



HAL
open science

Auto-organisation spatiale et mouvement dans la matière active cytosquelettique : le système kinésine-microtubule

Guillaume Sarfati

► **To cite this version:**

Guillaume Sarfati. Auto-organisation spatiale et mouvement dans la matière active cytosquelettique : le système kinésine-microtubule. Matière Molle [cond-mat.soft]. Sorbonne Université, 2023. Français. NNT : 2023SORUS223 . tel-04214878

HAL Id: tel-04214878

<https://theses.hal.science/tel-04214878>

Submitted on 22 Sep 2023

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 Sorbonne Université

Spécialité : Physique

École doctorale n°564: Physique en Île-de-France

réalisée

au Laboratoire Jean Perrin

sous la direction de André ESTEVEZ-TORRES et Jean-Christophe GALAS

présentée par

Guillaume SARFATI

Sujet de la thèse :

**Auto-organisation spatiale et mouvement dans
la matière active cytosquelettique : le système
kinésine-microtubule**

soutenue le 20 juin 2023

devant le jury composé de :

M.	COPPEY Mathieu,	Président du jury
Mme	SENGUPTA Kheya,	Rapportrice
M.	BLANCHOIN Laurent,	Rapporteur
M.	ESTEVEZ-TORRES André,	Directeur de thèse
M.	GALAS Jean-Christophe,	Co-directeur de thèse

Résumé

La matière active est un ensemble de composants individuels pouvant bouger isolément mais dont le couplage entraîne un comportement collectif. De ce fait il s'agit d'un matériau de choix pour observer un phénomène d'émergence, ou comment passer des propriétés individuelles aux propriétés collectives. Dans cette thèse nous avons utilisé une matière active microscopique à base de microtubules, des filaments du cytosquelette, et de kinésines, leurs moteurs associés. En ajoutant un polymère jouant le rôle d'agent déplétant, nous avons pu retrouver dans un unique système quatre différentes instabilités qui avaient jusqu'alors été observées uniquement dans des systèmes différents. Nous avons montré que ces instabilités étaient déterminées par la quantité d'agent déplétant ainsi que par la quantité d'ATP apportées au système, et en particulier que l'ATP était responsable d'une transition de phase en influant sur la nature des liens entre microtubules. Puis, en confinant ce même système actif dans des gouttes d'un diamètre de l'ordre de 100 μm , nous avons pu observer un mouvement de celles-ci avec notamment quatre comportements distincts, qu'il est possible de relier au mouvement de la matière active confinée.

Mots-clés : auto-organisation · mouvement · matière active · microtubule · kinésine · goutte

Abstract

Active matter is an assembly of individual components able to move separately, though their coupling induce collective behaviour. It is therefore an adequate material to observe emergence phenomena, or how to move from individual to collective properties. In this work, we used a microscopic active matter composed of cytoskeletal filaments, microtubules, and their associated motors, kinesins. By adding a polymer as a depleting agent, we were able to retrieve in an single system four different instabilities that had previously been observed only in different systems. We showed that these instabilities were determined by the amount of depleting agent and by the amount of ATP brought into the system. Particularly, ATP was responsible for a phase transition by influencing the nature of the links between microtubules. Then, by confining this same active system in droplets of around 100 μm diameter, we observed a movement of these droplets and identify four distinct behaviours that we can link to the movement of the confined active matter.

Keywords : self-organisation · motility · active matter · microtubule · kinesin · droplet

Remerciements

Le temps de la thèse est souvent décrit comme une épreuve, qui se ferait nécessairement dans la douleur. Je ne suis pas convaincu de cela mais j'ai par contre la certitude que c'est grâce à mon entourage que j'ai pu ne pas le vivre ainsi. Je voudrais donc remercier les différentes personnes qui ont été à mes côtés pendant ces années.

Tout d'abord, un très grand merci à André et Jean-Christophe. Je ne compte plus les fois où j'ai évoqué ma chance de vous avoir comme directeurs de thèse, surtout après des discussions avec d'autres doctorants. Car malgré nos avis parfois divergents, scientifiques ou non, et malgré mon entêtement, vous avez su rester toujours à l'écoute, trouver des propositions ou des solutions sans jamais me prendre de haut. Votre humilité et votre sincérité restent des modèles pour moi.

Merci aussi à tous ceux qui ont habité le laboratoire et permis de faire de celui-ci plus qu'une salle de manips et un ordi de traitement. Je pense notamment aux "poissons" Mattéo, Antoine, Guillaume, Julie, Monica, Leonardo qui contribuent autant aux pizzaminars qu'aux soirées jeux ; à Nidia, "happy" Nicolas dont la joie et le rire sont contagieux ; Marc et Yuliia dont l'accueil et l'aide m'ont été précieux. Et bien sûr le bureau 414 et son hospitalité chaleureuse, autant avec Nicolas, Darka, Natalia qui m'ont sans aucun doute ouvert l'esprit, qu'avec Alexandre, Amaury, Angelo, Romain (et bientôt Martin) et nos randonnées parisiennes.

Je voudrais également adresser un merci général, et sincère, à tous les membres du laboratoire Jean Perrin. Il y a bien sûr des choses critiquables, comme dans tout lieu de travail, mais le fait de pouvoir en parler sans crainte de représailles est précieux et cela est rendu possible uniquement par une volonté collective. L'ambiance accueillante, détendue et impliquée qui règne dans ce laboratoire est un trésor que vous créez et qui va me manquer.

J'en viens maintenant à sortir du laboratoire car il se trouve que je n'ai pas passé l'intégralité de mon temps au sein de celui-ci au cours de ces presque quatre dernières années.

Merci aux camarades, et en particulier Antoine, Constance, Jaspal, Gaël, Emmanuelle. Toquer aux portes et tracter sous la pluie n'est pas toujours drôle mais cela a été un plaisir de le faire avec vous et cela fait du bien de refaire le monde avec d'autres gens qui partagent nos idées et valeurs.

Merci aux partenaires de sabre : Florence, Laurent, Alan et Aurélie, là depuis le premier jour ; Romain, Virginie et Guillaume, depuis partis vers d'autres lieux ; et les autres habitués comme Alexis, Thomas, Audrey et Jérémie. Passer des dizaines de minutes en kimase aurait moins de sens si vous n'étiez pas là. Et merci au kwan jang nim Julien pour sa passion contagieuse, et dont l'exigence et la pédagogie m'aident beaucoup.

Merci aux amis d'école ou autre : William, Etienne, Majid, Ronan, Sophie, Clément, Nassim, Gaétan, Mousse, Laëtitia, Clotilde, Quentin et tous les autres pour nos nombreuses soirées jeux et discussions. Plus particulièrement je voudrais remercier Florence, sans qui je n'aurais probablement pas postulé à cette offre de thèse, et Maxime qui m'a permis d'animer à des festivals de jeux, m'offrant des moments d'aération au cours de ces années.

Merci à mes parents Richard et Isabelle, pour leur soutien permanent et inconditionnel et pour m'avoir permis d'arriver jusque là. Merci à ma soeur Marianne, vadrouilleuse de l'extrême et conteuse de talent, pour son écoute et sa présence aux moments importants. Merci à Timothé, que je considère comme mon frère, pour m'ouvrir des espaces hors de ma bulle et pour son honnêteté. Et merci à toute ma famille, trop nombreuse pour être citée entièrement mais à laquelle je tiens beaucoup, pour les valeurs de solidarité qu'elle m'a transmises, dans ses différentes interprétations.

Et enfin, merci à Cécilia. J'ai de la chance d'avoir une femme aussi exceptionnelle que toi dans ma vie. Merci pour ton soutien, ta compréhension, ton aide. En plus de faire mon bonheur quotidien, tu fais incontestablement de moi une meilleure personne.

Table des matières

Introduction	1
1 Le cytosquelette, un outil d'organisation et de motilité des cellules	5
1.1 Les composants du cytosquelette	6
1.1.1 L'actine	6
1.1.2 Les microtubules	7
1.1.3 Les filaments intermédiaires	9
1.1.4 Les septines	10
1.1.5 Les moteurs moléculaires	11
1.2 Reconstitution bio-mimétique d'un système cytosquelettique	13
1.2.1 Auto-organisation spatiale d'un gel actif	15
1.2.2 Organisation nématique de la matière active	18
1.3 Cadre de la thèse	22
2 Matériel et méthodes	23
2.1 Composants du gel actif	23
2.1.1 Microtubules	23
2.1.2 Kinésine	24
2.1.3 Réactifs	24
2.2 Préparation du gel actif	25
2.3 Formation des gouttes	25
2.3.1 Piège capillaire	25
2.3.2 Microfluidique	26
2.4 Visualisation	28
2.4.1 Passivation des lames de verre	28
2.4.2 Microscopie	28
2.5 Traitement	29
2.5.1 Vélocimétrie par images de particules (PIV)	29
2.5.2 Suivi des gouttes	29
2.6 Discussion	31

3	Auto-organisation spatiale de la matière active	33
3.1	Observation des quatre motifs spatiaux dans un système contrôlé	35
3.1.1	Ondulations intra et extra-planaires	35
3.1.2	Contractions locales et globales	36
3.1.3	Espace des phases	37
3.2	Hypothèse cinétique	41
3.3	Hypothèse de gélicification	43
3.3.1	Effet de la concentration de liens passifs	44
3.3.2	Modèle hydrodynamique	48
3.4	Conclusion et perspectives	49
4	Motilité de gouttes actives	51
4.1	Caractéristiques générales sur les gouttes	51
4.1.1	Considérations géométriques	51
4.1.2	Formation du nématique actif	54
4.1.3	Comportement du nématique actif	57
4.2	Caractérisation du mouvement des gouttes	58
4.2.1	Dérive	59
4.2.2	Immobilisme	61
4.2.3	Mouvement actif chaotique	62
4.2.4	Mouvement actif périodique	63
4.3	Déterminants du comportement des gouttes	65
4.3.1	Taille de la chambre	65
4.3.2	Influence du type de nématique	66
4.4	Conclusion et perspectives	67
	Conclusion et perspectives	69
A	Article publié dans Soft Matter en avril 2022	71
B	Hydrodynamic theory : Instabilities of nematic gels	81
B.1	The fluid limit	83
B.2	The nematic elastomeric limit	89
B.3	Deformation of a nematic fluid film suspended in the middle of the channel	94
C	Géométrie des gouttes	97
C.1	Calcul géométrique	97
C.1.1	Volume	97
C.1.2	Surface	98

D Faire de la recherche dans un monde fini : le cas du laboratoire Jean Perrin	99
D.1 Connaissances diverses autour de l'écologie	99
D.1.1 Influences du milieu techno-scientifique	100
D.1.1.1 Limites planétaires et lien avec l'économie	100
D.1.1.2 Alexandre Grothendieck et la critique de l'institution scientifique	106
D.1.1.3 Jean-Marc Jancovici et l'ingénierie	107
D.1.2 Sortir des sciences dures	108
D.1.2.1 Effet rebond	109
D.1.2.2 Excuses de l'inaction	110
D.1.2.3 Points de leviers pour changer un système	111
D.2 Du savoir à l'action : illustration dans la recherche et le Laboratoire Jean Perrin	112
D.2.1 Une catastrophe annoncée	113
D.2.2 Prise de conscience dans la recherche	114
D.2.3 Actions au laboratoire Jean Perrin	115
D.3 Conclusion et perspectives	119
Bibliographie	121

Introduction

« *Est-ce que vous pensez qu'un jour, l'humain pourra créer une vie artificielle ?* » Cette question m'a été posée par un visiteur lors d'un évènement de vulgarisation scientifique alors que notre groupe présentait une partie de son travail. Évidemment, nous sommes bien loin d'une telle chose mais l'ambition affichée du groupe de recherche dans lequel j'ai effectué ma thèse « *Comprendre l'émergence de l'ordre dans le vivant, particulièrement lors de la morphogénèse* » ainsi que sa volonté de « *développer une morphogénèse artificielle* » [1] peut pousser à se poser cette question. Cette quête de reconstruction de la vie est par ailleurs très partagée, par des domaines assez divers comme la biologie synthétique, les nanotechnologies ADN ou bien les matériaux biomimétiques.

Dans notre cas, nous considérons le développement d'un embryon multicellulaire, vu comme un ensemble de quatre étapes [2] :

- Structuration : formation de motifs chimiques qui vont orienter les cellules ;
- Morphogénèse : mouvement des cellules pour acquérir une forme ;
- Différentiation : spécialisation des cellules ;
- Croissance : multiplication des cellules et gain en masse.

La morphogénèse est donc une de ces quatre étapes, qui permet l'apparition de formes, comme celle des différents doigts d'une main, et de motifs, comme les rayures d'un zèbre. L'aspect remarquable de ceci est que les cellules sont alors toutes semblables, mais qu'elles vont tout de même agir différemment afin de s'ordonner collectivement. On parle alors d'émergence.

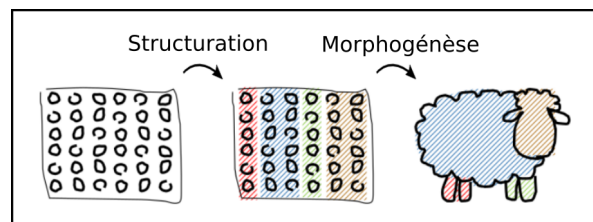


FIG. 0.1 *Illustration des deux premières étapes de la formation d'un embryon.*

L'émergence est un concept qui s'étend au-delà de la simple formation de l'embryon (sociologie, économie, internet, intelligence artificielle, neurosciences, politique...) et qui pourrait se résumer comme le fait qu'un tout est plus que la somme de ses parties. Des propriétés collectives particulières découlent alors de propriétés fondamentales à l'échelle individuelle. Un exemple de ce phénomène est celui du Jeu de la Vie [3]. Il s'agit d'un automate cellulaire où quelques règles simples régissent la

naissance ou la mort de cases (appelées cellules) d'une grille à deux dimensions. Selon la disposition initiale de quelques cellules vivantes, il est alors possible d'arriver à de nombreux motifs différents.

Sans entrer dans les détails de ce concept, notons que l'émergence est souvent associée avec la notion de rétroaction. En effet, dans le cas de la morphogénèse par exemple, l'ordre vient des règles simples régissant le déplacement des cellules mais également d'une rétroaction du système formé sur les signaux chimiques permettant le déplacement (Fig 0.2).

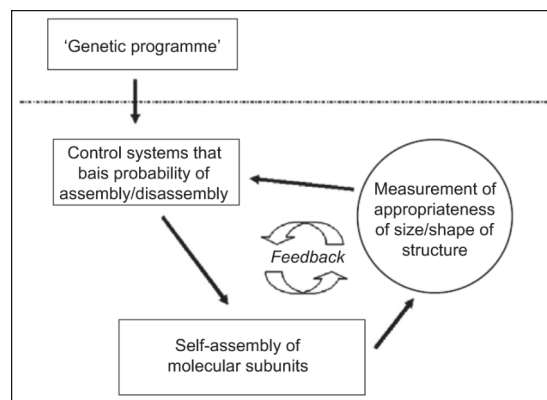


FIG. 0.2 Schéma de la boucle de rétroaction permettant la morphogénèse. Le code génétique va engendrer des signaux chimiques qui vont générer un mouvement et donc des formes qui vont influencer sur les motifs des signaux chimiques. Adapté de [4].

Pour recréer ce mécanisme, de manière simplifiée, le groupe de recherche *Morphogénèse dans des systèmes moléculaires* a choisi d'utiliser de l'ADN programmable pour produire des signaux chimiques [5] et de la matière active pour générer un mouvement, tout en essayant de les coupler [6, 7]. Ce travail de thèse se concentre sur la partie du mouvement en employant de la matière active.

La matière active est un ensemble de composants individuels, chacun capable de consommer de l'énergie et de la restituer sous forme d'un travail mécanique ou d'un mouvement. Il s'agit donc d'un composé de choix pour observer une émergence. C'est d'ailleurs ce que l'on constate avec les formes les plus macroscopiques d'une telle matière comme les nuées d'oiseaux ou les bancs de poissons. Les cellules sont un exemple de matière active microscopique, tandis qu'il est possible de former de la matière active artificielle avec l'utilisation de colloïdes mis en mouvement par un champ électrique [8] (Fig 0.3). Nous utiliserons ici de la matière active microscopique, composée de protéines du cytosquelette, en cherchant à comprendre quels sont les paramètres qui vont diriger son mouvement et permettre sa structuration spatiale, afin d'ouvrir la possibilité de coupler celle-ci avec les signaux chimiques d'un système d'ADN programmable.

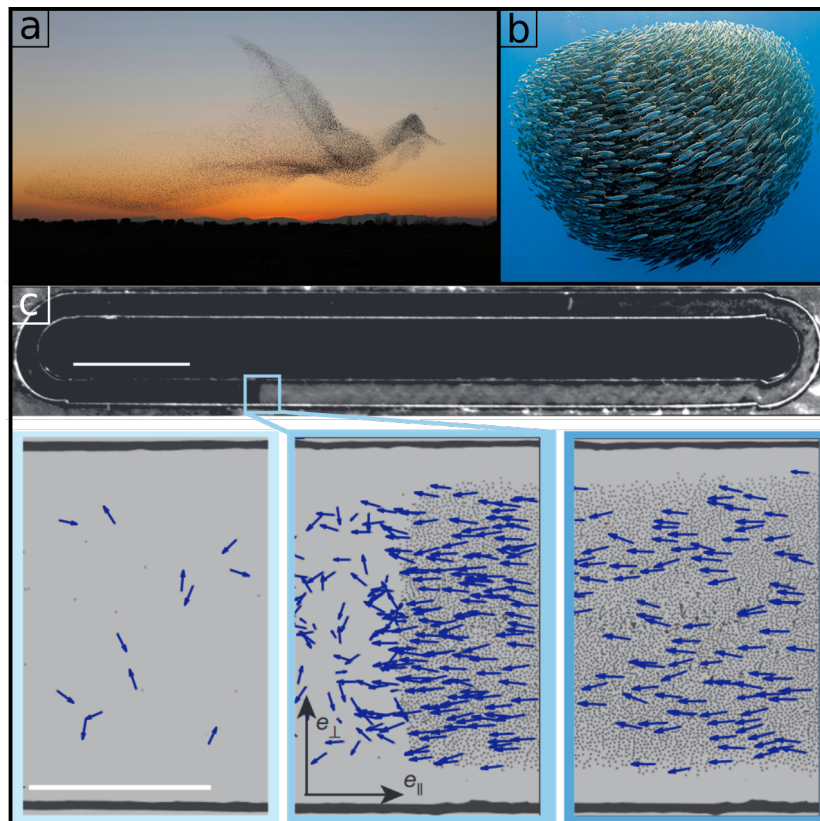


FIG. 0.3 *Exemples de matière active. a) Murmure d'étourneaux. Photo de Daniel Biber. b) Banc de chinchards. c) Matière active composée de colloïdes de poly(methyl methacrylate). Adapté de [8].*

Cette thèse est composée de 4 chapitres. Dans le chapitre 1, nous allons d'abord présenter le matériel biologique utilisé pour former de la matière active microscopique, ainsi que le comportement de ces systèmes à base de protéines du cytosquelette, et principalement de microtubules et kinésines. Dans le chapitre 2, nous allons expliciter les méthodes expérimentales utilisées au cours de ce travail de thèse. Dans le chapitre 3, nous allons voir que de nombreux comportements d'auto-organisation spatiale peuvent être retrouvés avec un même système, en faisant varier deux paramètres dont l'un sera explicité en particulier. Dans le chapitre 4, nous décrirons les différents comportements constatés lors de l'encapsulation de notre système actif dans des gouttes d'eau dans l'huile, avec en particulier l'observation d'un mouvement de goutte périodique. En plus de ceux-là, un cinquième chapitre est fourni en annexe D. Celui-ci ne porte pas sur la matière active cytosquelettique mais constitue un pas de côté avec une réflexion sur le rôle de la recherche dans un contexte écologique préoccupant, et une quête d'un lien entre le savoir des individus et l'action collective dans le cas spécifique du laboratoire Jean Perrin.

Chapitre 1

Le cytosquelette, un outil d'organisation et de motilité des cellules

Les cellules sont des éléments constitutifs du vivant, capables de se mouvoir, de se diviser et d'interagir avec leur environnement. Leur structuration interne, ainsi que leur mouvement, provient de l'organisation du cytosquelette, un ensemble de protéines aux fonctions diverses. Par exemple, le cytosquelette est de première importance lors de la division cellulaire (Fig 1.1).

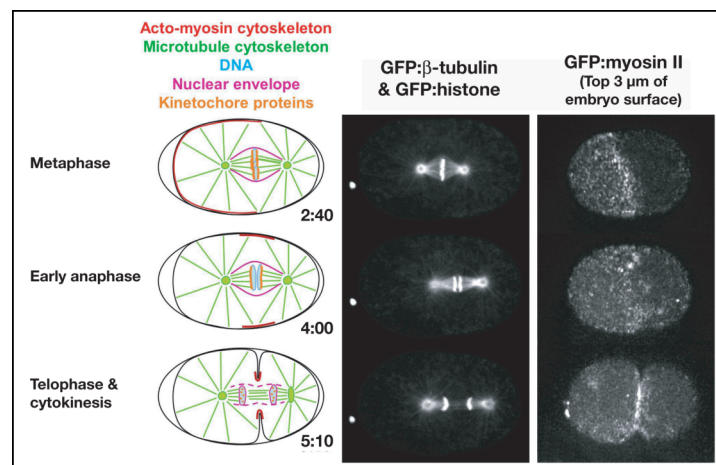


FIG. 1.1 Représentation de trois phases de la division cellulaire. Schémas de ces phases, avec le temps indiqué en min :sec (gauche). Images par microscopie confocale à fluorescence de ces mêmes phases, la tubuline et l'ADN apparaissent en blanc (centre). Images par microscopie confocale à fluorescence de ces mêmes phases, l'actine apparaît en blanc (droite). Adapté de [9].

Nous allons d'abord présenter les composants de ce cytosquelette avant de voir différents systèmes de matière active utilisant ce matériel biologique et en particulier ceux à base de microtubules et kinésines utilisés dans la suite de la thèse.

1.1 Les composants du cytosquelette

Le cytosquelette est composé de quatre familles de filaments [10] ainsi que de leurs protéines associées. Ces filaments remplissent des fonctions différentes et ne sont pas tous situés aux mêmes endroits de la cellule mais ils interagissent ensemble (Fig 1.2). Nous allons présenter ici ces quatre familles (actine, microtubules, filaments intermédiaires, septines) ainsi que quelques moteurs moléculaires dont les kinésines, que nous utiliserons par la suite.

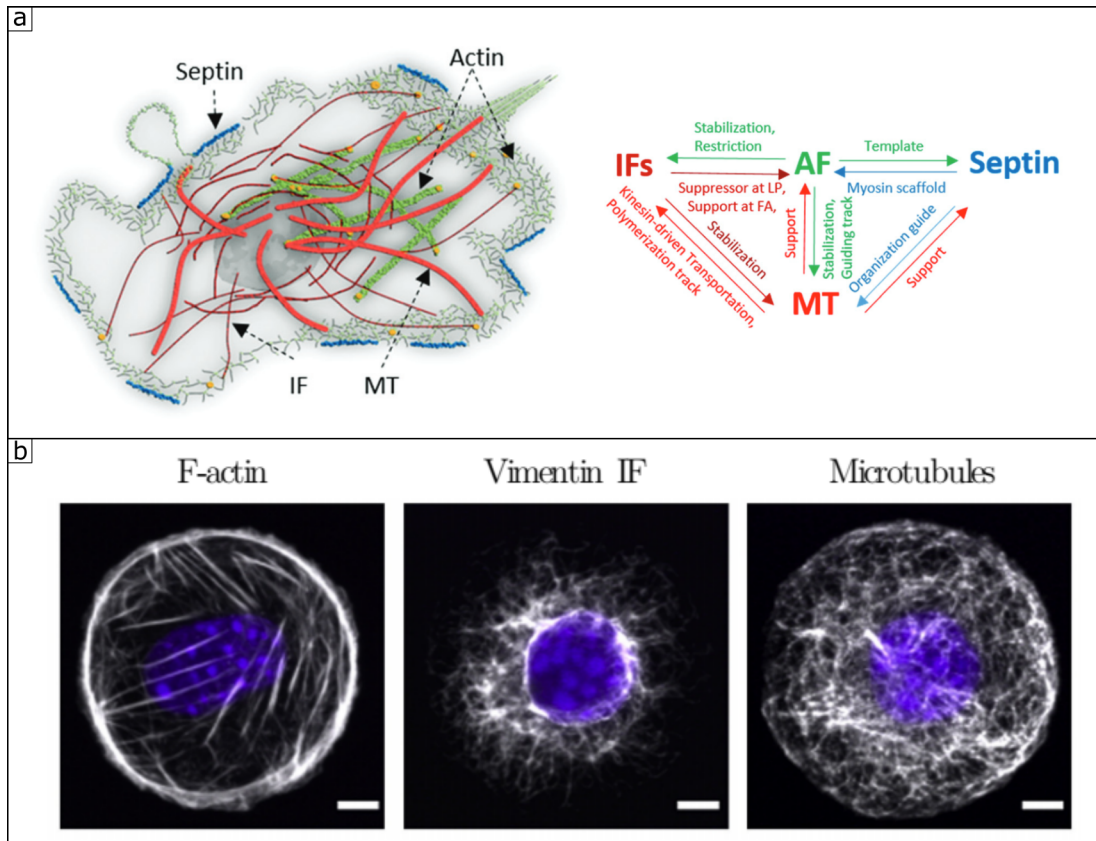


FIG. 1.2 Composition du cytosquelette. a) Schéma représentant les différents composants du cytosquelette dans la cellule, ainsi que leurs principales interactions. AF : Actine-F. IFs : Filaments intermédiaires. MT : Microtubules. Adapté de [10]. b) Images par immunofluorescence et contraste de phase de cellules NIH/3T3 sur des motifs circulaires, où l'actine-F, la vimentine (filament intermédiaire) et les microtubules et le noyau (en bleu) ont été marqués. Barre d'échelle 5 µm. Adapté de [11].

1.1.1 L'actine

L'actine F est un filament polaire composé de monomères d'actine globuleuse (actine G), une protéine de 42 kDa et 5 nm de longueur, formés de deux protofilaments disposés en double hélice (Fig 1.3a) et dont le diamètre est compris entre 5 nm et 9 nm. La polymérisation se fait lorsque la concentration d'actine G est supérieure à une concentration critique, en présence de sels et d'ATP.

Les sels permettent l'écrantage des protéines d'actine G afin de favoriser leur rapprochement tandis que l'ATP change la conformation du monomère ce qui va engendrer le processus de polymérisation, qui se fait en trois étapes (Fig 1.3b). La nucléation, étape limitante, consiste en l'association de trois protéines d'actine G pour former un oligomère. Puis cet oligomère va s'agrandir au cours de la phase d'élongation, où les monomères vont s'accrocher aux deux bouts du filament. La polymérisation va ensuite faire baisser la concentration de monomères jusqu'à atteindre la concentration critique. Il s'agit alors de la phase stationnaire où la longueur du filament ne va pas évoluer. Du fait de la polarité du filament, la polymérisation va cependant être plus rapide à une extrémité, appelée bout (+), qu'à l'autre, appelée bout (-). L'actine sert par exemple à la contraction des cellules musculaires, aux lamellipodes permettant à la cellule d'explorer son environnement ou au cortex d'actomyosine donnant des propriétés viscoélastiques à la cellule. Elle est pour cela aidée par ses protéines associées telles que la myosine, un moteur moléculaire, ou la fascine, qui lie différents filaments d'actine.

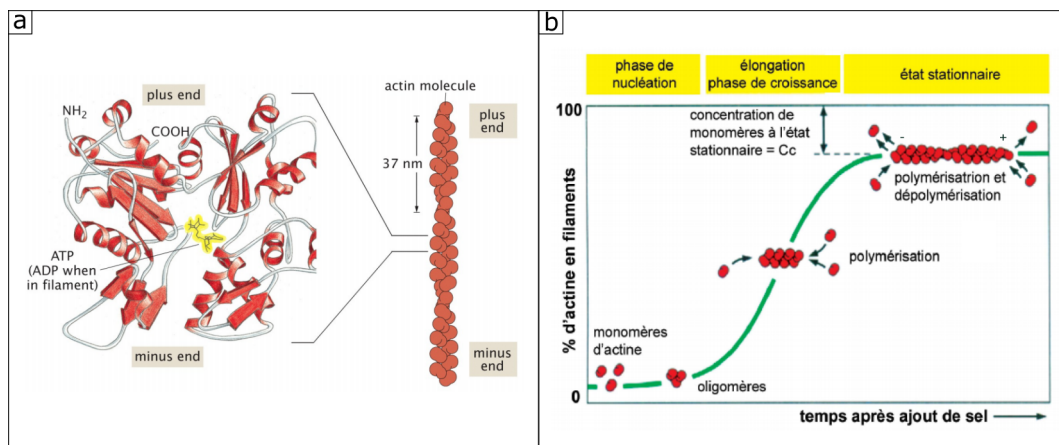


FIG. 1.3 Polymérisation de l'actine-F. a) Schéma représentant la structure de l'actine-G et de l'actine-F. Adapté de [12]. b) Schéma de la cinétique de polymérisation de l'actine in vitro. Adapté de [13].

1.1.2 Les microtubules

Les microtubules sont des filaments polaires composés de 13 protofilaments, disposés de façon cylindrique, eux-mêmes constitués d'une suite alternée de monomères de tubuline α et β (qui forment ensemble des dimères de 100 kDa). Le cylindre final a un diamètre de 25 nm et une longueur de persistance de plusieurs millimètres, bien plus grande que le diamètre d'une cellule, qui en fait le filament le plus rigide du cytosquelette (Fig 1.4a).

La polymérisation présente les trois mêmes étapes que l'actine (nucléation, élongation et phase stationnaire) et se fait habituellement en présence de GTP. En effet les dimères de tubuline s'ajoutant à l'extrémité d'un microtubule sont liés à une molécule de GTP qui sera hydrolysée par la suite en GDP (perte d'un groupe phosphate). Cette hydrolyse n'est pas nécessaire à la polymérisation et est au contraire, en changeant la conformation du dimère de tubuline (compaction),

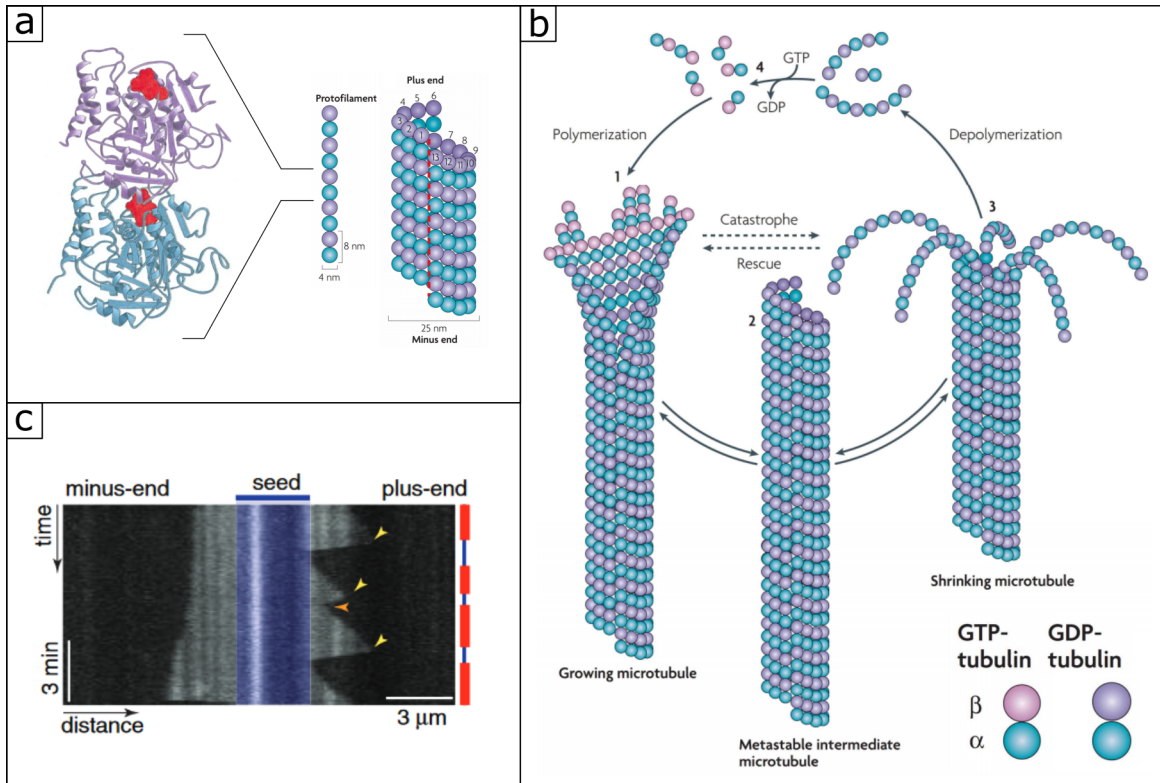


FIG. 1.4 Polymérisation d'un microtubule. a) Schéma représentant la structure de la tubuline et d'un microtubule. Adapté de [12, 14]. b) Schéma de la cinétique de l'instabilité dynamique. Adapté de [14]. c) Kymographe de la polymérisation d'un microtubule. Sur l'extrémité (+) du microtubule ont lieu de rapide polymérisations et dépolymérisation (instabilité dynamique), tandis que l'extrémité (-) est stable ou connaît une faible polymérisation. Les flèches jaunes pointent les catastrophes, la flèche orange correspond à un sauvetage, tandis que les rectangles rouges situent les polymérisations. Adapté de [15].

une source de déstabilisation du microtubule qui favorise une dépolymérisation. C'est pourquoi l'utilisation d'un analogue non-hydrolysable de la GTP, telle que la GMPCPP, permet de stabiliser les microtubules polymérisés, en conservant la forme non compactée du dimère de tubuline. Pour plus de ressources sur la stabilisation des microtubules, il est possible d'aller voir la revue de Bailey *et al.* [16].

Lors de la polymérisation, l'hydrolyse du GTP ne se fait cependant pas immédiatement et c'est pourquoi à l'extrémité du microtubule en cours de polymérisation se trouve un ensemble de dimères de tubuline-GTP qui forme une *capsule-GTP* [17], facteur de stabilisation du polymère. Au-delà de cette capsule-GTP la grande majorité du corps des microtubules est formée de tubuline-GDP déstabilisante, ce qui peut causer une brusque dépolymérisation, appelée catastrophe. Cette catastrophe va durer jusqu'à une étape appelée sauvetage, qui va faire reprendre la croissance du microtubule. Durant la phase stationnaire a lieu une activité composée de nombreuses catastrophes et sauvetages, nommée instabilité dynamique (Fig 1.4b). Il est possible de voir que cette instabilité

dynamique se fait sur une extrémité seulement du microtubule, l'extrémité (+). En effet, la polarité du microtubule fait que la polymérisation se fait préférentiellement sur cette extrémité même si le microtubule peut également s'agrandir par son extrémité (-), plus lentement (Fig 1.4c).

Dans la suite nous appellerons microtubules dynamiques une solution de tubuline avec GTP, dans laquelle on assiste à la polymérisation des microtubules, ainsi qu'à leur instabilité dynamique. Par opposition, les microtubules stabilisés consisteront en des microtubules déjà formés, à l'aide de GMPCPP, ou bien en présence de paclitaxel. Ce dernier est une petite molécule qui se lie au monomère de tubuline β , sur la surface interne des microtubules. Ce faisant elle supprime la compaction du dimère, tout en lui permettant davantage de conformations [18]. Cela permet alors au microtubule d'être plus flexible qu'un microtubule dynamique ou bien qu'un microtubule stabilisé avec du GMPCPP. Il est à noter que la plupart des protéines associées aux microtubules se lient mieux à la tubuline GDP, qui constitue habituellement la majeure partie du filament de microtubule.

In vivo, les microtubules servent en particulier au transport intracellulaire, ainsi qu'à la séparation des chromosomes lors de la division cellulaire.

1.1.3 Les filaments intermédiaires

Les filaments intermédiaires sont un groupe hétérogène de polymères apolaires constitués de monomères fibrillaires, se distinguant ainsi de la polarité et des monomères globulaires de l'actine et des microtubules. Leur diamètre est d'environ 10 nm et ils sont très flexibles, leur longueur de persistance étant d'environ 1 μm . Cette large famille de protéines est catégorisée en six différents types, qui se caractérisent par leurs structures et qui vont se situer dans différents types de cellules [19].

Leur polymérisation se fait de manière spontanée, sans source d'énergie. Les monomères se regroupent en tétramères formés de deux dimères anti-parallèles légèrement décalés. Ces tétramères forment ensuite des protofilaments de 2 nm de diamètre qui vont s'assembler pour former le filament intermédiaire (Fig 1.5a). Celui-ci a alors la particularité de ne pas s'allonger par les extrémités, dans un équilibre direct avec les monomères en solution, comme l'actine ou les microtubules. Les filaments intermédiaires peuvent cependant s'associer les uns aux autres par leurs bouts, ou bien échanger une sous-unité tétramérique qui n'est pas à une extrémité avec une autre en solution [20] (Fig 1.5b).

Les filaments intermédiaires servent en particulier à l'adhésion de la cellule à son extérieur (autre cellule ou matrice extra-cellulaire) et à la constitution de la paroi du noyau.

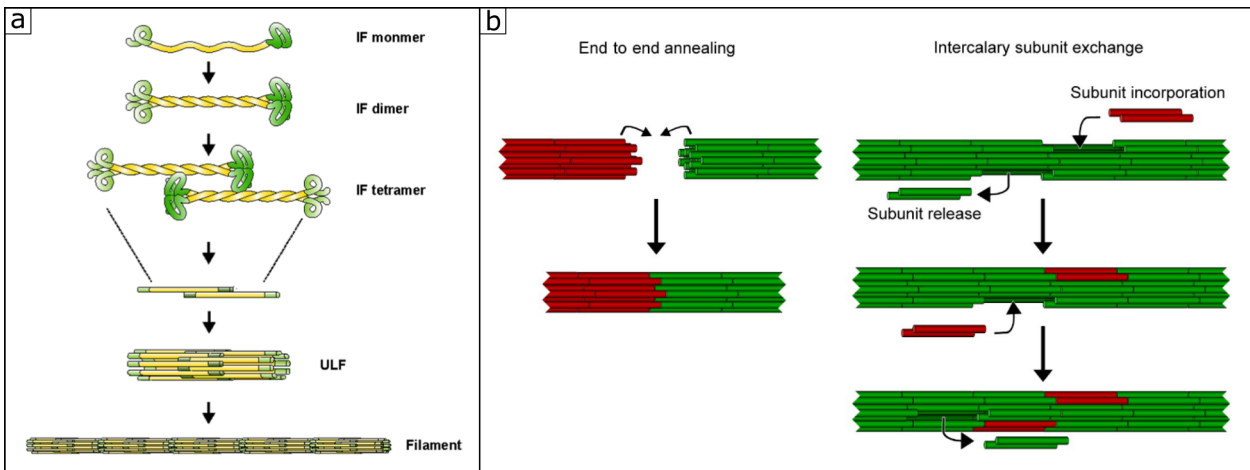


FIG. 1.5 Polymérisation d'un filament intermédiaire a) Schéma de la constitution d'un filament intermédiaires à partir de monomères. Adapté de [21]. b) Schéma de mécanismes d'agrandissement du filament intermédiaire bout-à-bout, et d'échange de sous-unités (droite). Adapté de [20].

1.1.4 Les septines

Les septines sont des polymères filamenteux apolaires, constitués de monomères de 30 à 65 kDa. Ceux-ci forment des hexamères ou des octomères qui s'associent pour former des filaments. Ces filaments vont ensuite se regrouper pour former diverses structures comme des faisceaux, des anneaux ou bien des cages (Fig 1.6).

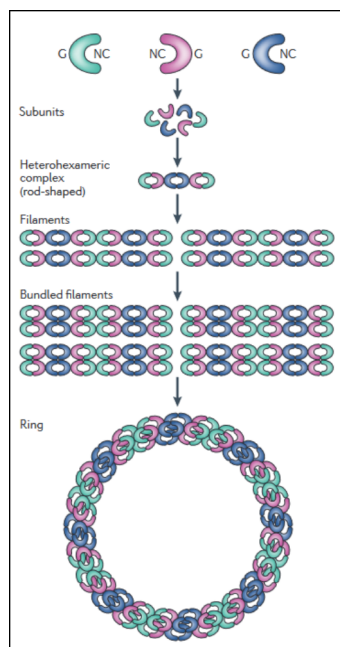


FIG. 1.6 Schéma de polymérisation de septine. Adapté de [21].

Les septines n'ont été considérées comme faisant partie du cytosquelette que récemment et n'ont

pas encore été autant étudiées que les autres composants. Cependant, leur rôle a déjà été remarqué dans la division cellulaire ou dans la formation de barrières diffusantes.

1.1.5 Les moteurs moléculaires

De nombreuses protéines sont associées aux filaments évoqués ci-dessus. Parmi celles-ci, nous allons parler des moteurs moléculaires. Il s'agit d'un type de protéine qui va exercer une force sur les filaments en consommant de l'énergie. Il en existe trois grandes catégories, dont nous allons parler brièvement ici, les myosines, les dynéines et les kinésines.

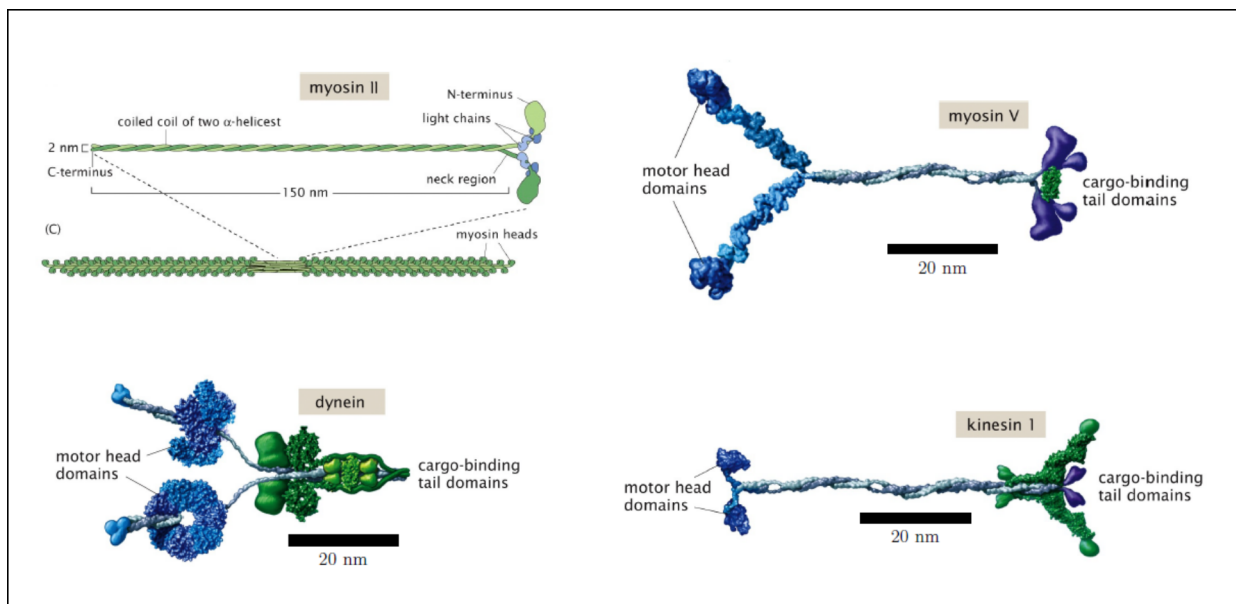


FIG. 1.7 Représentations de moteurs moléculaires. Les myosines se déplacent sur les filaments d'actine, les kinésines et dynéines se déplacent sur les microtubules. Adapté de [12, 22].

Les myosines sont une catégorie de moteurs se déplaçant sur les filaments d'actine, pour la plupart vers son extrémité (+). Il existe près d'une vingtaine de myosines répertoriées, avec des propriétés, structures et fonctions différentes. Les plus étudiées sont la myosine II, qui sert en particulier dans la contraction musculaire, et la myosine V, qui sert au transport de charges dans la cellule. La myosine II est constituée de deux chaînes lourdes (200 kDa chacune), formant la queue de la myosine, ainsi que de deux paires de chaînes légères (20 kDa chacune), chaque paire étant associée à une tête de myosine (Fig 1.7). Les myosines II peuvent s'associer entre elles par leurs queues, formant ainsi un filament épais de myosines, bipolaire, dont les têtes peuvent s'accrocher à des filaments d'actine. Ce faisant, elles peuvent exercer une force sur les filaments d'actine en hydrolysant des molécules d'ATP, selon le mécanisme présenté Fig1.8a. Les myosines V sont également composées de trois domaines avec une tête qui joue le rôle de moteur, un cou et une queue, qui ici sert à lier des charges qu'elle se chargera de transporter. Le mécanisme de mouvement par hydrolyse de l'ATP est semblable à celui de la myosine II. La fonction principale de ces myosines est

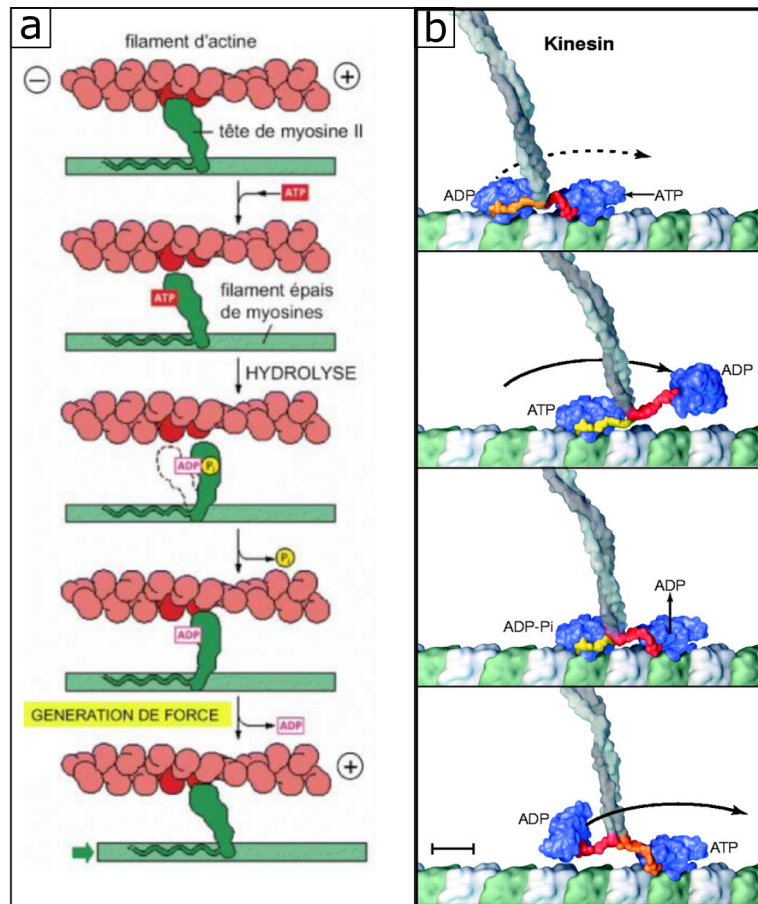


FIG. 1.8 Mécanisme de fonctionnement de deux types de myosine. a) Mécanisme d'une tête de myosine II, attachée à un filament épais de myosines II. Adapté de [13]. b) Mécanisme d'un dimère de kinésine-1. Chaque tête hydrolyse une molécule d'ATP pour faire un pas grâce à un changement de conformation. Adapté de [24].

de transporter des organelles sur de courtes distance, en général après un transport longue distance sur des microtubules [23].

Les dynéines sont une catégorie de moteurs se déplaçant sur les microtubules, en général vers leur extrémité (-). Elles sont divisées en deux classes : les dynéines cytoplasmiques agissant à l'intérieur de la cellule, pour déplacer des organelles le long des microtubules, et les dynéines axonémales qui sont sur les axonèmes, c'est-à-dire les microtubules constituant des cils ou des flagelles de cellules eucaryotes (comme le flagelle du spermatozoïde), et qui permettent leur mouvement. Comme les myosines V, elles possèdent un domaine de tête qui joue le rôle de moteur en hydrolysant de l'ATP, et un domaine de queue qui se lie aux charges à transporter. Les dynéines sont bien plus lourdes que les myosines et les kinésines (de l'ordre du MDa).

Les kinésines sont une catégorie de moteurs se déplaçant sur les microtubules également, en général vers l'extrémité (+). Elles sont divisées en 14 familles (de kinésine-1 à kinésine-14) [25]. Comme les autres moteurs, elles sont constituées d'un domaine capable d'hydrolyser l'ATP, la tête, qui s'attache à un microtubule, et qui est relié à une tige et une queue. La famille kinésine-1

regroupe des dimères, ou les monomères sont associés par leur tige (Fig 1.7) tandis que la kinésine-3 existe également en tant que monomère [26], et que la kinésine-5 est un tétramère, ce qui lui permet de se lier à deux microtubules [27]. La kinésine-1, qui sera utilisée dans la suite de la thèse, servant à transporter des organelles à l'intérieur de la cellule, sa queue peut se lier à des charges. Son déplacement se fait de manière processive, en alternant le déplacement de chaque tête [28], réalisant ainsi des pas de 8 nm de long [29] pour chaque molécule d'ATP hydrolysée [30] (Fig 1.8b). Il existe également des kinésines non-processives. Par exemple Hancock *et al.* [31] ont réussi à créer un mutant de la kinésine-1 en ne conservant qu'une seule des deux têtes du dimère. La kinésine-14 Ncd est également un moteur non processif [32] qui se déplace de manière hélicoïdale autour du microtubule [33] et ce n'est pas sa seule particularité car elle à un déplacement dirigé vers l'extrémité (-) du microtubule, alors que la plupart des kinésines se dirigent vers l'extrémité (+). Les fonctions des kinésines diffèrent selon les familles et sont aussi variées que le transport d'organelles, la division cellulaire et la polymérisation des microtubules [34].

1.2 Reconstitution bio-mimétique d'un système cytosquelettique

Pour étudier le fonctionnement de l'ensemble filament-moteur, un procédé historique appelé gliding consiste à attacher des moteurs à une surface pour y faire circuler des filaments [35] (Fig 1.9). Ce procédé peut servir à quantifier des valeurs à l'échelle individuelle, comme les caractéristiques mécaniques d'un microtubule [36], mais également à observer des comportements collectifs en augmentant la concentration surfacique des filaments. Ainsi il est possible d'observer des vortex de filaments (Fig 1.9), que ce soit pour l'actine sur un lit de myosine [37], ou bien pour des microtubules sur lit de dynéines [38] ou de kinésines. Pour ce dernier cas il a été constaté un lien entre la taille de ces vortex et la longueur et la rigidité des microtubules [39].

Les mouvements collectifs peuvent également être favorisés en facilitant les liens entre différents microtubules, formant ainsi des faisceaux via un polymère jouant le rôle d'agent déplétant [40, 41] ou bien un lien chimique [42]. Par exemple, en utilisant de l'ADN en tant que lien chimique, il est possible de programmer les comportements collectifs observables [43]. Pour cela, les microtubules sont marqués avec de courts brins d'ADN ce qui permet de les lier quand on ajoute le brin complémentaire. En utilisant des filaments d'actine plutôt que des microtubules, plusieurs protéines peuvent être employées pour jouer ce rôle de lien chimique. Selon la protéine utilisée, il est alors possible de changer le comportement collectif en conduisant à des contractions ou à une stabilité du réseau d'actine à la place des vortex [44].

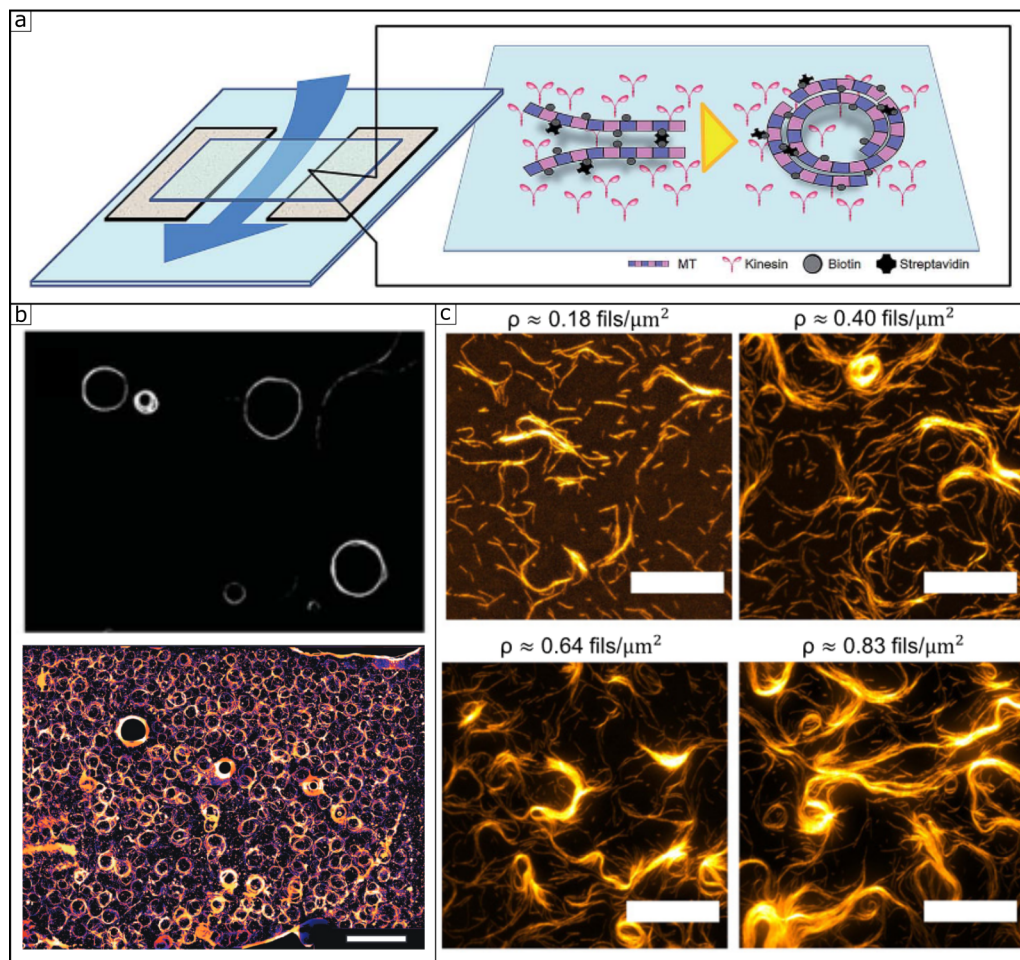


FIG. 1.9 Organisations obtenues par glisse de filaments sur des moteurs fixés à une surface. a) Schéma représentant le principe de l'expérience, ici des microtubules sur des kinésines. Dans ce cas précis les microtubules sont marqués avec des biotines ce qui permet de former des liens chimiques entre eux en ajoutant de la streptavidine. Adapté de [39]. b) Photos de vortex de microtubules. Adapté de [39, 38]. c) Photos de vortex d'actine pour différentes densités de filaments. Adapté de [37].

Ce procédé limite cependant le mouvement à une surface et la vitesse de déplacement à celle que peut engendrer un moteur, car ceux-ci sont fixés à une surface immobile. Cette façon de procéder a aussi pour conséquence de se focaliser sur le comportement et l'organisation des filaments en général, et des microtubules en particulier. Pourtant, quand on permet aux kinésines de se détacher de la surface, on remarque une réorganisation de celles-ci [45]. En effet, avec une situation initiale où les kinésines recouvrent toute la surface, on se retrouve en quelques heures avec des kinésines concentrées là où se trouvent les microtubules. Nous allons voir par la suite les phénomènes pouvant se produire quand on considère des gels actifs en volume, et que la disposition des moteurs y joue un rôle clé.

1.2.1 Auto-organisation spatiale d'un gel actif

Tout d'abord, nous allons voir ici qu'il est possible d'obtenir davantage de mouvements collectifs avec un gel actif, c'est-à-dire une solution de moteurs et filaments observée dans un volume. Ainsi, les premiers travaux sur ces réseaux actifs ont permis de visualiser des asters [46], agrégats de microtubules en forme d'étoile, et des vortex [47], semblables aux asters mais avec un manque de microtubules au centre de la structure et une hélicité gauche ou droite, en associant ces microtubules avec des agrégats de kinésines. Les kinésines, comme vu en 1.1.5, se déplacent alors vers les extrémités (+) des microtubules et forment ces motifs en s'y accumulant [48], à l'extrémité pour les asters et peu avant celle-ci pour les vortex (Fig 1.10). Ainsi, en contrôlant les ratio vitesse de déplacement des moteurs/vitesse de polymérisation des microtubules et nombre de moteurs/nombre de microtubules, il est possible de contrôler l'accumulation des moteurs et donc les motifs engendrés par un tel système. Il deviendrait même possible de recréer un motif de fuseau semblable à celui de la métaphase (Fig 1.1) en utilisant différents types de moteurs [49].

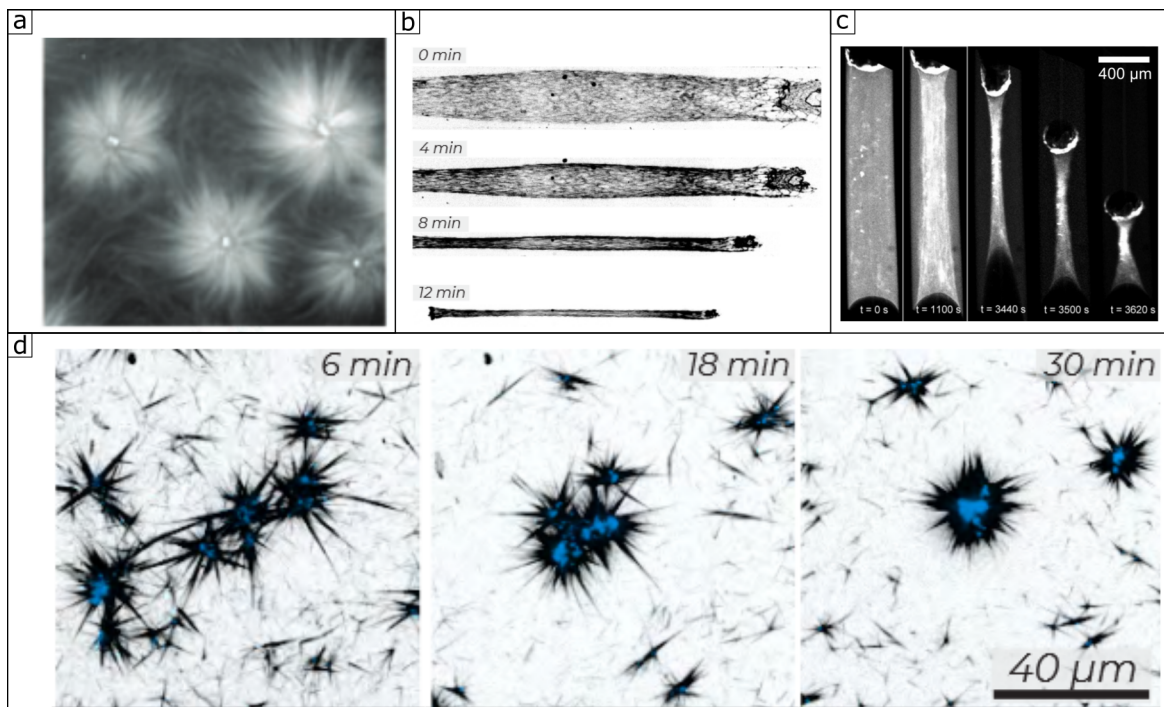


FIG. 1.10 Images de contractions de réseaux actifs de filaments du cytosquelette. a) Asters de microtubules (en blanc). Adapté de [48]. b) Contraction globale d'un réseau de microtubules (en noir). Adapté de [50]. c) Contraction globale d'un réseau d'actine (en blanc). Adapté de [51]. d) Contractions locales au cours du temps d'un réseau de microtubules (en noir). Les kinésines s'accumulant au centre sont visibles en bleu. Adapté de [50].

Ces mêmes structures ont également été observées dans des systèmes actine-myosine, en présence de fascine [52]. Celle-ci est une protéine liante, qui permet donc de former des faisceaux de

filaments d'actine. Avec un tampon ionique moins concentré [53], ou bien une plus grande quantité de moteurs [54], ce système a également pu montrer des contractions globales ainsi que des corrugations (ondulations extra-planaires). Une explication de ce passage de contraction locale (aster) à contraction globale est avancée par Alvarado *et al.* [55], avec une influence de la connectivité du réseau, un réseau avec plus de connections conduisant à une contraction globale. Au moment du début de ma thèse, des contractions globales avaient déjà été observées pour des systèmes à base de microtubules [56], obtenues avec des microtubules stabilisés et pour de plus faibles ratios moteur/filament que pour les contractions locales [57]. Ces transitions ont par la suite été davantage étudiées [50, 58, 59] et nous en parlerons plus précisément dans le chapitre 3.

Très récemment, dans l'optique de faire un pas de plus dans la reconstitution du cytosquelette, certains travaux ont combiné des réseaux d'actine avec des réseaux de microtubules. Ainsi des microtubules ont été mis en mouvement sur un tapis de kinésines, à l'instar du procédé décrit plus haut, mais en y associant un réseau d'actine [60]. On constate alors qu'en plus de l'auto-organisation de chaque réseau, l'actine guide les microtubules qui en retour organisent le réseau d'actine. Cela crée une boucle de réorganisation qui permet un gain d'ordre du système, avec des filaments plus alignés les uns avec les autres. Dans des systèmes 3D, on constate que les deux réseaux de microtubules et d'actine vont gagner en connectivité du fait de la présence de l'autre sorte de filaments. Cela reste valide quels que soient les moteurs utilisés pour générer l'activité : des kinésines [61] ou bien des myosines [62].

Les différentes contractions observées sont liées à une accumulation des kinésines aux extrémités des microtubules [48, 50], regroupant celles-ci à un même endroit (Fig 1.10). Pour éviter cette accumulation, une solution est de former des faisceaux de filaments faiblement polaires, autrement que par l'action des moteurs, permettant ainsi aux moteurs de les faire glisser l'un par rapport à l'autre. Cela a été fait de manière entropique [63] en ajoutant un polymère tel que le PEG (PolyEthylène Glycol) en tant qu'agent déplétant. Il est ainsi possible de voir des flux chaotiques de faisceaux de microtubules dans des gels actifs en 3D, qui peuvent durer plusieurs heures [64]. Le mécanisme élémentaire de ces flux chaotiques pour un réseau de microtubules est une élongation du faisceau, sa pliure jusqu'à la rupture. Puis les morceaux vont se lier avec d'autres, reformant des faisceaux et répétant le mécanisme (Fig 1.11). Cette pliure peut alors être constatée de manière très ordonnée, avec des ondulations sur l'ensemble du gel actif avant l'établissement d'un flux chaotique. Elle peut se former dans le plan horizontal [65] ou bien vertical en formant une feuille ondulée [66, 67] (Fig 1.12).

De tels flux chaotiques n'ont pas été observés pour des réseaux d'actine mais il a pu être constaté le caractère extensile d'un réseau d'actine, ancré sur des lipides [68]. Alors qu'habituellement on constate une contraction de l'ensemble des filaments d'actine, on a ici un réseau qui va s'étendre, formant de nouvelles branches. Dans ce cas, en tant que mécanisme élémentaire, on peut également observer une pliure du faisceau d'actine jusqu'à sa rupture (partielle). Des monomères d'actine viennent alors se polymériser sur la fracture pour étendre le réseau. Il est à noter que dans ce cas, pour un élément individuel (le filament d'actine) on observe une contraction mais que cela résulte

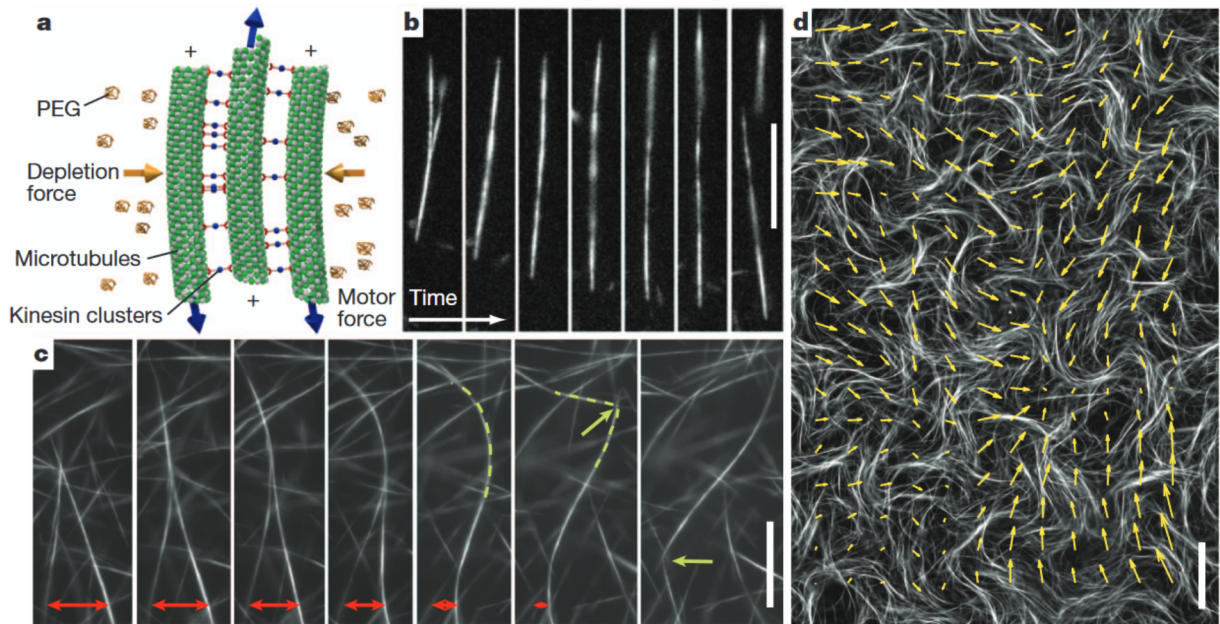


FIG. 1.11 Flux chaotiques générés par un gel actif avec déplétion. a) Schéma du système. b) Deux faisceaux se joignent et s'étirent. Barre d'échelle $15 \mu\text{m}$. c) Visualisation du mécanisme élémentaire avec jonction, élongation et rupture de deux faisceaux. Barre d'échelle $15 \mu\text{m}$. d) Visualisation des flux chaotiques à échelle plus large. Barre d'échelle $80 \mu\text{m}$. a-d Adapté de [64].

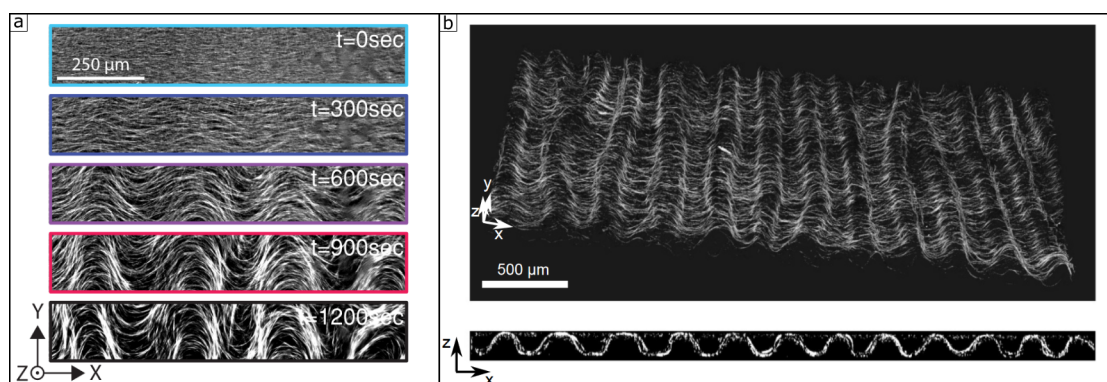


FIG. 1.12 Ondulations d'un système actif. a) Ondulations intra-planaires (horizontales) d'un système actif en 3D. Adapté de [65]. b) Ondulations extra-planaires (verticales). Adapté de [66].

en une extension du réseau complet, via la polymérisation. A contrario le régime extensile du réseau de microtubules, vu ci-dessus, résulte d'une élongation au niveau individuel.

Plusieurs agents déplétants sont utilisés aujourd'hui pour former des faisceaux de microtubules comme la méthylcellulose [40], le PEG [64] ou bien le Pluronic [6], copolymère de PEG et de polypropylène glycol. Ce dernier possède donc une partie hydrophile et hydrophobe et forme des micelles au-dessus de 25°C [69]. Les différences d'action entre ces polymères est encore peu étudiée. Un travail récent semble toutefois montrer que le PEG produit un ordre nématique plus important que le Pluronic [70], c'est-à-dire un alignement des faisceaux de microtubules.

À une échelle un peu plus globale, il est possible de constater une longueur de cohérence dans ces flux chaotiques. Cette longueur de cohérence, ainsi que la vitesse du flux, varie selon des paramètres clés tels que la concentration de filaments, de moteurs ou d'agent déplétant [71]. Cela se fait de manière assez intuitive : plus de moteurs ou d'ATP, en augmentant les forces exercées sur le réseau de microtubules, fait diminuer la longueur de cohérence tandis qu'une plus grande concentration de microtubules fait augmenter cette longueur de cohérence. L'agent déplétant fait également baisser la longueur de cohérence quand sa concentration augmente. Cela peut ouvrir la voie à un contrôle de ces flux, tout comme pourrait le faire la géométrie des chambres d'observation d'un tel système. En effet, il est possible d'observer des flux cohérents avec des géométries circulaires ou bien simplement en forme de circuits fermés [72]. De tels flux ont également pu être observés avec des microtubules dynamiques [73]. Ces flux contrôlés se caractérisent par le fait qu'ils contiennent les microtubules mais il est également possible de contrôler les flux hydrodynamiques créés par la contraction du réseau en jouant sur la géométrie initiale de celui-ci [74].

1.2.2 Organisation nématique de la matière active

Lorsqu'une interface eau-huile est mise au contact d'un gel actif de microtubules (Fig 1.13), alors ceux-ci vont s'accumuler à cette interface en cas de présence d'agent déplétant [64], ce qui va fortement augmenter la densité de microtubules. Or, comme le montrent diverses simulations [75, 76, 77], une plus grande densité de microtubules provoque la formation d'une organisation nématique, c'est-à-dire une organisation alignée où il est possible de déterminer localement un vecteur directeur. Cet alignement, dû aux forces stériques entre filaments, a également été observé avec de l'actine [78]. Il est habituellement nécessaire de confiner le système sur une surface pour avoir la densité de filaments nécessaires à la formation de ce motif. Mais dans un travail original, Duclos *et al.* [79] parviennent à retrouver cet ordre nématique en 3D en mélangeant le réseau actif de microtubules avec une solution concentrée de virus filiformes, ce qui permet d'obtenir les nombreuses interactions stériques provoquant l'alignement. Par la suite nous nous intéresserons particulièrement aux systèmes nématiques actifs de microtubules en 2D, plus étudiés.

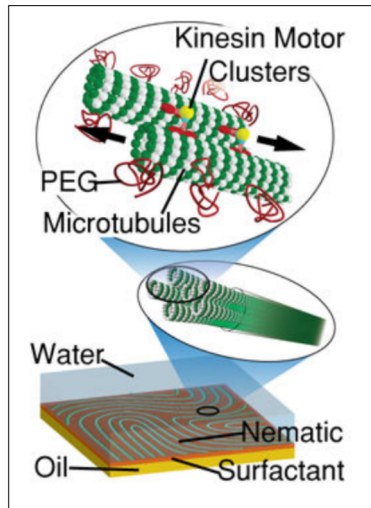


FIG. 1.13 Schéma du procédé expérimental permettant d'obtenir un nématique actif. Celui-ci se forme à l'interface entre l'huile et le gel actif. Adapté de [80].

Une fois cette organisation nématique formée, il est possible de retrouver à peu près le même mécanisme élémentaire que dans le cas d'un gel actif 3D [81] sauf que la rupture est moins visible du fait de l'organisation extrêmement serrée des différents filaments. En effet, il est difficile dans ce cas d'identifier les différents faisceaux de microtubules et on préférera, pour le suivi de l'activité, se focaliser sur les défauts topologiques [80]. Ceux-ci sont définis par leur charge $m = \frac{s(\theta)}{2\pi}$, où $s(\theta)$ correspond à la rotation du vecteur directeur du nématique autour du défaut, comme indiqué sur la figure 1.14a,b.

Une première observation est alors que le nombre de défauts est lié à la viscosité de l'huile utilisée pour l'interface eau-huile [82, 83] dans le cas de microtubules, ainsi qu'à l'activité dans le cas d'actine [84]. Ces deux systèmes étant très semblables, il est par ailleurs raisonnable de penser que les observations pourraient être les mêmes pour les deux.

Une deuxième observation est que les défauts sont fortement liés aux limites géométriques de la surface active nématique. En effet, en considérant des surfaces rectangulaires de tailles différentes, on remarque des régimes différents [85] (Fig 1.14) et le fait que les défauts sont détectés au début et à la fin de leur existence à proximité des parois, en particulier pour les régimes les plus contraints géométriquement. Cette observation se fait également quand la contrainte est circulaire [86] ou torique [87]. Le mécanisme est la formation d'une paire de défauts ($-1/2$ et $+1/2$) à proximité d'une paroi, le défaut $-1/2$ restant proche de la paroi tandis que le défaut $+1/2$ se propage, la taille du confinement jouant alors sur la trajectoire du défaut $+1/2$. De manière intéressante, lorsqu'on crée un confinement par le biais de la phase d'huile (grâce à une huile de cristaux liquides), la taille de celui-ci semble influencer uniquement la structure des défauts et non la distance entre ceux-ci [88].

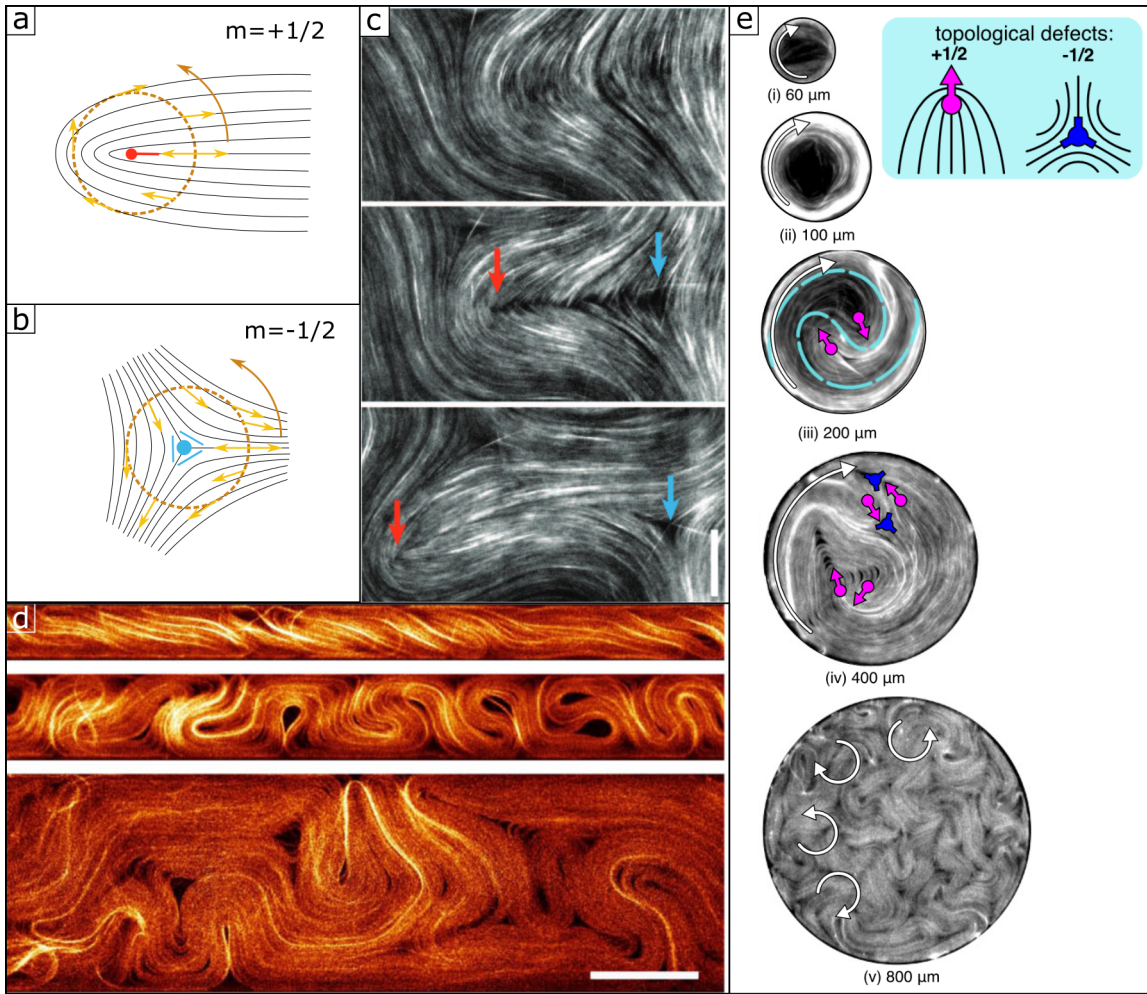


FIG. 1.14 Une surface nématique active présente des défauts topologiques. a-b) Schéma présentant les défauts topologiques de charge $+1/2$ (a) et $-1/2$ (b). Les flèches jaunes correspondent au vecteur directeur du nématique représenté en noir. En tournant autour de la singularité (point rouge ou bleu) selon la trajectoire orientée orange, le vecteur directeur va effectuer une rotation d'angle $+\pi$ (a) ou bien $-\pi$ (b). c) Images de génération de défauts topologiques d'une surface nématique active, avec un défaut de charge $+1/2$ qui s'éloigne du défaut de charge $-1/2$. Barre d'échelle $20 \mu\text{m}$. Adapté de [64]. d) Influence du confinement sur les défauts. Sous un fort confinement (haut) on ne voit les défauts que de manière épisodique. Avec un confinement intermédiaire (centre) on voit des paires de défauts se générer depuis la paroi, avec les défauts de charge $+1/2$ qui traversent le système pour aller à l'autre paroi. Sous un faible confinement (bas), les défauts se déplacent de manière chaotique. Barre d'échelle $100 \mu\text{m}$. Adapté de [85]. e) Influence d'un confinement circulaire sur les défauts. Les tailles indiquées correspondent au diamètre du cercle de confinement. Dans le cas du confinement à $200 \mu\text{m}$, les 2 défauts de charge $+1/2$ tournent l'un autour de l'autre. Adapté de [86].

Cela laisse penser à une taille caractéristique entre deux défauts dépendant de la configuration

chimique uniquement, ce qui semble être en accord avec l'observation dans le cas du confinement physique circulaire [86] (Fig 1.14e). On observe alors l'absence de défauts pour des tailles de confinement faibles, un grand nombre de ceux-ci pour un grand confinement et un comportement spécifique pour la taille intermédiaire, où les deux défauts $+1/2$ générés tournent l'un autour de l'autre en spirale.

Enfin, un type particulier de confinement est celui, sphérique, d'encapsulation dans des gouttes. Ce travail a d'abord été fait pour des systèmes à base de microtubules dynamiques, sans déplétion, pour des gouttes d'eau dans l'huile. Selon la taille du confinement il est alors possible de voir la formation d'anneaux faisant le tour de la goutte, ou bien d'asters [89, 90]. Ce dernier processus a été davantage exploré, montrant une grande répétabilité de la formation de l'aster, au centre de la goutte [91] (Fig 1.15a).

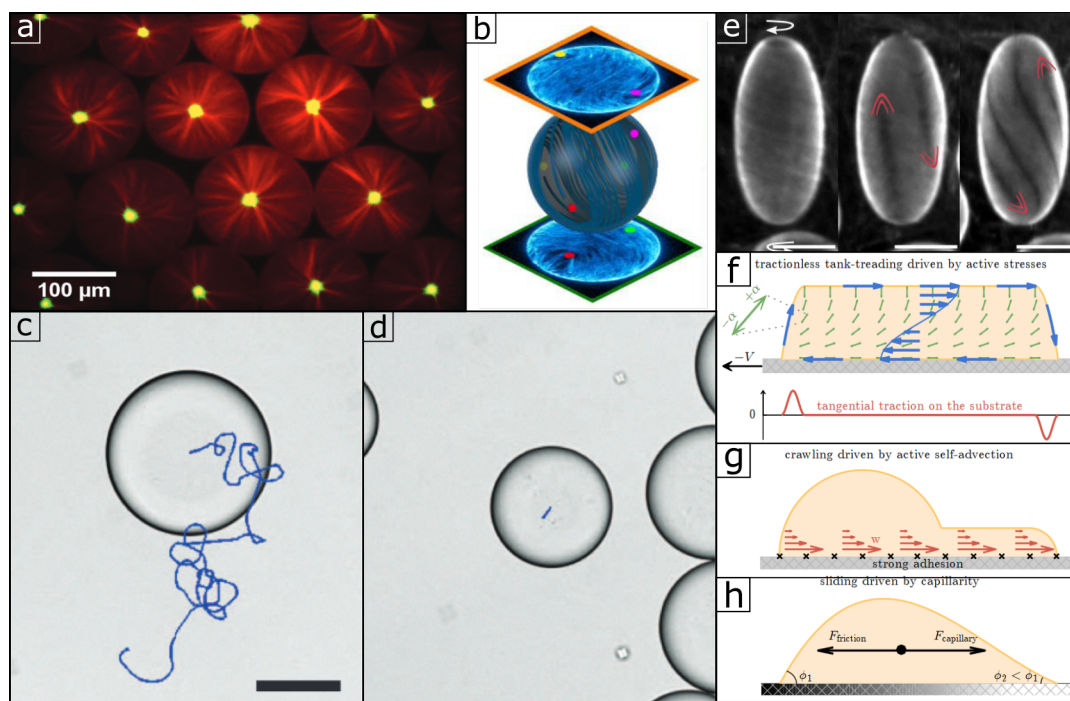


FIG. 1.15 Confinement sphérique de matière active. a) Contractions locales dans des gouttes. Les microtubules sont en rouge, les kinésines en jaune. Adapté de [91]. b) Vésicule de matière active. Les points colorés correspondent aux défauts topologiques. Adapté de [92]. c,d) Mouvement d'une goutte active (c) et d'une goutte passive (d). Barre d'échelle $80 \mu\text{m}$. Adapté de [64]. e) Deux états d'un nématique sur une surface de goutte allongée de cristaux liquides. Les microtubules sont disposés de manière perpendiculaire au grand axe de l'ellipsoïde (gauche) et peuvent former des défauts $+1/2$ qui se déplacent d'une extrémité à l'autre (droite). Barre d'échelle $50 \mu\text{m}$. Adapté de [93]. f,g,h) Catégories possibles de déplacement d'une goutte sur un substrat. Adapté de [94].

Pour des systèmes à base de microtubules stabilisés additionnés à un agent déplétant, on observe une surface nématique active sur laquelle sont présents plusieurs défauts topologiques du fait de

la géométrie sphérique. Ainsi, pour un tel système contenu dans un vésicule, on peut observer un minimum de quatre défauts de charge $+1/2$, qui vont se déplacer en oscillant [92]. Cette oscillation est également visible pour des gouttes, plongées dans une huile de cristaux liquides passifs [95]. Cette huile permet alors de visualiser les mouvement des défauts contenus dans les gouttes en suivant les déformations particulières des cristaux liquides, appelées *anneau de Saturne*. Le nématique a également été étudié en tant que coquille extérieure à une goutte. Pour cela des gouttes allongées de cristaux liquides passifs ont été formées et plongées dans de la matière active [93]. On observe alors le nématique avec ses défauts sur la surface extérieure de la goutte (Fig 1.15e).

Malgré la publication en 2012 de l'évidence d'une motilité des gouttes engendrée par l'activité du système [64](Fig 1.15c,d), peu de travaux expérimentaux ont été menés sur cette motilité active. Cependant, différentes possibilités théoriques ont été explorées et plusieurs simulations ont été réalisées [96, 97, 98]. Ainsi il est possible de regrouper les différentes explications du mouvement en trois catégories (Fig 1.15f,g,h). La première est celle d'un flux interne à la goutte, qui va générer une traction sur le substrat près de la ligne de contact [99]. La seconde vient d'une auto-advection d'unités polaires, couplée à une forte adhésion sur le substrat [100]. Enfin il y a la possibilité d'un mouvement généré par une différence de tension de surface, comme l'effet Marangoni [101].

1.3 Cadre de la thèse

Nous avons pu voir en 1.2.1 que les systèmes actifs à base de microtubules et kinésines donnaient de nombreuses organisations spatiales différentes. Ces différentes organisations ont été cependant observées sur des systèmes légèrement différents, ce qui empêche de comprendre ce qui détermine leur émergence. Dans cette thèse, nous participerons à l'effort collectif [58, 50] fait pour tenter d'unifier ces différents comportements en cherchant quels sont les paramètres clés pour la détermination de la structure spatiale. Pour cela, nous utiliserons un système actif à base de kinésines et microtubules avec un agent déplétant, comme dans le travail de 2012 de Sanchez *et al.*, en utilisant cependant du Pluronic au lieu du PEG, et nous montrerons qu'une transition sol-gel permet d'expliquer pourquoi ces organisations émergent.

Par ailleurs, ce système a engendré de nombreux travaux sur les organisations nématiques actives, comme vu en 1.2.2, mais étonnamment peu sur la motilité active des gouttes observée (Fig 1.15c,d). C'est pourquoi nous avons étudié le mouvement de ce système confiné dans des gouttes afin d'identifier les paramètres le modulant.

Chapitre 2

Matériel et méthodes

Nous avons présenté dans le chapitre précédent les caractéristiques biologiques des composants utilisés lors de ce travail de thèse. Ici, nous allons spécifier les moyens d'obtention de ces composants ainsi que nos méthodes de visualisation et d'analyse des systèmes étudiés.

2.1 Composants du gel actif

2.1.1 Microtubules

Les microtubules ont été polymérisés à partir de tubuline porcine et de tubuline fluorescente (liée à de la rhodamine) achetées à Cytoskeleton (resp. références T240 et TL590M). Ces tubulines ont été dissoutes dans une solution tampon PEM 1X (80 mM PIPES pH 6,8, 1 mM EGTA, 1mM MgSO₄) à 10 mg/mL puis aliquotées et refroidies dans de l'azote liquide (flash-freeze) avant d'être conservées à -80°C. Cette étape de flash-freeze est importante car les microtubules dépolymérisent quand ils sont refroidis lentement. Deux formes de microtubules ont été utilisés dans cette thèse :

- Microtubules stabilisés au taxol : le mélange polymérisant est constitué de PEM 1X, 1 mM GTP, 10 % (w/v) glycérol et de tubuline à 5 mg/mL (incluant 2,5 % de tubuline fluorescente). Le mélange (typiquement 10 µL) est incubé à 37 °C pendant 20 min. 20 µM of paclitaxel (nommé taxol par la suite) est ajouté au mélange puis celui-ci est laissé 5 minutes de plus à 37 °C. Après polymérisation, les microtubules formés sont centrifugés à température ambiante pendant 10 min à 12000 g, soit 13376 rpm dans une centrifugeuse de paillasse Eppendorf Mini Spin, pour enlever les monomères de tubuline restants. Les microtubules sont dissous à nouveau dans un mélange de PEM 1X, 1 mM GTP, 10 % glycérol, 20 µM taxol et conservés à température ambiante à l'abri de la lumière. Ils sont utilisés dans les 3 jours suivant la polymérisation.
- Microtubules GMPCPP : le mélange polymérisant est constitué de PEM 1X, 0,60 mM GMPCPP, 10 % (w/v) glycérol, 0,2 mM DTT et de tubuline à 5 mg/mL (incluant 2,5 % de tubuline fluorescente). Le GMPCPP (Guanosine-5'-[(α,β)-methyleno]triphosphate) est un analogue du GTP, acheté à Jena Bioscience. Le mélange est vortexé puis incubé à 37 °C

pendant 30 minutes et laissé à température ambiante pendant 5,5 heures. Puis on flash-freeze les microtubules et les stocke à -80°C .

2.1.2 Kinésine

La kinésine utilisée K401-BCCP, une version biotinylée de la kinésine dimérisée K401, est obtenue en exprimant celle-ci dans la souche *E.coli* Rosetta2 (DE3) (Novagen) et en la purifiant selon le protocole suivant :

- Jour 1 : Les cellules Rosetta2, stockées à -80°C , sont mises en culture dans 5 ml de LB avec $100\ \mu\text{g}/\text{mL}$ d'ampicilline et $34\ \mu\text{g}/\text{mL}$ de chloramphenicol à 37°C jusqu'à avoir un indice optique à 660nm (OD660) supérieur à 0,5, ce qui prend environ 5h. Les cellules sont ensuite étalées sur boîte de petri (LB + agar + antibiotiques indiqués précédemment) et laissées la nuit à 37°C
- Jour 2 : Une colonie unique est remise en culture dans 600 ml de LB avec $100\ \mu\text{M}$ de biotine, $100\ \mu\text{g}/\text{mL}$ d'ampicilline et $34\ \mu\text{g}/\text{mL}$ de chloramphenicol à 37°C jusqu'à avoir $\text{OD660} > 0,7$. Une préculture dans 5mL de LB avec les antibiotiques peut être faite jusqu'à $\text{OD660} > 0,1$. Puis l'expression de la protéine est induite par 1 mM IPTG pendant 2 heures à 22°C et la biotinylation est induite avec 0,2 mM rifampicine pendant 20h à 22°C .
- Jour 3 : Les cellules sont collectées par centrifugation, on obtient typiquement 1 g de cellules. Elles sont resuspendues dans du tampon B (50 mM PIPES pH 7.2, 4 mM MgCl_2 , 50 μM ATP, 10 mM BME) avec 20 mM d'imidazole et du cocktail inhibiteur de protéase à concentration 1X. La suspension de cellules est ensuite soniquée (VCX-130, Sonics Materials) dans un falcon de 50 mL, sur glace, avec les paramètres suivants : P = 40 %, ON = 15 s, OFF = 30 s, 3 min (temps ON total). La suspension est ensuite filtrée (0,2 μm en utilisant une seringue) et mélangée avec une résine Ni-IMAC (Biorad), lavée préalablement avec de l'eau déionisée puis avec de la solution tampon, pendant 20 min à 4°C . La résine est ensuite lavée avec du tampon B et 20 mM d'imidazole, puis éluée avec du tampon B et 500 mM d'imidazole. L'éluat est ensuite mis dans un Float-A-Lyzer G2 (5 mL ; 50K MWCO, Spectora/Por), dialysé avec du tampon de dialyse (250 mM PIPES pH 6,7, 20 mM MgCl_2 , 0,25 mM ATP, 50 mM BME) trois fois (1 heure, 2.5 heures et la nuit) à 4°C .
- Jour 4 : La protéine dialysée, à laquelle on a ajouté 36 % de sucrose et 2 mM de DTT est flash-freezée et conservée à -80°C .

2.1.3 Réactifs

Tous les réactifs et produits chimiques sont achetés à Sigma-Aldrich, New England Biolabs, Roche ou ThermoScientific excepté l'agent réticulant PRC 1 qui nous ont été envoyés par Guillaume Duclos, Shibani Dalal et Radhika Subramanian, de Brandeis University, USA, NSF MRSEC, 241 Bioinspired Soft Materials, DMR-2011846 [102].

2.2 Préparation du gel actif

Le gel actif est constitué :

- d'une solution tampon à base de PEM 1X à laquelle on ajoute 3 mM de MgSO_4 ;
- d'un mélange d'anti-oxydants : 1 mM trolox, 20 mM D-Glucose, 3 mM DTT, 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ glucose oxydase, 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ catalase, 0,5 mg/mL BSA ;
- d'un système de régénération de l'ATP : 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ creatine kinase, 10 mM creatine phosphate
- de groupes de moteurs (K401-BCCP kinésine + streptavidine), ATP, Pluronic F-127, et microtubules, dont la concentration dépend des expériences. Quand des microtubules stabilisés au taxol sont utilisés, on ajoute 20 μM de taxol au mélange.

Les concentrations du tampon ionique et du mélange d'anti-oxydants proviennent de la littérature [64, 66]. Si les anti-oxydants servent uniquement à éviter le photo-blanchiment des microtubules du fait de leur illumination et n'a pas vraiment d'impact sur l'activité, ce n'est pas le cas du tampon ionique, et en particulier de MgSO_4 qui, par l'écrantage des charges négatives des microtubules, aide à la séparation des faisceaux de microtubules et influe donc sur l'activité globale.

Le système de régénération de l'ATP permet d'avoir une concentration en ATP stable et donc d'avoir des kinésines avec une vitesse de réaction, c'est-à-dire de consommation de l'ATP, constante. Il est à noter que des expériences de contrôle effectuées avec 0 μM ATP ont montré de l'activité, bien que faible, ce qui suggère que le mélange contient de l'ATP résiduel provenant du tampon de purification de la kinésine.

En pratique, la solution tampon et le mélange d'oxydants sont préparés en amont et mélangés, puis aliquotés, conservés à -80°C après un flash-freeze. Le jour de l'expérimentation, les microtubules sont sortis 30 min en avance et laissés à température ambiante. Pendant ce temps, le système de régénération de l'ATP et la solution de groupes moteurs sont préparés à part puis mélangés à la solution tampon. Enfin les microtubules sont ajoutés. La solution finale est mélangée par brefs à-coups de vortexage pour ne pas casser les microtubules (5 fois 0,5 s sur un Vortex-Genie 2 réglé à force maximum).

2.3 Formation des gouttes

Les gouttes utilisées dans le chapitre 4 ont été générées par deux méthodes différentes, selon la taille de goutte souhaitée. Dans les deux cas, on utilise de l'huile fluorée Novec HFE 7500 comprenant 2% (w/v) de 008-FluoroSurfactant et la solution active est identique à celle utilisée dans le chapitre 3, avec 2 % de Pluronic et 100 mM d'ATP.

2.3.1 Piège capillaire

Le piège capillaire utilise le procédé développé au Laboratoire Jean Perrin par Valet *et al.* [103], en remplaçant le pousse-seringue par un contrôleur de pression (voir Fig 2.1). Grâce au contrôle de pression, on fait circuler un flux de matière active dans un capillaire en verre qui effectue des aller-

retours verticaux entre l'huile et l'air. Selon le débit et les temps T et T_0 , on peut alors moduler la taille des gouttes obtenues. La caméra permet de contrôler la bonne position du capillaire ainsi que la taille approximative des gouttes formées, qui flottent à la surface étant donné que l'huile fluorée HFE 7500 possède une densité de 1,614.

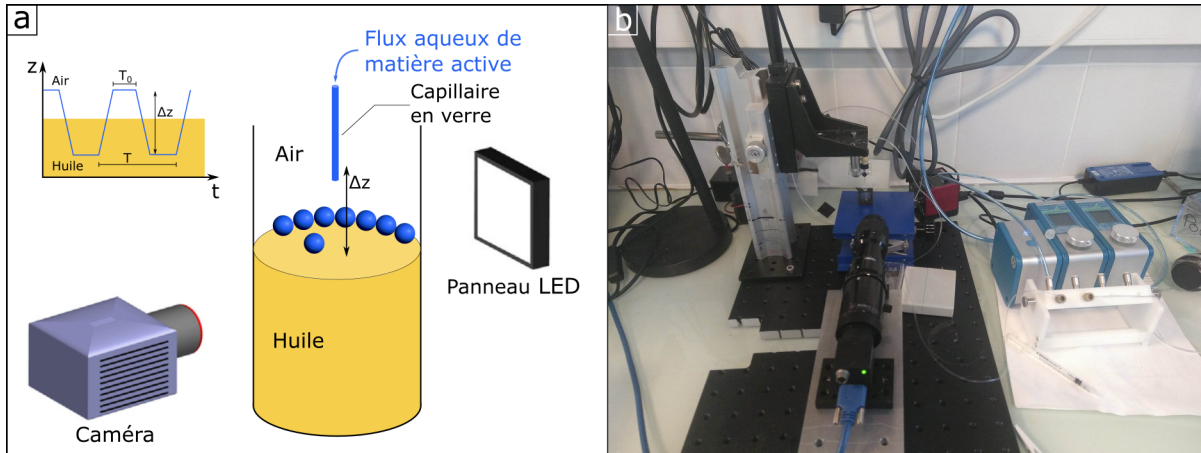


FIG. 2.1 *Le piège capillaire. a) Schéma du montage. Le capillaire effectue des aller-retours selon la fonction périodique représentée. Adapté de [103]. b) Photo du montage où l'on voit la caméra, le capillaire, le panneau LED et le contrôleur de pression.*

La taille des gouttes formées dépend du diamètre du capillaire avec un rapport R_d/R_0 compris entre 1,67 et 2,44 [103] où R_d est le rayon de la goutte et R_0 est le rayon interne du capillaire. Nous avons donc choisi un capillaire Polymicro mox de diamètre interne $49 \mu\text{m}$ et de diamètre externe $360 \mu\text{m}$, ce qui nous permet d'obtenir théoriquement des gouttes d'environ $80 \mu\text{m}$ de diamètre au minimum. Une particularité ici est la présence de microtubules se regroupant en amas de taille variables du fait de la présence d'agent déplétant. Ces amas peuvent ainsi boucher le capillaire à son entrée si celui-ci est trop petit. En pratique, on obtient généralement un régime stable de fabrication de gouttes pour des gouttes dont le diamètre est supérieur à $100 \mu\text{m}$, bien qu'il soit possible d'avoir des gouttes de taille inférieure selon la composition de la matière active (voir Fig 2.3). Il est à noter qu'avec une concentration en agent déplétant trop élevée, le capillaire se bouche plus facilement et il est plus difficile d'obtenir un régime stable. Dans un régime stable on obtient environ 30 gouttes/minute.

2.3.2 Microfluidique

Pour obtenir des gouttes plus petites, il est possible d'utiliser la microfluidique. Ici nous nous servons d'une puce usant d'un mécanisme de focalisation de flux, d'une résistance et d'une réserve d'observation (Fig 2.2a). Cette puce est formée en PDMS posée sur une lame de microscope en verre non traité. Après une expérience, elle est nettoyée à l'éthanol ce qui permet une réutilisation ultérieure.

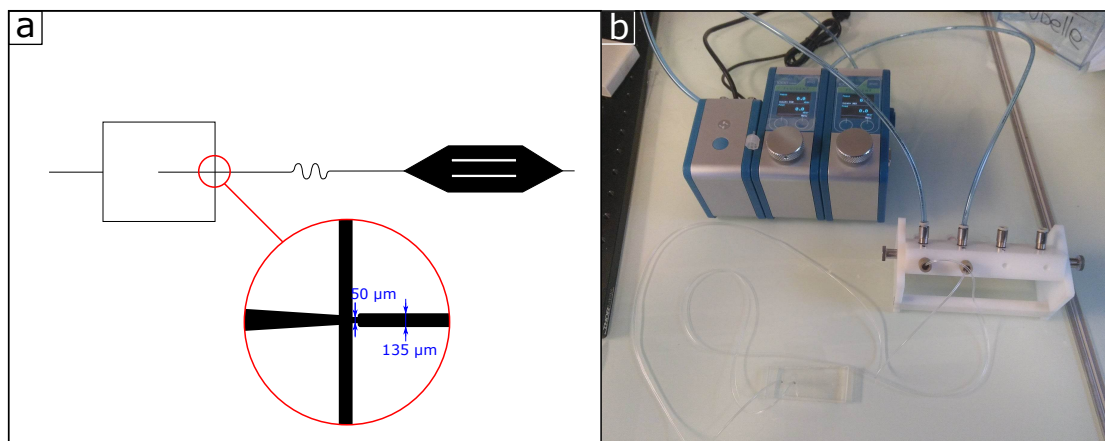


FIG. 2.2 Méthode microfluidique. a) Schéma de la puce microfluidique, avec ses dimensions. La hauteur du dispositif est de $53\mu\text{m}$. b) Photo du montage. Lors de la génération des gouttes, la puce est observée en temps réel au microscope.

Le régime de cette puce est stable pour des diamètres de goutte allant de 50 à $70\ \mu\text{m}$ et permet d'obtenir plusieurs centaines de gouttes par minute (Fig 2.3).

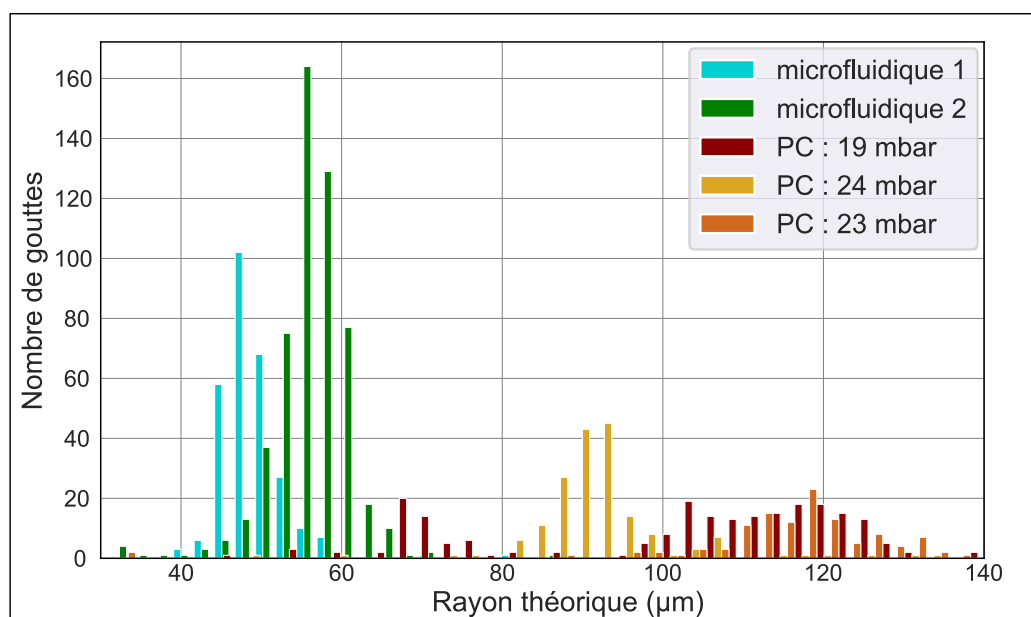


FIG. 2.3 Histogramme de la taille des gouttes obtenues avec les deux méthodes présentées. Pour la méthode microfluidique, les deux expériences ont des conditions chimiques identiques. Les pressions générant les flux d'huile et de solution active, permettant de former les gouttes, sont différentes. Pour la méthode du piège capillaire (PC), les conditions expérimentales sont identiques, exceptée la pression permettant d'obtenir un flux à travers le capillaire.

2.4 Visualisation

Les chambres d'observation sont constituées d'une lame (26 x 75 x 1 mm) et d'une lamelle (22 x 60 x 0.17 mm) de microscope, en verre (Fig 2.4). Cette dernière est éventuellement coupée à l'aide d'une pointe en diamant afin d'ajuster la taille des chambres. Les lames et lamelles sont passivées à l'aide d'acrylamide selon le protocole décrit ci-dessous [64] et séparées d'un espaceur qui est soit un morceau de parafilm, découpé à l'aide d'une découpeuse (Graphtec Cutting Plotter CE6000-40), soit un morceau de scotch double-face de hauteur calibrée (Nitto Denko Corporation). La solution active, ou bien les gouttes dans l'huile fluorée, sont ensuite insérées dans la chambre par capillarité et la chambre est fermée à l'aide de graisse à vide (Dow Corning).

2.4.1 Passivation des lames de verre

La passivation se fait selon le protocole suivant :

- Préparer une solution d'acrylamide (Sigma, A8887) à 2 % (w/v) dans l'eau et la garder sous vide pendant au moins 30 min pour éliminer les traces d'oxygène dissous.
- Immerger les lames à passiver dans une solution aqueuse de détergeant Hellmanex II à 0,5 %.
- Chauffer au micro-ondes presque jusqu'à ébullition et soniquer pendant 5 min.
- Rincer avec de l'eau pure dix fois, remplir avec de l'éthanol et soniquer pendant 5 min.
- Rincer avec de l'eau pure, remplir avec une solution de KOH à 0,1 M et soniquer pendant 5 min.
- Rincer et conserver dans de l'eau pure.
- Préparer une solution de couplage au silane (98,5 % éthanol, 1 % acide acétique, 0,5 % 3-(Triméthoxysilyl)propylmethacrylate) juste avant utilisation.
- Immerger les lames de verre nettoyées dans la solution de couplage pendant 15 min.
- Rincer les lames à l'eau pure.
- Transférer la solution d'acrylamide sur un agitateur et commencer l'agitation en ajoutant de l'ammonium persulfate (APS, 70 mg pour 100 mL de solution).
- Ajouter de la tétraméthyléthylènediamine (TEMED, 35 μ L pour 100 mL de solution).
- Immerger immédiatement les lames dans la solution d'acrylamide, activée par l'APS et la TEMED.
- Laisser reposer pendant une nuit en fermant le récipient pour éviter l'oxydation.

2.4.2 Microscopie

Les images d'épifluorescence sont obtenues avec un microscope automatique Zeiss Observer 7 équipé d'une caméra Hamamatsu C9100-02, des objectifs allant de 4X à 20X, une platine motorisée ou bien un microscope Zeiss axio zoom. V16. Ces deux microscopes sont contrôlés par MicroManager 1.4. Les images sont enregistrées automatiquement en utilisant une lumière d'excitation à 470nm ou 550nm avec une CoolLED pE-4000 ou bien HXP200C et un cube filtre Semrock Brightline LED

— DA/IF/TR/Cy5.

Les images confocales sont obtenues avec un microscope confocal Leica TCS SP5 II équipé d'un objectif 25X à immersion d'eau, ou bien d'un microscope Nikon Eclipse 80i équipé d'un système X-Light V2 Spinning Disk Confocal et d'un objectif 10X.

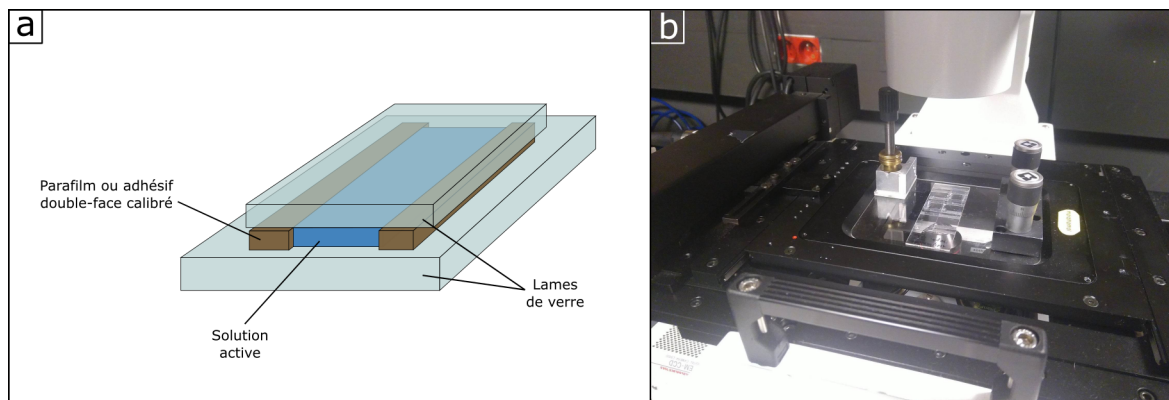


FIG. 2.4 Observation de la solution active. a) Schéma d'une chambre d'observation. b) Photo d'une chambre d'observation, placée sur une plateforme 3-points dotée de vis micrométriques pour limiter l'inclinaison de la chambre.

2.5 Traitement

Le traitement des images obtenues se fait à l'aide de scripts Python ou bien Fiji.

2.5.1 Vélométrie par images de particules (PIV)

Pour les mesures de vitesses des microtubules du chapitre 3, on utilise le package `openpiv` avec une fenêtre d'interrogation et une taille de l'aire de recherche de 64 pixels avec un chevauchement de 48 pixels. Les résultats sont validés uniquement s'ils ont un rapport signal sur bruit supérieur à 1,05. La moyenne a ensuite été prise sur la durée de l'instabilité en enlevant les 5% de valeurs de vitesses les plus élevées.

2.5.2 Suivi des gouttes

Pour suivre les gouttes du chapitre 4, on utilise un double script.

- Une première partie se fait sur Fiji où on binarise les images récoltées selon la méthode Huang avant d'utiliser la méthode watershed pour séparer les différentes gouttes. Lorsque plusieurs hauteurs sont enregistrées, on assemble les différentes images pour limiter les problèmes de binarisation dans les gouttes avant de refaire un watershed (Fig 2.5a). Puis avec "Analyze_Particles" on récupère la position et la taille de chacune des gouttes sur chacune des slides.
- La deuxième partie se fait avec python où l'on associe les gouttes trouvées d'une slide sur l'autre. Pour suivre une goutte, on considère que celle-ci ne va pas changer de taille et

se déplacer d'une longueur inférieure à son diamètre d'une slide sur l'autre. Cela permet d'identifier les gouttes au long d'une vidéo et de leur donner un numéro, comme indiqué sur la Fig 2.5b.

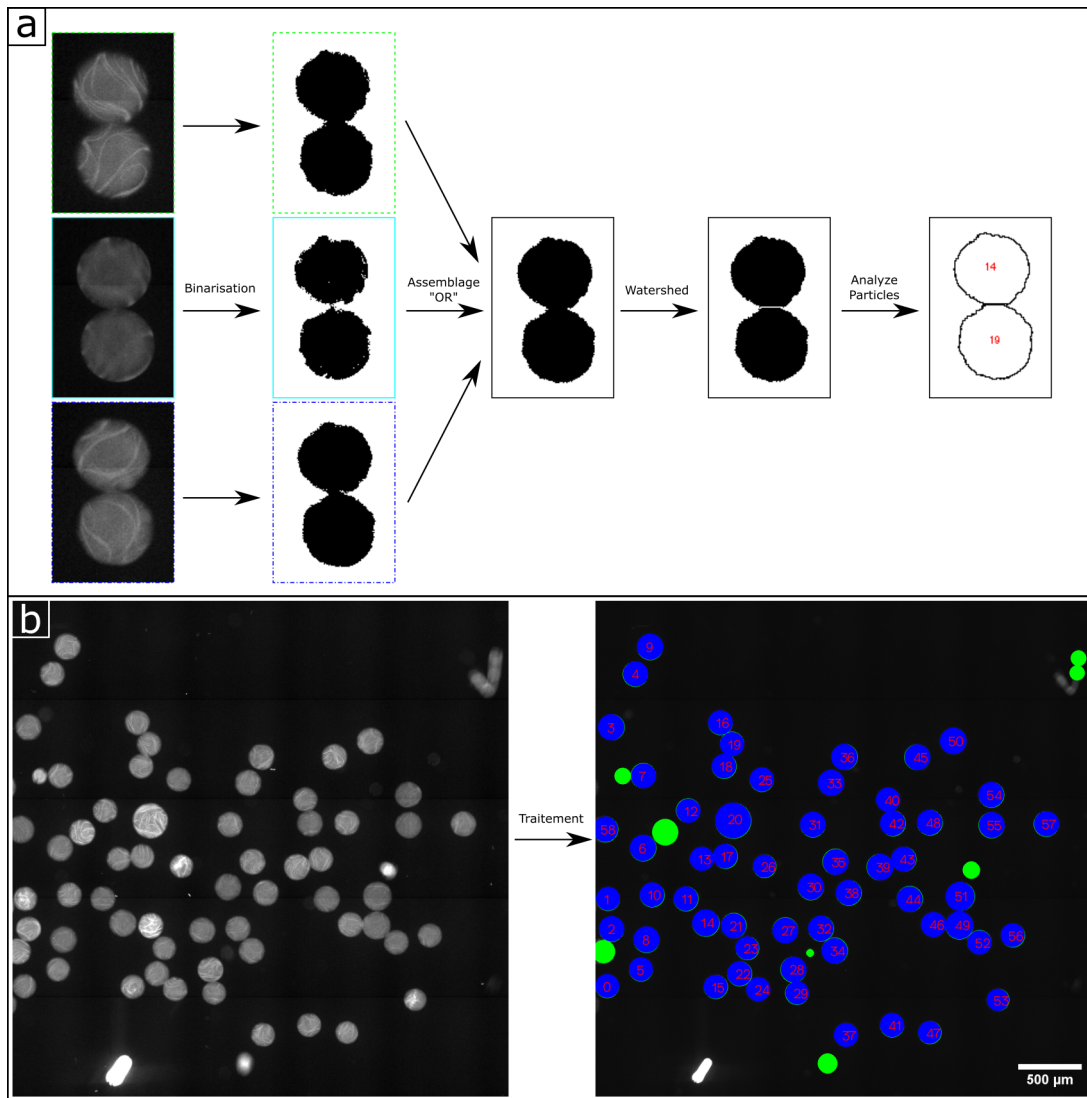


FIG. 2.5 Rendu du script de suivi des gouttes. a) Schéma des différentes étapes du traitement sur FiJi. L'image est d'abord binarisée, puis on assemble les trois différents plans de visualisation (voir Fig 4.4). "Watershed" permet alors séparer les gouttes et de les repérer grâce à "Analyze Particles". b) Images d'épifluorescence d'une chambre avant et après traitement. Les ronds bleus numérotés correspondent aux gouttes identifiées par le traitement, tandis que les ronds verts correspondent aux gouttes identifiées par le script FiJi mais non conservées par le script python, pour des raisons de durée de présence dans le champ de vue ou bien de suivi au cours du temps.

2.6 Discussion

Le matériel biologique, comme celui utilisé dans cette thèse, est toujours délicat et de faibles variations de modes opératoires peuvent grandement affecter l'activité et le comportement des protéines. Malgré les précautions prises expérimentalement, il est ainsi possible d'observer une variabilité lors de différentes expériences faites avec le même protocole. Par exemple nous verrons dans le chapitre 4 une forte variabilité dans les comportements des gouttes formées avec la matière active, bien que le même système visionné dans des canaux (chapitre 3) soit plutôt reproductible, ce qui laisse penser que la formation des gouttes introduit une variabilité supplémentaire.

Il est également arrivé plusieurs fois au cours de la thèse que l'activité du système soit anormalement faible. Dans la plupart des cas il s'agissait alors d'un problème de microtubules, probablement dû au lot de tubuline du fournisseur, et l'activité reprenait lorsque ceux-ci étaient changés. Dans les derniers cas, la cause de la chute d'activité n'a pas été déterminée avec certitude.

Du fait de la complexité du système, beaucoup de paramètres ont été gardés identiques à ceux de la littérature, en particulier les anti-oxydants et leurs concentrations. De faibles variations sur les concentrations de BSA et de MgSO_4 ont été essayées, confirmant le rôle important du MgSO_4 dans le comportement actif du système microtubules-kinésines et le faible impact du BSA. Les choix faits lors de cette thèse n'ont cependant pas conduit à explorer davantage l'influence du tampon ionique sur les comportements déjà observés dans les chapitres suivants.

Chapitre 3

Auto-organisation spatiale de la matière active

Nous avons vu dans le chapitre 1 que la matière active en 3D à base de microtubules et kinésines pouvait former différents motifs selon les particularités du système considéré : asters avec microtubules stabilisés au taxol et sans agent déplétant [47], ondulations extra-planaires avec ces mêmes microtubules et un agent déplétant [66], contractions avec des extraits de *Xenopus oocyte* [56], ondulations intra-planaires avec des microtubules stabilisés au GMPCPP et un agent déplétant [65]. Ces différentes observations sont résumées dans le tableau 3.1. Nous allons voir ici que ces différents motifs peuvent être retrouvés dans un système unique en variant uniquement les deux paramètres que sont la concentration d'ATP, à savoir l'énergie permettant aux kinésines de se mouvoir, et la concentration de Pluronic, l'agent déplétant qui agglomère les microtubules en faisceaux. Ce chapitre reprend les résultats principaux de notre article publié dans *Soft Matter* en 2022 (annexe A).

TABLE 3.1 – Instabilités spatiales observées (flux chaotique, ondulation intra et extra-planaires, contractions locales et globales) dans des systèmes de matière active à base de protéines du cytosquelette. PEG : Poly(Ethylene Glycol). PRC1 : Protein Regulator of Cytokinesis 1.

Référence	Moteurs	Filaments	Déplétant	Lien passif	Instabilité
Nédélec et al. 1997[47]	Agrégats kinesin-1/streptavidine	Microtubules stabilisés au taxol			Contractions locales (asters)
Surrey et al. 2001[48]	Agrégats Kinesin-1/streptavidine et Ncd	Microtubules stabilisés au taxol			Contractions locales (asters)
Bendix et al. 2008[51]	Myosin II	Actin		α -actinin	Contraction globale
Sanchez et al. 2012[64]	Agrégats kinesin-1/streptavidine	Microtubules stabilisés au GMPCPP	PEG		Flux chaotique
Alvarado et al. 2013[55]	Myosin II	Actine		Fascin	Transition entre contractions globales et locales
Foster et al. 2015[56]	Xenopus oocyte extract (with dynein and kinesin-5)	Microtubules stabilisés au taxol			Contraction globale
Torisawa et al. 2016[57]	Kinésine Eg5 tétramérique	Microtubules stabilisés au taxol			Transition entre contractions globales et locales
Ideses et al. 2018[53]	Agrégats myosine II	Actine		Fascin	Ondulation extraplanaire
Roostalu et al. 2018[49]	Kinesin-5 and kinesin-14 (multi-têtes)	Microtubules dynamiques			Transition entre contractions locales et flux chaotique
Senoussi et al. 2019[66]	Kinesin 1 avec tag SNAP (forme des agrégats non-spécifiques) et agrégats kinesin-1/streptavidine	Microtubules stabilisés au taxol	Pluronic		Ondulations extraplanaires puis flux chaotique
Strubing et al. 2020[67]	Agrégats Kinesin-1/streptavidine	Microtubules stabilisés au taxol	PEG		Contraction globale et ondulations extraplanaire puis flux chaotique
Chandrakar et al. 2020[65]	Agrégats kinesin-1/streptavidine	Microtubules stabilisés au GMPCPP	PEG	PRC1	Ondulations intraplanaires
Lemma et al. 2021[50]	Kinesin-4 dimérique	microtubules stabilisés au GMPCPP	PEG		Transition entre contractions globale et locales, ondulations intraplanaires and mousse active
Nasirimarekani et al. 2021[70]	Agrégats kinesin-1/streptavidine	Microtubules stabilisés au taxol	PEG and Pluronic		Contraction globale
Senoussi et al. 2021[6]	Kinesin 1 avec tag SNAP (forme agrégats non-spécifiques) et agrégats kinesin-1/streptavidine	Microtubules stabilisés au taxol et microtubules stabilisés au GMPCPP	Pluronic		Contractions globales et locales, Ondulations extraplanaires, flux chaotique
Sarfati et al. 2022 [59]	Agrégats kinesin-1/streptavidine	Microtubules stabilisés au taxol ou au GMPCPP	Pluronic	PRC1 et agrégats de kinésines inactives	Transition entre contractions globale et locales, ondulation intra et extraplanaires et flux chaotique

3.1 Observation des quatre motifs spatiaux dans un système contrôlé

Nous utilisons une matière active composée de microtubules stabilisés avec du GMPCPP, de kinésines biotinylées reliées entre elles par de la streptavidine, de Pluronic jouant le rôle d'agent déplétant, et d'ATP avec un système de régénération permettant d'avoir une concentration constante (pour plus de détails, voir chapitre 2). Nos expériences ont lieu dans des canaux rectangulaires de dimensions typiques $L \times W \times H = 10 \times 1 \times 0.1 \text{ mm}^3$ (Fig 3.1, 2.4).

Quand la solution est injectée dans le canal, le cisaillement fait s'aligner les faisceaux de microtubules et génère ainsi un ordre nématique, particulièrement visible à haute concentration de Pluronic, car la formation de faisceaux est plus forte et que ceux-ci sont plus aisés à distinguer (Fig 3.2b,d). Selon les concentrations d'ATP et de Pluronic, on observe ensuite quatre différentes instabilités que nous allons détailler ci-dessous.

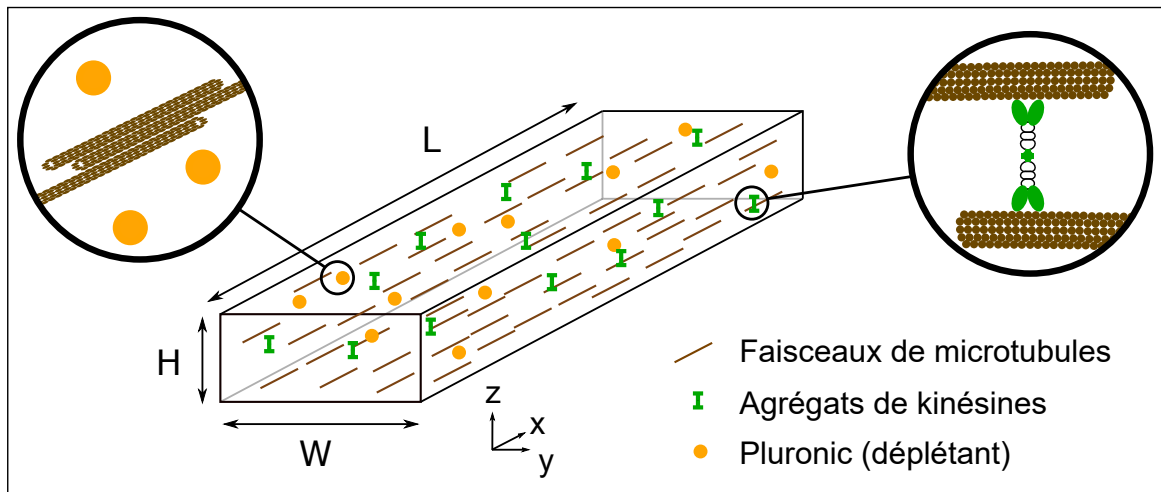


FIG. 3.1 Schéma du système expérimental. Les microtubules sont en brun, les agrégats de moteurs en vert et l'agent déplétant Pluronic en orange et sont considérés dans un canal parallélépipédique.

3.1.1 Ondulations intra et extra-planaires

Avec de hautes concentrations en Pluronic (5.5% w/v), l'état aligné initial est déformé de deux différentes manières, selon la concentration en ATP, avant que l'état chaotique n'advienne. À $50 \mu\text{M}$ ATP, les faisceaux de microtubules se déforment dans le plan xy , formant des sinusoïdes spatiales, avec une longueur d'onde typique de $250 \mu\text{m}$ le long de l'axe x , en 5 min environ (Fig 3.2a,b). Des images prises par microscopie confocale montrent une déformation minimale des faisceaux dans le plan xz . Cette instabilité intra-planaire a déjà été observée en 3D [65] et en 2D [81]. De nouvelles instabilités ont ensuite lieu entre 10 et 20 min, conduisant alors à un état chaotique.

En revanche, à plus faible concentration d'ATP, $5 \mu\text{M}$, l'ensemble des microtubules se déforme dans le plan xz , créant une feuille ondulée, de longueur d'onde typique $200 \mu\text{m}$, en 150 min environ (Fig 3.2c,d). L'ondulation se produit simultanément à une compression du gel selon l'axe z , de l'ordre

de 10%. Dans le plan xy , cette feuille ondulée apparaît comme une structure périodique de zones noires et claires, avec un ordre nématique des microtubules conservé selon l'axe x . Au temps long, autour de 1500 min, cette instabilité détruit l'ordre nématique laissant deviner le prélude d'un état chaotique bien que celui-ci ne soit en général pas atteint du fait de la lenteur du système. Cette instabilité hors du plan a déjà été observée au laboratoire, dans un système similaire [66]. Cependant les microtubules étaient plus longs (environ 8 μm de long contre 1,5 μm ici), stabilisés au taxol, et la concentration d'ATP était bien plus importante (2 mM).

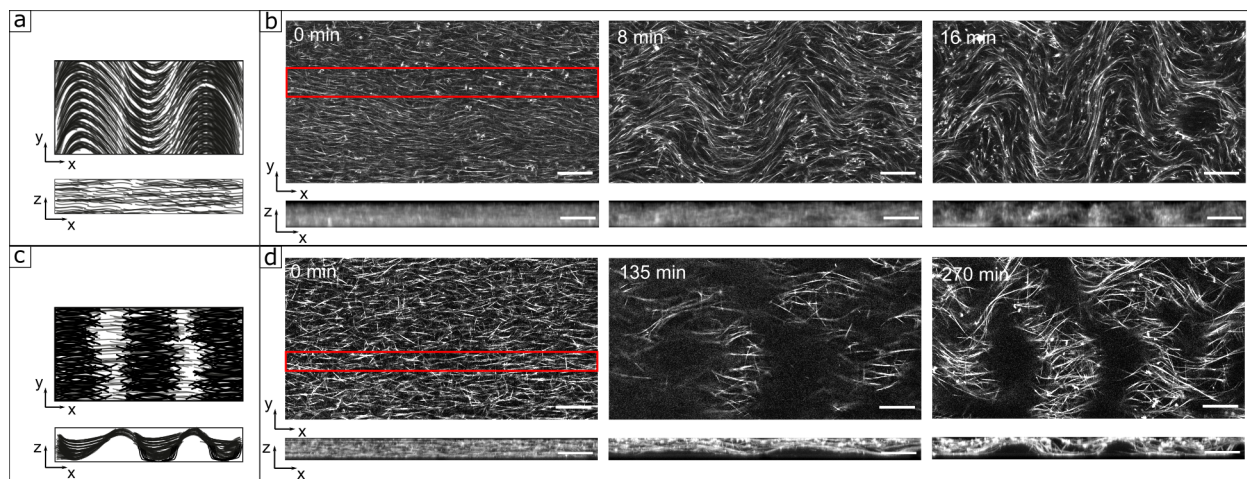


FIG. 3.2 Présentation des instabilités d'ondulations, observées à haute concentration de Pluronic. a,c) Schémas des ondulations intra-planaires (a) et extra-planaires (c). Les microtubules sont représentés en noir. b,d) Séquences d'images de microscopie confocale montrant l'instabilité intra-planaire (b) et extra-planaire (d) vues du dessous (plan xy) et de côté (plan xz). Les microtubules apparaissent en blanc. 5,5 % Pluronic, $[ATP] = 50 \mu\text{M}$ (b) et $[ATP] = 5 \mu\text{M}$ (d). Barre d'échelle 200 μm .

3.1.2 Contractions locales et globales

À plus faible concentration en Pluronic, 1,5 %, le comportement du système change drastiquement (Fig 3.3). Dans ces conditions et à haute concentration d'ATP (100 μM), un flux chaotique est observé durant les 100 premières minutes, avant que les microtubules ne s'agrègent. L'aire des agrégats grandissant à une vitesse exponentielle de 0.028 min^{-1} , formant d'abord des touffes d'environ 20 μm de diamètre qui se regroupent ensuite (après 1500 min) dans des agrégats de 250 μm de diamètre environ séparés par une longueur caractéristique de l'ordre de 500 μm (Fig 3.3a,b). Nous appelons contraction locale cette instabilité tardive. Par ailleurs, à la résolution temporelle et spatiale des expériences menées, il n'est pas possible d'identifier l'instabilité menant au flux chaotique initial.

À l'inverse, à faible concentration en ATP (5 μM), une contraction globale, en l'absence de flux chaotique, est observée (Fig 3.3c,d). Le réseau de microtubules se contracte d'abord selon l'axe y à une vitesse de 0.015 min^{-1} , jusqu'à atteindre une largeur stable correspondant à 30 % de la

largeur initiale W à $t = 1000$ min, et ensuite selon l'axe x jusqu'à l'arrêt de la contraction vers $t = 1700$ min. Cette transition de contraction globale à contraction locale rappelle celle observée dans des gels d'actomyosine, où une concentration critique de liens passifs induit la percolation du gel, conduisant à l'état de contraction globale [55]. Elle a été aussi observée dans des extraits cellulaires avec microtubules [56], ainsi qu'avec des systèmes composés de microtubules stabilisés au taxol avec des kinésines-5 [57].

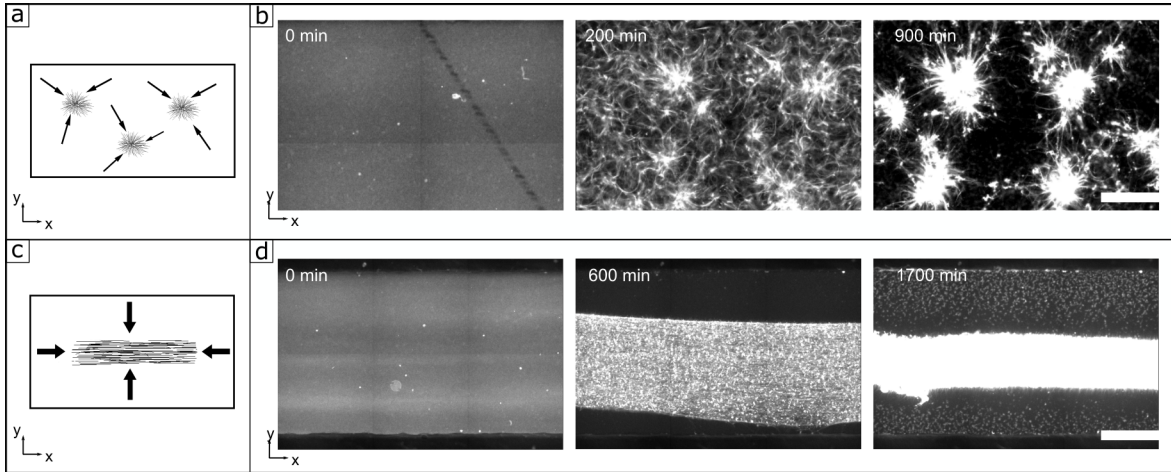


FIG. 3.3 *Présentation des contractions a,c) Schémas des deux instabilités de contraction locale (a) et globale (c). Les microtubules sont représentés en noir. b,d) Séquences d'images de microscopie à fluorescence montrant la contraction locale (b) et globale (d) vues du dessous (plan xy). Les microtubules apparaissent en blanc. 1,5% Pluronic, $[ATP] = 100 \mu M$ (b) et $[ATP] = 5 \mu M$ (d). Scale bar $500 \mu m$.*

3.1.3 Espace des phases

Nous avons effectué des expériences similaires en variant les concentrations d'ATP et de Pluronic, dont les résultats sont récapitulés dans le diagramme de phases de la figure 3.4. On y retrouve les quatre instabilités présentées ci-dessus, séparées par deux frontières : une verticale liée à la concentration d'ATP et une horizontale liée à la concentration de Pluronic. La transition entre ondulation intra-planaire et extra-planaire évoquée au paragraphe 3.1.1 a lieu à une concentration critique $[ATP]_c$ entre 5 et 10 μM , qui augmente légèrement avec la hausse de la concentration de Pluronic.

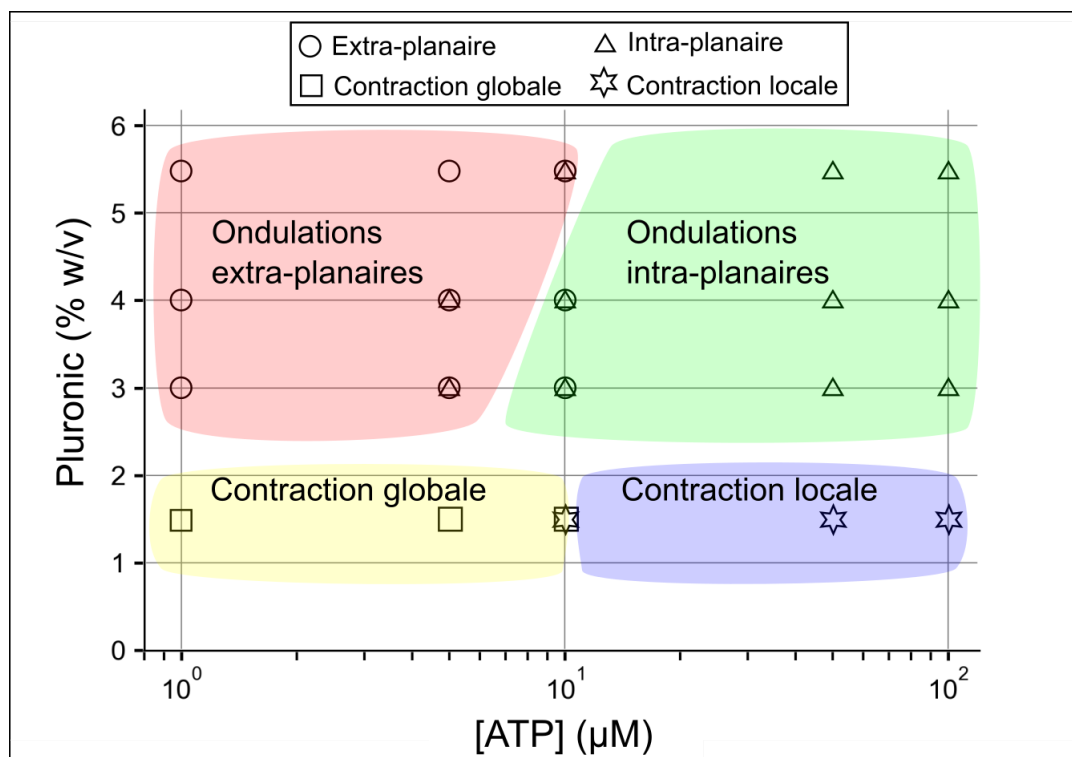


FIG. 3.4 Diagrammes de phase des quatre instabilités spatiales en fonctions des concentrations d'ATP et de Pluronic. Les symboles indiquent les instabilités observées lors des 3 répétitions de chaque expérience, et les couleurs sont un guide visuel. a) Diagramme de phases pour des microtubules GMPCPP. b,c) Diagrammes de phases en début et fin d'expérience pour des microtubules stabilisés au taxol.

À faible concentration de Pluronic ($\leq 1,5\%$), la transition entre contractions locales et globales survient également à $[\text{ATP}]_c = 10 \mu\text{M}$, suggérant que l'ATP joue un rôle similaire dans les deux processus. En regardant la dynamique de ces instabilités, on constate qu'à concentration de Pluronic constante, le temps caractéristique d'apparition de l'instabilité diminue avec l'augmentation de la concentration d'ATP (Fig 3.5e). Ce temps caractéristique est déterminé en considérant une observable différente selon l'instabilité, à laquelle on ajuste une courbe sigmoïde (Fig 3.5a-d). Pour les instabilités ondulantes, l'observable considérée est l'écart-type de la distribution des valeurs des pixels des images de microscopie. On a alors une augmentation de cet écart-type au cours de l'instabilité. Pour la contraction globale on considère la largeur du gel actif, qui va diminuer au cours de la contraction. Enfin pour la contraction locale, on mesure la taille moyenne des agrégats de microtubules (Fig 3.5a-d). Cinétiquement, on remarque que le temps caractéristique de ces instabilités décroît fortement lorsque la concentration en ATP augmente (Fig 3.5e), avec les ondulations extra-planaires qui sont significativement plus lentes que celles intra-planaires, excepté à $[\text{ATP}]_c$ où les expériences répétées ont donné soit l'une, soit l'autre de ces deux instabilités, ou bien un mélange des deux (Fig 3.6) avec des temps caractéristiques comparables.

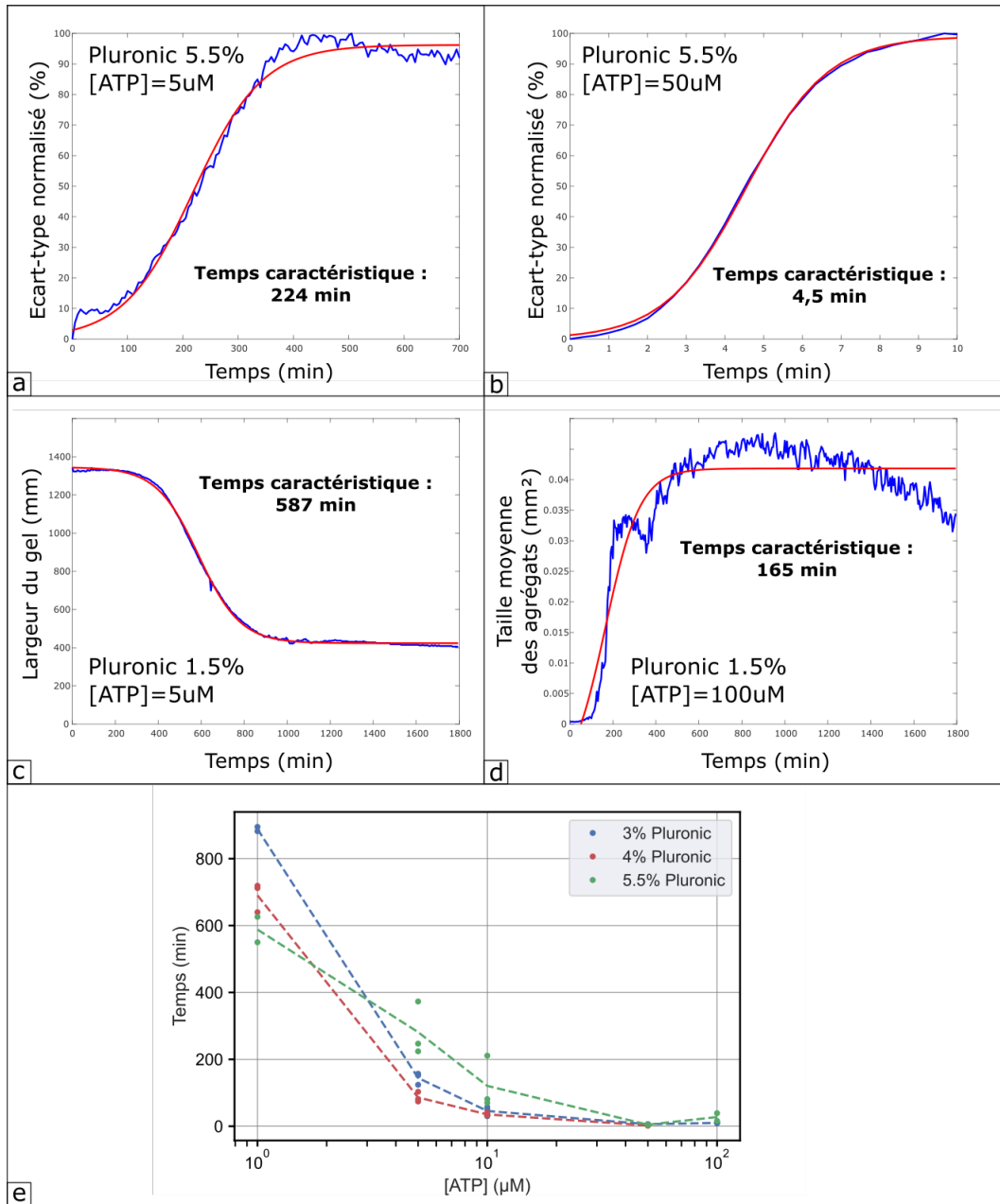


FIG. 3.5 Détermination du temps caractéristique des différentes instabilités, en ajustant une courbe sigmoïde (rouge) aux données (bleu). a) Ondulations extra-planaires. b) Ondulations intra-planaires. c) Contraction globale. d) Contraction locale. e) Évolution du temps caractéristique pour différentes concentrations de Pluronic. Les points correspondent aux données répétées trois fois tandis que les lignes pointillées sont des moyennes, guides visuelles.

Dans un travail récent et complémentaire, Lemma *et al.* [50] ont établi le diagramme de phase d'un gel actif similaire en fonction des concentrations de tubuline et d'agent déplétant ou de moteurs à haute concentration d'ATP. En particulier, Lemma *et al.* ont trouvé qu'une plus haute concentration de déplétant permettait le passage des contractions locales aux globales ou bien de

celles-ci à une ondulation intra-planaire. Dans notre cas, l'augmentation de la concentration de déplétant induit une transition des contractions locales à l'ondulation intra-planaire seulement et des contractions globales aux ondulations extra-planaires. L'explication de ces différences pourrait résider dans la nature différente de l'agent déplétant utilisé, à savoir du PEG pour Lemma *et al.*, et du Pluronic dans notre cas. Varier la concentration d'ATP semble alors nécessaire pour obtenir des ondulations extra-planaires mais pas pour des contractions globales.

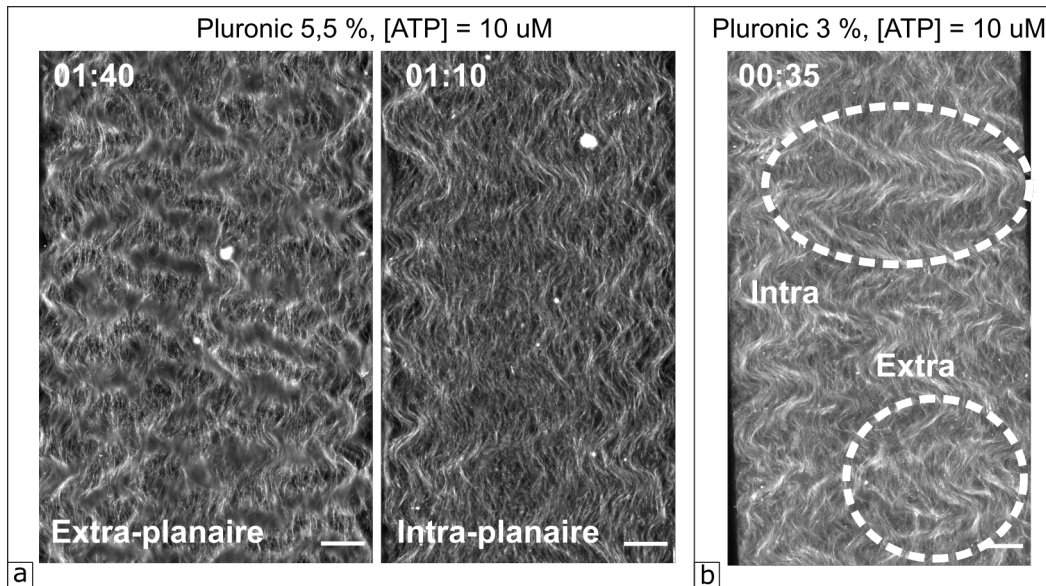


FIG. 3.6 Transition entre ondulations intra et extra-planaires. a) Pour des conditions expérimentales identiques, les deux types d'instabilité sont observées dans deux échantillons séparés. b) Les deux instabilités sont observées simultanément sur le même échantillon. Temps en h:min. Barres d'échelle 200 μm .

Il est à noter que le diagramme de phases est similaire pour des microtubules plus longs, stabilisés au taxol, bien que quelques différences soient observées (Fig 3.7). D'abord la transition entre ondulations intra et extra-planaires, ainsi qu'entre contractions globales et locales, a lieu à une concentration d'ATP plus forte, entre 10 et 100 μM ATP contre une valeur entre 5 et 10 μM pour les microtubules GMPCPP. Deuxièmement, la limite entre les instabilités contractiles et extensiles a lieu à une plus faible concentration d'agent déplétant, inférieure à 1 % pour les microtubules stabilisés au taxol contre une valeur supérieure à 1,5 % pour les microtubules GMPCPP. Enfin, les ondulations, intra-planaires et extra-planaires, évoluent parfois en des contractions, respectivement locales et globales, plutôt qu'en des flux chaotiques. Nous supposons que ces différences sont dues à la longueur plus grande des microtubules stabilisés au taxol, qui favoriserait la formation d'un gel à une plus faible concentration d'agent de réticulation (et donc à plus forte concentration d'ATP) ainsi que la formation de faisceaux à une plus faible concentration d'agent déplétant.

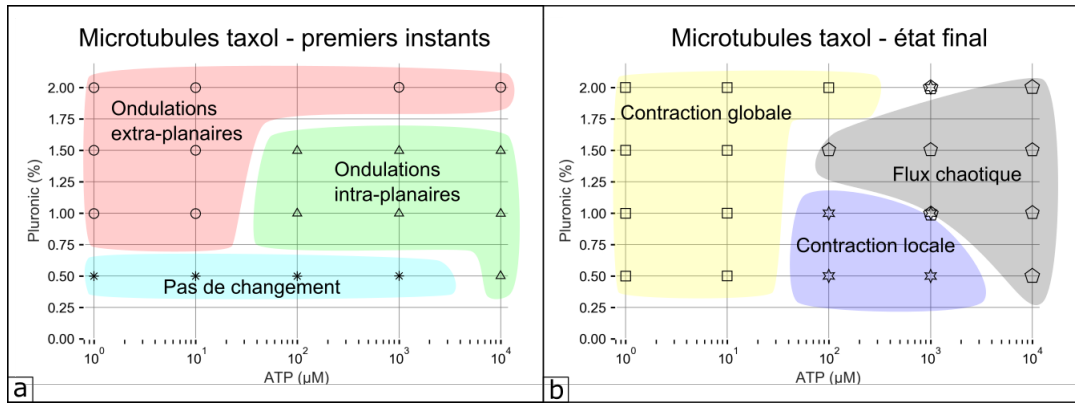


FIG. 3.7 Diagrammes de phase des quatre instabilités spatiales en fonctions des concentrations d'ATP et de Pluronic, pour des microtubules stabilisés au taxol. a) Diagrammes de phases en début d'expérience. b) Diagramme de phases en fin d'expérience.

Quatre états distincts sont obtenus avec les microtubules courts principalement utilisés. Des ondulations intra et extra-planaires, préludes à un flux chaotique, à forte concentration de Pluronic, ainsi que des contractions globales ou locales à faible concentration de Pluronic. La transition entre ces états, pour une concentration d'agent déplétant donnée, se fait en variant la concentration d'ATP autour d'une concentration critique d'environ 10 μM.

Dans la suite nous allons déterminer l'action de l'ATP dans les quatre instabilités spatiales observées en considérant deux hypothèses alternatives. Dans une hypothèse cinétique, nous supposons que les processus amenant chaque type d'ondulation sont concurrents et que c'est l'évolution de leurs temps caractéristiques qui va amener la transition d'une instabilité à l'autre. Le facteur déterminant serait alors la contraction passive selon z des microtubules, qui favoriserait l'ondulation extra-planaire. Dans l'hypothèse de gélification, la concentration d'ATP influence la quantité de moteurs inactifs, qui agissent alors comme des agents réticulants induisant une gélification en dessous d'une concentration critique d'ATP.

3.2 Hypothèse cinétique

Senoussi et al [66], ainsi que Strübing et al [67], ont observé une instabilité d'ondulation extra-planaire à haute concentration d'ATP en présence de longs microtubules [66, 67]. Dans l'article de Senoussi et al, des forces de déplétion passives faisaient se contracter les microtubules selon z pour former un film qui ondulait du fait de la tension de surface négative induite par les moteurs. Notre première hypothèse est donc qu'une réduction de la concentration d'ATP réduit l'activité et laisse le temps à la contraction passive de former un film qui ondule ensuite. Dans cette hypothèse cinétique, deux processus sont alors en compétition : la contraction des microtubules en un film, qui ne dépend pas de l'ATP, et l'activité due aux moteurs, qui dépend de la concentration en ATP aux quantités considérées (Fig 3.8a) c'est-à-dire inférieure à une concentration saturante [71].

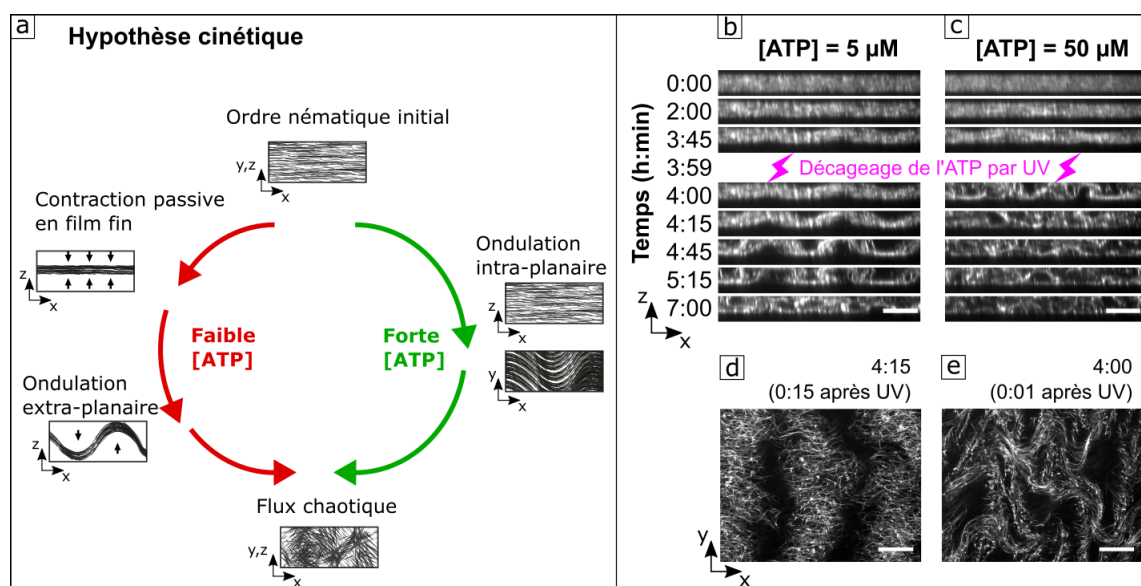


FIG. 3.8 *Illustration et test expérimental de l'hypothèse de compétition cinétique. a) Schéma des deux chemins différents pour arriver à l'état de flux chaotique. b, c, d, e) Images de microscopie confocale de gels actifs avec respectivement $5 \mu M$ (b, d) et $50 \mu M$ (c, e) d'ATP cagée. b, c) Séquence temporelle dans le plan xz avec le décaageage survenant à 3 :59. d, e) Images dans le plan xy juste après le décaageage. Barres d'échelle de $100 \mu m$ en xz et de $188 \mu m$ en xy . Pluronic 5,5 %.*

Pour tester cette hypothèse nous avons dans un premier temps mesuré la dynamique de contraction passive en l'absence d'ATP, par microscopie confocale redécoupée pour observer la tranche (Fig 3.9a). Pour un gel d'épaisseur initiale $100 \mu m$, en absence de Pluronic mais en présence de moteurs, une légère expansion du gel a été observée, de l'ordre de 5%. La plus forte contraction, 50% de l'épaisseur du gel, a été observée en présence de Pluronic sans kinésine, et une contraction de 30% a été observée en présence de Pluronic et kinésine. Dans ces deux derniers cas le temps caractéristique de contraction passive du gel était de 150-200 min. Cela montre que la contraction observée habituellement dans le cadre d'ondulations extra-planaires est une contraction passive, due à l'agent déplétant. Nous pourrions davantage expliquer ces trois comportements après l'examen de la deuxième hypothèse.

Nous avons ensuite répété l'expérience de transition entre ondulations intra-planaires et extra-planaires de la Fig 3.2 en utilisant de l'ATP cagée, un analogue de l'ATP rendu inactif par un groupe nitrophényléthyle (NPE) bloquant le phosphate terminal mais qui peut se détacher par illumination UV. Avec cette molécule il est donc possible de laisser advenir la contraction sans activité puis d'illuminer le système afin de démarrer celle-ci. Les deux systèmes, à $5 \mu M$ et $50 \mu M$ d'ATP cagée, ont donc pu évoluer initialement sans activité avant que l'ATP soit décaagée au bout de 4h à l'aide d'un flash lumineux d'une minute (Fig 3.8b,c). Dans les deux cas, les microtubules se sont légèrement contractés selon z pendant les 4 premières heures, de manière comparable aux expériences de contraction passive faites préalablement (Fig 3.9b). Simultanément, on observe un

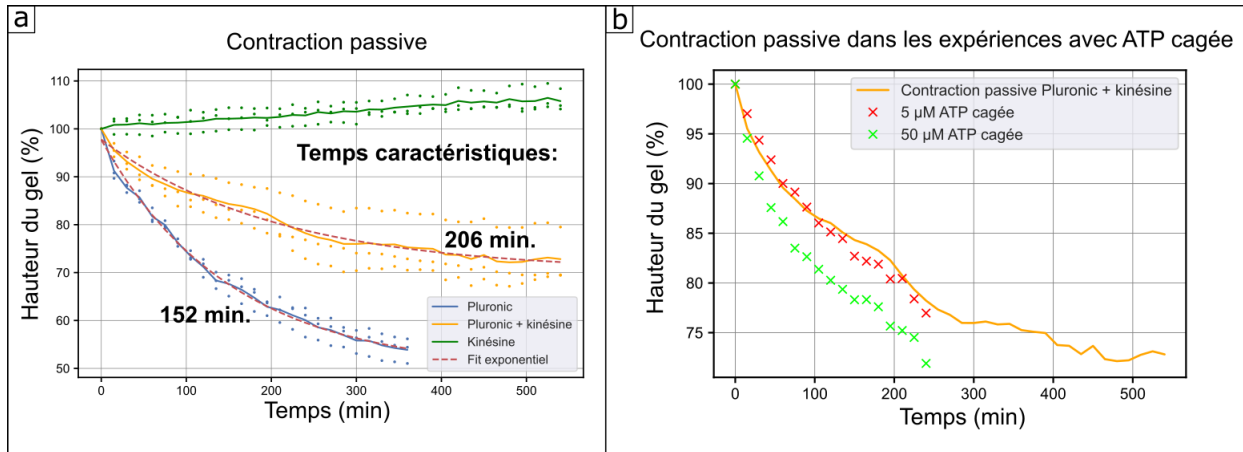


FIG. 3.9 Cinétique de contraction passive selon l'axe z . a) Contraction passive en l'absence d'ATP, avec du Pluronic (bleu), des kinésines (vert) ou bien les deux (jaune). Les temps caractéristiques sont déterminés à partir des ajustements exponentiels (pointillés rouges). b) Contraction passive en présence d'ATP cagée, avant son activation. Pour comparaison, la moyenne des expériences passives montrées dans le panel a est représentée en jaune. Pluronic 5,5 %.

très léger ondulement, probablement dû aux quantités résiduelles d'ATP non cagé dans la solution de kinésine.

Après décaage, une ondulation extra-planaire a été observée en 15 min à 5 μM d'ATP, avec un ordre nématique préservé selon x (Fig 3.8d), comme observé dans la Fig 3.2 et comme attendu pour l'hypothèse cinétique. Cependant, à 50 μM , le décaage a résulté en une ondulation intra-planaire, détruisant l'ordre nématique selon x (Fig 3.8e), de manière semblable (bien que moins claire car combinée à une légère ondulation extra-planaire) à ce qui se passait dans la figure 3.2. Cette ondulation extra-planaire concomitante n'est pas surprenante outre-mesure car, comme discuté ci-après, un film non contraint et ondulant dans le plan xy se déforme nécessairement dans le plan xz . Cependant, il n' a pas été observé d'ondulation extra-planaire pure à 50 μM d'ATP malgré la formation préalable d'un film de microtubules, ce qui invalide donc l'hypothèse cinétique.

L'hypothèse cinétique suppose une compétition entre la formation d'un film fin de microtubules par un mécanisme passif et l'arrivée de l'instabilité due à l'activité. Cependant l'observation montre qu'en laissant advenir la contraction passive avant de démarrer l'activité à l'aide d'ATP cagée, on obtient toujours deux instabilités différentes, selon la concentration d'ATP. Cela invalide donc l'hypothèse cinétique.

3.3 Hypothèse de gélification

Gagnon *et al.* ont montré, grâce à des expériences de micro-rhéologie, que réduire la concentration d'ATP dans un système actif semblable au nôtre, entraînait une transition d'un état fluide à état gélifié quasi-solide [102] car les kinésines agissaient comme des liaisons passives entre les

microtubules lorsqu'elles n'étaient pas liées à une molécule d'ATP. Cependant, cette transition sol-gel n'avait alors pas été reliée aux structures spatiales à longues portée discutées ici. Notre seconde hypothèse découle de cette observation en supposant que la transition entre l'ondulation intra-planaire et celle extra-planaire provient de cette gélification (Fig 3.10).

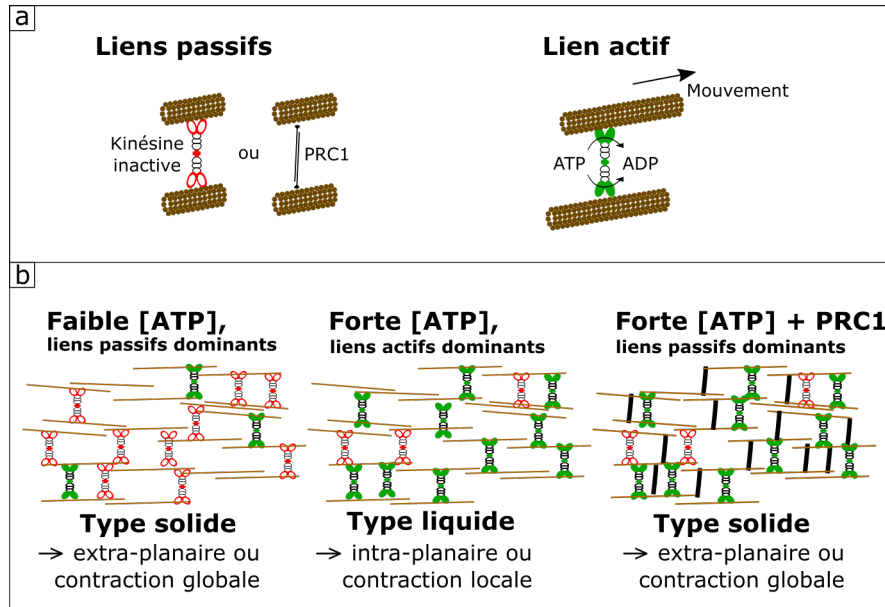


FIG. 3.10 Illustration de l'hypothèse de gélification. a) Schémas des liens passifs (kinésine inactive en rouge ou PRC1) et des liens actifs (kinésine consommant de l'ATP, en vert). b) Schémas de la matière active selon différents cas possibles de [ATP] et [PRC1], mettant en évidence leur état, de type fluide ou solide, et les instabilités associées.

Nous allons d'abord voir que cette hypothèse est cohérente avec les résultats expérimentaux, avant de présenter un modèle théorique hydrodynamique qui permet également de la soutenir.

3.3.1 Effet de la concentration de liens passifs

Pour vérifier expérimentalement l'hypothèse de gélification, on cherche à augmenter la connectivité du réseau de microtubules en gardant la concentration d'ATP constante. Pour cela, nous utilisons des molécules PRC1, qui sont des protéines jouant le rôle de liens passifs entre les microtubules, déjà utilisées dans des travaux antérieurs [65] pour augmenter la rigidité des faisceaux de microtubules dans le système actif et gracieusement fournies par Guillaume Duclos de l'Université de Brandeis.

À haute concentration en Pluronic, on observe que l'ajout de 10 nM PRC1 est suffisant pour transiter d'une instabilité intra-planaire à une instabilité extra-planaire (Fig 3.11a,b). À faible concentration en Pluronic, un système présentant habituellement des contractions locales montre une contraction globale quand on lui ajoute 20 nM de PRC1 (Fig 3.11c,d). Dans ces deux cas, la transition qui est faite habituellement en diminuant la concentration d'ATP est cette fois obtenue en introduisant une certaine quantité de PRC1. Par ailleurs, il a parfois été observé qu'une ondulation

intra-planaire devient une contraction globale quand du PRC1 est ajouté (Fig 3.11e,f) bien que cela reste exceptionnel.

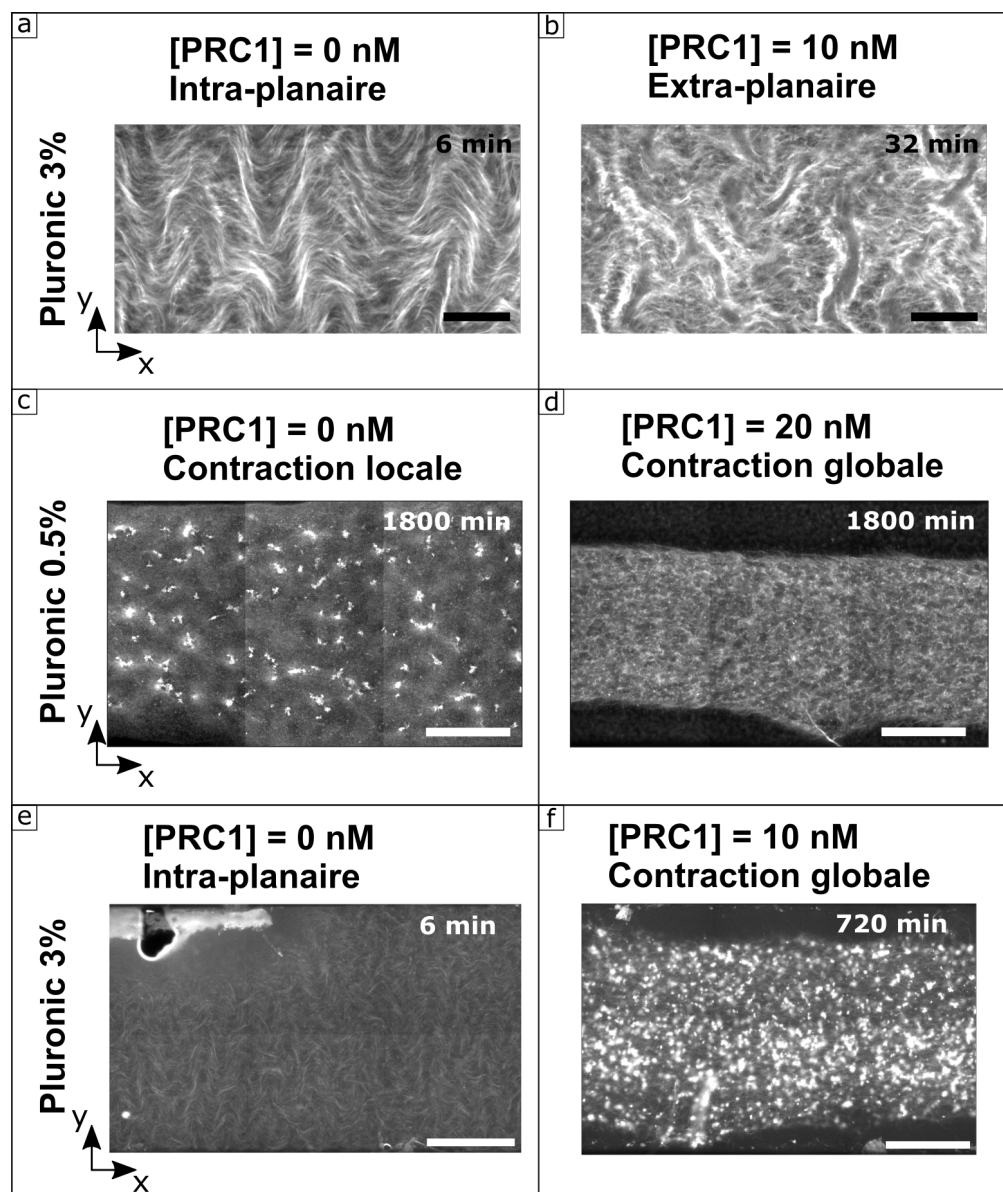


FIG. 3.11 Images de microscopie à fluorescence montrant les instabilités observées à haute concentration de Pluronic (a,b) et faible concentration de Pluronic (c,d), en l'absence (a,c) et en présence de PRC1 (b,d). (e,f) Images de microscopie à fluorescence dans le cas particulier où le système qui présente une ondulation intra-planaire sans PRC1 (e) présente une contraction globale avec l'ajout de 10 nM de PRC1 (f). $[ATP] = 50\mu M$. Barres d'échelle 200 μm (a,b) et 500 μm (c,d,e,f). Pour les images c,d,e,f, les bords de l'image dans la largeur correspondent aux bords du canal.

Cinétiquement, on peut remarquer que les temps caractéristiques des instabilités ondulantes, ainsi que ceux des instabilités contractiles, sont similaires à concentration d'ATP constante et de

PRC1 différente. C'est également ce qui avait été observé à $[ATP]_c$, lors des expériences sans PRC1. En revanche ces temps caractéristiques diffèrent lorsque la concentration d'ATP varie, en l'absence de PRC1. Cela conforte l'idée que la cinétique n'influe pas sur le type d'instabilité mais qu'elle est bien liée à la concentration d'ATP.

Il est possible d'estimer la concentration de liens passifs lors de la gélification, qui se produit à $[ATP]_c \approx 10 \mu M$ (Fig 3.4). Pour cela nous notons la concentration de moteurs passifs et actifs respectivement c_m^p et c_m^a , avec $c_m^p + c_m^a = c_m^0$, la concentration c_{str}^0 de streptavidine permettant de lier les kinésines entre elles et la concentration de liens c_l^0 entre les microtubules. Le modèle de Michaelis-Menten, utilisé pour l'ensemble kinésine-ATP, nous permet d'avoir $c_m^p = c_m^0 \left(1 - \frac{[ATP]}{K_M + [ATP]}\right)$ avec $K_M = 40 - 60 \mu M$ la constante de Michaelis-Menten pour le moteur kinesin-1 avec l'ATP [104, 105]. Dans les expériences $c_m^0 = c_{str}^0$, ce qui conduit à des complexes avec 0, 1 ou 2 moteurs attachés. Pour simplifier, nous considérerons que ces trois complexes sont en égales quantités, ce qui semble raisonnable compte tenu des équations de complexation et de leurs constantes thermodynamiques et cinétiques. Seuls les complexes avec 2 kinésines peuvent être considérés comme liants. Parmi ces liens, nous avons $1 - \left(\frac{c_m^p}{c_m^0}\right)^2$ liens actifs et $\left(\frac{c_m^p}{c_m^0}\right)^2$ liens passifs.

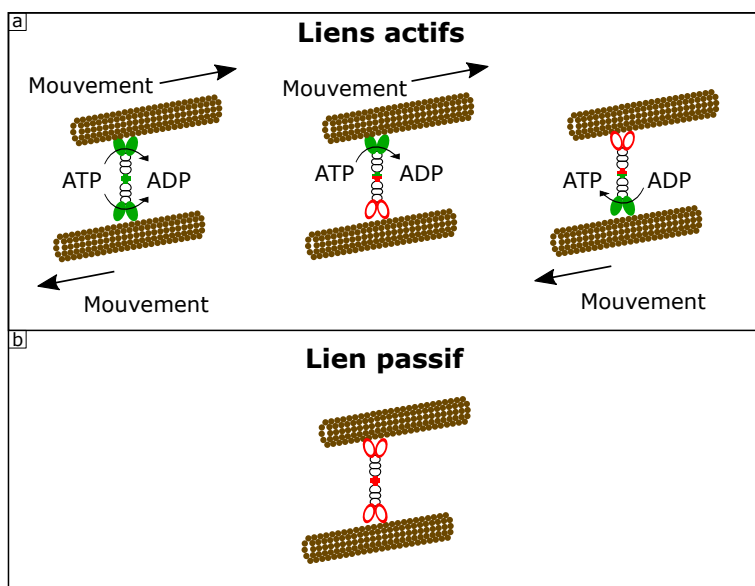


FIG. 3.12 Schémas des différents types de liens selon l'activité des kinésines. a) Liens actifs, constitués d'au moins une kinésine active. b) Lien passif, constitué de deux kinésines passives. Les kinésines actives sont représentées avec les pieds pleins, verts tandis que les kinésines inactives sont représentées avec les pieds vides, rouges.

En prenant $c_m^0 = 25 \text{ nM}$ pour nos expériences, on trouve $c_m^p \approx 20 \text{ nM}$, ce qui correspond à une concentration de liens passifs $c_l^p \approx 5 \text{ nM}$ (Fig 3.12). Ce résultat est cohérent avec une gélification observée à 10 et 20 nM de PRC1, respectivement pour les transitions intra/extraplaire et contraction globale/contraction locale (Fig 3.4).

Pour tester davantage l'hypothèse de gélification, nous avons quantifié les vitesses moyennes des

microtubules dans le plan xy durant les instabilités ondulantes, à différentes concentrations d'ATP et en l'absence de PRC1 (Fig 3.13). Durant l'ondulation intra-planaire, on voit des flux forts allant jusqu'à $7 \mu\text{m}/\text{min}$, parallèlement à l'axe y , tel qu'observés précédemment. Un tel champ de vitesses est caractéristique d'un fluide. À l'inverse, durant l'ondulation extra-planaire, le champ de vitesses n'a pas de structure claire et celles-ci sont bien moindres, de l'ordre de $0,4 \mu\text{m}/\text{min}$, comme cela est attendu pour un solide (Fig 3.13). Cette quantification du champ de vitesses permet de conforter l'hypothèse d'une gélification, et la pertinence du modèle hydrodynamique présenté ci-dessous.

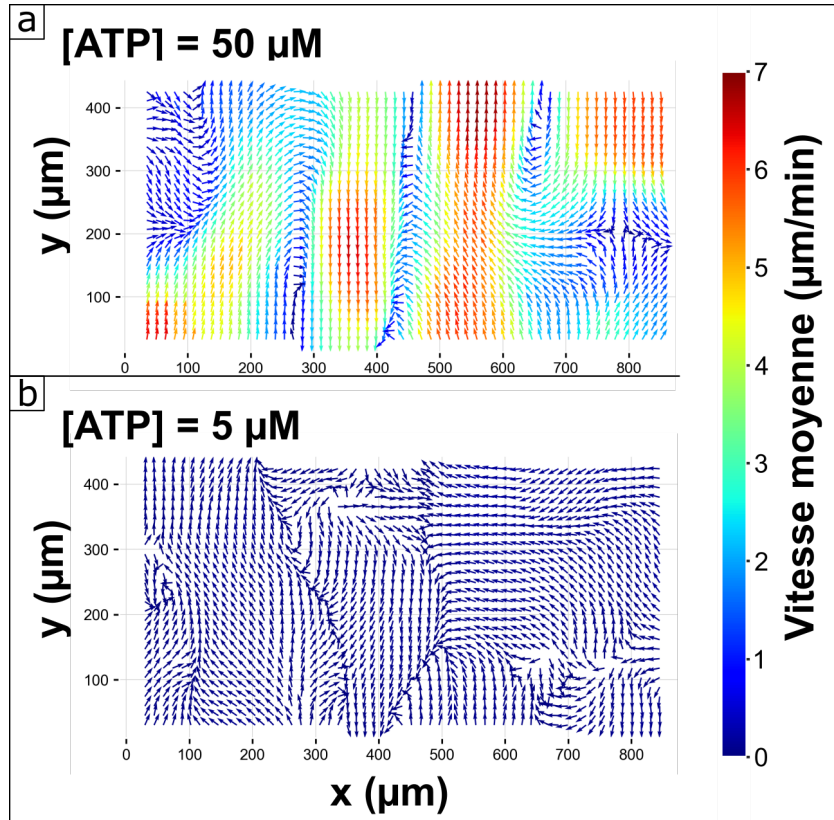


FIG. 3.13 *Vélocimétrie des instabilités ondulantes intra-planaire (a) observée et extra-planaire (b) observées à 0 nM PRC1, 5,5% Pluronic dans un gel actif.*

Nous pouvons maintenant revenir sur les résultats de la Fig 3.9 où on a mesuré la cinétique de contraction du gel en absence d'ATP dans différentes conditions. La légère expansion du gel en absence de pluronic mais en présence de moteurs (Fig 3.9 jaune) pourrait s'expliquer si le gel est légèrement comprimé lorsqu'il est injecté dans le canal et qu'il retrouve son état d'équilibre en contact avec les parois du canal. L'état métastable de compression s'explique d'autant plus facilement que les kinésines servent de liens passifs en absence d'ATP comme on vient de le montrer. La compression en présence de Pluronic est attendue par un effet entropique (i.e. une transition gaz liquide). La moindre compression en présence de kinésines passives est en accord avec les liens passifs.

L'ATP contrôle le caractère actif, donc moteur, ou bien passif, donc réticulant,

d'une molécule de kinésine. La variation d'ATP induit donc une transition de la solution active entre un gel réticulé et un fluide, ce qui détermine l'instabilité spatiale montrée par le système.

3.3.2 Modèle hydrodynamique

Nous allons évoquer maintenant le modèle de matière active hydrodynamique développé par Ananyo Maitra, théoricien au laboratoire, pour montrer que l'observation des différentes instabilités est en effet cohérente avec une gélification contrôlée par la réticulation due aux moteurs passifs [59].

Le gel microtubules-kinésines est modélisé en utilisant une description d'un matériau actif réticulé et orienté tel que décrit par Hemingway et al [106]; la théorie générale est récapitulée en annexe B et résumée ici. Nous supposons qu'à faible concentration d'ATP, la plupart des moteurs agissent comme des liens passifs, tandis qu'à haute concentration d'ATP la plupart des moteurs sont actifs et n'agissent donc pas comme des liaisons. Les concentrations de moteurs actifs ou passifs n'apparaissent pas directement dans cette théorie; nous partons plutôt d'un modèle classique de visco-élasticité où les liaisons contrôlent la vitesse de relaxation $\frac{1}{\tau_c}$ d'un tenseur de conformation \mathbf{C} , qui caractérise la conformation polymérique des microtubules. $\tau_c \rightarrow 0$ correspond à un état fluide (à forte concentration d'ATP), alors que $\tau_c \rightarrow +\infty$ correspond à un état solide (à faible concentration d'ATP). Dans un tel régime solide, réticulé de manière permanente, la variation du tenseur de conformation, $\delta\mathbf{C}$, est un tenseur de contrainte classique du gel [106]. Ensuite, le degré d'alignement des microtubules est décrit par le tenseur \mathbf{Q} , comme cela est fait habituellement pour les cristaux liquides. Enfin, la dynamique du gel est caractérisée par la vitesse du fluide \mathbf{v} . Pour plus de simplicité, nous donnons ici les équations du mouvement correspondant seulement au cas où le gel remplit le canal en entier (ce qui est le cas au moins à haute concentration d'ATP). Nous moyennons la dynamique du gel sur l'épaisseur du canal pour présenter la dynamique 2D effective. Ces équations bidimensionnelles hydrodynamiques gouvernent la dynamique des variables couplées \mathbf{C} , \mathbf{Q} et \mathbf{v} :

$$\partial_t \mathbf{Q} = \mathbf{Q} \cdot \boldsymbol{\omega} - \boldsymbol{\omega} \cdot \mathbf{Q} - 2\lambda \mathbf{A} + \frac{1}{\tau_Q} \mathbf{H}$$

$$\partial_t \mathbf{C} = \mathbf{C} \cdot \boldsymbol{\omega} - \boldsymbol{\omega} \cdot \mathbf{C} - 2\lambda_C \mathbf{A} + \frac{1}{\tau_c} \mathbf{B}$$

$$\Gamma \mathbf{v} - \eta \nabla_{\perp}^2 \mathbf{v} = -\nabla_{\perp} \Pi + \nabla_{\perp} \cdot \boldsymbol{\sigma}^G$$

où $\mathbf{A} = (1/2)[\nabla_{\perp} \mathbf{v} + (\nabla_{\perp} \mathbf{v})^T]$ et $\boldsymbol{\omega} = (1/2)[\nabla_{\perp} \mathbf{v} - (\nabla_{\perp} \mathbf{v})^T]$. $\mathbf{H} = -\delta F / \delta \mathbf{Q}$ et $\mathbf{B} = -\delta F / \delta \mathbf{C}$ sont les champs moléculaires correspondant respectivement au tenseur nématique et au tenseur de conformation, où F est l'énergie libre qui contrôlerait la dynamique en l'absence d'activité. Fondamentalement, F introduit un couplage entre l'alignement \mathbf{Q} et la conformation \mathbf{C} du gel, avec un coefficient κ (voir annexe B), de la forme $2\kappa C'_{ij} Q_{ij}$, en utilisant la notation d'Einstein pour les indices. \mathbf{Q} et \mathbf{C} sont également couplés par leurs couplages respectifs à la vitesse du fluide. Π impose une contrainte d'incompressibilité bidimensionnelle $\nabla_{\perp} \cdot \mathbf{v} = 0$ et $\boldsymbol{\sigma}^G$ est la contrainte due au gel qui a la forme décrite par Hemingway et al [106]. L'activité est introduite dans le modèle via

une contrainte active $\zeta \mathbf{Q}$, qu'on suppose dépendante uniquement de l'ordre nématique, avec $\zeta > 0$ décrivant un système avec une contrainte active extensile uniaxiale. Les termes restants sont requis pour assurer l'équilibre physique en l'absence d'activité.

Comme cela est montré en détail en annexe B, cette formulation démontre que dans le cas limite du fluide ($\tau_c \rightarrow 0$), correspondant à une forte concentration en ATP, et pour une activité ζ suffisante, l'instabilité classique d'ondulation intra-planaire, caractéristique de fluides extensiles, est obtenue. Cependant, quand $\tau_c \rightarrow +\infty$ (correspondant à une faible concentration d'ATP), soit que le gel est davantage solide, l'instabilité intra-planaire est supprimée quand $\chi > 0$.

Cependant, cette description, moyennée sur l'épaisseur du gel, ne peut rendre compte de l'ondulation extra-planaire par construction. Quand on retire cette condition d'homogénéité selon l'axe z , et que le gel a un peu d'espace pour se déformer selon cet axe, on peut démontrer que l'activité extensile mène à une tension de surface négative selon x et donc à une ondulation extra-planaire.

Des résultats compatibles avec les observations faites plus tôt émergent du modèle théorique développé par Ananyo Maitra : à τ_c faible (limite fluide), les deux instabilités intra et extra-planaires sont présentes tandis qu'à fort τ_c l'ondulation intra-planaire est supprimée et celle extra-planaire reste présente. L'ondulation extra-planaire a cependant besoin d'un peu d'espace pour pouvoir advenir, grâce par exemple à une légère contraction selon l'axe z .

3.4 Conclusion et perspectives

Nous avons observé quatre importantes instabilités spatiales — ondulations intra et extra-planaires, contractions locales et globales — dans un seul type de matière active du cytosquelette, les gels de microtubules-kinésines en présence d'agent déplétant. Le diagramme de phases ATP-Pluronic de ces instabilités est traversé par deux frontières : une à $[\text{ATP}]_c \approx 10 \mu\text{M}$ et une à $[\text{Pluronic}] \approx 2 \%$. La transition obtenue en diminuant la concentration d'ATP est due à une gé-lification, survenant du fait que les kinésines deviennent des liens passifs entre les microtubules lorsqu'elles ne sont pas liées à une molécule d'ATP.

Les agrégats de kinésines peuvent donc autant jouer le rôle de moteurs induisant un mouvement actif que de réticulants de l'ensemble de microtubules, le passage de l'un à l'autre dépendant de la concentration d'ATP. La deuxième frontière, dépendant de la concentration en Pluronic, n'a pas été davantage explorée. On peut cependant supposer une influence de l'ordre. En effet, bien que la déplétion des microtubules soit encore mal comprise [63], il semblerait que la hausse d'agent déplétant participe à la formation de faisceaux plus grands et facilite un ordre nématique plus important. De plus, les récents travaux sur les diagrammes de phases d'un tel système [50, 58] laissent penser qu'une plus forte concentration d'agent déplétant est nécessaire pour observer les instabilités ondulantes lorsqu'on utilise le Pluronic plutôt que le PEG. Or le PEG favoriserait davantage l'ordre nématique que le Pluronic [70]. Il pourrait donc être intéressant d'investiguer cette piste, ainsi que celle de l'épaisseur des faisceaux selon la quantité d'agents déplétant. Le

problème ici étant de découpler ces deux effets (grossissement des faisceaux et alignement de ceux-ci).

Une autre piste pourrait être la connectivité du réseau définie en tant que nombre de voisins liés pour chaque microtubule. En effet la percolation présentée dans ce chapitre, et qui expliquerait la frontière liée à l'ATP, pourrait ne reposer que sur un faible nombre de connexions, tant que tous les microtubules sont reliés. La deuxième frontière, liée à l'agent déplétant, pourrait alors dépendre de cette connectivité, tandis que la déplétion crée des faisceaux relativement éloignés les uns des autres, ce qui réduirait mécaniquement cette connectivité.

Chapitre 4

Motilité de gouttes actives

Nous avons vu dans le chapitre précédent comment notre système actif permettait d'obtenir plusieurs structurations spatiales. Nous avons ensuite confiné ce système dans des gouttes afin d'observer la motilité engendrée.

Pour cela nous formons des gouttes allant de 70 μm à 200 μm de diamètre, selon deux méthodes différentes qui sont présentées de façon plus détaillée dans le chapitre 2.

La première consiste à utiliser une puce microfluidique et permet de former des gouttes de 100 μm de diamètre environ. La seconde est le piège capillaire, en faisant plonger et émerger un capillaire contenant le mélange actif dans un bain d'huile, qui permet l'obtention de gouttes de plus de 150 μm de diamètre.

Dans ce chapitre, nous allons voir les comportements communs des différentes gouttes réalisées avant de classifier leurs comportements divergents. Enfin, nous allons proposer des pistes de facteurs déterminant ces comportements.

4.1 Caractéristiques générales sur les gouttes

Bien que les gouttes soient produites de manières différentes, avec des tailles différentes, les chambres d'observation sont construites de manière identique (voir chapitre 2) et il est possible d'observer des comportements semblables.

4.1.1 Considérations géométriques

Une fois les gouttes formées et collectées dans un microtube, celles-ci sont prélevées délicatement et insérées dans les chambres d'observation, en essayant de les diluer suffisamment pour qu'elles ne soient pas en contact mais qu'on puisse en observer quelques dizaines dans un même espace. Les chambres d'observation sont constituées de deux lames de verre traitées au polyacrylamide, séparées par du scotch double-face. On la modélise ainsi par deux plans infinis séparés d'une hauteur h , tel qu'indiqué sur la figure 4.1a. Lorsque les gouttes insérées ont un diamètre $D^* > h$, nous visualisons donc des gouttes en forme de pancakes dont on peut déterminer les différentes caractéristiques (Fig 4.1a,b, Fig 4.2).

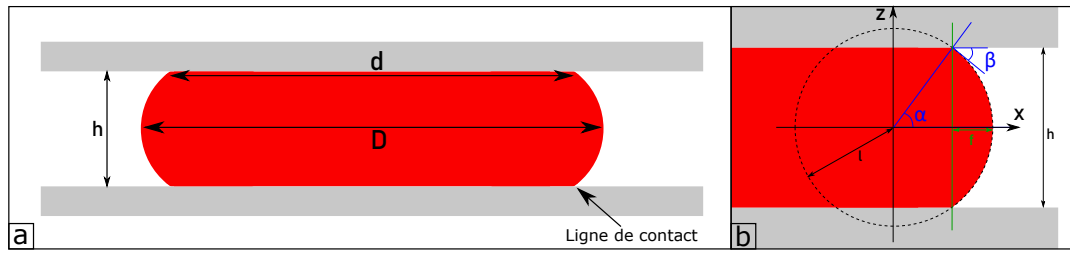


FIG. 4.1 Configurations géométrique. a,b) Schémas d'une goutte-type, prise entre deux lames de verre, présentant les différentes caractéristiques géométriques utilisées.

En effet, en supposant que l'angle de contact $\beta = \frac{\pi}{2} - \alpha$ ne dépend pas de la valeur de h , et celle-ci étant connue, il nous suffit d'avoir une des deux valeurs restantes, le diamètre d au contact du verre ou le diamètre maximal D , pour avoir la dernière valeur grâce à la formule

$$D = d + h \frac{1 - \cos(\alpha)}{\sin(\alpha)}.$$

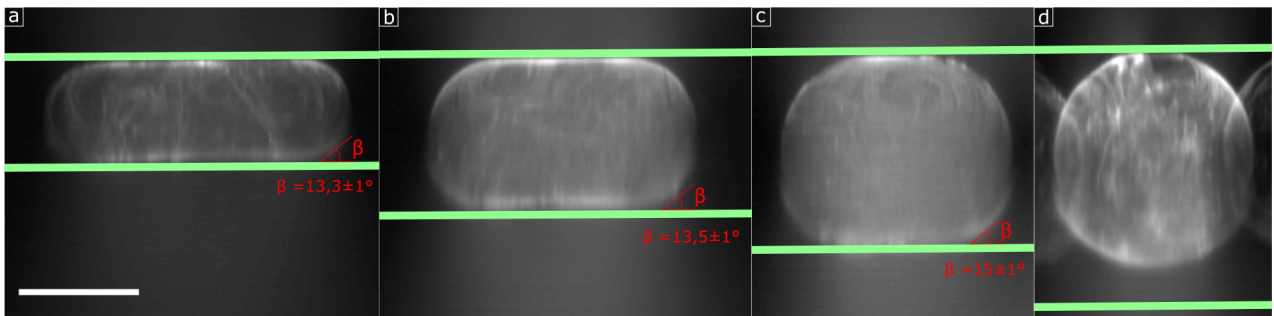


FIG. 4.2 Images de microscopie confocale à fluorescences de gouttes de même volume dans des chambres de hauteur différentes : (a) $h = 80 \mu\text{m}$, (b) $h = 120 \mu\text{m}$, (c) $h = 150 \mu\text{m}$, (d) $h = 200 \mu\text{m}$. Les traits verts représentent l'emplacement estimé des surfaces de verre. Barre d'échelle $100 \mu\text{m}$.

Pour déterminer la forme de la goutte dans le plan xz et vérifier la formule ci-dessus, nous avons enregistré des images confocales de fluorescence pour des gouttes de volume identique (Fig 4.2). Nous observons des formes proches du modèle ci-dessus et que l'angle dépend peu de la contrainte selon h . On constate cependant une légère dissymétrie de la goutte entre le haut et le bas. En traçant ces valeurs mesurées, on constate une léger écart au modèle, et que l'approximation faite sur l'angle (constant et égal à 14°) fait peu varier cet écart (Fig 4.3). Cet écart est probablement dû au fait que les bords de la goutte ne forment pas un cercle parfait, comme la dissymétrie le montre.

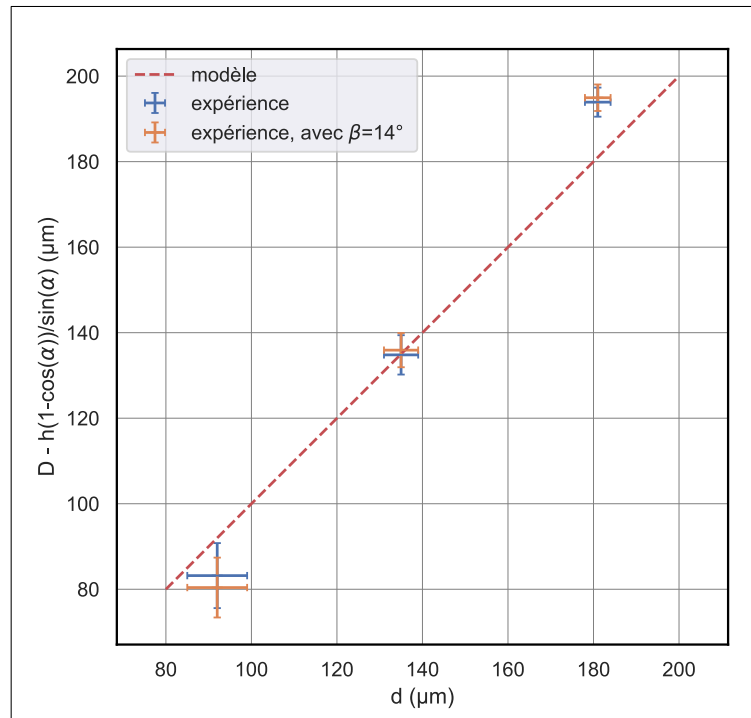


FIG. 4.3 Validation du modèle. L'abscisse correspond le diamètre de la surface de contact d et l'ordonnée correspond à son expression donnée par la formule ci-dessus. La ligne rouge désigne la validation exacte de cette formule ($Y=X$). Les point bleus correspondent aux valeurs mesurées. Les points oranges correspondent aux points mesurés sauf pour α qui correspond à un angle de contact β de 14° .

Lors de nos expériences nous utilisons principalement un microscope à épifluorescence et non confocal, ce qui a pour conséquence qu'on capte une partie de la fluorescence située hors du plan. Cela se remarque lorsqu'on visualise trois plans différents sur une même goutte, ce qui sera fait pour la grande majorité des expériences menées. Dans le cas où l'on utilise un microscope à épifluorescence (Fig 4.4b,c,d), le diamètre observé est identique dans les trois plans et correspond en réalité au D du modèle de la Fig 4.1. A contrario, avec un microscope confocal (Fig 4.4e,f,g), on observe un diamètre différent dans chaque plan, avec une légère différence entre les parties supérieure et inférieure de la goutte, avec une plus grande valeur pour le plan inférieur, ce qui semble être en contradiction avec la flottaison de la goutte.

Dans les trois images visualisées lors des manipulations avec le microscope à épifluorescence, seul D est donc susceptible d'être mesuré. À partir de cette valeur nous en déduisons d afin de pouvoir tracer la ligne de contact limite sur les images obtenues par épifluorescence (utilisation en Fig 4.11).

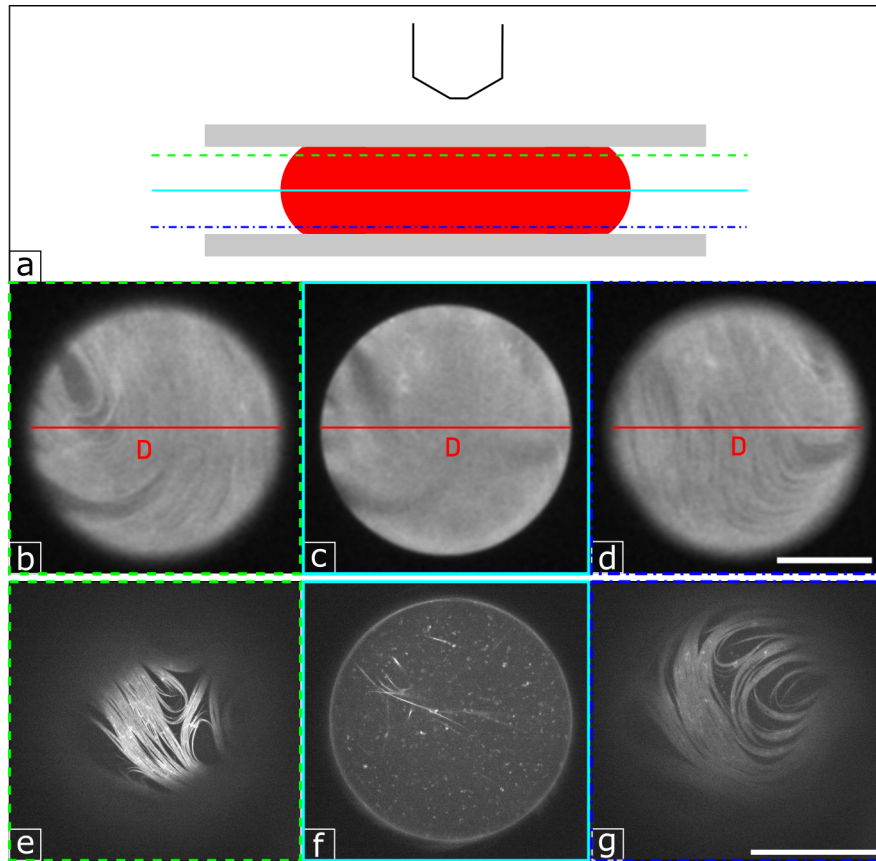


FIG. 4.4 *Présentation des différents plans d'observation a) Schéma représentant les différents plans. b,c,d) Images par microscopie à épifluorescence d'une goutte, dans les trois plans de visualisation montrés en a. Les trois barres rouges sont de longueur égale, représentant le diamètre D . $h = 150 \mu\text{m}$, $D = 274 \mu\text{m}$. Barre d'échelle $100 \mu\text{m}$. e,f,g) Images par microscopie confocale d'une goutte, différente de celle en b,c,d, dans les trois plans de visualisation montrés en a. $h = 150 \mu\text{m}$, $D = 194 \mu\text{m}$. Barre d'échelle $100 \mu\text{m}$.*

Il est également possible d'en déduire le volume V de la goutte, et donc le diamètre théorique D^* en configuration non écrasée, à partir de la formule :

$$V = \pi r^2 h + \pi r h^2 \left(\frac{2\alpha + \sin(2\alpha)}{8\sin^2(\alpha)} - \frac{1}{\tan(\alpha)} \right) + \pi h^3 \left(\frac{1}{4\sin^2(\alpha)} - \frac{1}{12} + \frac{1}{4\tan^2(\alpha)} - \frac{2\alpha + \sin(2\alpha)}{8\sin^2(\alpha)\tan(\alpha)} \right)$$

Tous les calculs sont détaillés en annexe C.

Les gouttes visualisées sont écrasées entre deux plans infinis. Les images par épifluorescence montrent une partie de la goutte au contact du verre et une partie du pourtour qui n'est pas au contact. Il est possible de différencier ces deux parties en estimant la ligne de contact.

4.1.2 Formation du nématique actif

Après introduction de la goutte dans la chambre, les faisceaux de microtubules vont se plaquer contre la surface de la goutte, formant ainsi un état nématique, visible en observant les plans proches

du contact avec le verre (Fig 4.5). Cet état nématique a déjà été observé sur une surface plane [85] ainsi que sur des gouttes [64, 92]. Il se forme sur une interface eau/huile en présence d'un agent déplétant tel que le PEG ou le Pluronic. Dans notre cas, nous pouvons constater qu'il se forme en une durée entre 10 et 25 minutes. Pour suivre la cinétique de formation de cet état nématique, nous représentons l'écart-type de l'histogramme de fluorescence de la goutte au cours du temps. Une fois normalisé, on peut ajuster une courbe sigmoïde qui nous donnera un temps caractéristique τ (Fig 4.5b,c).

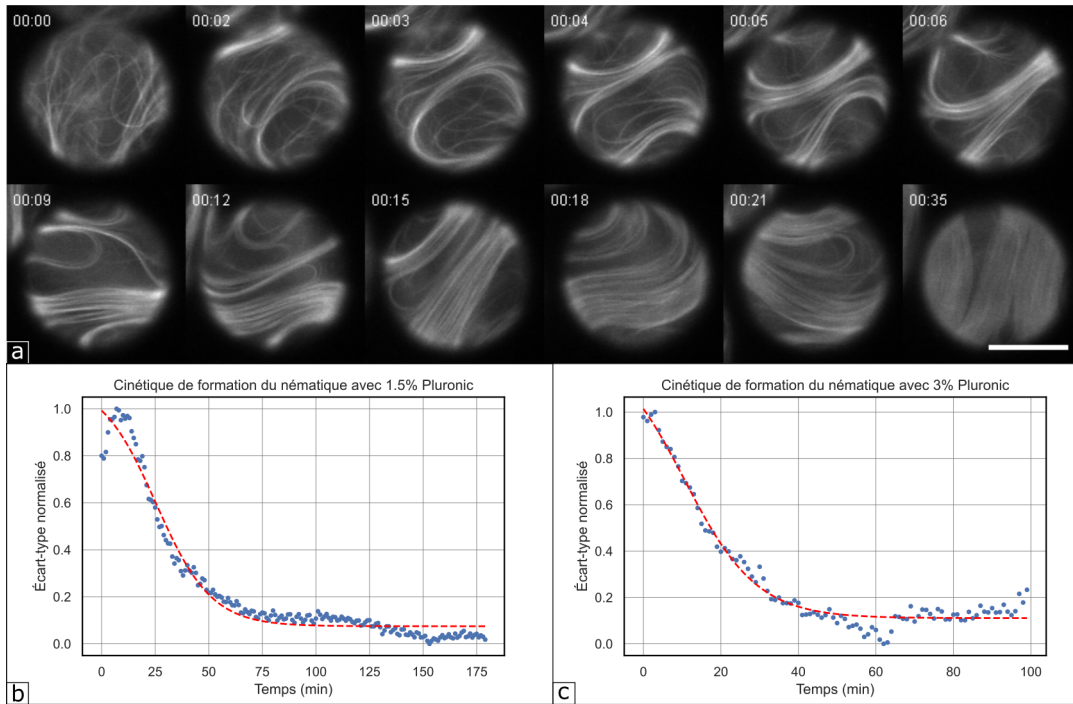


FIG. 4.5 *Cinétique de la formation d'une surface nématique a) Séquence (hh :mm) montrant les différentes étapes de la formation du nématique. $h = 120 \mu\text{m}$, $D = 193 \mu\text{m}$. Barre d'échelle $100 \mu\text{m}$. b-c) Suivi de la cinétique de formation de l'état nématique pour 1,5 % Pluronic (b) et 3 % Pluronic (c). La goutte est isolée et on considère la distribution de l'intensité lumineuse de chacun de ses pixels. L'écart-type de cette distribution est ensuite calculé au cours du temps. Les pointillés rouges correspondent à la courbe modèle (sigmoïde) utilisée pour déterminer le temps caractéristique de formation.*

En plus de l'influence du Pluronic, nous avons confirmé que les agrégats de kinésines ont un rôle prépondérant dans la formation de l'état nématique, car en leur absence cet état nématique ne se forme pas (Fig4.6). Nous pouvons toutefois supposer que dans le cas de l'absence de kinésines il ne s'agit que d'un blocage cinétique du fait de l'absence de mouvement provoqué par les kinésines.

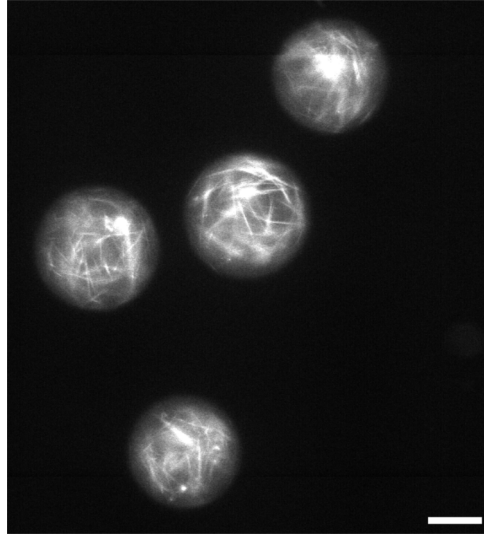


FIG. 4.6 Images d'épifluorescence de gouttes inactives, en l'absence de kinésines. $h = 150 \mu\text{m}$. Barre d'échelle $100 \mu\text{m}$.

En observant cette étape de formation de l'état nématique dès les premiers instants, on remarque que le mouvement des faisceaux de microtubules est immédiat, ceux-ci étant déjà formés lors de l'introduction des gouttes dans la chambre d'observation. Puis, lorsque deux faisceaux s'approchent l'un de l'autre du fait de ce mouvement, ceux-ci s'agglomèrent et ne se détachent plus. Ces faisceaux vont alors s'étaler sur la surface de la goutte, comme en témoigne la baisse de la luminosité entre les premiers instants et l'état nématique final, que l'on finit par obtenir après agrégation de tous ces faisceaux étalés (Fig 4.7).

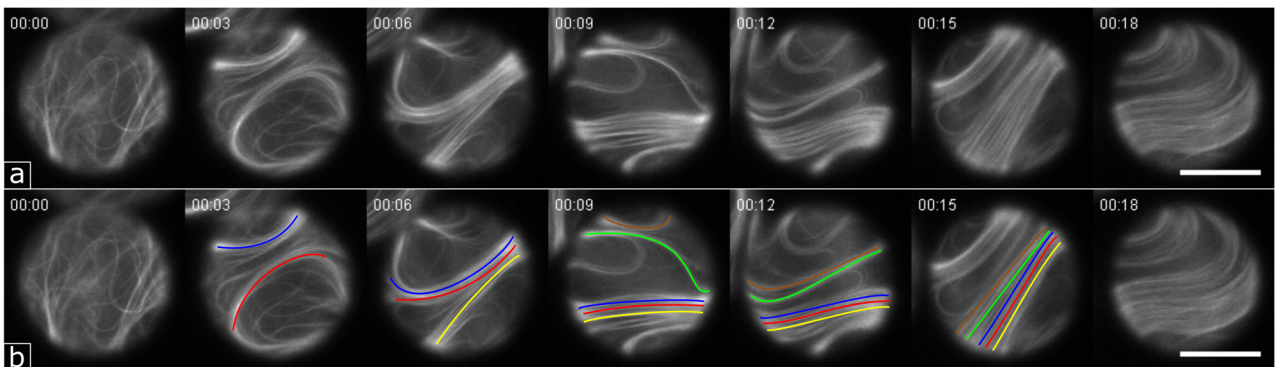


FIG. 4.7 Formation de l'état nématique de surface a) Images de microscopie à fluorescence de gouttes actives. b) Mêmes images avec des lignes de couleur guides, pour suivre un même faisceau. Barre d'échelle $100 \mu\text{m}$.

Un état nématique se forme par agglomération et étalement à la surface de tous les faisceaux de microtubules présents dans la goutte. Cette formation se fait en 20 minutes environ, avec une apparente influence de la concentration en Pluronic du mélange actif.

4.1.3 Comportement du nématique actif

Quand l'état nématique est formé, il est possible de repérer la présence de défauts topologiques. Ces défauts sont en réalité une absence de microtubules, mais il est plus aisé de suivre ces "trous" afin de rendre compte du mouvement des microtubules.

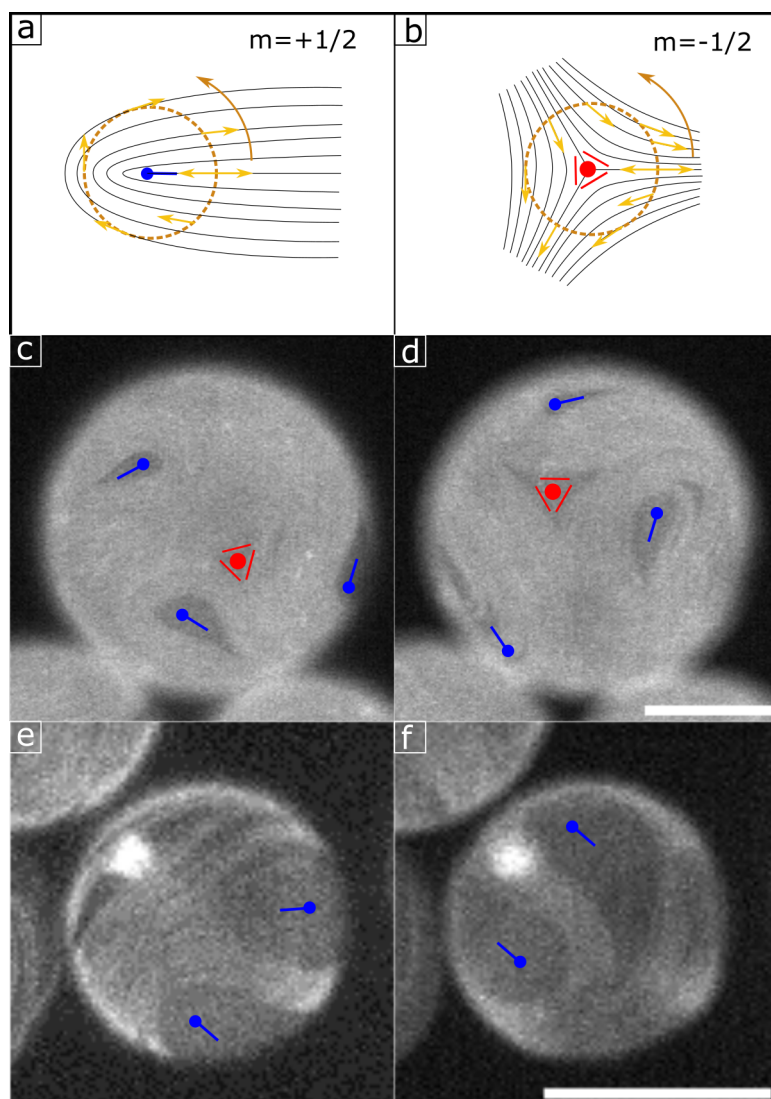


FIG. 4.8 Les défauts topologiques des gouttes actives a-b) Représentation des défauts de charge $+1/2$ (a) et $-1/2$ (b). Pour plus de détails, voir le paragraphe 1.2.2. c,d) Images de microscopie fluorescente d'une goutte active ($D = 268 \mu\text{m}$, $h = 150 \mu\text{m}$) pour les plans en contact avec la lame supérieure (c) et inférieure (d). e,f) Images de microscopie fluorescente d'une goutte active ($D = 128 \mu\text{m}$, $h = 60 \mu\text{m}$) pour les plans en contact avec la lame supérieure (e) et inférieure (f). Les défauts topologiques sont indiqués en bleu (charge $+1/2$) et rouge (charge $-1/2$). Barres d'échelle $100 \mu\text{m}$.

La présence de ces défauts est attendue dans le cas d'une sphère (même si elle est écrasée dans notre cas) qui doit contenir un total de charge $+2$ (Fig4.8e,f). Ainsi le nombre minimum de défauts

qu'il est possible d'obtenir est de quatre défauts d'une charge $+1/2$ [92]. Il est ensuite possible d'observer des paires de défauts supplémentaires (un de charge $+1/2$ et un de charge $-1/2$ pour chaque paire). Nous observons ainsi pour les gouttes de petite taille (environ $80 \mu\text{m}$ de diamètre théorique D^*) la présence de ces quatre défauts (Fig4.8a,b) tandis que pour des gouttes de plus grande taille (environ $180 \mu\text{m}$ de diamètre), il est possible d'observer des défauts supplémentaires, tel que sur la Fig4.8c,d où 8 défauts peuvent être décomptés. Cette dépendance du nombre de défauts à la surface disponible est cohérente avec ce qui est observé dans le cas d'un nématique plan, où plus de défauts apparaissent lorsque les contraintes spatiales sont moins fortes [85].

Pour suivre et caractériser le mouvement des microtubules, on suit le mouvement des défauts topologiques. Ceux-ci sont plus nombreux dans le cas de gouttes plus grandes.

4.2 Caractérisation du mouvement des gouttes

Les caractéristiques énoncées dans la section précédente sont communes à toutes les gouttes formées. Mais des comportements distincts peuvent être observés selon les gouttes étudiées. Ainsi, en prenant les gouttes une à une, on peut identifier plusieurs types de mouvements, et lier ces mouvements au comportement des microtubules. Pour cela il nous faut suivre individuellement les différentes gouttes présentes dans une chambre d'observation, ce qui permet de les isoler et de les visualiser en utilisant le référentiel de la goutte. Cela se fait à l'aide du logiciel FiJi et de scripts python tels que décrits dans le chapitre 2. On obtient alors les résultats montrés en figure 4.9, ce qui permet d'étudier les divers types de comportements des gouttes, qu'il est possible de regrouper en quatre catégories que nous allons détailler dans cette section. Il est à noter que plusieurs de ces comportements peuvent se retrouver dans une même goutte comme nous le verrons par la suite.

Comme dans la Fig 4.9, les gouttes observées en général lors d'une expérience sont légèrement inhomogènes, que ce soit au niveau de la taille (la répartition des tailles lors d'une expérience est présentée Fig 2.3) ou bien de la concentration en microtubules, comme le montre la différence de luminosité entre les gouttes, par exemple les gouttes i et ii dans la Fig 4.9a.

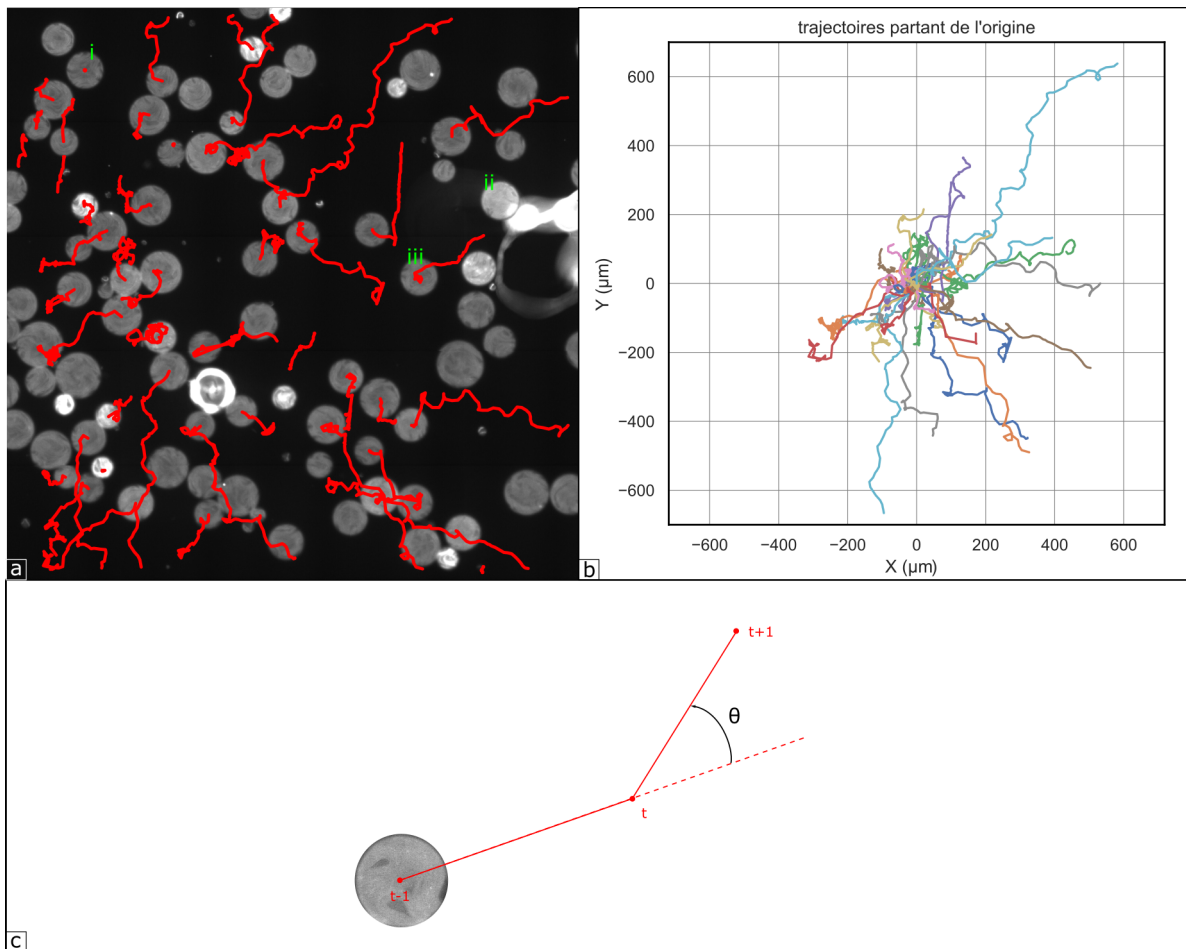


FIG. 4.9 Exemple de résultats d'observation. a) Image d'épifluorescence d'une chambre d'observation à $t=0$. Les trajectoires des différentes gouttes retenues par l'algorithme sont tracées en rouge. b) Trajectoires des gouttes présentées en a, disposées de sorte à les faire partir de l'origine. c) Schéma d'un extrait de trajectoire, avec l'introduction de la rotation θ , utilisée dans cette section.

4.2.1 Dérive

Le premier de ces comportements est le mouvement de dérive, qui se caractérise par une trajectoire rectiligne et une vitesse uniforme (Fig 4.10). Cette vitesse peut varier de l'ordre de $10 \mu\text{m}/\text{min}$ à $100 \mu\text{m}/\text{min}$ selon les expériences. Plusieurs causes sont possibles pour expliquer ce phénomène. Le premier consiste en une non étanchéité de la chambre d'observation. L'évaporation entraînerait alors les gouttes et une bulle se formerait. Cependant, dans les expériences considérées, plus de 24h sont nécessaires avant de pouvoir visualiser une bulle de plus d'1 mm de diamètre, il apparaît donc qu'une autre cause doit expliquer cette dérive.

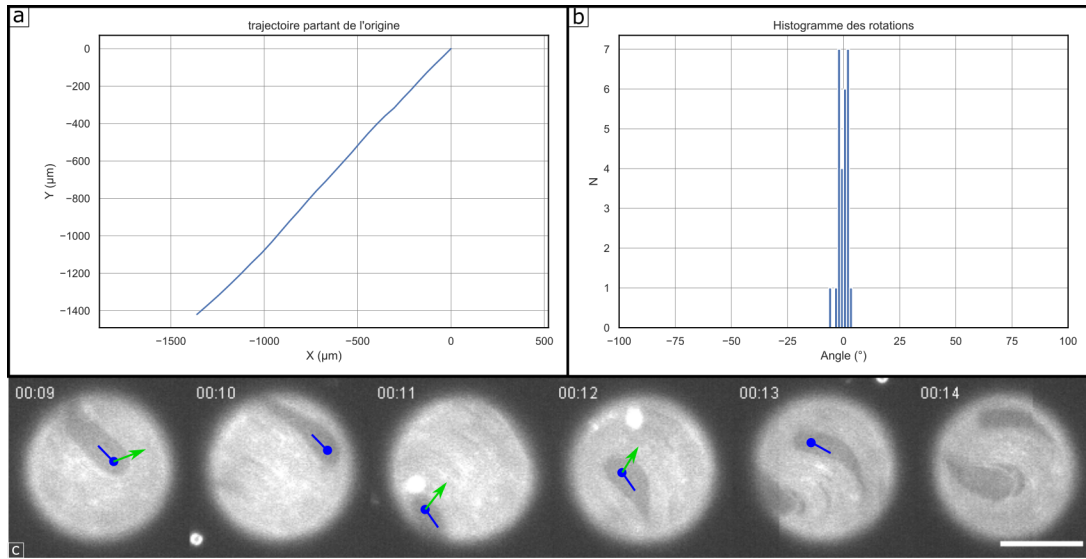


FIG. 4.10 Caractérisation du comportement de dérive. a) Trajectoire d'une goutte présentant un comportement de dérive, le point de départ étant placé à l'origine. b) Histogramme des rotations de la gouttes, selon le modèle présenté en figure 4.9c. c) Timelapse de la goutte dont la trajectoire est représentée en a), dans le référentiel de la goutte. Les flèches vertes correspondent au déplacement des défauts. Barre d'échelle $100\ \mu\text{m}$.

On peut observer que les cas de dérive les plus évidents (trajectoire entièrement rectiligne) adviennent lorsque le diamètre de la goutte est inférieur à la hauteur de la chambre. Dans ces cas, les gouttes reposent uniquement sur la lame supérieure et la non-horizontalité de celle-ci peut expliquer ces mouvements, du fait de la poussée d'Archimède.

Une autre possibilité est le non-parallélisme des lames inférieure et supérieure de la chambre d'observation. Dans ce cas, l'angle γ entre les deux lames entraîne une différence de hauteur entre l'avant et l'arrière de la goutte de $d \times \tan(\gamma)$. Nous avons mesuré la variation de hauteur de la chambre grâce à un profilomètre optique (Ametek Zygo ZeGage) et celle-ci est $1\ \mu\text{m}$ pour une chambre d'une taille de $1\ \text{cm}$ environ, soit un angle γ de 10^{-4} . Cet angle est alors trop faible pour justifier une vitesse de dérive de l'ordre de $10\ \mu\text{m}/\text{min}$ à $100\ \mu\text{m}/\text{min}$.

Enfin, il reste la possibilité que cette dérive provienne du mouvement actif. Cependant cela reste peu probable, car le comportement des microtubules, visualisé par le mouvements des défauts, diffère de ce qui est habituellement observé. En effet, les défauts de charge $+1/2$ se déplacent presque latéralement à leur orientation (Fig 4.10c), ce qui n'est observé ni dans les autres comportements décrits par la suite, ni dans la littérature. Ce déplacement est cependant dans la même direction que la dérive de la goutte et il semble plus pertinent que celle-ci en soit la cause et non la conséquence.

La variation d'inclinaison de la lame de verre supérieure entraîne un mouvement de dérive, non induit par les microtubules, qui peut se conjuguer avec les comportements actifs.

4.2.2 Immobilisme

Un autre comportement possible est l'absence de mouvement. Dans ce cas il est généralement possible de constater l'apparition d'un défaut de charge $-1/2$ au centre des surfaces de contact de la goutte avec le verre. Sur la périphérie il est possible de voir trois défauts de charge $+1/2$ se mouvoir de manière synchrone, dans le sens trigonométrique, puis dans le sens horaire, et ce périodiquement avec une période d'environ 9 min (Fig 4.11a). Ici l'apparition du défaut de charge $-1/2$ se fait au bout de 47 min, tel que montré avec la partie grisée en 4.11b. On peut constater alors une corrélation avec l'immobilisation de la goutte.

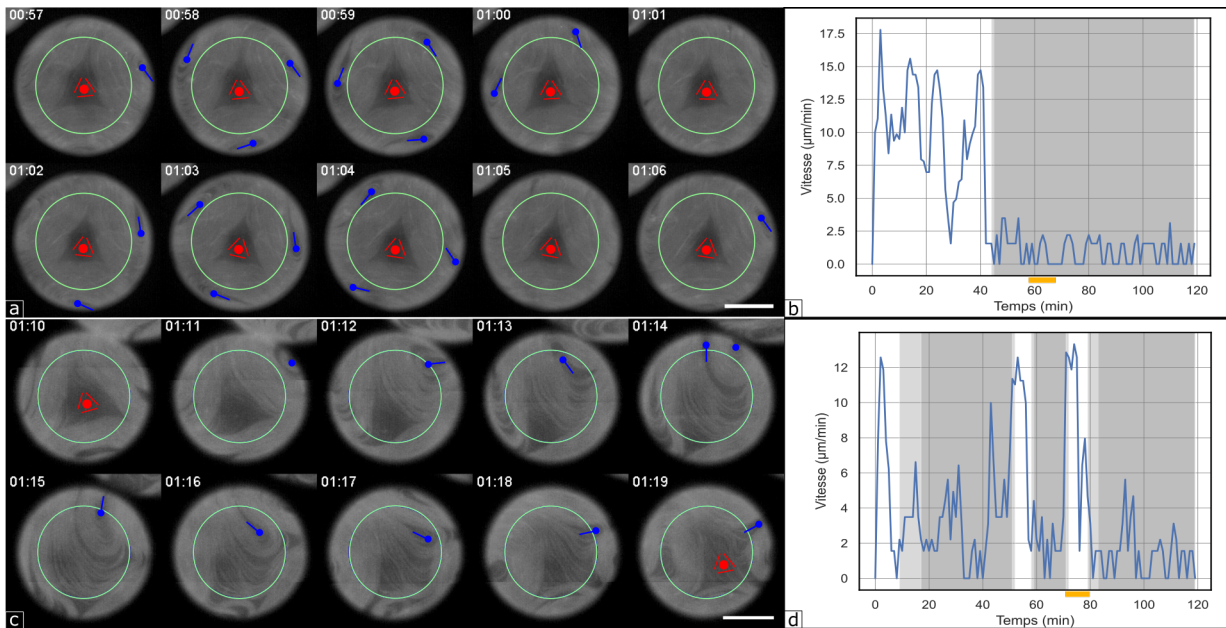


FIG. 4.11 *Défauts topologiques d'une goutte immobile. a,c) Séquence d'images par microscopie par fluorescence d'une goutte immobile (a) ou montrant un bref mouvement (c). Les points bleus et rouges représentent respectivement les défauts de charge $+1/2$ et $-1/2$. Le cercle vert représente la limite de la surface de contact entre la goutte et le verre. Barre d'échelle $100 \mu\text{m}$. $D = 284 \mu\text{m}$ et $h = 120 \mu\text{m}$. b) (Resp. d)) Vitesse instantanée de la goutte présentée en (a) (resp. (c)) au cours du temps. Les périodes grisées sont celles où on voit l'apparition du défaut de charge $-1/2$, le gris clair correspondant à sa présence sur une seule surface de contact tandis que le gris sombre correspond au cas où les deux surfaces de contact en contiennent un. Le rectangle jaune correspond à la période représentée en (a) (resp. (c)).*

Cette corrélation est d'autant plus marquante que dans certains cas, des défauts font irruption sur la surface de contact avec le verre. On observe alors une mise en mouvement de la goutte pendant la durée de cette irruption, où le défaut topologique de charge $-1/2$ n'est plus situé au centre de la surface de contact (Fig 4.11c,d).

Il arrive qu'il y ait une dissymétrie entre la partie supérieure et inférieure de la goutte. Dans

ce cas la goutte reste immobile si la partie inférieure de la goutte en contact avec le verre supporte des défauts de charge négative.

Dans le cas où il n'y a pas d'état nématique, en l'absence de Pluronic ou bien de kinésines (comme évoqué en figure 4.6), on observe également une absence de mouvement des gouttes, conjuguée avec de brefs "sauts" de celles-ci entre deux positions d'immobilisme.

Lorsqu'un défaut $-1/2$ se forme au centre de la surface de contact avec la lame de verre inférieure, la goutte s'immobilise.

4.2.3 Mouvement actif chaotique

Les travaux précédents portant sur des gouttes encapsulant un gel actif à base de microtubules et kinésines semblaient montrer un mouvement brownien [64]. Nous avons vu dans les paragraphes précédents que ce mouvement n'était pas toujours obtenu mais nous l'avons effectivement constaté (Fig 4.12). Bien que les rotations du mouvement, présentées Fig 4.12b et déterminées comme indiquées en Fig 4.9c, montrent un pic à 0° , on peut voir une distribution presque uniforme entre -30° et $+30^\circ$, signe qu'il n'y a pas de direction privilégiée. Quand on observe ceux-ci, on ne remarque à un même instant qu'un seul ou deux de ces défauts à un même instant. Quand l'un commence à sortir du champ, un autre fait irruption, dans une direction et un sens différents (Fig 4.12c, 2:08 et 2:12). Quand on regarde en lien avec la trajectoire de la goutte on remarque que ces défauts ont un vecteur vitesse approximativement de même direction mais de sens différent par rapport au mouvement de la goutte.

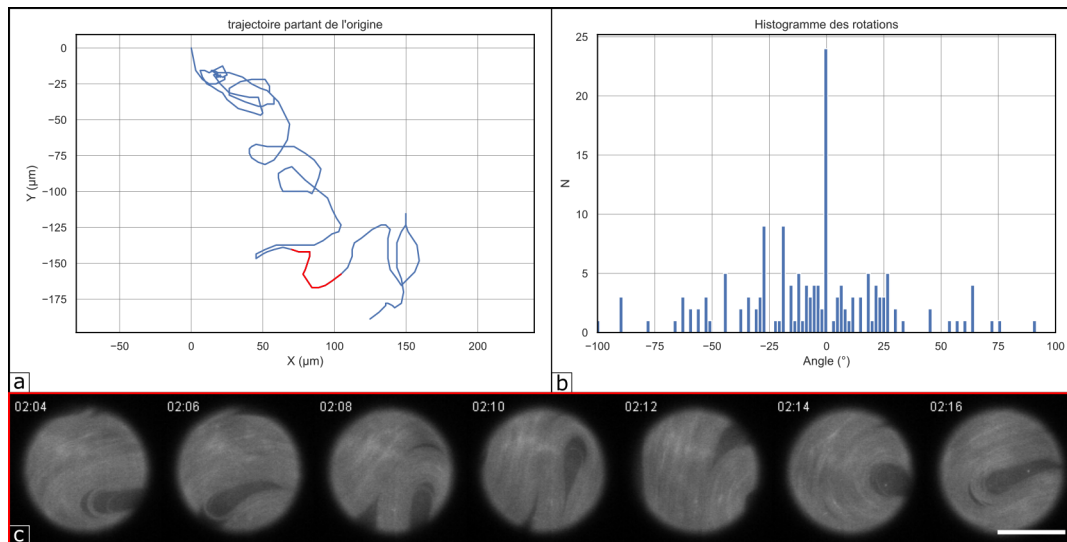


FIG. 4.12 Caractérisation du comportement actif chaotique. a) Trajectoire d'une goutte au mouvement actif chaotique sur une durée de 180min. La séquence rouge correspond à la trajectoire parcourue lors des minutes 124 à 136. b) Histogramme des angles de rotation de la goutte au cours de la trajectoire. c) Images de la goutte lors des minutes 124 à 136. Barre d'échelle $100 \mu\text{m}$.

Les gouttes peuvent avoir un mouvement chaotique, corrélé au mouvement des microtubules à l'intérieur de celles-ci, suivi via le mouvement des défauts topologiques.

4.2.4 Mouvement actif périodique

Dans certains cas, le mouvement observé est sinusoïdal. Dans le cas présenté en figure 4.13, on trouve une période de 16,3 min et une longueur d'onde de 213 μm en moyenne. Ces valeurs sont comparables avec celles des autres trajectoires périodiques identifiées. Sur l'histogramme des rotations (Fig 4.13b), on observe alors trois pics : un à 0° comme dans les autres mouvements (dérive et actif chaotique) et deux symétriques à -19° et $+19^\circ$ environ. L'observation des défauts montre que ceux-ci proviennent toujours du même endroit de la goutte (en haut à droite sur la Fig 4.13) mais que leur trajectoire diffère de manière symétrique entre deux défauts successifs. La figure 4.13 montre l'état de la goutte lors d'une période. Il est possible de faire la même observation que pour le mouvement actif chaotique, avec des défauts dont la trajectoire a la même direction et un sens opposé à la trajectoire de la goutte.

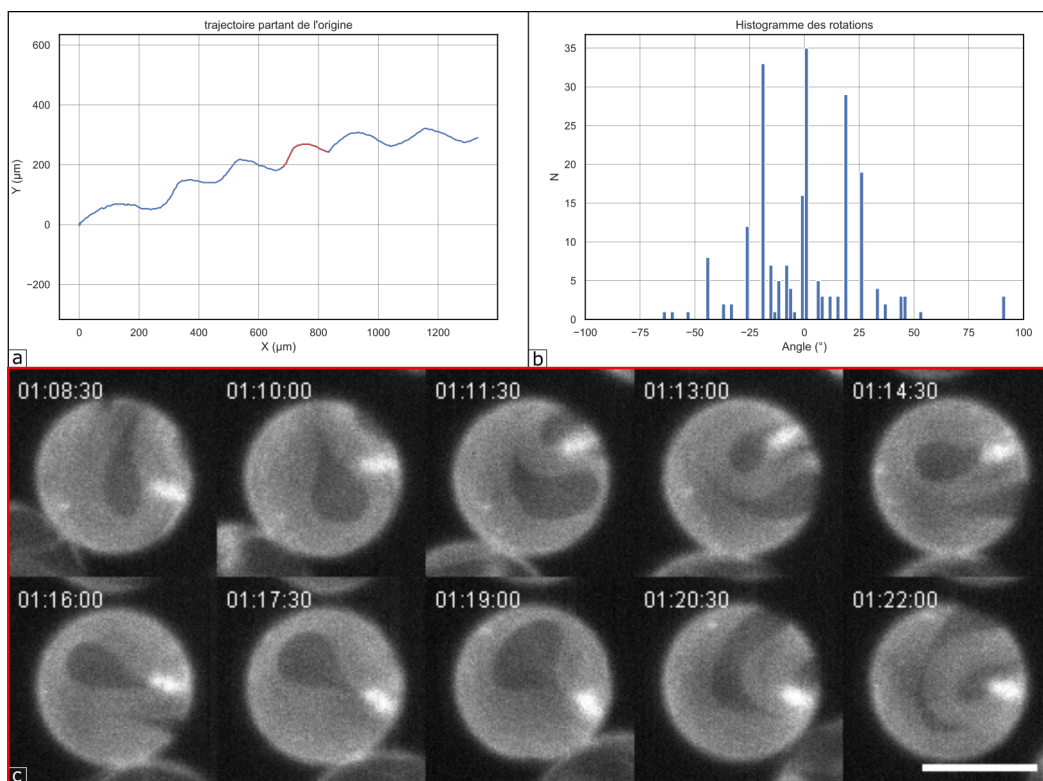


FIG. 4.13 Caractérisation du comportement actif périodique. a) Trajectoire d'une goutte au mouvement actif périodique sur une durée de 120min. La séquence rouge correspond à la trajectoire parcourue en 14 min, lors de la durée présentée en c). b) Histogramme de l'angle de rotation de la goutte au cours de la trajectoire. c) Images de la goutte sur une durée de 13,5 min. Barre d'échelle 100 μm . Temps en h:min:sec.

Nous avons testé le lien entre mouvement des microtubules et mouvement de la goutte en

suivant certains microtubules au cours du temps. En considérant la vitesse instantanée, moyennée sur l'ensemble des microtubules considérés, répartis sur l'ensemble de la surface d'une goutte, nous avons ainsi pu reconstituer le mouvement estimé de la goutte en considérant que celui-ci provenait uniquement du mouvement des microtubules (Fig 4.14, trajectoire rouge). Étant donné la faible correspondance entre la trajectoire calculée et la trajectoire réelle, nous avons ajouté une composante continue à cette vitesse (trajectoire verte), déterminée en moyennant la vitesse instantanée de l'ensemble des gouttes motiles de l'expérience. Cette composante continue peut donc représenter le mouvement de dérive constaté lors de cette expérience.

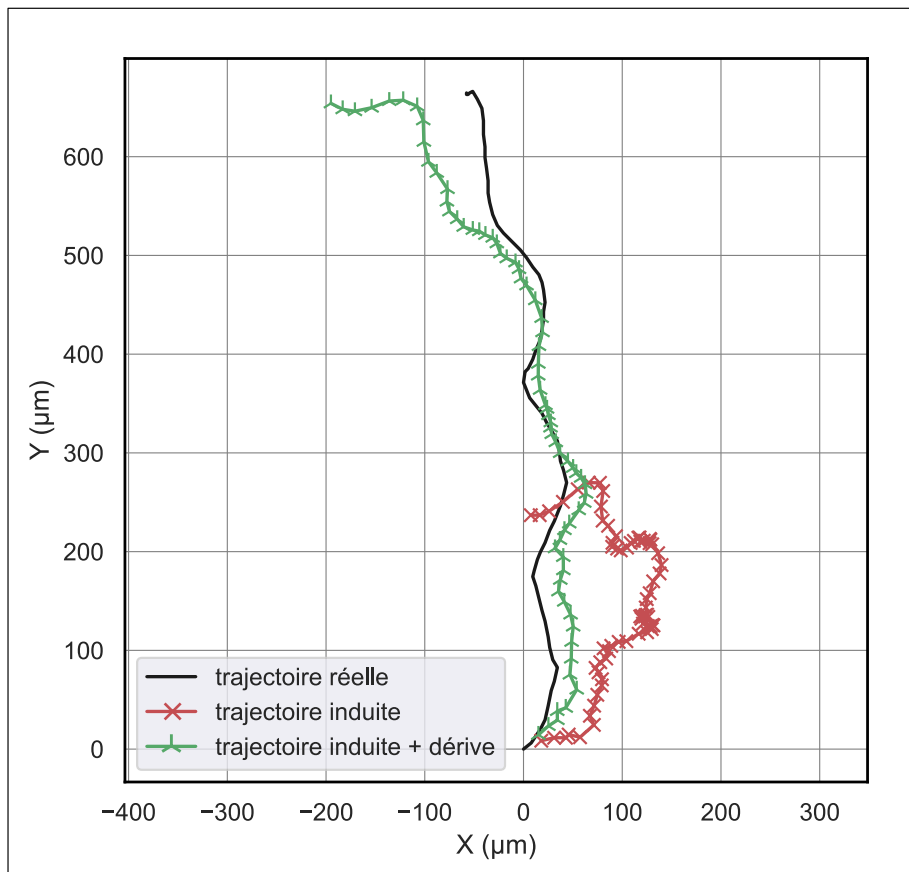


FIG. 4.14 Trajectoire d'une goutte animée d'un mouvement actif périodique (noir), trajectoire de la goutte estimée à partir du mouvement des microtubules à sa surface (rouge), trajectoire de la goutte estimée à partir du mouvement des microtubules à sa surface et de la dérive moyenne des gouttes de l'expérience (vert).

On observe le même lien entre mouvement des défauts topologiques et mouvement de la goutte que dans le cas du mouvement chaotique. La différence réside dans le fait que ces défauts ont un mouvement périodique. Il est possible de reconstituer la trajectoire d'une goutte à partir du mouvement des microtubules à l'intérieur de celle-ci.

En considérant les gouttes une à une, quatre comportements différents ont été observés. Tandis que les défauts de charge $-1/2$ semblent liés à un immobilisme, les défauts $+1/2$ semblent liés au mouvement actif de la goutte à la manière du déplacement d'une chenille d'un tank [94]. Ce lien semble être confirmé avec le mouvement de dérive bien que celui-ci ne soit alors pas causé par le mouvement des microtubules.

4.3 Déterminants du comportement des gouttes

Nous avons vu que les trajectoires des gouttes sont corrélées à un comportement différent des microtubules à l'intérieur de la goutte, et en particulier de ceux au contact de la surface de verre des lames de microscope utilisées pour contenir les gouttes. Nous nous intéressons donc ici à ce qui détermine ce mouvement.

4.3.1 Taille de la chambre

Du fait des procédés de fabrication des gouttes, il est plus aisé de contrôler la taille de la chambre d'observation que celle des gouttes. Ainsi, nous pouvons observer qu'avec des gouttes de même taille, la hauteur de chambre joue un rôle important dans le comportement de celles-ci. La figure 4.15) montre l'évolution de la vitesse moyenne des gouttes, pour une taille D^* de $115 \mu\text{m}$ environ, au cours du temps, pour plusieurs hauteurs de chambre.

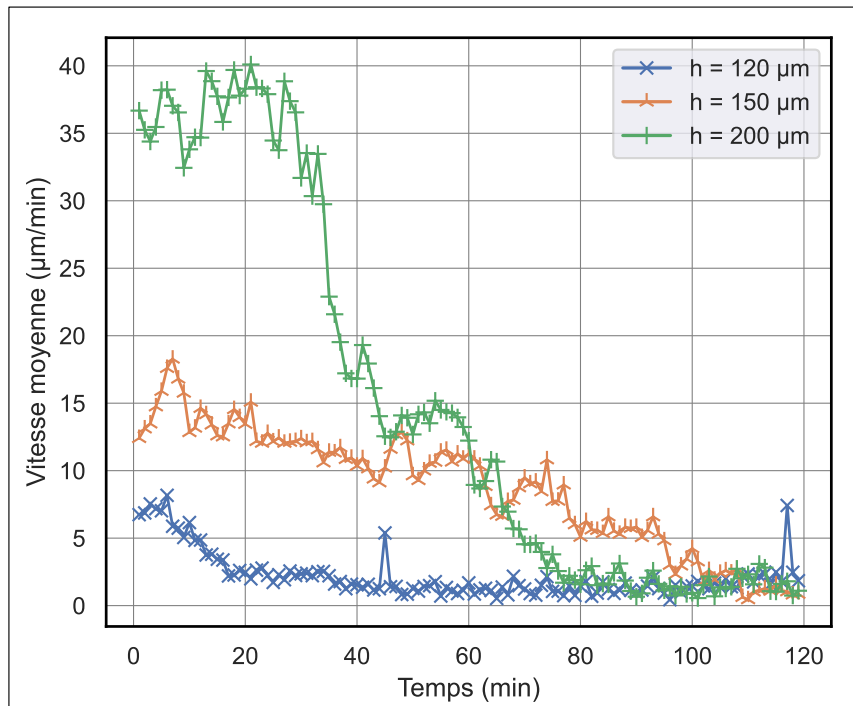


FIG. 4.15 Vitesse moyenne des gouttes au cours du temps pour plusieurs hauteurs de chambres. Les gouttes ont un D^* compris dans l'intervalle $[110 \mu\text{m}, 120 \mu\text{m}]$.

Dans le cas d'une hauteur de $200 \mu\text{m}$, on observe une vitesse très grande, de l'ordre de $35 \mu\text{m}/\text{min}$,

qui va ensuite baisser brutalement jusqu'à atteindre la vitesse nulle. Il s'agit en réalité d'un mouvement de dérive, la baisse étant due à la sortie de nombreuses gouttes du champ de vue. Quelques gouttes restent alors immobiles, probablement ancrées sur un défaut de la surface. Pour une hauteur de chambre de $150\ \mu\text{m}$, on observe une vitesse relativement stable au cours du temps, autour de $10\ \mu\text{m}/\text{min}$. Cette vitesse correspond à un mouvement actif, chaotique ou périodique. Une légère baisse est tout de même observée du fait de la sortie de certaines gouttes du champ de vue. Enfin, pour la hauteur de $120\ \mu\text{m}$, une légère vitesse est présente dans les 20 premières minutes, du fait de la dérive résiduelle pendant la formation de l'état nématique, mais on trouve en environ 20 min une vitesse nulle due à l'immobilisme de toutes les gouttes. Bien peu sont alors sorties du champ de vue. Une explication possible de cette influence est que la variation de h joue sur la taille de la surface de contact entre la goutte et le verre, ainsi que sur la courbure de la surface de la goutte (variation de D et de l).

Pour une taille de goutte donnée, il existe une valeur de h optimale pour observer un mouvement actif. Une valeur trop élevée favorise la dérive tandis qu'une valeur trop faible favorise l'immobilisme.

4.3.2 Influence du type de nématique

Cependant, la hauteur de la chambre ne parvient pas à expliquer toutes les différences de comportement car il est possible de retrouver dans une même expérience plusieurs des comportements décrits ci-dessus. De plus nous avons eu de forts problèmes de reproductibilité, avec des expériences qui donnaient une forte prédominance à l'immobilisme et d'autres au mouvement chaotique malgré des conditions identiques. Par exemple, dans la Fig 4.9a, on peut voir une majorité de gouttes au mouvement actif chaotique (comme la goutte iii) mais également quelques gouttes immobiles (goutte i).

Il me semble pertinent de chercher l'origine de cette non-reproductibilité dans la composition chimique du système actif, en particulier la concentration et la taille des microtubules, ainsi que dans la taille des gouttes. En effet, nous avons vu que l'immobilisme était lié à la présence de défauts de charge $-1/2$ dans le nématique formé sur la surface de la goutte (paragraphe 4.2.2). Or la littérature sur les nématiques plans (paragraphe 1.2.2) montrent un lien entre la formation des défauts, et le rapport entre la taille du confinement (ici la taille de la goutte) et une longueur de cohérence du nématique, dépendant des conditions chimiques. Ici les différences interviennent alors que les conditions chimiques avant formation des gouttes sont identiques. Cependant, nous avons vu que cette formation, par microfluidique comme avec le piège capillaire, pouvait entraîner une différence de concentration de microtubules dans les gouttes (Fig 4.9). De plus il est connu que les microtubules sont sensibles mécaniquement [39], et le cisaillement nécessaire à la formation des gouttes peut donc influencer leur longueur.

De manière qualitative, il me semble que la configuration optimale pour obtenir un mouvement actif est un nématique avec seulement quatre défauts topologiques, de charge $+1/2$. Cela laisse alors, pour un nématique donné, un intervalle de tailles de gouttes possibles. Les gouttes les plus

petites contraindraient alors le mouvement de ces défauts et le mouvement périodique serait obtenu, tandis que les gouttes les plus grandes exerceraient une contrainte moins forte et le mouvement chaotique surviendrait.

On observe un grand manque de reproductibilité de nos expériences de motilité des gouttes. Une hypothèse pour l'expliquer est l'impact de la formation des gouttes sur la concentration et la taille des microtubules dans une goutte.

4.4 Conclusion et perspectives

Nous avons observé quatre comportements différents pour des gouttes encapsulant un système actif à base de kinésines et microtubules : dérive, immobilisme, mouvement chaotique et mouvement périodique. À notre connaissance, les mouvements périodiques de gouttes actives cytosquelettiques n'ont jamais été observés expérimentalement, seulement dans des simulations [98].

Ces quatre comportements sont reliés avec le comportement des microtubules à l'intérieur de celles-ci et le mouvement des gouttes semblent alors venir du contact et de la friction entre le microtubules formant un nématique et les surfaces de verre. En effet, dans le cas d'une absence de nématique (pas de kinésines), on n'observe pas de mouvement. De même, dans le cas où nous utilisons des lames de verre hydrophobes (traitées avec du Cytop au lieu d'être passivées avec de l'acrylamide) et qu'il n'y a donc pas de contact direct entre la goutte et la lame de verre, nous n'observons pas de mouvement actif de la goutte, malgré la formation du nématique. De plus, quand un défaut topologique de charge $-1/2$ est présent au centre de cette surface de contact, on ne voit pas de mouvement.

Cependant, le manque de reproductibilité de nos expériences peut interroger et une étude plus approfondie de la formation du nématique lors du confinement dans des gouttes semble nécessaire. Pour cela, il pourrait être intéressant de relier la distance moyenne entre défauts topologiques avec la taille et la concentration des microtubules, en utilisant par exemple des nématiques plans.

Conclusion et perspectives

Nous avons étudié dans cette thèse l'émergence d'ordre dans une matière active à base de microtubules et de kinésines, des protéines du cytosquelette, en présence d'un polymère déplétant, le Pluronic.

Pour cela, dans le chapitre 3, nous avons fait varier les concentrations d'ATP, l'énergie du système, et de Pluronic, qui forme des faisceaux de microtubules. Nous avons ainsi constaté qu'il était possible de retrouver avec un même système l'ensemble des instabilités décrites dans la littérature pour des systèmes actifs à base de microtubules et kinésines : les ondulations intra-planaires et extra-planaires, ainsi que les contractions locales et globales. L'espace de phases formé montre deux frontières : une du fait de l'ATP et une du fait du Pluronic. Nous avons démontré que la première frontière venait du fait qu'à faible concentration d'ATP, les kinésines jouaient le rôle de liens passifs entre les microtubules et entraînaient une gélification du réseau de microtubules. La deuxième frontière n'a pas été étudiée mais l'ordre généré par la déplétion semble être une piste intéressante.

Dans le chapitre 4, nous avons encapsulé notre système actif dans des gouttes. Lorsque celles-ci sont confinées entre deux lames de verre, nous avons alors pu observer différents comportements que nous avons caractérisés et reliés avec le mouvement des microtubules à l'intérieur de la goutte. Nous avons également pu noter un effet de la hauteur de confinement entre les deux lames sur le comportement des gouttes, même si la faible reproductibilité des expériences a gêné une analyse plus fine. Une piste d'amélioration semble donc être de mieux comprendre ce manque de reproductibilité en étudiant le lien entre la distance moyenne entre deux défauts topologiques, ainsi que leur surface, et la concentration et la taille des microtubules.

Dans la partie fournie en annexe D, nous avons parlé d'un autre type d'émergence, à savoir celle d'actions politiques à partir des individus d'un laboratoire, sur le sujet de l'écologie. Pour cela nous avons évoqué l'exemple du Laboratoire Jean Perrin et des actions entreprises en son sein pour prendre des mesures politiques de réduction de l'empreinte carbone. L'exemple des personnes ayant agi dans ce cadre ainsi que dans la recherche en général laisse supposer que le nombre de discussions et interactions entre individus ont une grande importance dans cette émergence. Il est ainsi possible de faire l'analogie avec notre chapitre 3 et la percolation qui y est évoquée pour expliquer la transition observée entre deux instabilités. Cependant cette analogie a une limite car, contrairement au système actif à base de microtubules et kinésines, les composants ne sont pas interchangeables, notamment du fait des liens hiérarchiques présents entre les individus d'un

laboratoire. La nature de ces liens constituent alors possiblement un obstacle à la mise en place d'actions de réduction des émissions carbone d'un laboratoire.

Annexe A

**Article publié dans Soft Matter en avril
2022**



Cite this: *Soft Matter*, 2022,
18, 3793

Received 27th January 2022,
Accepted 21st April 2022

DOI: 10.1039/d2sm00130f

rsc.li/soft-matter-journal

Crosslinking and depletion determine spatial instabilities in cytoskeletal active matter†

Guillaume Sarfati,^a Ananyo Maitra,^{id b} Raphael Voituriez,^{ac}
Jean-Christophe Galas^{id *a} and André Estevez-Torres^{id *a}

Active gels made of cytoskeletal proteins are valuable materials with attractive non-equilibrium properties such as spatial self-organization and self-propulsion. At least four typical routes to spatial patterning have been reported to date in different types of cytoskeletal active gels: bending and buckling instabilities in extensile systems, and global and local contraction instabilities in contractile gels. Here we report the observation of these four instabilities in a single type of active gel and we show that they are controlled by two parameters: the concentrations of ATP and depletion agent. We demonstrate that as the ATP concentration decreases, the concentration of passive motors increases until the gel undergoes a gelation transition. At this point, buckling is selected against bending, while global contraction is favored over local ones. Our observations are coherent with a hydrodynamic model of a viscoelastic active gel where the filaments are crosslinked with a characteristic time that diverges as the ATP concentration decreases. Our work thus provides a unified view of spatial instabilities in cytoskeletal active matter.

1 Introduction

Active matter is composed of agents that transform free energy into mechanical work, thus making non-equilibrium materials with attractive properties such as spatial self-organization and self-propulsion.^{1–3} In this context, cytoskeletal active matter, constituted of protein filaments set in motion by molecular motors, is particularly interesting because the collective interaction of nanometric subunits creates order at the macroscopic scale. However, the determinants of spatial self-organization in these active systems are not yet well understood. 3-Dimensional cytoskeletal active matter is prone to at least four different

spatial instabilities: (i) bending,⁴ (ii) buckling,^{5–7} (iii) global^{8–11} and (iv) local contractions.^{9,10,12} These instabilities have been observed experimentally but so far in different systems, thus precluding a unified analysis of potential transitions between all possible phases. Further, there is currently no clear theoretical understanding of how a gel transitions from one instability mode to another.

Here we consider a mixture composed of microtubules (MTs), kinesin motor clusters that pull on them and a depletant that generates microtubule bundles.¹³ In the presence of ATP, this mixture generates an active solution in 3-dimensions that we will call ‘Dogic system’ in the following. When the MTs are stabilized with GMPCPP they are shorter and the Dogic system generates continuous chaotic flows¹³ through an in-plane bending instability both in 2D¹⁴ and in 3D.⁴ When the MTs are stabilized with taxol they are longer and chaotic flows are still observed but they emerge only after an out-of-plane buckling instability that creates a corrugated sheet.^{5,6} Bending¹⁵ and buckling⁷ have also been reported in actin–myosin gels.

Besides bending and buckling instabilities, global and local contractions have been reported both in actin–myosin gels^{8,10} and in MT–motors mixtures.^{9,11,12,16} In the Dogic system, global contractions appear with taxol MTs,^{6,17–19} while local contractions arise with GMPCPP MTs.^{18,19} Very recent experiments, however, have observed both types of contractions with GMPCPP MTs.²⁰ Finally, dynamic microtubules in the presence of multiheaded-kinesins yield chaotic flows or local contractions in the absence of depletant²¹ depending on the ratio

^a Sorbonne Université, CNRS, Institut de Biologie Paris-Seine (IBPS), Laboratoire Jean Perrin, (IJP), F-75005 Paris, France.
E-mail: jean-christophe.galas@sorbonne-universite.fr, andre.estevez-torres@sorbonne-universite.fr

^b Laboratoire de Physique Théorique et Modélisation, CNRS UMR 8089, CY Cergy Paris, Université, F-95302 Cergy-Pontoise Cedex, France

^c Sorbonne Université, CNRS, Laboratoire de Physique Théorique de la Matière Condensée, (LPTMC), F-75005 Paris, France

† Electronic supplementary information (ESI) available: Experimental and theory details, including Fig. S1–S8 and Tables S1–S4. Movie S1, S2: Time-lapse microscopy of microtubules displaying a bending instability. Movie S3, S4: Time-lapse microscopy of microtubules displaying a buckling instability. Movie S5, S6: Time-lapse epifluorescence microscopy of microtubules displaying local (S5) and global (S6) contractions. Movie S7, S8: Time-lapse epifluorescence microscopy of microtubules displaying different instabilities depending on the concentration of passive linkers at constant [ATP] and pluronic. See DOI: <https://doi.org/10.1039/d2sm00130f>

between MT growth and motor speed, and the ratio between the motor and MT concentration. In summary, the disparity of conditions in which spatial instabilities have been observed in cytoskeletal active matter (Table S2, ESI[†]) hinders our understanding of these systems. Here, we demonstrate that the four instabilities can be observed in the Dogic system by tuning only two parameters: ATP and depletant concentrations. The transition from bending to buckling and from local to global contractions happens at a critical ATP concentration that is associated to a critical concentration of passive motors that induces a gelation transition between a liquid-like and a solid-like state.²² A similar transition is observed at constant ATP concentration when the concentration of a passive linker is increased, which supports its generic physical origin, independently of the specific nature of the crosslinking agents.

2 Results and discussion

Our experiments take place in a long and thin channel of rectangular cross-section with typical dimensions $L \times W \times H = 10 \times 1 \times 0.1 \text{ mm}^3$. The active solution is composed of short GMPCPP-stabilized microtubules, clusters of biotinylated kinesin-1 in the presence of streptavidin, the depletant agent pluronic, that forms MTs bundles, and ATP coupled to an

ATP-regeneration system (see Fig. 1a and Methods, ESI[†]). MTs are fluorescent and they are imaged using either confocal or epifluorescence microscopy. When the solution is pipetted into the channel, the shear flow generates an initial nematic order along the x -axis.

At high pluronic concentration (5.5% w/v), the nematic state is deformed in two different ways depending on the ATP concentration, before chaotic flow occurs. At $50 \mu\text{M}$ ATP, the MT bundles deform in the xy -plane forming waves with a typical wavelength of $250 \mu\text{m}$ along the x -axis that arises within 5 minutes (Fig. 1b, c and Movie S1, ESI[†]). Confocal images show a minimal deformation of the bundles in the xz -plane. This in-plane bending instability has recently been observed in a similar system both in 3D⁴ and in 2D.¹⁴ Within 10–20 min, a superposition of bending instabilities results in a chaotic flow of bundles (Movie S2, ESI[†]). At $5 \mu\text{M}$ ATP, in contrast, the MTs deform in the xz -plane, creating an undulating sheet with a typical wavelength of $200 \mu\text{m}$ within 150 min (Fig. 1d, e and Movie S3, ESI[†]). Buckling happens concomitantly with a 10% compression of the height of the gel. In the xy -plane, this sheet appears as a periodic structure of black and bright zones, with preserved nematic order of MT bundles along the x -axis. Within 1500 min this instability conduces to an onset of chaotic flows destroying nematic order, although the slow dynamics preclude the observation of a fully developed chaotic state (Movie S4, ESI[†]).

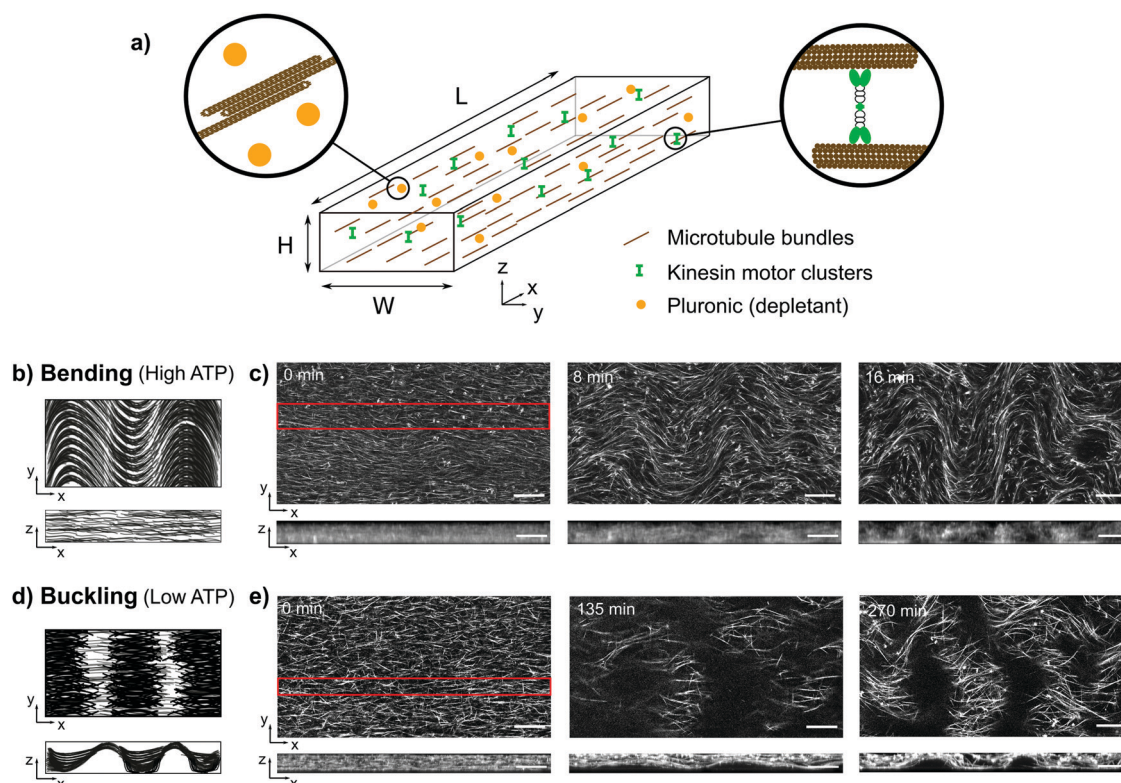


Fig. 1 Bending and buckling instabilities are controlled by ATP concentration at high depletant concentration. (a) Scheme of the experimental system with the microtubules in brown, the motor clusters in green and the pluronic depletant in orange, inside a rectangular channel. Cartoons of the microtubule morphology during the bending (b) and buckling (d) instabilities (the MTs appear in black). Time-lapse confocal images of fluorescent microtubules showing the bending (c) and buckling (e) from the bottom (xy -plane) and from the side (xz -plane) of the channel (the MTs appear in white). 5.5% pluronic, [ATP] = $50 \mu\text{M}$ for bending and $5 \mu\text{M}$ for buckling. Scale bars are $200 \mu\text{m}$.

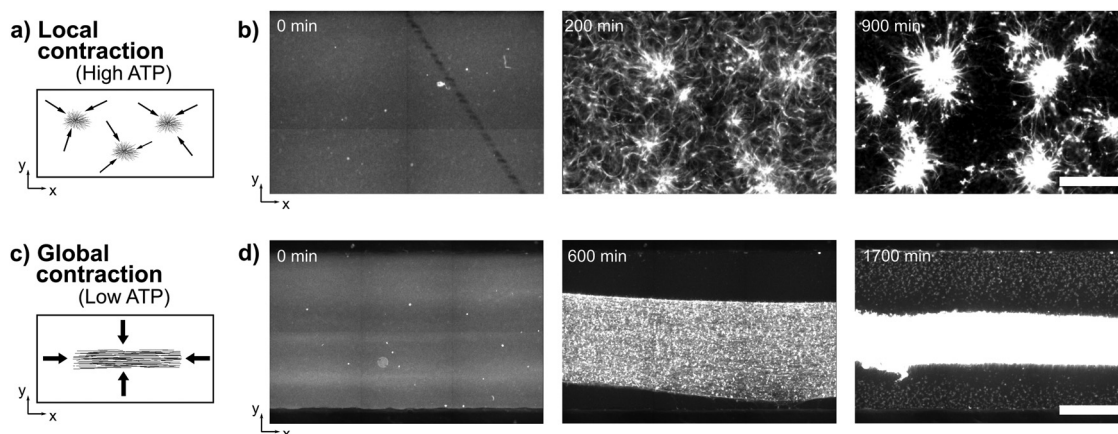


Fig. 2 Global and local contractions are controlled by ATP concentration at low depletant concentration. Cartoons of the microtubule morphology during local (a) and global (c) contractions (the MTs appear in black). Time-lapse epifluorescence images for local (b) and global contractions (d) in the yx -plane (the MTs appear in white). 1.5% pluronic, [ATP] = 5 μM for global and 100 μM for local contractions. Scale bars are 500 μm .

This out-of-plane buckling instability has recently been reported in a system that is similar but displays two important differences: longer, taxol-stabilized MTs, and much higher [ATP] (2 mM).^{5,6} Note however that, to the best of our knowledge, the bending to buckling transition has not been observed so far.

At a lower pluronic concentration (1.5%) the behavior of the system changes dramatically (Fig. 2). In these conditions and high [ATP] (100 μM), a chaotic flow is observed during the first 100 min but afterwards microtubules aggregate, their area growing with an exponential rate of 0.028 min^{-1} , first to make 20 μm diameter clumps that coalesce after 1500 min into ~ 250 μm diameter aggregates separated by a typical distance of ~ 500 μm (Movie S5, ESI[†]). We call this late instability local contractions. At the time resolution of the experiments, the type of instability that yields the initial chaotic flow could not be resolved. In contrast, at low [ATP] (5 μM), a global contraction in the absence of chaotic flow is observed (Movie S6, ESI[†]). The MT network first contracts along y with an onset rate of 0.015 min^{-1} until it reaches a steady-state width of 0.3 W at $t = 1000$ min and later contracts along x until contraction stops at 1700 min. This transition from local to global contraction reminds the one reported for actomyosin gels, where a critical concentration of passive linkers induced the percolation of the gel yielding the global contraction state.¹⁰

Fig. 3 recapitulates the phase diagram of spatial instabilities as a function of depletant and ATP concentrations. The transition between bending and buckling happens at a critical concentration [ATP]_c in the range 5–10 μM . When the pluronic concentration increases, the [ATP]_c marginally increases. Note that the characteristic time of the instability strongly decreases with increasing [ATP] (Fig. S2 and Table S3, ESI[†]), with buckling being significantly slower than bending, except at [ATP]_c where replicate experiments yield either one or the other instability or a mixture of the two (Fig. S3, ESI[†]), with identical time-scales.

The transition between local and global contractions also happens at [ATP]_c = 10 μM , suggesting that ATP plays a similar role in both processes. Interestingly, for long, taxol-stabilized

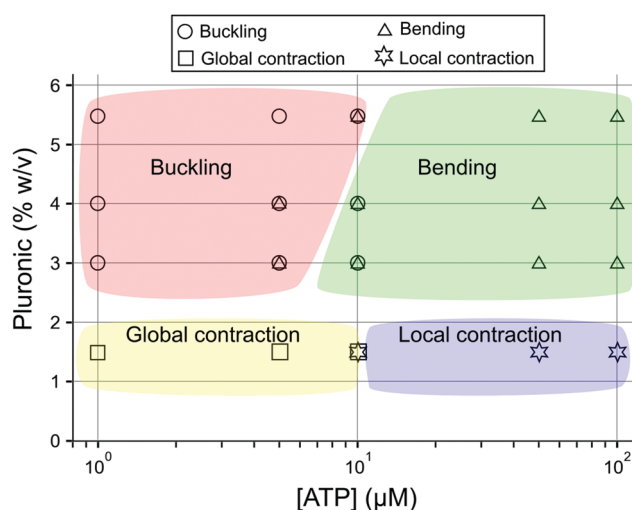


Fig. 3 Phase space of the four spatial instabilities as a function of pluronic and ATP concentrations. The symbols indicate the observed instabilities in a triplicate experiment and the colors are a guide to the eye.

MTs a similar phase diagram was observed, although with some differences (Fig. S4, ESI[†]). First, the bending/buckling and local/global transition happened at a slightly higher ATP concentration. Second, the limit between contracting and extensile instabilities occurred at a lower depletant concentration. Finally, in some occasions, buckling and bending ended up producing, respectively, global and local contractions instead of chaotic flows. We hypothesize that these differences mainly result from the increased length of taxol-stabilized MTs, which would favor gelation at a lower concentration of passive crosslinkers (and thus higher [ATP]) and the formation of bundles at a lower depletant concentration.

In a recent and complementary work, Lemma *et al.* established the phase diagram of a similar active gel as a function of tubulin, depletant and motor concentration at high ATP concentration.²⁰ They observed the following phases: global

and local contractions, active foams, and bending, but not buckling. In particular, Lemma *et al.* found that increasing depletant promoted the transition from local to global contractions and from these to bending. In our case, depletant concentration induced a transition from global contractions to buckling and from local contractions to bending.

In the following, we will elucidate the effect of [ATP] on the spatial instabilities of the gel by considering two alternative hypotheses. In the kinetic hypothesis, the bending/buckling transition happens when there is a cross-over in the characteristic times of two concurrent processes: the passive contraction of the gel in the z direction promoting buckling, and the activity of the motors, favoring bending, that increases with [ATP]. In the gelation hypothesis, instead, [ATP] influences the concentration of inactive motors that act as passive crosslinkers of the gel inducing a gelation transition below a critical ATP concentration. We demonstrate that the gelation hypothesis is the only coherent with our experimental observations.

2.1 The bending/buckling transition is not controlled by passive contraction

Senoussi *et al.* and Strübing *et al.* observed a buckling instability at high [ATP] in the presence of long MTs.^{5,6} In ref. 5, the MTs contracted along z due to passive depletion forces to form a film that buckled because of the negative surface tension induced by the motors. Our first hypothesis is thus that the reduction in [ATP] reduces the activity and lets the time for the passive contraction to form a film that buckles. In this kinetic hypothesis two processes are in competition: the passive contraction of MTs into a film, whose time-scale would be independent of [ATP], and the activity due to the motors, whose dynamics may depend on [ATP] (Fig. 4a). To test it we first measured the passive contraction

dynamics along z in the absence of ATP (Fig. S5, ESI[†]). In the absence of pluronic but in the presence of motors a slight 5% expansion of the gel was observed. The strongest contraction, 50% of the thickness of the gel, was observed in the presence of pluronic alone and it reached 30% when both kinesin and pluronic were present. The characteristic time of passive contraction in these two cases was in the range 150–200 min (Fig. S5, ESI[†]).

We then repeated the bending/buckling experiment in Fig. 1 but using caged-ATP to let the passive contraction happen in the absence of activity. Initially, the two systems at 5 and 50 μM caged-ATP evolved in the absence of free ATP and after 4 h a light pulse uncaged it (Fig. 4). In both cases, MTs contracted slightly along z during the first 4 h (Fig. S5b, ESI[†]). After uncaging, buckling with preserved nematic order along x was observed at 5 μM ATP within 15 min (Fig. 4b and d). At 50 μM ATP, uncaging resulted in a bending instability destroying nematic order along x (Fig. 4c and e), as in happened in Fig. 1c, although the bending was less clear. Indeed, this is expected because, as discussed in the following, a suspended film that bends in the xy -plane necessarily deforms in the xz -plane. Importantly, however, pure buckling was not observed at 50 μM ATP even though the uncaging occurred after the MTs film was formed. This result thus invalidates the kinetic hypothesis.

2.2 A passive crosslinker-based theory to explain the transition from one instability mode to another

Gagnon *et al.* used micro-rheology experiments to show that reducing [ATP] in the Dogic system results in a gelation transition from a fluid to a solid-like state²² because kinesin motors act as long-lived passive linkers in the absence of ATP. Our second

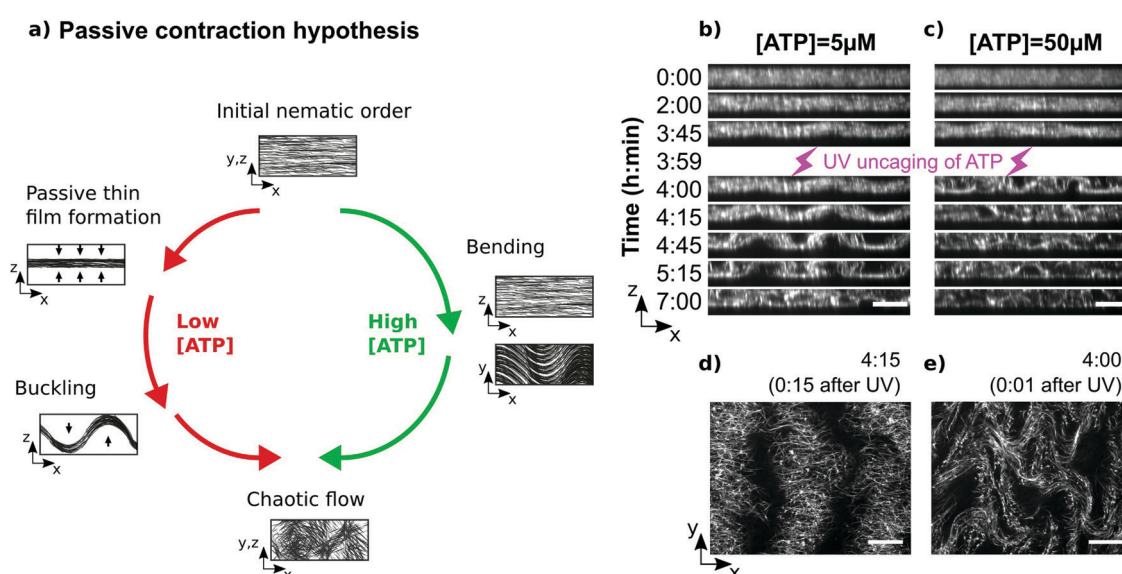


Fig. 4 The bending/buckling transition is not controlled by passive contraction. (a) Scheme of the kinetic hypothesis, where two instabilities are observed depending on ATP concentration. At low [ATP], activity is reduced, which lets the time for the passive contraction of microtubules to form a film that buckles. At high [ATP], the higher activity induces a bending instability. Confocal images of solutions with respectively 5 μM (b and d) and 50 μM (c and e) caged-ATP. Panels (b and c) provide time-lapses in the xz -plane with the uncaging event indicated at 3 h 59 min. Panels (d and e) display images in the xy -plane just after uncaging. Scale bars are 100 μm in xy and 188 μm in z . Pluronic 5.5% w/v.

hypothesis is thus that the gelation state of the active fluid determines the observed spatial instability, from in-plane bending in the fluid phase at high [ATP] to out-of-plane buckling in the solid phase at low [ATP] (Fig. 5a and b). In this subsection, we use a hydrodynamic active matter framework^{23–26} to show that the observation of different instability modes is indeed consistent with a gelation transition controlled by crosslinking.

We model the kinesin-microtubule gel using a consistent description of an orientable and crosslinked active material described in ref. 27; this general theory is recapitulated in the ESI† and summarized here. We assume that at low [ATP] most kinesin motors act as passive crosslinkers, while at high [ATP] most motors are activated and therefore do not act as passive crosslinkers. The concentrations of passive or active motors do not appear directly in our theory; instead we start from a classical model of viscoelasticity²⁸ where crosslinkers effectively control the relaxation rate $1/\tau_C$ of a conformation tensor \mathbf{C} , which characterizes the polymeric conformation of the microtubule filaments. $\tau_C \rightarrow 0$ corresponds to a fluid state (at high [ATP]), while $\tau_C \rightarrow \infty$ corresponds to a solid state (at low [ATP]). In such a permanently crosslinked, solid regime, the deviation of the conformation tensor, $\delta\mathbf{C}$, from its steady-state value is the classical strain tensor of the gel.²⁷ Next, the degree of alignment of the microtubules is described by the nematic tensor \mathbf{Q} , as is usual in the context of liquid crystals. Last, the dynamics of the gel is characterized by the fluid flow \mathbf{v} . In the

main text, we display the equations of motion corresponding to the situation in which the gel fills the entire channel (which is the case at least at high [ATP]), for simplicity; we average the dynamics of the gel over the thickness of the channel and present the effective two-dimensional dynamics. These two-dimensional hydrodynamic equations governing the dynamics of the coupled variables \mathbf{C} , \mathbf{Q} , \mathbf{v} are

$$\partial_t \mathbf{Q} = \mathbf{Q} \cdot \boldsymbol{\omega} - \boldsymbol{\omega} \cdot \mathbf{Q} - 2\lambda \mathbf{A} + \frac{1}{\tau_Q} \mathbf{H} \quad (1)$$

$$\partial_t \mathbf{C} = \mathbf{C} \cdot \boldsymbol{\omega} - \boldsymbol{\omega} \cdot \mathbf{C} - 2\lambda_C \mathbf{A} + \frac{1}{\tau_C} \mathbf{B} \quad (2)$$

$$\Gamma \mathbf{v} - \eta \nabla_{\perp}^2 \mathbf{v} = -\nabla_{\perp} \Pi + \nabla_{\perp} \cdot \boldsymbol{\sigma}^G \quad (3)$$

where $\mathbf{A} = (1/2)[\nabla_{\perp} \mathbf{v} + (\nabla_{\perp} \mathbf{v})^T]$ and $\boldsymbol{\omega} = (1/2)[\nabla_{\perp} \mathbf{v} - (\nabla_{\perp} \mathbf{v})^T]$. $\mathbf{H} = -\delta F/\delta \mathbf{Q}$ and $\mathbf{B} = -\delta F/\delta \mathbf{C}$ are the molecular fields corresponding to the nematic tensor and the conformation tensor respectively where F is the free energy that would control the dynamics in the absence of activity. Crucially, F includes a coupling between alignment \mathbf{Q} and conformation \mathbf{C} of the gel with a coefficient χ (eqn (S8), ESI†), which is of the form $2\chi C_{ij}Q_{ij}$, where Einstein summation convention has been assumed for the indices. Further, \mathbf{Q} and \mathbf{C} are also coupled *via* their respective couplings to the fluid flow. Π enforces the

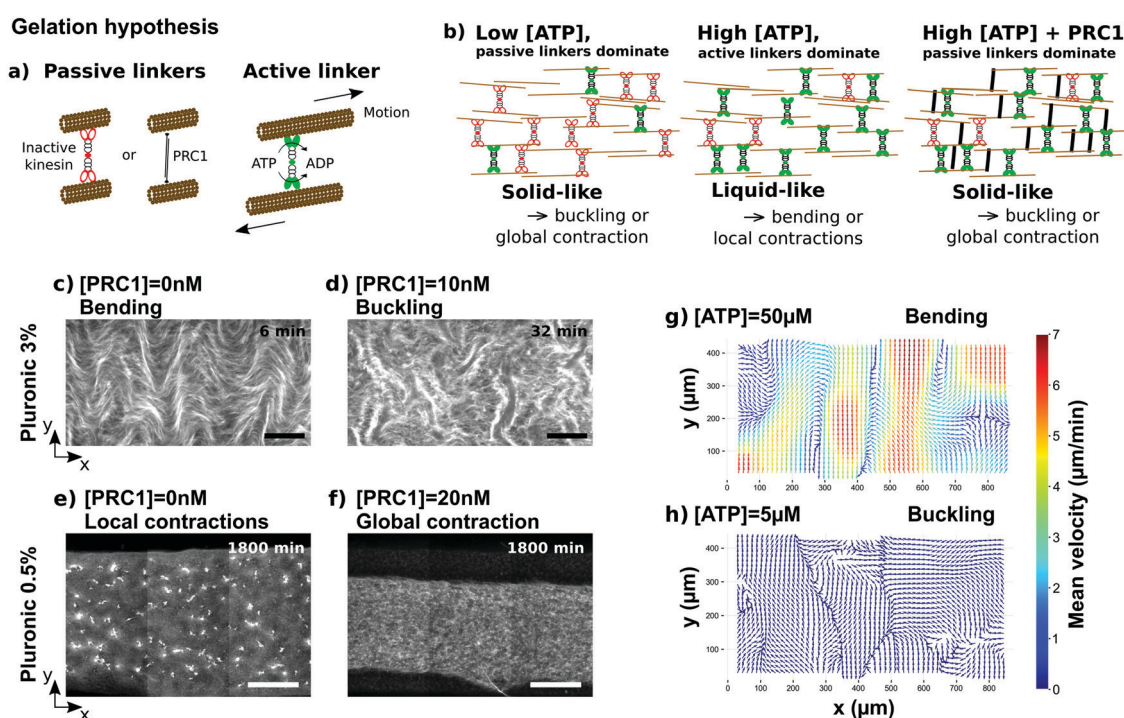


Fig. 5 The bending/buckling and local/global contraction transitions are controlled by the concentration of passive linkers that induce a gelation transition. (a) Schemes of passive linkers (ATP-depleted kinesin, in red, and PRC1 in black) and active one (ATP-consuming kinesin, in green). (b) Schemes of the active gel at different [ATP] and [PRC1] highlighting their liquid/solid-like state and the instabilities observed. Epifluorescence images showing the instabilities observed at high [ATP] (50 μM) and either high (c and d) or low (e and f) pluronic concentration and low (c and e) or high (d and f) [PRC1]. Scale bars are 200 μm for (c and d) and 500 μm for (e and f). (g and h) Particle image velocimetry of the bending (g) and buckling (h) instabilities observed at 0 nM PRC1, 5.5% pluronic and [ATP] as indicated. In panels (c–f) [MT] = 1 mg mL⁻¹.

two-dimensional incompressibility constrain $\nabla_{\perp} \cdot \mathbf{v} = 0$ and $\boldsymbol{\sigma}^G$ is the stress due to the gel which has the form described in ref. 27. Activity is introduced in the model *via* an active stress $\zeta \mathbf{Q}$ – which we assume to depend only on the nematic order parameter – with $\zeta > 0$ describing a system with an extensile uniaxial active stress. The remaining terms are required to ensure that the correct equilibrium physics is obtained in the absence of activity.

As we show in detail in the supplement, this formulation demonstrates that in the fluid limit ($\tau_C \rightarrow 0$, associated to high [ATP]), and for high enough active drive ζ , the classical in-plane bending instability characteristic of extensile fluids^{23,29,30} is obtained (eqn (S24), ESI†). However, when $\tau_C \rightarrow \infty$ (associated with low [ATP]), *i.e.*, the gel is essentially solid, the bending instability is suppressed when $\chi > 0$ (eqn (S63), ESI†). More quantitatively, in Fourier space, the stability of the gel to a pure bend perturbation with wavenumber q_{\perp} is determined by the negativity of the following eigenvalue:

$$\Xi = -\frac{q_{\perp}^2}{\tau_C + 4\chi^2\tau_C} \left[K - \frac{\tau_C\zeta}{\Gamma} \left\{ 1 - \left(\lambda - \frac{2\lambda_C\chi\tau_C}{\tau_C} \right) \right\} \right] \quad (4)$$

where K is the Frank elasticity of the nematic. Importantly, even when $\zeta \gg K$ (*i.e.*, in the highly active regime), if $\lambda_C \rightarrow -1$ and $\chi > 0$, as we expect our system parameters to be, this eigenvalue goes from being destabilising (*i.e.*, positive) to stabilising (*i.e.*, negative) as τ_C is increased. This demonstrates that greater crosslinking, which leads to a gelation transition, stabilises the gel to bend perturbations.

This thickness averaged description cannot, however, account for the buckling transition since homogeneity along the z direction is assumed. In the supplement, we explicitly demonstrate that when this condition is relaxed and gel disposes of some space to deform in the z direction, it buckles out of plane because the extensile active stress $\zeta \mathbf{Q}$ leads to a negative and destabilising surface tension along the uniaxial direction x , as previously shown⁵ (eqn (S65), ESI†). In other words, a buckling gel does not bend in the high τ_C solid limit (at least initially). Finally, we also demonstrate that a gel in the fluid, low τ_C limit that may deform in the z direction, both bends and buckles (eqn (S71), ESI†).

To summarise, the four key results of the theoretical modelling are i. in-plane bend instability at low τ_C (fluid limit), ii. suppression of this instability at high τ_C (solid limit), iii. buckling instability in the high τ_C solid limit, when the gel does not homogeneously fill the channel and iv. both buckling and bending instability in the low τ_C fluid limit when the gel can deform in the z direction. These theoretical results are compatible with the previous experimental observations if we assume, based on Gagnon *et al.*,²² that [ATP] drives a gelation transition in the Dogic system. In particular, the third and fourth theoretical results are consistent with buckling being observed at low [ATP] and a mixture of buckling and bending at high [ATP] when the active system may deform in the z axis, as shown in the experiments in Fig. 4.

Note that while we assumed that passive motors act as crosslinkers, the theory is insensitive to the chemical nature

of crosslinkers. This suggests that adding passive crosslinkers in a gel, while keeping high ATP and pluronic concentrations, should modify the instability mode of the gel.

Our linear stability theory applies to buckling/bending instabilities that arise close to the initial nematic state but does not inform us about global/local contraction instabilities that happen far from this state. However, the global/local contraction transition has been demonstrated to be associated to a gelation transition in actin gels.¹⁰ These results, together with Gagnon's *et al.* and Fig. 3 suggest that both the bending/buckling and the global/local contraction transitions at $\sim 10 \mu\text{M}$ ATP are due to a gelation transition.

2.3 The bending/buckling and local/global contraction transitions are controlled by the concentration of passive linkers

To experimentally challenge the gelation hypothesis, we introduced passive PRC1 linkers⁴ at constant [ATP]. At high pluronic, we observed that 10 nM PRC1 was sufficient to convert a bending into a buckling instability (Fig. 5c, d and Movie S7, ESI†). At low pluronic, a system displaying local contractions in the absence of PRC1 displayed global ones at 20 nM PRC1 (Fig. 5e, f and Movie S8, ESI†). In some occasions, we observed that a bending state became global contraction when PRC1 was added (Fig. S6, ESI†). Importantly, the characteristic times of the bending/buckling instabilities, on the one hand, and of the local/global contraction instabilities, on the other hand, were similar at constant [ATP] and different PRC1 (Table S4, ESI†), in agreement with experiments at [ATP]_c (Fig. S3, ESI†) and in contrast with what was observed at different [ATP] in the absence of PRC1 (Table S3, ESI†).

The gelation transition occurred at [ATP]_c $\approx 10 \mu\text{M}$ in Fig. 3. Using a Michaelis–Menten model, we can estimate the concentration of passive motors as $c_m^p = c_m^0 (1 - [\text{ATP}]/(K_M + [\text{ATP}]))$, where c_m^0 is the concentration of all motors and $K_M = 40\text{--}60 \mu\text{M}$ is the Michaelis–Menten constant of kinesin-1 motor and ATP.^{31,32} Taking $c_m^0 = 25 \text{ nM}$ for our experiments, one finds $c_m^p \approx 20 \text{ nM}$, which corresponds to a concentration of passive linkers $c_l^p \approx 5 \text{ nM}$ (Fig. S7, ESI†). This result is consistent with the gelation transition observed at 10 and 20 nM PRC1, respectively for bending/buckling and local/global contractions (Fig. 5c–f).

To further test the gelation hypothesis, we quantified the average velocity flows of the microtubules in the xy -plane during the bending and buckling instabilities at different [ATP] in the absence of PRC1 (Fig. 5g and h). During bending, strong flows up to $7 \mu\text{m min}^{-1}$ arise parallel to the y axis as observed previously.^{4,14} In contrast, during buckling the flows do not show a clear structure and they are significantly smaller, on the order of $0.4 \mu\text{m min}^{-1}$, as expected for a solid. The correlation along x of the velocity orientation angles confirms this interpretation (Fig. S8, ESI†).

These observations clearly show that a large fraction of kinesin motors act as passive crosslinkers at low [ATP] but not at high [ATP], implying that [ATP] controls a transition from

a crosslinked gel to a fluid that determines the spatial instability displayed by the active gel.

3 Conclusion

We have observed four important spatial instabilities – bending, buckling, local and global contractions – in a single type of cytoskeletal active gel and we have shown that they are determined by two factors: the crosslinking of the gel and the concentration of depletion agent. Our theoretical and experimental results demonstrate that the bending-to-buckling and local-to-global contraction transitions are determined by a gelation transition in the active gel, induced either by motors acting as passive crosslinkers when [ATP] decreases, or by passive linkers at a fixed [ATP]. However, although the depletant concentration is known to promote filament bundling,³³ it is not yet clear how this property controls the bending-to-local contraction and buckling-to-global contraction transitions.

Our work generalizes previous results that showed that the local-to-global contraction transition is controlled by the percolation of the gel induced by passive linkers in actin–myosin gels.¹⁰ Building on previous work,²² our results underline the dual role of motors both as passive and active linkers in cytoskeletal active gels. In particular, we show, by varying [ATP], that motors not only control the degree of active drive, as is generally assumed in active fluid theories,^{5,14} but also the mechanical properties of the gel, leading to qualitatively distinct spatial instabilities and gel morphologies. In summary, this work provides a unified view of spatial instabilities in cytoskeletal active gels and provides an experimental and theoretical framework to design active materials with controllable out-of-equilibrium properties.^{19,34–36}

4 Materials and methods

Active solution

Active linkers are clusters of streptavidin and biotinylated kinesin-1. The active solution was composed of fluorescent GMPCPP-stabilized microtubules (at 0.5–1 mg mL⁻¹), kinesin and streptavidin (both at a concentration of 25 nM), ATP and pluronic (from 1 μM to 100 μM and from 1.5% to 5.5%, respectively), an ionic buffer, an antioxidant mix and an ATP regeneration system.

Imaging

The active solution was injected into rectangular cross-section channels (22 × 1.5 × 0.13 mm) made using passivated glass slides separated by parafilm. Imaging was done by epifluorescence or confocal microscopy at room temperature.

Analysis

Images were reconstructed with Fiji and analyzed with Python scripts, using openpiv package for PIV analysis.

See Supporting Information for a more detailed description.

Conflicts of interest

There are no conflicts to declare.

Acknowledgements

Z. Gueroui for a kind gift of the K401 plasmid, F. Lam from the microscopy platform at IBPS, L. L. Pontani for providing access to a spinning disk microscope, and A. Senoussi, Y. Vyborna and G. Duclos for insightful discussions. This work has been funded by the European Research Council (ERC) under the European's Union Horizon 2020 programme (grant No 770940, A. E.-T.). A. M. was supported by a TALENT fellowship from CY Cergy Paris Université. For PRC1 synthesis, we acknowledge support from Brandeis NSF MRSEC, Bioinspired Soft Materials, DMR-2011846. In the concluding stages of our work, we became aware of a complementary, independent effort by the group of Guillaume Duclos who studied instabilities in kinesin-microtubule active fluids.³⁷

References

- 1 M. C. Marchetti, J.-F. Joanny, S. Ramaswamy, T. B. Liverpool, J. Prost, M. Rao and R. A. Simha, Hydrodynamics of soft active matter, *Rev. Mod. Phys.*, 2013, **85**, 1143.
- 2 D. Needleman and Z. Dogic, Active matter at the interface between materials science and cell biology, *Nat. Rev. Mater.*, 2017, **2**, 17048.
- 3 A. Bricard, J.-B. Caussin, N. Desreumaux, O. Dauchot and D. Bartolo, Emergence of macroscopic directed motion in populations of motile colloids, *Nature*, 2013, **503**, 95.
- 4 P. Chandrakar, M. Varghese, S. Aghvami, A. Baskaran, Z. Dogic and G. Duclos, Confinement Controls the Bend Instability of Three-Dimensional Active Liquid Crystals, *Phys. Rev. Lett.*, 2020, **125**, 257801.
- 5 A. Senoussi, S. Kashida, R. Voituriez, J.-C. Galas, A. Maitra and A. Estevez-Torres, Tunable corrugated patterns in an active nematic sheet, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2019, **116**, 22464–22470.
- 6 T. Strübing, A. Khosravanizadeh, A. Vilfan, E. Bodenschatz, R. Golestanian and I. Guido, Wrinkling Instability in 3D Active Nematics, *Nano Lett.*, 2020, 6281–6288.
- 7 Y. Ideses, V. Erukhimovitch, R. Brand, D. Jourdain, J. S. Hernandez, U. Gabinet, S. Safran, K. Kruse and A. Bernheim-Groswasser, Spontaneous buckling of contractile poroelastic actomyosin sheets, *Nat. Commun.*, 2018, **9**, 2461.
- 8 P. M. Bendix, G. H. Koenderink, D. Cuvelier, Z. Dogic, B. N. Koeleman, W. M. Briehar, C. M. Field, L. Mahadevan and D. A. Weitz, A quantitative analysis of contractility in active cytoskeletal protein networks, *Biophys. J.*, 2008, **94**, 3126–3136.
- 9 T. Torisawa, D. Taniguchi, S. Ishihara and K. Oiwa, Spontaneous Formation of a Globally Connected Contractile Network in a Microtubule-Motor System, *Biophys. J.*, 2016, **111**, 373–385.

- 10 J. Alvarado, M. Sheinman, A. Sharma, F. C. MacKintosh and G. H. Koenderink, Molecular motors robustly drive active gels to a critically connected state, *Nat. Phys.*, 2013, **9**, 591–597.
- 11 P. J. Foster, S. Fuerthauer, M. J. Shelley and D. J. Needleman, Active contraction of microtubule networks, *eLife*, 2015, **4**, e10837.
- 12 F. J. Nédélec, T. Surrey, A. C. Maggs and S. Leibler, Self-organization of microtubules and motors, *Nature*, 1997, **389**, 305–308.
- 13 T. Sanchez, D. T. N. Chen, S. J. DeCamp, M. Heymann and Z. Dogic, Spontaneous motion in hierarchically assembled active matter, *Nature*, 2012, **491**, 431–434.
- 14 B. Martnez-Prat, J. Ignés-Mullol, J. Casademunt and F. Sagués, Selection mechanism at the onset of active turbulence, *Nat. Phys.*, 2019, **15**, 362.
- 15 N. Kumar, R. Zhang, J. J. de Pablo and M. L. Gardel, Tunable structure and dynamics of active liquid crystals, *Sci. Adv.*, 2018, **4**, eaat7779.
- 16 T. Surrey, F. Nedelec, S. Leibler and E. Karsenti, Physical properties determining self-organization of motors and microtubules, *Science*, 2001, **292**, 1167–1171.
- 17 V. Nasirimarekani, T. Strübing, A. Vilfan and I. Guido, Tuning the Properties of Active Microtubule Networks by Depletion Forces, *Langmuir*, 2021, **37**, 7919–7927.
- 18 A. Senoussi, J.-C. Galas and A. Estevez-Torres, Programmed mechano-chemical coupling in reaction-diffusion active matter, *bioRxiv*, 2021, DOI: [10.1101/2021.03.13.435232](https://doi.org/10.1101/2021.03.13.435232).
- 19 A. Senoussi, J.-C. Galas and A. Estevez-Torres, Programmed mechano-chemical coupling in reaction-diffusion active matter, *Sci. Adv.*, 2021, **7**, eabi9865.
- 20 B. Lemma, N. P. Mitchell, R. Subramanian, D. J. Needleman and Z. Dogic, Active microphase separation in mixtures of microtubules and tip-accumulating molecular motors. arXiv:2107.12281 [cond-mat, physics:physics], 2021.
- 21 J. Roostal, J. Rickman, C. Thomas, F. Nedelec and T. Surrey, Determinants of Polar versus Nematic Organization in Networks of Dynamic Microtubules and Mitotic Motors, *Cell*, 2018, **175**, 796–808.
- 22 D. A. Gagnon, C. Dessi, J. P. Berezney, R. Boros, D. T.-N. Chen, Z. Dogic and D. L. Blair, Shear-Induced Gelation of Self-Yielding Active Networks, *Phys. Rev. Lett.*, 2020, **125**, 178003.
- 23 M. C. Marchetti, J. F. Joanny, S. Ramaswamy, T. B. Liverpool, J. Prost, M. Rao and R. A. Simha, Hydrodynamics of soft active matter, *Rev. Mod. Phys.*, 2013, **85**, 1143–1189.
- 24 S. Ramaswamy, The Mechanics and Statistics of Active Matter, *Annu. Rev. Condens. Matter Phys.*, 2010, **1**, 323–345.
- 25 J. Prost, F. Jülicher and J.-F. Joanny, Active gel physics, *Nat. Phys.*, 2015, **11**, 111–117.
- 26 F. Jülicher, S. W. Grill and G. Salbreux, Hydrodynamic theory of active matter, *Rep. Prog. Phys.*, 2018, **81**, 076601.
- 27 E. J. Hemingway, A. Maitra, S. Banerjee, M. C. Marchetti, S. Ramaswamy, S. M. Fielding and M. E. Cates, Active Viscoelastic Matter: From Bacterial Drag Reduction to Turbulent Solids, *Phys. Rev. Lett.*, 2015, **114**, 098302.
- 28 A. N. Beris and B. J. Edwards, *Thermodynamics of Flowing Systems: with Internal Microstructure*, Oxford Engineering Science Series Oxford University Press, New York, 1994, p. 704.
- 29 R. Voituriez, J. F. Joanny and J. Prost, Spontaneous flow transition in active polar gels, *Europhys. Lett.*, 2005, **70**, 404–410.
- 30 R. Aditi Simha and S. Ramaswamy, Hydrodynamic Fluctuations and Instabilities in Ordered Suspensions of Self-Propelled Particles, *Phys. Rev. Lett.*, 2002, **89**, 058101.
- 31 M. J. Schnitzer and S. M. Block, Kinesin hydrolyses one ATP per 8-nm step, *Nature*, 1997, **388**, 386–390.
- 32 W. Hua, E. C. Young, M. L. Fleming and J. Gelles, Coupling of kinesin steps to ATP hydrolysis, *Nature*, 1997, **388**, 390–393.
- 33 D. J. Needleman, M. A. Ojeda-Lopez, U. Raviv, K. Ewert, J. B. Jones, H. P. Miller, L. Wilson and C. R. Safinya, Synchrotron X-ray Diffraction Study of Microtubules Buckling and Bundling under Osmotic Stress: A Probe of Interprotofilament Interactions, *Phys. Rev. Lett.*, 2004, **93**, 198104.
- 34 Y. Vyborna, J.-C. Galas and A. Estevez-Torres, DNA-Controlled Spatiotemporal Patterning of a Cytoskeletal Active Gel, *J. Am. Chem. Soc.*, 2021, **143**, 20022–20026.
- 35 T. D. Ross, H. J. Lee, Z. Qu, R. A. Banks, R. Phillips and M. Thomson, Controlling Organization and Forces in Active Matter Through Optically-Defined Boundaries, *Nature*, 2019, **572**, 224–229, arXiv: 1812.09418.
- 36 A. M. Tayar, M. F. Hagan and Z. Dogic, Active liquid crystals powered by force-sensing DNA-motor clusters, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2021, **118**, e2102873118.
- 37 B. Najma, M. Varghese, L. Tsidilkovski, L. Lemma, A. Baskaran and G. Duclos, Dual antagonistic role of motor proteins in fluidizing active networks. arXiv:2112.11364 [cond-mat, physics:physics], 2021.

Annexe B

Hydrodynamic theory : Instabilities of nematic gels

Cette annexe est une préproduction écrite par Ananyo Maitra pour les informations supplémentaires de l'article paru dans Soft Matter [59] (annexe A), et qui est présenté dans le chapitre 3.

In these experiments, a motor-microtubule gel in a thin channel is examined at different ATP concentrations. At high pluronic concentration, the characteristic instability of the gel changes with ATP concentration. While at high ATP concentrations, the gel has the usual bend instability characteristic of active nematic fluids, at low ATP concentrations, it forms an essentially two-dimensional sheet which undergoes a buckling instability, without any significant in-plane distortion of the nematic alignment. It is hypothesised that this spectacularly distinct behaviour at low and high ATP concentrations is a result of an ATP-induced fluidisation transition in the motor-microtubule system. That is, it is hypothesised that at low ATP concentrations, most of the kinesin motors are passive and act as passive crosslinkers resulting in an essentially permanently crosslinked, uniaxial gel. At high ATP concentrations, in contrast, most of the motors are activated and move along the microtubule fibres, thereby fluidising the gel. This hypothesis is experimentally supported by the fact that introducing passive crosslinkers in a high-ATP gel, that in their absence loses orientational order via a bend instability, leads to the formation of a layer which buckles out of plane but retains in-plane orientational order, just as in a low-ATP gel. In this supplement we demonstrate that the distinct instability modes observed at low and high ATP concentrations are consistent with the hypothesised gelation transition. We adapt a consistent hydrodynamic model of polymeric active uniaxial systems developed in [107] to describe a viscoelastic active gel in both the viscous and elastic, permanently-crosslinked regimes. In the viscous regime, the model displays the usual bend instability of the orientational order associated with viscous nematic fluids. In the permanently-crosslinked regime, in contrast, the instability of the ordered state is suppressed [108]. Instead, the gel forms a film which buckles while preserving in-plane order, as observed in the experiments. We now recapitulate the model of [107], which we will use, in detail for completeness.

A nematic gel in which the filaments are crosslinked for a finite time $\bar{\tau}_C$ is described in terms of three variables : the nematic order parameter $\bar{\mathbf{Q}}$, the conformation tensor $\bar{\mathbf{C}}$ and the fluid velocity field \mathbf{V} . The symmetric conformation tensor reduces to the strain tensor of the gel in the limit in which the gel is crosslinked over infinitely long time scales [107, 108]. The coupled hydrodynamic equations for a crosslinked gel, which amounts to an active version of Johnson-Segelman model, were described in [107] :

$$\partial_t \bar{\mathbf{Q}} = \bar{\mathbf{Q}} \cdot \bar{\boldsymbol{\omega}} - \bar{\boldsymbol{\omega}} \cdot \bar{\mathbf{Q}} - 2\bar{\lambda} \bar{\mathbf{A}} + \frac{1}{\bar{\tau}_Q} \bar{\mathbf{H}}, \quad (\text{B.1})$$

$$\partial_t \bar{\mathbf{C}} = \bar{\mathbf{C}} \cdot \bar{\boldsymbol{\omega}} - \bar{\boldsymbol{\omega}} \cdot \bar{\mathbf{C}} - 2\bar{\lambda}_C \bar{\mathbf{A}} + \frac{1}{\bar{\tau}_C} \bar{\mathbf{B}} \quad (\text{B.2})$$

where $\bar{\mathbf{A}} = (1/2)[\nabla \mathbf{V} + (\nabla \mathbf{V})^T]$, $\bar{\boldsymbol{\omega}} = (1/2)[\nabla \mathbf{V} - (\nabla \mathbf{V})^T]$, and $\bar{\mathbf{H}} = -\delta \bar{F} / \delta \bar{\mathbf{Q}}$ and $\bar{\mathbf{B}} = -\delta \bar{F} / \delta \bar{\mathbf{C}}$ are the molecular fields corresponding to the nematic tensor and the conformation tensor respectively where \bar{F} is the free energy that would control the dynamics in the absence of activity. The equation for the conformation tensor has been simplified relative to [107] without, however, changing any of the essential physics. The term with the coefficient $\bar{\lambda}$ in (B.1) describes the flow-alignment or how the elongated elements rotate in response to a shear flow. For flow-aligning systems, it has a value $|\bar{\lambda}| > 1$ and for flow-tumbling systems, $|\bar{\lambda}| < 1$. The term with the coefficient $\bar{\lambda}_C$ has a somewhat different physics : in the Johnson-Segelman model of polymeric systems, which (B.2) reduces to in the absence of any coupling to the orientational order parameter, this describes the slip parameter which accounts for non-affine polymeric deformations. In this case, it accounts for the non-affine deformation of the crosslinked microtubule gel. If the deformation is affine, which is expected to be the case for a permanently crosslinked gel (i.e., when $\bar{\tau}_C \rightarrow \infty$), $\bar{\lambda}_C = -1$. When the gel is not permanently crosslinked, and in particular, in the fluid limit $|\bar{\lambda}_C| < 1$ and generally, in this limit, $\bar{\lambda}_C < 0$. That $\bar{\lambda}_C = -1$ when the gel is permanently crosslinked can be seen from the following argument : in this limit, the fluctuations of the conformation tensor is equivalent to the fluctuations of the strain tensor which should be equal to the strain rate tensor to the lowest order in gradients.

The standard form of the free energy density is

$$\bar{f} = \left[\frac{\bar{\alpha}}{2} \text{Tr} \bar{\mathbf{Q}}^2 + \frac{\bar{\beta}}{4} (\text{Tr} \bar{\mathbf{Q}}^2)^2 \right] + \frac{\bar{K}}{2} (\nabla \bar{\mathbf{Q}})^2 + \frac{1}{2} \text{Tr} (\bar{\mathbf{C}} - \mathbf{I})^2 + 2\bar{\chi} \bar{\mathbf{C}} : \bar{\mathbf{Q}} + \bar{\kappa} \text{Tr} (\bar{\mathbf{C}} - \mathbf{I}) (\text{Tr} \bar{\mathbf{Q}}^2), \quad (\text{B.3})$$

with the free energy $\bar{F} = \int_{\mathbf{r}} \bar{f}$.

The velocity field, for slow flows relevant to biological experiments is given by the Stokes equation which balances viscous forces with other forces and has the form

$$\bar{\eta} \nabla^2 \mathbf{V} = \nabla \bar{\Pi} - \nabla \cdot \bar{\boldsymbol{\sigma}}^G \quad (\text{B.4})$$

where $\bar{\Pi}$ is the pressure that enforces three-dimensional incompressibility constraint $\nabla \cdot \mathbf{V} = 0$ and $\bar{\boldsymbol{\sigma}}^G$ is the stress due to the gel which has the form described in [107] :

$$\bar{\boldsymbol{\sigma}}^G = -\bar{K} (\nabla \bar{\mathbf{Q}}) : (\nabla \bar{\mathbf{Q}}) + 2(\bar{\mathbf{Q}} \cdot \bar{\mathbf{H}})^A + 2\bar{\lambda} \bar{\mathbf{H}} + 2\bar{\lambda}_c \bar{\mathbf{B}} + 2(\bar{\mathbf{C}} \cdot \bar{\mathbf{B}})^A - \bar{\zeta} \bar{\mathbf{Q}} \quad (\text{B.5})$$

where the term with $\bar{\zeta}$ is the active stress, which we assume to depend only on the nematic order parameter, with $\bar{\zeta} > 0$ describing a system with an extensile *uniaxial* active stress. The remaining

terms are required to ensure that the correct equilibrium physics is obtained in the absence of activity.

This model describes the dynamics of a crosslinked active gel. Now we will examine the predictions stemming from this model both in the regime in which the crosslinking time is small i.e., $\bar{\tau}_C \rightarrow 0$, and the gel is essentially fluid and when it is large i.e., $\bar{\tau}_C \rightarrow \infty$ and the gel is essentially permanently crosslinked, in the geometry appropriate for the experiment.

We first examine the fluid limit.

B.1 The fluid limit

The experiment is performed in a channel whose width of the channel is ~ 10 times the height, the length is ~ 10 times the width. We take the shortest dimension of the channel to be along z and denote its thickness by H . For the active gel at high concentrations of ATP and pluronic, the concentration of the gel along z direction appears to be constant and to fill the channel in that direction, at least at the start of the instability. The base state is ordered along x – the long axis of the channel. To examine the stability of the gel in this geometry, it is useful to average the equations of motion along z . Since the channel walls impose no-penetration boundary condition of the velocity field, V_z , the z component of the three-dimensional velocity field must vanish upon averaging over the z direction. The thickness-averaged, effectively two-dimensional velocity field is denoted by $\mathbf{v} = (1/H) \int_0^H dz \mathbf{V}_\perp$, where \perp denotes in-plane components of the velocity field. Similarly, we average $\bar{\mathbf{Q}}$ and $\bar{\mathbf{C}}$ along the z direction and project them in the two-dimensional plane (since the orientational fluctuations in the z direction are expected to average out in the z direction, we expect $1/H \int_0^H dz \bar{Q}_{zz} = 1/H \int_0^H dz \bar{Q}_{z\perp} = 0$ which is consistent with the gel remaining homogeneous in the z direction) defining $\mathbf{Q} = 1/H \int_0^H dz \bar{\mathbf{Q}}_{\perp\perp}$ and $\mathbf{C} = 1/H \int_0^H dz \bar{\mathbf{C}}_{\perp\perp}$. Similarly, all terms appearing in equations of motion and the free energy are also averaged over the thickness with the averaged quantities being represented by the unbarred version of the corresponding barred, three-dimensional coefficients. See [109, 110] for details.

The equations of motion for \mathbf{Q} and \mathbf{C} are given by (B.1) and (B.2) with all the three-dimensional coefficients appearing in those equations being replaced by their z -averaged, unbarred counterparts :

$$\partial_t \mathbf{Q} = \mathbf{Q} \cdot \boldsymbol{\omega} - \boldsymbol{\omega} \cdot \mathbf{Q} - 2\lambda \mathbf{A} + \frac{1}{\tau_Q} \mathbf{H}$$

$$\partial_t \mathbf{C} = \mathbf{C} \cdot \boldsymbol{\omega} - \boldsymbol{\omega} \cdot \mathbf{C} - 2\lambda_C \mathbf{A} + \frac{1}{\tau_C} \mathbf{B}$$

where $\mathbf{A} = (1/2)[\nabla_\perp \mathbf{v} + (\nabla_\perp \mathbf{v})^T]$, $\boldsymbol{\omega} = (1/2)[\nabla_\perp \mathbf{v} - (\nabla_\perp \mathbf{v})^T]$ and the free energy density is

$$f = \left[\frac{\alpha}{2} \text{Tr} \mathbf{Q}^2 + \frac{\beta}{4} (\text{Tr} \mathbf{Q}^2)^2 \right] + \frac{K}{2} (\nabla_\perp \mathbf{Q})^2 + \frac{1}{2} \text{Tr} (\mathbf{C} - \mathbf{I})^2 + 2\chi \mathbf{C} : \mathbf{Q},$$

with $F = \int_{\mathbf{x}} f$ where \mathbf{x} is a two-dimensional vector. Here, for simplicity, we have taken κ – the thickness averaged version of $\bar{\kappa}$ – to be 0 for simplicity since it doesn't affect the linear stability

of the ordered gel in the fluid regime qualitatively. From (B.1), the explicit expressions for the molecular fields are

$$\mathbf{H} = - \left[\alpha \mathbf{Q} + \beta \text{Tr} \mathbf{Q}^2 \mathbf{Q} \right] + K \nabla_{\perp}^2 \mathbf{Q} - 2\chi \mathbf{C}^T$$

and

$$\mathbf{B} = -(\mathbf{C} - \mathbf{I}) - 2\chi \mathbf{Q}.$$

The constitutive equation for the fluid velocity is qualitatively modified from (B.4) due to the averaging over thickness. Due to the z confinement, which imposes a no-slip boundary condition on the in-plane components of the velocity field, the three-dimensional hydrodynamics is screened at the scale H . Averaging $(\bar{\eta}/H) \int_0^H dz \partial_z^2 \mathbf{V}_{\perp}$ over the thickness, we find a frictional screening of the flow with a friction coefficient $\Gamma = \eta/(12H^2)$. Here, the numerical factor is characteristic of a Poiseuille flow, and other flow profiles will have different numerical factors, but will not modify the scaling of Γ with H . Therefore, the constitutive equation for the thickness-averaged velocity field is

$$\Gamma \mathbf{v} - \eta \nabla_{\perp}^2 \mathbf{v} = -\nabla_{\perp} \Pi + \nabla_{\perp} \cdot \boldsymbol{\sigma}^G \quad (\text{B.6})$$

where Π enforces the *two-dimensional* incompressibility constrain $\nabla_{\perp} \cdot \mathbf{v} = 0$ and $\boldsymbol{\sigma}^G$ is the thickness-averaged version of (B.5) :

$$\boldsymbol{\sigma}^G = -K(\nabla_{\perp} \mathbf{Q}) : (\nabla_{\perp} \mathbf{Q}) + 2(\mathbf{Q} \cdot \mathbf{H})^A + 2\lambda \mathbf{H} + 2\lambda_c \mathbf{B} + 2(\mathbf{C} \cdot \mathbf{B})^A - \zeta \mathbf{Q}. \quad (\text{B.7})$$

This is the thickness averaged version of the model presented in [107] recapitulated here for completeness.

With this model, we now calculate the linear stability of an effectively two-dimensional gel (after an average over the z direction) aligned along \hat{x} with

$$\mathbf{Q}^0 = S_0 \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ 0 & -1 \end{pmatrix},$$

and $\mathbf{v} = 0$. In this no flow steady state, $\text{Tr} \mathbf{C}^0 = 2$ and $\mathbf{C}^0 - \mathbf{I} = -2\chi \mathbf{Q}^0$. This implies that $S_0^2 = |\alpha - 4\chi^2|/2\beta$ when $\alpha - 4\chi^2 < 0$. We are interested in the stability of a perfectly ordered state with $\alpha \ll 0$ and we take $S_0 = 1$ without loss of generality.

For deviations away from the perfectly ordered state, when $\alpha < 0$,

$$\mathbf{H} = |\alpha| \delta \mathbf{Q} - \beta \text{Tr}[(\mathbf{Q}^0)^2 + \mathbf{Q}_0 \cdot \delta \mathbf{Q} + \delta \mathbf{Q} \cdot \mathbf{Q}_0](\mathbf{Q}^0 + \delta \mathbf{Q}) + \beta \text{Tr}(\mathbf{Q}^0)^2 \mathbf{Q}^0 + K \nabla_{\perp}^2 \delta \mathbf{Q} - 2\chi \delta \mathbf{C}^T.$$

Expanding

$$\delta \mathbf{Q} = (1 + \delta S) \left[\begin{pmatrix} \cos 2\theta & \sin 2\theta \\ \sin 2\theta & -\cos 2\theta \end{pmatrix} - \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ 0 & -1 \end{pmatrix} \right],$$

where θ is the local deviation of the gel orientation away from \hat{x} , we get to linear order in δS ,

$$H_{xx} = -(2|\alpha| + 12\chi^2)\delta S - 2\chi \delta C_{xx}^T + K \nabla_{\perp}^2 \delta S$$

while to linear order in θ ,

$$H_{xy} = -8\chi^2\theta - 2\chi\delta C_{xy} + K\nabla_{\perp}^2\theta$$

while

$$B_{xx} = -\delta C_{xx} - 1 - 2\chi\delta S$$

and

$$B_{xy} = -\delta C_{xy} - 4\chi\theta.$$

In the limit of small $\tau_C \rightarrow 0$, i.e., when the crosslinking time of the gel is small and therefore it is essentially fluid, the equation for the conformation tensor reduces to $\mathbf{B} = 0$. This is the limit that we examine in this section. The magnitude of the order parameter δS also has finite zero-wavenumber relaxation rate $2|\alpha + 4\chi^2|/\tau_Q$ and relaxes to 0 in a finite time; i.e., S relaxes to $S_0 = 1$ in a finite time. In contrast, the relaxation or growth rate of angular fluctuations is $\mathcal{O}(\nabla_{\perp}^2)$ since $\delta C_{xy} = -4\chi\theta$ and therefore, $-8\chi^2\theta - 2\chi\delta C_{xy} = 0$. This is expected since in a fluid, the angular fluctuations are the Goldstone modes of the broken rotation symmetry and cannot relax in finite time in an infinite system. In the opposite, elastomeric, limit, which we will examine in greater detail in the next section, when $\tau_C \rightarrow \infty$, i.e. the gel is essentially permanently crosslinked *both* the amplitude and angular fluctuations are slaved to the conformation tensor and relax to it in a finite time. This is analogous to the Higgs-Anderson mechanism for a Goldstone mode acquiring a mass and has been discussed in detail in the context of passive and active nematic elastomers [111, 108].

Since δS fluctuations have a finite, zero-wavenumber relaxation rate, while θ fluctuations do not, we eliminate δS fluctuations and consider a theory purely in terms of the angle field. That is, we consider angular fluctuations about a state with perfect nematic alignment. The linearised equation for the angle field is

$$\partial_t\theta = \frac{1-\lambda}{2}\partial_x v_y - \frac{1+\lambda}{2}\partial_y v_x - \frac{\chi}{\tau_Q}[\delta C_{xy} + 4\chi\theta] + \frac{K}{\tau_Q}\nabla_{\perp}^2\theta \quad (\text{B.8})$$

which only couples to the $x - y$ component of the conformation tensor directly. The linearised equation of motion for δC_{xy} is

$$\partial_t\delta C_{xy} = -\lambda_C(\partial_x v_y + \partial_y v_x) - \frac{1}{\tau_C}[\delta C_{xy} + 4\chi\theta]. \quad (\text{B.9})$$

The $\text{Tr}[\delta\mathbf{C}]$ cannot appear in the dynamical equation via the coupling to the velocity field since, due to incompressibility, the velocity is insensitive to it. Therefore, its relaxation is completely independent and happens with a relaxation rate $1/\tau_C$. However, the deviatoric part of \mathbf{C} – that is $\delta\mathbf{C}^T$, δC_{xx}^T does couple to δC_{xy} and θ through the velocity field. This has a linearised equation of motion

$$\partial_t\delta C_{xx}^T = -\lambda_C(\partial_x v_x - \partial_y v_y) - \frac{1}{\tau_C}\delta C_{xx}^T. \quad (\text{B.10})$$

Solving for the velocity field in the Fourier space, for fluctuations with wavevector $\mathbf{q}_{\perp} \equiv (q_x, q_y)$, by expanding the stress in (B.6), given by (B.7), to linear order in fluctuating quantities, eliminating the pressure by using the transverse projector $\mathcal{P}_{ij} = \delta_{ij} - \hat{q}_{\perp i}\hat{q}_{\perp j}$, to take incompressibility into

account, and injecting this into (B.8), (B.9) and (B.10), we obtain closed linear dynamical equation for θ , δC_{xy} and δC_{xx}^T . We then obtain the eigenvalues of this linear system. At small τ_C , two of the eigenvalues vanish as $-1/\tau_C$ corresponding to the fast relaxation of the two components of $\delta \mathbf{C}^T$. The final eigenvalue, which corresponds to the angular fluctuations, is

$$\Xi_\theta = -q_\perp^2 \left[\frac{K}{\tau_Q} - \frac{\zeta \cos 2\phi}{\Gamma} (1 - \lambda \cos 2\phi) \right] + \frac{2\tau_C \chi}{\tau_Q} q_\perp^2 \left[\frac{2\chi K}{\tau_Q} - \frac{\zeta \cos 2\phi}{\Gamma} \{2\chi - (\lambda\chi + \lambda_C) \cos 2\phi\} \right] \quad (\text{B.11})$$

where ϕ is the angle between the ordering direction \hat{x} and the wavevector \mathbf{q}_\perp and q_\perp is the magnitude of the wavevector $q_\perp \equiv |\mathbf{q}_\perp|$, i.e., $q_x = q_\perp \cos \phi$ and $q_y = q_\perp \sin \phi$. As expected, to $\mathcal{O}(\tau_C^0)$, there is no effect of coupling to the conformation tensor on the angular fluctuations; in this limit the conformation tensor relaxes infinitely fast and the usual mode structure characteristic of an active nematic fluid in a confined geometry is recovered [112, 113, 114]. The modification due to the coupling with the conformation tensor appears only at first order in τ_C . At zeroth order in τ_C , for $\zeta > 0$, i.e., for an extensile system, which motor-microtubule fluids are, activity has a destabilising influence on the ordered state for $\phi \lesssim \pi/4$. For $\lambda < 1$, this continues all the way to $\phi = 0$ i.e., for perfect bend perturbations. In the confined system, this destabilising influence is resisted by the Frank elasticity of the gel, but for large enough ζ , the gel is unstable. In the experiments, the gel has a bend distortion. For $\phi = 0$, i.e., for pure bend, the eigenvalue corresponding to the angular fluctuations reduces to

$$\Xi_\theta = -q_\perp^2 \left[\frac{K}{\tau_Q} - \frac{\zeta}{\Gamma} (1 - \lambda) \right] + \frac{2\tau_C \chi}{\tau_Q} q_\perp^2 \left[\frac{2\chi K}{\tau_Q} - \frac{\zeta}{\Gamma} \{2\chi - (\lambda\chi + \lambda_C)\} \right]$$

This describes a small wavenumber instability for $\zeta \gg K\Gamma/\tau_Q$, $\lambda < 1$ and $\tau_C \rightarrow 0$. The large wavenumber modes are stabilised by Frank elasticity entering via the particle phase stress (B.7) [109]. This implies that the fastest growing mode just beyond the onset of the instability will have a characteristic wavenumber $\propto \sqrt{\Xi_\theta/q_\perp^2}$ and a lengthscale $\propto 1/\sqrt{\Xi_\theta/q_\perp^2}$. Assuming that the stabilising fourth order term is essentially independent of activity, the lengthscale should therefore scale as $1/\sqrt{\zeta}$. Further, it should also depend on τ_C . Since upon changing ATP concentrations in the bending regime, no significant change in the pattern wavelength is observed, it implies that ATP concentrations do not significantly modify either the activity or the crosslinking time at least at high concentrations. However, since the gel behaviour changes from low ATP buckling regime to the high ATP bending regime, the crosslinking time must be affected by ATP concentration. We speculate that ATP drives a sharp transition in the crosslinking time τ_C from a high, essentially infinite, value at low concentration to a small value at a critical value of ATP concentration. Previous studies have also found that motor properties stop changing at high-enough ATP concentrations.

Note that in the discussion above we have ignored higher order in gradients bulk active stresses that when averaged over the channel thickness lead to an active force of the same order in in-plane gradients as $\nabla_\perp \cdot \mathbf{Q}$, but distinct angular symmetry [109]. This force can, in principle, stabilise active fluids if it has the right sign. However, since the active fluid in the experiments is not stable, we conclude that this force is either destabilising or small compared to the one retained here.

The theoretical developments in this section have been concerned with the fluid limit in which $\tau_C \rightarrow 0$. However, (B.8), (B.9) and (B.10) are also obviously valid in the opposite limit of $\tau_C \rightarrow \infty$ in which the gel is essentially permanently crosslinked. In this limit, one of the three eigenvalues are still $\mathcal{O}(q_\perp^2)$. However, in this limit, the eigenvector corresponding to this eigenvalue is not controlled by angular fluctuations but by δC_{xy} fluctuations. The eigenvalue corresponding to angular fluctuations now acquires a finite relaxation rate. This can be understood by examining (B.8) and (B.9). In the $\tau_C \rightarrow \infty$ limit, there is no relaxation of δC_{xy} fluctuations to zeroth order in τ_C which is instead slaved to the strain rate (as discussed earlier, $\lambda_C \rightarrow -1$ in this limit). Because of this, its relaxation rate is $\sim \mathcal{O}(q_\perp^2)$. From (B.8), this further implies that the angular fluctuations must relax fast (i.e. with a wavenumber independent relaxation rate) to a value governed by the conformation tensor. We now display the three eigenvalues in this limit to demonstrate that they can all be stable even for $\zeta > 0$.

$$\Xi_1(\tau_C \rightarrow \infty) = -\frac{q_\perp^2}{\Gamma} \lambda_C (\lambda_C + 2\lambda\chi) (1 - \cos 4\phi) - \frac{1}{\tau_C}$$

This eigenvalue corresponds to the δC_{xx} fluctuations. This is stabilising when $\chi > 0$ (as we will see is required for stability and argue is the case in the next section) as $\lambda_C \rightarrow -1$ and when λ is small and negative or positive. The magnitude of λ in motor microtubule experiments is likely to be $|\lambda| < 1$ because of the microtubule length. Therefore, this eigenvalue is likely to be stabilising. Also, note that this relaxation rate is independent of activity. The second eigenvalue, predominantly corresponding to δC_{xy} fluctuations is

$$\Xi_2(\tau_C \rightarrow \infty) = \frac{q_\perp^2 \zeta \lambda_C \cos^2 2\phi}{2\Gamma\chi} - q_\perp^2 \left[\frac{K}{4\tau_C \chi^2} - \frac{\zeta \tau_Q \cos 2\phi}{8\Gamma \chi^3 \tau_C} \{2\chi - (\lambda_C + 2\lambda\chi) \cos 2\phi\} \right]. \quad (\text{B.12})$$

The first term is stabilising when $\lambda_C \rightarrow -1$, $\zeta > 0$ and $\chi > 0$. The first condition is fulfilled in this essentially permanently crosslinked regime while the second condition simply implies extensility. We will argue in the next section that $\chi > 0$ in our system. Therefore, the first τ_C independent term is stabilising in our system. While it vanishes precisely for $\phi = \pi/4$, the eigenvalue remains stabilising in this case as is evident from the $\mathcal{O}(1/\tau_C)$ term at $\phi = \pi/4$. Finally, the third eigenvalue, primarily corresponding to angular fluctuations is

$$\begin{aligned} \Xi_3(\tau_C \rightarrow \infty) = & -\frac{4\chi^2}{\tau_Q} - q_\perp^2 \left[\frac{K}{\tau_Q} - \frac{\{\zeta + 4\chi(\lambda_C + 2\lambda\chi)\} \cos 2\phi \{2\chi - (\lambda_C + 2\lambda\chi) \cos 2\phi\}}{2\Gamma\chi} \right] - \frac{1}{\tau_C} \\ & + q_\perp^2 \left[\frac{K}{4\tau_C \chi^2} - \frac{\zeta \tau_Q \cos 2\phi \{2\chi - (\lambda_C + 2\lambda\chi) \cos 2\phi\}}{8\Gamma \tau_C \chi^2} \right]. \end{aligned}$$

This clearly implies that in the limit of almost permanently crosslinked gel, the angular fluctuations have a finite wavenumber-independent decay rate and are stable.

More generally, at a finite τ_C , two of the three modes have finite, zero wavenumber relaxation rates. One of these two has the eigenvalue $-1/\tau_C$ and the other $-(1/\tau_C + 4\chi^2/\tau_Q)$. Clearly, both of these diverge as $\tau_C \rightarrow 0$ as discussed above, while the former vanishes in the $\tau_C \rightarrow \infty$ limit and the latter goes to a finite non-zero value. The first eigenvalue has an eigenvector that predominantly corresponds to δC_{xx} for all τ_C . However, an examination of the eigenvector corresponding to the

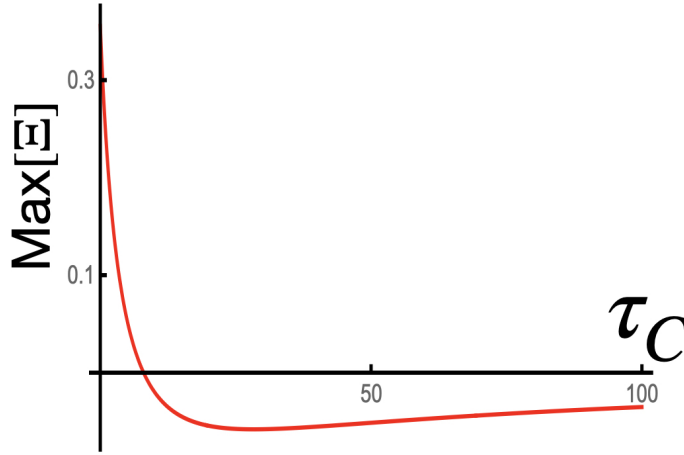


FIGURE SB.1 Representative plot of the eigenvalue Ξ at $|q|_{\perp} = 1$, in the direction ϕ in which it is maximum, as a function of τ_C . The values of the other parameters are $K = 0.2$, $\lambda_C = -1$, $\lambda = 0.9$, $\Gamma = 1$, $\chi = 0.1$, $\tau_Q = 1$ and $\zeta = 2$. All of these parameters have signs that we expect in our system. Importantly, this demonstrates that as a function of τ_C , the maximum of Ξ goes from a positive value, signifying an unstable mode to a negative one, implying a stable mode. This demonstrates that crosslinking can stabilise a nematic gel.

second eigenvalue reveals that it predominantly corresponds to δC_{xy} fluctuations at small τ_C but to angular fluctuations at large τ_C . That is, while at small τ_C conformation tensor fluctuations are non-hydrodynamic and angular fluctuations are hydrodynamic, in the $\tau_C \rightarrow \infty$ limit, exactly the opposite happens. However, importantly, both of these eigenvalues are stabilising at small wavenumbers. Therefore, the overall stability of the system depends only on the final eigenvalue which is $\mathcal{O}(q^2)$ and predominantly corresponds to angular fluctuations at small τ_C and to δC_{xy} fluctuations at large τ_C . This eigenvalue is

$$\Xi = -\frac{q_{\perp}^2}{\tau_Q + 4\chi^2\tau_C} \left[K - \frac{\tau_Q\zeta}{\Gamma} \cos 2\phi \left\{ 1 - \left(\lambda - \frac{2\lambda_C\chi\tau_C}{\tau_Q} \right) \cos 2\phi \right\} \right]$$

It is clear that this eigenvalue reduces to (B.11) and (B.12) in the limits of $\tau_C \ll \tau_Q$ and $\tau_C \gg \tau_Q$ respectively. More importantly, when $\zeta \gg K$, $\lambda_C \rightarrow -1$ and $\chi > 0$, as we expect our system parameters to be, this eigenvalue goes from being *destabilising* to *stabilising* as τ_C is increased (see Fig. SB.1). Also, since the *maximum* value of this eigenvalue, at a fixed q_{\perp} and for fixed values of other parameters, is positive (i.e. destabilising) for $\tau_C \rightarrow 0$, is negative for intermediate τ_C for a finite K and is 0 in the $\tau_C \rightarrow \infty$ limit (since the maximum value of Ξ_2 in (B.12) is 0, for $\phi = \pi/4$ in this limit), it must have a minimum as a function of τ_C , as seen from Fig. SB.1.

This discussion therefore demonstrates that orientational fluctuations of the gel are stabilised by crosslinking. This is consistent with the experimental observation. However, in the experiments, the gel forms a film which does not occupy the full channel in the z direction which then buckles out of the plane. Since in this calculation we have averaged over the entire thickness of the channel,

this buckling instability is not accessible within this discussion. In the next section, we consider a gel which is in the fully elastomeric regime, i.e., $\tau_C = \infty$ and forms a film. We eliminate the fast angular fluctuations in favour of strain or displacement fluctuations of the now solid (nematic-elastomeric) gel and the height fluctuations of the film. We show that the in-plane fluctuations of the nematic-elastomeric gel are stabilising, which recapitulates the result here, and that the film spontaneously deforms out of the plane to acquire a buckled shape due to active forcing while retaining in-plane order.

B.2 The nematic elastomeric limit

At small ATP concentrations, the gel is essentially permanently crosslinked and behaves as a poroelastic solid [102]. In this limit, $\bar{\tau}_C \rightarrow \infty$ and the conformation tensor no longer relaxes. Instead, $\bar{\mathbf{C}} - \mathbf{I}$ becomes the left Cauchy-Green strain tensor of the permanently crosslinked gel [107]. The physics of this nematic elastomeric regime of the gel was comprehensively examined in [108]. Here we recapitulate the active nematic elastomeric model, for completeness, and show that the predictions of the model are consistent with the experimental observations. As in [108], we define $\bar{\mathbf{C}} - \mathbf{I} = \bar{\mathbf{U}}$ where $\bar{\mathbf{U}}$ is the strain tensor of the three-dimensional gel. With this identification, the free energy density (B.3) of the gel transforms to

$$\bar{f} = \left[\frac{\bar{\alpha}}{2} \text{Tr} \bar{\mathbf{Q}}^2 + \frac{\bar{\beta}}{4} (\text{Tr} \bar{\mathbf{Q}}^2)^2 \right] + \frac{\bar{K}}{2} (\nabla \bar{\mathbf{Q}})^2 + \frac{1}{2} \text{Tr} (\bar{\mathbf{U}}^T)^2 + \frac{\bar{\nu}}{2} (\text{Tr} \bar{\mathbf{U}})^2 + \bar{\kappa} \text{Tr} \bar{\mathbf{U}} (\text{Tr} \bar{\mathbf{Q}}^2) + 2\bar{\chi} \bar{\mathbf{U}}^T : \bar{\mathbf{Q}}, \quad (\text{B.13})$$

where we have introduced a distinct elastic constant $\bar{\nu}$ for $(\text{Tr} \bar{\mathbf{U}})^2$, which corresponds to the bulk modulus of the gel. In (B.3), $\bar{\mathbf{C}} - \mathbf{I}$ was characterised by a single elastic constant, taken to be 1, which here would amount to a gel with an equal value for bulk and shear modulus, and that limit can be recovered by setting $\bar{\nu} \rightarrow 1$. Since in a permanently crosslinked gel, the nematic order parameter fully relaxes to the strain tensor and modifies its isotropic and deviatoric parts independently, we believe it is clearer to start with a gel with, in principle, distinct coefficients for bulk and shear modulus.

Rewriting the free energy density in a more convenient form, we get

$$f_E = \left[\frac{\bar{\alpha}'}{2} \text{Tr} \bar{\mathbf{Q}}^2 + \frac{\bar{\beta}'}{4} (\text{Tr} \bar{\mathbf{Q}}^2)^2 \right] + \frac{\bar{K}}{2} (\nabla \bar{\mathbf{Q}})^2 + \frac{1}{2} \text{Tr} (\bar{\mathbf{U}}^T + 2\bar{\chi} \bar{\mathbf{Q}})^2 + \frac{\bar{\nu}}{2} \left(\text{Tr} \bar{\mathbf{U}} + \frac{\bar{\kappa}}{\bar{\nu}} \text{Tr} \bar{\mathbf{Q}}^2 \right)^2 \quad (\text{B.14})$$

where $\bar{\alpha}' = \bar{\alpha} - 4\bar{\chi}^2$ and $\bar{\beta}' = \bar{\beta} - 2\bar{\kappa}^2/\bar{\nu}$. This implies a homogeneously ordered state with zero velocity with

$$\text{Tr} \bar{\mathbf{U}}^0 = -\frac{\bar{\kappa}}{\bar{\nu}} \text{Tr} \left[\bar{\mathbf{Q}}^{0^2} \right] \quad (\text{B.15})$$

$$(\bar{\mathbf{U}}^T)^0 = -2\bar{\chi} \bar{\mathbf{Q}}^0 \quad (\text{B.16})$$

with the magnitude of the steady-state nematic order parameter being $\bar{S}_0 = \sqrt{\bar{\alpha}'/\bar{\beta}'}$, which as earlier, we will take to be 1 in deeply ordered phase. Note that these strains do not relax at a finite time. This implies that because of nematic alignment, a gel acquires both an isotropic and a uniaxial

prestrain. Because $\text{Tr}\bar{\mathbf{U}}^0 = -(\bar{\kappa}/\bar{\nu})(\bar{S}_0)^2$, the gel compresses *isotropically* when $\bar{\kappa} > 0$. While this compression is difficult to measure in the low ATP concentration, high pluronic concentration state, since the gel buckles out of plane, it is clearly observed in the low ATP concentration, low pluronic concentration state. We believe that the signs of coefficients do not change upon changing pluronic concentration, which affects the bundling and ordering of microtubules, though their magnitudes may change. Therefore, we believe that $\bar{\kappa} > 0$ even in the state with high pluronic concentration. This is further supported by the fact that the gel essentially moves away from the edges of the channel and forms a floating layer in the middle of the channel (though the thickness of the layer is comparable to the channel height, the fact that the gel buckles as is clearly seen from the xz cross-section figures, shows that the gel moves away from the edges of the channel). Therefore, in the steady state, the gel forms essentially a nematic elastomeric sheet because of isotropic contraction.

In addition to the isotropic contraction, there is also a uniaxial contraction (B.16). Again, this is difficult to measure in the state with high pluronic concentration, but in the state with low pluronic concentration, the gel contracts more along the x direction than along the y direction. Therefore, we expect $\bar{\chi} > 0$ in our system which means that the gel contracts more along the uniaxial axis, again assuming that the sign of $\bar{\chi}$ doesn't change with pluronic concentration.

Since the gel forms a (thick) film in the channel, we average over the thickness of the gel (*not* the channel), as earlier defining \mathbf{Q} and \mathbf{U} as the effective two-dimensional orientational order parameter and strain field respectively. As in the last section, the unbarred parameters will correspond to the thickness-averaged (over the gel thickness) versions of the three-dimensional, barred parameters. We take this flat nematic elastomeric sheet to be situated in the $z = 0$ plane. Crucially, the three-dimensional velocity field in the channel is not averaged – with the \mathbf{Q} and \mathbf{U} tensors being affected by $\mathbf{V}|_{z=0}$ – and the \mathbf{Q} tensor is *not* projected into the two dimensional plane implying that the nematic director can fluctuate both in the x – y plane as well as in the z direction in this description.

We now consider fluctuations of this nematic elastomeric sheet. The out-of-plane fluctuations of the sheet is parametrised using the Monge gauge in which a point on the interface is parametrised by the three-dimensional position vector $\mathbf{R} = (x, y, h(x, y))$. That is, the displacement of a point on the sheet in the z direction is parametrised by $h(x, y)$. With this parametrisation, the normal to the interface is

$$\mathbf{N} = \frac{\hat{z} - \nabla_{\perp} h}{\sqrt{1 + (\nabla_{\perp} h)^2}}.$$

Since the apolar order parameter can now fluctuate in three dimensions, $\mathbf{Q} \equiv S(\mathbf{nn})^T$ where \mathbf{n} is the director, which is a unit vector. In the steady-state $\mathbf{n}_0 = (1, 0, 0)$. The fluctuating director can be written as

$$\mathbf{n} = \frac{\hat{x} + \delta\mathbf{n}}{\sqrt{1 + \delta\mathbf{n} \cdot \delta\mathbf{n}}}.$$

The nematic director is confined to the tangent plane of the nematic elastomer film. Therefore,

$$\mathbf{n} \cdot \mathbf{N} = 0 = \frac{1}{\sqrt{1 + \delta\mathbf{n} \cdot \delta\mathbf{n}}} \frac{1}{\sqrt{1 + (\nabla_{\perp} h)^2}} [\delta n_z - \delta n_y \partial_y h - (1 + \delta n_x) \partial_x h] \implies \delta n_z \approx \partial_x h$$

where the final approximate equality is obtained by retaining only the linear terms. This implies that the fluctuations of the director along z is slaved to the height field. Therefore, the Frank

elasticity of the nematic order parameter leads to a bending elasticity $\propto (\partial_x^2 h)^2$. We also include an extra bending energy density for the film $f_B = (K_B/2)(\nabla_\perp^2 h)^2$, where $\nabla_\perp \equiv (\partial_x, \partial_y)$ denotes an in-plane gradient. We also include a surface tension term $f_S = (\zeta/2)(\nabla_\perp h)^2$ (a surface tension term is not allowed for a film in a space with three-dimensional rotation invariance, but is allowed in this geometry). Finally, since the film is confined with a channel of thickness \tilde{H} , where \tilde{H} is the thickness of the channel minus that of the film itself, the height fluctuations cannot be larger than that. To account for this constraint, we introduce a confining potential for the height field $f_C = (\gamma/2)h^2$ whose value is chosen to ensure that height fluctuations are confined within the channel. Therefore, the full free energy for the nematic elastomeric sheet is $F = \int [f_E + f_B + f_S + f_C]$. We will now demonstrate that, with this free energy, both the magnitude of the nematic order parameter as well as the director fluctuations along y , $\delta n_y \equiv \theta$ are slaved to the strain field.

The strain field of the nematic elastomeric film, which enters f_E (B.14) can be expressed in terms of a displacement fields $\tilde{\mathbf{u}}$ with respect to an isotropic, unprestrained reference state (not the elastomeric steady state; the steady state, with this definition of the strain tensor has prestrains (B.15) and (B.16)). The full form of the strain depends on both \tilde{u} and the height field h :

$$U_{ij} = \frac{1}{2}(\partial_i \tilde{u}_j + \partial_j \tilde{u}_i + \partial_i \tilde{u}_k \partial_j \tilde{u}_k + \partial_i h \partial_j h).$$

However, the dependence of the strain tensor on the h field is only at the nonlinear level and will not affect the linear calculation performed here. In fact, at the linear level, the height field turns out to not couple with any of the in-plane fields such as θ or $\tilde{\mathbf{u}}$.

The fluctuations in the magnitude of the nematic order parameter relaxes in a finite time to a value determined by the strain tensor

$$\delta S = -\frac{\nu}{w} \left(\chi \delta U_{xx}^T + \kappa \text{Tr} \delta \mathbf{U} \right),$$

where $w = |\alpha'| + 2(\kappa^2/\nu + \chi^2)$ and the in-plane angle field, that is the y component of the director field, relaxes to

$$\theta = -\frac{1}{4\chi} \delta U_{xy},$$

consistent with the discussion in the last section.

At this stage, it is convenient to eliminate δS and θ fluctuations in f_E and to transform to *new* displacement variables \mathbf{u} and new strain tensor $\boldsymbol{\eta}$ which are defined with respect to the *elastomeric* steady state and not an isotropic one. This standard procedure, usual in the nematic elastomer literature [111, 108], leads to the new form of f_E in terms of $\boldsymbol{\eta}$:

$$f_E = \frac{1}{2} \left[B_1 \eta_{xx}^2 + B_2 \eta_{yy}^2 + B_3 \eta_{xx} \eta_{yy} + B_4 [\eta_{xy} - \mu(\theta - \Omega)]^2 \right] \quad (\text{B.17})$$

where $\Omega = (1/2)(\partial_x u_y - \partial_y u_x)$ is the rotation angle of the gel and

$$B_1 = \frac{\Lambda_{\parallel}^4}{w} \left[\frac{\kappa^2}{\nu} + |\alpha'| \left(\frac{1}{2} + \nu \right) + 4\kappa\chi + 2\nu\chi^2 \right]$$

$$B_2 = \frac{\Lambda_{\perp}^4}{w} \left[\frac{\kappa^2}{\nu} + |\alpha'| \left(\frac{1}{2} + \nu \right) - 4\kappa\chi + 2\nu\chi^2 \right]$$

$$B_3 = \frac{2\Lambda_{\perp}^2\Lambda_{\parallel}^2}{w} \left[\frac{\kappa^2}{\nu} + |\alpha'| \left(-\frac{1}{2} + \nu \right) + 2\nu\chi^2 \right]$$

$$B_4 = \frac{(\mathcal{R} + 1)\Lambda_{\perp}^4}{2}.$$

with $\Lambda_{\parallel}^2 = 1 + \kappa/2\nu - 4\chi$ and $\Lambda_{\perp}^2 = 1 + \kappa/2\nu + 4\chi$ which yields $\Lambda_{\parallel}^2 - \Lambda_{\perp}^2 = -8\chi$ which is a measure of anisotropy of the film. Since we argued that χ is positive in our system, $\Lambda_{\parallel}^2 - \Lambda_{\perp}^2 < 0$ which implies that the contraction along the ordering direction is greater than the direction transverse to it. $\mathcal{R} = \Lambda_{\parallel}^2/\Lambda_{\perp}^2$ and $\mu = (\mathcal{R} - 1)/(\mathcal{R} + 1)$. Note that upon integrating out θ , the elastic coefficient for η_{xy} shears also vanish. This is required by rotation symmetry : a global, in-plane rotation of the nematic ordering direction can be compensated by a deformation [111].

In terms of the new strain fields, the order parameter magnitude fluctuations are slaved to $\boldsymbol{\eta}$ as

$$\delta S = \frac{1}{w} [(\kappa - \chi/2)\Lambda_{\parallel}^2\eta_{xx} - (\kappa + \chi/2)\Lambda_{\perp}^2\eta_{yy}]$$

and the angle field as

$$\theta = \Omega + \mu^{-1}\eta_{xy}.$$

Thus all components of the order parameter \mathbf{Q} are either slaved to $\mathbf{u} = (u_x, u_y)$ or to h . This implies that all components of the active force $\mathbf{f}_a = \nabla_{\perp} \cdot \mathbf{Q}\delta(z)$ in the nematic elastomeric film can be expressed in terms of \mathbf{u} [108] and h . Doing this and noting that the linearised passive forces are

$$\mathbf{f}_p = -\frac{\delta F}{\delta \mathbf{u}}\delta(z) - \frac{\delta F}{\delta h}\hat{z}\delta(z),$$

we obtain the force densities due to the gel $\mathbf{f}^G = \nabla_{\perp} \cdot \boldsymbol{\sigma}^G$ (see [108] for details of obtaining \mathbf{f}^G from the thickness averaged version of $\boldsymbol{\sigma}^G$ in (B.5)) :

$$f_x^G = \delta(z)[b_1\partial_x^2 u_x + b_2\partial_y^2 u_x + b_3\partial_x\partial_y u_y], \quad (\text{B.18})$$

$$f_y^G = \delta(z)[b_4\partial_x^2 u_y + b_5\partial_y^2 u_y + b_6\partial_x\partial_y u_x], \quad (\text{B.19})$$

$$f_z^G = \delta(z)[\varsigma\nabla_{\perp}^2 h - \zeta\partial_x^2 h - K_B\nabla_{\perp}^4 h - K\partial_x^4 h - \gamma h], \quad (\text{B.20})$$

where [108]

$$b_1 = \left[B_1 + \frac{\zeta(-2\kappa + \chi)}{2w}\Lambda_{\parallel}^2 \right],$$

$$b_2 = -\zeta(\beta^{-1} - 1),$$

$$b_3 = \frac{1}{2} \left[B_3 - 2\zeta(\beta^{-1} + 1) + \frac{\zeta(2\kappa + \chi)\Lambda_{\perp}^2}{2w} \right],$$

$$b_4 = -\zeta(\beta^{-1} + 1),$$

$$b_5 = \left[B_2 - \frac{\zeta(2\kappa + \chi)}{2w}\Lambda_{\perp}^2 \right],$$

$$b_6 = \frac{1}{2} \left[B_3 - 2\zeta(\beta^{-1} - 1) - \frac{\zeta(-2\kappa + \chi)\Lambda_{\parallel}^2}{2w} \right].$$

Note that b_2 and b_4 are both purely active. This is due to a combination of rotation invariance and time-reversal symmetry [111, 108, 115]. In a passive nematic elastomer, these coefficients would be 0 since there is no harmonic term in η_{xy} in (B.17) after integrating out θ . This implies that a passive nematic elastomer would be soft for in-plane $x - y$ shears, but an active elastomer acquires a resistance (or is unstable) to such shears [108].

The equation for the fluid velocity is

$$\bar{\eta}(\partial_z^2 + \nabla_\perp^2)\mathbf{V} = \nabla\bar{\Pi} - \mathbf{f}^G \quad (\text{B.21})$$

where $\bar{\Pi}$ again enforces the three-dimensional incompressibility constraint $\nabla \cdot \mathbf{V} = 0$ and which has to be solved in a channel of height \tilde{H} . The linearised equation of motion for the in-plane displacement and height fields are simply $\dot{u}_x = V_x|_{z=0}$, $\dot{u}_y = V_y|_{z=0}$ and $\dot{h} = V_z|_{z=0}$, where we have assumed an impermeable and permanently crosslinked film. The constraint of impermeability can be easily relaxed [66], but doesn't modify the results qualitatively. To calculate the velocity field at $z = 0$, we Fourier transform (B.21) with the wavevector $\mathbf{q} \equiv (q_x, q_y, q_z) \equiv (\mathbf{q}_\perp, q_z)$, eliminate the pressure $\bar{\Pi}$, which imposes the *three-dimensional* incompressibility constraint $\nabla \cdot \mathbf{V} = 0$, using the three-dimensional transverse projector $\mathcal{P}_{ij}\delta_{ij} - \hat{q}_i\hat{q}_j$ and integrate the velocity fluctuations over $q_z \in \{-\infty, -2\pi/\tilde{H}\} \cup \{2\pi/\tilde{H}, \infty\}$. This yields

$$\begin{aligned} \dot{u}_x &= \frac{2\tilde{f}_x(1 + \sin^2\phi) - f_y \sin 2\phi}{8\bar{\eta}|q_\perp|} - \tan^{-1}\left(\frac{\pi}{\tilde{H}|q_\perp|}\right) \frac{2\tilde{f}_x(1 + \sin^2\phi) - f_y \sin 2\phi}{4\pi\bar{\eta}|q_\perp|} + \frac{\tilde{H} \cos\phi(\tilde{f}_x \cos\phi + \tilde{f}_y \sin\phi)}{\bar{\eta}(4\pi^2 + \tilde{H}^2 q_\perp^2)} \\ \dot{u}_y &= \frac{2\tilde{f}_y(1 + \sin^2\phi) - f_x \sin 2\phi}{8\bar{\eta}|q_\perp|} - \tan^{-1}\left(\frac{\pi}{\tilde{H}|q_\perp|}\right) \frac{2\tilde{f}_y(1 + \sin^2\phi) - f_x \sin 2\phi}{4\pi\bar{\eta}|q_\perp|} + \frac{\tilde{H} \sin\phi(\tilde{f}_x \cos\phi + \tilde{f}_y \sin\phi)}{\bar{\eta}(4\pi^2 + \tilde{H}^2 q_\perp^2)} \\ \dot{h} &= \tilde{f}_z \left[\frac{1}{4\bar{\eta}|q_\perp|} - \frac{2}{2\bar{\eta}\pi} \tan^{-1}\left(\frac{2\pi}{\tilde{H}|q_\perp|}\right) - \frac{\tilde{H}}{\bar{\eta}(4\pi^2 + \tilde{H}^2 q_\perp^2)} \right] \end{aligned}$$

where ϕ is the angle that \mathbf{q}_\perp makes with \hat{x} and $\tilde{\mathbf{f}}$ are the Fourier transform of the forces in (B.18), (B.19) and (B.20) :

$$\tilde{f}_x = -q_\perp^2 (b_1 \cos^2\phi u_x + b_2 \sin^2\phi u_x + b_3 \cos\phi \sin\phi u_y)$$

$$\tilde{f}_y = -q_\perp^2 (b_4 \cos^2\phi u_y + b_5 \sin^2\phi u_y + b_6 \cos\phi \sin\phi u_x)$$

and

$$\tilde{f}_z = -[\varsigma q_\perp^2 - \zeta q_\perp^2 \cos^2\phi - K_B q_\perp^4 - K q_\perp^4 \cos^4\phi - \gamma]h.$$

As discussed earlier, there is no coupling between the in-plane displacement modes and the height field at this, linear level. Therefore, they can be analysed independently. At long wavelengths, the eigenvalues for the in-plane modes are

$$\Xi_\pm = -\frac{\tilde{H}q_\perp^2}{8\pi^2\bar{\eta}} \left[(b_1 + b_4) \cos^2\phi + (b_2 + b_5) \sin^2\phi \pm \sqrt{\{(b_1 - b_4) \cos^2\phi + (b_2 - b_5) \sin^2\phi\}^2 - 4b_3b_6 \sin^2 2\phi} \right].$$

As discussed in [108], these modes are not generically unstable for $\zeta > 0$ when $\chi > 0$. The best way of examining is to concentrate on $\phi = 0$ (pure bend) and $\phi = \pi/2$ (pure splay) modes which in the

passive elastomer are soft. For these modes, the u_x and u_y equations decouple and the eigenvalues are simply $-\tilde{H}q_{\perp}^2/(8\pi^2\bar{\eta})](b_1, b_4)$ when $\phi = 0$ and $-\tilde{H}q_{\perp}^2/(8\pi^2\bar{\eta})](b_2, b_5)$ when $\phi = \pi/2$. Both of these modes can be stable when b_2 and b_5 are greater than 0 and, in particular, $b_2 > 0$ implies that a bend instability does not occur. Both $b_2, b_5 > 0$ when $\zeta > 0$ and $\chi > 0$. When $\chi > 0$, $-1 < \beta < 0$ and therefore, $\beta^{-1} < -1$. This implies both $\beta^{-1} - 1$ and $\beta^{-1} + 1$ are negative. Since $\zeta > 0$, $b_2 = -\zeta(\beta^{-1} - 1)$ and $b_5 = -\zeta(\beta^{-1} + 1)$ are both positive and stabilising. Therefore, the elasticity of the nematic elastomer stabilises against an in-plane instability. Of course, at high enough ζ , b_1 and b_5 may go unstable, which is analogous to the instability of an active smectic to large extensile active stress [116], but that requires overcoming the elasticity of the gel which is expected to be large.

The decoupled height fluctuations are also affected by activity. In fact, they are essentially the same as in [66] (which examined a different experimental regime) : when $\zeta > \varsigma$, a band of wavevectors between

$$q_{x\pm}^2 = \frac{\zeta - \varsigma \pm \sqrt{(\zeta - \varsigma)^2 - 4K\gamma}}{2}$$

along $\phi = 0$ will be unstable leading to the undulated pattern, where $\bar{K} = K_B + \tilde{K}$. Note that the instability here is not long wavelength, i.e., the film is stable for $q_x \rightarrow 0$, due to confinement. The fastest growing mode is again equivalent to the one described in [66] and has the same scaling with activity. In both $\tilde{H}q_x \rightarrow \infty$ and $\tilde{H}q_x \rightarrow 0$ limit (the latter is the relevant limit for the experiments since, because the gel occupies almost the entire channel, \tilde{H} is small), this is

$$q_x^* = \sqrt{\frac{\zeta - \varsigma}{2K}}.$$

When the flat state of the film is unstable towards a patterned conformation, but the in-plane modes are stable, as is the case for $\chi > 0$ and $\zeta > 0$, the film remains uniaxial in the plane. That is, the microtubules remain oriented in the plane but the film, as a whole, buckles out of the plane, just as is observed in the experiment.

To summarise, we have therefore demonstrated that when the active nematic gel goes from an uncrosslinked, effectively fluid state to a crosslinked essentially solid state, the mode of its instability changes dramatically : from an in-plane bend instability to an out of plane buckling of the contracted layer. Therefore, this discussion supports the hypothesis that the change of the mode of instability of motor-microtubule gels upon changing ATP concentration is due to a gelation or fluidisation transition.

B.3 Deformation of a nematic fluid film suspended in the middle of the channel

In the experiments with the caged ATP, a nematic film is allowed to be formed by passive depletion forces with caged ATP (i.e., at essentially 0 ATP concentration). Then the ATP is uncaged and it is at high concentration. This implies that $\tau_C \rightarrow 0$ in this state. In this section,

we demonstrate how a nematic film floating at $z = 0$ in the channel will evolve due to activity in the $\tau_C = 0$ limit. In this limit the conformation tensor \mathbf{C} relaxes infinitely fast, so we ignore it and consider only nematic fluctuations. We do this in terms of the director \mathbf{n} with $\mathbf{Q} = \mathbf{nn} - (1/3)\mathbf{I}$. For a film initially at $z = 0$ with the nematic director aligned along \hat{x} , the linearised evolution equations of the fluctuations of the director along y and z directions, δn_y and δn_z are

$$\partial_t \delta n_y = \frac{1 - \lambda}{2} (\partial_x V_y)|_{z=0} - \frac{1 + \lambda}{2} (\partial_y V_x)|_{z=0} + \frac{K}{\tau_Q} \nabla_{\perp}^2 \delta n_y$$

and

$$\partial_t \delta n_z = \frac{1 - \lambda}{2} (\partial_x V_z)|_{z=0} - \frac{1 + \lambda}{2} (\partial_z V_x)|_{z=0} + \frac{K}{\tau_Q} \nabla_{\perp}^2 \delta n_z$$

where $\nabla_{\perp} \equiv (\partial_x, \partial_y)$. The force balance equation is

$$\bar{\eta} \nabla^2 \mathbf{V} = \nabla \bar{\Pi} + \delta(z) \zeta (\partial_x \delta n_y \hat{y} + \partial_x \delta n_z \hat{z} + \partial_y \delta n_y \hat{x})$$

where \mathbf{V} is the three-dimensional velocity field and $\bar{\Pi}$ is the three-dimensional pressure enforcing the incompressibility constraint $\nabla \cdot \mathbf{V} = 0$. These equations are obtained by expanding (B.1) and (B.4), with (B.5) in the limit in which \mathbf{C} relaxes infinitely fast and with the initial state described earlier. Solving for the velocity field in a channel of height \tilde{H} , where \tilde{H} is the height of the channel minus the gel thickness, we find that the eigenvalues for *both* δn_y and δn_z fluctuations are

$$\begin{aligned} \Xi_n = & -\frac{K q_{\perp}^2}{\tau_Q} - \frac{\zeta |q_{\perp}|}{4\pi \bar{\eta}} \tan^{-1} \left(\frac{2\pi}{\tilde{H} |q_{\perp}|} \right) [2 \cos 2\phi - \lambda(1 + \cos^2 2\phi)] \\ & + \frac{\zeta |q_{\perp}|}{4\bar{\eta}} \left[\cos 2\phi - \frac{\lambda}{2} \left(1 + \cos^2 2\phi + \frac{4\tilde{H} |q_{\perp}| \sin^2 2\phi}{4\pi^2 + \tilde{H}^2 q_{\perp}^2} \right) \right], \quad (\text{B.22}) \end{aligned}$$

where ϕ is the angle between the wavevector of perturbation and \hat{x} . In the limit of $|q_{\perp}| \gg 1/\tilde{H}$, i.e., for perturbations with in-plane scales *smaller* than the thickness of the channel, this reduces to

$$\Xi_n(H \rightarrow \infty) = -\frac{K q_{\perp}^2}{\tau_Q} + \frac{\zeta |q_{\perp}|}{8\bar{\eta}} [2 \cos 2\phi - \lambda(1 + \cos^2 2\phi)] + \frac{\zeta \cos 2\phi (1 - \lambda \cos 2\phi)}{\bar{\eta} \tilde{H}} + \mathcal{O} \left(\frac{1}{\tilde{H}^3} \right). \quad (\text{B.23})$$

Note that the angular form of the leading order term in \tilde{H} is distinct from the usual instability of active nematics [113]. This is due to the *lack of* incompressibility in the plane of the layer i.e., $\nabla_{\perp} \cdot \mathbf{V}_{\perp}|_{z=0} \neq 0$ because $\partial_z V_z|_{z=0} \neq 0$. This should be compared with (B.11) where the nematic fluid filled the channel and, upon averaging over the thickness of the channel, the effective two-dimensional velocity field was incompressible. The usual angular form of the eigenvalue associated with generic active nematic instability only appear at the subleading order in \tilde{H} and is immaterial in the limit $|q_{\perp}| \gg 1/\tilde{H}$. In fact, the leading order in \tilde{H} term is *not* destabilising when $|\lambda| > 1$ and $\lambda \zeta > 0$ [117]. However, microtubule filaments are likely to be flow-tumbling i.e., $|\lambda| < 1$. Therefore, at large ζ , (B.23) signifies an activity-induced *growth* of *both* δn_y and δn_z fluctuations. For extensile systems, i.e., $\zeta > 0$, this growth happens for bend perturbations, i.e., $\phi \approx 0$ for *any* value of ζ . For

large in-plane scales, which is the relevant limit for the experiments, i.e., for $|q_{\perp}| \ll 1/\tilde{H}$, (B.22) becomes

$$\Xi_n(|q_{\perp}| \rightarrow 0) = -\frac{Kq_{\perp}^2}{\tau_Q} + \frac{\zeta\tilde{H}q_{\perp}^2}{4\pi^2\tilde{\eta}}(\cos 2\phi - \lambda) \quad (\text{B.24})$$

For $|\lambda| < 1$, this implies a bend instability of both δn_y and δn_z fluctuations when $\zeta > 4\pi^2 K\eta/(\tau_Q\tilde{H})$. Again, the bend instability would have been avoided for $|\lambda| > 1$, because the nematic film is not incompressible in the plane of the film [117].

Since the height fluctuations are slaved to δn_z fluctuations as $\delta n_z \approx \partial_x h$, (B.22) or its limiting versions, (B.23) and (B.24) imply a corresponding instability of the flat conformation of the film with the same eigenvalue. This implies that when a nematic fluid film is activated with high ATP concentrations (such that $\tau_C \rightarrow 0$), the director bends in the plane and the flat conformation of the film is destabilised as is observed in the experiments.

Annexe C

Géométrie des gouttes

C.1 Calcul géométrique

C.1.1 Volume

En considérant la géométrie présentée Fig C.1, on a $h = 2l\sin(\alpha)$.

L'équation du cercle ainsi présenté est $x^2 + z^2 = l^2$.

Or $f(z) = x - l\cos(\alpha)$ et $R = r + f$ avec $R = \frac{D}{2}$ et $r = \frac{d}{2}$

Donc $R(z) = r + \sqrt{l^2 - z^2} - l\cos(\alpha) = r + \sqrt{\left(\frac{h}{2\sin(\alpha)}\right)^2 - z^2} - \frac{h\cos(\alpha)}{2\sin(\alpha)}$

$$V = \pi \int_{-\frac{h}{2}}^{\frac{h}{2}} \left(r - \frac{h}{2\tan(\alpha)} + \sqrt{\left(\frac{h}{2\sin(\alpha)}\right)^2 - z^2} \right)^2 dz$$

$$V = \pi \int_{-\frac{h}{2}}^{\frac{h}{2}} \left(r^2 + \left(\frac{h}{2\tan(\alpha)}\right)^2 - \frac{rh}{\tan(\alpha)} + \left(\frac{h}{2\sin(\alpha)}\right)^2 \right) dz + \pi \int_{-\frac{h}{2}}^{\frac{h}{2}} \left(-z^2 + 2\left(r - \frac{h}{2\tan(\alpha)}\right) \sqrt{\left(\frac{h}{2\sin(\alpha)}\right)^2 - z^2} \right) dz$$

Or $\int_{-\frac{h}{2}}^{\frac{h}{2}} \sqrt{\left(\frac{h}{2\sin(\alpha)}\right)^2 - z^2} dz = \frac{\pi h^2}{8\sin^2(\alpha)}(2\alpha + \sin(2\alpha))$ en faisant le changement de variable $z = \frac{h}{2\sin(\alpha)}\sin(u)$

Donc

$$V = \pi h \left(r^2 + \left(\frac{h}{2\tan(\alpha)}\right)^2 - \frac{rh}{\tan(\alpha)} + \left(\frac{h}{2\sin(\alpha)}\right)^2 \right) + \pi \left(\frac{h^3}{12} + 2\left(r - \frac{h}{2\tan(\alpha)}\right) \frac{\pi h^2}{8\sin^2(\alpha)}(2\alpha + \sin(2\alpha)) \right)$$

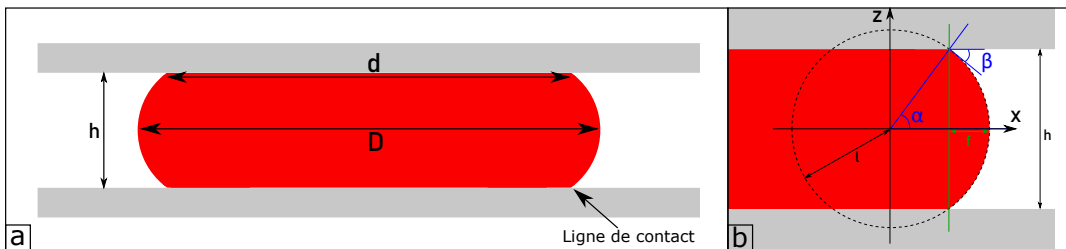


FIG. C.1 Droplet squeezed between two glass slides

Soit

$$V = \pi r^2 h + \pi r h^2 \left(\frac{2\alpha + \sin(2\alpha)}{8\sin^2(\alpha)} - \frac{1}{\tan(\alpha)} \right) + \pi h^3 \left(\frac{1}{4\sin^2(\alpha)} - \frac{1}{12} + \frac{1}{4\tan^2(\alpha)} - \frac{2\alpha + \sin(2\alpha)}{8\sin^2(\alpha)\tan(\alpha)} \right)$$

C.1.2 Surface

On a

$$S = 2\pi r^2 + 2\pi \int_{-\frac{h}{2}}^{\frac{h}{2}} \left(r - \frac{h}{2\tan(\alpha)} + \sqrt{\left(\frac{h}{2\sin(\alpha)}\right)^2 - z^2} \right) dz$$

Donc

$$S = 2\pi r^2 + \frac{\pi h^2}{\sin(\alpha)} + \frac{2\pi h\alpha}{\sin(\alpha)} \left(r - \frac{h}{2\tan(\alpha)} \right)$$

Annexe D

Faire de la recherche dans un monde fini : le cas du laboratoire Jean Perrin

Bien que je sois sensible à la question écologique depuis de nombreuses années, ma réflexion et mes connaissances sur ce sujet se sont développées au cours de mon contrat de doctorat, jusqu'à influencer mon comportement et mon travail. Il me semblait donc important d'inclure un chapitre traitant du désastre écologique et des réponses à y apporter dans ce manuscrit, à la fois dans un objectif de sensibilisation et dans un objectif de restitution des actions menées dans le Laboratoire Jean Perrin. Cependant, l'exercice de la thèse est régi par certains codes et l'un d'entre eux a pour conséquence que ce chapitre se retrouve en annexe, bien que le sujet qui y est traité ne le soit pas.

Dans ce chapitre, j'évoquerais dans un premier temps les savoirs venant de divers horizons, avant de parler de comment cela s'est traduit en actes dans la recherche en général et au Laboratoire Jean Perrin (LJP) en particulier.

D.1 Connaissances diverses autour de l'écologie

L'ensemble des connaissances sur le sujet écologique est bien sûr trop vaste pour être restitué dans un seul chapitre de thèse. Il ne s'agit donc pas ici de chercher à parler des connaissances scientifiques ou techniques de l'humanité mais plutôt des personnes et travaux qui ont fortement influencé certains membres du laboratoire Jean Perrin, dont moi-même, et en particulier celles et ceux qui ont participé aux actions entreprises dans ce même laboratoire. Ces influences étaient présentes avant que nous apprenions à nous connaître et chacun d'entre nous en avait certaines plus marquées que d'autres. Comme elles peuvent être parfois contradictoires, il nous a fallu les faire dialoguer, trouver des points d'accord ou des compromis afin de pouvoir réaliser nos objectifs, qui pouvaient varier et que j'évoquerai dans la suite de ce chapitre. J'essaierai donc de présenter ces influences, tout en sachant que ces présentations seront parcellaires, afin de rendre compte des difficultés qu'il a été possible de rencontrer entre personnes déjà convaincues de la nécessité d'agir. Je présenterai également les approfondissements menés sur certains sujets dans le cadre de l'action dans le laboratoire.

D.1.1 Influences du milieu techno-scientifique

D.1.1.1 Limites planétaires et lien avec l'économie

Au milieu du XXe siècle, l'économie était représentée par Paul Samuelson comme de l'eau circulant dans une tuyauterie [118](Fig D.1). On y voit le circuit de l'argent qui, d'abord investi dans les entreprises, suit un parcours circulaire : il passe des entreprises aux ménages via les salaires et des ménages aux entreprises via la consommation. L'épargne fait alors sortir de l'argent du circuit et le progrès technique est la pompe qui permet d'accélérer le mouvement et donc de générer de la croissance car, dans ce modèle, le PIB correspond au débit.

L'investissement dynamique aspire et refoule le revenu national :

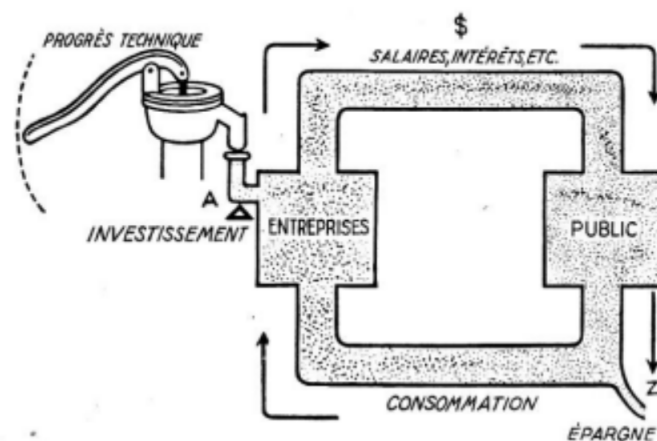


Fig. 8-VI

Le progrès technique, la croissance démographique et d'autres facteurs dynamiques maintiennent en fonctionnement la pompe à investissements. Le revenu s'élève et fléchit en fonction des variations d'investissement, son niveau d'équilibre, susceptible d'être maintenu, n'étant atteint que si les projets d'épargne en Z continuent à correspondre exactement aux projets d'investissement en A.

FIG. D.1 Schéma représentant l'économie, dans un cours adressé à des étudiants ingénieurs. Adapté de [118].

Ce schéma, encore utilisé de nos jours, occulte deux choses fondamentales : l'extraction de ressources depuis l'environnement pour alimenter la production humaine, et le rejet des déchets générés par cette même production dans l'environnement. Si cela semble absurde aujourd'hui, l'inconsidération de ces deux processus était évidente pour un grand nom de l'économie comme Jean-Baptiste Say, qui écrit en 1803 dans son *Traité d'économie politique* : « Les ressources naturelles sont inépuisables, car sans cela nous ne les obtiendrions pas gratuitement. Ne pouvant être ni multipliées ni épuisées, elles ne sont pas l'objet des sciences économiques. » Avec cet impensé, et la nécessité de reconstruire l'Europe après la seconde guerre mondiale qui conduit à l'utilisation massive des indicateurs de PIB et de la croissance, il n'est guère étonnant d'assister à une hausse exponentielle de l'activité humaine et de son impact sur l'environnement depuis les années 1950 [119] (Fig D.2), et ce malgré les critiques venant d'économistes, tel Nicholas Georgescu-Roegen [120].

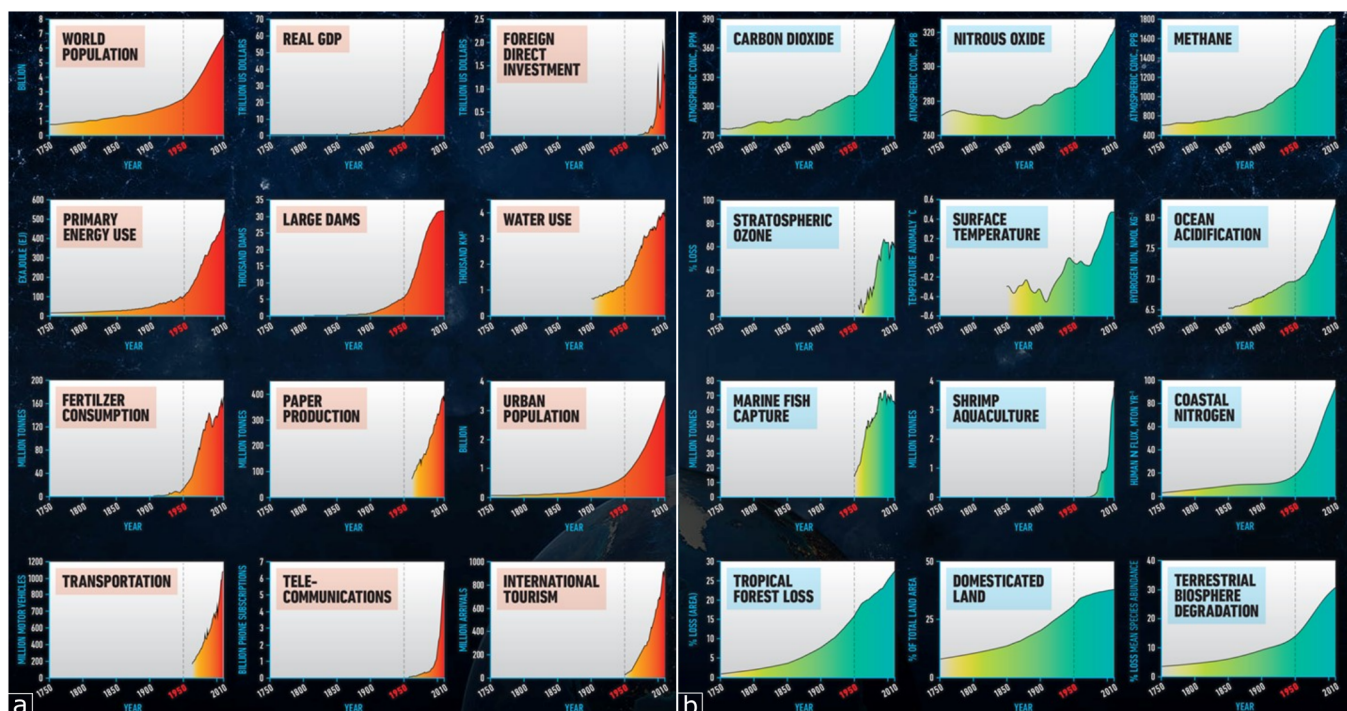


FIG. D.2 Graphiques quantifiant la "Grande Accélération". a) Indicateurs socio-économiques. b) Indicateurs du système Terre. Adapté de [121].

En 1972, le club de Rome, et son rapport *The Limits to Growth*, aussi appelé rapport Meadows [122], essaye d'incorporer cette composante dans leur vision de l'économie en modélisant celle-ci comme un système dynamique, comprenant à la fois des composantes économiques et environnementales (ou matérielles) en intégrant plusieurs sous-systèmes interagissant entre eux, tels que la production alimentaire, la production industrielle, la population, les ressources non renouvelables et la pollution. Avec leur modèle, appelé World3, les auteurs ont pu tester l'évolution temporelle du système, avec différentes hypothèses en termes de quantités de ressources, d'innovations technologiques ou bien de valeurs sociales (sobriété ou consumérisme par exemple). La conclusion est assez intuitive : une croissance infinie n'est pas possible dans un monde fini. La quête de cette croissance infinie mènerait alors à un effondrement, en particulier celui de la population et de la production industrielle (Fig D.3). De plus, pour éviter ce dénouement peu souhaitable, il faudrait mobiliser à la fois des leviers technologiques et sociaux.

Il est cependant possible de nuancer cet effondrement, car les liens du système modélisé, nécessairement politiques, changeraient probablement en cas de début d'effondrement même si ce changement ne serait pas obligatoirement dans un sens d'atténuation. De même, et bien que les courbes prédites par le modèle soient proches de celles observées historiquement (Fig D.3), la date annoncée de 2030 pour l'effondrement est à prendre avec prudence tant est difficile la détermination des points de bascule de ce système.

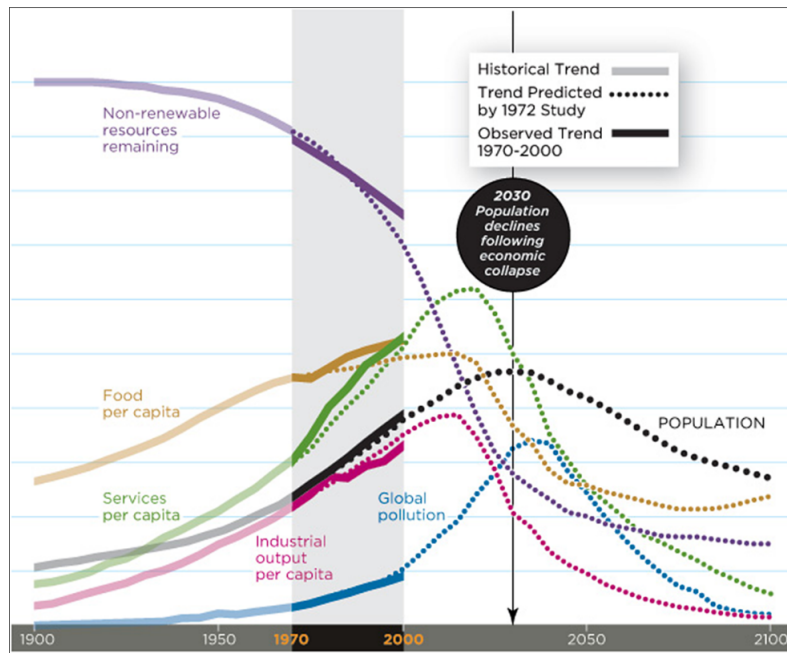


FIG. D.3 Schéma représentant l'évolution des différents sous-systèmes dans le modèle World3. Les pointillés correspondent à la prédiction du modèle World3 tandis que les lignes pleines correspondent aux observations. Adapté de Turner, 2012 [123].

Cet avertissement d'un possible effondrement des sociétés humaines n'a pas réellement été pris en compte politiquement depuis la publication du rapport Meadows, et la croissance des activités humaines a continué, avec un impact de plus en plus évident, menant Paul J. Crutzen et Eugene F. Stoermer à reprendre le terme d'Alexeï Pavlov [124], suggérant un changement d'ère géologique [125]. Nous sommes entrés dans une ère géologique où l'impact des humains sur les écosystèmes est devenu significatif à l'échelle de l'histoire de la Terre : bienvenue dans l'Anthropocène, qui se distingue de l'époque géologique précédente nommée Holocène. Cette dernière correspond à la période qui a permis l'apparition et le développement de l'agriculture ainsi que des sociétés complexes dans lesquelles nous vivons aujourd'hui. L'Anthropocène, quant à lui, pourrait être caractérisé par sa perte massive de biodiversité, les essais nucléaires ou la pollution, en particulier celle du plastique, autant de faits qui laisseront des traces stratigraphiques pour les paléontologues du futur. Cette caractérisation fait actuellement débat, tout comme le terme désignant cette nouvelle ère géologique car toute l'espèce humaine n'est pas responsable de ce qui laissera ces traces, certains préférant alors les termes de Capitalocène ou bien de Molysmocène (« âge des déchets » en grec).

En 2009, Johan Rockström *et al.* introduit le concept des limites planétaires [126] : alors que l'humanité a pu prospérer dans l'Holocène, transgresser les limites planétaires induit un risque de sortir de ces conditions géologiques d'une stabilité exceptionnelle et qui ont permis l'avènement des grandes civilisations. Ce concept est utilisé brièvement par l'ONU, suffisamment pour inspirer un nouveau modèle d'économie à Kate Raworth qui invente *La théorie du Donut* [127]. Ce Donut représente les objectifs que toute économie devrait rechercher : la satisfaction des besoins humains de base, inspirés par la commission du développement des Nations Unies, tout en restant en deçà

des limites planétaires (Fig D.4).

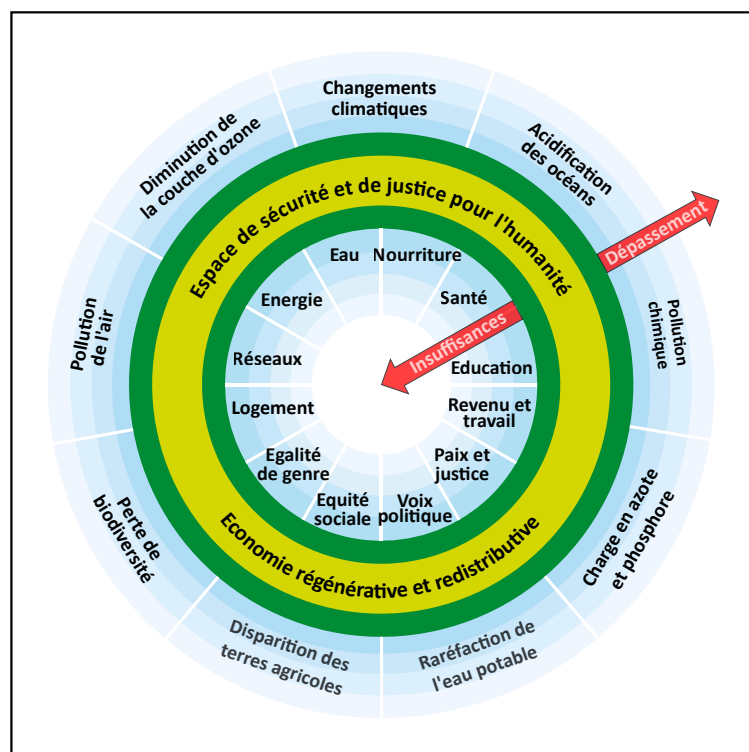


FIG. D.4 Image du Donut imaginé par Kate Raworth. La limite intérieure correspond à l'objectif seuil de développement humain tandis que la limite extérieure correspond aux limites planétaires à ne pas dépasser. Entre les deux se trouve l'espace juste et sûr du Donut.

Ces limites planétaires ont été identifiées et, pour la plupart, quantifiées, ce qui permet de visualiser quels sont les points les plus problématiques. Cependant il faut veiller à ne pas les isoler les unes des autres car c'est leur ensemble qui caractérise les conditions exceptionnelles de l'Holocène, et le dépassement de l'une d'elles provoque également des dérèglements pouvant conduire au dépassement d'autres limites car tous ces paramètres sont liés (Fig D.6a).

En effet, ces paramètres physiques constituent un système dynamique et leurs comportements ne sont donc pas linéaires. Les limites sont fixées de sorte à éviter l'instabilité qui ferait plonger le système Terre dans un autre état (Fig D.6b), bien que cette quantification soit difficile. Aujourd'hui, un paramètre n'a pas encore de limite définie, et deux seulement n'ont pas vu leur limite dépassée sur les neuf au total, qui sont résumés ci-dessous.

- **Le réchauffement climatique** : cette limite est aujourd'hui bien plus médiatisée et possède une place centrale dans les interactions avec les autres limites planétaires. Elle n'en reste pas moins qu'une seule des neuf limites identifiées. Le réchauffement climatique est dû à l'augmentation de la concentration de gaz à effet de serre (GES) dans l'atmosphère, tels que le CO₂ ou le CH₄, du fait des activités humaines. Ces GES vont limiter le rayonnement thermique de la Terre vers l'espace en en redirigeant une partie vers la surface terrestre.

Ce réchauffement est quantifié en considérant la concentration atmosphérique de dioxyde de carbone et pour laquelle la limite de 350 ppm (parties par million) a été dépassée. Cependant, dans le débat public, on utilise fréquemment l'augmentation de la température moyenne terrestre par rapport à celle de la période pré-industrielle, ce qui nous donne une valeur de +1,2°C environ actuellement. Comme il s'agit d'une valeur moyenne, il est parfois difficile de se rendre compte de l'implication d'un tel nombre et il peut être utile de comparer historiquement. Ainsi la différence de température entre la dernière ère glaciaire et la période pré-industrielle est de 5°C et la vitesse de réchauffement actuelle (qui conditionne l'adaptation) est plus forte que dans toute l'histoire terrestre. Pour mieux visualiser l'impact du réchauffement, il est possible d'évaluer les conséquences pour différents risques, pour l'Europe par exemple (Fig D.5). Il est à noter que le risque étant continu, il est d'intérêt d'éviter chaque nouveau dixième de degré de réchauffement.

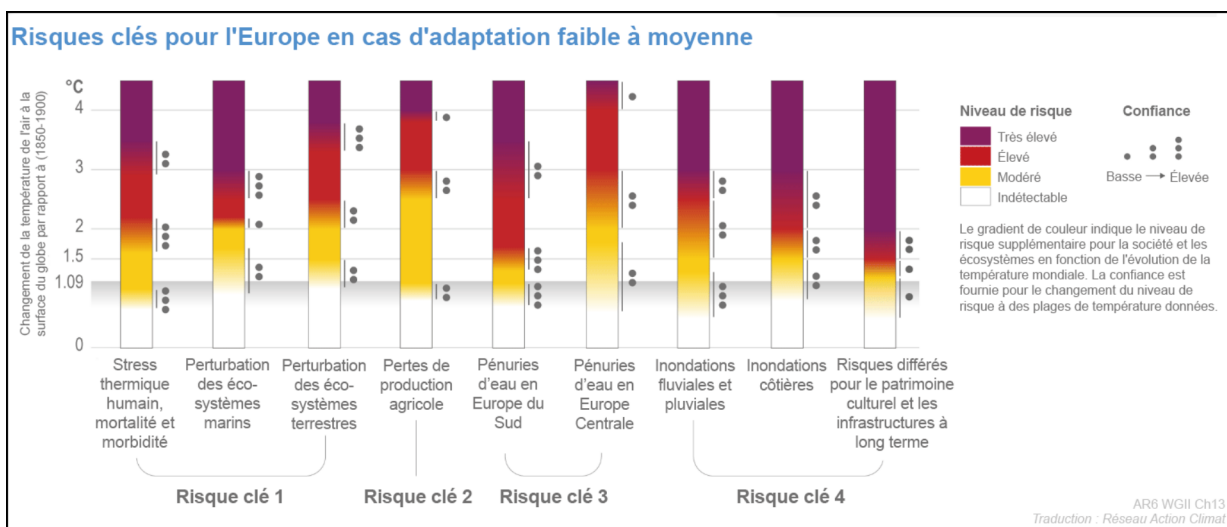


FIG. D.5 Évolution des risques-clés pour l'Europe en fonction de l'intensité du réchauffement climatique. Adapté du rapport AR6 (WGII, Ch13) du GIEC (Traduction : Réseau Action Climat).

- **L'acidification des océans** : une acidification trop importante aurait des effets majeurs sur les mollusques formant leurs coquilles en calcite ou en aragonite car celles-ci pourraient se dissoudre. La perte de ces espèces perturberait fortement les écosystèmes marins et pourrait mener à une réduction drastique des stocks de poissons. De plus cela réduirait la capacité des océans à absorber du CO₂ et affecterait donc le climat. Cette limite n'a pas été dépassée.
- **L'utilisation d'eau douce** : cette limite semble évidente du fait que l'eau douce est indispensable à la vie. Un récent article de Wang-Erlandsson et al [128] a fait une distinction entre eau bleue (eau des cours d'eau et nappes phréatiques, qui est celle majoritairement utilisée par les humains) et eau verte (eau présente dans les sols, nécessaire à la croissance végétale) et a conclu que la limite pour l'eau verte était dépassée.
- **La réduction de la couche d'ozone** : la couche d'ozone permet de filtrer les rayons UV

- du soleil, protégeant ainsi les populations. Dans les années 1980, un « trou dans la couche d'ozone » a été constaté, dû principalement aux composés CFC (chlorofluorocarbure) des réfrigérateurs. Le protocole de Montréal a permis de répondre à ce problème, montrant qu'une action politique peut avoir un effet. Cette limite n'a pas été dépassée.
- **La biodiversité** : cette limite, comme le réchauffement climatique, est assez médiatisée et est probablement plus visible que les autres. En effet l'effondrement de la biodiversité en cours constitue la 6ème extinction de masse dans l'histoire de la Terre, la précédente étant celle qui a vu la fin des dinosaures et un changement massif et irréversible dans les équilibres des écosystèmes. Pour donner une idée en termes de chiffres, le rythme moyen d'extinction des espèces est de 1 espèce sur un million qui disparaît chaque année. Nous sommes aujourd'hui à un rythme compris entre 100 et 1000 espèces sur un million chaque année. La limite a été fixée à 10 espèces sur un million chaque année et a donc été dépassée.
 - **La perturbation de cycles géochimiques** : il s'agit de la perturbation des cycles du phosphore et de l'azote, éléments indispensables à la croissance végétale. Cette perturbation provient principalement des intrants utilisés par l'agriculture intensive, et donc de l'industrie qui se trouve derrière ceux-ci. Cette limite a été dépassée, pour le phosphore et pour l'azote.
 - **L'usage des sols** : Cette limite vient principalement de la transformation de forêts ou d'autres écosystèmes en terres cultivables et est surtout un accélérateur du dépassement des autres limites. Cette limite a été dépassée.
 - **La charge atmosphérique en aérosols** : Ce qu'on appelle plus communément « les particules fines » a un impact important sur la santé humaine et les autres limites planétaires. En limiter la quantité est nécessaire pour garder un environnement viable. Cette limite n'a pas été quantifiée.
 - **La pollution chimique** : Elle constitue la majeure partie de ce qu'on imagine lorsqu'on parle de déchets ou bien de pollution : plastiques, métaux lourds, composés chimiques, radioactivité... Ces composés peuvent avoir des effets irréversibles sur les organismes vivants et l'environnement physique. Pour illustrer la quantité importante de ce genre de déchets, on pourra par exemple évoquer la présence d'un « 7ème continent » composé uniquement de plastique [129] . Cette limite a été dépassée.

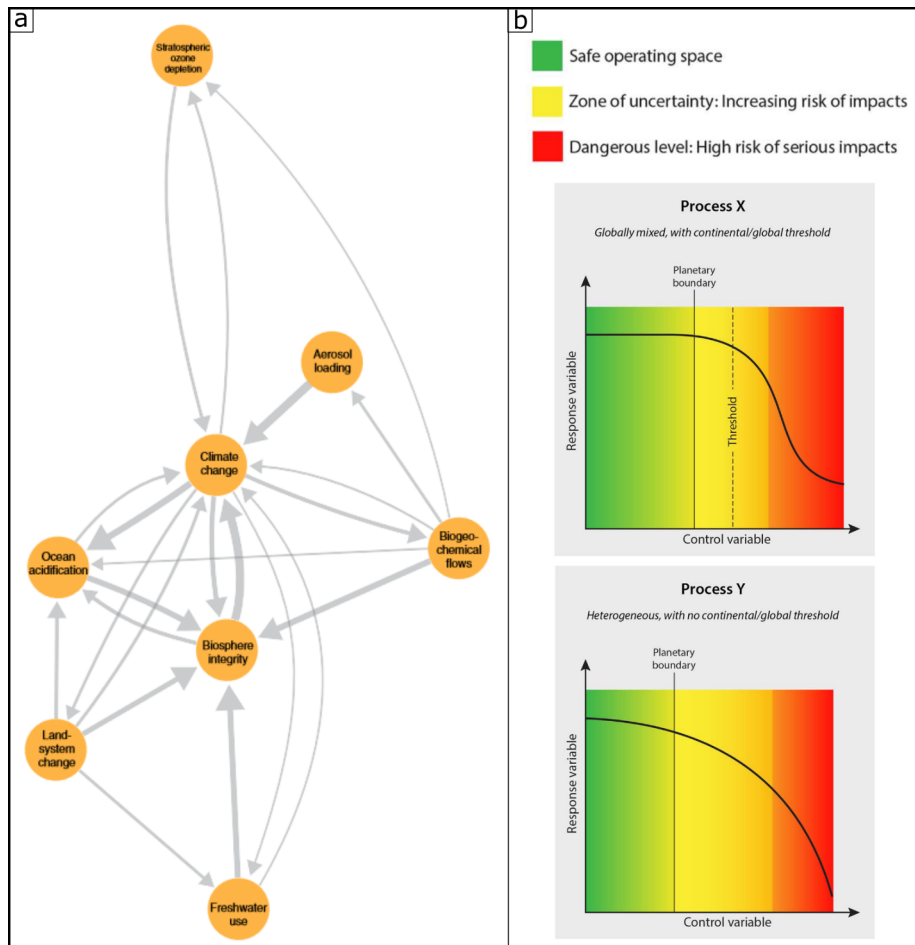


FIG. D.6 Les limites planétaires et leurs interactions. a) Interactions entre les différentes limites planétaires. L'épaisseur des flèches correspond à la force des interactions. Adapté de Lade et al [130]. b) Schéma du concept des limites planétaires. Adapté de [131].

D.1.1.2 Alexandre Grothendieck et la critique de l'institution scientifique

Alexandre Grothendieck était un mathématicien français d'origine allemande, né en 1928. Il est l'un des plus grands mathématiciens du XXe siècle, considéré comme ayant refondé la géométrie algébrique et lauréat de la médaille Fields en 1966. En 1958, l'Institut des Hautes Études Scientifiques (IHES) est créé sur mesure pour Grothendieck par un mécène privé [132]. Grothendieck est alors membre du groupe Bourbaki, comme depuis le début de sa carrière mathématique, qui se distingue par une quête d'abstraction toujours plus grande qui semble alors permettre d'éviter une utilisation par des industriels et militaires [132]. En effet, Alexandre Grothendieck est profondément antimilitariste, et critique le fait que certains de ses collègues mathématiciens acceptent des financements militaires, leur reprochant que, même s'ils s'indignent publiquement contre les guerres coloniales, ils donnent une respectabilité à l'armée qui les mènent [133]. En 1967, il passe trois semaines au Viêt Nam pour protester contre l'intervention des États-Unis. En novembre 1969, il apprend que l'armée finance depuis 3 années l'IHES où il travaille. Il essaye alors de faire cesser

ces financements mais, n'y parvenant pas, il démissionne en 1970 et, aidé par les événements de Mai 68 et les mouvements protestataires qui s'en sont suivis, il fonde alors le groupe politique *Survivre* avec d'autres mathématiciens, anciens bourbakistes, groupe qui deviendra *Survivre et vivre*[132].

Ce groupe va alors publier une revue du même nom, avec des textes critiques de la société technologique, qu'il qualifie de « *mégamachine* » qui « *n'obéit qu'à sa propre finalité d'expansion automatique et de maximalisation des profits ou de la puissance, ignorant tout ce qui n'est pas traduisible dans son propre langage — par exemple les plus élémentaires réalités humaines ou écologiques* »[134]. Ses textes vont se développer autour de plusieurs points avec d'abord la critique de l'aliénation du travailleur par la technique et la science, avec une automatisation grandissante ainsi qu'une part plus importante donnée aux technique de gestion et contrôle du travail. Une aliénation qui concerne également les scientifiques eux-mêmes, comme le dit Grothendieck dans une conférence intitulée *Allons-nous continuer la recherche scientifique ?* [135]. Une deuxième critique porte sur l'impérialisme avec une accapitation des ressources de pays colonisés. Bien que plusieurs pays aient acquis leur indépendance politique, la technique, alors maîtrisée par les pays dominants, est utilisée comme moyen de contrôle sur l'économie des pays les plus pauvres et devient l'outil d'un néocolonialisme. *Survivre et vivre* prône au contraire l'utilisation de ce qu'on appelle aujourd'hui les low-tech, qui ont l'avantage de consommer peu de matière non renouvelable comme les métaux. Enfin se déroule une critique du scientisme, avec un rôle de l'expert surdéveloppé, seul détenteur de la connaissance véritable, et du techno-solutionnisme, qui vise à régler un déséquilibre créé par lui-même et créant de ce fait un nouveau déséquilibre. Par ces critiques, partagées avec d'autres journaux de critique des sciences (*Impascience, Labo-contestation*), et en nouant des liens avec des personnalités comme Barry Commoner, auteur des "4 lois de l'écologie" [136], *Survivre et vivre* a participé à l'essor des mouvements écologistes en France et en Amérique du Nord.

Les réflexions amorcées par Alexandre Grothendieck et *Survivre et vivre* semblent toujours pertinentes aujourd'hui. On peut par exemple retrouver cette critique du scientisme chez Aurélien Barrau [137], la critique du techno-solutionnisme chez Philippe Bihouix [138], ainsi qu'une réactualisation de sa question *Allons-nous continuer la recherche scientifique ?* par François Graner [139].

D.1.1.3 Jean-Marc Jancovici et l'ingénierie

Jean-Marc Jancovici est un ingénieur français, né en 1962. Après avoir été diplômé de l'École Polytechnique et de l'École Nationale Supérieure des Télécommunications, il effectue diverses activités avant de découvrir au début des années 1990 la notion de gaz à effet de serre et de réchauffement climatique [140]. Il approfondit ce sujet, notamment en organisant des conférences avec un groupe d'anciens polytechniciens [141]. Puis, au début des années 2000, il développe une méthode de comptabilité des émissions de gaz à effet serre avec l'ADEME, appelée bilan carbone, qui devient une référence française et qui a donné naissance à une norme mondiale d'évaluation des émissions de gaz à effet de serre. Il fonde Carbone 4, un cabinet de conseil pour la décarbonation des entreprises, en 2007 et The Shift Project, un think tank pour la décarbonation de l'économie, en 2010. À partir

de 2008, il enseigne à l'école des Mines de Paris sur l'énergie et le changement climatique et gagne en notoriété en tant que vulgarisateur sur ces sujets, jusqu'à écrire une BD avec Christophe Blain qui s'est vendue à plus de 500 000 exemplaires [142]. Son discours propose une vision de l'histoire économique, sociale et politique centrée sur l'énergie. Ce faisant, il explicite cette notion physique et ses ordres de grandeur avec des termes et des images parlantes, récurrentes qui lui valent de nombreux memes sur les réseaux sociaux [143]. Ainsi il résume par exemple l'ensemble des machines que l'humain utilise à une "armure d'Iron Man", qui viendrait décupler les capacités de l'humain à transformer son environnement, en comparant avec l'énergie qu'est capable de déployer un être humain, qui constitue son "unité-esclave". À partir de cela, il développe les changements à apporter à l'économie, secteur par secteur, en insistant sur le fait que la consommation d'énergie va devoir diminuer, et que cela sera subi si ce n'est pas choisi auparavant. Ces changements, développés dans le plan de transformation de l'économie française du Shift Project, sont élaborés sur la base d'hypothèses, se revendiquant pragmatiques [144]. Un procédé qui peut également se retrouver chez Négawatt [145] ou bien RTE [146], où les ingénieurs sont également majoritaires.

Une particularité de Jean-Marc Jancovici est que sa construction écologique s'est faite assez peu en lien avec les deux précédentes alors qu'on retrouve des mentions au club de Rome dans la revue *Survivre et Vivre*.

Les membres du laboratoire étaient traversés par plusieurs familles de pensée, qui se distinguent par différents niveaux d'abstraction ou concrétisation, ainsi que par différents niveaux de critique du système politique actuel, c'est-à-dire de l'organisation de la société.

D.1.2 Sortir des sciences dures

En plus de ces influences initiales, provenant de personnes affiliées aux sciences dites "dures", chercheur.se.s ou ingénieur.e.s, j'ai été amené au cours de ces années au laboratoire Jean Perrin à me renseigner sur certains concepts provenant d'autres domaines de connaissances. En effet, bien que je sois plus sensible aux enjeux et arguments physiques du désastre écologique en cours du fait de ma formation, ce sont les sociétés humaines qui provoquent le désastre écologique en cours. Il semble donc que les sciences humaines soient à la fois pertinentes et nécessaires pour la compréhension du problème et pour l'efficacité des actions à entreprendre. La nécessité de cette pluridisciplinarité semble partagée par d'autres acteurs académiques comme en témoigne le rapport Jouzel [147], qui recommande l'enseignement de l'écologie sous une forme pluridisciplinaire, le *Stocholm Resilience Center* et le dernier rapport du GIEC [148], qui regroupe physiciens, statisticiens, économistes, sociologues...

Ici je présenterais donc trois concepts plus éloignés de la physique : l'effet rebond, les discours de l'inaction et les points de levier pour changer un système, car ceux-ci m'ont aidé à affiner mon cadre de pensée et servi à analyser les actions menées au LJP et évoquées en D.2.3.

D.1.2.1 Effet rebond

En travaillant dans un laboratoire de physique, on se retrouve inévitablement dans un climat d'encouragement à l'innovation. Par exemple, à Sorbonne Université, les personnels reçoivent des mails vantant les mérites de l'innovation et faisant la publicité des services de valorisation et autres conférences sur l'innovation. Sur le campus de Jussieu, on assiste même aux travaux de construction du bâtiment de Paris-Parc, un incubateur de start-ups, financé par les fonds publics (université et Mairie de Paris) et dont l'objectif premier est d'héberger les « *entreprises à fort potentiel de croissance* » [149]. Cependant, l'utilité et la pertinence de l'innovation sont questionnées. Tout d'abord car celle-ci sert la croissance économique, dont on a vu les limites précédemment (paragraphe D.1.1.1) mais également car les gains d'efficacité vantés comme nécessaires sont en grande partie annihilés par l'effet rebond, explicité ci-dessous, version plus générale du paradoxe de Jevons présenté dans son livre *The Coal Question* en 1865.

Ce paradoxe tient au fait que, lors de la révolution industrielle en Angleterre, l'efficacité des machines à vapeur, fonctionnant au charbon, a grandement augmenté. Pourtant ces gains d'efficacité ont été accompagnés d'une forte hausse de la consommation de charbon du pays. Ce paradoxe apparent s'explique par le fait que la hausse d'efficacité a entraîné une hausse de la demande de machines à vapeur et de la production.

L'effet rebond étudié par des économistes est plus général en considérant toute diminution des gains d'énergie potentiels d'une innovation. Par exemple, il est fréquent de voir des inscriptions telles que "9W = 60W" sur des emballages d'ampoule LED, indiquant ainsi qu'une LED utilise presque 7 fois moins d'énergie qu'une ampoule à filament pour une même luminosité. Le gain potentiel, en unité de puissance, est donc de 51 W. Mais si on remplace une ampoule à filament par trois de ces ampoules LED, le gain ne sera que de 33 W, soit un effet rebond de $\frac{51-33}{51} = 35\%$. Il ne s'agit ici toutefois que de l'effet rebond direct, c'est-à-dire de la hausse de consommation qui remplit la fonction de l'innovation. Le fait d'avoir un gain énergétique du fait de l'innovation permet bien souvent d'avoir également un gain financier qui va augmenter une autre consommation d'énergie, il s'agit de l'effet rebond indirect qui, dans notre exemple des LED, pourrait être l'achat d'un nouvel ordinateur du fait des économies réalisées. L'innovation va enfin produire des effets sur les marchés (dans notre exemple, cela pourrait consister en une baisse du prix de l'électricité) qui vont eux-mêmes entraîner davantage de consommation, c'est l'effet macroéconomique. L'effet rebond total, de l'économie complète, consiste à additionner ces trois effets. Cela ne tient cependant pas compte des nouvelles innovations rendues possibles, comme les smartphones du fait des LED.

Dans les récents travaux de Brockway et al [150], qui reviennent sur 33 publications d'économie essayant de mesurer l'effet rebond à l'échelle de l'économie complète, il est possible de constater des quantifications très différentes de l'effet rebond. En effet, en considérant les seules études utilisant un modèle CGE (Computable General Equilibrium), les quantifications (avec test de sensibilité) vont de 12 % à plus de 200 %, avec une médiane de 55 % et une moyenne de 58 %. Toutefois étant donné la distribution des résultats, il est raisonnable de considérer que cet effet rebond est supérieur à 50 %, comme le font les deux tiers des travaux cités dans cet article. Pourtant, les

principaux modèles utilisés par le GIEC utilisent un effet rebond inférieur à 50 % ce qui conduirait alors à une surestimation des gains apportés par l'innovation technologique.

D.1.2.2 Excuses de l'inaction

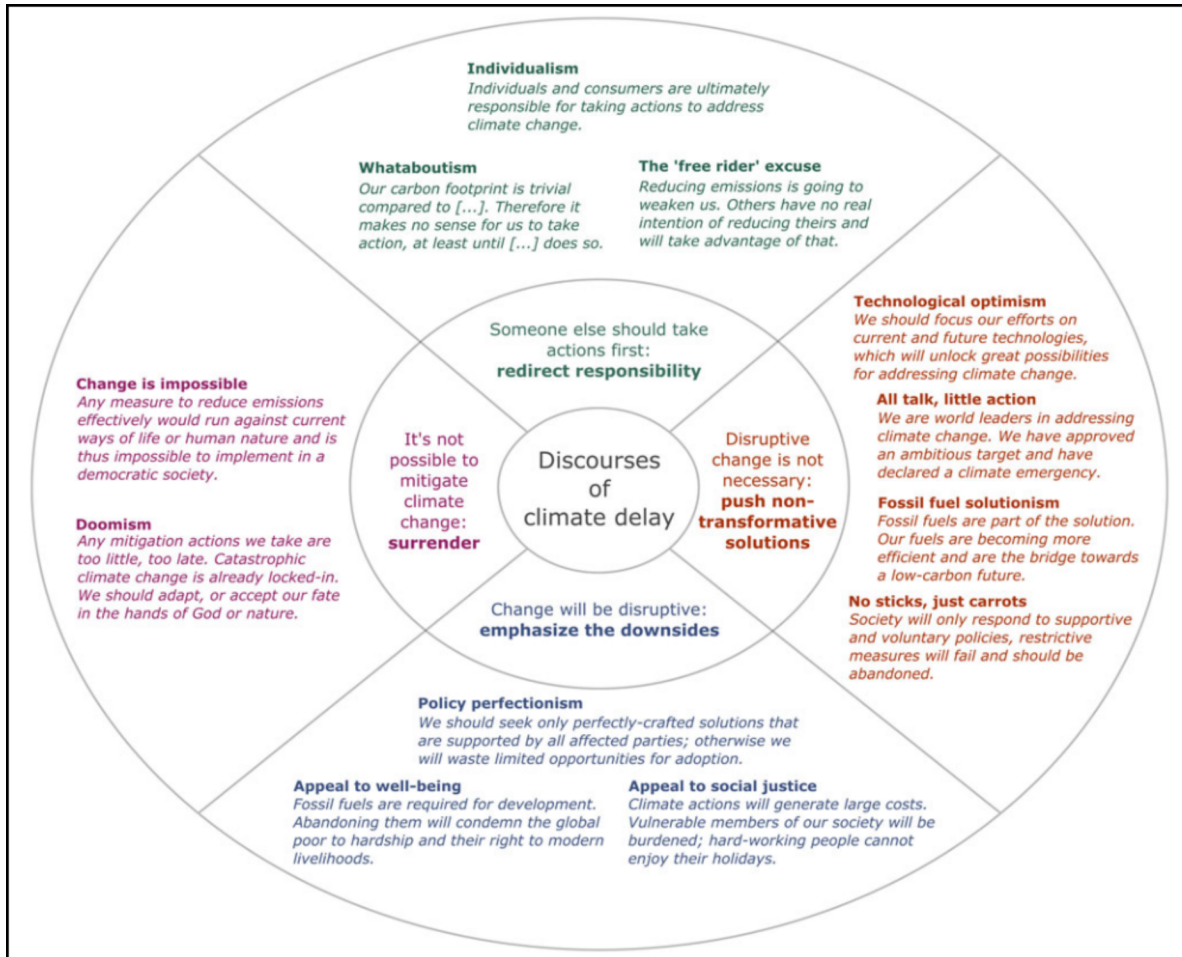


FIG. D.7 Carte des 12 discours de l'inaction. Le cercle intérieur correspond aux quatre catégories et le nom de chaque de discours est associé à une phrase type de celui-ci.

Dans la section D.2.3, nous commenterons les réactions observées au sein du LJP à la suite de la publication du bilan carbone du laboratoire. Pour tenter de rationaliser ces réactions, nous nous servirons de l'économie écologique et des travaux de Lamb et al [151], pour parler des discours de l'inaction. En effet, l'inaction constatée à propos de la crise écologique puise souvent ses justifications dans des discours que l'on peut identifier et regrouper en quatre catégories (Fig D.7).

- Catastrophisme : « *Tout est perdu, on n'a aucune chance de changer, ça ne sert à rien d'essayer* ».
- Exagération des effets négatifs de solutions : « *On ne doit utiliser que des solutions parfaites, qui font consensus, sans rien perdre* ».

- Mise en avant de solutions non transformatrices : « *Les énergies fossiles font partie de la solution, avec l'innovation technique. On fait déjà bien assez* ».
- Rediriger la responsabilité : « *C'est aux autres de faire quelque chose* ».

Ces quatre catégories restent assez générales et il est possible de décliner chacune en plusieurs nuances, comme indiquées sur la figure D.7. Il est à noter que ces discours ne relèvent pas du climato-scepticisme. Ils reconnaissent tous la réalité du changement climatique et la responsabilité humaine dans celui-ci. Cependant ils ont pour conséquence de freiner les actions entreprises.

D.1.2.3 Points de leviers pour changer un système

Les différents discours évoqués ci-dessus ont pour effet de légitimer l'inaction mais traduisent également bien souvent une pensée sous-jacente, tenante d'un fonctionnement systémique. Par exemple, il est d'autant plus facile de tenir un discours techno-optimiste quand on croit au progrès continu. Donella Meadows, co-auteurice du rapport Meadows cité ci-dessus, postule dans un article de 1999 [152] que ce sont ces idées sous-jacentes, paradigmes, qui vont déterminer un système social. Elle y présente alors 12 points de levier, classés par ordre d'efficacité, pour modifier un système (Fig D.8).

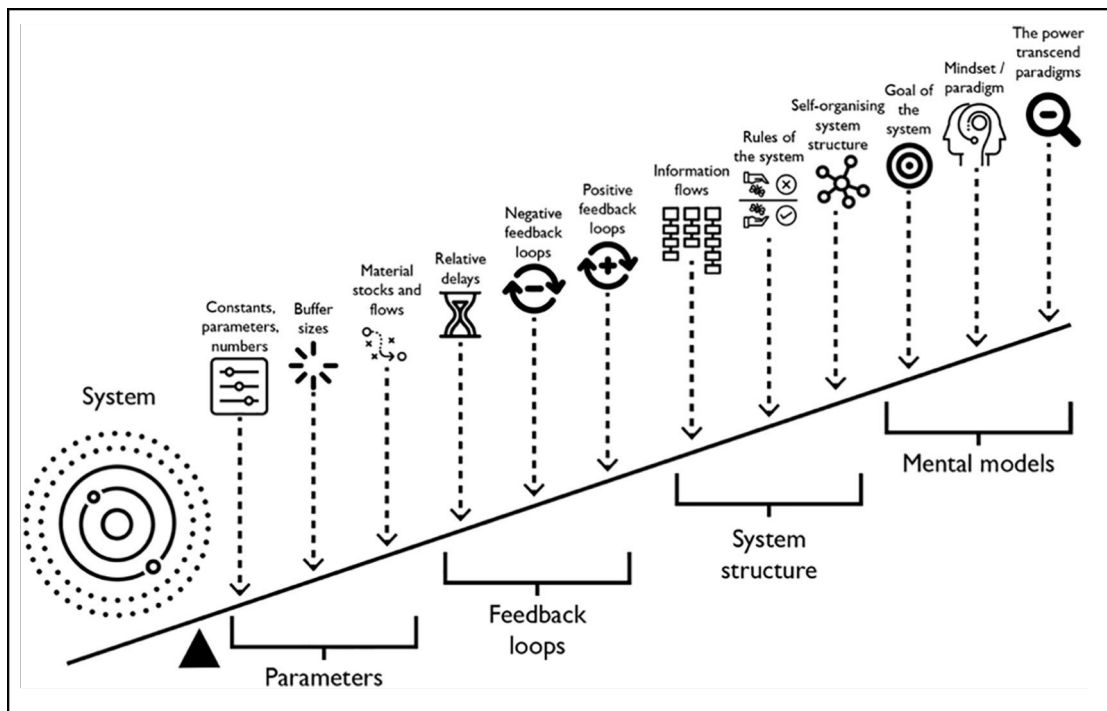


FIG. D.8 Figure représentant les 12 points de levier, par ordre d'efficacité croissant de gauche à droite. Adapté de [153].

Une première catégorie, jugée la moins efficace pour changer un système, concerne les paramètres. Ainsi le premier point touche aux constantes et nombres (par exemple la consommation d'essence d'une voiture thermique). Le point 2 concerne la taille des tampons, qui permettent de

stabiliser le bruit — au sens physique — des contraintes, et le point 3 concerne la structure des stocks et des flux.

La deuxième catégorie concerne les boucles de rétroaction. Le point 4 correspond à la cinétique de ces boucles, tandis que les points 5 et 6 correspondent respectivement à la force des boucles négatives et positives. Ainsi, les boucles de rétroaction positive (avoir plus de capital entraîne un plus fort gain de capital) sont plus importantes, ont plus d'impact que les boucles de rétroaction négative (plus d'argent entraîne plus d'impôts), ce qui signifie qu'il est préférable de réduire une boucle positive plutôt que d'augmenter une boucle négative.

La troisième catégorie concerne la structure du système. Le point 7 correspond à l'accès à l'information et le point 8 est relatif aux règles du système et en particulier à ceux qui les élaborent. Le point 9 touche l'auto-organisation du système, c'est-à-dire comment celui-ci va se réorganiser en cas de choc, via l'instauration de nouvelles règles, boucles de rétroaction, ou en changeant l'accès à l'information.

Enfin la quatrième catégorie correspond aux schémas mentaux. Le point 10 se réfère au but du système, qui lui-même provient du point 11 se rapportant aux paradigmes gouvernant l'élaboration du système. Enfin le point 12 est le pouvoir de transcender les paradigmes, soit de remettre en cause les hypothèses fondamentales pour changer de valeurs et de priorités.

Les sujets explorés pendant la durée de cette thèse montrent que l'effet rebond observé dans le système actuel a tendance à être sous-estimé et qu'il est difficile, voire impossible, d'affirmer avec certitude que l'on peut obtenir des gains substantiels en termes d'émissions de CO₂ via la seule innovation technologique. Il faut donc changer de système. Pour cela le cadre des discours de l'inaction et des points de levier permettent de saisir plus facilement les résistances au changement ainsi que les actions à privilégier.

D.2 Du savoir à l'action : illustration dans la recherche et le Laboratoire Jean Perrin

Nous avons évoqué quelques savoirs parmi les nombreuses connaissances scientifiques et techniques qui existent sur le sujet et qui sont chaque jour plus nombreuses et plus répandues. De plus, la question écologique est aujourd'hui omniprésente. Si l'on observe les discours politiques ou bien les publicités, pouvant être considérés comme des marqueurs de ce qui est pensé à l'échelle de la société, il semblerait que les enjeux environnementaux soient pris au sérieux.

Pourtant, les actions entreprises sont toujours nettement insuffisantes comme le rappelle régulièrement le secrétaire général de l'ONU Antonio Guterres [154]. Ce décalage entre savoir et action est assez frappant et peut également être remarqué à l'échelle individuelle. Plusieurs hypothèses semblent alors envisageables : les savoirs ne sont pas réellement maîtrisés, ni assez répandus, ou bien le savoir n'entraîne pas nécessairement l'action. Pour tenter d'éclairer ces hypothèses, nous allons ici faire un rappel de la situation globale, avant d'évoquer ce qui a pu provoquer des actions

dans la recherche pour enfin parler de la façon dont la question écologique a été appréhendée au laboratoire Jean Perrin.

D.2.1 Une catastrophe annoncée

Le rapport Meadows prévoyait, dans de nombreux cas, un effondrement de la population. Cela a pu nourrir des imaginaires apocalyptiques dans lequel un évènement ponctuel conduisait à la mort de plusieurs millions/milliards d'individus (avec par exemple la série *L'Effondrement*), imaginaire qui n'est pas forcément seulement dû au désastre écologique (par exemple les films *2012*, *Bienvenue à Zombieland*, *Mad Max*). Bien qu'un tel scénario semble peu probable, les évènements ponctuels représentés dans ces oeuvres correspondent aux causes provoquant une baisse rapide (inférieure à une génération) de la population : catastrophes naturelles, épidémies, guerres et conflits sociaux, sécheresses et famines. Lorsqu'on sort de la fiction de l'effondrement, ces différentes causes de mortalité sont généralement locales, mais bien réelles (famine à Madagascar [155], inondations au Pakistan [156]...). Or, selon les rapports réguliers faits par une instance de l'ONU, qui ne produit pas de nouveaux savoirs mais compile ceux existants, il se trouve que le désastre écologique en cours conduit à augmenter ces différents risques. Cette instance, nommée GIEC (Groupe International d'Experts sur le Climat), nous parle dans le deuxième volet de son dernier rapport en date [157] des risques encourus à moyen terme (à partir de 2040), à savoir :

- des sécheresses : « *Risks in physical water availability and water-related hazards will continue to increase by the mid- to long-term in all assessed regions* » (B.4.2),
- des famines : « *Climate change will increasingly put pressure on food production and access* » (B.4.3),
- des épidémies : « *Climate-sensitive food-borne, water-borne, and vector-borne disease risks are projected to increase under all levels of warming* » (B.4.4),
- des catastrophes naturelles conduisant à l'inhabitabilité de certains territoires : « *In the mid- to long-term, displacement will increase with intensification of heavy precipitation and associated flooding, tropical cyclones, drought and, increasingly, sea level rise* » (B.4.7),
- des impacts sur les sociétés humaines : « *Adverse impacts from climate hazards and resulting risks are cascading across sectors and regions, propagating impacts along coasts and urban centres* » (B.5.2),
- des conflits : « *Climate change causes the redistribution of marine fish stocks, increasing risk of transboundary management conflicts among fisheries users* » (B.5.3).

Il serait cependant trompeur de ne considérer ces évènements comme potentialités seulement à partir de 2040. En effet, si le lien entre valeur consigne et conséquences n'est pas linéaire, il est bien continu et il est possible de voir des prémices de nos jours, qui vont logiquement se multiplier au cours des années à venir. Par exemple, nous n'avons pas encore connu en France de famine due au réchauffement climatique mais celui-ci a bien généré une pénurie d'un bien alimentaire :

la moutarde¹. Un autre exemple peut concerner la disponibilité de l'eau, dont l'amointrissement entraîne des transformations, comme les méga-bassines évoquées dans l'actualité récente [158]. Ce dernier exemple permet même de voir une interaction entre les différents risques évoqués ci-dessus car, dans le cas de la méga-bassine de Sainte-Soline, le manque d'eau a entraîné un conflit [159], bien que celui-ci soit intra-national. Il peut sembler exagéré de nommer conflit cet évènement et pourtant, ce risque, comme les autres, est continu et gradué et ne se limite pas aux guerres internationales. Par ailleurs, bien que le terme de guerre ne semble pas adapté dans le conflit mentionné précédemment, du matériel de guerre y a bien été employé, entraînant un coût humain lourd [160].

De manière certaine, les jeunes générations ne connaîtront pas des conditions environnementales aussi favorables que celles des générations plus anciennes. Et sans réaction immédiate et particulièrement forte, nous irons au devant de problèmes plus graves encore.

D.2.2 Prise de conscience dans la recherche

Alors que les faits ci-dessus relèvent du consensus, toutes les personnes en ayant connaissance ne sont pas encore passées dans l'action. Récemment, un groupe de chercheurs a publié un recueil de récits racontant leur réelle *prise de conscience*, qui leur a permis de franchir le pas [161]. Ces chercheurs font partie du collectif de recherche Labos 1point5, qui s'est formé fin 2018 avec pour objectif de réduire l'empreinte carbone des activités de recherche.

Il est intéressant de noter que plusieurs d'entre eux ont eu cette prise de conscience vers la fin de l'année 2018. En effet, cette année-là il y eut un été particulièrement chaud (même s'il fera probablement partie des plus frais des 30 prochaines années) suivi de diverses actualités plus ou moins en lien : la démission de Nicolas Hulot, la grève de Greta Thunberg suivie des marches pour le climat, les gilets jaunes... Autant d'éléments qui ont beaucoup occupé les médias et probablement les conversations. Or, pour le sociologue Gabriel Tarde, c'est par ces conversations que se forment les opinions et par la suite les actes (« *Les cafés, les salons, les boutiques, les lieux quelconques où l'on cause, sont les vraies fabriques du pouvoir* » [162]). Ici, pour ce qu'il s'agit des actes, on peut constater que plusieurs collectifs dans le domaine de la recherche et de l'enseignement supérieur ont été créés à la suite de ces évènements : Labos 1point5, les Ateliers d'écologie politique, Pour un réveil écologique... Cependant ces collectifs restent pour l'instant des lieux d'échanges d'idées et peu d'actions de réduction de l'empreinte carbone en ont découlé pour l'instant, bien que ce qui semble être une première étape a été franchie : la création de l'outil GES1p5, par Labos 1point5, permettant de calculer l'empreinte carbone d'un laboratoire [163]. De façon concomitante au développement de cet outil, des laboratoires pionniers, dont le LOCEAN puis le LJP à Sorbonne Université, ont déterminé leur empreinte, mais cet outil permet de faciliter la démarche, ce qui a fortement augmenté le nombre d'empreintes carbone déterminées, avec plus de 1400 empreintes

1. Le Canada, premier exportateur de moutarde en France, a connu une sécheresse historique en 2021, ce qui a entraîné une baisse de sa production et donc de ses exportations.

finalisées ou en cours de détermination en avril 2023. D'autres avancées institutionnelles ont été franchies récemment : le CNRS (Centre National de la Recherche Scientifique) entame son plan de transition bas carbone, en parlant des achats [164], et le COMETS (comité d'éthique du CNRS) estime dans son avis n°2022-43, approuvé en décembre 2022, que « *la prise en compte des impacts environnementaux de la recherche doit être considérée comme relevant de l'éthique de la recherche, au même titre que le respect de la personne humaine ou de l'animal d'expérimentation* ».

Pendant ces avancées institutionnelles restent lentes comparées à la temporalité nécessaire pour maintenir un réchauffement inférieur à 1,5°C (par rapport à l'époque pré-industrielle), ce qui a poussé une partie de la communauté scientifique, comme Scientist Rebellion[165], à se tourner vers la désobéissance civile, à l'instar d'organisations citoyennes telles que Extinction Rébellion ou Dernière Rénovation.

D'une prise de conscience écologique de plusieurs personnes a pu émerger des collectifs avec une volonté politique de réduire l'impact de la recherche. Cela s'est traduit par l'avancée concrète de création d'un outil pour déterminer l'empreinte carbone de son laboratoire et le partage d'expériences quant à la mise en place de règles permettant réduire cette empreinte carbone, mais aussi à la mise en place d'actions de médiatisation et de réponses institutionnelles.

D.2.3 Actions au laboratoire Jean Perrin

Les actions menées au laboratoire Jean Perrin sont en étroite relation avec ces mouvements. Sous l'impulsion d'André Estevez-Torres, un chercheur titulaire par ailleurs co-fondateur de l'Atelier d'écologie politique francilien et co-développeur de l'outil GES1p5, un bilan carbone du laboratoire a été réalisé fin 2019 [166] (Fig D.9). Contrairement à ce qu'il aurait été possible de penser, on peut voir que cette empreinte carbone est majoritairement due aux achats de matériel, et non aux transports dûs aux missions. L'autre résultat principal est que l'empreinte carbone d'un membre du Laboratoire Jean Perrin (LJP) est en moyenne de 5 teqCO₂/an, uniquement pour l'activité professionnelle, sachant qu'un objectif raisonnable pour tenir l'accord de Paris sur le climat est une empreinte de 2 teqCO₂/an pour un français moyen.

Ces résultats ont été présentés en assemblée générale du laboratoire. Un élément frappant du débat qui s'en est ensuivi est que les questions portaient exclusivement sur l'aspect technique de ce bilan, et sur les quantifications annexes à apporter, et non sur l'aspect politique, d'organisation du travail, que les résultats suggéraient. Cela a été abordé lors d'une assemblée générale ultérieure. Plusieurs remarques ou questions ont alors émergé comme la pertinence de se fixer un objectif ou bien celle de remplacer les pipettes en plastique par des pipettes en verre réutilisables. Cette nouvelle assemblée générale s'est finie sans aucune conclusion si ce n'est celle qu'il fallait faire davantage de quantifications avant de prendre des décisions.

En 2022, à l'initiative d'un groupe de doctorants, de nouvelles tentatives de discussions ont été menées. Tout d'abord, comme il semblait que l'utilité de l'innovation technologique était perçue de manières différentes dans le laboratoire, un débat a été organisé, intitulé *La technologie va-t-elle*

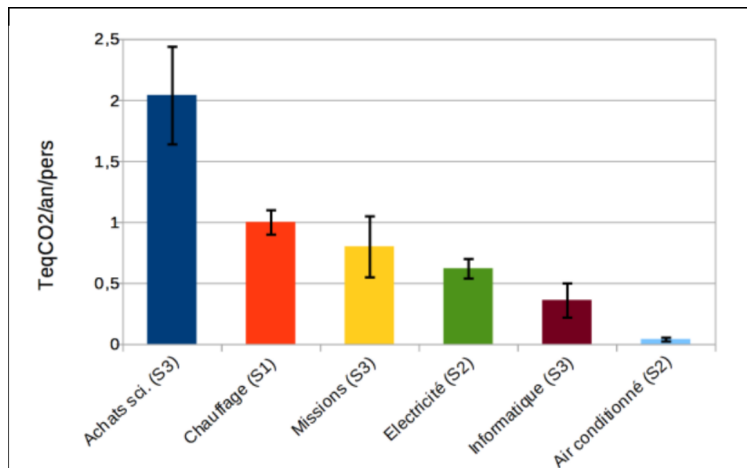


FIG. D.9 Empreinte carbone du laboratoire Jean Perrin (scopes 1-3), par personne, sur l'année 2019. Le nombre de personnels du laboratoire cette année était de 50. L'empreinte totale est de 240 ± 40 TeqCO₂/an, soit 5 ± 1 TeqCO₂/an. Adapté de [167].

nous sauver ?. Ce débat a malheureusement moins attiré les chercheurs titulaires que les doctorants ou post-doctorants. Il s'en est suivi qu'un consensus était présent sur le fait que la technologie ne pouvait pas suffire. La discussion s'est alors redirigée sur les mesures qu'il était possible de prendre à l'échelle du laboratoire, avec des ambitions plus ou moins fortes. Nous les détaillons ici, avec le prisme des 12 points de levier de Meadows :

- Étendre les garanties pour tous les équipements. Ceci correspond au point de levier 1 (paramètres) avec l'ambition de jouer sur le point de levier 3 (flux et stocks).
- Donner le matériel scientifique que l'on n'utilise plus. Cela joue sur le point de levier 3 (flux et stocks).
- Instaurer des limites individuelles de voyages. Cela constitue une boucle de rétroaction négative et renforce celle déjà existant reposant sur le coût de ces voyages, il s'agit du point de levier 5.
- Pour chaque article publié, estimer l'empreinte carbone de celui-ci et l'y inclure. Il s'agit d'ouvrir l'accès à l'information de l'empreinte carbone, soit le point 7, dans l'espoir de renforcer une boucle de rétroaction négative, point 5.
- Inclure un paragraphe sur le désastre écologique dans chaque manuscrit de doctorat ou d'habilitation à diriger des recherches. De même il s'agit du point 7, relatif à l'accès à l'information. L'exercice étant cependant plus ouvert que le précédent, on peut supposer qu'il pourrait parfois toucher le point 11 relatif aux paradigmes. C'est cet exercice qui est tenté dans ce chapitre.
- Réduction, ou réallocation, du temps de travail consacré aux problématiques de recherche usuelles des équipes du laboratoire. Le temps dégagé serait alors utilisé de 3 manières différentes, au choix de chacun : réparation et mutualisation de matériel, pour réduire le volume d'achat d'équipement neuf, documentation et sensibilisation aux problématiques écologiques,

ou bien militantisme à l'échelle de l'université, du CNRS, ou bien de la société. Cette mesure relève de différents leviers : d'une simple constante (point 1) si l'on considère uniquement la réduction du temps de travail, mais également du point 8 car cela reviendrait à changer (très légèrement) les personnes responsables des règles de vie. Enfin, les activités pratiquées, réparation, sensibilisation ou militantisme, correspondent respectivement aux points de leviers 3 (flux et stocks), 7 (accès à l'information), et 11 et 12 (relatifs aux paradigmes).

Ces mesures ont ensuite été présentées devant le laboratoire réuni en assemblée générale. Cependant l'ordre de la discussion était inverse de celui présenté dans ce paragraphe et la discussion a donc bloqué sur la première mesure, qui était également la plus ambitieuse, de la réallocation du temps de travail. Les éléments opposés étaient la légalité de cette proposition, ainsi que son flou et sa possible inefficacité en pratique. La conclusion a donc été qu'un groupe de travail se forme pour affiner cette proposition, en en discutant avec les différents membres du laboratoire, avant de la présenter à nouveau. C'est ainsi que des entretiens individuels ont été menés afin de récolter les avis et de les traiter.

Ces entretiens se déroulaient de la manière suivante : les membres du groupe de travail allaient par paire interroger une personne sur son sentiment par rapport à la mesure critiquée. La discussion se dirigeait ensuite bien souvent sur l'écologie en général et ressemblait davantage à un débat d'idées qu'à une simple écoute. Les arguments principaux étaient ensuite retranscrits immédiatement à la suite de l'entretien pour ne rien oublier.

Nous avons au final interrogé 27 personnes, dont 17 chercheurs titulaires sur les 22 que compte le laboratoire. Certaines personnes n'ont pas souhaité avoir cet entretien mais elles restent rares sur l'ensemble du LJP. Sur ces 27 personnes, 13 étaient en accord avec la mesure, bien qu'elle ne se soient pas nécessairement manifestées lors de l'assemblée générale. Parmi le reste, 12 personnes ont utilisé au moins une des excuses de l'inaction détaillées au paragraphe D.1.2.2. Les dernières personnes ont esquivé le débat et les questions, de sorte qu'il est difficile de les classer. Il est intéressant de noter que, contrairement à une idée intuitive, la proportion de personnes utilisant au moins une excuse de l'inaction est sensiblement la même dans le sous-groupe des chercheurs permanents que dans celui des doctorants et post-doctorants, soit respectivement 8 sur 17 et 4 sur 10. Les échantillons sont cependant assez faibles et il serait intéressant de voir si cela est le cas à plus grande échelle. Dans le cas du laboratoire cela montre tout de même que les plus jeunes ne sont pas exemptés d'un effort de déconstruction. Ce résultat est à nuancer par le fait que les membres du groupe de travail étaient majoritairement des non-permanents et que ceux-ci ne figurent donc pas dans les résultats (ils ne se sont pas interrogés eux-mêmes). Les excuses utilisées sont listées dans la figure D.10, sachant qu'une même personne peut utiliser plusieurs de ces excuses.

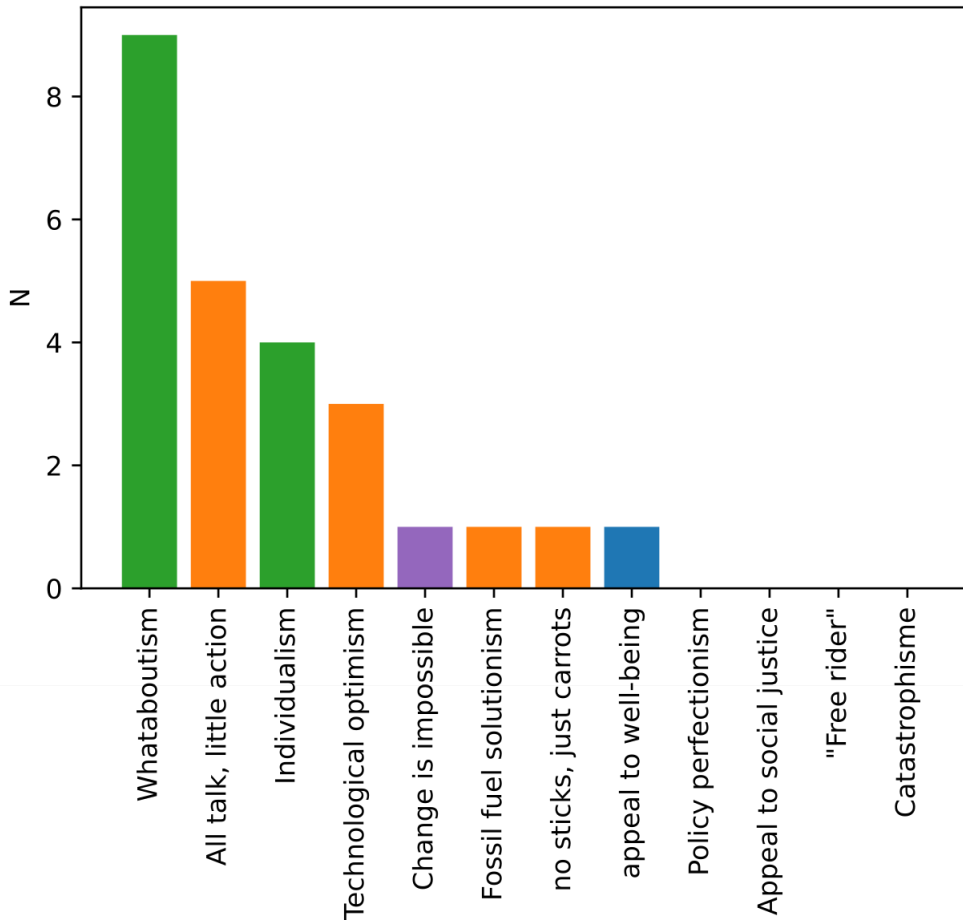


FIG. D.10 Nombre d'utilisations de chaque excuse listée dans la figure D.7 au sein du laboratoire. Les couleurs correspondent aux catégories de la figure D.7.

On remarque que les discours les plus utilisés sont la redirection de la responsabilité, soit vers d'autres secteurs de l'économie (Whataboutism) soit vers les individus (Individualism), ainsi que l'optimisme technologique. On constate également un discours surestimant les efforts déjà menés (All talk, little action).

En supposant que le LJP ne soit pas une exception, ces résultats permettent d'éclairer les réponses à apporter pour favoriser l'action au sein des laboratoires de recherches. Au-delà du techno-optimisme et de l'individualisme, dont l'apparition est logique du fait de leur présence dans le discours politique dominant, les deux items les plus fréquents semblent liés à une méconnaissance (ou un déni) des ordres de grandeurs, et surtout à un refus de remise en question de l'activité principale. En effet le discours whataboutiste provenait le plus souvent d'une opposition à l'éventualité de baisser le volume de recherche, en mettant en avant ses côtés positifs. Le bilan carbone a à ce titre joué le rôle de révélateur en mettant en évidence la surconsommation du laboratoire (5 t/personne) qui était due principalement au coeur du métier (l'achat de matériel) et non aux achats annexes (missions).

Le caractère fondamentalement gênant de ce bilan carbone peut peut-être également éclairer le reste du résultat des entretiens. En effet 15 personnes sur 27, soit plus de la moitié, n'ont pas utilisé d'excuse de l'inaction et ont présenté un accord de principe à la mesure de réallocation du temps de travail présentée ci-dessus. Cependant il est intrigant de constater que très peu d'entre elles l'ont défendue en assemblée générale du laboratoire. Une explication possible est que l'accord de principe rentre en contradiction avec l'intérêt matériel qui est de pouvoir continuer son activité telle qu'elle est aujourd'hui, et que cette contradiction s'est traduite par un silence.

D.3 Conclusion et perspectives

Devant la constatation de l'immense problème écologique, un certain nombre de personnes décide de passer à l'action et pour cela se pose la question de l'action à mener. Il n'y a pas de consensus aujourd'hui à ce sujet et chacun.e, selon son parcours et sa pensée, a des réponses différentes à apporter. Pour ma part, ma position a évolué lors de mes années au laboratoire Jean Perrin en me nourrissant de réflexions diverses. J'ai présenté dans ce chapitre un certain nombre d'éléments qui ont guidé ma réflexion et mon action, dans l'espoir qu'ils pourront également aider celle du lecteur, de la lectrice.

En particulier, la question de Grothendieck s'est mise à résonner avec une force toujours plus grande : « *Allons nous continuer la recherche scientifique ?* ». Cette question est gênante dans le domaine de la recherche mais c'est précisément là qu'elle doit se poser avec le plus de force. Plusieurs réponses sont alors possibles et reflètent les différentes positions politiques des membres du laboratoire. Premièrement, oui car la solution à cette crise est technique et que la recherche scientifique est indispensable à celle-ci. Cette option semble être la position institutionnelle actuelle. Deuxièmement, oui mais il faudra en changer drastiquement la pratique, à la fois pour rendre soutenable l'activité même de la recherche et pour éviter les retombées négatives de celle-ci. La difficulté étant alors de déterminer quels sont ces changements drastiques. Troisièmement, non il faut arrêter et faire autre chose. Il s'agit de la position des "déserteurs" [168]. Quatrièmement, oui mais il faut la faire en dehors des institutions. Cette position est à mi-chemin entre les deux précédentes, entre la conservation de la passion scientifique et la conviction de l'impossibilité de changer la pratique institutionnelle dans des proportions suffisantes. Et enfin, oui car il n'y a pas de problème. Cette dernière option peut apparaître provocatrice mais il me semble important de signifier que la position "après moi le déluge" existe même si elle est difficilement assumée. D'autres réponses sont probablement envisageables, j'ai seulement évoqué ici celles qui me paraissent être les plus répandues.

Ces positions sont cependant des positions individuelles et la question se pose quant au moyen de passer à l'échelle collective. L'exemple de la recherche semble suggérer qu'une multiplication des conversations et débats sur ce sujet semble être nécessaire.

Bibliographie

- [1] J.-C. G. ANDRÉ ESTEVEZ-TORRES ; “Morphogénèse dans les systèmes moléculaires” ; <http://ljpgmorpho.free.fr/>. 1
- [2] A. SENOSSI, Y. VYBORNA, H. BERTHOUMIEUX, J.-C. GALAS & A. ESTEVEZ-TORRES ; *Learning from Embryo Development to Engineer Self-organizing Materials*; chapter 2, pp. 21–60 (John Wiley & Sons, Ltd) (2021); ISBN 9783527821990. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9783527821990.ch2>; <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/9783527821990.ch2>. 1
- [3] M. GARDNER ; “The fantastic combinations of John Conway’s new solitaire game "life"” ; *Scientific American* **123** (1970)<https://www.ibiblio.org/lifepatterns/october1970.html>; number : 223 Publisher : Scientific American. 1
- [4] J. A. DAVIES ; *Mechanisms of Morphogenesis* (Academic Press) (2013); ISBN 978-0-12-415757-6. 2
- [5] A. S. ZADORIN, G. GINES, V. DILHAS, G. URTEL, A. ZAMBRANO, J.-C. GALAS & A. ESTEVEZ-TORRES ; “Synthesis and materialization of a reaction–diffusion French flag pattern” ; *Nature Chemistry* **9**, pp. 990–996 (2017). ISSN 1755-4349. <https://www.nature.com/articles/nchem.2770>; number : 10. 2
- [6] A. SENOSSI, J.-C. GALAS & A. ESTEVEZ-TORRES ; “Programmed mechano-chemical coupling in reaction-diffusion active matter” ; *Science Advances* (2021). <https://www.science.org/doi/abs/10.1126/sciadv.abi9865>; publisher : American Association for the Advancement of Science. 2, 18, 34
- [7] Y. VYBORNA, J.-C. GALAS & A. ESTEVEZ-TORRES ; “DNA-Controlled Spatiotemporal Patterning of a Cytoskeletal Active Gel” ; *Journal of the American Chemical Society* **143**, pp. 20022–20026 (2021). ISSN 0002-7863. <https://doi.org/10.1021/jacs.1c06730>; publisher : American Chemical Society. 2
- [8] A. BRICARD, J.-B. CAUSSIN, N. DESREUMAUX, O. DAUCHOT & D. BARTOLO ; “Emergence of macroscopic directed motion in populations of motile colloids” ; *Nature* **503**, pp. 95–98 (2013). ISSN 1476-4687. <https://www.nature.com/articles/nature12673>; number : 7474 Publisher : Nature Publishing Group. 2, 3
- [9] E. MUNRO, J. NANCE & J. R. PRIESS ; “Cortical Flows Powered by Asymmetrical Contraction Transport PAR Proteins to Establish and Maintain Anterior-Posterior Polarity in the Early

- C. elegans Embryo”; *Developmental Cell* **7**, pp. 413–424 (2004). ISSN 1534-5807. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S153458070400276X>. 5
- [10] Y. BASHIRZADEH & A. P. LIU; “Encapsulation of the cytoskeleton : towards mimicking the mechanics of a cell”; *Soft Matter* **15**, pp. 8425–8436 (2019). ISSN 1744-6848. <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2019/sm/c9sm01669d>; number : 42 Publisher : The Royal Society of Chemistry. 6
- [11] S. H. SHABBIR, M. M. CLELAND, R. D. GOLDMAN & M. MRKSICH; “Geometric control of vimentin intermediate filaments”; *Biomaterials* **35**, pp. 1359–1366 (2014). ISSN 0142-9612. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961213012192>. 6
- [12] R. PHILLIPS, J. KONDEV, J. THERIOT & H. GARCIA; *Physical Biology of the Cell*; 2nd edition (Garland Science, New York) (2012); ISBN 978-0-429-16883-3. 7, 8, 11
- [13] B. ALBERTS, A. JOHNSON, J. LEWIS, M. RAFF, K. ROBERTS & P. WALTER; *Molecular Biology of the Cell*; 4th edition (Garland Science) (2002); ISBN 978-0-8153-3218-3 978-0-8153-4072-0. 7, 12
- [14] C. CONDE & A. CÁCERES; “Microtubule assembly, organization and dynamics in axons and dendrites”; *Nature Reviews Neuroscience* **10**, pp. 319–332 (2009). ISSN 1471-0048. <https://www.nature.com/articles/nrn2631>; number : 5 Publisher : Nature Publishing Group. 8
- [15] V. BARSEGOV, J. L. ROSS & R. I. DIMA; “Dynamics of microtubules : highlights of recent computational and experimental investigations”; *Journal of Physics: Condensed Matter* **29**, p. 433003 (2017). ISSN 0953-8984. <https://doi.org/10.1088/1361-648x/aa8670>; number : 43 Publisher : IOP Publishing. 8
- [16] M. E. BAILEY, N. JIANG, R. I. DIMA & J. L. ROSS; “Invited review : Microtubule severing enzymes couple atpase activity with tubulin GTPase spring loading”; *Biopolymers* **105**, pp. 547–556 (2016). ISSN 1097-0282. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/bip.22842>; number : 8 _eprint : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/bip.22842>. 8
- [17] I. M. JÁNOSI, D. CHRÉTIEN & H. FLYVBJERG; “Structural microtubule cap : stability, catastrophe, rescue, and third state.” *Biophysical Journal* **83**, pp. 1317–1330 (2002)ISSN 0006-3495. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1302230/>. 8
- [18] G. M. ALUSHIN, G. C. LANDER, E. H. KELLOGG, R. ZHANG, D. BAKER & E. NOGALES; “High-Resolution Microtubule Structures Reveal the Structural Transitions in $\alpha\beta$ -Tubulin upon GTP Hydrolysis”; *Cell* **157**, pp. 1117–1129 (2014). ISSN 0092-8674, 1097-4172. [https://www.cell.com/cell/abstract/S0092-8674\(14\)00483-8](https://www.cell.com/cell/abstract/S0092-8674(14)00483-8); publisher : Elsevier. 9
- [19] G. M. COOPER & G. M. COOPER; *The Cell*; 2nd edition (Sinauer Associates) (2000); ISBN 978-0-87893-106-4. 9
- [20] G. ÇOLAKOĞLU & A. BROWN; “Intermediate filaments exchange subunits along their length and elongate by end-to-end annealing”; *The Journal of Cell Biology* **185**, pp. 769–777 (2009). ISSN 0021-9525. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2711597/>. 9, 10

- [21] J. E. M. DUNLEAVY, M. K. O'BRYAN, P. G. STANTON & L. O'DONNELL; "The cytoskeleton in spermatogenesis"; *Reproduction* **157**, pp. R53–R72 (2019). ISSN 1741-7899, 1470-1626. <https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/157/2/REP-18-0457.xml>; publisher : Bioscientifica Ltd Section : Reproduction. 10
- [22] R. D. VALE; "The Molecular Motor Toolbox for Intracellular Transport"; *Cell* **112**, pp. 467–480 (2003). ISSN 0092-8674. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867403001119>. 11
- [23] J. A. HAMMER & J. R. SELLERS; "Walking to work : roles for class V myosins as cargo transporters"; *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **13**, pp. 13–26 (2012). ISSN 1471-0080. <https://www.nature.com/articles/nrm3248>; number : 1 Publisher : Nature Publishing Group. 12
- [24] R. D. VALE & R. A. MILLIGAN; "The Way Things Move : Looking Under the Hood of Molecular Motor Proteins"; *Science* **288**, pp. 88–95 (2000). <https://www.science.org/doi/10.1126/science.288.5463.88>; publisher : American Association for the Advancement of Science. 12
- [25] C. J. LAWRENCE, R. K. DAWE, K. R. CHRISTIE, D. W. CLEVELAND, S. C. DAWSON, S. A. ENDOW, L. S. GOLDSTEIN, H. V. GOODSON, N. HIROKAWA, J. HOWARD, R. L. MALMBERG, J. R. MCINTOSH, H. MIKI, T. J. MITCHISON, Y. OKADA, A. S. REDDY, W. M. SAXTON, M. SCHLIWA, J. M. SCHOLEY, R. D. VALE, C. E. WALCZAK & L. WORDEMAN; "A standardized kinesin nomenclature"; *The Journal of Cell Biology* **167**, pp. 19–22 (2004). ISSN 0021-9525. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2041940/>. 12
- [26] J. AL-BASSAM, Y. CUI, D. KLOPFENSTEIN, B. O. CARRAGHER, R. D. VALE & R. A. MILLIGAN; "Distinct conformations of the kinesin Unc104 neck regulate a monomer to dimer motor transition"; *The Journal of Cell Biology* **163**, pp. 743–753 (2003). ISSN 0021-9525. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2173678/>. 13
- [27] S. M. VAN DEN WILDENBERG, L. TAO, L. C. KAPITEIN, C. F. SCHMIDT, J. M. SCHOLEY & E. J. PETERMAN; "The Homotetrameric Kinesin-5, KLP61F, Preferentially Crosslinks Microtubules into Antiparallel Orientations"; *Current biology : CB* **18**, pp. 1860–1864 (2008). ISSN 0960-9822. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2657206/>. 13
- [28] A. YILDIZ, M. TOMISHIGE, R. D. VALE & P. R. SELVIN; "Kinesin Walks Hand-Over-Hand"; *Science* **303**, pp. 676–678 (2004). <https://www.science.org/doi/10.1126/science.1093753>; publisher : American Association for the Advancement of Science. 13
- [29] K. SVOBODA, C. F. SCHMIDT, B. J. SCHNAPP & S. M. BLOCK; "Direct observation of kinesin stepping by optical trapping interferometry"; *Nature* **365**, pp. 721–727 (1993). ISSN 1476-4687. <https://www.nature.com/articles/365721a0>; number : 6448 Publisher : Nature Publishing Group. 13

- [30] M. J. SCHNITZER & S. M. BLOCK; “Kinesin hydrolyses one ATP per 8-nm step”; *Nature* **388**, pp. 386–390 (1997). ISSN 1476-4687. <https://www.nature.com/articles/41111>; number : 6640 Publisher : Nature Publishing Group. 13
- [31] W. O. HANCOCK & J. HOWARD; “Processivity of the Motor Protein Kinesin Requires Two Heads”; *The Journal of Cell Biology* **140**, pp. 1395–1405 (1998)ISSN 0021-9525. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2132675/>. 13
- [32] M. J. DECASTRO, R. M. FONDECAVE, L. A. CLARKE, C. F. SCHMIDT & R. J. STEWART; “Working strokes by single molecules of the kinesin-related microtubule motor ncd”; *Nature Cell Biology* **2**, pp. 724–729 (2000). ISSN 1476-4679. https://www.nature.com/articles/ncb1000_724; number : 10 Publisher : Nature Publishing Group. 13
- [33] A. MITRA, L. MEISSNER, R. GANDHIMATHI, R. RENGER, F. RUHNOW & S. DIEZ; “Kinesin-14 motors drive a right-handed helical motion of antiparallel microtubules around each other”; *Nature Communications* **11**, p. 2565 (2020). ISSN 2041-1723. <https://www.nature.com/articles/s41467-020-16328-z>; number : 1 Publisher : Nature Publishing Group. 13
- [34] S. A. ENDOW, F. J. KULL & H. LIU; “Kinesins at a glance”; *Journal of Cell Science* **123**, p. 3420 (2010). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2951464/>; publisher : Company of Biologists. 13
- [35] S. J. KRON & J. A. SPUDICH; “Fluorescent actin filaments move on myosin fixed to a glass surface.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **83**, pp. 6272–6276 (1986)ISSN 0027-8424. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC386485/>. 13
- [36] A. M. R. KABIR, D. INOUE, T. AFRIN, H. MAYAMA, K. SADA & A. KAKUGO; “Buckling of Microtubules on a 2D Elastic Medium”; *Scientific Reports* **5**, p. 17222 (2015). ISSN 2045-2322. <https://www.nature.com/articles/srep17222>; number : 1 Publisher : Nature Publishing Group. 13
- [37] A. SCIORTINO & A. R. BAUSCH; “Pattern formation and polarity sorting of driven actin filaments on lipid membranes”; *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **118**, p. e2017047118 (2021). ISSN 0027-8424; number : 6 Place : Washington Publisher : Natl Acad Sciences WOS :000617355300047. 13, 14
- [38] Y. SUMINO, K. H. NAGAI, Y. SHITAKA, D. TANAKA, K. YOSHIKAWA, H. CHATÉ & K. OIWA; “Large-scale vortex lattice emerging from collectively moving microtubules”; *Nature* **483**, pp. 448–452 (2012). ISSN 1476-4687; number : 7390. 13, 14
- [39] S. WADA, A. M. R. KABIR, M. ITO, D. INOUE, K. SADA & A. KAKUGO; “Effect of length and rigidity of microtubules on the size of ring-shaped assemblies obtained through active self-organization”; *Soft Matter* **11**, pp. 1151–1157 (2015). ISSN 1744-6848. <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2015/sm/c4sm02292k>; number : 6 Publisher : The Royal Society of Chemistry. 13, 14, 66

- [40] D. INOUE, B. MAHMOT, A. M. R. KABIR, T. I. FARHANA, K. TOKURAKU, K. SADA, A. KONAGAYA & A. KAKUGO; “Depletion force induced collective motion of microtubules driven by kinesin”; *Nanoscale* **7**, pp. 18054–18061 (2015). ISSN 2040-3372. <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2015/nr/c5nr02213d>; number : 43 Publisher : The Royal Society of Chemistry. 13, 18
- [41] S. ARAKI, K. BEPPU, A. M. R. KABIR, A. KAKUGO & Y. T. MAEDA; “Controlling Collective Motion of Kinesin-Driven Microtubules via Patterning of Topographic Landscapes”; *Nano Letters* **21**, pp. 10478–10485 (2021). ISSN 1530-6984. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.1c03952>; number : 24 Publisher : American Chemical Society. 13
- [42] Y. TAMURA, R. KAWAMURA, K. SHIKINAKA, A. KAKUGO, Y. OSADA, J. P. GONG & H. MAYAMA; “Dynamic self-organization and polymorphism of microtubule assembly through active interactions with kinesin”; *Soft Matter* **7**, pp. 5654–5659 (2011). ISSN 1744-6848. <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2011/sm/c1sm05413a>; number : 12 Publisher : The Royal Society of Chemistry. 13
- [43] J. J. KEYA, R. SUZUKI, A. M. R. KABIR, D. INOUE, H. ASANUMA, K. SADA, H. HESS, A. KUZUYA & A. KAKUGO; “DNA-assisted swarm control in a biomolecular motor system”; *Nature Communications* **9**, pp. 1–8 (2018). ISSN 2041-1723. <https://www.nature.com/articles/s41467-017-02778-5>; number : 1 Publisher : Nature Publishing Group. 13
- [44] V. SCHALLER, K. M. SCHMOLLER, E. KARAKÖSE, B. HAMMERICH, M. MAIER & A. R. BAUSCH; “Crosslinking proteins modulate the self-organization of driven systems”; *Soft Matter* **9**, pp. 7229–7233 (2013). ISSN 1744-6848. <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2013/sm/c3sm50506e>; number : 30 Publisher : The Royal Society of Chemistry. 13
- [45] S. TSITKOV, Y. SONG, J. B. RODRIGUEZ, Y. ZHANG & H. HESS; “Kinesin-Recruiting Microtubules Exhibit Collective Gliding Motion while Forming Motor Trails”; *Acs Nano* **14**, pp. 16547–16557 (2020). ISSN 1936-0851; number : 12 Place : Washington Publisher : Amer Chemical Soc WOS :000603308800019. 14
- [46] R. URRUTIA, M. A. MCNIVEN, J. P. ALBANESI, D. B. MURPHY & B. KACHAR; “Purified kinesin promotes vesicle motility and induces active sliding between microtubules in vitro.” *Proceedings of the National Academy of Sciences* **88**, pp. 6701–6705 (1991). <https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.88.15.6701>; publisher : Proceedings of the National Academy of Sciences. 15
- [47] F. J. NÉDÉLEC, T. SURREY, A. C. MAGGS & S. LEIBLER; “Self-organization of microtubules and motors”; *Nature* **389**, pp. 305–308 (1997). ISSN 1476-4687. <https://www.nature.com/articles/38532>; number : 6648 Publisher : Nature Publishing Group. 15, 33, 34
- [48] T. SURREY, F. NEDELEC, S. LEIBLER & E. KARSENTI; “Physical properties determining self-organization of motors and microtubules”; *Science* **292**, pp. 1167–1171 (2001). ISSN 0036-8075; number : 5519 WOS :000168609200061. 15, 16, 34

- [49] J. ROOSTALU, J. RICKMAN, C. THOMAS, F. NEDELEC & T. SURREY; “Determinants of Polar versus Nematic Organization in Networks of Dynamic Microtubules and Mitotic Motors”; *Cell* **175**, pp. 796–+ (2018). ISSN 0092-8674; number : 3 WOS :000447780800020. 15, 34
- [50] B. LEMMA, N. P. MITCHELL, R. SUBRAMANIAN, D. J. NEEDLEMAN & Z. DOGIC; “Active microphase separation in mixtures of microtubules and tip-accumulating molecular motors”; arXiv :2107.12281 [cond-mat, physics :physics] (2021)<http://arxiv.org/abs/2107.12281>; arXiv : 2107.12281. 15, 16, 22, 34, 39, 49
- [51] P. M. BENDIX, G. H. KOENDERINK, D. CUVELIER, Z. DOGIC, B. N. KOELEMEN, W. M. BRIEHER, C. M. FIELD, L. MAHADEVAN & D. A. WEITZ; “A Quantitative Analysis of Contractility in Active Cytoskeletal Protein Networks”; *Biophysical Journal* **94**, pp. 3126–3136 (2008). ISSN 0006-3495. [https://www.cell.com/biophysj/abstract/S0006-3495\(08\)70469-7](https://www.cell.com/biophysj/abstract/S0006-3495(08)70469-7); number : 8 Publisher : Elsevier. 15, 34
- [52] F. BACKOUCHE, L. HAVIV, D. GROSWASSER & A. BERNHEIM-GROSWASSER; “Active gels : dynamics of patterning and self-organization”; *Physical Biology* **3**, pp. 264–273 (2006). ISSN 1478-3975. <https://doi.org/10.1088/1478-3975/3/4/004>; number : 4 Publisher : IOP Publishing. 15
- [53] Y. IDESES, V. ERUKHIMOVITCH, R. BRAND, D. JOURDAIN, J. S. HERNANDEZ, U. R. GABINET, S. A. SAFRAN, K. KRUSE & A. BERNHEIM-GROSWASSER; “Spontaneous buckling of contractile poroelastic actomyosin sheets”; *Nature Communications* **9**, p. 2461 (2018). ISSN 2041-1723. <https://www.nature.com/articles/s41467-018-04829-x>; bandiera_abtest : a Cc_license_type : cc_by Cg_type : Nature Research Journals Number : 1 Primary_atype : Research Publisher : Nature Publishing Group Subject_term : Biological physics;Biomaterials;Self-assembly Subject_term_id : biological-physics;biomaterials;self-assembly. 16, 34
- [54] Y. IDESES, A. SONN-SEGEV, Y. ROICHMAN & A. BERNHEIM-GROSWASSER; “Myosin II does it all : assembly, remodeling, and disassembly of actin networks are governed by myosin II activity”; *Soft Matter* **9**, pp. 7127–7137 (2013). ISSN 1744-6848. <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2013/sm/c3sm50309g>; number : 29 Publisher : The Royal Society of Chemistry. 16
- [55] J. ALVARADO, M. SHEINMAN, A. SHARMA, F. C. MACKINTOSH & G. H. KOENDERINK; “Molecular motors robustly drive active gels to a critically connected state”; *Nature Physics* **9**, pp. 591–597 (2013). ISSN 1745-2481. <http://www.nature.com/articles/nphys2715>; number : 9 Publisher : Nature Publishing Group. 16, 34, 37
- [56] P. J. FOSTER, S. FUERTHAUER, M. J. SHELLEY & D. J. NEEDLEMAN; “Active contraction of microtubule networks”; *Elife* **4**, p. e10837 (2015). ISSN 2050-084X; wOS :000373904100001. 16, 33, 34, 37
- [57] T. TORISAWA, D. TANIGUCHI, S. ISHIHARA & K. OIWA; “Spontaneous Formation of a Globally Connected Contractile Network in a Microtubule-Motor System”; *Biophysical Journal* **111**, pp. 373–385 (2016). ISSN 0006-3495; number : 2 WOS :000380371500014. 16, 34, 37

- [58] B. NAJMA, M. VARGHESE, L. TSIDILKOVSKI, L. LEMMA, A. BASKARAN & G. DUCLOS; “Competing instabilities reveal how to rationally design and control active crosslinked gels”; *Nature Communications* **13**, p. 6465 (2022). ISSN 2041-1723. <https://www.nature.com/articles/s41467-022-34089-9>; number : 1 Publisher : Nature Publishing Group. 16, 22, 49
- [59] G. SARFATI, A. MAITRA, R. VOITURIEZ, J.-C. GALAS & A. ESTEVEZ-TORRES; “Cross-linking and depletion determine spatial instabilities in cytoskeletal active matter”; *Soft Matter* **18**, pp. 3793–3800 (2022). ISSN 1744-6848. <http://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2022/sm/d2sm00130f>; publisher : The Royal Society of Chemistry. 16, 34, 48, 81
- [60] O. KUČERA, J. GAILLARD, C. GUÉRIN, M. THÉRY & L. BLANCHOIN; “Actin-microtubule dynamic composite forms responsive active matter with memory”; Technical report (2022). <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2022.01.10.475629v1>; company : Cold Spring Harbor Laboratory Distributor : Cold Spring Harbor Laboratory Label : Cold Spring Harbor Laboratory Section : New Results Type : article. 16
- [61] J. BEREZNEY, B. L. GOODE, S. FRADEN & Z. DOGIC; “Extensile to contractile transition in active microtubule-actin composites generates layered asters with programmable lifetimes”; arXiv :2110.00166 [cond-mat, physics :physics] (2021)<http://arxiv.org/abs/2110.00166>; arXiv : 2110.00166. 16
- [62] G. LEE, G. LEECH, M. J. RUST, M. DAS, R. J. MCGORTY, J. L. ROSSO & R. M. ROBERTSON-ANDERSON; “Myosin-driven actin-microtubule networks exhibit self-organized contractile dynamics”; *Science Advances* **7**, p. eabe4334 (2021). ISSN 2375-2548; number : 6 Place : Washington Publisher : Amer Assoc Advancement Science WOS :000615369000030. 16
- [63] M. BRAUN, Z. LANSKY, F. HILITSKI, Z. DOGIC & S. DIEZ; “Entropic forces drive contraction of cytoskeletal networks”; *BioEssays: News and Reviews in Molecular, Cellular and Developmental Biology* **38**, pp. 474–481 (2016). ISSN 1521-1878; number : 5. 16, 49
- [64] T. SANCHEZ, D. T. N. CHEN, S. J. DECAMP, M. HEYMANN & Z. DOGIC; “Spontaneous motion in hierarchically assembled active matter”; *Nature* **491**, pp. 431–434 (2012). ISSN 1476-4687. <https://www.nature.com/articles/nature11591>; number : 7424. 16, 17, 18, 20, 21, 22, 25, 28, 34, 55, 62
- [65] P. CHANDRAKAR, M. VARGHESE, S. AGHVAMI, A. BASKARAN, Z. DOGIC & G. DUCLOS; “Confinement Controls the Bend Instability of Three-Dimensional Active Liquid Crystals”; *Physical Review Letters* **125**, p. 257801 (2020). <https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevLett.125.257801>; number : 25 Publisher : American Physical Society. 16, 17, 33, 34, 35, 44
- [66] A. SENOSSI, S. KASHIDA, R. VOITURIEZ, J.-C. GALAS, A. MAITRA & A. ESTEVEZ-TORRES; “Tunable corrugated patterns in an active nematic sheet”; *Proceedings of the National Academy of Sciences* **116**, pp. 22464–22470 (2019). ISSN 0027-8424, 1091-6490.

- <https://www.pnas.org/content/116/45/22464>; number : 45. 16, 17, 25, 33, 34, 36, 41, 93, 94
- [67] T. STRÜBING, A. KHOSRAVANIZADEH, A. VILFAN, E. BODENSCHATZ, R. GOLESTANIAN & I. GUIDO; “Wrinkling Instability in 3D Active Nematics”; *Nano Letters* p. [acs.nanolett.0c01546](https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.nanolett.0c01546) (2020). ISSN 1530-6984, 1530-6992. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.nanolett.0c01546>. 16, 34, 41
- [68] P. BLEICHER, T. NAST-KOLB, A. SCIORTINO, Y. A. DE LA TROBE, T. POKRANT, J. FAIX & A. R. BAUSCH; “Intra-bundle contractions enable extensile properties of active actin networks”; *Scientific Reports* **11**, p. 2677 (2021). ISSN 2045-2322. <https://www.nature.com/articles/s41598-021-81601-0>; number : 1 Publisher : Nature Publishing Group. 16
- [69] T. E. BATE, E. J. JARVIS, M. E. VARNEY & K.-T. WU; “Collective dynamics of microtubule-based 3D active fluids from single microtubules”; *Soft Matter* **15**, pp. 5006–5016 (2019). ISSN 1744-683X; number : 25 WOS :000473053500017. 18
- [70] V. NASIRIMAREKANI, T. STRÜBING, A. VILFAN & I. GUIDO; “Tuning the Properties of Active Microtubule Networks by Depletion Forces”; *Langmuir* **37**, pp. 7919–7927 (2021). ISSN 0743-7463. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.1c00426>; number : 26 Publisher : American Chemical Society. 18, 34, 49
- [71] G. HENKIN, S. J. DECAMP, D. T. N. CHEN, T. SANCHEZ & Z. DOGIC; “Tunable dynamics of microtubule-based active isotropic gels”; *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* **372**, p. 20140142 (2014). <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rsta.2014.0142>; number : 2029 Publisher : Royal Society. 18, 41
- [72] K.-T. WU, J. B. HISHAMUNDA, D. T. N. CHEN, S. J. DECAMP, Y.-W. CHANG, A. FERNÁNDEZ-NIEVES, S. FRADEN & Z. DOGIC; “Transition from turbulent to coherent flows in confined three-dimensional active fluids”; *Science* **355**, p. eaal1979 (2017). ISSN 0036-8075, 1095-9203. <https://science.sciencemag.org/content/355/6331/eaal1979>; number : 6331. 18
- [73] K. SUZUKI, M. MIYAZAKI, J. TAKAGI, T. ITABASHI & S. ISHIWATA; “Spatial confinement of active microtubule networks induces large-scale rotational cytoplasmic flow”; *Proceedings of the National Academy of Sciences* **114**, pp. 2922–2927 (2017). ISSN 0027-8424, 1091-6490. <https://www.pnas.org/content/114/11/2922>; number : 11 Publisher : National Academy of Sciences Section : Biological Sciences. 18
- [74] Z. QU, D. SCHILDKNECHT, S. SHADKHOO, E. AMAYA, J. JIANG, H. J. LEE, D. LARIOS, F. YANG, R. PHILLIPS & M. THOMSON; “Persistent fluid flows defined by active matter boundaries”; *Communications Physics* **4**, pp. 1–9 (2021). ISSN 2399-3650. <https://www.nature.com/articles/s42005-021-00703-3>; number : 1 Publisher : Nature Publishing Group. 18

- [75] P. KRAIKIVSKI, R. LIPOWSKY & J. KIERFELD; “Enhanced Ordering of Interacting Filaments by Molecular Motors”; *Physical Review Letters* **96**, p. 258103 (2006). <https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevLett.96.258103>; number : 25 Publisher : American Physical Society. 18
- [76] J. RICKMAN, F. NÉDÉLEC & T. SURREY; “Effects of spatial dimensionality and steric interactions on microtubule-motor self-organization”; *Physical Biology* **16**, p. 046004 (2019). ISSN 1478-3975. <https://doi.org/10.1088%2F1478-3975%2Fab0fb1>; number : 4 Publisher : IOP Publishing. 18
- [77] G. A. Vliegenthart, A. Ravichandran, M. Ripoll, T. Auth & G. GOMPPER; “Filamentous active matter : Band formation, bending, buckling, and defects”; *Science Advances* **6**, p. eaaw9975 (2020). ISSN 2375-2548; number : 30 Place : Washington Publisher : Amer Assoc Advancement Science WOS :000552228100001. 18
- [78] T. BUTT, T. MUFTI, A. HUMAYUN, P. B. ROSENTHAL, S. KHAN, S. KHAN & J. E. MOLLOY; “Myosin Motors Drive Long Range Alignment of Actin Filaments”; *The Journal of Biological Chemistry* **285**, pp. 4964–4974 (2010). ISSN 0021-9258. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2836100/>; number : 7. 18
- [79] G. DUCLOS, R. ADKINS, D. BANERJEE, M. S. E. PETERSON, M. VARGHESE, I. KOLVIN, A. BASKARAN, R. A. PELCOVITS, T. R. POWERS, A. BASKARAN, F. TOSCHI, M. F. HAGAN, S. J. STREICHAN, V. VITELLI, D. A. BELLER & Z. DOGIC; “Topological structure and dynamics of three-dimensional active nematics”; *Science* **367**, pp. 1120–1124 (2020). ISSN 0036-8075, 1095-9203. <https://science.sciencemag.org/content/367/6482/1120>; number : 6482 Publisher : American Association for the Advancement of Science Section : Report. 18
- [80] S. J. DECAMP, G. S. REDNER, A. BASKARAN, M. F. HAGAN & Z. DOGIC; “Orientational order of motile defects in active nematics”; *Nature Materials* **14**, pp. 1110–1115 (2015). ISSN 1476-1122; number : 11 WOS :000363471900018. 19
- [81] B. MARTÍNEZ-PRAT, J. IGNÉS-MULLOL, J. CASADEMUNT & F. SAGUÉS; “Selection mechanism at the onset of active turbulence”; *Nature Physics* **15**, pp. 362–366 (2019). ISSN 1745-2481. <https://www.nature.com/articles/s41567-018-0411-6>; number : 4 Publisher : Nature Publishing Group. 19, 35
- [82] P. GUILLAMAT, J. IGNÉS-MULLOL, S. SHANKAR, M. C. MARCHETTI & F. SAGUÉS; “Probing the shear viscosity of an active nematic film”; *Physical Review E* **94**, p. 060602 (2016). <https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevE.94.060602>; number : 6 Publisher : American Physical Society. 19
- [83] B. MARTÍNEZ-PRAT, R. ALERT, F. MENG, J. IGNÉS-MULLOL, J.-F. JOANNY, J. CASADEMUNT, R. GOLESTANIAN & F. SAGUÉS; “Scaling Regimes of Active Turbulence with External Dissipation”; *Physical Review X* **11**, p. 031065 (2021). <https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevX.11.031065>; number : 3 Publisher : American Physical Society. 19

- [84] N. KUMAR, R. ZHANG, J. J. d. PABLO & M. L. GARDEL; “Tunable structure and dynamics of active liquid crystals”; *Science Advances* (2018). <https://www.science.org/doi/abs/10.1126/sciadv.aat7779>; publisher : American Association for the Advancement of Science. 19
- [85] J. HARDOÛIN, R. HUGHES, A. DOOSTMOHAMMADI, J. LAURENT, T. LOPEZ-LEON, J. M. YEOMANS, J. IGNÉS-MULLOL & F. SAGUÉS; “Reconfigurable flows and defect landscape of confined active nematics”; *Communications Physics* **2**, pp. 1–9 (2019). ISSN 2399-3650. <https://www.nature.com/articles/s42005-019-0221-x>; number : 1. 19, 20, 55, 58
- [86] A. OPATHALAGE, M. M. NORTON, M. P. N. JUNIPER, B. LANGESLAY, S. A. AGHVAMI, S. FRADEN & Z. DOGIC; “Self-organized dynamics and the transition to turbulence of confined active nematics”; *Proceedings of the National Academy of Sciences* **116**, pp. 4788–4797 (2019). ISSN 0027-8424, 1091-6490. <https://www.pnas.org/content/116/11/4788>; number : 11 Publisher : National Academy of Sciences Section : PNAS Plus. 19, 20, 21
- [87] J. HARDOÛIN, C. DORÉ, J. LAURENT, T. LOPEZ-LEON, J. IGNÉS-MULLOL & F. SAGUÉS; “Active boundary layers in confined active nematics”; *Nature Communications* **13**, p. 6675 (2022). ISSN 2041-1723. <https://www.nature.com/articles/s41467-022-34336-z>; number : 1 Publisher : Nature Publishing Group. 19
- [88] P. GUILLAMAT, J. IGNÉS-MULLOL & F. SAGUÉS; “Taming active turbulence with patterned soft interfaces”; *Nature Communications* **8**, pp. 1–8 (2017). ISSN 2041-1723. <https://www.nature.com/articles/s41467-017-00617-1>; number : 1 Publisher : Nature Publishing Group. 19
- [89] H. BAUMANN & T. SURREY; “Motor-mediated Cortical versus Astral Microtubule Organization in Lipid-monolayered Droplets”; *Journal of Biological Chemistry* **289**, pp. 22524–22535 (2014). ISSN 0021-9258; number : 32 WOS :000340593500061. 21
- [90] M. PINOT, F. CHESNEL, J. Z. KUBIAK, I. ARNAL, F. J. NEDELEC & Z. GUEROUI; “Effects of Confinement on the Self-Organization of Microtubules and Motors”; *Current Biology* **19**, pp. 954–960 (2009). ISSN 0960-9822. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960982209010252>; number : 11. 21
- [91] M. P. N. JUNIPER, M. WEISS, I. PLATZMAN, J. P. SPATZ & T. SURREY; “Spherical network contraction forms microtubule asters in confinement”; *Soft Matter* **14**, pp. 901–909 (2018). ISSN 1744-6848. <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2018/sm/c7sm01718a>; number : 6. 21
- [92] F. C. KEBER, E. LOISEAU, T. SANCHEZ, S. J. DECAMP, L. GIOMI, M. J. BOWICK, M. C. MARCHETTI, Z. DOGIC & A. R. BAUSCH; “Topology and dynamics of active nematic vesicles”; *Science* **345**, pp. 1135–1139 (2014). ISSN 0036-8075, 1095-9203. <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1254784>; number : 6201. 21, 22, 55, 58

- [93] M. CLAIRAND, A. MOZAFFARI, J. HARDOÛIN, R. ZHANG, C. DORÉ, J. IGNÉS-MULLOL, F. SAGUÉS, J. J. DE PABLO & T. LOPEZ-LEON; “Dynamics of active defects on the anisotropic surface of an ellipsoidal droplet”; (2023). <http://arxiv.org/abs/2303.13312>; arXiv :2303.13312 [cond-mat]. 21, 22
- [94] A. LOISY, J. EGGERS & T. B. LIVERPOOL; “How many ways a cell can move : the modes of self-propulsion of an active drop”; arXiv :2001.03970 [cond-mat] (2020)<http://arxiv.org/abs/2001.03970>; arXiv : 2001.03970. 21, 65
- [95] P. GUILLAMAT, Z. KOS, J. HARDOÛIN, J. IGNÉS-MULLOL, M. RAVNIK & F. SAGUÉS; “Active nematic emulsions”; *Science Advances* **4**, p. eaao1470 (2018). ISSN 2375-2548. <https://advances.sciencemag.org/content/4/4/eaao1470>; number : 4. 22
- [96] D. KHOROMSKAIA & G. P. ALEXANDER; “Motility of active fluid drops on surfaces”; *Physical Review E* **92**, p. 062311 (2015). <https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevE.92.062311>; number : 6 Publisher : American Physical Society. 22
- [97] C. A. WHITFIELD & R. J. HAWKINS; “Instabilities, motion and deformation of active fluid droplets”; *New Journal of Physics* **18**, p. 123016 (2016). ISSN 1367-2630. <https://doi.org/10.1088%2F1367-2630%2F18%2F12%2F123016>; number : 12 Publisher : IOP Publishing. 22
- [98] T. GAO & Z. LI; “Self-Driven Droplet Powered By Active Nematics”; *Physical Review Letters* **119**, p. 108002 (2017). <https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevLett.119.108002>; number : 10. 22, 67
- [99] A. LOISY, J. EGGERS & T. B. LIVERPOOL; “Tractionless Self-Propulsion of Active Drops”; *Physical Review Letters* **123**, p. 248006 (2019). <https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevLett.123.248006>; publisher : American Physical Society. 22
- [100] E. TJHUNG, A. TIRIBOCCHI, D. MARENUZZO & M. E. CATES; “A minimal physical model captures the shapes of crawling cells”; *Nature Communications* **6**, p. 5420 (2015). ISSN 2041-1723. <https://www.nature.com/articles/ncomms6420>; number : 1 Publisher : Nature Publishing Group. 22
- [101] N. J. CIRA, A. BENUSIGLIO & M. PRAKASH; “Vapour-mediated sensing and motility in two-component droplets”; *Nature* **519**, pp. 446–450 (2015). ISSN 1476-4687. <https://www.nature.com/articles/nature14272>; number : 7544 Publisher : Nature Publishing Group. 22
- [102] D. A. GAGNON, C. DESSI, J. P. BEREZNEY, R. BOROS, D. T.-N. CHEN, Z. DOGIC & D. L. BLAIR; “Shear-Induced Gelation of Self-Yielding Active Networks”; *Physical Review Letters* **125**, p. 178003 (2020). <https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevLett.125.178003>; number : 17 Publisher : American Physical Society. 24, 43, 89
- [103] M. VALET, L.-L. PONTANI, A. PREVOST & E. WANDERSMAN; “Quasistatic Microdroplet Production in a Capillary Trap”; *Physical Review Applied* **9**, p. 014002 (2018). <https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevApplied.9.014002>; number : 1 Publisher : American Physical Society. 25, 26

- [104] K. VISSCHER, M. J. SCHNITZER & S. M. BLOCK; “Single kinesin molecules studied with a molecular force clamp”; *Nature* **400**, pp. 184–189 (1999). ISSN 0028-0836; number : 6740. 46
- [105] W. HUA, E. C. YOUNG, M. L. FLEMING & J. GELLES; “Coupling of kinesin steps to ATP hydrolysis”; *Nature* **388**, pp. 390–393 (1997). ISSN 1476-4687. <https://www.nature.com/articles/41118>; number : 6640 Publisher : Nature Publishing Group. 46
- [106] E. HEMINGWAY, A. MAITRA, S. BANERJEE, M. MARCHETTI, S. RAMASWAMY, S. FIELDING & M. CATES; “Active Viscoelastic Matter : From Bacterial Drag Reduction to Turbulent Solids”; *Physical Review Letters* **114**, p. 098302 (2015). <https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevLett.114.098302>; publisher : American Physical Society. 48
- [107] E. J. HEMINGWAY, A. MAITRA, S. BANERJEE, M. C. MARCHETTI, S. RAMASWAMY, S. M. FIELDING & M. E. CATES; “Active Viscoelastic Matter : From Bacterial Drag Reduction to Turbulent Solids”; *Phys. Rev. Lett.* **114**, p. 098302 (2015). <https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevLett.114.098302>. 81, 82, 84, 89
- [108] A. MAITRA & S. RAMASWAMY; “Oriented Active Solids”; *Phys. Rev. Lett.* **123**, p. 238001 (2019). <https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevLett.123.238001>. 81, 82, 85, 89, 91, 92, 93
- [109] A. MAITRA, P. SRIVASTAVA, M. C. MARCHETTI, J. S. LINTUVUORI, S. RAMASWAMY & M. LENZ; “A nonequilibrium force can stabilize 2D active nematics”; *Proceedings of the National Academy of Sciences* **115**, pp. 6934–6939 (2018). ISSN 0027-8424. <https://www.pnas.org/content/115/27/6934>; <https://www.pnas.org/content/115/27/6934.full.pdf>. 83, 86
- [110] A. MAITRA, P. SRIVASTAVA, M. C. MARCHETTI, S. RAMASWAMY & M. LENZ; “Swimmer Suspensions on Substrates : Anomalous Stability and Long-Range Order”; *Phys. Rev. Lett.* **124**, p. 028002 (2020). <https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevLett.124.028002>. 83
- [111] T. C. LUBENSKY, R. MUKHOPADHYAY, L. RADZIHOVSKY & X. XING; “Symmetries and elasticity of nematic gels”; *Phys. Rev. E* **66**, p. 011702 (2002). <https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevE.66.011702>. 85, 91, 92, 93
- [112] R. VOITURIEZ, J. F. JOANNY & J. PROST; “Spontaneous flow transition in active polar gels”; *Europhysics Letters (EPL)* **70**, pp. 404–410 (2005). <https://doi.org/10.1209/ep1/i2004-10501-2>. 86
- [113] R. ADITI SIMHA & S. RAMASWAMY; “Hydrodynamic Fluctuations and Instabilities in Ordered Suspensions of Self-Propelled Particles”; *Phys. Rev. Lett.* **89**, p. 058101 (2002). <https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevLett.89.058101>. 86, 95
- [114] M. C. MARCHETTI, J. F. JOANNY, S. RAMASWAMY, T. B. LIVERPOOL, J. PROST, M. RAO & R. A. SIMHA; “Hydrodynamics of soft active matter”; *Rev. Mod. Phys.* **85**, pp. 1143–1189 (2013). <https://link.aps.org/doi/10.1103/RevModPhys.85.1143>. 86

- [115] PETER D. OLMSTED ; “Rotational invariance and Goldstone modes in nematic elastomers and gels” ; *J. Phys. II France* **4**, pp. 2215–2230 (1994). <https://doi.org/10.1051/jp2:1994257>. 93
- [116] T. C. ADHYAPAK, S. RAMASWAMY & J. TONER ; “Live Soap : Stability, Order, and Fluctuations in Apolar Active Smectics” ; *Phys. Rev. Lett.* **110**, p. 118102 (2013). <https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevLett.110.118102>. 94
- [117] A. MAITRA ; “Floating flocks : 2D long-range uniaxial order in 3D active fluids” ; (2021) ; **2110.15633**. 95, 96
- [118] A. COLIN ; *L'Économique* ; trad. française de la 7ème édition de economics edition (1968). 100
- [119] W. STEFFEN, W. BROADGATE, L. DEUTSCH, O. GAFFNEY & C. LUDWIG ; “The trajectory of the Anthropocene : The Great Acceleration” ; *The Anthropocene Review* **2**, pp. 81–98 (2015). ISSN 2053-0196. <https://doi.org/10.1177/2053019614564785> ; publisher : SAGE Publications. 100
- [120] N. GEORGESCU-ROEGEN ; *The Entropy Law and the Economic Process* (1971). 100
- [121] ; “The Great Acceleration” ; <https://anthropocene.info/great-acceleration.php>. 101
- [122] W. W. B. III ; *The Limits To Growth* (1972). 101
- [123] G. M. TURNER ; “On the Cusp of Global Collapse? Updated Comparison of The Limits to Growth with Historical Data” ; *GAIA - Ecological Perspectives for Science and Society* **21**, pp. 116–124 (2012). 102
- [124] E. V. SHANTSER ; *Great Soviet Encyclopedia Vol. 2* ; prokhorov, a. m. edition (1922). 102
- [125] E. F. S. PAULJ. CRUTZEN ; “The Anthropocene” ; **41**, pp. 17–18. 102
- [126] J. ROCKSTROM, W. STEFFEN, K. NOONE, A. PERSSON, F. S. CHAPIN, E. LAMBIN, T. M. LENTON, M. SCHEFFER, C. FOLKE, H. J. SCHELLNHUBER, B. NYKVIST, C. A. DE WIT, T. HUGHES, S. VAN DER LEEUW, H. RODHE, S. SORLIN, P. K. SNYDER, R. COSTANZA, U. SVEDIN, M. FALKENMARK, L. KARLBERG, R. W. CORELL, V. J. FABRY, J. HANSEN, B. WALKER, D. LIVERMAN, K. RICHARDSON, P. CRUTZEN & J. FOLEY ; “Planetary Boundaries : Exploring the Safe Operating Space for Humanity” ; *Ecology and Society* **14**, p. 32 (2009)ISSN 1708-3087 ; number : 2 Place : Wolfville Publisher : Resilience Alliance WOS :000278707200010. 102
- [127] K. RAWORTH ; *La théorie du Donut* ; trad. française laurent bury, editions plon edition (2017). 102
- [128] L. WANG-ERLANDSSON, A. TOBIAN, R. J. VAN DER ENT, I. FETZER, S. TE WIERIK, M. PORKKA, A. STAAL, F. JARAMILLO, H. DAHLMANN, C. SINGH, P. GREVE, D. GERTEN, P. W. KEYS, T. GLEESON, S. E. CORNELL, W. STEFFEN, X. BAI & J. ROCKSTRÖM ; “A planetary boundary for green water” ; *Nature Reviews Earth & Environment* **3**, pp. 380–392 (2022). ISSN 2662-138X. <https://www.nature.com/articles/s43017-022-00287-8> ; number : 6 Publisher : Nature Publishing Group. 104

- [129] L. LEBRETON, B. SLAT, F. FERRARI, B. SAINTE-ROSE, J. AITKEN, R. MARTHOUSE, S. HAJBANE, S. CUNSOLO, A. SCHWARZ, A. LEVIVIER, K. NOBLE, P. DEBELJAK, H. MARAL, R. SCHOENEICH-ARGENT, R. BRAMBINI & J. REISSER; “Evidence that the Great Pacific Garbage Patch is rapidly accumulating plastic”; *Scientific Reports* **8**, p. 4666 (2018). ISSN 2045-2322. <https://www.nature.com/articles/s41598-018-22939-w>; number : 1 Publisher : Nature Publishing Group. 105
- [130] S. J. LADE, W. STEFFEN, W. DE VRIES, S. R. CARPENTER, J. F. DONGES, D. GERTEN, H. HOFF, T. NEWBOLD, K. RICHARDSON & J. ROCKSTRÖM; “Human impacts on planetary boundaries amplified by Earth system interactions”; *Nature Sustainability* **3**, pp. 119–128 (2020). ISSN 2398-9629. <http://www.nature.com/articles/s41893-019-0454-4>; number : 2 Publisher : Nature Publishing Group. 106
- [131] W. STEFFEN, K. RICHARDSON, J. ROCKSTRÖM, S. E. CORNELL, I. FETZER, E. M. BENNETT, R. BIGGS, S. R. CARPENTER, W. DE VRIES, C. A. DE WIT, C. FOLKE, D. GERTEN, J. HEINKE, G. M. MACE, L. M. PERSSON, V. RAMANATHAN, B. REYERS & S. SÖRLIN; “Planetary boundaries : Guiding human development on a changing planet”; *Science* **347**, p. 1259855 (2015). <http://www.science.org/doi/full/10.1126/science.1259855>; number : 6223 Publisher : American Association for the Advancement of Science. 106
- [132] C. PESSIS; *Survivre et Vivre, Critique de la Science, Naissance de l'Ecologie*; l'échappée edition (2014). 106, 107
- [133] A. GROTHENDIECK; “Comment je suis devenu militant”; **6**, pp. 9–10. 106
- [134] R. G. ALEXANDRE GROTHENDIECK; “Survivre à la recherche militaire”; . 107
- [135] ALEXANDRE GROTHENDIECK; “Allons-nous continuer la recherche scientifique?” (1972). <https://sciences-critiques.fr/allons-nous-continuer-la-recherche-scientifique/>. 107
- [136] B. COMMONER; *The Closing Circle : Nature, Man, and technology*; knopf edition (1971). 107
- [137] A. BARRAU; *De la vérité dans les sciences*; dunau edition (2016). 107
- [138] P. BIHOUIX; *Le bonheur était pour demain : Les rêveries d'un ingénieur solitaire*; seuil edition (2019). 107
- [139] F. GRANER; “Devons-nous arrêter la recherche?” https://www.piecesetmaindoeuvre.com/spip.php?page=resume&id_article=1573. 107
- [140] L. NOUALHAT; “Il chauffe sur le climat”; Libération. 107
- [141] H. KEMPF; “On ne parle pas assez du génie de Jean-Marc Jancovici”; Reporterre. 107
- [142] J.-M. J. CHRISTOPHE BLAIN; *Le Monde sans fin*; dargaud edition (2021). 108
- [143] “Jancovici memes”; <https://www.facebook.com/people/Jancovici-memes/100070586284705/>. 108

- [144] T. S. PROJECT; *Climat, crises : Le plan de transformation de l'économie française*; odile jacob edition (2022). 108
- [145] NÉGAWATT; “La transition énergétique au cœur d’une transition sociétale”; <https://negawatt.org/IMG/pdf/synthese-scenario-negawatt-2022.pdf>. 108
- [146] R. DE TRANSPORT D’ÉLECTRICITÉ; “Futurs énergétiques 2050”; <https://www.rte-france.com/analyses-tendances-et-prospectives/bilan-previsionnel-2050-futurs-energetiques#Lesdocuments>. 108
- [147] G. DE TRAVAIL PRÉSIDÉ PAR JEAN JOUZEL; “Sensibiliser et former aux enjeux de la transition écologique et du développement durable dans l’enseignement supérieur”; https://www.univ-evry.fr/fileadmin/mediatheque/ueve-institutionnel/01_Universite/Campus_Durable/Rapport-Jouzel2-Re__usume__u-exe__ucatif.pdf. 108
- [148] IPCC; “AR6 Synthesis Report”; <https://www.ipcc.ch/report/ar6/syr/>. 108
- [149] “Rapport d’expertise, révision 2021”; Présentation au conseil d’administration de Sorbonne Université. 109
- [150] P. E. BROCKWAY, S. SORRELL, G. SEMIENIUK, M. K. HEUN & V. COURT; “Energy efficiency and economy-wide rebound effects : A review of the evidence and its implications”; *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **141**, p. 110781 (2021). ISSN 1364-0321. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1364032121000769>. 109
- [151] W. F. LAMB, G. MATTIOLI, S. LEVI, J. T. ROBERTS, S. CAPSTICK, F. CREUTZIG, J. C. MINX, F. MÜLLER-HANSEN, T. CULHANE & J. K. STEINBERGER; “Discourses of climate delay”; *Global Sustainability* **3** (2020). ISSN 2059-4798. <https://www.cambridge.org/core/journals/global-sustainability/article/discourses-of-climate-delay/7B11B722E3E3454BB6212378E32985A7>; publisher : Cambridge University Press. 110
- [152] D. H. MEADOWS; “Leverage Points : Places to Intervene in a System”; . 111
- [153] CORINA ANGHELOIU & M. TENNANT; “Urban futures__ Systemic or system changing interventions? A literature review using Meadows’ leverage points as analytical framework | Elsevier Enhanced Reader”; <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0264275119313265?token=B74DE9632AFAB3B432340D5692684C237D91A93D67D6A77B6B1A0B73271C4D9A857A42C7460765048621E30originRegion=eu-west-1&originCreation=20230130135721>. 111
- [154] A. GUTERRES; “Communiqué de Presse lors de la journée Météorologique Mondiale”; <https://press.un.org/fr/2023/sgsm21739.doc.htm>. 112
- [155] ONU; “Madagascar : l’ONU craint une aggravation de la première famine au monde due au changement climatique”; (2021). <https://news.un.org/fr/story/2021/11/1107612>. 113
- [156] AURÉLIE KIEFFER, SONIA GHEZALI, ANNIE BRAULT, CAROLINE BENNETOT; “Le Pakistan sous les eaux, en première ligne du dérèglement climatique”;

- (2022). <https://www.radiofrance.fr/franceculture/podcasts/grand-reportage/le-pakistan-sous-les-eaux-en-premiere-ligne-du-dereglement-climatique-2982580>. 113
- [157] IPCC; “IPCC AR6 WGII SPM — Impacts, Adaptation and Vulnerability”; https://www.ipcc.ch/report/ar6/wg2/downloads/report/IPCC_AR6_WGII_SummaryForPolicymakers.pdf. 113
- [158] F. H. MAGALI REGHEZZA; “Les méga-bassines sont-elles des solutions viables face aux sécheresses?” <https://bonpote.com/les-mega-bassines-sont-elles-des-solutions-viables-face-aux-secheresses/>. 114
- [159] MARION BRISWALTER; “À Sainte-Soline, « la lutte contre les projets inutiles et écocidaires se poursuit »”; <https://www.mediapart.fr/journal/france/250323/sainte-soline-la-lutte-contre-les-projets-inutiles-et-ecocidaires-se-poursuit> (2023). 114
- [160] MARION BRISWALTER; “Sainte-Soline, le jour d’après : « Il n’y a eu aucun discernement des forces de l’ordre »”; <https://www.mediapart.fr/journal/france/260323/sainte-soline-le-jour-d-apres-il-n-y-eu-aucun-discernement-des-forces-de-l-ordre> (2023). 114
- [161] COLLECTIF; *Rencontres intimes avec l’Anthropocène*; de la chopinière edition (2021). 114
- [162] G. TARDE; *L’Opinion et la Foule*; paris : puf edition ([1901],1989). 114
- [163] J. MARIETTE, O. BLANCHARD, O. BERNÉ, O. AUMONT, J. CARREY, A. LIGOZAT, E. LELLOUCH, P.-E. ROCHE, G. GUENNEBAUD, J. THANWERDAS, P. BARDOU, G. SALIN, E. MAIGNE, S. SERVAN & T. BEN-ARI; “An open-source tool to assess the carbon footprint of research”; *Environmental Research: Infrastructure and Sustainability* **2**, p. 035008 (2022). ISSN 2634-4505. <https://dx.doi.org/10.1088/2634-4505/ac84a4>; publisher : IOP Publishing. 114
- [164] M. D. PAEPE, L. JEANNEAU, J. MARIETTE, O. AUMONT & A. ESTEVEZ-TORRES; “Purchases dominate the carbon footprint of research laboratories”; (2023). <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2023.04.04.535626v1>; pages : 2023.04.04.535626 Section : New Results. 115
- [165] “Scientist Rebellion : Positions and demands”; <https://scientistrebillion.com/our-positions-and-demands/>. 115
- [166] A. ESTEVEZ-TORRES; “Présentation de l’empreinte carbone du LJP”; <https://www.labojeanperrin.fr/?news69>. 115
- [167] C. L. e. A. E.-T. LOÏC MARREC; “Présentation de l’empreinte carbone du LJP”; <https://www.labojeanperrin.fr/?news69>. 116
- [168] “Des agros qui bifurquent : le discours”; <https://universiteouverte.org/2022/05/12/des-agros-qui-bifurquent-le-discours/>. 119