



**HAL**  
open science

## Modèle granulaire de morphogenèse tissulaire

Yoann Chélin, Julien Averseng, Patrick Cañadas, Bernard Maurin

► **To cite this version:**

Yoann Chélin, Julien Averseng, Patrick Cañadas, Bernard Maurin. Modèle granulaire de morphogenèse tissulaire. CSMA 2013, May 2013, Giens, France. 8 p., Clé USB. hal-00824090

**HAL Id: hal-00824090**

**<https://hal.science/hal-00824090>**

Submitted on 21 May 2013

**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.

## Modèle granulaire de morphogenèse tissulaire

Yoann CHÉLIN \*, Julien AVERSENG, Patrick CAÑADAS, Bernard MAURIN

Université Montpellier 2 – Laboratoire de Mécanique et de Génie Civil – CNRS UMR 5508, [yoann.chelin@univ-montp2.fr](mailto:yoann.chelin@univ-montp2.fr), [juline.averseng@univ-montp2.fr](mailto:juline.averseng@univ-montp2.fr), [patrick.canadas@univ-montp2.fr](mailto:patrick.canadas@univ-montp2.fr), [bernard.maurin@univ-montp2.fr](mailto:bernard.maurin@univ-montp2.fr)

\* Auteur correspondant

---

**Résumé** — La morphogenèse tissulaire est encore mal comprise. Nous présentons ici un modèle biomécanique de tissu composé de cellules ayant des comportements reproduisant ceux observés expérimentalement (croissance, division et mort cellulaire). Les tissus sont générés selon deux modes : accréition et prolifération. Les topologies obtenues concordent avec les observations expérimentales et permettent d'étudier l'impact des modes de formation sur la morphogenèse des tissus biologiques.

**Mots clés** — Biomécanique, morphogenèse, épithélium, cellule, milieu granulaire.

---

### 1. Introduction

La morphogenèse (ensemble des processus qui vont donner sa forme à un organisme) est, de par sa complexité, encore largement inexplicquée. En outre, l'impact de la morphologie de la cellule sur son métabolisme, et donc le lien entre la forme et la fonction, est bien établi mais mal compris. Afin d'apporter des éléments de réponse sur ce sujet, nous nous sommes intéressés au développement de tissus épithéliaux monocouches à travers un travail multidisciplinaire, croisant simulation numérique et études expérimentales sur des modèles biologiques, effectuées en collaboration par une équipe de l'Institut de Science de l'Évolution de Montpellier (Université Montpellier 2).

Le plus souvent, les modèles de tissus sont régis par des lois physiques comme celui développé par Glazier et Graner qui permet d'obtenir des géométries épithéliales réalistes mais ne considère pas les efforts mécaniques en tant que tels [4][6]. Dans les modèles de milieux continus, les cellules ou les tissus sont vus comme un matériau décrit par des lois élastiques linéaires, hyper-élastique, etc [4][11]. Ces approches ont sans aucun doute un intérêt pour l'étude du comportement mécanique global, la cartographie des contraintes et des déformations. Toutefois elles semblent inadaptées à la morphogenèse tissulaire, notamment car les cellules ne sont pas considérées avec des entités propres et leur réorganisation au sein d'un tissu est difficile à intégrer.

D'autres approches prennent en compte l'hétérogénéité de la cellule et des tissus en les considérant comme un milieu discret ; elles ont montré leur pertinence pour décrire le comportement mécanique. Un exemple est celui de la modélisation par Ingber et Jamieson en 1985 de la cellule par une structure de tenségrité, où le squelette interne formé de filaments d'actine et de microtubules est représenté respectivement par des câbles en tension et des barres en compression [8]. Par ailleurs, les milieux divisés ont également été utilisés pour représenter une cellule [9][10] ou des agrégats de cellules [12][13]. Dans le premier cas, il est possible d'étudier la mise en forme de la cellule et ses réseaux de contraintes internes alors que le second permet l'étude de la rhéologie d'un ensemble de cellules.

Ces approches discrètes, en particulier celle utilisant les milieux divisés, offrent un niveau de description plus fin que celui des milieux continus et semblent pouvoir s'adapter à la simulation de la morphogenèse tissulaire, c'est à dire être capable de reproduire les mécanismes de base de la cellule et ses mouvements. La dynamique intracellulaire et celle entre cellules leurs permettent d'adopter des formes et de donner au tissu des organisations variées. Au vu de l'ensemble de ces considérations, nous avons choisi de construire un modèle de morphogenèse épithéliale reproduisant les mécanismes de base de la cellule à partir de la mécanique des milieux divisés.

## 2. Modèle de tissu

### 2.1. La cellule

La cellule est l'unité structurale et fonctionnelle du monde vivant. La taille d'une cellule eucaryote animale varie entre 10 et 100  $\mu\text{m}$  ; elle est composée d'un noyau, d'un cytoplasme hétérogène en constante évolution et constitué de divers organites ainsi que d'une structure interne (le cytosquelette), le tout étant encapsulé dans une membrane. Au sein d'un tissu de cellules confluentes (sans espace entre elles), elles se réorganisent en interagissant les unes avec les autres, chacune se retrouvant ainsi confinée.

Le modèle présenté ici est bidimensionnel et composé de cellules discrétisées par des grains de matière assujettis à se déplacer sur une surface (sphérique ou plane selon le cas d'étude). L'ensemble des cellules ainsi formées de grains constitue un tissu « numérique » qui intègre les interactions mécaniques à l'intérieur des cellules et entre elles. Les réactions biochimiques, les aspects énergétiques, etc., ne sont pas considérés dans cette étude. Ce modèle de cellule doit toutefois autoriser une libre réorganisation interne pour adopter la forme la plus adaptée à son environnement. Il a ainsi été choisi de représenter la cellule par un nuage de grains massiques de deux types :

- Des grains internes de cinq tailles différentes (représentés en noir sur la figure 1 et avec cinq couleurs différentes sur la figure 2) modélisent le cytoplasme. Ils sont en contact rigide avec amortissement mais sans adhésion ni frottement. Ils travaillent donc en compression. La polydispersité de ces grains permet de rendre compte d'une certaine hétérogénéité intracellulaire et d'éviter ainsi une représentation trop cristalline.
- Des grains membranaires, tous de même taille, sont liés par des éléments de type câbles viscoélastiques qui travaillent en traction (Fig. 1. où ces éléments membranaires sont en vert). Cet ensemble représente la membrane de la cellule et « encapsule » les grains internes avec laquelle ils sont en contact rigide. Ils jouent aussi le rôle du cortex d'actine, un réseau dense d'actine filamenteuse en tension, situé sous la membrane à laquelle il est directement attaché.

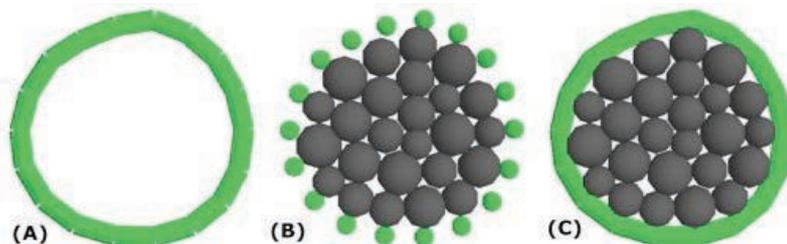


Fig. 1. (a) éléments membranaires seuls ; (b) grains seuls (internes en noir et membranaires en vert) constituant le modèle de cellule ; (c) ensemble de la cellule. Sur la dernière image, les grains membranaires se distinguent peu des éléments membranaires car leur rayon est le même que celui des câbles membranaires.

Afin de mieux représenter les cellules observées au sein d'un épithélium monocouche, plusieurs mécanismes fondamentaux d'évolution ont été intégrés dans le modèle : croissance, apoptose et division.

### 2.2 La croissance cellulaire

Afin de rendre compte de l'augmentation de taille d'une cellule, comme observé au cours de sa phase de croissance, un nouveau grain interne est ajouté périodiquement en son centre (Fig. 2). Ceci définit un taux de croissance de la cellule déterminé empiriquement en fonction de la dynamique globale du système. En outre, la taille du grain interne ajouté dans la cellule est choisie en fonction du nombre de grains déjà présents : une cellule a un même nombre de grains internes de chaque taille à un grain près afin de conserver une granulométrie régulière.

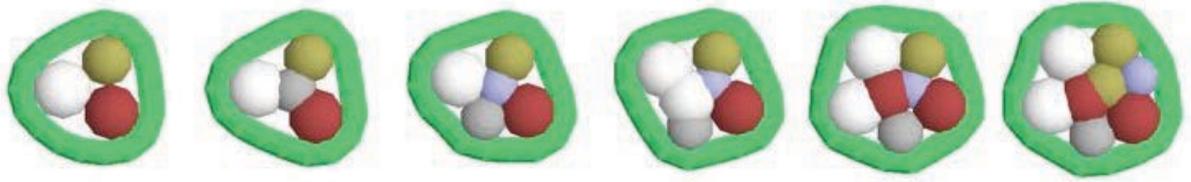


Fig. 2. Étapes de la croissance d'une cellule à partir de trois grains internes. Les cinq tailles différentes de grains sont représentées par cinq couleurs différentes. La forme en apparence polygonale de certains grains est due à l'interpénétration autorisée entre eux.

On considère en outre et en première approximation, que la tension de la membrane évolue peu. Toutefois, l'augmentation du nombre de grains internes tend à accroître cette tension. Afin de la limiter et de lui donner une valeur quasi-constante, il a été choisi de régir le comportement de cette membrane avec les règles suivantes :

- si la tension d'un élément membranaire est inférieure à une valeur fixée ( $T_{min}$ ), alors sa longueur libre  $\ell_f$  diminue et est recalculée comme suit :  $\ell_f = (E_m A_m \ell) / (E_m A_m + T_{min})$
- si deux éléments liés ont une longueur inférieure à une valeur donnée alors ils fusionnent pour n'en former qu'un seul.
- si la tension d'un élément membranaire est supérieure à une valeur choisie ( $T_{max}$ ) alors sa longueur libre  $\ell_f$  augmente comme suit :  $\ell_f = (E_m A_m \ell) / (E_m A_m + T_{max})$
- si la longueur d'un élément membranaire est supérieure à une valeur définie alors il est scindé en deux éléments de même tension et de même longueur.

Où  $E_m$  est le module d'élasticité,  $A_m$  la section et  $\ell$  la longueur actuelle de l'élément  $m$ .

Par conséquent, l'augmentation du nombre de grains internes conduit à un allongement de la membrane dont la tension reste bornée. La croissance de la cellule s'arrête quand le nombre de grains internes atteint une valeur limite arbitraire définissant sa taille maximale.

### 2. 3. La division cellulaire

Une cellule qui va se diviser est choisie aléatoirement parmi celles ayant atteint leur taille maximale. Un câble « actine » est ensuite créé entre deux grains de la membrane diamétralement opposés par rapport au centre de gravité de la cellule et les plus proches (petit axe de l'ellipse équivalente). Puis, ce câble est raccourci progressivement jusqu'à une longueur seuil (Fig. 3 (a-d)). Il est ensuite supprimé en même temps que les quatre éléments membranaires contigus (Fig. 3. (e) en bleu et en noir). Enfin, deux nouveaux grains et quatre nouveaux éléments membranaires (Fig. 3. (f) en rouge) sont créés afin de fermer les deux membranes des deux cellules « filles » ainsi formées. Par la suite, ces membranes suivent les règles d'évolution précédemment décrites, certains éléments membranaires trop longs se scindent (Fig. 3 (g)). Lors de la division, une cellule ne croît pas et ne peut pas entrer en apoptose.

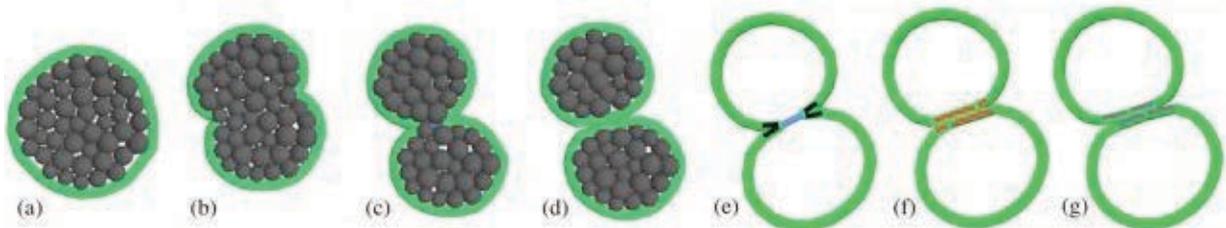


Fig. 3. Étapes de la division cellulaire (a-d) avec en bleu le câble d'actine (b, c et e). Dernière étape d'une cellule « mère » en division (e) et deux premières étapes de croissance des cellules « filles » (f et g).

## 2.4. L'apoptose

Biologiquement, l'apoptose se caractérise principalement par une rétraction du cytoplasme associée à celle de la membrane. Ce processus a donc été intégré dans notre modèle par analogie avec cette observation. Les grains internes sont ainsi régulièrement supprimés par groupes de cinq et, lorsque leur nombre dans la cellule est inférieur à cinq, ces derniers ainsi que la membrane sont finalement supprimés (Fig. 4.).

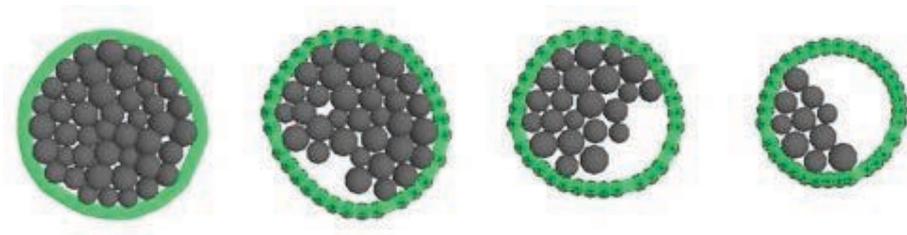


Fig. 4. Étapes de l'évolution d'une cellule en apoptose (les nœuds de la membrane sont marqués en noir).

## 2.5. Le tissu

Le modèle de tissu exploré dans cette étude est composé des cellules décrites précédemment qui se déplacent sans adhésion sur une surface sphérique ou plane tout en étant soumises aux efforts de contact entre cellules voisines et avec les éléments « de bord ». Le tissu se développe alors selon le scénario de morphogenèse par accrétion ou par prolifération. Dans le premier cas, de nouvelles cellules venant du milieu extérieur s'agglomèrent à des cellules déjà présentes sur la surface. Aucune cellule ne se divise, c'est pourquoi cet épithélium est aussi dit non prolifératif. Dans le second cas, des cellules présentes sur une surface se divisent et/ou meurent. Le tissu finalement issu de ces processus présente dans chacun des deux cas une organisation cellulaire unique.

Dans ces simulations, l'adhésion entre les cellules et le substrat n'est pas directement prise en compte. En revanche, elles sont repositionnées géométriquement à chaque pas de temps sur la surface. C'est une façon de prendre en compte indirectement leur adhésion au substrat tout en leur laissant la possibilité de se mouvoir sur la surface. Les cellules au sein du tissu sont également en interaction, chacune exerçant sur ses voisines des efforts répulsifs via le contact entre ses grains membranaires et les éléments membranaires des cellules voisines (Fig. 5).

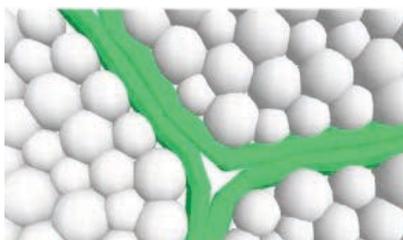


Fig. 5. Les interactions entre les cellules se font par un contact rigide entre les membranes.

## 2.6. Le scénario de morphogenèse d'épithélium non prolifératif

Les œufs d'Ascidies telles que *Ciona intestinalis* se couvrent au cours de leur croissance d'une couche de cellules épithéliales formant un tissu confluent [2]. Ce processus se déroule par accrétion additionnelle de cellules qui, elles-mêmes, croissent sans que l'on n'observe ni division ni apoptose. A la fin, l'œuf a un diamètre de 160  $\mu\text{m}$  et on compte environ 60 cellules à sa surface. Nous avons simulé cette morphogenèse d'épithélium dit non prolifératif [3] et rappelons ici certains résultats remarquables. Au début de la simulation, on considère une sphère de 80  $\mu\text{m}$  de diamètre sur laquelle sont disposées aléatoirement 15 cellules de petite taille. Ensuite, de nouvelles cellules sont déposées aléatoirement dans les espaces libres entre celles déjà présentes avec un taux d'arrivée fixé empiriquement. Simultanément, toutes les cellules ainsi que la sphère croissent selon des taux spécifiques. Le caractère aléatoire du positionnement des cellules initiales et de l'arrivée des nouvelles conduit à des organisations au sein des tissus qui sont uniques à chaque fin de simulation, c'est à dire lorsque la surface de la sphère est entièrement recouverte de cellules.

## 2.7. Le scénario de morphogenèse d'épithélium prolifératif

A la différence du scénario précédent, on considère qu'un épithélium prolifératif se forme sur une surface d'aire constante. Trois géométries de substrat de même aire sont considérées : une sphère (diamètre = 160  $\mu\text{m}$ ) et deux surfaces planes avec des conditions aux limites fixes (selon un périmètre circulaire ou carré).

Pour chaque configuration, 15 cellules sont initialement positionnées aléatoirement sur la surface. Ensuite, elles croissent jusqu'à leur taille maximale puis 7% d'entre elles (nombre correspondant aux observations expérimentales) entrent en division et engendrent chacune deux cellules filles. Celles-ci à leur tour croissent puis peuvent se diviser ou bien mourir une fois leur taille maximale atteinte. De plus, pour environ quatre cellules créées, une parmi celles de taille maximale est choisie aléatoirement pour entrer en apoptose. Le tissu numérique se développe alors au gré des divisions et des morts cellulaires qui modifient son organisation. De même que précédemment, la simulation s'arrête lorsque la surface est couverte de cellules. Chaque série de calculs étant effectuée à partir de configurations initiales différentes et comme les divisions ainsi que les apoptoses se déclenchent aléatoirement, les topologies tissulaires obtenues sont uniques.

## 2.8. Les contacts

Dans ce modèle, la gravité est négligée mais une force de freinage/d'amortissement représentant la viscosité du milieu est appliquée aux grains. Par ailleurs, deux différents types de contact mécanique, caractérisés par une rigidité et un amortissement, sont considérés : le contact grain-grain (entre grains internes d'une même cellule) et le contact grain-élément (entre grains internes et éléments membranaires ou entre grains membranaires d'une cellule et éléments membranaires d'une autre cellule). Le choix a été fait d'autoriser une interpénétration entre les grains ainsi qu'entre grains et éléments. La rigidité et la viscosité de contact, déterminées empiriquement, permettent de définir une force de répulsion de la manière suivante [1] :

$$F = Kd - Cv$$

où  $F$  est la force de répulsion,  $d$  la longueur d'interpénétration (Fig. 6),  $v$  la vitesse,  $K$  la rigidité de contact et  $C$  la viscosité de contact.

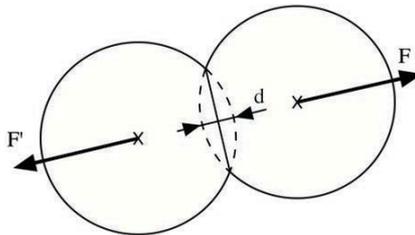


Fig. 6. Schématisation de l'interaction entre deux grains interpénétrés. Cet état explique la forme parfois polygonale des grains internes aux cellules (Fig. 2).

L'ensemble des grains forme un système mécanique gouverné par les équations de la dynamique des solides. Son évolution temporelle est déterminée via une méthode d'intégration explicite. L'accélération de chaque grain est calculée en faisant le bilan des forces auxquelles il est soumis ce qui permet d'exprimer la dérivé  $f(X,t)$  de l'état dynamique  $X$  du système. En effet, la deuxième loi de Newton permet de l'écrire sous la forme suivante :

$$f(X,t) = \frac{dX(t)}{dt} = \begin{bmatrix} \dot{x}_1(t) & \dots & \dot{x}_g(t) \\ \ddot{x}_1(t) & \dots & \ddot{x}_g(t) \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \dot{x}_1(t) & \dots & \dot{x}_g(t) \\ F_1/m_1 & \dots & F_g/m_g \end{bmatrix}$$

où  $x_g(t)$ ,  $\dot{x}_g(t)$  et  $\ddot{x}_g(t)$  représentent respectivement la position du grain  $g$ , sa vitesse et son accélération à l'instant  $t$ . Le terme  $F_g$  désigne la somme des forces agissant sur ce grain de masse  $m_g$ .

Pour un grain interne, ces forces résultent des contacts avec les autres grains internes et les éléments membranaires de la même cellule. Pour un grain membranaire, il s'agit des forces de

contacts avec les éléments membranaires des cellules voisines et avec les éléments « de bord », ainsi que des tensions dans les éléments membranaires auxquels ce grain est lié.

La vitesse et la position au temps suivant sont ensuite obtenues par étapes successives, selon le schéma classique Runge-Kutta d'ordre 4. L'évolution non-linéaire du système à modéliser a imposé logiquement cette approche explicite qui permet d'obtenir un bon compromis entre robustesse, temps de calcul et erreurs d'approximation.

### 3. Résultats et discussion

Les biologistes caractérisent usuellement l'organisation des tissus monocouches en comptant pour chaque cellule le nombre de ses voisines ce qui correspond au nombre de côtés du polygone représentant sa forme dans le tissu. Nous avons utilisé la même méthode de comptage pour caractériser la topologie des tissus numériques (Fig. 7). Dans le cas particulier des tissus formés avec des conditions aux limites fixes sur un plan, les cellules en contact avec le bord ne sont pas considérées.

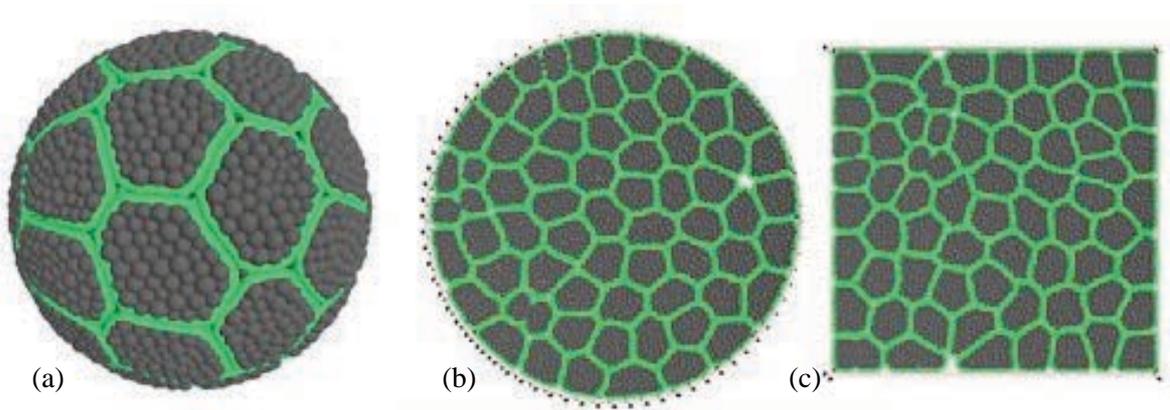


Fig. 7. Morphogenèse de tissus prolifératifs avec sur une sphère (a) ou sur un plan avec des conditions aux limites circulaires (b) et carrées (c).

En 2009, Gibson et ses collaborateurs ont publié des résultats sur les fréquences des formes polygonales cellulaires de plusieurs espèces animales et végétales [7]. Ces épithéliums prolifératifs présentent dans l'ensemble des répartitions de nombres de voisins analogues, avec environ 4% de tétragones, 28% de pentagones, 43% d'hexagones, 20% d'heptagones et 5% d'octogones. Pour les tissus non prolifératifs, les observations expérimentales montrent qu'ils sont composés en moyenne d'environ 29 % de pentagones, 63 % d'hexagones et 7 % d'heptagones [3].

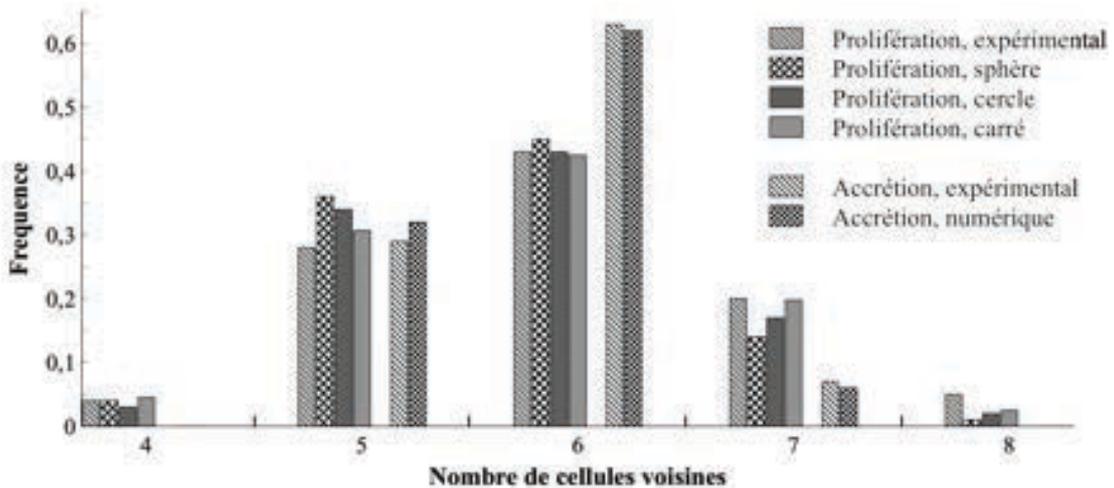


Fig. 8. Histogramme des distributions de polygones au sein d'épithéliums prolifératifs et non prolifératifs formés sur une surface sphérique ou plane.

Les distributions obtenues à partir des tissus numériques calculés à partir du modèle que nous avons développé sont proches de celles issues d'expérimentations pour chaque type de formation (non prolifératifs et prolifératifs). Ceci indique que les interactions intercellulaires ainsi que les efforts intracellulaires pourraient jouer un rôle fondamental dans l'organisation des épithéliums lors de leur morphogenèse.

Par ailleurs, on retrouve des distributions analogues, que le substrat soit sphérique ou plan et quelles que soient les conditions de bord (circulaires ou carrées). Il semble donc que la géométrie du substrat n'influence pas la distribution des fréquences du nombre de voisins ce qui était difficilement prévisible.

En outre, on remarque que la distribution des tissus formés par accréation se rapproche du pavage théorique d'une sphère par des hexagones selon la méthode décrite par Euler : pour recouvrir totalement la surface d'une sphère, 20% de pentagones sont aussi nécessaires (donc 80% d'hexagones). La topologie des épithéliums développés par division et apoptose s'éloigne de cette distribution théorique. On peut donc penser que ces processus ont un rôle perturbateur dans l'organisation des tissus prolifératifs. Ceci a déjà été observé expérimentalement en ce qui concerne la division [7] et l'apoptose [14].

## 4. Conclusion

En dépit des simplifications de ce modèle (bidimensionnel, pas de prise en compte du cytosquelette et du rôle mécanique spécifique de ces composants, etc.), le bon accord entre résultats expérimentaux et numériques indique qu'une approche mécanicienne est pertinente l'étude de la morphogenèse tissulaire. En particulier, l'approche présentée ici, basée sur la mécanique des milieux divisés, permet de simuler des processus fondamentaux de base de la cellule (croissance, division et apoptose) et d'étudier l'évolution dynamique de la croissance tissulaire. Toutefois dans ce modèle, les cellules se divisant ou entrant en apoptose sont déterminées aléatoirement dans ce modèle. Or, il serait intéressant de lier ces processus à l'état de contrainte des cellules et d'analyser son influence sur l'organisation du tissu.

Au delà, cette approche originale et prometteuse devrait permettre d'accéder à l'étude de paramètres difficilement observables expérimentalement. Par exemple, il serait intéressant de changer les quantités de division et d'apoptose, ou encore de faire varier les taux de croissance cellulaire, etc. Ceci pourrait permettre l'étude du développement de tissus hyperprolifératifs tels que les tumeurs.

## Références

- [1] M. P. Allen, D. J. Tildesley. Computer Simulation of Liquids. Oxford University Press, 1987.
- [2] K. Azzag. Origine de la stabilité morphogénétique dans les épithéliums de métazoaires, thèse de doctorat, Université Montpellier 2, 2011.
- [3] Y. Chélin, K. Azzag, P. Cañadas, J. Averseng, S. Baghdiguian, B. Maurin, Simulation of cellular packing in non-proliferative epithelia, Journal of Biomechanics, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiomech.2013.01.015> (à paraître), 2013
- [4] G. Holzapfel, E. Kuhl. Computer Models in Biomechanics. From Nano to Macro. Springer, 2012.
- [5] F. Graner et J.A. Glazier. Simulation of biological cell sorting using a two-dimensional extended Potts model, Physical Review Letters 69, 2013-2016, 1992.
- [6] F. Graner et J.A. Glazier. Simulation of the differential adhesion driven rearrangement of biological cells. Phys. Rev. E Stat. Phys. Plasmas Fluids Relat. Interdiscip. Topics 47, 2128-2154, 1993.
- [7] W.T. Gibson, M.C. Gibson. Cell topology, geometry, and morphogenesis in proliferating epithelia. Current Topics in Developmental Biology 89, 87-114, 2009.
- [8] D.E. Ingber. Tensegrity I. Cell structure and hierarchical systems biology. Journal of Cell Science 116, 1157-1173, 2003.

- [9] B. Maurin, P. Cañadas, H. Baudriller, P. Montcourrier, N. Bettache. Mechanical model of cytoskeleton structuration during cell adhesion and spreading. *Journal of Biomechanics* 41, 2036-2041, 2008.
- [10] J.L. Milan, S. Wendling-Mansuy, M. Jean, P. Chabrand. Divided medium-based model for analyzing the dynamic reorganization of the cytoskeleton during cell deformation. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology* 6, 373-390, 2007.
- [11] J. Ohayon, P. Tracqui, R. Fodil, S. Féréol, V.M. Laurent, E. Planus, D. Isabey. Analysis of nonlinear responses of adherent epithelial cells probed by magnetic bead twisting: A finite element model based on a homogenization approach. *Journal of Biomechanical Engineering* 126, 685-698, 2004.
- [12] A. Sandersius Sebastian, T.J. Newman. Modeling cell rheology with the Subcellular Element Model. *Physical Biology* 5, 015002, 2008.
- [13] P. Van Liedekerke, E. Tijssens, H. Ramon, P. Ghysels, G. Samaey, D. Roose. Particle-based model to simulate the micromechanics of biological cells. *Physical Review E* 81, 061906, 2010.
- [14] Y. Toyama, X.G. Peralta, A.R. Wells, D.P. Kiehart, G.S. Edwards. Apoptotic force and tissue dynamics during *Drosophila* embryogenesis. *Science* 321, 1683-1686, 2008.