

ÉCOLE NORMALE SUPÉRIEURE DE LYON

Concours d'admission session 2022

Filière universitaire : Second concours

COMPOSITION DE BIOLOGIE-BIOCHIMIE

Durée : 3 heures

L'utilisation des calculatrices n'est pas autorisée pour cette épreuve.

Ce livret comprend 17 pages numérotées de 1 à 17

Le sujet comprend deux parties : une première partie correspondant à une courte synthèse (temps recommandé 20 minutes) et une seconde partie correspondant à l'analyse de documents qui comprend une vingtaine de questions.

La partie analyse de documents comprend elle-même trois sous-parties. La progression des questions suit un ordre logique, il est donc recommandé de les traiter dans l'ordre prévu, mais de nombreuses questions peuvent être traitées indépendamment des autres, notamment entre les différentes sous-parties, et même au sein d'une sous-partie. Les informations données en introduction de cette seconde partie peuvent être utiles pour toutes les questions. Pour cette partie, une réponse la plus précise possible à la question posée est attendue, comprenant, lorsqu'il est demandé d'**interpréter une figure, une brève analyse des résultats présentés suivie d'une conclusion**. Il est recommandé de ne pas passer plus de 5 minutes par question pour pouvoir traiter l'ensemble du sujet dans le temps imparti.

Partie 1 : La Fécondation chez les Mammifères (20 min)

Question de synthèse :

Question 1

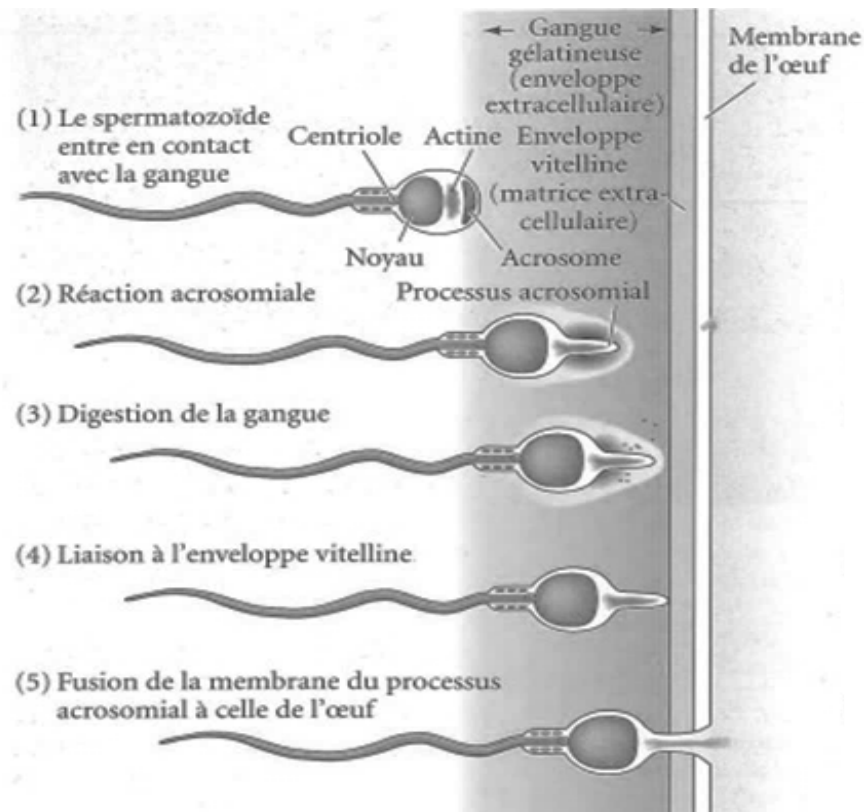
En deux pages au maximum, vous présenterez le cycle de reproduction des Mammifères, en insistant sur la place de la méiose et de la fécondation dans ce cycle. Vous réaliserez notamment une illustration présentant le détail des étapes de la méiose.

Partie 2 : La Fécondation chez les Oursins

Depuis le XIX^{ème} siècle, les Oursins ont été très utilisés pour étudier la fécondation et les premières étapes du développement animal. Ce sont de bons modèles pour la recherche (et même pour l'enseignement) car les gamètes sont facilement accessibles en abondance, la fécondation *in vitro* fonctionne avec un taux de réussite proche de 100%, la **formation d'une membrane de fécondation** permet d'en attester la réussite, les embryons sont transparents etc. Les différentes étapes menant à la fécondation chez l'Oursin sont donc bien connues, et si elles présentent des différences entre espèces d'Oursin, elles suivent néanmoins globalement les cinq principales présentées dans la figure 1.

Nous vous proposons d'étudier quelques caractéristiques de la fécondation chez les Oursins à travers l'étude de résultats expérimentaux très anciens et de résultats plus récents, sans entrer dans le détail des voies de signalisation impliquées.

Figure 1 : Les principales étapes de la fécondation chez l'Oursin. (Gilbert et al. 2004)



La **réaction acrosomiale ou acrosomique** est déclenchée par le contact entre le spermatozoïde et certains composants de la gangue gélatineuse. Le contenu de l'acrosome est libéré à l'avant du spermatozoïde (suite à la fusion entre la membrane cellulaire antérieure du spermatozoïde et la membrane acrosomiale sous-jacente). De nombreuses enzymes qui vont notamment digérer la gangue gélatineuse et permettre au spermatozoïde d'arriver jusqu'à la membrane de l'œuf sont libérées depuis l'acrosome. L'actine globulaire qui était située entre le noyau du spermatozoïde et la vésicule acrosomique se polymérise à ce moment-là en microfilaments d'actine qui vont repousser l'ancienne membrane interne de l'acrosome vers la membrane de l'œuf, formant ce que l'on appelle le **processus acrosomique (ou acrosomial)** (Figure 2). La fusion de la membrane du spermatozoïde avec celle de l'œuf peut avoir lieu une fois que le processus acrosomique a atteint la membrane de l'ovule après avoir traversé la gangue gélatineuse et l'enveloppe vitelline. La fusion des membranes provoque la formation de la **membrane de fécondation** évoquée précédemment. Elle correspond à la transformation de l'enveloppe vitelline suite à l'exocytose de granules corticaux, qui sont des vésicules lipidiques situées juste sous la surface membranaire de l'œuf. La libération de leur contenu suite à une augmentation massive de la concentration en calcium dans l'œuf déclenchée par l'entrée d'un spermatozoïde transforme l'enveloppe vitelline en **membrane de fécondation** et crée un **espace périvitellin** entre l'œuf et la membrane de fécondation (Figure 3).

Figure 2 : La réaction acrosomique d'un spermatozoïde d'Oursin.

Représentation schématique légendée et photographies en microscopie électronique à transmission de la réaction acrosomique chez l'Oursin. (Gilbert et al. 2004)

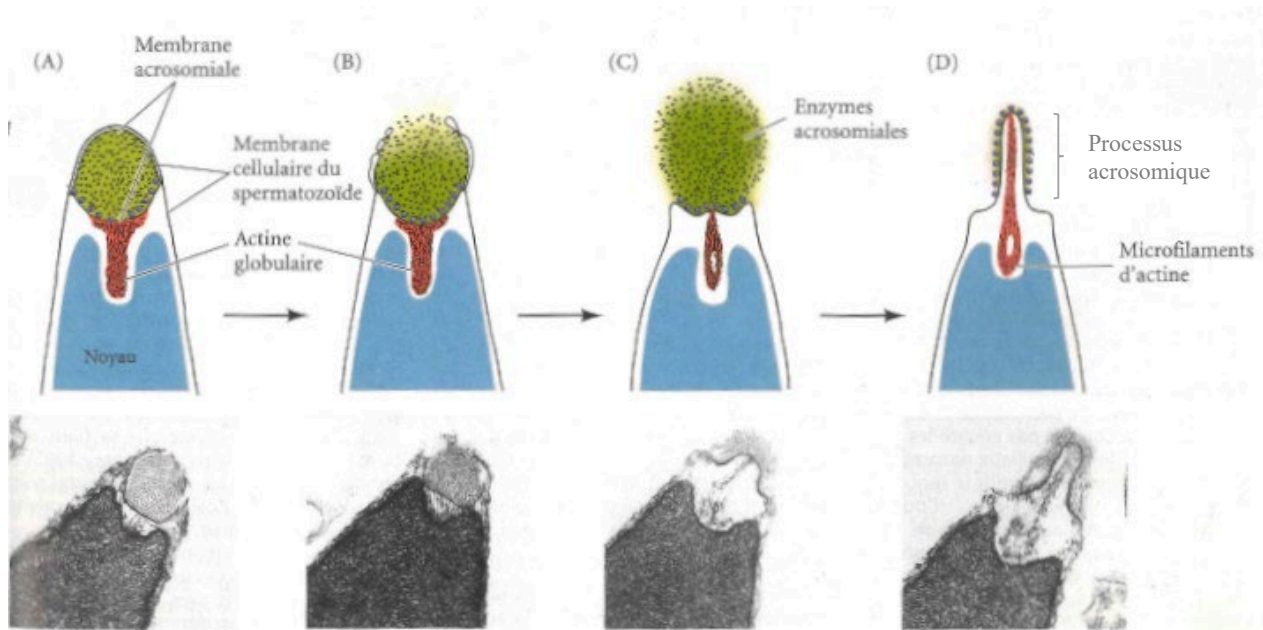
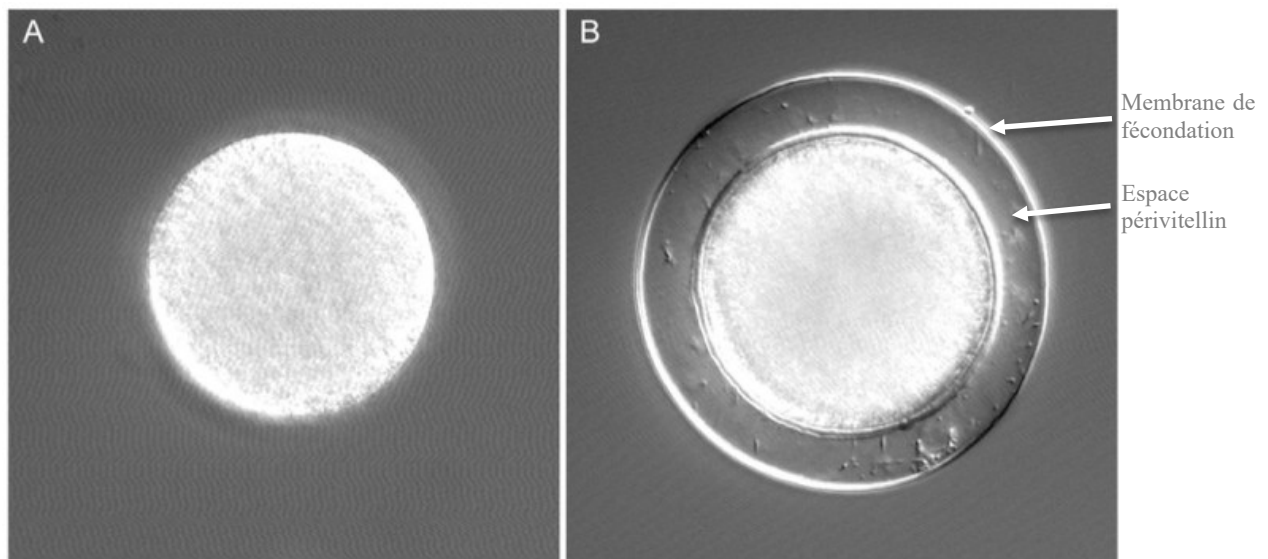


Figure 3 : La membrane de fécondation.

Observation d'un œuf d'oursin avant (A) et après fécondation (B) avec un microscope optique (taille de l'œuf environ 100 μ m de diamètre). La membrane de fécondation est bien visible sur la photo B. (Shipp, Hill, et Hamdoun 2019)



Sous-Partie 1 : Rôle de la bindine dans la fécondation chez l'oursin

La bindine, **une protéine d'un poids moléculaire 35kDa**, est l'une des protéines contenues dans la vésicule acrosomique. Sa localisation lors de la réaction acrosomique de spermatozoïdes de l'espèce *Strongylocentrotus purpuratus* (*S. purpuratus*) a été étudiée dans la figure suivante (Moy et Vacquier 1979).

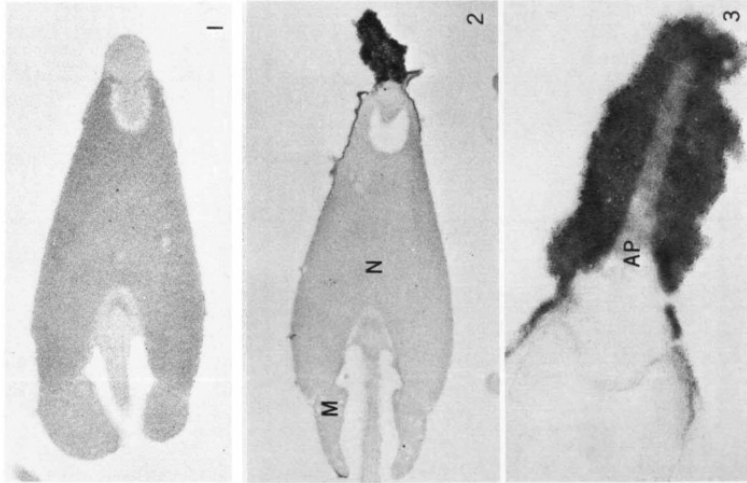


Figure 4 : Localisation de la bindine au cours de la réaction acrosomique.

La réaction acrosomique d'une suspension de spermatozoïdes d'oursin a été déclenchée artificiellement. Les spermatozoïdes ont été fixés pour analyse à différents temps. Les spermatozoïdes ont été mis en présence d'un anticorps de lapin reconnaissant la bindine dont la présence a été révélée par un anticorps secondaire dirigé contre les anticorps de lapin, couplé à une enzyme, la peroxydase, formant un précipité très sombre lorsqu'on la met en présence de son substrat. Les spermatozoïdes ainsi marqués ont ensuite été inclus dans une résine et préparés pour observation au microscope électronique à transmission. Le produit de la réaction catalysée par l'enzyme couplée à l'anticorps secondaire est visualisable par microscopie électronique à transmission qui permet aussi de reconnaître les principales structures des têtes de spermatozoïdes. (1) avant le début de la réaction (2) en début de réaction acrosomique (3) lors de l'extension du processus acrosomique. Grossissement : x23500 (A,B) x133200 (C). Légendes : M Mitochondrie N Noyau AP Processus Acrosomique.

Question 2

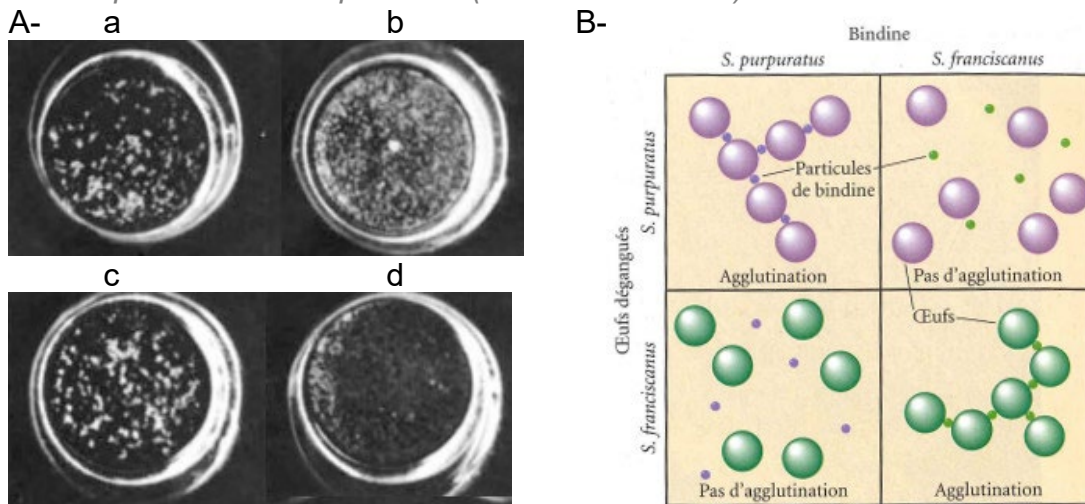
Représentez schématiquement les étapes de l'expérience. Où est localisée la bindine suite à la réalisation de la réaction acrosomique ? Pourquoi, selon vous, aucun marquage n'est visible sur l'image 1 ?

De la bindine a été purifiée depuis la vésicule acrosomique de spermatozoïdes de deux espèces différentes d'oursin *Strongylocentrotus purpuratus* (*S. purpuratus*) et *Strongylocentrotus franciscanus* (*S. franciscanus*). Ces deux types de bindine ont été mis en présence d'œufs des deux espèces, dépourvus de leur gangue, dans des puits de plaque de culture sous agitation et ont été observés après 2 à 5 minutes de contact.

Figure 5 : Observation de l'agglutination d'œufs dégangués de deux espèces d'Oursin en présence de bindine.

A- Photos originales (Glabe et Vacquier 1977). Eléments en présence : (a) bindine et œufs de *S. purpuratus*, (b) bindine de *S. franciscanus* et œufs de *S. purpuratus*, (c) bindine et œufs de *S. franciscanus* (d) bindine de *S. purpuratus* et œufs de *S. franciscanus*.

B- Interprétation de l'expérience (Gilbert et al. 2004).



Question 3

Que suggère cette expérience sur le rôle de la bindine dans la fécondation ? Faites le lien avec la question précédente.

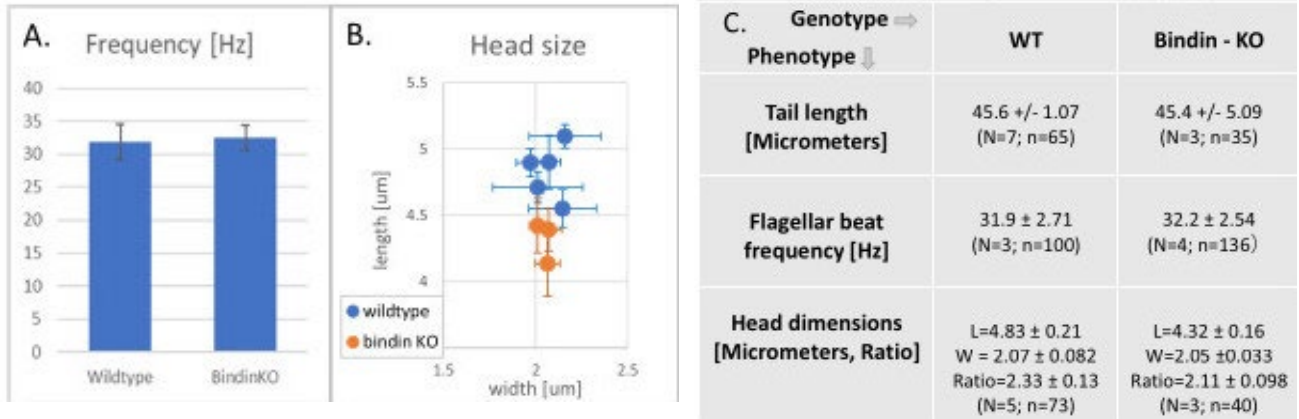
Ce n'est que récemment qu'il a été possible, en utilisant la technologie CRISPR de créer des oursins de l'espèce *Hemicentrotus pulcherrimus* (*H. pulcherrimus* abrégé Hp) n'exprimant pas la bindine, un bon moyen de confirmer l'importance de cette protéine dans la fécondation.

Question 4

Présentez en 5 à 10 lignes et une éventuelle illustration ce que vous savez de la technologie CRISPR.

Pour évaluer l'effet de l'absence de bindine sur la fécondation, des œufs fraîchement fécondés ont été traités avec un système CRISPR dirigé contre la bindine. L'expérience a été particulièrement longue puisqu'il a fallu attendre 1 an et demi pour d'avoir des individus adultes sexuellement matures (appelés KO). Les scientifiques ont comparé les propriétés de lots de spermatozoïdes d'individus traités par CRISPR à ceux d'individus non traités. (Wessel et al. 2021b)

Figure 6 : Comparaison des spermatozoïdes d'individus traités par CRISPR contre la bindine (BindinKO) aux spermatozoïdes d'individus non traités (Wildtype – WT). La taille de la queue (C) et la moyenne de la fréquence de ses battements (A et C) ainsi que la taille de la tête des spermatozoïdes (B et C L length longueur et W width largeur) ont été comparées pour n spermatozoïdes provenant de N individus différents. Les barres d'erreurs ou la valeur +/- indiquent l'écart-type.



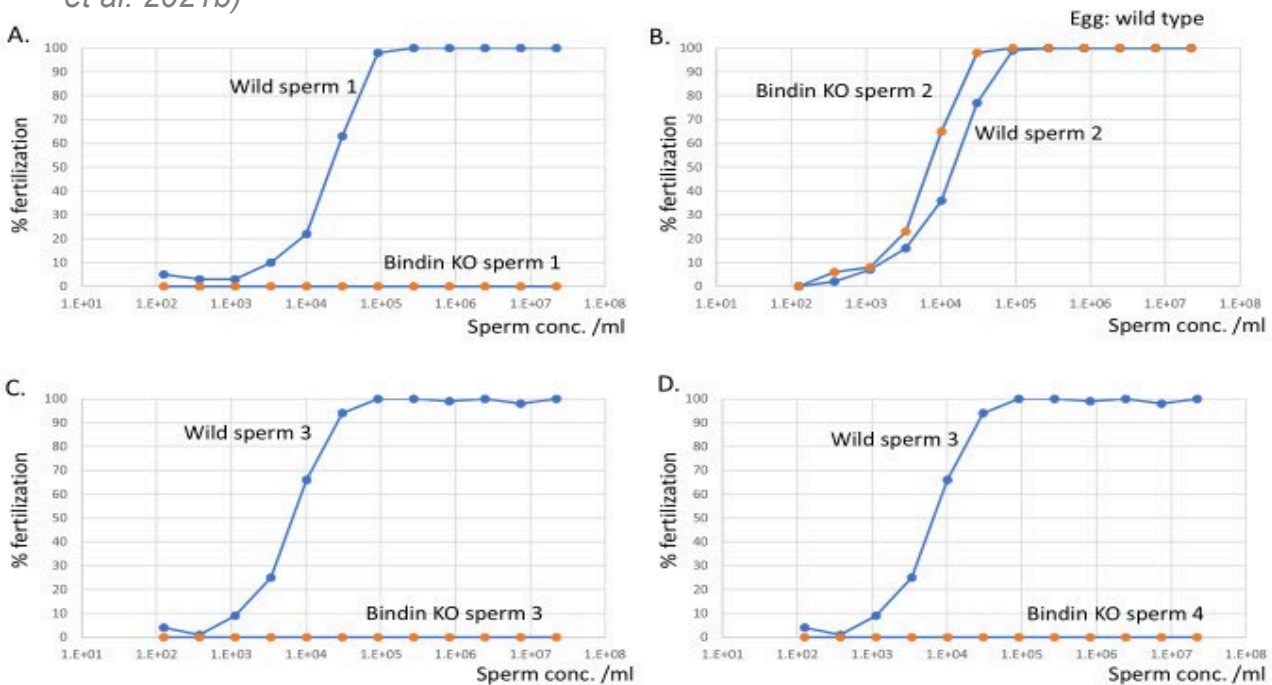
Question 5

Analysez ces résultats. En quoi ces expériences sont importantes ?

Des tests de fécondation ont ensuite été réalisés en utilisant les spermatozoïdes de quatre individus issus d'œufs traités par CRISPR appelés BindinKO ou HPBindin 1, 2, 3 et 4.

Figure 7 : Test de fécondation réalisé avec les spermatozoïdes de quatre Oursins traités par CRISPR contre la bindine.

La capacité des spermatozoïdes de quatre individus (Bindin KO sperm 1,2,3,4) a été testée en utilisant les œufs d'une même femelle non traitée (Egg : wild type) et des concentrations croissantes de spermatozoïdes. La capacité de fécondation (% fertilization) est comparée à celle d'un individu non traité (Wild sperm 1, 2 ou 3). (Wessel et al. 2021b)

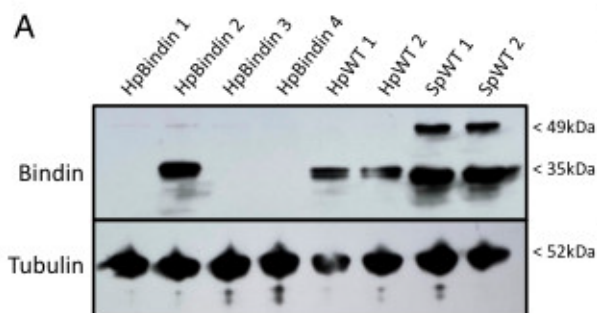


Question 6

Interprétez ces résultats.

Ils ont ensuite comparé l'expression de la bindine dans les spermatozoïdes de ces individus (HPBindin1, 2, 3 et 4) en les comparant à des individus non traités de la même espèce (HpWT) ou d'une autre espèce d'Oursin *S. purpuratus* (SpWT) (Wessel et al. 2021a).

Figure 8 : Analyse de l'expression de la bindine dans les spermatozoïdes d'Oursins traités ou non par CRISPR contre la bindine.



L'expression de la bindine dans le sperme de ces quatre individus a été étudiée par Western-Blot. Les auteurs l'ont comparée à celle de deux individus non modifiés (WT) de l'espèce *H. pulcherrimus* (Hp) et de l'espèce *S. purpuratus* (Sp). Les quantités de protéines Tubuline (une protéine du cytosquelette) et de Bindine ont été analysées.

Question 7

Rappelez ce qu'est un Western-Blot. A quoi sert l'analyse de l'expression de la Tubuline ? Interprétez ce résultat. Est-il conforme à ce que vous attendiez d'après les résultats des tests de fécondation ? Quelles expériences complémentaires proposeriez-vous pour confirmer le résultat obtenu pour l'individu CRISPR numéro 2 ? A quoi pourrait correspondre la bande à 49kDa observée pour SpWT ?

Question 8

Concluez sur l'importance de la bindine dans la fécondation chez l'Oursin.

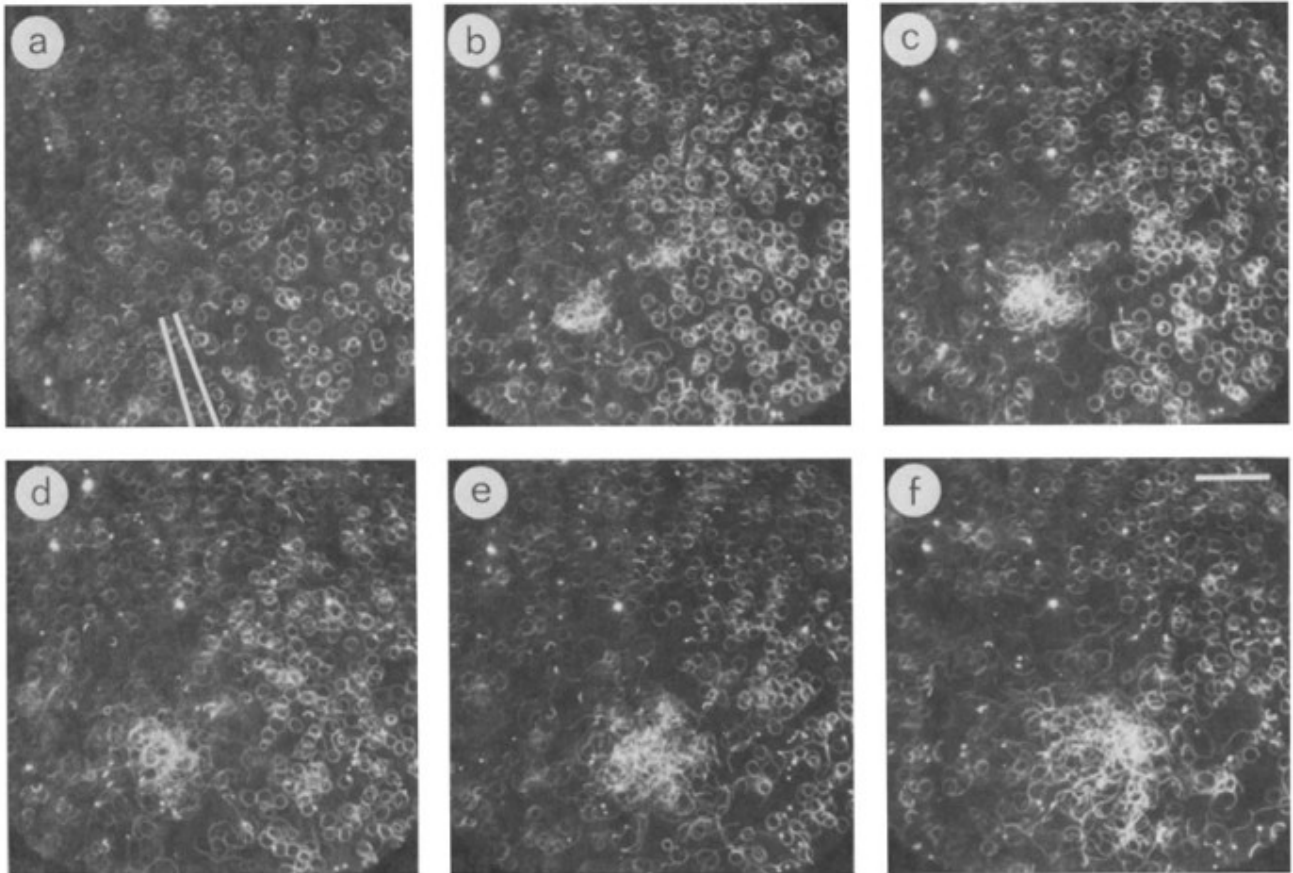
Sous-partie 2 : Rôle de la gangue gélatineuse dans la fécondation

Beaucoup des expériences décrites jusqu'à présent ont été réalisées après avoir enlevé mécaniquement ou chimiquement la gangue gélatineuse à laquelle nous allons maintenant nous intéresser. La gangue gélatineuse qui entoure l'œuf chez l'Oursin est majoritairement formée de polysaccharides sulfatés, mais plusieurs petits peptides en ont aussi été isolés. C'est notamment le cas du peptide **speract pour *S. purpuratus*** ou du peptide **resact pour *Arbacia punctulata* (*A. punctulata*)**.

Afin d'étudier le rôle de ces peptides, une dose infime de resact a été injectée dans une suspension de spermatozoïdes d'*A. punctulata* et le trajet des spermatozoïdes a été étudié. (Ward et al. 1985)

Figure 9 : Analyse de la trajectoire de spermatozoïdes d'*A. punctulata* en présence de resact.

La barre mesure 200 μ M. Des photos d'une suspension de spermatozoïdes avec un temps d'exposition d'une seconde (permettant de suivre le trajet des spermatozoïdes pendant cette seconde) ont été prises 5 secondes avant injection de peptide resact (extrémité de la pipette visible en (a)) (a), puis 20s (b), 40s (c) 50s (d) 70s (e) et 90s (f) après injection.



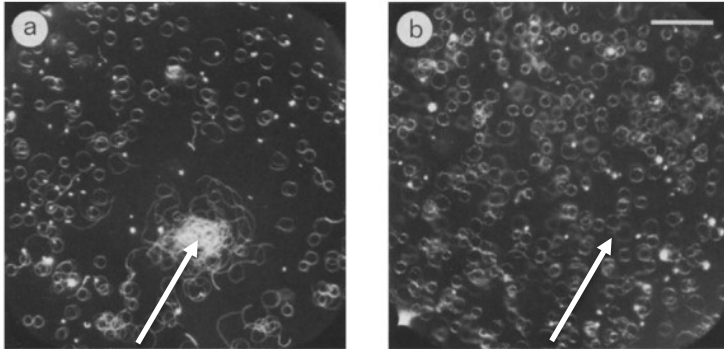
Question 9

Interprétez cette expérience. Quel trajet suivent les spermatozoïdes avant/après injection. Comment s'appelle cette capacité des spermatozoïdes ?

Les auteurs ont ensuite réalisé l'expérience complémentaire présentée à la figure suivante.

Figure 10 : Effet de l'injection de resact (a) ou de speract (b) sur une suspension de spermatozoïdes d' *A. punctulata*.

Même protocole que la figure précédente, les photos ont été prises 50 secondes après injection (le point d'injection est indiqué par une flèche).



Question 10

Décrivez cette expérience, qu'apporte-t-elle de nouveau ? Concluez sur le rôle des peptides speract et resact dans la fécondation.

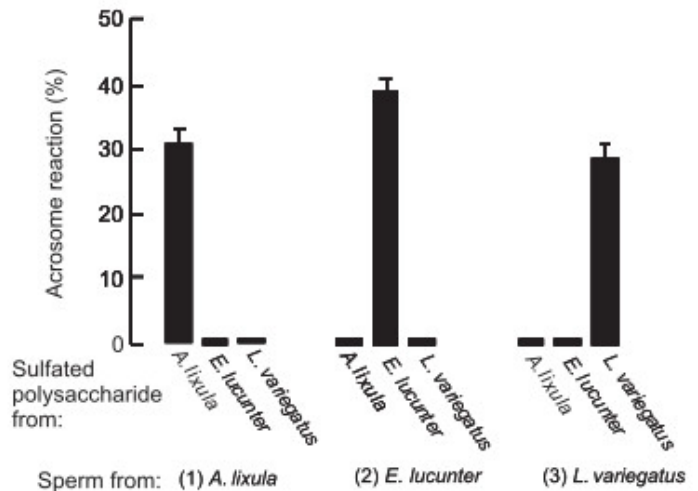
Nous nous intéressons maintenant aux polysaccharides sulfatés, composants majeurs de la gangue des œufs d'Oursin dont la formule chimique diffère selon les espèces (Mourão 2007). Cette première expérience porte sur trois espèces d'Oursin de la baie de Rio de Janeiro au Brésil où ils se reproduisent de manière simultanée.

Figure 11 Capacité des polysaccharides sulfatés purifiés à partir de la gangue gélatineuse d'ovules de trois espèces d'Oursin à initier la réaction acrosomique de spermatozoïdes de ces trois mêmes espèces d'Oursin.

Mesure du pourcentage de spermatozoïdes réalisant la réaction acrosomique lorsqu'ils sont mis en présence de polysaccharides sulfatés des espèces *Lytechinus variegatus* (*L. variegatus*), *Echinometra lucunter* (*E. lucunter*) et *Arbacia lixula* (*A. lixula*).

Question 11

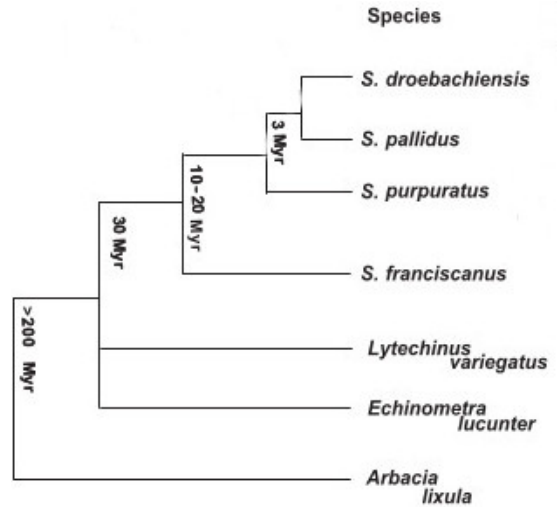
**Interprétez ce résultat.
En quoi est-il important dans le cadre de la reproduction de ces trois espèces ?**



Des expériences similaires ont été réalisées pour trois autres espèces d'Oursin du genre *Strongylocentrotus* : *S. droebachiensis*, *S. pallidus* et *S. purpuratus*.

Figure 12 : Arbre phylogénétique des 6 espèces étudiées, indiquant le temps de divergence entre espèces à partir d'un ancêtre commun.

Myr : millions d'année depuis la divergence évolutive.



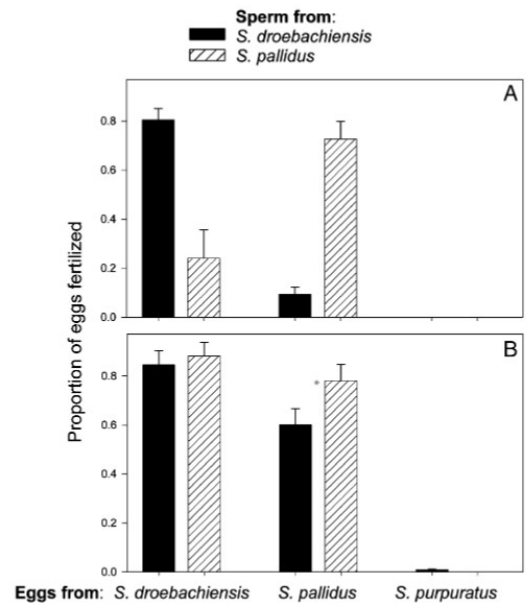
Question 12

Commentez la différence entre les deux groupes de trois espèces étudiés dans la question précédente et dans la question suivante.

Des expériences de fécondation croisée entre les trois espèces d'Oursin du genre *Strongylocentrotus* ont été réalisées. (Biermann et al. 2004)

Figure 13 : Mesure de la réussite de la fécondation croisée entre les spermatozoïdes et les œufs de trois espèces d'Oursin du genre *Strongylocentrotus*.

L'expérience a été réalisée en mettant en contact des spermatozoïdes (sperm) dilués (A) en contact d'œufs (eggs) des espèces indiquées. En B, les spermatozoïdes ont au préalable été incubés avec des gangues muqueuses d'œufs de leur espèce (B). La proportion d'œufs fécondés a été mesurée en estimant le pourcentage d'œufs dont la membrane de fécondation s'est soulevée.

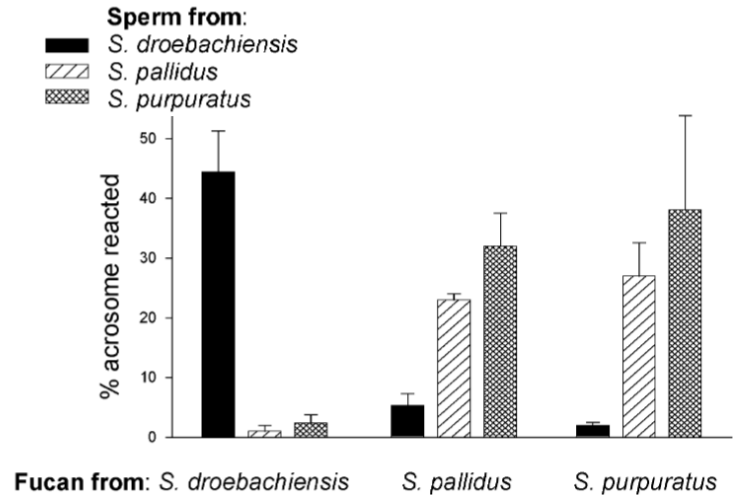


Question 13

Interprétez cette figure. Que nous apprend cette expérience ?

Afin d'essayer d'expliquer les résultats obtenus, les auteurs ont étudié la réaction acrosomique induite par les polysaccharides sulfatés extraits de la gangue gélatineuse des ovules de ces trois espèces sur les spermatozoïdes de ces même trois espèces (Biermann et al. 2004).

Figure 14 : Capacité des polysaccharides sulfatés purifiés à initier la réaction acrosomique de spermatozoïdes de trois espèces d'Oursin du genre *Strongylocentrotus*. (Sperm from : provenance des spermatozoïdes. Fucans from : provenance des polysaccharides sulfatés)



Question 14

Interprétez ce résultat. Expliquent-ils les résultats obtenus précédemment pour *S. droebachiensis* et *S. pallidus* ? Qu'en est-il pour *S. purpuratus* ? Quelle hypothèse pourriez-vous proposer pour expliquer le résultat obtenu avec cette espèce ?

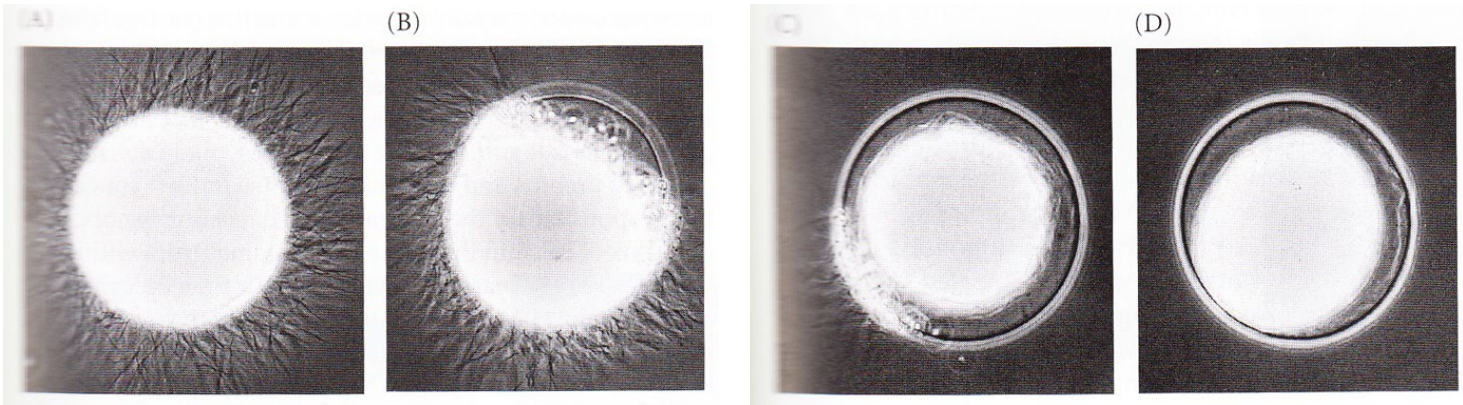
Sous-partie 3 : Blocage de la polyspermie

Une observation qui fascine depuis longtemps les personnes qui travaillent sur la fécondation de l'oursin c'est que malgré la mise en contact, au laboratoire, de très nombreux spermatozoïdes avec les ovules, les ovules sont très rarement fécondés par plus d'un spermatozoïde à la fois, suggérant l'existence d'un mécanisme bloquant l'entrée des autres spermatozoïdes une fois qu'un spermatozoïde est entré. La polyspermie est néanmoins plus fréquente quand les œufs ont été émis depuis un certain temps ou avec certains lots d'œufs.

Les photographies suivantes permettent de visualiser les spermatozoïdes lors de la formation de la membrane de fécondation : elles suggèrent que la formation de la membrane de fécondation repousse les spermatozoïdes surnuméraires, un mécanisme qui a été appelé blocage lent de la polyspermie.

Figure 15 : Localisation des spermatozoïdes lors de la formation de la membrane de fécondation.

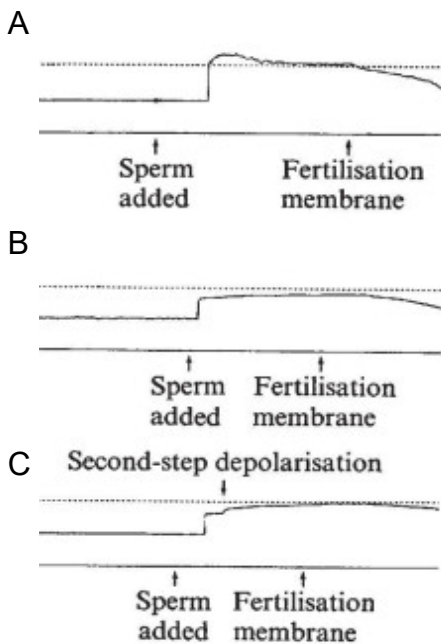
Photographies prises en microscopie optique 10,20, 35 et 60 secondes après l'entrée d'un spermatozoïde. (Gilbert et al. 2004)



La membrane de fécondation mettant plus d'une minute à se former, un mécanisme de blocage plus rapide a été recherché.

Dans cette première expérience, dans un mélange d'œufs déganguiés, une électrode a été insérée dans l'un des œufs pour mesurer le potentiel membranaire. La réalisation ou non d'une fécondation suite à l'ajout de spermatozoïdes a été attestée par la formation de la membrane de fécondation et des divisions cellulaires anormales ont été interprétées comme un signe de polyspermie.

Figure 16 : Mesure du potentiel d'activation d'œufs d'oursin de *S. purpuratus* au cours de la fécondation (Jaffe 1976)



La ligne pointillée correspond à 0mV. Des œufs d'oursin débarrassés de leur gangue ont été analysés à l'aide d'électrodes. L'entrée d'un spermatozoïde provoque une dépolarisation. Le potentiel mesuré au repos était de -70mV (+/- 6mV dans tous les cas), il reste légèrement négatif (B,C) en moyenne de -20mV (+/- 7mV) ou positive de +12mV (+/- 7mV). Les différences de temps entre l'ajout du sperme et la dépolarisation ne sont pas significatives, la dépolarisation a lieu pour la plupart des œufs en moins d'une minute.

Sperm added : Ajout des spermatozoïdes
Fertilisation membrane : Apparition de la membrane de fécondation.

Que

50 mV, 2×10^{-10} A
10s

Interprétez cette figure. Quelle différence constatez-vous entre A et B/C ? A quoi pourrait correspondre la flèche indiquée « Second-step depolarisation » pour C (en sachant que les œufs de type C (mais ni A, ni B) se sont révélés avoir des défauts de développement) ?

Dans un deuxième temps, les auteurs ont utilisé l'électrode pour imposer un voltage de +5mV à la membrane d'un œuf avant d'ajouter les spermatozoïdes.

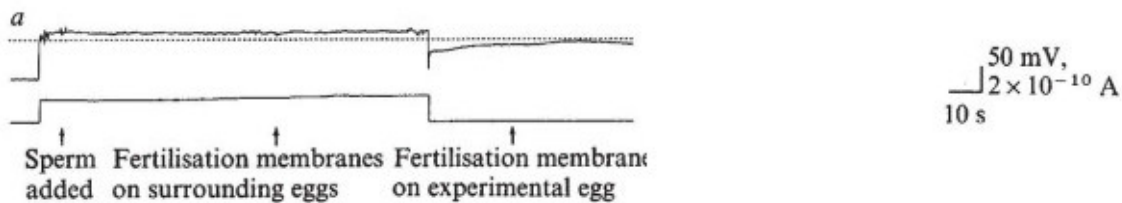
Figure 17 : Etude de l'effet de l'application d'un voltage de +5mV à la membrane d'un œuf d'Oursin de *S. purpuratus* sur sa fécondation.

La ligne du bas indique la période pendant laquelle ce courant a été imposé (le haut du plateau correspondant à +5mV et le bas au potentiel de repos).

Sperm added : Ajout des spermatozoïdes

Fertilisation membranes on surrounding eggs: Apparition de la membrane de fécondation sur les œufs avoisinants.

Fertilisation membrane on experimental egg: Apparition de la membrane de fécondation sur l'œuf dont on impose et mesure le potentiel membranaire.



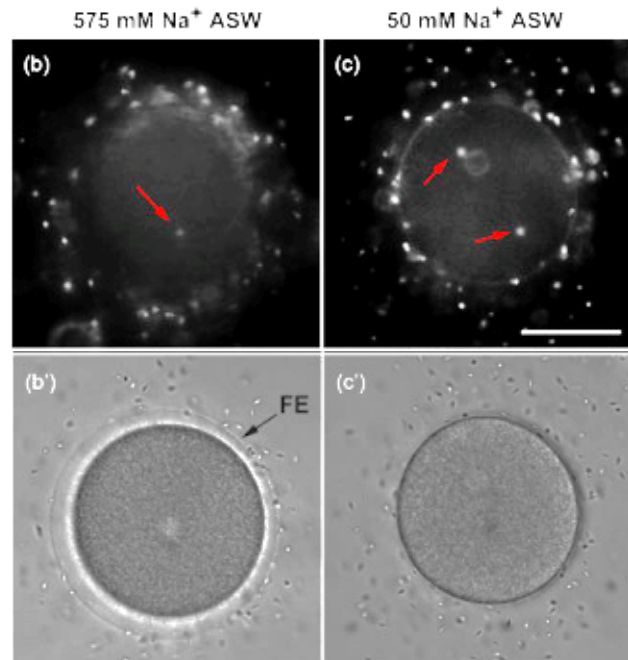
Question 16 : Interprétez cette nouvelle expérience.

Il a été démontré que la dépolarisation observée était liée à une entrée de sodium dans la cellule œuf. Une technique moins invasive pour empêcher la dépolarisation est de mettre l'œuf dans une eau de mer artificielle appauvrie en sodium, la concentration en sodium de l'eau de mer est de 575mM. Cette technique a souvent été utilisée et l'a été dans une étude récente (Limatola et al. 2019).

Dans cette étude, avant de réaliser la fécondation, les noyaux des spermatozoïdes ont été marqués avec du Hoescht, qui colore l'ADN en bleu. Cette technique permet de mesurer le nombre de noyaux de spermatozoïdes entrés dans l'œuf plus précisément que précédemment (où les œufs se développant de manière anormale étant considérés comme polyspermiqes).

Figure 18 : Etude de la polyspermie suite à la fécondation d'œufs d'Oursin *Paracentrotus lividus* en conditions pauvres en sodium.

Photographies d'œufs d'oursins prises 5 minutes après mise en contact avec des spermatozoïdes dont l'ADN avait précédemment été marqué, prises en fluorescence (b) et (c) ou en contraste de phase (b') et (c'). Cette figure présente un résultat obtenu avec une eau de mer artificielle (ASW) comprenant 575mM de Na⁺ et un autre avec 50mM. Les flèches en (b) et (c) pointent vers des noyaux marqués situés à l'intérieur de l'œuf. FE : membrane de fécondation. Barre d'échelle de 50µM.

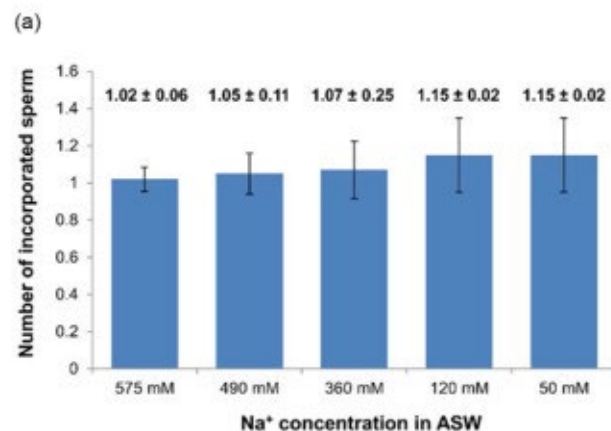


Question 17 : Interprétez cette figure.

Les auteurs ont obtenu les résultats suivants en analysant de la même manière trois lots d'une soixantaine d'œufs pour chaque condition.

Figure 19 : Analyse du nombre de noyaux spermatisés incorporés dans des œufs d'Oursin en fonction de la concentration sodium de l'eau de mer artificielle dans laquelle a été réalisée la fécondation.

La moyenne du nombre de noyaux par œuf a été calculée comme précédemment indiqué sur 180 œufs de 3 lots différents (les barres correspondent aux écart-types).



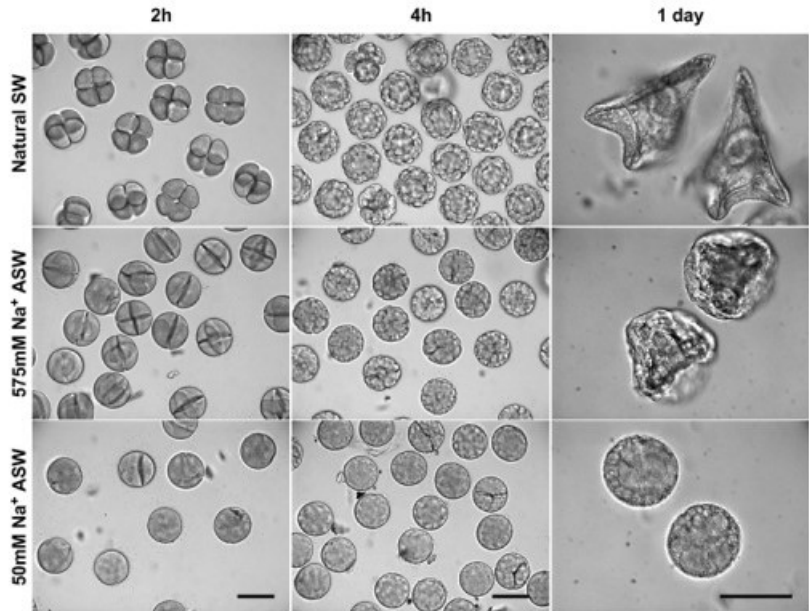
Question 18 : Qu'apporte cette analyse plus approfondie ? Quel était l'intérêt de présenter les photos c et c' dans la question précédente ?

Les embryons obtenus lors de cette expérimentation ont été analysés.

Figure 20 : Analyse en microscopie optique du développement des œufs fécondés dans de l'eau de mer normale (Natural SW) ou de l'eau de mer artificielle contenant 575mM ou 50mM de Na⁺. Le temps après fécondation est indiqué (2h, 4h ou 1 jour).

Barre d'échelle 100µM.

Question 19 : Interprétez cette figure.



Les auteurs se sont alors intéressés à l'évolution de la localisation de l'actine, qui est impliquée dans les processus de division cellulaire dans les œufs nouvellement fécondés au cours du temps.

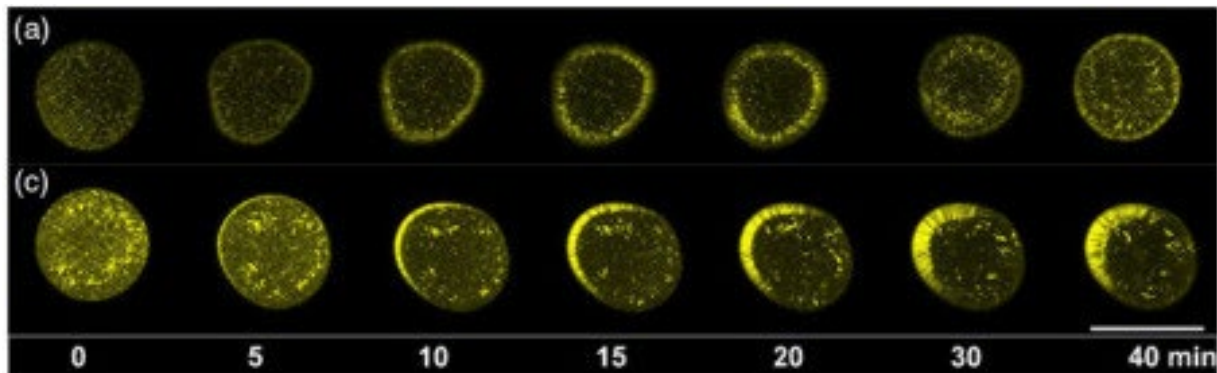


Figure 21 : Observation au microscope confocal qui réalise une coupe optique au milieu de l'œuf de la localisation de l'actine après marquage fluorescent dans des œufs fécondés au temps 0 puis conservés dans une eau à (a) 575mM ou 50mM (c) de sodium. La barre d'échelle représente 100µM.

Question 20 : Interprétez ce résultat. Que suggère-t-il comme explication pour les anomalies de développement observées précédemment en conditions réduites en sodium?

Partie 2 : Conclusion finale

Question 21 : Proposez une conclusion sous forme schématique resituant le rôle des différents mécanismes étudiés dans ce devoir dans la réussite de la fécondation.

Bibliographie

Certains éléments ont été simplifiés/omis pour les besoins de l'exercice.

- Biermann, Christiane H. et al. 2004. *Evolution & Development* 6(5): 353-61.
- Gilbert, Scott F., Susan R. Singer, Sylvie Rolin, et Étienne Brachet. 2004. *Biologie du développement*. 2e éd. Bruxelles Paris: De Boeck.
- Glabe, Charles G., et Victor D. Vacquier. 1977. *Nature* 267(5614): 836-38. <http://www.nature.com/articles/267836a0> (27 mars 2022).
- Jaffe, L. A. 1976. *Nature* 261(5555): 68-71.
- Limatola, Nunzia, Filip Vasilev, Jong Tai Chun, et Luigia Santella. 2019. *Zygote (Cambridge, England)* 27(4): 241-49.
- Mourão, P. a. S. 2007. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research = Revista Brasileira De Pesquisas Medicas E Biologicas* 40(1): 5-17.
- Moy, G. W., et V. D. Vacquier. 1979. *Current Topics in Developmental Biology* 13 Pt 1: 31-44.
- Shipp, Lauren E., Rose Z. Hill, et Amro Hamdoun. 2019. In *Methods in Cell Biology*, Elsevier, 429-47. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091679X18301638> (27 mars 2022).
- Ward, G. E., C. J. Brokaw, D. L. Garbers, et V. D. Vacquier. 1985. *The Journal of Cell Biology* 101(6): 2324-29.
- Wessel, Gary M., Yuuko Wada, Mamiko Yajima, et Masato Kiyomoto. 2021a. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 118(34): e2109636118.
- Wessel, Gary M., Yuuko Wada, Mamiko Yajima, et Masato Kiyomoto. 2021b. *Scientific Reports* 11(1): 21583.