



HAL
open science

Fertilité : un dialogue biophysique assure la qualité des ovocytes

Marie-Hélène Verlhac, Adel Al Jord

► **To cite this version:**

Marie-Hélène Verlhac, Adel Al Jord. Fertilité : un dialogue biophysique assure la qualité des ovocytes. La Recherche, 2023. <hal-04244799>

HAL Id: hal-04244799

<https://hal.science/hal-04244799v1>

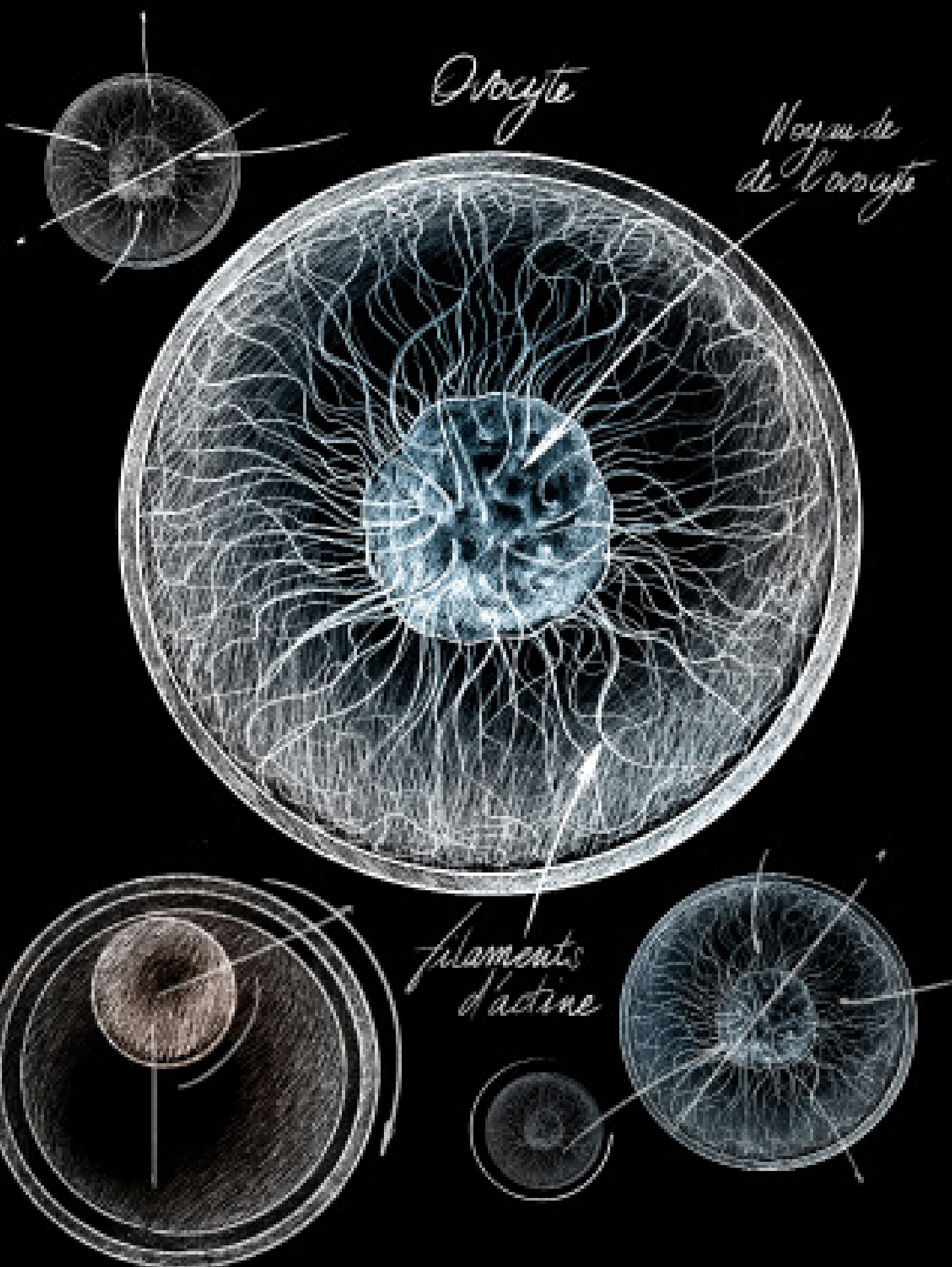
Submitted on 16 Oct 2023

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.



HAL Authorization



Adel Al Jord
BIOLOGISTE, PARIS
Postdoctorant dans l'équipe mécanique et morphogenèse de l'ovocyte du centre de recherche interdisciplinaire en biologie au Collège de France.



Marie-Hélène Verlhac
BIOLOGISTE, PARIS
Directrice du centre de recherche interdisciplinaire en biologie au Collège de France, elle codirige l'équipe mécanique et morphogenèse de l'ovocyte.

Fertilité : un dialogue biophysique assure la qualité des ovocytes

Afin de comprendre les causes de l'infertilité féminine, une équipe s'est intéressée aux étapes ultimes du développement de l'ovocyte, cellule qui permet la reproduction féminine. Grâce à une approche interdisciplinaire, elle a découvert un mécanisme qui lie les forces physiques dans le cytoplasme de ces cellules à l'information moléculaire dans leur noyau. Lorsque ces forces diminuent – en lien avec le vieillissement, par exemple – la division cellulaire est compromise. Ces travaux révèlent des interactions biophysiques insoupçonnées dans le gamète femelle.

Illustrations : Florence Gendre

◀ Chaque mois au cours de la vie reproductive d'une femme, des ovocytes entament un processus de maturation. Ici, ils passent une étape clé où le noyau est sous la pression des filaments d'actine.

DR

La fertilité est en berne dans les sociétés développées. Plus de trois millions de Français seraient directement concernés (1). Presque un quart des couples ne parviendrait pas à concevoir après douze mois, ce qui les pousse souvent à se tourner vers les techniques d'assistance médicale à la procréation (AMP). Une part importante de cette baisse de fertilité résulte du recul de l'âge auquel les femmes choisissent d'avoir leur premier enfant. Ce fait de société entraîne une baisse de qualité du

gamète femelle, l'ovule. La genèse de cette cellule se fait en plusieurs étapes. Une première a lieu *in utero*, lorsque des cellules de l'embryon féminin se différencient et forment des ovocytes. Ainsi, à sa naissance, chaque femme dispose dans ses ovaires de centaines de milliers d'ovocytes. Une seconde étape se joue à partir de la puberté. Chaque mois, entre cinq et quinze ovocytes commencent une phase de maturation. Généralement, à la fin de celle-ci, un seul d'entre eux devient un ovule prêt à être fécondé – les autres ont dégénéré. Cependant, avec l'âge,

Le déclic est venu d'une observation capitale à l'intérieur du noyau de ces cellules

il semble que cette phase ne se déroule pas de manière optimale puisqu'elle aboutit à un ovule peu apte à se développer en un embryon après sa fécondation. Si l'on souhaite résoudre une partie du problème de l'infertilité, il apparaît donc essentiel de comprendre l'ensemble des mécanismes de cette seconde étape.

La maturation de l'ovocyte en ovule intervient dans les ovaires à la suite d'une phase de croissance cellulaire massive. Cette croissance est observée chez toutes les espèces et peut prendre des formes spectaculaires, comme chez la grenouille, où l'ovule grossit jusqu'à atteindre un millimètre de diamètre, visible à l'œil nu. En grossissant, l'ovocyte accumule alors des réserves énergétiques, des organelles, des pro-

téines et des ARNs, qui seront utilisés, après la fécondation, par l'œuf (le zygote) pour son développement embryonnaire. En effet, la fin de la période de croissance est marquée par une réduction drastique de la transcription à partir du génome maternel; l'ovule, puis le zygote, vivront donc sur les stocks maternels jusqu'à ce que le nouveau génome, issu du mélange de l'ADN maternel et paternel, soit opérationnel. Autrement dit, le zygote vit sur ses réserves avant qu'il ne puisse produire, à partir de son propre génome, des ARN et des protéines.

La fin de la période de croissance de l'ovocyte s'accompagne également d'une réorganisation interne visible au microscope : le noyau est positionné au centre de la cellule. Ce repositionnement, d'environ 25 micromètres, n'est pas anodin. Il est corrélé avec la capacité de l'ovocyte à se développer correctement par la suite, notamment à se diviser asymétriquement via l'ex-

pulsion de toutes petites cellules, les globules polaires (lire *La Recherche* n°518, décembre 2016, p. 42). Ce centrage du noyau ovocytaire a été observé chez l'humain et la souris depuis plus d'une décennie. Mais nous ne savions pas pourquoi il se déroule en fin de phase de croissance cellulaire et de quelle manière. Le découvrir nous a semblé nécessaire afin d'optimiser des techniques d'AMP.

LE CYTOSQUELETTE, UNE CHARPENTE MOLÉCULAIRE DYNAMIQUE

La réorganisation cellulaire, marquée par le repositionnement du noyau, est loin d'être réservé à l'ovocyte. En effet, le repositionnement nucléaire est décrit dans de nombreux types cellulaires et contextes variés, de la cellule souche neurale (au cours du développement du cerveau) à la cellule musculaire (en réponse à des dommages musculaires) (2). Cette réorganisation cellulaire dépend notamment d'une charpente moléculaire dynamique : le cytosquelette, qui est composé de filaments de protéines (notamment d'actine et de tubuline). Nous savions par ailleurs que l'activité collective de ces éléments du cytosquelette, en réorganisant la cellule, crée des forces mécaniques au sein du cytoplasme (3) cellulaire, agitant et déplaçant des organelles telles que le noyau. Cette charpente dynamique semblait donc être le candidat idéal à tester afin de saisir comment l'ovocyte procède au centrage du noyau, clé de son bon développement.

Nous avons d'abord étudié la fin de la croissance ovocytaire chez la souris. Dans un premier temps, Maria Almonacid, chercheuse CNRS dans l'équipe, a montré que les forces mécaniques, engendrées par le cytosquelette d'actine, étaient responsables du centrage du noyau d'ovocytes ayant achevé leur croissance (3). Puis elle a observé que ces forces, agitant et repoussant mécaniquement le noyau vers le centre de la cellule, étaient transmises à l'intérieur du noyau (4). Cependant, les conséquences directes de ce transfert d'énergie mécanique du cytoplasme au nucléoplasme (5) sur l'organisation nucléaire, ainsi que son impact sur le destin cellulaire, restaient à découvrir. Le déclic est venu d'une observation capitale à l'intérieur du noyau de ces cellules.

À l'aide d'un microscope optique, nous avons en effet constaté que des structures nucléaires, qui ont une apparence de gouttelettes, étaient plus grosses et moins nombreuses dans les gros ovocytes (en fin de croissance) que dans les petits ovocytes (en cours de croissance). Ces gouttelettes s'appellent des nucléoles. Elles sont constituées d'ARNs et de protéines essentiels à la synthèse des ARN ribosomiques (6). Le point important est que ce changement d'architecture au sein du noyau se déroule au moment même où le cytosquelette se réorganise, en lien avec l'intensification des forces cytoplasmiques. Ces forces qui s'exercent dans le cytoplasme, à l'extérieur du noyau, seraient-elles à l'origine de ces changements observés à l'intérieur du noyau, dans les nucléoles ? D'autres expériences, conduites dans notre laboratoire, appuient cette hypothèse. En effet, lorsque nous observons la croissance d'ovocytes mutants – c'est-à-dire incapables de former des filaments d'actine, ce qui réduit significativement les forces cytoplasmiques –, nous notons qu'ils disposent de très peu de gros nucléoles en fin de croissance. Ces observations nous ont incité à effectuer une série de simulations, afin de vérifier que les forces mécaniques dans le cytoplasme pourraient être responsables de ce changement d'architecture de gouttelettes visible dans le noyau (5).

LE RÔLE DES SPECKLES NUCLÉAIRES

Avant de décrire l'ensemble de ces travaux, il est important de préciser que le noyau ne contient pas que des nucléoles. Parmi les autres types de gouttelettes qu'il renferme, on trouve les *speckles* nucléaires et les corps de Cajal (6). Ces gouttelettes sont des compartiments importants pour la synthèse et la maturation de différents types d'ARN, comme les ARN messagers et les petits ARN non-codants. Afin de tester notre hypothèse, nous avons donc cherché à identifier si ces autres gouttelettes nucléaires avaient un comportement semblable aux nucléoles durant ces phases finales de croissance ovocytaire. Deviennent-elles plus grosses et moins nombreuses, comme les nucléoles, à cette étape de la vie ovocytaire ? Une première série d'observations en microscopie ainsi qu'en temps réel, via la vidéo-microscopie, a permis de le confir-

Un mécanisme identique chez la mouche

Nos travaux sur les ovocytes de souris dévoilent que la bonne maturation de cette cellule passe par une action mécanique, exercée par le cytosquelette sur le noyau cellulaire. Celle-ci remodèle la forme des gouttelettes à l'intérieur du noyau qui contiennent des ARN messagers. Ce mécanisme est-il présent chez d'autres espèces que les mammifères ? En collaboration avec l'équipe de Jean-René Huynh, au



▲ Le bon développement de leurs ovocytes est également assuré par une action du cytosquelette.

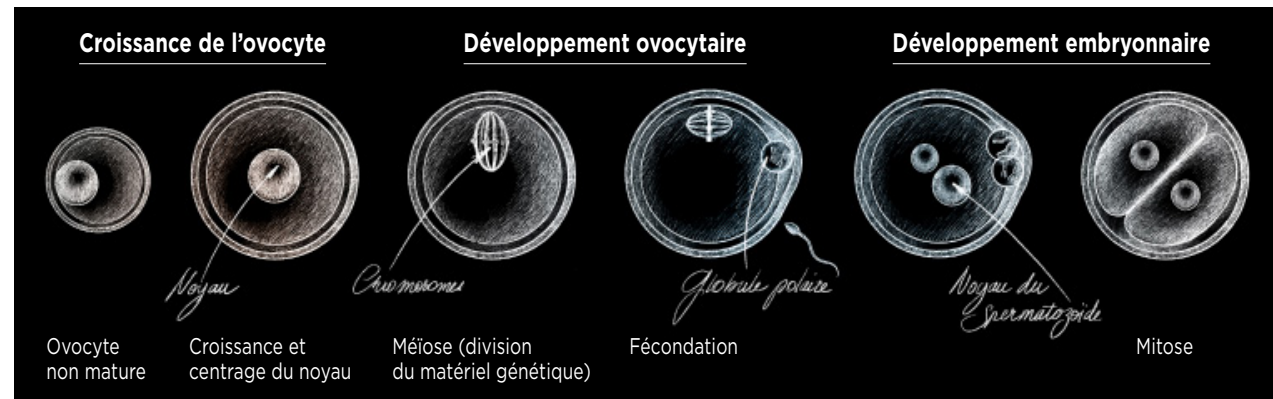
Collège de France, nous l'avons étudié chez la mouche drosophile (1). Chez cette espèce, le bon développement des ovocytes est aussi assuré par une action du cytosquelette.

Mais, les forces sont principalement engendrées par une autre composante du cytosquelette, les microtubules, et moins par les filaments d'actine comme chez la souris. Cette découverte chez un insecte suggère que ce mécanisme a été conservé au cours de l'évolution, sur plusieurs centaines de millions d'années. Il est probable qu'il soit également utilisé par d'autres espèces.

(1) A. Al Jord *et al.*, *Nat. Commun.*, 13:5070, 1, 2022.

(*) Le cytoplasme est la région comprise entre le noyau et la membrane cellulaire. Il contient le cytosol (milieu semi-liquide dans lequel baignent les différents organites de la cellule comme le noyau, les mitochondries) et le cytosquelette, composé de différents filaments protéiques.

(*) Le nucléoplasme est le milieu à l'intérieur du noyau dans lequel baigne la chromatine (ADN + protéines) et l'ARN.



DERNIÈRES PHASES DE L'OVOGÉNÈSE

L'ovocyte immature grossit, puis son noyau est centré sous l'action du réseau de filaments d'actine. Commence alors le début d'une division cellulaire particulière, la méiose. La fin ne se produit qu'après la fécondation. Les noyaux de l'ovocyte et du spermatozoïde se rejoignent. La première cellule de l'embryon est prête à se multiplier.

À l'aide d'outils génétiques ou de drogues affectant le cytosquelette, nous avons modulé la transmission de forces du cytosquelette vers le nucléoplasme. Nous avons ainsi confirmé que l'amplification des forces accélère la fusion des gouttelettes nucléaires et, à l'inverse, que leur réduction les empêche.

UN SURPRENANT SAUT D'ÉCHELLE DE L'ÉNERGIE MÉCANIQUE

Le rôle d'une action mécanique sur ces événements visibles dans le noyau a été confirmé par des expériences menées par Feng-Ching Tsai, biophysicienne à l'Institut Curie, à Paris. Elle a pour cela utilisé des pinces optiques capables de piéger et de manipuler physiquement des particules dans le cytoplasme cellulaire, afin d'induire des invaginations de la membrane nucléaire. Elle a alors observé que ces invaginations déplacent les *speckles* au sein du noyau de manière artificielle, ce qui souligne l'origine mécanique de ces déplacements. Cette série d'expériences a en outre permis d'estimer l'intensité des forces déployées dans le cytoplasme pour faire bouger les gouttelettes nucléaires : environ dix piconewtons (un piconewton vaut 10^{-12} newton) sont nécessaires.

Ces expériences ont confirmé que les forces générées par le cytosquelette d'actine dans l'ovocyte de souris, lorsqu'elles agitent le noyau, accélèrent la cinétique de fusion des gouttelettes nucléaires. Ce remodelage issu d'une action mécanique sur le noyau aurait donc une origine biophysique.

Afin de mieux explorer la nature de ce dialogue entre le cytosquelette et les gouttelettes nucléaires, Gaëlle Letort, spécialiste de biologie computationnelle à l'Institut Pasteur, a mis au point un modèle mathématique du remodelage des gouttelettes nucléaires. Son modèle s'inspirant de mesures réelles a reproduit nos données expérimentales de cinétique de fusion des gouttelettes. Cela confirme que le « dialogue » révélé entre le cytoplasme et le nucléoplasme pouvait reposer sur des principes biophysiques.

Après avoir établi le caractère biophysique du remodelage de gouttelettes nucléaires à grande échelle, une nouvelle question s'imposait : quelle est la fonction de cette réorganisation nucléaire ? Guidés initialement par des physiciens théoriciens, Raphaël Voituriez (Sorbonne Université, Paris) et Nir Gov (Institut Weizmann, Israël), nous avons émis l'hypothèse que l'énergie mécanique agitant le noyau pourrait être transmise à une échelle plus petite – celle des gouttelettes. Pour tester cette possibilité, nous avons entamé des expériences de vidéo-microscopie de fluorescence à haute résolution temporelle (120 images par minute). Elles ont révélé un surprenant saut d'échelle de l'énergie mécanique engendrée par le cytosquelette. Les forces cytoplasmiques agitaient de manière visible la membrane nucléaire, mais aussi la surface des gouttelettes nucléaires. Ce transfert observable de l'énergie mécanique du cytoplasme jusqu'à la surface des gouttelettes ne s'arrêtait pas là : il traversait les échelles jusqu'aux molécules présentes à l'intérieur des gouttelettes, accélérant leur cinétique apparente.

Ensuite, pour appréhender à l'échelle moléculaire les conséquences de ces changements observés dans des *speckles*, nous nous sommes inspirés de la théorie des collisions moléculaires, qui vient de la chimie. Schématiquement, celle-ci stipule que, pour qu'une réaction chimique se produise, il faut que les molécules de réactifs se heurtent de façon efficace. L'accélération moléculaire devrait, en théorie, optimiser les réactions chimiques au sein d'un compartiment, comme les réactions de maturation des ARNm associées aux *speckles* nucléaires. Nous avons testé cette hypothèse en collaboration avec l'équipe de Christophe Antoniewski (Sorbonne Université). Les expériences ont montré qu'en l'absence de forces cytoplasmiques, la maturation des ARN messagers de l'ovocyte est perturbée. En fait, l'ARN messager non mature, qui est le fruit de la transcription d'une séquence d'ADN, contient encore des séquences non codantes. La maturation de l'ARN messager consiste notamment à supprimer ces dernières (épissage). Autrement dit, ces ARN messagers ovocytaires ne peuvent pas remplir leur fonction : ils ne sont plus capables de transmettre le message nécessaire à la synthèse d'une protéine.

UNE TRANSMISSION PERTURBÉE QUI EMPÊCHE UN REMODELAGE

Un défaut conséquent, car ces ARN messagers altérés sont impliqués dans la division cellulaire, étape clé du développement de l'ovocyte qui se déroule juste après la phase de croissance. Ces analyses nous ont permis de comprendre que la transformation de l'énergie mécanique, provenant du cytosquelette, en énergie cinétique de molécules associées aux gouttelettes favorisait le succès des divisions ovocytaires qui suivent la croissance.

Ainsi, en agitant le noyau, les forces cytoplasmiques remodelent les gouttelettes nucléaires sur plusieurs échelles. À l'échelle cellulaire, l'agitation nucléaire accélère la cinétique de fusion des gouttelettes. À l'échelle moléculaire, cette même agitation accélère la diffusion des particules au sein des gouttelettes, y optimisant les réactions biochimiques associées, notamment l'épissage de l'ARN messager. À l'inverse, lorsque la transmission des

Un ovocyte ayant un noyau bien centré aura plus de chance de franchir les ultimes étapes de l'ovogénèse

forces du cytoplasme vers le nucléoplasme est perturbée, le remodelage des gouttelettes à ces deux échelles est empêché, ce qui compromet la maturation correcte des ARN messagers maternels lors de la croissance ovocytaire ; cela entrave alors les divisions cellulaires nécessaires à la production d'un ovocyte fécondable.

Le centrage du noyau de l'ovocyte à la fin de la phase de maturation n'est pas anodin. Le fait que l'ovocyte ait un noyau bien centré signifie qu'il aura plus de chance de franchir les dernières étapes de l'ovogénèse. Cette découverte devrait permettre aux cliniques d'optimiser des techniques d'AMP, lorsqu'elles doivent sélectionner un ovocyte. Par ailleurs, il est établi que le cytosquelette faiblit avec l'âge, ce qui pourrait expliquer la baisse de qualité ovocytaire associée à l'avancée en âge de la mère.

Au-delà de la reproduction, cette étude collaborative et interdisciplinaire a permis d'élucider un nouveau « dialogue » physique entre le cytosquelette dans le cytoplasme et des gouttelettes dans le nucléoplasme d'une cellule. Le cytosquelette n'est pas seulement un acteur de l'architecture cellulaire : il agit aussi sur le noyau et assure la régulation mécanique des gouttelettes nucléaires où se trouvent des ARN messagers porteurs d'une information génétique. La découverte de ce mécanisme, reliant les forces physiques à l'information moléculaire, ouvre une nouvelle voie de recherche. En effet, de nombreuses anomalies cellulaires associées à des défauts de cytosquelette cytoplasmiques et d'architecture des gouttelettes nucléaires ont été observées dans les cancers, les maladies neurodégénératives et les infections virales. ■

(1) S. Hamamah et S. Berlioux, 1^{er} plan national fertilité, ministère de la Santé, 2022.

(2) G. Gundersen et H. J. Worman, *Cell*, 152, 1376, 2013 ; W. Roman *et al.*, *Science*, 359, 355, 2021.

(3) M. Almonacid *et al.*, *Nat. Cell Biol.*, 17, 470, 2015.

(4) M. Almonacid *et al.*, *Dev. Cell*, 51, 145, 2019.

(5) A. Al Jord *et al.*, *Nat. Commun.*, 13:5070, 1, 2022.

(6) S. F. Banani *et al.*, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 18, 285, 2017.