.43 avec ce terme on obtient un résultat similaire à la limite $\alpha = 0$, mais le résultat s'exprime maintenant à l'aide des fonctions de Bessel $I_1(\frac{r}{l_\alpha})$ et $K_1(\frac{r}{l_\alpha})$ où $l_\alpha = \sqrt{\frac{\eta_e}{\alpha}}$.

De ce fait la vitesse décroît exponentiellement en dehors de l'anneau sur une longueur l_α . En utilisant des valeurs raisonnables pour les différents paramètres

$\eta = 10^4 Pa.s$, $\xi = 50nm$, $e = 1\mu m$ et $\eta_b = 10^{-6} Pa.s.m$ on trouve $l_\alpha \sim 15\mu m$, ce qui est en accord avec les observations expérimentales si l'on tient compte de la relative imprécision dans notre connaissance de la valeur des paramètres. Sur la fig. IV.9 nous traçons les profils de vitesse, du paramètre d'ordre et de la densité obtenus en incluant la friction. Le profil d'épaisseur est calculé en utilisant l'éq. IV.24 : le gel apparaît plus épais dans l'anneau et moins épais dans la région extérieure à l'anneau, sur une longueur de taille $\sim l_\alpha$, ainsi qu'observé dans les expériences [95]. Notons que l'éq. IV.24 n'est valable que dans la limite $\frac{v_{max}e}{r_0v_p} \ll 1$, où v_p est la vitesse de dépolymérisation du cortex, afin que les flux corticaux ne dominent pas le treadmilling.

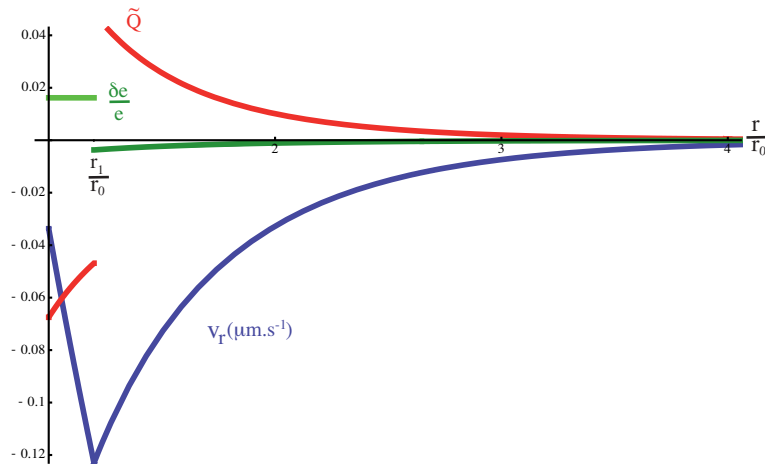


FIG. IV.9: Vitesse, paramètre d'ordre et épaisseur de la couche en fonction de r pour un anneau contractile dans le plan dans le cortex d'oeuf de Xénope. ($\frac{\zeta\Delta\mu a}{\eta} = 0.8$, $\frac{\zeta\Delta\mu}{K} = 0.3$, $\frac{a}{r_0} = 0.2$, $\beta_1 = 2$ and $\beta_2 = \eta$). Les filaments s'alignent orthoradialement dans l'anneau, où le cortex est aussi plus épais, et radialement en dehors de l'anneau, où le cortex est plus fin. La variation d'épaisseur induite par le flux est calculée à partir de l'éq. IV.24.

B.3 Cytocinèse dans une cellule sphérique suspendue

Perturbation au premier ordre

Dans cette section nous nous tournons vers la description d'une cellule sphérique en suspension, soumise à des gradients d'activité dans la direction polaire dénotée par θ (fig. V.14). Nous supposons que le problème admet une symétrie cylindrique autour de l'angle azimutal ϕ : en particulier la distribution de myosines respecte cette symétrie. Dans la situation de référence, avant la cytokinèse, nous supposons que le cortex est soumis à un champ actif $\zeta\Delta\mu$ qui donne naissance à une tension $\frac{\zeta\Delta\mu e}{2}$, qui stabilise la cellule à une forme sphérique selon la loi de Laplace $\Delta P = \Delta\Pi = \frac{\zeta\Delta\mu e}{R}$, où $\Delta\Pi$ est la différence de pression osmotique entre les milieux intra et extracellulaires. Cette situation est celle que nous avons décrite dans le chap. II. Nous nous intéressons ensuite à des perturbations de cet état. Dans la géométrie que nous considérons la

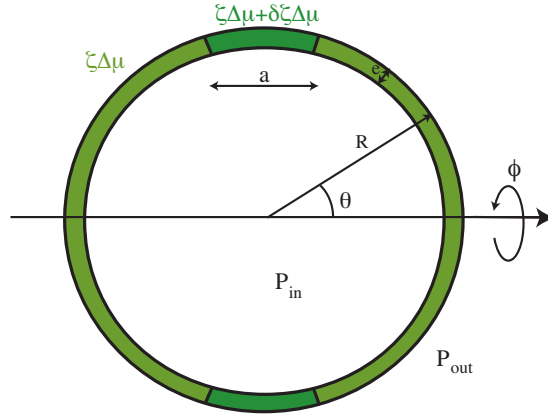


FIG. IV.10: Paramètres géométriques pour une cellule suspendue en cytokinèse : une concentration plus élevée de myosines actives est maintenue dans la région équatoriale autour de $\theta = \frac{\pi}{2}$.

couche corticale peut se déformer en réponse à des variations de tension corticale, ce qui rend sa description beaucoup plus complexe que dans le cas d'un cylindre où nous avons supposé un rayon constant. Il est donc raisonnable de se restreindre à l'étude de perturbations linéaires autour d'un état sphérique de référence, en introduisant les fonctions

$$R(\theta) = R + \delta R(\theta) \quad (\text{IV.62})$$

$$\zeta \Delta \mu(\theta) = \zeta \Delta \mu + \delta \zeta \Delta \mu(\theta) \quad (\text{IV.63})$$

Nous supposons comme dans les parties précédentes que l'épaisseur de la couche e est constante et régulée par le treadmilling. Il faut cependant remarquer qu'à l'aide d'expériences de FRAP, des variations spatiales de vitesse de polymérisation ont été observées expérimentalement, le temps de renouvellement de la couche étant plus élevé dans l'anneau. Dans notre description cela correspondrait à une vitesse de polymérisation v_p plus élevée et par le calcul de la partie A.2.2 à des variations d'épaisseur. Dans un souci de simplicité nous n'incluons pas cet effet dans notre calcul, mais on peut remarquer qu'il a le même effet physique que l'inhomogénéité dans la concentration de myosines : augmenter la tension $\zeta \Delta \mu e$ dans l'anneau. Nous imposons également $\lambda = 0$, $L_1 = 0$, et nous négligeons la viscosité du cytosol $\eta_c = 0$ par rapport à la viscosité du cortex η . En conséquence la pression P_{in} est uniforme dans la cellule. Nous considérons également qu'aux échelles de temps et de pression de la cytokinèse, l'échange d'eau à travers la membrane est suffisamment faible pour que l'on puisse considérer que le volume est conservé.

Comme la couche corticale est courbée, l'énergie du nématique IV.5 fait intervenir le tenseur Q exprimé dans la base locale $(\vec{n}, \vec{t}_1, \vec{t}_2)$, où $\vec{t}_1 = \frac{\partial_\theta R}{R} \vec{e}_r + \vec{e}_\theta$ et $\vec{t}_2 = \vec{e}_\phi$ sont les vecteurs tangents à la membrane et $\vec{n} = \vec{e}_r - \frac{\partial_\theta R}{R} \vec{e}_\theta$ est le vecteur normal. Dans la limite $K_\perp \rightarrow \infty$ on obtient pour Q exprimé dans la base locale en suivant

la démarche de la partie A.2 :

$$\begin{pmatrix} Q_{nn} & Q_{nt_1} & Q_{nt_2} \\ Q_{nt_1} & Q_{t_1 t_1} & Q_{t_1 t_2} \\ Q_{nt_2} & Q_{t_1 t_2} & Q_{t_2 t_2} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} -\frac{1}{3} & 0 & 0 \\ 0 & \frac{1}{6} + \tilde{Q} & Q_{t_1 t_2} \\ 0 & Q_{t_1 t_2} & \frac{1}{6} - \tilde{Q} \end{pmatrix} \quad (\text{IV.64})$$

qui définit en particulier $\tilde{Q}$. En passant dans la base $(\vec{e}_r, \vec{e}_\theta, \vec{e}_\phi)$ le tenseur devient donc

$$\begin{pmatrix} Q_{rr} & Q_{r\theta} & Q_{r\phi} \\ Q_{r\theta} & Q_{\theta\theta} & Q_{\theta\phi} \\ Q_{r\phi} & Q_{\theta\phi} & Q_{\phi\phi} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} -\frac{1}{3} & \frac{1}{2} \frac{\partial_\theta R}{R} & 0 \\ \frac{1}{2} \frac{\partial_\theta R}{R} & \frac{1}{6} + \tilde{Q} & Q_{\theta\phi} \\ 0 & Q_{\theta\phi} & \frac{1}{6} - \tilde{Q} \end{pmatrix} \quad (\text{IV.65})$$

où nous n'avons gardé que les termes du premier ordre en $\tilde{Q}$ et $\frac{\partial_\theta R}{R}$. On voit qu'en comparaison de la situation plane un terme en $Q_{r\theta}$ est apparu, que nous incluons dans la suite des calculs. Pour obtenir l'équation mécanique dans le cas d'une couche non plane on utilise une théorie de coque (voir appendice C). Pour cela on doit calculer les tensions mais aussi les moments intégrés sur la couche :

$$t_\theta = \int_{-\frac{e}{2}}^{\frac{e}{2}} \sigma_{\theta\theta} dz = 2\eta \frac{e}{R} [2\partial_\theta v_\theta + \cot \theta v_\theta + 3v_r] + \frac{Z}{2} \zeta \Delta \mu e + e(\zeta \Delta \mu + \beta_1 K) \tilde{Q} \quad (\text{IV.66})$$

$$t_\phi = \int_{-\frac{e}{2}}^{\frac{e}{2}} \sigma_{\phi\phi} dz = 2\eta \frac{e}{R} [\partial_\theta v_\theta + 2 \cot \theta v_\theta + 3v_r] + \frac{Z}{2} \zeta \Delta \mu e - e(\zeta \Delta \mu + \beta_1 K) \tilde{Q} \quad (\text{IV.67})$$

$$n_\theta = \int_{-\frac{e}{2}}^{\frac{e}{2}} \sigma_{r\theta} dz \quad (\text{IV.68})$$

et les moments

$$g_\theta = \int_{-\frac{e}{2}}^{\frac{e}{2}} z \sigma_{\theta\theta} (1 + \frac{z}{R}) dz \quad (\text{IV.69})$$

$$= \frac{e^3}{12R^2} [2\eta(2\partial_\theta + \cot \theta)(v_\theta - \partial_\theta v_r - \zeta \Delta \mu \frac{\partial_\theta R}{R}) + \frac{3}{2} \zeta \Delta \mu e + e(\zeta \Delta \mu + \beta_1 K) \tilde{Q}] \quad (\text{IV.70})$$

$$g_\phi = \int_{-\frac{e}{2}}^{\frac{e}{2}} z \sigma_{\phi\phi} (1 + \frac{z}{R}) dz \quad (\text{IV.71})$$

$$= \frac{e^3}{12R^2} [2\eta(\partial_\theta + 2 \cot \theta)(v_\theta - \partial_\theta v_r - \zeta \Delta \mu \frac{\partial_\theta R}{R}) + \frac{3}{2} \zeta \Delta \mu e - e(\zeta \Delta \mu + \beta_1 K) \tilde{Q}] \quad (\text{IV.72})$$

pour lesquels l'équilibre mécanique des forces s'écrit au premier ordre en $\partial_\theta R$

$$\partial_\theta n_\theta + \cot \theta n_\theta + t_\theta + t_\phi = R \Delta P \quad (\text{IV.73})$$

$$\partial_\theta t_\theta + \cot \theta (t_\theta - t_\phi) - n_\theta = \frac{\partial_\theta R}{2} \Delta P \quad (\text{IV.74})$$

$$\partial_\theta g_\theta + \cot \theta (g_\theta - g_\phi) + R n_\theta + \partial_\theta R t_\theta = 0 \quad (\text{IV.75})$$

Nous détaillons dans l'appendice C le calcul de ces quantités et l'obtention de l'équilibre des forces. A l'aide de ces expressions on peut exprimer toutes les quantités en fonction de n_θ :

$$t_\theta = -n_\theta \cot \theta + R \frac{\Delta P}{2} \quad (\text{IV.76})$$

$$t_\phi = -\partial_\theta n_\theta + R \frac{\Delta P}{2} \quad (\text{IV.77})$$

$$(\partial_\theta - \cot \theta) v_\theta = \frac{R}{2\eta e} (\partial_\theta - \cot \theta) n_\theta - \frac{R}{\eta} (\zeta \Delta \mu + \beta_1 K) \tilde{Q} \quad (\text{IV.78})$$

$$v_r = -\cot \theta v_\theta + \frac{R}{6\eta e} \left(\frac{R\Delta P}{2} - \frac{\zeta \Delta \mu e}{2} \right) - \frac{R}{6\eta e} (2\partial_\theta - \cot \theta) n_\theta + \frac{R}{2\eta} (\zeta \Delta \mu + \beta_1 K) \tilde{Q} \quad (\text{IV.79})$$

où nous avons annulé les constantes d'intégrations qui mènent à des divergences en $\theta = \pi$. L'éq. IV.76 s'obtient en éliminant t_ϕ entre les éq. IV.74 et IV.73. En remplaçant alors l'expression obtenue pour t_θ dans l'éq. IV.73 on obtient l'éq. IV.77. En calculant ensuite $t_\theta - t_\phi$ et $2t_\phi - t_\theta$ en utilisant d'une part les éq. IV.76 et IV.77 et d'autre part les éq. IV.66 et IV.67, on obtient les éq. IV.78 et IV.79.

La façon la plus simple de résoudre le problème est d'utiliser les deux inconnues $v = v_\theta - \partial_\theta v_r$ et n_θ , pour lesquelles on peut écrire deux équations, d'une part en remplaçant g_θ et g_ϕ par leurs expressions IV.69 et IV.71 dans l'éq. IV.75, d'autre part en calculant la différence de la dérivée par rapport à θ de l'éq. IV.79 et de l'éq. IV.78 :

$$(\partial_\theta^2 + \cot \theta \partial_\theta - \cot^2 \theta - \frac{1}{2}) \eta v = -3 \frac{R^3}{e^3} n_\theta - \frac{3e}{8} \partial_\theta \zeta \Delta \mu - 3 \frac{R^3}{e^3} \frac{\partial_\theta R}{R} \left(\frac{\zeta \Delta \mu e}{2} + e(\zeta \Delta \mu + \beta_1 K) \tilde{Q} \right) - \frac{e}{4} (\partial_\theta + 2 \cot \theta) ((\zeta \Delta \mu + \beta_1 K) \tilde{Q}) \quad (\text{IV.80})$$

$$(\partial_\theta^2 + \cot \theta \partial_\theta - \cot^2 \theta + \frac{1}{2}) n_\theta = \frac{3e}{R} \eta v + \frac{\Delta P}{4} \partial_\theta R - \frac{e}{4} \partial_\theta \zeta \Delta \mu + \frac{3e}{2} (\partial_\theta + 2 \cot \theta) ((\zeta \Delta \mu + \beta_1 K) \tilde{Q}) \quad (\text{IV.81})$$

où nous avons supprimé des termes négligeables à $\frac{e}{R}$ petit. Si on développe ces équations au premier ordre en δR , $\tilde{Q}$ et $\delta \zeta \Delta \mu$ elles deviennent linéaires, et il est donc utile de projeter chaque quantité sur les harmoniques sphériques :

$$\delta \zeta \Delta \mu(\theta) = \sum_{n=0} \delta \zeta \Delta \mu^{(n)} P_n(\cos \theta) \quad (\text{IV.82})$$

$$\delta R(\theta) = \sum_{n=0} \delta R^n P_n(\cos \theta) \quad (\text{IV.83})$$

$$v_r(\theta) = \sum_{n=0} v_r^n P_n(\cos \theta) \quad (\text{IV.84})$$

$$v_\theta(\theta) = \sum_{n=1} v_\theta^n \frac{I_{n+1}(\cos \theta)}{\sin \theta} = \sum_{n=1} v_\theta^n \left(-\frac{P_n^1(\cos \theta)}{n(n+1)} \right) \quad (\text{IV.85})$$

$$\tilde{Q} = \sum_{n=2} \tilde{Q}^n \left(-\frac{P_n^2(\cos \theta)}{n(n+1)} \right) \quad (\text{IV.86})$$

Le choix de l'ordre des polynômes de Legendre est imposé par les équations : en particulier $\tilde{Q} \sim (u_{\theta\theta} - u_{\phi\phi}) \sim (\partial_\theta - \cot \theta)v_\theta \sim (\partial_\theta - \cot \theta)P_n^1(\cos \theta) \sim P_n^2(\cos \theta)$. Comme dans le chap. III les modes $n = 0$ et $n = 1$ nécessitent un traitement particulier. En effet :

- Nous considérons que le volume de la cellule est conservé par la pression osmotique, ce qui impose que le mode 0 de la déformation s'annule puisque tous les autres modes conservent le volume (voir chap. III), et donc $\delta R^0 = v_r^0 = 0$. Cela impose par ailleurs la valeur de la pression intracellulaire

$$\Delta P = \frac{\zeta \Delta \mu e}{R} \quad (\text{IV.87})$$

- Nous interdisons les translations complètes de la cellule qui sont fixées par les forces externes agissant sur la cellule. Le mode 1 $\delta R \sim \cos \theta$ étant un mode correspondant à une translation de la sphère, nous l'annulons et imposons $\delta R^1 = 0$ et donc, par l'équation cinétique $\frac{d\delta R}{dt} = v_r(R)$ on a également $v_r^1 = 0$
- L'expression $u_{\theta\theta} - u_{\phi\phi}$ n'a pas de composante dans le mode 1 : en effet $u_{\theta\theta} - u_{\phi\phi} = (\partial_\theta - \cot \theta)v_\theta$ et $(\partial_\theta - \cot \theta)\sin \theta = 0$. L'équation de relaxation de $\tilde{Q}$ projetée sur le mode 1 s'écrit donc simplement

$$\frac{d\tilde{Q}^1}{dt} = -\frac{K}{\beta_2}\tilde{Q}^1 \quad (\text{IV.88})$$

dont la seule solution est $\tilde{Q}^1 = 0$.

En termes d'harmoniques sphériques les éqs. IV.80 et IV.81 deviennent (nous utilisons comme au chap. III la notation $u_n = n(n+1)$) :

$$\left(\frac{1}{2} - u_n\right)\eta v^n + 3\frac{R^3}{e^3}n_\theta^n = \frac{3u_n}{2}\frac{R^3}{e^3}\zeta\Delta\mu e\frac{\delta R^n}{R} + \frac{3u_n e}{8}\delta\zeta\Delta\mu^n + \frac{e}{4}(u_n - 2)(\zeta\Delta\mu + \beta_1 K)\tilde{Q}^n \quad (\text{IV.89})$$

$$\left(\frac{3}{2} - u_n\right)n_\theta^n - 3\frac{e}{R}\eta v^n = \frac{u_n}{4}\zeta\Delta\mu e\frac{\delta R^n}{R} + \frac{eu_n}{4}\delta\zeta\Delta\mu^n - \frac{3e}{2}(u_n - 2)(\zeta\Delta\mu + \beta_1 K)\tilde{Q}^n \quad (\text{IV.90})$$

Cette équation peut être inversée pour obtenir n_θ et v . Le résultat est compliqué en général mais il se simplifie pour les modes qui satisfont $n(n+1) \ll \frac{R}{e}$, ce qui est suffisant pour notre calcul puisque nous ne considérons que de larges variations spatiales de $\zeta\Delta\mu$ comparées à l'épaisseur du cortex e . Dans cette limite nous obtenons :

$$\eta v = -\frac{1}{6}u_n(u_n - 2)\zeta\Delta\mu\delta R - \frac{1}{12}Ru_n\delta\zeta\Delta\mu + \frac{1}{32}R(u_n - 2)\zeta\Delta\mu\tilde{Q} \quad (\text{IV.91})$$

$$n_\theta = \frac{u_n}{32}\zeta\Delta\mu e\frac{\delta R}{R} - \frac{1}{8}\frac{e^2}{9R^2}(2u_n - 1)u_n e\delta\zeta\Delta\mu + \frac{3}{4}\frac{e^2}{9R^2}(2u_n - 1)(u_n - 2)\zeta\Delta\mu e\tilde{Q} \quad (\text{IV.92})$$

En utilisant respectivement l'éq. IV.91 où nous écrivons $v_r^1 = \delta R^1 = \tilde{Q}^1 = 0$ pour le mode 1, et en éliminant n_θ entre les éq. IV.78 et IV.92 pour les autres modes nous obtenons la vitesse tangentielle

$$v_\theta^1 = -\frac{R}{6\eta}\delta\zeta\Delta\mu^1 \quad (\text{IV.93})$$

$$\text{pour } n > 1 \quad v_\theta^n = \frac{R}{16\eta} \left[4\zeta\Delta\mu u_n \frac{\delta R^n}{R} - (2u_n - 1)\frac{e^2}{9R^2}u_n\delta\zeta\Delta\mu^n - 16(\zeta\Delta\mu + \beta_1 K)\tilde{Q}^n \right] \quad (\text{IV.94})$$

et en utilisant $v = v_\theta - \partial_\theta v_r$ et donc $v_r^n = \frac{v - v_\theta^n}{u_n}$ la vitesse radiale

$$\text{pour } n > 1 \quad v_r^n = \frac{R}{4\eta} \left[-\frac{1}{3}(2u_n - 1)\zeta\Delta\mu\frac{\delta R^n}{R} - \frac{1}{3}\delta\zeta\Delta\mu^n + 2(\zeta\Delta\mu + \beta_1 K)\tilde{Q}^n \right]$$

Ayant obtenu les composantes du flux, on peut en déduire deux équations dynamiques à partir de l'équation IV.15 et de la condition aux limites $\frac{dR}{dt} = v_r(R)$

$$\frac{d}{dt} \frac{\delta R^n}{R} = \frac{\zeta\Delta\mu}{4\eta} \left[-\frac{1}{3}(2u_n - 1)\frac{\delta R^n}{R} + 2\left(1 + \frac{\beta_1 K}{\zeta\Delta\mu}\right)\tilde{Q}^n - \frac{1}{3}\frac{\delta\zeta\Delta\mu^n}{\zeta\Delta\mu} \right] \quad (\text{IV.95})$$

$$\frac{d\tilde{Q}^n}{dt} = \frac{\beta_1\zeta\Delta\mu}{8\eta} \left[u_n\frac{\delta R^n}{R} - 4\left(1 + \left(1 + \frac{2\eta}{\beta_1^2\beta_2}\right)\frac{\beta_1 K}{\zeta\Delta\mu}\right)\tilde{Q}^n - \frac{u_n}{36}\frac{e^2}{R^2}(2u_n - 1)\frac{\delta\zeta\Delta\mu^n}{\zeta\Delta\mu} \right] \quad (\text{IV.96})$$

valables pour $n > 1$. Ces deux équations donnent l'évolution de la forme de la cellule et du tenseur nématique. On aurait pu les obtenir en suivant la méthode du chapitre III, en perturbant toutes les équations à l'ordre linéaire, en résolvant l'équation différentielle donnant la forme du champ de vitesse dans la couche, et en appliquant les conditions aux limites perturbées. Nous avons vérifié qu'en faisant ce calcul on retrouvait le même résultat.

En l'absence de perturbation $\delta\zeta\Delta\mu = 0$ le point $\delta R = 0$, $\tilde{Q} = 0$ est stable. Ces équations décrivent donc la relaxation exponentielle de δR et $\tilde{Q}$ vers une solution stationnaire, en un temps caractéristique qui dépend de chaque mode mais qui est d'ordre $\frac{\eta}{\zeta\Delta\mu}$. La solution stationnaire s'écrit alors

$$\frac{\delta R_S^n}{R} = -2 \frac{\zeta\Delta\mu + \beta_1 K(1 + \frac{2\eta}{\beta_1^2\beta_2})}{(u_n - 2)(\zeta\Delta\mu + \beta_1 K) + \frac{4\eta}{\beta_1\beta_2}(2u_n - 1)K} \frac{\delta\zeta\Delta\mu^n}{\zeta\Delta\mu} \quad (\text{IV.97})$$

$$\tilde{Q}_S^n = -\frac{u_n}{2} \frac{1}{(u_n - 2)(\zeta\Delta\mu + \beta_1 K) + \frac{4\eta}{\beta_1\beta_2}(2u_n - 1)K} \delta\zeta\Delta\mu^n \quad (\text{IV.98})$$

et à l'état stationnaire le flux radial s'annule mais il existe un flux tangentiel

$$v_\theta^1 = -\frac{R}{6\eta}\delta\zeta\Delta\mu^1 \quad (\text{IV.99})$$

$$\text{pour } n > 1 \quad v_\theta^n = -R \frac{u_n}{\beta_1} \frac{K}{(u_n - 2)(\zeta\Delta\mu + \beta_1 K) + \frac{4\eta}{\beta_1\beta_2}(2u_n - 1)K} \frac{\delta\zeta\Delta\mu^n}{\beta_2} \quad (\text{IV.100})$$

Les fonctions correspondantes sont tracées sur la fig. IV.11 pour un profil gaussien d'activité

$$\delta\zeta\Delta\mu(\theta) = \zeta_m\Delta\mu \exp\left(-R^2\frac{\cos^2\theta}{a^2}\right) \quad (\text{IV.101})$$

où ζ_m est une constante ($\zeta_m\Delta\mu \ll \zeta\Delta\mu$) donnant l'activité en excès la plus élevée à l'équateur et $\frac{a}{\sqrt{2}}$ est l'écart-type de la distribution (sur la figure $a = 0.1R$). Pour tracer les courbes de la fig IV.11 nous incluons dans le calcul les harmoniques sphériques jusqu'à l'ordre 40. A l'état stationnaire apparaît un anneau de filaments orientés dans la direction ϕ ($\tilde{Q} < 0$) dont le profil est très proche de la perturbation $\delta\zeta\Delta\mu$ que nous avons introduite. A l'extérieur de l'anneau les filaments sont légèrement orientés le long de l'axe de la cellule ($\tilde{Q} > 0$). Un sillon apparaît dans la région

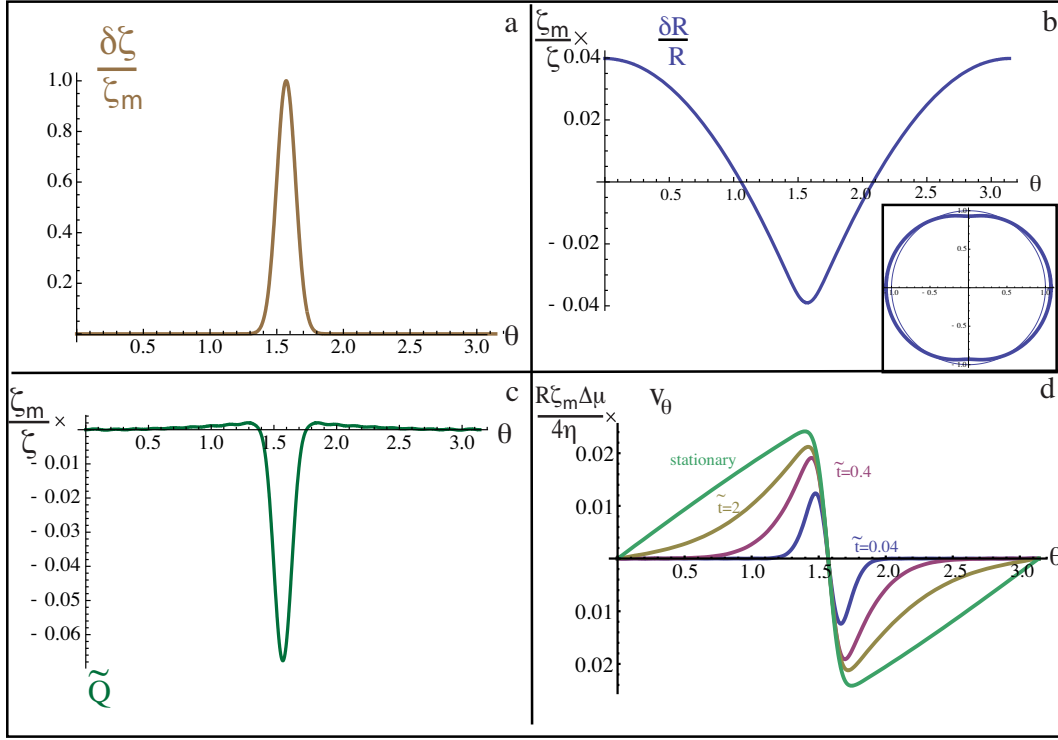


FIG. IV.11: (a) perturbation gaussienne $\delta\zeta\Delta\mu$ centrée sur le plan équatorial $\theta = \frac{\pi}{2}$, de largeur angulaire $\frac{a}{R} = 0.1$ (b) et (c) Solution stationnaire de $\frac{\delta R}{R}$ et $\tilde{Q}$ induits par cette perturbation. Dans le plan équatorial un anneau de filaments alignés apparaît, ainsi qu'un sillon de contraction. Figure insérée : forme de la cellule à l'état stationnaire (trait épais) par rapport à l'état sphérique initial (trait fin). (d) vitesse tangentielle du cortex v_θ en fonction de θ en fonction du temps normalisé $\tilde{t} = t \frac{\zeta \Delta \mu}{\eta}$. Le flux est orienté vers l'anneau, et la région affectée par le flux cortical s'élargit au cours du temps. ($\eta = \beta_2$, $\beta_1 = 2$, $\frac{\zeta \Delta \mu}{K} = 0.5$)

équatoriale autour de $\theta = \frac{\pi}{2}$ et la cellule est allongée dans les régions polaires $\theta = 0$ et $\theta = \pi$. Un flux d'actine tangent à la membrane et dirigé des pôles vers l'équateur s'établit, proche de celui que nous avons obtenu dans le cas cylindrique (voir fig. IV.4), et qui correspond aux observations expérimentales de flux cortical [161]. Sur la fig. IV.11(d) nous traçons le profil de ce flux à différents temps de la relaxation : on voit que la zone affectée par le flux s'élargit progressivement jusqu'à atteindre les pôles.

Bifurcation induite par un couplage non-linéaire

Du point de vue physique, l'état stationnaire résulte de l'équilibre entre la contraction du sillon due à une concentration en myosine localement élevée $\delta\zeta\Delta\mu$ et la tension moyenne du cortex $\zeta\Delta\mu$ qui favorise un état sphérique. Pour que la cyto-cinèse puisse continuer un mécanisme devrait rendre cet état stationnaire instable. Or il est probable que l'efficacité du travail fourni par les myosines est plus élevée dans un réseau de filaments alignés que dans un réseau isotrope : en effet à l'échelle

microscopique on peut s'attendre à ce que les oligomères de myosines restent plus longtemps accrochés sur des filaments en parallèle. La formation d'un anneau de filaments organisés pourrait donc favoriser la contraction du sillon. Cet effet peut être inclus simplement dans la théorie mésoscopique que nous utilisons en incluant un terme actif qui dépend du paramètre d'ordre selon :

$$\zeta(Q) = \zeta(1 + \Lambda \text{Tr}(Q^2)) \quad (\text{IV.102})$$

où $\Lambda > 0$ est un coefficient sans dimension. Ce terme apparaîtrait parmi les termes d'ordre plus élevé si nous continuions l'expansion en puissance de $\tilde{Q}$ des équations des gels actifs I.36-I.38 (voir chap. I). Dans notre description à deux dimensions cette équation nous donne, en utilisant l'éq. IV.14

$$\zeta(Q) = \zeta \left(1 + \frac{\Lambda}{6} + 2\Lambda [\tilde{Q}^2 + Q_{xy}^2] \right) \quad (\text{IV.103})$$

où x et y sont les deux directions tangentes localement au cortex. Si on renormalise la définition des coefficients ζ et Λ en remplaçant ζ par $\zeta(1 + \frac{\Lambda}{6})$ et Λ par $\frac{12\Lambda}{6+\Lambda}$ on a simplement

$$\zeta(Q) = \zeta(1 + \Lambda \tilde{Q}^2 + \Lambda Q_{xy}^2) \quad (\text{IV.104})$$

Ici nous avons $Q_{\theta\phi} = 0$, nous pouvons donc nous limiter à $\zeta(Q) = \zeta(1 + \Lambda \tilde{Q}^2)$. Nous reprenons les calculs de la partie précédente, en incluant cette non-linéarité. D'autres non-linéarités (termes en $\frac{\delta R^2}{R}$ et $\frac{\delta R}{R} \tilde{Q}$) apparaissent également, à la fois dans le calcul des tensions IV.66-IV.71, dans l'équilibre des forces IV.73-IV.75 et dans le développement des équations IV.80-IV.81 : nous pouvons cependant les négliger par rapport à celle que nous venons d'introduire si Λ est suffisamment grand, c'est-à-dire pour $\Lambda \gg 1$ et $\Lambda \gg \frac{K}{\zeta \Delta \mu}$. Par ailleurs nous devons développer le terme non linéaire $\tilde{Q}^2$ en harmoniques sphériques, ce qui s'écrit

$$(\tilde{Q}^2)^n = \sum_m \sum_k c_{mkn} \tilde{Q}^m \tilde{Q}^n \quad (\text{IV.105})$$

où nous avons défini le coefficient

$$c_{mkn} = \frac{2n+1}{m(m+1)k(k+1)} \int_{-1}^1 P_m^2(x) P_k^2(x) P_n(x) dx \quad (\text{IV.106})$$

qui peut être évalué par la formule de Gaunt (voir appendice B). En suivant la même démarche que dans la partie précédente nous obtenons alors l'équation dynamique

$$\frac{d}{dt} \frac{\delta R^n}{R} = \frac{\zeta \Delta \mu}{4\eta} \left[-\frac{1}{3}(2u_n - 1) \frac{\delta R^n}{R} + 2\left(1 + \frac{\beta_1 K}{\zeta \Delta \mu}\right) \tilde{Q}^n - \frac{\Lambda}{3} \sum c_{mkn} \tilde{Q}^m \tilde{Q}^k - \frac{1}{3} \frac{\delta \zeta \Delta \mu^n}{\zeta \Delta \mu} \right] \quad (\text{IV.107})$$

$$\frac{d}{dt} \tilde{Q}^n = \frac{\beta_1 \zeta \Delta \mu}{8\eta} \left[u_n \frac{\delta R^n}{R} - 4 \left(1 + \left(1 + \frac{2\eta}{\beta_1 \beta_2} \right) \frac{\beta_1 K}{\zeta \Delta \mu} \right) \tilde{Q}^n \right] \quad (\text{IV.108})$$

Cette équation admet une bifurcation "pli" pour une valeur critique du paramètre de contrôle $\delta \zeta \Delta \mu$, au-delà de laquelle le système n'admet plus de solution

stationnaire et devient donc instable. En effet, en général la solution stationnaire du système donnée par les éq. IV.107 et IV.108 doit vérifier

$$\Lambda \sum_m \sum_k c_{mkn} \tilde{Q}^m \tilde{Q}^k + \left[\frac{u_n - 2}{u_n} \left(1 + \frac{\beta_1 K}{\zeta \Delta \mu} \right) + \frac{2\eta}{\beta_1 \beta_2} \frac{K}{\zeta \Delta \mu} \frac{2u_n - 1}{u_n} \right] \tilde{Q}^n + \frac{1}{2} \frac{\delta \zeta \Delta \mu^n}{\zeta \Delta \mu} = 0 \quad (\text{IV.109})$$

Prenons comme exemple simple le cas d'une perturbation qui soit un mode pur

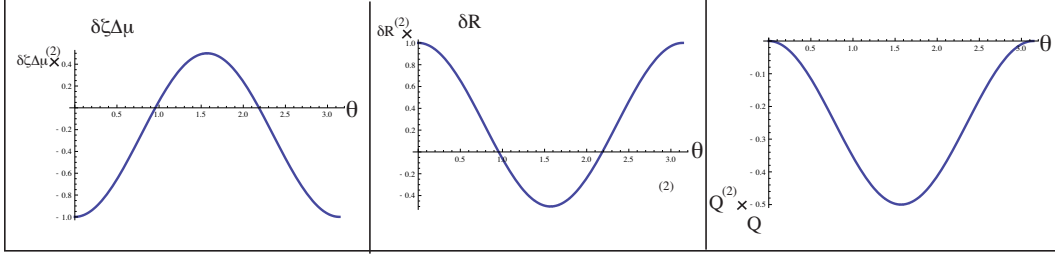


FIG. IV.12: Profils d'activité, de forme et de paramètre d'ordre en fonction de θ pour un mode (2) pur.

$\delta \zeta \Delta \mu(\theta) = -\delta \zeta \Delta \mu^{(2)} \frac{3 \cos^2 \theta - 1}{2}$, qui est le mode ayant la plus grande amplitude dans le développement en harmoniques sphériques de la distribution gaussienne. Nous avons inclus un signe moins de sorte que pour $\delta \zeta \Delta \mu^{(2)} > 0$ la fonction choisie corresponde à un excès de myosines dans la région équatoriale. Nous traçons cette fonction sur la fig. IV.12, ainsi que les fonctions correspondantes $\tilde{Q} = \tilde{Q}^{(2)} \frac{\sin^2(\theta)}{2}$ et $\delta R = \delta R^{(2)} \frac{3 \cos^2(\theta) - 1}{2}$ (voir éq. IV.86 et IV.83) : pour $\tilde{Q} > 0$ et $\delta R > 0$ les filaments s'alignent à l'équateur dans le sens azimutal et un sillon équatorial se contracte. Ce mode est donc le plus proche de la perturbation gaussienne que nous avons utilisée précédemment. Par ailleurs la perturbation étant pure nous pouvons annuler dans notre étude tous les autres modes. A l'état stationnaire la composante du mode 2 du paramètre d'ordre doit donc vérifier

$$-\frac{8\Lambda}{21} \left(\tilde{Q}^{(2)} \right)^2 + \left[\frac{2}{3} \left(1 + \frac{\beta_1 K}{\zeta \Delta \mu} \right) + \frac{11\eta}{3\beta_1 \beta_2} \frac{K}{\zeta \Delta \mu} \right] \tilde{Q}^{(2)} - \frac{1}{2} \frac{\delta \zeta \Delta \mu^{(2)}}{\zeta \Delta \mu} = 0 \quad (\text{IV.110})$$

où nous avons utilisée $c_{222} = -\frac{8}{21}$, et nous plaçons le numéro du mode entre parenthèses. Il est clair que cette équation n'admet plus de solution réelle lorsque

$$\frac{\delta \zeta \Delta \mu^{(2)}}{\zeta \Delta \mu} > \frac{7}{12\Lambda} \left[\left(1 + \frac{\beta_1 K}{\zeta \Delta \mu} \right) + \frac{11\eta}{2\beta_1 \beta_2} \frac{K}{\zeta \Delta \mu} \right]^2 \quad (\text{IV.111})$$

Il existe donc une valeur critique de la perturbation au-delà de laquelle le système devient instable et diverge vers $\tilde{Q}^{(2)} \rightarrow +\infty$, $\frac{\delta R}{R} \rightarrow +\infty$, au moins dans la limite où les non-linéarités que nous n'avons pas considérées peuvent être encore négligées. Sous l'effet de cette instabilité le sillon équatorial doit donc poursuivre sa contraction.

Pour préciser cela dans le cas général nous traçons sur la figure IV.13 le diagramme de stabilité du système dans le cas où une perturbation gaussienne est

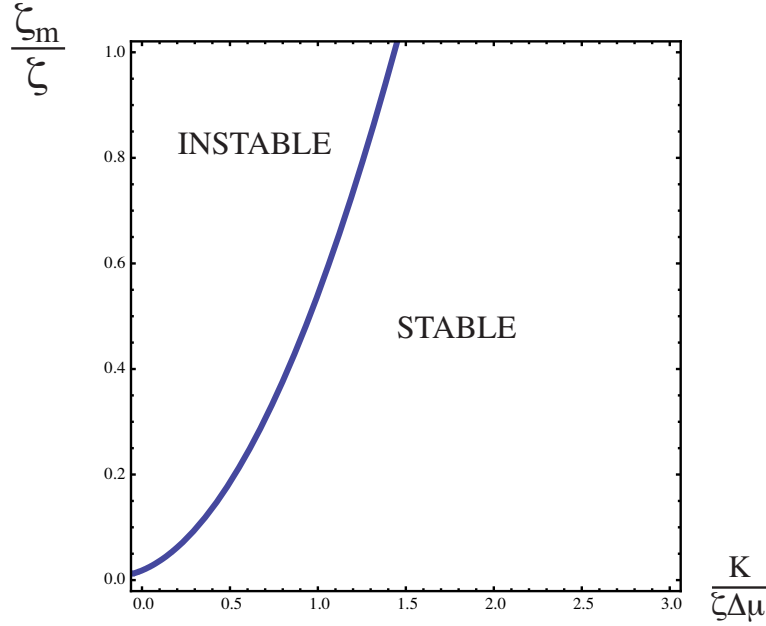


FIG. IV.13: Diagramme de stabilité du système d'équations IV.107 et IV.108, en fonction de l'amplitude ζ_m de la perturbation gaussienne appliquée $\delta\zeta\Delta\mu = \zeta_m\Delta\mu \exp\left(-\frac{R^2\cos^2\theta}{a^2}\right)$ et de la susceptibilité inverse K , en incluant les modes jusqu'à l'ordre 20. Pour une perturbation suffisamment importante la solution diverge, ce qui correspond à une contraction infinie de l'équateur de la cellule. ($\Lambda = 30$, $a = 0.1R$)

appliquée (équ. IV.101), en fonction de l'amplitude maximale de la perturbation et du rapport $\frac{K}{\zeta\Delta\mu}$, et pour $\Lambda = 30$. Plutôt que d'étudier l'existence des solutions de l'éq. IV.109, ce qui est difficile du fait des couplages entre modes, nous étudions numériquement la convergence du système dynamique IV.107 et IV.107, en incluant les modes jusqu'à l'ordre 20. La valeur critique dépend très fortement du rapport $\frac{K}{\zeta\Delta\mu}$, et la transition est d'autant plus facile à atteindre que K est petit.

L'idée sous-jacente à ce diagramme est la suivante : nous avons montré que sous l'effet d'un excès d'activité des myosines un flux cortical doit apparaître et provoquer la formation d'un anneau. En retour on peut s'attendre à ce que la tension dans l'anneau soit plus importante que dans d'autres parties isotropes du cortex, ce qui augmente encore la force en excès. Si l'énergie requise pour aligner les filaments est suffisamment faible, une petite perturbation du champ actif pourrait forcer le système à devenir instable. Il est probable que cette énergie dépende fortement des protéines de liaison du cortex, sa valeur peut donc varier en fonction de la régulation maintenue par la cellule. Par ce mécanisme le cortex, normalement dans un état stable, peut être déstabilisé facilement et de façon importante. Remarquons en particulier que la fraction de myosines en excès dans la cytokinèse est relativement faible (~ 0.1 pendant la première moitié de la contraction, [124]), ce qui laisse penser qu'une instabilité doit effectivement se produire pour que la contraction ait lieu malgré le faible nombre de myosines.

B.4 Flux corticaux dans l'embryon de *C. Elegans*

Nous nous tournons maintenant vers un dernier problème où apparaît un flux cortical : la polarisation de l'embryon de *C. Elegans*, qui est le premier événement qui suit sa fertilisation. Nous essayons d'appliquer notre approche à ce problème, dans l'espoir de favoriser l'interprétation des données expérimentales. Nous essayons d'obtenir l'allure du flux cortical et de prédire le profil d'orientation des filaments dans le cortex. Nous montrons qu'un anneau et une ingression devraient apparaître, et nous essayons de caractériser les paramètres qui contrôlent leurs positions. Nous remercions M. Mayer et S. Grill pour leurs explications sur ce système.

B.4.1 Rapide présentation du système biologique

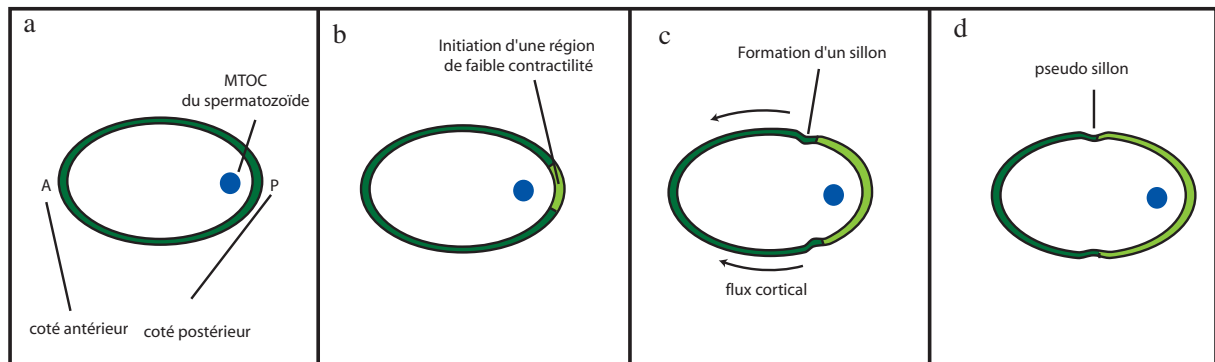


FIG. IV.14: Schéma du premier événement suivant la fertilisation de l'oeuf de *C. Elegans* : l'établissement de la polarité. (a) Le spermatozoïde entre dans l'oeuf par le futur côté postérieur. (b) Le spermatozoïde apporte avec lui un MTOC (microtubule organizing center) qui recrute des microtubules et initie une région de faible contractilité dans le cortex (vert clair). (c) La partie antérieure du cortex (de forte contractilité) se rétracte, un léger sillon apparaît dans la partie antérieure, près de la jonction entre les deux régions (d) Quand le sillon atteint le milieu de la cellule la contraction s'arrête.

Le premier événement qui suit la fertilisation de l'embryon de *C. Elegans* est l'établissement d'une polarité antéro-postérieure. Lorsque le spermatozoïde entre dans l'embryon, il contient des centrosomes qui initient la formation de microtubules, ce qui crée une relaxation de la contractilité locale dans le cortex d'actomyosine. Celui-ci est alors séparé en deux régions de contractilités distinctes [103]. La région antérieure, plus contractile, se contracte et un flux cortical d'actine dirigé vers le côté antérieur apparaît. Un sillon se forme près de la frontière entre les deux régions, qui contrairement à la cytokinèse ne se contracte pas complètement, et finit même par relaxer lorsqu'il a atteint le milieu de la cellule.

Certaines expériences [55] montrent que lorsqu'on perturbe les protéines de régulation de la myosine le processus s'arrête, ce qui suggère qu'un niveau d'activité des myosines différent distingue les deux régions. A notre connaissance on ne sait pas comment cette séparation est maintenue dans le temps, mais certains auteurs

ont proposé qu'à la suite de la brisure de symétrie initiale induite par le spermatozoïde les deux régions s'autorégulent grâce à des connexions entre les protéines de régulation et le cortex [27].

Nous proposons un modèle physique de ce phénomène en étudiant le cas d'un cortex dans une sphère, soumis à deux régions de champs actifs $\zeta\Delta\mu$ différents.

B.4.2 Application du modèle

Géométrie

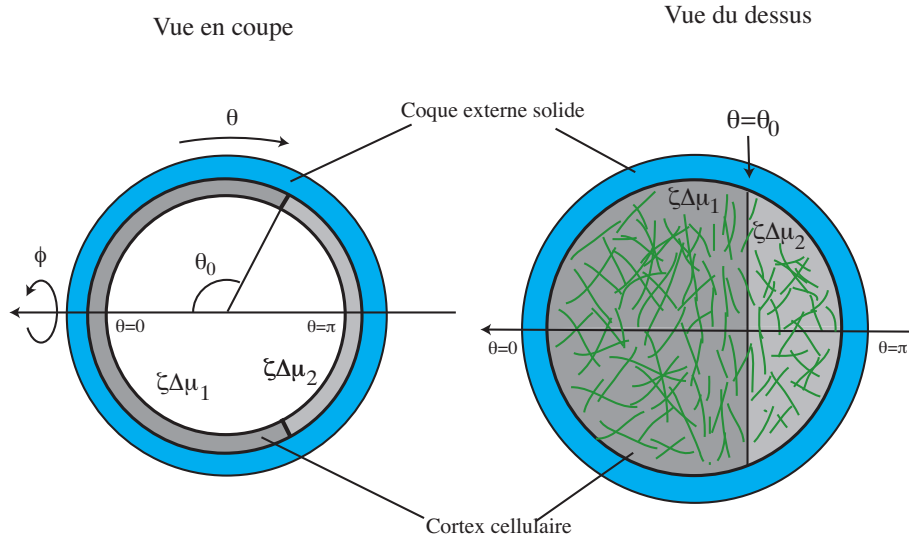


FIG. IV.15: Géométrie du modèle : cortex sphérique soumis à une fonction en escalier d'activité de myosines. Le gris foncé représente un niveau plus élevé du champ actif. Sur la partie droite de la figure nous représentons l'organisation de l'orientation des filaments.

Nous considérons une couche d'actine, contrainte sur une sphère de rayon R du fait de la pression osmotique et d'une couche solide externe. Nous supposons que le problème admet une symétrie cylindrique autour de l'angle azimutal ϕ , de sorte que seules les quantités variant avec θ doivent être considérées. Comme précédemment, nous considérons que l'épaisseur du cortex est constante et maintenue par le treadmilling. Dans ce cas seul l'équilibre tangentiel des forces doit être considéré ; il s'écrit

$$\partial_\theta t_\theta + \cot \theta (t_\theta - t_\phi) = 0 \quad (\text{IV.112})$$

où les tensions ont été définies dans la partie précédente (eqs. IV.66 et IV.67) :

$$t_\theta = \frac{2\eta e}{R} (2\partial_\theta v_\theta + \cot \theta v_\theta) + \frac{\zeta\Delta\mu e}{2} + e(\zeta\Delta\mu + \beta_1 K)\tilde{Q} \quad (\text{IV.113})$$

$$t_\phi = \frac{2\eta e}{R} (\partial_\theta v_\theta + 2 \cot \theta v_\theta) + \frac{\zeta\Delta\mu e}{2} - e(\zeta\Delta\mu + \beta_1 K)\tilde{Q} \quad (\text{IV.114})$$

de sorte que l'équilibre mécanique donne

$$\left(\partial_\theta^2 + \cot \theta \partial_\theta - \cot^2 \theta - \frac{1}{2} \right) \frac{v_\theta}{R} = -\partial_\theta \left(\frac{\zeta \Delta \mu}{8\eta} \right) - (\partial_\theta + 2 \cot \theta) \left[\left(\frac{\zeta \Delta \mu + \beta_1 K}{4\eta} \right) \tilde{Q} \right] \quad (\text{IV.115})$$

Nous devons également écrire l'équation de relaxation du paramètre d'ordre (eq. IV.15) :

$$\frac{d\tilde{Q}}{dt} = \frac{1}{\beta_2} \left(\frac{L_1}{R^2} (\partial_\theta^2 + \cot \theta \partial_\theta) - K \right) \tilde{Q} + \frac{\beta_1}{2R} (\partial_\theta - \cot \theta) v_\theta \quad (\text{IV.116})$$

Le temps caractéristique de la relaxation du paramètre d'ordre $\tilde{Q}$ est $\frac{\beta_2}{K}$. Si ce temps est beaucoup plus petit que le temps caractéristique de l'écoulement $\frac{\eta}{\zeta \Delta \mu}$, ce qui est vrai dans la limite où $\zeta \Delta \mu \ll K$, on peut considérer que le paramètre d'ordre est à l'état stationnaire. Dans ce cas l'éq. IV.116 devient

$$\left[1 - \frac{l^2}{R^2} (\partial_\theta^2 + \cot \theta \partial_\theta) \right] \tilde{Q} = \frac{\beta_1 \beta_2}{2K} (\partial_\theta - \cot \theta) \frac{v_\theta}{R} \quad (\text{IV.117})$$

où $l = \sqrt{\frac{L_1}{K}}$ est la longueur de corrélation nématique du gel, c'est-à-dire la longueur caractéristique sur laquelle le gel peut passer d'un état d'alignement à un autre.

Nous souhaitons résoudre les eq. IV.115 et IV.117 quand le cortex est soumis à un champ actif

$$\zeta \Delta \mu(\theta) = \zeta \Delta \mu_1 \quad 0 < \theta < \theta_0 \quad (\text{IV.118})$$

$$\zeta \Delta \mu(\theta) = \zeta \Delta \mu_2 \quad \theta_0 < \theta < \pi \quad (\text{IV.119})$$

où $\zeta \Delta \mu_1$ et $\zeta \Delta \mu_2$ sont deux constantes. Nous supposons également que la position de la frontière θ_0 ne varie pas dans le temps.

Résolution dans la limite $l \rightarrow 0$

Nous commençons par négliger la longueur de distorsion du gel l . Dans ce cas les eq. IV.115 et IV.117 se réduisent à

$$\left(\partial_\theta^2 + \cot \theta \partial_\theta - \frac{1}{\sin^2 \theta} + \frac{4\eta + 2\beta_1^2 \beta_2}{8\eta + \beta_1^2 \beta_2} \right) v_\theta = 0 \quad (\text{IV.120})$$

où nous avons utilisé $\zeta \Delta \mu \ll K$ et $\zeta \Delta \mu$ constant dans chaque région. Cette équation doit donc être résolue séparément dans les deux régions $\theta < \theta_0$ et $\theta > \theta_0$. Les solutions sont des combinaisons linéaires de fonctions de Legendre $P_\nu^1(\cos \theta)$ et $Q_\nu^1(\cos(\theta))$, où ν est solution de l'équation : (voir appendice B)

$$\nu(\nu + 1) = \frac{4\eta + 2\beta_1^2 \beta_2}{8\eta + \beta_1^2 \beta_2} \quad (\text{IV.121})$$

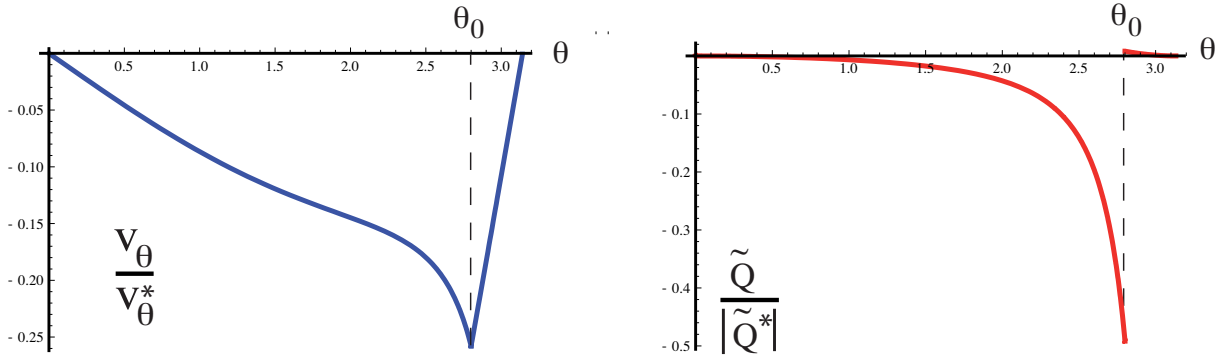


FIG. IV.16: Profil de la vitesse tangentielle et du paramètre d'ordre quand $l = 0$ ($\beta_1 = 2$, $\eta = \beta_2$, $\theta_0 = 2.8$)

Pour $\eta = \beta_2$ et $\beta_1 = 2$ par exemple cette équation se réduit à $\nu(\nu + 1) = 1$ dont la solution positive est $\nu = \frac{\sqrt{5}-1}{2}$. Il y a donc quatre coefficients à calculer, deux pour chaque région. On peut les obtenir en appliquant les conditions aux limites suivantes :

$$v_\theta(0) = 0 \quad (\text{IV.122})$$

$$v_\theta(\pi) = 0 \quad (\text{IV.123})$$

$$v_\theta(\theta_0^-) = v_\theta(\theta_0^+) \quad (\text{IV.124})$$

$$t_\theta(\theta_0^-) = t_\theta(\theta_0^+) \quad (\text{IV.125})$$

Les deux premières conditions sont imposées par la géométrie sphérique : physiquement une vitesse non nulle conduirait à une divergence infinie du flux au pôle ($v_{\theta\theta} + v_{\phi\phi} = (\partial_\theta + \cot \theta)v_\theta$ divergerait quand $\theta \rightarrow 0$ ou $\theta \rightarrow \pi$). Les deux dernières sont imposées par la continuité de la vitesse et de la tension t_θ . Remarquons qu'il n'y a pas de condition de continuité sur $\tilde{Q}$, car dans la limite $l \rightarrow 0$ nous autorisons les discontinuités du paramètre d'ordre. t_θ peut être relié à v_θ en utilisant l'éq. IV.113, et on obtient alors la solution suivante :

$$0 < \theta < \theta_0 \quad v_\theta = \frac{(\zeta\Delta\mu_1 - \zeta\Delta\mu_2)R}{8\eta + \beta_1^2\beta_2} \frac{f_2(\theta_0)}{(f_1f_2' - f_2f_1')(\theta_0)} f_1(\theta) \quad (\text{IV.126})$$

$$\theta_0 < \theta < \pi \quad v_\theta = \frac{(\zeta\Delta\mu_1 - \zeta\Delta\mu_2)R}{8\eta + \beta_1^2\beta_2} \frac{f_1(\theta_0)}{(f_1f_2' - f_2f_1')(\theta_0)} f_2(\theta) \quad (\text{IV.127})$$

où f_1 et f_2 sont les solutions de l'éq. IV.120 qui ne divergent pas en 0 et en π respectivement, et qui sont définies par

$$f_1(\theta) = P_\nu^1(\cos \theta) \quad (\text{IV.128})$$

$$f_2(\theta) = P_\nu^1(\cos \theta) - \frac{2}{\pi} \tan(\pi(1 + \nu)) Q_\nu^1(\cos \theta) \quad (\text{IV.129})$$

A partir de cette solution, le profil de $\tilde{Q}$ peut être calculé en utilisant l'éq. IV.117 dans la limite $l \rightarrow 0$:

$$\tilde{Q} = \frac{\beta_1\beta_2}{2KR} (\partial_\theta - \cot \theta) v_\theta \quad (\text{IV.130})$$

Le profil correspondant de $\tilde{Q}$ et de v_θ est tracé sur la fig. IV.16, où nous définissons la vitesse et la valeur du paramètre d'ordre caractéristiques :

$$v_\theta^* = \frac{(\zeta\Delta\mu_1 - \zeta\Delta\mu_2) R}{8\eta + \beta_1^2\beta_2} \quad (\text{IV.131})$$

$$\tilde{Q}^* = \frac{\beta_1\beta_2}{8\eta + \beta_1^2\beta_2} \frac{\zeta\Delta\mu_1 - \zeta\Delta\mu_2}{K} \quad (\text{IV.132})$$

Le flux cortical a donc une vitesse de l'ordre de $\frac{R\zeta\Delta\mu}{10\eta}$, comme dans les cas précédemment étudiés. Pour $\zeta\Delta\mu \sim 10^3 Pa$, $\eta \sim 10^5 Pa.s$, $R \sim 50\mu m$ on trouve donc une vitesse $v_\theta^* \sim 0.05\mu m.s^{-1}$, qui est dans l'intervalle des vitesses observées expérimentalement ($\sim 0.05\mu m.s^{-1}$, [103]).

Si $\zeta\Delta\mu_1 > \zeta\Delta\mu_2$, l'activité étant plus élevée dans le pôle antérieur (qui contient $\theta = 0$), la vitesse tangentielle v_θ est négative, ce qui indique que le flux va vers les θ décroissant, donc vers la région antérieure. En outre, dans la région $\theta < \theta_0$, $\tilde{Q}$ est négatif, ce qui indique que les filaments s'alignent dans la direction ϕ (comme nous les avons représentés sur la figure IV.15, vue de haut). Cet alignement atteint un maximum près de la frontière $\theta = \theta_0$. Dans la région postérieure pour $\theta > \theta_0$ les filaments sont légèrement alignés dans la direction θ .

L'allure du champ de vitesse est très proche de celle observée expérimentalement (S. Grill, communication privée). Dans ce qui suit nous essayons de préciser l'allure du profil d'orientation.

Correction près de la frontière $\theta = \theta_0$ due à la longueur de corrélation nématique

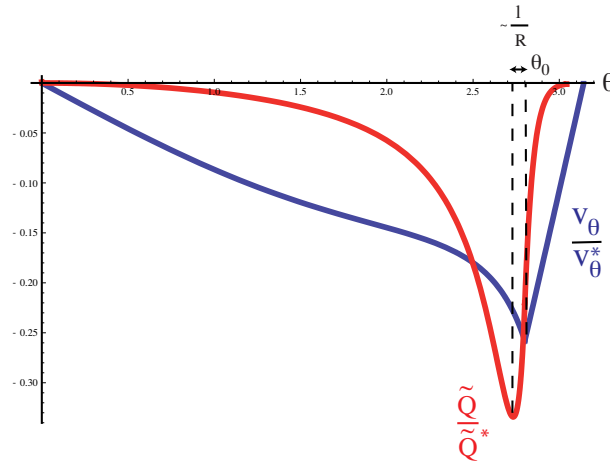


FIG. IV.17: Profil de vitesse et d'orientation, en incluant l'énergie élastique du nématique (longueur $l \neq 0$. $\beta_1 = 2$, $\eta = \beta_2$, $\theta_0 = 2.8$)

Dans la solution précédente $\tilde{Q}$ apparaît discontinu à la frontière $\theta = \theta_0$. Pour corriger cette propriété nous devons inclure le terme proportionnel à l dans l'éq. IV.117. Loin de la frontière la solution complète est proche de celle obtenue dans la

limite $l = 0$: en effet nous supposons $l \ll R$, et comme la solution est suffisamment régulière loin de θ_0 on doit avoir $\frac{l^2}{R^2} \partial_\theta^2 Q \ll 1$ dans l'éq. IV.117, et il est donc justifié de négliger ce terme. Nous résolvons ainsi le problème en traitant la frontière comme une couche limite. Nous commençons par décomposer la solution en écrivant $v_\theta = v_\theta^0 + v_\theta^l$ et $\tilde{Q} = \tilde{Q}^0 + \tilde{Q}^l$ où v_θ^0 et $\tilde{Q}^0$ sont les solutions à $l = 0$, et v_θ^l et $\tilde{Q}^l$ doivent varier rapidement à travers la frontière pour assurer la continuité et la dérivabilité de la fonction, puis décroître à 0 loin de la frontière. En utilisant cette décomposition les éq. IV.115 et IV.117 donnent

$$\partial_\theta^2 v_\theta^l = -\frac{\beta_1 K R}{4\eta} \partial_\theta \tilde{Q}^l \quad (\text{IV.133})$$

$$-\frac{l^2}{R^2} (\partial_\theta^2 + \cot \theta \partial_\theta) \tilde{Q}^0 + \left[1 - \frac{l^2}{R^2} \partial_\theta^2 \right] \tilde{Q}^l = \frac{\beta_1 \beta_2}{2KR} \partial_\theta v_\theta^l \quad (\text{IV.134})$$

où nous n'avons gardé que la dérivée la plus élevée en θ pour v_θ^l , puisque nous nous attendons à ce que v_θ^l varie fortement sur un angle $\frac{l}{R}$ à travers la frontière, et que nous souhaitons résoudre le problème à l'ordre le plus élevé en $\frac{l}{R}$. Les éq. IV.133 et IV.134 peuvent être alors simplifiées en

$$\partial_\theta v_\theta^l = -\frac{\beta_1 K R}{4\eta} \tilde{Q}^l \quad (\text{IV.135})$$

$$\left[1 + \frac{\beta_1^2 \beta_2}{4\eta} - \frac{l^2}{R^2} \partial_\theta^2 \right] \tilde{Q}^l = \frac{l^2}{R^2} (\partial_\theta^2 + \cot \theta \partial_\theta) \tilde{Q}^0 \quad (\text{IV.136})$$

où les constantes d'intégration ont été annulées puisque toutes les quantités s'annulent loin de la frontière. Au premier ordre en $\frac{l}{R}$ le membre de droite de l'éq. IV.136 peut être négligé, puis en utilisant les conditions aux limites

$$\tilde{Q}^l \rightarrow 0 \quad \text{quand} \quad \frac{R}{l} (\theta - \theta_0) \rightarrow +\infty \quad (\text{IV.137})$$

$$\tilde{Q}^l \rightarrow 0 \quad \text{quand} \quad \frac{R}{l} (\theta - \theta_0) \rightarrow -\infty \quad (\text{IV.138})$$

$$\tilde{Q}^l(\theta_0^-) = \tilde{Q}^l(\theta_0^+) + [\tilde{Q}^0(\theta_0^+) - \tilde{Q}^0(\theta_0^-)] \quad (\text{IV.139})$$

$$\partial_\theta \tilde{Q}^l(\theta_0^-) = \partial_\theta \tilde{Q}^l(\theta_0^+) + [\partial_\theta \tilde{Q}^0(\theta_0^+) - \partial_\theta \tilde{Q}^0(\theta_0^-)] \quad (\text{IV.140})$$

on obtient la solution

$$0 < \theta < \theta_0 \quad \tilde{Q}^l = \frac{1}{2} \left[[\tilde{Q}^0(\theta_0^+) - \tilde{Q}^0(\theta_0^-)] + \frac{l}{R \sqrt{1 + \frac{\beta_1^2 \beta_2}{4\eta}}} [\partial_\theta \tilde{Q}^0(\theta_0^+) - \partial_\theta \tilde{Q}^0(\theta_0^-)] \right] \\ \times \exp \left(\frac{R}{l} \sqrt{1 + \frac{\beta_1^2 \beta_2}{4\eta}} (\theta - \theta_0) \right) \quad (\text{IV.141})$$

$$\theta_0 < \theta < \pi \quad \tilde{Q}^l = \frac{1}{2} \left[-[\tilde{Q}^0(\theta_0^+) - \tilde{Q}^0(\theta_0^-)] + \frac{l}{R \sqrt{1 + \frac{\beta_1^2 \beta_2}{4\eta}}} [\partial_\theta \tilde{Q}^0(\theta_0^+) - \partial_\theta \tilde{Q}^0(\theta_0^-)] \right] \\ \times \exp \left(-\frac{R}{l} \sqrt{1 + \frac{\beta_1^2 \beta_2}{4\eta}} (\theta - \theta_0) \right) \quad (\text{IV.142})$$

A l'aide de cette solution on peut également calculer la correction v_θ^l au premier ordre en $\frac{l}{R}$, en utilisant l'éq. IV.135 :

$$0 < \theta < \theta_0 \quad v_\theta^l = -\frac{l\beta_1 K}{8\eta\sqrt{1 + \frac{\beta_1^2\beta_2}{4\eta}}} \left[\tilde{Q}^0(\theta_0^+) - \tilde{Q}^0(\theta_0^-) \right] \exp\left(\frac{R}{l}\sqrt{1 + \frac{\beta_1^2\beta_2}{4\eta}}(\theta - \theta_0)\right) \quad (\text{IV.143})$$

$$\theta_0 < \theta < \pi \quad v_\theta^l = -\frac{l\beta_1 K}{8\eta\sqrt{1 + \frac{\beta_1^2\beta_2}{4\eta}}} \left[\tilde{Q}^0(\theta_0^+) - \tilde{Q}^0(\theta_0^-) \right] \exp\left(-\frac{R}{l}\sqrt{1 + \frac{\beta_1^2\beta_2}{4\eta}}(\theta - \theta_0)\right) \quad (\text{IV.144})$$

v_θ^l est continu à la frontière, ainsi qu'on s'y attend puisque la solution complète $v_\theta^0 + v_\theta^l$ doit être continue, et v_θ^0 l'est déjà. On peut vérifier en utilisant l'éq. IV.113 qu'avec cette solution la tension tangentielle t_θ satisfait également l'équation de continuité IV.125 de part et d'autre de la frontière. La solution complète pour $\tilde{Q}$ et v_θ est tracée sur la fig. IV.17. Le maximum dans le paramètre d'ordre $\tilde{Q}$ est déplacé d'une longueur $\sim l$ de la frontière $\theta = \theta_0$ vers le côté antérieur. Un anneau de filaments orientés devrait donc se former près de la frontière.

Correction due à la longueur de transition du champ actif

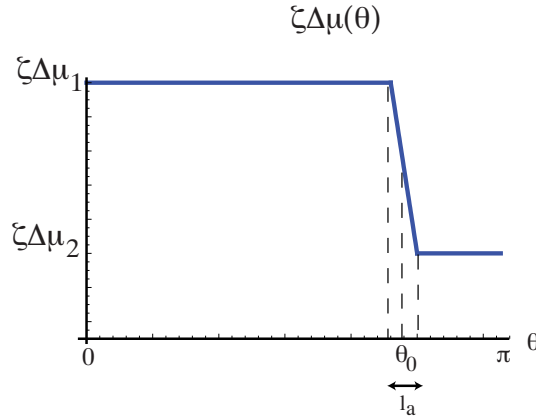


FIG. IV.18: Profil d'activité considéré dans cette section : $\zeta\Delta\mu$ varie de $\zeta\Delta\mu_1$ à $\zeta\Delta\mu_2$ sur une longueur l_a

Nous nous intéressons maintenant à une étude possible de la formation d'un sillon. La pression exercée par le cortex est obtenue en calculant

$$\Delta P = \frac{t_\theta + t_\phi}{R} \quad (\text{IV.145})$$

$$= \frac{\zeta\Delta\mu e}{R} + \frac{6\eta e}{R^2}(\partial_\theta + \cot\theta)v_\theta \quad (\text{IV.146})$$

Avec la fonction en escalier que nous avons utilisée pour le champ actif $\zeta\Delta\mu$, la pression est discontinue à la frontière $\theta = \theta_0$. Cela indique que la longueur sur laquelle varie la pression dépend de la variation de $\zeta\Delta\mu(\theta)$ à la frontière. Nous

introduisons donc une longueur l_a sur laquelle le champ actif modifie sa valeur : on peut prendre par exemple la fonction linéaire par morceaux (voir fig. IV.18) :

$$0 < \theta < \theta_0 - \frac{l_a}{2R} \quad \zeta \Delta \mu(\theta) = \zeta \Delta \mu_1 \quad (\text{IV.147})$$

$$\theta_0 - \frac{l_a}{2R} < \theta < \theta_0 + \frac{l_a}{2R} \quad \zeta \Delta \mu(\theta) = \frac{\zeta \Delta \mu_1 + \zeta \Delta \mu_2}{2} + (\zeta \Delta \mu_2 - \zeta \Delta \mu_1) R \frac{\theta - \theta_0}{l_a} \quad (\text{IV.148})$$

$$\theta_0 + \frac{l_a}{2R} < \theta < \pi \quad \zeta \Delta \mu(\theta) = \zeta \Delta \mu_2 \quad (\text{IV.149})$$

Pour un champ qui n'est pas uniforme $\zeta \Delta \mu(\theta)$ et dans la limite $\tilde{Q} \ll 1$, $l \ll R$ et $\zeta \Delta \mu \ll K$ nous pouvons réécrire l'équation pour le champ de vitesse IV.120

$$\left(\partial_\theta^2 + \cot \theta \partial_\theta - \frac{1}{\sin^2 \theta} + \frac{4\eta + 2\beta_1^2 \beta_2}{8\eta + \beta_1^2 \beta_2} \right) \frac{v_\theta}{R} = - \frac{\partial_\theta \zeta \Delta \mu}{8\eta + \beta_1^2 \beta_2} \quad (\text{IV.150})$$

Dans la limite $l_a \ll R$ on peut utiliser la solution de la section B.4.2 valide pour une fonction en escalier pour obtenir une solution approchée de v_θ . Dans les régions $\theta < \theta_0 - \frac{l_a}{2R}$ et $\theta > \theta_0 + \frac{l_a}{2R}$ elle est encore solution de l'éq. IV.150. Sur l'intervalle $[\theta_0 - \frac{l_a}{2R}, \theta_0 + \frac{l_a}{2R}]$, $\partial_\theta v_\theta$ varie rapidement sur un angle $\frac{l_a}{R}$, et donc comme dans la partie précédente nous ne gardons que les dérivées les plus élevées dans l'éq. IV.150 qui s'écrit

$$\text{pour } \theta \in [\theta_0 - \frac{l_a}{2R}, \theta_0 + \frac{l_a}{2R}] , \quad \partial_\theta^2 v_\theta = - \frac{\partial_\theta \zeta \Delta \mu}{8\eta + \beta_1^2 \beta_2} = - \frac{R (\zeta \Delta \mu_1 - \zeta \Delta \mu_2) R}{l_a (8\eta + \beta_1 \beta_2)} \quad (\text{IV.151})$$

En résolvant cette équation et en reliant sa solution et la dérivée à travers les deux frontières nous obtenons la solution approchée

$$\begin{aligned} 0 < \theta < \theta_0 - \frac{l_a}{2R} \quad v_\theta &= \frac{(\zeta \Delta \mu_1 - \zeta \Delta \mu_2) R}{8\eta} \frac{f_2(\theta_0)}{(f_1 f_2' - f_2 f_1')(\theta_0)} f_1(\theta) \\ \theta_0 - \frac{l_a}{2R} < \theta < \theta_0 + \frac{l_a}{2R} \quad v_\theta &= \frac{(\zeta \Delta \mu_1 - \zeta \Delta \mu_2) R}{8\eta} \frac{f_2(\theta_0)}{(f_1 f_2' - f_2 f_1')(\theta_0)} \\ &\quad \times \left[f_1(\theta_0) f_2(\theta_0) + \frac{R}{2l_a} \left(f_1' f_2(\theta_0) \left(\theta - \theta_0 + \frac{l_a}{2R} \right)^2 - f_1 f_2'(\theta_0) \left(\theta - \theta_0 - \frac{l_a}{2R} \right)^2 \right) \right] \\ \theta_0 + \frac{l_a}{2R} < \theta < \pi \quad v_\theta &= \frac{(\zeta \Delta \mu_1 - \zeta \Delta \mu_2) R}{8\eta} \frac{f_1(\theta_0)}{(f_1 f_2' - f_2 f_1')(\theta_0)} f_2(\theta) \end{aligned} \quad (\text{IV.152})$$

où les fonctions f_1 et f_2 sont définies par les éq. IV.128 et IV.129. Avec cette solution toute les quantités sont continues. Sur la fig. IV.19 nous traçons la vitesse, la pression donnée par l'éq. IV.145 et le paramètre d'ordre dans la limite $l = 0$ et $l_a \neq 0$. Nous introduisons en particulier la pression caractéristique

$$P^* = (\zeta \Delta \mu_1 - \zeta \Delta \mu_2) \frac{e}{R} \quad (\text{IV.153})$$

En général le profil de $\tilde{Q}$ dépend de la valeur relative de l_a et de l :

- si $l_a \ll l$ le calcul de la section précédente est encore valable et la distance entre le minimum de $\tilde{Q}$ et la vitesse maximum est d'ordre l .
- si $l_a \gg l$ $\tilde{Q}$ est continu, et le reste dans la limite $l = 0$. La distance entre le minimum de $\tilde{Q}$ et la vitesse maximum est d'ordre $\frac{l_a}{2}$.

Dans tous les cas la pression varie fortement à la frontière sur une longueur $\sim l_a$.

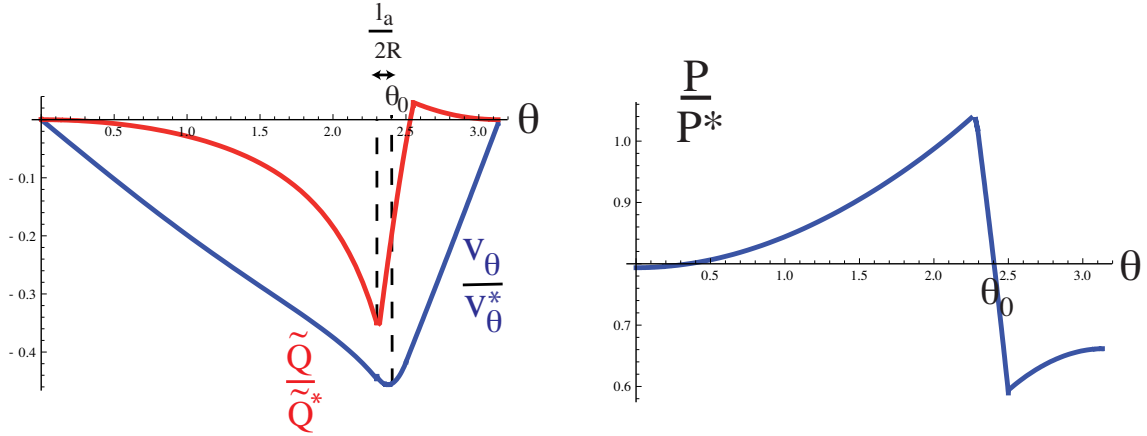


FIG. IV.19: Profil de vitesse, du paramètre d'ordre et de la pression, quand $l = 0$ mais quand $\zeta\Delta\mu$ change de valeur sur une longueur l_a ($\theta_0 = 2.6$, $\eta = \beta_2$, $\frac{l_a}{R} = 0.2$)

Formation d'un sillon

Nous ne savons pas de quelle manière le cortex de l'embryon de *C. Elegans* est relié à la coque qui l'entoure. Il est cependant raisonnable de penser que la formation d'un sillon est due au profil de pression exercée par le cortex. Pour illustrer cette idée nous calculons la déformation de l'embryon dans un modèle très simple et très qualitatif, où les frontières de la cellule sont reliées à la coque par des liens élastiques de raideur k_b , séparés d'une distance moyenne ξ_b . Pour simplifier nous considérons que ces liens sont reliés à une coque "fantôme", c'est-à-dire que le cortex peut la traverser librement, et que la déformation résultante est très faible devant le rayon R , de sorte que les calculs précédents sont encore valables. Dans ce cas la déformation de la cellule dépend de la pression exercée par le cortex selon

$$u_r(\theta) = \frac{\xi_b^2}{k_b} (\Delta P(\theta) - P_{int}) \quad (\text{IV.154})$$

où ΔP est la différence de pression imposée par le cortex et P_{int} est la pression interne. Si le volume est contraint par la pression osmotique comme nous l'avons supposé jusqu'ici, P_{int} est obtenu en écrivant que le volume est constant, c'est-à-dire que

$$\int_0^\pi u_r(\theta) \sin \theta d\theta = 0 \quad (\text{IV.155})$$

de sorte que la déformation est donnée par

$$u_r(\theta) = \frac{\xi_b^2}{k_b} \left(\Delta P - \frac{1}{2} \int_0^\pi \Delta P(\theta) \sin \theta d\theta \right) \quad (\text{IV.156})$$

Nous traçons la solution correspondante sur la fig. IV.20. La déformation suit le profil de pression de la fig. IV.19 et une légère incursion apparaît près de la frontière. La forme obtenue n'est toutefois pas celle que l'on observe expérimentalement, une large déformation apparaissant au pôle. Il est possible qu'en prenant en compte les

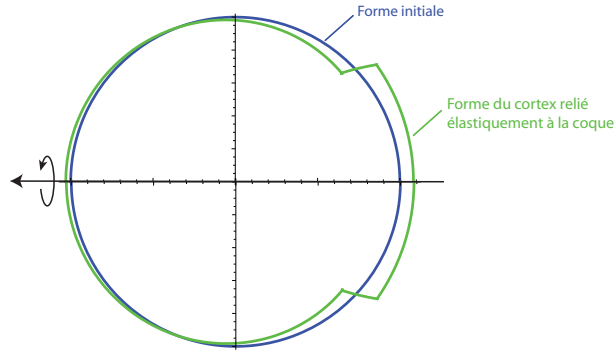


FIG. IV.20: Déformation radiale du cortex dans un modèle simple où la déformation est proportionnelle à la pression exercée par le cortex

conditions aux limites de façon plus réaliste que nous ne l'avons fait ici ce dernier aspect soit corrigé.

Pour compléter cette étude il faudrait donc préciser la nature des liens entre la coque et le cortex et connaître les propriétés de la coque pour calculer exactement la déformation.

C Conclusions

Dans ce chapitre nous avons inclus le rôle de l'orientation des filaments dans notre description du cortex. En introduisant un couplage entre flux et paramètre d'ordre, notre modèle permet de décrire l'apparition de flux corticaux et la formation d'anneaux dans des situations physiologiques assez éloignées. Comme le suggèrent les auteurs de la ref. [125], un mécanisme impliquant la soumission du cortex à un gradient d'activité de myosine régulé par les microtubules pourrait être à l'oeuvre dans une large gamme de mécanismes cellulaires. Nous avons essayé dans ce chapitre de fournir un cadre théorique à cette idée. En permettant aux filaments du cortex de se réorganiser et de s'aligner rapidement, c'est-à-dire dans notre description en maintenant une énergie K faible, la cellule pourrait générer des unités contractiles capables de produire une force importante, la formation d'anneau agissant comme une boucle de rétroaction positive au gradient d'activité de myosine.

En général la vitesse des flux corticaux, et donc le temps caractéristique de la cytokinèse, dépend du temps caractéristique $\frac{\eta}{\Delta(\zeta\Delta\mu)}$, où $\Delta(\zeta\Delta\mu)$ est la différence d'activité typique donnant lieu au flux. Le temps requis pour diviser la cellule est donc accéléré en augmentant l'activité des myosines, mais aussi en diminuant la viscosité du cortex : de façon remarquable la diminution de la concentration cellulaire en α -actinine par ARN-interférence accélère la cytokinèse [102]. L' α -actinine étant une protéine réticulante du gel d'actine constituant le cortex, la viscosité η du cortex est très probablement réduite par la diminution de cette protéine.

Deux modèles de la cytokinèse sont traditionnellement opposés : le modèle de relaxation astrale [149] et le modèle de stimulation équatoriale [120]. Le premier suppose qu'une relaxation de la contractilité se produit aux pôles, alors que le second considère que les myosines sont en excès à l'équateur. Dans les termes de notre des-

cription ces deux modèles ont des effets équivalents : l'un comme l'autre donnent lieu à une perturbation du champ d'activité des myosines $\delta\zeta\Delta\mu$ dont la valeur moyenne, du fait de la conservation du volume, n'a pas d'effet observable.

D'autres analyses théoriques de la cytokinèse ont été proposées, pour comprendre la formation de l'anneau contractile et sa contraction. Zundieck & al [163] montrent à partir d'un modèle continu qu'une couche mince et cylindrique de filaments polaires peut se déstabiliser et un ou plusieurs anneaux apparaître spontanément. Ce modèle diffère du nôtre en ce que des termes non-linéaires sont inclus dans les équations constitutives, et que la densité et le paramètre d'ordre nématique sont choisis comme variables, alors que nous considérons les interactions du flux hydrodynamique et du paramètre d'ordre. Par ailleurs dans notre modèle le cortex n'est pas spontanément instable : un champ extérieur est nécessaire pour le déstabiliser. Plus récemment, Vavylonis & al [147] simulent numériquement la formation de l'anneau contractile dans la levure *S. Pombe* en considérant un ensemble de noeuds sur un cylindre, nucléant et polymérisant des filaments d'actine entre lesquels les myosines exercent des forces relatives. Les simulations montrent que les filaments s'alignent le long de l'anneau.

Dans les résultats présentés dans ce chapitre nous n'avons pas décrit la contraction de l'anneau. Dans notre modèle de cytokinèse dans une cellule sphérique (partie B.3), cela nécessiterait d'inclure de nombreux termes non-linéaires pour décrire le cortex de toute la cellule. Des modèles théoriques existent cependant, qui en général considèrent la contraction de l'anneau indépendamment des autres régions du cortex : les auteurs de la réf. [9] proposent un modèle phénoménologique pour la contraction de l'actine qu'ils simulent numériquement. Les auteurs de la réf. [164] reproduisent la cinétique de contraction de l'anneau de *Dictyostelium* en incluant la réponse viscoélastique du corps cellulaire, et examinent la force contractile engendrée par des protéines réticulantes capables de s'attacher préférentiellement à une des deux extrémités des filaments.

Les observations expérimentales ayant trait à la cytokinèse sont très diverses, parfois même contradictoires, et sont difficiles à réconcilier : l'intérêt du modèle que nous proposons est de contenir peu de paramètres et d'être très générique, ce qui nous a permis de l'appliquer dans ce chapitre à différents contextes biologiques.

Chapitre V

Blebs induits par ablation du cortex

Dans ce dernier chapitre nous nous intéressons à un phénomène biologique qui, comme nous l'avons vu dans l'introduction, pourrait jouer un rôle important dans la motilité cellulaire : la formation de blebs. Dans les conditions physiologiques la vie d'un bleb fait intervenir 3 phases :

- Le bleb est initié par le détachement local de la membrane du cortex [25], ou un trou se forme spontanément dans le cortex [110]. Nous avons proposé au chapitre II un modèle d'instabilité active pour cette première étape.
- La membrane lipidique exerçant une pression moins importante que le cortex, le morceau de membrane enfle. Le cortex se contracte et un flux de cytosol s'engage dans le bleb (fig. V.1) . Le bleb est approximativement sphérique, ce qui découle naturellement de la loi de Laplace si on suppose que la tension de la membrane est uniforme. La phase de croissance dure environ 10 s [28]. Ce processus semble avoir lieu à volume total constant [25] : cela est cohérent avec les calculs du chapitre II montrant que le volume total de la cellule est fortement contraint par la pression osmotique.
- Un nouveau cortex est polymérisé dans le bleb [23]. Il se contracte lentement, sur une échelle de temps de l'ordre de la minute, et est finalement complètement résorbé dans la cellule.

Afin de s'affranchir de la première étape de formation, le groupe d'Ewa Paluch au MPI-CBG à Dresde a mis en place un système expérimental permettant de nucléer un trou dans le cortex à l'aide d'une série d'impulsions laser. On peut ainsi déclencher de façon contrôlée la formation d'un bleb unique dans la cellule. Notre idée est d'utiliser ce système pour étudier systématiquement les paramètres physiques contrôlant la taille et la forme des blebs, et d'en tirer des informations sur la mécanique de la couche corticale.

A l'aide de différents traitements on peut en particulier agir sur la concentration cellulaire en myosine actives et en actine. Comme il est difficile de connaître l'effet exact d'un traitement sur l'état de la cellule, le groupe d'E. Paluch a procédé de manière quantitative et systématique en mesurant la tension moyenne d'une population de cellules soumises à certains traitements, puis en mesurant les propriétés des blebs formés dans cette population de cellules.

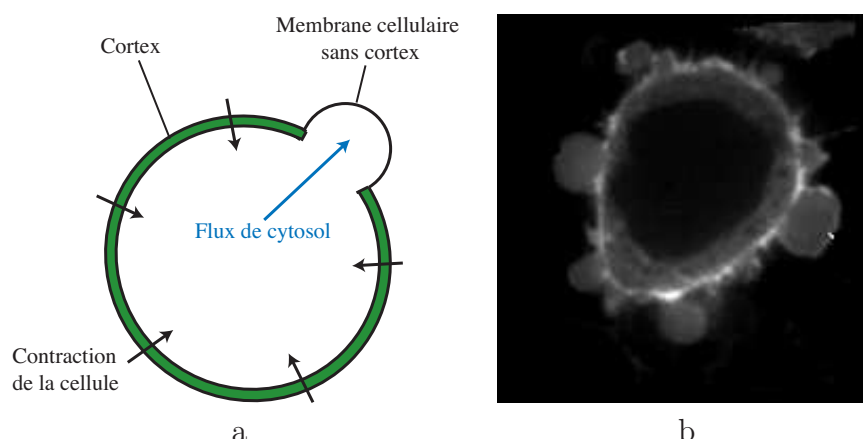


FIG. V.1: (a) Description schématique de la formation d'un bleb (b) Cellule produisant des blebs dans des conditions physiologiques (reproduit de [23]).

Sur le plan théorique, nous avons du explorer différentes possibilités pour essayer d'expliquer les résultats expérimentaux. On peut déjà dégager quelques idées simples :

- Il est clair que le bleb se forme sous l'effet d'une différence de pression hydrostatique entre l'intérieur du bleb et la cellule. La pression intracellulaire étant en partie imposée par le cortex selon $\Delta P = \frac{2(T+\gamma)}{R}$ ou T est la tension du cortex et γ la tension de la membrane, le bleb doit être d'autant plus grand que la tension du cortex est importante. C'est en effet ce que les résultats expérimentaux montrent.
- Une fois que le trou a été formé par le laser, le trou doit s'élargir si la couche est sous tension à cause des myosines. C'est là encore ce que l'on observe.

D'autres points sont plus problématiques, en particulier :

- Le cortex est-il élastique ou visqueux aux échelles de temps de la formation du bleb ?
- Qu'est ce qui contrôle l'arrêt de la croissance : est-ce la repolymérisation du cortex dans le bleb ou les propriétés élastiques de la cellule ?
- Quelle source de dissipation contrôle la dynamique d'expansion du bleb ?

Pour chacune de ces questions nous avons fait des prédictions théoriques que nous comparons aux résultats expérimentaux. Ci-dessous nous décrivons les résultats obtenus en fonction des différentes hypothèses envisagées. Toutes les expériences décrites ont été réalisées par Julia Roensch, Ulrike Schulze et Jean-Yves Tinevez dans le groupe d'Ewa Paluch. Un article commun présentant les résultats expérimentaux et les comparant aux modèles théoriques développés dans ce chapitre est en cours de rédaction.

A Expériences

A.1 Montage expérimental

Dans cette section nous décrivons brièvement les expériences de mesure de tension et formation de bleb menées sur une lignée de cellules de fibroblastes L929 de souris.

A.1.1 Mesure de tension

Ajout de drogues

La première étape du protocole expérimental est la mesure systématique de la tension de populations de cellules auxquelles différents traitements susceptibles de modifier l'activité des myosines ont été appliqués :

- Y27632 est un inhibiteur de Rock [68]. Rock est une protéine activée par Rho qui peut à la fois directement phosphoryler la chaîne légère régulatrice (RLC) des myosines et inhiber sa déphosphorylation (voir chapitre I). Comme nous l'avons vu dans le chap. III et dans l'introduction, RLC doit être phosphorylée pour que les myosines soient actives. Y27632 diminue donc la concentration de myosines actives.
- RhoQ63L est une forme constitutivement active de Rho qui peut être transfectée dans la cellule. Rho dans sa forme active a un double effet : activer Rock et ainsi augmenter le nombre de myosines activées, mais également activer la polymérisation d'actine en activant les formines [44].
- La blebbistatine est un inhibiteur direct de la myosine II, en la bloquant dans un état où elle ne peut plus se lier à l'actine [77].

Aspiration en micropipette

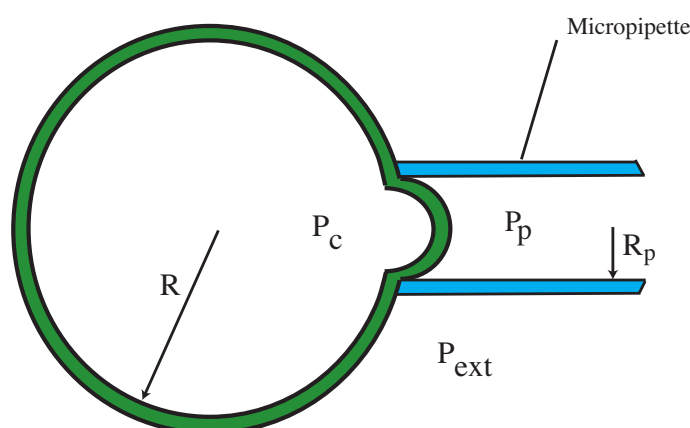


FIG. V.2: Protocole d'aspiration en micropipette

Pour mesurer la tension des cellules, un protocole expérimental d'aspiration en micropipette est utilisé [42][65]. Le principe est de soumettre localement la cellule

à un différentiel de pression négatif à l'aide d'une micropipette reliée à un système d'aspiration (voir fig. V.2). Au delà d'une pression critique, une langue se forme dans la pipette (distincte d'un bleb en ce que le cortex est encore intact à l'intérieur dans la protusion). La valeur de la pression critique est obtenue en écrivant l'équilibre des forces : si P_p est la pression maintenue dans la pipette, R_p le rayon de la pipette, P_c la pression intracellulaire et P_{ext} la pression externe alors d'une part, en appliquant la loi de Laplace au cortex dans la pipette

$$P_c - P_p = \frac{2T}{R_p} \quad (V.1)$$

et d'autre part pour le cortex dans la cellule

$$P_c - P_{ext} = \frac{2T}{R} \quad (V.2)$$

d'où en éliminant la pression intracellulaire P_c

$$2T \left(\frac{1}{R_p} - \frac{1}{R} \right) = P_{ext} - P_p \quad (V.3)$$

qui relie la pression critique à la tension cellulaire.

Résultats

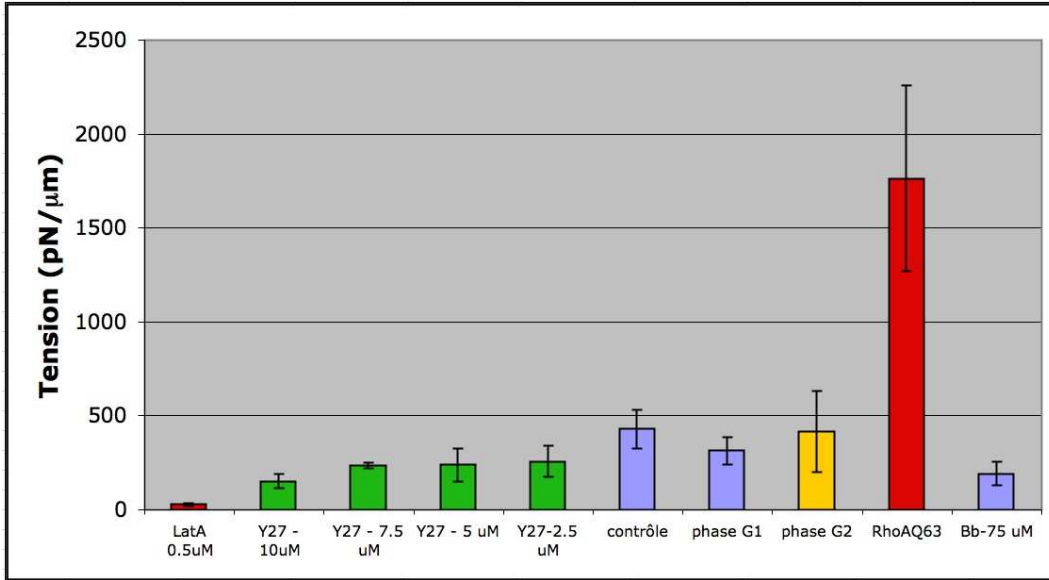


FIG. V.3: Tension de la membrane des cellules L929 en fonction de différents traitements appliqués.

Sur la fig. V.3 nous reproduisons un histogramme des tensions mesurées en fonction de différents traitements affectant l'activité des myosines ou la polymérisation de l'actine. La tension des cellules contrôle est d'environ $400 \text{ pN} \cdot \mu\text{m}^{-1}$, ce qui est

en accord avec les tensions données dans la littérature pour les fibroblastes [143]. Il est remarquable que, pour la plupart des traitements, la dispersion dans la tension mesurée est relativement limitée. Une dispersion plus large est observée pour les cellules transfectées avec RhoAQ63L, ce qui s'explique puisque la quantité de protéines transfectée n'est pas précisément contrôlée. Comme on peut s'y attendre les traitements stimulant l'activité des myosines augmentent la tension, tandis que l'ajout d'inhibiteurs de la myosine II la diminue. Cela est en accord avec la formule obtenue au chapitre II pour la tension du cortex.

$$T = \frac{\zeta \Delta \mu e}{2} \quad (\text{V.4})$$

Selon cette formule la tension augmente avec la concentration en myosines, mais aussi avec l'épaisseur du cortex. Ceci peut expliquer pourquoi la tension augmente de façon aussi importante quand on ajoute une forme constitutive de Rho : cela stimule également la polymérisation d'actine, et donc $\zeta \Delta \mu$ mais aussi e augmentent simultanément.

La tension mesurée ici est en fait $\gamma + T$, où T est la tension du cortex et γ la tension de la membrane lipidique. Nous supposons plus loin que γ est très petit devant T , mais il est intéressant d'avoir une valeur directe. Pour cela on peut ajouter une drogue dépolymérisant l'actine, la latrunculine, et mesurer la tension dans la membrane par le protocole d'aspiration en micropipette. On obtient une tension $\gamma \simeq 30 pN \cdot \mu m^{-1}$ (voir fig. V.3). Cette valeur est en effet bien plus faible que T_c . Il est possible qu'elle inclue non seulement la tension de la bicouche lipidique, mais aussi la tension existant dans un réseau de spectrine connecté à la membrane, du type de celui existant dans les globules rouges [23]. Nous désignons donc par γ la tension de l'ensemble bicouche lipidique + réseau de spectrine.

A.1.2 Formation de bleb

Pour induire les blebs, les cellules sont placées sous un microscope confocal muni d'un laser UV pulsé picoseconde d'une longueur d'onde de 450nm. Elles sont placées sur un substrat recouvert de PEG, ce qui les empêche de s'étaler et de former des lamellipodes. Les cellules sont transfectées avec une myosine II GFP ou de l'actine GFP, ce qui permet de visualiser le cortex. Le laser pulsé est focalisé pendant quelques secondes sur une région du cortex. La cellule est observée avant et après l'ablation en transmission et en fluorescence.

Sur la figure V.4 nous reproduisons une séquence de quelques images montrant la dynamique de formation du bleb ainsi obtenu.

A.2 Résultats expérimentaux

A.2.1 Relations géométriques

Pour mesurer les propriétés du bleb nous devons d'abord identifier les paramètres géométriques qui le caractérisent. Nous les représentons sur la figure V.5. Le bord du bleb y est colocalisé avec la frontière du cortex : c'est ce qu'on observe expérimentalement. Cela semble indiquer que l'adhésion membrane/cortex est suffisamment

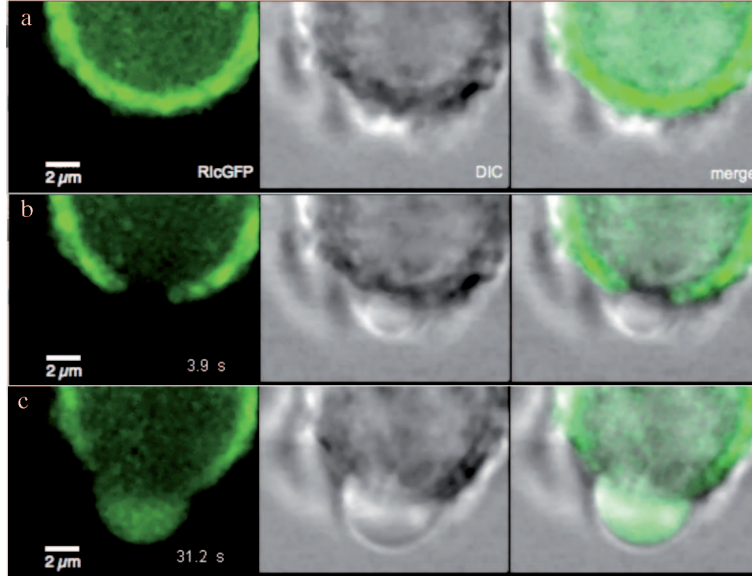


FIG. V.4: Séquence de formation d'un bleb induit par ablation laser : (RlcGFP : signal de la myosine II, DIC : contraste interférentiel) (a) cellule non perturbée. Le cortex est bien visible grâce au marquage GFP de la myosine 2 (image de gauche). (b) Après 4s d'éclairage par le laser un trou est visible dans le cortex. Sur l'image en contraste interférentiel (milieu) on voit le début de la formation du bleb. (c) Au bout d'une vingtaine de seconde le bleb atteint un état stationnaire. Le trou initial s'est nettement élargi. Le bleb a un aspect "transparent" par rapport à l'intérieur de la cellule (voir partie B.2).

forte pour que la membrane ne se détache du cortex que dans la région où il a été rompu.

Conservation du volume

Nous supposons que le volume total du bleb et de la cellule est conservé. En effet comme nous l'avons décrit dans le chapitre II les échelles de pression en jeu dans la formation du bleb sont de l'ordre de la pression intracellulaire, quelques dizaines de Pascal. Ces valeurs sont très faibles devant les valeurs absolues de pression osmotique $\sim 10^5 Pa$ (voir chapitre II, eq.II.21). Le volume total du bleb et de la cellule doit donc être conservé :

$$V_b + V_c = V \quad (V.5)$$

où V est le volume initial de la cellule.

Géométrie du bleb

Nous supposons que le bleb reste sphérique (la loi de Laplace l'impose si la tension de la membrane dans le bleb est uniforme). Sa géométrie est donc caractérisée par les grandeurs suivantes (voir fig. V.5) :

- le rayon de la base du bleb $a = R \sin \theta_c = R_b \sin \theta_b$
- le rayon de courbure R_b

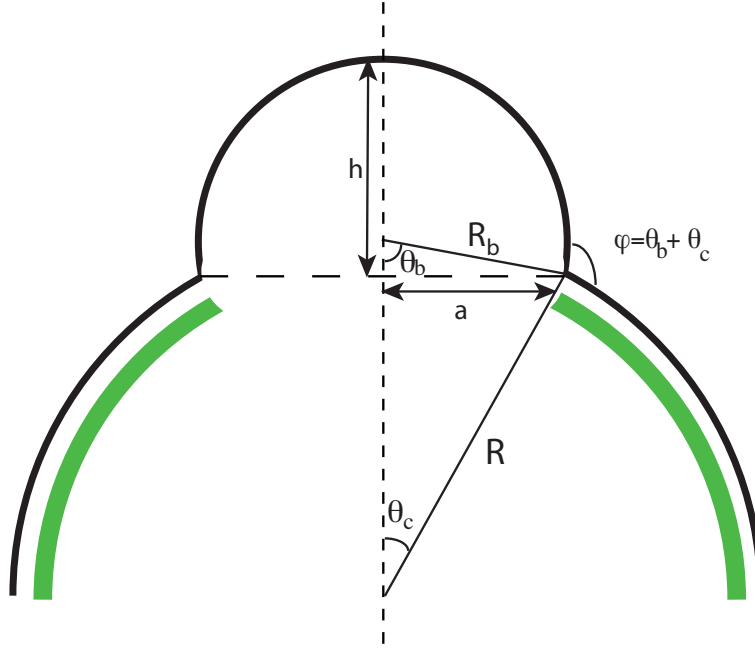


FIG. V.5: Paramètres géométriques associés à la formation d'un bleb

- la hauteur h qui vérifie $R_b = \frac{a^2 + h^2}{2h}$ ou inversement $h = R_b(1 \pm \sqrt{1 - \frac{a^2}{R_b^2}})$. Le choix d'un “+” dans cette dernière expression correspond à un bleb plus grand qu'une hémisphère, le choix d'un “-” à un bleb plus petit qu'une hémisphère.
 - le volume $V_b = \frac{\pi}{6}h(3a^2 + h^2)$
 - la surface $S_b = 2\pi R_b h = \pi(a^2 + h^2)$
- Les angles θ_b et θ_c sont définis sur la fig. V.5 et sont reliés par la relation

$$a = R_b \sin(\theta_b) = R \sin(\theta_c) \quad (\text{V.6})$$

et φ , l'angle de contact du bleb, est égal à $\theta_b + \theta_c$.

Géométrie de la cellule

Comme illustré sur la fig. V.6, le cortex déformé est proche d'une sphère de rayon plus petit que le rayon initial. Nous retenons deux paramètres expérimentalement mesurables de la déformation du cortex :

- L'ouverture angulaire du trou est paramétrée par l'angle θ_c . Cet angle varie au cours de la formation du bleb : nous notons θ_c^0 sa valeur initiale atteinte après l'ablation laser, et $\Delta\theta_c = \theta_c - \theta_c^0$ sa variation. En général le trou formé est petit devant le rayon de la cellule, soit $a \ll R$ ou $\theta_c \ll 1$, et donc le rayon de la base du bleb est simplement $a = R\theta_c$, et $a_0 = R\theta_c^0$ est le rayon du trou formé par l'ablation laser.
- Le rayon de la cellule varie lorsque le bleb se forme : nous désignons par R_0 le rayon initial, avant la formation du bleb, et $R = R_0 - \Delta R$ le rayon au cours de la contraction. Expérimentalement le volume du bleb est petit devant le volume de la cellule, ce qui implique $\Delta R \ll R$.

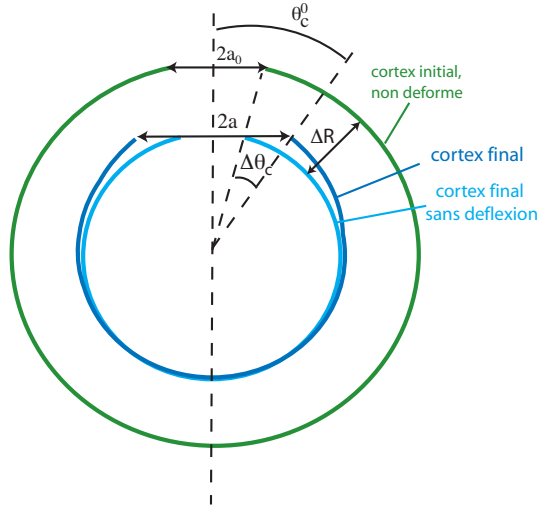


FIG. V.6: Schéma de la déformation totale, somme de la contraction isotrope et de la déflexion.

Les mêmes formules sont valables pour le volume de la cellule V_c en remplaçant R_b par R . Dans ce cas le volume de la cellule est simplement égal à $V_c = V - 4\pi R^2 \Delta R$, et la conservation du volume V.5 donne alors

$$V_b = 4\pi R^2 \Delta R \quad (\text{V.7})$$

$$\text{où } \frac{V_b}{V_c} = 3 \frac{\Delta R}{R} \quad (\text{V.8})$$

Cette équation relie le volume du bleb à la déformation moyenne de la cellule.

A.2.2 Propriétés du bleb en fonction de la tension

Statique

Les relations géométriques ci-dessus montrent que deux grandeurs géométriques indépendantes sont nécessaires pour caractériser complètement le bleb. Nous choisissons ici de représenter les variables V_b , le volume du bleb et θ_c , l'ouverture angulaire de la base du trou. Le protocole décrit dans la partie A.1 permet de tracer ces deux grandeurs en fonction de la tension de la cellule. Pour cela l'équipe d'E. Paluch :

- forme un trou dans le cortex de cellules soumises à un certain traitement affectant la tension
- mesure le volume et l'ouverture angulaire pour chaque bleb ayant atteint un état stationnaire
- trace le résultat moyen obtenu pour une population de cellules en fonction de la tension moyenne mesurée par aspiration en micropipette.

Sur la figure V.7 nous reproduisons les courbes ainsi obtenues. Les points expérimentaux sont obtenus à partir de cellules contrôle, de cellules soumises à différentes concentrations de la drogue Y27632 (2.5, 5 et $10\mu\text{M}$), et de cellules transfectées avec RhoA63L. Qualitativement on vérifie sur ces courbes que le volume du bleb et l'ouverture angulaire augmentent avec la tension.

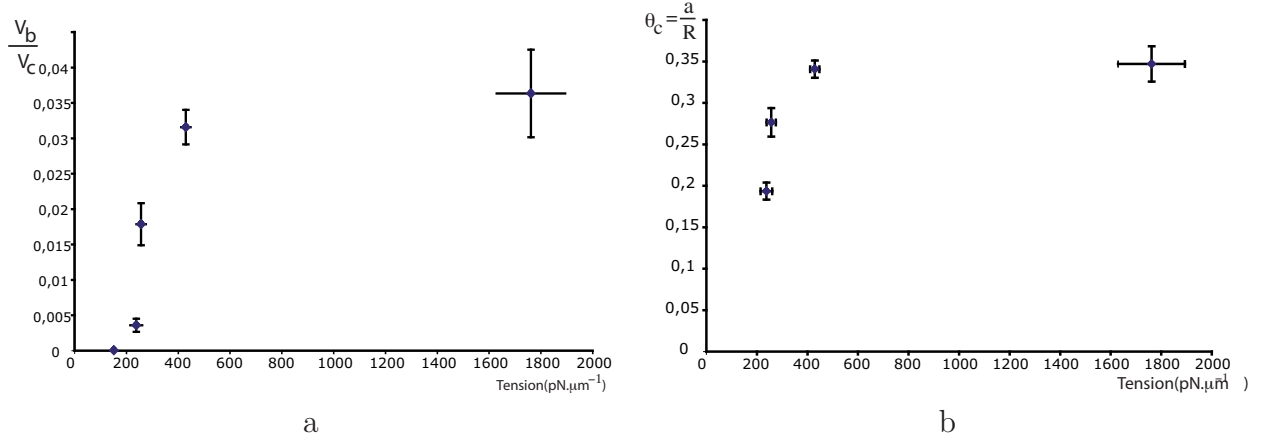


FIG. V.7: Points expérimentaux obtenus pour (a) le volume du bleb en fonction de la tension cellulaire, (b) l'ouverture angulaire à l'équilibre de la base du bleb $\theta_c = \frac{a}{R}$ en fonction de la tension cellulaire. Les barres d'erreur indiquent l'erreur standard. Chaque point est obtenu à partir d'une population de cellules ayant subi un certain traitement, et est moyenné sur environ 30 mesures.

Dynamique

Pour caractériser la dynamique on peut enregistrer la position du bleb au cours du temps. Sur la figure V.8 nous reproduisons l'évolution dans le temps du volume, du rayon de la base du bleb et de la hauteur du bleb, mesurés dans le cas d'une cellule contrôle n'ayant pas subi de traitement. En utilisant un marqueur de l'actine et de la myosine on peut également suivre l'évolution de la repolymérisation du cortex à la membrane du bleb. Nous utilisons ces courbes dans la partie D pour analyser le rôle de la repolymérisation du cortex.

De ces données peuvent être extraites la vitesse de croissance initiale du volume du bleb $\frac{dV_b}{dt}(t=0)$ et la vitesse initiale de la hauteur du bleb $\frac{dh}{dt}(t=0)$ en fonction de la tension. Les courbes de la fig. V.9 sont alors obtenues en moyennant ces deux mesures pour chaque population de cellules, puis en traçant cette moyenne en fonction de la tension.

Dans les sections suivantes nous proposons divers modèles permettant d'interpréter les résultats expérimentaux que nous venons de présenter.

B Equilibre du bleb et élasticité de la cellule

Dans ce chapitre nous supposons que le cortex est élastique, au moins pendant le temps de formation du bleb. Cette hypothèse est justifiée dans le cadre du modèle de Maxwell que nous utilisons pour décrire la rhéologie du gel si le temps de formation du bleb est inférieur au temps de relaxation viscoélastique τ , introduit dans la partie II. τ de l'ordre de 5-60 s selon les auteurs [151][143], et le temps de formation du bleb est de l'ordre de 10s (voir fig. V.8). Cette hypothèse est donc raisonnable. Une indication supplémentaire de sa validité nous est fournie par le test expérimental suivant : en plongeant la cellule dans un milieu rempli d'agarose et en

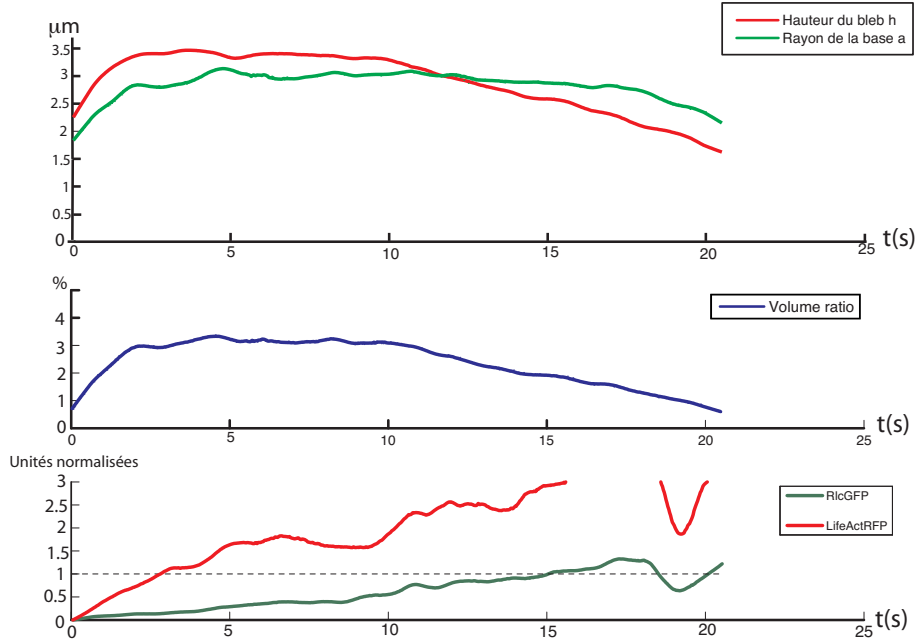


FIG. V.8: Kymographe donnant l'évolution au cours du temps des grandeurs géométriques associées au bleb (courbe du haut : a en vert et h en rouge, courbe du milieu $\frac{V_b}{V_c}$), ainsi que l'évolution de la fluorescence de l'actine et de la myosine à la membrane du bleb, normalisée à la fluorescence du cortex (voir courbes du bas. trait rouge : fluorescence de l'actine, trait vert : fluorescence de la myosine)

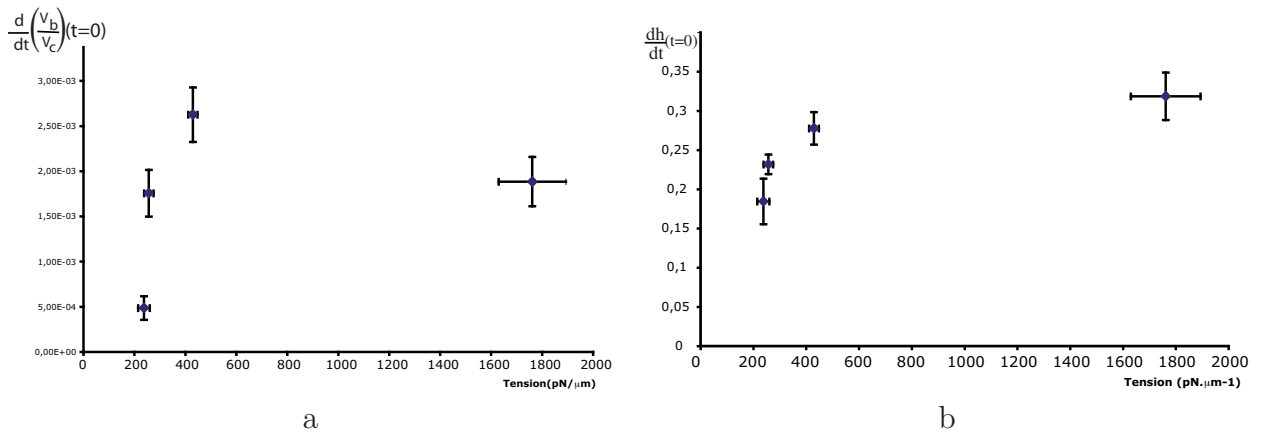


FIG. V.9: (a) : vitesse initiale du volume du bleb $\frac{d}{dt}\left(\frac{V_b}{V_c}\right)(t = t_0)$ en fonction de la tension, (b) : vitesse initiale de la hauteur du bleb $\frac{dh}{dt}(t = t_0)$ en fonction de la tension. Les barres d'erreur indiquent l'erreur standard. Chaque point est obtenu à partir d'environ 30 mesures.

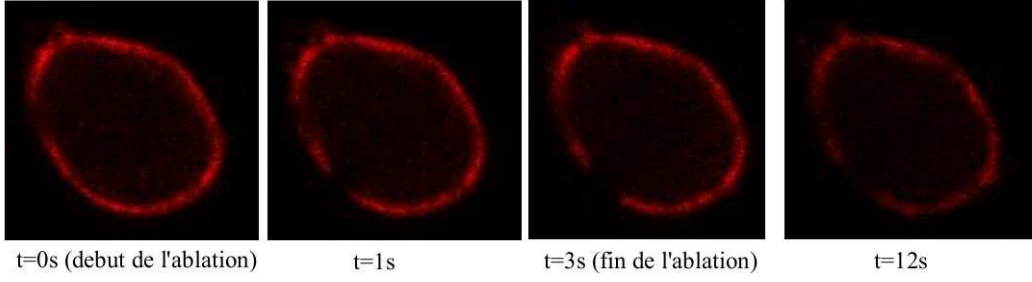


FIG. V.10: Séquence d'images d'une cellule transfectée en actine-GFP, plongée dans un milieu d'agarose à 2%, dans laquelle on perce le cortex (durée de l'ablation 3s). Dans ce milieu rigide le bleb ne peut pas se former, et le trou s'élargit avant de se stabiliser à un rayon fixe.

la soumettant à une série d'impulsions laser, on forme un trou dans son cortex tout en empêchant la formation du bleb, car le milieu est trop rigide pour que la cellule puisse le déformer. Si le cortex se comporte comme un fluide sur l'échelle de temps de l'observation, le trou formé doit s'agrandir exponentiellement : en effet une étude simple de l'ouverture d'un trou dans un fluide plan, sous tension active, montre qu'il doit s'ouvrir comme

$$a = a_0 e^{-\frac{\zeta \Delta \mu}{2\eta} t} \quad (\text{V.9})$$

On peut vérifier ce résultat à partir de l'éq. IV.57, qui donne le champ de vitesse dans le cortex dans une géométrie similaire : pour $r_1 = r_0$, c'est à dire en l'absence d'anneau contractile, elle se réduit en effet à $v_r(r_0) = \frac{\zeta \Delta \mu}{2\eta} r_0$, qui conduit à l'éq. V.9. Ce processus est analogue au démouillage d'un fluide ultravisqueux décrit par F. Brochard et coll. [35] : l'ouverture du trou se fait également de façon exponentielle, mais ici la force motrice n'est pas la tension de surface du liquide mais l'activité des myosines.

En revanche, si le gel d'actine cortical est élastique, il est clair qu'on doit atteindre un rayon d'équilibre pour le trou : c'est bien ce qu'on observe (fig. V.10). Dans cette section nous décrivons donc un modèle de formation d'un bleb dans le cas où le cortex a un comportement élastique.

B.1 Elasticité du cortex

B.1.1 Solution sphérique

Nous considérons dans cette partie le cas le plus simple d'une coque élastique sphérique d'actine, d'épaisseur constante $e \ll R$. Nous ignorons le treadmilling de la couche et nous considérons que le cortex est dans un état non déformé, sphérique et de rayon R_0 . Au cours de la formation du bleb le volume de la cellule décroît, le cortex subit une contraction que nous considérons ici isotrope, et atteint donc une nouvelle forme sphérique de rayon $R = R_0 - \Delta R$. Nous supposons être dans un régime de faible déformation $\Delta R \ll R$, ce qui est compatible avec les observations expérimentales, qui vérifient $V_b \ll V_c$. Nous considérons que la concentration de myosines est homogène dans tout le cortex, et donc la contrainte active $\zeta \Delta \mu$ est

indépendante de r et θ . Nous appelons P_c la pression dans la cellule, différente de la pression externe P_0 . Le champ de déformation n'a qu'une composante radiale u_r , et la condition d'incompressibilité du cortex devient donc

$$\partial_r u_r + 2 \frac{u_r}{r} = 0 \quad (\text{V.10})$$

et donc dans le gel $u_r = -\frac{\Delta R R}{r^2} \simeq -\frac{\Delta R}{R}$. Pour obtenir la pression exercée par le cortex nous suivons la même démarche que dans la partie A.4 du chapitre II. A partir des équations constitutives II.24 à II.26 dans la limite élastique $\tau \rightarrow \infty$, et en utilisant la condition aux limites $\sigma_{rr}(R) = -P_0 - \frac{2\gamma}{R}$ où γ est la tension de la bicouche lipidique, on obtient la distribution de contraintes dans le cortex :

$$\sigma_{rr} = -P_0 - \frac{2\gamma}{R} - \zeta \Delta \mu \frac{z}{R} + 12E \frac{\Delta R}{R} \frac{z}{R} \quad (\text{V.11})$$

$$\sigma_{\theta\theta} = \sigma_{\phi\phi} = -P_0 - \frac{2\gamma}{R} + \frac{\zeta \Delta \mu}{2} - 6E \frac{\Delta R}{R} \quad (\text{V.12})$$

où la coordonnée z est définie par $z = R - r$, et $z \ll R$. Remarquons que l'éq. V.12 peut être obtenue directement à partir de l'éq. II.32 du chapitre II, dans la limite élastique $\tau \rightarrow \infty$ et à l'ordre le plus bas en $\frac{z}{R}$. En utilisant la seconde condition aux limites $\sigma_{rr}(R - e) = -P_c$ on obtient la pression intracellulaire :

$$P_c = P_0 + \frac{2\gamma}{R} + \frac{\zeta \Delta \mu e}{R} - 12E \frac{e}{R} \frac{\Delta R}{R} \quad (\text{V.13})$$

On peut faire plusieurs remarques à propos de cette formule :

- Quand la cellule est dans un état non déformé de rayon R elle se réduit à $P_c = P_0 + \frac{2}{R}(\gamma + \frac{\zeta \Delta \mu e}{2})$, qui est la loi de Laplace appliquée entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule, avec la tension active du cortex $\frac{\zeta \Delta \mu e}{2}$ et la tension de la membrane γ .
- Quand le cortex se contracte à cause de l'activité des myosines, l'élasticité du réseau de filaments s'oppose à la déformation. Les deux effets sont donc antagonistes, comme on peut le voir dans l'éq. V.13 où les deux derniers termes ont des signes opposés.

B.1.2 Equilibre du bleb

En utilisant ces résultats on peut examiner la situation d'équilibre du bleb. A la fin de sa croissance, la pression dans le bleb et la pression dans la cellule doivent être égales ($P_c = P_b$). En appliquant la loi de Laplace de part et d'autre de la membrane du bleb on obtient

$$\Delta P = P_c - P_0 = P_b - P_0 = \frac{2\gamma_b}{R_b}$$

où R_b est le rayon du bleb, et γ_b est la tension de la membrane dans le bleb, que nous supposons ici être égale à la tension de la membrane dans le reste de la cellule γ . L'éq. V.13 s'écrit donc maintenant

$$\frac{\Delta R}{R} = \frac{\zeta \Delta \mu}{6E} + \frac{\gamma}{6Ee} \left(1 - \frac{R}{R_b}\right) \quad (\text{V.14})$$

Comme ΔR et R_b sont reliés géométriquement par la conservation du volume (voir partie A.2.1), cette équation suffit à obtenir le volume du bleb à l'équilibre. La solution pour différentes valeurs de γ est tracée sur la fig. V.11 en fonction du paramètre de contractilité $\frac{\zeta \Delta \mu}{E}$.

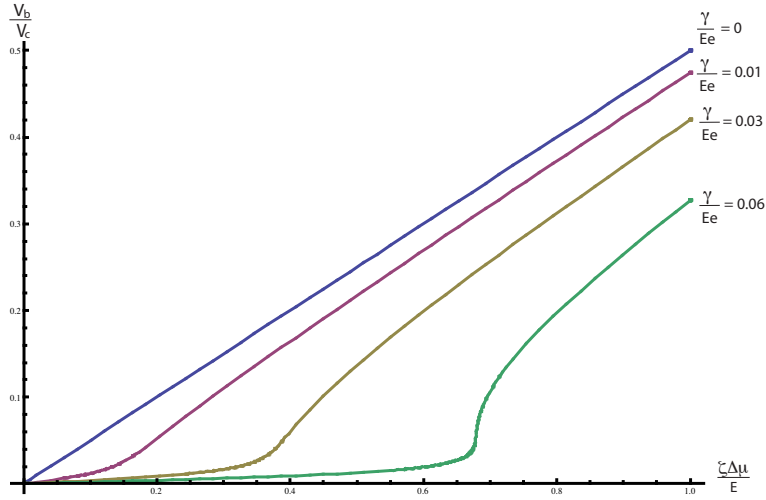


FIG. V.11: Volume du bleb en fonction de la contractilité $\frac{\zeta \Delta \mu}{E}$ dans le cas d'un cortex élastique, pour différentes valeurs de la tension de la membrane et pour un rayon du trou $\frac{a}{R} = 0.1$

Si pendant la formation du bleb on néglige la tension de la membrane on a l'équation plus simple

$$\frac{\Delta R}{R} \simeq \frac{\zeta \Delta \mu}{6E} \quad (\text{V.15})$$

qui correspond au simple équilibre entre les forces actives exercées par les myosines et la résistance élastique du gel. On peut aussi l'écrire

$$\frac{V_b}{V_c} \simeq \frac{\zeta \Delta \mu e}{2Ee} \quad (\text{V.16})$$

qui donne le volume du bleb en fonction de la tension cellulaire $\frac{\zeta \Delta \mu e}{2}$. Ce modèle simple, où la taille du bleb dépend de l'élasticité du cortex, ne semble pas cadrer avec les expériences. En effet dans la partie suivante nous montrons que la déflexion du trou observée ne serait pas expliquée par ce calcul.

B.1.3 Déflexion du cortex induite par le trou

Dans la partie précédente nous avons négligé la présence d'un trou dans le cortex. Si nous le prenons en compte dans notre description, la contraction du cortex n'est plus parfaitement sphérique. On peut cependant calculer la déformation qui en résulte en incorporant les équations des gels actifs dans une théorie de coque élastique, c'est-à-dire en réduisant les équations du cortex à celle d'une membrane effective à deux dimensions. La méthode pour réaliser cette réduction dans le cas d'une coque axisymétrique est décrite dans l'appendice C : les tensions t_θ , t_ϕ et n_θ

ainsi que les moments g_θ et g_ϕ y sont définis, et nous obtenons leur valeur explicite (la definition de z est remplacée par $z = r - R + \frac{\varepsilon}{2}$) :

$$t_\theta = \int_{-\frac{\varepsilon}{2}}^{\frac{\varepsilon}{2}} \sigma_{\theta\theta} dz = \frac{\zeta \Delta \mu e}{2} + \frac{2Ee}{R} (2\partial_\theta u_\theta + u_\theta \cot \theta + 3u_r) \quad (\text{V.17})$$

$$t_\phi = \int_{-\frac{\varepsilon}{2}}^{\frac{\varepsilon}{2}} \sigma_{\phi\phi} dz = \frac{\zeta \Delta \mu e}{2} + \frac{2Ee}{R} (\partial_\theta u_\theta + 2u_\theta \cot \theta + 3u_r) \quad (\text{V.18})$$

$$n_\theta = - \int_{-\frac{\varepsilon}{2}}^{\frac{\varepsilon}{2}} \sigma_{r\theta} dz \quad (\text{V.19})$$

$$\begin{aligned} g_\theta &= - \int_{-\frac{\varepsilon}{2}}^{\frac{\varepsilon}{2}} z \sigma_{\theta\theta} (1 + \frac{z}{R}) dz \\ &= \frac{e^3}{12R} \left(\frac{3\zeta \Delta \mu}{2} + \frac{2E}{R} (2\partial_\theta u_\theta + \cot \theta u_\theta - 2\partial_\theta^2 u_r - \cot \theta \partial_\theta u_r) \right) \end{aligned} \quad (\text{V.20})$$

$$\begin{aligned} g_\phi &= - \int_{-\frac{\varepsilon}{2}}^{\frac{\varepsilon}{2}} z \sigma_{\phi\phi} (1 + \frac{z}{R}) dz \\ &= \frac{e^3}{12R} \left(\frac{3\zeta \Delta \mu}{2} + \frac{2E}{R} (\partial_\theta u_\theta + 2 \cot \theta u_\theta - \partial_\theta^2 u_r - 2 \cot \theta \partial_\theta u_r) \right) \end{aligned} \quad (\text{V.21})$$

En raisonnant sur l'équilibre d'un bloc infinitésimal de cortex, on obtient dans l'appendice C les équations d'équilibre des forces :

$$\partial_\theta t_\theta + \cot \theta (t_\theta - t_\phi) - n_\theta = 0 \quad (\text{V.22})$$

$$\partial_\theta n_\theta + \cot \theta n_\theta + t_\theta + t_\phi + 2\gamma = R(P_c - P_0) = R\Delta P \quad (\text{V.23})$$

$$\partial_\theta g_\theta + \cot \theta (g_\theta - g_\phi) - Rn_\theta = 0 \quad (\text{V.24})$$

B.1.4 Solution pour la déflexion du cortex

A partir de ces équations d'équilibre on peut exprimer tous les paramètres utiles en fonction de la tension n_θ :

$$t_\theta = -n_\theta \cot \theta - \gamma + R \frac{\Delta P}{2} \quad (\text{V.25})$$

$$t_\phi = -\partial_\theta n_\theta - \gamma + R \frac{\Delta P}{2} \quad (\text{V.26})$$

$$u_\theta = \frac{R n_\theta}{e 2E} \quad (\text{V.27})$$

$$u_r = -\frac{\zeta \Delta \mu}{12E} R + \frac{R}{12Ee} (R\Delta P - 2\gamma) - \frac{R}{3Ee} (\partial_\theta + \cot \theta) n_\theta \quad (\text{V.28})$$

où nous avons annulé les constantes d'intégration qui mènent à des divergences en $\theta = \pi$, ou qui correspondent à des translations globales de la sphère (déformations pour lesquelles $u_r \sim \cos \theta$ et $u_\theta \sim \sin \theta$). L'éq. V.25 s'obtient en éliminant t_ϕ entre les éqs. C.19 et C.18. En remplaçant alors l'expression obtenue pour t_θ V.25 dans l'équation d'équilibre C.18 on obtient l'éq. V.26. En calculant ensuite $t_\theta - t_\phi$ et

$2t_\phi - t_\theta$ en utilisant d'une part les éqs. V.25 et V.26 et d'autre part les éqs. C.4 et C.7, on obtient les éqs. V.27 et V.28.

En utilisant $u_r = -\Delta R$, l'éq. V.28 devient

$$\frac{\Delta R}{R} = \frac{\zeta \Delta \mu}{12E} + \frac{\gamma}{6Ee} \left(1 - \frac{R}{R_b}\right) + (\partial_\theta + \cot \theta) \left(\frac{n_\theta}{3Ee}\right) \quad (\text{V.29})$$

qui est similaire à l'éq. V.15, que nous avons obtenue en ignorant la déformation du cortex due à la présence du trou, mais qui contient un nouveau terme dans le membre de droite qui correspond à la déflexion du cortex. En insérant les éqs. V.27 et V.28 dans les éqs. C.11 et C.15 afin d'obtenir g_θ et g_ϕ puis en remplaçant les expressions ainsi obtenues dans l'équilibre des forces V.24, on peut montrer que la fonction n_θ doit être solution de l'équation suivante :

$$\left(\partial_\theta^2 + \cot \theta \partial_\theta - \left(\frac{1}{2} + \cot^2 \theta \right) \right) \left(\partial_\theta^2 + \cot \theta \partial_\theta + \left(\frac{1}{2} - \cot^2 \theta \right) \right) n_\theta = \frac{-9R^2}{e^2} n_\theta \quad (\text{V.30})$$

dont les solutions sont les combinaisons linéaires des fonctions de Legendre généralisées $P_\nu^1(\cos \theta)$, $Q_\nu^1(\cos \theta)$, $P_{-\nu}^1(\cos \theta)$ et $Q_{-\nu}^1(\cos \theta)$, où ν satisfait à

$$\nu(\nu + 1) = 1 + \frac{i}{2} \sqrt{\frac{9R^2}{e^2} - \frac{1}{4}} \simeq 1 + i \frac{3R}{e} \quad (\text{V.31})$$

Par définition, les fonctions de Legendre $P_\nu^1(\cos \theta)$ et $Q_\nu^1(\cos \theta)$ sont solutions de l'équation différentielle

$$\left(\partial_\theta^2 + \cot \theta \partial_\theta + \nu(\nu + 1) - \frac{1}{\sin^2 \theta} \right) f(\theta) = 0 \quad (\text{V.32})$$

Pour déterminer la solution complète nous devons appliquer 4 conditions aux limites. Les fonctions de Legendre divergent en π , donc nous pouvons obtenir deux conditions en imposant que ni n_θ ni t_θ ne divergent en π , ce qui est nécessaire puisque le cortex est continu au coté opposé du trou. Nous réduisons alors la base des solutions à deux fonctions :

$$G_1(\theta) = 2\Re \left(\frac{\pi}{2} \cot((1 + \nu)\pi) P_\nu^1(\cos \theta) - Q_\nu^1(\cos \theta) \right) \quad (\text{V.33})$$

$$G_2(\theta) = 2\Im \left(\frac{\pi}{2} \cot((1 + \nu)\pi) P_\nu^1(\cos \theta) - Q_\nu^1(\cos \theta) \right) \quad (\text{V.34})$$

Nous avons besoin de deux autres conditions aux limites. Nous imposons qu'il n'y a pas de moments exercés sur les bords du trou, c'est-à-dire $g_\theta(\theta_c) = 0$. La deuxième condition est plus subtile car elle pose le problème de l'interaction entre la membrane et le cortex aux bords du bleb. Ici nous considérons que la tension de la membrane lipidique dans le bleb et dans la cellule sont égales, et que les tensions du bleb et du cortex soient équilibrées au point de contact bleb/cortex. Comme tracé sur la figure V.12, cela impose tangentiellement au cortex

$$t_\theta(\theta_c) + \gamma(1 + \cos \varphi) = 0 \quad (\text{V.35})$$

ou φ est défini dans la partie A.2.1.

En remplaçant t_θ par cette valeur dans l'éq. V.25, nous obtenons $n_\theta(\theta_c) =$

$\tan(\theta_c)(\frac{R\Delta P}{2} + \gamma \cos \varphi)$. ΔP est la pression relative intracellulaire, et nous supposons qu'à l'équilibre du bleb la pression est uniforme dans la cellule. ΔP est donc aussi la pression dans le bleb, qui est imposée par la loi de Laplace appliquée à travers sa membrane $\Delta P = \frac{2\gamma}{R_b}$. Dans ce cas nous obtenons en utilisant l'éq. V.6 la valeur de n_θ au bord du bleb : $n_\theta(\theta_c) = \gamma \sin \varphi$. Cette équation correspond en fait à l'équilibre des tensions au bord du trou, dans la direction normale au cortex (voir fig. V.12). Cette deuxième condition est donc automatiquement assurée par la première condition V.35.

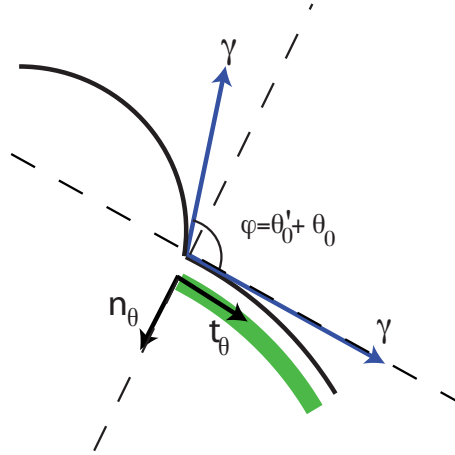


FIG. V.12: Schéma des forces appliquées sur le bord du bleb.

Pour déterminer la solution nous développons n_θ sur la base des solutions en écrivant $n_\theta = C_1 G_1(\theta) + C_2 G_2(\theta)$. En incluant les éqs. V.27 et V.28 dans l'éq. C.11, on trouve pour g_θ

$$g_\theta = -\frac{e^2}{36R} \left(\frac{9\zeta\Delta\mu e}{2} + (2\partial_\theta + \cot \theta) \left((C_1 - \frac{3R}{e}C_2)G_1 + (\frac{3R}{e}C_1 + C_2)G_2 \right) \right) \quad (\text{V.36})$$

Les conditions aux limites donnent donc

$$\begin{pmatrix} G_1(\theta_c) & G_2(\theta_c) \\ (2\partial_\theta + \cot \theta)(G_1 + 3\frac{R}{e}G_2)(\theta_c) & (2\partial_\theta + \cot \theta)(G_2 - 3\frac{R}{e}G_1)(\theta_c) \end{pmatrix} \begin{pmatrix} C_1 \\ C_2 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} n_\theta(\theta_c) \\ -\frac{9\zeta\Delta\mu e}{2} \end{pmatrix} \quad (\text{V.37})$$

et on obtient la solution pour n_θ , en ne gardant que les termes d'ordre le plus élevé en $\frac{R}{e}$:

$$n_\theta(\theta) = n_\theta(\theta_c)F_1(\theta) - \frac{3e}{2R}\zeta\Delta\mu e F_2(\theta) \quad (\text{V.38})$$

où

$$F_1(\theta) = \frac{(2\partial_\theta + \cot \theta)G_1}{(\partial_\theta + \cot \theta)(G_1^2 + G_2^2)} \Big|_{\theta_c} G_1(\theta) + \frac{(2\partial_\theta + \cot \theta)G_2}{(\partial_\theta + \cot \theta)(G_1^2 + G_2^2)} \Big|_{\theta_c} G_2(\theta) \quad (\text{V.39})$$

$$F_2(\theta) = \frac{G_2}{(\partial_\theta + \cot \theta)(G_1^2 + G_2^2)} \Big|_{\theta_c} G_1(\theta) - \frac{G_1}{(\partial_\theta + \cot \theta)(G_1^2 + G_2^2)} \Big|_{\theta_c} G_2(\theta) \quad (\text{V.40})$$

Ces deux fonctions sont tracées sur la fig. V.13. Nous pouvons faire quelques re-

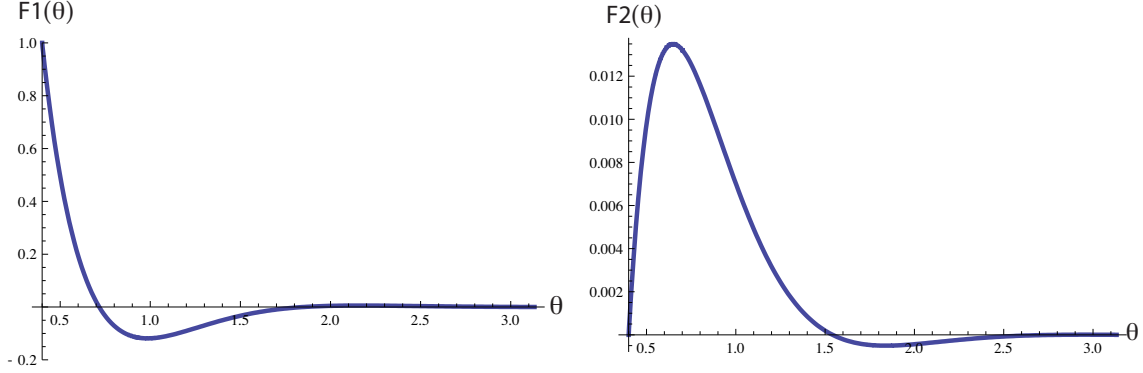


FIG. V.13: Les fonctions F_1 et F_2 pour $\frac{R}{e} = 10$ et $\theta_c = 0.4$

marques à leur sujet :

- Elles sont reliées mathématiquement aux fonctions de Legendre introduites précédemment et elles ne dépendent que des paramètres θ_c et $\frac{R}{e}$
- Elles satisfont $F_1(\theta_c) = 1$ et $F_2(\theta_c) = 0$.
- F_1 donne la déformation induite par les forces extérieures appliquées au cortex, tandis que F_2 correspond à la déflexion due aux forces internes exercées par les myosines.
- Comme on peut le voir sur le graphe V.13, F_2 est plus petit que F_1 de plusieurs ordres de grandeur
- F_1 est une fonction qui décroît avec θ sur un angle typique $\sqrt{\frac{e}{R}}$. En d'autres termes, le cortex est déformé autour du trou sur une longueur $\sqrt{Re}$.

A partir de cette solution nous pouvons calculer u_θ en utilisant l'éq. V.27 :

$$\frac{u_\theta}{R} = \frac{\gamma}{2Ee} \sin \varphi F_1(\theta) - \frac{e}{R} \frac{3\zeta\Delta\mu}{4E} F_2(\theta) \quad (\text{V.41})$$

et u_r est alors relié à u_θ par

$$\frac{u_r}{R} = -\frac{\zeta\Delta\mu}{12E} + \frac{R}{12Ee}(\Delta P - \frac{2\gamma}{R}) - \frac{2}{3}(\partial_\theta + \cot \theta)\frac{u_\theta}{R} \quad (\text{V.42})$$

Comme nous l'avons remarqué plus tôt, F_2 est une fonction qui prend des valeurs petites devant 1 (de l'ordre de 10^{-2} pour $\frac{R}{e} = 10$). Comme son préfacteur est également petit car $\frac{e}{R} \ll 1$ et $\frac{\zeta\Delta\mu}{E} \ll 1$, la déformation correspondante est très faible ($\frac{u}{R} \sim 10^{-4}$), en particulier trop faible pour pouvoir être observée. Il est donc raisonnable de négliger l'effet des contraintes actives sur la partie non-isotrope de la

déformation. Dans ce cas on peut réécrire u_r et u_θ de façon simplifiée

$$\frac{u_r}{R} = \underbrace{\frac{R}{12Ee}(\Delta P - \frac{2\gamma}{R}) - \frac{\zeta\Delta\mu}{12E}}_{\text{compression isotrope}} - \underbrace{\frac{\gamma}{3Ee} \sin \varphi (\partial_\theta + \cot \theta) F_1(\theta)}_{\text{déflexion}} \quad (\text{V.43})$$

$$\frac{u_\theta}{R} = \frac{\gamma}{2Ee} \sin \varphi F_1(\theta) \quad (\text{V.44})$$

Un graphe de la forme correspondante prise par la cellule est donnée sur la figure V.14.

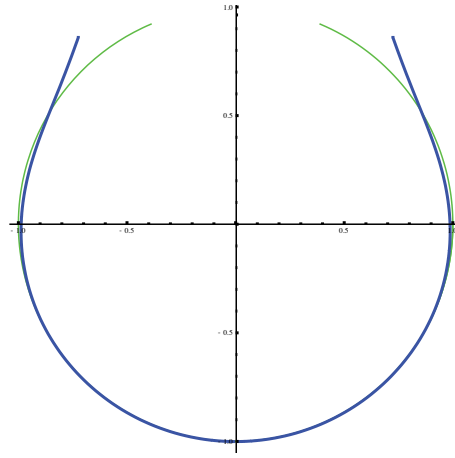


FIG. V.14: Déflexion du cortex (courbe bleue) par rapport à une sphère parfaite (courbe verte), donnée par les éqs. V.43 et V.44, pour $\theta_c = 0.4$ et $\frac{\gamma}{Ee}(\frac{R}{R_b} - 1) = 0.7$

B.1.5 Comparaison aux données

Essayons maintenant de relier ces calculs aux mesures expérimentales présentées dans la partie A.2.2. L'ouverture angulaire du trou $\Delta\theta_c$ est fixée par le champ de déformation selon $\Delta\theta_c = \frac{u_\theta(\theta_c)}{R}$, et donc en utilisant l'éq. V.44 que nous venons d'obtenir

$$\Delta\theta_c = \frac{\gamma}{2Ee} \sin \varphi \quad (\text{V.45})$$

où $\Delta\theta_c$ est l'ouverture angulaire du trou. En d'autres termes, la base du bleb à l'équilibre a un rayon $a = a_0 + R\Delta\theta_c$ où a_0 est le rayon du trou percé initialement par le laser (voir fig. V.6).

Nous pouvons donc comparer les équations V.16 et V.45 aux courbes expérimentales V.7a et V.7b donnant le volume du bleb et l'ouverture angulaire du trou en fonction de la tension. Une estimation rapide des paramètres montre cependant que l'éq. V.45 ne peut pas décrire correctement l'amplitude de la déformation du trou. En effet d'après l'éq. V.16 on a $\frac{V_b}{V_c} \sim \frac{T_c}{Ee}$. La courbe V.7a donnerait alors grossièrement $Ee \sim 10^4 pN.\mu m^{-1}$. Comme $\gamma \simeq 30 pN.\mu m^{-1}$, l'éq. V.45 donnerait alors $\Delta\theta_c \sim \frac{\gamma}{Ee} \sim 10^{-3}$, une valeur bien en deçà de celles mesurées sur la courbe V.7b.

En termes plus qualitatifs, nos calculs montrent qu'en prenant en compte l'élasticité du cortex uniquement, l'ouverture du trou à l'équilibre est fixée par la tension de la membrane du bleb. Celle ci étant probablement très faible, cet effet ne suffit pas à expliquer la large ouverture angulaire observée.

Nous sommes donc amenés à affiner notre analyse et à prendre en compte en particulier la partie interne du cytosquelette qui doit présenter, également, une certaine élasticité.

B.2 Elasticite du milieu interne

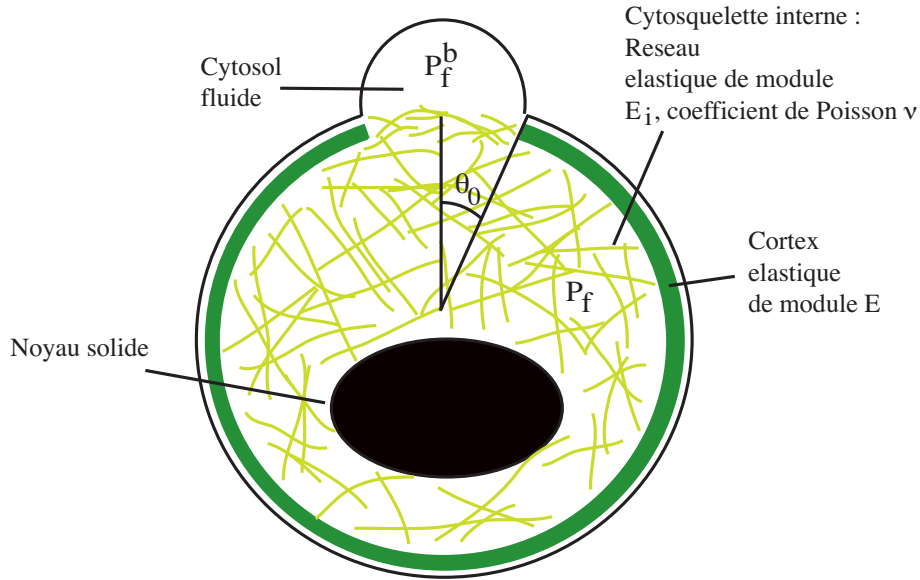


FIG. V.15: Schéma des différents éléments mécaniques impliqués dans la formation du bleb, en incluant l'élasticité du cytosquelette interne.

La cellule possède, en dehors du cortex, un réseau de filaments intermédiaires, de câbles d'actine et de microtubules qui possède probablement sa propre élasticité (voir fig. V.15). Dans cette partie nous appelons "cytosquelette interne" ce réseau, par opposition au cytosol qui désigne uniquement le fluide de la cellule dans lequel le cytosquelette baigne. Nous pouvons donc lui associer un module élastique E_i et un coefficient de Poisson ν . Nous considérons qu'avant la formation du bleb, le cytosquelette interne est dans son état de référence et n'exerce pas de contraintes. Quand le bleb croît, le volume de la cellule décroît, et le réseau doit donc se déformer. Si $u_{\alpha\beta}^i$ désigne le tenseur des déformations correspondant nous pouvons écrire le tenseur des contraintes σ^i (nous désignons toutes les grandeurs associées au milieu interne par l'indice i , afin de les distinguer des contraintes et déformations ayant lieu

dans le cortex)

$$\sigma_{rr}^i = \frac{E_i}{1+\nu} \left[u_{rr}^i + \frac{\nu}{1-2\nu} u_{ll}^i \right] \quad (\text{V.46})$$

$$\sigma_{\theta\theta}^i = \frac{E_i}{1+\nu} \left[u_{\theta\theta}^i + \frac{\nu}{1-2\nu} u_{ll}^i \right] \quad (\text{V.47})$$

$$\sigma_{\phi\phi}^i = \frac{E_i}{1+\nu} \left[u_{\phi\phi}^i + \frac{\nu}{1-2\nu} u_{ll}^i \right] \quad (\text{V.48})$$

$$\sigma_{r\theta}^i = \frac{E_i}{1+\nu} u_{r\theta}^i \quad (\text{V.49})$$

Comme précédemment nous considérons que le cortex a une élasticité avec un module E , et qu'il est incompressible, ce qui revient à considérer que son coefficient de Poisson ν_{cortex} est proche de $\frac{1}{2}$. Relaxer cette hypothèse ne changerait nos résultats qu'à des coefficients numériques près : en revanche il est essentiel d'inclure le coefficient de Poisson du cytosquelette interne, car s'il est incompressible ($\nu = \frac{1}{2}$) il est clair que le bleb ne peut pas se former.

Les calculs nécessaires pour obtenir la déformation et les contraintes dans le cortex sont identiques à ceux de la partie précédente. Le cytoplasme est maintenant modélisé par deux constituants, le cytosol et le cytosquelette interne, et le tenseur des contraintes totales dans la cellule s'écrit $\sigma^t = -P_f + \sigma^i$ où P_f désigne la pression du cytosol. En particulier les conditions aux limites s'écrivent maintenant :

- Pour le cortex

$$\sigma_{rr}(R) = -P_0 - \frac{2\gamma}{R} \quad (\text{V.50})$$

$$\sigma_{rr}(R-e) = -P_f + \sigma_{rr}^i(R) \quad (\text{V.51})$$

ce qui revient à remplacer P_c par $P_f - \sigma_{rr}^i(R)$ dans l'éq. V.13.

- Pour le cytosquelette interne, les conditions aux limites sont définies par morceaux, puisque le réseau élastique n'est pas en contact avec le cortex dans la region du bleb (voir fig. V.15) :

$$\theta < \theta_c \quad \sigma_{rr}^i(R) = 0 \quad (\text{V.52})$$

$$\theta > \theta_c \quad \sigma_{rr}^i(R) = P_f + \sigma_{rr}(R-e) \quad (\text{V.53})$$

$$\forall \theta \quad \sigma_{r\theta}^i(R) = 0 \quad (\text{V.54})$$

où la dernière condition est justifiée s'il n'y a pas de couplage tangentiel entre le cortex et le cytosquelette interne. La condition pour σ_{rr}^i peut être réécrite de façon plus compacte en utilisant H , la fonction de Heaviside ($H(x) = 0$ pour $x < 0$ et $H(x) = 1$ pour $x > 0$) :

$$\sigma_{rr}^i(R) = [P_f + \sigma_{rr}(R-e)] H(\theta - \theta_c) \quad (\text{V.55})$$

- Pour le fluide : nous négligeons sa viscosité, car la viscosité du cytosol est proche de celle de l'eau ($\eta_{cyt} \sim 5\eta_{eau}$ [140]). Nous supposons donc que la pression du cytosol dans le bleb est uniforme et imposée par la loi de Laplace

appliquée à la membrane, c'est-à-dire $P_f^b = P_0 - \frac{2\gamma}{R}$. À l'équilibre nous supposons que la pression du fluide est également homogène dans le corps de la cellule, et donc $P_f = P_f^b$ dans toute la cellule. Nous tiendrons compte par contre du travail de perméation du fluide à travers le réseau élastique dans la partie C.1 pour la dynamique de croissance du bleb.

On doit également assurer la continuité de la déformation du cortex et du réseau interne, ce qui impose

$$u_r^i(R, \theta) = u_r(\theta) \quad (\text{V.56})$$

ou u_r est la déformation radiale du cortex. Nous rappelons enfin les équations d'équilibre des forces en géométrie sphérique

$$\partial_r \sigma_{rr} + \frac{1}{r} \partial_\theta \sigma_{r\theta} + \frac{1}{r} (2\sigma_{rr} - \sigma_{\theta\theta} - \sigma_{\phi\phi} + \sigma_{r\theta} \cot \theta) = 0 \quad (\text{V.57})$$

$$\partial_r \sigma_{r\theta} + \frac{1}{r} \partial_\theta \sigma_{\theta\theta} + \frac{1}{r} (3\sigma_{r\theta} + (\sigma_{\theta\theta} - \sigma_{\phi\phi}) \cot \theta) = 0 \quad (\text{V.58})$$

B.2.1 Contraction isotrope

Pour obtenir la solution la plus simple, nous pouvons commencer par ignorer l'effet du trou et chercher une solution isotrope. Dans ce cas nous ignorons la fonction de Heaviside dans l'équation V.55 et nous écrivons $u_\theta^i = 0$ et $\partial_\theta = 0$. En injectant les expressions des forces V.46, V.47, V.48 dans l'équation d'équilibre V.57, on obtient l'équation sur u_r^i

$$(\partial_r^2 + 2\frac{\partial_r}{r} - 2\frac{1}{r^2})u_r^i = 0 \quad (\text{V.59})$$

dont la solution générale est $u_r^i = Ar + \frac{B}{r}$. D'une part la solution ne doit pas diverger au centre ce qui impose $B = 0$, d'autre part la cellule après contraction atteint un rayon $R - \Delta R$, ce qui impose $A = -\frac{\Delta R}{R}$. On en déduit la contrainte au bord en utilisant l'éq. V.46 : on trouve $\sigma_{rr}^i(R) = -\frac{E_i}{1-2\nu} \frac{\Delta R}{R}$. En utilisant la continuité de la contrainte avec le cortex (eq. V.51), l'équation V.13 de la partie B peut être remplacée par

$$P_f + \frac{E_i}{1-2\nu} \frac{\Delta R}{R} = P_0 + \frac{2\gamma}{R} + \frac{\zeta \Delta \mu e}{R} - 12E \frac{e}{R} \frac{\Delta R}{R} \quad (\text{V.60})$$

et en utilisant l'homogénéité de la pression du fluide à l'équilibre $P_f = P_f^b$

$$\left(\frac{E_i}{1-2\nu} + 12E \frac{e}{R} \right) \frac{\Delta R}{R} = \frac{2\gamma}{R} + \frac{\zeta \Delta \mu e}{R} - \frac{2\gamma}{R_b} \quad (\text{V.61})$$

En comparant les deux termes dans la parenthèse du membre de gauche on voit que même si le module élastique du cortex E est grand devant le module de compressibilité du cytosquelette interne $\frac{E_i}{1-2\nu}$, les deux termes doivent être considérés car un facteur $\frac{e}{R}$ diminue l'effet de l'élasticité du cortex.

Dans la partie suivante nous calculons l'effet de la présence du trou sur la déformation du cytosquelette interne. En effet, celui-ci est libre de se déformer en direction du bleb (fig. V.15), et nous pouvons calculer l'amplitude de cette déformation.

B.2.2 Perturbation due au trou

Calcul de la déformation de la forme de la cellule

Pour inclure l'effet de la formation du trou, nous devons tenir compte de la variation des grandeurs avec θ . Au vu de la symétrie du problème, nous développons le champ de déformation en harmoniques sphériques, comme nous l'avons déjà fait pour le cortex dans les chap. III et chap. IV :

$$u_r^i = \sum_{n=0}^{\infty} u_r^{i,n} P_n(\cos \theta) \quad (\text{V.62})$$

$$u_\theta^i = \sum_{n=1}^{\infty} u_\theta^{i,n} \frac{I_{n+1}(\cos \theta)}{\sin \theta} \quad (\text{V.63})$$

En utilisant les relations sur les polynômes de Legendre B.11 et B.12, puis en injectant l'expression des contraintes V.46 à V.49 dans les équations des forces V.57 et V.58 on obtient deux équations différentielles pour les champs u_r^i et u_θ^i :

$$2(1-\nu)r^2\partial_r^2 u_r^i + 4(1-\nu)r\partial_r u_r^i - (4(1-\sigma) + n(n+1)(1-2\sigma))u_r^i + r\partial_r u_\theta^i + (4\nu-3)u_\theta^i = 0 \quad (\text{V.64})$$

$$n(n+1)r\partial_r u_r^i + 4n(n+1)(1-\nu)u_r^i + (2\nu-1)r^2\partial_r^2 u_\theta^i + 2(2\nu-1)r\partial_r u_\theta^i + 2n(n+1)(1-\nu)u_\theta^i = 0 \quad (\text{V.65})$$

En cherchant la solution sous la forme $u_r^i \sim r^\alpha$ et $u_\theta^i \sim r^\alpha$, on obtient la solution générale

$$u_r^{i,n} = A_n r^{n+1} + B_n r^{n-1} + C_n r^{-n} + D_n r^{-n-2} \quad (\text{V.66})$$

$$u_\theta^{i,n} = -\frac{n(n+5-4\nu)}{n+4\nu-2}A_n r^{n+1} - (n+1)B_n r^{n-1} + \frac{n^2 + (3-4\nu)n + 4 - 4\nu}{n+3-4\nu}C_n r^{-n} + nD_n r^{-n-2} \quad (\text{V.67})$$

On peut écrire directement $C = D = 0$ afin d'éliminer les divergences en $r = 0$. Les contraintes s'écrivent alors

$$\sigma_{rr}^{i,n} = \frac{E_i}{1+\nu} \left[A_n \frac{n^2 - n - 2\nu - 2}{n+4\nu-2} r^n + B_n (n-1) r^{n-2} \right] \quad (\text{V.68})$$

$$\sigma_{r\theta}^{i,n} = \frac{E_i}{1+\nu} \left[-A_n \frac{n(n^2 + 2n + 2\nu - 1)}{n+4\nu-2} r^n - B_n (n^2 - 1) r^{n-2} \right] \quad (\text{V.69})$$

Appliquons maintenant les conditions aux limites pour le cytosquelette interne. En utilisant $\sigma_{r\theta}^i(R) = 0$ (équ. V.54) et l'éq. V.69 on obtient une relation entre A_n et B_n , qui nous permet de réexprimer la contrainte radiale et la déformation radiale en fonction d'une seule constante :

$$\sigma_{rr}^{i,n}(R) = -2 \frac{E_i}{1+\nu} A_n R^n \frac{n^2 + 2\nu n + n + \nu + 1}{(n+1)(n+4\nu-2)} \quad (\text{V.70})$$

$$u_r^{i,n}(R) = -2 A_n R^n \frac{2(1-\nu)n^2 + \nu n + 2\nu - 1}{(n^2 - 1)(n+4\nu-2)} \quad (\text{V.71})$$

et d'obtenir en particulier une relation entre la contrainte radiale et le champ de déformation

$$\sigma_{rr}^{i,n}(R) = \frac{E_i}{1+\nu} \frac{u_r^{i,n}(R)}{R} \frac{(n-1)(n^2 + (2\nu+1)n + \nu + 1)}{2(1-\nu)n^2 + \nu n + 2\nu - 1} \quad (\text{V.72})$$

Pour utiliser la condition aux limites appliquée au cytosquelette interne V.55 il faut calculer la contrainte exercée par le cortex sur le cytosquelette interne $\sigma_{rr}(R - e)$. Pour cela on suit la même démarche que dans la partie B.1.3, en remplaçant P_{int} la pression intérieure par $P_f - \sigma_{rr}^i(R, \theta)$, la pression exercée par le fluide et le cytosquelette interne. On suppose pour simplifier $\gamma = 0$. On applique les mêmes équations aux limites pour le cortex au bord du bleb, $t_\theta(\theta_c) = 0$ et $g_\theta(\theta_c) = 0$. En utilisant l'éq. V.25 on en déduit $n_\theta(\theta_c) = \tan(\theta_c) \frac{R}{2} (P_f - \sigma_{rr}^i(R, \theta_c))$. En continuant le calcul comme dans la partie B.1.3, on retrouve la solution pour n_θ donnée dans l'éq. V.38. L'éq. V.28 nous donne finalement la contrainte limite à l'interface entre le cortex et l'intérieur de la cellule :

$$\text{pour } \theta > \theta_c \quad \sigma_{rr}^i(R) = P_f - \left[\frac{\zeta \Delta \mu e}{R} + \frac{12 E e}{R} \frac{u_r}{R} + \frac{8 E e}{R} (\partial_\theta + \cot \theta) \frac{u_\theta}{R} \right] \quad (\text{V.73})$$

$$\text{où } \frac{u_\theta(\theta)}{R} = \frac{R}{4 E e} \tan(\theta_c) (P_f - \sigma_{rr}^i(R, \theta_c)) F_1(\theta) \quad (\text{V.74})$$

où comme dans la partie B.1.3 nous avons négligé le terme proportionnel à $F_2(\theta)$. Nous allons maintenant chercher la solution au premier ordre en θ_c , la solution d'ordre 0 étant donnée par la partie précédente B.2.1. On voit que le dernier terme de l'éq. V.73 est d'ordre $\theta_c (P_f - \sigma_{rr}^i(R, \theta_c))$ et on peut donc le négliger par rapport à $P_f - \sigma_{rr}^i(R, \theta_c)$ dans cette même équation. En utilisant l'éq. V.55 on peut alors écrire

$$\sigma_{rr}^i(R) = \left[P_f - \frac{\zeta \Delta \mu e}{R} - \frac{12 E e}{R} \frac{u_r}{R} \right] H(\theta - \theta_c) \quad (\text{V.75})$$

En utilisant la continuité de la déformation radiale $u_r = u_r^i(R)$ (eq. V.56), et en égalant les eqs. V.72 et V.75, nous allons calculer la solution pour la déformation. Pour cela il faut d'abord projeter l'équation V.75 sur les harmoniques sphériques. Cette équation contient un terme non-linéaire, $u_r H(\theta - \theta_c)$, dont le développement fait intervenir des couplages entre modes. En effet

$$\frac{u_r}{R} H(\theta - \theta_c) = \left[\sum_i \frac{u_r^i}{R} P_i(\cos \theta) \right] \left[1 - \sum_j H_j(\theta_c) P_j(\cos \theta) \right] \quad (\text{V.76})$$

$$= \sum_n \left(\frac{u_r^{i,n}}{R} - \sum_{i,j} \frac{u_r^i}{R} H_j(\theta_c) \gamma_{ijn} \right) P_n(\cos \theta) \quad (\text{V.77})$$

où nous avons introduit les coefficients $H_j(\theta_c)$ et γ_{ijn} qui sont définis respectivement par

$$1 - H(\theta - \theta_c) = \sum_j H_j(\theta_c) P_j(\cos \theta) \quad (\text{V.78})$$

$$\text{ou de façon équivalente } H(\theta - \theta_c) = \sum_j [\delta_{j0} - H_j(\theta_c)] P_n(\cos \theta) \quad (\text{V.79})$$

et

$$P_i(\cos \theta) P_j(\cos \theta) = \sum_n \gamma_{ijn} P_n(\cos \theta) \quad (\text{V.80})$$

En utilisant l'orthogonalité des polynômes de Legendre on peut déduire de cette définition les expressions directes des coefficients que nous venons d'introduire

$$H_j(\theta_c) = \frac{2j+1}{2} \int_0^{\theta_c} P_n(\cos \theta_c) \sin \theta d\theta = \frac{P_{j-1}(\cos \theta_c) - P_{j+1}(\cos \theta_c)}{2} \quad (\text{V.81})$$

et

$$\gamma_{ijn} = \frac{2n+1}{2} \int_0^\pi P_i(\cos \theta) P_j(\cos \theta) P_k(\cos \theta) \sin \theta d\theta \quad (\text{V.82})$$

On a donc en particulier pour tout j $H_j(\theta_c) \sim \theta_c^2$ à θ_c petit. Par ailleurs il est clair que dans la limite $\theta_c \rightarrow 0$, tous les coefficients de la déformation radiale du cortex u_r^n tendent vers 0, sauf la déformation isotrope u_r^0 . A l'aide de ces deux remarques on peut développer la somme V.77 à petit θ_c :

$$\frac{u_r}{R} H(\theta - \theta_c) = \sum_n \left(\frac{u_r^n}{R} - \sum_j \frac{u_r^0}{R} H_j(\theta_c) \gamma_{i0n} \right) P_n(\cos \theta) \quad (\text{V.83})$$

$$= \sum_n \left(\frac{u_r^n}{R} - \frac{u_r^0}{R} H_n(\theta_c) \right) P_n(\cos \theta) \quad (\text{V.84})$$

où on a utilisé la propriété $\gamma_{0in} = \gamma_{i0n} = \delta_{in}$. On peut donc réécrire la condition aux limites V.75 projetée sur les harmoniques sphériques :

$$\sigma_{rr}^{i,n} = \left[P_f - \frac{\zeta \Delta \mu e}{R} - \frac{12 E e u_r^0}{R} \right] [\delta_{n0} - H_n(\theta_c)] - \frac{12 E e u_r^n}{R} \quad (\text{V.85})$$

et on trouve finalement la solution générale en égalant les équations V.72 et V.85

$$\left[\frac{E_i}{1+\nu} \frac{(n-1)(n^2 + (2\nu+1)n + \nu + 1)}{2(1-\nu)n^2 + \nu n + 2\nu - 1} + \frac{12 E e}{R} \right] u_r^{i,n}(R) = \left(P_f - \frac{\zeta \Delta \mu e}{R} \right) \frac{1}{1 + \frac{12 E e (1-2\nu)}{E_i R}} 2 H_n(\theta_c) \quad (\text{V.86})$$

ce qui donne complètement la déformation radiale. Pour $n = 0$ on retrouve en particulier la déformation isotrope que nous avons calculée dans la partie précédente

$$\left[\frac{E_i}{1-2\nu} + \frac{12 E e}{R} \right] u_r^0(R) = \left[P_f - \frac{\zeta \Delta \mu e}{R} \right] \frac{1 + \cos \theta_c}{2} \quad (\text{V.87})$$

Les contraintes et la déformation tangentielle peuvent ensuite se déduire à partir des éqs. V.68, V.72, V.67 et V.86.

Allure du contour

Nous essayons maintenant de relier ce résultat aux observations expérimentales. On suppose pour simplifier que $E_i R \gg E e$ (dans la limite contraire on revient au problème où seul le cortex a une élasticité traitée dans la partie B.1.3, et qui donne une ouverture du trou nulle qui ne correspond pas aux observations). Seul le mode

$n = 0$ contribue à la variation du volume de la cellule (voir partie B.3), on peut donc écrire

$$\frac{V_b}{V_c} \simeq 3 \frac{1 - 2\nu}{E_i} \left[\frac{\zeta \Delta \mu e}{R} - \frac{2\gamma}{R_b} \right] \quad (\text{V.88})$$

où on a utilisé la conservation du volume total (eq. V.5). Comme on peut s'y attendre si le cytosquelette interne est incompressible ($\nu = \frac{1}{2}$) le volume du bleb est nul ($V_b = 0$), car la formation du bleb s'accompagne nécessairement d'une perte de volume dans la cellule. L'équation V.86 donne la déformation associée à la présence

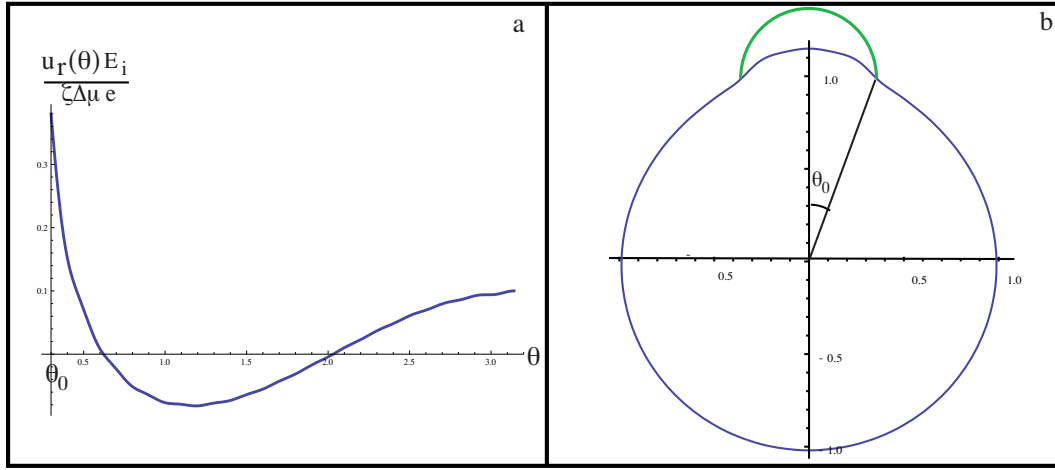


FIG. V.16: a) Profil de la partie non isotrope de la déformation radiale du contour du cytosquelette interne $u_r(R, \theta)$ ($\theta_c = 0.3$, $\nu = 0.45$), b) allure correspondante du contour du cytosquelette interne ($\frac{\zeta \Delta \mu e}{R E_i} = 0.4$). En vert nous dessinons la position éventuelle du bleb.

d'un trou dans le cortex ; sur la figure V.16 nous traçons la forme correspondante. Le cytosquelette interne est déformé en direction du bleb. La déformation maximale au centre du bleb (c'est-à-dire pour $\theta = 0$) dans la limite $E_i R \gg E e$ est donnée par

$$\begin{aligned} \frac{u_r^i(R, \theta = 0)}{R} &= \left(\frac{\zeta \Delta \mu e}{R} - P_f \right) \frac{1 + \nu}{E_i} f(\nu, \theta_c) \\ \text{où } f(\nu, \theta_c) &= - \sum_{n=2}^{\infty} \frac{2(1 - \nu)n^2 + \nu n + 2\nu - 1}{(n - 1)(n^2 + (2\nu + 1)n + \nu + 1)} H_n(\theta_c) \end{aligned} \quad (\text{V.89})$$

Nous traçons la valeur numérique de la fonction $f(\nu, \theta_c)$ pour $\nu = 0.45$ sur la fig. V.17, pour θ_c entre 0 et 0.4, en calculant la somme jusqu'à l'ordre 40. Remarquons qu'expérimentalement le bleb apparaît essentiellement rempli de cytosol, et que le cytoplasme forme un léger renflement dans le bleb (voir l'image en transmission de la fig. V.4 et le schéma de la fig. V.15). Ce renflement apparaît également dans notre calcul théorique de la déformation (fig. V.16(b)). Son volume apparaît beaucoup plus faible que le volume du bleb entier : dans notre description, cela signifie que le volume occupé par le cytosquelette interne dans le bleb, d'ordre $\sim \pi a^2 u_r^i(R, \theta = 0)$, est très faible devant le volume total du bleb, fixé par l'éq. V.88. En comparant ces

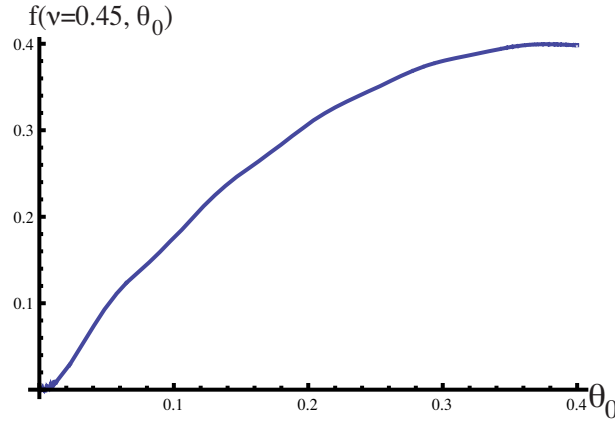


FIG. V.17: Allure de la fonction $f(\nu, \theta_c)$ définie par l'éq. V.89 en fonction de l'angle d'ouverture θ_c , pour $\nu = 0.45$. La somme de l'éq. V.89 est calculée numériquement jusqu'à l'ordre $n=40$.

deux termes on voit que ceci est vérifié quand

$$\theta_c^2 f(\nu, \theta_c) \ll \frac{1 - 2\nu}{4(1 + \nu)} \quad (\text{V.90})$$

donc pour un angle θ_c suffisamment petit.

Au cours de la formation du bleb le cortex se déforme, et le trou s'ouvre d'un angle $\Delta\theta_c$, relié au champ de déformation du cortex par $\Delta\theta_c = \frac{u_\theta(\theta_c)}{R}$. Prenons encore la limite $E_i R \gg Ee$ (dans la limite contraire on revient au cas étudié dans la partie B.1.3). En combinant les éqs. V.72 et V.86 on voit que la contrainte radiale est donnée dans cette limite par

$$\sigma_{rr}^i(R) = (P_f - \frac{\zeta \Delta\mu e}{R}) H(\theta - \theta_c) \quad (\text{V.91})$$

et en utilisant l'éq. V.74 on obtient la déformation du cortex au bord du bleb

$$\Delta\theta_c = \frac{u_\theta(\theta_c)}{R} = \frac{\zeta \Delta\mu}{4E} \theta_c \quad (\text{V.92})$$

On aurait obtenu le même résultat en calculant l'ouverture d'un trou dans un cortex maintenu sur une sphère infiniment rigide. En d'autres termes, dans la limite $E_i R \gg Ee$, le cortex est peu contracté radialement du fait de la résistance du cytosquelette interne, mais le trou s'ouvre largement, ce qui est la limite opposée de la partie précédente où nous avons ignoré l'élasticité interne E_i .

Dans la limite $E_i R \gg Ee$ le volume du bleb est donc principalement fixé par l'élasticité du cytosquelette interne et l'ouverture angulaire par l'élasticité du cortex.

B.2.3 Comparaison aux données

Les données expérimentales pour le volume du bleb et l'ouverture angulaire du trou en fonction de la tension (fig. V.7) peuvent être ajustées à l'aide des équations

V.61 et V.92. Nous avons précédemment estimé la tension de la membrane $\gamma \simeq 30pN.\mu m^{-1}$ en dépolymérisant le cortex des cellules étudiées. Il ne reste donc que deux paramètres ajustables : l'élasticité du cortex E et le module de compressibilité du cytosquelette interne $\frac{E_i}{1-2\nu}$. Sur la figure V.18 nous traçons le meilleur ajustement obtenu. Nous n'avons pas inclus le point obtenu avec la transfection de RhoQ63L, car il est très en dehors de tout ajustement possible. Cela peut s'expliquer : l'ajout de RhoA stimule la polymérisation d'actine, et modifie donc probablement le module élastique du cortex et du cytosquelette interne (voir la partie A.1.1). De l'ajustement nous obtenons les valeurs des paramètres $E = 1650Pa$ pour le module élastique du cortex, et $\frac{E_i}{1-2\nu} = 5500Pa$ pour le module de compressibilité du cytosquelette interne. En ajustant l'ouverture angulaire du trou on obtient une estimation du rayon moyen du trou formé par le laser : on trouve un angle $\theta_c = 0.08$, soit pour un rayon cellulaire $R \simeq 7\mu m$ on trouve $a_0 = 560nm$. Cette valeur est cohérente car comprise entre la longueur d'onde du laser $450nm$ et la tache observée au microscope, de l'ordre de $1\mu m$.

La courbe pour le volume en fonction de la tension présente un "coude" et chute à 0 pour des tensions inférieures à $200pN.\mu m^{-1}$. Ceci peut s'expliquer simplement par le raisonnement qualitatif suivant : lorsque le bleb gonfle après la formation du trou, la pression à l'intérieur du bleb est d'ordre $\frac{\gamma}{a}$, où a est le rayon du trou. La pression intracellulaire est d'ordre $\frac{T}{R}$. Le bleb ne se forme pas si la pression y est supérieure à celle de la cellule, puisque c'est la différence de pression qui est la force motrice pour le flux de cytosol. On a donc une tension critique de formation $T_c \sim \frac{R\gamma}{a}$. Pour $\frac{a}{R} \simeq 0.1$ et $\gamma \simeq 30pN.\mu m^{-1}$ on a $T_c \sim 300pN.\mu m^{-1}$ qui est approximativement la tension en dessous de laquelle on n'observe plus de bleb.

L'ouverture angulaire observée indique un niveau de déformation assez élevé au niveau du trou : en effet la variation relative du périmètre du trou est d'ordre $\frac{\Delta\theta_c}{\theta_c} \sim 2.5$ à sa valeur maximale, pour le point RhoA. On est donc, près du trou, en dehors du domaine des petites déformations.

C Dynamique

Dans cette section nous examinons les sources de dissipation qui pourraient contrôler la dynamique d'expansion du bleb. Nous envisageons deux sources de friction :

- La formation du bleb s'accompagne d'un flux de cytosol qui doit perméer à travers le cytosquelette interne. Il a été proposé dans les réfs. [25] et [21] que la combinaison de ce travail de perméation et de l'élasticité du réseau de filaments internes (poroélasticité) soit à l'origine de retards dans l'établissement de l'équilibre des pressions dans la cellule. Ici nous calculons explicitement le temps de croissance d'un bleb unique dont la dynamique est dominée par la porosité de la cellule.
- La surface du bleb augmente lors de sa croissance, il faut donc qu'un flux de membrane s'établisse de la cellule vers la membrane. F. Brochard & al [17] ont proposé que la perméation des lipides à travers les protéines attachées au cytosquelette domine la dynamique d'extraction de tubes de membranes d'une cellule. Les problèmes d'extraction de tube et de formation de bleb sont

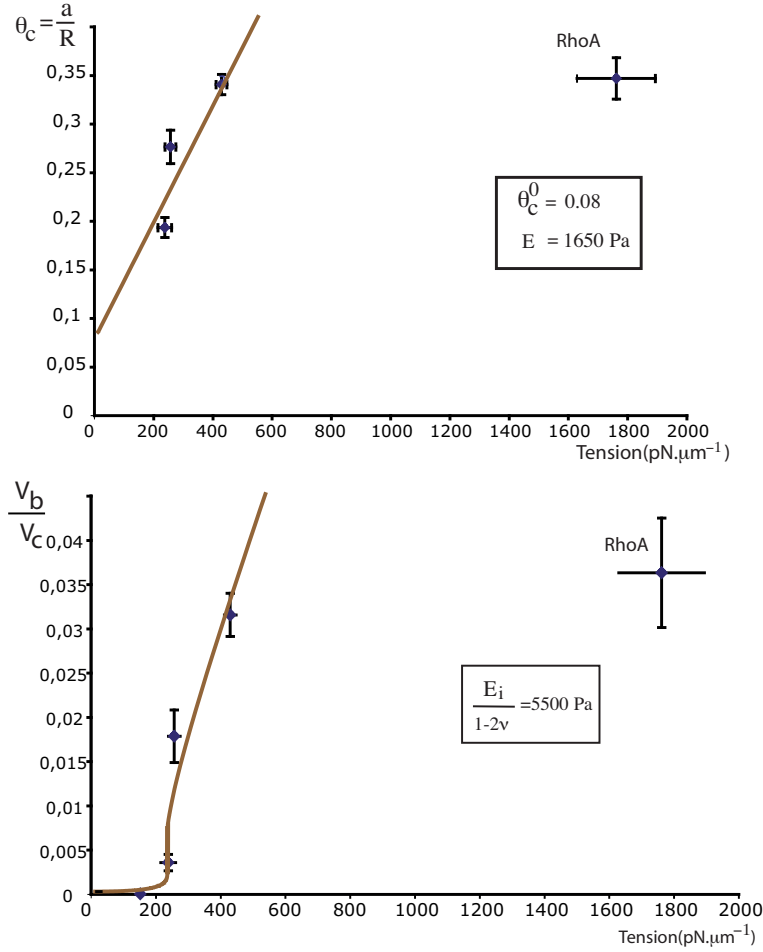


FIG. V.18: Ajustement des courbes expérimentales avec un modèle incluant l'élasticité interne de la cellule. Nous excluons le point obtenu avec les cellules transfectées avec RhoQ63L de l'ajustement, car ce traitement affecte la polymérisation. On obtient le module élastique du cortex $E = 1650 \text{ Pa}$ et le module de compressibilité de l'intérieur de la cellule 5500 Pa).

similaires en ce que des lipides doivent être apportés en un point donné de la membrane : nous proposons donc un modèle analogue à celui de la réf. [17]. Nous avons déjà fait appel à cette description pour calculer la friction du cortex sur la membrane : ici le problème est inversé, le cortex étant immobile et la bicouche lipidique en mouvement.

C.1 Perméation du cytosol à travers le cytoplasme

C.1.1 Equations de perméation d'un gel par un fluide

La croissance du bleb s'accompagne d'un flux de cytosol allant de la cellule vers le bleb. Ce flux ayant lieu à travers un réseau de filaments, l'écoulement s'accompagne d'un travail du à la perméation du fluide entre les filaments. Ce réseau possède également une certaine élasticité qui est celle que nous avons décrite dans la partie

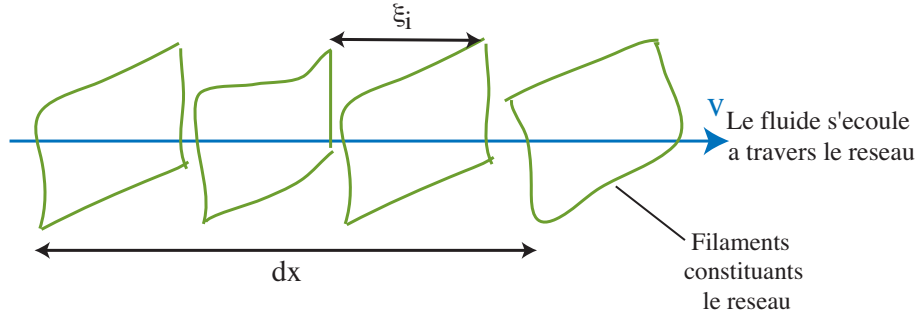


FIG. V.19: Schéma illustrant l'estimation de la constante de perméation : le fluide s'écoule à travers un réseau de filaments de maille ξ^i . La vitesse microscopique doit s'annuler au bord de chaque filament.

précédente (à laquelle nous associons un module élastique E_i et un ratio de Poisson ν). Les équations générales pour la perméation d'un gel élastique par un fluide s'écrivent [70]

$$\partial_\beta [\sigma_{\alpha\beta}^d - P_f \delta_{\alpha\beta}] = -\lambda_p \left(\frac{du_\alpha^i}{dt} - v_\alpha \right) \quad (\text{V.93})$$

$$\partial_\beta \sigma_{\alpha\beta}^i = \lambda_p \left(\frac{u_\alpha^i}{dt} - v_\alpha \right) \quad (\text{V.94})$$

où v et $\sigma_{\alpha\beta}^d$ sont respectivement la vitesse et la dissipation visqueuse du cytosol, u^i et $\sigma_{\alpha\beta}^i$ respectivement la déformation et la contrainte élastique du cytosquelette interne. λ_p est la constante de perméation du cytosquelette par le fluide. On peut l'estimer à partir du raisonnement microscopique donné dans la réf. [49], que nous reproduisons ici (fig V.19) : soit un cube de gel de section dS et de longueur dx à travers lequel le cytosol s'écoule selon la direction x . La vitesse doit s'annuler au bord des filaments : le gradient de vitesse moyen est donc d'ordre $\frac{v_m}{\xi^i}$, où v_m est la vitesse microscopique du cytosol et ξ^i la maille du cytosquelette interne, et la contrainte visqueuse sur la section est d'ordre $\eta_{\text{cyt}} \frac{v_m}{\xi^i}$. Il y a $\frac{dx}{\xi^i}$ sections de filaments dans le cube donc la force totale sur le cube est $\eta_{\text{cyt}} \frac{v_m}{\xi^{i2}} dx dS$, qui doit être contrebalancée par les forces externes sur les faces du cube ($\sigma(x+dx) - \sigma(x)$) dS , d'où $\partial_x \sigma = \eta_{\text{cyt}} \frac{v_m}{\xi^{i2}}$. Cette équation est de la forme V.93 avec $\lambda_p \sim \frac{\eta_{\text{cyt}}}{\xi^{i2}}$ [49]. Le cytosol a une viscosité proche de celle de l'eau [140] $\eta_{\text{cyt}} \simeq 5\eta_{\text{eau}} \simeq 5 \cdot 10^{-3} \text{ Pa.s}$ et il est raisonnable de supposer $\xi^i \sim 50 \text{ nm}$: on trouve alors $\lambda_p \sim 12 \cdot 10^{11} \text{ Pa.s.m}^{-2}$.

C.1.2 Calcul de la perméation du cytosol dans la limite $\theta_c \rightarrow 0$

Résoudre complètement les éqs. V.93 et V.94 est en général très compliqué, donc nous nous appuyons sur certaines approximations. D'abord nous négligeons le tenseur $\sigma_{\alpha\beta}^d$ car la dissipation propre du cytosol $T\dot{S} \sim \frac{\eta_c}{R^2} v^2$ est négligeable devant, par exemple, la dissipation due à la perméation $T\dot{S} \sim \frac{\eta_c}{\xi^{i2}} v^2$, puisque nous supposons $\xi^i \ll R$. Les éqs. V.93 et V.94 sont linéaires, et la géométrie est sphérique, nous allons donc encore une fois décomposer les variables en harmoniques sphériques (voir

appendice B). On obtient alors pour le mode 0

$$\partial_r P_f^0 = \lambda_p \frac{du_r^{i,0}}{dt} = \frac{E_i(1-\nu)}{(1+\nu)(1-2\nu)} \left[\partial_r^2 u_r^{i,0} + 2 \frac{\partial_r u_r^{i,0}}{r} - 2 \frac{u_r^{i,0}}{r^2} \right] \quad (\text{V.95})$$

et pour les modes $n \geq 1$

$$\partial_r P_f^n = \lambda_p \left(\frac{du_r^{i,n}}{dt} - v_r^n \right) \quad (\text{V.96})$$

$$= \frac{E_i}{2r^2(1+\nu)(1-2\nu)} [2(1-\nu)r^2 \partial_r^2 u_r^{i,n} + 4(1-\nu)r \partial_r u_r^{i,n} u_r^{i,n} - [4(1-\sigma) + n(n+1)(1-2\sigma)] + r \partial_r u_\theta^{i,n} + (4\nu-3)u_\theta^{i,n}] \quad (\text{V.97})$$

$$-\frac{n(n+1)}{r} P_f^n = \lambda_p \left(\frac{du_\theta^n}{dt} - v_\theta^n \right) \quad (\text{V.98})$$

$$= \frac{-E_i}{2r^2(1+\nu)(1-2\nu)} [n(n+1)r \partial_r u_r^{i,n} + 4n(n+1)(1-\nu)u_r^{i,n} + (2\nu-1)r^2 \partial_r^2 u_\theta^{i,n} + 2(2\nu-1)r \partial_r u_\theta^{i,n} + 2n(n+1)(1-\nu)u_\theta^{i,n}] \quad (\text{V.99})$$

On reconnaît dans le membre de droite des équations V.97 et V.99 les équations d'équilibre des forces élastiques dans le cytosquelette interne V.64 et V.65. Remarquons qu'il n'y a pas de composante isotrope (mode $n=0$) pour la vitesse du fluide car nous considérons que le cytosol est incompressible.

A ce stade nous nous appuyons sur une nouvelle approximation. Nous avons vu dans la partie précédente que la déformation du cytosquelette interne est faible devant le volume occupé par le cytosol dans le bleb si l'angle d'ouverture θ_c est suffisamment petit. Expérimentalement cette limite semble correcte puisque le bleb apparaît "transparent", c'est-à-dire essentiellement rempli de cytosol (voir fig.V.4). La vitesse relative entre le fluide et le réseau élastique $v_\alpha - \frac{du_\alpha^i}{dt}$ doit donc être dominée par la vitesse du fluide v_α . Nous supposons donc que $\frac{du_\alpha^i}{dt} \ll v_\alpha$ dans les éqs. V.96 et V.98 et nous vérifierons que ceci est justifié a posteriori. Par ailleurs les deux derniers membres de l'éq. V.95 donnent l'évolution temporelle du mode $n=0$ de u_r et font apparaître un temps de relaxation $\sim \frac{R^2 \lambda_p (1-2\nu)}{E_i}$. Nous supposons que ce temps est court devant le temps de formation du bleb, ce que nous vérifierons également a posteriori. Dans ce cas le terme de droite de l'éq V.95 doit être nul, ce qui impose $u_r^{i,0} = A_0 r$ où A_0 est une constante. Avec ces approximations les éqs. V.96 et V.98 donnent pour la pression du fluide

$$\partial_r P_f^n = -\lambda_p v_r^n \quad (\text{V.100})$$

$$n(n+1)P_f^n = r \lambda_p v_\theta^n \quad (\text{V.101})$$

La condition d'incompressibilité du fluide relie v_r et v_θ et donne en termes de composantes harmoniques $v_\theta^n = -(r \partial_r v_r^n + 2v_r^n)$. En utilisant cette dernière équation et en éliminant v_r entre les éqs. V.100 et V.101 on voit que P_f^n satisfait l'équation

$$[r^2 \partial_r^2 + 2r \partial_r - n(n+1)] P_f^n = 0 \quad (\text{V.102})$$

dont la solution est simplement $P_f^n = C_n \left(\frac{r}{R}\right)^n$. On a donc

$$P_f = \sum_n C_n \left(\frac{r}{R}\right)^n P_n(\cos \theta) \quad (\text{V.103})$$

qui est en fait la solution de l'équation de Laplace en coordonnées sphériques. Ceci n'est pas surprenant un fluide incompressible s'écoulant dans un milieu poreux et solide satisfait $\partial_i v_i = 0$ et la loi de Darcy $\partial_i P_f = \lambda v_i$ et donc vérifie $\Delta P_f = 0$. Comme nous avons ici négligé le champ de vitesse associé à la déformation élastique nous revenons à ce résultat classique [56]. De l'équation V.103 on déduit donc le champ de vitesse

$$v_r = -\frac{1}{R\lambda_p} \sum_n n C_n \left(\frac{r}{R}\right)^{n-1} P_n(\cos \theta) \quad (\text{V.104})$$

$$v_\theta = \frac{1}{R\lambda_p} \sum_n n(n+1) C_n \left(\frac{r}{R}\right)^{n-1} P_n(\cos \theta) \quad (\text{V.105})$$

Pour obtenir les constantes C_n nous devons préciser les conditions aux limites (fig.

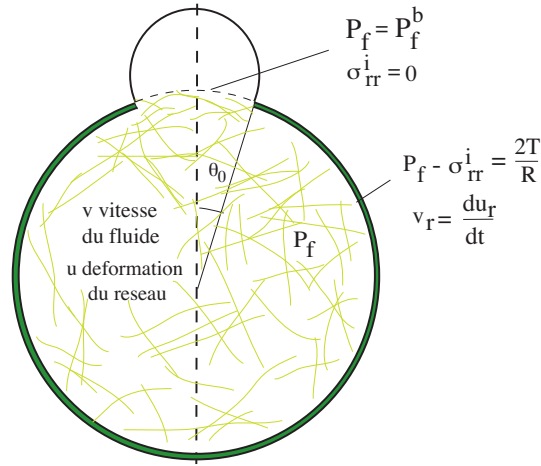


FIG. V.20: Conditions aux limites appliquées pour le calcul de la dynamique de formation du bleb, limité par la perméation du cytosol.

V.20). A la frontière entre le cortex et la membrane, pour $\theta > \theta_c$ on a

$$\theta > \theta_c \quad P_f(R) = \frac{2T}{R} + \sigma_{rr}^i(R) \quad (\text{V.106})$$

$$\theta > \theta_c \quad v_r = \frac{du_r}{dt} \quad (\text{V.107})$$

La première équation a été précisée au début de cette section et correspond à l'équilibre à la membrane des forces radiales. Ici nous négligeons l'élasticité de la couche corticale, donc la pression imposée par le cortex est simplement $\frac{2T}{R}$, où T est la tension du cortex. A la fin de notre calcul nous remplacerons T par $\frac{\zeta \Delta \mu c}{2}$, la tension active exercée par les myosines. La deuxième équation traduit la continuité des vitesses à la membrane. Par ailleurs à l'interface avec le bleb il n'y a pas de cortex donc

$$\theta < \theta_c \quad \sigma_{rr}^i(R) = 0 \quad (\text{V.108})$$

$$\theta < \theta_c \quad P_f(R) = P_f^b \quad (\text{V.109})$$

où P_f^b , la pression du fluide dans le bleb, est supposée uniforme. On a enfin en général, comme nous avons supposé l'absence de couplage latéral entre le cortex et le cytosquelette interne,

$$\text{pour tout } \theta \quad \sigma_{r\theta}^i(R, \theta) = 0 \quad (\text{V.110})$$

Pour exploiter les conditions aux limites pour le fluide V.106 et V.109 nous écrivons en utilisant les propriétés d'orthogonalité des polynômes de Legendre

$$\begin{aligned} \frac{2}{2n+1} C_n &= \int_0^\pi P_f P_n(\cos \theta) \sin \theta d\theta \\ &= \int_0^{\theta_c} P_f^b P_n(\cos \theta) \sin \theta d\theta + \int_{\theta_c}^\pi \left(\frac{2T}{R} + \sigma_{rr}^i(R) \right) P_n(\cos \theta) \sin \theta d\theta \\ &= P_f^b \int_0^{\theta_c} P_n(\cos \theta) \sin \theta d\theta + \frac{2T}{R} \left(2\delta_{0n} - \int_0^{\theta_c} P_n(\cos \theta) \sin \theta d\theta \right) - \int_0^\pi \sigma_{rr}^i(R) P_n(\cos \theta) \sin \theta d\theta \end{aligned}$$

ou à la troisième ligne on a exploité la condition au limite V.108 qui conduit à $\forall n \int_0^{\theta_c} \sigma_{rr}^i(R) P_n(\cos \theta) \sin \theta d\theta = 0$. De cette équation on tire donc les coefficients C_n

$$C_n = \frac{2T}{R} \delta_{0n} + \left(P_f^b - \frac{2T}{R} \right) H_n(\theta_c) + \sigma_{rr}^{i,n} \quad (\text{V.111})$$

où les coefficients $H_n(\theta_c)$ sont reliés aux intégrales des polynômes de Legendre et ont été définis dans la partie précédente (eq. V.81).

Nous devons maintenant obtenir la contrainte élastique $\sigma_{rr}^i(R)$. Pour cela nous revenons aux équations d'équilibre des forces V.97 et V.99 qui relient la pression du fluide aux contraintes élastiques. En utilisant la décomposition de P_f V.103 on obtient

$$\begin{aligned} \frac{E_i}{2R(1+\nu)(1-2\nu)} [2(1-\nu)r^2 \partial_r^2 u_r^{i,n} + 4(1-\nu)r \partial_r u_r^{i,n} - [4(1-\sigma) + n(n+1)(1-2\sigma)] u_r^{i,n} \\ + r \partial_r u_\theta^{i,n} + (4\nu-3)u_\theta^{i,n}] = n C_n \left(\frac{r}{R} \right)^{n+1} \quad (\text{V.112}) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \frac{-E_i}{2R(1+\nu)(1-2\nu)} [n(n+1)r \partial_r u_r^{i,n} + 4n(n+1)(1-\nu)u_r^{i,n} + (2\nu-1)r^2 \partial_r^2 u_\theta^{i,n} + 2(2\nu-1)r \partial_r u_\theta^{i,n} \\ + 2n(n+1)(1-\nu)u_\theta^{i,n}] = -n(n+1)C_n \left(\frac{r}{R} \right)^{n+1} \quad (\text{V.113}) \end{aligned}$$

Ces deux équations se ramènent dans la limite $C_n = 0$ aux éqs. V.64 et V.64 dont nous avons écrit les solutions dans le cas statique. Avec C_n non nul on leur adjoint un second membre, on obtient donc la solution complète en ajoutant une solution particulière, ce qui s'écrit

$$u_r^{i,n} = A_n r^{n+1} + B_n r^{n-1} - \frac{2(1+\nu)(1-2\nu)R}{(n+5-4\nu)E_i} n C_n \left(\frac{r}{R} \right)^{n+1} \quad (\text{V.114})$$

$$u_\theta^{i,n} = -\frac{n(n+5-4\nu)}{n+4\nu-2} A_n r^{n+1} - (n+1)B_n r^{n-1} \quad (\text{V.115})$$

où nous avons supprimé les solutions incluant des divergences en $r \rightarrow 0$. On en

déduit alors l'expression des contraintes en $r = R$

$$\sigma_{rr}^{i,n}(R) = \frac{E_i}{R(1+\nu)} \left[A_n \frac{n^2 - n - 2\nu - 2}{n + 4\nu - 2} + B_n(n-1) \right] - 2 \frac{(1-\nu)n + (1+\nu)}{n + 5 - 4\nu} C_n \quad (\text{V.116})$$

$$\sigma_{r\theta}^{i,n}(R) = \frac{E_i}{R(1+\nu)} \left[-A_n \frac{n(n^2 + 2n + 2\nu - 1)}{n + 4\nu - 2} - B_n(n^2 - 1) \right] + \frac{(1-2\nu)n}{n + 5 - 4\nu} C_n \quad (\text{V.117})$$

En utilisant la condition au limite sur $\sigma_{r\theta}$ V.110 on peut calculer B_n , puis en éliminant A_n entre $\sigma_{rr}^{i,n}$ et $u_r^{i,n}$ on obtient

$$\sigma_{rr}^{i,n} = f(n) \frac{E_i}{1+\nu} \frac{u_r^n}{R} - g(n) C_n \quad (\text{V.118})$$

où pour simplifier l'écriture nous avons défini les deux fonctions

$$f(n) = \frac{(n-1)(n^2 + (2\nu+1)n + \nu + 1)}{2(1-\nu)n^2 + \nu n + 2\nu - 1} \quad (\text{V.119})$$

$$g(n) = \frac{n(n+\nu)}{2(1-\nu)n^2 + \nu n + 2\nu - 1} \quad (\text{V.120})$$

En éliminant $\sigma_{rr}^{i,n}$ entre l'éq. V.118 et l'équation pour les coefficients C_n V.111 on obtient alors

$$(1 + g(n))C_n = \left(P_f^b - \frac{2T}{R} \right) H_n(\theta_c) + f(n) \frac{E_i}{1+\nu} \frac{u_r^n}{R} + \frac{2T}{R} \delta_{0n} \quad (\text{V.121})$$

Par ailleurs du fait de la continuité des vitesses à la frontière entre le cortex et la membrane (eq. V.107) on a (toutes les quantités sont prises sur la surface)

$$\begin{aligned} v_r^n &= \int_0^\pi v_r P_n(\cos \theta) \sin \theta d\theta \\ &= \int_0^{\theta_c} v_r P_n(\cos \theta) \sin \theta d\theta + \int_{\theta_c}^\pi \frac{du_r}{dt} P_n(\cos \theta) \sin \theta d\theta \\ &= \int_0^{\theta_c} \left(v_r - \frac{du_r}{dt} \right) P_n(\cos \theta) \sin \theta d\theta + \frac{du_r^n}{dt} \end{aligned} \quad (\text{V.122})$$

Nous supposons que θ_c est suffisamment petit pour qu'on puisse écrire $P_n(\cos \theta) \simeq 1$ dans l'intégrale ci-dessus. On peut donc écrire

$$\forall n > 0 \quad v_r^n \simeq \int_0^{\theta_c} \left(v_r - \frac{du_r}{dt} \right) \sin \theta d\theta + \frac{du_r^n}{dt} \quad (\text{V.123})$$

$$\simeq \frac{-du_r^0}{dt} + \frac{du_r^n}{dt} \quad (\text{V.124})$$

$$\simeq \frac{-du_r^0}{dt} \quad (\text{V.125})$$

Pour remplacer l'intégrale de la première à la deuxième ligne nous avons utilisé l'éq. V.122 pour $n = 0$. La troisième ligne est la conséquence de l'approximation annoncée

au début de ce calcul $\frac{du_r^n}{dt} \ll v_r^n$. En utilisant les éqs. V.104 et V.121 on déduit donc de l'équation précédente

$$\forall n > 0 \quad R\lambda_p \frac{(1+g(n))}{n} \frac{du_r^0}{dt} = \left(P_f^b - \frac{2T}{R} \right) H_n(\theta_c) + f(n) \frac{E_i}{1+\nu} \frac{u_r^n}{R} \quad (\text{V.126})$$

Afin d'éliminer les $u_r^{i,n}$ de cette équation on peut utiliser $\int_0^{\theta_c} \sigma_{rr}^i \sin \theta d\theta = 0$, soit en utilisant l'éq. V.118 puis V.121 :

$$\frac{E_i}{1-2\nu} \frac{u_r^{i,0}}{R} \frac{1-\cos \theta_c}{2} + \frac{E_i}{1+\nu} \sum_{n>0} \frac{f(n)}{1+g(n)} \frac{u_r^{i,n}}{R} \frac{2H_n}{2n+1} + \left(\frac{2T}{R} - P_f^b \right) \sum_{n>0} \frac{g(n)}{1+g(n)} \frac{2H_n}{2n+1} = 0$$

et donc en remplaçant les u_r^n par la valeur obtenue dans l'éq. V.126 on obtient simplement

$$\sum_{n>0} \frac{H_n}{n} \frac{du_r^0}{dt} = -\frac{1-\cos \theta_c}{2R\lambda_p} \left[\frac{E_i}{1-2\nu} \frac{u_r^0}{R} + \frac{2T}{R} - P_f^b \right] \quad (\text{V.127})$$

où l'on a utilisé $\sum_n \frac{2}{2n+1} H_n^2 = \frac{1-\cos \theta_c}{2}$. On peut montrer en utilisant la formule B.9 de l'appendice B que $\sum_{n>0} \frac{H_n}{n} \simeq \frac{1}{2} \ln \frac{1}{\theta_c} \theta_c^2$ quand $\theta_c \rightarrow 0$. Par ailleurs la valeur de $u_r^{i,0}$ est directement reliée au volume du bleb puisque la variation du volume de la cellule est fixée par $\Delta V_c = 4\pi R^2 u_r^0$ et donc $\frac{V_b}{V_c} = -3 \frac{u_r^0}{R}$. L'équation précédente se réécrit donc

$$\frac{d}{dt} \frac{V_b}{V_c} = -\frac{1}{R^2 \lambda_p \ln \frac{1}{\theta_c}} \left[\frac{E_i}{1-2\nu} \frac{V_b}{V_c} - 3 \left(\frac{2T}{R} - P_f^b \right) \right] \quad (\text{V.128})$$

Cette équation décrit la relaxation exponentielle du volume du bleb

$$\frac{V_b}{V_c}(t) = \frac{V_b^{eq}}{V_c} (1 - e^{-\frac{t}{\tau_b}}) \quad (\text{V.129})$$

à son volume d'équilibre

$$\frac{V_b^{eq}}{V_c} = 3 \frac{1-2\nu}{E_i} \left[\frac{2T}{R} - P_f^b \right] \quad (\text{V.130})$$

en un temps caractéristique

$$\tau_b = R^2 \lambda_p \frac{1-2\nu}{E_i} \ln \frac{1}{\theta_c} \quad (\text{V.131})$$

On voit que le temps de croissance τ_b est effectivement grand devant le temps $R^2 \lambda_p \frac{1-2\nu}{E_i}$, ainsi que nous l'avions supposé au départ. Il faut remarquer cependant que le rapport des deux temps est d'ordre $\ln \frac{1}{\theta_c}$, et que cette fonction croît très lentement vers l'infini avec $\theta_c \rightarrow 0$: notre approximation n'est donc valable strictement que pour de très petites tailles de trou. Enfin on peut vérifier a posteriori notre hypothèse de départ $v_r^n \gg \frac{du_r^n}{dt}$: $|v_r^n| \sim \left| \frac{n C_n}{R \lambda_p} \right| < n \frac{E_i}{1+\nu} \frac{u_r^n}{R^2}$ en utilisant les éqs. V.104 et V.121, et $\frac{du_r^n}{dt} \sim \frac{1}{\tau_b} u_r^n \sim \frac{E_i u_r^n}{R^2 \lambda_p (1-2\nu) \ln \frac{1}{\theta_c}}$ donc on voit qu'on peut négliger le second par rapport au premier quand

$$n \ln \frac{1}{\theta_c} \gg \frac{1+\nu}{1-2\nu} \quad (\text{V.132})$$

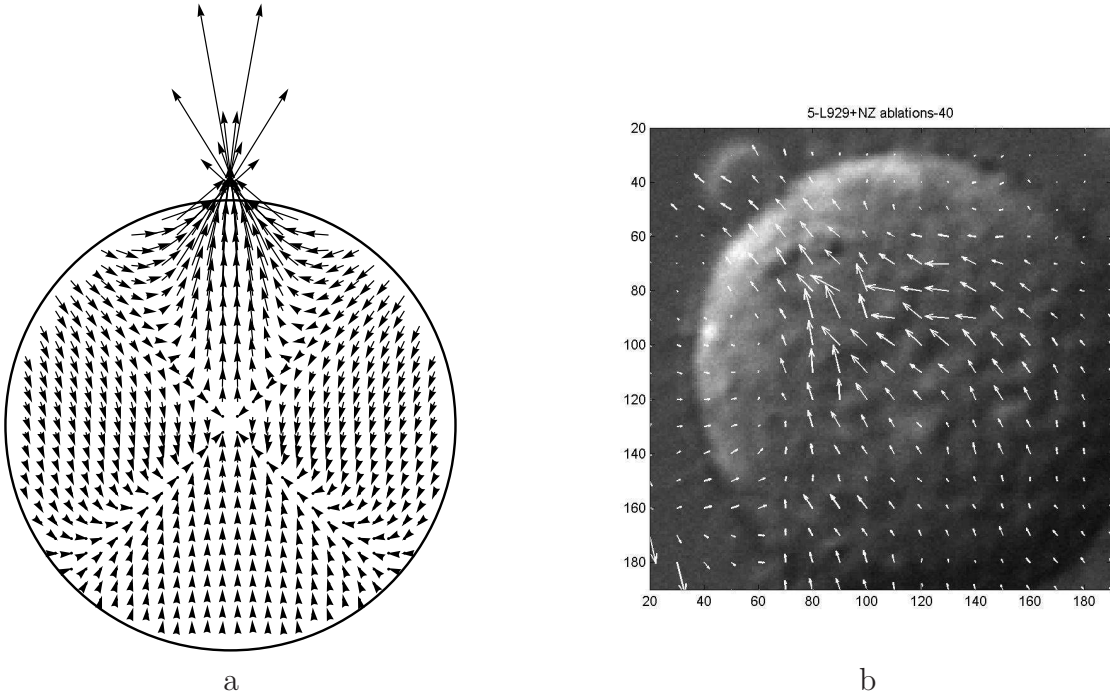


FIG. V.21: Allure du champ de vitesse du cytosol dans la cellule, (a) obtenu avec le modèle de perméation, (b) obtenu à partir des films expérimentaux de croissance du bleb, analysé à l'aide d'un programme de PIV.

Ceci est donc justifié dans la limite $\theta_c \rightarrow 0$, et est d'autant plus valable que le mode n est grand.

Estimons grossièrement le temps τ_b : pour $\frac{E_i}{1-2\nu} \simeq 10^3$, ξ^i la maille du cytosquelette interne de l'ordre de $10nm$, $R = 8\mu m$, $\eta_{cyt} = 5.10^{-3} Pa.s$ et $\theta_c = 0.1$ on trouve $\tau_b = 8s$ qui est de l'ordre de grandeur de formation d'un bleb. Si ce mécanisme de dissipation est dominant, quelques observations qualitatives simples doivent en découler :

- Le temps de formation d'un bleb est indépendant de la tension du cortex
- Il est fortement dépendant de la maille du réseau interne de la cellule (comme $\frac{1}{\xi^{i^2}}$)

Par ailleurs si on néglige la pression dans le bleb P_f^b dans l'éq. V.128, ce qui est valable pour des tensions de membrane suffisamment faibles pour que $\frac{T}{R} \ll \frac{\gamma}{R_b}$, on obtient une forme simplifiée pour la vitesse initiale d'expansion du bleb

$$\frac{dV_b}{dV_c}(t=0) = \frac{1}{\tau_b} \frac{V_b^{eq}}{V_c} \quad (V.133)$$

$$= \frac{3\zeta\Delta\mu e}{R^3\lambda_p} \frac{1}{\ln \frac{1}{\theta_c}} \quad (V.134)$$

L'équation V.134 est remarquable puisqu'elle correspond à l'observation expérimentale de C. Cunningham [28], montrant que le volume à l'équilibre de blebs formés

spontanément par des cellules déficientes en filamine dépend linéairement de leur vitesse initiale de croissance. Dans notre modèle le facteur de proportionnalité est simplement $\frac{1}{\tau_b}$, les données de la réf. [28] donnant $\tau_b \sim 4s$. L'auteur propose cependant que la repolymérisation du cortex joue un rôle dans l'établissement du volume final : nous revenons sur cette hypothèse dans la partie D. L'éq. V.134 montre que la vitesse initiale doit être proportionnelle à la tension. Enfin on peut obtenir à partir des équations V.104, V.105 et V.125 le champ de vitesse du cytosol dans la cellule. Dans notre approximation $\theta_c \rightarrow 0$ on a simplement

$$v_r(r, \theta) = -\frac{R}{\tau_b} \frac{V_b^{eq}}{V_c} e^{-\frac{t}{\tau_b}} \sum_{n>0} \left(\frac{r}{R}\right)^{n-1} P_n(\cos \theta) \quad (V.135)$$

$$v_\theta(r, \theta) = \frac{R}{\tau_b} \frac{V_b^{eq}}{V_c} e^{-\frac{t}{\tau_b}} \sum_{n>0} (n+1) \left(\frac{r}{R}\right)^{n-1} P_n(\cos \theta) \quad (V.136)$$

Ce flux relaxe donc uniformément et exponentiellement vers 0, avec un temps caractéristique τ_b . Sur la figure V.21a nous traçons l'allure correspondante du champ de vitesse. Pour comparer ce résultat aux observations expérimentales nous analysons les séquences d'image tirées des films enregistrés à l'aide d'une PIV. La PIV (pour particle image velocimetry) consiste à comparer les images enregistrées à des temps successifs pour obtenir le champ de déplacement, et donc le champ de vitesse en divisant par l'intervalle de temps. Sur la figure V.21b nous reproduisons un exemple du résultat obtenu. On voit que le champ de vitesse mesuré est en accord qualitatif correct avec le champ théorique : nous prévoyons, en collaboration avec le groupe d'E. Paluch, de vérifier plus exactement la correspondance entre notre modèle et les observations en mesurant plus précisément le champ de vitesse du cytosol.

C.2 Friction de la membrane

Il est clair qu'au cours de la formation du bleb la surface externe totale de la cellule et du bleb augmente. Il est donc nécessaire qu'un flux de membrane lipidique ait lieu, qui doit s'accompagner d'une dissipation que nous essayons de calculer ci-dessous.

C.2.1 Perméation de la bicouche lipidique

Nous supposons d'abord que la membrane doit s'écouler à travers un réseau de protéines transmembranaires qui sont connectées au cytosquelette et ne peuvent donc pas s'écouler avec les lipides. Ce phénomène est similaire à ce que nous avons décrit dans la partie C.1 : le flux est limité par le travail de perméation des lipides à travers le réseau de protéines attachées au cytosquelette. Nous appelons le coefficient de friction correspondant α , de sorte que la force $\alpha \vec{w}$ s'oppose au mouvement des lipides, où $\vec{w}$ est la vitesse de la membrane). Selon [17],

$$\alpha = \frac{4\pi}{\ln(\frac{\xi}{b})} \frac{\eta_m}{\xi^2} \quad (V.137)$$

où b est le rayon d'une protéine de liaison au cytosquelette, ξ est la distance moyenne entre elles (probablement de l'ordre de la maille du gel) et η_m est la viscosité de la

bicouche lipidique. Pour $\eta_m = 10^{-8}$ Pa.s.m, $\xi = 50$ nm, $b = 1$ nm on trouve $\alpha \simeq 10^7$ Pa.s.m $^{-1}$.

Dans la géométrie axisymétrique que nous avons choisi la seule composante non nulle de la vitesse de la membrane est w_θ , et le tenseur des tensions dans le plan de la membrane se limite à $\gamma_{\theta\theta}$ et $\gamma_{\phi\phi}$. Si nous négligeons la dissipation fluide interne à la bicouche nous avons simplement $\gamma_{\theta\theta} = \gamma_{\phi\phi} = \gamma$ et l'équilibre des forces s'écrit

$$\partial_\theta \gamma = \alpha R w_\theta \quad (\text{V.138})$$

A cause de la condition d'incompressibilité nous avons également

$$\partial_\theta w_\theta + \cot \theta w_\theta = 0 \quad (\text{V.139})$$

En résolvant ces deux équations on obtient

$$w_\theta = -\frac{J}{2\pi R \sin \theta} \quad (\text{V.140})$$

$$\gamma = -\alpha \frac{J}{2\pi} \ln\left(\tan \frac{\theta}{2}\right) + Cte \quad (\text{V.141})$$

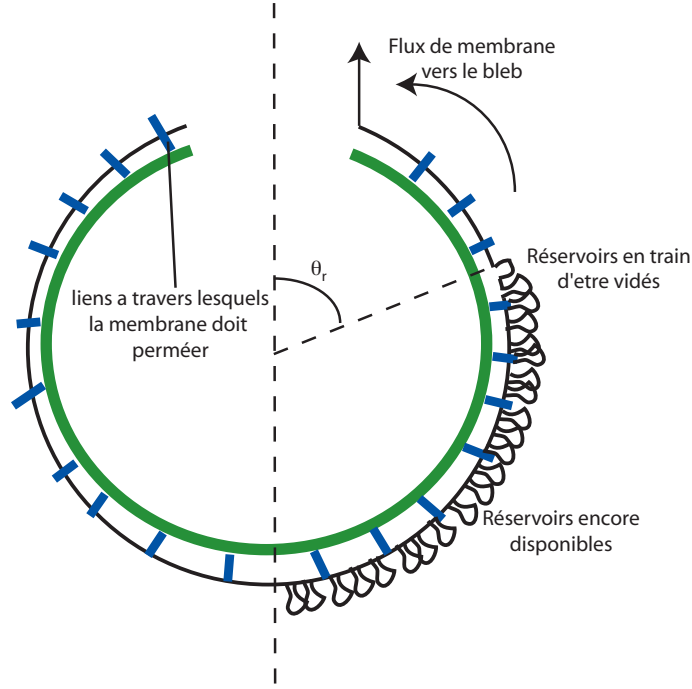
ou J est le courant de lipides, aussi égal à la vitesse d'acroissement de la surface du bleb $\frac{dS_b}{dt}$.

C.2.2 Réservoirs de lipides

Nous supposons que la cellule possède des réservoirs capables d'ajouter des lipides à la membrane sur une courte échelle de temps. Des expériences d'extraction de tubes ont montré que le réservoir total de membrane disponible immédiatement est de l'ordre de 1% de la surface totale de la cellule [122]. Cette taille totale semble être suffisante pour former un bleb, puisque le rapport entre la surface du bleb et la surface de la cellule est d'ordre $\frac{a^2}{R^2} \sim 0.01$. Nous considérons que les réservoirs sont distribués uniformément sur la surface de la cellule, et qu'ils restituent les lipides stockés lorsque la membrane est soumise à une tension dépassant la tension de membrane γ . Nous ne faisons pas d'hypothèse sur la nature moléculaire des réservoirs : tout processus cellulaire ajoutant des lipides à la membrane en réponse à l'augmentation de sa tension et sur une courte échelle de temps peut être considéré comme un réservoir. Nous introduisons également une autre variable, la fraction de membrane stockée dans les réservoirs $\tilde{a}$: nous supposons que pour une surface de membrane dS il y a une surface $\tilde{a}dS$ en réserve.

Pendant la formation du bleb, nous décomposons la surface de la membrane en plusieurs régions (fig. V.22) :

- Dans le bleb il n'y a pas de cortex donc il n'y a pas de travail de perméation associé. La tension de la membrane doit donc être uniforme, égale à γ_b .
- Dans la cellule, de l'angle $\theta = \theta_c$ délimitant le bord du bleb jusqu'à un angle θ_r , tous les réservoirs ont été vidés. Les lipides s'écoulent donc à travers le réseau de protéines attachées au cytosquelette et la tension décroît de γ_b à γ_r .
- Après l'angle θ_r les réservoirs ne sont pas encore vidés et la membrane est maintenue à la tension γ_c .

FIG. V.22: Dessin explicitant la définition de l'angle θ_r

La surface totale de membrane disponible doit être conservée : toute la surface de membrane arrivant en excès dans le bleb doit donc provenir des réservoirs qui ont été vidés :

$$S_b = 2\pi R^2(1 - \cos(\theta_c)) + \tilde{a}2\pi R^2(1 - \cos \theta_r) \quad (\text{V.142})$$

où le premier terme est la surface initiale de membrane détachée, et le second est la surface disponible dans les réservoirs jusqu'à l'angle θ_r .

C.2.3 Une équation décrivant la friction de la membrane

Nous pouvons maintenant relier la tension de la membrane bleb à γ . En appliquant les conditions aux limites $\gamma(\theta_c) = \gamma_b$ et $\gamma(\theta_r) = \gamma$ nous obtenons

$$\gamma_b = \gamma_r - \frac{\alpha J}{2\pi} \ln \left(\frac{\tan(\frac{\theta_c}{2})}{\tan(\frac{\theta_r}{2})} \right) \quad (\text{V.143})$$

$$\cos(\theta_r) = 1 - \frac{S_b}{2\pi R^2 \tilde{a}} + \frac{1}{\tilde{a}}(1 - \cos \theta_c) \quad (\text{V.144})$$

Dans la limite où la surface de membrane nécessaire pour former le bleb est petite devant la surface totale disponible dans les réservoirs ($S_b \ll 4\pi R^2 \tilde{a}$) et dans la limite $\theta_c \ll 1$ nous obtenons à partir des deux équations précédentes

$$\frac{dS_b}{dt} = \frac{4\pi}{\alpha} \frac{1}{\ln \left(\frac{1}{\tilde{a}} \left(\frac{S_b}{\pi a^2} - 1 \right) \right)} (\gamma_b - \gamma) \quad (\text{V.145})$$

qui est l'équation dynamique pour l'évolution de la surface du bleb. Cette équation est valide pour $S_b > (1 + \tilde{a})\pi a^2$, de façon à ce que le terme dans le logarithme soit

positif, c'est-à-dire après que tous les réservoirs contenus initialement dans la région de la membrane surmontant le trou aient été vidés.

C.2.4 Comparaison entre les sources de dissipation

Afin de comparer les deux sources de dissipation que nous avons identifiées nous pouvons combiner les équations V.128 et V.145 en éliminant entre elles la tension de la membrane du bleb γ_b , ainsi que la pression dans le bleb P_b , qui sont reliés par la loi de Laplace $P_b = \frac{2\gamma_b}{R_b}$. Nous négligeons la variation de la largeur du trou a et le paramètre le plus simple pour décrire l'évolution du bleb est alors h , la hauteur du bleb. On obtient alors

$$\left[2\alpha \ln \left(\frac{h}{a\sqrt{\tilde{a} + \frac{a^2}{4R^2}}} \right) \frac{h^2}{a^2 + h^2} + \lambda_p \ln \frac{1}{\theta_c} \frac{a^2 + h^2}{8R} \right] \frac{dh}{dt} = R_b \frac{2T}{R} - 2 \frac{\gamma}{R_b} - \frac{1}{3} \frac{E_i}{1 - 2\nu} \frac{V_b}{V_c} \quad (\text{V.146})$$

où $a\sqrt{\tilde{a} + \frac{a^2}{4R^2}}$ correspond à la hauteur atteinte quand toute la membrane au dessus du trou a été dépliée. Il y a donc un régime pour $h < a\sqrt{\tilde{a} + \frac{a^2}{4R^2}}$ qui correspond au dépliage de la membrane dans le trou que nous ne décrivons pas ici, et on ne considère que le régime $h > a\sqrt{\tilde{a} + \frac{a^2}{4R^2}}$ pour lequel un flux de membrane accompagne la croissance du bleb. Par ailleurs, à l'équilibre le terme de gauche s'annule et on reconnaît dans le terme de droite l'équation d'équilibre V.61. Les deux termes entre crochets correspondent respectivement à la friction de la membrane et à la friction du cytosol s'écoulant dans la cellule. En les comparant on voit que la dissipation due à la perméation du cytosol dans la cellule domine si

$$R_b \gg \sqrt{\ln \left(\frac{h}{a\sqrt{\tilde{a} + \frac{a^2}{4R^2}}} \right) \frac{1}{\theta_c \ln \frac{1}{\theta_c}} \frac{4\alpha R}{\lambda_p}} \quad (\text{V.147})$$

Cette équation définit donc un rayon de cross-over entre deux régimes. Grossièrement le terme dans le ln est d'ordre 1 dans le régime étudié ici. Le terme en $\sqrt{\frac{1}{\theta_c \ln \frac{1}{\theta_c}}}$ tend vers l'infini quand $\theta_c \rightarrow 0$ mais est d'ordre 1 pour des valeurs raisonnables de θ_c . Il ne reste donc que la longueur caractéristique

$$R_b^c \sim \sqrt{\frac{\alpha R}{\lambda_p}} \sim \frac{\xi_i}{\xi_c} \sqrt{\frac{\eta_m R}{\eta_{cyt}}} \quad (\text{V.148})$$

La longueur $\sqrt{\frac{\eta_m R}{\eta_{cyt}}}$ ne fait intervenir que des quantités bien connues et est d'environ $6\mu\text{m}$ avec les valeurs numériques de l'appendice A. Tout dépend donc du rapport $\frac{\xi_i}{\xi_c}$ qu'il est difficile d'évaluer : on rappelle que ξ_c est la maille du cortex et ξ_i la maille des filaments du cytosquelette interne, on s'attendrait donc à ce que $\xi_c < \xi_i$ puisque le cortex apparaît comme un réseau plus dense que celui de l'intérieur de la cellule. Les auteurs de la réf. [21] font cependant remarquer que la cellule est remplie d'objets associés au réseau interne qui diminuent la maille effective du réseau à travers lequel

le cytosol doit perméer. Si on choisit par exemple $\xi_i = 10nm$ et $\xi_c = 100nm$, la longueur de cross-over est d'environ $600nm$ et il est clair que la croissance du bleb est entièrement dominée par la dissipation du cytosol. Si par contre on choisit $\xi_i = 200nm$ et $\xi_c = 100nm$ on trouve $R_b^c = 12\mu m$ et la croissance du bleb doit être limitée par la dissipation due à la friction de la membrane, puisque $R_b < R \simeq 10\mu m$ et donc $R_b < R_b^c$ pendant toute la croissance du bleb.

Dans ce qui suit nous examinons l'allure de la croissance du bleb dans le cas où la friction de la membrane domine entièrement la dissipation.

C.2.5 Croissance du bleb limitée par la friction de la membrane

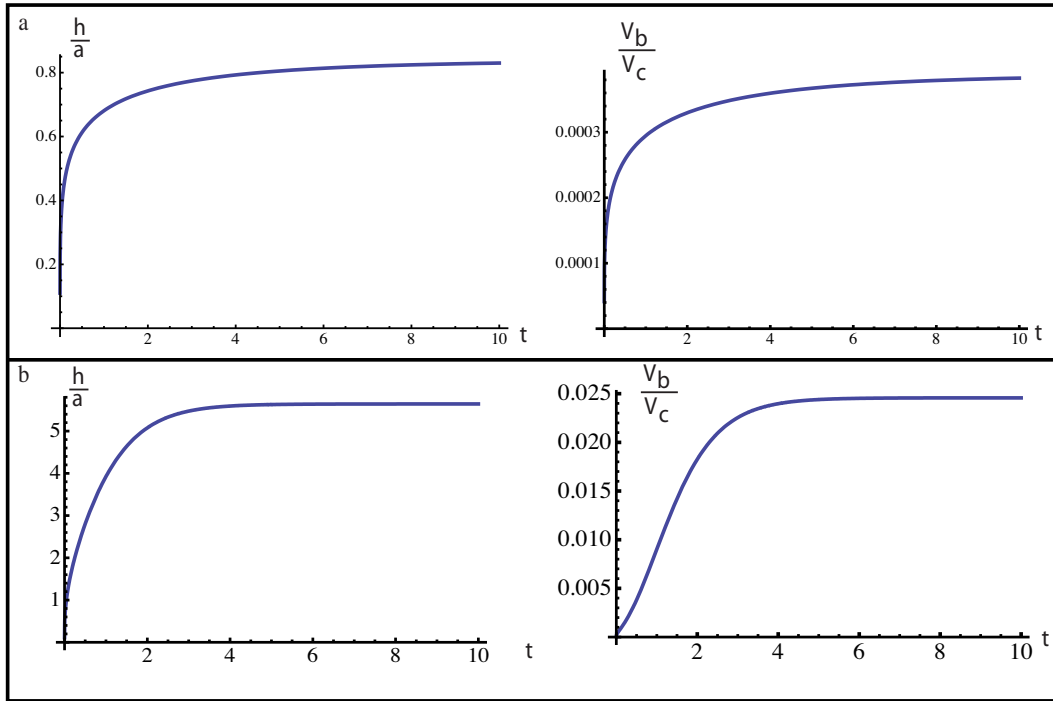


FIG. V.23: Dynamique du bleb décrit par l'éq. V.150. Les parties (a) et (b) sont qualitativement différentes : la partie (a) est représentative de la croissance d'un bleb plus petit qu'une hémisphère ($h_{eq} < a$), et la partie (b) d'un bleb plus grand ($h_{eq} > a$). Dans chaque cas $\frac{a}{R} = 0.1$, $e = 1\mu m$, $\alpha = 10^7 Pa.s.m^{-1}$, $\gamma = 10^{-5} Pa.m$, mais dans la partie (a) $\zeta\Delta\mu = 200Pa$, $\frac{E_i}{1-2\nu} = 2.10^2 Pa$, et dans la partie (b) $\zeta\Delta\mu = 2.10^3 Pa$, $\frac{E_i}{1-2\nu} = 10^3 Pa$.

Dans cette section nous supposons qu'on peut négliger la friction du cytosol et nous examinons le régime dominé par la friction de la membrane. Dans ce cas l'éq. V.146 devient une équation dynamique pour h

$$\alpha \ln \left(\frac{h}{a\sqrt{\tilde{a} + \frac{a^2}{4R^2}}} \right) h^2 \frac{dh}{dt} = \frac{\zeta\Delta\mu e}{2R} (a^2 + h^2) - \frac{1}{48R^4} \frac{E_i R}{1-2\nu} h(3a^2 + h^2)(a^2 + h^2) - 2\gamma h \quad (V.149)$$

Nous n'avons pas inclus l'élasticité du cortex dans cette expression mais il est facile de le faire en remplaçant le terme $\frac{E_i R}{1-2\nu}$ par l'élasticité effective $12Ee + \frac{E_i R}{1-2\nu}$, terme que nous avons déjà rencontré dans l'équation d'équilibre V.61. Nous pouvons réécrire cette équation sous une forme adimensionnelle en définissant $x = \frac{h}{a}$ et en utilisant $\frac{a}{R} \ll 1$:

$$\ln \left(\frac{x}{\sqrt{\tilde{a} + \frac{a^2}{4R^2}}} \right) x^2 \frac{dx}{dt} = \frac{\zeta \Delta \mu e}{2Ra\alpha} (1 + x^2) - \frac{E_i a^2}{48\alpha R^3 (1 - 2\nu)} x(3 + x^2)(1 + x^2) - \frac{2\gamma}{\alpha a^2} x \quad (\text{V.150})$$

La solution de cette équation est tracée sur la figure V.23 pour deux ensembles de paramètres différents qui donnent des formes différentes à la courbe de croissance (dans un cas le bleb à l'équilibre est plus petit qu'une hémisphère, dans l'autre presque une sphère). Qualitativement cela correspond à des limites différentes de l'éq. V.150 pour $x \ll 1$ ou $x \gg 1$:

$$x \ll 1 \quad x^2 \frac{dx}{dt} = \frac{\zeta \Delta \mu e}{2Ra\alpha} - \left[\frac{a^2}{16\alpha R^3} \frac{E_i R}{1 - 2\nu} + \frac{2\gamma}{\alpha a^2} \right] x \quad (\text{V.151})$$

$$x \gg 1 \quad \frac{dx}{dt} = \frac{\zeta \Delta \mu e}{2Ra\alpha} - \frac{E_i a^2}{48\alpha (1 - 2\nu) R^3} x^3 \quad (\text{V.152})$$

Encore une fois nous avons suppose que le régime de dépliement initial est franchi et que le terme logarithmique est d'ordre 1. On voit que ces deux équations décrivent des relaxations de forme différente. En particulier, loin de l'équilibre la première équation donne $x(t) \sim t^{1/3}$ alors que la seconde donne $x(t) \sim t$, ce qui correspond à la différence qualitative observée sur la fig. V.23. Si le bleb a un volume d'équilibre inférieur à l'hémisphère, seule l'éq. V.151 est pertinente, sinon on change de régime pendant la croissance.

C.2.6 Vitesse initiale

Dans tous les cas les premiers instants de la croissance sont décrits par l'équation V.151 puisqu'initialement $h \sim 0$ et donc $x \ll 1$. Comme on est loin de l'équilibre on peut aussi négliger le second terme et donc

$$x^2 \frac{dx}{dt} = \frac{\zeta \Delta \mu e}{2Ra\alpha} \quad (\text{V.153})$$

dont la solution est simplement

$$x(t) = \sqrt[3]{\frac{3\zeta \Delta \mu e}{2Ra\alpha} t} \quad (\text{V.154})$$

et donc

$$\frac{dx}{dt}(t \rightarrow 0) = \sqrt[3]{\frac{\zeta \Delta \mu e}{18Ra\alpha} \frac{1}{t^2}} \quad (\text{V.155})$$

Cette vitesse diverge quand $t \rightarrow 0$. En réalité, la cinétique de dépliement de la membrane doit limiter la vitesse en dessous du régime considéré ici. Cependant, les

mesures expérimentales se font quelques secondes apres le début de la formation du bleb, donc le régime que nous decrivons ici est probablement déjà atteint. Si t_0 est le temps “initial” d’observation du bleb, dans la limite où la friction de la membrane domine la vitesse initiale est donc plus précisément

$$\frac{dh}{dt}(t_0) = \sqrt[3]{\frac{a^2 \zeta \Delta \mu e}{18 R \alpha}} \frac{1}{t_0^{\frac{2}{3}}} \quad (\text{V.156})$$

C.3 Comparaison aux données

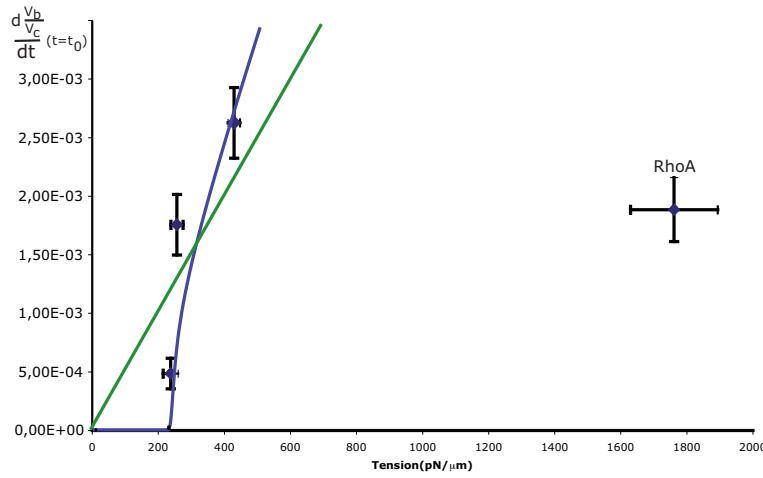


FIG. V.24: Ajustement aux données expérimentales pour la vitesse initiale de croissance du volume, la dynamique étant limitée par la perméation du cytosol. Courbe verte : fit linéaire correspondant à l’éq. V.157 ($\gamma = 0$), courbe bleue : fit de $\frac{dV_b}{dt}(t_0)$ pour $\gamma = 30 \text{ pN} \cdot \mu\text{m}^{-1}$, $a(t_0) = 1 \mu\text{m}$ et $t = t_0 \simeq 3 \text{ s}$ qui est le temps réel d’observation de la vitesse.

Nous pouvons maintenant utiliser les données expérimentales sur la vitesse initiale pour évaluer les paramètres que nous avons introduits. Comme nous l’avons vu précédemment, nous n’essayons pas d’inclure dans nos ajustements les points obtenus en transfectant la cellule avec RhoA car ce traitement perturbe probablement des paramètres que nous supposons constant : la maille du cortex ξ ou la maille du réseau interne ξ_i .

Supposons d’abord que la dissipation du cytosol contrôle la croissance. Dans ce cas l’équation V.134 donne la vitesse initiale de croissance du volume du bleb en fonction de la tension, dans la limite $\gamma \rightarrow 0$:

$$\frac{dV_b}{dt}(t = 0) = \frac{3 \zeta \Delta \mu e}{R^3 \lambda_p} \frac{1}{\ln \frac{1}{\theta_c}} \quad (\text{V.157})$$

Sur la figure V.24 nous représentons l’ajustement de cette équation aux données expérimentales (courbe verte), ainsi qu’un second ajustement tenant compte de la tension de la membrane du bleb (courbe bleue). Pour obtenir ce second ajustement

nous résolvons l'éq. V.128 et calculons la vitesse à $t = t_0 \simeq 3s$ qui est le temps réel d'observation de la vitesse initial : on ne peut pas en effet observer le bleb pendant la durée de l'émission du laser, et les premières mesures sont donc possibles avec un décalage d'environ 3s. Nous supposons également $\gamma = 30pN.\mu m^{-1}$ et $a(t_0) = 1\mu m$. Comme dans la partie B, cela implique que le bleb ne peut pas se former pour les faibles tensions telles que $T \sim < \frac{R}{a}\gamma$: dans ce cas la pression dans le bleb $\frac{\gamma}{a}$ est plus grande que la pression imposée par le cortex $\frac{T}{R}$ et le bleb ne peut pas croître. Les deux ajustements donnent en fait des valeurs du paramètre libre de l'ajustement du même ordre de grandeur : $R^3\lambda_p \ln \frac{1}{\theta_c} = 1.49Pa.s.m$ pour le fit linéaire et $0.71Pa.s.m$ pour le fit tenant compte de γ . Prenons cette seconde valeur : cela donne $\lambda_p \simeq 1.0410^{15}Pa.s.m^{-2}$ pour $R = 7\mu m$, ce qui correspond avec l'évaluation grossière $\lambda_p \sim \frac{\eta_{cyt}}{\xi_i^2}$ à une taille de maille pour le réseau interne d'environ $3nm$. Cette valeur est assez faible, et indiquerait que le réseau interne de la cellule est très resserré.

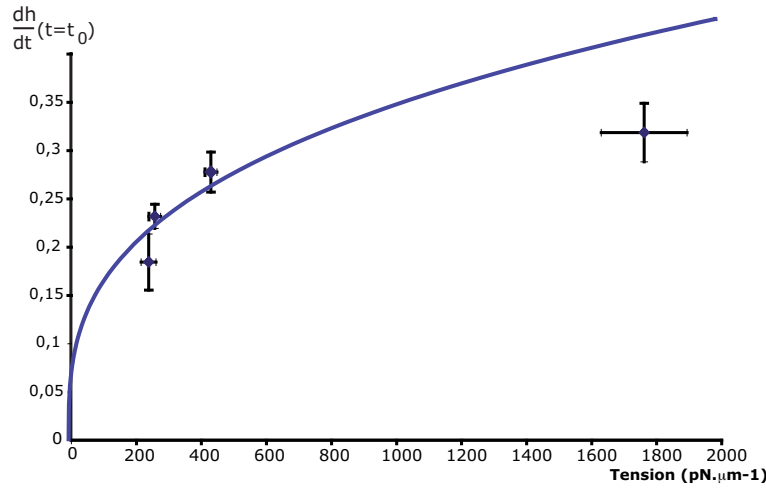


FIG. V.25: Ajustement aux données expérimentales pour la vitesse à $t = t_0 \simeq 3s$, la vitesse étant limitée par la friction de la membrane

Supposons maintenant que la dissipation de la membrane contrôle la poussée du bleb. Dans ce cas l'équation V.156 donne une estimation de la vitesse initiale :

$$\frac{dh}{dt}(t_0) = \sqrt[3]{\frac{3a^2\zeta\Delta\mu e}{4R\alpha}} \frac{1}{t_0^{\frac{2}{3}}} \quad (V.158)$$

Sur la courbe V.25 nous essayons d'ajuster la vitesse initiale de la hauteur du bleb en fonction de la tension du cortex avec l'équation V.158. On peut en déduire une valeur de α , à condition de connaître le temps initial t_0 à partir duquel la vitesse peut être mesurée. Expérimentalement ce temps est d'environ 3s : avec ce temps initial on trouve $\alpha \simeq 10^8 Pa.s.m^{-1}$. Nous avons estimé précédemment $\alpha \sim 10^7 Pa.s.m^{-1}$: cette différence peut s'expliquer si la viscosité effective de la membrane est plus élevée que la valeur que nous avons utilisée $\eta_b = 10^{-8} Pa.s.m$.

Il est donc difficile de déterminer de façon certaine quelle contribution domine. L'ajustement tenant compte de la dissipation du cytosol donne une maille de gel

assez faible ($\sim 3nm$), ce qui indique que la dissipation par le flux de membrane pourrait être dominante. D'autre part la courbe V.25 croît lentement avec la tension et donne une valeur moins éloignée du point obtenu avec RhoA que la courbe V.24.

D Repolymérisation du cortex

Dans cette section nous nous intéressons à l'effet de la repolymérisation du cortex sur l'équilibre du bleb. Suivant le modèle introduit dans le chap. II, le cortex doit repolymériser selon

$$e = \frac{v_p}{k_d}(1 - e^{-k_d t}) \quad (\text{V.159})$$

de sorte qu'il devrait être repolymérisé en un temps équivalent au temps de renouvellement normal de la couche.

L'observation en fluorescence de la cinétique de retour de l'actine et de la myosine à la membrane du bleb (fig. V.8) montre que les myosines s'accumulent dans le cortex plus lentement que l'actine. Nous pensons que leur recrutement pourrait être limité par leur temps de diffusion : en effet, contrairement à l'actine, les myosines sont très en excès dans le cortex en comparaison de la concentration cellulaire.

Nous considérons donc qu'aux échelles de temps où nous mesurons les propriétés des blebs, les myosines y exercent des forces négligeables.

D.1 Influence sur le volume du bleb

Temps de gélation

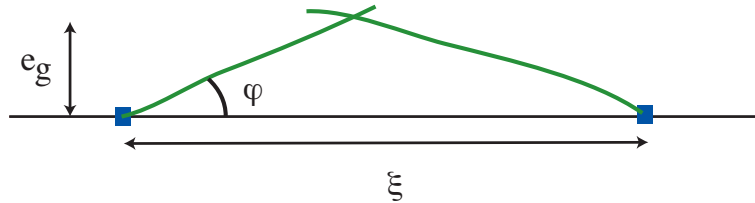


FIG. V.26: Estimation d'une borne inférieure pour le temps de gélation. e_g est l'épaisseur à partir de laquelle les filaments peuvent être connectés

Pour que le cortex ait un effet mécanique sur le volume du bleb il faut que les filaments d'actine qui le constituent soient connectés entre eux par des protéines de liaison. Si on suppose que ces protéines ont une cinétique d'attachement rapide, il existe un temps à partir duquel les filaments sont suffisamment proches les uns des autres pour qu'ils constituent un réseau connecté et que le cortex acquiert une élasticité. Nous appelons ce temps "temps de gélation" car c'est le temps minimum à partir duquel le réseau peut acquérir sa structure de gel.

Nous n'entrons pas dans les détails du calcul de ce temps mais essayons d'en évaluer très grossièrement une borne inférieure, à partir du calcul simple à deux dimensions suivant : soit deux nucléateurs d'actine, séparés d'une distance ξ , qui polymérisent des filaments avec un angle φ par rapport à la membrane. Alors en

moyenne les filaments se croisent quand leur longueur $l_a = \frac{\xi}{\cos \varphi}$ (voir fig. V.26). Si le cortex polymérise à une vitesse v_0 alors les filaments polymérisent individuellement à une vitesse $\frac{v_0}{\sin \varphi}$ et donc $l_a = \frac{v_0}{\sin \varphi} t$. Le temps typique de croisement des filaments est donc

$$\tau_g \sim \frac{\xi \sin \varphi}{v_0 \cos \varphi} \sim \tau_{to} \frac{\xi}{e} \tan \varphi \quad (\text{V.160})$$

où $\tau_{to} = \frac{v_0}{e}$ est le temps de renouvellement de la couche.

Dans ce raisonnement simple nous n'avons pas inclus l'effet de la depolymérisation. On peut cependant montrer que le résultat est le même : en effet selon le modèle présenté au début de cette partie l'épaisseur du gel augmente selon

$$e(t) = e^*(1 - e^{-k_d t}) \quad (\text{V.161})$$

où $e^* = \frac{v_0}{k_d}$ est l'épaisseur stationnaire. Or le croisement des filaments se produit à une épaisseur $e_g = \xi \tan \varphi$ (voir fig. V.26) donc le temps de gélation s'écrit

$$\tau_g = -\frac{1}{k_d} \ln \left(1 - \frac{\tan \varphi \xi}{e^*} \right) \quad (\text{V.162})$$

$$\simeq \frac{\tan \varphi \xi}{v_0} \quad (\text{V.163})$$

où la deuxième ligne est pour $\tan \varphi \frac{\xi}{e^*} \ll 1$. Cette inégalité est probablement satisfaite puisque ξ doit être de l'ordre de la maille du gel. Avec les valeurs que nous connaissons pour les différents paramètres ce temps est assez court : en effet si $\xi \simeq 100 \text{ nm}$, $e \simeq 500 \mu\text{m}$, $\tau_{to} \simeq 40 \text{ s}$ et $\varphi \simeq 20^\circ$ on trouve $\tau_g \simeq 3 \text{ s}$. Cette valeur est cependant probablement sous-estimée. Pour la calculer exactement il faudrait obtenir le temps de percolation de filaments croissants dans des directions aléatoires sur un réseau.

Volume du bleb

Lorsque le cortex a repolymérisé dans le bleb, il se déforme élastiquement. Dans la partie suivante nous calculons explicitement cette déformation. Ici nous remarquons simplement que son amplitude est assez faible : en effet supposons pour simplifier que le bleb se déforme comme une sphère, alors la tension induite par la déformation est d'ordre $\frac{E e_b}{R_b} \Delta R_b$. Si cette pression s'équilibre avec la pression dans la cellule $\frac{\zeta \Delta \mu e}{R}$, le volume varie comme $\Delta \frac{V_b}{V_c} \sim \frac{R_b^2}{R^3} \Delta R_b \sim \left(\frac{R_b}{R} \right)^4 \frac{\zeta \Delta \mu e}{2E e_b}$. Comme en général $\frac{R_b}{R} \sim 0.1$ et $\zeta \Delta \mu \ll E$, alors $\Delta \frac{V_b}{V_c} < 10^{-5}$, une variation négligeable devant le volume du bleb qui est de l'ordre de $10^{-2} V_c$.

On peut donc supposer pour simplifier que le bleb s'arrête de croître une fois le temps de gélation atteint. Dans ce cas, et en utilisant l'équation dynamique V.129, où l'on avait supposé que la perméation du cytosol limitait la croissance, son volume d'équilibre est comme

$$\frac{V_b^{eq}}{V_c} = 3 \frac{1 - 2\nu}{E_i} \left[\frac{2T}{R} - \frac{2\gamma}{R_b} \right] \left(1 - \exp^{-\frac{\tau_g}{\tau_b}} \right) \quad (\text{V.164})$$

où τ_b est donne par l'équation V.131. Si en plus on suppose que $\tau_g \ll \tau_b$ on a simplement

$$\frac{V_b^{eq}}{V_c} = 3 \frac{\tau_g}{R^2 \lambda_p \ln \frac{1}{\theta_c}} \left[\frac{\zeta \Delta \mu e}{R} - \frac{2\gamma}{R} \right] \quad (V.165)$$

Cette équation a la même forme que l'équation V.88 donnant le volume à l'équilibre lorsque l'élasticité interne est limitante, en remplaçant le module de compressibilité $\frac{E_i}{1-2\nu}$ par $\frac{R^2 \lambda_p \ln \frac{1}{\theta_c}}{\tau_g}$. On peut donc ajuster les points expérimentaux du volume du bleb en fonction de la tension (fig. V.18) de la même manière, et obtenir $\frac{R^2 \lambda_p \ln \frac{1}{\theta_c}}{\tau_g} = 6000 Pa$. Or à partir des courbes donnant la vitesse initiale en fonction de la tension (fig. V.24) nous avons déjà obtenu $R^3 \lambda_p \ln \frac{1}{\theta_c} \simeq 0.7$, nous obtenons donc avec $R = 10 \mu m$

$$\tau_g = 10s \quad (V.166)$$

Ce qui est une valeur cohérente : c'est en fait le temps de poussée du bleb.

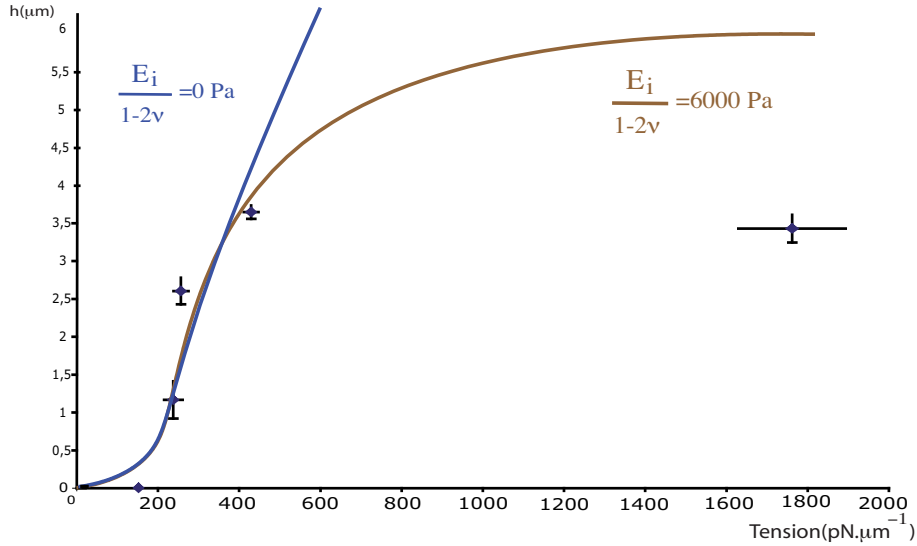


FIG. V.27: Ajustement de la hauteur d'équilibre du bleb, en supposant que la repolymérisation du cortex limite la croissance et que la dynamique est fixée par la dissipation dans la membrane ($\gamma = 30 pN.\mu m^{-1}$, $a = 1.5 \mu m$, $\alpha = 1.5 \cdot 10^8 Pa.s.m^{-1}$, $\tau_g = 10s$). Sur la courbe marron nous avons inclus l'effet de l'élasticité interne : dans ce cas la courbe sature à forte tension, ainsi qu'observé pour les cellules transfectées avec RhoQ63L.

On peut tenir le même raisonnement en supposant que la friction de la membrane limite la croissance du bleb. Dans ce cas on suppose que la hauteur du bleb est donnée par $h(\tau_g)$, ou l'évolution temporelle de $h(t)$ est fixée par l'équation dynamique V.149. Nous connaissons toutes les valeurs dans cette expression, si l'on considère que le coefficient de friction α est donné par l'ajustement à la vitesse initiale de la courbe V.25 ($\alpha = 1.5 \cdot 10^8 Pa.s.m^{-1}$). Il ne reste donc qu'un paramètre libre pour ajuster la courbe expérimentale de la hauteur en fonction de la tension, le temps de gélation τ_g . Sur la fig. V.27 nous traçons le résultat obtenu, et nous trouvons encore $\tau_g = 10s$.

D.2 Ouverture du trou

La formation d'un nouveau cortex dans le bleb doit s'accompagner d'une déformation de la couche nouvellement polymérisée. Cela a un effet sur la taille du trou et la forme du bleb si nous supposons que l'ancien et le nouveau cortex se comportent de façon élastique. Nous calculons donc la déformation du nouveau cortex : nous reprenons le modèle de coque élastique que nous avons développé dans l'appendice C et utilisé dans la partie B.1.3, mais nous considérons maintenant deux coques élastiques en contact, de même module élastique E mais d'épaisseur et de rayon initial différents, respectivement e et e_b et R et R_b (voir fig. V.28). Le cortex du bleb se déforme selon le champ de déformation u_r^b, u_θ^b , où les axes radial et orthoradial sont définis par rapport au centre du bleb, et le cortex de la cellule se déforme selon u_r^c, u_θ^c , où les axes sont définis par rapport au centre de la cellule. Nous supposons que la concentration en myosines dans le bleb est négligeable, et nous écrivons donc que le champ actif y est nul. Enfin nous négligeons ici les contraintes élastiques qui existent dans le cortex de la cellule au moment de la repolymérisation dans le bleb.

Conditions aux limites

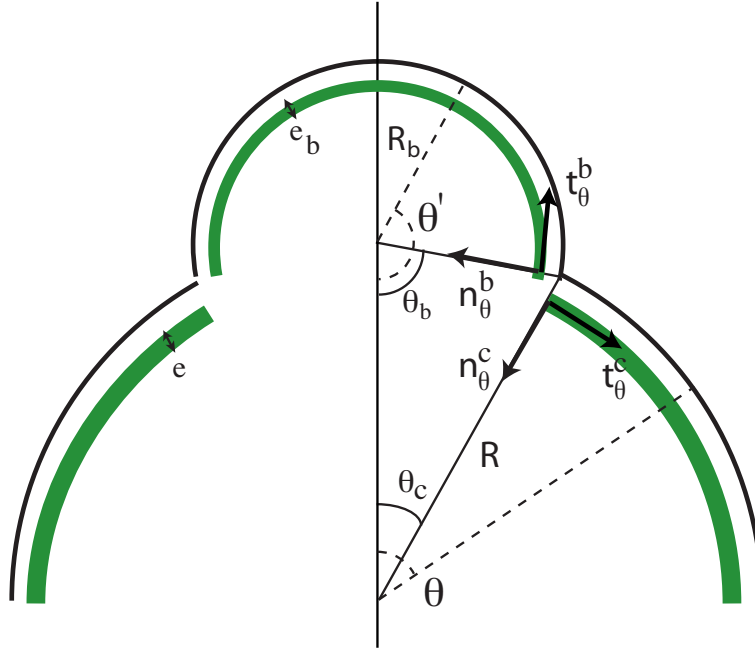


FIG. V.28: Géométrie du problème de deux cortex élastiques. Les forces doivent être équilibrées à la jonction.

Les conditions aux limites s'obtiennent en écrivant l'équilibre des forces et la continuité des deux cortex à la jonction entre le bleb et la cellule. Les deux éléments étant physiquement reliés par la membrane, le déplacement des deux cortex à la jonction doit être le même, ce qui impose

$$u_\theta^b(\theta_b) \cos \theta_b + u_r^b(\theta_b) \sin \theta_b = u_\theta^c(\theta_c) \cos \theta_c + u_r^c(\theta_c) \sin \theta_c \quad (\text{V.167})$$

$$u_\theta^b(\theta_b) \sin \theta_b - u_r^b(\theta_b) \cos \theta_b = -u_\theta^c(\theta_c) \sin \theta_c + u_r^c(\theta_c) \cos \theta_c \quad (\text{V.168})$$

On peut en fait imposer une condition supplémentaire sur le champ de déformation, qui correspond au choix du référentiel dans lequel nous étudions la déformation. Ici nous imposons que le plan de la base du bleb ne varie pas, ce qui nous permet d'écrire que l'éq. V.168 s'annule

$$u_\theta^b(\theta_b) \sin \theta_b - u_r^b(\theta_b) \cos \theta_b = 0 \quad (\text{V.169})$$

$$u_\theta^c(\theta_c) \sin \theta_c - u_r^c(\theta_c) \cos \theta_c = 0 \quad (\text{V.170})$$

et de simplifier l'équation V.167

$$u_\theta^b(\theta_b) \cos \theta_c = u_\theta^c \cos \theta_b \quad (\text{V.171})$$

Nous supposons que les moments tangentiels sont nuls aux bords des deux cortex

$$g_\theta^b(\theta_b) = 0 \quad (\text{V.172})$$

$$g_\theta^c(\theta_c) = 0 \quad (\text{V.173})$$

et nous écrivons l'équilibre des forces sur la jonction (voir fig. V.28)

$$t_\theta^b(\theta_b) \sin \theta_b + n_\theta^b(\theta_b) \cos \theta_b = t_\theta^c(\theta_c) \sin \theta_c + n_\theta^c(\theta_c) \cos \theta_c \quad (\text{V.174})$$

$$t_\theta^b(\theta_b) \cos \theta_b - n_\theta^b(\theta_b) \sin \theta_b = -t_\theta^c(\theta_c) \cos \theta_c + n_\theta^c(\theta_c) \sin \theta_c \quad (\text{V.175})$$

En anticipant sur la résolution des équations de coque élastique de la partie B.1.3, nous savons qu'on obtient l'expression de la tension (voir eq. V.25)

$$t_\theta^b = -n_\theta^b \cot \theta_b + R_b \frac{\Delta P}{2} \quad (\text{V.176})$$

$$t_\theta^c = -n_\theta^c \cot \theta_c + R_c \frac{\Delta P}{2} \quad (\text{V.177})$$

En remplaçant dans les conditions d'équilibre des forces, on voit qu'elles se réduisent à une équation automatiquement satisfaite

$$R_b \sin \theta_b \Delta P = R \sin \theta_c \Delta P \quad (\text{V.178})$$

et à une deuxième équation pertinente

$$n_\theta^b \sin \theta_c + n_\theta^c \sin \theta_b = \frac{a \Delta P}{2} \sin(\theta_b + \theta_c) \quad (\text{V.179})$$

Nous supposons enfin que le volume total est conservé, cette condition s'écrit

$$R_b^2 \int_{\theta_b}^{\pi} u_r^b \sin \theta' d\theta' + R^2 \int_{\theta_b}^{\pi} u_r^c \sin \theta d\theta = 0 \quad (\text{V.180})$$

Solution pour la forme du bleb et de la cellule

Nous pouvons appliquer directement les résultats de la partie B.1.3 pour obtenir la déformation : en utilisant $g_\theta^b(\theta_b) = 0$ et $g_\theta^c(\theta_c) = 0$ on obtient

$$n_\theta^b = C_b H_1^b(\theta') \quad (\text{V.181})$$

$$n_\theta^c = C_c H_1^c(\theta) \quad (\text{V.182})$$

où θ' et θ sont les angles polaires à l'intérieur du bleb et de la cellule (fig. V.28), et les constantes C_b et C_c sont à déterminer à partir des équations aux limites. En utilisant cette solution, on réexprime les déformations radiales et tangentielles

$$u_\theta^b = \frac{R_b}{2Ee_b} C_b H_1^b(\theta') - A_b \sin \theta' \quad (\text{V.183})$$

$$u_r^b = \frac{R_b^2}{12Ee_b} \Delta P - \frac{R_b}{3Ee_b} C_b (\partial_{\theta'} + \cot \theta') H_1^b(\theta') + A_b \cos \theta' \quad (\text{V.184})$$

$$u_\theta^c = \frac{R}{2Ee} C_c H_1^c(\theta) - A_c \sin \theta \quad (\text{V.185})$$

$$u_r^c = \frac{R^2}{12Ee} \left(\Delta P - \frac{\zeta \Delta \mu e}{R} \right) - \frac{R}{3Ee} C_c (\partial_\theta + \cot \theta) H_1^c(\theta) + A_c \cos \theta \quad (\text{V.186})$$

Nous avons introduit les constantes A_b et A_c qui correspondent à des translations des deux coques. En général on peut imposer librement ces constantes car leur valeur dépend du référentiel d'observation ; ici on les calcule à l'aide des conditions V.169 et V.170 qui imposent que le bleb ne peut pas se "décoller" de la cellule, et que le référentiel est attaché à la base du bleb. On trouve alors

$$A_b = \frac{R_b \cos \theta_b}{6Ee_b} \left[C_b (2\partial_{\theta'} + 3 \tan \theta_b + 2 \cot \theta_b) H_1^b(\theta_b) - \frac{R_b \Delta P}{2} \right] \quad (\text{V.187})$$

$$A_c = \frac{R \cos \theta_c}{6Ee} \left[C_c (2\partial_\theta + 3 \tan \theta_c + 2 \cot \theta_c) H_1^c(\theta_c) - \frac{R \Delta P}{2} + \frac{\zeta \Delta \mu e}{2} \right] \quad (\text{V.188})$$

Avec ces expressions la déformation tangentielle à la jonction devient

$$u_\theta^b(\theta_b) = -\frac{R_b}{6Ee_b} \cos \theta_b \sin \theta_b \left[C_b (2\partial_{\theta'} - \cot \theta_b) F_1^b(\theta_b) - \frac{R_b \Delta P}{2} \right] \quad (\text{V.189})$$

$$u_\theta^c(\theta_c) = -\frac{R}{6Ee} \cos \theta_c \sin \theta_c \left[C_c (2\partial_\theta - \cot \theta_c) F_1^c(\theta_c) - \frac{R \Delta P}{2} + \frac{\zeta \Delta \mu e}{2} \right] \quad (\text{V.190})$$

On peut alors utiliser les équations V.171 et V.179 pour obtenir les coefficients C_b et C_c :

$$\left[(2\partial_{\theta'} - \cot \theta_b) F_1^b + \frac{e_b \sin \theta_c}{e \sin \theta_b} (2\partial_\theta - \cot \theta_c) F_1^c \right] C_b = \frac{R_b \Delta P}{2} \left[1 + \frac{e_b \sin(\theta_b + \theta_c)}{e \sin \theta_b} (2\partial_\theta - \cot \theta_c) F_1^c - \frac{R_b e_b}{R_b e} \right] \quad (\text{V.191})$$

$$\left[(2\partial_\theta - \cot \theta_c) F_1^c + \frac{e \sin \theta_b}{e_b \sin \theta_c} (2\partial_{\theta'} - \cot \theta_b) F_1^b \right] C_c = \frac{R \Delta P}{2} \left[1 + \frac{e \sin(\theta_b + \theta_c)}{e_b \sin \theta_c} (2\partial_{\theta'} + \cot \theta_b) F_1^b - \frac{R_b e}{R e_b} \right] + \frac{\zeta \Delta \mu e}{2} \quad (\text{V.192})$$

et la pression peut être calculée à partir de la conservation du volume V.180 ou on utilise

$$\begin{aligned} \int_{\theta_c}^{\pi} u_r^c \sin \theta \, d\theta &= \frac{R^2}{12Ee} \left(\Delta P - \frac{\zeta \Delta \mu e}{R} \right) [1 + \cos \theta_c + \cos \theta_c \sin \theta_c] \\ &\quad - \frac{R}{12Ee} C_c \sin \theta_c [2 \sin \theta_c \cos \theta_c \partial_\theta + 1 + 3 \cos^2 \theta_c - 2 \cos \theta_c \sin \theta_c] F_1^c(\theta_c) \end{aligned} \quad (\text{V.193})$$

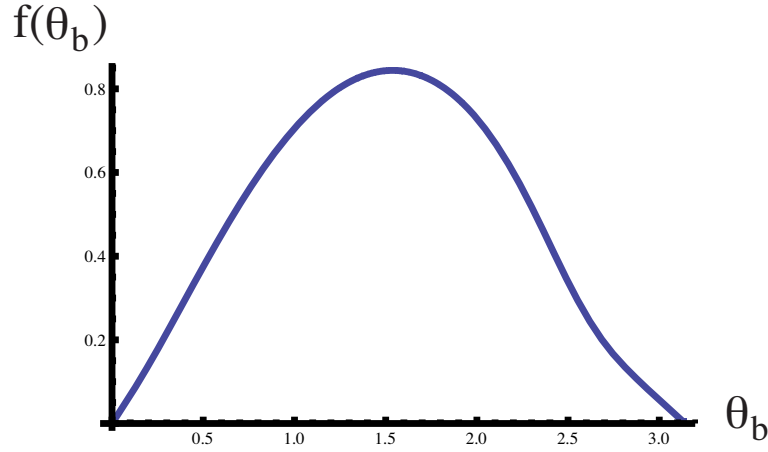


FIG. V.29: Fonction $f(\theta_b)$ donnant l'ouverture de la base du bleb en fonction de l'ouverture angulaire de départ θ_b ($e_b = e$).

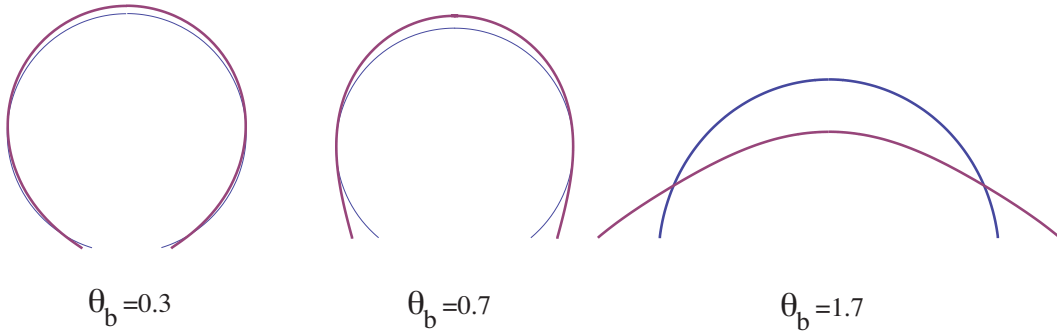


FIG. V.30: Allure de la déformation des blebs pour différentes valeurs de θ_b .

Calcul de l'ouverture du trou

Les éqs. V.191, V.192 et V.180 constituent un système de 3 équations à 3 inconnues, C_b , C_c , et ΔP . La solution est compliquée en général mais on peut la simplifier dans la limite $\theta_c \rightarrow 0$ (pour laquelle on a en particulier $F_1^c(\theta_c) \sim -\frac{1}{\sin \theta_c}$, voir partie B.1.3), $R_b \ll R$, $e_b \sim e$ qui correspond à la situation physique. On trouve dans cette limite

$$C_b = \frac{2\zeta\Delta\mu e_b \sin \theta_b}{\frac{3e_b}{e} - 2 \sin \theta_b F_1'(\theta_b) + \cos \theta_b} \quad (\text{V.194})$$

$$C_c = -\frac{\zeta\Delta\mu e}{2} \sin \theta_c \frac{3\frac{e_b}{e} + 2(2 \sin \theta_b F_1'(\theta_b) - \cos \theta_b)}{3\frac{e_b}{e} - 2 \sin \theta_b F_1'(\theta_b) + \cos \theta_b} \quad (\text{V.195})$$

$$\Delta P = \frac{\zeta\Delta\mu e}{R} \quad (\text{V.196})$$

où nous avons écrit $F_1 = F_1^b$ pour simplifier. A l'aide de l'éq. V.189 on peut en déduire l'ouverture angulaire de la base du bleb.



FIG. V.31: Formation d'un bleb dans un bleb, par ablation du cortex repolymérisé dans le premier bleb (image actine-GFP)

Cette formule donne également l'ouverture angulaire du trou $\Delta\theta_c$

$$\frac{\Delta\theta_c}{\theta_c} = -\frac{\zeta\Delta\mu}{3E} \frac{2\sin\theta_b\partial_{\theta'}F_1^b(\theta_b) - \cos\theta_b}{3\frac{e_b}{e} - 2\sin\theta_b\partial_{\theta'}F_1^b(\theta_b) + \cos\theta_b} \quad (\text{V.197})$$

$$= -\frac{\zeta\Delta\mu}{3E} f(\theta_b) \quad (\text{V.198})$$

La déformation est donc d'ordre $\frac{\zeta\Delta\mu}{3E}$. Nous traçons la fonction $f(\theta_b)$ sur la fig V.29 ; elle est maximale pour un bleb hémisphérique.

On peut enfin obtenir la forme finale du bleb : en remplaçant C_b , C_c et ΔP par les valeurs obtenues dans les éqs. V.183 et V.184 on obtient l'expression de la déformation

$$\frac{u_r^b}{R_b} = \frac{\zeta\Delta\mu}{3E} \sin\theta_b \frac{(2F_1'(\theta_b) + 3\tan\theta_b + 2\cot\theta_b)\cos\theta\cos\theta_b - 2(\partial_{\theta'} + \cot\theta')F_1(\theta')}{3\frac{e_b}{e} - 2\sin\theta_b F_1'(\theta_b) + \cos\theta_b} \quad (\text{V.199})$$

$$\frac{u_\theta}{R_b} = \frac{\zeta\Delta\mu}{3E} \sin\theta_b \frac{3F_1(\theta') - \cos\theta_b \sin\theta(2F_1'(\theta_b) + 3\tan\theta_b + 2\cot\theta_b)}{3\frac{e_b}{e} - 2\sin\theta_b F_1'(\theta_b) + \cos\theta_b} \quad (\text{V.200})$$

La variation de forme correspondante est tracée sur la fig. V.30 pour différentes valeurs de θ_b , l'angle d'ouverture initial. Les formes calculées rappellent celles obtenues expérimentalement (voir fig. V.4), mais nous n'avons pas encore comparé quantitativement ce résultat aux observations.

E Conclusions

La formation d'un bleb unique par ablation laser est un système expérimental assez bien contrôlé, permettant d'explorer quantitativement les propriétés mécaniques de la cellule. Afin d'exploiter les résultats expérimentaux, nous avons dérivé une série de modèles prenant en compte différents éléments mécaniques susceptibles de contrôler la croissance et l'équilibre du bleb, avant que les myosines n'y exercent des tensions actives. Nous avons ainsi inclus dans notre analyse l'élasticité du cortex d'actine, les propriétés élastiques et poreuses du milieu interne, la dissipation associée au flux de membrane et le rôle de la repolymérisation de l'actine.

Expérimentalement il semble que la repolymérisation de l'actine contrôle le volume d'équilibre : en effet lorsqu'on perce le cortex présent à la surface d'un bleb

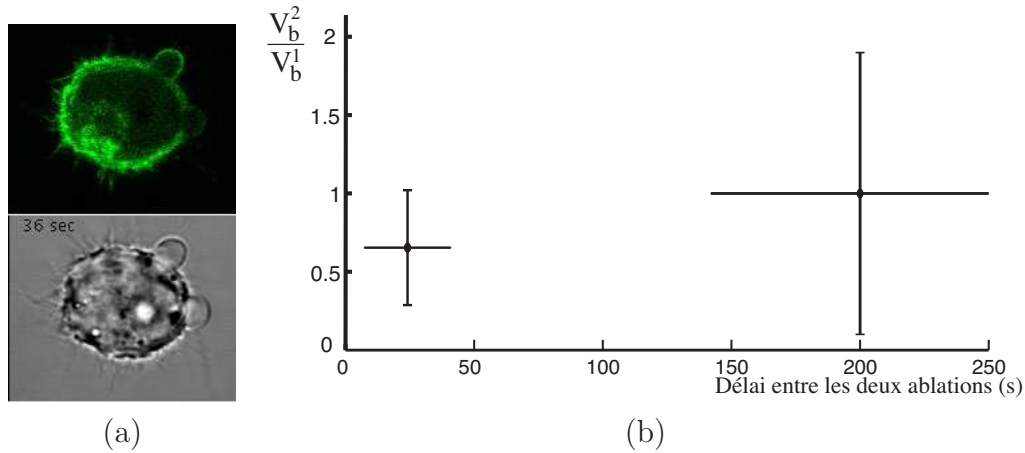


FIG. V.32: (a) Formation de deux blebs dans la cellule, par ablation successive de deux régions du cortex (image du haut actine-GFP, image du bas DIC) (b) Volume du second bleb par rapport au premier, en fonction du temps séparant les deux ablations. Aux temps courts le second bleb est plus petit que le premier, ce qui semble indiquer que la pression intracellulaire a baissée. Barres d'erreur : verticale, erreur standard, horizontale : moyenne et écart-type des temps de séparation entre les deux ablations pour les deux paquets de mesure.

ayant atteint l'équilibre, un second bleb se forme à partir du premier (voir fig. V.31). Cette expérience montre qu'une partie de la pression intracellulaire est équilibrée par le nouveau cortex. Comme cela se produit avant que le retour de fluorescence des myosines soit significatif, la couche corticale du bleb n'est pas encore sous tension active et le nouveau cortex s'oppose donc par son élasticité à la croissance du bleb. Cela n'exclut pas que la résistance du réseau interne limite la croissance du bleb lorsque l'actine repolymérise trop lentement : il serait intéressant pour le vérifier de parvenir à empêcher la repolymérisation dans le bleb grâce à l'application locale de drogues dépolymérisatrices de l'actine. Dans la réf. [23] les auteurs observent qu'en traitant les cellules localement de cette manière, le volume d'équilibre des blebs est en moyenne plus élevé. Remarquons que ce mécanisme de repolymérisation de l'actine a déjà été proposé pour expliquer l'équilibre de blebs apparaissant spontanément [28].

La question du processus contrôlant la dynamique est plus difficile à trancher. Nous avons envisagé deux possibilités, et comparé les prédictions théoriques aux expériences. Il semble qu'en incluant la dissipation associée à la perméation des lipides membranaires, les résultats expérimentaux soient mieux ajustés (voir fig. V.24 et V.25), et la valeur obtenue pour le coefficient de friction est plus cohérente : une très faible maille du réseau interne (2nm) serait en effet nécessaire pour expliquer les données si la perméation du cytosol dominait. Ce résultat s'oppose aux observations de la réf. [25], mais il est possible qu'en fonction du type cellulaire la source de dissipation dominante varie [20]. Il semble qu'à l'échelle de temps de croissance d'un bleb, la pression s'équilibre, au moins partiellement, à travers la cellule : en effet si l'on forme un second bleb en un autre point de la cellule par l'ablation d'une seconde région du cortex, le volume du second bleb est plus petit que celui du premier si le

temps qui sépare les deux ablations est suffisamment court (voir fig. V.32). En outre, nous n'avons pas observé de corrélations entre la position du second bleb par rapport au premier et son volume. Ces deux observations semblent montrer que la pression diminue globalement dans la cellule après la formation du premier bleb. Ceci est un argument supplémentaire pour avancer que la dissipation dans le milieu interne poreux contribue peu dans les cellules étudiées ici.

En supposant que la polymérisation de l'actine et la dissipation dans la membrane domine, on peut ajuster très correctement la hauteur d'équilibre du bleb (fig. V.27), avec un seul paramètre libre, le temps de gélation, le coefficient de friction étant obtenu à partir des mesures de vitesse initiale (fig. V.25). On trouve un temps de gélation d'environ 10s, une valeur compatible avec les observations puisque c'est le temps total de poussée du bleb. L'ouverture angulaire serait alors fixée par l'élasticité du cortex (fig. V.18) : on trouve $E \simeq 1700Pa$, ce qui est une valeur plausible.

De nombreuses questions sur la physique du bleb restent encore à traiter. En dépolymérisant les microtubules d'une cellule L929 on initie une oscillation dont une étape ressemble à la croissance d'un bleb qui n'atteint pas de volume d'équilibre (toute la cellule y est transférée) [110]. Il serait intéressant de trouver expérimentalement les conditions requises pour atteindre cette limite. Il est clair qu'un seuil critique d'activité des myosines doit probablement être franchi, par exemple pour que le temps de croissance du bleb soit plus petit que le temps de repolymérisation de l'actine, ou que l'élasticité interne ne limite pas la contraction du cortex. Bien que la transfection de RhoQ63L augmente fortement la tension de la cellule, les blebs obtenus avec ce traitement n'atteignent pas un très grand volume, probablement parce que la polymérisation de l'actine est également stimulée. Trouver un traitement de la cellule susceptible d'augmenter l'activité des myosines sans agir sur la voie de signalisation Rho pourrait permettre d'aborder cette question.

Enfin dans le système expérimental évoqué ici la question du détachement de la membrane et de la nucléation du trou n'a pas été examinée. Ces deux processus pourraient in vivo jouer un rôle important dans la formation du bleb [21]. Dans le chapitre II nous avons évoqué la possibilité qu'une instabilité du cortex d'actine soit à l'origine de la formation spontanée de blebs dans la cellule.

Conclusion générale

Le cortex d'actine dicte la forme de la cellule, et l'étude de sa dynamique est donc d'une grande importance pour la compréhension de la morphologie cellulaire. En appliquant la théorie hydrodynamique des gels actifs au gel d'actine et de myosines qui le constitue, nous nous sommes intéressés à différents phénomènes biologiques mettant en jeu des perturbations de la forme de la cellule : la formation et la croissance des blebs, l'oscillation de fibroblastes suspendus et la cytokinèse.

Dans le chapitre 2, nous avons introduit notre modèle de couche corticale. Nous avons examiné quelques mécanismes physiques pouvant contrôler son épaisseur. La régulation du cortex a été peu étudiée expérimentalement jusqu'ici : il serait intéressant de comparer nos résultats théoriques à des données expérimentales, par exemple en mesurant l'intensité de fluorescence du cortex en réponse à différents traitements. Nous avons également montré qu'au-delà d'une activité critique $\zeta\Delta\mu_c \sim \eta k_d$ la couche se déstabilise spontanément : un flux de filaments apparaît, créant des régions du cortex plus épaisses au détriment de régions qui s'affinent. Cela pourrait conduire à la rupture du cortex ou au détachement de la membrane : nous proposons donc que cette instabilité conduise à la formation spontanée de blebs. Une longueur d'onde dominant l'instabilité et dépendante de la friction est obtenue, dont pourrait dépendre la distance caractéristique entre les blebs d'une cellule.

Une boucle de rétroaction due à la réponse de canaux sensibles à la déformation du cortex est introduite dans le chapitre 3 : à faible activité des myosines, elle stabilise la cellule, et à plus grande activité une région de l'espace des paramètres apparaît où la cellule est instable et le mode dominant est oscillatoire. Nous proposons que cette oscillation soit effectivement observée dans les expériences de P. Pullarkat, où des fibroblastes détachés de leur substrat présentent une oscillation de forme qui peut se maintenir pendant plusieurs heures, avec une période très stable d'environ 30 secondes. L'oscillation est dépendante du calcium externe, et la réponse de la cellule aux traitements affectant l'activité des myosines est bien reproduite par notre modèle : lorsque l'on augmente l'activité, la cellule passe d'un état stable à un état oscillant avec une période finie, qui décroît ensuite avec l'activité.

Dans le chapitre 4, nous obtenons un modèle effectif du cortex à deux dimensions prenant en compte l'évolution du paramètre d'ordre nématique décrivant l'orientation des filaments. Lorsqu'un gradient d'activité des myosines est appliqué à la couche, les filaments tendent à s'aligner normalement à la direction du gradient dans la région de grande activité, et dans le sens du gradient dans la région de faible activité ; or la cellule semble capable, à l'aide de son réseau de microtubules, de contrôler la distribution des myosines, et ce de multiples façons. Un excès d'activité est ainsi maintenu autour d'une blessure dans le cortex lors de l'ablation laser de l'œuf de

xénope : notre modèle montre qu'une telle stimulation doit conduire à la formation d'un anneau contractile autour de la blessure, accompagné d'un flux radial d'actine à l'extérieur de l'anneau, ce qui est effectivement observé expérimentalement. Dans un autre exemple, l'entrée du spermatozoïde dans l'embryon de *C.Elegans* entraîne le relâchement de la contractilité d'une région corticale à l'un des pôles de la cellule. Le pôle opposé se contracte alors et un important flux cortical apparaît. Deux régions corticales séparées sont ainsi formées avant la première mitose, et cette distribution est essentielle pour l'établissement d'une polarité dans l'embryon. Nous proposons que ce mécanisme puisse être analysé par la réponse du cortex à un gradient de myosines, et qu'un anneau se forme près de la région de transition, qui n'a pas été observé jusqu'ici. L'équipe de S. Grill à Dresde étudie ce problème, a déjà mesuré le flux d'actine dans la polarisation, qui est proche de celui que nous obtenons dans la fig. IV.16, et s'intéresse à l'observation directe de cet anneau.

Lors de la cytokinèse, l'activité des myosines est accrue dans le plan équatorial, et un flux cortical apparaît, accompagné de la formation d'un anneau contractile qui sépare la cellule en deux. En traitant ce problème en perturbation nous retrouvons l'existence de ce flux et l'alignement des filaments à l'équateur, et un sillon apparaît à l'équateur mais ne se contracte pas complètement. Une explication pourrait être que l'interaction de filaments alignés avec les myosines fournit une force de façon plus efficace qu'un réseau isotrope. En incluant un terme non-linéaire pouvant correspondre à cet effet, nous montrons qu'il existe une gamme de paramètres pour laquelle une faible perturbation de l'activité des myosines suffit à contracter complètement l'équateur. Dans ce calcul nous n'avons inclus qu'un seul terme non-linéaire. Pour décrire correctement la contraction de l'anneau il serait intéressant d'aller au-delà de cette approximation. Cela requiert probablement l'application de méthodes numériques, et poserait le problème de la description de la région fortement courbée reliant l'équateur aux pôles de la cellule.

Remarquons que l'instabilité linéaire décrite dans les chapitres 2 et 3 ainsi que la bifurcation non-linéaire du chapitre 4 pourraient se produire en même temps. Expérimentalement, en effet, les cellules en division forment des blebs à leurs pôles, et le rôle de ces blebs dans la cytokinèse n'est pas connu. En collaboration avec le groupe d'E. Paluch à Dresde nous souhaiterions explorer cette question. Pour décrire conjointement ces deux effets il faudrait comprendre exactement comment les blebs se forment spontanément, et prendre en compte l'effet de leur rétraction sur le cortex.

Dans le dernier chapitre, nous avons proposé une analyse théorique de la formation d'un bleb unique par ablation laser du cortex. Le travail réalisé par le groupe d'E. Paluch au MPI-CBG à Dresde est remarquable en ce qu'il tente d'extraire des informations quantitatives et reproductibles sur le comportement de la cellule. En réalisant un grand nombre de mesures on peut dégager des valeurs moyennes de la tension d'une cellule, ainsi que de la morphologie et de la dynamique d'expansion des blebs qu'elle peut former. Nous comparons ces mesures à nos calculs théoriques : nous montrons qu'un modèle où la dynamique d'expansion est dominée par la dissipation due à la perméation du flux de membrane, et où la repolymérisation du cortex arrête la croissance, est le plus cohérent avec les résultats expérimentaux. L'exploitation de ces résultats, dans le contexte de la motilité par formation de bleb

par exemple, pourrait être d'un grand intérêt pour comprendre si, et comment, la cellule contrôle la taille des blebs qu'elle forme.

En étendant les théories hydrodynamique usuelles, les auteurs de la théorie des gels actifs proposent un modèle du cytosquelette qui fait intervenir des paramètres phénoménologiques pertinents, car fondés sur les propriétés de symétrie du système. Cette approche est très efficace, car elle permet de s'affranchir des détails microscopiques, tout en s'assurant que la physique introduite est cohérente. Les coefficients qui décrivent le comportement macroscopique du système sont nouveaux : il semble que la contrainte active $\zeta\Delta\mu$ soit de l'ordre de 10^3 Pa, mais il serait intéressant d'estimer la variation d'autres grandeurs, comme la susceptibilité nématique K ou les viscosités η et β_2 , en fonction des protéines introduites dans le gel. On s'attend par exemple à ce que K dépende fortement du type de protéines de liaison présentes, selon qu'elles favorisent des liaisons parallèles ou des angles larges entre filaments. L'analyse du comportement de gels d'actine reconstitués *in vitro* pourrait permettre d'accéder à ce type de mesures.

A plusieurs reprises, nous avons analysé le comportement du cortex à l'aide de diagrammes de stabilité (figs. III.19 et IV.13). Nous avons essayé d'identifier différentes phases de l'état du cortex et de les associer à différents comportements de la cellule. Nous avons introduit certains paramètres de contrôle : l'activité des myosines, la réponse de canaux mécanosensibles, ou la susceptibilité nématique du gel d'actine. En faisant varier ces paramètres, en nombre relativement limité en regard de la complexité d'une cellule, nous prévoyons que différents états de la cellule peuvent être atteints, et que certaines perturbations de faible amplitude peuvent avoir des conséquences profondes sur la morphologie de la cellule. Ce type d'approche est d'un intérêt considérable pour avoir accès aux propriétés mécaniques fines de la cellule et pour comprendre comment elle parvient à réaliser une telle variété de formes et à se remodeler efficacement en réponse aux conditions externes. Notre description des différentes phases et des frontières qui les séparent, essentiellement qualitative, constitue probablement un point de départ : en affinant notre connaissance des processus à l'oeuvre dans la cellule, et en faisant varier expérimentalement et de façon quantitative les paramètres de contrôle que nous avons identifiés, on peut espérer vérifier et compléter les diagrammes que nous avons obtenus. L'emploi de systèmes biomimétiques en particulier est prometteur : le groupe de C. Sykes à l'Institut Curie essaye ainsi de reconstituer un cortex d'actine artificiel dans des liposomes. Parvenir à ajouter des myosines actives à l'intérieur de ces vésicules pourrait constituer un outil remarquable pour comparer nos prédictions théoriques avec un système minimal.

Dans cette thèse, nous nous sommes intéressés à des cellules individuelles. Comprendre la façon dont les mécanismes que nous avons décrits ici influent sur les comportements collectifs est une passionnante perspective. Pour interpréter les oscillations de fibroblastes par exemple, nous avons proposé un modèle couplant une voie de signalisation à la mécanique de la cellule. Ce type d'interaction est probablement très général et commence seulement à être exploré : au cours du développement des tissus par exemple, les cellules modifient leurs propriétés ou pourraient même se différencier en fonction des conditions mécaniques auxquelles elles sont soumises. En retour, les protéines d'adhésion qu'elles expriment ou leur tension cellulaire, imposée

par le cortex, déterminent clairement les contraintes globales dans le tissu. De telles boucles de rétroaction sont probablement cruciales pour la formation de motifs et l'organisation générale des tissus, et leur compréhension l'un des défis de l'étude du développement.

Annexe A

Notations

Dans cette appendice nous rassemblons les notations pour les grandeurs les plus utilisées dans cette thèse, et nous donnons lorsque c'est possible une estimation de l'ordre de grandeur correspondant.

Notation	Signification	Ordre de grandeur
$\zeta \Delta\mu$	Contrainte active	10^3 Pa
E	Module elastique d'un gel d'actine	$10^2 - 10^4$ Pa
η	Viscosite d'un gel d'actine	$10^3 - 10^5$ Pa.s
τ	Temps de relaxation viscoelastique	$1 - 60$ s
η_{cyt}	Viscosite du cytosol	5.10^{-3} Pa.s
R	rayon de la cellule	$10\mu m$
e	Epaisseur du cortex	$1\mu m$
ξ	Maille du gel d'actine	$\sim 50nm$
T	Tension du cortex	$300 - 2000 pN.\mu m^{-1}$
γ	Membrane tension	$30 pN.\mu m^{-1}$
v_p	Vitesse de polymerisation du cortex	
k_d	Taux de depolymerisation du cortex	
τ_{to}	Temps de renouvellement ("turn-over") du cortex	$30 - 60$ s
P_{in}, P_{out}	Pression hydrostatique a l'interieur et a l'exterieur de la cellule	
Π_{in}, Π_{out}	Pression osmotique a l'interieur et a l'exterieur de la cellule	
L_p	Constante de permeation d'un pore membranaire	
ρ_p	Densite de pores dans la membrane	
R_b	Rayon d'un bleb	$1 - 3\mu m$
η_m	Viscosite de la membrane	10^{-8} Pa.s.m ⁻¹

Annexe B

Polynômes de Legendre

Dans cette appendice nous rassemblons quelques propriétés utiles des polynômes de Legendre. Ces fonctions apparaissent naturellement lorsqu'on traite de problèmes lineaires en symétrie sphérique. En effet les harmoniques sphériques, solutions de l'équation de Laplace $\Delta Y(r, \theta, \phi) = 0$ en symétrie sphérique, s'écrivent

$$Y(r, \theta, \phi) = r^n P_n^m(\cos \theta) e^{im\phi} \quad (\text{B.1})$$

ou $P_n^m(x)$ est la fonction associée de Legendre d'ordre (n, m) , qui satisfait à l'équation

$$(1 - x^2)f''(x) - 2xf'(x) + \left[n(n+1) - \frac{m^2}{1-x^2} \right] f(x) = 0 \quad (\text{B.2})$$

ou de façon équivalente pour la fonction $P_n^m(\cos \theta)$

$$\frac{d^2}{d\theta^2} P_n^m(\cos \theta) + \cot \theta \frac{d}{d\theta} P_n^m(\cos \theta) + \left[n(n+1) - \frac{m^2}{\sin^2 \theta} \right] P_n^m(\cos \theta) = 0 \quad (\text{B.3})$$

Lorsque le problème admet une symétrie axiale, $m = 0$ et $P_n = P_n^0$ est le polynôme de Legendre d'ordre n . La famille de polynômes P_n est orthogonale, c'est-à-dire que pour tout n, m ,

$$\int_{-1}^1 P_n(x) P_m(x) dx = \frac{2\delta_{nm}}{2n+1} \quad (\text{B.4})$$

ou de façon équivalente

$$\int_0^\pi P_n(\cos \theta) P_m(\cos \theta) \sin \theta d\theta = \frac{2\delta_{nm}}{2n+1} \quad (\text{B.5})$$

Toute fonction C^∞ $f(\theta)$ admet le développement

$$f(\theta) = \sum_n f^n P_n(\cos \theta) \quad (\text{B.6})$$

ou en utilisant les propriétés d'orthogonalité le coefficient f^n est donné par

$$f^n = \frac{2n+1}{2} \int_0^\pi f(\theta) P_n(\cos \theta) \sin \theta d\theta \quad (\text{B.7})$$

. Les sommes infinies de polynôme de Legendre peuvent parfois être simplifiées à l'aide de la fonction génératrice

$$\sum_{n=0}^{\infty} P_n(x)t^n = \frac{1}{\sqrt{1-2xt+t^2}} \quad (\text{B.8})$$

Suivant les notations introduites dans [60], nous utilisons également le polynôme de Gegenbauer I_n

$$I_{n+1} = \frac{P_{n-1} - P_{n+1}}{2n+1} \quad (\text{B.9})$$

qui est relié à la dérivée du polynôme de Legendre par

$$\partial_\theta [P_n(\cos \theta)] = -n(n+1) \frac{I_{n+1}(\cos \theta)}{\sin \theta} \quad (\text{B.10})$$

Ci-dessous nous précisons quelques relations utiles entre ces deux familles de polynôme

$$\partial_\theta [I_{n+1}(\cos \theta)] = \sin \theta P_n(\cos \theta) \quad (\text{B.11})$$

$$[\partial_\theta + \cot \theta] \frac{I_{n+1}(\cos \theta)}{\sin \theta} = P_n(\cos \theta) \quad (\text{B.12})$$

$$[\partial_\theta^2 + \cot \theta \partial_\theta - \cot^2 \theta] \frac{I_{n+1}(\cos \theta)}{\sin \theta} = [1 - n(n+1)] \frac{I_{n+1}(\cos \theta)}{\sin \theta} \quad (\text{B.13})$$

Enfin dans l'expansion d'un produit de fonction sur la base de Legendre on est amené à utiliser les coefficients

$$\gamma_{nmk} = \int_0^\pi P_n(\cos \theta) P_m(\cos \theta) P_k(\cos \theta) \sin \theta d\theta \quad (\text{B.14})$$

qui peuvent être calculés par la formule de Gaunt. Cette formule est très complexe et nous ne la reproduisons pas ici, mais elle est disponible dans la réf. [135].

Annexe C

Théorie de coque mince active pour une sphère faiblement déformée

Dans les chapitres IV et V nous utilisons une théorie de coque mince pour calculer la déformation du cortex. Dans une théorie de coque on garde uniquement les déformations moyennes $u_r(\theta)$ et $u_\theta(\theta)$, sans entrer dans le détail de leur distribution dans le cortex. Nous remplaçons en outre le tenseur des contraintes σ par les contraintes intégrés sur une surface transverse de cortex dS , ce qui fait intervenir les tensions t_θ , t_ϕ , n_θ , et les moments g_θ and g_ϕ . Dans cet appendice nous exposons brièvement la dérivation de ces tensions et moments pour une coque sphérique faiblement déformée, en incluant les contraintes actives, et établissons les équations d'équilibre mécanique. Nous nous inspirons des méthodes et résultats exposés dans le livre de Love *Treatise on the mathematical theory of elasticity* [89].

Calcul des tensions en fonction des contraintes

Nous nous plaçons dans les coordonnées sphériques, localement dirigées par (e_r, e_θ, e_ϕ) . Nous notons θ' et ϕ' les angles polaire et azimuthal. Nous considérons un morceau de coque délimité par $\theta < \theta' < \theta + \Delta\theta$ et $\phi < \phi' < \phi + \Delta\phi$ et d'épaisseur e (fig. C.1a). On suppose que $r = R$ repère le milieu de la couche non déformée et nous utilisons la coordonnée $z = r - R$, la couche étant délimitée par $-\frac{e}{2} < z < \frac{e}{2}$. Nous ne considérons que des déformations axisymétriques, ce qui implique en particulier $u_\phi = 0$ et $\sigma_{r\phi} = \sigma_{\theta\phi} = 0$. Dans une théorie de coque, on néglige les forces normales s'exerçant sur la couche par rapport aux forces tangentielles : en effet par la loi de Laplace $\sigma_n \sim \frac{e}{R}\sigma_t$ ou σ_n est la contrainte normale et σ_t la contrainte tangentielle. Dans la limite d'une couche mince (coque), l'épaisseur est considéré faible devant les longueurs transverses caractéristiques, soit $e \ll R$ et on peut négliger σ_n .

Pour obtenir les tensions intégrées on peut calculer les forces et moments exercées sur chaque face transversale. La force totale exercée sur les faces 2 et 4 (voir fig. C.1a) est donnée par

$$\vec{F}_2 = -\vec{F}_4 = \int_{r=R-\frac{e}{2}}^{r=R+\frac{e}{2}} \int_{\phi'=\phi}^{\phi'=\phi+\Delta\phi} [\sigma_{r\theta}\vec{e}_r + \sigma_{\theta\theta}\vec{e}_\theta] dS \quad (\text{C.1})$$

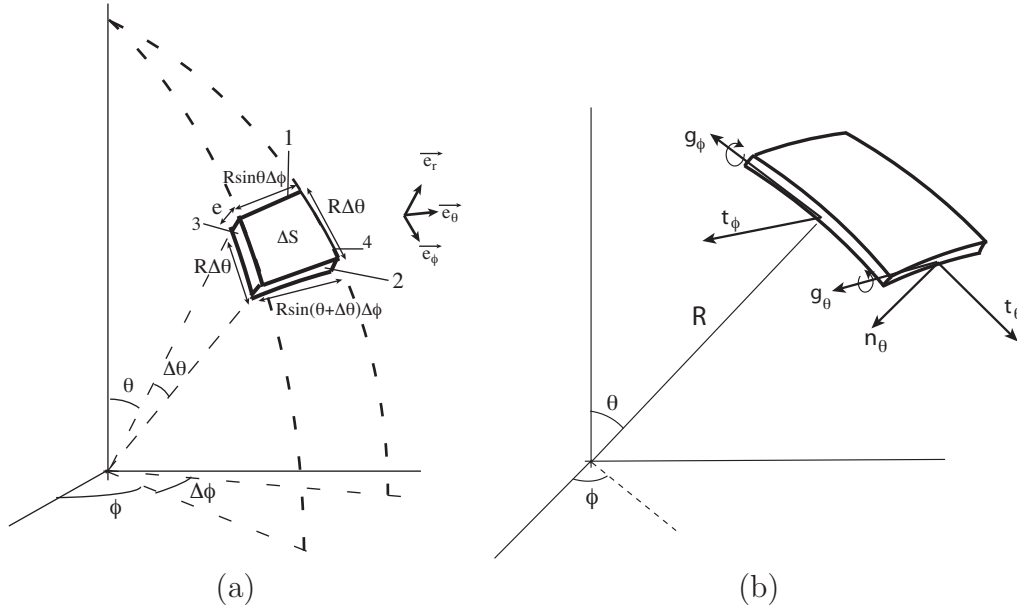


FIG. C.1: Dans une théorie de coque on calcule les tensions et moments appliqués à une coque d'épaisseur e (a) Définition d'un morceau de coque limité par $\theta < \theta' < \theta + \Delta\theta$ et $\phi < \phi' < \phi + \Delta\phi$. Nous repérons les faces par des numéros de 1 à 4 (b) Définitions des tensions et moments s'exerçant sur le morceau de coque

ou dS est une surface infinitésimale de la face 2 ; ici $dS = r dr \sin \theta d\phi'$. On se place dans la limite $\Delta\phi \rightarrow 0$: on considère donc les contraintes constantes vis-à-vis de ϕ' et la force totale devient

$$\vec{F}_2 = R\Delta\phi \sin \theta \left[\left(\int_{z=-\frac{e}{2}}^{z=\frac{e}{2}} \sigma_{r\theta} \left(1 + \frac{z}{R}\right) dz \right) \vec{e}_r + \left(\int_{z=-\frac{e}{2}}^{z=\frac{e}{2}} \sigma_{\theta\theta} \left(1 + \frac{z}{R}\right) dz \right) \vec{e}_\theta \right] \quad (C.2)$$

Par définition la tension $\vec{T}_\theta$ est la force exercée sur la face 2 par unité de longueur, soit ici $\vec{F}_2 = R \sin \theta \Delta\phi \vec{T}_\theta$. On identifie donc $\vec{T}_\theta$

$$\vec{T}_\theta = -n_\theta \vec{e}_r + t_\theta \vec{e}_\theta \quad (C.3)$$

ou nous avons introduit les composantes de la tension, en suivant le choix de Love [89] (voir fig. C.1b)

$$t_\theta = \int_{-\frac{e}{2}}^{\frac{e}{2}} \sigma_{\theta\theta} dz \quad (C.4)$$

$$n_\theta = - \int_{-\frac{e}{2}}^{\frac{e}{2}} \sigma_{r\theta} dz \quad (C.5)$$

En tenant le même raisonnement sur les face 3 et 4 on calcule la force $\vec{F}_3 = -\vec{F}_4 = R\Delta\theta \int_{-\frac{e}{2}}^{\frac{e}{2}} \sigma_{\phi\phi} dz \vec{e}_\phi$, soit

$$\vec{T}_\phi = t_\phi \vec{e}_\phi \quad (C.6)$$

avec

$$t_\phi = \int_{-\frac{\epsilon}{2}}^{\frac{\epsilon}{2}} \sigma_{\phi\phi} dz \quad (\text{C.7})$$

Calculons maintenant les moments s'exerçant sur les faces du morceau de coque : Soit $O_2(R, \theta, \phi + \frac{\Delta\phi}{2})$ le centre de la face 2, alors sur cette face le moment des forces est par définition

$$\vec{M}_2 = \int_{r=R-\frac{\epsilon}{2}}^{r=R+\frac{\epsilon}{2}} \int_{\phi'=\phi}^{\phi'=\phi+\Delta\phi} \overrightarrow{O_2M} \wedge d\vec{f} \quad (\text{C.8})$$

$$= \int_{r=R-\frac{\epsilon}{2}}^{r=R+\frac{\epsilon}{2}} \int_{\phi'=\phi-\frac{\Delta\phi}{2}}^{\phi'=\phi+\frac{\Delta\phi}{2}} \left[z\vec{e}_r + R(\phi' - \phi - \frac{\Delta\phi}{2}) \sin\theta \vec{e}_\phi \right] \wedge [\sigma_{r\theta}\vec{e}_r + \sigma_{\theta\theta}\vec{e}_\theta] r \sin\theta dr d\phi' \quad (\text{C.9})$$

$$\simeq R \sin\theta \Delta\phi \int_{r=R-\frac{\epsilon}{2}}^{r=R+\frac{\epsilon}{2}} z \sigma_{\theta\theta} (1 + \frac{z}{R}) dz \vec{e}_\phi + O(\Delta\phi^2) \quad (\text{C.10})$$

où la dernière ligne est valable dans la limite $\Delta\phi \rightarrow 0$. Soient (g_θ, g_ϕ) les composantes du vecteur des moments par unité de longueur : alors $\vec{M}_2 = R \sin\theta \Delta\phi g_\theta \vec{e}_\phi$ d'où on tire g_θ

$$g_\theta = \int_{-\frac{\epsilon}{2}}^{\frac{\epsilon}{2}} z \sigma_{\theta\theta} (1 + \frac{z}{R}) dz \quad (\text{C.11})$$

et en tenant le même raisonnement sur la face 3 on doit avoir

$$\vec{M}_3 = \int_{r=R-\frac{\epsilon}{2}}^{r=R+\frac{\epsilon}{2}} \int_{\phi'=\phi}^{\phi'=\phi+\Delta\phi} \overrightarrow{O_3M} \wedge d\vec{f} \quad (\text{C.12})$$

$$= \int_{r=R-\frac{\epsilon}{2}}^{r=R+\frac{\epsilon}{2}} \int_{\phi'=\phi-\frac{\Delta\phi}{2}}^{\phi'=\phi+\frac{\Delta\phi}{2}} \left[z\vec{e}_r + R(\theta' - \theta - \frac{\Delta\theta}{2}) \vec{e}_\theta \right] \wedge [\sigma_{\phi\phi}\vec{e}_\phi] r \sin\theta dr d\phi' \quad (\text{C.13})$$

$$= R \sin\theta \Delta\phi \int_{r=R-\frac{\epsilon}{2}}^{r=R+\frac{\epsilon}{2}} z \sigma_{\phi\phi} (1 + \frac{z}{R}) dz \vec{e}_\theta + O(\Delta\phi^2) \quad (\text{C.14})$$

et donc $\vec{M}_3 = g_\phi \vec{e}_\theta$ avec

$$g_\phi = \int_{-\frac{\epsilon}{2}}^{\frac{\epsilon}{2}} z \sigma_{\phi\phi} (1 + \frac{z}{R}) dz \quad (\text{C.15})$$

Equations d'équilibre des forces

Les équations d'équilibre s'obtiennent en écrivant que la somme des forces et des moments des forces appliqués à chaque morceau infinitesimal de coque est nulle. Cela donne donc deux conditions :

– La somme des forces est nulle :

$$\begin{aligned}
 & - R \sin \theta \Delta \phi [-n_\theta(\theta, \phi) \vec{e}_r(\theta, \phi) + t_\theta(\theta, \phi) \vec{e}_\theta(\theta, \phi)] \\
 & + R \sin(\theta + \Delta \theta) \Delta \phi [-n_\theta(\theta + \Delta \theta, \phi) \vec{e}_r(\theta + \Delta \theta, \phi) + t_\theta(\theta + \Delta \theta, \phi) \vec{e}_\theta(\theta + \Delta \theta, \phi)] \\
 & - R \Delta \theta [t_\phi \vec{e}_\phi(\theta, \phi)] \\
 & + R \Delta \theta [t_\phi \vec{e}_\phi(\theta, \phi + \Delta \phi)] \\
 & = R \sin \theta \Delta \theta \Delta \phi (\Delta P - \frac{2\gamma}{R})(\vec{e}_r - \frac{\partial_\theta R}{R} \vec{e}_\theta)
 \end{aligned} \tag{C.16}$$

où les quatre premières lignes correspondent aux forces exercées sur chaque face transversale, dans l'ordre de 1 à 4 sur la fig. C.1a. La cinquième ligne est la force due à la différence de pression ΔP appliquée selon la direction normale à la coque $\vec{e}_r - \frac{\partial_\theta R}{R} \vec{e}_\theta$. En développant cette expression dans la limite $\Delta \theta \rightarrow 0$ et $\Delta \phi \rightarrow 0$, et en utilisant les relations entre les vecteurs directeurs des coordonnées sphériques

$$\begin{aligned}
 \partial_\theta \vec{e}_r &= \vec{e}_\theta & \partial_\theta \vec{e}_\theta &= -\vec{e}_r & \partial_\theta \vec{e}_\phi &= \vec{0} \\
 \partial_\phi \vec{e}_r &= \sin \theta \vec{e}_\phi & \partial_\phi \vec{e}_\theta &= \cos \theta \vec{e}_\phi & \partial_\phi \vec{e}_\phi &= -\sin \theta \vec{e}_r - \cos \theta \vec{e}_\theta
 \end{aligned} \tag{C.17}$$

on obtient les deux équations d'équilibre

$$\partial_\theta n_\theta + \cot \theta n_\theta + t_\theta + t_\phi + 2\gamma = R \Delta P \tag{C.18}$$

$$\partial_\theta t_\theta + \cot \theta (t_\theta - t_\phi) - n_\theta = \partial_\theta R \Delta P \tag{C.19}$$

– la somme des moments des forces est nulle : cette somme inclut les moments sur chaque face, ainsi que le moments des tensions par rapport au centre de la surface :

$$\begin{aligned}
 & - R \sin \theta \Delta \phi [g_\theta(\theta, \phi) \vec{e}_\phi(\theta, \phi)] \\
 & + R \sin(\theta + \Delta \theta) \Delta \phi [g_\theta(\theta + \Delta \theta, \phi) \vec{e}_\phi(\theta + \Delta \theta, \phi)] \\
 & - R \Delta \theta g_\phi(\theta, \phi) \vec{e}_\theta(\theta, \phi) \\
 & + R \Delta \theta g_\phi(\theta, \phi + \Delta \phi) \vec{e}_\theta(\theta, \phi + \Delta \phi) \\
 & + 2R \sin \theta \Delta \phi \left(\frac{R \Delta \theta}{2} (\vec{e}_\theta + \frac{\partial_\theta R}{R} \vec{e}_r) \right) \wedge (-n_\theta \vec{e}_r + t_\theta \vec{e}_\theta) \\
 & + 2R \Delta \theta \left(\frac{R \sin \theta \Delta \phi}{2} \vec{e}_\phi \right) \wedge (t_\phi \vec{e}_\phi) = \vec{0}
 \end{aligned} \tag{C.20}$$

où les quatre premières lignes correspondent aux moments sur les faces 1 à 4 (voir fig. C.1a) et les deux dernières correspondent aux moments des tensions sur les faces respectivement 1-2 et 3-4. On peut vérifier qu'en développant cette équation à petits $\Delta \theta$ et $\Delta \phi$ on obtient la dernière équation d'équilibre

$$\partial_\theta g_\theta + \cot \theta (g_\theta - g_\phi) + R n_\theta + \partial_\theta R t_\theta = 0 \tag{C.21}$$

Selon le contexte on peut inclure ou non les termes en $\frac{\partial_\theta R}{R}$ introduits dans les équations d'équilibre mécanique.

Expression des tensions et moments dans le cas des gels actifs

Dans le modèle des gels actifs, dans la limite élastique et en coordonnées sphériques les contraintes s'écrivent (voir éqs. III.37 à III.40)

$$\sigma_{rr} + p + \frac{1}{3}\zeta\Delta\mu = 2E\partial_r u_r \quad (\text{C.22})$$

$$\sigma_{\theta\theta} + p - \frac{1}{6}\zeta\Delta\mu = 2E(\partial_\theta u_\theta + \frac{u_r}{r}) \quad (\text{C.23})$$

$$\sigma_{\phi\phi} + p - \frac{1}{6}\zeta\Delta\mu = 2E(\cot\theta u_\theta + \frac{u_r}{r}) \quad (\text{C.24})$$

$$\sigma_{r\theta} = E(\partial_r u_\theta + \frac{1}{r}\partial_\theta u_r - \frac{u_\theta}{r}) \quad (\text{C.25})$$

Dans un modèle de couche mince on néglige la contrainte radiale ($\sigma_{rr} \simeq 0$) devant les contraintes tangentielles, car, comme nous l'avons remarqué plus tôt, du fait de la loi de Laplace elles sont d'un ordre $\frac{e}{R}$ plus petit. L'éq. C.36 fixe alors la pression, qui reportée dans les éqs. C.37 et C.38 donne les contraintes tangentielles

$$\sigma_{\theta\theta} = \frac{\zeta\Delta\mu}{2} + 2E(2u_{\theta\theta} + u_{\phi\phi}) \quad (\text{C.26})$$

$$\sigma_{\phi\phi} = \frac{\zeta\Delta\mu}{2} + 2E(u_{\theta\theta} + 2u_{\phi\phi}) \quad (\text{C.27})$$

Le report de ces contraintes dans les éqs. C.4 et C.7 donne directement les tensions t_θ et t_ϕ :

$$t_\theta = \frac{\zeta\Delta\mu e}{2} + \frac{2Ee}{R}(2\partial_\theta u_\theta + u_\theta \cot\theta + 3u_r) \quad (\text{C.28})$$

$$t_\phi = \frac{\zeta\Delta\mu e}{2} + \frac{2Ee}{R}(\partial_\theta u_\theta + 2u_\theta \cot\theta + 3u_r) \quad (\text{C.29})$$

Nous ne calculons pas n_θ qui lors de la résolution des équations de la théorie de coque est une inconnue du problème.

Le calcul des moments g_θ et g_ϕ est plus compliqué : en développant l'expression de g_θ C.11 pour $\frac{z}{R} \ll 1$ on obtient

$$g_\theta = \int_{-\frac{e}{2}}^{\frac{e}{2}} z\sigma_{\theta\theta}(1 + \frac{z}{R})dz \quad (\text{C.30})$$

$$\simeq \sigma_{\theta\theta}(z=0) \int_{-\frac{e}{2}}^{\frac{e}{2}} z(1 + \frac{z}{R})dz + \int_{-\frac{e}{2}}^{\frac{e}{2}} z^2 \partial_r \sigma_{\theta\theta} dz \quad (\text{C.31})$$

$$\simeq \frac{e^3}{12R}\sigma_{\theta\theta} + \int_{-\frac{e}{2}}^{\frac{e}{2}} z^2 \partial_r \sigma_{\theta\theta} dz \quad (\text{C.32})$$

La deuxième ligne provient d'un développement limité de $\sigma_{\theta\theta}$. Pour calculer la dernière intégrale nous devons obtenir $\partial_r \sigma_{\theta\theta}$ dans la limite $\frac{e}{R} \rightarrow 0$. En éliminant p entre les éqs. C.36 et C.37 on obtient $\partial_r \sigma_{\theta\theta} = \partial_r \sigma_{rr} + 2E\partial_r(2u_{\theta\theta} + u_{\phi\phi})$. On suppose $\sigma_{r\theta} \sim 0$: cette approximation est valable s'il n'y a pas de force tangentielle s'exerçant sur les frontières de la coque. Dans ce cas $\sigma_{r\theta}(z = -\frac{e}{2}) = \sigma_{r\theta}(z = \frac{e}{2}) \simeq 0$. et

donc dans l'approximation de couche mince $\sigma_{r\theta} \simeq 0$. L'équilibre des forces radiales (éq. III.46) se réduit alors à $\partial_r \sigma_{rr} \simeq \frac{1}{R}(\sigma_{\theta\theta} + \sigma_{\phi\phi} - 2\sigma_{rr})$. De ces deux équations on tire ainsi

$$\partial_r \sigma_{\theta\theta} = \frac{1}{R} [\zeta \Delta \mu + 6E (\partial_\theta u_\theta + \cot \theta u_\theta + 2u_r) + 2E \partial_r (2\partial_\theta u_\theta + \cot \theta u_\theta + 3u_r)] \quad (\text{C.33})$$

Cette expression fait apparaître des termes en $\partial_r u_r$ et $\partial_r u_\theta$: dans la théorie de coque nous ne voulons pas conserver de dérivées radiales de la déformation. Du fait de l'incompressibilité on tire $\partial_r u_r = -[\partial_\theta u_\theta + \cot \theta u_\theta + 2\frac{u_r}{R}]$. Par ailleurs, en utilisant $\sigma_{r\theta} \simeq 0$ et l'éq. C.39 on obtient $\partial_r u_\theta \simeq \frac{1}{R}(u_\theta - \partial_\theta u_r)$. En reportant ces valeurs dans l'éq. C.33 puis C.32 on trouve finalement

$$g_\theta = \frac{e^3}{12R} \left[\frac{3\zeta \Delta \mu}{2} + \frac{2E}{R} (2\partial_\theta u_\theta + \cot \theta u_\theta - 2\partial_\theta^2 u_r - \cot \theta \partial_\theta u_r) \right] \quad (\text{C.34})$$

et en utilisant le même raisonnement pour g_ϕ

$$g_\phi = \frac{e^3}{12R} \left[\frac{3\zeta \Delta \mu}{2} + \frac{2E}{R} (\partial_\theta u_\theta + 2 \cot \theta u_\theta - \partial_\theta^2 u_r - 2 \cot \theta \partial_\theta u_r) \right] \quad (\text{C.35})$$

Les mêmes équations sont valables dans la limite liquide, en remplaçant E par η et le champ de déformation u par le champ de vitesse v . Dans le chap. IV nous sommes amenés à ajouter une perturbation de la polarisation. Les équations constitutives deviennent alors

$$\sigma_{rr} + p + \frac{1}{3}\zeta \Delta \mu = 2E \partial_r u_r \quad (\text{C.36})$$

$$\sigma_{\theta\theta} + p - \frac{1}{6}\zeta \Delta \mu - \tilde{Q}\zeta \Delta \mu = 2E(\partial_\theta u_\theta + \frac{u_r}{r}) \quad (\text{C.37})$$

$$\sigma_{\phi\phi} + p - \frac{1}{6}\zeta \Delta \mu + \tilde{Q}\zeta \Delta \mu = 2E(\cot \theta u_\theta + \frac{u_r}{r}) \quad (\text{C.38})$$

$$\sigma_{r\theta} - \frac{1}{2} \frac{\partial_\theta R}{R} \zeta \Delta \mu = E(\partial_r u_\theta + \frac{1}{r} \partial_\theta u_r - \frac{u_\theta}{r}) \quad (\text{C.39})$$

En suivant la démarche que nous venons d'exposer, avec ces nouvelles contraintes, on peut calculer les moments et les tensions dont les expressions sont données dans le chap. IV (eqs IV.66 à IV.71).

Bibliographie

- [1] A Ahmadi, T B Liverpool, and M C Marchetti. Nematic and polar order in active filament solutions. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys*, 72(6 Pt 1) :060901, 2005.
- [2] B. Alberts, D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, and J. D. Watson. *Molecular Biology of the Cell*. Garland Science Publ., NY, 2002.
- [3] N L Allbritton, T Meyer, and L Stryer. Range of messenger action of calcium ion and inositol 1,4,5-trisphosphate. *Science*, 258(5089) :1812–1815, 1992.
- [4] M Amano, M Ito, K Kimura, Y Fukata, K Chihara, T Nakano, Y Matsuura, and K Kaibuchi. Phosphorylation and activation of myosin by rho-associated kinase (rho-kinase). *J Biol Chem*, 271(34) :20246–20249, 1996.
- [5] P. D. Arora, K. J. Bibby, and C. A. G. McCulloch. Slow oscillations of free intracellular calcium ion concentration in human fibroblasts responding to mechanical stretch. *Journal of Cellular Physiology*, 161 :187, 1994.
- [6] R Bar-Ziv, T Thusty, E Moses, S A Safran, and A Bershadsky. Pearling in cells : a clue to understanding cell shape. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96(18) :10140–10145, 1999.
- [7] W M Bement, H A Benink, and G von Dassow. A microtubule-dependent zone of active rhoa during cleavage plane specification. *J Cell Biol*, 170(1) :91–101, 2005.
- [8] W M Bement, C A Mandato, and M N Kirsch. Wound-induced assembly and closure of an actomyosin purse string in xenopus oocytes. *Curr Biol*, 9(11) :579–587, 1999.
- [9] D Biron, E Alvarez-Lacalle, T Thusty, and E Moses. Molecular model of the contractile ring. *Phys Rev Lett*, 95(9) :098102, 2005.
- [10] DJ Black, QK Tran, and A Persechini. Monitoring the total available calmodulin concentration in intact cells over the physiological range in free Ca^{2+} . *Cell Calcium*, 35(5) :415–25, 2004.
- [11] M. Bornens, M. Paintrand, and C. Celati. The cortical microfilament system of lymphoblasts display a periodic oscillatory activity in the absence of microtubules : implications for cell polarity. *J. Cell Biol.*, 109 :1071, 1989.
- [12] D Bray. *Cells movements : from Molecules to Motility*. Garland Science Publ., 2001.
- [13] D Bray and J G White. Cortical flow in animal cells. *Science*, 239(4842) :883–888, 1988.

- [14] A R Bresnick. Molecular mechanisms of nonmuscle myosin-ii regulation. *Curr Opin Cell Biol*, 11(1) :26–33, 1999.
- [15] A Bretscher, K Edwards, and R G Fehon. Erm proteins and merlin : integrators at the cell cortex. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 3(8) :586–599, 2002.
- [16] F Brochard-Wyart, N Borghi, D Cuvelier, and P Nassoy. Hydrodynamic narrowing of tubes extruded from cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103(20) :7660–7663, 2006.
- [17] F Brochard-Wyart, N Borghi, D Cuvelier, and P Nassoy. Hydrodynamic narrowing of tubes extruded from cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103(20) :7660–7663, 2006.
- [18] L G Cao and Y L Wang. Mechanism of the formation of contractile ring in dividing cultured animal cells. ii. cortical movement of microinjected actin filaments. *J Cell Biol*, 111(5 Pt 1) :1905–1911, 1990.
- [19] M F Carlier and D Pantaloni. Direct evidence for adp-pi-f-actin as the major intermediate in atp-actin polymerization. rate of dissociation of pi from actin filaments. *Biochemistry*, 25(24) :7789–7792, 1986.
- [20] G Charras and E Paluch. Blebs lead the way : how to migrate without lamellipodia. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008.
- [21] G T Charras, M Coughlin, T J Mitchison, and L Mahadevan. Life and times of a cellular bleb. *Biophys J*, 94(5) :1836–1853, 2008.
- [22] G T Charras and M A Horton. Single cell mechanotransduction and its modulation analyzed by atomic force microscope indentation. *Biophys J*, 82(6) :2970–2981, 2002.
- [23] G T Charras, C Hu, M Coughlin, and T J Mitchison. Reassembly of contractile actin cortex in cell blebs. *J Cell Biol*, 175(3) :477–490, 2006.
- [24] G T Charras, B A Williams, S M Sims, and MA Horton. Estimating the sensitivity of mechanosensitive ion channels to membrane strain and tension. *Biophys J*, 87(4) :2870–2884, 2004.
- [25] G T Charras, J C Yarrow, M A Horton, L Mahadevan, and T J Mitchison. Non-equilibration of hydrostatic pressure in blebbing cells. *Nature*, 435(7040) :365–369, 2005.
- [26] DP Corey and AJ Hudspeth. Kinetics of the receptor current in bullfrog saccular hair cells. *J. Neurosci.*, 3(5) :962–976, 1983.
- [27] Carrie R Cowan and Anthony A Hyman. Acto-myosin reorganization and par polarity in *c. elegans*. *Development*, 134(6) :1035–1043, 2007.
- [28] C. Cunningham. Actin polymerization and intracellular solvent flow in cell surface blebbing. *J. Cell Biol.*, 129 :1589, 1995.
- [29] C C Cunningham, J B Gorlin, D J Kwiatkowski, J H Hartwig, P A Janmey, H R Byers, and T P Stossel. Actin-binding protein requirement for cortical stability and efficient locomotion. *Science*, 255(5042) :325–327, 1992.
- [30] J Dai and M P Sheetz. Membrane tether formation from blebbing cells. *Biophys J*, 77(6) :3363–3370, 1999.

-
- [31] P P D'Avino, M S Savoian, and D M Glover. Cleavage furrow formation and ingression during animal cytokinesis : a microtubule legacy. *J Cell Sci*, 118(Pt 8) :1549–1558, 2005.
- [32] P G de Gennes, F Brochard-Wyart, and D Quere. *Gouttes, bulles, perles et ondes*. Belin, 2002.
- [33] P. G. De Gennes and J. Prost. *The Physics of Liquid Crystals*. Clarendon Press, Oxford, 1993.
- [34] SR De Groot and P Mazur. *Non-equilibrium thermodynamics*. Dover, 1962.
- [35] G Debregeas, P Martin, and F Brochard-Wyart. Viscous bursting of suspended films. *Phys Rev Lett*, 75(21) :3886–3889, 1995.
- [36] R Dechant and M Glotzer. Centrosome separation and central spindle assembly act in redundant pathways that regulate microtubule density and trigger cleavage furrow formation. *Dev Cell*, 4(3) :333–344, 2003.
- [37] N Desprat, A Richert, J Simeon, and A Asnacios. Creep function of a single living cell. *Biophys J*, 88(3) :2224–2233, 2005.
- [38] M Edidin. Rotational and translational diffusion in membranes. *Annu Rev Biophys Bioeng*, 3(0) :179–201, 1974.
- [39] K M Eisenmann, E S Harris, S M Kitchen, H A Holman, H N Higgs, and A S Alberts. Dia-interacting protein modulates formin-mediated actin assembly at the cell cortex. *Curr Biol*, 17(7) :579–591, 2007.
- [40] H.Y. Elmoazzen, J.A.W. Elliot, and L.E. McGann. The effect of temperature on membrane hydraulic conductivity. *Cryobiology*, 45 :68–79, 2002.
- [41] E Evans. Probing the relation between force–lifetime–and chemistry in single molecular bonds. *Annu Rev Biophys Biomol Struct*, 30 :105–128, 2001.
- [42] E Evans and A Yeung. Apparent viscosity and cortical tension of blood granulocytes determined by micropipet aspiration. *Biophys J*, 56(1) :151–160, 1989.
- [43] O T Fackler and R Grosse. Cell motility through plasma membrane blebbing. *J Cell Biol*, 181(6) :879–884, 2008.
- [44] Jan Faix and Robert Grosse. Staying in shape with formins. *Dev Cell*, 10(6) :693–706, 2006.
- [45] D J Fishkind, J D Silverman, and Y L Wang. Function of spindle microtubules in directing cortical movement and actin filament organization in dividing cultured cells. *J Cell Sci*, 109 (Pt 8) :2041–2051, 1996.
- [46] D J Fishkind and Y L Wang. Orientation and three-dimensional organization of actin filaments in dividing cultured cells. *J Cell Biol*, 123(4) :837–848, 1993.
- [47] P Friedl, S Borgmann, and E B Brocker. Amoeboid leukocyte crawling through extracellular matrix : lessons from the dictyostelium paradigm of cell movement. *J Leukoc Biol*, 70(4) :491–509, 2001.
- [48] Y Fukui, T Kitanishi-Yumura, and S Yumura. Myosin ii-independent f-actin flow contributes to cell locomotion in dictyostelium. *J Cell Sci*, 112 (Pt 6) :877–886, 1999.

- [49] P.G. De Gennes. *Scaling Concepts in Polymer Physics*. Cornell University Press, 1979.
- [50] F Gerbal, P Chaikin, Y Rabin, and J Prost. An elastic analysis of listeria monocytogenes propulsion. *Biophys J*, 79(5) :2259–2275, 2000.
- [51] G Gerisch and I Weber. Cytokinesis without myosin ii. *Curr Opin Cell Biol*, 12(1) :126–132, 2000.
- [52] M Glogauer, J Ferrier, and C A McCulloch. Magnetic fields applied to collagen-coated ferric oxide beads induce stretch-activated ca^{2+} flux in fibroblasts. *Am J Physiol*, 269(5 Pt 1) :C1093–104, 1995.
- [53] M Glotzer. The molecular requirements for cytokinesis. *Science*, 307(5716) :1735–1739, 2005.
- [54] M Guha, M Zhou, and Y L Wang. Cortical actin turnover during cytokinesis requires myosin ii. *Curr Biol*, 15(8) :732–736, 2005.
- [55] S Guo and K J Kemphues. A non-muscle myosin required for embryonic polarity in caenorhabditis elegans. *Nature*, 382(6590) :455–458, 1996.
- [56] E. Guyon, J.P. Hulin, L. Petit, and C.D. Matescu. *Physical Hydrodynamics*. Oxford University Press, 2001.
- [57] J Hagmann, M M Burger, and D Dagan. Regulation of plasma membrane blebbing by the cytoskeleton. *J Cell Biochem*, 73(4) :488–499, 1999.
- [58] O P Hamill and B Martinac. Molecular basis of mechanotransduction in living cells. *Physiol Rev*, 81(2) :685–740, 2001.
- [59] F Hanakam, R Albrecht, C Eckerskorn, M Matzner, and G Gerisch. Myristoylated and non-myristoylated forms of the ph sensor protein hisactophilin ii : intracellular shuttling to plasma membrane and nucleus monitored in real time by a fusion with green fluorescent protein. *EMBO J*, 15(12) :2935–2943, 1996.
- [60] J. Happel and H. Brenner. *Low Reynolds Number Hydrodynamics*. Prentice-Hall, 1965.
- [61] D J Hartshorne, M Ito, and F Erdodi. Myosin light chain phosphatase : subunit composition, interactions and regulation. *J Muscle Res Cell Motil*, 19(4) :325–341, 1998.
- [62] Y. Hatwalne, S. Ramaswamy, M. Rao, and R. A. Simha. Rheology of active-particle suspensions. *Phys. Rev. Lett.*, 92 :118101, 2004.
- [63] GR X Hickson, A Echard, and P H O’Farrell. Rho-kinase controls cell shape changes during cytokinesis. *Curr Biol*, 16(4) :359–370, 2006.
- [64] A L Hitt, J H Hartwig, and E J Luna. Ponticulin is the major high affinity link between the plasma membrane and the cortical actin network in dictyostelium. *J Cell Biol*, 126(6) :1433–1444, 1994.
- [65] R M Hochmuth. Micropipette aspiration of living cells. *J Biomech*, 33(1) :15–22, 2000.
- [66] H E Huxley. Electron microscope studies on the structure of natural and synthetic protein filaments from striated muscle. *J Mol Biol*, 7 :281–308, 1963.

-
- [67] R Insall, A Muller-Taubenberger, L Machesky, J Kohler, E Simmeth, S J Atkinson, I Weber, and G Gerisch. Dynamics of the dictyostelium arp2/3 complex in endocytosis, cytokinesis, and chemotaxis. *Cell Motil Cytoskeleton*, 50(3) :115–128, 2001.
- [68] T Ishizaki, M Uehata, I Tamechika, J Keel, K Nonomura, M Maekawa, and S Narumiya. Pharmacological properties of y-27632, a specific inhibitor of rho-associated kinases. *Mol Pharmacol*, 57(5) :976–983, 2000.
- [69] L. W. Janson, J. Kolega, and D. L. Taylor. Modulation of contraction by gelation/solation in a reconstituted motile model. *J. Cell Biol.*, 114 :1005, 1991.
- [70] J F Joanny, F Julicher, K Kruse, and J Prost. Hydrodynamic theory for multi-component active polar gels. *New Journal of Physics*, 9(11) :422, 2007.
- [71] J.D. Johnson, Christopher Snyder, Michael Walsh, and Maera Flynn. Effects of myosin light chain kinase and peptides on Ca^{2+} exchange with the N- and C-terminal Ca^{2+} binding sites of calmodulin. *J. Biol. Chem*, 271 :761–767, 1996.
- [72] F. Jülicher, K Kruse, J Prost, and J F Joanny. Active behavior of the cytoskeleton. *Physics Reports*, 449 :3–28, 2007.
- [73] R. Kasturi, C. Vasulka, and J.D. Johnson. Ca^{2+} , caldesmon, and myosin light chain kinase exchange with calmodulin. *J. Biol. Chem.*, 268 :7957–7964, 1993.
- [74] H Keller, A D Zadeh, and P Eggli. Localised depletion of polymerised actin at the front of walker carcinosarcoma cells increases the speed of locomotion. *Cell Motil Cytoskeleton*, 53(3) :189–202, 2002.
- [75] K Kimura, M Ito, M Amano, K Chihara, Y Fukata, M Nakafuku, B Yamamori, J Feng, T Nakano, K Okawa, A Iwamatsu, and K Kaibuchi. Regulation of myosin phosphatase by rho and rho-associated kinase (rho-kinase). *Science*, 273(5272) :245–248, 1996.
- [76] K S Ko, P D Arora, and C A McCulloch. Cadherins mediate intercellular mechanical signaling in fibroblasts by activation of stretch-sensitive calcium-permeable channels. *J Biol Chem*, 276(38) :35967–35977, 2001.
- [77] M Kovacs, J Toth, C Hetenyi, A Malnasi-Csizmadia, and J R Sellers. Mechanism of blebbistatin inhibition of myosin ii. *J Biol Chem*, 279(34) :35557–35563, 2004.
- [78] D R Kovar, E S Harris, R Mahaffy, H N Higgs, and T D Pollard. Control of the assembly of atp- and adp-actin by formins and profilin. *Cell*, 124(2) :423–435, 2006.
- [79] D R Kovar and T D Pollard. Insertional assembly of actin filament barbed ends in association with formins produces piconewton forces. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101(41) :14725–14730, 2004.
- [80] HA Kramers. Brownian motion in a field of force and the diffusion model of chemical reactions. *Physica (Utrecht)*, 7 :284–304, 1940.
- [81] M Krendel, F T Zenke, and G M Bokoch. Nucleotide exchange factor gef-h1 mediates cross-talk between microtubules and the actin cytoskeleton. *Nat Cell Biol*, 4(4) :294–301, 2002.

- [82] K Kruse, J F Joanny, F Julicher, and J Prost. Contractility and retrograde flow in lamellipodium motion. *Phys Biol*, 3(2) :130–137, 2006.
- [83] K Kruse, J F Joanny, F Julicher, J Prost, and K Sekimoto. Generic theory of active polar gels : a paradigm for cytoskeletal dynamics. *Eur Phys J E Soft Matter*, 16(1) :5–16, 2005.
- [84] K Kruse and F Julicher. Actively contracting bundles of polar filaments. *Phys Rev Lett*, 85(8) :1778–1781, 2000.
- [85] P Kunda, A E Pelling, T Liu, and B Baum. Moesin controls cortical rigidity, cell rounding, and spindle morphogenesis during mitosis. *Curr Biol*, 18(2) :91–101, 2008.
- [86] E Lee, E A Shelden, and D A Knecht. Formation of f-actin aggregates in cells treated with actin stabilizing drugs. *Cell Motil Cytoskeleton*, 39(2) :122–133, 1998.
- [87] B P Liu, M Chrzanowska-Wodnicka, and K Burridge. Microtubule depolymerization induces stress fibers, focal adhesions, and dna synthesis via the gtp-binding protein rho. *Cell Adhes Commun*, 5(4) :249–255, 1998.
- [88] T B Liverpool and M C Marchetti. Instabilities of isotropic solutions of active polar filaments. *Phys Rev Lett*, 90(13) :138102, 2003.
- [89] A.E. Love. *Treatise on the Mathematical Theory of Elasticity*. Cambridge University Press, 1927.
- [90] K Luby-Phelps, F Lanni, and D L Taylor. Behavior of a fluorescent analogue of calmodulin in living 3t3 cells. *J Cell Biol*, 101(4) :1245–1256, 1985.
- [91] TJ Lukas. A signal transduction pathway model prototype I : from agonist to cellular endpoint. *Biophys J.*, 87 :1404–1416, 2004.
- [92] I Mabuchi, S Tsukita, S Tsukita, and T Sawai. Cleavage furrow isolated from newt eggs : contraction, organization of the actin filaments, and protein components of the furrow. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 85(16) :5966–5970, 1988.
- [93] S K Maciver. How adf/cofilin depolymerizes actin filaments. *Curr Opin Cell Biol*, 10(1) :140–144, 1998.
- [94] A S Maddox and K Burridge. Rhoa is required for cortical retraction and rigidity during mitotic cell rounding. *J Cell Biol*, 160(2) :255–265, 2003.
- [95] C A Mandato and W M Bement. Contraction and polymerization cooperate to assemble and close actomyosin rings around xenopus oocyte wounds. *J Cell Biol*, 154(4) :785–797, 2001.
- [96] C A Mandato and W M Bement. Actomyosin transports microtubules and microtubules control actomyosin recruitment during xenopus oocyte wound healing. *Curr Biol*, 13(13) :1096–1105, 2003.
- [97] T. J. Manning-Jr, J. C. Parker, and H. Sontheimer. Role of lysophosphatidic acid and rho in glioma cell motility. *Cell Motility and Cytoskeleton*, 45 :185, 2000.
- [98] T. J. Manning-Jr, S. S. Rosenfeld, and H. Sontheimer. Lysophosphatidic acid stimulates actomyosin contraction in astrocytes. *Journal of Neuroscience Research*, 53 :343, 1998.

-
- [99] PC Martin, O Parodi, and PS Pershan. Unified hydrodynamic theory for crystals, liquid crystals, and normal fluids. *Phys Rev A*, 6(6) :2401–2420, 1972.
- [100] O Medalia, I Weber, A S Frangakis, D Nicastro, G Gerisch, and W Baumeister. Macromolecular architecture in eukaryotic cells visualized by cryoelectron tomography. *Science*, 298(5596) :1209–1213, 2002.
- [101] N Morone, T Fujiwara, K Murase, R S Kasai, H Ike, S Yuasa, J Usukura, and A Kusumi. Three-dimensional reconstruction of the membrane skeleton at the plasma membrane interface by electron tomography. *J Cell Biol*, 174(6) :851–862, 2006.
- [102] S Mukhina, Y L Wang, and M Murata-Hori. Alpha-actinin is required for tightly regulated remodeling of the actin cortical network during cytokinesis. *Dev Cell*, 13(4) :554–565, 2007.
- [103] E Munro, J Nance, and J R Priess. Cortical flows powered by asymmetrical contraction transport par proteins to establish and maintain anterior-posterior polarity in the early *c. elegans* embryo. *Dev Cell*, 7(3) :413–424, 2004.
- [104] K Murthy and P Wadsworth. Myosin-ii-dependent localization and dynamics of f-actin during cytokinesis. *Curr Biol*, 15(8) :724–731, 2005.
- [105] F J Nedelec, T Surrey, A C Maggs, and S Leibler. Self-organization of microtubules and motors. *Nature*, 389(6648) :305–308, 1997.
- [106] R Neujahr, C Heizer, and G Gerisch. Myosin ii-independent processes in mitotic cells of dictyostelium discoideum : redistribution of the nuclei, rearrangement of the actin system and formation of the cleavage furrow. *J Cell Sci*, 110 (Pt 2) :123–137, 1997.
- [107] V. Noireaux, R. M. Golsteyn, E. Friederich, J. Prost, C. Antony, D. Louvard, and C. Sykes. Growing an actin gel on spherical surfaces. *Biophysical Journal*, 78 :1643, 2000.
- [108] PD Olmsted and PM Goldbart. Isotropic-nematic transition in shear flow : State selection, coexistence, phase transitions, and critical behavior. *Phys Rev A*, 46(8) :4966–4993, 1992.
- [109] K Ono, M Parast, C Alberico, G M Benian, and S Ono. Specific requirement for two adf/cofilin isoforms in distinct actin-dependent processes in *caenorhabditis elegans*. *J Cell Sci*, 116(Pt 10) :2073–2085, 2003.
- [110] E. Paluch, M. Piel, J. Prost, M. Bornens, and C Sykes. Cortical actomyosin breakage triggers shape oscillations in cells and cell fragments. *Biophys. J.*, 89 :724, 2005.
- [111] S F Pedersen and E K Hoffmann. Possible interrelationship between changes in f-actin and myosin ii, protein phosphorylation, and cell volume regulation in ehrlich ascites tumor cells. *Exp Cell Res*, 277(1) :57–73, 2002.
- [112] S F Pedersen, E K Hoffmann, and J W Mills. The cytoskeleton and cell volume regulation. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 130(3) :385–399, 2001.

- [113] A Piekny, M Werner, and M Glotzer. Cytokinesis : welcome to the rho zone. *Trends Cell Biol*, 15(12) :651–658, 2005.
- [114] J Plastino, I Lelidis, J Prost, and C Sykes. The effect of diffusion, depolymerization and nucleation promoting factors on actin gel growth. *Eur Biophys J*, 33(4) :310–320, 2004.
- [115] O. J. Pletjushkina, Z. Rajfur, P. Pomorski, T. N. Oliver, J. M. Vasiliev, and K. A. Jacobson. Induction of cortical oscillations in spreading cells by depolymerization of microtubules. *Cell Motil. Cytoskel.*, 48 :235, 2001.
- [116] T D Pollard, L Blanchoin, and R D Mullins. Molecular mechanisms controlling actin filament dynamics in nonmuscle cells. *Annu Rev Biophys Biomol Struct*, 29 :545–576, 2000.
- [117] T D Pollard and G G Borisy. Cellular motility driven by assembly and disassembly of actin filaments. *Cell*, 112(4) :453–465, 2003.
- [118] LL Pontani, J. van der Gucht, G Salbreux, J Heuvingh, J.F. Joanny, and C Sykes. Reconstitution of an actin cortex inside a liposome. *submitted to Biophysical Journal*, 2008.
- [119] R Rappaport. Experiments concerning the cleavage furrow in invertebrate eggs. *J Exp Zool*, 161(1) :1–8, 1966.
- [120] R Rappaport. Cytokinesis in animal cells. *Int Rev Cytol*, 31 :169–213, 1971.
- [121] R. Rappaport. *Cytokinesis in Animal Cells*. Cambridge University Press, 1996.
- [122] D Raucher and M P Sheetz. Characteristics of a membrane reservoir buffering membrane tension. *Biophys J*, 77(4) :1992–2002, 1999.
- [123] X D Ren, W B Kiosses, and M A Schwartz. Regulation of the small gtp-binding protein rho by cell adhesion and the cytoskeleton. *EMBO J*, 18(3) :578–585, 1999.
- [124] D N Robinson, G Cavet, H M Warrick, and J A Spudich. Quantitation of the distribution and flux of myosin-ii during cytokinesis. *BMC Cell Biol*, 3 :4, 2002.
- [125] O C Rodriguez, A W Schaefer, C A Mandato, P Forscher, W M Bement, and C M Waterman-Storer. Conserved microtubule-actin interactions in cell movement and morphogenesis. *Nat Cell Biol*, 5(7) :599–609, 2003.
- [126] E Sahai and C J Marshall. Differing modes of tumour cell invasion have distinct requirements for rho/rock signalling and extracellular proteolysis. *Nat Cell Biol*, 5(8) :711–719, 2003.
- [127] M. Saitoh, T. Ishikawa, S. Matsushima, M. Naka, and H. Hidaka. Selective inhibition of catalytic activity of smooth muscle myosin light chain kinase. *J. Biol. Chem.*, 262 :7796, 1987.
- [128] G Salbreux, J F Joanny, J Prost, and P Pullarkat. Shape oscillations of non-adhering fibroblast cells. *Phys Biol*, 4(4) :268–284, 2007.
- [129] D A Schafer, P B Jennings, and J A Cooper. Dynamics of capping protein and actin assembly in vitro : uncapping barbed ends by polyphosphoinositides. *J Cell Biol*, 135(1) :169–179, 1996.

-
- [130] J M Scholey, I Brust-Mascher, and A Mogilner. Cell division. *Nature*, 422(6933) :746–752, 2003.
- [131] K Sekimoto, J Prost, F Julicher, H Boukellal, and A Bernheim-Grosswasser. Role of tensile stress in actin gels and a symmetry-breaking instability. *Eur Phys J E Soft Matter*, 13(3) :247–259, 2004.
- [132] A F Severson, D L Baillie, and B Bowerman. A formin homology protein and a profilin are required for cytokinesis and arp2/3-independent assembly of cortical microfilaments in *c. elegans*. *Curr Biol*, 12(24) :2066–2075, 2002.
- [133] A Shiratsuchi, T Mori, and Y Nakanishi. Independence of plasma membrane blebbing from other biochemical and biological characteristics of apoptotic cells. *J Biochem*, 132(3) :381–386, 2002.
- [134] W. Sigurdson, A. Ruknudin, and F. Sachs. Calcium imaging of mechanically induced fluxes in tissue-cultured chick heart : role of stretch-activated ion channels. *Am. J. Physiol.*, 262 :H1110, 1992.
- [135] J.C. Slater. *Quantum Theory of Atomic Structure*. McGraw-Hill, 1960.
- [136] J V Small, T Stradal, E Vignal, and K Rottner. The lamellipodium : where motility begins. *Trends Cell Biol*, 12(3) :112–120, 2002.
- [137] L L Stockbridge and A S French. Stretch-activated cation channels in human fibroblasts. *Biophys J*, 54(1) :187–190, 1988.
- [138] H Q Sun, M Yamamoto, M Mejillano, and H L Yin. Gelsolin, a multifunctional actin regulatory protein. *J Biol Chem*, 274(47) :33179–33182, 1999.
- [139] T Surrey, F Nedelec, S Leibler, and E Karsenti. Physical properties determining self-organization of motors and microtubules. *Science*, 292(5519) :1167–1171, 2001.
- [140] R Swaminathan, C P Hoang, and A S Verkman. Photobleaching recovery and anisotropy decay of green fluorescent protein gfp-s65t in solution and cells : cytoplasmic viscosity probed by green fluorescent protein translational and rotational diffusion. *Biophys J*, 72(4) :1900–1907, 1997.
- [141] D A Taylor and J T Stull. Calcium dependence of myosin light chain phosphorylation in smooth muscle cells. *J Biol Chem*, 263(28) :14456–14462, 1988.
- [142] M Thery, A Jimenez-Dalmaroni, V Racine, M Bornens, and F Julicher. Experimental and theoretical study of mitotic spindle orientation. *Nature*, 447(7143) :493–496, 2007.
- [143] O Thoumine, O Cardoso, and J J Meister. Changes in the mechanical properties of fibroblasts during spreading : a micromanipulation study. *Eur Biophys J*, 28(3) :222–234, 1999.
- [144] Y Tsuda, H Yasutake, A Ishijima, and T Yanagida. Torsional rigidity of single actin filaments and actin-actin bond breaking force under torsion measured directly by in vitro micromanipulation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 93(23) :12937–12942, 1996.
- [145] S Tsukita, S Yonemura, and S Tsukita. Erm proteins : head-to-tail regulation of actin-plasma membrane interaction. *Trends Biochem Sci*, 22(2) :53–58, 1997.

- [146] P Vallotton, G Danuser, S Bohnet, J J Meister, and A B Verkhovsky. Tracking retrograde flow in keratocytes : news from the front. *Mol Biol Cell*, 16(3) :1223–1231, 2005.
- [147] Dimitrios Vavylonis, Jian-Qiu Wu, Steven Hao, Ben O’Shaughnessy, and Thomas D Pollard. Assembly mechanism of the contractile ring for cytokinesis by fission yeast. *Science*, 319(5859) :97–100, 2008.
- [148] C M Waterman-Storer and E D Salmon. Actomyosin-based retrograde flow of microtubules in the lamella of migrating epithelial cells influences microtubule dynamic instability and turnover and is associated with microtubule breakage and treadmilling. *J Cell Biol*, 139(2) :417–434, 1997.
- [149] J G White and G G Borisy. On the mechanisms of cytokinesis in animal cells. *J Theor Biol*, 101(2) :289–316, 1983.
- [150] T Wittmann and C M Waterman-Storer. Cell motility : can rho gtpases and microtubules point the way? *J Cell Sci*, 114(Pt 21) :3795–3803, 2001.
- [151] F. Wottawah, S. Schinkinger, B. Lincoln, R. Ananthakrishnan, M. Romeyke, J. Guck, and J. Kas. Optical rheology of biological cells. *Physical Review Letters*, 94(9) :098103, 2005.
- [152] R P Woychik, R L Maas, R Zeller, T F Vogt, and P Leder. ‘formins’ : proteins deduced from the alternative transcripts of the limb deformity gene. *Nature*, 346(6287) :850–853, 1990.
- [153] L J Wuestehube and E J Luna. F-actin binds to the cytoplasmic surface of ponticulin, a 17-kd integral glycoprotein from dictyostelium discoideum plasma membranes. *J Cell Biol*, 105(4) :1741–1751, 1987.
- [154] H L Yin and P A Janmey. Phosphoinositide regulation of the actin cytoskeleton. *Annu Rev Physiol*, 65 :761–789, 2003.
- [155] H L Yin and T P Stossel. Control of cytoplasmic actin gel-sol transformation by gelsolin, a calcium-dependent regulatory protein. *Nature*, 281(5732) :583–586, 1979.
- [156] K Yoshida and T Soldati. Dissection of amoeboid movement into two mechanically distinct modes. *J Cell Sci*, 119(Pt 18) :3833–3844, 2006.
- [157] S Yumura. Myosin ii dynamics and cortical flow during contractile ring formation in dictyostelium cells. *J Cell Biol*, 154(1) :137–146, 2001.
- [158] J H Zang, G Cavet, J H Sabry, P Wagner, S L Moores, and J A Spudich. On the role of myosin-ii in cytokinesis : division of dictyostelium cells under adhesive and nonadhesive conditions. *Mol Biol Cell*, 8(12) :2617–2629, 1997.
- [159] J H Zang and J A Spudich. Myosin ii localization during cytokinesis occurs by a mechanism that does not require its motor domain. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95(23) :13652–13657, 1998.
- [160] T. Zeng, G. C. L. Bett, and F. Sachs. Stretch-activated whole cell currents in adult rat cardiac myocytes. *Am. J. Physiol.*, 278 :H548, 2000.
- [161] M Zhou and Y L Wang. Distinct pathways for the early recruitment of myosin ii and actin to the cytokinetic furrow. *Mol Biol Cell*, 19(1) :318–326, 2008.

- [162] Z Zhou and E Neher. Mobile and immobile calcium buffers in bovine adrenal chromaffin cells. *J Physiol*, 469 :245–273, 1993.
- [163] A. Zundieck et al. Continuum description of the cytoskeleton : Ring formation in the cell cortex. *Phys. Rev. Lett.*, 95 :258103, 2005.
- [164] A Zundieck, K Kruse, H Bringmann, A A Hyman, and F Julicher. Stress generation and filament turnover during actin ring constriction. *PLoS ONE*, 2(1) :e696, 2007.