



THÈSE

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par : l'Université Toulouse 3 Paul Sabatier (UT3 Paul Sabatier)

Présentée et soutenue le 16/12/2015 par :

Hadrien Mary

**Analyse et Modélisation de la Dynamique des Chromosomes durant
la Mitose chez la Levure à Fission**

JURY

KERSTIN BYSTRICKY	Professeur d'Université	Président du Jury
ANDREA PARMEGGIANI	Directeur de Recherche	Membre du Jury
BENOIT ARCANGIOLI	Professeur d'Université	Membre du Jury
EMMANUELLE FABRE	Directeur de recherche	Membre du Jury
YANNICK GACHET	Directeur de Recherche	Membre du Jury
SYLVIE TOURNIER	Directeur de Recherche	Membre du Jury Invité
GUILLAUME GAY	Chercheur Indépendant	Membre du Jury Invité

École doctorale et spécialité :

École Doctorale Biologie Santé Biotechnologies

Unité de Recherche :

Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire du Contrôle de la Prolifération (UMR 5088)

Directeur(s) de Thèse :

Sylvie Tournier et Yannick Gachet

Rapporteurs :

Benoit Arcangioli et Emmanuelle Fabre

« *The dream of every cell is to become two cells.* »
François Jacob, 1974

Résumé

La mitose est une étape clé du cycle cellulaire, très préservée chez toutes les cellules eucaryotes, durant laquelle le matériel génétique de la cellule (les chromosomes) est séparé en deux puis réparti de manière égale dans les deux cellules filles. Cette équipartition du matériel génétique est cruciale pour le maintien de la stabilité génétique. Durant ce processus, les chromosomes de la cellule établissent une plaque métaphasique au centre du fuseau mitotique composée des chromatides sœurs. Chaque chromatide est attachée à son pôle respectif (on parle d'attachement bipolaire) vers lequel elle se dirigera durant l'anaphase.

Les chromatides sont l'unité indivisible du matériel génétique durant la mitose, à l'image des atomes dans une molécule. Initialement chacun de ces « objets » est libre (non attaché) et positionné de manière non ordonnée dans le noyau. Toute la complexité de la mitose est d'attacher chacune des chromatides au bon pôle afin d'exercer des forces sur ces derniers pour les positionner sur la plaque métaphasique au centre du fuseau avant leur séparation et migration vers les pôles durant l'anaphase.

Cette étape de la division cellulaire requiert donc non seulement un réseau complexe d'interaction et de signalisation métabolique comme dans beaucoup d'autres processus biologiques mais aussi un fin contrôle spatio-temporel du mouvement et du positionnement de ces objets de grande taille à l'échelle de la cellule.

Il semblerait que l'origine du mouvement des chromosomes provienne pour une grande part de la dynamique des microtubules. Ce qui est moins certain est la part relative accordée aux différents processus régulant cette dynamique; que ce soit la dynamique intrinsèque (appelée instabilité dynamique des microtubules) ou l'effet de différentes protéines sur les microtubules comme les MAPs (Microtubule Associated Proteins) et les kinésines. On notera par ailleurs que le mécanisme de transfert d'énergie entre la dynamique des microtubules et le mouvement des chromosomes est encore très largement hypothétique.

La dynamique des chromosomes durant la mitose est aussi largement contrôlée par un grand nombre d'acteurs autres que les microtubules. Certains d'entre eux étant responsables de l'attachement MTs-kinétochore comme les complexes NDC80 et DAM1, tandis que d'autres sont impliqués dans la régulation de la dynamique des microtubules comme la kinésine-8 et la kinésine-13.

Durant mon travail de thèse, j'ai étudié la dynamique des chromosomes en mitose

chez la levure à fission qui a l'avantage de conserver les mécanismes primordiaux de la mitose avec les eucaryotes supérieurs. Deux mécanismes conservés au cours de l'évolution sont l'alignement des chromosomes durant la métaphase ainsi qu'un mouvement de va et vient plus ou moins régulier le long du fuseau aussi appelé oscillation des chromosomes. J'ai montré, en analysant les trajectoires des chromosomes que ces deux processus sont pour une large part indépendants chez la levure à fission (J. Cell Science, in press). De plus, le processus d'alignement des chromosomes, encore mal compris, est en partie contrôlé par la kinésine-8 via une activité dépendante de la longueur des microtubules. Il semblerait donc que cette kinésine, soit capable de fournir une information spatiale le long du fuseau mitotique afin de positionner correctement les chromosomes. Enfin, j'ai utilisé un modèle mathématique de la ségrégation des chromosomes développé dans l'équipe précédemment afin de tester de manière quantitative les hypothèses de mécanisme du centrage des chromosomes par la kinésine-8.

L'ensemble de mon travail porte donc sur le contrôle du mouvement, de l'attachement et du positionnement des chromosomes durant la mitose afin de mieux comprendre les processus biophysiques associés à la mitose.

Summary

Mitosis is a highly preserved process in all eukaryotic cells during which the genetic material (chromosomes) is divided in two parts which spread in both daughter cells. This equipartition is crucial for maintaining genetic stability. During this process, chromosomes form a metaphasic plate at the center of the mitotic spindle. Each chromatid is attached to its respective spindle pole (called bipolar attachment) toward which it will move during anaphase.

Chromatids are the indivisible units of genetic material during mitosis just like atoms in a molecule. Originally each of these « objects » is not attached and randomly located. All the complexity of mitosis resides in attaching each chromatids to the correct pole to be able to exert forces and to position them on the metaphasic plate at the center of the mitotic spindle before their separation and migration towards the poles in anaphase.

This step of cell division not only requires complex interaction networks and metabolic signaling pathways just like many other biological processes but also a fine spatio-temporal control of movement and positioning of these big objects relative to cell size: the chromatids (pareil bizarre chromatids à la fin).

It is usually accepted that the origin of chromosome movement arises from microtubule dynamics. However, what is less clear is the relative importance of each of these processes regulating chromosome movement: the intrinsic dynamic instability of microtubules or the effect of their associated proteins such as MAPs and kinesins. It is also important to note that the mechanism controlling the transfer of energy between microtubule dynamics and chromosome movement is still largely hypothetical.

Moreover, chromosome dynamics during mitosis is regulated by a large number of actors apart from microtubules. Some of them being responsible for MT-kinetochore attachment such as NDC80 and DAM1 complex. While others are involved in the regulation of MT dynamics such as Kinesin-8 and Kinesin-13.

During my PhD, I studied fission yeast chromosome dynamic during mitosis. This cellular model has the advantage of sharing many fundamental mechanisms of symmetrically dividing higher eukaryotic cells. Two conserved mechanisms throughout evolution are chromosome alignment during metaphase and back and forth movement along the spindle, called chromosome oscillation. By analyzing chromosome trajectories, I showed that both processes are performed through independent

mechanisms in fission yeast (J.Cell Sci. in press). Moreover chromosome alignment process, which is still poorly understood, is regulated by Kinesin-8 via a length dependent activity on microtubules. This suggests that Kinesin-8 is able to provide spatial information along the mitotic spindle to properly position chromosomes. Finally, I used a mathematical model of chromosome segregation in order to test quantitatively different hypotheses of chromosome centering process.

This work is thus deciphering the control of movement, attachment and positioning of chromosomes during mitosis and seeks to better understand the biophysical processes controlling mitosis.

Remerciements

...

Table des matières

Table des matières	i
Liste des acronymes	v

Ce document est mis à disposition selon les termes de la licence [Creative Commons “Attribution - Partage dans les mêmes conditions 4.0 International”](#) .



Source code used to generate this thesis is freely available at https://github.com/hadim/phd_thesis (free as in freedom not as in a beer !).

Liste des acronymes

- **AP** : *anti-poleward*
- **GDP** : Guanosine triphosphate
- **GTP** : Guanosine diphosphate
- **KT** : kinétochore
- **MAPs** : *microtubule associated proteins*
- **MT** : microtubule
- **P** : *poleward*
- **SAC** : *spindle assembly checkpoint*
- **SPB** : *spindle pole body*

