

# **Etude biophysique de la fécondation: aspects moléculaires, membranaires et cinétiques de l'interaction gamétique murin.**

**Antoine Jégou, Virginie Barraud-Lange, Myriam Chalbi, Benjamin Ravaux, Christine Gourier**  
**Laboratoire de Physique Statistique, Ecole Normale Supérieure.**

## **Collaboration :**

- **Jean Philippe Wolf, Ahmed Ziyat, Cochin, Biologie de la reproduction**
- **Claude Boucheix, Villejuif, Biologie moléculaire**
- **Hervé Willaime, ESPCI microfluidique**

La fécondation apparaît comme une série d'événements au cours desquels un spermatozoïde et un ovocyte s'unissent pour produire un nouvel individu. Lorsque que le spermatozoïde rentre en contact avec le gamète femelle, il traverse une membrane glycoprotéique qui entoure l'ovocyte, adhère à la membrane plasmique de l'ovocyte puis fusionne. Ces étapes d'adhésion et de fusion des gamètes sont communément regroupées sous le terme d'interaction gamétique.

Malgré un déclin préoccupant de la fertilité chez l'être humain, la recherche visant à comprendre l'interaction gamétique est peu développée. Les difficultés viennent d'une part de la complexité des phénomènes en jeu, mais également du fait que les approches biologiques (protéomique, spectroscopies, imagerie in vivo) sont difficilement adaptables aux cellules gamétiques d'une part à cause du faible nombre d'ovocytes par souris (de 5 à 20), d'autre part à cause de la forte mobilité des spermatozoïdes.

Au cours des deux dernières décennies, la communauté de biologistes travaillant sur l'interaction gamétique s'est attachée à identifier les acteurs moléculaires clefs de la fécondation. Parmi ceux identifiés, seulement deux, l'immunoglobuline IZUMO sur la membrane spermatique et la tétraspanine CD9 sur la membrane ovocytaire sont reconnues comme indispensables à la fusion des gamètes. Leur délétion entraîne la stérilité des souris, mais leur mode d'action reste inconnu. Par ailleurs, à ce jour, aucune caractérisation dynamique des processus membranaires (remaniements moléculaires, adhésion, fusion) se déroulant au cours de la fécondation n'a encore été publiée.

Dans ce contexte, en collaboration avec des médecins et biologistes de Cochin et Villejuif nous avons entrepris de coupler des approches biologiques traditionnelles (mutagenèse, biologie moléculaire, Fécondation In Vitro) et des technologies biophysiques sur cellules uniques, alliant mesures de forces d'interaction, imagerie confocale et microfluidique en vue de d'élucider le rôle joué par (i) CD9 et (ii) IZUMO dans la fécondation et (iii) de caractériser la dynamique des processus membranaires ovocytaires au fil de la fécondation. Parmi ces 3 volets, le plus avancé concerne le mode d'action de la protéine CD9. En amenant un spermatozoïde unique au contact d'un ovocyte, nous avons mesuré la probabilité d'adhésion et la force d'interaction des membranes gamétiques à l'échelle d'un accrochage moléculaire unique. Nous avons révélé l'existence de différents modes d'interaction et montré que l'un d'entre eux impliquait CD9 et un fort lien local de la membrane de l'ovocyte à son cytosquelette. Contrairement aux autres, ce mode d'interaction impose aux gamètes un contact étroit et étendu de leur membrane, prérequis nécessaire à leur fusion.