

## Condensats biologiques

Dans la description classique de la cellule, le cytoplasme est composé du cytosquelette, des structures membranaires (Golgi, Réticulum endoplasmique) et des organelles : mitochondries, lysosomes, endosomes... les organelles sont entourés par une membrane et ont toutes une fonction bien définie.

En 2009 A. Hyman, C. Brangwynne et leurs collègues ont proposé l'existence dans la cellule de compartiments qui n'ont pas de membrane mais qui sont des régions en général fluides bien définies avec une taille de l'ordre de quelques microns et qui ont aussi une fonction bien définie.

Avec F. Sjöblom, ils ont proposé que ces compartiments sont formés par une séparation de phase fluide fluide à l'intérieur du cytoplasme. Ces premières expériences portaient sur les P.Granules dans l'embryon de *C. Elegans*. Ce travail a eu un impact important et leur a valu des prix prestigieux Nakasone award et Breakthrough prize 2023. Beaucoup (très) d'articles. Revue

Des descriptions très anciennes de la cellule ( $\sim 1900$ ) proposaient déjà que le cytosol était formé de domaines bien définis. En discutant de cet article Michel Bornens m'a immédiatement dit que cette idée renvoyait le même concept d'"énergides". Ce concept a été introduit en 1893 par le biologiste des plantes Julius Sachs. Sachs et ses successeurs cherchaient l'unité fondamentale du vivant et ils considéraient que dans un syncytium où il n'y a pas de membrane, ce rôle est joué par le moyen et le territoire cellulaire dû à son influence. Une des propriétés essentielles pour eux des énergides est qu'elles doivent être créées à partir d'énergides lors de la division cellulaire. Le concept a ensuite été étendu à d'autres "organelles" comme le centrosome (d'où M. Bornens).

Une autre description du cytoplasme est celle de E. Wilson (Science 1893) qui considérait le cytoplasme comme une assemblée d'alvéoles liquides séparées par un réseau de petits alvéoles. Il parle d'émulsions (langage que j'utilisais dans ce cours). Des descriptions similaires ont été utilisées par Ojaan et Haldane

qui ont fait les premières théories de l'origine de la vie.

Le but de ce cours est de présenter les concepts physiques notamment sur les transitions de phase qui sont utilisés pour décrire ce que l'on appelle les condensats biologiques. Ces concepts relèvent de la physico-chimie : dynamique des transitions de phase, ministère d'Onsager, physique des protéines et des polymères (l'ARN souvenez), émulsions. Cependant le problème va plus loin que la physico-chimie classique à cause de la complexité du milieu cellulaire qui contient de très nombreux composants avec souvent des interactions spécifiques. Les condensats biologiques ont une fonction et sont le lieu de réactions chimiques qui donnent naissance à l'équilibre thermodynamique. La transition de phase est alors hors équilibre ou active. J'aime bien les considérer comme des émulsions actives.

## I. P. Granules de l'embryon de *C. Elegans* C. Brangwynne et al (2009)

Dans les organismes qui ont une reproduction sexuée, les embryons doivent marquer les cellules germinales qui se différencieront ensuite en œuf et en spermatozoïdes. Chez *C. elegans*, le marquage se fait par des P. Granules dans l'embryon. Ces granules ribonucléoprotéiques sont des "assemblages" d'ARN et de protéines qui s'interagissent avec l'ARN.

Quand l'embryon n'est pas polarisé, les granules sont distribuées uniformément. Il y a ensuite une brisure de symétrie qui polarise l'embryon à partir des protéines de polarité Par1 et Par2. Cela crée une répartition non uniforme des myosines dans le cortex et un écoulement cortical et cytoplasmique (thèse G. Salmea). La brisure de symétrie induit aussi une localisation des granules dans la partie postérieure de l'embryon qui après division devient la cellule germinale.

Brangwynne et al. mesurent le champ de vitesses et montrent que la convection ne permet pas le transport des P. Granules vers le pôle postérieur de l'embryon : le flux est nul. En faisant des mesures d'intensité, ils mesurent le taux de croissance des granules. Avant la brisure de symétrie les

graines décroissent de manière uniforme. Après la brisure de symétrie les graines se dissolvent dans la partie antérieure et condensent croisent dans la partie postérieure. Cela suggère que la concentration des graines dans la partie postérieure est associée à un mécanisme de dissociation-condensation (mouvement d' Ostwald?).

Les auteurs montrent ensuite le comportement liquide des PGraines : on fait les causer avec un coudeau, auader sur goutte d'eau moyen (chipping) ou les faire fusionner. Pour des graines de taille R, le temps de fusion est  $t = \frac{R^2}{\gamma}$  de l'ordre de quelques secondes. La viscosité capillaire est  $\gamma \approx 0,5 \text{ Pa.s}$ . En estimant  $\eta \approx 1 \text{ Pa.s}$  la tension caractéristique est très faible  $\gamma \approx 10^{-6} \text{ N/m}$  peut-être larg que la longueur caractéristique est due à des polymères et  $\gamma \approx \frac{kT}{L}$ . Une expérience de Photoflashing permet de mesurer le coefficient de diffusion de l'un des composants PGL  $D \approx 1 \mu\text{m}^2/\text{s}$  ce qui est compatible avec la diffusion dans un liquide  $\eta = 1 \text{ Pa.s}$ .

Rq les graines sont syéniques à cause de la tension de surface le modèle proposé par les auteurs est un modèle de transition de phase pour un système fluide. La condensation pour former des graines se fait si la concentration des composants est plus grande qu'une concentration critique  $C_K$  qui dépend des protéines de cohésion Par 3 et Mex5. Avant la brisure de symétrie  $C < C_K$  dans tout l'embryon. Après la brisure de symétrie  $C_K$  est diminuée dans la partie postérieure les PGraines sont dissociées dans la partie antérieure et croisent dans la partie postérieure

## II Condensats biologiques et transitions de phase

### 1 - Condensats biologiques

Suit à l'article de Brangewijns et al de très nombreux condensats biologiques ont été identifiés dans la cellule et dans le moyen : centrosome, laesome mitotique, complexes d'adhésion Banchi et al. Il a une taille plus grande

que la taille d'une protéine ou d'un agrégat, de l'ordre de quelques micromètres. Ils ont aussi un tension de surface qui fixe leur forme, physiques si ils sont solubles ou lactoïdes K. Weizsäcker, M. Gondel, T. Weller. Ils sont souvent fluides mais ce n'est pas nécessaire (phase gel, cristal liquide, structure solide) ou former des multienveloppes (Brangwynne mouillage). Ils sont le siège de réactions chimiques notamment avec des protéines actives.

Les condensats biologiques ont une fonction. Des exemples de fonctions sont donné par Alberti notamment dans le cadre des maladies neurodégénératives. La fonction est souvent associée au fait que les condensats permettent de concentrer localement des molécules (protéines) tout en gardant un environnement fluide.

## 2 - Transitions de phase et condensats biologiques

Pour un physicien ou un physico-chimiste, toutes ces propriétés sont très similaires à celles des émulsions qui résultent d'une séparation de phases locales, les gouttes de l'émulsion étant stabilisées par du savon, ou des petites particules (stabilizing emulsion). cf E. Wilson

La physique "classique" des émulsions est bien comprise et les applications des émulsions notamment à la chimie (polymères, colloïdes) sont très sophistiquées J. Bielecki et al 1999. Le but du cours est de poser le plus bû possible cette analogie et de broder les condensats biologiques sur des émulsions actives. Cependant le milieu cellulaire est beaucoup plus complexe qu'un mélange eau huile et il ne suffit pas de transposer ce qui est connu sur les émulsions et les transitions de phase sans faire pour une série de questions.

## 3 - Les molécules dans les condensats biologiques

Le cytoplasme contient un très grand nombre de molécules différentes et les condensats biologiques sont des systèmes multicomposants. Beaucoup de ces composants sont des polymères comme l'ARN qui portent en général des charges électriques ou des protéines dont la structure est compliquée et

qui ont des interactions spécifiques structurales. Il y a aussi des molécules actives qui sont impliquées dans des réactions chimiques qui ne sont pas à l'équilibre thermodynamique. La physique des transitions de phase active est couplée à des réactions chimiques et beaucoup moins bien établie.

M. Edjedzo

Les articles sur les condensats biologiques mentionnent deux types de protéines qui sont souvent à la base des condensats. Les protéines multivalentes et les protéines intrinsèquement désordonnées. Les protéines multivalentes ont plusieurs sites d'interaction spécifique et forment des complexes ou des agrégats. Il y a une certaine analogie avec les polymères dont la physique est très développée et souvent assez difficile. Les protéines (ou les séquences) intrinsèquement désordonnées sont des protéines dont le paysage énergétique est peu rugueux et qui se comportent comme des polymères flexibles avec une structure chimique hétérogène (ce sont souvent des polyampholytes avec des charges + et -).

### - La nature des interactions

Les condensats biologiques contiennent de nombreux polymères et des interactions faibles peuvent créer des transitions de phase pour une condensation. Soit une distinction entre polymères différents. Même dans un milieu de phase unique comme la cellule, les interactions électrostatiques conduisent à la condensation de polyampholytes dans l'eau ou la condensation modérée de polymères chargés de charges opposées : complexes polyélectrolytiques. Les interactions



de déflexion sont aussi des interactions faibles qui peuvent jouer un rôle.

Les interactions spécifiques entre protéines sont bien évidemment les plus importantes. Elles peuvent entraîner une transition de phase si leur effet moyen est attractif. Cela peut être caractérisé, par exemple par le deuxième coefficient du viriel S. Fraden Biophys J. 2003. Elles sont à l'origine de la formation de complexes protéiques et jouent un rôle essentiel dans la structure externe et la fonction des

## condensats

### - Dynamique de la transition de phase

Une question importante est d'expliquer pourquoi la transition de phase n'est pas macroscopique (à l'échelle de la cellule). Il y a deux aspects à la dynamique de la transition de phase. La nucléation est en général peu étudiée et semble dépendre fortement de la spécificité des interactions et des protéines concernées. La croissance pour une transition du premier ordre est due au minimisation d'  $\Delta G_{\text{tot}}$  mais elle doit être contrôlée à la toute fin. Plusieurs西北原因 sont possibles comme la présence de molécules toxicotiques (mais en forme alors une membrane) ou le fait que la transition de phase est couplée à une réaction chimique, ou le fait qu'elle est forte et pas équilibrée thermodynamiquement.

Dans la cellule la transition de phase se fait dans un volume fini

### 3. Critique de la description en termes de transition de phase

Plusieurs auteurs font des critiques souvent assez vives sur la description des condensats biologiques en termes de transition de phase. A. Musacchio EMBO journal 2022, X. Dongac Genes and development 2019, S. McKnight et M. Karb RNA 2022.

A. Musacchio critique dans un article l'importance que peuvent les condensats biologiques et les séparations de phase liquide-liquide en biologie de la cellule et du moyen. Sans nier l'importance de concepts utiles, il met en avant les points suivants

- Importance des "Site Specific Interactions" dans la formation d'agrégrats dans les cellules qui sont très peu mentionnés dans la littérature sur les condensats biologiques. Ces interactions conduisent à des structures hiérarchiques d'interaction dont il donne plusieurs exemples. Il insiste sur leur rôle pour créer une fraction biologique.

Ces interactions sont importantes clairement pour la structure en forme

## Où les condensats et leur modélisation.

- La différence entre la situation en milieu avec peu de paramètres et la situation très complexe en vivo. Il insiste sur le fait que dans les interactions spécifiques les macromolécules fonctionnelles peuvent pas être associées dans des comportements. Il critique les notions de concentration de saturation et de structures scaffold. Elles peuvent utiliser mais qui sont très simplifiées.

- Il critique la validation expérimentale de fait que la structure est logique. La plupart des expériences sont faites en vivo par des systèmes simplifiés.

- Il pose la question de la taille des condensats pas compatible avec le mouvement d'Ornstein

Ces points sont tous pertinents et importants et doivent être pris en compte mais ils ne me semblent pas remettre en cause le concept générique introduit par les transitions de phase logique - logique : Il n'est rien très strict des transitions de phase et très moléculaire dans que les transitions de phase sont des phénomènes collectifs qui se rattachent plus à des descriptions macroscopiques. Les travaux sur les émulsions montrent bien toute la richesse et la complexité que l'on peut atteindre. Il pense plus en terme d'agrégrats ou de complexes de protéines. Cela pose la question de la transition entre agrégats (de taille moléculaire) et condensats (microscopiques) qui n'est pas toujours facile à cerner. Il me semble que à la transition les deux approches sont complémentaires et envoient sur des aspects différents du problème.

Darzac et McKnight ont des critiques dans la même direction. McKnight considère que l'on peut expliquer "clairement" les condensats par des associations labiles et des interactions structurales "bona fide".

Il oppose la description "plastique" (polymère) des condensats à sa description "rigide" Parlung - Perutz.

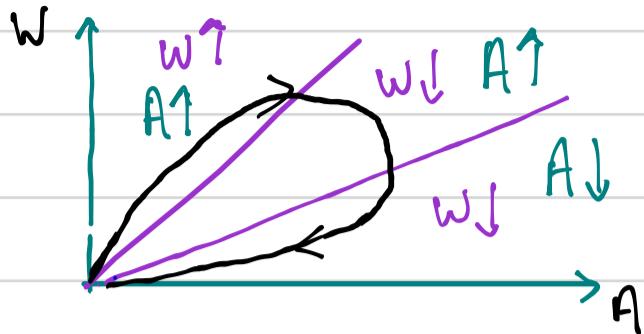
### III Condensats biologiques pour l'activation du cortex d'actine Yan et al Nature 622

L'article donne un exemple de condensat qui se forme et se dissout et dont la cinétique est contrôlée par la réaction chimique. L'article étudie la formation du cortex d'actine contractile durant la maturation méiotique de l'œuf de *C. elegans*. Avant la fécondation, il y a un cortex d'actine très dispersé et non contractile. Après la fécondation, il se forme un cortex dense et contractile après une période intermédiaire de 10 minutes. Pendant cette période apparaissent des milliers de condensats de taille  $\sim 0,1 \mu\text{m}$  figure et plan dans la couche corticale. Il a été montré que ces condensats contiennent de l'actine sous forme de filament (F) et des nucleotides de polymérisation équivalents à  $\text{ATP}_{\frac{2}{3}}$ . Ces condensats sont dynamiques, ils se forment et disparaissent sur un temps de l'ordre de 30 s.

L'étude expérimentale a été faite sur des embryons exclus de la mère qui matures dans la fécondation. Les composants principaux identifiés dans les condensats sont l'actine F,  $A_{2\frac{1}{3}}$  et N-WASP qui est un activateur de  $\text{ATP}_{\frac{2}{3}}$  qui crée des branchements dans l'actine. Les mesures sont faites par marquage de l'actine et de WASP par fluorescence. Les nombres de molécules d'actine A et de WASP sont aussi mesurés et les auteurs considèrent le système comme un système à 2 composants. Les mesures expérimentales donnent aussi le volume qui croît avec A et W comme  $V = A v_A + W v_W$ . Les volumes partiels  $v_A$  et  $v_W$  sont plus grands que les volumes individuels mais beaucoup plus petits que la taille du condensat ( $10^{-8} \mu\text{m}^3$ ) et il y a des condensats de toutes les tailles avec des compositions variées et la mesure de fluorescence permettent de mesurer  $\frac{dA}{dt}$  et  $\frac{dW}{dt}$  en fonction de A et W. On peut aussi tracer la trajectoire  $\frac{dt}{dt}$  du condensat dans un plan A-W. Si le volume est petit  $\frac{dA}{dt} < \frac{dW}{dt}$  mais la croissance de W favorise la production de A et A

\* inhibe la production de W qui atteint un maximum où  $\frac{dW}{dt}$  s'arrête A atteint un maximum. Les auteurs démontrent ainsi  $\frac{dt}{dt}$  le plan A-W

les zéro d'ordre telles que  $\frac{dW}{dt} = 0$  et  $\frac{dA}{dt} \rightarrow 0$ . La fraction de A augmente et



le volume augmente mais décroît les autres caractéristiques des condensats. Les auteurs dynamique compatible avec ces résultats

$$* \frac{dW}{dt} = k_n W - \frac{h_e W A}{V}, \quad \frac{dA}{dt} = \frac{k_f A W}{V} - h A. \quad \text{Résultat expérimental}$$

et schéma. Le facteur  $1/V$  respecte l'extensibilité. On peut poser des variables  $A$  et  $W$  aux variables fraction volumique  $\varphi = \frac{A V_A}{V}$  et  $V = A V_A + W V_W$

$$\frac{1}{\varphi(1-\varphi)} \frac{d\varphi}{dt} = \alpha + \beta \varphi \quad \alpha = -(\frac{h_e}{k_f} + h_f) + \frac{h_e}{V_W} V \quad \text{et} \quad \beta = -\frac{h_e}{V_A} - \frac{h_f}{V_W}$$

$$\frac{1}{V} \frac{dV}{dt} = [(\frac{h_e}{V_W} - \varphi h_f) - \beta \varphi (1-\varphi)]$$

L'équation pour  $\varphi$  est autonome et fait être résolue. Le système expérimental correspond à  $\alpha > 0$  et  $\alpha + \beta > 0$ . Montrer les limites de  $\varphi$  et  $\beta$  réalisable expérimental. On peut ensuite calculer  $V$  en fonction de  $\varphi$ . Si  $\alpha$  et  $\alpha + \beta$  sont positifs  $\varphi \rightarrow 1$  et  $V$  a un maximum et décroît vers 0. Si  $\alpha + \beta$  reste positif mais  $\alpha = -(\frac{h_e}{V_W} + h_f) + \frac{h_e}{V_W} < 0$  (et  $\beta > 0$ )  $\varphi \rightarrow -\frac{\alpha}{\beta}$  et le volume croît si  $\alpha$  est assez négatif. Figure théorique et la  $\beta$  taille du condensat augmente. La condition pour que le volume croisse est  $\frac{h_e}{V_W} > 1$  et  $\frac{h_e}{V_W} > 1$ .

Cette condition correspond à l'inversion de l'ordre  $k_f$  des  $k_f$  et  $k_e$  zéro d'ordre pour  $W$  et  $A$ . Figure et films. Experiments montrent les auteurs induisent la croissance du volume en déplaçant par RNAi ARX2 qui est un composant d'ARPL13. Ils considèrent que cela augmente  $k_f$ .

Le mécanisme de croissance et de décroissance des condensats ressemble à l'instabilité dynamique des microtubules mais il concerne un condensat plus méso scopique. La dynamique est dominée par la cinétique chimique et non par la cinétique de transition de phase comme nous le verrons dans la suite du cours. Les auteurs suggèrent que ces

condensats servent à contrôler la nucéation autocatalytique des filaments d'actine et éviter une divergence de la croissance durant l'activation du cortex

$$1. V = V_0 \left[ \frac{q}{q + \frac{\alpha}{\beta}} \right]^{\frac{k_n}{\alpha}} = \left[ \frac{(1-q)}{q + \frac{\alpha}{\beta}} \right]^{\frac{k_n}{\alpha+\beta}} \cdot \frac{1}{(q + \frac{\alpha}{\beta})}$$

2. Montrer que les zéroclines sont des droites

$$\frac{dW}{dt} = 0 \quad h_n - h_p \frac{A}{V} = 0 \quad \frac{dA}{dt} = 0 \quad \frac{h_n W}{V} - h_d = 0 \quad \text{Les zéroclines sont}$$

des droites pour que  $V$  varie linéairement avec  $W$  et  $A$ .

3 Système dynamique et diagramme d'activation-inhibition

