

## JOURNEES SCIENCES ET TECHNOLOGIE LycéeBuffon PARIS 15<sup>ème</sup> 13 14 MARS

La **biologie de synthèse**, ou **biologie synthétique**, est un domaine scientifique et biotechnologique émergent qui combine biologie et principes d'ingénierie, dans le but de concevoir et construire (« synthétiser ») de nouveaux systèmes et fonctions biologiques. Les domaines d'applications déjà très nombreux investissent les secteurs des recherches fondamentales et appliquées notamment la santé, l'agriculture, l'énergie, mais également le domaine en plein essor des nanobiotechnologies.

La biologie synthétique est donc un outil de recherche afin d'améliorer notre compréhension des principes gouvernant le fonctionnement du vivant : apprendre en construisant ; c'est aussi une stratégie pour construire de façon fiable des organismes accomplissant des fonctions biologiques complexes et répondant à diverses applications.

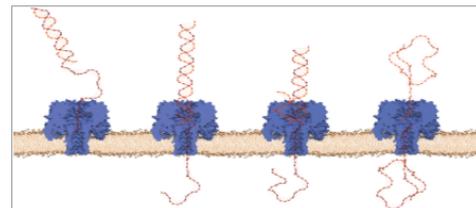
**Laurent BACRI (laboratoire Cergy-Evry)**

**Thème de la conférence : Etude du transport d'objet biologique à travers des pores nanométriques.**

---

### 1- Principe :

Les pores nanométriques appelés aussi nanopores sont des protéines du type protéine canal insérées dans une membrane. L'ensemble permet de délimiter deux compartiments qui ne communiquent que par les substances pouvant traverser les pores formés par les protéines. L' $\alpha$  hémolysine de *Staphylococcus aureus* est



une des protéines canal qui est la plus utilisée. Cette protéine synthétisée *in vitro* est intégrée dans une membrane lipidique qui sépare alors deux compartiments. Si on applique une différence de potentiel de l'ordre de 100mV entre ces deux compartiments contenant du KCl, on peut alors mettre en évidence la présence d'un courant d'une intensité voisine de 100pA : les ions  $K^+$  et  $Cl^-$  sous l'influence du champ électrique, traversent le pore formé par l' $\alpha$  hémolysine. Ce système peut être utilisé en plaçant dans un des compartiments une molécule capable de se faufiler dans la protéine canal. On mesure durant le temps du passage de la molécule, une baisse de l'intensité du courant du au caractère moins conducteur de la molécule comparé aux ions  $K^+$  et  $Cl^-$ . On parle alors de blocage du courant. Le temps de passage de la molécule, ainsi que la baisse de l'intensité du courant mesurée, sont caractéristiques de la molécule qui traverse le pore.

Grâce à cette technique utilisant les nanopores et le blocage de courant, il est possible d'analyser et/ou de détecter une seule molécule spécifique.

### 2- Exemples de molécules transférées et applications :

- Les acides nucléiques

En 1996 : transfert d'une molécule de polyU. Selon le type de blocage, le sens de transfert de la molécule (3' vers 5' ou 5' vers 3') peut être déterminé.

En 2006 : construction d'un nouveau nanopore. Il est constitué d' $\alpha$  hémolysine dans laquelle un adaptateur, la cyclodextrine, a été rajoutée. Cet adaptateur interagit de manière différente avec chaque base azotée créant ainsi des blocages différents selon le nucléotide qui traverse ce nanopore.



différents  
Grâce à ce

nouveau système, il est désormais possible de séquencer des simples brins d'ADN. En 2015, ces nouveaux nanopores sont intégrés dans de petits appareils portatifs.



Photo du séquenceur MinION (Oxford nanopore technology®) : séquenceur à usage unique intégré dans une clé USB dont il tire son alimentation. La séquence de l'ADN issue par exemple du sang est directement transférée sur l'ordinateur (le tout 900\$). La même technologie est développée chez le SmidgION (Oxford nanopore technology®) qui lui se relie à un téléphone portable.

- Les nanoanalyses et biocapteurs ou biomarqueurs

Les microARN (ou miARN) sont des ARN de petites tailles (18-24 nt), présents naturellement dans les cellules saines, qui sont capables de réguler l'expression post-transcriptionnelle des gènes. Ces petits ARN sont capables de s'hybrider aux ARNm et d'empêcher alors la traduction de la portion correspondante de l'ARNm. Ces miARN interviennent par exemple dans les cellules de peau où, en s'hybridant avec l'ARNm codant pour des protéines impliquées dans la formation du suc gastrique, ils empêchent sa formation. Inversement, dans les cellules de l'estomac, des miARN s'hybrident avec l'ARNm codant pour une enzyme permettant la synthèse de la mélanine, et empêchent donc la synthèse de la mélanine.

Des travaux récents montrent que l'expression défectueuse de gènes dans les cellules cancéreuses pourrait provenir de l'absence ou de la surabondance de ces micro ARN. Il semble que, pour un cancer donné, et à chaque étape de son évolution, les cellules cancéreuses présentent une signature de miARN spécifiques. Ces miARN sont retrouvés dans le cytoplasme des cellules, mais également dans les liquides extracellulaires comme l'urine ou le sérum. Une simple analyse d'urine pourrait révéler, grâce à l'analyse des ces microARN, la présence d'un cancer et son stade de développement. L'intérêt de la technique utilisant les nanopores est qu'elle ne nécessite pas l'amplification préalable des miARN et qu'elle est capable de détecter la présence d'une très faible quantité de microARN (de l'ordre d'une picomole).

Exemple : détection du stade précoce du cancer du poumon à l'aide de cette technique avec une sensibilité de 81% et une spécificité de 87% grâce à la mise en évidence de 3 miARN.

- Applications futures

Séquençage de protéines, séquençage de polysaccharides.

**Bernard LEBLEU (Professeur Emérite des universités)**

**Thème de la conférence : « Nouvelles modalités de régulation de l'expression des gènes et développement des biotechnologies pour la santé »**

---

Les mécanismes d'expression des gènes ont été découverts chez la bactérie *E.coli* (cf la régulation de l'opéron lactose par Jacob, Monod et Lwoff 1965). Chez les eucaryotes, des mécanismes de régulation différents existent. Il s'agit :

- des mécanismes permettant le contrôle épigénétique de l'expression des gènes (mécanismes conduisant à la décompaction de la chromatine pour permettre l'expression des gènes) ;
- de l'épissage alternatif des gènes qui sont morcelés chez les eucaryotes ;
- de l'action d'ARN interférence.

Il existe dans les cellules de petits ARN interférents. Il s'agit des *siARN* (ou Small interfering RNA correspondant à des petits ARN double brin) ou *miARN* (ou micro ARN correspondant à de petits ARN simple brin) qui sont complémentaires d'ARNm. En s'associant par complémentarité à leur cible et en recrutant des protéines (complexe RISC), les complexes formés empêchent la traduction ou provoquent la destruction de l'ARNm cible.

(Pour plus d'information, consulter la vidéo de la revue Nature review genetics :

<http://www.nature.com/nrg/multimedia/rnai/animation/index.html> ou [http://svt.ac-creteil.fr/archives/Big\\_mag/Actualite/arn/arn.htm#](http://svt.ac-creteil.fr/archives/Big_mag/Actualite/arn/arn.htm#))

## **1- Les biomolécules comme médicaments**

L'intérêt des biomolécules comparées à des substances chimiques banales, c'est qu'elles peuvent agir de manière spécifique sur leur cible. Leur inconvénient, c'est qu'elles sont sensibles à la dégradation, qu'elles ne passent généralement pas les membranes, et que leur coût de production est relativement élevé.

Les premières biomolécules qui ont été utilisées comme médicaments sont les polypeptides avec l'insuline recombinante (voir toutes les formes d'insuline produites (lentes et rapides). Marché en plein essor avec l'augmentation du nombre de diabétique dans le monde).

Recherches alternatives : insuline par voie orale/ pancréas artificiel/ transplantation d'ilots de Langerhans (thérapie cellulaire))

## **2- Les acides nucléiques comme médicaments**

Des ADN peuvent être utilisés dans un but de thérapie génique. L'objectif est alors de remplacer le gène défectueux par un gène sain.

Exemple du Glybera (société UniQure) pour le traitement d'un déficit familial en lipoprotéine lipase.

La thérapie génique connaît un développement récent grâce à l'essor de la technologie CRISPR-CAS9 : cette technique permet d'éviter les insertions non ciblées du gène médicament introduit puisque basée sur le principe de recombinaison homologue.

La stratégie des anti-sens

Cette technique permet d'inactiver une cible. La fixation d'un ARN anti-sens sur l'ARNm dont il est spécifique entraîne le blocage de la traduction et/ou la destruction de l'ARNm (clivage de l'ARN double brin par la RNaseH).

Une des contraintes majeure de cette technique est l'accessibilité de la cible (entrée de l'ARN ou ADN médicament et non accès de la cible si repliement de l'ARNm).

Applications :

Traitement de l'hypercholestérolémie avec des ARN anti-sens inhibiteur de l'ApoB

Traitement de la DMLA avec des ARN anti-sens qui se lie spécifiquement au récepteur du facteur de croissance VEGF. Le récepteur est alors inactivé et l'angiogenèse inhibée.

### Les oligonucléotides et la correction d'épissage

L'objectif ici est d'orienter l'épissage alternatif de l'ARN pré-messager et de rendre sa fonction à la protéine.

Application : chez 10% des patients atteints de la dystrophie musculaire de Duchenne il y a perte de l'exon n°50 ce qui entraîne un déphasage du cadre de lecture et l'apparition d'un codon STOP. La protéine résultante est tronquée et n'est donc plus fonctionnelle (elle ne peut plus former un pont entre l'actine et la membrane plasmique). L'idée est ici de diriger l'épissage à l'aide d'un ARN anti-sens pour que l'exon 51 incomplet soit éliminé et que la phase de lecture de traduction du gène soit conservée. La dystrophine issue de la traduction du gène modifié est légèrement plus petite que la sauvage mais conserve néanmoins sa fonction.

### Les aptamères

C'est un oligonucléotide (environ 20 mers) qui prend une conformation lui permettant de se lier à une autre molécule. Pour concevoir un tel aptamère, on construit une banque d'oligonucléotides synthétiques (il faudra par exemple synthétiser  $4^{20}$  oligonucléotides de 20 nucléotides différents). On mélange à cette banque la cible que l'on souhaite neutraliser et on sélectionne puis identifie l'oligonucléotide qui interagît avec elle.

Applications : anti-coagulant (aptamère dirigé contre le facteur IXa utilisé pour le traitement des thromboses), anti-inflammatoires etc...

Ludovic Julien nous propose de réexaminer des objets biologiques avec le regard d'un chimiste.

### 1- La cellule vue par un chimiste...

Il observe la cellule et s'interroge sur la définition qu'un chimiste pourrait donner de la cellule :

- ✓ Une cellule est concentrée ;
- ✓ Une cellule n'est pas un corps pur mais un mélange complexe ;
- ✓ Une cellule est fragile : elle synthétise et dégrade à la fois ;
- ✓ Une cellule n'est pas constante : elle s'adapte aux contraintes du milieu extérieur ;
- ✓ Une cellule consomme en permanence de l'énergie : on a besoin de la nourrir pour qu'elle existe ! (le chimiste s'étonne car la matière, comme par exemple celle constituant la table n'a pas besoin d'être nourrie pour exister).
- ✓ Une cellule évolue, a une dynamique singulière (elle n'est pas figée comme du verre, pas totalement chaotique, mais en évolution contrairement à un cristal de NaCl par exemple qui lui ne change pas) ; Une cellule résulte donc d'une longue expérience chimique et continue à évoluer.

Un chimiste sait fabriquer des médicaments, synthétiser des substances....mais une cellule à quoi peut elle bien servir pour le chimiste ?

### 2- La cellule vivante est-elle une cible chimique attractive ?

En utilisant les propriétés de la cellule définies précédemment, le chimiste pourrait utiliser les cellules pour fabriquer des biomatériaux auto-adaptatifs, des systèmes autonomes. Elles peuvent être également utilisées pour effectuer des analyses (par exemple la qualité de l'air, qualité de l'eau). D'un point de vu fondamental, la cellule est un objet d'étude intéressant : elle stocke l'information génétique et résulte d'un processus évolutif complexe : son étude peut permettre de comprendre son histoire physico-chimique ce qui revient à comprendre l'histoire de la Terre !

Il est donc intéressant pour un chimiste de construire un organisme chimique vivant.

### 3- La vie comme un défi chimique

Pour reproduire la vie, les scientifiques ont commencé par essayer de reproduire les molécules qui la constituent. Mais ce n'est pas suffisant car si on mélange ces molécules ensemble, il ne se passe rien. On ne crée pas une structure « vivante ».

Une autre façon d'étudier la vie, c'est de s'intéresser à l'organisation de l'énergie. L'objectif étant alors de comprendre les réactions, les transports, qui gouvernent toutes ces molécules dans un système vivant. La vie peut être défini par un chimiste comme un moyen de dissiper, relaxer de l'énergie. Dans un système vivant, l'énergie se propage au travers du métabolisme à partir de sources primaires identifiées. Le métabolisme fait intervenir des catalyseurs qui ont pour objectif de gouverner la cinétique des réactions chimiques et ainsi de changer le destin des molécules. Ces catalyseurs ont pour rôle d'orienter les réactions chimiques et de les maintenir dans un état distinct de l'état thermodynamiquement stable. Le chimiste considère alors que des cycles, comme le cycle de Krebs, ne sont que des catalyseurs surdimensionnés qui permettent ici de dissiper l'énergie ( $ATP \rightarrow ADP + Pi$ ). Si on s'intéresse à la vie comme forme d'organisation d'énergie, elle peut donc prendre différentes formes et ne fera donc pas forcément appel aux mêmes biomolécules que celles que l'on connaît sur Terre. La question qu'on est en droit de se poser est la suivante : que doit-on rechercher sur des exoplanètes pour mettre en évidence la vie ?

Pour le chimiste, on peut concevoir des êtres chimiques vivants sans forcément faire appel à une cellule, à une membrane : il suffit juste de fabriquer un système composé de réactifs et de

produits maintenus dans le temps hors équilibre. Pour maintenir cet état, ce système consomme de l'énergie, énergie primaire fournie dans l'expérience proposée par la lumière d'une lampe par exemple. La transition entre la zone éclairée et la zone sombre délimite le système en évolution permanente. On crée ainsi une vie minérale.

*Pour voir la conférence :*

<https://webcast.in2p3.fr/videos-physique-et-chimie-de-la-vie>

**Thème de la conférence : « Conception rationnelle en biologie de synthèse et ingénierie métabolique »**

---

### **1- La biologie de synthèse**

La biologie de synthèse est avant tout une pratique dont l'objectif est de créer de nouvelles fonctions biologiques, encore inexistantes dans la nature. Elle comporte plusieurs étapes :

1. Conception de la molécule à synthétiser qui s'effectue à l'aide de logiciels ;
2. Construction ou synthèse qui s'effectue à l'extérieur du laboratoire par une entreprise privée
3. Vérification du produit obtenu
4. et éventuellement boucle d'apprentissage pour modifier la molécule conçue au départ.

La biologie de synthèse est apparue dans les années 2000. Elle englobe un ensemble de disciplines comme l'ingénierie métabolique, les bionanosciences ; l'ingénierie des protéines ; ingénierie des génomes (synthèse complète de génome), de génomes modifiés (XNA engineering), ou de minimal génome ; la régulation des circuits ; l'ingénierie des génomes (ex : synthèse du génome de levure) : utilisation de protocellules ou de système acellulaires (extraits de l'intérieur de la cellule pour produire des molécules in vitro présentant un intérêt, par exemple, diagnostic).

### **2- L'ingénierie métabolique**

La discipline de la biologie de synthèse la plus développée, et ce pour des raisons commerciales, c'est l'ingénierie métabolique.

#### Définition et applications

On peut définir l'ingénierie métabolique comme une stratégie ayant pour but de moduler les voies métaboliques existantes en utilisant des techniques recombinantes pour synthétiser des nouvelles substances.

L'ingénierie métabolique a été utilisée depuis longtemps pour produire des métabolites d'intérêt (sélection des souches de levures *Sacharomyces cerevisiae* pour produire de la bière ; sélection des souches de *Clostridium* pour produire de l'acétone). Les applications de l'ingénierie métabolique sont aujourd'hui nombreuses. On peut citer par exemples :

- la synthèse de médicaments
- de biocapteurs (outils diagnostics) puis médicaments intelligents (synthèse de médicament si et seulement si le biocapteur détecte une anomalie)
- de biocarburants (pour faire du bioéthanol, les industriels utilisent la cellulose des plantes. L'objectif est de modifier les plantes pour diminuer la lignine voire l'éliminer afin d'obtenir une cellulose plus accessible par les cellulases).
- Détection de polluant par les biocapteurs et si présent, dégradation activée.

#### Exemple des biosensors

Les biosensor sont des systèmes biologiques permettant la détection de substances spécifiques.

Jean-Loup Faulon nous a décrit deux types de biosensors ou biocapteurs :

- ✓ Une substance X en se liant spécifiquement à un facteur de transcription modifié permet l'activation d'un promoteur qui contrôle l'expression d'une protéine rapporteur par exemple le GFP. L'apparition d'une fluorescence signe la présence de la molécule X dans un échantillon.

- ✓ Un aptamère est une partie d'un ARNm capable de se lier de manière spécifique à une autre petite molécule (un métabolite). Cette liaison entre l'ARN et le métabolite change la structure secondaire de la région de l'ARN située à proximité. Cette région est appelée plateforme. Le changement de la plateforme va moduler l'expression du gène dont l'ARNm est issu. L'ensemble aptamère et plateforme constitue un riboswitch. Les biocapteurs basés sur des aptamères sont appelés aptosensors.

#### Couplage outils diagnostic et médicament

La concentration en acide urique augmente dans le cas de crise de goutte. Des systèmes biocapteurs/médicaments ont été développés dans le but de détecter puis de neutraliser l'acide urique présent dans les cellules. Ces systèmes sont constitués d'un facteur de transcription bactérien modifié capable de fixer spécifiquement l'acide urique. Une fois formé, le complexe se fixe sur le promoteur et active l'expression d'un gène codant pour l'urate oxydase. L'acide urique est alors détruit par oxydation. Ces systèmes ont été introduit dans des cellules HeLa et validés chez la souris.

### **3- Ingénierie métabolique : les différentes étapes de la rétro-synthèse**

On part d'une molécule non naturelle, et on cherche les voies métaboliques permettant de fabriquer cette substance.

#### 3.1 Première étape : le design aidé par ordinateur (computer assisted design)

On utilise les bases de données existantes (bases de données contenant toutes les enzymes connues, leurs substrats et l'affinité correspondante, l'organisme capable de les fabriquer etc...) et la CAO (conception aidée par l'ordinateur). Les logiciels développés permettent de choisir soit : la succession des voies métaboliques permettant à partir de substrats naturels, d'aboutir à la molécule X désirée (voie forward) ou la succession des voies qui partent de la cible (molécule X) et qui permettent de remonter à des métabolites naturels (voie retro).

On choisit ensuite les voies métaboliques les plus pertinentes en fonction de critères que l'on fixe. Des logiciels adaptés permettent de faire ce choix.

Les critères retenus à classer par ordre de priorité sont les suivants :

Chez quels organismes sont produits les enzymes intervenant dans les réactions choisies ?

Avec quelle vitesse les réactions ont-elles lieu ?

Les produits intermédiaires sont-ils toxiques pour la souche ?

La voie choisie produit-elle la molécule X avec un bon flux ?

#### 3.2 Deuxième étape : la synthèse des enzymes

Cette étape est la plupart du temps en partie sous traitée. Les séquences ADN des enzymes sont obtenues dans les banques et fabriquées par des entreprises. Les enzymes sont synthétisées par génie génétique.

#### 3.3 Troisième étape : la phase analytique et l'optimisation

Les quantités de molécules X produites sont généralement faibles.

La première étape (design) doit donc être améliorée/optimisée :

- en détruisant par exemple certains gènes ce qui permettrait d'inactiver une voie métabolique concurrente et ainsi d'augmenter le flux de synthèse de notre molécule X ;
- en modifiant certaines enzymes ce qui permettrait d'augmenter la concentration de produits intermédiaires.

Avec l'automatisation de la phase analytique (robot pipeteurs), on peut désormais tester une centaine de voies métaboliques en 15 jours !

#### **4- Applications : L'ingénierie de biocapteurs (Biosensors engeneering)**

On utilise la même démarche en utilisant des banques de données qui regroupent des facteurs de transcription capables d'interagir avec des molécules X que l'on souhaite détecter.

On utilise pour fabriquer ces biocapteurs :

- un vecteur permettant la synthèse d'une enzyme capable de modifier la molécule que l'on désire mettre en évidence et la synthèse du facteur de transcription liant la molécule ainsi modifiée.
- un autre vecteur contenant un système de détection c'est à dire un gène rapporteur dont l'expression est activée et visible (fluorescence par exemple) lorsque le facteur de transcription a lié le dérivé de la molécule recherchée.

Ce système est utilisé pour détecter la cocaïne. Modifiée par une enzyme, elle se transforme en acide benzoïque qui est capable de se lier à un facteur de transcription.

Il existe aussi un biocapteur de la nitroglycérine développé. La nitroglycérine est transformée par une enzyme Nema. Le produit formé est capable de se lier spécifiquement sur un facteur de transcription d'*E.coli*.

**Laurent BLANCHOIN** (*Directeur de recherche au CNRS CytomorphaLab, laboratoire de physiologie cellulaire et végétale, Institut de Biosciences et de Biotechnologie, CEA Grenoble*)

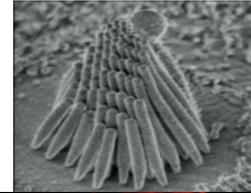
***Thème de la conférence : « De la connaissance de l'auto-organisation du vivant à la perspective de biologie synthétique »***

---

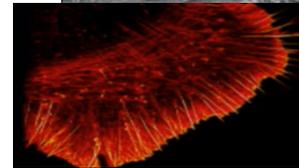
### **1- L'auto-organisation du vivant**

Trois exemples peuvent illustrer la complexité, la diversité mais aussi la beauté de l'auto-organisation du vivant :

L'organisation des stéréocils de l'oreille (400nm) faisant intervenir un réseau d'actine et de myosine : ces structures sont indispensables à l'audition. (si mutation dans le gène codant pour la myosine, les stéréocils ne bougent plus, et l'animal devient sourd).



L'organisation à l'échelle de la cellule : les cellules nerveuses (cellule gliale de 30  $\mu\text{m}$ ) ;



Organisation à l'échelle de l'organisme : le chou romanesco (organisation fractale)



Organisation à l'échelle de plusieurs organismes : banc de poisson (structure de quelques m)



Principes généraux de l'organisation du vivant

Un gène va permettre la synthèse d'une protéine qui se replie. Ces protéines s'assemblent et forment dans la cellule des structures complexes.

Comment la dynamique de ce système est-il contrôlé ? Comment ce phénomène est-il coordonné ? Comment un objet de quelques nm va pouvoir générer des structures de plusieurs centaines de  $\mu\text{m}$ , dynamiques et coordonnées ?

Pour ces structures puissent évoluer dans le temps, il faut maintenir ces auto-assemblages de monomères hors équilibre et par conséquent apporter de l'énergie au système. Exemple : pour créer 1  $\mu\text{m}$  de filament d'actine il faut 360 molécules d'ATP à la cellule.

Trois principes vont intervenir dans le contrôle de l'assemblage du cytosquelette c'est à dire dans la création d'une auto-organisation :

1. La compétition pour un nombre limité d'éléments ;
2. L'assemblage de polymères qui constituent de véritables routes dans la cellule permettant le trafic : ces routes changent de direction selon les signaux que reçoit la cellule)
3. Les forces reçues par la cellule.

#### **1.1 La compétition pour un nombre limité d'élément**

*Schizosaccharomyces pombe* est le modèle choisi pour montrer la notion d'élément présent en quantité limitante dans la cellule. L'actine peut être marquée dans cette cellule par fluorescence (GFP-Actine). Trois structures comportant de l'actine sont visibles : des patches ou points (intervenant l'endocytose), des cables (assurant le transport) et un anneau (pour la division cellulaire). Si on ajoute un inhibiteur qui empêche la formation des points, alors les cables seront présents en plus grand nombre dans la cellule. On peut en conclure qu'il existe un stock limité d'actine dans la cellule permettant de construire différentes structures. La compétition pour un nombre limité d'éléments (ici l'actine) définit la taille et la densité des différentes structures (ici cables ; patches et anneau).

## 1.2 L'assemblage de polymères biologiques

Les polymères biologiques ont des structures et donc des propriétés mécaniques et cinétiques différentes. Ainsi le polymère d'actine forme une structure flexible, qui se comporte un peu comme un ressort : il pourra exercer des forces dans la cellule ; Le microtubule formé de tubuline a une structure rigide : il formera des rails pour le transport dans la cellule ; L'ADN lui a une structure qui lui permet de se compacter : il pourra stocker une grande quantité d'information génétique. Ces trois structures illustrent bien la relation structure/fonction puisqu'à chaque structure est associée une propriété mécanique et une fonction dans la cellule.

Si on s'intéresse aux filaments d'actine dans la cellule, on voit qu'ils peuvent être organisés en réseaux (fibres parallèles) ou

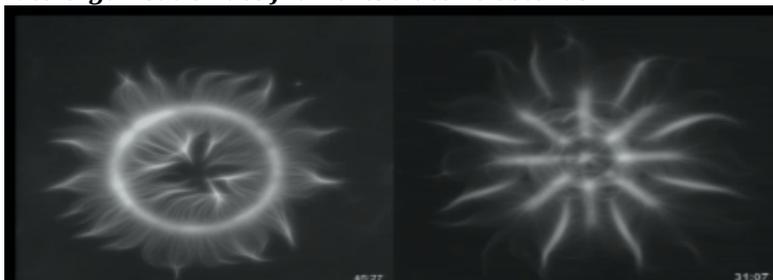
*In vitro*, si on polymérise de l'actine, il se forme des filaments qui ne sont pas organisés comme dans la cellule. On obtient donc un auto-assemblage de l'actine en filaments mais pas d'auto-organisation de ces filaments. Il manque donc quelque chose pour organiser le système.

Si par contre on impose des limites au système, on peut forcer les filaments à s'organiser. Pour cela, on utilise une lame de verre recouverte de polylysine- PEG (PLL-PEG) qui permet de rendre la surface hydrophobe et donc répulsive à la plupart des protéines. On brule ensuite avec des UV les PLL-PEG situés une zone définie en utilisant un pochoir. Si on dépose l'actine dans les zones dépourvues de PLL-PEG, on observe après polymérisation des filaments organisés. Selon la forme du pochoir, les filaments peuvent s'organiser différemment. La géométrie de la zone délimitée par les micropatrons affecte donc l'auto-organisation des filaments d'actine.

### ***Micropatrons réalisés en rouge***

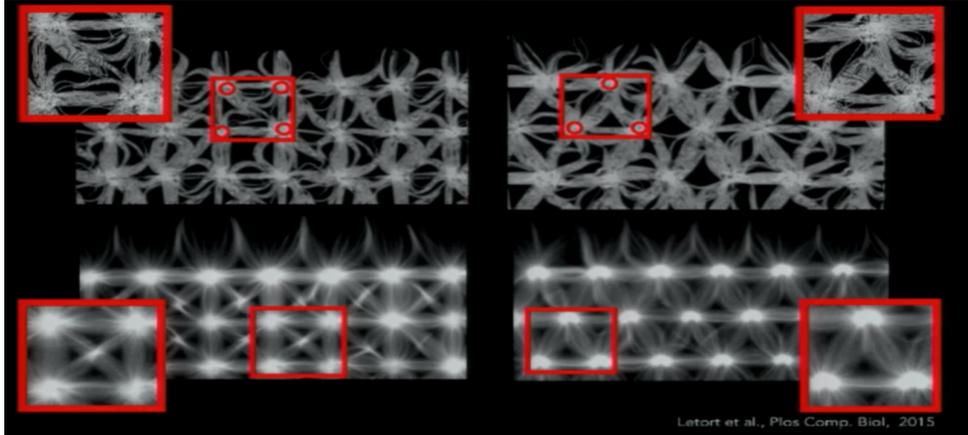


### ***Auto-organisation des filaments d'actine obtenus***



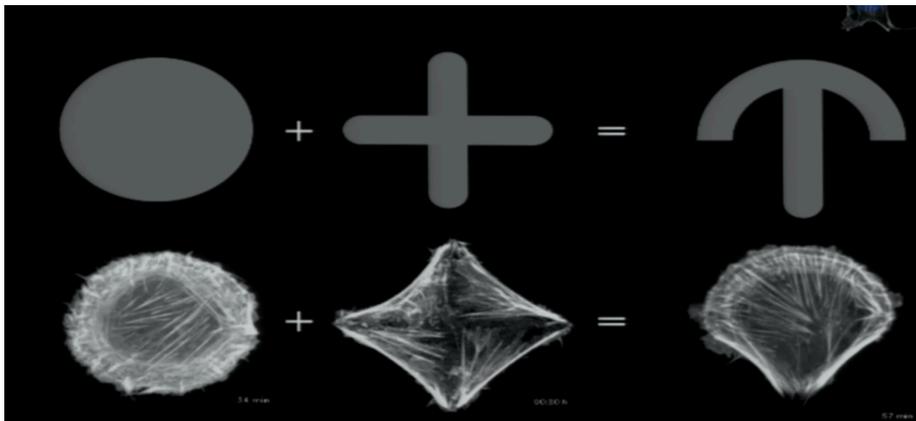
L'étape suivante consiste à construire un modèle mathématique, prenant en compte les différentes contraintes du système (initiation, élongation, interactions) et qui permet de prédire comment les filaments vont s'auto-organiser en fonction du micropattern créé. Il suffit ensuite pour valider le modèle, de comparer les résultats obtenus dans l'expérience et la simulation.

*Expérience de simulation (en haut) et expérience confortant le modèle (en bas)*



Ce modèle peut-il prévoir l'auto-organisation des filaments à l'intérieur des cellules ?

Si on dispose une cellule sur un tapis de protéine ayant une forme donnée (circulaire ou en forme de croix), on peut voir que l'on contraint alors l'organisation des filaments d'actine dans la cellule.



### 1.3 L'utilisation de forces

Si on exerce des forces sur une cellule (si on la presse), la cellule réorganise alors son cytosquelette ce qui conduit à son déplacement.



Comprendre ces trois principes est donc fondamental pour comprendre l'auto-organisation et la dynamique du vivant.

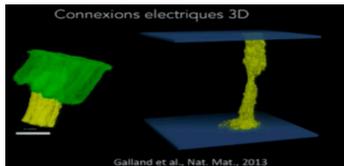
Le vivant peut être détourné pour générer de nouvelles structures, de nouveaux matériaux que l'on dénomme matériaux bioinspirés.

## 2- Biologie synthétique : Auto-organisation et bioinspiration

En 2016, des fibres musculaires ont été synthétisées à partir de tubes construits à partir de molécules d'ADN (qui remplacent les filaments de myosine) et de kinésine (moteur moléculaire).

On peut imaginer utiliser les kinésines le long de filaments d'actine pour transporter des éléments, et les délivrer à un point précis (précision de l'ordre du nm).

L'auto-organisation des filaments d'actine peut être utilisée pour créer des formes en 3D, qui sont ensuite métallisées et utilisées comme connecteurs électriques.



Conférence en partie visible à l'adresse suivante :

[https://webcast.in2p3.fr/videos-physique\\_et\\_chimie\\_de\\_la\\_vie](https://webcast.in2p3.fr/videos-physique_et_chimie_de_la_vie)

A voir...une course de cellules ! ( $V_{max} = 10\mu\text{m}/\text{min}$ ) <https://www.youtube.com/watch?v=RjYmy31znII>

**O**dile Filhol, chercheuse au CEA-IRTSV, a devancé ses confrères du monde entier pour arriver sur le podium du championnat du monde de course... de cellules.

Pas moins de cinquante équipes participaient l'hiver dernier à cette course d'un genre nouveau. Mais plus qu'un clin d'œil, cette entreprise a aussi un but scientifique. Manuel Théry, chercheur au CEA-IRTSV dans un autre laboratoire et co-initiateur de ce championnat explique : « Régulièrement, des équipes publiaient des résultats sur la migration de différentes lignées cellulaires. Mais les supports de migration et les protocoles sont si différents d'un laboratoire à l'autre, que ces résultats ne pouvaient en aucun cas être comparés entre eux. C'est ainsi que nous est venue cette idée ». Pourquoi s'intéresser à la vitesse des cellules ? Car leur migration est impliquée dans de multiples phénomènes, comme le développement de l'embryon (voir encadré), le renouvellement des cellules comme celles du sang,

la réparation des tissus ou encore l'apparition de métastases dans le cas d'un cancer. C'est ce dernier cas qu'étudie Odile Filhol, quand elle ne participe pas à des compétitions sportives du troisième type. Son équipe s'intéresse tout particulièrement à une enzyme (kinase) intracellulaire et à l'effet de ses modifications sur les propriétés migratoires de cellules épithéliales qui forment les parois des glandes mammaires. Liées les unes aux autres, elles ne sont absolument pas destinées à se déplacer. Il arrive pourtant, dans le cas de cancers du sein, que certaines d'entre elles acquièrent des propriétés migratoires, s'arrachent à leur structure et partent coloniser d'autres organes, formant ce qu'on appelle des métastases. « Nous analysons quels sont les mécanismes moléculaires qui vont permettre aux cellules de se séparer de leurs congénères, digérer la matrice qui les lie et se déplacer, le but étant pour nous de trouver une parade chimique pour bloquer ce processus », explique la chercheuse. En effet, l'apparition des métastases dans un cancer rend le traitement plus difficile encore.

**bioactif** | SEPTEMBRE 2012 | 6

Cellules à quelques micromètres de l'arrivée lors d'un championnat mondial de vitesse.

Extrait de Bio'actif (la recherche de la direction des sciences du vivant du CEA)n°12/ septembre 2012