

## Contraintes mécaniques dans la fécondation

Equipe d'accueil : Mécanismes Moléculaires Membranaires

Responsable : Christine Gourier

Tél : + 33 1 44 32 34 45

E-Mail : [christine.gourier@ens.fr](mailto:christine.gourier@ens.fr)

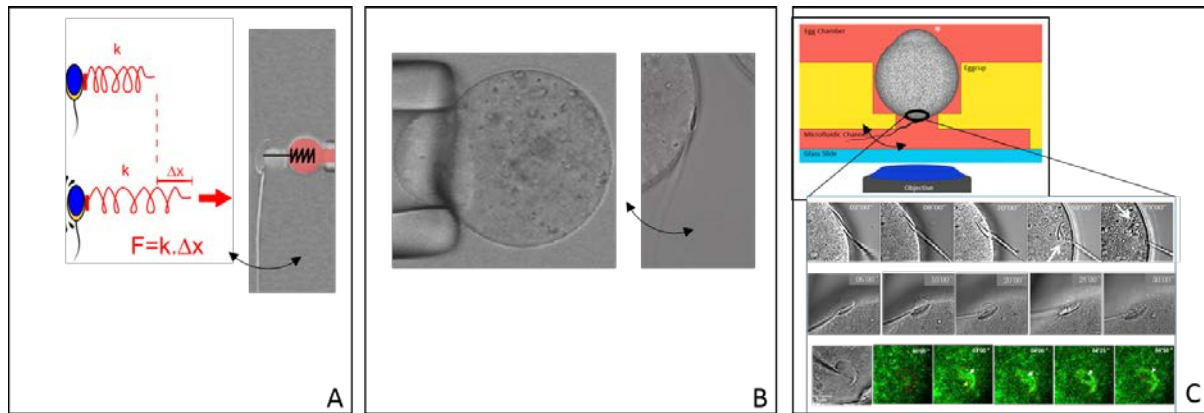
Malgré l'augmentation des troubles de la fertilité et des limites des techniques d'assistance à la procréation (40% de succès après 2 ans de traitement), le processus de fusion des gamètes est peu connu et étudié, faute d'approches adaptées aux spécificités des gamètes. Depuis 10 ans, notre équipe développe des outils combinant physique, nanotechnologies et biologie afin de lever des verrous tels l'imprédictibilité du lieu de contact des gamètes ou le faible nombre d'ovocytes disponibles, qui limitent le nombre d'approches biologiques et de microscopie en temps réel possibles [1-5]. Par exemple, avec un dynamomètre capable de sonder un lien moléculaire unique grâce à un globule rouge utilisé comme ressort, nous avons identifié les différents liens qui s'établissent lors du contact des gamètes et caractérisé celui servant d'ancrage au spermatozoïde pour fusionner [2, 3]. Avec une puce microfluidique permettant de mener des fécondations contrôlées, nous pouvons observer en direct le déroulement d'une fécondation avec des résolutions submicrométrique et de la dizaine de secondes [5].

Grâce à ces outils, l'équipe a récemment découvert un facteur indispensable à la fusion gamétique qui réoriente la vision que nous avons de ce mécanisme. Il s'agit de la contrainte oscillante que la tête du spermatozoïde impose à la membrane de l'ovocyte pour fusionner, grâce à un battement spécifique de son flagelle [4, 5]. Le projet proposé vise à quantifier cette contrainte mécanique et à en déterminer le rôle au travers 3 types d'expériences menées sur des gamètes de souris :

A-quantification de la force générée par l'oscillation de la tête du spermatozoïde sur la membrane ovocytaire en utilisant le ressort/globule rouge évoqué précédemment (Fig A). L'étude des déformations du ressort lorsque le spermatozoïde est accroché à lui et oscille, permettra de caractériser les contraintes générées par le spermatozoïde quand il interagit avec l'ovocyte.

B- La fusion des gamètes requière des changements morphologiques du cortex de l'ovocyte, réseau protéique sous-membranaire qui donne à la cellule sa forme, et ses propriétés mécaniques. La tension du cortex contraint les mouvements de la membrane et sa réorganisation tout en y prenant part. Cette tension sera mesurée par une technique d'aspiration par micropipette en suivant son évolution pendant que le spermatozoïde interagit avec l'ovocyte, en fonction du type de battement de son flagelle (Fig. B).

C-Les réorganisations moléculaires membranaires et corticales que les contraintes mécaniques générées par les oscillations du flagelle déclenchent seront étudiées sur l'ovocyte seront étudiées en utilisant la puce microfluidique couplée à de la microscopie confocale (Fig. C). Pour cela, des ovocytes de souris modifiées génétiquement pour des protéines membranaires indispensable à la fusion, ainsi que des marqueurs fluorescents des protéines membranaires et corticales seront utilisés.



- A- Mesure de la contrainte oscillante exercée par le spermatozoïde, grâce à la mesure de la déformation d'un globule rouge utilisé comme ressort.
- B- Mesure de l'évolution de la tension corticale en fonction des contraintes générées par le spermatozoïde
- C- Dynamique des réorganisations membranaires et corticales générées par les contraintes mécaniques dues au battement du flagelle.

1. Chalbi, M., et al., *Binding of sperm protein Izumo1 and its egg receptor Juno drives Cd9 accumulation in the intercellular contact area prior to fusion during mammalian fertilization*. Development, 2014. **141**(19): p. 3732-3739.
2. Jegou, A., et al., *Mapping mouse gamete interaction forces reveal several oocyte membrane regions with different mechanical and adhesive properties*. Langmuir, 2008. **24**(4): p. 1451-1458.
3. Jegou, A., et al., *CD9 tetraspanin generates fusion competent sites on the egg membrane for mammalian fertilization*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2011. **108**(27): p. 10946-10951.
4. Ravaux, B., et al., *Egg CD9 protein tides correlated with sperm oscillations tune the gamete fusion ability in mammal*. J Mol Cell Biol, 2018. **10**(6): p. 494-502.
5. Ravaux, B., et al., *A specific flagellum beating mode for inducing fusion in mammalian fertilization and kinetics of sperm internalization*. Sci Rep, 2016. **6**: p. 31886.