



HAL
open science

Transport intracellulaire par des moteurs moléculaires : étude théorique

Alexandre Mamane

► **To cite this version:**

Alexandre Mamane. Transport intracellulaire par des moteurs moléculaires : étude théorique. Physique [physics]. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2015. Français. NNT : 2015PA066728 . tel-01445656

HAL Id: tel-01445656

<https://theses.hal.science/tel-01445656>

Submitted on 10 Jul 2017

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 ET MARIE CURIE

Spécialité : Physique

École doctorale : « Physique en Île-de-France »
réalisée au laboratoire de physico-chimie, institut Curie

présentée par

Alexandre MAMANE

pour obtenir le grade de :

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE

Sujet de la thèse :

**Transport intracellulaire par des moteurs
moléculaires : étude théorique**

Thèse dirigée par : **Jean-François Joanny**
et co-dirigée par : **Jacques Prost**

jury :

M.	Andrea Parmeggiani	Rapporteur
M ^{me}	Marileen Dogterom	Rapporteur
M.	Karsten Kruse	Examineur
M.	Ignacio Pagonabarraga	Examineur
M.	Raphaël Voituriez	Examineur
M.	Jean-François Joanny	Directeur de thèse

Table des matières

1. Introduction générale	1
1.1. Quelques protéines impliquées dans les mouvements dans la cellule .	5
1.1.1. Les microtubules et filaments d'actine	5
1.1.2. Les moteurs moléculaires	6
1.2. Le transport intracellulaire	11
1.2.1. Homéostasie et ciblage des macromolécules	11
1.2.2. Diffusion dans le cytoplasme	12
1.2.3. Transport actif dans la cellule	13
I. Extraction de tubes membranaires par des moteurs non processifs renforcés par la force, les myosines 1b	15
Table de symboles	17
2. Introduction : transport par trafic membranaire, physique de la myosine 1b et de l'extraction des tubes membranaires	19
2.1. Transport par trafic membranaire dans la cellule	19
2.1.1. Le transport vésiculaire	19
2.1.2. Le transport par les tubes membranaires	20
2.2. L'effet de renforcement induit par la force et le cas de la myosine 1b	21
2.2.1. L'effet de la force sur la thermodynamique et la cinétique des réactions chimiques	21
2.2.2. L'effet de renforcement de liaison par la force	22
2.3. La myosine 1b	24
2.4. Les tubes membranaires	24
2.4.1. Les membranes	24
2.4.2. Les tubes membranaires	28
2.5. Extraction de tubes membranaires par des moteurs processifs, les kinésines	31
3. Expériences in vivo et biomimétique sur l'extraction de tubes membranaires par les myosines 1b	35
3.1. Expérience in vivo : les myosines 1b sont essentielles dans la formation de transporteurs MPR au niveau du réseau trans-Golgi	35

3.2. Expérience biomimétique	36
3.2.1. Protocole expérimental	36
3.2.2. Résultats expérimentaux	37
4. Modèle de l'extraction de tubes membranaires par les moteurs non processifs renforcés par la force myosine 1b	41
4.1. Modélisation du cycle ATPase de la myosine 1b	41
4.2. Position du problème	42
4.3. Dynamique des myosines 1b le long du tube	43
4.3.1. Mise en équations de la dynamique des densités en myosines 1b accrochées ρ_b et décrochées ρ_u du faisceau d'actine	43
4.3.2. Dynamique de la densité totale en myo1bs ρ le long du tube	45
4.3.3. Profils de densité à l'extrémité du tube	46
4.3.4. Les différents régimes de croissance du tube	47
4.4. Modélisation du mécanisme d'élongation à l'extrémité du tube	51
4.4.1. Simulation de la croissance du tube	51
4.4.2. Résultats numériques	53
4.4.3. Résolution analytique	56
4.5. Génération de tubes membranaires par les vésicules, en fonction des paramètres expérimentaux	62
4.6. Comparaison quantitative avec les expériences	64
4.6.1. Estimation de n_f le nombre de filaments accessibles aux tubes	64
4.6.2. Vitesse d'extraction et fluctuations	65
4.6.3. Diagramme d'extraction	67
4.7. Conclusion	67
II. Modélisation de l'écoulement cytoplasmique méiotique dans l'embryon de <i>C.elegans</i>	71
Table de symboles	73
5. Introduction : perspective physique sur l'écoulement cytoplasmique	75
5.1. Le mélange du cytoplasme	75
5.2. L'écoulement cytoplasmique	76
5.3. L'exemple de l'algue characée	77
5.3.1. Etude de l'écoulement et de ses rôles possibles	78
5.3.2. Mécanisme de l'entraînement et rhéologie du cytoplasme	79
5.4. Rôle dans le transport intracellulaire	81
5.5. Emergence de l'écoulement par auto organisation	81

6. Observations expérimentales de l'écoulement cytoplasmique dans l'embryon de <i>C.elegans</i>	83
6.1. L'écoulement cytoplasmique est perpendiculaire au grand axe de la cellule, son orientation est stochastique et se renverse occasionnellement	83
6.2. Nécessité de la structure réticulée du RE pour l'écoulement	84
6.3. L'écoulement est requis pour l'alignement des microtubules	85
6.4. L'inhibition de la katanine augmente la vitesse de l'écoulement et diminue son taux de renversement	86
7. Modélisation de l'écoulement cytoplasmique méiotique dans l'embryon de <i>C.elegans</i>	89
7.1. Description du modèle	89
7.1.1. Instabilité dynamique des microtubules	89
7.1.2. Dynamique des kinésines et forçage induit sur le reticulum endoplasmique	90
7.1.3. Description hydrodynamique du RE et du cytoplasme	92
7.1.4. Pivot des microtubules sous l'effet de l'écoulement	95
7.1.5. Comparaison qualitative de l'efficacité des deux mélanges pour mettre le cytoplasme en mouvement	95
7.1.6. Adimensionalisation du problème	96
7.2. Analyse de l'écoulement cortical	97
7.2.1. Résolution numérique	98
7.2.2. Solution analytique	99
7.2.3. L'écoulement dans la cellule	107
7.3. Renversement stochastique de l'orientation de l'écoulement cytoplasmique	107
7.3.1. Dynamique des grandeurs moyennes dans le système	108
7.3.2. Dynamique stochastique des grandeurs du système	110
7.3.3. Temps moyen de renversement de l'orientation de l'écoulement cytoplasmique	116
7.4. Comparaison avec les expériences	117
7.4.1. Estimation expérimentale de la densité moyenne linéaire en kinésines sur les microtubules	117
7.4.2. Interprétation de la distribution de longueur des microtubules, estimation de l , ω_{cata} et c_0	118
7.4.3. Interprétation des phénotypes <i>unc-116</i> RNAi et <i>yop-1</i> & <i>ret-1</i> RNAi	120
7.4.4. Détermination des paramètres du modèle correspondant aux phénotypes sauvage et <i>mei-1</i> RNAi	121
7.5. Rôle de l'écoulement cytoplasmique méiotique dans l'embryon <i>C.elegans</i>	123
7.6. Conclusion	124

Conclusion générale	127
A. Modèle d'extraction de tubes membranaires par les moteurs non processifs, charge renforcée myo1b	131
A.1. Résultats annexes de la simulation numérique de croissance du tube	131
B. Modèle du flux cytoplasmique dans l'embryon de <i>C.elegans</i>	135
B.1. Notations	135
B.2. Relation de fermeture	135
B.3. Validité du modèle	136
B.3.1. Modélisation des microtubules	136
B.3.2. Modélisation du RE	137
B.4. Force des kinésines sur le mélange RE-cytoplasme	137
B.4.1. Cas du RE fragmenté en vésicules	137
B.4.2. Cas du RE connecté en réseau de tubes	139
Bibliographie	141

Chapitre 1.

Introduction générale

C'est beaucoup gagner que
d'acquérir dans l'histoire de la
Nature un fait rare

(Buffon)

Les systèmes vivants sont soumis aux contraintes des lois physiques du fait de leur nature matérielle. Ils sont plongés dans l'espace et le temps. L'espace implique pour un objet vivant l'existence d'étendue, de structure, de forme, d' interfaces (perméable ou pas), de fragmentation, d'encombrement. Le temps implique que les phénomènes vivants sont caractérisés par une échelle temporelle, une dynamique : présence d'attracteurs stables ou instables, de fluctuations. Les processus se déroulant dans les structures vivantes se décomposent en flux, mouvements, transports. Le fonctionnement des systèmes vivants est contraint par les lois physiques (conservation de la matière et de l'énergie ...). Ce sont des systèmes ouverts, c'est une de leur propriétés centrales, et ils maintiennent un état hors équilibre. Notons que cette propriété n'est pas exclusive. Il n'existe pas de définition exacte du vivant, si ce n'est l'ensemble des systèmes issus du processus d'évolution des espèces, dont l'origine est aujourd'hui l'objet de conjectures. Nous présentons quelques conséquences de cette propriété. Le maintien de l'état hors équilibre pour un système hautement structuré requiert une coordination interne, qui repose sur la génération et la propagation d'informations, à chaque niveau structurel (cellule, tissu, organisme) et entre ces niveaux. Ce problème d'organisation n'est pas strictement physique, il se pose dans d'autres systèmes complexes tels que l'administration d'une société. Autre exemple, pour les systèmes vivants suffisamment complexes la captation de sources d'énergie nécessite la perception du milieu environnant, et donc l'existence de dispositifs de mesure de diverses grandeurs physiques (concentration en nutriments, en intensité de la lumière, ...). La taille des cellules est aussi limitée par les lois physiques. Il n'existe pas de consensus sur le facteur limitant, une limite importante identifiée est toutefois donnée par la vitesse d'homogénéisation du milieu interne, par diffusion simple et transport actif [68]. À l'échelle des organismes, la taille est limitée par les contraintes mécaniques, car la résistance des os et tissus est bornée (Un exemple

frappant est donné par une espèce fossile de mammifère prédateur retrouvée en Amérique du Nord. Son examen a révélé que la cause de sa disparition fut sa taille trop importante. La force d'inertie associée à une variation de la vitesse de la course durant la chasse était suffisante pour briser les os de ses membres). Il a aussi été montré que le métabolisme est corrélé à la masse M de l'individu (il est proportionnel à $M^{3/4}$, relation inexplicée à ce jour).

Aujourd'hui de larges pans des sciences du vivant ont été explorés déjà par les biologistes. En biologie cellulaire, la méthode d'investigation consiste souvent, schématiquement, à identifier les éléments impliqués dans une fonction (gènes et protéines associées). On procède ensuite typiquement à une altération du système en inhibant ou suractivant les gènes impliqués ou par l'ajout de drogues. On observe les modifications induites dans le phénotype. On en déduit le réseau d'interaction des éléments et le rôle de chacun (leur influence sur le phénomène). En biologie moléculaire on s'attache à comprendre comment la molécule (protéine, lipide, brin d'ADN...) réalise sa tâche. On étudie sa structure, ses propriétés chimiques, ce qui permet de comprendre sa fonction (par exemple, comment la tropomyosine empêche la contraction musculaire en s'enroulant autour du filament d'actine, ou comment la perméabilité d'un canal transmembranaire est affectée par les espèces en présence). Ces connaissances permettent de comprendre le phénomène d'un point de vue systémique, mais souvent le mécanisme qui le fonde reste inaccessible, et de nombreuses propriétés (l'aspect spatio-temporel du phénomène par exemple) restent incompréhensibles (un test serait de pouvoir reproduire un système artificiel mimant la fonction, expérimentalement ou *in silico*).

La biophysique se propose de comprendre les mécanismes du vivant en identifiant ses structures élémentaires, et en étudiant leurs interactions. Ce domaine comporte des spécificités par rapport aux autres branches de la physique. Les systèmes sont composés d'une grande diversité d'éléments, ce qui rend impraticable l'approche réductionniste habituelle : inclure dans le modèle tous les éléments de base et déduire de leurs interactions le comportement de l'ensemble. Ces systèmes sont aussi complexes, ils possèdent ou l'a dit plusieurs niveaux d'interactions. Cela rend malaisé la définition d'un problème physique et de ses paramètres. Ensuite, il est difficile de faire varier expérimentalement ces paramètres, les modifications apportées à un système vivant étant comme on l'a vu généralement discontinues. Des techniques élégantes vont cependant dans ce sens : par exemple, pour comprendre la relation entre la vitesse de déplacement d'une assemblée de moteurs moléculaires et la longueur du cou de la protéine, on peut avoir recours à une modification génétique de la séquence codant pour le cou et contrôler sa longueur. Les grandeurs du phénomène (la concentration d'une espèce, la taille ou forme d'une structure comme le faisceau mitotique, les forces, la forme d'une cellule ...) sont en revanche mesurables quantitativement dans de nombreux cas. La biologie quantitative, le

domaine qui développe les techniques de mesures de ce type, connaît en ce moment une forte croissance. Une autre difficulté est due à la nature des éléments de base en biophysique : à la différence d'autres branches de la physique, où les éléments de base sont l'atome, la molécule chimique ou encore la particule élémentaire, en biophysique les unités sont typiquement des protéines, qui ont des structures élaborées et dont les fonctions sont caractérisées phénoménologiquement. Ce qui rend la tâche du biophysicien possible est qu'en dépit de la diversité des espèces présentes dans le cytoplasme, quelques unes seulement participent à un processus donné, le réseau d'interaction des protéines est "clairsemé" (car les molécules sont spécialisées), ce qui permet finalement d'isoler un nombre restreint d'éléments impliqués dans un phénomène. On peut ensuite réaliser un modèle incluant ces éléments, ou une expérience biomimétique comportant seulement les éléments nécessaires au phénomène, purifiés. (Et aussi comme dans toute approche de modélisation, seuls les éléments jugés essentiels du phénomène sont retenus dans la description mathématique du problème).

Très tôt, certains problèmes ont suscité une analyse par les outils de la physique, à cause de leur parenté avec des problèmes classiques, tels que l'audition (acoustique) ou la propagation de l'influx nerveux (modélisé comme une onde dans un circuit électrique). Le développement de la matière molle et de la physique hors équilibre ont permis ces dernières décennies de s'attaquer à des questions d'une plus grande variété. Des principes se dégagent progressivement. La physique nous apprend que l'évolution a sélectionné des structures qui exploitent finement et efficacement les lois de la physique et leur confèrent une grande variété de fonctions. Citons les classes de transitions dynamiques : dans l'appareil auditif, la touffe ciliaire, qui capte les ondes sonores, est un oscillateur dont le point de fonctionnement est proche d'une bifurcation de Hopf, ce qui lui octroie une grande sensibilité et lui permet d'opérer sur une large gamme d'intensité, illustré sur la fig 1.1. Dans l'embryon de *C.elegans* (au stade monocellulaire) la coexistence hors équilibre de deux phases, une où les p-granules forment une phase liquide séparée du cytoplasme et l'autre où il sont dissous dans le cytoplasme, est maintenue entre les pôles de la cellule par l'établissement d'un gradient en concentration d'une espèce qui contrôle la transition. Cela permet de différencier le contenu du cytoplasme entre les deux côtés opposés de la cellule avant la division cellulaire asymétrique, voir fig 1.2. Chez les vertébrés, la segmentation de l'embryon nécessite la définition nette de frontières spatiales entre différentes régions. Un mécanisme de type Turing, non linéaire, permet l'établissement d'un palier en concentration d'une molécule de signalisation. Les systèmes biologiques sont soumis à la pression de sélection évolutive. L'analyse du physicien révèle que l'évolution optimise souvent l'efficacité du mécanisme. Par exemple, le nombre de moteurs moléculaires engagés dans la contraction musculaire est ajusté à l'intensité de la force opposée pour optimiser le rendement énergétique

et la vitesse de contraction. Notons qu'en général la dépense énergétique semble difficile à diminuer, de nombreux mécanismes cellulaires "tournent à vide". La mécano-biologie a révélé que les propriétés mécaniques de leur environnement sont un signal pour les cellules : des cellules souches se différencient différemment en fonction de la rigidité du substrat sur lequel elles sont disposées. Le livre *Physical biology of the cell* [120] est une introduction assez complète à la biophysique.

Figure 1.1. – a. Microscopie électronique d'une touffe ciliaire mécanosensible, un cil mesure quelques microns. Source Gillespie. b. Sensibilité de l'oscillation en fonction de l'amplitude de la stimulation. les droites ont pour pente 0, -1/3, 0. La sensibilité est augmentée pour les petites amplitudes. Source [107].

Figure 1.2. – 1. a. Distribution des p-granules dans l'embryon de *c.elegans*, en vert. Ils se dissolvent du côté antérieur de la cellule, et se condensent du côté postérieur. Cela est dû à la présence d'un gradient en protéine Mex-5, représentée en gris. b. Distribution de la protéine Mex-5 dans la cellule. c. distribution des p-granules. 2. Profil théorique (trait continu) et expérimental (cercles) de la densité totale en p-granule. Source [94].

Dans cette thèse sont étudiés des phénomènes intracellulaires. Brossons rapidement l'environnement physique à cette échelle. En dessous du micron, les objets sont petits et l'amplitude des forces aléatoires d'origine thermique est comparable aux forces appliquées sur ces objets, les mouvements comportent donc une forte part de bruit. Le nombre de copies d'une espèce de molécule dans une cellule est compris entre 10 à 1000, le flux des réactions chimiques est donc faible et comporte également une part aléatoire importante (les événements ne sont pas moyennés, cf la loi des grands nombres). Cela explique pourquoi l'activité d'une cellule est fortement bruitée (réponse à un stress externe, transduction d'un signal, temps d'attente avant une division...) qui peut se répercuter à l'échelle de l'organisme. Dans le maintien de l'état hors équilibre de la cellule, les moteurs moléculaires jouent un rôle prépondérant : ils sont la source de tout mouvement ordonné dans la cellule, et permettent de structurer, transporter, ordonner. Il existe de nombreux nombreux types de moteurs, adaptés à leurs fonctions : contraction musculaire, transport, mesure de force, agent de reticulation ("cross linker")... Leur rôle et leur comportement coopératif dans l'accomplissement de fonctions de transports intracellulaires est l'objet de cette thèse.

1.1. Quelques protéines impliquées dans les mouvements dans la cellule

Les filaments structuraux (actine, microtubule, et dans une moindre mesure les filaments intermédiaires) sont le support du cytosquelette de la cellule, ils la structurent et sont le support de son mouvement, et des mouvements intracellulaires. Les moteurs moléculaires hydrolysent l' adénosine triphosphate (ATP) pour générer des forces dans la cellule, ils se déplacent sur les filaments d'actine ou les microtubules. Nous présentons ici les éléments impliqués dans les phénomènes étudiés dans cette thèse.

1.1.1. Les microtubules et filaments d'actine

L'actine et les microtubules sont des biopolymères de propriétés biochimiques et physiques distinctes qui leur permettent d'effectuer des tâches différentes dans la cellule. Ils sont responsables directement ou indirectement de presque tous les mouvements à grande échelle dans la cellule eucaryote. La force produite par la polymérisation de l'actine peut être suffisante pour engendrer un mouvement dans certaines situations comme l'extension du lamellipode, tandis que dans d'autres cas le mouvement des moteurs associés est responsable du mouvement, comme dans la contraction musculaire, ou le transport intracellulaire. La croissance et la rétraction des microtubules génère des forces qui peuvent être importantes, dans la formation du faisceau mitotique par exemple. La majorité des phénomènes impliquent cependant des moteurs moléculaires (kinésines et dynéines) qui se déplacent le long des microtubules et engendrent le mouvement, comme dans le transport intracellulaire ou l'écoulement cytoplasmique (que nous décrivons dans la partie II).

Les filaments d'actine

L'actine représente entre 5% et 10% en masse des protéines dans une cellule typique. Elle se présente sous forme de monomère (actine G) et sous forme de filament polymérisé (actine F). Un monomère d'actine mesure 5.5 nm de diamètre. Les monomères forment des filaments en polymérisant linéairement, leur structure est en double hélice de pas 37 nm, formée de deux protofilaments enroulés, voir fig 1.3. Les filaments sont polaires et les deux protofilaments ont la même polarité. La polarité du filament d'actine est une propriété importante car elle conditionne l'interaction du filament avec d'autres protéines et parce que les deux extrémités ne sont pas équivalentes vis à vis de leurs propriétés de polymérisation et dépolymérisation. La polymérisation est active et requiert l'hydrolyse de l'ATP.

Nous n’aurons pas à considérer en détail la dynamique des filaments d’actine dans cette thèse, le temps de cyclage étant long devant les phénomènes considérés (interaction avec des moteurs). La longueur de persistance des filaments (longueur sur laquelle l’orientation est conservé sous l’effet des fluctuations thermiques) est de $17 \mu\text{m}$, ils ont donc un comportement semi-flexible dans la cellule.

Figure 1.3. – Schéma de la structure d’un filament d’actine. Adapté de <http://hypermol.com/>

Les microtubules

La tubuline est l’une des protéines les plus invariantes au cours de l’évolution. Les microtubules sont nécessaires pour de nombreux processus dans les cellules eukaryotes et jouent un rôle essentiel dans leur organisation et dans le transport. Les microtubules sont des polymères formés par assemblage dynamique de dimères de tubuline α et β . Ils s’assemblent en protofilaments polaires, les extrémités sont notées plus et moins. Ces protofilaments s’assemblent en tubes creux de typiquement 13 protofilaments parallèles, de diamètre 25nm, voir fig 1.4. Les microtubules sont nucléés par les MTOCs (“microtubule organizing center” en anglais) au niveau des centrioles dans le centrosome, où des complexes de γ -tubuline initient les cylindres du côté moins, mais peuvent être présents aussi au niveau du cortex cellulaire ou en solution où seules les γ -tubulines les supportent. Les microtubules croissent dynamiquement par polymérisation à leur extrémité plus. Seuls les dimères liés au GTP peuvent se lier. Le GTP est rapidement hydrolysé après ajout du dimère, l’extrémité plus est donc caractérisée par une coiffe de GTP. Cette coiffe stabilise l’extrémité du microtubule, si elle disparaît, survient ce qu’on appelle une “catastrophe” : le microtubule se désassemble rapidement, jusqu’à ce qu’une nouvelle coiffe se forme. On appelle cet événement le “sauvetage”, il permet au microtubule de croître à nouveau. Cette alternance de croissance et décroissance rapide est appelée instabilité dynamique. On trouve des microtubules de toutes tailles dans la cellule selon leur fonction, de quelques μm au diamètre de la cellule. Leur longueur de persistance mesure quelques millimètres, ils restent donc rigides à l’échelle cellulaire. Cela ne signifie pas qu’ils restent droits, car des forces de quelques pNs peuvent faire flamber un microtubule de $10 \mu\text{m}$ (voir commentaire en annexe B.3.1).

1.1.2. Les moteurs moléculaires

Les moteurs moléculaires sont des enzymes qui hydrolysent l’ATP pour effectuer un changement de conformation, qui peut générer un travail mécanique [70]. La

Figure 1.4. – Schéma décrivant la structure et la dynamique d'un microtubule. Adapté de <http://www.nature.com/scitable/topicpage/microtubules-and-filaments-14052932>

plupart d'entre eux se déplacent le long des filaments du cytosquelette. Il en existe de nombreux types, qui diffèrent par le sens de leur mouvement sur les filaments et leur fonction. Les myosines se déplacent le long des filaments d'actine et les kinésines et dynéines se déplacent le long des microtubules. Certains moteurs peuvent se déplacer le long de l'ADN comme la polymérase de l'ADN, ou sont insérés dans les membranes comme les moteurs rotatifs. Nous présentons de manière générale les myosines et leurs fonctions : en effet au cours des deux dernières décennies de nombreuses myosines dites non conventionnelles (c'est à dire autres que la myosine II, la première découverte) ont été étudiées, et se révèlent occuper des fonctions d'une diversité que l'on commence seulement à comprendre. La myosine 1b, qui tire les tubes membranaires dans le système étudié en partie I, est l'une d'elles. Nous présentons ensuite la kinésine 1 qui est l'élément moteur de l'écoulement cytoplasmique traité dans la partie II.

Les myosines

Les myosines sont des moteurs moléculaires qui interagissent avec l'actine. Une introduction complète sur ce sujet peut être trouvée dans le livre de Howard [70]. Les myosines sont composées d'une tête, d'un cou et d'une queue. La tête se lie au filament d'actine (actine F), et utilise l'ATP pour changer de conformation et générer la force. Le cou sert de bras de levier et amplifie le changement de conformation, et la queue se lie à un élément de la cellule, ou s'assemble à d'autres myosines pour transmettre le mouvement, voir la structure fig 1.5.a. Les étapes du cycle sont décrites sur la fig 1.5.b.

Les familles de myosines Environ 35 sous-familles de myosines ont été répertoriées, en se basant sur l'analyse des séquences d'ADN [14]. Toutes présentent une structure similaire, le site induisant le changement de conformation qui dépend du nucléotide notamment varie très peu d'un membre à l'autre.

Les myosines sont présentes dans toutes les cellules eukaryotes. Les myosines II forment des assemblées dans les sarcomères des cellules du muscle striées et fournissent la force motrice pour la contraction musculaire. Ailleurs elles accomplissent des tâches diverses de motilité cellulaire : notamment elles sont le moteur de la contractilité du cytosquelette cortical, ce qui donne sa rigidité à la cellule et permet de modifier sa forme (pour la division cellulaire notamment, [160]) ; elles sont un élément nécessaire du lamellipode, la structure qui permet à la cellule de se mouvoir ;

elles sont impliquées dans divers processus de transport membranaire (transport de cargos dans la cellule); Les autres myosines forment dans les cellules des agrégats typiquement de quelques à quelques dizaines de moteurs, et interviennent par exemple dans les touffes ciliaires des cellules ciliées pour l’audition [9, 1], ou dans l’interaction entre la membrane et le cytosquelette (myo1b). Des études récentes proposent que certaines myosines pourraient avoir un rôle non moteur [104].

Figure 1.5. – a. Structure de la myosine II, d’après [4]. b. Schéma du cycle ATPase de la myosine. (1) l’ATP se lie à la myosine, (2) la myosine se détache de l’actine, (3) l’ATP est hydrolysée en ADP et phosphate (P_i), (4) la myosine se lie à l’actine, (5) le P_i est libéré, la myosine fait le coup de force, (6) l’ADP est libéré (cette étape peut être associée à un pas supplémentaire). Adapté à partir de [40]

Expériences sur les myosines Les myosines II se trouvant sous forme organisée à l’échelle macroscopique dans les muscles, l’étude de ce matériau a été le premier moyen d’explorer indirectement les propriétés mécaniques de ces molécules [72]. C’est à partir de ces expériences que Huxley a proposé en 1954 le premier modèle de moteur moléculaire dit en pont (ou “cross-bridge” en anglais). Par la suite pour comprendre leur mécanisme moléculaire, les propriétés des myosines ont été étudiées par des techniques de biochimie comme les autres enzymes. La myosine est mise en solution avec de l’actine; des drogues perturbent certaines étapes de son cycle ATPase, et l’évolution des concentrations est suivie au moyen de marqueurs fluorescents. La structure du cycle a ainsi pu être identifié et la cinétique mesurée, comme dans la référence [57] pour la myosine 1. Grâce à ces expériences le cycle ATPase a pu être caractérisé, voir la fig 1.5. Cependant les propriétés des moteurs mesurées en solution renseignent de manière incomplète sur l’activité fonctionnelle. L’observation de la structure par des expériences de rayon X a permis d’explorer les liens entre les régions de la molécule et sa fonction. La limite de ces techniques est que la dynamique de la molécule reste inaccessible. Pour comprendre les propriétés mécano-chimiques, on a eu recours aux tests de motilité (“motility assay” en anglais) : par exemple, une surface est recouverte de myosines, des filaments d’actine sont déposés dessus et leur mouvement est suivi, ce qui permet d’étudier la vitesse du déplacement en variant les conditions expérimentales [98, 99]. La technique la plus récente, la microscopie sur molécule unique a permis de mesurer la taille du pas effectué par les moteurs le long du filament d’actine, typiquement de 5 nm pour les myosines I et II, et de mesurer la durée de l’interaction actine-myosine, voir fig 1.6, ainsi que l’amplitude de la force générée par les moteurs, de l’ordre de quelques pNs.

Figure 1.6. – Mesure de l’interaction mécanique d’une myosine avec un filament d’actine. Le filament est fixé par deux billes piégées dans des pinces optiques. la myosine est liée à une bille. Les auteurs [167] montrent que la myosine 1 fait deux sous-pas avant de se décrocher, un premier de 6 nm et un second de 5.5 nm, en un temps caractéristique de 280ms et 50ms respectivement.

Fonction des myosines Les myosines partagent une structure similaire, mais sont en revanche assemblées de manières différentes : la myosine II forme des tresses de quelques centaines de monomères, la myosine I opère isolée ou en groupe de quelques dizaines de monomères au plus, les myosines V et VI sont processives et sont donc dimérisées : elles marchent de manière continue sur le filament d’actine avec au moins une tête accrochée. Les propriétés mécano-chimiques sont aussi très variables au sein de la famille. D’après une revue de 2011 par Bloemink [14], les myosines peuvent être classées en 4 catégories fonctionnelles : les myosines rapides (typiquement la myosine II du muscle rapide chez le vertébré), les lentes/supportrices de force efficaces (celles du muscle lisse lent, chez le vertébré), les senseurs de force (la myo1b et myo1c chez le mammifère) et les myosines processives (myo5a, myo5b). Ces groupes fonctionnels ne correspondent pas à la classification basée sur l’analyse des séquences.

Selon l’auteur trois caractéristiques définissent par leur combinaison le type d’activité mécanique du moteur : le couplage thermodynamique et cinétique entre l’actine et la liaison de l’ADP à la myosine (étape (6), fig 1.5.b), qui est l’étape limitante dans l’interaction actine-myosine, la sensivité du relargage de l’ADP à une force extérieure et le rapport cyclique, qui est la fraction du temps passée en interaction avec l’actine.

Les myosines rapides ont un taux de relargage d’ADP élevé et un gain d’énergie libre important associé à la transition. Le taux de relargage des myosines lentes/supportrices de force efficaces, senseurs de forces, processives, est faible et associé à un faible gain d’énergie libre.

Le relargage de l’ADP est associé chez certaines myosines à un changement de conformation qui produit un second pas (identifié chez les myosines 1a,b,c, V). Le second pas apparaît être très sensible à la force appliquée (plus que le premier pas, qui est aussi nécessairement sensible à la force extérieure parce qu’il implique un changement de conformation), comme le montrent ces études de microscopie sur molécule unique [167, 168, 169, 90]. Ces myosines ont donc une fonction de senseur de force et se déplacent lentement. Des études récentes montrent que d’autres myosines effectuent un pas lors du relargage de l’ATP [25].

Enfin, les myosines rapides ont un rapport cyclique faible, de 0.05-0.1 et produisent un mouvement en s’assemblant en grand nombre. Les myosines processives

ont elles à l'inverse un rapport cyclique élevé, supérieur à 0.7 assurant leur processivité. Le rapport peut être régulé chez certaines myosines, par des signaux chimiques ou par la force externe : chez ces dernières le rapport augmente sous la charge, cette adaptation fonctionnelle optimise le rendement énergétique de la contraction musculaire par exemple [46].

De nombreux modèles ont été proposés pour expliquer le couplage mécano-chimique conduisant au mouvement. Les éléments requis pour le mouvement dirigé d'un moteur possédant des états internes et se déplaçant sur un substrat asymétrique ont été établis, indépendamment des détails spécifiques à chaque moteur [75]. Sont requis une brisure de la symétrie spatiale et de la symétrie temporelle (absence de balance détaillée). La première symétrie est brisée à cause de la polarité du filament, et la seconde par l'hydrolyse de l'ATP qui place le système hors équilibre.

La kinésine 1

Cette kinésine est principalement impliquée dans le trafic intracellulaire. Elle est composée de deux chaînes légères et deux chaînes lourdes. Chaque chaîne lourde contient une tête qui se lie au microtubule et possède un site de liaison pour l'ATP. La tête est connectée à un cou qui change de conformation en fonction de l'état d'hydrolyse de l'ATP lié à la tête, et permet le mouvement du moteur. Le cou est connecté à une longue queue qui permet la dimérisation des chaînes lourdes. Un domaine de la queue participe à l'accrochage au cargo et à la régulation de l'activité du moteur. Les chaînes légères à leur extrémité permettent un accrochage spécifique aux différents cargos, voir fig 1.7.a.

La tête est le seul domaine conservé parmi les différentes sous-familles de kinésines, elle est essentielle car elle est responsable de l'activité motrice de la molécule. Le changement de conformation dans la tête est amplifié par le cou, qui permet de donner une amplitude de plusieurs nanomètres au pas du moteur.

Il a été montré que la kinésine I se déplace vers l'extrémité plus du microtubule en faisant des pas de 8.3nm [70, 27, 113] qui coïncident avec la taille d'un dimère de tubuline. Le moteur se déplace le long d'un seul protofilament. À chaque pas la tête située en arrière se déplace vers l'avant de 16.6nm tandis que la tête à l'avant ne bouge pas [176]. On observe que le moteur alterne des pas avec des moments de pause. Le temps entre deux pas est appelé le temps de résidence, il vaut quelques millisecondes en absence de force extérieure. Le pas mécanique est beaucoup plus rapide, moins de $30\mu s$. À concentration en ATP saturante, le temps pris par une molécule d'ATP pour s'attacher à la tête ne limite pas la cinétique, et la vitesse moyenne de la kinésine est aux alentours de $0.6\mu m.s^{-1}$ [153]. La capacité d'un moteur à effectuer plusieurs pas avant de se détacher s'appelle la processivité. En

l'absence de force, la kinésine marche en moyenne $0.6 \mu\text{m}$ avant de se détacher [141], ce qui correspond à une petite centaine de pas, fig 1.7.c.

La dépendance en force des états internes de la molécule fait actuellement l'objet de recherches [30]. Il apparaît que la vitesse diminue avec la force extérieure et s'annule pour une force de 5-7 pN [153, 113], appelée force d'arrêt. La relation force vitesse est approximativement linéaire pour les vitesses positives, et se raidit pour les vitesses négatives (il est difficile de faire marcher la kinésine en arrière), voir fig 1.7.c. Le taux de décrochage augmente aussi avec la force, exponentiellement. Cette forme s'explique par la barrière d'énergie séparant les états lié et non lié de la molécule (voir section 2.2.1). La force caractéristique du taux de décrochage est d'environ 3 pN [141] (relativement proche de la force d'arrêt).

Figure 1.7. – a. Structure de la kinésine 1, adapté de [163]. b. Relation force-vitesse d'une kinésine avec une concentration en ATP de 1 mM (bleu) et $10 \mu\text{M}$ (rouge). La vitesse diminue lorsque la force opposée au moteur augmente. c. Longueur moyenne de processivité d'une kinésine en fonction de la force opposée au moteur pour deux concentrations en ATP, 2 mM (cercles) et $5 \mu\text{M}$ (triangle). Les courbes sont des fonctions exponentielles ajustées aux données expérimentales.

1.2. Le transport intracellulaire

Les deux sujets traités dans cette thèse concernent le transport intracellulaire. Nous plaçons le transport intracellulaire en contexte ici, et poursuivons l'introduction des différents types de transport actifs dans les deux parties concernées.

La cellule est le siège de flux continus de matériaux. Elle doit réguler les échanges avec l'extérieur et en son sein, et satisfaire des contraintes qualitatives de sélectivité des échanges d'une part, mais aussi quantitatives de vitesse des échanges d'autre part, afin d'accomplir efficacement les tâches cellulaires. Nous introduisons brièvement ci-dessous les processus de transport dans la cellule.

1.2.1. Homéostasie et ciblage des macromolécules

Les fonctions cellulaires nécessitent un contrôle précis des voies métaboliques et de biosynthèse. Notamment la régulation de l'homéostasie et du transport sont deux aspects centraux de cette régulation. On appelle homéostasie l'équilibre dynamique des propriétés d'un système biologique face aux fluctuations de l'environnement. Chez les mammifères les régulations importantes portent sur la température du corps, la respiration et le niveau d'ATP dans les muscles face à un niveau d'activité variable, [68]. Dans les plantes le contrôle homéostatique s'exerce sur la pression

de turgescence et les concentrations cytosoliques en ions inorganiques et petites molécules organiques telles que les acides aminés.

En plus de la régulation de l'homéostasie, qui implique principalement les concentrations en petites molécules, le transport de protéines, lipides et polysaccharides nécessite un ciblage élaboré. En effet, de nombreux processus biochimiques se déroulent simultanément dans la cellule. Ils requièrent un environnement spécifique, qui impose une séparation physique entre les différentes fonctions. Les cellules eukaryotes ont recours à un ensemble d'une trentaine de compartiments délimités par une membrane lipidique, les organites, au sein desquels des environnements biochimiques différenciés permettent la coexistence des différentes tâches. Les organites interagissent de manière contrôlée avec le reste de la cellule. L'acheminement de presque toutes les protéines prend place dans le cytoplasme où elles sont ciblées par les compartiments cellulaires. Les mécanismes d'adressage sont un sujet central en biologie cellulaire. Il a été montré que chaque protéine contient un domaine d'adressage dans sa séquence d'acides aminés, qui interagit avec les récepteurs de l'organite où elle doit être transportée. Par ailleurs de nombreuses macromolécules sont transportées d'un organite à un autre au sein de vésicules lipidiques, avec un enrobage spécifique, ainsi que des marqueurs protéiques SNARE pour les identifier.

Les deux organites jouant le rôle central dans la synthèse des protéines sont le reticulum endoplasmique (RE) et l'appareil de Golgi. Le RE est un réseau continu de tubes qui s'étend à travers le cytoplasme. Il comprend 16 sous domaines fonctionnellement distincts, et remplit une multitude de rôles dans le métabolisme cellulaire, et chez certaines espèces communique entre les cellules au moyen de canaux appelés plasmodesmes. Le RE est le point d'entrée des protéines nouvellement synthétisées dans le réseau des organites. Au sein du RE, les polypeptides créés par traduction des ribosomes sont repliés en protéines solubles au moyen des protéines chaperon BiP. Ensuite elles sont typiquement transportées vers l'appareil de Golgi dans des vésicules, où elles sont stockées et modifiées.

1.2.2. Diffusion dans le cytoplasme

Pour comprendre la régulation de l'homéostasie et du trafic intracellulaire, il est nécessaire d'analyser la nature des processus de transport dans la cellule [3, 2]. De nombreuses hypothèses validées pour des réaction chimiques en milieu aqueux ne le sont plus dans le cytoplasme, [101] : les volumes de réaction sont faibles, avec typiquement 1000 molécules d'un type dans une cellule eukaryote. Les macromolécules occupent en général 20-30% du volume cellulaire, ce qui génère de l'encombrement macromoléculaire : le coefficient de diffusion de l'eau, déduit de mesures de RMN, est réduit de 50%, [101]. La diffusion des macromolécules dans le cytoplasme est ralentie par rapport à une solution aqueuse quand leur rayon hydrodynamique augmente. En outre, plusieurs études ont récemment montré que

la diffusion peut être anormale, sous-diffusive dans le cytoplasme [60], avec une variance de la position $\langle r^2 \rangle \propto t^\alpha$ avec $\alpha < 1$. L'encombrement macromoléculaire pourrait aussi conduire à la ségrégation du cytoplasme en microphases distinctes, comme le montrent des observations de diffusion confinée dans des cages, et altérer la diffusion. Seules les petites molécules diffusent assez vite pour s'homogénéiser dans la cellule. Pour les vésicules, la diffusion sera inefficace en l'absence de mécanismes de transport actif.

1.2.3. Transport actif dans la cellule

Les formes de transport actif dépendent fortement de l'organisme et du type cellulaire. Dans les cellules animales, plus petites que leurs homologues du règne végétal, les organites sont plutôt stationnaires et les moteurs sont principalement impliqués dans le transport de vésicules. Chez la plante des mouvements de presque tous les organites ont été observés, et dans certains types cellulaires l'ensemble du cytoplasme est mis en mouvement.

Nous étudions dans la partie I la formation de tubes membranaires par des moteurs moléculaires, les myosines 1b. Nous y présentons au préalable brièvement le transport par des vésicules ou des tubes membranaires dans la cellule.

Puis Dans la partie II nous étudions un écoulement cytoplasmique, qui est un phénomène de transport de l'ensemble du cytoplasme. Nous introduisons de manière générale ce type de transport, puis nous analysons un écoulement ayant lieu dans l'embryon de *C.elegans* entre la fécondation et la méiose.

Première partie .

**Extraction de tubes membranaires
par des moteurs non processifs
renforcés par la force, les myosines
1b**

Table des symboles

notation	définition	unité
x	abscisse le long du tube	μm
ω_{on}	taux d'accrochage à l'actine de la myo1b	$\mu m^2 \cdot s^{-1}$
ω_{off}	taux de décrochage de la myo1b	s^{-1}
y_0	pas du coup de force de la myo1b	nm
ρ_v	densité de surface en myo1bs sur la vésicule	s^{-1}
ρ_u	densité de surface en myo1bs décrochées de l'actine sur le tube	μm^2
ρ_b	densité de surface en myo1bs accrochées à l'actine sur le tube	μm^2
ρ	densité de surface totale des myo1bs sur le tube	μm^2
d	diamètre d'un site d'actine	nm
n_f	nombre de filaments du faisceau d'actine accessibles	sans dimension
R_0	rayon du tube	nm
L	longueur du tube	μm
f	force exercée par le tube	pN
f_0	force plateau exercée par le tube	pN
D	coefficient de diffusion des moteurs à la surface de la membrane	$\mu m^2 \cdot s^{-1}$
\bar{v}	vitesse moyenne de croissance du tube	$nm \cdot s^{-1}$
D_{iff}	coefficient de diffusion de la position de l'extrémité du tube	$\mu m^2 \cdot s^{-1}$

Chapitre 2.

Introduction : transport par trafic membranaire, physique de la myosine 1b et de l'extraction des tubes membranaires

2.1. Transport par trafic membranaire dans la cellule

Nous présentons ici brièvement deux types de transport qui prennent place entre organites, ou entre un organite et la membrane plasmique, le transport vésiculaire et le transport par les tubes membranaires.

2.1.1. Le transport vésiculaire

Le transport vésiculaire requiert d'abord le bourgeonnement de petite vésicules, qui contiennent le matériel à transporter, depuis un compartiment cellulaire. Dans plusieurs voies une protéine d'enrobage (Clathrine, COP-I, COP-II) s'assemble à la surface de la membrane et induit la formation d'un bourgeon membranaire. Ces protéines sont recrutées par des GTPases de recrutement (Sar 1, GEF). Le bourgeon ensuite est pincé et séparé de la membrane dans un processus qui fait intervenir d'autres protéines (la dynamine par exemple), voir fig 2.1.a. la petite vésicule résultant de la fission se déplace ensuite grâce à des moteurs, jusqu'au compartiment cible, fig 2.1.b. La reconnaissance de la cible est due aux protéines GTPases de la famille des Rabs. Cette famille comporte plus de 30 membres, ils facilitent et régulent l'amarrage des vésicules. La fusion entre les membranes est ensuite effectuée par les SNAREs, qui sont également spécifiques et participent à la reconnaissance de la cible. la vésicule relargue ensuite le matériau.

Les cellules peuvent incorporer les macromolécules par endocytose, et les transporter vers les lysosomes au moyen de vésicules de transport, voir fig 2.1.b. Ce matériau peut ensuite être digéré. Il existe aussi un transport dirigé vers l'extérieur

de la cellule, partant du reticulum endoplasmique (RE), via l'appareil de Golgi et transféré ensuite à la membrane plasmique. Il est ensuite relargué hors de la cellule, ce processus est l'exocytose. Ce mode de transport est le support de la sécrétion, fig 2.1.b.

Les microtubules sont en général le support du déplacement sur de longues distances dans la cellule, ils sont distribués radialement depuis le centre. Le mouvement du centre vers l'extérieur de la cellule (où les extrémités moins des microtubules pointent) est pris en charge par les kinésines, celui vers l'intérieur de la cellule est pris en charge par les dynéines. Les vésicules portent les deux types de moteurs, la régulation du sens de marche serait le fait de protéines régulatrices. Le transport local implique lui l'actine et la myosine V processive, qui se déplace sur le maillage des filaments.

Figure 2.1. – a. Etapes de la formation d'un transporteur vésiculaire, tiré de [32].
b. Schéma du transport intracellulaire par vésicules, montrant les compartiments impliqués dans la les voies de biosynthèse-sécrétion, lysosome/vacuole en endocytose. La localisation de COP-I (rouge), COP-II (bleu) et clathrine (orange) est indiquée par différentes couleurs. Tiré de [15].

2.1.2. Le transport par les tubes membranaires

Les tubes membranaires sont des extensions des compartiments cellulaires délimitées par des membranes, ils peuvent connecter différentes parties d'un même organe ou différents organites. Le RE est lui composé d'un réseau tubulaire qui s'étend dans toute la cellule [166, 156]. La fig 2.2 montre la distribution du RE dans la cellule eukaryote. Le réseau de tubes est hautement ramifié et occupe une fraction importante du cytoplasme. Les tubes sont impliqués dans le transport interne de l'appareil de Golgi, où ils connectent différentes régions de cet organe. Le transport entre différents organites n'est pas dû seulement aux vésicules mais aussi aux tubes membranaires. En particulier le transport de l'appareil de Golgi vers le RE implique un réseau de tubes. Le mécanisme proposé suppose l'existence d'un courant de lipides dû à une différence de tension de surface entre les deux organites, qui transporterait du matériel d'un organe à l'autre. La formation et la maintenance de plusieurs organites, dont l'appareil de Golgi et le RE, requièrent la présence de microtubules et l'action de moteurs moléculaires. La dynamique des tubes membranaires a été étudiée en détails. Les tubes peuvent croître par croissance d'un microtubule ou bien le long d'un microtubule préexistant. Les moteurs moléculaires attachés à la membrane d'un organe interagissent avec le microtubule, et peuvent tirer la membrane jusqu'à extraire un tube. Les moteurs

moléculaires n'ont donc pas seulement un rôle dans la maintenance de la forme et le positionnement des organites, mais aussi du transport entre les organites.

Figure 2.2. – Schéma de la structure du RE. Les tubes (vert) sont stabilisés sur les microtubules (rouge) par des protéines CLIMP-63 (noir). Les microtubules s'étendent radialement depuis le centrosome (rectangles blancs) près du noyau (N). Les moteurs (flèches blanches) étendent le RE dans toute la cellule.

2.2. L'effet de renforcement induit par la force et le cas de la myosine 1b

2.2.1. L'effet de la force sur la thermodynamique et la cinétique des réactions chimiques

Dans une revue datant de 2004, Bustamante décrit l'effet des forces sur les réactions biochimiques [20]. Lorsqu'une réaction biochimique implique un changement de conformation moléculaire, les degrés de liberté paramétrant la forme de la molécule correspondent aux coordonnées réactionnelles et décrivent l'état d'avancée de la réaction. L'application d'une force modifie donc le paysage d'enthalpie libre de la réaction. Pour une réaction au cours de laquelle une molécule A est convertie en B - à pression et température constantes et suffisamment lentement pour que le système reste dans un état d'équilibre quasi-statique - la variation d'enthalpie libre entre A et B vaut :

$$\Delta G(F) = \Delta G^0 + k_B T \ln \frac{[B]}{[A]} - F(x_B - x_A) \quad (2.1)$$

où ΔG^0 est l'enthalpie libre de l'état standard, $[A]$ et $[B]$ sont les concentrations moléculaires. En première approximation une force F incline la surface d'enthalpie libre le long de la coordonnée réactionnelle d'une quantité proportionnelle à la distance entre les deux états, voir fig 2.3. À l'équilibre, $\Delta G = 0$ et $\Delta G^0 - F(x_B - x_A) = -k_B T \ln \frac{[B]_{eq}(F)}{[A]_{eq}(F)}$, le rapport des concentrations dépend donc exponentiellement de la force.

Pour des réactions se déroulant en solutions, avec une inertie négligeable, la théorie de Kramers [87] donne les taux de transition entre les états A et B :

$$\begin{aligned} k_{A \rightarrow B}^0 &= \frac{\omega_A \omega^\ddagger}{2\pi\gamma/m} e^{-\Delta G^{0\ddagger}/k_B T} \\ k_{B \rightarrow A}^0 &= \frac{\omega_B \omega^\ddagger}{2\pi\gamma/m} e^{-(-\Delta G^0 + \Delta G^{0\ddagger})/k_B T} \end{aligned} \quad (2.2)$$

Figure 2.3. – Effet d'une force sur l'enthalpie libre d'une réaction G . x est la coordonnées réactionnelle. a : profil de G en absence de force. b. En pontillés noirs, en absence de force, en trait continu rouge, avec une force pointant dans le sens de x . La différence d'énergie entre l'état de transition et l'état A $\Delta G^{0\dagger}$, et la différence d'énergie entre l'état B et l'état A ΔG^0 diminuent, les abscisses des extremums sont déplacées. Adapté de [20]

où $\Delta G^{0\dagger}$ est la différence entre l'énergie de l'état de transition \ddagger et l'état A. Les taux dépendent exponentiellement des enthalpies libres d'activation (la différence entre l'enthalpie libre de l'état de transition et les états A et B pour les réaction de A vers B et de B vers A, respectivement). Les facteurs préexponentiels dans l'équation (2.2) sont liés aux taux avec lesquels la molécule diffuse de l'état A ou B, à l'état de transition ; il dépendent des fréquences caractéristiques ω_A , ω_B du potentiel harmonique en A ou B respectivement, qui définissent les taux auxquels la molécule tente de passer la barrière, et de ω_{\ddagger} qui fixe le taux de passage au dessus de l'état de transition, et des rapports entre la friction rencontrée par la molécule et sa masse γ/m , qui est le taux d'amortissement. Les fréquences caractéristiques dépendent de la courbure de l'énergie libre à chaque état ($\omega_i^2 = G''(x_i)/m$). Comme la force modifie l'énergie libre le long du chemin réactionnel, si une force externe facilite la transition $A \rightarrow B$, alors l'énergie libre de transition en partant de A est diminuée d'une quantité $F(x_{\ddagger} - x_A)$. La différence d'énergie entre l'état B et l'état de transition est augmentée de $F(x_B - x_{\ddagger})$. En conséquence, les taux de réaction sont modifiés : $k_{A \rightarrow B} = k_{A \rightarrow B}^0 \exp(F(x_{\ddagger} - x_A)/k_B T)$, $k_{B \rightarrow A} = k_{B \rightarrow A}^0 \exp(-F(x_B - x_{\ddagger})/k_B T)$ avec en préfacteur les taux à force nulle. Les positions des extremums ont été approximés comme indépendants de la force ici par souci de simplicité (leur déplacement dépend de la raideur de la molécule et de la longueur du chemin réactionnel). Les taux de réaction dépendent exponentiellement de la force, multipliée par la distance entre l'état de transition et l'état stable, qui quantifie donc la sensibilité de la transition à une force externe.

2.2.2. L'effet de renforcement de liaison par la force

Dans le cas des liaisons récepteur-ligand, la réaction correspond à l'attachement-détachement du ligand (ce qui ajoute une particularité, le lien dans son état dissocié n'est soumis à aucune force). Si une force tend à séparer les deux molécules, on s'attend à ce qu'elle favorise l'état détaché et augmente le taux de dissociation. Cependant il a été montré théoriquement en 1988 [41] qu'une molécule ayant deux états liés peut voir son taux de détachement diminuer sous l'effet d'une force extérieure. Des expériences sur molécule unique ont confirmé cette proposition, la première a été réalisée sur la sélectine du leucocyte en 2003 [106, 84]. À l'échelle

macroscopique, il a été montré que le seuil de cisaillement pour l'adhésion et le roulement du leucocyte est en partie dû à ce phénomène [140, 26, 152]. Notons que d'autres phénomènes de déformation de la cellule sous l'effet de la force améliorent son adhésion, tel l'extraction de tubes membranaires qui augmentent le nombre de sites d'adhésion : le renforcement de l'adhésion par la force à l'échelle macroscopique n'est pas nécessairement dû aux propriétés des ligands.

Figure 2.4. – Temps de vie du lien entre le dimère de P-sélectine avec le monomère de sPSGL-1 en fonction de la force appliquée. Données expérimentales (symboles noirs) tirées de [106], courbe théorique (trait continu noir) utilisant la formule du modèle à deux chemins). Adapté de [118]

Le modèle le plus élémentaire [118] du renforcement par la force est le modèle à deux chemins (ou “two pathways model” en anglais). Il suppose que le ligand a un seul état lié. Il peut cependant se décrocher en suivant deux chemins réactionnels de directions différentes, de telle sorte que la force extérieure exerce un travail moteur sur l'une des transitions (numérotée 1) et résistant sur l'autre. Le taux de décrochage est la somme des taux associés aux deux chemins : $k_u = k_{u10} \exp(+F d_1/k_B T) + k_{u20} \exp(-F d_2/k_B T)$, les préfacteurs sont les taux à force nulle, les d_i sont des distances entre l'état lié et les états de transition, comme dans la section précédente. Noter la différence de signe devant F dans les deux termes. On voit que si $k_{u20} \gg k_{u10}$ alors k_u diminue sensiblement avec la force, avant d'augmenter à nouveau. La fig 2.4 présente la mesure expérimentale du temps de vie d'un lien en fonction de la force, ainsi qu'un ajustement de la courbe théorique pour k_u^{-1} . La correspondance est précise dans cet exemple, dont on sait par ailleurs qu'il possède effectivement un seul état lié [157].

De nombreuses structures de binômes récepteur-ligand peuvent conduire à un taux de décrochage de cette forme, ou similaire si le lien est plus complexe. Des mécanismes variés ont été proposés pour expliquer le renforcement du lien par la force : déformation, déformation allostérique, interaction protéine-eau, etc... [157, 126]. Quelques études portent à présent également sur le comportement collectif de tels liens. Citons [115] : dans une assemblée de liens renforcés par la force, tirée par une fibre de stress (qui contient donc des moteurs), la fraction de liens accrochés est une fonction bijective de la rigidité du milieu extérieur, ce qui pourrait permettre à la cellule de la mesurer (les cellules sont sensibles à la rigidité du milieu, il est notamment un signal de différenciation cellulaire [48]). Une autre étude [102] intègre les effets du renforcement des liens à l'échelle du cytosquelette cortical, et montre qu'une force appliquée sur la cellule peut provoquer une contraction de la cellule.

2.3. La myosine 1b

Comme les autres membres de la famille des myosines 1, la myosine 1b s'accroche à une membrane lipidique via sa queue. Cette région présente un domaine (TH1) qui cible la membrane, dont un domaine homologue de la pleckstrine qui cible le phosphatidylinositol-4,5-biphosphate (PI(4,5)P₂). C'est un moteur dont le taux de décrochage diminue avec la force appliquée, à l'opposé de la kinésine 1 par exemple [31]. Il appartient donc à la catégorie des senseurs de force (cf. section 1.1.2). Cette propriété est liée chez cette protéine à son activité ATPase. En effet si une force est appliquée parallèlement au filament dans la direction opposée au mouvement, la barrière d'énergie que doit franchir la molécule lors d'une étape du cycle où elle est liée à l'actine augmente, son taux de réaction diminue et la durée de l'interaction avec l'actine augmente. Sur la fig 2.5.a tirée de l'étude de Laakso [89] on voit que l'étape mécano-sensible est associée au relargage de l'ADP. Les auteurs trouvent un taux de décrochage apparent (l'inverse de la durée de l'interaction) de la forme $k_{det} = k_{g0} \exp(-Fd_{det}/k_B T) + k_i$ avec $k_{g0} = 1.6s^{-1}$, $k_i = 0.02s^{-1}$ et $d_{det} = 12 \text{ nm}$: cette distance importante traduit la forte mécanosensibilité du taux de décrochage de la myosine 1b. Elle est d'ailleurs sensiblement supérieure à l'amplitude du changement de conformation (3.3 nm), ce qui demeure inexplicé. La composante du taux mesurée comme constante est une voie de décrochage sans relargage de l'ADP. Les auteurs mesurent aussi le taux de dissociation du complexe actine-myosine induit par l'ATP (la dernière étape sur la fig 2.5.a) et trouvent $k_{end} = k_{end0} \exp(-Fd_{end}/k_B T)$ avec $k_{end0} = 22s^{-1}$ et $d_{end} = 2.5nm$.

Figure 2.5. – a. Schéma proposé dans [89] pour les étapes de l'interaction entre la myosine 1b (bleu) et l'actine (rouge). La spécificité de cette myosine réside dans l'importance du second pas associé au relargage de l'ADP, et en sa forte sensibilité à la force extérieure. b. Taux de détachement de la myosine 1b mesuré en fonction de la force par expérience de pince optique. Adapté de [89].

2.4. Les tubes membranaires

2.4.1. Les membranes

Pour décrire la formation de tubes membranaires, nous suivons ici l'introduction du manuscrit de thèse de Campas [39], et exposons les bases de la physique des membranes lipidiques et des tubes membranaires. Les membranes sont des structures auto-assemblées composées de lipides arrangés en double couches [100]. Les lipides sont des molécules amphiphiles avec une tête hydrophile et une queue

d'hydrocarbure hydrophobe fig 2.6.a. Quand des lipides sont placés en solution aqueuse en concentration suffisante, ils forment des agrégats, où les têtes hydrophiles forment la surface exposée au solvant et les chaînes d'hydrocarbure sont rassemblées pour minimiser l'aire de contact avec le solvant [73, 100]. Cet effet est appelé effet hydrophobe et est responsable de l'auto-assemblage des lipides en solution [172]. La structure de l'assemblage dépend des propriétés géométriques des lipides, [73]. Des lipides de forme conique forment des micelles sphériques, des lipides cylindriques forment des bicouches planaires composées de deux feuillets, fig 2.6.b,c. Dans le cas d'une géométrie intermédiaire en cône tronqué, la structure adoptée peut être un micelle cylindrique ou une bicouche avec une courbure spontanée. Les bicouches peuvent s'assembler en structures fermées appelées vésicules, ce qui fait disparaître les bords de la bicouche et réduit encore la surface des chaînes hydrophobes exposées. La plupart des études *in vitro* sont réalisées sur de grandes vésicules sphériques appelées vésicules unilamellaires géantes (On les appellera GUV pour "giant unilamellar vesicle" en anglais), d'un rayon de $1\mu\text{ m}$ à $100\mu\text{ m}$.

Figure 2.6. – a. Schéma d'un phospholipide. b. Quelques structures formées par auto-assemblage de différents lipides. c. Une coupe de bicouche de phospholipides. Source de l'image, site <http://www.bioteach.ubc.ca/Bio-industry/Inex>.

Les bicouches peuvent former différentes phases selon la structure des lipides et les conditions expérimentales (pression, température...). Dans des conditions physiologiques typiques, la bicouche est en phase liquide désordonnée et se comporte comme un fluide à deux dimensions. Dans ces conditions les lipides diffusent aisément dans leur feuillet [100]. La constante de diffusion est alors de l'ordre de $1\mu\text{ m}^2\text{ s}^{-1}$ [18, 100]. Cette fluidité de la membrane a des conséquences importantes à plus grande échelle.

Les propriétés mésoscopiques d'une vésicule dépendent de l'interaction entre les lipides qui la constituent. Cependant lorsque la taille de l'objet est grande devant celle d'un lipide et devant l'épaisseur de la bicouche, la membrane peut être décrite comme un milieu continu [24, 66, 100, 137, 123, 78]. À grande échelle une membrane peut alors être modélisée comme un objet bidimensionnel, et une énergie est associée à sa déformation. Toute déformation peut être décomposée en trois déformations élémentaires, courbure, étirement, cisaillement, [100, 137, 136, 135]. Nous décrivons ces déformation élémentaires :

- étirement : le mode d'étirement rend compte du coût énergétique d'un changement de l'aire d'un élément de surface. Au niveau moléculaire, cette situation correspond à une augmentation de la distance moyenne entre des lipides par rapport à leur distance d'équilibre. L'énergie par unité de surface e_{et} associée à un changement relatif $\Delta A/A$ vaut

$$e_{et} = \frac{K_a}{2} \left(\frac{\Delta A}{A} \right)^2 \quad (2.3)$$

où K_a est le module de compressibilité de la membrane, sa valeur est évaluée à $K_a \simeq 0.2 \text{ N/m}$ pour des vésicules typiques [49, 117]. L'étirement qu'une membrane peut emmagasiner avant de se rompre est faible : au-delà d'un changement relatif d'environ 8%, des pores apparaissent dans la vésicule et une fraction de son volume est éjecté [139].

- cisaillement : le mode de cisaillement rend compte du coût énergétique associé à la déformation d'un élément de surface à surface constante. Cette situation correspond à un réarrangement des lipides dans le plan de la membrane. Il n'y a pas de contrainte élastique associée dans un fluide, mais il peut y avoir une contrainte visqueuse : elle n'est significative que lorsque la mobilité des lipides est faible, dans une membrane en phase liquide ordonnée ou gelée, [100, 18]. Pour une membrane en phase liquide désordonnée le coût énergétique est négligeable devant l'étirement ou la courbure.

- courbure : le mode de courbure rend compte du coût énergétique associé à la déformation de la membrane hors du plan. Une telle déformation induit un réarrangement local des lipides, ceux sur le feuillet interne se rapprochent et ceux sur le feuillet externe s'éloignent par rapport à leur distance d'équilibre. En modélisant les membranes comme des surfaces de courbures principales c_1 et c_2 , l'énergie par unité de surface e_c associée à une déformation de courbure vaut [24, 66] :

$$e_c = \frac{\kappa}{2} (c_1 + c_2 - c_0)^2 + \kappa_G c_1 c_2 \quad (2.4)$$

où κ et κ_G sont, respectivement, le module de courbure moyenne et le module de courbure gaussienne. La courbure c_0 est la courbure spontanée de la membrane. La rigidité de courbure d'une membrane a pour valeur typique $\kappa \simeq 10k_B T$ [49, 129]. Notons que cette énergie n'est pas beaucoup plus grande que $k_B T$ et qu'en conséquence les fluctuations thermiques jouent un rôle important.

L'énergie totale de la vésicule est la somme des ces contributions énergétiques sur toute la surface. La dérivée de l'énergie en fonction de l'aire définit la tension de surface σ . Suivant les définitions de contributions énergétiques ci-dessus, $\sigma = K_a \Delta A / A$. La tension maximale observée avant l'apparition de pores dans une vésicule est d'environ 10^{-3} N/m [139]. Le coût énergétique associé à l'étirement de la membrane est beaucoup plus grand que celui associé à sa courbure. En conséquence la membrane peut être considérée comme un objet de surface fixe et sans tension de surface. Remarquons cependant que dans cette description seules les contribution enthalpiques ont été comptées. Une vésicule en solution présente des fluctuations d'origine thermique [19, 88, 49]. Ces fluctuations de membrane engendrent une contribution entropique à la tension que nous décrivons plus loin.

L'énergie totale d'une membrane à surface fixe est exprimée par son Hamiltonien \mathcal{H} , qui s'écrit [66] :

$$\mathcal{H} = \int dS \left[\frac{\kappa}{2} (2H)^2 + \kappa_G K + \sigma \right] \quad (2.5)$$

où $H = (c_1 + c_2)/2$ et $K = c_1 c_2$ sont les courbures moyenne et Gaussienne respectivement, on a choisi par souci de simplicité une courbure spontanée $c_0 = 0$, et la tension de surface σ est un multiplicateur de Lagrange associé à la contrainte de surface fixe. Les courbures moyenne et gaussienne sont données par la trace et le déterminant du tenseur de courbure respectivement, et sont donc invariants sous transformation des coordonnées [78, 137]. Typiquement, la déformation d'une vésicule ne provoque pas de changement de topologie. Or, d'après le théorème de Gauss-Bonnet l'intégrale de la courbure Gaussienne sur une surface fermée est un invariant topologique. C'est pourquoi tant que la topologie n'est pas modifiée le terme dans le Hamiltonien associé à la courbure Gaussienne est constant et peut donc être omis.

Les fluctuations thermiques induisent des ondulations de la membrane, car l'énergie thermique est typiquement comparable à l'énergie de courbure κ . Tous les modes sont excités par les fluctuations thermiques et, à l'équilibre, chaque mode contient la même énergie d'après le théorème d'équipartition. En conséquence la membrane devient "rugueuse". Bien que l'aire totale de la vésicule soit fixée, une fraction de l'aire est stockée dans les fluctuations membranaires. La position moyenne de la membrane fluctuante définit son aire projetée A_p , fig 2.7. L'aire totale A de la membrane est supérieure à A_p . Les fluctuations induisent donc un changement d'aire $\Delta A = A - A_p$, appelé excès d'aire. Une tension associée à ce changement d'aire se développe dans la membrane [49, 51]. En général la tension σ_0 d'une vésicule en l'absence de force extérieure est faible, σ_0 est compris entre $10^{-8} Nm^{-1}$, et $10^{-5} Nm^{-1}$. L'excès d'aire est alors $\Delta A_0 = A - A_p^0$. Quand une force est appliquée sur la vésicule les contributions entropique et enthalpique peuvent toutes deux être importantes. La différence entre l'excès de surface relatif en absence de force $\alpha_0 = \Delta A^0/A_p^0$ et l'excès de surface relatif $\alpha = \Delta A/A_p$ est donné par ([51, 49])

$$\alpha_0 - \alpha \simeq \frac{k_B T}{8\pi\kappa} \log \left(\frac{1 + \frac{A_p^0 \sigma}{(2\pi)^2 \kappa}}{1 + \frac{A_p \sigma}{(2\pi)^2 \kappa}} \right) + \frac{\sigma - \sigma_0}{K_a} \quad (2.6)$$

Figure 2.7. – Schéma d'une membrane d'aire projetée A_p de contour indiqué en gris, et d'aire réelle A indiquée par le trait continue noir. Soit l'effet d'une force (image du dessus) la différence entre les aires ΔA diminue. Adapté de [51]

Deux régimes limites apparaissent alors que la tension de la vésicule varie [49, 51, 129]. Lorsqu'une force est appliquée sur une vésicule de tension initiale σ_0 , le déploiement progressif de la membrane contrôle l'augmentation de la tension. Pour des tensions en dessous de 10^{-5} N/m cette contribution entropique domine (régime entropique). Au-delà, presque toutes les fluctuations ont été supprimées et l'étirement de la membrane domine (régime élastique).

Les fluctuations thermiques n'ont pas qu'un effet sur la tension effective de la membrane ; elles exercent une force aléatoire sur les inclusions [13], et induisent une attraction de type Casimir entre plusieurs inclusions ou ligands en interaction avec un support [170, 12].

Les membranes biologiques

La description des membranes ci-dessus correspond aux membranes composées de lipides répartis de manière homogène uniquement. Les membranes biologiques sont plus complexes [4]. Des protéines diverses sont insérées en grand nombre dans la membrane et ont un rôle important dans le transport membranaire. En effet, les protéines transmembranaires sont les voies de passage des petites molécules entre les organites et le cytosol et maintiennent la composition de l'intérieur de l'organite. La fraction massique des protéines dans les membranes lipidiques peut en effet atteindre 75%.

Les lipides formant les membranes sont de types variés distribués de manière hétérogène. Par ailleurs les deux feuillettes ont des compositions en lipide différentes [44]. En dépit de ces particularités, une membrane biologique peut être caractérisée à grande échelle en utilisant les théories continues présentées précédemment, avec des paramètres modifiés.

La tension des organites *in vivo* est régulée par un mécanisme inconnu. Différentes propositions ont été formulées. L'existence de petites invaginations de membrane appelées cavéoles, pourrait permettre un contrôle de la tension [142]. Sous l'effet d'une augmentation de tension une partie des cavéoles pourraient s'aplatir, augmentant ainsi la surface membranaire et diminuant la tension. L'équilibre dynamique entre les cavéoles repliées et aplaties fixerait ainsi la tension de l'organite. D'autres travaux mettent l'accent sur le contrôle de tension de la membrane plasmique, et proposent qu'il est réalisé par la modification des fluctuations de membrane qui apparaissent entre les points de contact entre la membrane et le cytosquelette sous-jacent [54].

2.4.2. Les tubes membranaires

Une vésicule répond à l'application d'une force en changeant de forme. Au delà d'une certaine amplitude une transition de forme s'opère. Plutôt que de déformer

toute la surface, la vésicule génère un tube, ce qui est énergétiquement plus favorable. Plusieurs études expérimentales et théoriques ont été réalisées sur la physique des tubes membranaires. Ils peuvent être extraits de vésicules par une force visqueuse dans un écoulement [132, 16] ou en appliquant une force localisée sur la membrane à l'aide d'un piège optique [86, 85, 35, 36]. Plusieurs travaux théoriques se sont attachés à les décrire [42, 124, 132].

Nous présentons ici la théorie sur la formation d'un tube membranaire par une force localisée. On considère la pression p et la tension σ fixées. Dans ces conditions l'énergie libre \mathcal{F} de la membrane sur laquelle une force f est appliquée ponctuellement s'écrit

$$\mathcal{F} = \int dS \frac{\kappa}{2} (2H)^2 + \sigma A + pV - fL \quad (2.7)$$

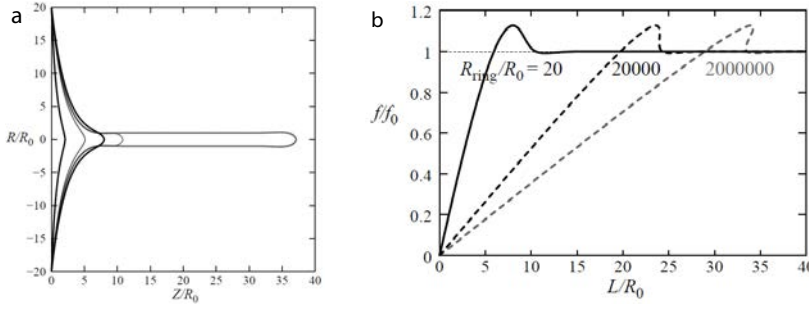


Figure 2.8. – a. Déformation de la membrane et formation du tube membranaire induit par l'application d'une force ponctuelle sur la membrane. b. Force du tube en fonction de sa longueur L . La croissance est d'abord quasi linéaire, puis après un à-coup le tube est formé et la force est constante et vaut f_0 .

où κ est la rigidité de courbure de la membrane, H sa courbure moyenne, A son aire totale et V le volume de la vésicule. L est la distance entre le point d'application de la force et le plan de la membrane, fig 2.8.a. Pour un tube membranaire de rayon r et de longueur L à pression nulle, l'énergie libre vaut, en négligeant les extrémités :

$$\mathcal{F} = \left(\frac{\kappa}{2r^2} + \sigma \right) 2\pi r L - fL \quad (2.8)$$

La rigidité de la membrane tend à augmenter le rayon du tube, tandis que la tension tend à le diminuer. Cette compétition fixe le rayon R_0 du tube et la force critique f_0 nécessaire pour le maintenir. En minimisant l'énergie libre du tube selon son rayon et sa longueur, on trouve $R_0 = (\kappa/2\sigma)^{1/2}$ et $f_0 = 2\pi(2\kappa\sigma)^{1/2}$. Pour des valeurs typiques de rigidité de membrane ($\kappa \approx 10k_B T$) et de tension de surface ($\sigma \approx 5 \cdot 10^{-5} N/m$) le rayon du tube vaut $R_0 \approx 20$ nm et la force $f_0 \approx 12$ pN.

Pour des forces inférieures à f_0 la membrane adopte une forme de caténoïde, fig 2.8.a, résultant de la minimisation de \mathcal{F} , équation (2.7). Dans ce régime la force augmente quasi linéairement avec L , fig 2.8.b. Alors que la force augmente, le système atteint un état critique où le tube est extrait, fig 2.8.a,b. Le pic de force est supérieur d'environ 13% à f_0 , puis converge vers f_0 . Ce profil a été observé expérimentalement [86]. De plus, il a été montré que l'amplitude du pic dépend fortement de la taille de la zone sur laquelle la force est appliquée [85] : en effet augmenter la taille de la zone augmente l'amplitude la déformation initiale, ce qui augmente la hauteur du pic. Une fois le tube formé, l'accroissement d'énergie libre par unité de longueur de tube est constant, donc la force qu'exerce le tube est constante qu'elle que soit sa longueur. Intéressons nous à présent à la relation entre la force du tube f_0 et sa longueur dans une vésicule finie.

Durant l'élongation du tube, la membrane formant le tube est puisée dans l'excès d'aire de la vésicule, cela a pour effet d'augmenter la tension de celle-ci, et par là même la force exercée par le tube. L'excès d'aire relatif $\Delta A/A_i$ prélevé dans la vésicule de rayon initial R_i , et d'aire projetée initiale A_i , vaut $\Delta A/A_i = rL/2R_i^2$. Pour des vésicules de faible tension, en régime dit entropique, l'aire additionnelle provient de la diminution de l'amplitude des fluctuations et la tension dépend exponentiellement de ΔA . Dans les vésicules tendues, en régime dit élastique, l'étirement de la membrane domine et la tension est proportionnelle à ΔA [51]. Dans le cas d'une vésicule en régime entropique la relation entre la longueur L et la force f est donnée par

$$\frac{L}{L_c^{ent}} = 2 \frac{f}{f_0} \log\left(\frac{f}{f_0}\right) \quad (2.9)$$

où $f_0 = 2\pi(2\kappa\sigma_0)^{1/2}$ est la force initiale avec σ_0 la tension initiale. La longueur caractéristique L_c^{ent} s'écrit $\frac{k_B T R_i^2}{4\pi\kappa R_0}$, avec $R_0 = (\kappa/2\sigma_0)^{1/2}$ le rayon initial du tube. Pour des vésicules typiques avec $R_i \approx 10\mu\text{ m}$ et $f_0 \approx 10\text{ pN}$ l'augmentation de la force devient sensible à partir d'une longueur d'environ $20\mu\text{ m}$. Si plusieurs tubes sont extraits la longueur d'intérêt est la somme des longueurs des tubes.

Dans une vésicule initialement tendue, typiquement avec $\sigma_0 \approx 10^{-4}\text{ N/m}$ l'étirement de la membrane domine l'augmentation de tension. Dans ce cas la relation entre f et L est donnée par

$$\frac{L}{L_c^{él}} = \frac{f}{f_0} \left(\left(\frac{f}{f_0}\right)^2 - 1 \right) \quad (2.10)$$

et la longueur caractéristique vaut $L_c^{él} = \frac{R_i^2 f_0^3}{8\pi^3 \kappa^2 K_a}$ où K_a est le module de compressibilité de la membrane, qui a été estimé à $K_a \approx 0.2\text{ N/m}$ pour une membrane typique [49, 117]. Pour une vésicule typique de $R_i \approx 10\mu\text{ m}$, $\sigma_0 \approx 10^{-4}\text{ N/m}$, $L_c^{él} \approx 20\mu\text{ m}$.

Dernièrement, de nombreux travaux ont exploré divers aspects de la physique des tube membranaires. Notamment, une étude théorique des fluctuations dans un tube révèle que le tube a un comportement critique sous tension [53]. Dans un tube contenant des inclusions de protéines, il a été montré théoriquement que, proche de l'instabilité mécanique, les inclusions présentent des couplages à longue portée [111]. Expérimentalement, une étude montre qu'une perturbation du pH dans le voisinage de la membrane peut provoquer la génération spontanée de tube, en induisant une courbure spontanée dans la membrane [52].

2.5. Extraction de tubes membranaires par des moteurs processifs, les kinésines

De par la nature fluide du tube, les moteurs ne peuvent appliquer une force qu'à l'extrémité du tube. Comme leur vitesse diminue lorsqu'une force leur est appliquée (par le tube en l'occurrence), les moteurs tirant le tube sont plus lents que les moteurs marchant le long du tube, c'est pourquoi ils s'accumulent dynamiquement à l'extrémité du tube. Ce mécanisme a été proposé par [86] et observé par [93], fig 2.9. Dans cet article, un modèle complet de la formation du tube, comprenant la dynamique des moteurs dans tout le tube, une dépendance à la charge du taux de décrochage et de la vitesse des moteurs. Les différents aspects de la formation et de la dynamique du tube peuvent être représentés comme suit :

- Conditions pour l'extraction du tube.

Nous nous référons ici à la revue de 2010 [92] sur l'extraction de tubes membranaires par des moteurs. La croissance du tube est limitée par le nombre de moteurs disponibles sur la membrane et par la force qu'ils peuvent produire, ce qui est directement lié à la tension membranaire σ et aux propriétés mécano chimiques des kinésines. Il existe donc une gamme limitée de tension σ et de densité en moteurs ρ_∞ permettant la croissance du tube (un ρ_∞ minimal qui dépend de σ , et un σ maximum qui dépend de ρ_∞). Ce seuil est calculé théoriquement, mesuré, fig 2.9b,c, et présente un bon accord quantitatif entre la théorie et les expériences (pour $\sigma \approx 2.10^{-4} N/m$, $\rho_{\infty,min}^{exp} \approx 200 \pm 100 \mu m^{-2}$ et $\rho_{\infty,min}^{th} \approx 400 \pm 200 \mu m^{-2}$). Un diagramme de phase théorique montrant la région d'existence du tube est présenté sur la fig 2.9.c. Le nombre de moteurs impliqué dans l'extension du tube (n_B , normé par un nombre sans dimension Γ) dépend seulement de $(\sigma/\rho_\infty)^{1/2}$ ¹, ces deux paramètres jouent un rôle opposé dans l'extraction du tube, comme observé expérimentalement. Près du seuil, le nombre minimal de moteurs est évalué à 5 dans une théorie de type champ moyen. Des simulations montrent cependant que la relation force-vitesse effective d'une assemblée de moteurs tirant un tube est

1. Plutôt que σ les moteurs sont peut être sensibles à la force du tube $\propto (\sigma\kappa)^{1/2}$.

différente de celle d'un moteur supportant une fraction $1/n_B$ de la force [21, 23], les interactions stériques influencent le comportement collectif.

- Croissance du tube.

Les observations expérimentales de tubes en croissance montrent une accumulation exponentielle à l'extrémité du tube, comme la théorie le prédit. La fig 2.9.e montre un kymographe simulé, tiré de [23], comparable à la fig 2.9.d. L'accumulation de moteurs est faible et progresse lentement, elle forme un profil exponentiel que la théorie prédit.

- Stabilité de la longueur du tube autour de sa valeur d'équilibre.

Pour des tubes de longueur atteignant $20\mu\text{m}$ deux comportements différents ont été observés. La plupart des tubes atteignent une valeur stationnaire qui n'évolue plus ensuite. Certains présentent des oscillations non linéaires, fig 2.9.f. La théorie explique ces résultats [22] : sur ces longueurs, la force du tube augmente sensiblement (vésicule en régime entropique). Si la tension est trop élevée, le flux entrant de moteurs à l'extrémité ne compense plus les décrochages de moteurs, ce qui impose une rétraction au tube. Dans certaines conditions, le tube se rétracte brusquement à une longueur où un agrégat de taille suffisante peut être formé pour tirer le tube à nouveau. L'origine de l'oscillation réside dans le retard dans le décrochage des moteurs au cours de l'augmentation de la force du tube associée à son allongement.

La dynamique d'accumulation des moteurs à l'extrémité du tube après son arrêt a pu être observée expérimentalement, fig 2.9.h. Un embouteillage massif de moteurs se développe à partir de l'extrémité. Les simulations reproduisent qualitativement ce résultat, 2.9.i. La densité de moteurs développe une onde de choc, comme prédit dans [154].

2.5. Extraction de tubes membranaires par des moteurs moteurs processifs, les kinésines

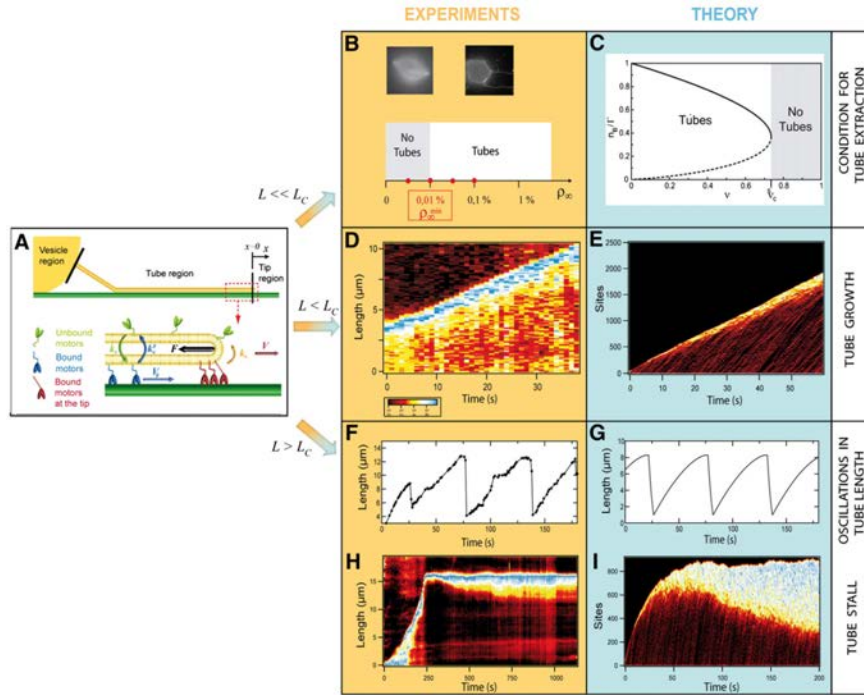


Figure 2.9. – Dynamique de l’extraction du tube, de sa croissance et évolution autour de la longueur d’arrêt. a. Schéma de la dynamique des moteurs à l’extrémité du tube. Les moteurs accrochés (bleu) loin du tube se déplacent à une vitesse V_0 . Les moteurs accrochés à l’extrémité (rouge) supportent la force de résistance du tube (jaune) et se déplacent à la vitesse du tube, $V < V_0$. b-c. Conditions pour l’extraction du tube, pour des tubes courts tels que $L \ll L_c$ (L_c , longueur caractéristique d’environ $10\mu\text{m}$). b. Pour une tension membranaire constante ($\sigma = 2 \cdot 10^{-4} \text{ N/m}$), il y a une densité minimale en moteurs en dessous de laquelle aucun tube n’est extrait. c. Diagramme théorique montrant les solutions stables (trait continu) et instables (trait discontinu) du système dans un régime limité par le flux, n_B est le nombre de moteurs attachés à l’extrémité du tube, Γ est une constante qui fixe l’échelle du nombre de moteurs accrochés et dépend des propriétés des kinésines et de la membrane lipidique; ν est un nombre sans dimension (voir texte). d,e. Croissance du tube pour $L < L_c$. d. Kymographe expérimental (représentation spatio-temporelle) montrant une croissance typique de tube, avec des moteurs marqués par fluorescence. Notons l’accumulation de moteurs à l’extrémité. e. Kymographe d’une simulation typique similaire à d. f-i. Dynamique des tubes longs, pour $L > L_c$: la longueur des tube est stationnaire (f,g) ou a un comportement oscillatoire (h,i). f,g. Exemple d’oscillations observées expérimentalement (f) et théoriquement (g) dans certaines conditions. h,i. Exemple de kymographe expérimental (h) et simulé (i) présentant un tube atteignant sa longueur stationnaire. Les moteurs s’accumulent à l’extrémité. Tiré de [92].

Chapitre 3.

Expériences in vivo et biomimétique sur l'extraction de tubes membranaires par les myosines 1b

3.1. Expérience in vivo : les myosines 1b sont essentielles dans la formation de transporteurs MPR au niveau du réseau trans-Golgi

Nous présentons ici les résultats in vivo qui ont motivé l'étude biophysique de l'extraction des tubes par les myosines 1b [5]. Cette étude cible le réseau trans-Golgi (RTG), qui est un des centres de tri de protéines principal de la cellule au croisement des voies d'endocytose et exocytose. Il est composé d'un réseau complexe de tubes membranaires lié aux citernes trans-Golgi, et génère des structures membranaires de formes diverses, participant à différentes voies de transport cellulaire. La formation de vésicules de transport implique le bourgeonnement et l'élongation de précurseurs puis leur scission. Ces transporteurs post-Golgi se déplacent ensuite dans le cytosol le long de microtubules. Il a été montré que de nombreux mécanismes peuvent réguler la déformation des membranes : un changement de la composition lipidique, l'oligomérisation de protéines d'échaffaudage, ou encore l'insertion de protéines transmembranaires qui peuvent induire une courbure de la membrane. Le cytosquelette et les moteurs jouent aussi un rôle important dans la déformation de la membrane. Le rôle de la dynamique de l'actine au début de la formation des transporteurs post-Golgi fait actuellement l'objet de recherches [47], et la myosine II a été identifiée comme nécessaire à la fission [110].

L'équipe de Coudrier [5] observe dans des cellules Hela que le nombre de transporteurs de la voie des récepteurs CI-mannose-Phosphate-6 (MPR) - qui transporte des cargos du RTG vers les endosomes de tri et les recycle - diminue de 70% lorsque la myosine 1b est inhibée, voir fig 3.1. Ce phénomène est dû à une inhibition de la génération de tubes précurseurs de 65%. Lorsque la myosine 1b est surexprimée,

le nombre de tubes augmente de 150%. Ces résultats indiquent que la myosine 1b est requise pour la formation des tubes précurseurs. Les auteurs observent par ailleurs que la myosine 1b recrute des foci d'actine-F (centres concentrant des filaments d'actine) car leur nombre diminue de 59% dans les échantillons inhibés. Ils concluent que le rôle vraisemblable de la myosine 1b est de recruter l'actine-F et d'initier les tubes, que les kinésines vont ensuite allonger le long de microtubules [133, 93].

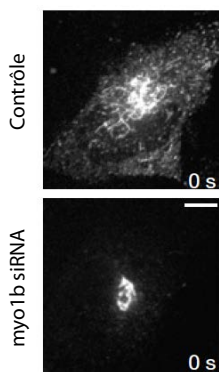


Figure 3.1. – cellules HeLa transfectées avec un Myo1b siRNA ou un siRNA contrôle. Les transporteurs MPR sont marqués et observés par fluorescence. barre de $10\mu m$.

3.2. Expérience biomimétique

Si l'extraction de tubes membranaire par des moteurs processifs (les kinésines) a déjà déjà fait l'objet d'études, voir section 2.5, nous nous attendons à ce que l'extraction par les myosines 1b (myo1b) présente un type de mécanisme de coopération nouveau : nous nous demandons notamment comment des moteurs non processifs (ne marchant pas) peuvent générer et allonger de manière continue un tube, et quelle est l'influence de l'effet de renforcement par la force. Ayako Yamada, post-doctorante dans l'équipe expérimentale de Patricia Bassereau, "Membrane et fonctions cellulaires" au laboratoire de Physico chimie de l'Institut Curie, a mis en place un dispositif expérimental biomimétique pour étudier cette question.

3.2.1. Protocole expérimental

Le système minimal reconstitué se compose de GUVs contenant du PI(4,5)P₂ comme membrane modèle, et de myo1bs purifiées qui s'y associent. Il comporte de plus des filaments d'actine assemblés en faisceaux et fixés à la surface d'un substrat

en verre couvert de poly-L-lysine. Les faisceaux sont assemblés au moyen d'un agent de réticulation, la fascine, qui leur donne une polarité uniforme. Un schéma du dispositif est représenté sur la fig 3.2.

Un test de motilité de glissement montre d'abord que les myo1bs peuvent déplacer des filaments d'actine à une vitesse de $56 \pm 4.3 \text{ nm.s}^{-1}$ similaire aux mesures réalisées ailleurs [97]. Nous nous assurons ainsi du bon fonctionnement de l'échantillon de myo1bs. On interprètera dans la partie théorique les différences observées entre ces deux systèmes. Des analyses cryo-EM permettent de vérifier que la myosine 1b se lie aux liposomes contenant du PI(4,5)P₂ (c'est ce lipide qui permet l'accrochage des myosines 1b). De plus, même lorsque la myo1b est concentrée à la surface et forme une structure en brosse, on n'observe pas d'agrégation de moteurs, fig 3.3.

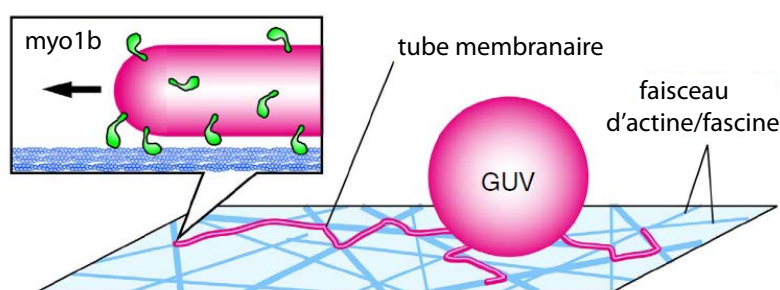


Figure 3.2. – Schéma du système reconstitué in vitro. Des tubes membranaires croissent depuis une vésicule unilamellaire géante (GUV) couverte de myo1bs, sédimentée sur des filaments d'actine agrégés en faisceaux par la fascine, immobilisés sur le support de verre.

Enfin des GUVs sont incubées avec 200nM de myos1bs. Nous observons que 10% à 20% des GUVs présentent une fluorescence liée à l'accrochage des myo1bs. Les faisceaux d'actine-fascine sont accrochés aléatoirement sur une lamelle de verre. Les GUVs sont disposées sur la plaque de verre. Après sédimentation des GUVs, la croissance des tubes est observée par microscopie confocale.

3.2.2. Résultats expérimentaux

Nous caractérisons d'abord les paramètres de la vésicule, soit sa tension σ et l'énergie de courbure de la membrane κ . Le paramètre κ est fonction de la nature des lipides composant la vésicule, et est peu sensible au taux d'enrichissement en PI(4,5)P₂. Pour le mesurer nous fixons la tension σ dans des vésicules par micro-aspiration par pipette. Nous tirons un tube et mesurons sa force f_0 . La formule $f_0 = 2\pi(2\kappa\sigma)^{1/2}$ permet de déduire κ : il est estimé à $31.7 \pm 3.0 k_B T$ soit $1.27 \pm 0.12 \cdot 10^{-19} \text{ N.m}$. Les vésicules utilisées pour les expériences sont formées par

électroformation, ce procédé génère des vésicules de tension variable ce qui permet d'explorer une large gamme de σ .

Les expériences d'extraction de tube sont réalisées en présence de 2mM d'ATP, où des extractions sont observées, fig 3.4.a,b. Nous observons que les myo1bs, les lipides et l'actine sont associés le long des tubes. Lorsque l'ATP est remplacé par de l'ADP, l'extraction est inhibée, ce qui montre qu'elle est active, et due à l'activité des myo1bs.

Nous savons que la capacité motrice de la myo1b et la durée de son interaction avec l'actine sont régulées par le calcium, car il induit le relargage de la calmoduline, un régulateur de la chaîne légère de la myo1b [97, 98]. Nous observons en effet qu'en présence de 0.5mM de calcium l'extraction de tubes est totalement inhibée. En outre, l'ajout de 2mM de calcium en présence de 1mM d'EGTA durant l'extraction de tube induit une rétraction rapide, fig 3.5. Cet effet n'est pas dû à un choc osmotique car l'osmolarité de la solution de calcium est ajustée à la valeur de la solution tampon. Nous constatons par ailleurs que la distribution en myo1b reste homogène après addition de calcium, bien que le calcium puisse agréger $\text{Pi}(4,5)\text{P}_2$ sous certaines conditions [28, 96].

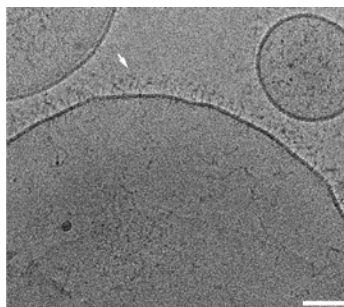


Figure 3.3. – Image cryo-EM de la myo1b attachée sur un petit liposome synthétique de egg PC/cholesterol/ $\text{Pi}(4,5)\text{P}_2$ incubée avec de la myo1b. La flèche pointe une molécule.

Pour obtenir des informations quantitatives sur le phénomène, nous mesurons la longueur des tubes en fonction du temps, ainsi que la densité en myo1b le long des tubes, par microscopie confocale. Bien que la myo1b soit non processive, la croissance de tubes a pu être observée avec des densités en myo1b du même ordre de grandeur que la densité seuil pour la kinésine 1 processive ou la kinésine NCD non processive¹ (au minimum de 300 moteurs μm^{-2}). Les tubes croissent avec une forte dérive aléatoire de par la petite taille du système et ses inhomogénéités. La vitesse moyenne est apparemment grossièrement constante, et s'étale entre 3 et $100\text{nm}\cdot\text{s}^{-1}$ pour les différents échantillons, avec des densités associées en myo1b

1. La kinésine NCD marche un nombre très faible de pas avant de se détacher, [144]

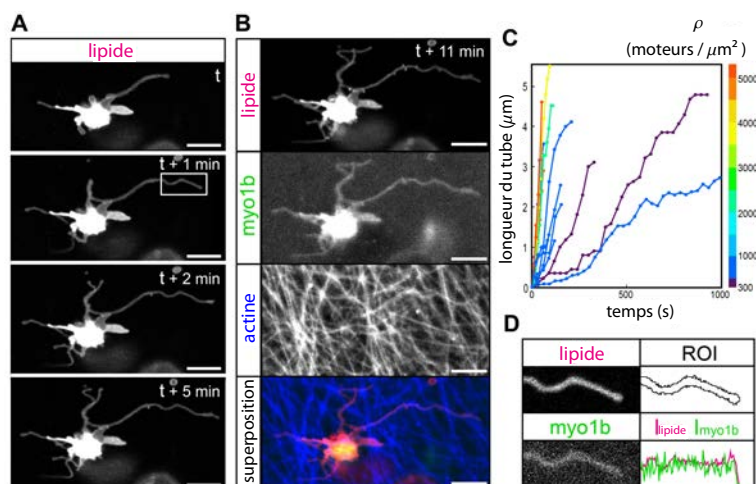


Figure 3.4. – a. Croissance de tubes membranaires entre l’instant de référence t et $t+5\text{min}$ suivi par microscopie confocale. Le plan focal est au dessus de la plaque de verre. b. Tube à l’état $t+11\text{min}$, observation des lipides, des myo1bs et de l’actine. c. Cinétique de la croissance des tubes en fonction de la densité totale en myo1b (moteurs liés à l’actine et non liés). La densité est indiquée par l’échelle de couleur représentée à droite. d. Grossissement de l’extrémité du tube (boîte en a) montrant une image de microscopie confocale de fluorescence (gauche) et les profils d’intensité (en bas à droite) des lipides et de la myo1b. barre d’échelle, $5\mu\text{m}$.

croissantes, de 300 à $5200\ \mu\text{m}^{-2}$, fig. 3.4.c. Nous observons que la densité en myo1b est constante le long des tubes, les moteurs ne s’accumulent pas à l’extrémité du tube, à la différence des kinésines dans un système similaire [93], fig 3.4.d (voir section 2.5). Nous constatons qu’une large fraction, environ 90%, des vésicules présentant des myosines 1b à leur surface ne génèrent pas de tube. Nous allons tâcher à présent d’expliquer théoriquement les différents aspects de l’extraction de tubes.

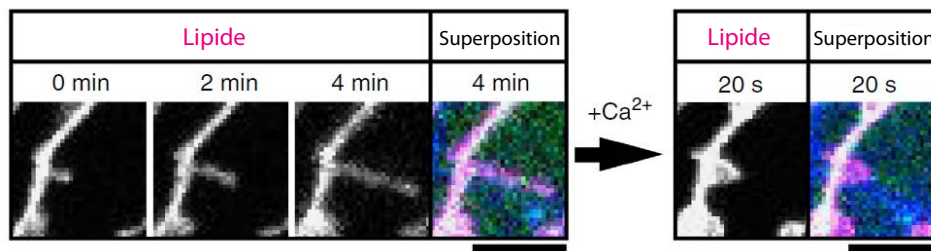


Figure 3.5. – L'ajout de calcium induit la rétraction d'un tube en croissance. image en microscopie confocale des lipides (magenta), myo1b (vert) et actine (bleue) durant la croissance (gauche) et 20s après l'ajout de 2mM de calcium (droite). La rétraction est beaucoup plus rapide que l'extension. barre d'échelle 5μm.

Chapitre 4.

Modèle de l'extraction de tubes membranaires par les moteurs non processifs renforcés par la force myosine 1b

4.1. Modélisation du cycle ATPase de la myosine 1b

Nous modélisons le cycle ATPase de la myo1b en ne retenant que les étapes limitantes, comme indiqué sur la fig 4.1 (comparer avec la fig 1.5 de l'Introduction générale). L'état A-M-ADP-Pi étant faiblement lié, [99], il ne joue pas de rôle mécanique et on le fusionne avec l'état non lié (1). Par ailleurs il existe des étapes intermédiaires entre les états A-M-ATP et A + M-ADP-Pi, mais l'équilibre est rapide et déplacé vers A + M-ADP-Pi; de plus l'étape limitante est le passage à l'état A-M-ADP, cela justifie le modèle simplifié présenté. Le modèle d'interaction avec l'actine présenté dans [89], décrit dans la section 2.3, suggère d'ajouter une voie de dissociation du complexe A-M-ADP avant expulsion de l'ADP (de taux effectif k_4). Les densités de probabilité P_i de chaque état i suivent le système d'équations (avec les k_i incluant les concentrations [ATP], [ADP], [Pi]) :

$$\begin{cases} \frac{dP_1}{dt} = k_3P_3 + (k_{-1} + k_4)P_2 - k_{+1}P_1 \\ \frac{dP_2}{dt} = k_{+1}P_1 + k_{-2}P_3 - (k_{-1} + k_{+2} + k_4)P_2 \\ \frac{dP_3}{dt} = k_{+2}P_2 - (k_{-2} + k_3)P_3 \end{cases} \quad (4.1)$$

La probabilité pour un moteur d'être dans l'état détaché vaut $P_u = P_1$, dans l'état attaché elle vaut $P_b = P_2 + P_3$. Les deux états liés à l'actine (2) et (3) ont sensiblement le même rôle mécanique de support de force, on ramène notre modèle à un modèle effectif à deux états, avec un taux d'accrochage ω_{on} et un taux de

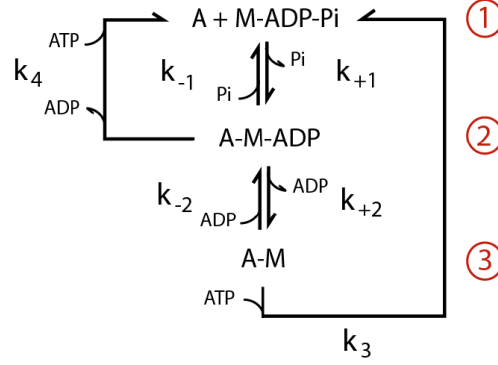


Figure 4.1. – Cycle ATPase de la myo1b dans notre modèle. La lettre A représente l'actine et M la myo1b, les tirets indiquant les complexes chimiques.

décrochage ω_{off} tels que :

$$\begin{aligned}\omega_{\text{on}}P_u &= k_{+1}P_1 \\ \omega_{\text{off}}P_b &= (k_4 + k_{-1})P_2 + k_3P_3\end{aligned}\quad (4.2)$$

Comme les concentrations en [ADP] et [Pi] sont négligeables en solution k_{-1} et k_{-2} sont proches de 0 et à l'état stationnaire, d'après les équations (4.1), (4.2) les valeurs de ω_{on} et ω_{off} sont données par :

$$\begin{aligned}\omega_{\text{on}} &= k_{+1} \\ \omega_{\text{off}} &= \frac{k_4 + k_{+2}}{1 + k_{+2}/k_3}\end{aligned}\quad (4.3)$$

D'après les mesures de la référence [89] on identifie $k_{+2} = 1.6 \exp(-fd_{\text{det}}/k_B T)$, $k_3 = 22 \exp(-fd_{\text{end}}/k_B T)$, $k_4 = 0.02$ en s^{-1} , où f est la force supportée par le moteur (parallèle au filament, opposée au mouvement), $d_{\text{det}} = 12$ nm, $d_{\text{end}} = 2.5$ nm les distances à l'intermédiaire réactionnel. Finalement nous trouvons $\omega_{\text{off}}(f) \simeq 1.6 \exp(-fd_{\text{det}}/k_B T) + 0.02$ en s^{-1} . Dans [89] la force maximale étudiée est 5pN. Pour des forces supérieures le taux de décrochage passif (qui ne fait pas partie du cycle ATPase) k_4 se comporte comme tout lien simple et augmente exponentiellement avec la force. On ajoutera dans le modèle à k_4 le terme $0.02 \exp(+ (f - f_m)d_{\text{det}}/k_b T)$ pour en rendre compte, où l'on fixe $f_m = 35$ pN (voir la section de comparaison avec les expérience 4.6).

4.2. Position du problème

L'affinité de la myo1b à la membrane est élevée, $K_d = 6nM$ [82], son taux de détachement de la membrane est petit devant son taux de détachement de l'actine,

nous supposons donc qu'elle reste attachée en permanence à la membrane. Comme la membrane est fluide, seules les myo1b à l'extrémité du tube supportent la force f . Notons que la question du rôle de la friction visqueuse des moteurs dans l'élongation du tube a été adressée [6]. Les auteurs trouvent que cette force pourrait contribuer dans les membranes biologiques, plus visqueuses que les membranes artificielles (leur modèle correspond à des moteurs processifs). Comme elle est non processive, la myo1b effectue un seul pas après s'être liée à l'actine F. L'extension des tubes requiert donc l'accrochage d'un autre moteur en avant du moteur le plus avancé. La dynamique du tube résultera donc de la cinétique d'accrochage et décrochage des moteurs à l'extrémité, voir fig 4.2.a. Remarquons que comme la myo1b est un moteur renforcé par la force, son temps de vie augmente avec la force. On s'attend donc à ce que la croissance soit facilitée par une augmentation de la densité en myo1b, et en appliquant une force aux myo1bs.

Nous allons d'abord traiter de la dynamique moyenne des myo1b le long du tube, en fonction de la vitesse d'extension \bar{v} et déterminer les différents régimes de croissance possibles. Puis nous étudierons le processus stochastique d'élongation au bout du tube qui fixe la vitesse \bar{v} en fonction des paramètres du système.

4.3. Dynamique des myosines 1b le long du tube

4.3.1. Mise en équations de la dynamique des densités en myosines 1b accrochées ρ_b et décrochées ρ_u du faisceau d'actine

Dans le tube, les moteurs diffusent à la surface avec un coefficient D lorsqu'ils sont détachés, et restent immobiles après avoir effectué un coup de force de pas y_0 lorsqu'ils sont accrochés. Le taux de décrochage le long du tube vaut $\omega_{\text{off}}(f = 0) = 1.6s^{-1}$ que nous notons simplement ω_{off} . Le taux d'accrochage des moteurs décrochés sur les sites d'actine est ω_{on} , en $\mu m^2 s^{-1}$. On appelle n_f le nombre de filaments dans le faisceau d'actine accessibles aux myo1b (c'est à dire le nombre de sites d'accrochage accessibles sur une section de faisceau d'épaisseur $d = 5.5$ nm le diamètre d'un monomère d'actine). Le taux d'accrochage vaut donc $\omega_{\text{on}}(\frac{n_f}{2\pi R_0 d} - \rho_b)$, où R_0 est le rayon du tube membranaire, ρ_u la densité de surface des moteurs décrochés de l'actine et ρ_b la densité de surface des moteurs accrochés.

Un tube a typiquement une longueur L grande devant son rayon R_0 ce qui suggère de le traiter comme un milieu unidimensionnel. Le taux d'homogénéisation de la densité en moteurs détachés sur une section de tube vaut $D/(\pi R_0)^2 \simeq 10s^{-1}$ avec $D = 1\mu m^2 s^{-1}$ et $R_0 \simeq 100$ nm un rayon typique, ce qui est grand devant les taux d'accrochage et décrochage de la myo1b (de l'ordre de $1s^{-1}$), nous considérons

donc la densité ρ_u constante sur une section du tube et ρ_u, ρ_b ne dépendent que de x . Les équations cinétiques pour un tube s'allongeant à vitesse \bar{v} sont, dans le référentiel du laboratoire :

$$\begin{cases} \frac{\partial \rho_u}{\partial t} = D \frac{\partial^2 \rho_u}{\partial x^2} - \bar{v} \frac{\partial \rho_u}{\partial x} - \omega_{\text{on}} \rho_u \left(\frac{n_f}{2\pi R_0 d} - \rho_b \right) + \omega_{\text{off}} \rho_b (x - y_0) \\ \frac{\partial \rho_b}{\partial t} = \omega_{\text{on}} \rho_u \left(\frac{n_f}{2\pi R_0 d} - \rho_b \right) - \omega_{\text{off}} \rho_b \end{cases} \quad (4.4)$$

Dans l'équation pour la dynamique de ρ_u , le premier terme à droite correspond à la diffusion des moteurs sur la surface du tube. Le second terme correspond à l'advection des moteurs par le tube croissant à vitesse \bar{v} : on suppose que la vitesse des moteurs est égale à celle du tube car la friction entre le moteur et la solution environnante est négligeable. Le troisième terme correspond à l'accrochage des moteurs sur le faisceau d'actine, et le quatrième au décrochage des moteurs du faisceau. Le décalage de y_0 entre la position du moteur avant décrochage et après dans $\rho_b(x - y_0)$ rend compte du pas effectué par la myo1b. Dans l'équation de la dynamique de ρ_b l'évolution est due seulement à l'accrochage et au décrochage de moteurs, car leur position sur le faisceau d'actine est fixe. Comme le pas y_0 est petit, on peut développer la première ligne :

$$\begin{cases} \frac{\partial \rho_u}{\partial t} = D \frac{\partial^2 \rho_u}{\partial x^2} - \bar{v} \frac{\partial \rho_u}{\partial x} - \omega_{\text{on}} \rho_u \left(\frac{n_f}{2\pi R_0 d} - \rho_b \right) + \omega_{\text{off}} \rho_b - y_0 \omega_{\text{off}} \frac{\partial \rho_b}{\partial x} \\ \frac{\partial \rho_b}{\partial t} = \omega_{\text{on}} \rho_u \left(\frac{n_f}{2\pi R_0 d} - \rho_b \right) - \omega_{\text{off}} \rho_b \end{cases} \quad (4.5)$$

Les conditions de bord sont, dans le référentiel du laboratoire ($n^o 1$, fig 4.2.a) : ρ_u est fixé au contact avec la vésicule : $\rho_u(x = 0) = \rho_v$. Il a été montré dans des travaux précédents que la déplétion de la vésicule en moteurs est négligeable dans ce type de phénomène [93], on prendra donc ρ_v constant. À l'extrémité du tube en $L(t)$ le mécanisme de croissance fixe $\rho_b(L) = \rho_b 0$, et par conservation de la matière le flux net s'annule dans le référentiel du tube : $-D \frac{\partial \rho_u}{\partial x} = (\bar{v} - y_0 \omega_{\text{off}}) \rho_b 0$. La variation de la longueur est donné par $\dot{L} = \bar{v}$. Le modèle est schématisé sur la fig 4.2.a. Notons que dans ce modèle les moteurs décrochés sont supposés indépendants, le coefficient de diffusion pourrait être affecté lorsque la densité s'approche de la densité de saturation, on néglige cet effet dans le modèle. Comme la taille d'un moteur est de $20nm$ environ, on peut estimer l'aire occupée par une molécule à environ $100nm^2$ soit une densité de saturation d'environ $10^4 \mu m^{-2}$.

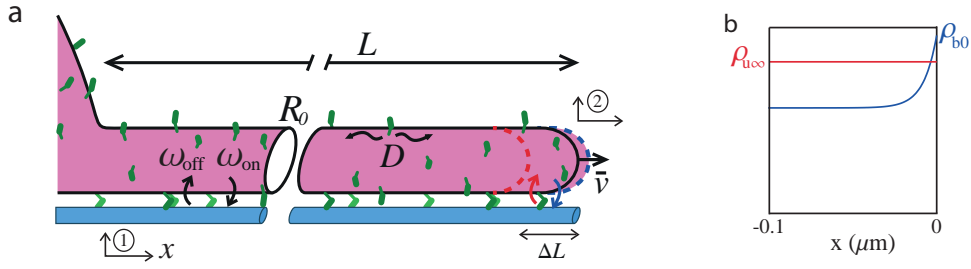


Figure 4.2. – a. Schéma du modèle d'extraction de tube. Le tube membranaire (mauve) de longueur L est extrait de la vésicule lipidique (gauche). Les myo1bs (vert) se lient au faisceau d'actine (bleu) avec un taux ω_{on} et se détachent avec un taux ω_{off} . Elles font un pas de taille y_0 quand elles sont attachées, puis restent immobile. Elles diffusent à la surface du tube avec un coefficient de diffusion D lorsqu'elles sont détachées. L'évolution de la longueur du tube est fixée par la dynamique des moteurs à son extrémité : si un moteur s'accroche en avant du moteur le plus avancé le tube s'allonge (flèche bleue), si le moteur le plus avancé se décroche, le tube se rétracte jusqu'à ce qu'un moteur accroché le stoppe (flèche rouge). Ces événements résultent en une vitesse d'élongation moyenne \bar{v} . Deux repères sont indiqués par les chiffres 1 et 2. b. Exemple typique de densités en myo1bs détachées (rouge) et attachées (bleu) à l'extrémité du tube sur une distance ΔL .

4.3.2. Dynamique de la densité totale en myo1bs ρ le long du tube

Nous notons que la densité en moteurs accrochés ρ_b relaxe avec un taux $\omega_{on}\rho_u + \omega_{off} \approx 1s^{-1}$ à sa valeur stationnaire. À l'extrémité du tube les conditions de bord éloignent la densité ρ_b de l'état stationnaire, $\frac{\partial \rho_b}{\partial t} \neq 0$. La distance sur laquelle l'inhomogénéité relaxe est de l'ordre de $\bar{v}/(\omega_{on}\rho_u + \omega_{off})$, $0.1\mu m$ ou moins typiquement. Plus loin ρ_u varie doucement, de sorte que le taux de variation dans $\frac{\partial \rho_u}{\partial t}$ associé au transport est petit devant 1 (la suite de la démonstration le confirmera). Nous supposons donc dans cette région que $\rho_b = \omega_{on} \frac{n_f}{2\pi R_0 d} / (\omega_{off} + \omega_{on}\rho_u)$. On note $\rho = \rho_u + \rho_b$ la densité totale en moteurs, et $\rho_b = r\rho$, r où r est le rapport cyclique des moteurs sur le tube :

$$r = \frac{\rho_b}{\rho_b + \rho_u} = \frac{1}{2} \left[\frac{\omega_{off}}{\omega_{on}\rho} + 1 + \frac{\rho_{bm}}{\rho} - \left(\left(\frac{\omega_{off}}{\omega_{on}\rho} + 1 + \frac{\rho_{bm}}{\rho} \right)^2 - 4 \frac{\rho_{bm}}{\rho} \right)^{1/2} \right] \quad (4.6)$$

Où on a renommé $\rho_{bm} = \frac{n_f}{2\pi R_0 d}$ la densité en moteurs accrochés maximale. r dépend de l'affinité de la myo1b pour l'actine mais aussi de la taille du fais-

ceau relativement au tube (en terme de réservoir). Notons que si $\rho \ll \rho_{\text{bm}}$, $r \rightarrow \omega_{\text{on}}\rho_{\text{bm}}/(\omega_{\text{on}}\rho_{\text{bm}} + \omega_{\text{off}})$ (limite diluée), si $\rho \gg \rho_{\text{bm}}$ avec $\rho \gg \omega_{\text{off}}/\omega_{\text{on}}$, $r \rightarrow \rho_{\text{bm}}/\rho$ (limite concentrée, accrochage efficace : le faisceau d'actine est saturé en myo1b), enfin si $\rho \gg \rho_{\text{bm}}$ avec $\rho \ll \omega_{\text{off}}/\omega_{\text{on}}$, $r \rightarrow \rho_{\text{bm}}\omega_{\text{on}}/\omega_{\text{off}}$ (limite concentré, accrochage inefficace).

En sommant les deux équations (4.5) nous éliminons les termes de réactions, nous obtenons la dynamique de la densité totale ρ et nous nous ramenons à un problème d'advection-diffusion :

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} = (1 - r)D \frac{\partial^2 \rho}{\partial x^2} - (\bar{v}(1 - r) + y_0 \omega_{\text{off}} r) \frac{\partial \rho}{\partial x} \quad (4.7)$$

Les conditions de bords sont $\rho(x = 0) = \rho_{\text{v}}/(1 - r)$, et $-D(1 - r) \frac{\partial \rho}{\partial x} = r(-\bar{v} + y_0 \omega_{\text{off}})\rho$ en $L - \Delta L$, avec ΔL la zone limite à l'extrémité du tube où l'approximation n'est pas valable, voir fig 4.2.a. La vitesse d'extension \dot{L} dépend de $\rho(L - \Delta L)$. Ce problème d'advection-diffusion avec frontières mobiles s'apparente à la classe des problèmes de Stephan abordés dans le livre [34] : historiquement le premier système de ce type traité a été la diffusion de la chaleur, et le déplacement d'une interface eau liquide - glace, pour prédire la cinétique de formation de la glace. Notre problème est plus complexe car la vitesse du front (de l'extrémité du tube) dépend de manière non triviale de ρ et un transport par advection s'ajoute à la diffusion. Observons d'abord le profil des densités au bout du tube en fonction de sa composition en $L - \Delta L$, puis analysons les différents régimes de croissance.

4.3.3. Profils de densité à l'extrémité du tube

L'équation (4.7) est inexacte à l'extrémité du tube comme nous l'avons vu. Il nous faut donc estimer la déviation des densités par rapport à $\rho_{\text{b}} = r\rho$ dans cette région. Nous allons résoudre les équations (4.5) dans la limite $\rho_{\text{b}} \ll \rho_{\text{bm}}$ par souci de simplicité, pour les linéariser (les conclusions sont les mêmes hors de cette limite). Nous nous plaçons dans le référentiel du tube ($n^{\circ} 2$, fig 4.2.a), en prenant l'origine à l'extrémité du tube comme indiqué sur la fig 4.2.a. La dynamique des moteurs est alors donnée par :

$$\begin{cases} \frac{\partial \rho_{\text{u}}}{\partial t} = D \frac{\partial^2 \rho_{\text{u}}}{\partial x^2} - \omega_{\text{on}}\rho_{\text{u}}\rho_{\text{bm}} + \omega_{\text{off}}\rho_{\text{b}} - y_0\omega_{\text{off}} \frac{\partial \rho_{\text{b}}}{\partial x} \\ \frac{\partial \rho_{\text{b}}}{\partial t} = \omega_{\text{on}}\rho_{\text{u}}\rho_{\text{bm}} - \omega_{\text{off}}\rho_{\text{b}} + \bar{v} \frac{\partial \rho_{\text{b}}}{\partial x} \end{cases} \quad (4.8)$$

Pour évaluer la déviation des densités à l'extrémité nous nous plaçons dans un segment de taille ΔL . Ce segment est raccordé au reste du tube en imposant la densité $\rho_{\text{u}}(-\Delta L) = \rho_{\text{u}\infty}$. Les autres conditions sont inchangées par rapport à la section 4.3.1. La distribution des moteurs dans ce segment relaxe plus rapidement

que dans le reste du tube (car sa longueur est plus faible), $\rho_{u\infty}$ évolue donc lentement, nous le prenons constant et considérons que le segment extrême du tube est à l'état stationnaire.

Nous cherchons des solutions de forme exponentielle en $\exp(qx)$. Il existe 3 modes : $q_0 = 0$, $q_1 \simeq \omega_{\text{off}}/\bar{v}$ et $q_2 \simeq -\frac{\bar{v}-y_0\omega_{\text{off}}}{D}\frac{\omega_{\text{on}}\rho_{\text{bm}}}{\omega_{\text{off}}}$. Le premier mode correspond à la densité moyenne dans le tube. Le second correspond à la perturbation induite à l'extrémité du tube par le mécanisme d'élongation. Le troisième est l'inverse de la longueur associée au phénomène d'advection-diffusion. Dans notre système q_1 vaut typiquement $10\mu\text{m}^{-1}$ et q_2 $0.1\mu\text{m}^{-1}$, $q_1 \gg q_2$, les échelles sont découplées. Le mode q_1 fixe la taille du segment. Nous choisissons $q_1^{-1} \ll \Delta L \ll q_2^{-1}$. Le mode 2 est donc approximativement constant dans le segment et nous trouvons la solution stationnaire :

$$\begin{cases} \rho_u = \rho_{u\infty} - \rho_{b0} \frac{\bar{v}(\bar{v} - y_0\omega_{\text{off}})}{D\omega_{\text{off}}} \exp\left(\frac{\omega_{\text{off}}}{\bar{v}}x\right) \\ \rho_b = \frac{\omega_{\text{on}}\rho_{\text{bm}}}{\omega_{\text{off}}}\rho_{u\infty} + \left(\rho_{b0} - \frac{\omega_{\text{on}}\rho_{\text{bm}}}{\omega_{\text{off}}}\rho_{u\infty}\right) \exp\left(\frac{\omega_{\text{off}}}{\bar{v}}x\right) \end{cases} \quad (4.9)$$

Dans la première ligne le préfacteur $\frac{\bar{v}(\bar{v} - y_0\omega_{\text{off}})}{D\omega_{\text{off}}}$, qui est un nombre de Péclet (le sens de ce nombre est expliqué dans la suite) où la vitesse vaut $\bar{v} - y_0\omega_{\text{off}}$ et la distance caractéristique $\bar{v}/\omega_{\text{off}}$, est inférieur à 10^{-2} , la diffusion est rapide sur cette petite distance et finalement $\rho_u(x) \approx \rho_{u\infty}$. Donc à l'extrémité du tube ρ_u n'est pas perturbée, et le rapport cyclique r relaxe à sa valeur indiquée en (4.6) sur une distance $\frac{\bar{v}}{\omega_{\text{off}}}$ inférieure à 100nm , illustrée avec des paramètres typiques sur la fig 4.2.b.

4.3.4. Les différents régimes de croissance du tube

Nous allons discuter des régimes de croissance de tube tirés par des moteurs aussi bien non processifs que processifs. Les équations gouvernant l'évolution des densités dans le cas de moteurs processifs sont :

$$\begin{cases} \frac{\partial \rho_u}{\partial t} = D \frac{\partial^2 \rho_u}{\partial x^2} - \bar{v} \frac{\partial \rho_u}{\partial x} - \omega_{\text{on}} \rho_u \left(\frac{n_f}{2\pi R_0 d} - \rho_b \right) + \omega_{\text{off}} \rho_b \\ \frac{\partial \rho_b}{\partial t} = -\bar{v}_0 \frac{\partial \rho_b}{\partial x} + \omega_{\text{on}} \rho_u \left(\frac{n_f}{2\pi R_0 d} - \rho_b \right) - \omega_{\text{off}} \rho_b \end{cases} \quad (4.10)$$

où \bar{v}_0 est la vitesse de marche des moteurs accrochés, et égale à leur vitesse maximale en absence de force. En sommant les deux lignes on trouve l'équation gouvernant l'évolution de la densité totale ρ :

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} = (1 - r)D \frac{\partial^2 \rho}{\partial x^2} - (\bar{v}(1 - r) + \bar{v}_0 r) \frac{\partial \rho}{\partial x} \quad (4.11)$$

Elle est très similaire à l'équation (4.7), et montre que le cas des moteurs non processifs, équation 4.7, est un cas particulier de l'équation 4.11 où $\bar{v}_0 = y_0 \omega_{\text{off}}$. Nous discutons le cas général, équation 4.11, dans la suite de cette section.

Nous considérons un tube exerçant une force constante, avec n_f et ρ_v constants. L'évolution de la vitesse d'élongation \bar{v} ne dépend alors que de $\rho(L)$. Initialement \bar{v} est constant. Etudions l'évolution du système. Les moteurs ont une vitesse moyenne $\bar{v}(1 - r) + \bar{v}_0 r$, c'est la moyenne des vitesses des moteurs dans les états respectivement décroché et accroché, pondérées par la fraction du temps passé dans chaque état. Il existe deux régimes de croissance, selon que l'élongation du tube est plus ou moins rapide que le transport des moteurs.

Régime de déplétion à l'extrémité du tube

Le cas où l'advection des moteurs est plus lente que la croissance du tube, $\bar{v}(1 - r) + \bar{v}_0 r < \bar{v}$, implique $\bar{v}_0 < \bar{v}$: la vitesse de marche des moteurs (ou $y_0 \omega_{\text{off}}$ pour des moteurs non processifs) est plus faible que la vitesse d'extension du tube. L'extrémité du tube se déplete alors en moteurs. Nous allons déterminer le temps caractéristique de la déplétion.

Au début de l'extraction du tube, la longueur du tube est faible, la diffusion homogénéise ρ qui reste constant le long du tube. La vitesse d'extraction est alors constante : $\bar{v} \approx \bar{v}(\rho(x = 0))$. Estimons la durée durant laquelle cette vitesse se maintient. L'équation (4.11) n'est pas soluble avec des frontières mobiles. Cependant une géométrie plus simple permet de quantifier la transition entre deux régimes successifs. Nous résolvons l'équation (4.11) en milieu semi-infini sur le demi espace $x > 0$, avec la condition de bord $\rho(x = 0, t) = \rho(0)$. Cela revient à ignorer la paroi à l'extrémité du tube en $x = L$, ce qui est correct car dans ce régime peu de moteurs sont transportés au delà de $x = L$ (sauf lorsque \bar{v}_0 tend vers \bar{v}). La solution s'écrit

$$\rho(x, t) = \frac{\rho(0)}{2} \left[\operatorname{erfc}\left(\frac{x - \bar{v}'t}{2(D't)^{1/2}}\right) + \exp\left(\frac{\bar{v}'x}{D'}\right) \operatorname{erfc}\left(\frac{x + \bar{v}'t}{2(D't)^{1/2}}\right) \right] \quad (4.12)$$

Où $\bar{v}' = \bar{v}(1 - r) + \bar{v}_0 r$ et $D' = D(1 - r)$. Nous estimons la densité à l'extrémité du tube par $\rho(L, t) = \rho(x = \bar{v}t, t)$.

L'extrémité du tube se déplete lorsqu'il devient trop long pour que la densité s'homogénéise par diffusion. On considère que l'extrémité du tube est sensiblement déplétée lorsque la densité de moteurs a diminué de moitié. Le temps critique t^* nécessaire à cette déplétion est alors défini par $\rho(\bar{v}t^*, t^*) = \rho(0)/2$. Nous estimons t^* en développant cette dernière formule, et trouvons

$$t^* = \frac{D'\pi}{4\bar{v}^2} \quad (4.13)$$

La vitesse d'advection \bar{v}' n'intervient pas dans cette formule, car à temps court le transport est dominé par la diffusion. Une représentation de $\rho(x = \bar{v}t, t)$ en fonction du temps pour différents \bar{v}' illustre ce résultat, fig 4.3 : la densité à l'extrémité du tube diminue sensiblement au delà d'une durée de un à quelques t^* sur une large gamme de \bar{v}' . Notons que notre calcul n'est pas valable dans la limite où \bar{v}' tend vers \bar{v} : nous ne pouvons pas alors ignorer la paroi à l'extrémité du tube et t^* dépend alors de \bar{v}' .

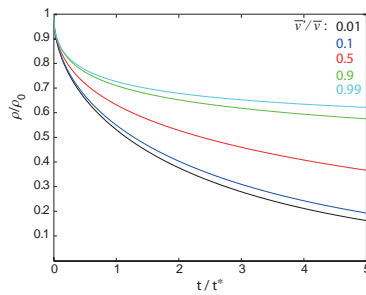


Figure 4.3. – Représentation graphique de la densité en myo1b au point $L(t)$, d'après l'équation (4.12), pour des vitesses de transport \bar{v}' variant de $0.01\bar{v}$ à $0.99\bar{v}$

Au temps t^* , la longueur critique du tube $L^* = \bar{v}t^*$ vérifie $\frac{\bar{v}L^*}{D'} = \frac{\pi}{4}$. On reconnaît le nombre de Péclet $Pe = VL/D$ où L est la distance caractéristique dans le système, V la vitesse et D le coefficient de diffusion. ce nombre caractérise les phénomènes d'advection-diffusion. La transition entre un transport dominé par l'advection et un transport dominé par la diffusion s'opère de manière nette autour d'une valeur de $Pe \approx 1$. Une explication intuitive du nombre de Péclet peut être trouvée dans le livre de Redner [130].

Ensuite, la longueur du tube suit l'avancée de front de la densité : l'élongation du tube au cours d'une durée Δt , $\bar{v}\Delta t$ est approximativement la somme de la contribution du transport convectif des moteurs $\bar{v}'\Delta t$ et de leur transport diffusif $(D'\Delta t)^{1/2}$. On trouve alors $L(t) - L^* \approx \frac{(D'\Delta t)^{1/2}}{r} + \bar{v}_0\Delta t$. La vitesse d'élongation relaxe vers \bar{v}_0 , avec une seconde durée caractéristique $\Delta t^{**} = \frac{D'}{(r\bar{v}_0)^2}$.

Régime d'accumulation à l'extrémité du tube

Dans l'autre cas, $\bar{v}_0 > \bar{v}$, l'advection des moteurs est plus rapide que la croissance du tube, les moteurs rattrapent donc l'extrémité du tube et s'accumulent sur une distance caractéristique décrite dans [39]. Cette augmentation de la densité tend à

accélérer l'extraction. Cette accumulation cesse si \bar{v} atteint \bar{v}_0 .

Les différentes situations sont synthétisées sur le schéma de la fig 4.4. Il existe deux types de courbes $\bar{v}(\rho)$ la vitesse de croissance en fonction de la densité à l'extrémité. Dans le cas (1) $\bar{v} < \bar{v}_0$ pour tout ρ : le système est dans un régime d'accumulation sans fin, tant que d'autres facteurs n'affectent pas la croissance, tels que la déplétion de la vésicule ou une variation de la force du tube. Dans le cas (2), $\bar{v} > \bar{v}_0$ au delà d'un certain ρ , deux dynamiques sont possibles selon l'état initial du système. Si initialement $\bar{v} < \bar{v}_0$, le tube croît d'abord en régime d'accumulation et la vitesse augmente jusqu'à ce que \bar{v} atteigne \bar{v}_0 . Puis la vitesse reste constante et l'accumulation cesse. Si initialement $\bar{v} > \bar{v}_0$, le tube croît en régime de déplétion jusqu'à ce que \bar{v} atteigne \bar{v}_0 , la densité est alors constante dans le tube.

Les moteurs processifs sont toujours dans le cas (1), car les moteurs qui extraient le tube sont ralentis par sa force et sont donc plus lents que les moteurs libres (et on suppose que l'accrochage de moteurs en avant du tube contribue peu dans son élongation dans ce cas). L'étude de l'extraction de tubes par des kinésines 1 [93, 39] illustre cette situation, voir section 2.5. Les moteurs non processifs peuvent être dans le cas (1) ou (2). En effet de par la nature fluide de la membrane plasmique, ils peuvent étirer le tube à une vitesse supérieure à $y_0\omega_{\text{off}}$, comme nous le constaterons plus loin.

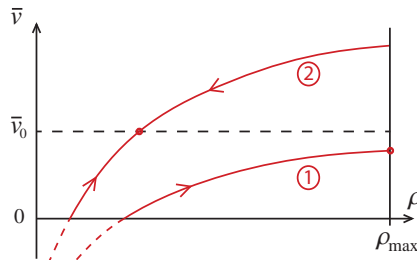


Figure 4.4. – Schéma synthétisant les différents régimes de croissance des tubes. Les deux courbes représentent schématiquement la vitesse d'élongation \bar{v} en fonction de la densité au bout du tube ρ . La vitesse \bar{v}_0 est la vitesse d'avancée des moteurs accrochés le long du tube. ρ_{max} est la densité de saturation en moteurs au bout du tube (soit l'inverse de la surface par moteur). Les flèches indiquent l'évolution dans le temps de l'état du système, et les points indiquent les états stationnaires.

Régime de croissance dans nos expériences

Expérimentalement comme $y_0\omega_{\text{off}} \approx 10\text{nm}\cdot\text{s}^{-1}$, et qu'on observe des vitesses \bar{v} atteignant $100\text{nm}\cdot\text{s}^{-1}$, notre système a une courbe $\bar{v}(\rho)$ de type (2). Pour la

plupart des tubes $y_0 \omega_{\text{off}} < \bar{v}$: ils croissent dans le régime de déplétion. Cependant la longueur critique de déplétion L^* , qui vaut D'/\bar{v} dans notre système est toujours supérieure à $10\mu\text{m}$, et comme les tubes observés ont une taille limitée à $5\mu\text{m}$ la déplétion est toujours négligeable, en accord avec les observations de densité constante le long du tube, fig 3.4.d. Les quelques échantillons croissant lentement tels que $y_0 \omega_{\text{off}} > \bar{v}$ présentent une accumulation de moteurs à l'extrémité du tube. Cependant la distance d'accumulation pour de telles vitesses est de l'ordre de $100\mu\text{m}$, grande devant la taille des tubes observés, c'est pourquoi nous n'observons pas d'accumulation. La densité en moteurs le long du tube est donc constante au cours de la croissance dans nos expériences. Nous nous plaçons toujours dans cette situation dans la suite de notre étude.

4.4. Modélisation du mécanisme d'élongation à l'extrémité du tube

4.4.1. Simulation de la croissance du tube

Nous réalisons une simulation du processus de croissance du tube par une méthode de type Monte Carlo à temps continu . Nous adoptons l'algorithme de Gillespie [58], déjà implémenté pour un système similaire [23]. Avec cette méthode le pas de temps n'est pas fixé à priori, ce qui permet aux taux de transitions dans le système d'évoluer dans le temps. Résumons brièvement le déroulement d'un pas de la simulation : Pour déterminer le temps d'attente et la prochaine transition dans le système, nous calculons d'abord le temps d'attente avant qu'un événement quelconque ne se produise dans le système. Le temps d'attente pour chaque transition est une variable aléatoire de distribution exponentielle et d'espérance l'inverse du taux. Le temps avant un événement quelconque suit également une distribution exponentielle, d'espérance l'inverse de la somme de tous les taux du système. Puis on tire aléatoirement une transition parmi celles possibles. La probabilité pour une transition de se produire est proportionnelle à son taux.

Le système est modélisé comme indiqué sur la fig 4.5 . Le faisceau d'actine composé de n_f filaments accessibles est modélisé comme un damier. Un moteur peut se lier sur chaque site si le tube membranaire est au dessus du site. Le tube exerce une force f , et la densité en moteurs détachés vaut ρ_u , ce sont les 3 paramètres du problème.

Taux de transition le long du tube

Comme nous avons vu dans le modèle en champ moyen de la section 4.3.3 que la diffusion est rapide devant les autres événements, nous supposons une densité

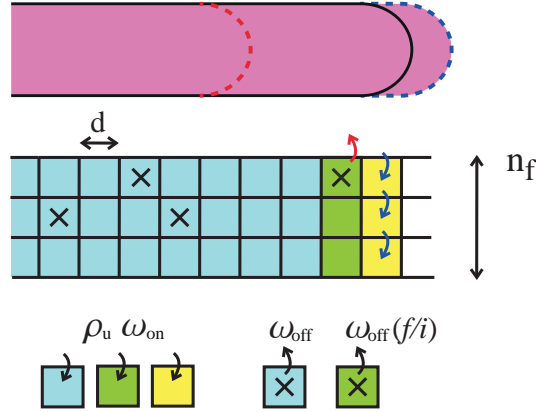


Figure 4.5. – Schéma du tube et du faisceau d’actine dans la simulation. Les myo1bs attachées sont représentées par des “X”. Le tube est divisé en trois régions : le long du tube (bleu), l’agrégat (vert), la rangée en avant du tube (jaune). Dans l’exemple si un moteur s’accroche sur un des sites indiqués par une flèche bleue, le tube s’allonge de $+d$. Si le moteur dans l’agrégat se décroche (flèche rouge), le tube se rétracte de $-4d$. Les différentes transitions et les taux associés sont représentés en bas.

de moteurs décrochés ρ_u constante. Le taux d’attachement des moteurs sur un site du faisceau d’actine libre vaut donc $\rho_u \omega_{on}$ (cette suppression des fluctuations de ρ_u est sans influence sur les moments de l’allongement du tube, il modifie seulement l’autocorrélation temporelle ce dont nous ne nous soucions pas). le taux de décrochage est ω_{off} , voir fig 4.5.

Taux de transition dans la zone de l’agrégat

Nous supposons que seuls les moteurs sur la rangée la plus avancée supportent la force f du tube. Nous supposons que les moteurs sont tous dans le même état de tension, et pour un agrégat de i moteurs chacun perçoit une force f/i où f est la force du tube. Leur taux de décrochage vaut donc $\omega_{off}(f/i)$ ¹. Le taux d’accrochage dans l’agrégat et en avant de l’agrégat vaut $\rho_u \omega_{on}$, voir fig 4.5. Certains aspects du phénomène devraient dépendre du nombre de rangées de moteurs supportant la force, et de la dépendance en force de ω_{on} . Cependant comme nous le verrons cette approche qui limite l’introduction de paramètres supplémentaires décrit les phénomènes expérimentaux.

1. Note : ils se décrochent davantage s’ils sont plus nombreux.

Mécanisme de l'extension du tube

Si un moteur s'accroche en avant de l'agrégat, sur une nouvelle rangée, le tube s'allonge de $+d$. Comme le pas du moteur y_0 est comparable au diamètre de l'actine d nous négligeons les événements d'accrochage de moteurs plusieurs rangées en avant de l'agrégat (ces événements dépendent aussi de la courbure du tube à l'extrémité et de la raideur des moteurs, mais pour éviter les détails superflus nous considérons des pas en avant de taille unique). D'autre part, si tous les moteurs sur la rangée la plus avancée se décrochent, le tube se rétracte, jusqu'à ce qu'il butte sur un moteur accroché. La taille du saut est alors $-kd$ et la distribution de k dépendra de la densité de moteurs accrochés et de n_f , voir fig 4.5.

Remarquons que le bruit thermique joue un rôle dans les transitions d'état des moteurs, mais n'a pas de rôle direct sur la longueur du tube : en effet les fluctuations thermiques de la longueur du tube sont de l'ordre de $k_B T / f < 1nm$ pour un tube de force typique $10pN$ (pour une force de l'ordre de 1 pN les fluctuations sont de l'ordre de d le diamètre de l'actine et pourraient donc faciliter l'accrochage de moteurs)

Implémentation des conditions de bord

On considère un tube de taille N , N étant le nombre de rangées de sites d'actine. Si le tube s'allonge de $+d$, on décale vers la gauche de une case tous les sites du faisceau d'actine. Si le tube se rétracte de $-kd$, on décale vers la droite de k cases tous les sites. Sur les k sites apparus à gauche on génère aléatoirement des moteurs avec une probabilité $\rho_u \omega_{on} / (\rho_u \omega_{on} + \omega_{off})$. N est choisi tel qu'il est grand devant la taille moyenne des sauts de rétraction. On limite à N la taille des sauts de rétraction.

4.4.2. Résultats numériques

Nous présentons ici des résultats avec pour valeur de ω_{on} $1.5 \cdot 10^{-3} \mu m^2 \cdot s^{-1}$, Nous montrerons que cette valeur donne un bon accord avec les expériences (fixer ω_{on} fixe seulement le ρ_u caractéristique $\omega_{off} / \omega_{on}$). Nous réalisons une simulation numérique suivant l'algorithme décrit ci-dessus à l'aide de Matlab [108]. Nous présentons comme premier résultat un suivi de la longueur du tube en fonction du temps, pour des paramètres particuliers illustrant l'effet de la force sur la croissance du tube. La densité est fixée à $\rho_u = 500 \mu m^{-2}$, le nombre de filaments accessibles est $n_f = 1$ et la force f est variable, fig 4.6. Sur les trois courbes nous voyons que la longueur évolue par sauts, soit en avant de taille d , soit en arrière et dans ce cas ils peuvent être grands devant d . Avec la condition $f = 0$, la contribution des sauts de rétraction est plus importante que celle de sauts d'extension, de sorte que la longueur du

tube décroît. Avec $f = 0.7pN$ le taux de sauts en arrière diminue, la longueur évolue aléatoirement avec une vitesse moyenne apparemment nulle. En augmentant encore f à $2pN$, nous observons finalement une croissance moyenne du tube : le renforcement par la force des myo1b permet d'allonger le tube. Remarquons que le temps caractéristique nécessaire pour observer le comportement moyen augmente sur la deuxième figure, où la vitesse moyenne est proche de 0.

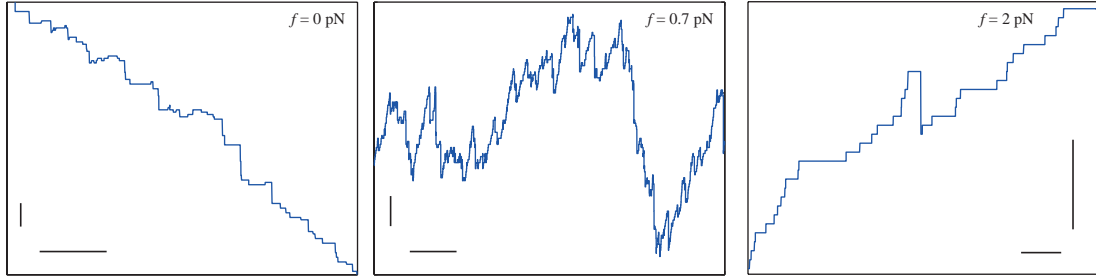


Figure 4.6. – Représentation de l'évolution de la longueur L du tube en fonction du temps. La densité en myo1b vaut $\rho_u = 500\mu m^{-2}$ le nombre de filaments accessibles est $n_f = 1$, la force du tube f varie comme indiqué. Les barres verticales correspondent à 10 sites sur le faisceau (soit une longueur de 55nm), les barres horizontales correspondent respectivement à 5s, 10s et 5s de gauche à droite.

Après cette première observation, nous réalisons une simulation numérique de la dynamique du système dans des conditions explorant la gamme des paramètres pertinents physiquement : ρ_u varie entre $10\mu m^{-2}$ et $5000\mu m^{-2}$ (de l'ordre de la densité de saturation en moteurs décrochés), f la force du tube prend les valeurs $0pN$, $0.3pN$ la force caractéristique de renforcement de la myo1b, et $1pN$ (Le cas $f = 0$ pN est un cas limite non réalisable expérimentalement qui illustre le comportement des moteurs en absence de force). Pour étudier l'effet de la coopérativité entre les moteurs nous prenons pour valeurs de n_f 1, 2, 3 et 10. Nous mesurons la longueur du tube en fonction du temps $L(t)$. Nous extrayons une série de valeurs de la variation de L sur une durée ΔT : $\Delta L_i = (L(i\Delta T) - L((i-1)\Delta T))/\Delta T$ (nous fixons ΔT à 10s). Nous estimons la vitesse moyenne $\bar{v} = 1/I \sum_{i=1}^I \Delta L_i/\Delta T$, et le coefficient de diffusion $D_{\text{diff}} = 1/2I\Delta T \sum_i (\Delta L_i - \bar{v}\Delta T)^2$. Ces deux estimateurs statistiques convergent en $I^{-1/2}$. Nous simulons l'évolution de L sur une durée 10^4s ($I = 1000$) pour obtenir une précision suffisante.

Les résultats sont représentés sur la fig 4.7, pour les valeurs de n_f 1 et 2. En annexe sont représentés les résultats complémentaires pour les valeurs de n_f 3 et 10, fig A.1. On observe que \bar{v} , fig 4.7.a,b, tend vers $-\infty$ en 0 (voir par exemple la courbe bleue, pour $f = 0$), cela est dû à l'augmentation de la taille des sauts de rétraction, et pour $n_f > 1$ à l'augmentation de la probabilité d'avoir un seul

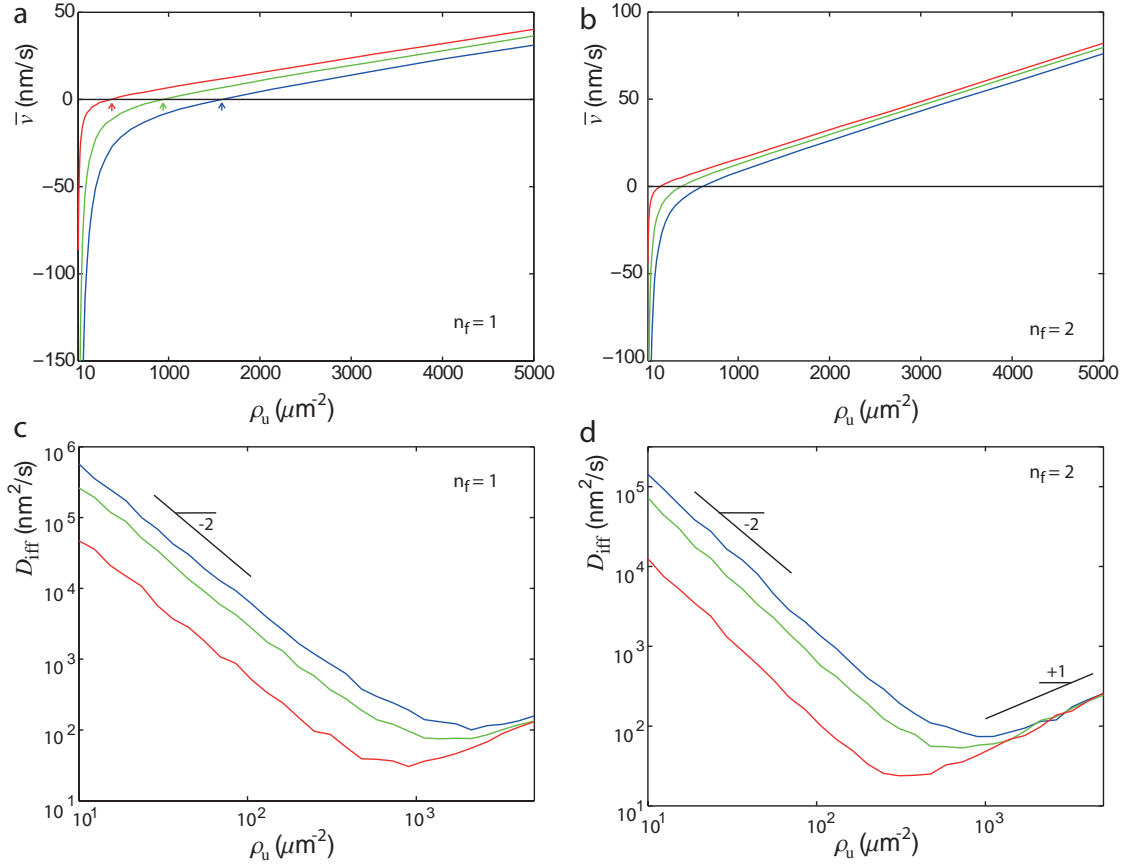


Figure 4.7. – Représentation de la vitesse moyenne \bar{v} et du coefficient de diffusion D_{diff} pour $n_f = 1$ (a, c) et $n_f = 2$ (b, d) de la croissance du tube en fonction de la densité ρ_u , avec une force de tube variable f de 0 pN (bleu), 0.3 pN (vert), 1 pN (rouge). Les flèches en a. pointent le seuil de changement de signe de \bar{v} pour les différentes forces.

moteur supportant la force du tube. Quand ρ_u augmente, le taux d'accrochage des moteurs en avant du tube et de saut d'extension du tube de taille $+d$ augmente proportionnellement, la vitesse varie asymptotiquement de manière linéaire avec ρ_u . Cette transition entre un régime dominé par les sauts de rétraction et un régime dominé par les sauts d'extension apparaît aussi sur les courbes de D_{diff} , fig 4.7, avec une transition entre les deux régimes bien marquée (la forme de la courbe sera expliquée dans le traitement analytique).

L'augmentation de la force f diminue le taux de décrochage des moteurs supportant le tube et donc le taux de saut de rétraction, elle augmente donc la vitesse \bar{v} et diminue le coefficient de diffusion D_{diff} . L'effet sur la vitesse est plus marqué pour

les densités en moteurs faibles, où le poids des sauts de rétraction est important. Notons que la densité pour laquelle la vitesse \bar{v} devient positive, indiquée par des flèches sur la fig 4.7.a diminue fortement sous une force de $1pN$. Ce seuil qu'on nomme ρ_u^* est important car il détermine la densité minimale pour allonger un tube. Cet effet est illustré par la fig 4.6.

Quand n_f augmente on remarque tout d'abord que la pente de \bar{v} dans la limite des densités élevées augmente, proportionnellement à n_f car le taux d'accrochage des moteurs en avant du tube est proportionnel au nombre de sites accessibles. Cependant ρ_u^* diminue quand n_f augmente, \bar{v} n'est pas proportionnel à n_f en général. On observe en revanche qu'en agrégeant les variables ρ_u et n_f en $n_f \rho_u$ les courbes de \bar{v} et D_{diff} se superposent, fig 4.8. Plus précisément les courbes semblent converger vite vers une même courbe limite quand n_f augmente. Seul le cas $n_f = 1$ dévie un peu : comme dans de nombreux phénomènes de coopérativité le cas non coopératif est différent des autres. Cette loi d'échelle suggère donc que $\rho_u^* \propto n_f^{-1}$: l'augmentation de la taille du faisceau facilite l'allongement du tube. Cette loi d'échelle n'a pas d'interprétation évidente. Tâchons à présent d'étudier analytiquement le processus stochastique.

4.4.3. Résolution analytique

Dynamique stochastique de la taille de l'agrégat

Nous proposons à présent de dériver analytiquement le processus stochastique de croissance du tube en fonction de ρ_u , f , n_f . Formellement ce problème a de nombreux degrés de libertés puisqu'il dépend de la dynamique de tous les moteurs dans une région du tube de taille ΔL . Cependant comme précédemment nous remarquons que la diffusion est plus rapide que les autres phénomènes, on peut donc supposer la densité de moteurs décrochés ρ_u constante. Ensuite, le temps de vie de l'agrégat avant une rétraction du tube est comparable ou supérieur (lorsque la force est non nulle) au temps de relaxation de la densité des moteurs accrochés en arrière de l'agrégat. On supposera donc que la probabilité p d'occupation d'un site d'actine en arrière de l'agrégat est à l'état stationnaire, $p = \rho_u \omega_{\text{on}} / (\rho_u \omega_{\text{on}} + \omega_{\text{off}})$. L'évolution de $P_a(i)$ la probabilité d'avoir un agrégat de taille i est donc décrite par l'équation maîtresse suivante :

$$\partial_t P_a(i) = \sum_{i'} W_a(i, i') P_a(i') - P_a(i) \sum_{i'} W_a(i', i) \quad (4.14)$$

où $W_a(i, i')$ est le taux de transition d'un agrégat de taille i' à un agrégat de taille i . Les valeurs des taux sont :

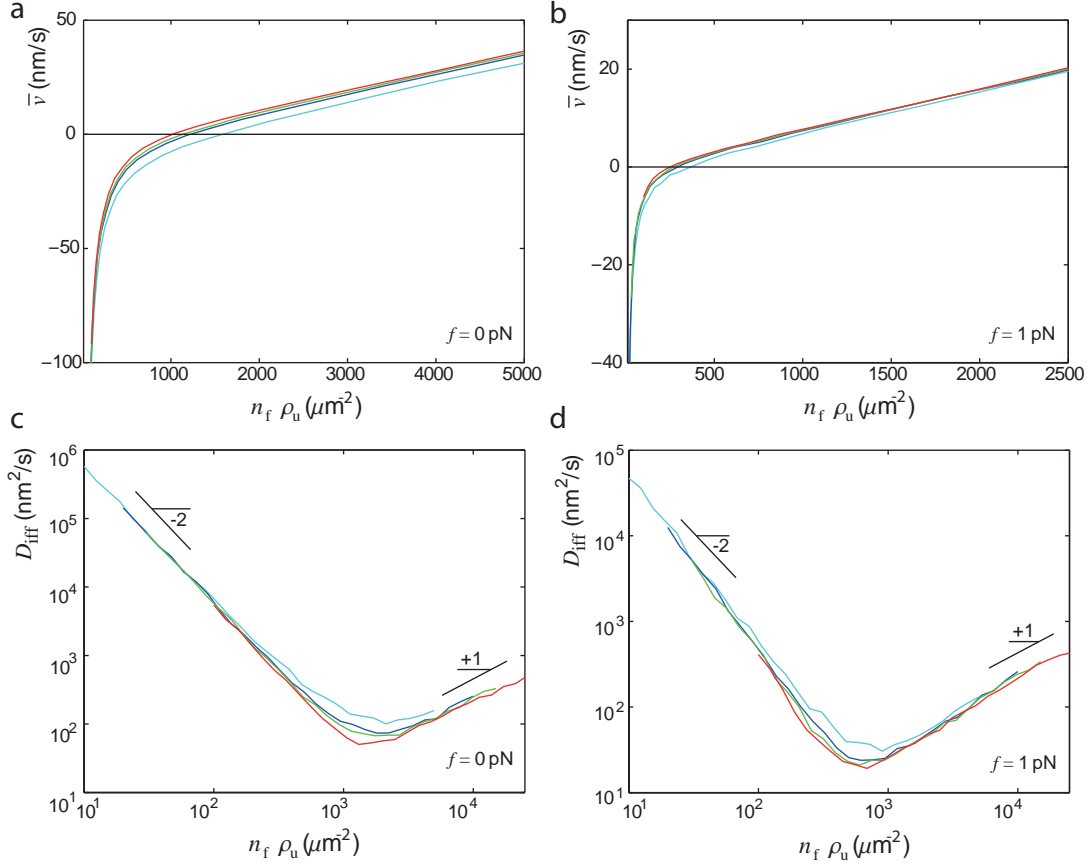


Figure 4.8. – Représentation de la vitesse moyenne \bar{v} (a,b) et du coefficient de diffusion D_{diff} (c,d) en fonction de la nouvelle variable $n_f \rho_u$, avec les valeurs de n_f 1 (cyan), 2 (bleu), 3 (vert) et 10(rouge), dans les conditions de force f égale à 0pN (a, c) et 1 pN (b, d).

$$\begin{cases} W_a(i+1, i) = \rho_u \omega_{\text{on}} (n_f - i) \\ W_a(i-1, i) = i \omega_{\text{off}} (f/i) \\ W_a(1, i) = \rho_u n_f \omega_{\text{on}} \\ W_a(i, 1) = \omega_{\text{off}}(f) \binom{n_f - 1}{i - 1} p^{i-1} (1-p)^{n_f-i} \end{cases} \quad (4.15)$$

Les taux pour les autres transitions sont nuls. La première ligne correspond à l'accrochage d'un moteur sur l'un des $(n_f - i)$ sites disponibles dans la rangée de l'agrégat. La deuxième ligne correspond au décrochage de l'un des i moteurs de l'agrégat, supportant chacun une force f/i . La troisième ligne correspond à

l'accrochage d'un moteur sur l'un des n_f sites de la rangée en avant de l'agrégat. La quatrième ligne correspond au décrochage de l'unique moteur de l'agrégat, le tube se rétracte jusqu'à ce qu'il butte sur une rangée de sites avec au moins un moteur. La probabilité de trouver un moteur sur un site vaut p et est indépendante de l'état d'occupation des autres sites. La probabilité de trouver $i - 1$ moteurs sur les $n_f - 1$ sites restant de la rangée suit donc une loi binômiale de paramètres $(p, n_f - 1)$.

Dynamique stochastique de la longueur du tube

Avec ρ_u, n_f, f constants, $P_a(i)$ relaxe à sa valeur stationnaire. Comme c'est un processus hors équilibre les courants de probabilités ne s'annulent pas et sont la cause de l'évolution moyenne de la longueur du tube. L'évolution de $P_L(L)$ la probabilité d'avoir un tube de longueur L est donnée par :

$$\partial_t P_L(L) = \sum_k W_L(kd, L - kd) P_L(L - kd) - P_L(L) \sum_{k'} W_L(k'd, L) \quad (4.16)$$

Où $W_L(k'd, L)$ est le taux de transition de la longueur L à la longueur $L + k'd$ (avec k' entier).

$$\begin{cases} W(+d, L) = \rho_u n_f \omega_{on} \\ W(-kd, L) = P_a(1) \omega_{off}(f) q^{k-1} (1 - q) \end{cases} \quad (4.17)$$

La première ligne correspond à un saut de la longueur du tube de taille $+d$, associé à l'accrochage d'un moteur en avant de l'agrégat. La deuxième ligne (avec k entier positif) correspond à un saut de rétraction de taille $-kd$ associé au décrochage du dernier moteur de l'agrégat. La probabilité que le tube franchisse $k - 1$ rangées de sites sans moteur accroché avant de rencontrer une rangée avec au moins un moteur suit une loi géométrique de paramètre $1 - q$, où $q = (1 - p)^{n_f}$ est la probabilité d'avoir une rangée inoccupée.

Nous calculons $P_a(1)$ à partir de l'équation 4.14. Quand $n_f = 1$, $P_a(1) = 1$ bien entendu, et pour $n_f = 2$, $P_a(1) = \frac{\omega_{off}(f/2) + \rho_u \omega_{on}}{\omega_{off}(f/2) + p \omega_{off}(f) + 1.5 \rho_u \omega_{on}}$, on remarque que cela varie faiblement et n'est pas petit devant 1, car la taille de l'agrégat est réinitialisée à 1 à chaque saut d'extension (si la taille de l'agrégat était supérieure à la taille du saut le résultat serait différent). Nous extrayons la vitesse moyenne \bar{v} et la diffusion de la marche aléatoire décrite par L , équations (4.16), (4.17) :

$$\begin{aligned} \bar{v} &= \sum_k W_L(kd, L) k d = d \left(\rho_u \omega_{on} n_f - \frac{\omega_{off}(f) P_a(1)}{1 - q} \right) \\ D_{\text{diff}} &= \sum_k W_L(kd, L) \frac{(kd)^2}{2} = \frac{d^2}{2} \left(\rho_u \omega_{on} n_f + \omega_{off}(f) P_a(1) \frac{1 + q}{(1 - q)^2} \right) \end{aligned} \quad (4.18)$$

Dans la formule de la vitesse \bar{v} , le premier terme correspond à l'allongement dû à l'accrochage de nouveaux moteurs, le second est la vitesse de rétraction due au décrochage de l'agrégat.

Comparaison avec les simulations numériques

Nous résolvons l'équation maîtresse (4.14) et nous calculons \bar{v} et D_{diff} d'après les formules (4.18). Nous comparons le développement analytique avec la simulation, voir la fig 4.9 pour le cas $n_f = 3$, et en annexe fig A.2 pour $n_f = 1, 2$ et 10. L'accord est quasi parfait, les approximations sont donc pertinentes. On peut à présent expliquer pourquoi les courbes tendent vers la courbe maîtresse avec la variable agrégée $n_f \rho_u$, cf fig 4.8 : dans la formule de \bar{v} et de D_{diff} , le taux de saut en avant est $\propto \rho_u n_f$; de plus $q \rightarrow 1 - n_f \rho_u \omega_{\text{on}} / \omega_{\text{off}}$ quand $\rho_u \omega_{\text{on}} / \omega_{\text{off}} \ll 1$ (remarquons que la taille moyenne des sauts $1/(1-q)$ vaut donc $\omega_{\text{off}} / n_f \rho_u \omega_{\text{on}}$ dans cette limite). Dans l'autre limite $\rho_u \omega_{\text{on}} / \omega_{\text{off}} \gg 1$, $q \rightarrow (\rho_u \omega_{\text{on}} / \omega_{\text{off}})^{-n_f}$ ce qui rend q négligeable devant 1. Le terme $P_a(1)$ a des variations douces qui comptent peu, et donc de manière effective \bar{v} et D_{diff} ne dépendent que de la variable $n_f \rho_u$.

Nous pouvons à présent commenter les asymptotes de D_{diff} . la variance de la taille des sauts de rétraction diverge et tend vers $(n_f \rho_u \omega_{\text{on}} / \omega_{\text{off}})^{-2}$ quand ρ_u tend vers 0, tandis que le taux de saut de rétraction varie peu, ce qui explique l'exposant -2 de D_{diff} , fig 4.7.c,d. Quand $\rho_u \omega_{\text{on}} / \omega_{\text{off}} \gg 1$ le phénomène est dominé par les sauts de taille fixe en avant, D_{diff} est donc proportionnel au taux de sauts soit $n_f \rho_u \omega_{\text{on}}$, ce qui explique l'exposant $+1$ observé.

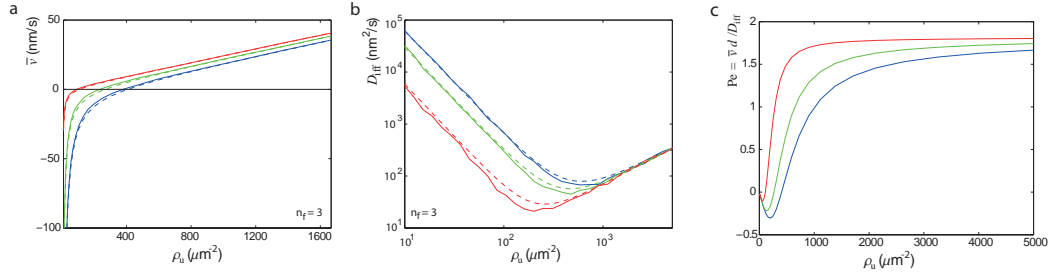


Figure 4.9. – a,b. Représentation de la vitesse moyenne \bar{v} (a) et du coefficient de diffusion D_{diff} (b) en fonction ρ_u , avec $n_f = 3$ calculés de manière numérique (trait continu) et analytique (trait discontinu). c. Nombre de Péclet associé à l'élongation du tube. Les forces de tube pour chaque courbes sont $f = 0$ pN (bleu), 0.3 pN (vert), 1 pN (rouge).

La contribution des fluctuations dans ce phénomène de transport est donnée par le nombre de Péclet, que nous définissons comme $Pe = \bar{v}d/D_{\text{diff}}$, où la distance caractéristique est d le diamètre d'un monomère d'actine. Lorsque la norme de

Pe est supérieure à 1 l'advection prévaut sur la diffusion dans le transport (ici l'élongation du tube) sur une distance d . On voit sur la fig 4.9.c que lorsque le tube se rétracte de par l'augmentation de la taille des sauts Pe est petit, la diffusion domine ; de même lorsque la vitesse est faible les sauts d'extension et de rétraction sont comparables et la diffusion domine. En revanche à vitesse plus élevée les sauts d'extension de petite taille rendent l'extension régulière et Pe sature à une valeur >1 . Qualitativement il semble que le suivi expérimental de $L(t)$ valide cette prédiction, le tube le plus lent sur la fig 3.4.c semble présenter une croissance plus bruitée (on remarque aussi des épisodes de rétraction).

Densité seuil d'extraction de tube ρ_u^*

Une information essentielle qu'on peut tirer de l'équation (4.18) est la densité seuil d'extraction de tube ρ_u^* , pour laquelle $\bar{v} = 0$. Dans la limite $\rho_u^* \omega_{\text{on}} / \omega_{\text{off}} \ll 1$ (qui est vérifiée comme nous allons le voir) on trouve

$$\rho_u^*(f) \simeq \frac{(P_a(1) \omega_{\text{off}} \omega_{\text{off}}(f))^{1/2}}{\omega_{\text{on}} n_f} \quad (4.19)$$

(et donc $\frac{\rho_u^* \omega_{\text{on}}}{\omega_{\text{off}}} = \frac{(P_a(1) \omega_{\text{off}}(f) / \omega_{\text{off}})^{1/2}}{n_f} \ll 1$ pour toute force typique). Nous voyons donc que la densité seuil varie en $\omega_{\text{off}}(f)^{1/2}$, donc elle décroît exponentiellement avec la force, d'une amplitude de $(\omega_{\text{off}}(0) / \omega_{\text{off}}(f))^{1/2} \simeq (1.6/0.02)^{1/2} \simeq 9$ lorsque la force f est suffisante (quelques pNs) pour renforcer totalement le moteur. Cet exposant 1/2 inattendu provient du fait que ρ_u influence à la fois le taux des sauts d'extension du tube et la longueur des sauts de rétraction.

La densité varie aussi en n_f^{-1} , cela résulte de l'augmentation du taux de sauts d'extension du tube, et de la diminution de la taille des sauts de rétraction. Le gain de coopérativité entre les filaments diminue avec le nombre de filaments. Précisons que $(P_a(1))^{1/2}$ varie peu. Dans le cas $n_f = 1$ (ce qui ne correspond pas à un mono filament d'actine dans la réalité, car ils vrillent, mais plutôt à deux) nous avons accès à la solution exacte : $\rho_u^* = \frac{\omega_{\text{off}}(f)}{2\omega_{\text{on}}} (1 + (1 + 4 \frac{\omega_{\text{off}}}{\omega_{\text{off}}(f)})^{1/2})$, soit un gain dû au renforcement des myo1bs : $\frac{\rho_u^*(f)}{\rho_u^*(f=0)} \simeq (\frac{\omega_{\text{off}}(f)}{\omega_{\text{off}}})^{1/2} \frac{2}{1+5^{1/2}}$ en accord avec le cas général. Ce seuil détermine à force f donnée, la densité minimale en moteurs décrochés pour allonger un tube.

Effet du couplage fluide entre les moteurs

Dans les test de glissement, où un filament d'actine se déplace un tapis de myosines, les myosines sont couplées rigidement via un substrat solide. Nous modélisons un moteur comme un pont avec une rigidité k_m qui effectue un pas y_0 durant son coup de force. Si l'on considère une vitesse de glissement \bar{v} sur des

moteurs ayant une densité suffisante pour se placer dans la limite de Lacker et Peskin [91] la force produite par l'assemblé de myosines sur le filament vaut alors

$$F = nk_m \left(y_0 - \frac{\bar{v}}{\omega_{\text{off}}} \right) \quad (4.20)$$

où n est le nombre moyen de moteurs liés au filament et $y_0 - \frac{\bar{v}}{\omega_{\text{off}}}$ l'extension moyenne des ponts. L'équilibre des force sur le filament vaut $F - \alpha \bar{v} = 0$ où α est le coefficient de friction hydrodynamique. Si n est suffisamment élevé, la friction hydrodynamique est négligeable et la vitesse est simplement donnée par $\bar{v} = y_0 \omega_{\text{off}}$: ce qui limite la vitesse du filament est le temps d'attente avant le décrochage d'un moteur. Dans le cas de la croissance des tubes, les moteurs sont connectés via la membrane liquide, et au cours de la croissance du tube, les moteurs accrochés exercent une friction négligeable sur la membrane lipidique et n'entravent pas la croissance du tube. Seule la dynamique d'accrochage/décrochage à l'extrémité du tube joue un rôle. C'est pourquoi dans l'équation 4.18, voir fig 4.9.a la vitesse augmente proportionnellement à la densité en moteurs décrochés, sans limite hormis la densité de saturation de la membrane en moteurs. C'est pourquoi il existe des paramètres tels que la croissance du tube est plus rapide que le filament dans le test de motilité.^{2 3}

Absence d'oscillation de la longueur d'un tube tiré par des moteurs non processifs

Il a été montré dans les systèmes d'extraction de tube avec des moteurs processifs, que \dot{L} dépend de L (si la force du tube est variable) et de n_B la taille de l'agrégat ; L'agrégat avance avec l'extrémité du tube, n_B dépend donc de n_B et de L . Ce système dynamique à deux dimensions possède un régime oscillatoire, mis en évidence dans [22], voir section 2.5.

Dans le cas de l'extraction par des moteurs non processifs, l'agrégat ne se déplaçant pas avec l'extrémité du tube, sa taille est réinitialisée à chaque pas (ou si l'agrégat occupe k rangées, tous les k pas). L'évolution de la longueur du tube se ramène à un processus stochastique d'évolution de la longueur L , unidimensionnel. Un tel système ne peut présenter d'oscillation contrairement aux systèmes avec moteurs processifs. Les auteurs de l'étude sur l'extraction de tube par les moteurs NCDs, qui sont des kinésines non processives [144] observent un régime où la

2. La vitesse des tests de glissement ($56 \pm 4 \text{ nms}^{-1}$) est supérieure à $y_0 \omega_{\text{off}}$. Cela n'a pas été documenté dans la littérature, et peut s'expliquer par une augmentation du taux de décrochage sous l'effet de la traction du moteur.

3. Nous avons ici la raison pour laquelle la condition $\bar{v} > y_0 \omega_{\text{off}}$ peut être satisfaite dans notre système : parce que les moteurs sont non processifs, couplés via une membrane liquide, voir discussion sur les régimes de croissance section 4.3.4.

longueur du tube varie dans le temps autour d'une valeur constante. Les auteurs appellent ce régime "switch", mais il s'agit en fait de fluctuations aléatoires de la position du tube autour de sa longueur stationnaire.

Nous n'avons en revanche pas d'explication pour le régime d'élongation transitoire, suivi de rétraction que les auteurs [144] observent dans leurs expériences, et que nous n'observons pas. Cela pourrait être expliqué par une altération chimique du milieu, ou une déplétion de la vésicule à cause de la croissance d'autres tubes. Mais leur système diffère du nôtre aussi car les moteurs NCDs ne sont pas renforcés par la force : en cas de saut de rétraction, le tube ne cessera sa rétraction que s'il butte simultanément sur un nombre de moteurs en nombre suffisant le long du faisceau d'actine. Selon les auteurs les moteurs forment spontanément des agrégats le long du tube, soit à cause d'interactions chimiques, soit par effet Casimir. Si la tension du tube augmente au cours de son extraction, peut-être les moteurs perdent-ils leur capacité à s'agréger (ce qui n'explique pas pourquoi la rétraction se poursuit jusqu'à disparition du tube)

4.5. Génération de tubes membranaire par les vésicules, en fonction des paramètres expérimentaux

Ayant constaté la validité de l'approche analytique, nous poursuivons en nous basant sur cette technique. Nous avons mis en évidence dans l'équation (4.19) l'existence d'un seuil pour l'extension des tubes en fonction de la force. Cependant au cours de la génération d'un tube la force n'est pas constante : initialement nulle, elle augmente linéairement sur une distance de l'ordre de quelques R_0 , pour saturer après un pic à $f_0 = 2\pi(2\sigma\kappa)^{1/2}$, voir section 2.4.2. Selon la densité ρ_v et f_0 , les vésicules peuvent présenter trois comportements :

- Si la densité en moteurs sur la vésicule est supérieure à la densité critique à force nulle, $\rho_v > \rho_u^*(f = 0)$, \bar{v} est positif dès le stade initial de la génération du tube. Comme nous avons vu que \bar{v} augmente avec f , alors $\bar{v} > 0$ à tous les stades de l'extraction du tube, la vésicule présente un comportement de génération déterministe de tubes. Notons que dans ce cas l'effet de renforcement par la force de la myo1b n'est pas nécessaire à l'extraction du tube.
- Si la densité en moteurs est telle que $\rho_u^*(f_0) < \rho_v < \rho_u^*(f = 0)$, la vitesse moyenne d'extension des tubes \bar{v} est négative au stade initial de génération du tube, mais devient positive au cours de la formation du tube : une fluctuation aléatoire de la longueur du tube peut permettre son extraction, la vésicule a un comportement de génération stochastique de tubes. Ici l'effet de renforcement de la myo1b est nécessaire à la génération du tube.

- Enfin, si $\rho_v < \rho_u^*(f_0)$ alors $\bar{v} < 0$, la vésicule ne peut pas extraire de tube.

Dans le cas de la génération stochastique de tubes, il est nécessaire d'estimer le temps d'attente avant l'extraction du tube. Décrivons le processus stochastique correspondant à l'extraction du tube, cf [165] : la dynamique de $P_L(L)$ est décrite par l'équation maîtresse (4.16). On implémente dans les taux (4.17) la valeur de f en fonction de L , $f = f'L$ avec $f' = \alpha\sigma$ où α est un facteur d'ordre de 1 qui dépend de la taille de la vésicule, voir [42]. Nous calculons le temps de premier passage de L à la longueur L_f , que nous choisissons telle que $f(L_f) = f_0$ de sorte que le tube est formé en L_f . Le nombre de sites sur le faisceau d'actine sous jacent est de N_s tel que $L_f = dN_s$. Nous fixons une condition de bord réfléchissant en $L_i = 0$, et absorbant en L_f . Le tube est initialement de longueur nulle : $P_L(L, t = 0) = \delta_{L, L_i}$. Nous définissons le courant de probabilité en L_f $J(t) = \frac{\partial P_L}{\partial t}|_{L_f}$, qui correspond au taux d'extraction de tube en fonction du temps. Le temps moyen d'extraction T est le premier moment de J : $T = \int_0^\infty J(t)tdt$. Nous calculons numériquement la valeur de T . Nous représentons le le temps d'extraction pour un tube de force $f_0 = 5pN$, avec $n_f = 3$ sur la fig 4.10. Remarquons que T dépend approximativement exponentiellement de ρ_u , indiquant que ρ_u contribue de manière linéaire à la hauteur de la barrière de potentiel effectif que le tube doit franchir pour être extrait. Une augmentation de f_0 est sans effet sur la hauteur de la barrière mais diminue L_f ce qui diminue T . Comme nous nous attachons à comprendre un phénomène in vivo, l'extraction stochastique n'est efficace que si T est petit (le temps caractéristique du transport in vivo est autour de 10s).

Nous synthétisons les trois comportements sur un diagramme de phase de la génération de tubes par les vésicules, fig 4.10.b. Nous utilisons la variable agrégée $n_f\rho_v$ dans un souci de simplicité, en sachant qu'il existe une petite déviation pour le cas $n_f = 1$. La courbe définissant le bord de la région (1) est déterminée par l'équation (4.19) (le seuil augmente à partir de $f_0 \simeq 35pN$ à cause de la perte de renforcement de la myo1b). La droite séparant les régions (2) et (3) a pour abscisse $n_f\rho_u^*(f = 0)$. Nous constatons que la propriété de renforcement par la force de la myo1b "ouvre" une nouvelle phase dans le diagramme (en jaune) et autorise une diminution d'un facteur 9 de la densité en myo1b pour extraire un tube. Cependant l'efficacité du trafic membranaire nécessite un temps d'attente faible pour l'extraction, on peut proposer que seule la partie de la région (3) avec $T < 100s$ satisfait cette contrainte.

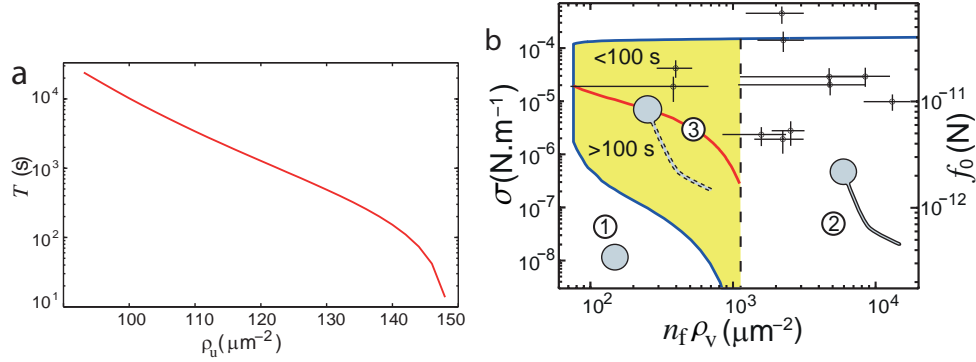


Figure 4.10. – a. Représentation du temps moyen d’extraction T en fonction de la densité en moteurs décrochés, sur un faisceau d’actine de $n_f = 3$, avec une force du tube formé égale à $f_0 = 5pN$. b. Diagramme de phase de la génération de tubes par les vésicules. Les axes sont $n_f \rho_v$ la variable agrégeant la densité en moteurs sur la vésicule et la taille du faisceau d’actine en abscisse, et la tension σ (ou de manière équivalente la force du tube f_0 à κ constant) en ordonnée. Les trois régions correspondent aux trois comportements possibles des vésicules : impossibilité de générer des tubes (1), génération déterministe de tubes (2), génération stochastique de tubes (3) (fond jaune). Au sein de la région (3) la courbe (rouge) définit deux sous régions, où $T < 100s$ et $T > 100s$. Les points sont les coordonnées des échantillons observés expérimentalement.

4.6. Comparaison quantitative avec les expériences

Nous avons d’ors et déjà vu que notre modèle met en lien les vitesses d’extraction observées expérimentalement avec le profil de densité constante le long des tubes, voir section 4.3.4. Nous allons à présent quantifier les grandeurs mesurées.

4.6.1. Estimation de n_f le nombre de filaments accessibles aux tubes

Dans des systèmes simples, si l’énergie d’adhésion entre les particules l’emporte sur l’entropie les particules précipitent et la taille des agrégats n’est pas limitée. Si l’entropie domine les particules se répartissent en petits agrégats dont la taille est distribuée exponentiellement. Les filaments d’actine assemblés en faisceaux par des agents de réticulation sont plus complexes, et présentent des distributions de diamètre (donc de nombre de filaments par section) piquées. Un tel comportement peut être observé en présence de répulsion électrostatique entre les particules, mais ces interactions sont écrantées dans les faisceaux d’actines. Des études ont été menées pour comprendre ce qui contraint leur taille. Des observations de faisceaux

d'actine en présence de fascine [29] révèlent que la torsion des filaments augmente avec la taille du faisceau : au delà d'une certaine taille le gain d'énergie associé à l'adhésion d'un nouveau filament ne compense plus l'augmentation de la contrainte élastique dans le faisceau. Un modèle décrit ce phénomène et prédit les différentes phases [67].

Dans nos expériences les faisceaux d'actine sont préparés avec un rapport [Fascine]/[Actine] = 0.75. Nous ne pouvons pas mesurer la taille des faisceaux. Nous exploitons donc les données expérimentales de Haviv [65], et estimons le nombre moyen de filaments N_f dans une section de faisceau à environ 35. Le nombre de filaments accessibles vaut donc $n_f = \alpha\pi(N_f)^{1/2}$ où α est la fraction de sites d'actine accessibles à la surface du faisceau. Nous estimons simplement $\alpha \approx \frac{1}{2} \cdot \frac{1}{2}$ où $1/2$ est la fraction de sites accessibles par filament (la moitié des sites est cachée) et $1/2$ est la fraction du périmètre du faisceau accessible. La valeur moyenne de n_f est de l'ordre de 4, et au vu des fluctuations de N_f observées par [65] on peut s'attendre à observer des n_f entre 1 et 6.

4.6.2. Vitesse d'extraction et fluctuations

Nous mesurons la longueur des tubes en fonction du temps, nous pouvons en déduire une estimation de la vitesse moyenne \bar{v} et du coefficient de diffusion de la croissance D_{diff} (avec les mêmes estimateurs statistiques que ceux présentés dans la section 4.4.2). Nous mesurons la densité totale le long du tube ρ , nous pouvons en déduire ρ_v la densité de la vésicule, avec l'équation (4.6) où n_f est un paramètre. Nous mesurons le diamètre des tubes, connaissant le module de courbure κ nous en déduisons la tension σ et la force f_0 . Les paramètres libres sont donc le n_f moyen pour chaque échantillon, et ω_{on} . Nous ajustons ces paramètres pour obtenir un accord entre la prédiction théorique de l'équation (4.18), en imposant que les valeurs de n_f soient entre 1 et 6 pour tous les tubes. Nous obtenons $\omega_{\text{on}} = 1.5 \cdot 10^{-3} \mu\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, voir fig 4.11. Le taux d'accrochage sur un tube saturé en moteurs vaut donc quelques s^{-1} , en accord avec le taux de relargage du phosphate mesuré dans [89].

Il peut paraître surprenant que ω_{on} soit indépendant de la force du tube. C'est cependant le résultat présentant le meilleur accord avec l'expérience (notamment certains tubes ont une force élevée, 20-30 pN et leur vitesse n'apparaît pas diminuer sensiblement). Nous pouvons remarquer qu'une variante du modèle, avec un nombre suffisant de rangées de moteurs supportant le tube, et un taux ω_{on} en bout de tube sensible à la force, permettrait également d'expliquer les résultats expérimentaux : si de nombreux moteurs supportent le tube, la force ressentie par chaque moteur est faible et ω_{on} varie peu. Ensuite, nous évaluons l'importance des fluctuations dans le système. Nous évaluons le nombre de Péclet Pe tel que défini dans la section 4.4.3 pour chaque tube et le comparons à la prédiction théorique. La théorie prédit que lorsque la croissance est dominée par les sauts d'extension Pe est constant,

c'est ce qu'on observe expérimentalement ; cependant les valeurs expérimentales sont un ordre de grandeur plus faible que la prédiction : les fluctuations sont sensiblement sous estimées par la théorie. Plusieurs phénomènes peuvent expliquer cette différence. Si n_f fluctue fortement, D_{diff} peut en être affecté : typiquement s'il y a des passages "difficiles" (où n_f vaut 1 par exemple) où le tube est stoppé momentanément, la taille effective du pas d'extension du tube sera non plus d mais la taille caractéristique entre deux sites "difficiles", ce qui diminue Pe (Pe est approximativement inversement proportionnel à la taille du pas). Ou bien, la taille du pas est peut être tout simplement sous évaluée, les myo1bs s'attachent peut être plusieurs sites en avant de la myo1b la plus avancée, ce qui diminue Pe . Les fluctuations thermiques n'ont pas de rôle ici.

Nous remarquons que la croissance des tubes stoppe pour une longueur proche de $5\mu\text{m}$. La raison de cette limite n'est pas identifiée avec certitude, et la difficulté d'observation des tubes rend difficile un test systématique des différentes hypothèses. La cause pourrait être une augmentation de la force du tube (en régime entropique), voir section 2.4.2 (la longueur caractéristique est un peu plus grande, $10\mu\text{m}$ et on attendrait dans ce cas un ralentissement progressif de la croissance ce qui ne semble pas être le cas). L'envoi de photons pour activer la fluorescence des marqueurs pourrait endommager les myosines. L'ADP et Pi pourraient s'accumuler et diminuer le gain d'enthalpie libre associé au cycle ATPase.

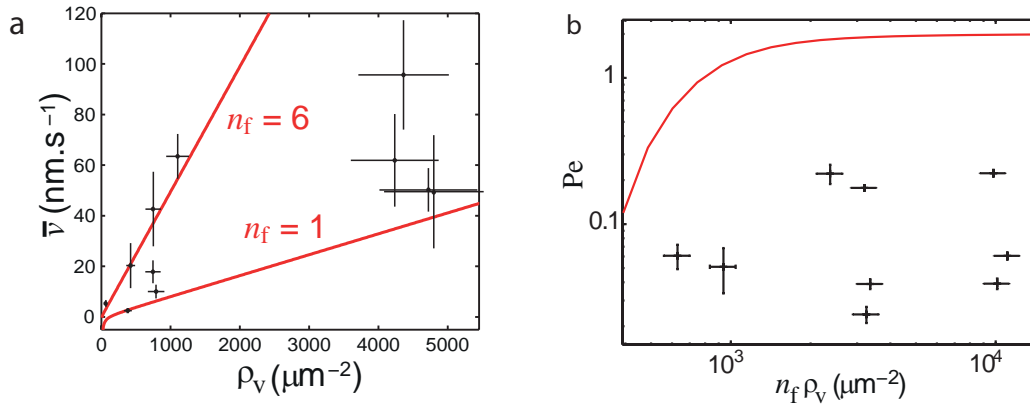


Figure 4.11. – a. Vitesse de croissance \bar{v} en fonction de ρ_v (déduit de ρ et de l'équation (4.6)) issue des mesures expérimentales (noir). Les barres d'erreurs représentent 0.67 fois l'écart type, ce qui correspond à un intervalle de confiance de 50%. Les données expérimentales sont bornées par les courbes théoriques (rouge), avec le renforcement de la myo1b activé, pour $\rho_u = \rho_v$ et $n_f=1$ et 6. b. Nombre de Péclet en fonction de ρ_v issu des mesures expérimentales (noir), et courbe théorique (rouge), avec le renforcement de la myo1b activé.

4.6.3. Diagramme d'extraction

Nous représentons les coordonnées des échantillons sur le diagramme de phase d'extraction, fig 4.10.b. Ils sont placés dans les régions où l'extraction est possible (seul un tube semble avoir une force trop élevée pour être extrait, mais nous n'avons pas d'information sur le comportement des myo1bs pour ces forces). Deux tubes en particulier sont placés dans la région 3 où le renforcement de la myo1b est nécessaire. Les vidéos de l'extraction des tubes montrent que pour les deux vésicules dans cette région, un seul tube est extrait au cours de l'observation (environ une heure), voire fig 4.12.a ; à l'inverse les vésicules à droite du diagramme (ρ_v élevé) génèrent plusieurs tubes simultanément, fig 4.12.b. Cela tend à confirmer que dans la région 2 l'extraction est stochastique, et déterministe dans la région 3.

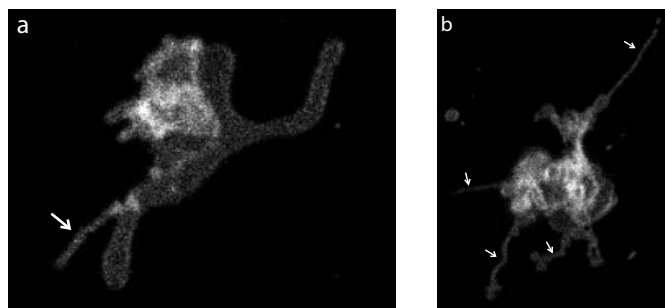


Figure 4.12. – Microscopie prise au cours de l'extraction de tube, par une vésicule dans la région d'extraction stochastique (a) ou dans la région d'extraction déterministe (b). Les flèches blanches indiquent les tubes. La taille des tubes est de quelques μm ce qui fixe l'échelle.

4.7. Conclusion

Nous avons mené une étude théorique de l'extraction de tubes membranaires par des moteurs non processifs. Nous avons d'abord identifié l'existence de deux régimes de croissance, pour les moteurs processifs comme non processifs. En fonction du rapport entre la vitesse d'extraction du tube par les moteurs et la vitesse d'advection des moteurs accrochés, le tube croît avec déplétion ou accumulation des moteurs, le premier régime étant accessible seulement aux moteurs non processifs. Nous avons montré que la densité en moteurs est constante au cours de l'extraction dans notre système, soit parce que nous sommes dans le régime de déplétion, le temps caractéristique de déplétion est alors grand devant la durée des expériences, soit parce que nous sommes dans le régime d'accumulation, la distance d'accumulation est alors grande devant la longueur maximale du tube.

Nous avons modélisé le mécanisme de croissance du tube et déterminé la vitesse moyenne et le coefficient de diffusion de la croissance, en fonction de la densité en moteur, de la force du tube et de la taille du faisceau d'actine supportant le tube. Nous montrons d'abord que la diminution du taux de décrochage ω_{off} avec la force du tube a pour effet d'augmenter la vitesse d'extraction. Ceci est dû à la propriété fluide de la membrane qui couple les moteurs : l'augmentation de la durée d'accrochage des moteurs diminue la probabilité de rétraction du tube, et ne gêne pas sa croissance, à l'inverse des systèmes où les moteurs sont couplés rigidement et où le mouvement est entravé par la trainée des moteurs accrochés. Nous avons calculé analytiquement la densité minimale pour extraire un tube et montré qu'elle est proportionnelle $\omega_{\text{off}}(f)^{1/2}$: elle diminue donc d'un facteur 9 lorsque la myosine 1b est renforcée par la force, pour une force optimale comprise entre 2pN et quelques 10aines de pNs (la borne supérieure est moins précisément identifiée) : l'augmentation de la force du tube diminue de manière significative le nombre de myosines nécessaire pour allonger un tube (pour des forces supérieures à 5 pN rappelons que nous ne connaissons pas le comportement de la myosine 1b).

Il a été montré que les tubes extraits par des moteurs processifs peuvent présenter des oscillations de longueur, cela est possible car leur dynamique dépend de deux variables : la longueur et la taille de l'agrégat en bout de tube. Nous montrons qu'à l'inverse les tubes extraits par des moteurs non processifs ne peuvent pas présenter d'oscillation, car l'évolution de la longueur L ne dépend que de L .

Nous avons déterminé le diagramme d'extraction des tubes membranaires en fonction de la densité en moteurs, de la force du tube et de la taille du faisceau d'actine supportant le tube. Nous montrons que le renforcement des moteurs par la force induit l'"ouverture" d'une phase où, si la force du tube est suffisante, les moteurs peuvent extraire le tube avec une densité très faible (inférieure à $100\mu\text{m}^{-2}$) à la faveur d'une fluctuation aléatoire de la longueur du tube.

Notre modèle pourrait être développé. Nous avons remarqué que l'extrémité du tube est parfois élargie, cela pourrait être dû à l'action des moteurs dans l'agrégat, et sensible à la force du tube également. On aurait finalement un n_f dépendant de la tension du tube, peut être augmente-t'il. En ce cas l'extraction de tubes serait renforcée par la la force non seulement à l'échelle moléculaire des moteurs, mais aussi à l'échelle mésoscopique de la forme du tube (de manière similaire le roulement des leucocytes est affecté par la force à différentes échelles, [140, 26, 152]). Nous observons de plus que les vésicules générant les tubes sont très déformées, les causes ne sont pas élucidées (elles pourraient être hydrodynamiques), mais les moteurs pourraient avoir un rôle. En effet l'adhésion d'une vésicule par des ligands renforcés par la force pourrait conduire à une instabilité de la ligne de contact, et à la formation de digitations (une digitation augmente la courbure locale et donc la

force exercée sur les ligands, ce qui les renforce et tend à favoriser sa croissance). L'aspect très déformé des vésicules, fig 4.12, pourrait en être la manifestation. De plus, nous avons analysé l'extraction stochastique de tubes par des moteurs non processifs renforcés par la force. Il pourrait être intéressant d'analyser l'extraction stochastique de tubes par des moteurs processifs (comme les kinésines [93]) : en effet l'agrégation de moteurs à l'extrémité du tube pourrait permettre l'extraction aléatoire de tubes ayant une densité sensiblement inférieure au seuil prévu par l'analyse du phénomène moyen (au moyen d'une fluctuation géante de la taille de l'agrégat).

Nous avons vu le rôle des fluctuations thermiques de la membrane dans sa tension effective. On peut se demander comment des ligands affectent les fluctuations de la membrane dans un tube : en les diminuant, ils augmentent le coût en enthalpie libre de l'élongation du tube, on pourrait tenter de le quantifier. D'autre part, il a été montré que les fluctuations thermiques d'une membrane supportée par une surface tend à agréger les ligands par effet de type Casimir. Comme les ligands renforcés par la force tendent à rester accrocher sous l'effet d'une force extérieure, l'effet ne serait-il pas inversé avec de tels ligands (et les fluctuations tendraient à disperser les ligands) ?

Ces résultats sont à resituer dans le contexte des recherches menées conjointement à l'UMR 168 par les équipes de Patricia Bassereau, Jean-François Joanny et Jacques Prost, et à l'UMR 144 par Bruno Goud et Evelyne Coudrier, qui visent à comprendre le rôle des myosines dans la formation des transporteurs au niveau du RTG (réseau trans Golgi). Il semble que des fragments de filaments d'actine pourraient *in vivo* permettre l'extraction de tubes pour des densités en myosine 1b faibles, quelques dizaines par μm^2 , ce qui est physiologiquement réaliste. En effet la tension de l'appareil de Golgi, de $10^{-5} - 10^{-4} N.m^{-1}$ correspond au point de fonctionnement optimal du système, fig 4.10.b. Se pose alors la question de la formation d'un échafaudage d'actine capable de supporter la force du tube : quelle serait sa structure, et sa capacité à servir de support pour la croissance du tube (rigidité, ancrage) ? Cela ne peut être résolu par observation directe aujourd'hui car la résolution optique est insuffisante. Concernant le rôle de l'initiation par la myo1b, on sait que le déplacement des transporteurs dans la cellule est supporté par les kinésines ou les dynéines le long des microtubules. les microtubules sont sans doute plus difficiles à amener à proximité du réseau trans-Golgi que l'actine (ils sont plus longs et organisés à partir du centrosome). Les myosines 1b servent donc peut être à initier les transporteurs, et à les amener à proximité des microtubules où d'autres moteurs prennent le relais. Le mécanisme de fission du tube, menant à la formation d'un transporteur fait l'objet de recherches au sein l'UMR 144 actuellement.

Deuxième partie .

Modélisation de l'écoulement cytoplasmique méiotique dans l'embryon de *C.elegans*

Table de symboles

notation	définition	unité
\mathbf{x}	coordonnées à la surface du cortex	μm , 2D
\mathbf{r}	coordonnées en volume dans la cellule	μm , 3D
ω_{ini}	taux de nucléation des microtubules	s
v_g	vitesse de croissance des microtubules	$\mu\text{m} \cdot s^{-1}$
ω_{cata}	taux de catastrophe des microtubules	s
l	longueur moyenne des microtubules	μm
ω_{on}	taux de formation de lien microtubule-kinésine-RE	s^{-1}
ω_{off}	taux de rupture de lien microtubule-kinésine-RE	s^{-1}
ρ	densité linéaire des kinésines sur les microtubules	μm^{-1}
f_0	force d'arrêt d'une kinésine	pN
u_m	vitesse libre d'une kinésine	$\mu\text{m} \cdot s^{-1}$
ζ	maille du RE tubulaire	μm
ε	épaisseur de la couche de RE	μm
η	viscosité du RE	Pa . s
V^{-1}	polarisabilité des microtubules	sans dimension
T	épaisseur relative de la couche forcée	sans dimension
u_{ER}	vitesse maximale du RE	$\mu\text{m} \cdot s^{-1}$
v_{ER}	vitesse sans dimension maximale du RE	sans dimension
h	extension des microtubules dans le RE	μm
τ_{rev}	temps moyen de renversement de l'écoulement	s
γ	facteur de diminution de ω_{cata} chez le mei-1 RNAi	sans dimension

Chapitre 5.

Introduction : perspective physique sur l'écoulement cytoplasmique

Nous reprenons ici des éléments d'une revue récente de Goldstein [62]. Nous présentons d'abord différents mécanismes de mélange du fluide qui peuvent être exploités par la cellule, puis nous mettons en contexte l'écoulement cytoplasmique dans la vie cellulaire, et synthétisons l'avancée des connaissances sur ce phénomène.

5.1. Le mélange du cytoplasme

Le nombre de Reynolds $Re = UL/\nu$ est le rapport sans dimension de l'inertie et des forces visqueuses, comprenant la vitesse U , la taille du système L et la viscosité cinématique du fluide ν . Avec des valeurs caractéristiques $U = 10\mu\text{m}/\text{s}$, $L = 10\mu\text{m}$, $\nu = 10^6\mu\text{m}^2/\text{s}$ (pour l'eau) on trouve $Re = 10^{-4}$, ce nombre est petit devant 1 dans la cellule, et la dynamique des fluides est dominée par la viscosité [128]. Un autre rapport sans dimension apparaît si l'on considère un soluté de coefficient de diffusion D en présence d'un champ de vitesse \mathbf{u} . Apparaît le nombre de Péclet $Pe = UL/D$ qui caractérise l'importance de l'advection par rapport à la diffusion. Les petites molécules en solution aqueuse ont un $D = 1000\mu\text{m}^2.\text{s}^{-1}$, pour une bactérie mesurant $1\mu\text{m}$ et nageant à $10\mu\text{m}/\text{s}$, le transport des molécules dans son environnement aurait un $Pe = 0.01$. Pour une bactérie, nager vers une source de nutriments n'est pas plus efficace que de laisser les nutriments diffuser vers elle, les flux diffusifs sont plus importants que les flux advectifs. Le coefficient D est typiquement trois ordres de grandeur au moins plus grand que ν , et donc quand UL augmente le nombre de Péclet devient important bien avant le nombre de Reynolds. Par définition l'advection devient significative par rapport à la diffusion quand $Pe \approx 1$, ce qui nous donne une idée des conditions pour qu'un écoulement participe au transport dans une cellule. Pour une taille typique de $10\mu\text{m}$ et une vitesse de $1\mu\text{m}/\text{s}$ les structures avec un coefficient de diffusion plus petit que $10\mu\text{m}^2/\text{s}$ commenceront à être affectées par un écoulement interne. Cela correspond grossièrement au taux de diffusion des vésicules dans le cytoplasme, et montre que

l'advection de vésicules même dans les petites cellules peut être utile. Pour des petites molécules, l'écoulement est utile pour une taille de $100\mu m$ et une vitesse de $10\mu m/s$ par exemple. L'écoulement n'étant pas turbulent, divers mécanismes peuvent aider au mélange, en voici quelques exemples significatifs : plongées dans un champ de vitesse chaotique [7, 147], les trajectoires suivies par deux particules de fluide divergent exponentiellement avec le temps. Le cisaillement d'une solution de concentration inhomogène accélère la diffusion par l'augmentation des gradients en soluté (nécessite un Pe de l'ordre de 10, un peu élevé pour être exploitable physiologiquement), ce mécanisme est appelé dispersion de Taylor. Au voisinage d'une interface présentant des flux réactifs, un écoulement entraîne la formation d'une couche limite de taille $\propto Pe^{-1/2}$ ce qui augmente le gradient en soluté et le flux réactif à l'interface.

5.2. L'écoulement cytoplasmique

La première observation d'un écoulement cytoplasmique est attribuée à Bonaventura Corti [33], en 1774, qui étudia l'écoulement rotationnel dans les cellules de l'algue characée. Ce phénomène a lieu dans différents types cellulaires et divers organismes, dont les amibes, les protozoaires, certains champignons, les myxomycètes, et également durant l'oogenèse chez la drosophile [55] et l'embryogenèse chez *C.elegans*, mais il est le plus fréquemment rencontré chez les plantes et les algues de la famille des characées. De nombreux auteurs ont étudié le mécanisme de l'écoulement cytoplasmique, mais sa fonction biologique reste mal comprise. Sa fonction pourrait être d'accélérer le métabolisme dans les grandes cellules où la diffusion est un facteur limitant [121, 159]. Les écoulements ont été classés en deux groupes majeurs : les écoulements de type amiboïde qui induisent des changements dans la forme de la cellule, et les autres classés d'après leur forme :

L'écoulement en navette ("shuttle streaming" en anglais), fig 5.1.e, est un écoulement périodique observé dans le plasmodium du myxomycète. Le plasmodium est un agrégat de protoplasmes mono-cellulaires. Il développe un réseau de pseudopodes pour collecter des nutriments. Un écoulement périodique est observé dans ces filaments, induit par des ondes contractiles du réseau d'actine-myosine.

L'écoulement aléatoire est un écoulement désorganisé, présent à différentes étapes du développement de la drosophile notamment [143], voir fig 5.1.b. Dans cet ovocyte d'une taille de quelques centaines de microns, les kinésines se déplacent le long d'un réseau dense de microtubules, produisant un écoulement qui varie d'un ovocyte à l'autre, et au cours du temps dans un même ovocyte, avec une longueur de corrélation d'environ $50\mu m$ [55].

L'écoulement par saltation est l'écoulement le plus répandu, caractérisé par des sauts apparemment aléatoires dont la longueur peut atteindre $100\mu m$. Les

microtubules sont probablement impliqués dans cette forme de écoulement.

La circulation, fig 5.1.c prend la forme d'un mouvement le long des parois cellulaires et des "brins" de cytoplasme traversant la vacuole. Les motifs sont stables sur plusieurs minutes et évoluent quand les brins se déplacent et forment des branchements. Le mouvement peut être uni- ou bidirectionnel (avec un rythme circadien) et les vitesses peuvent atteindre $40\mu\text{m}/\text{s}$. La circulation est présente dans les cellules ciliées de nombreuses plantes telle que *Urtica* (l'ortie), les cellules parenchymateuses de *Allium* (l'oignon) et dans les feuilles de la plante d'eau *Elodea*.

Les écoulements en fontaine et fontaine inversée sont illustrés sur la fig 5.1.d. Ils sont dans certaines cellules une étape vers l'écoulement rotationnel. Ils sont observés de manière permanente dans les cellules ciliées racinaires et les tubes polliniques de divers plantes.

L'écoulement multi-strié est observé dans le champignon *Phycomyces* et l'algue marine *Acetabularia*. Les cellules d'*Acetabularia* ont une tige longue de quelques centimètres, contenant une grande vacuole séparée par un tonoplaste d'une fine couche de cytoplasme à la périphérie. L'écoulement a lieu dans les deux directions le long de canaux séparés par du cytoplasme immobile, ce qui donne l'apparence de stries multiples.

Mentionnons également les écoulements rotationnels, observés dans les cellules des algues géantes characées, ou encore dans l'embryon de *C.elegans*, qui comportent une composante rotationnelle importante.

Figure 5.1. – Topologie des écoulements cytoplasmiques. a. L'écoulement rotationnel dans les cellules internodal de *Chara corallina*. b. L'ovocyte de drosophile présente un écoulement aléatoire corréllé, d'une vitesse de $1 - 10\text{nm}/\text{s}$. c. L'écoulement à la périphérie et dans les brins transvacuolaires de cellules épidermiques, comme dans la racine de *Medicago truncatula*. d. L'écoulement en fontaine inversée chez *lilium longiflorum* (gauche) et en fontaine droite chez *Nicotiana tabacum* (right). e. L'écoulement "navette" ("shuttle streaming" en anglais) périodique dans les fragments de plasmodium de *Physarum polycephalum*. Image et légende issues de la revue de Goldstein [62].

5.3. L'exemple de l'algue characée

Un des exemples les plus étudiés est l'écoulement cytoplasmique rotationnel dans les cellules cylindriques géantes des algues characées. On trouve ces espèces dans des prairies au fond de lacs ou d'étangs. Leurs cellules ont été étudiées depuis les débuts de la microscopie [33], et elles sont considérées comme les plus proches cousins des

plantes terrestres. La robustesse de leurs cellules internodales et leur proche parenté avec les plantes terrestres ont fait d'elles des organismes modèles pour la recherche en physiologie de la plante. Leur partie la plus étudiée est l'internœud, composé de cellules dont le diamètre peut atteindre 1mm et la longueur 10cm ou plus. La cellule est entourée d'une paroi, et le cytoplasme occupe une fine couche de $10\mu m$ à la périphérie de la cellule. Une membrane, le tonoplaste, sépare le cytoplasme de la vacuole qui occupe tout l'espace central. La vacuole a de nombreuses fonctions métaboliques, elle stocke les sucres, polysaccharides et acides, séquestre les toxines et sert de tampon pour réguler le pH et les concentrations ioniques. Elle est également concentrée en sels, à l'origine d'une pression de turgescence de 5 bars qui donne sa rigidité à la cellule.

Figure 5.2. – 1. Structure de *Chara corallina*. a. portion de la plante, avec les feuilles (1), les noeuds (2), et les cellules internodales (3). b. agrandissement d'une cellule internodale, présentant des zones indifférentes en spirale. c. détail de la zone indifférente. d. coupe schématique : chloroplastes (4), zone indifférente (5), endoplasme (6) et vacuole (7). [61]. 2. Prédiction théorique de l'écoulement dans la vacuole. a. L'écoulement internodal a une symétrie hélicoïdale. Les deux axes qui suivent cette symétrie sont le vecteur \mathbf{e}_H qui suit les bandes, et \mathbf{e}_ϕ qui est orthogonal aux bandes. b. Prédiction théorique du champ de vitesse le long de \mathbf{e}_H qui montre le cisaillement. c. Les composantes \mathbf{e}_r et \mathbf{e}_ϕ révèlent une circulation secondaire le long du centre de la cellule.

Dans le cytoplasme les chloroplastes forment une couche le long de la surface de la cellule. sur la face interne, des myosines se déplacent sur des faisceaux de filaments d'actine, transportent des structures dans la cellule [76, 77] et entraînent l'endoplasme, partie intérieure du cytoplasme, à une vitesse de $100\mu m/s$, ce qui fait de la myosine XI impliquée dans cet écoulement la plus rapide des myosines connues. Le motif de l'écoulement forme deux bandes en spirale, d'une période approximative de 1cm qui sécoulent dans des sens opposés. Le schéma 5.2 représente la plante *Chara* et ses différentes structures. Les cellules internodales sont connectées aux niveau des nœuds par des canaux reliant les cytoplasmes, les plasmodesmes.

5.3.1. Etude de l'écoulement et de ses rôles possibles

Des expériences [164] ont montré que le cytoplasme entraîne un écoulement dans toute la vacuole. Le profil de l'écoulement suggère une transmission complète de la contrainte à travers le tonoplaste. Dans la référence [61] le phénomène est décrit comme suit. La vitesse est imposée au niveau du tonoplaste, l'écoulement dans la vacuole est décrit par l'équation de Stokes pour un fluide incompressible s'écoulant à bas nombre de Reynolds :

$$\eta \nabla^2 \mathbf{u} = \nabla p \quad (5.1)$$

où p est la pression et η la viscosité du fluide. Au bord de la cellule les vitesses valent $\pm U$ le long de la direction des spirales. La cellule est considérée comme périodique et infinie, car une cellule contient 10 périodes. Une décomposition le long des axes de symétrie, fig 5.2.2, montre que l'écoulement possède deux composantes, la première selon la direction \mathbf{e}_H tangente à la spirale, et une circulation de petite amplitude entre les zones indifférentes. Les auteurs montrent que l'amplitude du second terme disparaît lorsque la période de l'hélice λ tend vers 0 et ou ∞ . Elle atteint un maximum pour $\lambda/R \approx 3$. Durant le développement de la plante, les internœuds croissent et la torsion de la bande hélicoïdale augmente puis diminue, atteignant une valeur de λ/R maximum, proche de 3, au stade de croissance maximale. Il est donc possible que cette circulation secondaire, bien que modeste, participe à l'homéostasie en améliorant le mélange par le mécanisme de dispersion de Taylor. Notons d'autre part que des bandes alcalines de CaCO_3 se forment également périodiquement le long de la plante, et influencent le taux de photosynthèse. L'écoulement cytoplasmique est requis pour la présence des bandes. Il est donc possible que l'écoulement soit à l'origine des bandes [62], le mécanisme restant alors à élucider.

5.3.2. Mécanisme de l'entraînement et rhéologie du cytoplasme

Diverses études ont analysé des phénomènes de transport le long du cytosquelette, au nombre desquelles Houtman et coll. [69], qui décrivent l'écoulement dans un brin transvacuolaire avec un modèle incluant les interactions hydrodynamiques entre les moteurs. D'autres études portent sur la force motrice associée à l'écoulement. Dans l'étude de la référence [122], un résultat expérimental met en évidence une relation entre le rayon R de la cellule et la vitesse U de l'écoulement, $U \propto R^{1/2}$. L'auteur propose une interprétation : la vitesse est constante dans la couche de cytoplasme en dehors des zones indifférentes. La dissipation visqueuse dans le cytoplasme est donc localisée au niveau de ces zones où le sens de l'écoulement s'inverse. Il analyse l'écoulement dans la vacuole et trouve que la dissipation est également localisée au niveau des zones indifférentes, et est donc indépendante du rayon de la cellule (en fait il y a une dépendance très faible). La taille des zones étant supposée indépendante du rayon de la cellule, la puissance dissipée par unité de longueur d'internœud est indépendante de R et elle est donc proportionnelle à U^2 . D'autre part, si la puissance injectée par unité de surface d'internœud est constante, en intégrant sur une unité de longueur d'internœud on trouve une puissance proportionnelle à R . L'équilibre de puissance dans le système impliquerait alors la relation entre

vitesse et rayon. Notons qu'un tel écoulement suppose une rhéologie du cytoplasme un peu irréaliste (la force visqueuse générée dans la zone indifférente ralentirait "en bloc" chacune des deux régions du cytoplasme). On peut supposer que cette relation provient d'une échelle de régulation supérieure dans la plante, ou bien de l'interaction avec un autre phénomène dépendant du rayon. La force motrice de l'écoulement cytoplasmique a été mesurée par Tazawa [155] qui a réalisé des expériences de perfusion. La cellule est placée dans un bain isotonique, ce qui lui permet de survivre à l'amputation de ses extrémités. chaque extrémité est reliée à un compartiment séparé, de sorte qu'un écoulement peut parcourir la vacuole en appliquant une légère différence de pression. La force motrice est déduite de la différence de pression nécessaire pour stopper l'écoulement, la valeur obtenue est de $14 - 20 \mu N/cm^2$, en accord avec des mesures microscopiques sous centrifugeuse [79]. La force apparaît indépendante de la température. Or la vitesse de l'écoulement cytoplasmique dépend linéairement (voir exponentiellement) de la température, avec un taux mesuré de $3.4 \mu m s^{-1} K^{-1}$ [122]. Il semble donc que la variation de vitesse soit due à une variation de la viscosité de l'endoplasme. Dans d'autres expériences, on a montré qu'une variation de la pression osmotique du cytoplasme altère l'écoulement : une augmentation de 290mM à 586mM diminue la vitesse tout en augmentant la force ; une diminution à 190mM résulte en un gonflement des chloroplastes, ce qui diminue la vitesse et la force, ce qui est peut être dû à une modification des faisceaux d'actine.

Nothnagel et Webb [114] ont analysé différents modèles hydrodynamiques de mise en mouvement du cytoplasme. Ils montrent que la mise en mouvement de faisceaux d'actine par des moteurs ne peut pas entraîner d'écoulement dans le cytoplasme, avec des paramètres réalistes, car la force visqueuse générée est trop faible : une densité de faisceaux et une vitesse de mouvement irréalistes seraient requises pour accélérer le cytoplasme. Si les moteurs tirent de petites vésicules, le même problème survient, quoique ce mode d'entraînement soit relativement plus efficace que le précédent. En revanche, si les moteurs mettent en mouvement une structure réticulée, le coefficient de friction est élevé et le fluide va à la vitesse du réseau, c'est le mode d'entraînement le plus vraisemblable. De plus le profil de vitesse est alors constant sur l'épaisseur du réseau, en accord avec des observations expérimentales (dans le modèle le réseau glisse sur la surface de la cellule). Le reticulum endoplasmique pourrait être cette structure, des microscopies électroniques supportent cette hypothèse [76]. Un travail plus récent [173] propose une alternative : s'il existe une fine couche de fluide de faible viscosité au contact de la paroi cellulaire, des moteurs tirant des vésicules ou autre cargos peuvent alors entraîner le cytoplasme avec des paramètres réalistes. Les auteurs proposent que l'encombrement macromoléculaire dans le cytoplasme pourrait être sa principale source de viscosité, auquel cas il existerait proche de la paroi une couche d'exclusion

des macromolécules qui abaisserait localement la viscosité, ce qui réaliserait les conditions requises.

5.4. Rôle dans le transport intracellulaire

En dépit des avancées dans la compréhension des bases moléculaires et de l'hydrodynamique de l'écoulement, peu d'avancées ont été réalisées quant à sa fonction. On suppose que l'écoulement devrait aider au transport moléculaire. Mais peu d'hypothèses ont été avancées sur le mécanisme par lequel il accélérerait les taux métaboliques. Agutter [3, 2] considère que la diffusion n'est pas capable d'expliquer de nombreux phénomènes de transport cellulaire. De la même manière les auteurs de l'étude [68] soutiennent que l'homéostasie ne peut être maintenue sans l'aide d'un transport actif.

La forme élaborée de l'écoulement dans l'algue characée et sa vitesse due à la myosine XI, la plus rapide connue, laisse penser qu'il remplit une fonction précise optimisée par l'évolution. L'écoulement est impliqué dans de nombreuses fonctions métaboliques : il participe au transport intercellulaire et est nécessaire pour acheminer les matériaux depuis la racine jusqu'aux cellules en formation au bout de la tige. Il est nécessaire au maintien des bandes alcalines qui facilitent l'absorption de carbone inorganique dans l'eau environnante. Mais le moyen par lequel l'écoulement accélère le métabolisme demeure l'objet de recherches. Pickard dans les références [122, 121] propose aussi que l'advection pourrait aider l'homéostasie en supprimant les fluctuations du champ de concentration, ou encore que l'écoulement ne soit qu'un effet secondaire du transport de vésicules.

5.5. Emergence de l'écoulement par auto organisation

Une question intéressante pour le physicien est le mécanisme de mise en place de l'écoulement. Une expérience récente montre que si l'écoulement est stoppé au moyen de drogues (cytochalasine ou oryzaline), puis rétabli, les zones indifférentes réapparaissent à des positions différentes de l'état initial, suggérant une auto organisation. Woodhouse et Goldstein [174] proposent un modèle. Le cytoplasme est considéré comme une couche de fluide incompressible, et le couplage à l'écoulement dans la vacuole est négligé. L'écoulement bidimensionnel dans la couche de cytoplasme, de vitesse \mathbf{u} , obéit alors à la loi de Stokes, avec une force de friction effective rendant compte de la dissipation sur la paroi de la cellule :

$$\begin{aligned} -\mu\Delta\mathbf{u} + \nu\mathbf{u} + \nabla\Pi &= \mathbf{F} \\ \nabla \cdot \mathbf{u} &= 0 \end{aligned} \quad (5.2)$$

où μ est la viscosité du cytoplasme, ν le coefficient de friction effectif, Π la pression, \mathbf{F} la force des vésicules se déplaçant le long des filaments. Pour rendre compte de la géométrie de la cellule une condition impose un l'écoulement net à travers le tube nul. Les filaments s'assemblent en faisceau, se réorientent sous l'effet de l'écoulement et sont sensibles à la courbure de la paroi. La dynamique de leur polarité moyenne \mathbf{P} (de norme 1 si tous les filaments sont alignés dans la même direction) est donnée par :

$$\frac{\partial\mathbf{P}}{\partial t} + \epsilon\mathbf{u} \cdot \nabla\mathbf{P} = D^s\nabla^2\mathbf{P} - D^r\mathbf{P} + (\mathbf{I} - \mathbf{P}\mathbf{P}) \cdot [\epsilon(\nabla\mathbf{u}) \cdot \mathbf{P} + \alpha_p\mathbf{P} + \alpha_u\mathbf{u} - \kappa(\mathbf{P} \cdot \mathbf{d})\mathbf{d}] \quad (5.3)$$

où ϵ est le coefficient d'advection, D^s est le coefficient de diffusion des filaments sur la paroi (la nature de l'ancrage des filaments n'est pas connue), D^r est le coefficient de diffusion rotationnel des filaments, α_p est le coefficient de polarisation spontanée, α_u est le coefficient d'alignement avec l'écoulement, κ est le couplage pour le biais directionnel dans la direction \mathbf{d} (prise parallèle à l'axe de la cellule). La force due au déplacement des vésicules $\mathbf{F} = \Phi|\mathbf{P}|^2\mathbf{P}$ dépend non linéairement de \mathbf{P} car l'écoulement n'est pas suffisant pour aligner les filaments en absence d'agents de réticulation. Φ rend compte de la densité et dynamique des vésicules. Un rôle prépondérant est donné à l'alignement avec l'écoulement et à la polarisation spontanée, les autres coefficients sont fixés à des petites valeurs. Le modèle reproduit en bonne partie le phénomène (l'aspect hélicoïdal des bandes n'est pas présent). La fig 5.3 présente le résultat obtenu.

Figure 5.3. – Modèle de l'auto organisation de l'écoulement cytoplasmique dans [174]. Le codage couleur correspond à la polarité verticale des filaments, les lignes blanches représentent les zones indifférentes. Les images illustrent la progression de l'organisation de l'écoulement dans le temps.

Chapitre 6.

Observations expérimentales de l'écoulement cytoplasmique dans l'embryon de *C.elegans*

L'ovocyte de *C.elegans* subit plusieurs transformations avant sa première mitose. Notamment après l'entrée du spermatozoïde à $t=0$ a lieu un écoulement cytoplasmique dit méiotique. La méiose se déroule ensuite entre $t = 16$ minutes et $t = 18$ minutes. La division mitotique a lieu entre $t = 30$ minutes et $t = 45$ minutes. L'embryon avant la première mitose a une forme anisotrope, d'ellipsoïde de révolution allongé, de petit diamètre $25 \mu\text{m}$ et de grand diamètre $50 \mu\text{m}$, fig 6.1.a. Nous nous proposons d'étudier l'écoulement cytoplasmique méiotique. L'étude expérimentale a été réalisée par Kenji Kimura du laboratoire d'architecture de la cellule, dirigé par Akatsuki Kimura, à l'Institut national de génétique de Mishima au Japon. Nous avons réalisé la partie théorique visant à expliquer les différents phénomènes observés. Au cours de cette collaboration Akatsuki Kimura m'a accueilli dans son laboratoire pour un séjour d'été (en 2014). Cea a été l'occasion d'observer le dispositif expérimental, de discuter du projet, et aussi de réaliser des expériences préliminaires sur un projet annexe (non présenté dans le manuscrit).

6.1. L'écoulement cytoplasmique est perpendiculaire au grand axe de la cellule, son orientation est stochastique et se reverse occasionnellement

Pour suivre le mouvement du cytoplasme, les expérimentateurs observent les organites (RE, granules de vitellus, granules corticaux) par microscopie confocale, en positionnant le plan à environ $5\mu\text{m}$ du cortex comme indiqué sur le schéma 6.1.a. Tous les organites sont pris dans l'écoulement du cytoplasme et se déplacent à la même vitesse. La distribution de la vitesse du reticulum endoplasmique (RE) est donnée sur la fig 6.1.b. L'injection de monocristaux semi-conducteurs

(“quantum dot”) montre qu'ils suivent également l'écoulement, c'est une preuve supplémentaire que le mouvement ne concerne pas seulement certains organites mais tout le cytoplasme. Nous observons que l'orientation de l'écoulement est en moyenne perpendiculaire au grand axe de la cellule, avec des fluctuations, fig 6.1.a,b. Le sens de l'écoulement n'est pas prédéterminé. Il peut même s'inverser au cours du phénomène, qui dure environ 16 minutes. Ce renversement de l'écoulement a été mentionné dans la première observation du phénomène [175]. Nous mesurons son taux, 1.7 par heure (durée d'observation 320min, n=9 événements observés). L'écoulement est aussi visualisé en microscopie par illumination sélective de plan (SPIM) : la reconstruction tri-dimensionnelle du mouvement des granules de vitellus montre que l'écoulement est de type rotationnel autour de l'axe long de l'embryon et qu'il se renverse occasionnellement.

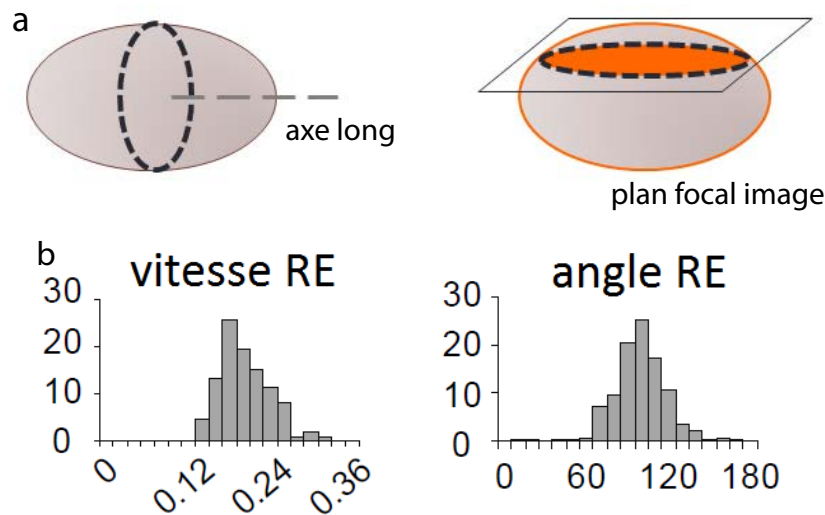


Figure 6.1. – a. À gauche, schéma de la forme de l'embryon, avec l'axe long identifié, à droite représentation du plan focal image du microscope. b. Distribution de la vitesse du RE, en $\mu m.s^{-1}$ et de son angle avec l'axe long en degrés.

6.2. Nécessité de la structure réticulée du RE pour l'écoulement

À ce stade du développement le RE dans *C.elegans* est tubulaire et cortical, il est accroché au cortex de la cellule et forme une couche épaisse d'environ $5 \mu m$, relativement fine donc comparé aux dimensions de la cellule. Dans des travaux portant sur des plantes le RE a été proposé comme un médiateur essentiel de

l'écoulement cytoplasmique [77, 114], ce qui suggère d'analyser son rôle dans l'écoulement chez *C.elegans*. Pour ce faire les expérimentateurs préparent des échantillons avec un RE fragmenté en vésicules. Ce phénotype est obtenu par inhibition simultanée des gènes *ret-1* et *yop-1* : ils codent pour des protéines donnant au RE sa courbure spontanée et stabilisent les tubes [71]. Les échantillons inhibés ne présentent pas d'écoulement organisé dans la cellule, mais seulement un mouvement aléatoire décorrélié des fragments de RE, fig 6.2.

Le seul modèle de l'écoulement existant suppose que les microtubules pivotent parallèlement au cortex, à cause de l'accumulation des granules de vitellus au centre de la cellule par les kinésines [109]. En effet les kinésines peuvent tracter les granules le long des microtubules, ce qui conduit à leur accumulation au centre. Les microtubules seraient ainsi repoussés stériquement. Dans les échantillons *yop-1* et *ret-1* RNAi nous observons toujours l'accumulation des granules au centre, ce qui est en contradiction avec cette explication (ou la rend au moins incomplète).

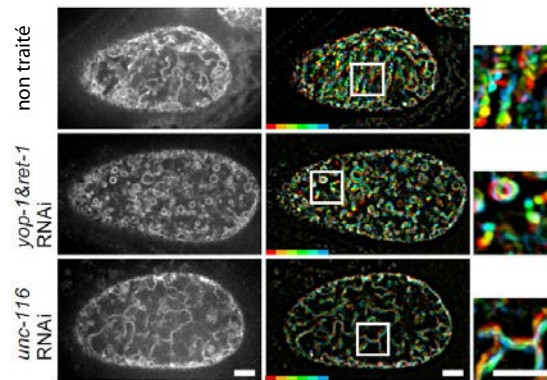


Figure 6.2. – À gauche, microscopies par fluorescence confocale d'embryons non traité, *yop-1* & *ret-1* RNAi et *unc-116* RNAi durant l'écoulement cytoplasmique. Au milieu, projection de 6 images séquentielles prises à 2 s d'intervalle. Chaque instant est indiqué par une couleur différente. À droite, grossissement de la zone encadrée. Barre d'échelle, $5\mu\text{m}$.

6.3. L'écoulement est requis pour l'alignement des microtubules

Il a été montré dans un travail précédent que les kinésines sont nécessaires pour l'écoulement [109] : lorsqu'elles sont inhibées (phénotype *unc-116* RNAi) le mouvement des granules de vitellus cesse. Nous confirmons cette observation, fig 6.2. Dans un autre système, il a été montré de plus que la désactivation du transport du

RE par inhibition de la myosine XI-K empêche l'alignement des faisceaux d'actine [161]. Les auteurs proposent que l'écoulement du RE aligne les faisceaux d'actine dans ce système, ce qui permet l'apparition d'un écoulement organisé à l'échelle cellulaire.

Dans notre système les microtubules sont initiés au niveau du cortex de la cellule, ils ont une longueur typique de $5\ \mu\text{m}$ (ils sont dans la couche de RE) et un temps de cyclage rapide comparé à la plupart des autres systèmes vivants étudiés, de l'ordre de quelques secondes. L'imagerie simultanée des microtubules et du RE suggère que le RE est transporté le long des microtubules, fig 6.3. Nous observons également que les microtubules s'alignent avec l'écoulement du RE, fig 6.3. En effet durant l'écoulement, nous observons que les microtubules s'orientent perpendiculairement à l'axe long de la cellule. Lorsque nous inhibons *unc-116*, le gène codant pour la chaîne lourde de la kinésine, l'activité des kinésines est inhibée, l'écoulement cesse et les microtubules perdent leur polarité. La polarité est aussi perdue dans les échantillons *yop-1* et *ret-1* RNAi. L'écoulement est donc nécessaire pour polariser les microtubules.

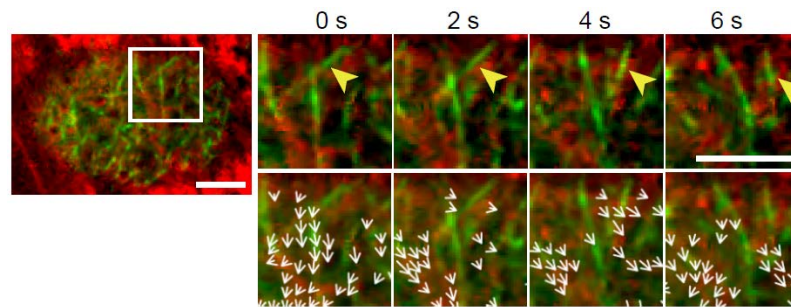


Figure 6.3. – Image par microscopie confocale en fluorescence d'un embryon exprimant la GFP : :tubuline (marquage des microtubules en vert) et mCherry : :SP12 (marquage du RE en rouge) durant l'écoulement cytoplasmique. Des images successives de la région dans le carré blanc sont grossies à droite. Les flèches blanches indiquent le vecteur vitesse du RE. barre, $5\ \mu\text{m}$.

6.4. L'inhibition de la katanine augmente la vitesse de l'écoulement et diminue son taux de renversement

Nous inhibons *mei-1*, qui encode l'orthologue de la sous unité catalytique de la katanine chez *C.elegans*, qui coupe les microtubules [148]. Les microtubules sont plus longs dans les échantillons *mei-1* RNAi, et la vitesse plus importante, fig

6.4. *L'inhibition de la katanine augmente la vitesse de l'écoulement et diminue son taux de renversement*

6.4. Le taux de renversement de l'écoulement est plus faible, 0.5 par heure (durée d'observation 246min, n=2 événements observés). Les mesures quantitatives seront données lors de la comparaison avec les prédictions du modèle. Ces observations ont conduit les expérimentateurs à faire les suppositions suivantes : les kinésines accrochées aux microtubules corticaux sont en contact avec le RE et le mettent en mouvement. Ce mouvement fait pivoter les microtubules dans le sens du courant, ce qui leur donne une polarité et permet à l'écoulement de se développer. Nous allons à présent présenter le modèle qui reprend ces observations.

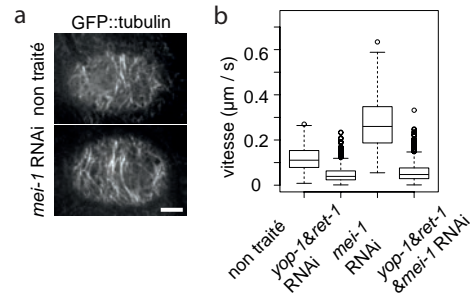


Figure 6.4. – a. Image de fluorescence confocale d'embryons non traité et mei-1 RNAi, exprimant la GFP : :tubulin durant l'écoulement cytoplasmique. barre d'échelle $5\mu\text{m}$. b. Représentation de la vitesse des granules de vitellus durant l'écoulement sous différentes conditions (vitesse moyennée sur toute la coupe).

Chapitre 7.

Modélisation de l'écoulement cytoplasmique méiotique dans l'embryon de *C.elegans*

7.1. Description du modèle

Le modèle est basé sur l'idée que le cytoplasme est entraîné par un écoulement spontané du reticulum endoplasmique (RE) cortical, mis en mouvement par des kinésines se liant à la fois aux microtubules et aux tubes du RE. La cellule a une forme d'ellipsoïde de révolution allongé. L'épaisseur ε de la couche de RE est petite devant le rayon de courbure de la cellule et l'on décrit donc l'écoulement sur une surface plane. (On verra que la géométrie de la surface a pour effet de contraindre la direction de l'écoulement)

7.1.1. Instabilité dynamique des microtubules

Les microtubules sont nucléés à la surface du cortex d'acto-myosine de l'embryon à un taux ω_{ini} . Comme la surface du cortex est désordonnée, nous supposons que chaque microtubule est orienté avec un angle aléatoire (distribuée uniformément). Le microtubule croît à une vitesse v_g , jusqu'à ce qu'une catastrophe provoque une rétraction rapide [43], avec un taux ω_{cata} . Nous modélisons cet événement comme une annihilation instantanée du microtubule.¹ La longueur moyenne du microtubule est $ll = v_g/\omega_{\text{cata}}$. Par souci de simplicité on considèrera que tous les microtubules ont une longueur égale à l . Un schéma du modèle est donné sur la fig 7.1.

La densité $\Psi(\mathbf{p}, \mathbf{x}, t)$ de microtubules accrochés en \mathbf{x} , orientés selon le vecteur unitaire \mathbf{p} évolue suivant l'équation de Smoluchowski [45, 138] :

1. Notons que le microtubule peut également se décrocher du cortex du fait de la dépolymérisation de l'actine, ce nous incluons dans ω_{cata}

$$\partial_t \Psi(\mathbf{x}, \mathbf{p}, t) = \omega_{\text{ini}} - \omega_{\text{cata}} \Psi - \nabla_{\mathbf{p}} \cdot (\dot{\mathbf{p}} \Psi) - \nabla_{\mathbf{x}} \cdot (\dot{\mathbf{x}} \Psi) \quad (7.1)$$

Comme la viscosité du cortex d'actine-myosine est grande devant celle du RE [74], le mouvement du cytosquelette dans le référentiel du laboratoire est négligeable : $\dot{\mathbf{x}} = \mathbf{0}$. $\dot{\mathbf{p}}$ est explicité dans la suite. La géométrie du microtubule est schématisée sur la fig 7.2a.

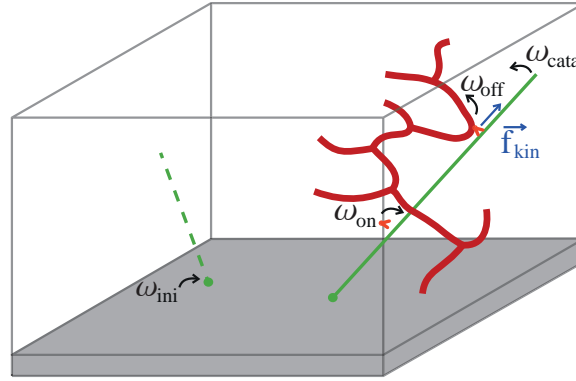


Figure 7.1. – Schéma représentant le modèle. Des microtubules (vert) sont attachés à la paroi de la cellule (gris) via des nucléateurs (point vert). Ils sont initiés avec un taux ω_{ini} et se rétractent avec un taux ω_{cata} . Le RE tubulaire (rouge) est ancré à la paroi. Les kinésines (orange) libres dans le cytoplasme forment des jonctions entre le RE et les microtubules, avec un taux ω_{on} . Elles exercent une force \mathbf{f}_{kin} sur le RE durant leur interaction, et se détachent avec un taux ω_{off} .

7.1.2. Dynamique des kinésines et forçage induit sur le reticulum endoplasmique

Les kinésines sont libres dans le cytoplasme [109]. Elles s'attachent aux microtubules et forment des jonctions microtubule-kinésine-RE avec un taux ω_{on} . Elles se détachent avec un taux ω_{off} que nous considérons comme constant [50]. Comme les tubes de RE ne sont souvent pas parallèles aux microtubules, que le rayon des tubes de RE est de 50nm seulement, nous supposons que seules une ou deux kinésines peuvent participer à une jonction et on considère les kinésines comme indépendantes les unes des autres. Les dynéines ne semblent pas jouer de rôle dans ce système et nous les ignorons dans la théorie. Voir la fig 7.1. La densité linéaire en kinésines accrochées sur les microtubules en l' $\rho(\mathbf{x}, \mathbf{p}, l', t)$ est couplée à $\Psi(\mathbf{x}, \mathbf{p}, t)$, sa dynamique est donnée par l'équation :

$$\partial_t(\rho\Psi)(\mathbf{p}, \mathbf{x}, l', t) = \omega_{\text{on}}\Psi - (\omega_{\text{off}} + \omega_{\text{cata}})\rho\Psi - \nabla_{\mathbf{p}} \cdot (\dot{\mathbf{p}}\rho\Psi) - \Psi\partial_{l'}(v_{\text{kin}}\rho) \quad (7.2)$$

Le premier terme à droite de l'équation est le flux d'accrochage de moteurs, proportionnel à la densité en microtubules. Le second terme est le flux d'annihilation de moteurs, par leur décrochage ou par rétraction du microtubule qui les supporte, le troisième terme est le terme d'advection dû à la rotation des microtubules, le dernier terme est le terme d'advection dû à la marche des kinésines sur le microtubule, avec une vitesse v_{kin} . Dans notre système le temps de cycle des kinésines est rapide, $\omega_{\text{off}} \gg \partial_{l'}v_{\text{kin}}$, voir tableau 7.1, Nous nous plaçons dans la limite où la processivité est faible et donc la densité est homogène, et ρ est constant en moyenne $\rho = \omega_{\text{on}}/(\omega_{\text{off}} + \omega_{\text{cata}})$. Nous nous plaçons également dans la limite où la dynamique des kinésines est rapide devant celle des microtubules, ce qui justifie de considérer la densité ρ constante (la densité à l'extrémité du microtubule en croissance relaxe rapidement à sa valeur moyenne).

Les kinésines marchent le long des microtubules et sont prises dans le courant du RE auquel elles sont liées, et sur lequel elles exercent une force. Nous considérons que les kinésines ont une relation force-vitesse linéaire [153, 113]. La force d'une kinésine vaut donc

$$\mathbf{f}_{\text{kin}} = f_0\left(1 - \frac{v_{\text{kin}}}{u_m}\right)\mathbf{p} + \delta\mathbf{f} \quad (7.3)$$

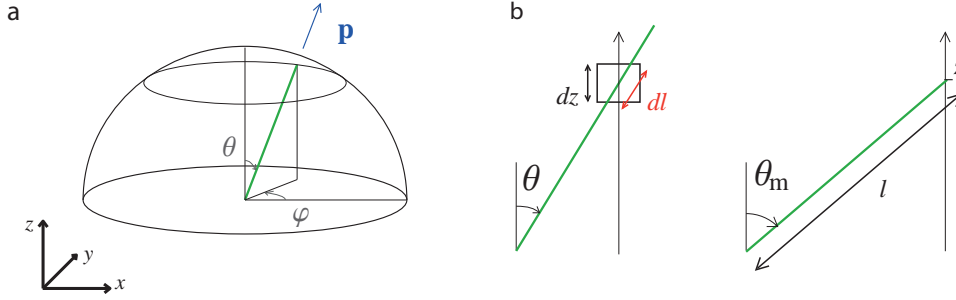


Figure 7.2. – Géométrie du microtubule. a. Un microtubule de vecteur directeur \mathbf{p} , avec \mathbf{p} appartenant à la demi sphère unitaire, est repéré par les angles $\theta \in [0; \pi/2]$ et $\phi \in [0; 2\pi]$, b. Elément de longueur dl contenu dans un élément de volume d'épaisseur dz ; θ_m l'angle maximal d'un microtubule exerçant un forçage à la hauteur z .

où f_0 est la force d'arrêt et u_m la vitesse d'une kinésine libre. La composante $\delta\mathbf{f}$ de la force n'est pas liée directement au travail de la kinésine mais au courant du RE glissant autour du microtubule. v_{kin} et $\delta\mathbf{f}$ sont fonction de l'écoulement

environnant. Pour calculer la force par unité de volume exercée sur le RE au point \mathbf{r} , on intègre les contributions des kinésines :

$$\mathbf{f}_{\text{cortex}}(\mathbf{r}) = \begin{cases} \int_0^{\theta_m} d\theta \sin(\theta) \int_0^{2\pi} d\phi \Psi \rho \mathbf{f}_{\text{kin}} \cos(\theta)^{-1} & \text{si } z < l \\ \mathbf{0} & \text{sinon} \end{cases} \quad (7.4)$$

où ρ est la densité linéaire en kinésines sur le microtubule d'orientation \mathbf{p} , $\theta_m = \arccos \frac{z}{l}$ l'angle θ maximal des microtubules atteignant la hauteur z , voir fig 7.2.b. L'élément de longueur d'un microtubule de directeur \mathbf{p} traversant un élément de volume d'épaisseur dz vaut $dl = \frac{dz}{\cos(\theta)}$, fig 7.2.b, ce qui explique le terme $\cos(\theta)^{-1}$ dans l'intégrale.

7.1.3. Description hydrodynamique du RE et du cytoplasme

Echantillon sauvage : RE cortical réticulé

Le RE cortical est un réseau de tubes de membrane lipidique de valence 3 et de maille ζ , accroché à la membrane, il forme une couche d'épaisseur $\varepsilon \simeq 5\mu m$. Les tubes sont stabilisés par des protéines induisant de la courbure. Sa rhéologie n'a pas été étudiée à notre connaissance. On peut supposer que la rhéologie est similaire à celle des micelles géantes [95] : ces solutions de tensioactifs s'assemblent en micelles tubulaires, présentant donc une analogie de structure avec les tubes du RE. Sous l'effet d'une contrainte, les noeuds se déplacent le long des tubules, la contrainte est visqueuse. Ils se retrouvent bloqués dans certaines conformations et une contrainte élastique s'accumule, jusqu'à rupture du tube. Le réseau pour conserver son intégrité se recombine activement. À temps intermédiaire le comportement est donc viscoélastique. Dans notre étude nous considérons des temps supérieurs au temps caractéristique viscoélastique et le RE se comporte comme un fluide visqueux.

Le RE baigne dans le cytoplasme, qui est un fluide newtonien visqueux incompressible. Ces deux fluides forment un mélange biphasique, dont nous allons étudier les propriétés hydrodynamiques, et le couplage avec le forçage des kinésines. La densité du cytoplasme est constante. La densité du RE correspond à la masse par unité de volume de tubules, leur rayon est imposé par les protéines d'enrobage donc la densité du RE est constante. On note α la fraction volumique du RE. Il n'y a pas d'échange de volume entre le RE et le cytoplasme, les équations de continuité s'écrivent :

$$\begin{aligned} \partial_t \alpha + \nabla \cdot (\alpha \mathbf{u}_1 + \mathbf{j}_{\text{diff}}) &= 0 \\ \nabla \cdot ((1 - \alpha) \mathbf{u}_2 + \alpha \mathbf{u}_1) &= 0 \end{aligned} \quad (7.5)$$

où \mathbf{u}_1 et \mathbf{u}_2 sont les champs de vitesse du RE et cytoplasme respectivement, moyennés sur une durée suffisante pour que la description continue des deux phases soit valable, et $\mathbf{j}_{\text{dif}} = -D_{re}\nabla\alpha$ est un courant diffusif tendant à homogénéiser α , dérivant des différents bruits dans le système : les inhomogénéités du mélange, l'activité d'autre part (des moteurs, du RE), le bruit thermique étant négligeable dans ces systèmes actifs. L'estimation des coefficients de diffusion dans les systèmes actifs fait actuellement l'objet de recherches [162, 105]. La première équation rend compte de la variation de fraction volumique occupée par le RE (à densité constante), la seconde rend compte de l'incompressibilité du mélange.

La conservation de la quantité de mouvement dans ce fluide biphasique est donnée, d'après [103] par les deux équations de Stokes suivantes (dans la limite de bas nombre de Reynolds) :

$$\begin{aligned} 0 &= -\alpha\nabla\Pi_1 + \nabla \cdot (\alpha\boldsymbol{\sigma}_1) + \mathbf{f}_{\text{cortex}} + \mathbf{F}_{\text{coupl}} \\ 0 &= -(1-\alpha)\nabla\Pi_2 + \nabla \cdot ((1-\alpha)\boldsymbol{\sigma}_2) - \mathbf{F}_{\text{coupl}} \end{aligned} \quad (7.6)$$

où l'on a négligé les termes de déviation dûs aux fluctuations. Π_1 et Π_2 sont les pressions dans les deux phases, $\boldsymbol{\sigma}_1$ et $\boldsymbol{\sigma}_2$ sont les tenseurs de contrainte pour les fluides newtonien 1 et 2 : $\boldsymbol{\sigma}_i = \eta_i(\nabla\mathbf{u}_i + \nabla\mathbf{u}_i^T - 2/3\nabla \cdot (\mathbf{u}_i)\mathbf{I})$ où l'on suppose la relation de Stokes valable (pour le RE une description plus détaillée pourra être envisagée dans des travaux ultérieurs). $\mathbf{F}_{\text{coupl}}$ est la force de couplage par unité de volume entre les deux phases. On peut l'interpréter comme la force exercée sur le cytoplasme s'écoulant à travers le RE, soit $\mathbf{F}_{\text{coupl}} = \kappa(\mathbf{u}_2 - \mathbf{u}_1)$, avec $\kappa = \eta_2/k$ et k la perméabilité du RE. Si le RE est immobile, on retrouve la loi de Darcy [38]². La force externe $\mathbf{f}_{\text{cortex}}$ ne s'applique que sur le RE et est transmise au cytoplasme via le couplage entre les phases. La pression dans le cytoplasme Π_2 est fixée par la condition d'incompressibilité du fluide. Pour le RE, la pression dépend de la forme du réseau. Sa topologie est régulée activement, mais également la membrane tend à se répartir de manière à maximiser l'entropie du système d'une part (et donc à homogénéiser la longueur des tubes), et les tubes résistent mécaniquement à la courbure. Nous proposons que $\Pi_1 = \Pi_2 + \chi(\alpha_0 - \alpha)$ où χ est la compressibilité du RE (du réseau et non des tubes) et α_0 la fraction volumique de référence qui dépend de la topologie du réseau.

Deux mécanismes homogénéisent donc α : la diffusion et la pression. Il est possible que dans certains systèmes la force externe des kinésines sur les microtubules, qu'on appelle le forçage, provoque une ségrégation du RE, mais expérimentalement on observe une densité homogène dans ce système. Nous laissons l'analyse de la stabilité dans ce type de systèmes pour des travaux ultérieurs, et supposons dans la suite $\alpha = \alpha_0$. La somme des deux équations (7.6) se ramène à :

2. On a $k \approx \zeta^2$ avec ζ le pas du réseau. Or la fraction volumique du RE vaut $\alpha \approx \pi r^2 \zeta n$ avec r le rayon d'un tubule et n le nombre de tubules par unité de volume. $n \propto \zeta^{-3}$ donc $\alpha \approx \pi r^2/k$.

$$0 = -\nabla\Pi_2 + [\alpha_0\eta_1 + (1 - \alpha_0)\eta_2]\Delta\mathbf{u}_1 + (1 - \alpha_0)\eta_2\Delta(\mathbf{u}_2 - \mathbf{u}_1) + \mathbf{f}_{\text{cortex}} \quad (7.7)$$

De plus, une variation de $(\mathbf{u}_2 - \mathbf{u}_1)$ relaxe sur une distance $\approx (k)^{1/2} \approx \zeta$ de l'ordre du pas du réseau, soit $1\mu\text{m}$ dans notre situation, ce qui est petit devant la taille caractéristique de variation de \mathbf{u}_1 . On peut donc faire l'approximation $\mathbf{u}_2 \simeq \mathbf{u}_1$ et finalement :

$$\begin{aligned} 0 &= -\nabla\Pi + \eta\Delta\mathbf{u} + \mathbf{f}_{\text{cortex}} \\ \nabla \cdot \mathbf{u} &= 0 \end{aligned} \quad (7.8)$$

où l'on a renommé \mathbf{u}_1 , \mathbf{u} , Π_2 , Π et $\eta = [\alpha_0\eta_1 + (1 - \alpha_0)\eta_2]$ la viscosité du mélange. Le forçage est externe et agit comme un monopôle de force, car les microtubules sont ancrés dans le cytosquelette qui joue le rôle de puit de quantité de mouvement. L'intensité de $\mathbf{f}_{\text{cortex}}$ est calculée dans l'annexe B.4. Le RE a une vitesse nulle à la surface de la cellule, $\mathbf{u}(z = 0) = \mathbf{0}$. Nous supposons le mélange RE-cytoplasme beaucoup plus visqueux que le cytoplasme au centre de la cellule, et la continuité de la contrainte entre les deux fluides impose qu'à l'interface $\boldsymbol{\sigma} \cdot \mathbf{n} \simeq \mathbf{0}$ où $\boldsymbol{\sigma}$ est le tenseur de contrainte du RE, \mathbf{n} le vecteur normal à l'interface³.

Forçage sur une suspension de particules. Notamment cas du type yop-1&ret-1 RNAi : RE fragmenté

L'inhibition des protéines yop-1 et ret-1 qui induisent la courbure spontanée du RE provoquent sa fragmentation en vésicules, relativement monodisperses. Les équations de continuité (7.5) ne sont pas modifiées. En revanche les équations de conservation du moment sont différentes car la phase du RE est à présent discontinue.

Dans son livre Brennen [17] propose de modéliser la phase dispersée comme une phase continue plongée dans la première et interagissant avec elle. Des équations de conservations sont développées pour l'écoulement biphasique en moyennant les équations microscopiques (le passage du discontinu aux équations moyennées est formellement complexe mais nous ne nous plaçons pas à ce niveau de détail). Nous trouvons :

$$\begin{aligned} 0 &= \mathbf{f}_{\text{cortex}} + \mathbf{F}_{\text{coupl}} \\ 0 &= -\nabla\Pi_2 + \nabla \cdot (\boldsymbol{\sigma}_2) - \mathbf{F}_{\text{coupl}} \end{aligned} \quad (7.9)$$

3. Nothnagel [114] a analysé le couplage entre la vitesse d'un réseau de type RE et le cytoplasme dans Chara mais n'avait pas considéré la rhéologie du RE, qui est supposé glisser sur la paroi cellulaire.

Sur la première ligne, le tenseur des contraintes est nul dans la phase dispersée car elle est discontinue et n'interagit que via le fluide environnant. La force de couplage vaut $\mathbf{F}_{\text{coupl}} = -\alpha \nabla \Pi_2 + n_v f'(\mathbf{u}_2 - \mathbf{u}_1)$ avec f' le coefficient de friction d'une vésicule dans le cytoplasme : $f' = 6\pi\eta_2 r$ (valable dans la limite d'une suspension diluée) et $4/3\pi r^3 = v_v$ où le volume individuel d'une vésicule est v_v . La fraction volumique vaut donc $\alpha = n_v v_v$ avec n_v le nombre de vésicules par unité de volume. La viscosité du mélange est celle du cytoplasme. L'intensité de $\mathbf{f}_{\text{cortex}}$ est calculée dans l'annexe B.4.

7.1.4. Pivot des microtubules sous l'effet de l'écoulement

Nous supposons que les microtubules pivotent librement autour du point d'ancrage [134]. La suspension est diluée, il n'y a donc pas de polarisation spontanée par encombrement ou par association induite chimiquement. Nous supposons donc que les microtubules pivotent sous l'effet de l'écoulement du mélange RE-cytoplasme (qu'on appelle RE dans la suite pour simplifier) seulement. La friction sur le filament due à l'écoulement de RE génère un couple que nous notons :

$$\mathbf{M} = \int_0^l dl' [l' \mathbf{p} \wedge \xi(\mathbf{u}(\mathbf{r}(l')) - l' \dot{\mathbf{p}})] \quad (7.10)$$

où ξ est le coefficient de friction linéaire du filament, $\mathbf{r}(l') = \mathbf{x} + l' \mathbf{p}$ la position sur le filament, et \mathbf{u} le champ de vitesse du RE. Le couple s'annule, on en déduit

$$\dot{\mathbf{p}} = \frac{3}{l^3} (\mathbf{I} - \mathbf{p}\mathbf{p}) \cdot \int_0^l dl' l' \mathbf{u}(\mathbf{r}(l')) \quad (7.11)$$

De plus les fluctuations du champ de vitesse à l'échelle microscopique dues à l'activité des kinésines, du RE résultent en un terme de diffusion rotationnelle : $-(\mathbf{I} - \mathbf{p}\mathbf{p}) \cdot D_{mt} \nabla_{\mathbf{p}} (\log(\Psi))$ avec D_{mt} un coefficient de diffusion rotationnel en s^{-1} dans l'équation (7.11) qui fait relaxer la polarité. Cependant cet effet dû aux fluctuations est petit comparé à la dépolarisation liée aux catastrophes et nous ne l'incluons pas dans notre étude, voir annexe B.3.1.

7.1.5. Comparaison qualitative de l'efficacité des deux mélanges pour mettre le cytoplasme en mouvement

Montrons d'abord les avantages du RE réticulé : L'intensité de $\mathbf{f}_{\text{cortex}}$ est plus importante dans ce cas car la transmission de la force des kinésines au mélange est totale. Dans le cas d'une suspension de vésicules, la transmission de la force de la kinésine au cytoplasme via les vésicules est limitée. Les kinésines ont une vitesse maximale, ce qui borne l'intensité de la force transmise par une vésicule (à la différence du modèle d'écoulement dans un brin de cytoplasme [69]). De plus,

le RE réticulé est localisé près du cortex, tandis que les vésicules se dispersent dans le cytoplasme ce qui diminue le nombre de kinésines utiles. Ajoutons que nous modélisons ici le microtubule comme un pivot libre. Mais s'il exerce une force résistant à la rotation, il sera entraîné plus efficacement dans un fluide plus visqueux, donc dans un mélange avec RE réticulé (on suppose $\eta_1 > \eta_2$).

Le seul désavantages du RE réticulé est que la viscosité du mélange est plus élevée dans ce cas (si l'on suppose $\eta_1 > \eta_2$) ce qui tend à ralentir l'écoulement.

Dans la suite on développe le modèle dans le cas physiologique du RE réticulé. Ces points seront exploités dans la comparaison avec les expériences.

7.1.6. Adimensionalisation du problème

L'éq (7.1) s'écrit avec des variables sans dimension :

$$\partial_{t'} \Psi' = 1 - \Psi' - \nabla_{\mathbf{p}} \cdot (\dot{\mathbf{p}}' \Psi') \quad (7.12)$$

$$\text{avec } \dot{\mathbf{p}}' = \frac{3}{V} (\mathbf{I} - \mathbf{p}\mathbf{p}) \cdot \int_0^1 dl_1 l_1 \mathbf{v}(\mathbf{r}(l_1)) \quad (7.13)$$

où $t' = t \omega_{\text{cata}}$, $\Psi' = \Psi/\Psi_0$ et $\Psi_0 = \omega_{\text{ini}}/\omega_{\text{cata}}$, et $\mathbf{v} = \mathbf{u}/u_m$. Apparaît le nombre sans dimension $V = l \omega_{\text{cata}}/u_m$: V^{-1} est la polarisabilité de la suspension de microtubules. On peut déjà remarquer que du fait de l'instabilité dynamique des microtubules, $v_g = l \omega_{\text{cata}}$, donc $V = v_g/u_m$ est le rapport des vitesses de croissance des microtubules d'une part et de marche des kinésines d'autre part.

L'éq (7.8) s'écrit sous forme adimensionnée :

$$\mathbf{0} = -\nabla \Pi' + \Delta \mathbf{v} + T(\mathbf{f} - \mathbf{g} \cdot \mathbf{v}) \quad (7.14)$$

$$\text{avec } \nabla \cdot \mathbf{v} = 0$$

où l'on a normalisé les grandeurs spatiales par l . Π' est la pression adimensionnée. Le vecteur \mathbf{f} et le tenseur \mathbf{g} s'écrivent :

$$\mathbf{f}(\mathbf{r}') = \int_0^{\theta_m} d\theta \sin(\theta) \int_0^{2\pi} d\phi \frac{\Psi'}{2\pi} \mathbf{p}(\cos(\theta))^{-1} \quad (7.15)$$

$$\mathbf{g}(\mathbf{r}') = \int_0^{\theta_m} d\theta \sin(\theta) \int_0^{2\pi} d\phi \frac{\Psi'}{2\pi} \mathbf{p}\mathbf{p}(\cos(\theta))^{-1} \quad (7.16)$$

si $z' < 1$, 0 sinon, avec $z' = z/l$ ⁴. Nous définissons le nombre sans dimension $T = c\rho f_0 l^2 / \eta u_m$ où c est la concentration de surface en microtubules $c = 2\pi\Psi_0$, T est le carré du rapport entre la longueur de pénétration des microtubules dans le RE l et la longueur de perméation du RE $(\eta u_m / c\rho f_0)^{1/2}$. T est donc l'épaisseur relative (ou "thickness") de la couche de RE forcée. Dans la suite on omettra les " " afin d'alléger les notations.

Remarque : nous parlons de longueur de perméation, car du fait de la friction la suspension de filaments se comporte comme un solide à travers lequel le RE fluide coule. Au contact d'une paroi il existe donc une longueur caractéristique $=(\text{viscosité} / \text{coef friction})^{1/2}$ nécessaire pour atteindre la vitesse de saturation du fluide (ici la viscosité vaut η , et le coefficient de friction $c\rho f_0 / u_m$ la densité volumique en moteurs fois leur coefficient de friction effectif).

7.2. Analyse de l'écoulement cortical

Les équations dynamiques (7.14) et (7.12) décrivent l'interaction entre la distribution des microtubules et kinésines et le mouvement du RE. Nous étudions à présent leur état stationnaire, dans le cas d'un écoulement homogène parallèle à la surface de la cellule. L'éq (7.14) se ramène alors à l'équation différentielle ordinaire :

$$0 = v_{,zz} + T(f(z) - v g(z)) \quad (7.17)$$

où v est la vitesse le long du plan. Les conditions de bord sont $v(0) = 0$, $v_{,z}(z = 1) = 0$. Le premier terme correspond à la contrainte visqueuse, le second terme correspond au forçage des kinésines, le troisième à leur force de friction, avec les coefficients f et g :

$$f(z) = \int_0^{\theta_m} d\theta \sin(\theta) \int_0^{2\pi} d\phi \frac{\Psi}{2\pi} p_{\parallel} \cos(\theta)^{-1} \quad (7.18)$$

$$g(z) = \int_0^{\theta_m} d\theta \sin(\theta) \int_0^{2\pi} d\phi \frac{\Psi}{2\pi} p_{\parallel}^2 \cos(\theta)^{-1} \quad (7.19)$$

pour $z < 1$, et 0 sinon, où p_{\parallel} est la composante de \mathbf{p} parallèle à l'écoulement (soit si l'écoulement est selon \mathbf{e}_x le vecteur unitaire parallèle à l'axe Ox, $p_{\parallel} = p_x = \sin(\theta) \cos(\phi)$).

4. Nous voyons que l'orientation de la marche des moteurs du cortex vers le centre de la cellule apparaît nécessaire à la polarisation des microtubules : l'orientation du forçage est alors parallèle à celle de l'écoulement. Avec des moteurs orientés dans l'autre sens (des dynéines donc) le forçage et l'écoulement seraient anti-parallèles (on change le signe de \mathbf{f}) et l'écoulement ne pourrait pas se développer.

7.2.1. Résolution numérique

Avec l'écoulement décrit ci-dessus, l'éq (7.12) se développe (en fixant la direction de l'écoulement selon \mathbf{e}_x) :

$$\partial_t \Psi = 1 - \Psi - \frac{3 \cos(\phi)}{V} \left[\cos(\theta)^{-1} H \partial_\theta \Psi - \sin(\theta) \Psi v(\cos(\theta)) \right] + \frac{3 \sin(\phi)}{V \cos(\theta)^2 \sin(\theta)} H \partial_\phi \Psi \quad (7.20)$$

$$\text{avec } H = \int_0^{\cos(\theta)} dz z v(z)$$

Ce problème ne peut pas être résolu en développant Ψ en harmoniques sphériques, car notre géométrie est hémisphérique et les harmoniques ne sont pas orthogonales sur cet espace. On pourrait considérer un hémisphère miroir pour obtenir artificiellement une géométrie sphérique, mais la solution pourrait être singulière à l'équateur. Nous implémentons donc un schéma numérique au premier ordre dans le temps et l'espace, de l'équation (7.20) sur un maillage régulier de l'hémisphère, paramétré par les angles θ et ϕ comme le montre la fig 7.2.a.

Pour calculer le profil de vitesse v , équation (7.17), nous utilisons la méthode classique d'intégration de Runge-Kutta. Des conditions sont imposées au deux bords, ce qui impose de faire relaxer la courbe par une méthode de tirs [125].

Nous initialisons le système avec une petite inhomogénéité en Ψ . À chaque pas de temps, nous calculons les nouvelles valeurs du champ Ψ , puis nous calculons le profil de v . La solution converge vers un unique état stationnaire.

Nous représentons les solutions stationnaires pour les coordonnées de système $T = 20$, $V = 1$. Un écoulement d'amplitude modérée se développe. Nous voyons sur la fig 7.3.a la polarisation des filaments dans le sens du courant. La vitesse v relaxe vers sa valeur maximale sur une épaisseur de l'ordre de 0.5, fig 7.3.b, car la plupart des kinésines sont situées en dessous de cette valeur de z . Avec un paramètre T plus petit, $T = 1$ par exemple (et $V = 1$ toujours) l'écoulement à l'état stationnaire est nul. Nous n'avons malheureusement pas exploré tout l'espace des paramètres car certaines instabilités numériques n'ont pas pu être éliminées au moment de la rédaction de ce manuscrit.

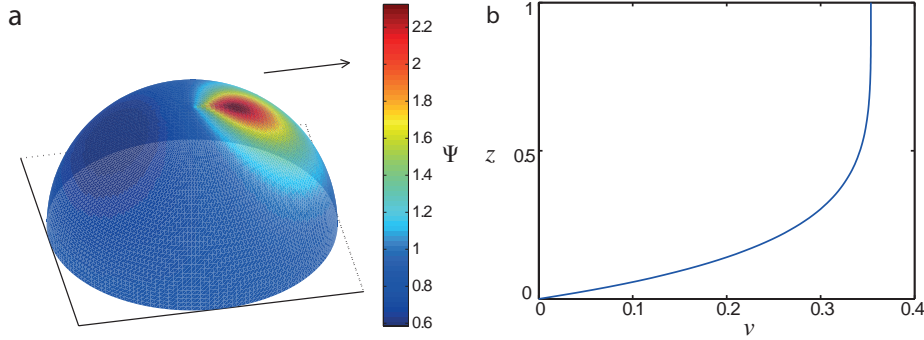


Figure 7.3. – Représentation de la solution stationnaire calculée numériquement. a. Représentation de Ψ , la flèche noire indique la direction de l'écoulement. b. Représentation de v en fonction de z .

7.2.2. Solution analytique

Détermination du profil de l'écoulement du RE

La complexité des équations ci-dessus n'autorise pas une résolution analytique directe. Cependant, on remarque que les intégrales de f et g ont une forme simple :

$$\int_0^1 dz f(z) = P_{\parallel} \quad (7.21)$$

$$\int_0^1 dz g(z) = \frac{\langle p_{\parallel}^2 \rangle}{c} \quad (7.22)$$

car on somme les contributions de tous les microtubules. La notation $\langle . \rangle$ correspond à une intégration sur la distribution Ψ : $\langle a \rangle = \iint d\mathbf{p} \Psi a$ où a est une fonction quelconque de \mathbf{p} . Nous introduisons également le vecteur de polarisation \mathbf{P} : $\langle \mathbf{p} \rangle = c \mathbf{P}$. De plus, l'extension moyenne des microtubules dans le RE vaut $h = lP_z$ (on notera ici par cohérence $P_{\perp} = P_z$). f et g sont faibles au delà de $z = h$ (elles décroissent linéairement, voir résultat numérique) on approxime f et g par des marches :

$$f(z) = \frac{1}{h'} P_{\parallel} \quad (7.23)$$

$$g(z) = \frac{1}{h'} \frac{\langle p_{\parallel}^2 \rangle}{c} \quad (7.24)$$

si $z < h'$, 0 sinon, avec $h' = h/l$. On trouve alors une expression simple pour la vitesse $v(z)$:

$$v(z) = \begin{cases} \frac{P_{//}}{\langle p_{//}^2 \rangle / c} \left[1 - \frac{\cosh(T'^{1/2}(1 - z/h'))}{\cosh(T'^{1/2})} \right] & \text{si } z < h' \\ \frac{P_{//}}{\langle p_{//}^2 \rangle / c} \left[1 - \frac{1}{\cosh(T'^{1/2})} \right] = v_{ER} & \text{si } h' \leq z \leq \varepsilon/l \end{cases} \quad (7.25)$$

où $T' = T \frac{\langle p_{//} p_{//} \rangle}{c} P_{\perp}$. Le rôle de T apparaît ici clairement, la vitesse de l'écoulement relaxe exponentiellement vers sa valeur de saturation v_{ER} sur une longueur $T'^{1/2}$, voire fig 7.4. Cette valeur est proportionnelle à la polarité des filaments, elle est proportionnelle au terme de forçage T quand $T \ll 1$, et sature à $\frac{P_{//}}{\langle p_{//}^2 \rangle / c}$ quand $T \rightarrow \infty$. La relaxation exponentielle de v est similaire au résultat numérique, fig 7.3.b. Une originalité d'un tel système comparé à un équivalent passif (perméation à travers un gel par exemple) est que la suspension est à la fois la source du forçage et le milieu à travers lequel a lieu la perméation. De plus la *friction* des kinésines n'en est pas vraiment une, c'est un ralentissement du taux ATPase dû aux forces externes, et n'induit pas de dissipation.

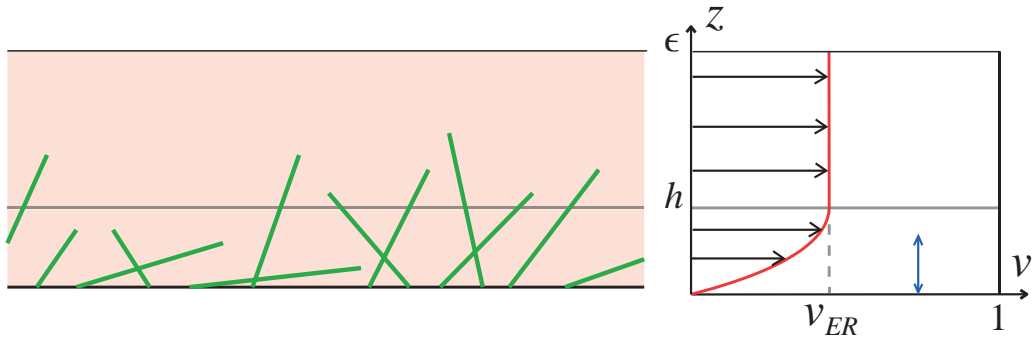


Figure 7.4. – Schéma en coupe du système. Le RE est forcé sur une épaisseur h , il atteint une vitesse v_{ER} . Indiqué en bleu, la longueur de perméation, avec les paramètres $T = 20$, $V = 2$.

Détermination des moments de la distribution des microtubules :

Le profil de vitesse \mathbf{v} déterminé dans l'équation (7.25) est injecté dans l'équation (7.12). Ensuite nous multiplions l'équation (7.12) par \mathbf{p} et nous intégrons sur les

orientations \mathbf{p} . En faisant l'approximation $\langle f\left(\frac{p_{\perp}}{\langle p_{\perp} \rangle}\right) \rangle \cong f(1)$ (c'est à dire que la dispersion de la composante orthogonale de l'orientation des microtubules est petite devant 1), on trouve que l'évolution de la polarité moyenne des microtubules est donnée par l'équation :

$$\partial_t \langle \mathbf{p} \rangle = \frac{c}{2} \mathbf{e}_z - \langle \mathbf{p} \rangle + \frac{3\alpha}{V} [c \mathbf{v}_{\mathbf{ER}} - \langle \mathbf{p} \mathbf{p} \rangle \cdot \mathbf{v}_{\mathbf{ER}}] \quad (7.26)$$

où $\mathbf{v}_{\mathbf{ER}}$ est le vecteur ayant pour norme la vitesse de saturation dans la couche de RE donnée par l'équation (7.25), voir fig 7.4 et pour direction l'écoulement moyen. Le paramètre $\alpha \in \left[\frac{5}{12}; \frac{1}{2}\right]$ est quasi constant ($\alpha = 1/2(1 - \text{sech}(\sqrt{T'})) - 1/T'$). Le premier terme à droite de l'équation décrit la polarisation spontanée des microtubules nucléés perpendiculairement au cortex, le second terme décrit la relaxation de la polarité due aux catastrophes et le dernier terme la polarisation des microtubules par l'écoulement du RE. L'équation pour la polarisation moyenne fait intervenir le 2^e moment de la distribution des microtubules, nous le calculons à partir d'une relation de fermeture de manière similaire à [174] dans l'annexe B.2.

Équation mécanique pour un écoulement cortical inhomogène

Comme le RE est une couche mince de fluide, on peut lui appliquer l'approximation de lubrification : $\Pi_{,z} \simeq 0$ corrigé de la pression hydrostatique (il existe une pression hydrostatique, dépendant de z , qui compense la composante verticale de $\mathbf{f}_{\text{cortex}}$ et représente la résistance du RE au décollement), $v_{i,z} \gg v_{i,x}, v_{i,y}$, en négligeant v_z . Les variations latérales de la vitesse sont négligeables devant les variations selon z , donc la forme du profil de \mathbf{v} selon z n'est pas modifiée par rapport à l'écoulement homogène : $\mathbf{v}(\mathbf{r}) = \mathbf{v}_{\mathbf{ER}}(\mathbf{x}) \left[1 - \frac{\cosh(T'^{1/2}(1-z/h'))}{\cosh(T'^{1/2})}\right] / \left[1 - \frac{1}{\cosh(T'^{1/2})}\right]$ si $z < h'$, $\mathbf{v}(\mathbf{r}) = \mathbf{v}_{\mathbf{ER}}(\mathbf{x})$ si $z > h'$. On développe T' , $T' = T \frac{\langle p_{\parallel} p_{\parallel} \rangle}{c} P_{\perp}$, avec p_{\parallel} la composante de \mathbf{p} parallèle à l'écoulement (le 2nd moment de la distribution de \mathbf{p} est exprimé en fonction du 1^{er} moment, voir annexe B.2). On intègre l'éq (7.14) selon z entre 0 et ε/l où ε est l'épaisseur de la couche, en utilisant l'expression précédente, on trouve que $\mathbf{v}_{\mathbf{ER}}(\mathbf{x})$ suit :

$$\mathbf{0} = -\nabla \Pi' + a \Delta_{2d} \mathbf{v}_{\mathbf{ER}} + T \mathbf{P} - \mathbf{b} \cdot \mathbf{v}_{\mathbf{ER}} \quad (7.27)$$

avec $\nabla \cdot \mathbf{v}_{\mathbf{ER}} = 0$

où Π' est la pression bidimensionnelle adimensionnée, Δ_{2d} le laplacien bidimensionnel; la viscosité effective a et le coefficient de friction effectif \mathbf{b} sont donnés par :

$$a = \frac{\varepsilon}{l} - P_{\perp}(1 - \lambda) \quad \text{et} \quad \mathbf{b} = \frac{\mathbf{I}}{P_{\perp} \kappa} + \frac{\langle \mathbf{p} \mathbf{p} \rangle}{c} \lambda T \quad (7.28)$$

où $\lambda \in [2/3; 1]$, est un paramètre quasi constant ($\lambda = (1 - \tanh(T'^{1/2})T'^{-1/2})/(1 - 1/\cosh(T'^{1/2}))$). Le premier terme dans \mathbf{b} rend compte de la dissipation due au cisaillement du RE au contact du substrat, avec $\kappa \in [0; 1/2]$ $\kappa = (\cosh(T'^{1/2}) - 1)/(T'^{1/2} \sinh(T'^{1/2}))$, le second terme rend compte de la friction des moteurs. Les composantes de \mathbf{b} tendent vers 4 pour T petit quand la friction du RE domine, et sont asymptotiquement proportionnels à T pour T élevé quand la friction des kinésines domine.

La dynamique de $\langle \mathbf{p} \rangle(\mathbf{x})$ ne dépend que de $\mathbf{v}_{\mathbf{ER}}(\mathbf{x})$. Elle se généralise à un écoulement inhomogène.

Remarque : dans la dérivation des équations pour un écoulement inhomogène, nous avons négligé les variations des champs sur une échelle d'ordre l . Cela est naturel car le forçage en un point moyenne les contributions des microtubules sur une distance l .

Analyse de la stabilité de l'état isotrope

Nous considérons une perturbation autour de l'état isotrope : $\mathbf{v}_{\mathbf{ER}} = \delta \mathbf{v}_{\mathbf{ER}}$, $\langle \mathbf{p} \rangle = (c/2)\mathbf{e}_z + \delta \langle \mathbf{p} \rangle$. Nous cherchons des solutions sous forme d'ondes planes : $\delta \langle \mathbf{p} \rangle(\mathbf{x}, t) = \delta \langle \hat{\mathbf{p}} \rangle(\mathbf{k}) \exp(\mathbf{k} \cdot \mathbf{x} + st)$, de même pour les autres variables. Nous faisons un développement au 1er ordre, nous trouvons pour l'équation mécanique (7.27) :

$$\mathbf{0} = -i\mathbf{k}\hat{\Pi}' - (ak^2 + b)\delta\hat{\mathbf{v}}_{\mathbf{ER}} + T\delta\langle\hat{\mathbf{p}}\rangle/c \quad (7.29)$$

$$\mathbf{k} \cdot \delta\hat{\mathbf{v}}_{\mathbf{ER}} = 0 \quad (7.30)$$

où la seconde ligne correspond à l'équation de continuité de l'écoulement incompressible. Nous trouvons pour l'équation (7.26) :

$$\delta\langle\hat{\mathbf{p}}\rangle = \frac{9\alpha c}{4V} \frac{\delta\hat{\mathbf{v}}_{\mathbf{ER}}}{s+1} \quad (7.31)$$

En injectant l'éq (7.31) dans (7.29) nous obtenons :

$$\mathbf{0} = -i\mathbf{k}\hat{\Pi}' + \left(\frac{9\alpha T}{4V(s+1)} - ak^2 - b\right)\delta\hat{\mathbf{v}}_{\mathbf{ER}} \quad (7.32)$$

$$\mathbf{k} \cdot \delta\hat{\mathbf{v}}_{\mathbf{ER}} = 0 \quad (7.33)$$

Remarque : $\delta\langle p_z \rangle$ croît en $\delta\langle \mathbf{p} \rangle \cdot \delta \mathbf{v}_{\mathbf{ER}}$ et est donc négligeable. La pression $\hat{\Pi}'$ est éliminée en projetant les équations perpendiculairement à \mathbf{k} . On trouve le taux de croissance s d'un mode de vecteur d'onde k :

$$s(k) = \frac{9\alpha T}{4V} \frac{1}{ak^2 + b} - 1 \quad (7.34)$$

Le mode k est instable si $s(k) > 0$. Les équations ci-dessus possèdent un état stationnaire avec une polarité moyenne des microtubules orthogonale à la surface et un écoulement de RE nul. Cependant dans un certain domaine de paramètres, cet état est instable et le RE s'écoule spontanément dans la direction parallèle à la surface, entraînant ainsi le cytoplasme dans toute la cellule. L'analyse de stabilité montre que le système est plus instable aux grandes longueurs d'ondes, pour lesquelles le cisaillement du RE est plus faible. Le seuil d'écoulement dans l'embryon de *C.elegans*, pour $k = 0$ d'après (7.34) est donné par :

$$-1 + \frac{9}{2V} \left(1 + \frac{16}{T} \left(\frac{1}{\cosh(\sqrt{T}/8)} - 1 \right) \right) > 0 \quad (7.35)$$

Remarquons d'abord qu'au dessous d'une polarisabilité V^{-1} critique $V^{-1*} = 2/9$ l'écoulement ne peut se développer quelle que soit la valeur de T : la polarisabilité est trop faible, quelle que soit l'efficacité de l'entraînement du RE T , car la vitesse de marche des kinésines est limitée. Il est remarquable que du fait de l'instabilité dynamique qui couple le temps de vie et la longueur des microtubules, ce seuil ne dépende que de v_g/u_m . Pour $V < V^*$ le forçage doit compenser la dissipation visqueuse du RE, si T est supérieur à un seuil l'écoulement se développe spontanément. Dans la limite des petits T , l'inéquation (7.35) tend vers $T/V > 64/15$, cette relation est liée à la nature fluide du RE : dans cette région l'extension des microtubules dans le RE est faible, la contrainte de cisaillement du RE limite l'écoulement.

Propriétés de l'écoulement homogène

Nous calculons les propriétés de l'écoulement stationnaire en fonction de T et V . Sur la fig 7.5.a est tracée la vitesse stationnaire v_{ERst} de l'écoulement, sur la fig 7.5.b la composante de la polarité parallèle à l'écoulement $P_{//st}$, sur la fig 7.5.c la composante orthogonale à la surface $P_{\perp st}$. On distingue la frontière entre la phase immobile et la phase en mouvement. Les grandeurs saturent pour T élevé ce qui est attendu d'après l'équation (7.25). De manière attendue $P_{//st}$ diminue avec V . $P_{\perp st}$ diminue quand $P_{//st}$ augmente car les filaments s'alignent avec l'écoulement. Cette diminution de $P_{\perp st}$ a été observée dans [109], et les auteurs ont supposé que les microtubules sont repoussés par les granules de vitellus au centre de la cellule. L'effet de la suspension de granules est en fait négligeable, seul l'écoulement du RE est responsable de cet alignement avec la paroi. Ce type de transition appartient à la classe des transitions de phase dynamiques, similaire à celle qui a été étudiée pour un filament sur un tapis de moteurs moléculaires par Julicher & Prost [75].

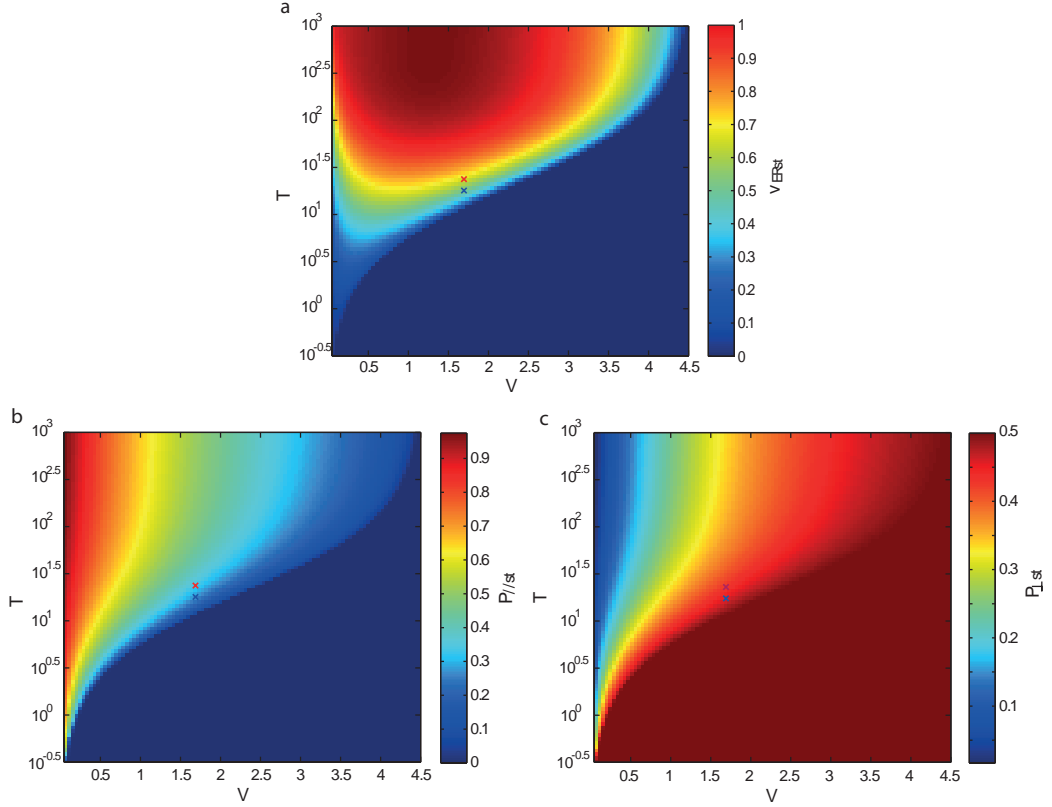


Figure 7.5. – Diagrammes de phase : propriétés de l'écoulement cytoplasmique en fonction des nombre T et V . La croix bleue indique les coordonnées du phénotype sauvage ; la croix rouge indique les coordonnées du phénotype RNAi mei-1 avec la katanine inhibée. a. vélocité v_{ERst} . b. : polarité parallèle à l'écoulement $P_{//st}$. c. polarité orthogonale à la surface $P_{\perp qt}$.

Pour comprendre le sens physique des diagrammes de phase, nous traçons des diagrammes de bifurcation en faisant varier des paramètres physiques. La fig 7.6.a présente l'évolution de v_{ERst} et $P_{//st}$ à en fonction de l à ω_{cata} constant, donc v_g varie. On observe quand l augmente l'apparition d'un écoulement avec une bifurcation fourche supercritique. Cette forme de bifurcation est imposée dans ce système unidimensionnel de par les deux orientations équivalentes de l'écoulement. Si l augmente encore, une autre bifurcation du même type supprime l'écoulement. Cet effet particulier dépend précisément de la forme de la frontière de phase (la ligne qui délimite la phase en écoulement de la phase immobile). Quand l diminue l'écoulement est supprimé car la longueur des microtubules diminue et la contrainte de cisaillement du RE devient limitante. Quand l augmente l'écoulement est supprimé car la polarisation des microtubules ralentit : dans cet état la force

de friction des kinésines augmente plus vite que la force motrice avec l'écoulement. Remarquons qu'une même vitesse d'écoulement est observée pour des microtubules courts et polarisés ou longs et peu polarisés.

Sur la fig 7.6.b, on observe l'évolution du diagramme pour deux valeurs de T . Quand T diminue la phase en écoulement se ferme par les deux côtés (pour les petits et grands v_g), c'était attendu car v_{ERst} diminue avec T .

En c, l varie avec v_g constant donc ω_{cata} varie. La bifurcation pour l petit est similaire à celle de la fig 7.6.a, mais on note que la phase ne se ferme pas à droite, la vitesse tend asymptotiquement vers la saturation. On voit donc que varier l en variant v_g ou ω_{cata} n'est pas équivalent : dans le second cas, la polarisabilité V^{-1} reste inchangée.

Sur la fig 7.6.d, ω_{cata} varie avec l constant (donc v_g varie). Vers la droite le cyclage des microtubules est de plus en plus rapide, $P_{//st}$ diminue jusqu'à fermeture de la phase.

Sur la fig 7.6.e, l varie en gardant un nombre total de kinésines constant. À gauche la vitesse v_{ERst} tend vers 0 mais la phase ne se referme pas (dans le modèle du moins : quand $l < \zeta$ l'approximation de milieu continu n'est plus valable).

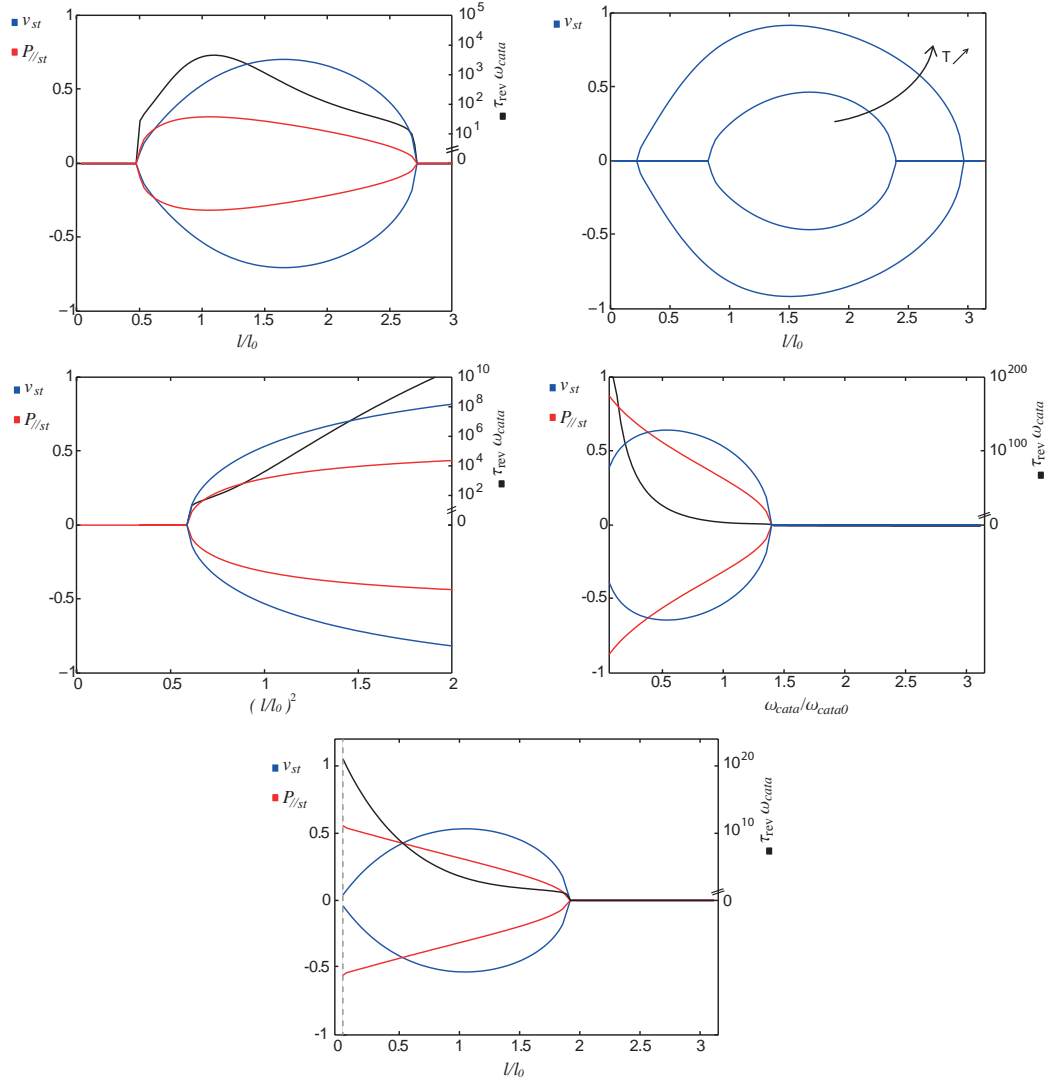


Figure 7.6. – diagrammes de bifurcation : variations des propriétés de l'écoulement : vitesse stationnaire v_{ERst} (bleu), polarité parallèle à l'écoulement $P_{//st}$ (rouge), temps moyen de retournement $\tau_{rev} \omega_{cata}$ (noir) dans différentes conditions. On fait varier certains paramètres physiques autour d'un état de référence avec $T_0 = 15$, $v_{g0} = 1 \mu m/s$, $l_0 = 5 \mu m$, $\omega_{cata0} = 0.2 s^{-1}$, avec $u_m = 0.7 \mu m/s$. A : l varie avec ω_{cata} constant (donc v_g varie). B : similaire au cas précédent, mais ici T_0 vaut 10 et 30. C : l varie avec v_g constant (donc ω_{cata} varie). D : ω_{cata} varie avec l constant (donc v_g varie). E : l varie en conservant un nombre de kinésines constant, donc $c\rho$ varie. La ligne en pointillés à gauche correspond à la limite $l \rightarrow 0$, les microtubules ne peuvent plus atteindre les tubes de RE et l'écoulement s'annule. Pour calculer le temps de renversement (noir), on a utilisé les paramètres $N = 200$ pour le nombre total de microtubules et $n_{kin} = 8$ pour le nombre de kinésines par microtubule.

7.2.3. L'écoulement dans la cellule

Dans l'embryon de *C.elegans*, on a vu que l'écoulement moyen est perpendiculaire à l'axe long de l'ellipsoïde de révolution que forme la cellule. Cette direction est imposée par la symétrie de rotation autour de l'axe long de la cellule. On a également vu qu'il y a deux orientations autorisées par cette symétrie. Montrer que cette symétrie de la surface impose les symétries à l'écoulement nécessiterait de faire une simulation du champ de vitesse sur une surface courbe ellipsoïdale, par une méthode d'éléments finis par exemple. On peut le comprendre sur une géométrie simple de cylindre infini, voir fig. 7.7 : ici pour tout écoulement stationnaire non symétrique par rotation (par exemple incliné comme indiqué), si l'on suit une ligne de courant la vitesse est non constante. Or le système a une seule vitesse satisfaisant l'équilibre local des forces (un tel écoulement ne présente que des contraintes de cisaillement donc la pression est constante). L'équilibre des forces n'est donc pas respecté localement, cet écoulement est instable.

La direction de la vitesse est donc imposée dans la cellule, elle est caractérisée par son amplitude uniquement. De la même manière la polarité des microtubules est caractérisé par son amplitude. (On ne se préoccupe pas des pôles de la cellule ici, leur effet est local)

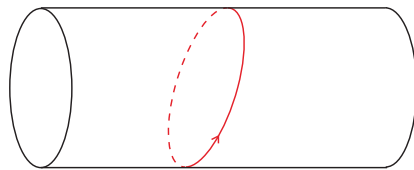


Figure 7.7. – schéma d'une ligne de courant de l'écoulement à la surface d'un cylindre infini

7.3. Renversement stochastique de l'orientation de l'écoulement cytoplasmique

Dans la section précédente nous avons quantifié l'écoulement moyen dans la cellule. Nous avons vu qu'il peut prendre deux orientations. Expérimentalement il apparaît que les fluctuations de la vitesse sont assez grandes pour que l'écoulement saute aléatoirement d'une orientation à l'autre pendant la durée de l'expérience. Nous allons donc à présent modéliser le l'écoulement comme un processus stochas-

tique afin de comprendre ce qui provoque le retournement quantitativement.

7.3.1. Dynamique des grandeurs moyennes dans le système

Nous nous intéressons au phénomène moyenné sur la surface de la cellule. Le moment de l'ensemble des forces sur la couche de RE s'annule. On simplifie sa géométrie en le considérant comme un cylindre, avec comme conditions aux bords du cylindre une absence de contrainte : ici aussi on néglige l'effet des bords qui est local, en effet le champ de vitesse est homogène en dehors des pôles. C'est une bonne approximation dans les cellules de forme suffisamment allongée (le rapport d'aspect d'un embryon typique est 2. Parfois certaines cellules sont plus sphériques, on ne les considère pas dans cette étude).

Le moment des forces appliquées au RE en un point P par rapport au point O est $\mathbf{OP} \times (-\nabla\Pi' + a \Delta_{2d}\mathbf{v}_{\mathbf{ER}} + \frac{T}{\rho_0 l c_0} \langle n\mathbf{p} \rangle - \mathbf{b} \mathbf{v}_{\mathbf{ER}})$, où O est le centre du cylindre et P un point à la surface du cylindre, voir fig 7.8. On intègre le moment sur la surface du cylindre. L'intégrale des contraintes internes au RE est nulle, restent le forçage externe et la force exercée par le RE sur le substrat. En particulier la composante du moment le long de l'axe du cylindre \mathbf{e}_z donne :

$$0 = \iint_A dA \left(\frac{T}{\rho_0 l c_0} \langle np_\theta \rangle - b_{\theta\theta} v_{ER\theta} - b_{\theta z} v_{ERz} \right) \quad (7.36)$$

où c_0 est la concentration moyenne en microtubules, ρ_0 la densité linéaire moyenne en kinésines, $n(\mathbf{p})$ le nombre de kinésines par microtubule orienté selon \mathbf{p} : $n(\mathbf{p}) = \int_0^l dl' \rho(l', (\mathbf{p}))$. De sorte que l'on a $\langle n\mathbf{p} \rangle = \iint d\mathbf{p} \Psi n \mathbf{p}$. Les composantes de \mathbf{b} sont donnés par la formule (7.28). On développe les champs autour de la valeur spatiale moyenne :

$$\mathbf{0} = \iint_A dA \left(\frac{T}{\rho_0 l c_0} (\overline{\langle np_\theta \rangle} + \delta \langle np_\theta \rangle) - (\overline{b_{\theta\theta}} + \delta b_{\theta\theta}) (\overline{v_{ER\theta}} + \delta v_{ER\theta}) - \delta b_{\theta z} \delta v_{ERz} \right) \quad (7.37)$$

où $\overline{f} = A^{-1} \iint_A dA f$ (remarquons que $\overline{v_{ERz}} = 0$ et $b_{\theta z} \propto P_z$ donc $\overline{b_{\theta z}} = 0$). Les perturbations δf sont dues à des fluctuations locales de moyenne nulle. Les fluctuations donnent des termes perturbatif d'ordre 2 qu'on néglige dans cette étude. On en déduit :

$$\overline{v_{ER\theta}} = \frac{T}{\rho_0 l c_0} \frac{\overline{\langle np_\theta \rangle}}{\overline{b_{\theta\theta}}} \quad (7.38)$$

On intègre maintenant l'équation de la dynamique de la polarité selon \mathbf{e}_θ (7.26) :

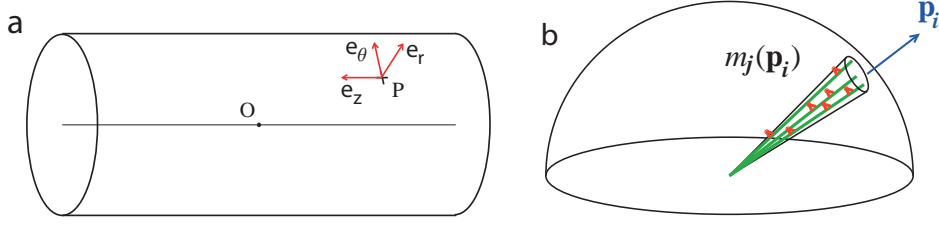


Figure 7.8. – a. Schéma du cylindre et notations. b. Représentation discrète de la distribution des microtubules et kinésines. $m_j(\mathbf{p}_i)$ est le nombre de microtubules portant j kinésines orientés selon \mathbf{p}_i dans la cellule. Dans l'exemple, on a $m_2 = 2$ et $m_3 = 1$.

$$\iint_A dA \partial_t \langle p_\theta \rangle = \iint_A dA \left(-\langle p_\theta \rangle + \frac{3\alpha}{V} [c v_{ER\theta} - (\langle \mathbf{p}\mathbf{p} \rangle \cdot \mathbf{v}_{ER}) \cdot \mathbf{e}_\theta] \right) \quad (7.39)$$

$$\begin{aligned} \iint_A dA \partial_t (\overline{\langle p_\theta \rangle} + \delta \langle p_\theta \rangle) = \\ \iint_A dA \left(-(\overline{\langle p_\theta \rangle} + \delta \langle p_\theta \rangle) + \frac{3(\bar{\alpha} + \delta\alpha)}{V} [(\bar{c} + \delta c)(\overline{v_{ER\theta}} + \delta v_{ER\theta}) - \right. \\ \left. (\overline{\langle p_\theta p_\theta \rangle} + \delta \langle p_\theta p_\theta \rangle)(\overline{v_{ER\theta}} + \delta v_{ER\theta}) + \delta \langle p_\theta p_z \rangle \delta v_{ERz}] \right) \end{aligned} \quad (7.40)$$

Rappelons que α est un coefficient quasi constant défini dans l'équation (7.26). Nous négligeons les termes de second ordre ici également :

$$\partial_t \overline{\langle p_\theta \rangle} = -\overline{\langle p_\theta \rangle} + \frac{3\bar{\alpha}}{V} [\bar{c} - \overline{\langle p_\theta p_\theta \rangle}] \overline{v_{ER\theta}} \quad (7.41)$$

Remarquons que $\langle p_\theta p_z \rangle \propto P_z$, sa moyenne est donc nulle. On trouve de la même manière, en intégrant sur la surface de la cellule, et en négligeant les déviations de second ordre, l'équation donnant la dynamique de $\overline{\langle p_\perp \rangle}$ la polarité orthogonale à la surface, de \bar{c} la concentration moyenne, ainsi que la dynamique de $\langle np_\phi \rangle$ à partir de l'éq (7.2) :

$$\begin{aligned} \partial_t \overline{\langle p_\perp \rangle} &= \frac{\bar{c}}{2} - \overline{\langle p_\perp \rangle} - \frac{3\bar{\alpha}}{V} \overline{\langle p_\perp p_\theta \rangle} \overline{v_{ER\theta}} \\ \partial_t \bar{c} &= 2\pi\omega_{ini} - \omega_{cata}\bar{c} \\ \partial_t \overline{\langle np_\theta \rangle} &= \frac{l\omega_{on}}{\omega_{cata}} \overline{\langle p_\theta \rangle} - \beta \overline{\langle np_\theta \rangle} + \frac{3\bar{\alpha}}{V} [\bar{nc} - \overline{\langle np_\theta p_\theta \rangle}] \overline{v_{er\theta}} \end{aligned} \quad (7.42)$$

où $\beta = (\omega_{\text{off}} + \omega_{\text{cata}})/\omega_{\text{cata}}$ et \bar{n} est le nombre moyen de kinésines par microtubule. La situation est similaire à celle d'un écoulement homogène avec la direction contrainte. On remplacera " p_{θ}'' " par " p_{\parallel}'' " dans la suite, et $v_{ER\theta}$ par v_{ER} .

7.3.2. Dynamique stochastique des grandeurs du système

A ce stade notre description stochastique inclut les fluctuations des valeurs moyennes du nombre des microtubules et des kinésines, et de leur alignement. On rappelle que le bruit interne au RE a été négligé ce qui est raisonnable si le cyclage des microtubules est rapide, voir annexe B.3.2. Les fluctuations spatiales des champs sont également négligées ici, nous commenterons sur leur rôle. Le bruit de la marche des kinésines n'a pas été pris en compte. En effet comme elle effectue de nombreux pas (typiquement 100) avant de se décrocher les contributions aléatoires se moyennent. Le bruit thermique est comme dans beaucoup de systèmes actifs biologiques petit et est négligé également.

Nous introduisons une représentation discrète de la distribution des microtubules : m_{ji} est le nombre de microtubules dans la cellule portant j kinésines orientés selon le vecteur unitaire \mathbf{p}_i , voir fig 7.8 (l'orientation \mathbf{p} d'un microtubule étant définie localement dans le référentiel de la surface). L'état du système est entièrement décrit par ces variables (en effet la vitesse de l'écoulement n'est fonction que de la distribution des microtubules et kinésines, (7.38)). Les taux de transition dans le système sont notées $W(\{m_{ji}\}', \{m_{ji}\})$, de l'état $\{m_{ji}\}$ à $\{m_{ji}\}'$:

$$\begin{cases} W(\{\dots m_{0i} + 1, \dots\}, \{m_{ji}\}) = \omega_{\text{ini}} \\ W(\{\dots m_{ji} - 1, \dots\}, \{m_{ji}\}) = m_{ji}\omega_{\text{cata}} \\ W(\{\dots m_{ji} - 1, m_{j+1i} + 1\dots\}, \{m_{ji}\}) = m_{ji}l\omega_{\text{on}} \\ W(\{\dots m_{j-1i} + 1, m_{ji} - 1\dots\}, \{m_{ji}\}) = m_{ji}j\omega_{\text{off}} \end{cases} \quad (7.43)$$

Dans la suite nous considérerons les variables sans dimension en divisant par ω_{cata} . Le taux de la première ligne correspond à l'initiation d'un microtubule orienté selon \mathbf{p}_i (j vaut 0 car on considère que le microtubule ne porte pas de kinésine quand il se forme). Le second taux correspond à l'annihilation d'un microtubule portant j kinésines, orienté selon \mathbf{p}_i . Le troisième taux correspond à l'accrochage d'une kinésine sur un microtubule portant j kinésines, orienté selon \mathbf{p}_i , et le quatrième taux correspond similairement au décrochage d'une kinésine. L'équation maîtresse à laquelle obéit $P(\{m_{ji}\})$ la probabilité d'être dans l'état $\{m_{ji}\}$ vaut :

$$\begin{aligned} \partial_t P(\{m_{ji}\}) &= \sum_{\delta\{m_{ji}\}} W(\delta\{m_{ji}\}, \{m_{ji}\} - \delta\{m_{ji}\}) P(\{m_{ji}\} - \delta\{m_{ji}\}) \\ &\quad - P(\{m_{ji}\}) \sum_{\delta\{m_{ji}\}} W(\delta\{m_{ji}\}, \{m_{ji}\}) \end{aligned} \quad (7.44)$$

où les $\delta\{m_{ji}\}$ sont les différences entre l'état final et l'état initial, $\delta\{m_{ji}\} = \{m_{ji}\}' - \{m_{ji}\}$. On note ici $W(\delta\{m_{ji}\}, \{m_{ji}\})$ le taux de transition de $\{m_{ji}\}$ à $\{m_{ji}\} + \delta\{m_{ji}\}$ pour plus de clarté. Nous avons vu que l'écoulement dépend seulement des premiers moments de la distribution des microtubules et kinésines (les second moments peuvent être calculés à partir des premiers). Il n'est donc pas nécessaire de résoudre la dynamique de $\{m_{ji}\}$. De plus certains moments ont un rôle négligeable dans l'écoulement ce qui nous permet de les éliminer : formellement les variables impliquées sont $\overline{\langle p_{\parallel} \rangle}$ la polarité parallèle à l'écoulement, $\overline{\langle p_{\perp} \rangle}$ la polarité perpendiculaire à la surface de la cellule, $\overline{\langle np_{\parallel} \rangle}$, \bar{c} et \bar{n} . Cependant $\overline{\langle p_{\perp} \rangle}$ influence marginalement le phénomène, on fixera donc $\overline{\langle p_{\perp} \rangle} = 0$. De même, \bar{c} et \bar{n} sont constants en moyenne, et sont corrélés respectivement à $\overline{\langle p_{\parallel} \rangle}$ et $\overline{\langle np_{\parallel} \rangle}$: on peut fixer $\bar{c} = c_0$ et $\bar{n} = \rho_0 l$. Les deux variables restantes sont $\overline{\langle p_{\parallel} \rangle}$ et $\overline{\langle np_{\parallel} \rangle}$.

Nous définissons $P(p, np, \{m_{ji}\})$ la probabilité d'être dans l'état de polarisation $\overline{\langle p_{\parallel} \rangle} = p$ et $\overline{\langle np_{\parallel} \rangle} = np$, avec une distribution des microtubules $\{m_{ji}\}$ (en effet plusieurs $\{m_{ji}\}$ peuvent donner les mêmes $\overline{\langle p_{\parallel} \rangle}$ et $\overline{\langle np_{\parallel} \rangle}$). Nous allons extraire la dynamique de $P(p, np)$ à partir de $P(p, np, \{m_{ji}\})$:

$$\begin{aligned} \partial_t P(p, np) &= \sum_{\{m_{ji}\}} \sum_{\delta\{m_{ji}\}} W(\delta\{m_{ji}\}, \{m_{ji}\} - \delta\{m_{ji}\}) P(p - \delta p, np - \delta np, \{m_{ji}\} - \delta\{m_{ji}\}) \\ &\quad - \sum_{\{m_{ji}\}} P(p, np, \{m_{ji}\}) \sum_{\delta\{m_{ji}\}} W(\delta\{m_{ji}\}, \{m_{ji}\}) \end{aligned} \quad (7.45)$$

Les δp et δnp sont fonctions de $\delta\{m_{ji}\}$, tels que la transition de l'état $\{m_{ji}\} - \delta\{m_{ji}\}$ à $\{m_{ji}\}$ est associée à la transition de $p - \delta p$ à p , et $np - \delta np$ à np . Ensuite, nous appliquons l'approximation de Kramers-Moyal décrite dans [165] nous développons au second ordre l'équation maîtresse (7.45) selon les variables p et np : $f(x_i + \delta x_i) = (1 + \delta x_j \partial_{x_j} + 1/2 \delta x_j \delta x_k \partial_{x_j x_k} + \dots) f(x_i)$. En sommant sur les $\delta\{m_{ji}\}$ on voit que les taux ne font intervenir que p et np , on ne conserve donc que les variables p et np :

$$\partial_t P(p, np) = -\partial_p(\dot{p}P) - \partial_{np}(\dot{np}P) + \frac{1}{2A} \sum_{i,j} \partial_{X_i} \partial_{X_j} (D_{ij}P) \quad (7.46)$$

avec $X_i = p, np$ et les coefficients suivant :

$$\begin{cases} \dot{p} = -p \\ \dot{np} = \rho_0(\beta - 1)p - \beta np \\ D_{pp} = \frac{c_0}{3} + \langle pp \rangle \\ D_{npnp} = \langle n^2 pp \rangle + \rho_0(\beta - 1)\langle pp \rangle + (\beta - 1)\langle npp \rangle \\ D_{pnp} = \langle npp \rangle \end{cases} \quad (7.47)$$

Pour alléger les notations on a écrit $\langle pp \rangle$ pour $\overline{\langle p_{//} p_{//} \rangle}$, $\langle npp \rangle$ pour $\overline{\langle np_{//} p_{//} \rangle}$, etc. On note que les coefficients de diffusion sont proportionnels à A^{-1} , et donc tendent vers 0 quand la taille du système augmente. Comme le nombre de kinésines par microtubule fluctue autour de $\rho_0 l$ avec un écart type $1/c_0 \rho_0 l A$ faible de par la grande taille du système, on approxime dans les termes de la matrice de diffusion $\langle npp \rangle \simeq \rho_0 l \langle pp \rangle$, $\langle n^2 pp \rangle \simeq (\rho_0 l)^2 \langle pp \rangle$.

Le processus tel que décrit à ce stade n'inclut pas les courant moyens dûs à l'écoulement du RE, cf équations (7.41),(7.42). Après leur ajout nous trouvons :

$$\begin{cases} \dot{p} = -p + \frac{3\alpha}{V}(c_0 - \langle pp \rangle)v_{ER} \\ \dot{np} = \rho_0(\beta - 1)p - \beta np + \frac{3\alpha}{V}(n_0 - \langle npp \rangle)v_{ER} \end{cases} \quad (7.48)$$

Nous avons donc dérivé une équation de Fokker-Planck bidimensionnelle décrivant la dynamique du système. La variable clé dans le retournement est p la polarité des microtubules (parallèle à l'écoulement). np fluctue autour de $\rho_0 l p$ de par le cyclage des kinésines, son seul effet est d'augmenter les fluctuations de p .

Le temps de vie des kinésines ω_{off} est de l'ordre de 0.5s [50], tandis que celui des microtubules est typiquement 5s dans notre système. Nous pouvons nous placer dans la limite $\beta = (\omega_{\text{off}} + \omega_{\text{cata}})/\omega_{\text{cata}} \gg 1$. Nous allons séparer les échelles de temps et moyenner l'influence des kinésines par la méthode d'élimination adiabatique de la variable rapide décrite dans le livre de Risken [131]. On procède d'abord à un changement de variables :

$$\begin{cases} P = \frac{p}{c_0} \\ z = \frac{np - \rho_0 l p}{\rho_0 l c_0} \end{cases} \quad (7.49)$$

La variable P , la polarité moyenne des microtubules, est la variable lente du système. Elle évolue sous l'effet de la réorientation des microtubules par l'écoulement du RE, et des catastrophes qui provoquent la rétraction des microtubules. La variable z est la variable rapide, c'est la polarité des kinésines (orientées selon le microtubule qui les porte), retranchée de la polarité des microtubules fois le

nombre moyen de kinésine (et normalisée par le nombre de kinésine moyen par unité de surface). Les fluctuations de la variable z sont entièrement dues aux variations du nombre de kinésines, par accrochage ou décrochage des kinésines (ce sont les événements rapides), et secondairement par annihilation des microtubules qui portent des kinésines.

Après changement de variable, l'éq (7.46) se réécrit :

$$\begin{aligned}\partial_t P(P, z, t) &= [L_1 + \beta L_2] P \\ L_1 &= -\partial_P \dot{P} - \partial_z P - \frac{1}{3Ac_0} \partial_{Pz} + \frac{1}{2Ac_0} \partial_{PP} D_{PP} + \frac{1}{2Ac_0 \rho_0 l} \partial_{zz} \left(\frac{1}{3} - \frac{\langle pp \rangle}{c_0} \right) \\ L_2 &= \partial_z z + \frac{1}{Ac_0 \rho_0 l} \partial_{zz} D_{zz}\end{aligned}\tag{7.50}$$

avec $\dot{P} = -P + 3\alpha/V(1 - \langle pp \rangle/c_0)v_{ER}$, (rappel, $v_{ER} = \frac{T}{\rho_0 l c_0} \frac{np}{b_{//}}$), $D_{PP} = 1/3 + \langle pp \rangle/c_0$, $D_{zz} = \langle pp \rangle/c_0$. On a séparé l'opérateur lent L_1 qui contrôle la dynamique des microtubules de l'opérateur rapide L_2 qui contrôle la dynamique des kinésines. On regarde les fonctions propres de L_2 , P est ici un paramètre :

$$L_2 \Phi_n(P, z) = -\lambda_n \Phi_n(P, z)\tag{7.51}$$

Dans notre cas L_2 qui décrit les variations de la distribution des kinésines autour de leur valeur moyenne, à polarité fixe, est un processus d'Ornstein-Uhlenbeck et est analytiquement soluble. On tronque le développement en fonctions propres après les 2 premiers modes :

$$\begin{aligned}\Phi_0 &= \sqrt{\frac{Ac_0 \rho_0 l}{\pi D_{zz}}} \exp\left(-\frac{Ac_0 \rho_0 l}{D_{zz}} z^2\right) \quad \text{avec } \lambda_0 = 0 \\ \Phi_1 &= \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \frac{Ac_0 \rho_0 l}{D_{zz}} \exp\left(-\frac{Ac_0 \rho_0 l z^2}{\pi D_{zz}}\right) z \quad \text{avec } \lambda_1 = 1\end{aligned}\tag{7.52}$$

Nous projetons $P(P, z)$ sur la base des fonction propres de L_2 :

$$P(P, z, t) = \sum_m c_m(P, t) \Phi_m(P, z)\tag{7.53}$$

On insère ce développement dans l'éq (7.50), on multiplie par la fonction propre de l'opérateur adjoint L_2^+ qui vaut $\Phi_n^+ = \Phi_n/\Phi_0$, on intègre le long de z . Du fait de la relation d'orthonormalité $\int dz \Phi_n^+(P, z) \Phi_m(P, z) = \delta_{nm}$, on trouve

$$\left[\partial_t + \beta \lambda_n(P)\right] c_n = \sum_m L_{n,m} c_m\tag{7.54}$$

où $L_{n,m} = \int dz \Phi_n^+(P, z) L_1(P, z) \Phi_m(P, z)$. Pour $n = 0$ l'équation (7.54) s'écrit :

$$\partial_t c_0 = \sum_m L_{0m} c_m \quad (7.55)$$

Comme $\beta\lambda_1 \gg 1$, on néglige la dérivée temporelle dans l'éq (7.54) pour $n \geq 1$:

$$c_n = (\beta\lambda_n(P))^{-1} \sum_m L_{nm} c_m \quad (7.56)$$

On voit que les termes c_n , $n > 0$ sont proportionnels à $(\beta\lambda_n(P))^{-1}$, et les λ_n sont d'ordre 1 au moins. Nous pouvons donc développer l'éq (7.56) au premier ordre en β :

$$c_n = (\beta\lambda_n(p))^{-1} L_{n0} c_0 + O(\beta^{-2}) \quad (7.57)$$

En insérant la seconde ligne dans la 1ère, on obtient finalement :

$$\begin{aligned} \partial_t P(P, t) &= L_0 P \\ L_0 &= L_{00} + \beta^{-1} \sum_n L_{0n} (\lambda_n(P))^{-1} L_{n0} \end{aligned} \quad (7.58)$$

où $P(P, t) = \int dz P(P, z, t)$. L'opérateur L_0 est donné par :

$$L_0 = -\partial_P \dot{P}(z=0) + \frac{1}{2Ac_0} \partial_{PP} D_{PP} + \frac{1}{4Ac_0 \rho_0 l \beta} \partial_P \frac{\partial \dot{P}}{\partial z}(z=0) \partial_P \frac{\partial \dot{P}}{\partial z}(z=0) D_{zz} \quad (7.59)$$

Nous avons ici tronqué L_0 après le mode $n=1$. L'ordre des opérateurs de dérivation dans le terme à droite témoigne du fait qu'on a affaire à un phénomène corrélé dans le temps, pour lequel on a pris la limite du temps de corrélation tendant vers 0. Cependant en réarrangeant les termes, on trouve l'éq de Fokker-Planck à une dimension :

$$\partial_t P(P, t) = \left[-\partial_P \dot{P}(z=0) + \frac{1}{2Ac_0} \partial_{PP} \left(D_{PP} + \frac{1}{2\beta\rho_0 l} \frac{\partial \dot{P}}{\partial z}(z=0)^2 D_{zz} \right) \right] P \quad (7.60)$$

où nous avons négligé une dérive parasite ("spurious drift" en anglais) d'ordre $(Ac_0)^{-1}$, petite dans ce système devant les courant moyens. On notera dans la suite D le coefficient de diffusion $D = D_{PP} + \frac{1}{2\beta\rho_0 l} \frac{\partial \dot{P}}{\partial z}(z=0)^2 D_{zz}$, soit l'expression un peu longue $D = \frac{1}{3} + \frac{\langle pp \rangle}{c_0} + \frac{\langle pp \rangle}{c_0} \frac{1}{2\beta\rho_0 l} \left(\frac{3\alpha}{V} \left(1 - \frac{\langle pp \rangle}{c_0} \right) \frac{T}{\kappa/P_\perp + \langle pp \rangle \lambda T/c_0} \right)^2$. Il est toutefois intéressant de noter qu'en général dans un phénomène stochastique si l'intensité du bruit dépend de la position, une dérive parasite modifie l'écoulement moyen. Cette dérive pourrait influencer l'écoulement, en décalant le seuil de transition notamment, si l'on diminuait la taille du système (le poids de la dérive parasite

augmenterait).

Un exemple particulier est donné dans un travail récent de Biancalani et McKane [10], qui étudient la répartition aléatoire d'une colonie de fourmis entre deux points de récolte de nourriture. La fraction de fourmis récoltant sur les sites 1 et 2 est nommée respectivement X_1 , X_2 , avec $X_1 + X_2 = N$ le nombre total de fourmis. Les transitions dans ce système sont :

$$\begin{aligned} X_1 + X_2 &\xrightarrow{1} 2X_1, & X_1 + X_2 &\xrightarrow{1} 2X_2 \\ X_2 &\xrightarrow{\epsilon} X_1, & X_1 &\xrightarrow{\epsilon} X_2 \end{aligned} \quad (7.61)$$

où on spécifie $\epsilon \ll 1$. On voit que les fourmis peuvent changer de point de récolte spontanément de manière indépendante avec un taux ϵ (petit) ce qui tend à homogénéiser la répartition entre les deux sites. Elles peuvent aussi faire changer de site une autre fourmi avec un taux unitaire. Dans la limite où le nombre de fourmis tend vers l'infini, ce qui élimine les effets stochastiques, on obtient la dynamique $\dot{z} = -2\epsilon z$ où $z = (X_1 - X_2)/N$, avec pour seul point fixe $z^* = 0$. Un développement de l'équation maîtresse du processus en N^{-1} permet d'exprimer l'équation différentielle stochastique, après changement de variable pour le temps $\tau = 2\epsilon t/N$:

$$\dot{z} = -z + \sqrt{\frac{N}{N_c}} \sqrt{1 + 2\epsilon - z^2} \eta(\tau) \quad (7.62)$$

où $N_c = 1/\epsilon$ et $\eta(\tau)$ est un bruit blanc de moyenne nulle et de corrélation $\langle \eta(\tau)\eta(\tau') \rangle = \delta(\tau - \tau')$. Le bruit est donc maximal pour $z = 0$ ce qui éloigne le système de cet état. Cette forme de bruit induit une bistabilité du système en dessous d'une population critique N_c , soit lorsque l'écoulement moyen est suffisamment petit devant le bruit, voir fig 7.9.

Figure 7.9. – Suivi de z , obtenu par simulation stochastique du processus, source [11].

Nous revenons à notre système. Comme le système est unidimensionnel, bien que le phénomène soit hors équilibre on peut définir une énergie effective :

$$E(P) = -2Ac_0 \int_0^P dP' \frac{\dot{P}(P')}{D(P')} \quad (7.63)$$

Nous calculons la hauteur de la barrière d'énergie entre les deux états stables en fonction de T et V , fig 7.10.a.

Les fluctuations ont deux sources, la dynamique aléatoire des microtubules d'une part, et celle des kinésines d'autre part. Nous voulons déterminer l'importance

relative de ces deux sources de bruit. Nous calculons donc la hauteur de la barrière d'énergie effective, en supprimant artificiellement les fluctuations liées au kinésines (on supprime le terme associé aux kinésines dans D). La fig 7.10.b montre le rapport entre la hauteur de la barrière lorsque les fluctuations des microtubules et des kinésines est prise en compte, et la hauteur de la barrière sans les fluctuations dues aux kinésines : $\Delta E/(\Delta E_{\text{sans kinésine}})$. Du fait de leur nombre élevé par rapport aux microtubules et de leur faible temps de vie les kinésines génèrent des fluctuations négligeables dans une large gamme de (T, V) et le rapport est proche de 1. La seule situation où les kinésines ont une influence est celle d'un forçage élevé et d'une polarisabilité élevée (loin des paramètres physiologiques nous le verrons), car l'intensité de leur force augmente avec celle du forçage.

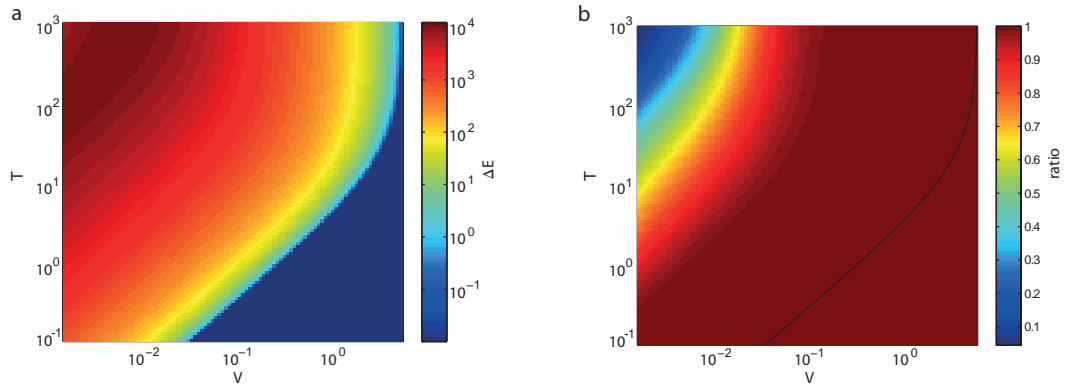


Figure 7.10. – a. Hauteur de la barrière d'énergie en fonction de T et V . b. Rapport entre la hauteur de la barrière d'énergie et la hauteur de la barrière modifiée par la suppression du bruit lié aux kinésines. Le trait plein représente la limite de phase. Paramètres $N = 200$, $\rho_0 l = 8$, $\beta = 10$.

7.3.3. Temps moyen de renversement de l'orientation de l'écoulement cytoplasmique

La polarité moyenne du système apparaît donc piégée dans un potentiel bistable. Un potentiel avec des paramètres typiques est tracé sur la fig 7.11.a. Le temps de sortie d'un attracteur métastable est un problème important qui apparaît dans de nombreuses situations (modélisation d'une réaction chimique, dynamique des états d'excitation des atomes dans un laser, nucléation dans les transitions de phase de premier ordre, ...). Il peut être calculé analytiquement lorsque la dynamique dérive d'un potentiel, ce qui est toujours le cas à une dimension. On considère pour cela le processus décrit par l'équation (7.60), avec un système initialement en $-P_0$ la polarité stationnaire, avec une condition de bord réfléchissant en $P = -1$ et de

bord absorbant en $P = 0$. Suivant la démarche classique indiquée dans [165], nous trouvons pour τ_{rev} le temps moyen de renversement de la polarité du système :

$$\tau_{rev} = \omega_{cata}^{-1} \int_{-P_0}^0 dp \exp(E(P)) \int_{-1}^P dP' \frac{\exp(-E(P'))}{D(P')} \quad (7.64)$$

où P_0 l'abscisse du minimum de E (égale au $P_{//st}$ en champ moyen). Le temps de retournement τ_{rev} est exprimé en secondes, on a fait le changement de variable de $t' = t\omega_{cata}$ à t ce qui explique le facteur ω_{cata}^{-1} . Dans le cas où deux puits sont bien définis on trouve en faisant une "approximation parabolique" :

$$\begin{aligned} \tau_{rev} &= \omega_{cata}^{-1} h \exp(\Delta E) \\ h &= \frac{4\pi Ac_0}{D(P_0)} (E''(p_0)E''(0))^{-1/2} \\ \Delta E &= E(0) - E(-P_0) \end{aligned} \quad (7.65)$$

On trouve une loi d'Arrhenius effective caractéristique des phénomènes de premier passage. Dans la barrière d'énergie effective ΔE , l'analogie de la température est l'inverse du nombre total de microtubules $(Ac_0)^{-1}$: τ_{rev} croît en $\exp(Ac_0)$. τ_{rev} dépend de T et V comme le phénomène moyen, mais également de ω_{cata} qui fixe l'échelle de temps du système et de Ac_0 qui fixe l'intensité des fluctuations. On représente τ_{rev} en fonction de T et V sur la fig 7.11. On voit qu'il dépend plutôt de la polarité moyenne $P_{//st}$ que de la vitesse du reticulum endoplasmique v_{ERst} , car le bruit agit sur la polarité. Sur les fig 7.6 a, c, d, le temps de renversement est tracé (en trait noir). On vérifie qu'il est corrélé à $P_{//st}$ mais pas seulement, la forme du puit compte également, loin du bord de phase le puit est plus profond.

7.4. Comparaison avec les expériences

Nous allons à présent comparer les prédictions du modèle avec les observations et mesures quantitatives expérimentales.

7.4.1. Estimation expérimentale de la densité moyenne linéaire en kinésines sur les microtubules

La maille du RE est estimée expérimentalement à $\zeta \simeq 1.1\mu m$ à partir de 180 mesures de microscopie. Les kinésines sont supposées être disponibles en excès, on suppose donc que le nombre de contacts microtubule-RE limite le nombre de kinésines accrochées. De part le faible diamètre des tubules de RE, 50nm, nous supposons qu'une ou deux kinésines peuvent s'accrocher par contact. De manière similaire, dans l'embryon de drosophile le nombre de kinésines tractant des gouttelettes lipidiques est limité à 1-2 par le faible diamètre de celle-ci [145]. Donc $\rho \approx 1 - 2\zeta^{-1}$.

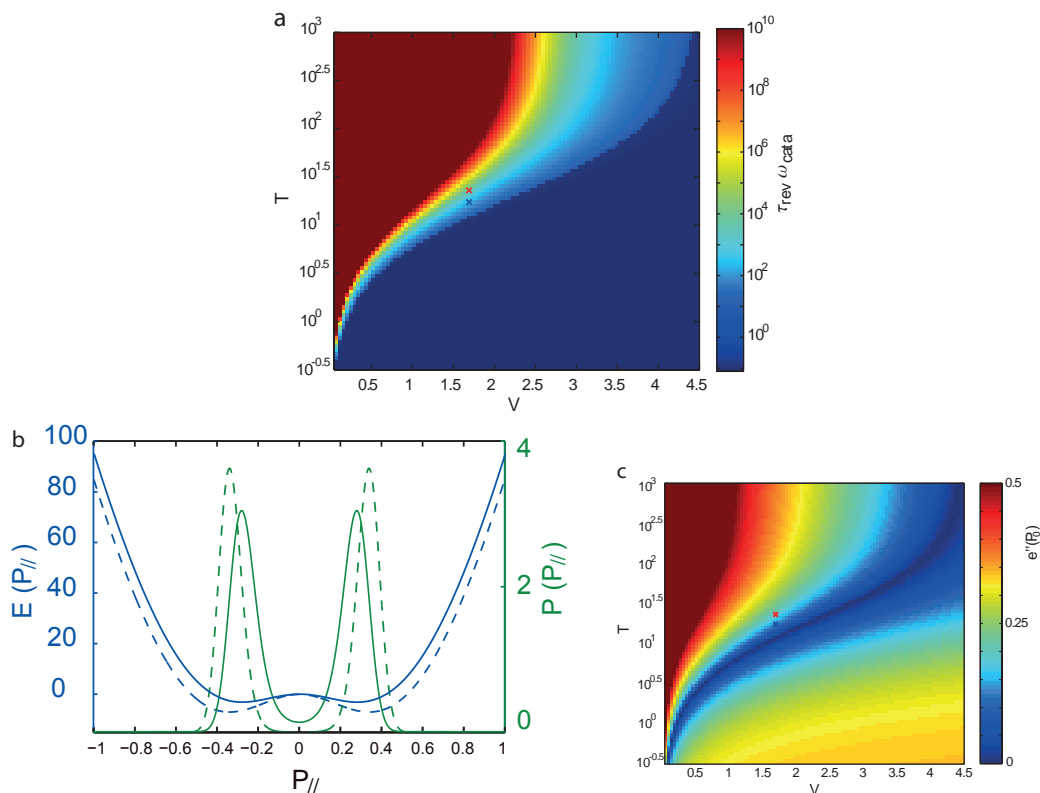


Figure 7.11. – a. Temps moyen de renversement de l'écoulement cytoplasmique $\tau_{rev} \omega_{cata}$ en fonction de T et V , avec $N = 172$, $\rho_0 l = 8$. Les valeurs supérieures à 10^{10} ne sont pas indiquées. Hors de la phase en écoulement τ_{rev} n'est pas défini. La croix bleue représente les coordonnées de l'embryon type sauvage, la rouge les coordonnées du RNAi *mei-1*. b. Profil d'énergie effective E en fonction de la polarité (bleu), et profil de la distribution stationnaire de la polarité (vert), pour les coordonnées du type sauvage (trait plein) et du type *mei-1* RNAi (trait discontinu). c. Dérivée seconde du potentiel par rapport au paramètre d'ordre, $(\frac{\partial^2 e}{\partial P_{||}^2})$, soit l'inverse de la susceptibilité, en fonction de T et V . e est la densité du potentiel par unité de surface en μm^{-2} , soit $e = E \frac{c}{N}$, $c = 0.1 \mu m^{-2}$ dans l'exemple. (On ne représente pas les valeurs supérieures à 0.5)

7.4.2. Interprétation de la distribution de longueur des microtubules, estimation de l , ω_{cata} et c_0

Avant d'interpréter la distribution pour les échantillons *mei-1* RNAi avec la katanine inhibée, rappelons son action sur le microtubule : La katanine s'associe au microtubule à un point quelconque en formant un anneau autour. Elle dissocie les protofilaments dans le microtubule. Ceux-ci ont une courbure spontanée et se

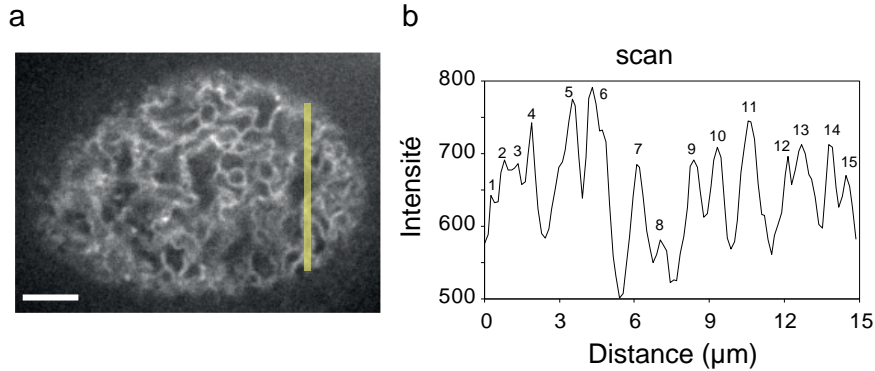


Figure 7.12. – a. Microscopie confocale en fluorescence du RE, barre, $5\mu m$. b. Profil de fluorescence de la ligne jaune ($15\mu m$) en a, mesure typique de la maille du RE. Elle est estimée à $1.1\mu m$ (180 profils sur $n=60$ individus)

retrouvent déstabilisés par la perte de ces liaisons, ce qui provoque la rupture du microtubule. Les extrémités nouvellement formées ne sont pas stabilisées par de la GTP-tubuline et se rétractent rapidement. Ce scénario simple n'est pas toujours vrai et semble dépendre d'autres protéines associées au microtubule, [150]. Nous verrons cependant qu'il s'applique vraisemblablement dans notre situation. Nous modifions donc ainsi l'activité des microtubules dans l'embryon.

La fig.7.13 présente un histogramme du nombre de microtubules en fonction de leur longueur, obtenu par l'analyse de microscopies. Les mesures sont des projections sur le plan image du microscope. Si l'orientation verticale des microtubules est isotrope (le modèle prédit que P_{\perp} diminue lentement quand la vitesse de l'écoulement augmente, en P_{\parallel}^2), les longueurs sont sous estimées d'un facteur $\pi/2$. Le bruit sur l'image est trop important pour quantifier en deçà de $\pi/2 \cdot 1.2 = 1.9\mu m$. les distributions sont exponentielles, cela est compatible avec un ω_{cata} constant pour $l > 1.9\mu m$: on peut donc supposer que la katanine après avoir coupé un microtubule induit presque à chaque fois une catastrophe et une rétraction rapide du microtubule. En effet une analyse théorique [158] montre que la signature du découpage de filaments est une décroissance plus rapide que l'exponentielle de la distribution. Nous modélisons donc l'inhibition de la katanine dans les échantillons mei-1 RNAi par une diminution de ω_{cata} : $\omega_{cata}(\text{mei-1 RNAi}) = \gamma \omega_{cata}(\text{sauvage})$ avec $\gamma < 1$. Gardner [56] montre que génériquement le taux de catastrophe est nul à l'initiation du microtubule puis relaxe à sa valeur stationnaire. Pour estimer la longueur moyenne on peut raisonnablement supposer une densité constante pour $l < 1.9\mu m$, on en déduit les longueurs $\pi/2(1/0.69 + 1.2) = 4.16\mu m$ pour l'échantillon sauvage, $\pi/2(1/0.52 + 1.2) = 4.94\mu m$ pour l'échantillon mei-1 RNAi. Si on suppose v_g constant on en déduit un rapport des ω_{cata} moyens $\gamma = 4.16/4.94 = 0.84$, soit une diminution modeste de 16%. La concentration c est également estimée à $0.075\mu m^{-2}$

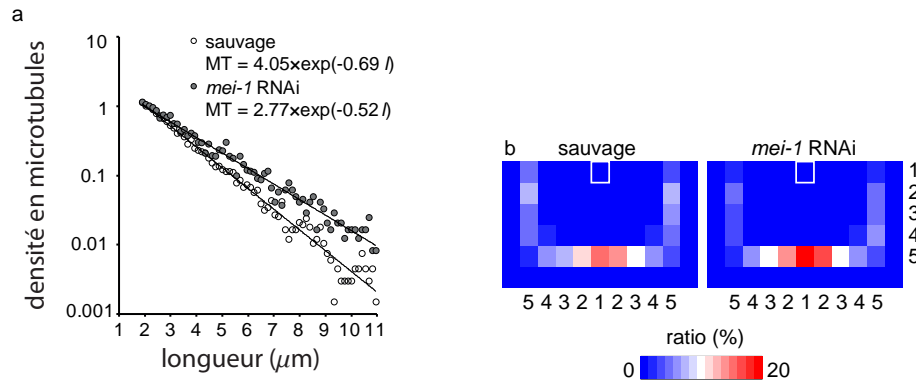


Figure 7.13. – a. Densité en microtubules par unité de longueur. Le type sauvage et *mei-1* RNAi présentent une décroissance exponentielle pour $l > 1.2\mu m$. b. Distribution de la direction des microtubules de type sauvage et *mei-1* RNAi. On quantifie la distribution de l'angle entre la projection des microtubules dans le plan image du microscope et la direction de l'écoulement moyen. La direction verticale correspond à l'écoulement moyen. L'angle mesuré appartient à $[0, \pi]$ car l'orientation des microtubules n'est pas accessible.

pour l'embryon sauvage, $0.072\mu m^{-2}$ pour le *mei-1* RNAi.

7.4.3. Interprétation des phénotypes *unc-116* RNAi et *yop-1* & *ret-1* RNAi

L'absence d'écoulement pour les échantillons *unc-116* RNAi où la kinésine est inhibée s'explique de manière triviale par une diminution de ρ et donc de T , suffisante pour placer ce phénotype hors de la phase en écoulement. Le cas des échantillons *yop-1* & *ret-1* RNAi est plus subtil, nous allons le discuter qualitativement. On a vu dans la section 7.1.5 que dans un mélange cytoplasme-RE fragmenté, à nombre de moteurs constant, la force transmise au cytoplasme diminue du fait du faible couplage hydrodynamique entre les vésicules et le cytoplasme, ce qui tend à stopper l'écoulement⁵. Cependant la viscosité est celle du cytoplasme qui est inférieure à celle du mélange RE réticulé cytoplasme (nous n'avons pas accès à la valeur expérimentale) : cela tend à favoriser l'écoulement. Toutefois, l'explication semble être que le RE fragmenté se disperse dans toute la cellule ce qui diminue fortement le nombre de kinésines utiles au niveau des microtubules corticaux, et donc supprime l'écoulement.

Nous pouvons exposer qualitativement un autre argument, non considéré dans ce

5. La diminution de la force est d'autant plus grande que le nombre de kinésines par vésicule est important. elles tractent alors la vésicule à leur vitesse maximale sans rencontrer de résistance.

modèle : si nous supposons que les microtubules résistent au pivotement, l'alignement des microtubules dépend directement de la viscosité du fluide qui les entraîne. La baisse de la viscosité dans le mélange RE fragmenté - cytoplasme pourrait alors jouer un rôle dans la suppression de l'écoulement.

7.4.4. Détermination des paramètres du modèle correspondant aux phénotypes sauvage et mei-1 RNAi

Les propriétés de l'écoulement que nous mesurons sont $u_{ERst} = u_m v_{ERst}$ et τ_{rev} pour les phénotypes sauvage et mei-1 RNAi : nous exploitons les propriétés moyennes et stochastiques de l'écoulement pour déterminer ces paramètres. Dans notre modèle u_{ERst} est fonction de V , T et u_m , ou de manière équivalente à v_g , T et u_m . Le temps de renversement τ_{rev} dépend aussi du nombre total N de microtubules et de leur taux de catastrophe ω_{cata} (dans le cas où les fluctuations des kinésines sont négligeables). L'embryon sauvage est caractérisé par les paramètres $(v_g, T, u_m, N, \omega_{cata})$. Dans l'embryon mei-1 RNAi seul ω_{cata} est modifié d'un facteur γ : les paramètres décrivant les propriétés de l'écoulement pour les deux phénotypes sont donc $(v_g, T, u_m, N, \omega_{cata}, \gamma)$. À l'aide de l'algorithme de minimisation de fonction "simplex" de Matlab [108], nous déterminons les paramètres compatibles avec les estimations expérimentales et la littérature, reproduisant au mieux les propriétés de l'écoulement (soit u_{ERst}, τ_{rev} pour les deux phénotypes). Le tableau 7.1 présente en première colonne les valeurs des paramètres du modèle, et les prédictions pour u_{ERst} et τ_{rev} , et en deuxième colonne les valeurs mesurées expérimentalement ou tirées de la littérature.

Pour estimer expérimentalement T on prend $f_0 \simeq 5pN$ [153], $\rho \simeq 2\mu m^{-1}$ et η de l'ordre de $1Pa.s$, la viscosité estimée du cytoplasme de *C.elegans* [37] (c'est donc une borne inférieure pour la viscosité du mélange). On trouve ainsi une valeur de T de l'ordre de 10 en accord avec la valeur théorique. La différence entre la prédiction pour N et l'estimation expérimentale pourrait provenir du fait que les microtubules aux pôles de l'embryon n'interviennent pas dans l'écoulement (la vitesse s'annule au pôles) ce qui diminue le nombre de microtubules "utiles". Les prédictions pour les autres paramètres donnent un bon accord avec les données expérimentales.

Le modèle rend bien compte des propriétés de l'écoulement u_{ERst} pour les deux phénotypes. On retrouve aussi l'augmentation importante de τ_{rev} associée à la petite diminution de ω_{cata} (τ_{rev} mei-1 RNAi est cependant surestimée d'un facteur 8.5). Nous n'avons eu accès qu'à deux phénotypes, il est donc difficile d'interpréter ce désaccord. Nous avons négligé les fluctuations spatiales des champs dans le calcul de τ_{rev} , cela peut être une source d'erreur. Expérimentalement, la précision est limitée par le faible nombre d'événements ; τ_{rev} dépend exponentiellement des paramètres, ce qui peut conduire à une sous estimation de sa valeur de part la

variabilité des paramètres de la cellule.

Le modèle prédit une polarité moyenne $P_{//} = 0.28$, $P_{\perp} = 0.45$ pour le phénotype sauvage, $P_{//} = 0.34$, $P_{\perp} = 0.42$ pour le mei-1 RNAi. La polarité pour le phénotype sauvage est modeste, elle augmente de 21% chez le mei-1 RNAi. À titre indicatif, nous estimons la polarité à partir de la fig 7.13 b : nous supposons p_{\perp} constant pour tous les filaments et calculons $\langle p_{//} p_{//} \rangle / c$ à partir de la distribution ; en utilisant la relation de fermeture pour des microtubules confinés dans le plan (voir annexe B.2) on estime la valeur de $P_{//}$ de 0.44 pour le sauvage, 0.58 pour le mei-1 RNAi, soit une augmentation de 32%. L'approximation est peu contrôlée mais on note que la différence avec la prédiction n'est pas importante.

Les coordonnées du point de fonctionnement de l'embryon dans le diagramme de phase sont proches du bord de phase. Le potentiel effectif et la densité de probabilité pour les deux types d'échantillon est tracée sur la fig. 7.11.b : nous voyons que les puits sont peu profonds et que les pics ne sont pas bien séparés, attestant du taux de retournement relativement élevé. La proximité avec le bord de phase explique le taux de renversement observable. De même, la taille du système est essentielle : dans un système plus petit le phénomène moyen serait noyé dans les fluctuations et on n'observerait pas d'écoulement cytoplasmique ; dans un plus grand système le bruit serait trop faible et le τ_{rev} tendrait vers 0. Globalement, ces résultats montrent que des paramètres réalistes peuvent décrire quantitativement les observations expérimentales, nous concluons que notre modèle décrit bien le comportement du système.

	prédiction th.	mesure exp.	référence
Paramètres			
u_m ($\mu m/s$)	0.70	0.7	[153] (lobe optique de calmar)
v_g ($\mu m/s$)	1.18	1	[149] (embryon de <i>C.elegans</i>)
l (μm)	5.5	4.16	estim. exp.
$N(= Ac)$	172	310	estim. exp.
ω_{cata} (s^{-1})	0.22	0.34	estim. exp.
T	18	10	estim. exp. (voir texte)
γ	0.87	0.84	estim. exp.
Propriétés de l'écoulement			
u_{ERst} sauvage ($\mu m/s$)	0.38	0.3	mesure exp. (n=15)
u_{ERst} mei-1 RNAi ($\mu m/s$)	0.60	0.5	mesure exp. (n=8)
τ_{rev} sauvage (s)	1900	2100	mesure exp. (n=30)
τ_{rev} mei-1 RNAi (s)	61000	7200	mesure exp. (n=2)

Tableau 7.1. – Paramètres et propriétés de l'écoulement, prédictions théoriques et mesures expérimentales.

7.5. Rôle de l'écoulement cytoplasmique méiotique dans l'embryon *C.elegans*

L'écoulement a lieu durant l'exocytose des granules corticaux. Les granules génèrent une coque à la surface de l'embryon qui le protègent contre les chocs osmotiques et mécaniques, [171]. Les expérimentateurs observent que lorsque l'écoulement cytoplasmique est inhibé, une fraction des granules corticaux ne parvient pas à rejoindre le cortex et reste dans le cytoplasme. 20% de ces embryons ont alors une fragilité osmotique.

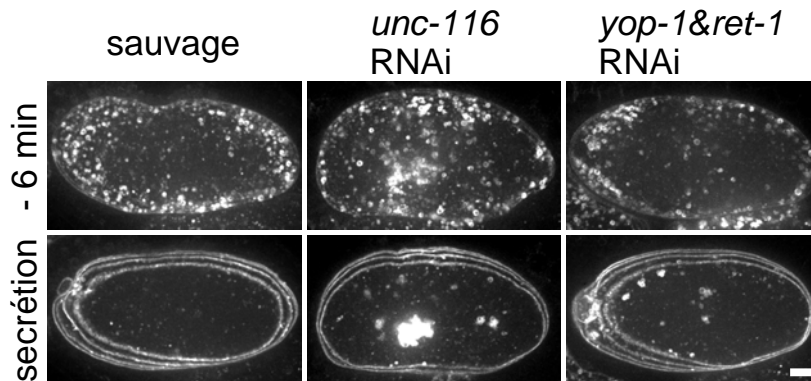


Figure 7.14. – Image en fluorescence confocale d'un échantillon sauvage, *unc-116* RNAi (chaîne lourde de la kinésine inhibée) et *yop-1& ret-1* RNAi (protéines de courbure du RE inhibées), exprimant CAV- :GFP, un marqueur des granules corticaux. En haut, 6min avant la sécrétion, en bas après la sécrétion. 3 plans focaux sont additionnés.

Sur la figure 7.14, on observe sur des microscopies en coupes les granules corticaux dans trois échantillons, sauvage, *unc-116* RNAi (chaîne lourde de la kinésine inhibée) et *yop-1 & ret-1* RNAi (protéines de courbure du RE inhibées). Avant la sécrétion ils sont en suspension dans le cytoplasme. On constate une exocytose complète dans l'embryon sauvage et partielle dans les deux phénotypes modifiés (on note que les granules semblent agrégés). Les deux phénotypes modifiés ne présentent pas d'écoulement cytoplasmique. La diffusion simple est insuffisante pour expliquer le transport de particules de $1\mu m$ sur une distance typique de $10\mu m$ en quelques minutes. En l'absence de structure de transport dans le cytoplasme, on peut supposer que l'activité des kinésines à la surface génère des fluctuations hydrodynamiques dans le cytoplasme qui font diffuser activement les granules. En effet une fraction des kinésines reste fonctionnelle chez *unc-116* RNAi, la cellule est dans la phase sans écoulement mais des fluctuations de forçage demeurent, tandis que chez le *yop-1 & ret-1* RNAi le RE est sous forme de vésicules dispersées, dont certaines

interagissent avec les kinésines corticales.

Plus étonnant, sur 30 embryons sauvages observés, 5 ne présentent pas d'écoulement cytoplasmique ordonné mais seulement des fluctuations de moyenne nulle. Cela s'explique par la proximité des coordonnées moyennes avec le bord de phase, voir fig 7.5. Nous avons déterminé les coordonnées moyennes, qui sont dans la phase en écoulement. De par la variabilité entre individus inhérente au vivant, chaque spécimen a des paramètres cellulaires distribués aléatoirement dans le voisinage du point moyen. Il est donc naturel qu'une fraction finie des spécimens soit dans la phase sans écoulement. Nous n'avons pas suivi le destin de ces embryons, nous proposons d'ailleurs dans la conclusion d'étudier ce cas, mais on peut supposer qu'ils sont viables, car les mécanismes biologiques sont en général optimisés par l'évolution (par exemple ici le paramètre T aurait pu être plus grand, ou V plus petit, pour éviter l'absence d'écoulement). Nous avons vu qu'en absence d'écoulement les fluctuations du forçage chez les échantillons *unc-116 RNAi* et *yop-1 & ret-1 RNAi* semblent à l'origine d'une diffusion active sensible des granules. Il se peut que le mécanisme sélectionné dans ce système optimise les fluctuations hydrodynamiques davantage que l'écoulement moyen. En effet, on sait qu'au voisinage d'une transition de phase du 2ème ordre la susceptibilité (inverse de la dérivée seconde du potentiel par rapport au paramètre d'ordre, $(\frac{\partial^2 e}{\partial P_{||}^2})^{-1}$) diverge, et l'amplitude des fluctuations dans le système est maximale, voir fig 7.11 c. Ces hypothèses demandent à être vérifiées expérimentalement.

7.6. Conclusion

Notre modèle décrit en partant de l'échelle microscopique comment des microtubules désordonnés peuvent générer un écoulement du RE tubulaire cortical et s'aligner avec au travers des interactions hydrodynamiques. Nous avons prédit l'influence de l'instabilité dynamique des microtubules, du cyclage rapide et de la relation force-vitesse linéaire des kinésines et des propriétés hydrodynamiques du RE, sur l'émergence de l'écoulement cytoplasmique, sa vitesse, la polarité des microtubules et le temps moyen de renversement de l'écoulement dans une géométrie sphéroïde prolata. Les valeurs des paramètres estimées à partir des expériences sont en accord avec les propriétés observées de l'écoulement.

Nous avons compris que l'efficacité du forçage dans ce type de système dépend d'une part du rapport entre la longueur de perméation du complexe formé par les microtubules et kinésines et l'épaisseur de la couche soumise au forçage, d'autre part de la polarisabilité de la suspension, ou sa sensibilité à l'écoulement. En analysant les sources de bruit, nous avons trouvé que le cyclage des microtubules est à l'origine des fluctuations dans ce système, et notamment du renversement de l'écoulement cytoplasmique.

La structure réticulée du RE apparaît ici permettre sa localisation près du cortex, et assurer une transmission efficace de la force des moteurs au cytoplasme (cet argument avait été avancé dans [114]). Ces avantages semblent compenser l'augmentation de la viscosité du mélange RE-cytoplasme (notons que le RE visqueux aide aussi peut être à la rotation des microtubules). Ce sont des éléments de réponse qui éclaircissent un peu les raisons pour lesquelles le RE est le support de l'écoulement cytoplasmique chez de nombreuses espèces. Le RE est un fluide actif complexe qui n'a pas encore été étudié. son mouvement est impliqué dans les écoulements cytoplasmiques [161] mais aussi d'autres phénomènes [63, 119]. Il serait intéressant d'étudier expérimentalement et théoriquement sa rhéologie, pour comprendre comment il se réarrange sous l'effet d'une déformation. Sa morphologie peut être tubulaire ou lamellaire, elle est régulée par des mécanismes de signalisation [127] mais aussi par des contraintes mécaniques [161].

La compréhension du rôle de l'écoulement cytoplasmique reste à approfondir. Il est impliqué dans l'exocytose des granules corticaux. Comme environ 15% des specimen sauvages ne présentent pas d'écoulement on peut se demander s'il est nécessaire à l'exocytose. En effet la position du phénotype sauvage dans le diagramme de phase, proche du bord de phase, n'optimise pas l'écoulement moyen mais plutôt ses fluctuations. En effet au cours du phénomène (d'une durée de $t = 16$ min) le cytoplasme effectue $t u_{ER}/(2\pi R) \approx 3$ tours (où R est le petit axe de la cellule) ce qui semble peu pour faire un mélange. Peut-être que la composante aléatoire de l'écoulement est responsable de l'exocytose. On pourrait étudier le mécanisme de mélange dans l'embryon de drosophile également (qui est aussi basé sur des microtubules, plus longs et stables, et des kinésines, dans une cellule de forme hémisphérique). Si le phénomène a pour but de mélanger le cytoplasme, le mécanisme est-il basé sur l'écoulement moyen ou sur ses fluctuations? Dans ce système, l'orientation de l'écoulement est aussi instable et évolue lentement dans le temps, on peut se poser la question du rôle de l'instabilité dans le mélange.

Dans notre système l'origine de la bidirectionalité de l'écoulement est différente de l'exemple connu du mouvement bidirectionnel d'une vésicule, où les moteurs opposés au mouvement se détachent, [112] : dans notre situation c'est la réorientation des microtubules opposés au mouvement qui conduit à la bistabilité. Ajoutons qu'il existe sans doute de nombreux autres moyens d'induire un mouvement bistable dans un systèmes de filaments et moteurs : par exemple dans un régime concentré les interactions stériques entre les filaments peuvent induire un ordre nématique, ou bien si les filaments sont plus longs les filaments opposés au mouvement peuvent subir une contrainte entraînant leur rupture, ...

Il serait intéressant dans un travail théorique ultérieur de prendre en compte les fluctuations spatiales des champs : le taux de renversement pourrait dépendre de la taille du système de manière atypique en comparaison des systèmes déjà étudiés où

les moteurs sont couplés rigidement [8, 64]. On s'attend à ce que les fluctuations augmentent avec la taille de la cellule (indépendamment du nombre de particules).

Il serait également intéressant d'adresser la stabilité de l'écoulement perpendiculaire au cortex. C'est une question intéressante car dans des systèmes analogues des cellules de convection (analogues aux cellules de Rayleigh-Bénard) pourraient structurer spatialement la surface d'une cellule, et fournir une information pour la segmentation dans un embryon par exemple.

Une autre question fondamentale est l'étude de la morphologie de l'écoulement sur une surface courbe. Des travaux ont étudié l'influence de la topologie de la surface sur l'agencement de nématiques [80], de gel actif [151], ou sur le mouvement collectif de particules [146], il serait intéressant d'étudier l'influence de la topologie sur un écoulement tel que le nôtre. De même nous n'avons pas regardé la stabilité de l'écoulement à grande longueur d'onde, qui pourrait impliquer un couplage avec le cytoplasme, ce qui augmente la portée du couplage entre les filaments.

Conclusion générale

Dans la première partie de cette thèse nous avons modélisé l'extraction de tubes membranaires par des moteurs non processifs. Nous avons identifié l'existence de deux régimes de croissance, avec déplétion ou accumulation des moteurs, le premier régime étant accessible seulement aux moteurs non processifs. Nous avons modélisé le mécanisme de croissance du tube. La diminution du taux de décrochage ω_{off} avec la force du tube a pour effet d'augmenter la vitesse d'extraction, cela est dû à la propriété fluide de la membrane qui couple les moteurs. Nous avons montré que les tubes extraits par des moteurs non processifs ne peuvent pas présenter d'oscillation, car la vitesse de croissance ne dépend que de leur longueur. Nous avons déterminé le diagramme des régimes d'extraction des tubes membranaires. Nous montrons que le renforcement des moteurs par la force induit l' "ouverture" d'une phase où, si la force du tube est suffisante, les moteurs peuvent extraire le tube avec une densité très faible (inférieure à $100\mu\text{m}^{-2}$) à la faveur d'une fluctuation aléatoire de la longueur du tube.

Cette étude pourrait être poursuivie. L'extraction de tubes pourrait être renforcée par la la force non seulement à l'échelle moléculaire des moteurs, mais également à l'échelle mésoscopique de la forme du tube (de manière similaire le roulement des leucocytes est affecté par la force à différentes échelles, [140, 26, 152]). Les vésicules générant les tubes sont très déformées, les moteurs pourraient en être la cause. En effet l'adhésion d'une vésicule par des ligands renforcés par la force pourrait conduire à une instabilité de la ligne de contact et à la formation de digitations. Les ligands pourraient avoir un effet sensible sur la force du tube : en diminuant les fluctuations de la membrane, ils augmentent le coût en enthalpie libre de l'élongation du tube et donc sa force. Il a été montré que les fluctuations thermiques d'une membrane supportée par une surface tendent à agréger les ligands par effet de type Casimir. Avec des ligands renforcés par la force, l'effet pourrait être inversé.

Ce travail prend place dans un programme mené conjointement à l'UMR 168 par les équipes de Patricia Bassereau, Jean-François Joanny et Jacques Prost, et à l'UMR 144 par Bruno Goud et Evelyne Coudrier, qui vise à comprendre le rôle des myosines dans la formation des transporteurs au niveau du RTG ("Réseau Trans Golgi "). Il semble que des filaments d'actine pourraient in vivo permettre l'extraction de tubes pour des densité en myosine 1b faibles, physiologiquement réalistes. Si cela est vérifié, quelle est la structure de l'échaffaudage d'actine, qui supporte la croissance du tube ? Comme les microtubules sont sans doute difficiles à

amener à proximité du RTG, les myosines 1b pourraient initier les transporteurs, et les amener à proximité des microtubules où l'on sait que d'autres moteurs (kinésine, dynéine) prennent le relai. Le mécanisme de fission du tube, menant à la formation d'un transporteur fait l'objet de recherches au sein de l'UMR 144 actuellement.

Au delà du mécanisme de formation des transporteurs, la dynamique de leur trafic dans la cellule reste mal comprise. Par exemple il serait intéressant de comprendre comment leur taille et leur débit ont été sélectionnés. La taille permet-elle d'optimiser leur vitesse de transport dans un milieu encombré, ou bien d'optimiser le nombre de moteurs par vésicule, permettant une longueur de course suffisante ou bien un mouvement bidirectionnel avec un taux de renversement optimal ?

Dans la deuxième partie nous avons développé un modèle qui décrit comment, dans l'embryon de *C.elegans*, des kinésines associées à une suspension isotrope de microtubules, synchronisés par des interactions hydrodynamiques, génèrent une brisure de symétrie spontanée et un écoulement dans la cellule. L'efficacité de la mise en mouvement dans ce type de système dépend d'une part de la longueur relative de perméation du complexe formé par les microtubules et kinésines, d'autre part de la polarisabilité de la suspension. La structure réticulée du RE permet d'assurer une transmission efficace de la force des moteurs au cytoplasme. Cet avantage semble compenser l'augmentation de la viscosité du mélange RE-cytoplasme (notons que le RE visqueux pourrait faciliter la rotation des microtubules). Ces éléments de réponse éclaircissent un peu les raisons pour lesquelles le RE est le support de l'écoulement cytoplasmique dans de nombreuses espèces. Le RE est un fluide actif complexe, il serait intéressant de l'étudier pour comprendre son rôle dans les mouvements intracellulaires.

L'écoulement cytoplasmique est impliqué dans l'exocytose des granules corticaux. Le phénotype sauvage semble optimiser davantage les fluctuations hydrodynamiques que l'amplitude de l'écoulement moyen. L'embryon de drosophile est un système similaire, mais de par sa géométrie l'orientation de l'écoulement y est instable et évolue lentement dans le temps, on peut se poser la question du rôle de cette instabilité dans le mélange. Dans ces systèmes, est-ce l'écoulement moyen, ou bien ses fluctuations, ou encore son instabilité à temps long qui provoque le mélange ? Cela reste à comprendre. Notons également que dans l'embryon de *C.elegans* en absence d'écoulement les granules corticaux s'agrègent : peut être que l'écoulement favorise la diffusion-réaction de constituants dans le cytoplasme qui évitent ce phénomène.

Il serait intéressant dans un travail théorique ultérieur de prendre en compte les fluctuations spatiales des champs dans le calcul du temps de renversement moyen. On s'attend à ce que les fluctuations augmentent avec la taille de la cellule

(indépendamment du nombre de particules). Il serait également intéressant d'un point de vue fondamental d'adresser la morphologie de l'écoulement sur une surface courbe. On pourrait aussi étudier l'influence de la topologie sur un écoulement tel que le nôtre.

Nous avons étudié les phénomènes de coopération de moteurs moléculaires dans deux fonctions de transport intracellulaires différentes. Ces phénomènes où des particules productrices de force interagissent et s'autoorganisent sont de beaux exemples naturels de matière active, qui présente de nouveaux types de comportements, tels que la synchronisation spontanée, la génération et propagation d'onde , ... Nous voyons que la nature du couplage entre les moteurs et la géométrie sont à l'origine de comportements variés que l'on n'a pas épuisé, de nombreux moteurs et de nombreuses conformations restent à étudier.

Annexe A.

Modèle d'extraction de tubes membranaires par les moteurs non processifs, charge renforcée myo1b

A.1. Résultats annexes de la simulation numérique de croissance du tube

Nous représentons ci-dessous des courbes complémentaires auxquelles le texte principal fait référence. La figA.1 présente les courbes utilisées dans la figure illustrant la loi échelle fig4.8. La fig A.2 illustre la validité de la dérivation analytique de la section 4.4.3 pour des valeurs de n_f non présentées.

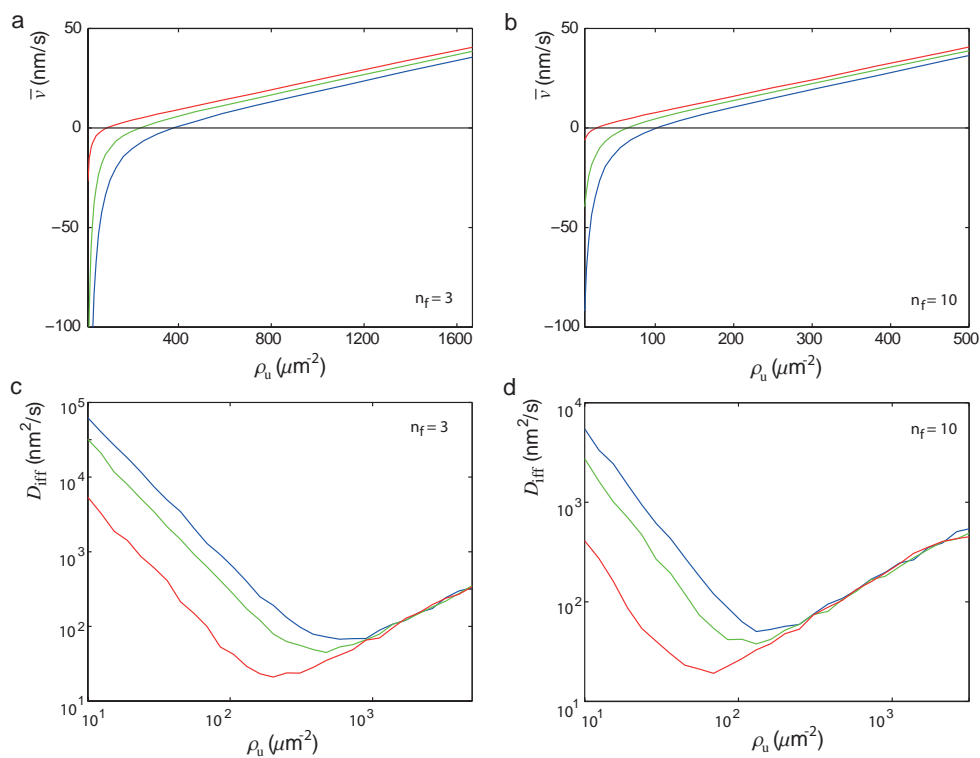


Figure A.1. – Représentation de la vitesse moyenne \bar{v} et du coefficient de diffusion D_{diff} pour $n_f = 3$ (a, c) et $n_f = 10$ (b, d) de la croissance du tube en fonction de la densité ρ_u , avec une force de tube variable f de 0 pN (bleu), 0.3 pN (vert), 1 pN (rouge).

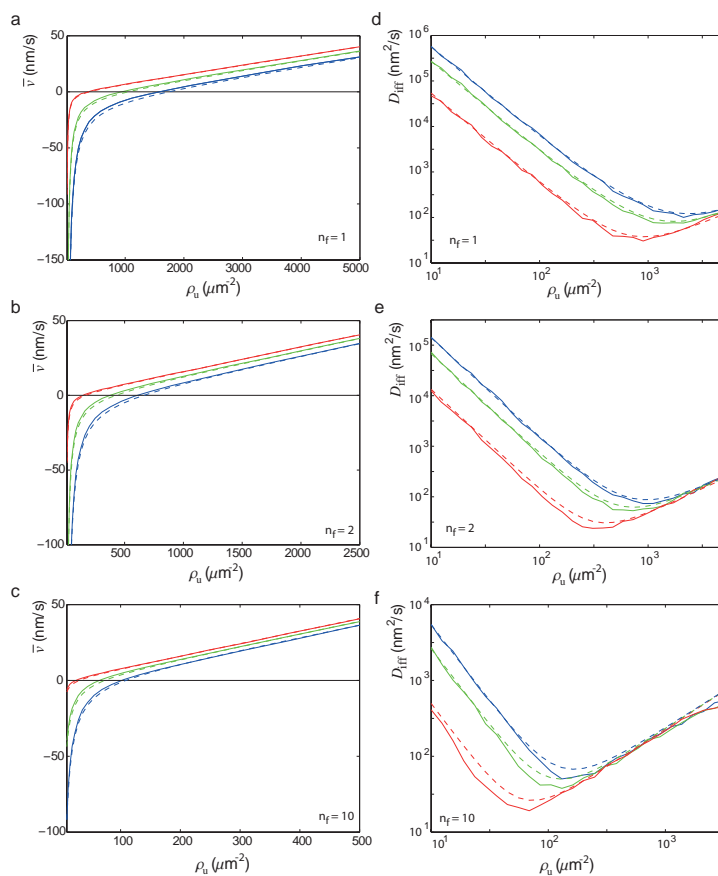


Figure A.2. – Représentation de \bar{v} (a, c, e) et D_{diff} (b, d, f) en fonction de ρ_u pour les valeurs de n_f 1, 2, 10 comme indiqué, pour des forces f de 0 pN (bleu), 0.3 pN (vert) et 1 pN (rouge). On compare les résultats numériques (trait continu) et analytiques (trait discontinu)

Annexe B.

Modèle du flux cytoplasmique dans l'embryon de *C.elegans*

B.1. Notations

Le symbole $\langle \cdot \rangle$ correspond à une moyenne sur la distribution des microtubules (notations similaire à celles employées dans [174]) :

$$\langle a \rangle = \iint d\mathbf{p} \Psi a \quad (\text{B.1})$$

avec a une fonction quelconque de \mathbf{p} . En particulier,

$$\langle 1 \rangle = c \quad (\text{B.2})$$

$$\langle \mathbf{p} \rangle = c \mathbf{P} \quad (\text{B.3})$$

où c est la concentration surfacique en microtubules, et \mathbf{P} est la polarité moyenne. Le symbole $\bar{\cdot}$ correspond à une moyenne spatiale sur la surface de l'ovocyte.

$$\bar{a} = \frac{1}{A} \iint d\mathbf{x} a \quad (\text{B.4})$$

avec a une fonction quelconque de \mathbf{x} et A l'aire totale.

B.2. Relation de fermeture

On veut exprimer le second moment de $\Psi(\mathbf{p}, \mathbf{x}, t)$ en fonction du premier. Cette approche est pertinente car la suspension est soumise à un écoulement de cisaillement, qui laisse supposer une relation bijective entre le premier moment et les suivants. Le second moment satisfait $\langle p_j p_j \rangle = c$, $\langle p_i p_j \rangle = c P_i P_j$ quand le système est totalement polarisé et $\langle p_i p_j \rangle = \delta_{ij} \frac{c}{3}$ quand le système est isotrope. Si l'on impose à $\langle p_i p_j \rangle$ d'être la somme de la fonction dans la limite de polarisation totale,

plus une fonction choisie de sorte que les contraintes soient satisfaites, on trouve : $\langle p_i p_j \rangle = cP_i P_j + \frac{c}{3}(1 - P^2)\delta_{ij}$ avec $P = \|\mathbf{P}\|$. Ce qui revient à approximer $\langle p_i p_j \rangle$ comme un polynôme d'ordre 2 des composantes du 1er moment. Remarque : si \mathbf{p} est confiné dans un plan où $p_{\perp} = cst$, on a $\langle p_i p_j \rangle = cP_i P_j + \frac{c}{2}(1 - P^2)\delta_{ij}$.

B.3. Validité du modèle

Nous précisons ici certaines restrictions du modèle et justifions nos hypothèses.

B.3.1. Modélisation des microtubules

Dans notre modélisation des microtubules, nous avons supposé qu'ils sont rigides. L'énergie de courbure d'un microtubule vaut $\kappa = 2 \cdot 10^{-23} Nm^2$ [59]. La force de flambage d'une poutre élastique avec des pivots libres aux bords vaut $F_b = \pi^2 \kappa / l^2 \approx 8pN$ ici (avec $l \simeq 5\mu m$). Cette valeur peut être atteinte, et on observe expérimentalement que les microtubules peuvent se courber, avec un rayon de courbure $\gg l$. Peuvent-ils se casser ? Il a été montré que le bris peut survenir avec un taux non négligeable lorsque la courbure excède $1.7 rad.\mu m^{-1}$, [116]. Nous n'observons pas de microtubules avec de telles courbures. La force correspondante serait [81] de l'ordre de $2 - 3F_b$, peu probable dans notre situation.

On a également supposé que leur seul mode d'interaction est hydrodynamique. Ils sont en effet dilués et ne présentent pas d'interaction stérique, mais sont suffisamment proches pour s'assembler en faisceau. Nous ne détectons pas ce phénomène expérimentalement et concluons qu'il est faible ou absent.

Nous avons assimilé les catastrophes des microtubules à une annihilation instantanée. On ne mesure pas la vitesse de rétraction du microtubule mais elle est typiquement supérieure à celle de la croissance [83] (notons cependant que dans notre système cette dernière est atypiquement élevée). Le taux de "sauvetage" - basculement de la rétraction à la croissance est estimé in vitro à $0.1 s^{-1}$ et est faiblement lié à la concentration en tubuline [56]. On en déduit qu'un microtubule subissant une catastrophe se rétracte totalement en un temps petit devant le temps de vie, ce qui supporte notre modèle.

Nous avons modélisé le point d'ancrage du microtubule comme un pivot libre. Nous n'avons pas trouvé d'étude des propriétés mécaniques du complexe de γ -tubuline, site de nucléation du microtubule. Si le complexe, ou le filament d'actine sur lequel il est accroché, génère une résistance, elle doit être plus faible que la force visqueuse générée par le flux, sinon aucun flux n'émergerait, donc on s'intéresse à la limite où le microtubule pivote librement.

Nous avons restreint notre description au cas où les microtubules sont plongés dans le RE, c'est-à-dire où $h < \varepsilon$, donc la limite supérieure est $l < 2\varepsilon \simeq 10\mu m$. Au delà

l'éq (7.10) serait un peu modifiée :

$$\mathbf{M} = \int_0^l dl' [l' \mathbf{p} \wedge \xi(\mathbf{r}(l'))(\mathbf{u}(\mathbf{r}(l')) - l' \dot{\mathbf{p}})] \quad (\text{B.5})$$

avec $\xi(z) = \xi_{RE} H(\varepsilon - z)$ la viscosité, approximée nulle dans le cytoplasme

$$\mathbf{M} = \int_0^{\min[l, \varepsilon / \cos(\theta)]} dl' [l' \mathbf{p} \wedge \xi_{RE}(\mathbf{u}(\mathbf{r}(l')) - l' \dot{\mathbf{p}})] \quad (\text{B.6})$$

ce qui aurait pour effet d'augmenter un peu \dot{p} .

B.3.2. Modélisation du RE

Nous modélisons le RE comme un milieu continu, cela est valable si les microtubules ne sont pas plus petits que le pas du réseau $l > \zeta \simeq 1 \mu m$. Nous négligeons la relaxation de polarité associée à la diffusion rotationnelle des microtubules. Comme le phénomène moyen émerge de contributions microscopiques, si au cours de son temps de vie le microtubule pivote d'un angle $\approx \omega_{cata}^{-1} \dot{p} = \alpha$ en moyenne, l'écart type vaut $\sqrt{\alpha}$ et est donc faible. Cependant dans la limite où le temps de vie des microtubules diverge (en les fixant avec du taxol par exemple) $\dot{p} \rightarrow 0$ et la diffusion rotationnelle domine.

Nous n'avons pas étudié la stabilité de l'épaisseur. En effet dans ce système l'épaisseur est constante bien qu'il n'y a pas de contrainte mécanique directe qui l'impose. Une instabilité analogue à celle de Rayleigh-Bénard pourrait exister dans des systèmes similaires.

B.4. Force des kinésines sur le mélange RE-cytoplasme

B.4.1. Cas du RE fragmenté en vésicules

Les vésicules sont liées au microtubule par quelques kinésines n_{kin} . La force exercée par les kinésines sur la vésicule vaut donc $\mathbf{f}_{ves} = n_{kin} f_0 \left(1 - \frac{v_{kin}}{u_m}\right) \mathbf{p} + \delta \mathbf{f}$, avec pour premier terme la force motrice des moteurs, et deuxième une force perpendiculaire au microtubule due à l'interaction avec l'écoulement, voir l'équation (7.3). On considère un écoulement de cisaillement dans le cytoplasme, il n'y a donc pas de gradient de pression, et d'après l'équation (7.9) la force de couplage entre une vésicules et le cytoplasme s'écrit :

$$\mathbf{f}_{\text{ves}} = f'(\mathbf{u}_2 - \mathbf{u}_{\text{ves}}) \quad (\text{B.7})$$

où \mathbf{u}_{ves} est la vitesse de la vésicule (dans l'équation (7.9) \mathbf{u}_1 est la moyenne de \mathbf{u}_{ves} sur l'élément de volume), et elle est donnée par $\mathbf{u}_{\text{ves}} = v_{\text{kin}}\mathbf{p} + \dot{\mathbf{p}}l'$, voir schéma B.1. Cela fixe la vitesse des kinésines le long du microtubule à

$$\frac{v_{\text{kin}}}{u_m} = \frac{1 + \frac{f'\mathbf{u}_2 \cdot \mathbf{p}}{n_{\text{kin}}f_0}}{1 + \frac{f'u_m}{n_{\text{kin}}f_0}} \quad (\text{B.8})$$

et la force exercée sur une vésicule vaut :

$$\mathbf{f}_{\text{ves}} = \frac{1}{\frac{1}{f'u_m} + \frac{1}{n_{\text{kin}}f_0}} \left(1 - \frac{\mathbf{u}_2 \cdot \mathbf{p}}{u_m}\right) \cdot \mathbf{p} + \delta\mathbf{f} \quad (\text{B.9})$$

On voit que la transmission de la force des kinésines au cytoplasme est limitée par l'intensité du couplage : le préfacteur est limité à $f'u_m$ la force de friction d'une vésicule se déplaçant à u_m la vitesse maximale des kinésines. Le second terme vaut $\delta\mathbf{f} = f'(l'\dot{\mathbf{p}} - (\mathbf{I} - \mathbf{p}\mathbf{p})\mathbf{u}_2)$. Or, on peut exprimer le champ de vitesse comme un champ de cisaillement constant plus une déviation ne contribuant pas à la rotation du microtubule : $\mathbf{u}_2 = \gamma z + \delta\mathbf{u}_2$ de sorte que $l'\dot{\mathbf{p}} = (\mathbf{I} - \mathbf{p}\mathbf{p})\gamma z$. La force $\delta\mathbf{f}$ vaut alors $\delta\mathbf{f} = -f'\delta\mathbf{u}_2$. Les profils de \mathbf{u}_2 sont doux et $\delta\mathbf{u}_2$ est petit devant \mathbf{u}_2 , on négligera donc cette force.

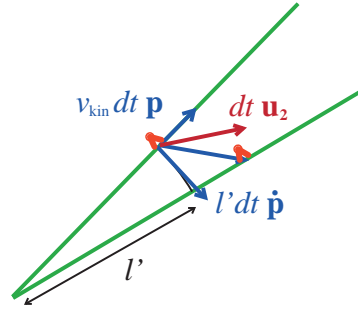


Figure B.1. – Schéma résumant les différents déplacements au cours d'un instant dt . $v_{\text{kin}}dt\mathbf{p}$ représente la marche de la kinésine (et donc de la vésicule) le long du microtubule, $l'dt\dot{\mathbf{p}}$ représente le déplacement de la kinésine dû à la rotation du microtubule, $dt\mathbf{u}_1$ est le déplacement de l'élément de volume de cytoplasme au niveau de la kinésine.

Dans ce cas particulier comme les kinésines sont regroupées autour de vésicules, $\mathbf{f}_{\text{cortex}}$ s'écrit, cf équation (7.4) :

$$\mathbf{f}_{\text{cortex}}(\mathbf{r}) = \begin{cases} \int_0^{\theta_m} d\theta \sin(\theta) \int_0^{2\pi} d\phi \Psi \rho_{\text{ves}} \mathbf{f}_{\text{ves}} \cos(\theta)^{-1} & \text{si } z < l \\ \mathbf{0} & \text{sinon} \end{cases} \quad (\text{B.10})$$

où ρ_{ves} est la densité linéaire en vésicule le long du microtubule. On peut le relier au nombre de vésicules par unité de volume n_v , en supposant qu'une fraction r est liée aux microtubules, par $cl\rho_{\text{ves}}/h = rn_v$, avec h l'extension moyenne des microtubules, cf la section 7.2.2.

B.4.2. Cas du RE connecté en réseau de tubes

Dans le cas précédent la vésicule suit les kinésines strictement. Dans le cas présent, les tubes de RE peuvent glisser autour du microtubule, ou se briser, et le champ de vitesse du RE \mathbf{u}_1 est difficile à relier à $v_{\text{kin}}\mathbf{p} + \dot{\mathbf{p}}l'$ la vitesse de la kinésine. On supposera que seule la composante de \mathbf{u}_1 parallèle au microtubule est imposée par le déplacement de la kinésine : $(v_{\text{kin}}\mathbf{p} + \dot{\mathbf{p}}l') \cdot \mathbf{p} = \mathbf{u}_1 \cdot \mathbf{p}$ soit $v_{\text{kin}} = \mathbf{u}_1 \cdot \mathbf{p}$. La composante de \mathbf{u}_1 perpendiculaire au microtubule est responsable de sa rotation, et engendre secondairement comme dans le cas précédent une force due à la déviation du champ de vitesse par rapport à un cisaillement constant, qu'on négligera dans cette étude (remarquons qu'il existe une limite, de RE très visqueux, où cette force pourrait imposer un profil de cisaillement constant). On trouve donc :

$$\mathbf{f}_{\text{kin}} \simeq f_0 \left(1 - \frac{\mathbf{u}_1 \cdot \mathbf{p}}{u_m} \right) \cdot \mathbf{p} \quad (\text{B.11})$$

Et comme on l'a vu, cf équation (7.8), la vitesse du cytoplasme est égale à celle du RE, c'est pourquoi toute la force des kinésines est transmise au cytoplasme, à la différence du cas d'une suspension de vésicules.

Bibliographie

- [1] A model of stereocilia adaptation based on single molecule mechanical studies of myosin I. *Philosophical Transactions of the Royal Society B : Biological Sciences*, 359(1452) :1895–1905, December 2004.
- [2] Paul S Agutter, P Colm Malone, and Denys N Wheatley. Diffusion theory in biology : a relic of mechanistic materialism. *Journal of the History of Biology*, 33(1) :71–111, 2000.
- [3] Paul S. Agutter and Denys N. Wheatley. Random walks and cell size. *Bioessays*, 22(11) :1018–1023, 2000.
- [4] B Alberts, D Bray, J Lewis, M Raff, K Roberts, and JD Watson. Molecular biology of the cell (garland, new york, 1994).
- [5] Claudia G. Almeida, Ayako Yamada, Danièle Tenza, Daniel Louvard, Graça Raposo, and Evelyne Coudrier. Myosin 1b promotes the formation of post-Golgi carriers by regulating actin assembly and membrane remodelling at the trans-Golgi network. *Nature Cell Biology*, 13(7) :779–789, June 2011.
- [6] Francisco Fontenele Araujo and Cornelis Storm. Processivity and collectivity of biomolecular motors extracting membrane nanotubes. *Physical Review E*, 86(1) :010901, 2012.
- [7] Hassan Aref. The development of chaotic advection. *Physics of Fluids (1994-present)*, 14(4) :1315–1325, 2002.
- [8] M Badoual, F Jülicher, and J Prost. Bidirectional cooperative motion of molecular motors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(10) :6696–6701, 2002.
- [9] Christopher Batters, Christopher P Arthur, Abel Lin, Jessica Porter, Michael A Geeves, Ronald A Milligan, Justin E Molloy, and Lynne M Coluccio. Myo1c is designed for the adaptation response in the inner ear. *The EMBO Journal*, 23(7) :1433–1440, April 2004.
- [10] Tommaso Biancalani, Louise Dyson, and Alan J. McKane. Noise-Induced Bistable States and Their Mean Switching Time in Foraging Colonies. *Physical Review Letters*, 112(3), January 2014.
- [11] Tommaso Biancalani, Louise Dyson, and Alan J McKane. Noise-induced bistable states and their mean switching time in foraging colonies. *Physical review letters*, 112(3) :038101, 2014.

- [12] Anne-Florence Bitbol, Paul G Dommersnes, and Jean-Baptiste Fournier. Fluctuations of the casimir-like force between two membrane inclusions. *Physical Review E*, 81(5) :050903, 2010.
- [13] Anne-Florence Bitbol and Jean-Baptiste Fournier. Forces exerted by a correlated fluid on embedded inclusions. *Physical Review E*, 83(6) :061107, 2011.
- [14] Marieke J Bloemink and Michael A Geeves. Shaking the myosin family tree : biochemical kinetics defines four types of myosin motor. In *Seminars in cell & developmental biology*, volume 22, pages 961–967. Elsevier, 2011.
- [15] Juan S Bonifacino and Benjamin S Glick. The mechanisms of vesicle budding and fusion. *Cell*, 116(2) :153–166, 2004.
- [16] N Borghi, O Rossier, and F Brochard-Wyart. Hydrodynamic extrusion of tubes from giant vesicles. *EPL (Europhysics Letters)*, 64(6) :837, 2003.
- [17] Christopher E Brennen. *Fundamentals of multiphase flow*. Cambridge University Press, 2005.
- [18] Mark S. Bretscher. Membrane structure : Some general principles. *Science*, 181(4100) :pp. 622–629, 1973.
- [19] F Brochard and JF Lennon. Frequency spectrum of the flicker phenomenon in erythrocytes. *Journal de Physique*, 36(11) :1035–1047, 1975.
- [20] Carlos Bustamante, Yann R. Chemla, Nancy R. Forde, and David Izhaky. Mechanical processes in biochemistry. *Annual Review of Biochemistry*, 73(1) :705–748, June 2004.
- [21] O. Campàs, Y. Kafri, K. B. Zeldovich, J. Casademunt, and J.-F. Joanny. Collective Dynamics of Interacting Molecular Motors. *Physical Review Letters*, 97(3), July 2006.
- [22] O Campas, C Leduc, P Bassereau, J-F Joanny, and J Prost. Collective oscillations of processive molecular motors. *Biophysical Reviews and Letters*, 4(01n02) :163–178, 2009.
- [23] Otger Campàs, Cécile Leduc, Patricia Bassereau, Jaume Casademunt, Jean-François Joanny, and Jacques Prost. Coordination of Kinesin Motors Pulling on Fluid Membranes. *Biophysical Journal*, 94(12) :5009–5017, June 2008.
- [24] Peter B Canham. The minimum energy of bending as a possible explanation of the biconcave shape of the human red blood cell. *Journal of Theoretical Biology*, 26(1) :61–81, 1970.
- [25] M. Capitano, M. Canepari, P. Cacciafesta, V. Lombardi, R. Cicchi, M. Maffei, F. S. Pavone, and R. Bottinelli. Two independent mechanical events in the interaction cycle of skeletal muscle myosin with actin. *Proceedings of the*

- National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(1) :87–92, 2006.
- [26] Kelly E Caputo, Dooyoung Lee, Michael R King, and Daniel A Hammer. Adhesive dynamics simulations of the shear threshold effect for leukocytes. *Biophysical journal*, 92(3) :787–797, 2007.
- [27] Nick J Carter and RA Cross. Mechanics of the kinesin step. *Nature*, 435(7040) :308–312, 2005.
- [28] Kévin Carvalho, Laurence Ramos, Christian Roy, and Catherine Picart. Giant unilamellar vesicles containing phosphatidylinositol (4, 5) bisphosphate : characterization and functionality. *Biophysical journal*, 95(9) :4348–4360, 2008.
- [29] MMAE Claessens, C. Semmrich, L. Ramos, and A. R. Bausch. Helical twist controls the thickness of F-actin bundles. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(26) :8819–8822, 2008.
- [30] Bason E Clancy, William M Behnke-Parks, Johan O L Andreasson, Steven S Rosenfeld, and Steven M Block. A universal pathway for kinesin stepping. *Nature Structural & Molecular Biology*, 18(9) :1020–1027, August 2011.
- [31] Chris M Coppin, Daniel W Pierce, Long Hsu, and Ronald D Vale. The load dependence of kinesin’s mechanical cycle. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(16) :8539–8544, 1997.
- [32] DCHC Corda, C Hidalgo Carcedo, M Bonazzi, A Luini, and S Spano. Molecular aspects of membrane fission in the secretory pathway. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 59(11) :1819–1832, 2002.
- [33] B Corti. Osservazione microscopiche sulla tremella e sulla circolazione del fluido in una planto acquaguola. 1774.
- [34] John Crank. *The mathematics of diffusion*. Oxford university press, 1979.
- [35] D Cuvelier, N Chiaruttini, P Bassereau, and P Nassoy. Pulling long tubes from firmly adhered vesicles. *Europhysics Letters (EPL)*, 71(6) :1015–1021, September 2005.
- [36] Damien Cuvelier, Imre Derényi, Patricia Bassereau, and Pierre Nassoy. Coalescence of membrane tethers : experiments, theory, and applications. *Biophysical journal*, 88(4) :2714–2726, 2005.
- [37] Brian R. Daniels, Byron C. Masi, and Denis Wirtz. Probing Single-Cell Micromechanics In Vivo : The Microrheology of *C. elegans* Developing Embryos. *Biophysical Journal*, 90(12) :4712–4719, June 2006.
- [38] Henry Darcy. *Les fontaines publiques de la ville de Dijon : exposition et application...* Victor Dalmont, 1856.

- [39] Programa de doctorat de Física Avancada, Otger Campsi Rigau, Jaume Casademunt Viader, Jean-Francois Joanny, and Jacques Prost. Otger campas thesis.
- [40] Enrique M De La Cruz and E Michael Ostap. Relating biochemistry and function in the myosin superfamily. *Current Opinion in Cell Biology*, 16(1) :61–67, February 2004.
- [41] M Dembo, DC Torney, K Saxman, and D Hammer. The reaction-limited kinetics of membrane-to-surface adhesion and detachment. *Proceedings of the Royal Society of London B : Biological Sciences*, 234(1274) :55–83, 1988.
- [42] Imre Derényi, Frank Jülicher, and Jacques Prost. Formation and interaction of membrane tubes. *Physical Review Letters*, 88(23) :238101, 2002.
- [43] Arshad Desai and Timothy J Mitchison. Microtubule polymerization dynamics. *Annual review of cell and developmental biology*, 13(1) :83–117, 1997.
- [44] Philippe F Devaux and Roger Morris. Transmembrane asymmetry and lateral domains in biological membranes. *Traffic*, 5(4) :241–246, 2004.
- [45] Masao Doi, Samuel Frederick Edwards, et al. *The theory of polymer dynamics*, volume 222. Clarendon Press Oxford, 1986.
- [46] T. A. J. Duke. Molecular model of muscle contraction. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(6) :2770–2775, 1999.
- [47] Gustavo Egea and Carla Serra-Peinado. Golgi apparatus : Finally mechanics comes to play in the secretory pathway. *Current Biology*, 24(16) :R741–R743, 2014.
- [48] Adam J Engler, Shamik Sen, H Lee Sweeney, and Dennis E Discher. Matrix elasticity directs stem cell lineage specification. *Cell*, 126(4) :677–689, 2006.
- [49] E Evans and W Rawicz. Entropy-driven tension and bending elasticity in condensed-fluid membranes. *Physical Review Letters*, 64(17) :2094, 1990.
- [50] Michael E. Fisher and Anatoly B. Kolomeisky. Simple mechanochemistry describes the dynamics of kinesin molecules. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(14) :7748–7753, 2001.
- [51] J-B Fournier, A Ajdari, and L Peliti. Effective-area elasticity and tension of micromanipulated membranes. *Physical review letters*, 86(21) :4970, 2001.
- [52] J-B Fournier, N Khalifat, N Puff, and MI Angelova. Chemically triggered ejection of membrane tubules controlled by intermonolayer friction. *Physical review letters*, 102(1) :018102, 2009.
- [53] Jean-Baptiste Fournier and Paolo Galatola. Critical Fluctuations of Tense Fluid Membrane Tubules. *Physical Review Letters*, 98(1), January 2007.

- [54] Jean-Baptiste Fournier, David Lacoste, and Elie Raphaël. Fluctuation spectrum of fluid membranes coupled to an elastic meshwork : jump of the effective surface tension at the mesh size. *Physical review letters*, 92(1) :018102, 2004.
- [55] Sujoy Ganguly, Lucy S Williams, Isabel M Palacios, and Raymond E Goldstein. Cytoplasmic streaming in drosophila oocytes varies with kinesin activity and correlates with the microtubule cytoskeleton architecture. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(38) :15109–15114, 2012.
- [56] Melissa K Gardner, Marija Zanic, and Jonathon Howard. Microtubule catastrophe and rescue. *Current Opinion in Cell Biology*, 25(1) :14–22, February 2013.
- [57] M. A. Geeves. Kinetic Analyses of a Truncated Mammalian Myosin I Suggest a Novel Isomerization Event Preceding Nucleotide Binding. *Journal of Biological Chemistry*, 275(28) :21624–21630, July 2000.
- [58] Daniel T Gillespie. A general method for numerically simulating the stochastic time evolution of coupled chemical reactions. *Journal of computational physics*, 22(4) :403–434, 1976.
- [59] Frederick Gittes, Brian Mickey, Jilda Nettleton, and Jonathon Howard. Flexural rigidity of microtubules and actin filaments measured from thermal fluctuations in shape. *The Journal of cell biology*, 120(4) :923–934, 1993.
- [60] Ido Golding and Edward C. Cox. Physical Nature of Bacterial Cytoplasm. *Physical Review Letters*, 96(9), March 2006.
- [61] Raymond E Goldstein, Idan Tuval, and Jan-Willem van de Meent. Microfluidics of cytoplasmic streaming and its implications for intracellular transport. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(10) :3663–3667, 2008.
- [62] Raymond E Goldstein and Jan-Willem van de Meent. A physical perspective on cytoplasmic streaming. *Interface Focus*, 5(4) :20150030, 2015.
- [63] Uma Goyal and Craig Blackstone. Untangling the web : Mechanisms underlying ER network formation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1833(11) :2492–2498, November 2013.
- [64] T. Guérin, J. Prost, and J.-F. Joanny. Bidirectional motion of motor assemblies and the weak-noise escape problem. *Physical Review E*, 84(4), October 2011.
- [65] Lior Haviv, Nir Gov, Yaron Ideses, and Anne Bernheim-Groswasser. Thickness distribution of actin bundles in vitro. *European Biophysics Journal*, 37(4) :447–454, April 2008.
- [66] Wolfgang Helfrich. Elastic properties of lipid bilayers : theory and possible experiments. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 28(11-12) :693–703, 1973.

- [67] Claus Heussinger and Gregory M Grason. Theory of crosslinked bundles of helical filaments : Intrinsic torques in self-limiting biopolymer assemblies. *The Journal of chemical physics*, 135(3) :035104, 2011.
- [68] P. W. Hochachka. The metabolic implications of intracellular circulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(22) :12233–12239, 1999.
- [69] D Houtman, I Pagonabarraga, CP Lowe, A Esseling-Ozdoba, AMC Emons, and E Eiser. Hydrodynamic flow caused by active transport along cytoskeletal elements. *EPL (Europhysics Letters)*, 78(1) :18001, 2007.
- [70] Jonathon Howard et al. Mechanics of motor proteins and the cytoskeleton. 2001.
- [71] Junjie Hu, William A Prinz, and Tom A Rapoport. Weaving the web of er tubules. *Cell*, 147(6) :1226–1231, 2011.
- [72] Andrew F Huxley and R Niedergerke. Structural changes in muscle during contraction. *Nature*, 173(4412) :971–973, 1954.
- [73] Jacob N Israelachvili. *Intermolecular and surface forces : revised third edition*. Academic press, 2011.
- [74] Jean-François Joanny and Jacques Prost. Active gels as a description of the actin-myosin cytoskeleton. *HFSP journal*, 3(2) :94–104, 2009.
- [75] Frank Jülicher, Armand Ajdari, and Jacques Prost. Modeling molecular motors. *Reviews of Modern Physics*, 69(4) :1269, 1997.
- [76] Bechara Kachar. Direct visualization of organelle movement along actin filaments dissociated from characean algae. *Science*, 227(4692) :1355–1357, 1985.
- [77] Bechara Kachar and Thomas S. Reese. The mechanism of cytoplasmic streaming in characean algal cells : sliding of endoplasmic reticulum along actin filaments. *The Journal of cell biology*, 106(5) :1545–1552, 1988.
- [78] Randall D Kamien. The geometry of soft materials : a primer. *Reviews of Modern physics*, 74(4) :953, 2002.
- [79] Noburô Kamiya and Kiyoko Kuroda. Measurement of the motive force of the protoplasmic rotation in nitella. *Protoplasma*, 50(1) :144–148, 1958.
- [80] Felix C Keber, Etienne Loiseau, Tim Sanchez, Stephen J DeCamp, Luca Giomi, Mark J Bowick, M Cristina Marchetti, Zvonimir Dogic, and Andreas R Bausch. Topology and dynamics of active nematic vesicles. *Science*, 345(6201) :1135–1139, 2014.
- [81] Jan Kierfeld, Krzysztof Baczynski, Petra Gutjahr, and Reinhard Lipowsky. Semiflexible polymers and filaments : From variational problems to fluctuations. In *AIP Conference Proceedings*, volume 1002, page 151, 2008.

- [82] S. Komaba and L. M. Coluccio. Localization of Myosin 1b to Actin Protrusions Requires Phosphoinositide Binding. *Journal of Biological Chemistry*, 285(36) :27686–27693, September 2010.
- [83] Y. A. Komarova. Cytoplasmic linker proteins promote microtubule rescue in vivo. *The Journal of Cell Biology*, 159(4) :589–599, November 2002.
- [84] Fang Kong, Andrés J García, A Paul Mould, Martin J Humphries, and Cheng Zhu. Demonstration of catch bonds between an integrin and its ligand. *The Journal of cell biology*, 185(7) :1275–1284, 2009.
- [85] Gerbrand Koster, Angelo Cacciuto, Imre Derényi, Daan Frenkel, and Marileen Dogterom. Force Barriers for Membrane Tube Formation. *Physical Review Letters*, 94(6), February 2005.
- [86] Gerbrand Koster, Martijn VanDuijn, Bas Hofs, and Marileen Dogterom. Membrane tube formation from giant vesicles by dynamic association of motor proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(26) :15583–15588, 2003.
- [87] Hendrik Anthony Kramers. Brownian motion in a field of force and the diffusion model of chemical reactions. *Physica*, 7(4) :284–304, 1940.
- [88] R Kwok and E Evans. Thermoelasticity of large lecithin bilayer vesicles. *Biophysical journal*, 35(3) :637, 1981.
- [89] J. M. Laakso, J. H. Lewis, H. Shuman, and E. M. Ostap. Myosin I Can Act As a Molecular Force Sensor. *Science*, 321(5885) :133–136, July 2008.
- [90] J. M. Laakso, J. H. Lewis, H. Shuman, and E. M. Ostap. Control of myosin-I force sensing by alternative splicing. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(2) :698–702, January 2010.
- [91] H Michael Lacker and Charles S Peskin. A mathematical method for the unique determination of cross-bridge properties from steady-state mechanical and energetic experiments on macroscopic muscle. *Lect Math Life Sci*, 16 :121–153, 1986.
- [92] Cécile Leduc, Otger Campàs, Jean-François Joanny, Jacques Prost, and Patricia Bassereau. Mechanism of membrane nanotube formation by molecular motors. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1798(7) :1418–1426, July 2010.
- [93] Cécile Leduc, Otger Campàs, Konstantin B. Zeldovich, Aurélien Roux, Pascale Jolimitre, Line Bourel-Bonnet, Bruno Goud, Jean-François Joanny, Patricia Bassereau, and Jacques Prost. Cooperative extraction of membrane nanotubes by molecular motors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(49) :17096–17101, 2004.

- [94] Chiu Fan Lee, Clifford P Brangwynne, Jöbin Gharakhani, Anthony A Hyman, and Frank Jülicher. Spatial organization of the cell cytoplasm by position-dependent phase separation. *Physical review letters*, 111(8) :088101, 2013.
- [95] François Lequeux. Reptation of connected wormlike micelles. *EPL (Europhysics Letters)*, 19(8) :675, 1992.
- [96] Ilya Levental, David A Christian, Yu-Hsiu Wang, Jonathan J Madara, Dennis E Discher, and Paul A Janmey. Calcium-dependent lateral organization in phosphatidylinositol 4, 5-bisphosphate (pip2)-and cholesterol-containing monolayers. *Biochemistry*, 48(34) :8241–8248, 2009.
- [97] John H. Lewis, Michael J. Greenberg, Joseph M. Laakso, Henry Shuman, and E. Michael Ostap. Calcium Regulation of Myosin-I Tension Sensing. *Biophysical Journal*, 102(12) :2799–2807, June 2012.
- [98] T. Lin, N. Tang, and E. M. Ostap. Biochemical and Motile Properties of Myo1b Splice Isoforms. *Journal of Biological Chemistry*, 280(50) :41562–41567, December 2005.
- [99] Tianming Lin, Michael J. Greenberg, Jeffrey R. Moore, and E. Michael Ostap. A Hearing Loss-Associated myo1c Mutation (R156W) Decreases the Myosin Duty Ratio and Force Sensitivity. *Biochemistry*, 50(11) :1831–1838, March 2011.
- [100] Reinhard Lipowsky and Erich Sackmann. *Structure and dynamics of membranes : I. from cells to vesicles/II. generic and specific interactions*. Elsevier, 1995.
- [101] Katherine Luby-Phelps. Cytoarchitecture and physical properties of cytoplasm : volume, viscosity, diffusion, intracellular surface area. *International review of cytology*, 192 :189–221, 1999.
- [102] Tianzhi Luo, Krithika Mohan, Pablo A Iglesias, and Douglas N Robinson. Molecular mechanisms of cellular mechanosensing. *Nature materials*, 12(11) :1064–1071, 2013.
- [103] Mikko Manninen, Veikko Taivassalo, Sirpa Kallio, et al. On the mixture model for multiphase flow, 1996.
- [104] José L Maravillas-Montero and Leopoldo Santos-Argumedo. The myosin family : unconventional roles of actin-dependent molecular motors in immune cells. *Journal of leukocyte biology*, 91(1) :35–46, 2012.
- [105] MC Marchetti, JF Joanny, S Ramaswamy, TB Liverpool, J Prost, Madan Rao, and R Aditi Simha. Hydrodynamics of soft active matter. *Reviews of Modern Physics*, 85(3) :1143, 2013.
- [106] Bryan T Marshall, Mian Long, James W Piper, Tadayuki Yago, Rodger P McEver, and Cheng Zhu. Direct observation of catch bonds involving cell-adhesion molecules. *Nature*, 423(6936) :190–193, 2003.

- [107] P. Martin and A. J. Hudspeth. Compressive nonlinearity in the hair bundle's active response to mechanical stimulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(25) :14386–14391, 2001.
- [108] MATLAB. *version 8.0.0.783 (R2012b)*. The MathWorks Inc., Natick, Massachusetts, 2012.
- [109] Karen L McNally, Judy L Martin, Marina Ellefson, and Francis J McNally. Kinesin-dependent transport results in polarized migration of the nucleus in oocytes and inward movement of yolk granules in meiotic embryos. *Developmental biology*, 339(1) :126–140, 2010.
- [110] S Miserey-Lenkei, G Chalancon, S Bardin, E Formstecher, B Goud, and A Echard. Rab and actomyosin-dependent fission of transport vesicles at the golgi complex. *Nature cell biology*, 12(7) :645–654, 2010.
- [111] Sylvain Monnier, Sergei B. Rochal, Andrea Parmeggiani, and Vladimir L. Lorman. Long-Range Protein Coupling Mediated by Critical Low-Energy Modes of Tubular Lipid Membranes. *Physical Review Letters*, 105(2), July 2010.
- [112] Melanie JI Müller, Stefan Klumpp, and Reinhard Lipowsky. Tug-of-war as a cooperative mechanism for bidirectional cargo transport by molecular motors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(12) :4609–4614, 2008.
- [113] Masayoshi Nishiyama, Hideo Higuchi, and Toshio Yanagida. Chemomechanical coupling of the forward and backward steps of single kinesin molecules. *Nature Cell Biology*, 4(10) :790–797, October 2002.
- [114] Eugene A. Nothnagel and W. W. Webb. Hydrodynamic models of viscous coupling between motile myosin and endoplasm in characean algae. *The Journal of cell biology*, 94(2) :444–454, 1982.
- [115] Elizaveta A. Novikova and Cornelis Storm. Contractile Fibers and Catch-Bond Clusters : a Biological Force Sensor ? *Biophysical Journal*, 105(6) :1336–1345, September 2013.
- [116] David J. Odde, Le Ma, Amelie H. Briggs, Alyssa DeMarco, and Marc W. Kirschner. Microtubule bending and breaking in living fibroblast cells. *Journal of Cell Science*, 112(19) :3283–3288, 1999.
- [117] K Olbrich, W Rawicz, D Needham, and E Evans. Water permeability and mechanical strength of polyunsaturated lipid bilayers. *Biophysical Journal*, 79(1) :321–327, 2000.
- [118] Yuriy V Pereverzev, Oleg V Prezhdov, Manu Forero, Evgeni V Sokurenko, and Wendy E Thomas. The two-pathway model for the catch-slip transition in biological adhesion. *Biophysical journal*, 89(3) :1446–1454, 2005.

- [119] F. M. Perrine-Walker, H. Kouchi, and R.W. Ridge. Endoplasmic reticulum-targeted GFP reveals ER remodeling in *Mesorhizobium*-treated *Lotus japonicus* root hairs during root hair curling and infection thread formation. *Protoplasma*, 251(4) :817–826, July 2014.
- [120] Rob Phillips, Jane Kondev, Julie Theriot, and Hernan Garcia. *Physical biology of the cell*. Garland Science, 2012.
- [121] WF Pickard. The role of cytoplasmic streaming in symplastic transport. *Plant, Cell & Environment*, 26(1) :1–15, 2003.
- [122] William F Pickard. Hydrodynamic aspects of protoplasmic streaming in *Chara braunii*. *Protoplasma*, 82(4) :321–339, 1974.
- [123] Tsvi Piran. *Statistical mechanics of membranes and surfaces*. World Scientific, 2004.
- [124] Thomas R Powers, Greg Huber, and Raymond E Goldstein. Fluid-membrane tethers : minimal surfaces and elastic boundary layers. *Physical Review E*, 65(4) :041901, 2002.
- [125] William H Press. *Numerical recipes 3rd edition : The art of scientific computing*. Cambridge university press, 2007.
- [126] Oleg V. Prezhdo and Yuriy V. Pereverzev. Theoretical Aspects of the Biological Catch Bond. *Accounts of Chemical Research*, 42(6) :693–703, June 2009.
- [127] Maija Puhka, Merja Joensuu, Helena Vihinen, Ilya Belevich, and Eija Jokitalo. Progressive sheet-to-tubule transformation is a general mechanism for endoplasmic reticulum partitioning in dividing mammalian cells. *Molecular biology of the cell*, 23(13) :2424–2432, 2012.
- [128] Edward M Purcell. Life at low reynolds number. *Am. J. Phys*, 45(1) :3–11, 1977.
- [129] W Rawicz, KC Olbrich, T McIntosh, D Needham, and E Evans. Effect of chain length and unsaturation on elasticity of lipid bilayers. *Biophysical journal*, 79(1) :328–339, 2000.
- [130] Sidney Redner. *A guide to first-passage processes*. Cambridge University Press, 2001.
- [131] Hannes Risken. *Fokker-Planck Equation*. Springer, 1984.
- [132] O Rossier, D Cuvelier, N Borghi, PH Puech, I Derényi, A Buguin, P Nassoy, and F Brochard-Wyart. Giant vesicles under flows : Extrusion and retraction of tubes. *Langmuir*, 19(3) :575–584, 2003.
- [133] Aurélien Roux, Giovanni Cappello, Jean Cartaud, Jacques Prost, Bruno Goud, and Patricia Bassereau. A minimal system allowing tubulation with

- molecular motors pulling on giant liposomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(8) :5394–5399, 2002.
- [134] B Rubinstein, K Larripa, P Sommi, and A Mogilner. The elasticity of motor-microtubule bundles and shape of the mitotic spindle. *Physical Biology*, 6(1) :016005, February 2009.
- [135] E Sackmann. Molecular and global structure and dynamics of membranes and lipid bilayers. *Canadian Journal of Physics*, 68(9) :999–1012, 1990.
- [136] SA Safran. Curvature elasticity of thin films. *Advances in Physics*, 48(4) :395–448, 1999.
- [137] Samuel A Safran. *Statistical thermodynamics of surfaces, interfaces, and membranes*, volume 90. Perseus Books, 1994.
- [138] David Saintillan and Michael J. Shelley. Instabilities, pattern formation, and mixing in active suspensions. *Physics of Fluids*, 20(12) :123304, 2008.
- [139] Olivier Sandre, Laurent Moreaux, and Françoise Brochard-Wyart. Dynamics of transient pores in stretched vesicles. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(19) :10591–10596, 1999.
- [140] Krishna K Sarangapani, Tadayuki Yago, Arkadiusz G Klopocki, Michael B Lawrence, Claudia B Fieger, Steven D Rosen, Rodger P McEver, and Cheng Zhu. Low force decelerates l-selectin dissociation from p-selectin glycoprotein ligand-1 and endoglycan. *Journal of Biological Chemistry*, 279(3) :2291–2298, 2004.
- [141] Mark J Schnitzer, Koen Visscher, and Steven M Block. Force production by single kinesin motors. *Nature cell biology*, 2(10) :718–723, 2000.
- [142] Pierre Sens, Ludger Johannes, and Patricia Bassereau. Biophysical approaches to protein-induced membrane deformations in trafficking. *Current opinion in cell biology*, 20(4) :476–482, 2008.
- [143] Laura R Serbus, Byeong-Jik Cha, William E Theurkauf, and William M Saxton. Dynein and the actin cytoskeleton control kinesin-driven cytoplasmic streaming in drosophila oocytes. *Development*, 132(16) :3743–3752, 2005.
- [144] Paige M Shaklee, Timon Idema, Gerbrand Koster, Cornelis Storm, Thomas Schmidt, and Marileen Dogterom. Bidirectional membrane tube dynamics driven by nonprocessive motors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(23) :7993–7997, 2008.
- [145] George T Shubeita, Susan L Tran, Jing Xu, Michael Vershinin, Silvia Cermelli, Sean L Cotton, Michael A Welte, and Steven P Gross. Consequences of motor copy number on the intracellular transport of kinesin-1-driven lipid droplets. *Cell*, 135(6) :1098–1107, 2008.

- [146] Rastko Sknepnek and Silke Henkes. Active swarms on a sphere. *Physical Review E*, 91(2) :022306, 2015.
- [147] Todd M Squires and Stephen R Quake. Microfluidics : Fluid physics at the nanoliter scale. *Reviews of modern physics*, 77(3) :977, 2005.
- [148] Martin Srayko, Dan W Buster, Omar A Bazirgan, Francis J McNally, and Paul E Mains. Mei-1/mei-2 katanin-like microtubule severing activity is required for caenorhabditis elegans meiosis. *Genes & development*, 14(9) :1072–1084, 2000.
- [149] Martin Srayko, Aynur Kaya, Joanne Stamford, and Anthony A Hyman. Identification and characterization of factors required for microtubule growth and nucleation in the early c. elegans embryo. *Developmental cell*, 9(2) :223–236, 2005.
- [150] Martin Srayko, Eileen T O’Toole, Anthony A Hyman, and Thomas Müller-Reichert. Katanin disrupts the microtubule lattice and increases polymer number in c. elegans meiosis. *Current biology*, 16(19) :1944–1949, 2006.
- [151] Pragya Srivastava, Roie Shlomovitz, Nir S Gov, and Madan Rao. Patterning of polar active filaments on a tense cylindrical membrane. *Physical review letters*, 110(16) :168104, 2013.
- [152] Prithu Sundd, Maria K Pospieszalska, and Klaus Ley. Neutrophil rolling at high shear : flattening, catch bond behavior, tethers and slings. *Molecular immunology*, 55(1) :59–69, 2013.
- [153] Karel Svoboda and Steven M Block. Force and velocity measured for single kinesin molecules. *Cell*, 77(5) :773–784, 1994.
- [154] Julien Tailleur, MR Evans, and Y Kafri. Nonequilibrium phase transitions in the extraction of membrane tubes by molecular motors. *Physical review letters*, 102(11) :118109, 2009.
- [155] Masashi Tazawa. Studies on nitella having artificial cell sap i. replacement of the cell sap with artificial solutions. *Plant and Cell Physiology*, 5(1) :33–43, 1964.
- [156] Mark Terasaki, Lan Bo Chen, and Keigi Fujiwara. Microtubules and the endoplasmic reticulum are highly interdependent structures. *The Journal of Cell Biology*, 103(4) :1557–1568, 1986.
- [157] Wendy E. Thomas, Viola Vogel, and Evgeni Sokurenko. Biophysics of Catch Bonds. *Annual Review of Biophysics*, 37(1) :399–416, June 2008.
- [158] Simon H. Tindemans and Bela M. Mulder. Microtubule length distributions in the presence of protein-induced severing. *Physical Review E*, 81(3) :031910, 2010.

- [159] Motoki Tominaga, Atsushi Kimura, Etsuo Yokota, Takeshi Haraguchi, Teruo Shimmen, Keiichi Yamamoto, Akihiko Nakano, and Kohji Ito. Cytoplasmic streaming velocity as a plant size determinant. *Developmental cell*, 27(3) :345–352, 2013.
- [160] Hervé Turlier, Basile Audoly, Jacques Prost, and Jean-François Joanny. Furrow constriction in animal cell cytokinesis. *Biophysical journal*, 106(1) :114–123, 2014.
- [161] Haruko Ueda, Etsuo Yokota, Natsumaro Kutsuna, Tomoo Shimada, Kentaro Tamura, Teruo Shimmen, Seiichiro Hasezawa, Valerian V Dolja, and Ikuko Hara-Nishimura. Myosin-dependent endoplasmic reticulum motility and f-actin organization in plant cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(15) :6894–6899, 2010.
- [162] Patrick T Underhill, Juan P Hernandez-Ortiz, and Michael D Graham. Diffusion and spatial correlations in suspensions of swimming particles. *Physical Review Letters*, 100(24) :248101, 2008.
- [163] Ronald D Vale. The molecular motor toolbox for intracellular transport. *Cell*, 112(4) :467–480, 2003.
- [164] Jan-Willem van de Meent, Andy J Sederman, Lynn F Gladden, and Raymond E Goldstein. Measurement of cytoplasmic streaming in single plant cells by magnetic resonance velocimetry. *Journal of Fluid Mechanics*, 642 :5–14, 2010.
- [165] Nicolaas Godfried Van Kampen. *Stochastic processes in physics and chemistry*, volume 1. Elsevier, 1992.
- [166] Cécile Vedrenne and Hans-Peter Hauri. Morphogenesis of the Endoplasmic Reticulum : Beyond Active Membrane Expansion : ER Morphogenesis. *Traffic*, 7(6) :639–646, June 2006.
- [167] Claudia Veigel, Lynne M. Coluccio, James D. Jontes, John C. Sparrow, Ronald A. Milligan, and Justin E. Molloy. The motor protein myosin-I produces its working stroke in two steps. *Nature*, 398(6727) :530–533, 1999.
- [168] Claudia Veigel, Justin E. Molloy, Stephan Schmitz, and John Kendrick-Jones. Load-dependent kinetics of force production by smooth muscle myosin measured with optical tweezers. *Nature Cell Biology*, 5(11) :980–986, November 2003.
- [169] Claudia Veigel, Stephan Schmitz, Fei Wang, and James R. Sellers. Load-dependent kinetics of myosin-V can explain its high processivity. *Nature Cell Biology*, 7(9) :861–869, September 2005.
- [170] Noam Weil and Oded Farago. Entropy-driven aggregation of adhesion sites of supported membranes. *The European Physical Journal E*, 33(1) :81–87, 2010.

- [171] Gary M Wessel, Jacqueline M Brooks, Emma Green, Sheila Haley, Ekaterina Voronina, Julian Wong, Victor Zaydfudim, and Sean Conner. The biology of cortical granules. *International review of cytology*, 209 :117–206, 2001.
- [172] B Widom, P Bhimalapuram, and Kenichiro Koga. The hydrophobic effect. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 5(15) :3085–3093, 2003.
- [173] K Wolff, D Marenduzzo, and ME Cates. Cytoplasmic streaming in plant cells : the role of wall slip. *Journal of The Royal Society Interface*, 9(71) :1398–1408, 2012.
- [174] F. G. Woodhouse and R. E. Goldstein. Cytoplasmic streaming in plant cells emerges naturally by microfilament self-organization. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(35) :14132–14137, August 2013.
- [175] Hsin-ya Yang, Karen McNally, and Francis J McNally. Mei-1/katanin is required for translocation of the meiosis i spindle to the oocyte cortex in *c. elegans*. *Developmental biology*, 260(1) :245–259, 2003.
- [176] Ahmet Yildiz, Michio Tomishige, Ronald D Vale, and Paul R Selvin. Kinesin walks hand-over-hand. *Science*, 303(5658) :676–678, 2004.

Sujet : Transport intracellulaire par des moteurs moléculaires : étude théorique

Résumé : Nous étudions dans cette thèse deux phénomènes de transport actif dans la cellule. Cette activité est induite par des moteurs moléculaires. Aujourd'hui leur fonctionnement général est bien compris, mais leurs interactions et fonctions spécifiques font émerger de nouveaux comportements.

Nous étudions en première partie l'extraction de tubes membranaires par la myosine 1b sur un faisceau d'actine. La myosine 1b est un moteur non processif, renforcé par la force. Il est impliqué dans une voie de transport membranaire au niveau de l'appareil de Golgi. Nous modélisons ce phénomène, en collaboration avec des expérimentateurs. Nous montrons que le renforcement par la force induit l'apparition d'un régime d'extraction par fluctuation géante, et abaisse le nombre de moteurs requis pour l'extraction. Les tubes extraits par des moteurs non processifs ne présentent pas de régime oscillatoire à l'inverse des moteurs processifs. La croissance du tube s'accompagne d'une déplétion ou accumulation de moteurs à son extrémité, selon sa vitesse. Le régime de déplétion n'est accessible qu'aux moteurs non processifs. Nos prédictions sont en bon accord avec les observations expérimentales.

En deuxième partie, nous étudions en collaboration avec des expérimentateurs l'écoulement cytoplasmique dans l'embryon de *C.elegans*. Sa fonction supposée est le mélange du cytoplasme. Son orientation se renverse aléatoirement. Son mouvement est supporté par des microtubules et des kinésines entraînant le reticulum endoplasmique au niveau cortical. Nous modélisons ce phénomène et montrons que la transition vers l'écoulement est une brisure spontanée de symétrie. Nos prédictions sont en bon accord avec les observations expérimentales. Le point de fonctionnement du système optimise les fluctuations de l'écoulement, qui pourraient être le mécanisme du mélange.

Mots clés : transport intracellulaire, moteur moléculaire, renforcement par la force, tube membranaire, écoulement cytoplasmique, bistabilité, phénomène hors équilibre, brisure de symétrie spontanée

Subject : Intracellular transport by molecular motors : a theoretical study

Abstract : In this thesis we study two active transport phenomena taking place inside the cell. They are powered by molecular motors. Motors general mechanisms are understood, but their interactions leads to emerging properties, and some of them have specialised functions.

In the first part, we study the extraction of membrane tubes by myosin 1b supported by actin bundles. Myosin 1b is a non processive motor with catch bond property. it is implied in membrane trafficking at the Golgi apparatus level. We model this phenomenon in the frame of a collaboration with experimentalists. We show that catch bond effect induces a regime where tube extraction requires a giant length fluctuation, and the minimal number of motors allowing extraction is decreased. Tubes extracted by non processive motors do not show oscillatory regime, on the contrary to processive motors. During tube growth motors can deplete or accumulate at the tip, according to their growth velocity. The first regime is possible with non processive motors only. Our predictions are in good agreement with experimental observations.

In the second part we study in collaboration with experimentalists the cytoplasmic streaming in *C.elegans*. Its function is supposed to be the mixing the cytoplasm. Its orientation reverses stochastically. Its movement is supported by microtubules and kinesins, that drive the endoplasmic reticulum at the cortical level. We model this phenomenon and show that the transition toward streaming is a spontaneous spatial symmetry breaking. Our predictions are in good agreement with the experimental observations. The parameters values of the system optimize flow fluctuations, this could be the mechanism driving the mixing.

Keywords : intracellular transport, molecular motor, catch bond, membrane tube, cytoplasmic streaming, dynamic instability, bistability, out of equilibrium phenomena, spontaneous symmetry breaking