

Mitose dans la levure: Etude des effets géométriques sur la formation du gradient de Pom1

Par David Zeugin, Anouk Athanasiades, Maia Kaplan, BSC en Biologie
Supervisé par Sasha Dalessi

But :

Modéliser mathématiquement le processus de la division cellulaire, soit la mitose. Pour cela nous prenons comme organisme modèle la levure. La mitose est un mécanisme précis lors duquel une cellule mère se divise en deux parties égales.

Introduction :

Le mécanisme de la mitose se déroule ainsi :

Les microtubules partant du centre de la cellule, amènent un complexe Dis2 & Tea4 dans les extrémités de la cellule. Ce complexe déphosphoryle la protéine kinase « Pom1 » qui se trouve dans le cytoplasme. Lorsque Pom1 est déphosphorylé, il va s'accrocher à la membrane plasmique, puis diffuser le long de celle-ci en direction du centre de la cellule. Pom1 a aussi une capacité à s'autophosphoryler plusieurs fois, ce qui amène après un certain temps, son détachement de la membrane. Un gradient est ainsi formé le long de la membrane. Lorsque la cellule grandit pendant l'interphase, le gradient étant stable aux deux extrémités de la cellule, n'est plus présent au centre de celle-ci. Ainsi, certaines protéines au centre de la cellule, notamment cdr2, vont détecter l'absence de gradient, et déclencher la division. La cellule pourra rentrer en division que lorsqu'elle sera assez longue. Le fait que la concentration de Pom1 est plus élevée au centre des cellules courtes que les cellules longues suggère un modèle où Pom1 inhibe Cdr2 jusqu'à ce que la cellule soit assez longue pour que le gradient de Pom1 n'interagisse plus avec Cdr2 et la mitose est déclenchée.

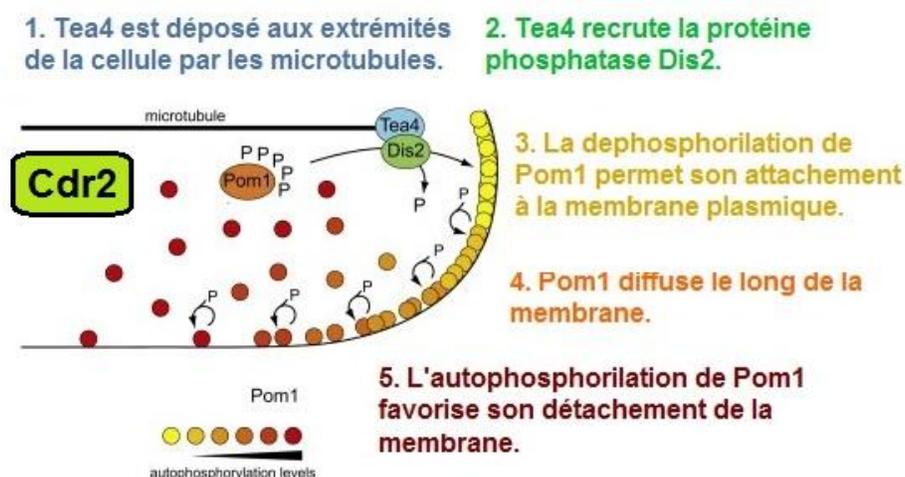


Figure 1 : Représentation d'un quart de cellule. Etablissement du gradient de Pom1.

Objectifs:

Analyser un modèle prenant en compte les paramètres qui affectent la diffusion de Pom1 dans la membrane et étudier les effets de la géométrie de la cellule sur le profile de Pom1. Parallèlement, vérifier le modèle avec les données déjà collectées.

Méthodes de collection des données:

Les données utilisées proviennent de la souche *Schizosaccharomyces pombe*, qui se divise par mitose.

La levure *S.Pombe* a été utilisée pour visualiser la formation du gradient. Pom1 a été taguée par un marqueur 'Green Fluorescent Protein' (GFP). L'intensité du gradient a été mesurée d'après plusieurs cellules, puis une courbe moyenne de tous ces gradients a été calculée, afin d'obtenir le profil moyen. Ces valeurs seront utilisées pour la vérification de la modélisation mathématique.

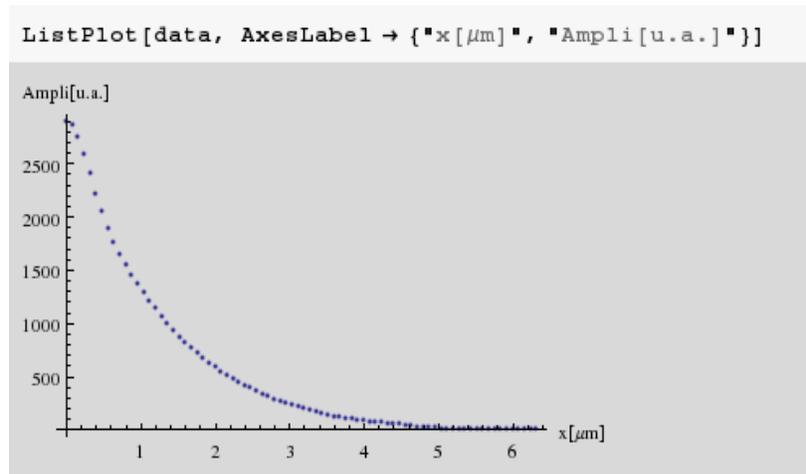


Figure 2 : Courbe de gradient de Pom1, dans un quart de cellule.

Déroulement du projet:

Le projet se base sur un modèle simplifié de la diffusion de Pom1. Puis l'application du modèle aux données, afin de pouvoir le complexifier peu à peu selon les nouvelles connaissances et interprétations biologiques.

Pour cela, uniquement un quart de la cellule sera modélisé, étant donné la symétrie qu'elle offre.

Le premier modèle utilisé se nommera « modèle 1 » et ainsi de suite selon la complexité de celui-ci.

Modèle 1a : On considérera pour ce premier modèle que la source s'attache en un seul point à l'extrémité de la cellule.

Une première équation simplifiée comprenant les trois termes majeurs : La source, la diffusion, et le détachement de Pom1. La solution à été calculée avec le programme mathematica (programme de calculs algébriques).

$$+ \underbrace{DM''(x)}_{\text{Diffusion}} - \underbrace{\alpha M(x)}_{\text{Détachement}} + \underbrace{S_0(x)}_{\text{source}} = 0$$

◆ Solution:

$$\lambda = \sqrt{\frac{D}{\alpha}}$$

$$M(x) = \frac{S_0}{2\sqrt{D\alpha}} e^{-\frac{x}{\lambda}}$$

Figure 3 : Equation de la diffusion de Pom1.

Cette équation est une différentielle qui nécessite 2 conditions de départ :

- la source est divisée par deux, puisque seulement un quart de la cellule est modélisée.
- à l'infini, le gradient tends vers zéro, puisque toutes les molécules se seront détachées de la membrane.

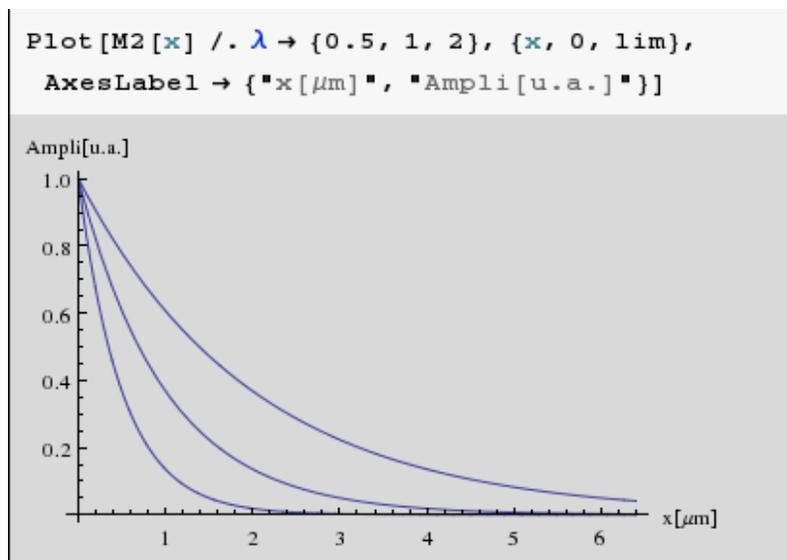


Figure 4 : Variation du paramètre lambda du modèle 1, ce qui nous donne plusieurs courbes.

Le modèle à été ajusté pour correspondre le mieux aux données : le paramètre lambda à été « fitté ».

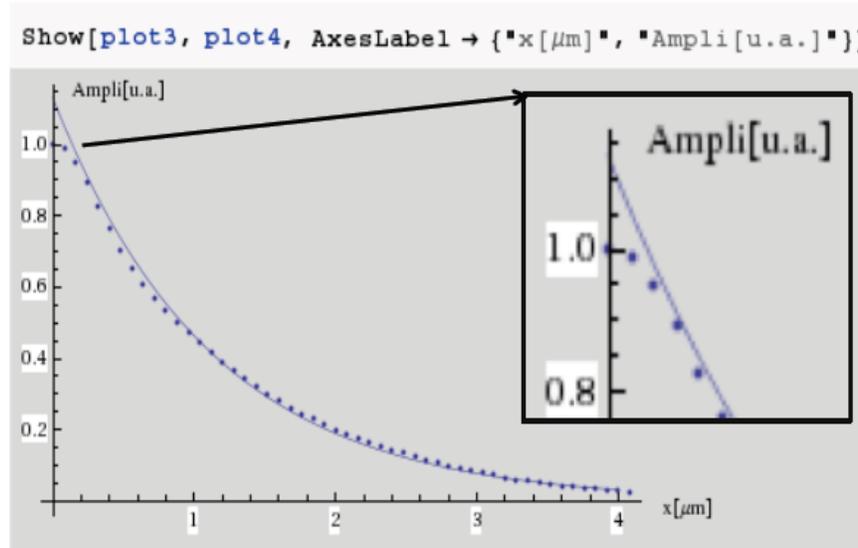


Figure 5 : Modèle 1 (ligne) superposé aux données (points).

Dans la figure 5, la source du modèle 1 ne correspond pas à la courbe des données. Ceci sera le prochain paramètre à améliorer.

Modèle 1 b : On considère à nouveau la source en 1 seul point.

Le modèle 1b est le même que le 1a, mais en changeant de programme informatique. Afin de pouvoir calculer les paramètres de notre modèle, matlab (programme de résolution numérique) est utilisé.

Valeur de lambda « fittée » (ajustée): 1,1μm.

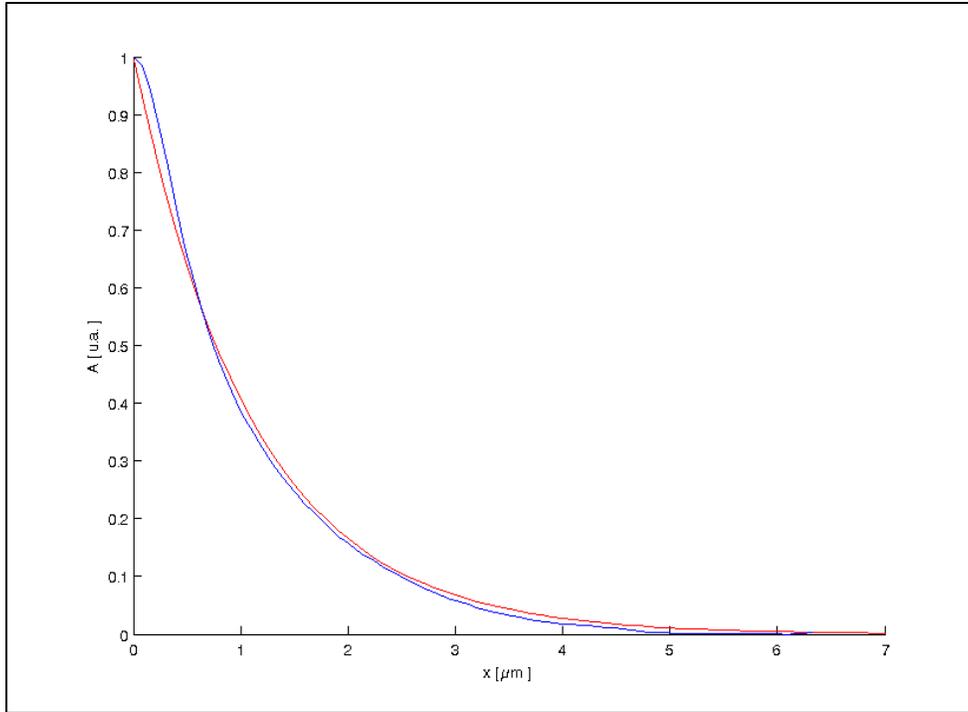


Figure 6 : En bleu, la courbe des données, et en rouge la courbe du modèle 1b.

Ici les valeurs de notre modèle sont très approximatives, car elles ont été arrondies avec matlab, qui résout tout numériquement.

Modèle 1c : Pour employer convenablement matlab, il a fallu utiliser une autre méthode d'équation : PDEPE.

$$c \left(x, t, u, \frac{\partial u}{\partial x} \right) \frac{\partial u}{\partial t} = x^{-m} \frac{\partial}{\partial x} \left(x^m f \left(x, t, u, \frac{\partial u}{\partial x} \right) \right) + s \left(x, t, u, \frac{\partial u}{\partial x} \right)$$

Figure 7 : Equation théorique de PDEPE

$s(x, t, u, \partial u / \partial x)$ représente la source et le détachement.

$$s = -u + S_0(x)$$

$f(x, t, u, \partial u / \partial x)$ représente la diffusion.

$$f = \lambda^2 \cdot \frac{\partial u}{\partial x}$$

$c(x, t, u, \partial u / \partial x) \partial u / \partial t$ est égale à «0» car nous considérons qu'il n'y a pas de variation temporelle.

$$c = 1$$

Le graphique suivant à été ajusté. La valeur « fittée » de lambda est : 1.1µm.

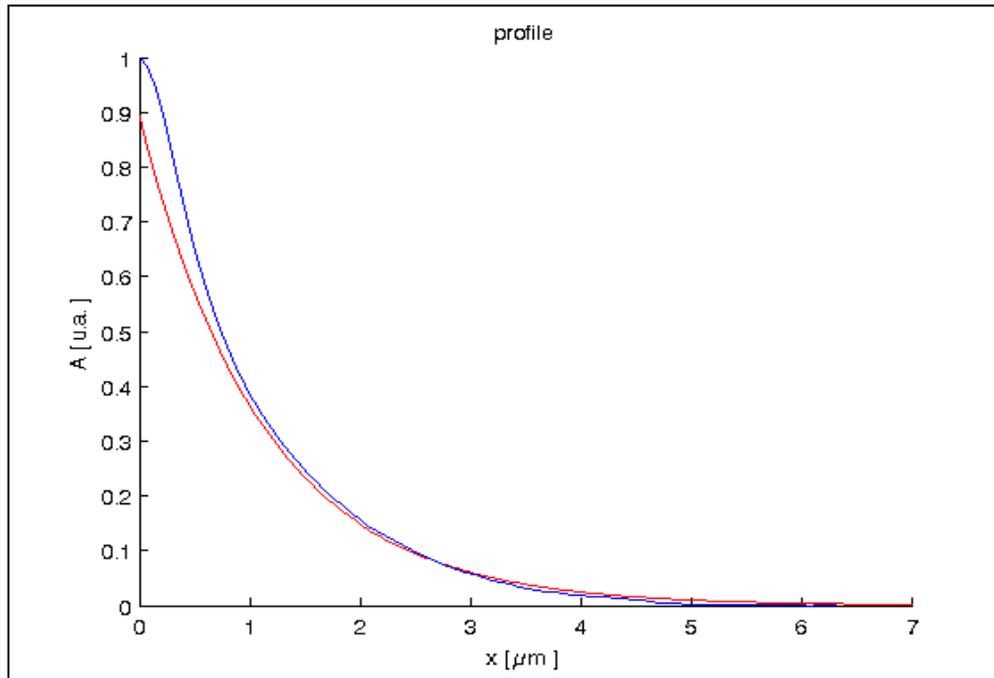


Figure 8 :En bleu ce sont les données, et en rouge notre courbe.

Modèle 2: On va considérer à présent que la source est une zone plus large dans laquelle pom1 s'attache.

Nous avons utilisé un distribution de Gauss pour modéliser la source:

$$Source = \frac{S_0}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\left(\frac{x^2}{2\sigma^2}\right)}$$

Figure 9 : Equation de la source Gaussienne.

Ce qui nous donne comme équation globale:

$$\underbrace{DM''(x)}_{\text{Diffusion}} - \underbrace{\alpha M(x)}_{\text{Détachement}} + \underbrace{\frac{S_0}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{x^2}{2\sigma^2}}}_{\text{source}} = 0$$

Figure 10 : Equation de la diffusion de pom1, selon une source Gaussienne.

Pour que notre modèle corresponde le mieux aux données, les valeurs de sigma et lambda ont été « fittées », respectivement 0.1μm et 1μm .

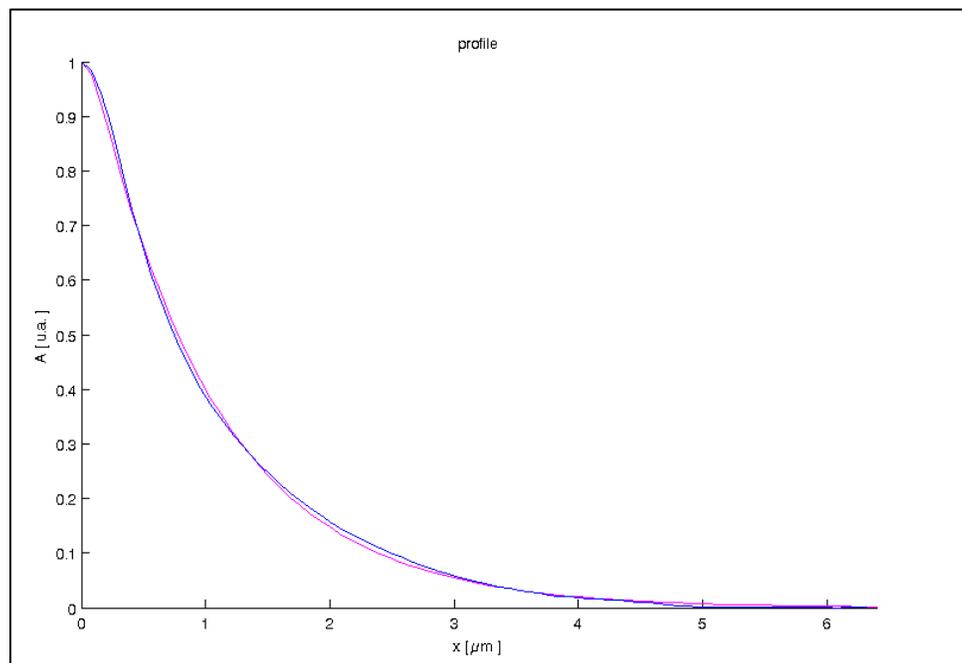


Figure 11 : Selon la valeur de sigma et lambda calculée. (en bleu sont les données, et en rouge notre modèle).

Pour avoir une valeur réelle de sigma (et non une valeur « fittée »), la distribution de Tea4 à été mesurée dans les cellules de levures, ce qui correspondrait à la zone d'attachement de Pom1.

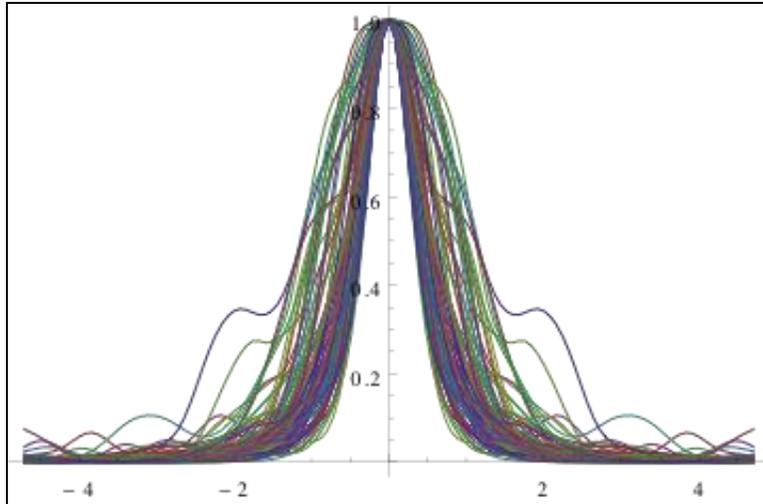


Figure 12 : Distribution de Tea4.

Ce qui nous donne un sigma réel : $0.51\mu\text{m}$.

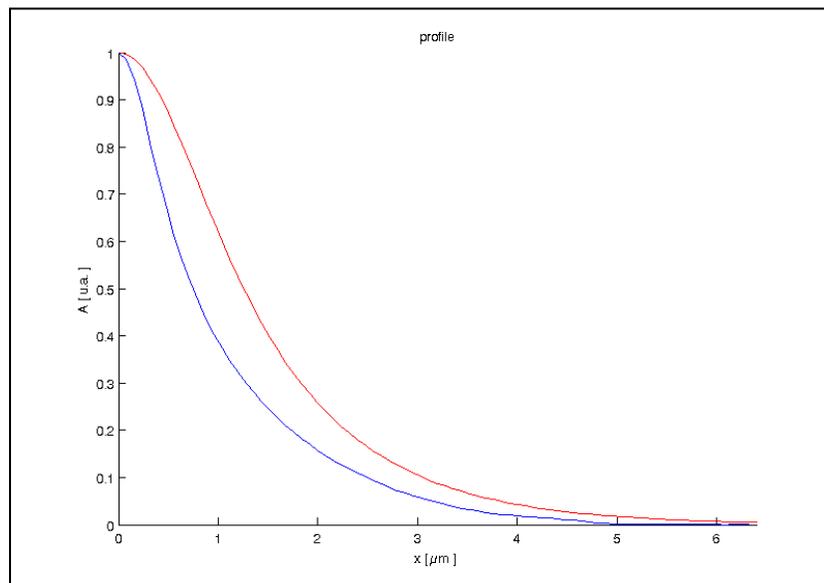


Figure 13 : Modèle avec la distribution de tea4, nous donnant le sigma réel. (En rouge notre modèle, et en bleu sont les données).

Modèle 3: Prendre la géométrie de la cellule en considération.

Jusqu'à présent, le modèle à été fait sur la considération que le gradient diffusait sur une surface plane. Dès lors, le géométrie va être prise en compte. En effet, la cellule est constituée d'un cylindre et de deux demi-sphères, comme sur la figure 14.

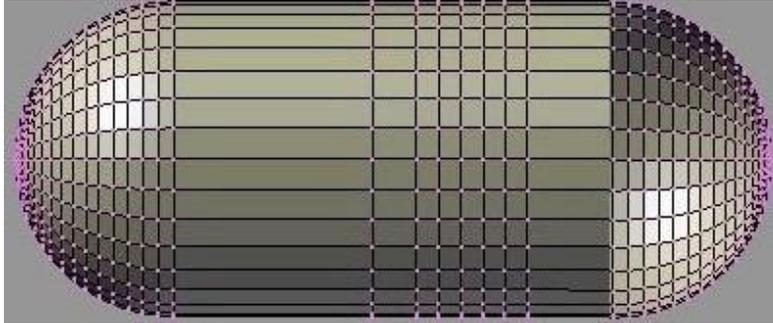


Figure 14 : Représentation en trois dimension d'une cellule de levure.

Voici l'équation qui contient un nouveau terme :

$$-D \left[M''(x) + M'(x) \frac{1}{R \cdot \tan\left(\frac{x}{R}\right)} \right]$$

Figure 15 : Equation de la diffusion de Pom1, prenant en compte la partie sphérique de la levure.

Ce terme n'est valable que pour la partie sphérique de la levure, il n'est plus considéré dans la partie cylindrique.

Pour le graphique suivant, les valeurs de lambda et sigma ont été ajustée de telle sorte que le modèle corresponde le mieux aux données : lambda = 1.198 et sigma = 0.28 .

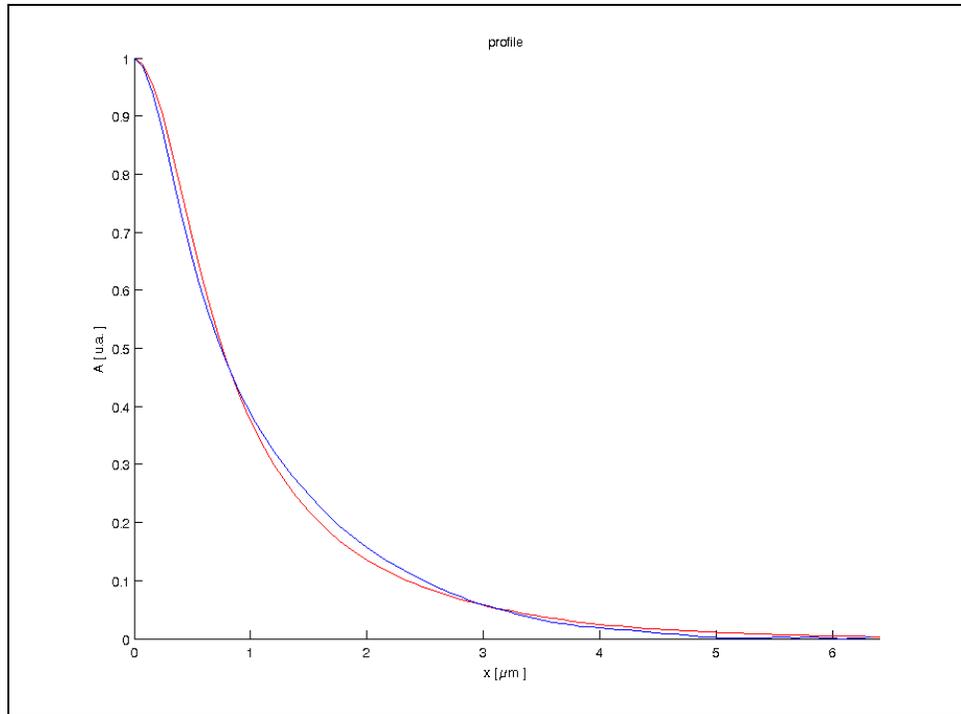


Figure 16 : Selon les valeurs de lambda et sigma ajustées. (En rouge, notre modèle et en bleu, les données.)

Le sigma du modèle 3 se rapproche du sigma réel. En effet, dans le modèle 2, le sigma fitté était de $0.1 \mu\text{m}$, alors que dans le modèle 3, le sigma fitté est de $0.28 \mu\text{m}$. Ce qui est plus proche du sigma réel, étant $0.51 \mu\text{m}$.

Ce graphique est le dernier de notre projet, nous avons utilisé la valeur réelle de sigma ($0.51 \mu\text{m}$), ainsi qu'un lambda fitté de $1.198 \mu\text{m}$:

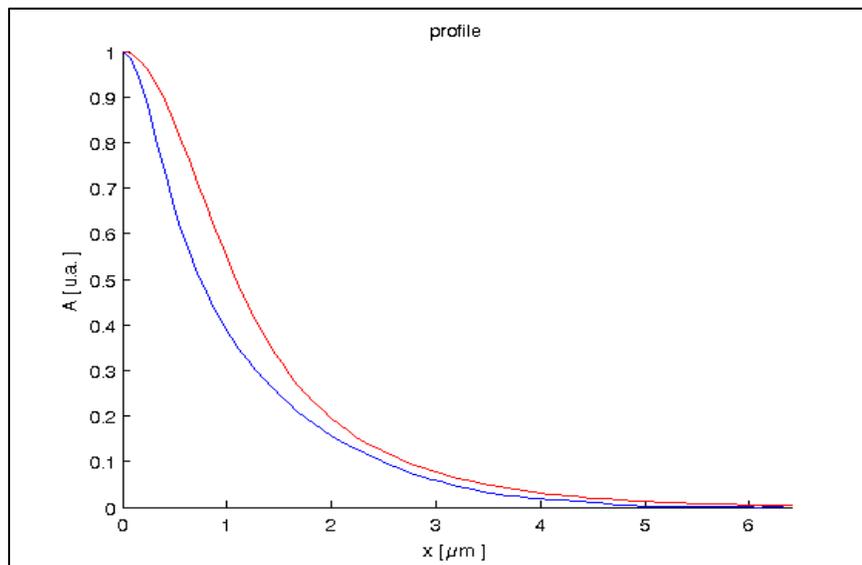


Figure 17 : modèle 3, avec sigma réel.

On voit qu'il y a encore beaucoup d'écart aux données !

Résultats :

Voici deux graphiques de comparaison de nos 3 modèles :

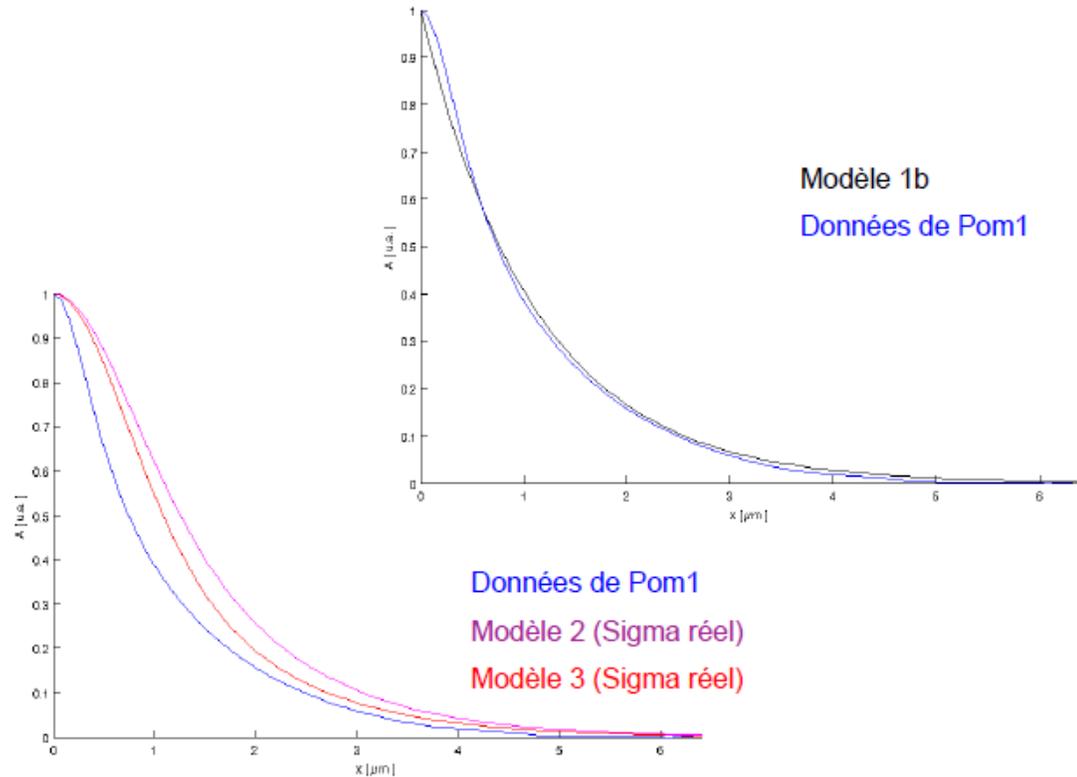


Figure 18 : En bleu les données ; En noir le modèle 1; En magenta le modèle 2 (sigma réel); En rouge le modèle 3 (sigma réel).

La courbe du dernier modèle se rapproche des valeurs des données. Il y a une très nette amélioration de la modélisation depuis le commencement du projet.

Conclusion et perspectives :

Nous avons amélioré de proche en proche notre modèle en partant d'un modèle simple, et en y ajoutant des détails. Ainsi le modèle se rapproche des données. A ce stade, le modèle n'est encore pas parfait, car il reste beaucoup de paramètres biologiques à déterminer afin de pouvoir les modéliser.

Nous pourrions continuer notre projet selon un nouveau modèle :

Le modèle 4 : qui comprendrait la multiple phosphorylation de Pom1 et ses agrégats.

Le projet de recherche est donc en pleine progression, et nous sommes ravis d'avoir pu y participer.



Merci a tout votre soutien !

DAVID

MAIA

ANOUK