



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, la cellule forme une plaque métaphasique au centre du fuseau mitotique composé 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 des ces objets de grande taille à l'échelle de la cellule: les chromatides.

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 (appelé instabilité dynamique des microtubules) ou l'effet de différentes protéines sur les microtubules comme les MAPs 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 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 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 (article accepté). 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 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 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, cell forms a metaphasic plate at the center of the mitotic spindle composed of sisters chromatid. Each chromatid is attached to his respective pole (called bipolar attachment) toward which it will go 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 located without a specific order. All the complexity of mitosis is to attach each of the chromatids to the correct pole to be able to exert forces and then position them on the metaphasic plate at the center of the mitotic spindle just before their separation and migration toward the poles during anaphase.

This step of cell division not only requires complex interaction networks and metabolic signalling pathways just like many others biological processes but also a fine spatio-temporal control of the movement and positioning of these big objects relative to the cell size: the chromatids.

It would seem that the origin of chromosome movements comes largely from microtubule dynamics. What is less clear is the relative weight of the various processes regulating the movement: the intrinsic dynamic instability of microtubules or the effect of their associated proteins such as MAPs and kinesins. Note also that the energy transfer mechanism between microtubule dynamics and movement of chromosomes is still largely hypothetical.

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

During my PhD work I studied chromosome dynamic during mitosis in fission yeast which has the advantage of sharing many fundamental mechanisms of symmetric division with higher eukaryotes. Two mechanisms that are found in many cells are chromosome alignment during metaphase and a back and forth movement more or less uniform along the spindle called chromosomes oscillation. By analysing chromosomes trajectories I showed that both processes are in large part independent in fission yeast (article accepted for publication). Moreover the chro-

mosome alignment process, still not well understood, is in part regulated by the kinesin-8 via a length dependent activity on the microtubules. This suggests that a protein, the kinesin-8, is capable of providing a spatial information along the mitotic spindle to properly position chromosomes. Finally, I used a mathematical model of the mitotic spindle, in order to test quantitatively different hypotheses about chromosome centring mechanism by the kinesin-8.

This work thus examines the control of the movement, the attachment and the positioning of chromosomes during mitosis and seeks to better understand the mitotic spindle biophysics.

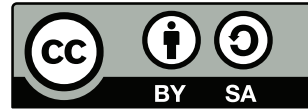
Remerciements

...

Table des matières

Table des matières	i
Liste des figures	v
Liste des acronymes	vii

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 figures

1	Les différentes étapes du cycle cellulaire.	1
2	fsfsfsdfsdfsfkq fqdf dsqfqdsfqdsf qdf qd f qdsf df. A. Vu d'un kinétochore humain de côté par microscopie électronique (McEwen et al. (2007)). B. Schéma des différentes plaques d'un kinétochore	2
3	Vue 3D de la kinésine-13 (MCAK) et de la kinésine-8 (Kif18a) chez des cellules humaines. La troisième vue montre une superposition des deux protéines. (Walczak et al., 2013)	2
4	Vue schématique des domaines protéiques composant la kinésine-8 chez la cellule humaine, la levure à bourgeon et la levure à fission (Messin and Millar, 2014).	3

Liste des acronymes

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

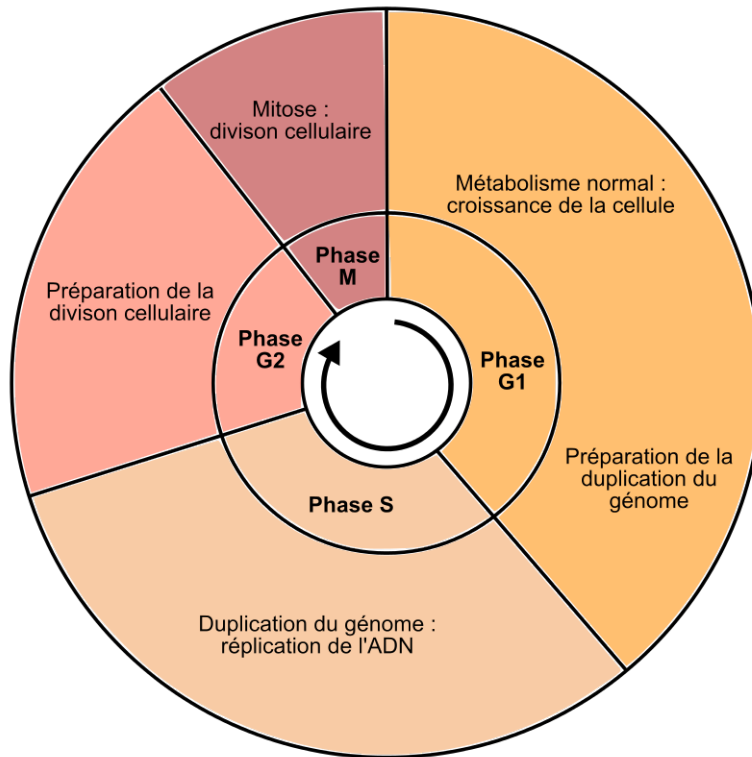


Figure 1: Les différentes étapes du cycle cellulaire.

On notera aussi la grande conservation des domaines protéiques qui composent la kinésine-8 chez un grand nombre d'organismes modèles (cellule humaine, levure à bourgeon, levure à fission, cellule de drosophile) comme le montre la Figure 4.

McEwen, B.F., Dong, Y., and VandenBeldt, K.J. (2007). Using electron microscopy to understand functional mechanisms of chromosome alignment on the mitotic spindle. *Methods in Cell Biology* 79, 259–293.

Messin, L.J., and Millar, J.B. a (2014). Role and regulation of kinesin-8 motors through the cell cycle. *Systems and Synthetic Biology* 205–213.

Walczak, C.E., Gayek, S., and Ohi, R. (2013). Microtubule-Depolymerizing Kinesins. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 29, 130722103520007.

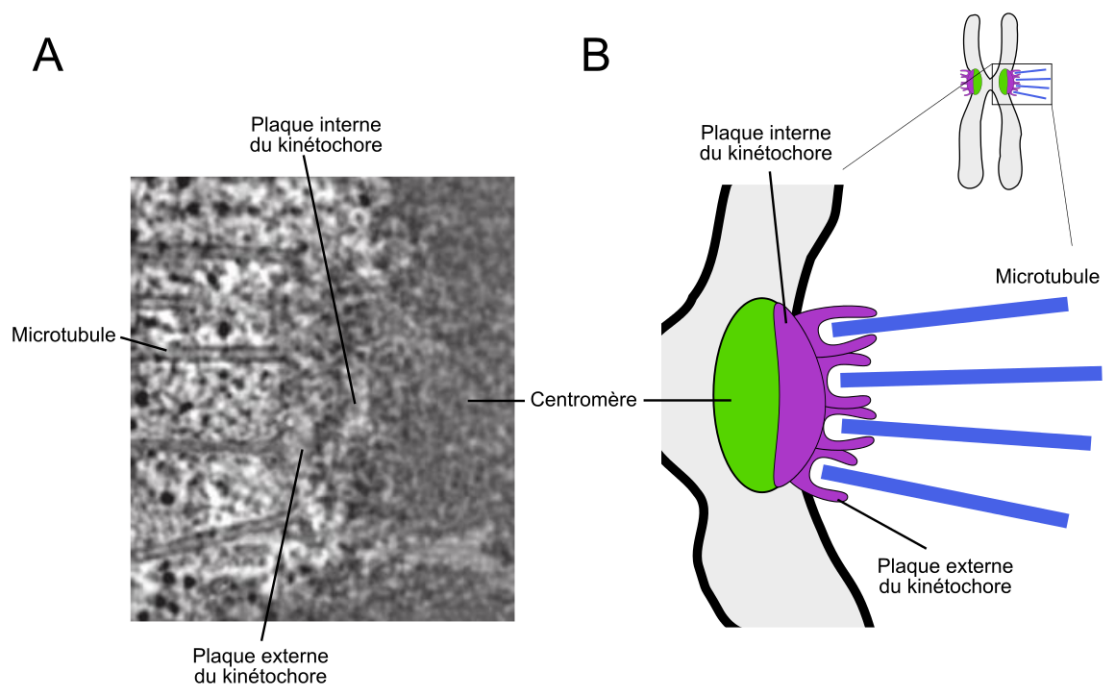


Figure 2: fsfsfsdfsdfskq fqdf dsqfqsdfqdsf qdf qd f qdsf df. **A.** Vu d'un kinétochore humain de côté par microscopie électronique (McEwen et al. (2007)). **B.** Schéma des différentes plaques d'un kinétochore



Figure 3: Vue 3D de la kinésine-13 (MCAK) et de la kinésine-8 (Kif18a) chez des cellules humaines. La troisième vue montre une superposition des deux protéines. (Walczak et al., 2013)

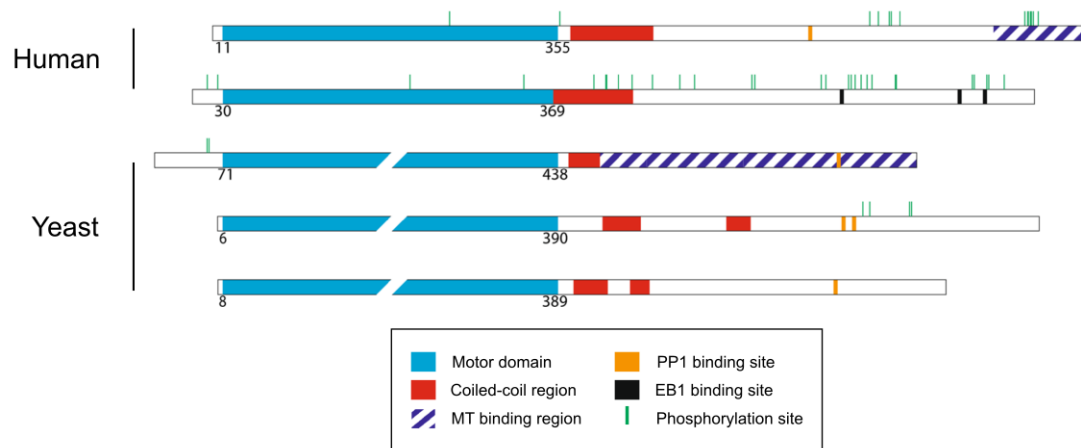


Figure 4: Vue schématique des domaines protéiques composant la kinésine-8 chez la cellule humaine, la levure à bourgeon et la levure à fission (Messin and Millar, 2014).