



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 11/12/2015 par :

Hadrien Mary

**Analyse et Modélisation de la Dynamique des Chromosomes durant
la Mitose chez la levure à fission**

JURY

PREMIER MEMBRE
SECOND MEMBRE
TROISIÈME MEMBRE

Professeur d'Université
Astronome Adjoint
Chargé de Recherche

Président du Jury
Membre du Jury
Membre du Jury

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 :

Premier RAPPORTEUR et Second RAPPORTEUR

« *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 crucial pour le maintien de la stabilité génétique. Durant ce processus, la cellule forme une plaque métaphasique au centre du fuseau mitotique composé des chromatides soeurs. Chaque chromatide est alors attaché 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 ordonné 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 complexe réseau d'interaction et de signalisation métabolique comme dans beaucoup d'autre processus biologique mais aussi un fin contrôle spatio-temporel du mouvement et du positionnement des ces objets de grande tailles à l'échelle de la cellule; les chromatides.

Il est à ce jour clairement établi qu'une grande partie de l'énergie nécessaire au mouvement des chromatides durant la mitose provient de la dépolymérisation de l'extrémité + des microtubules (MTs) qui attachent chaque chromatide par l'intermédiaire d'un grand complexe protéique appelé le kinétochore. Bien que le mécanisme de transfert d'énergie entre la dépolymérisation des MTs et le mouvement des chromatides reste encore très largement hypothétique.

La dynamique des chromosomes durant la mitose est par ailleurs largement contrôlée par un grand nombre d'acteurs autre 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 ainsi que différentes protéines associées aux microtubules (MAPs) tel que XMAP215 ou encore EB1. De plus il existe des preuves que les chromatides peuvent être transportées le long du fuseau à l'aide de kinésine comme Cenp-E mais aussi de la dynéine.

Durant mon travail de thèse j'ai étudié la dynamique des chromosomes en mitose chez la levure à fission qui à l'avantage de conserver les mécanismes primordiaux de la mitose avec les eucaryotes supérieurs. Deux mécanismes que l'on retrouve chez de nombreuses cellules 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 oscillations des chromosomes. J'ai montré en analysant les trajectoires des chromosomes que ces deux processus semblent être indépendant chez la levure à fission (article en cours de révision). De plus le processus d'alignement des chromosomes, encore mal compris, semble être en parti contrôlé par la kinésine-8 via une activité dépendante de la longueur des microtubules. Il semblerait donc qu'une protéine, la kinésine-8, 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 du fuseau mitotique développé dans l'équipe afin de tester de manière quantitative les hypothèses de mécanisme du centrage des chromosomes par la kinésine-8.

L'ensemble de mon travail s'est donc intéressé au contrôle du mouvement, de l'attachement et du positionnement des chromosomes durant la mitose afin de mieux comprendre la biophysique du fuseau mitotique.

Summary

Mitosis is a critical step during cell cycle, well conserved in all eukaryotic cells, during

Mitosis is a highly preserved process in all eukaryotic cells during which genetic material (chromosomes) is divided in two parts and then spread in both daughter cells. This equipartition is crucial for maintaining genetic stability. During this process

Remerciements

...

Table des matières

Résumé	i
Summary	iii
Remerciements	v
1 Introduction	1
1.1 La division cellulaire : la mitose	3
1.2 Les différentes étapes de la mitose	3
1.3 L'appareil mitotique : un objet sous contrainte	3
1.4 La métaphase : point d'orgue de la division	3
1.5 La dynamique des chromosomes durant la métaphase	3
1.6 Modélisation mathématique du mouvement des chromosomes en mitose	3
1.7 La levure à fission : un organisme modèle pour l'étude du cycle cel- lulaire	3
1.8 Problématique	3
2 Résultats	5
2.1 « Kinetochore oscillations are not required for the role of Kinesin-8 in chromosome congression »	5
2.2 Modélisation bio-mécanique du fuseau mitotique	5
2.3 Analyse du mouvement des chromosomes par la MSD via une ap- proche bayésienne	5

3	Discussion	7
3.1	Le mouvement de chromosomes durant la mitose	7
3.2	Le mécanisme d'alignement des chromosomes: de l' <i>in silico</i> à l' <i>in vivo</i>	7
A	Annexes	9
A.1	Annexe 1 : bla bla bla bla	9
	Bibliographie	11

Liste des figures

1.1	Illustration du livre «Cell theory» de Rudolf Virchow (Virchow, 1860)	2
-----	---	---

Liste des tableaux

1

Introduction

La cellule est un objet complexe que l'Homme depuis longtemps maintenant essaie de comprendre. En effet c'est en 1665 que Robert Hooke, un savant anglais, observa pour la première fois au microscope des «petites unités structurales» qu'il décrira plus tard dans un ouvrage intitulé «Micrographia» (Hooke (2003)). Sans vraiment réaliser la portée de son observation, il venait de décrouvrir la cellule.

Plus tard, au début du 19ème siècle, la théorie cellulaire apparait, stipulant que tous les organismes sont formés de cellules. La cellule devient alors la plus petite unité indivisible qui compose le vivant.

Au milieu du 19ème siècle, un médecin allemand nommé Rudolf Virchow va alors révolutionner la théorie cellulaire (Fig. 1.1) en démontrant qu'une cellule provient nécessairement qu'une autre cellule (Virchow (1860)). Ses travaux seront ensuite confirmés par un scientifique français du nom de Louis Pasteur qui malgré de nombreuses controverses parvint à combattre le mythe de la génération spontanée.

C'est véritablement au 20ème siècle que toute la complexité de la cellule nous apparait alors avec de nombreuses avancées technologiques comme la découverte de l'ADN, l'apparition de la biologie moléculaire ainsi que la création de microscope toujours plus précis.

Ce travail de thèse a pour objectif l'étude d'une phase tout à fait crucial durant la vie d'une cellule: le moment où elle se divise. Cette étape, aussi appelé la mitose,

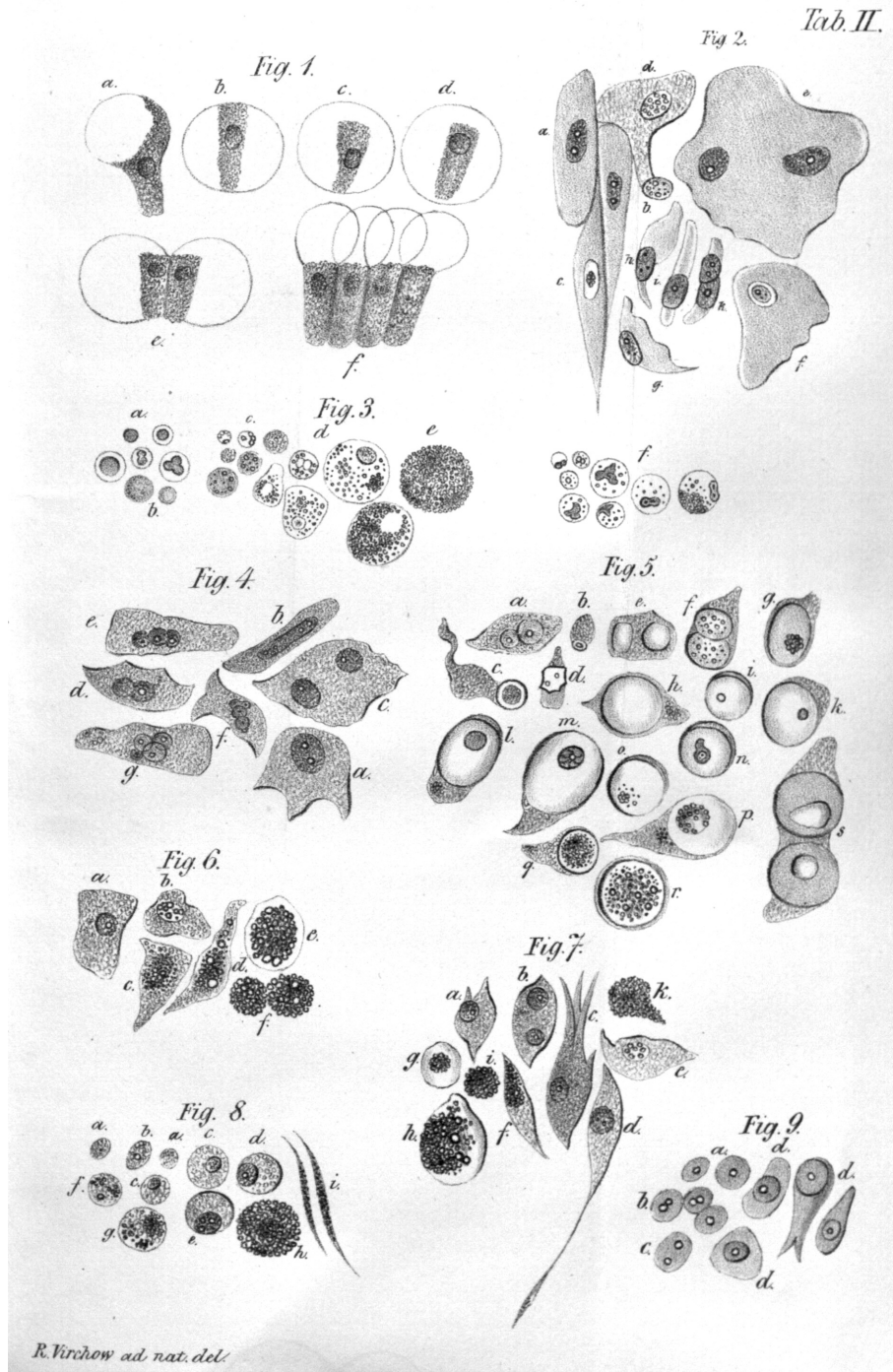


Figure 1.1: Illustration du livre «Cell theory» de Rudolf Virchow (Virchow, 1860)

permet selon le second axiome de la théorie cellulaire, le maintien de l'intégrité cellulaire tout au long des générations.

FAIRE PHRASE/PARAGRAPHE SUR LA COMPLEMENTARITE RECHERCHE FONDAMENTALE + CANCER (RECHERCHE APPLIQUE)

1.1 La division cellulaire : la mitose

1.2 Les différentes étapes de la mitose

1.3 L'appareil mitotique : un objet sous contrainte

1.4 La métaphase : point d'orgue de la division

1.5 La dynamique des chromosomes durant la métaphase

1.6 Modélisation mathématique du mouvement des chromosomes en mitose

1.7 La levure à fission : un organisme modèle pour l'étude du cycle cellulaire

1.8 Problématique

2

Résultats

2.1 « Kinetochore oscillations are not required for the role of Kinesin-8 in chromosome congression »

2.2 Modélisation bio-mécanique du fuseau mitotique

- parler modèle d'attachement à deux états et des avantages d'un modèle à trois états

2.3 Analyse du mouvement des chromosomes par la MSD via une approche bayésienne

- bla bla bla

3

Discussion

- 3.1 Le mouvement de chromosomes durant la mitose
- 3.2 Le mécanisme d'alignement des chromosomes: de
l'in silico à *l'in vivo*



Annexes

A.1 Annexe 1 : bla bla bla bla

Bibliographie

Hooke, R. (2003). *Micrographia: Or Some Physiological Descriptions of Minute Bodies Made by Magnifying Glasses, with Observations and Inquiries There-upon*(Dover Publications).

Virchow, R.L.K. (1860). *Cellular pathology*(John Churchill).