

SECTION 22

BIOLOGIE CELLULAIRE, DÉVELOPPEMENT, ÉVOLUTION – DÉVELOPPEMENT

Composition de la section

Laurent KODJABACHIAN (président de section), Muriel PERRON (secrétaire scientifique), Corinne ALBIGES-RIZO, Philippe CHAVRIER, Didier CASANE, Membres : Fabien ALPY, Agnès AUDIBERT, Alexandre BENMERAH, Patrick BLADER, Sophie CHAUVET, Solange DESAGHER, Aude-Isabelle DUPRE, Anne FERNANDEZ, Norbert GHYSELINCK, Jacky GOETZ, Benoit LADOUX, Catherine LECLERC, Marianne MALARTRE.

Résumé

Les révolutions technologiques récentes en omique (séquençage à haut débit, édition du génome, protéomique) et en imagerie cellulaire (super-résolution, live imaging, cryo-EM) ont transformé les champs d'investigation de la biologie cellulaire et de la biologie du développement. Aujourd'hui, les mécanismes du vivant et leur évolution sont mis à jour dans toutes leurs dimensions avec davantage de profondeur et de précision. En même temps qu'elle devient quantitative, la biologie devient prédictive, via le rapprochement avec la physique et les mathématiques. Les modèles d'étude également s'enrichissent, notamment via l'avènement des cellules souches embryonnaires et induites et les progrès importants de

l'ingénierie cellulaire et tissulaire qui permettent de créer des mini-organes toujours plus complexes. La relative démocratisation des approches à haut débit permet aujourd'hui d'explorer les branches méconnues du monde animal, à la recherche de nouveaux mécanismes soutenant la longévité ou les capacités de régénération. Ainsi, les promesses d'une médecine régénérative efficace, nourrie par les enseignements de la biologie cellulaire et développementale, ne cessent de se renforcer. Pourtant, il convient de rappeler au grand public et aux décideurs que pour atteindre ces objectifs il faut continuer à soutenir la recherche fondamentale nourrie par la seule curiosité des chercheurs et à autoriser des expérimentations raisonnées sur les animaux.

Introduction

Le champ thématique de la section 22 est clairement défini par son intitulé : il est principalement centré sur le fonctionnement des cellules, étudiées individuellement et collectivement lors du développement. C'est donc très naturellement que s'inscrivent dans cette section les études portant sur l'évolution des mécanismes moléculaires impliqués dans la diversité des cellules et des organismes multicellulaires. Toutefois, il apparaît clairement que la recherche dans ces thématiques se déploie aujourd'hui à une échelle intégrative plus large qui implique des interactions fortes avec d'autres champs disciplinaires plus ou moins proches, que ce soit pour les objets étudiés ou les outils conceptuels et expérimentaux employés. Il faut donc davantage tenir compte des progrès des connaissances à des niveaux d'organisation inférieurs, grâce aux apports de la physique et de la chimie, mais aussi à des niveaux d'organisation supérieurs, avec par exemple la prise en compte des interactions des cellules entre elles au sein d'un organisme et de l'organisme avec son environnement biotique et abiotique. Par ailleurs, maintenir et renforcer une recherche fondamentale de premier plan en biologie cellulaire et en développement sera nécessaire à des recherches appliquées, en particulier dans le domaine de la santé.

Les rédacteurs de ce rapport ont fait des choix qu'il convient d'expliquer brièvement. En premier lieu, nous n'avons pas souhaité fournir un rapport exhaustif couvrant l'ensemble des sous-disciplines de notre section qui sont très nombreuses (la section 22 est la plus grande du CNRS en nombre de chercheurs affiliés). À la place, nous avons préféré prendre du recul pour fournir un document plus conceptuel et transversal. Ainsi, certains phénomènes de la biologie cellulaire et du développement ne sont pas cités, sans volonté de les ignorer ou de diminuer leur importance. En second lieu, nous n'avons pas souhaité faire de mention explicite à des

laboratoires ou des chercheurs de la section, estimant que ces informations sont disponibles dans les rapports d'évaluation que nous fournissons régulièrement. Nous avons délibérément limité notre propos aux animaux, considérant que la biologie cellulaire et du développement des plantes est l'apanage de la section 23. Enfin, nous n'avons pas traité la question de la valorisation industrielle des travaux en biologie cellulaire et biologie du développement, dans la mesure où elle reste modeste par rapport à d'autres sections de biologie et surtout à d'autres établissements publics de recherche.

I. Mécanismes

L'échelle cellulaire est particulière en biologie. En effet, c'est la plus petite échelle à laquelle un système biologique est autonome. Chez les métazoaires, les cellules sont les briques élémentaires des tissus et des organes. Les processus moléculaires et cellulaires tels que la signalisation, l'adhésion, la prolifération, la mort, la migration, le trafic membranaire ou la dynamique du cytosquelette ne peuvent pas être étudiés séparément mais doivent être considérés comme des événements intégrés à l'échelle de la cellule. Les signaux biochimiques et biophysiques provenant de l'environnement extracellulaire (les cellules avoisinantes, la matrice extracellulaire...) ainsi que les signaux provenant de la cellule elle-même influencent l'état génomique, transcriptomique et protéomique de la cellule et déterminent son devenir et ses fonctions. Par conséquent, il est essentiel de comprendre comment la coordination des mécanismes cellulaires élémentaires et leur régulation par les signaux cellulaires et environnementaux contribuent à l'homéostasie et aux fonctions cellulaires fondamentales. Réciproquement, les propriétés biomécaniques et biophysiques des cellules influencent l'organisation et le fonctionnement des tissus dont elles sont les

éléments constitutifs et modifient leur environnement. La dérégulation de ces propriétés biophysiques et mécaniques peut ainsi contribuer à l'initiation et à la progression de maladies. Enfin, du fait des mécanismes de l'évolution, ces processus fondamentaux ne sont que partiellement conservés entre les espèces, ce qui nécessite et justifie leur étude et leur comparaison dans différents organismes et systèmes modèles qui sont largement utilisés dans les laboratoires de la section 22.

Un large éventail de molécules de signalisation et de récepteurs spécifiques existe dans les différents types cellulaires composant un organisme pluricellulaire, mais les réponses appropriées aux signaux externes et internes ne nécessitent souvent qu'un nombre limité de voies de signalisation élémentaires. Une question évidente est donc de savoir comment la complexité de la réponse d'une cellule donnée est coordonnée par un nombre aussi limité de voies de signalisation primaires. La réponse réside sans aucun doute dans les multiples façons dont ces voies interagissent, se régulent, s'isolent et collaborent. Il s'agit donc actuellement de comprendre comment des combinaisons de signaux moléculaires et physiques ainsi que leurs variations spatio-temporelles sont capables d'augmenter le potentiel de certaines molécules, de générer une signalisation dynamique et une diversité de réponses cellulaires, depuis le mécanisme fondamental de la fusion des gamètes au cours de la fécondation jusqu'à la mort d'une cellule dans un tissu adulte, en passant par toutes les étapes développementales qui séparent ces deux événements. L'avènement de techniques holistiques génère une quantité importante de données (transcriptome, protéome, métabolome, sécrétome, phosphorylome...) qui, associées à l'exploration des réseaux d'interaction, permet désormais une analyse globale des voies de signalisation, tandis que les développements récents en imagerie et en biologie synthétique ouvrent des horizons nouveaux pour en visualiser les composants et étudier leurs fonctions.

A. Couplage de fonctions

Les voies de signalisation interagissent à différentes échelles pour définir l'identité (cellule souche, progénitrice, différenciée), le destin (prolifération, sénescence, apoptose, fusion...), le fonctionnement (métabolisme, sécrétome...) et la morphologie des cellules (cytosquelette, noyau, organites...). Un des enjeux majeurs pour les années à venir est donc de comprendre les mécanismes par lesquels ces voies de signalisation se complètent et comment l'activité d'un système peut être contextualisée par l'activité des autres. La découverte récente du dialogue entre les voies de signalisation Wnt, Hippo, les intégrines ou les récepteurs des facteurs de croissance pour assurer une adaptation optimale de la cellule à son environnement et pour coupler des fonctions considérées jusqu'alors comme étant dissociées (migration et différenciation par exemple) offre un exemple saisissant mais aussi une source d'inspiration pour la médecine régénérative.

B. Compartimentation spatiale

Un autre problème fondamental en biologie cellulaire concerne l'organisation spatiale de la cellule qui permet de contrôler des réactions biochimiques complexes dans l'espace au cours du temps. L'agencement des composants influence les réactions : leur rapprochement peut déclencher ou accélérer des cinétiques. À l'inverse, leur ségrégation peut les ralentir voire les inhiber. Une telle organisation favorise des réactions enzymatiques permettant, par exemple, de protéger les cellules d'activités délétères telles que la protéolyse, l'exposition aux radicaux libres, des modifications covalentes inappropriées ou encore des modifications du pH intracellulaire. Ainsi, un domaine émergent concerne l'étude des condensats moléculaires (nucléole, P-bodies, granules de stress...). Dépourvus de membrane limitante, ces

condensats, qui résultent de la séparation de phase, fonctionnent comme des centres de signalisation associant protéines et/ou acides nucléiques. Ils permettent la séquestration temporaire de biomolécules (facteurs de transcription, ARN...) et contribuent ainsi à la spécificité et l'efficacité de processus complexes comme la transcription, le métabolisme des ARN, la biogénèse des ribosomes, la réparation des dommages à l'ADN, le contrôle du cycle cellulaire ou encore la transduction du signal.

C. Communication cellulaire et micro-domaines de signalisation

La communication inter-cellulaire relayée par les voies de signalisation est fondamentale pour que la morphogénèse de l'embryon soit invariable ou pour le moins robuste, afin de permettre à des tissus et organes de taille adéquate de se développer au bon endroit et au bon moment. En ce sens, comprendre comment les gradients de morphogènes ou de ligands sont mis en place grâce à leur diffusion à partir d'une source localisée, activent des voies de signalisation et déterminent des informations de position essentielles à la morphogénèse est un axe de recherche important. La signalisation nécessaire à la cohésion des tissus et la morphogénèse peut aussi prendre la forme de micro-domaines cloisonnés qui facilitent la communication de la cellule avec son microenvironnement ou avec les cellules avoisinantes par ancrage (structures adhésives), par des mécanismes sensoriels (cils) ou par la production et la réception de signaux sous formes de vésicules extracellulaires, tels que les exosomes. À l'échelle cellulaire, bien que considéré comme un mécanisme clé dans la spécificité et l'efficacité des voies de signalisation, le rôle du cloisonnement, et en particulier des micro-domaines membranaires, reste pourtant mal défini. Comprendre comment l'assemblage, la composition, les propriétés physiques et les fonctions biochimiques et cel-

lulaires de ces micro-domaines sont régulés sera essentiel pour appréhender le rôle des voies de signalisation dans la communication cellulaire.

D. Signalisation temporelle et dynamique des réseaux

Le contrôle temporel est crucial pour de nombreux processus développementaux comme l'acquisition de l'identité, la migration et la dynamique du cycle cellulaire dont l'orchestration fait intervenir des modulations temporelles et quantitatives des voies de signalisation. Pour répondre aux stimuli extracellulaires, les réseaux utilisés par les cellules présentent des architectures complexes, ramifiées et douées de rétroactions. Démêler comment l'information circule dans ces réseaux pour coder des réponses précises permettra d'activer sélectivement des nœuds identifiés et d'observer comment les perturbations se propagent dans le système. La perturbation optogénétique est une approche puissante pour interroger entre autres les circuits neuronaux complexes ou les transitions phénotypiques. Cet outil offre à présent la possibilité de contrôler l'activité de voies de signalisation élémentaires en temps réel dans les cellules vivantes, et de suivre la circulation de l'information au travers des réseaux afin de comprendre comment un signal donné génère des comportements cellulaires aussi divers que la prolifération, la mort cellulaire, la différenciation ou la quiescence. De telles approches donnent accès aux types d'informations que la cellule peut analyser et à la prise de décision qui en découle. L'information peut être codée de façon combinatoire (résultant de stimuli externes différents), mais aussi de manière dynamique, en fonction de la durée ou de la fréquence d'activation, qui sont des déterminants clés de la spécificité des réponses et de la prise de décision sur le devenir des cellules.

E. Communication entre compartiments et mécanique cellulaire

La proximité étroite entre les organites, bien que décrite depuis longtemps, est restée négligée en raison de la nature transitoire, de la densité variable et des conséquences multiples de ces contacts dans les différents types cellulaires. La découverte récente que la communication entre organites est essentielle à l'homéostasie cellulaire a attiré l'attention de scientifiques de multiples domaines. Cette communication s'établit par l'intermédiaire de contacts membranaires, comme par exemple entre le réticulum endoplasmique, les mitochondries ou l'appareil de Golgi. Cette communication assure la biosynthèse et le transfert de lipides, le transfert d'ions (calcium) et est également essentielle au cours de l'autophagie. Ces contacts restent encore aujourd'hui difficiles à visualiser en raison de leur dimension et de leur état transitoire, mais il est essentiel de comprendre leurs fonctions et d'étudier comment les perturbations environnementales et génétiques les affectent.

Un continuum mécanique existe également depuis la membrane jusqu'au noyau cellulaire par les différents composants du cytosquelette qui permettent à la cellule d'analyser les changements de propriétés physiques de son environnement et d'engager des réponses biochimiques adaptées au niveau du cytoplasme jusque dans le noyau via des mécanismes de mécano-transduction. Ceci aboutit à la régulation de l'expression des gènes par l'assemblage et le désassemblage de l'architecture modulaire des complexes transcriptionnels, souvent associés à des remaniements et des modifications épigénétiques de la chromatine. Enfin, des travaux récents suggèrent que le noyau lui-même est mécanoréactif, réagissant aux forces du cytosquelette par une multitude de réponses comprenant les changements conformationnels et la phosphorylation des protéines de l'enveloppe nucléaire, la modulation de leur relation avec la lamina nucléaire ainsi que l'im-

portation/exportation nucléaire et la modification de l'organisation de la chromatine, ce qui entraîne des changements transcriptionnels décisifs. Ce concept novateur révèle que la chromatine elle-même est un élément rhéologique actif du noyau, qui subit des changements dynamiques lors de l'application de forces, facilitant ainsi l'adaptation de la cellule aux variations mécaniques de son environnement.

II. Modèles

Les modèles cellulaires et les modèles *in vivo* actuels sont des outils indispensables pour répondre aux différentes questions scientifiques dans les champs thématiques de la section 22. Il est cependant important d'avoir le recul nécessaire sur leurs limites, et d'encourager la mise en place de modèles plus pertinents, plus variés et couvrant mieux l'arbre évolutif des métazoaires.

A. Valeurs des modèles cellulaires et leur importance

Les lignées cellulaires 'historiques' ont permis de décrypter les mécanismes fondamentaux de processus cellulaires clés comme la polarité, le trafic vésiculaire, le cycle cellulaire, la mitose, l'apoptose ou encore la ciliogénèse. Cependant ces modèles *in vitro* sont criticables. En effet, de nombreuses études "*in cellulo*" se contentent d'utiliser une lignée cellulaire comme un tube à essai et tentent d'extrapoler leurs conclusions en utilisant une approche binaire (perte ou gain de fonction) à laquelle se réduit mal la complexité du vivant. Toutefois, et malgré ces limitations, les systèmes *in cellulo* restent essentiels pour décrypter les mécanismes du fonctionnement cellulaire. Récemment, grâce à l'avan-

cée des techniques d'édition du génome (CRISPR-Cas9 et ses variantes telles que CRISPRi) ainsi que les approches de protéomique à large échelle, dont celles basées sur la biotinylation de proximité, ont permis de mettre en place des cribles sur l'ensemble du génome et d'identifier les composants de grandes machineries cellulaires, d'organites et de sous-compartiments cellulaires (cil primaire, centrosome, granules de stress, P-Bodies). Ces lignées permettent donc toujours d'identifier et de caractériser des machineries cellulaires fondamentales complexes et de cribler des molécules afin de corriger des phénotypes cellulaires perturbés dans des conditions pathologiques comme le cancer ou certaines maladies métaboliques.

Dans cette nécessité de diversification des outils cellulaires et approches expérimentales, le développement de modèles utilisant des co-cultures de différents types cellulaires, qui restent encore peu exploités, sera précieux pour se rapprocher de l'organisation des tissus dans lesquels plusieurs types cellulaires coopèrent pour assurer leur évolution fonctionnelle *via* des interactions clés telles que l'influence des matrices extracellulaires, les échanges de microvésicules et exosomes. De telles coopérations entre types cellulaires ont été notamment identifiées lors de la régénération/réparation musculaire dont le bon déroulement nécessite l'intervention de progéniteurs musculaires, de deux vagues de macrophages et de progéniteurs fibro-adipogéniques.

Pour conforter le rôle et l'impact fonctionnel des mécanismes mis en évidence *in cellulo* dans le contexte de la biologie du développement, de la différenciation ou de l'homéostasie tissulaire, les résultats obtenus avec des lignées cellulaires modèles doivent être 'confrontés' et validés dans des modèles *ex-vivo* et *in vivo*. Cette complémentarité est particulièrement importante dans le contexte des études sur le potentiel de différenciation des cellules souches qu'elles soient embryonnaires (ESCs), reprogrammées (iPSCs) ou dérivées de tissus adultes.

B. De l'importance des modèles *in vivo* et de leur diversification

Le corpus des connaissances sur la biologie des cellules et du développement des organismes multicellulaires a essentiellement été construit en étudiant des organismes modèles, faciles à manipuler en laboratoire (nématode, drosophile, xénope, poisson-zèbre, poulet) ou phylogénétiquement proches de l'homme (souris). Cette approche était justifiée par la recherche de processus universels et par la difficulté d'appliquer certaines approches expérimentales à une grande diversité d'organismes. Ces organismes modèles permettent d'allier biologie cellulaire *in vivo* (trafic vésiculaire, divisions asymétriques, migration, polarité...) et cribles génétiques ou moléculaires.

Toutefois, il devient indispensable de tenir compte de la diversité des organismes vivants car ce qui est vrai pour un organisme ne l'est pas nécessairement pour un autre. À la grande diversité directement observable des animaux, répond une grande diversité du fonctionnement des cellules et des mécanismes du développement qui n'a encore été que très partiellement explorée. Ainsi, il apparaît que des organismes comme des éponges, des méduses, des vers plats ou ronds et divers crustacés, insectes, mais aussi de nouveaux poissons, mammifères et oiseaux jusqu'à aujourd'hui inconnus des laboratoires seront de plus en plus utilisés pour comprendre des mécanismes absents chez les organismes modèles étudiés jusqu'à présent (en particulier les capacités régénératives) ou pour mieux comprendre les variations de mécanismes partagés et les particularités observées seulement dans quelques groupes. Comprendre l'évolution des processus cellulaires et des mécanismes du développement impliquera nécessairement une approche comparative basée sur un échantillonnage dense de l'arbre du vivant.

Par ailleurs, la cellule ou le développement d'un organisme sont examinés dans les conditions bien définies du laboratoire. Cette appro-

che, bien que pertinente pour maximiser la reproductibilité et comparer les résultats obtenus par différentes équipes, néglige la plasticité du fonctionnement des cellules et des mécanismes du développement. Pourtant, la variabilité du phénotype en fonction des variations de l'environnement est une composante fondamentale de l'adaptation des organismes. Comprendre les mécanismes moléculaires qui contrôlent l'étendue de la plasticité phénotypique en fonction de l'hétérogénéité environnementale constitue un domaine émergent à l'interface de l'Evo-Dévo et de l'Écologie qui devrait connaître un essor important dans les prochaines années.

C. Limite des modèles animaux et développement de modèles alternatifs

La recherche a progressé grâce à l'utilisation et à l'étude des animaux. Toutefois, l'expérimentation animale est actuellement remise en question en France et à l'international comme en témoigne la récente fermeture des animaleries du Sanger Institute de Londres qui a décidé de les remplacer par des modèles alternatifs. L'industrie pharmaceutique suit le même chemin. Cela préfigure certainement d'un mouvement global à anticiper. En effet, les approches impliquant les modèles animaux nécessitent un encadrement réglementaire et le développement de plateformes et d'expertises importantes ayant un coût élevé au sein des instituts. De plus, dans le domaine médical, se multiplient les exemples de molécules ayant des effets bénéfiques dans des modèles mammifères, finalement non transposables à l'homme.

Le modèle mammifère le plus courant pour modéliser les pathologies humaines demeure la souris. Toutefois, son utilisation est de moins en moins simple, en raison de son coût de revient et d'une réglementation contraignante. Le poisson-zèbre représente un modèle vertébré complémentaire à la souris. Outre son coût

de revient plus faible, ce modèle jouit de multiples avantages. La manipulation génétique y est relativement aisée, ainsi que l'est l'imagerie en temps réel pour suivre les phénomènes de migration, de division, et de différenciation cellulaire au cours du développement. Le poisson-zèbre est aujourd'hui utilisé pour caractériser des mécanismes physiopathologiques de maladies génétiques comme les ciliopathies ou les maladies neurodégénératives, mais aussi les processus d'invasion et de migration tumorale, ainsi que dans le criblage de molécules pharmacologiques. Cependant, ce modèle présente également des limites de par ses spécificités (duplication du génome, composition et organisation de la matrice extracellulaire, système immunitaire...) et demeure éloigné du lignage tétrapode.

Il est donc important de considérer et de développer des modèles alternatifs. Le développement de la reprogrammation cellulaire et des cellules souches pluripotentes induites a permis d'obtenir soit des cellules différenciées proches des cellules primaires, soit des organoïdes (structures pluricellulaires tridimensionnelles ayant pour but de reproduire *in vitro* des organes en miniature). Cela permet d'étudier des processus cellulaires fondamentaux dans un cadre se rapprochant de l'*in vivo* et mimant les phases précoces du développement. L'approche organoïde a réalisé de grands progrès dans la reconstitution de tissus organisés complexes comme les différentes parties du néphron pour le rein et des photorécepteurs différenciés pour la rétine ou encore des cerveaux en miniature. Les étapes précoces du développement chez les mammifères sont compliquées à étudier compte tenu de l'inaccessibilité des embryons dans l'utérus. La mise en place de différents types de cocultures à partir de cellules souches embryonnaires et dérivées du trophoblaste, a permis de créer des mini-embryons à des stades précoces mimant le stade blastula (blastoïdes) ou gastrula (gastruloïdes). Les premières phases du développement préimplantatoire et post-implantatoire sont ainsi aujourd'hui mieux connus, y compris chez l'homme.

Le développement de lignées iPSC exprimant des marqueurs fluorescents et la possibilité d'édition du génome par la technique CRISPR-Cas9 permettent d'étudier des machineries cellulaires dynamiques au cours de la différenciation par des techniques d'imagerie en temps réel. Ces études concourent à une meilleure compréhension des mécanismes au cours de l'organogénèse chez l'homme, et la production de modèles alternatifs de maladies humaines permet d'envisager des cribles pharmacologiques plus pertinents. Parallèlement, se développent les techniques d'organes-surpuce (organ-on-a-chip). Les découvertes dans le domaine des nanotechnologies permettent d'améliorer ces micro-structures et de mimer les dynamiques propres aux conditions *in vivo*. Ce domaine en pleine expansion devrait permettre dans un avenir proche l'analyse de processus développementaux à partir de cellules saines ou dérivées de patients. Cependant, chez l'homme, l'obtention de cellules primaires, même de simples fibroblastes de peau, devient de plus en plus compliquée à cause des réglementations drastiques sur les prélèvements invasifs.

Pour conclure, malgré le développement de méthodes alternatives, il est important de ne pas perdre de vue que la compréhension des mécanismes fondamentaux qui intéressent notre section, nécessite de comparer différents modèles animaux (méduse, nématode, drosophile, oursin, ascidie, amphioxus, poisson-zèbre, xénope, poulet, souris...), notamment pour les questions concernant la fécondation, la méiose, la morphogénèse ou la régénération. En effet, il apparaît que la compréhension des mécanismes qui sous-tendent le développement ne peut se passer de l'étude de leurs variations. Ainsi, l'élucidation des règles fondamentales du vivant ne peut pas se contenter de l'étude approfondie d'une seule espèce. Il est donc primordial de préserver les savoirs et les expertises techniques acquises sur les modèles historiques et de faciliter l'introduction de nouveaux modèles tout au long de l'arbre évolutif pour poursuivre la recherche sur l'évolution des processus cellulaires et développementaux.

III. Interdisciplinarité

A. Interface avec la physique

Ces dernières années ont été marquées par le développement des approches à l'interface de la physique et de la biologie. En particulier, l'impact des contraintes mécaniques est reconnu comme un régulateur clé de nombreux processus biologiques, allant des molécules aux organismes, tout au long du développement embryonnaire, mais aussi lors de la régénération tissulaire et dans des situations de régulations physiologiques et de dérèglements pathologiques, tels que le cancer. Ces approches transdisciplinaires et multi-échelles ont été rendues possibles grâce aux avancées technologiques considérables réalisées dans les domaines de l'imagerie du vivant, avec le développement de la nano et de la microfabrication, mais également grâce à un attrait et une perméabilité croissante entre les disciplines, en particulier entre la biologie et la physique. La mécanobiologie s'est focalisée sur les liens entre propriétés mécaniques et régulation des signaux biochimiques, comme par exemple dans l'organisation du cytosquelette, des complexes adhésifs et du noyau. À plus long terme, ce champ de recherche nous renseignera sur les mécanismes de la réparation cellulaire, de la reprogrammation et de la différenciation des cellules souches. Couplé aux méthodes de l'ingénierie, on attend ainsi des progrès pour la biologie fondamentale comme pour la médecine régénérative, *via* la construction d'organes complexes voire hybrides matériaux-cellules. À l'échelle macroscopique, la mécanotransduction contribue probablement à l'influence des forces générées par le flux sanguin, à la rigidité globale des tissus et son évolution au cours du développement ou du vieillissement, à la contraction musculaire ou encore à la réponse à la gravité. La recherche en mécanobiologie modifie en profondeur la biologie et ses applications en physiologie, physiopathologie et médecine.

En biologie, le développement de méthodes statistiques représente un enjeu considérable étant donnée l'importante variabilité des mesures, des fluctuations et du bruit. Les approches à l'interface de la physique et de la biologie visent notamment à déterminer les caractères communs qui sous-tendent certains mécanismes biologiques à différentes échelles moléculaire, cellulaire et tissulaire. Or, la présence d'interactions fortes et non homogènes à de nombreuses échelles, couplées à des effets hors équilibre, rend difficile les approches standard. Le développement d'outils de physique statistique comme les méthodes d'inférence ou l'apprentissage automatique (« machine learning ») apparaît donc crucial pour extraire des informations à partir des données expérimentales.

Enfin, il convient également de souligner l'apport précieux de la théorie (modélisation mathématique) à la compréhension des mécanismes à toutes les échelles d'organisation du vivant. La formalisation permet d'identifier les paramètres clés d'un système et de prédire son comportement lors de perturbation expérimentale contrôlée.

B. Importance des approches d'imagerie

Parmi les avancées technologiques considérables réalisées ces dernières années, l'imagerie à haute résolution tient une place importante. Les évolutions technologiques récentes dans ce domaine ont bouleversé les frontières établies et constituent une des pierres angulaires de la compréhension des mécanismes cellulaires et au cours du développement. Parmi ces évolutions récentes, l'attribution du Prix Nobel de chimie (2014) aux techniques de microscopie à très haute résolution témoigne de l'importance grandissante de ces microscopies de pointe, mais surtout de l'intérêt et de l'apport potentiel de ces technologies à la compréhension de mécanismes cellulaires déterminants. Ces technologies

ouvrent le champ des possibles et sont en perpétuelle évolution avec l'amélioration des méthodes optiques, de détection et d'acquisition mais également d'analyse. Ces techniques permettent aujourd'hui d'envisager des études cellulaires, voire subcellulaires, au sein d'organismes vivants ou en cours de développement. Elles permettent d'apprécier, à l'échelle nanométrique, des structures ou des complexes subcellulaires déterminants dans des phénomènes telles que la division, la prolifération, l'adhésion ou la migration cellulaire. Le suivi de molécules uniques avec une très haute résolution spatio-temporelle et l'analyse du comportement de ces molécules sont également possibles. Les récents développements en microscopie super-résolutive (STED, PALM, STORM, etc.) permettent de documenter le comportement de complexes protéiques à une échelle nanométrique et d'apprécier la diversité des mécanismes en place à l'échelle d'une cellule unique. Ces approches résolutive restent complexes si l'on s'intéresse à des organismes entiers, mais des évolutions récentes telles que la microscopie STED *in vivo* permettent d'envisager à moyen terme la visualisation de processus subcellulaires à très haute résolution dans un tissu ou un organisme vivant. Certaines approches d'imagerie, telles que la microscopie à feuillet de lumière, ont permis des avancées spectaculaires, notamment dans le domaine de la biologie du développement. Quand ces nouvelles méthodes d'acquisition, qui se caractérisent par une haute résolution spatiale et temporelle et une faible phototoxicité, sont combinées à des méthodes d'analyse de traçage ou lignage cellulaire, elles permettent de comprendre l'évolution d'une cellule unique, en rapport à ses voisines, à l'échelle d'un organisme entier en cours de développement. De plus, il est possible de rendre transparent, voire agrandir des échantillons volumineux et opaques tels que des organes entiers de souris, ce qui offre la possibilité d'entrevoir la complexité de réseaux cellulaires *in situ* à très haute résolution. Ces avancées continues, notamment dans le domaine de l'optique (Lattice Light sheet with adaptive optics), ont déjà permis d'accéder à la visualisation de mécanismes cellulaires com-

plexes au sein de petits organismes. Ces développements devraient à présent révéler la dynamique de ces mécanismes, ce qui n'était pas envisageable dans le passé car certains phénomènes requièrent des cadences d'acquisition de l'ordre de la milliseconde. Enfin, l'évolution des techniques de fluorescence et de microscopie intravivante, combinées à des méthodes corrélatives permet de sonder certains phénomènes à l'échelle d'organismes complexes tels que la souris à la fois par le prisme de la fluorescence, mais également celui de la microscopie électronique. Les méthodes de préparation d'échantillons pour la microscopie électronique connaissent également une évolution constante permettant d'accéder de mieux en mieux à la structure atomique de molécules au sein d'échantillons complexes. Il est évident que la microscopie, avec ses évolutions et améliorations, est à même de fournir un outil essentiel à la compréhension de la complexité du vivant. Il est crucial que ces approches et leur développement soient consolidés et largement utilisés pour favoriser la découverte de nouveaux mécanismes cellulaires et développementaux.

C. Interface avec la biologie structurale

Les récentes avancées des techniques de microscopie électronique ont permis l'émergence depuis quelques années d'une nouvelle interface entre la biologie cellulaire et l'étude de la structure tridimensionnelle des macromolécules biologiques. L'étude de la structure 3D des protéines ou d'autres macromolécules telles que les ARNs reposait jusqu'à présent essentiellement sur leur cristallisation, et l'analyse de la diffraction de rayons X par ces cristaux. Cette méthode implique une purification quasi parfaite des molécules et des complexes moléculaires, qui sont par conséquent sortis de leur contexte cellulaire, voire le plus souvent produits et purifiés à partir d'un autre organisme comme la bactérie. Le développement de la cryo- microscopie électronique permet

dorénavant d'étudier la structure des molécules non plus figées dans un cristal, mais dans l'état qu'elles adoptent en solution. La faible quantité de matériel nécessaire pour ce type d'étude rend plus facile la résolution de la structure de macromolécules et de complexes macromoléculaires purifiés directement à partir d'échantillons biologiques. Enfin, la cryo-tomographie électronique, donne accès à des informations structurales directement issues des échantillons biologiques, sans aucune étape de purification préalable, permettant d'accéder au fonctionnement des macromolécules directement au sein des cellules. Ce type de technique en plein développement va nécessairement bénéficier d'avancées méthodologiques prochaines pour la préparation des échantillons, l'acquisition des images et leur analyse et rapprocheront de fait la biologie cellulaire et la biologie structurale.

D. Interface avec la génétique

Les approches « omiques » (génomique, transcriptomique, protéomique, métabolomique), dites techniques à haut débit permettant d'appréhender la complexité du vivant dans son ensemble, se sont développées grâce à l'interface de plusieurs disciplines en biologie. En particulier, le séquençage des ARNm sur cellules uniques qui donne accès au profil d'expression de milliers de transcrits dans des milliers de cellules en faisant une seule expérience, a connu récemment une explosion dans le domaine de la biologie cellulaire et la biologie du développement. Cette technique devrait permettre à terme d'identifier tous les types cellulaires, d'expliquer la composition cellulaire des tissus et de comprendre ce qui fait l'identité d'une cellule. En parallèle, le suivi en temps réel d'une cellule au sein d'un tissu a été rendu possible grâce aux progrès de l'imagerie afin de caractériser des processus cellulaires dynamiques *in vivo*. Plus récemment, diverses méthodes se sont développées pour associer le séquençage de cellules uniques avec le lignage cellulaire en générant

des mutations précoces au cours du développement par la méthode CRISPR/Cas9, qui, tels des codes-barres génomiques, permettent de repérer les cellules et leurs descendantes. Ces approches devraient permettre de retracer le destin de chaque cellule au cours du développement mais de pouvoir également séparer ce qui est caractéristique d'une espèce de ce qui relève des variations individuelles. Ces différentes approches, qui peuvent même être utilisées simultanément, génèrent d'énormes quantités de données (« big data ») dont l'analyse peut s'avérer complexe. La représentation de ces résultats requière également de pouvoir développer et utiliser des algorithmes spécifiques. Ainsi, il est de plus en plus nécessaire d'avoir un accès facile et rapide à des moyens de stockage et d'analyse bio-informatique puissants, idéalement au sein de chaque unité, afin de permettre aux chercheurs d'exploiter au mieux leurs résultats.

IV. Points de vigilance et recommandations

A. Soutenir les initiatives structurantes et interdisciplinaires

La recherche française en biologie cellulaire et biologie du développement a grandement bénéficié des avancées technologiques de cette dernière décennie, que ce soit en microscopie, dans la préparation des échantillons biologiques, la cytométrie, l'édition du génome ou le profil d'expression génique sur cellule unique. La mutualisation des moyens entre centres de recherche d'un même site sous forme de plateformes dédiées a joué un rôle essentiel dans la diffusion et l'accès de ces techniques de pointe aux personnels de recherche. Préserver et améliorer cette mutualisation

représente un enjeu majeur. L'avancée des connaissances en biologie cellulaire et biologie du développement a également été stimulée par la coexistence de thématiques variées et la collaboration forte de ses chercheurs au sein d'unités de recherche multidisciplinaires. Ces échanges ont permis à différentes disciplines de s'éclairer les unes les autres en raison de leur complémentarité dans les domaines de la biologie moléculaire, la biologie structurale ou la biophysique. Cette diversité thématique et ces échanges entre disciplines doivent être, non seulement conservés, mais étendus par la création de centres interdisciplinaires, associant biologistes, physiciens, théoriciens, informaticiens et ingénieurs. Si ce mouvement est désormais enclenché sur plusieurs sites en France, il demeure la nécessité de mieux le soutenir au niveau institutionnel, notamment par davantage de recrutement de profils interdisciplinaires de haut niveau. À ce titre, se pose la question de savoir si les CID51 et 54, censées remplir cet objectif, sont suffisamment bien dotées. L'expérience de la section 22 laisse à penser que ce n'est pas le cas puisque nombre de candidats de valeur, certains étant même de purs théoriciens, se présentent à notre section avec des dossiers scientifiques qui nous sont parfois impossibles à expertiser. De ce constat découle la question de savoir s'il n'est pas temps de transformer ces CID en une section « approches interdisciplinaires du vivant », à part entière, dotée de son propre panel d'experts.

B. Optimiser et adapter les procédés d'évaluation

Contrairement au modèle anglo-saxon, l'organisation de la majorité des équipes de recherche de la section repose sur la présence de plusieurs chercheurs, ce qui constitue une opportunité incroyable en termes de moyens humains et de réflexion intellectuelle pour faire face à la compétition internationale. L'excellence de nombreuses équipes en biologie cellulaire et développement en témoigne. Elle

risque cependant de devenir inefficace si une réflexion n'est pas menée pour mieux définir le poste de chaque membre de l'équipe et reconnaître l'implication des CRCN en termes d'engagement collectif et de responsabilités d'encadrement. À cet égard, la création du grade CRHC a permis de débloquent la carrière de nombreux agents au dernier échelon de ce corps. Il faut cependant veiller à ce que cette progression de carrière ne soit pas l'apanage des femmes, les postes de directeurs de recherche devenant celui des hommes. L'autocensure des femmes et la ségrégation hiérarchique entre hommes et femmes restent une réalité et il faut espérer que le pourcentage de femmes qui se présentent aux concours augmente.

C. Veiller à l'équilibre des thématiques

Au cours de la dernière décennie, la diminution des financements de base et la part croissante des financements sur projets ont profondément influencé et orienté la recherche en biologie cellulaire et biologie du développement. En particulier, on constate que la biologie du développement souffre de l'image d'une discipline désuète ces dernières années. Ce constat est d'autant plus paradoxal que les avancées technologiques récentes, telles que les méthodes d'édition du génome, les méthodes d'imagerie, de fabrication d'organoïdes ou encore le séquençage sur cellule unique, permettent de prédire une véritable révolution dans notre compréhension des mécanismes régissant le développement à la fois aux stades embryonnaires et chez l'adulte, lors des processus de régénération. Le manque d'attrait pour cette discipline semble être un problème d'image, de perception et de visibilité. Pourtant, la biologie du développement est bien la discipline qui a enfanté la recherche sur les cellules souches embryonnaires ou induites qui promettent aujourd'hui des miracles en médecine régénérative. Il faut donc être vigilants et visionnaires pour continuer à finan-

cer et recruter au-delà des effets de mode car l'âge d'or de la biologie cellulaire et du développement est toujours devant nous. Il est essentiel de garder également à l'esprit qu'une recherche fondamentale forte dans ces domaines peut avoir des retombées majeures dans le domaine de la médecine et de la bioéthique, en apportant par exemple un éclairage quant aux prises de décisions concernant la fécondation *in vitro*, l'utilisation des cellules souches embryonnaires, les bébés génétiquement modifiés à l'aide de la technologie CRISPR-Cas9, etc. Par ailleurs, le faible taux de succès aux appels d'offre nationaux (ANR-CE13) pousse de nombreux chercheurs à orienter leurs travaux vers des projets de recherche ayant des objectifs plus appliqués ou permettant de publier plus rapidement. Le manque de moyens actuel nuit donc à la qualité de la recherche menée dans nos disciplines et à la liberté des chercheurs, pourtant essentielle pour une recherche d'excellence source d'innovation. En effet, les principales ruptures scientifiques et technologiques proviennent le plus souvent de recherches motivées par la curiosité. Pour une utilisation plus efficace des fonds publics, il convient de veiller aux critères d'éligibilité, de simplifier les procédures administratives, et d'assurer un bon équilibre entre les thématiques en vogue et celles plus confidentielles mais toutes aussi essentielles aux progrès des connaissances.

D. Protéger de la pression scientifique

Un accompagnement dans l'écriture des publications avec la création de bureaux d'édition au sein des instituts (au même titre que certains grands centres de recherche anglosaxons) et dans les demandes de financement permettrait de mieux valoriser l'ensemble des sujets de recherche développés dans les équipes et de renforcer les thématiques les plus fragiles. Par ailleurs, la pression toujours croissante pour publier dans des revues à haut facteur d'impact risque d'accroître les cas de

méconduites scientifiques, les exigences pour publier dans ces revues étant parfois impossibles à satisfaire. Actuellement, une des alternatives proposées est la Science Ouverte dont les contours mériteraient d'être mieux définis. La publication d'articles en Open access dans des revues prestigieuses ne diminue en aucun cas la course au facteur d'impact. Se pose également la question de l'évaluation de la qualité et de l'impact des articles déposés sur des plateformes ouvertes de type bioRxiv. Il n'est pas illusoire de penser qu'un système d'évaluation semblable à celui de la relecture par les pairs des journaux traditionnels (du type «Peer community in»: <https://peercommunityin.org/>) prenne de l'ampleur prochainement. Il est donc crucial et urgent qu'il soit orchestré par des institutions internationales adéquates.

Conclusion

La biologie cellulaire, la biologie du développement et l'évo-dévo sont des disciplines traditionnellement très fortes en France, notamment grâce aux laboratoires labellisés par le CNRS. Dans ces 3 disciplines, les écoles de pensée sont anciennes mais ont su constamment se ré-inventer grâce à un soutien institu-

tionnel fort, tel que le programme ATIP, et à une organisation optimisée en grands centres de recherche, permettant la mutualisation d'équipements de pointe très onéreux. Toutefois, on constate un étiolement progressif de certains secteurs, parfois à cause d'un déficit d'image, souvent à cause de manque de moyens financiers, ce qui conduit à un appauvrissement, voire à la disparition de savoirs et d'expertises uniques. Une partie de l'explication vient de la révolution technologique que connaissent les disciplines de la section 22 comme toutes les autres en biologie et qui tend à inverser la façon même de pratiquer la science. Lorsque précédemment il convenait d'émettre une hypothèse avant de tester sa valeur expérimentalement, on préfère aujourd'hui recueillir de grandes quantités de données sans biais expérimental et sans hypothèse préconçue, dont le traitement statistique, assistée de l'intelligence artificielle permettra d'échafauder des modèles théoriques plausibles et prédictifs. Ces changements s'ils sont pertinents sont très significatifs et nécessitent de former une nouvelle génération de chercheurs, au profil plus interdisciplinaire, plus technologique et plus polyvalent. Il ne faudra pas pour autant sacrifier le moteur essentiel du progrès scientifique que représente le simple émerveillement devant la beauté, la diversité et la complexité du monde vivant.

ANNEXE 1

Abréviations

Cryo-EM: Cryo Electron Microscopy

ESC: Embryonic Stem Cell

iPSC: induced Pluripotent Stem Cell

STED: STimulated Emission-Depletion

PALM: Photo-Activated Localization Microscopy

STORM: STochastic Optical Reconstruction Microscopy