

Dynamique des Chromosomes durant la Mitose chez la Levure à Fission

Hadrien Mary

sous la direction de Sylvie Tournier et Yannick Gachet

le 16 décembre 2015

- Introduction

- La mitose
- Les acteurs du fuseau mitotique
- La dynamique des chromosomes
- Problématique

- Introduction

- La mitose
- Les acteurs du fuseau mitotique
- La dynamique des chromosomes
- Problématique

- Outils utilisés

- *S. pombe* : un outil génétique puissant
- La modélisation en biologie

- Introduction
 - La mitose
 - Les acteurs du fuseau mitotique
 - La dynamique des chromosomes
 - Problématique
- Outils utilisés
 - *S. pombe* : un outil génétique puissant
 - La modélisation en biologie
- Résultats
 - Caractérisation des mécanismes d'alignement et d'oscillation des chromosomes
 - Modélisation de l'alignement des chromosomes

- Introduction
 - La mitose
 - Les acteurs du fuseau mitotique
 - La dynamique des chromosomes
 - Problématique
- Outils utilisés
 - *S. pombe* : un outil génétique puissant
 - La modélisation en biologie
- Résultats
 - Caractérisation des mécanismes d'alignement et d'oscillation des chromosomes
 - Modélisation de l'alignement des chromosomes
- Conclusion

Introduction

La mitose

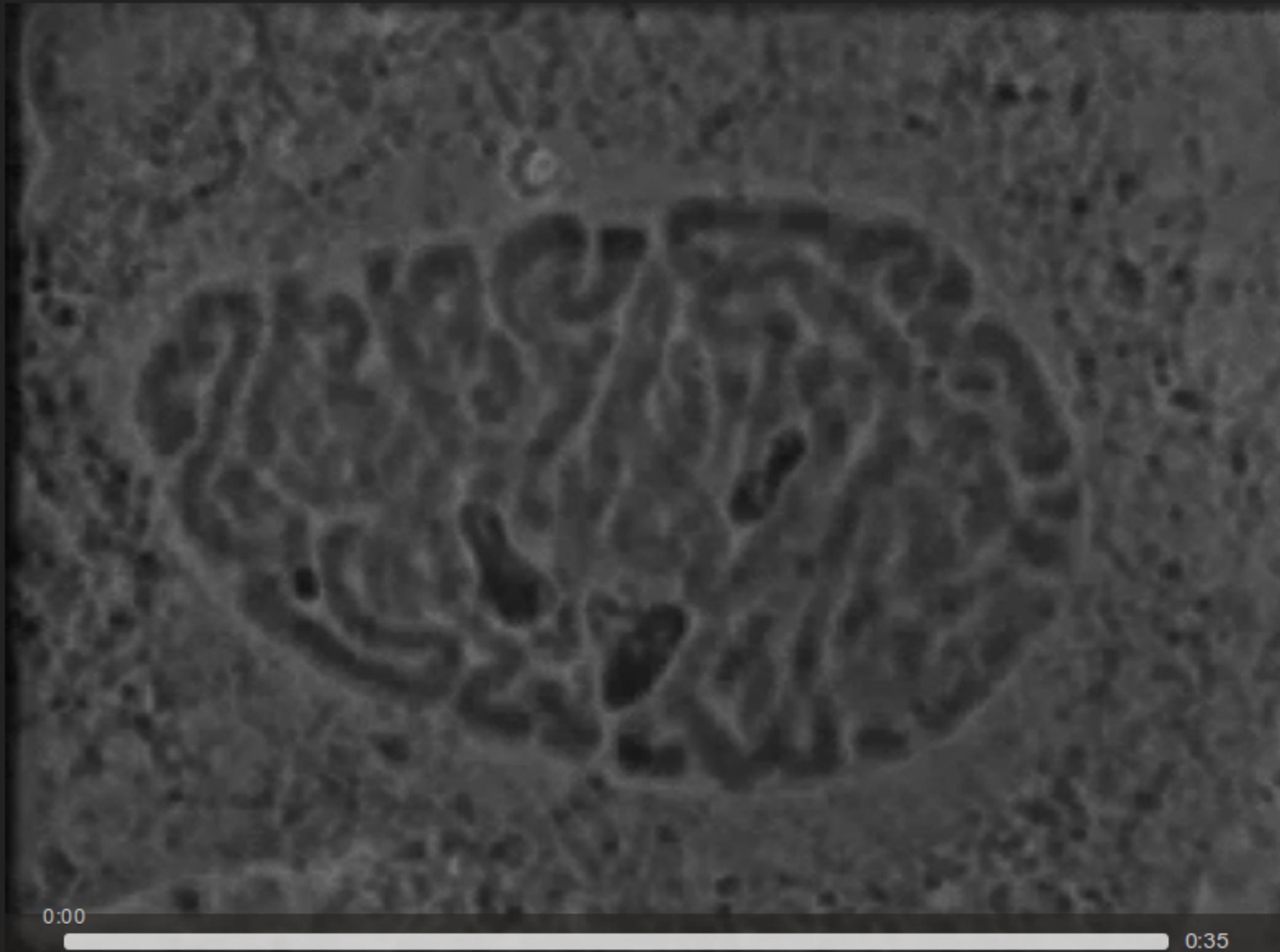
Les acteurs du fuseau mitotique

La dynamique des chromosomes

Problématique

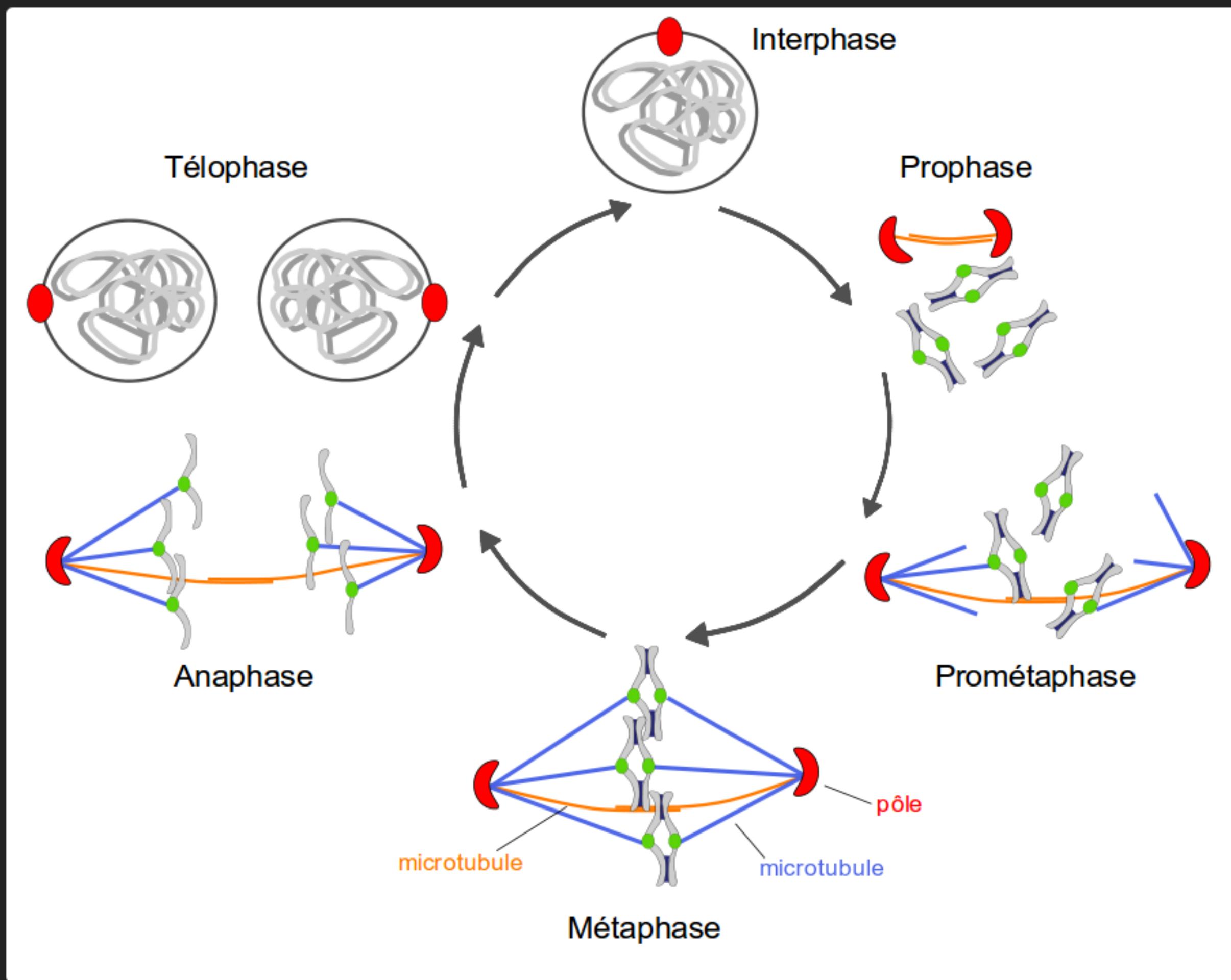
La mitose

« Le rêve de chaque cellule est de devenir deux cellules. » (François Jacob, 1974)

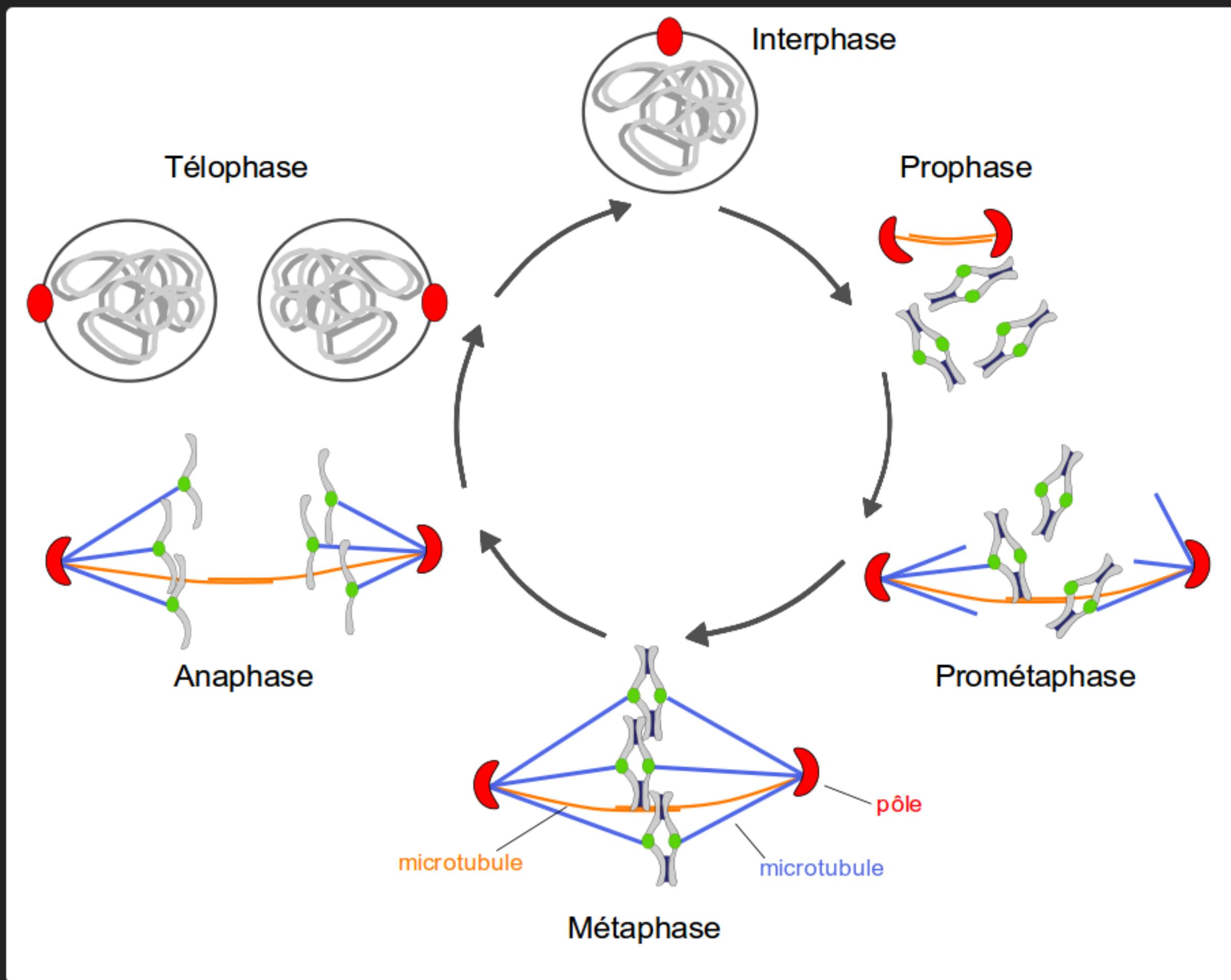


Haemanthus katherinae cell, Bajer, 1956 (time x300)

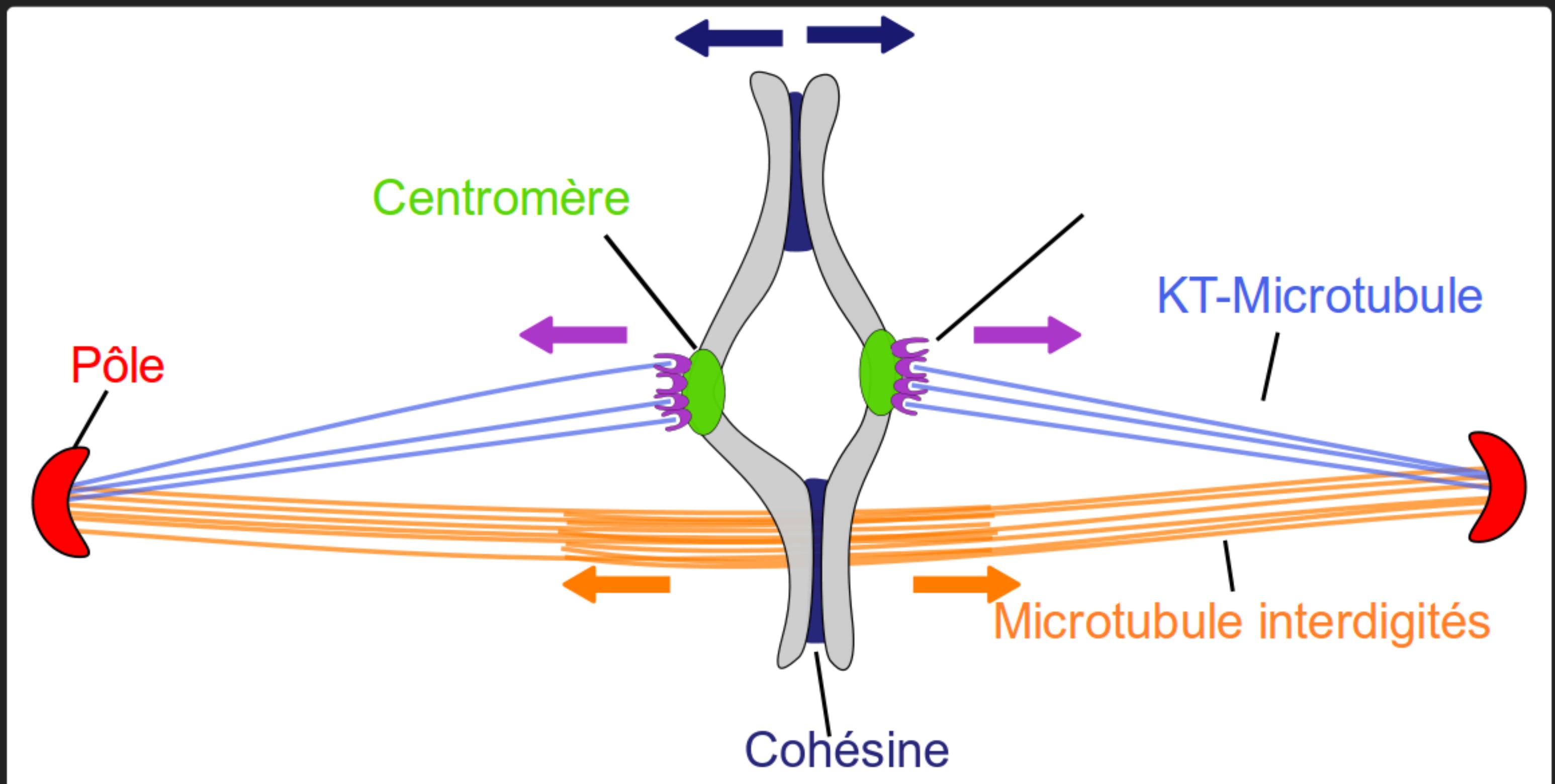
La mitose



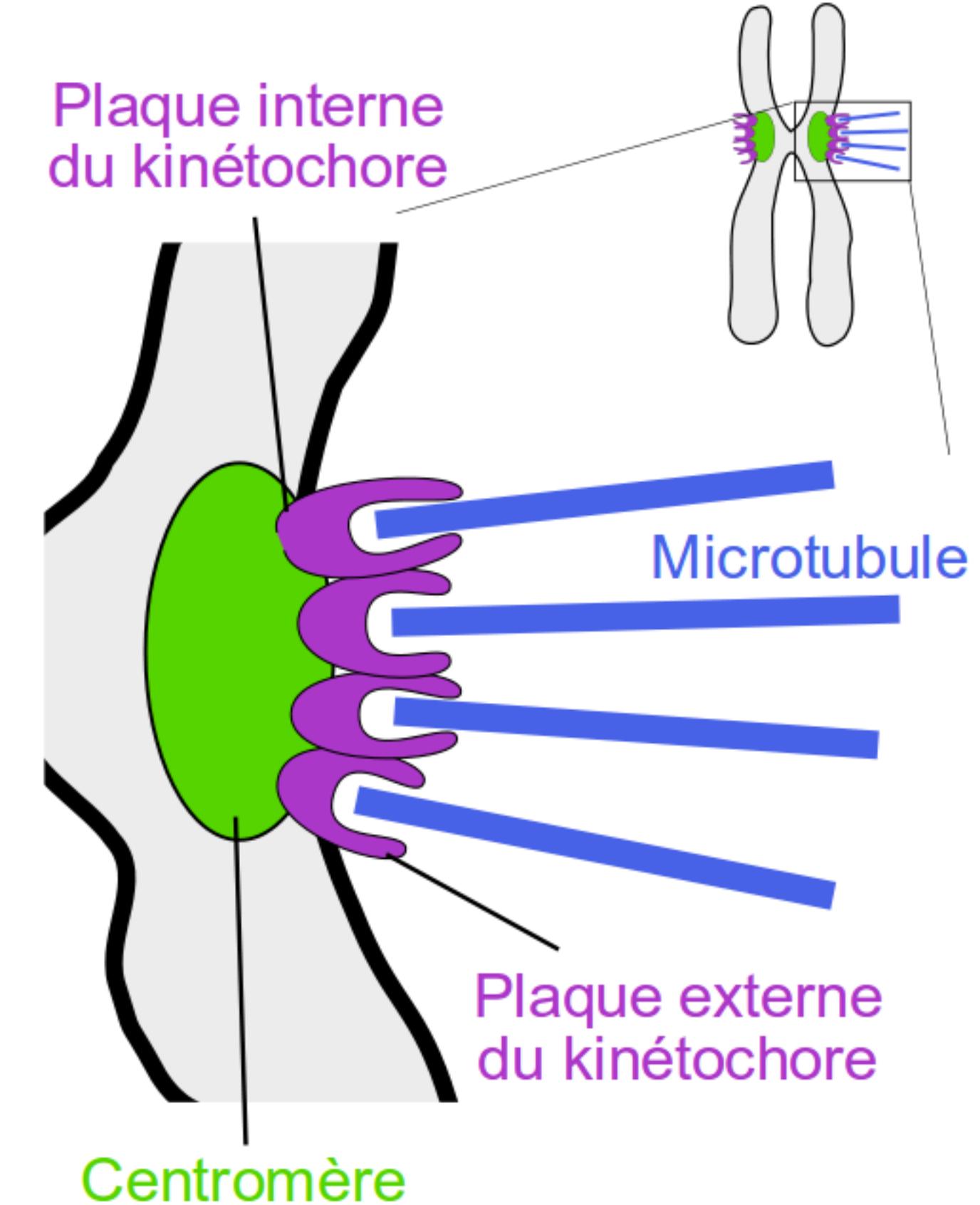
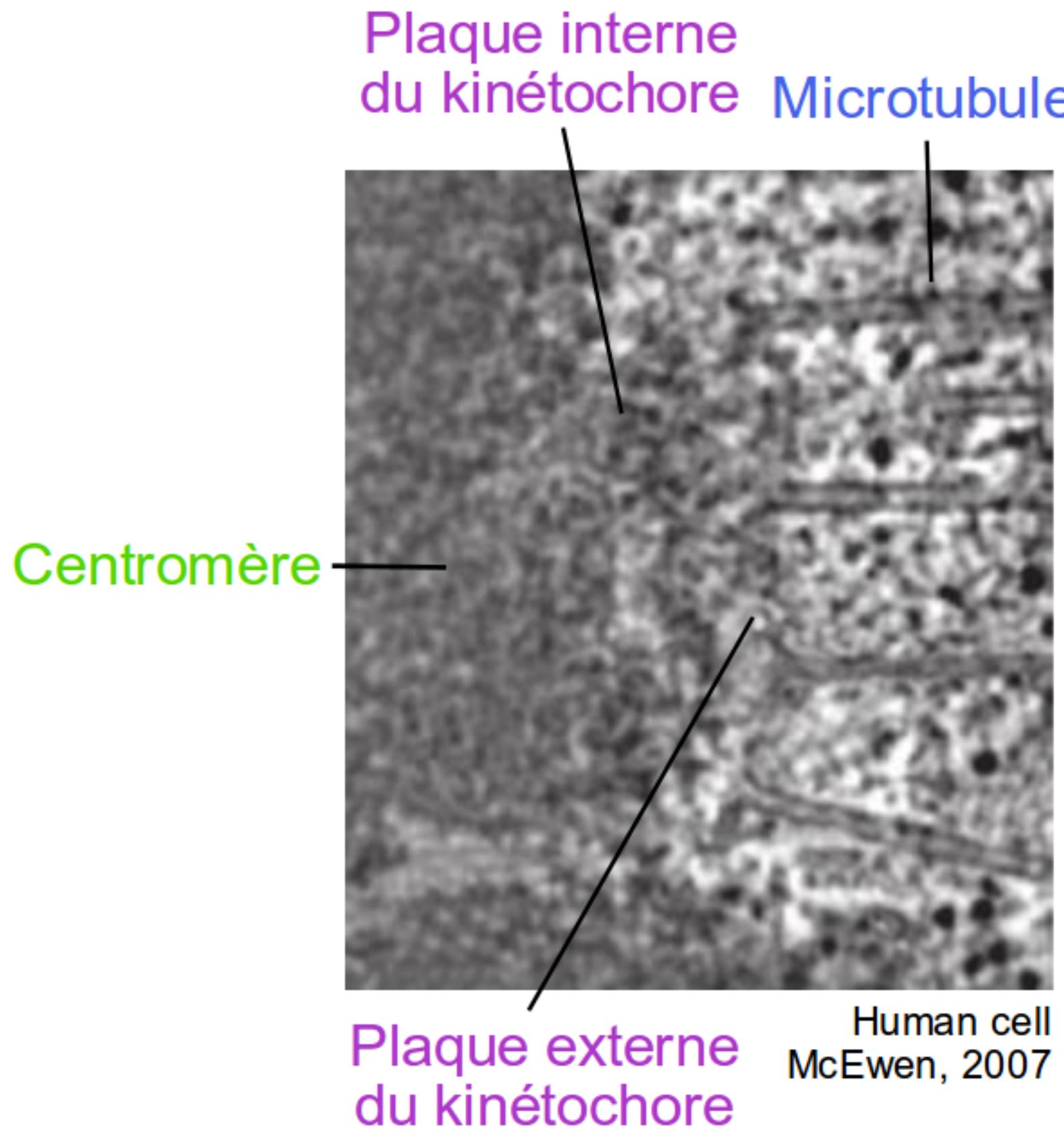
La mitose



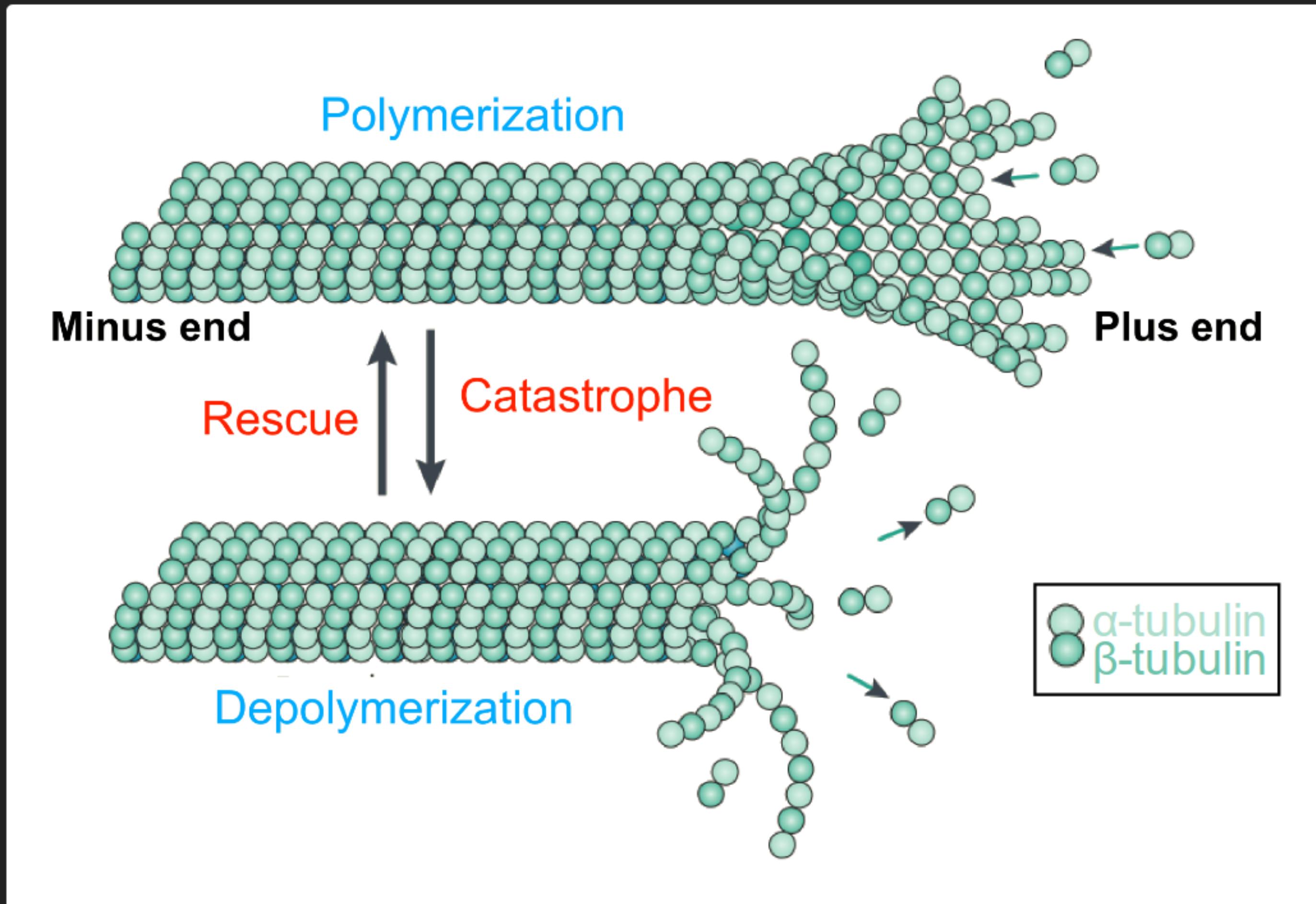
Le fuseau mitotique



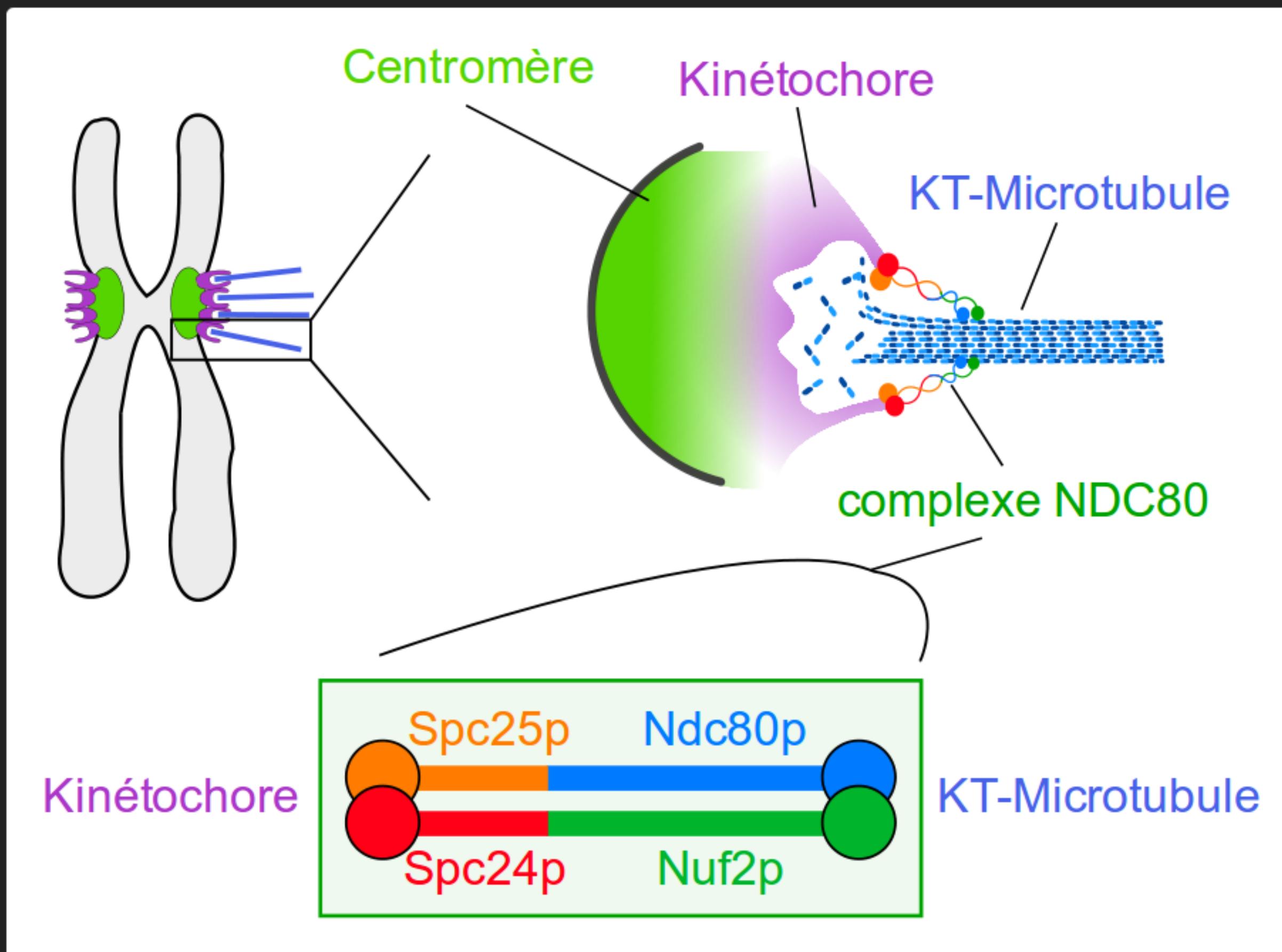
Le kinétochore



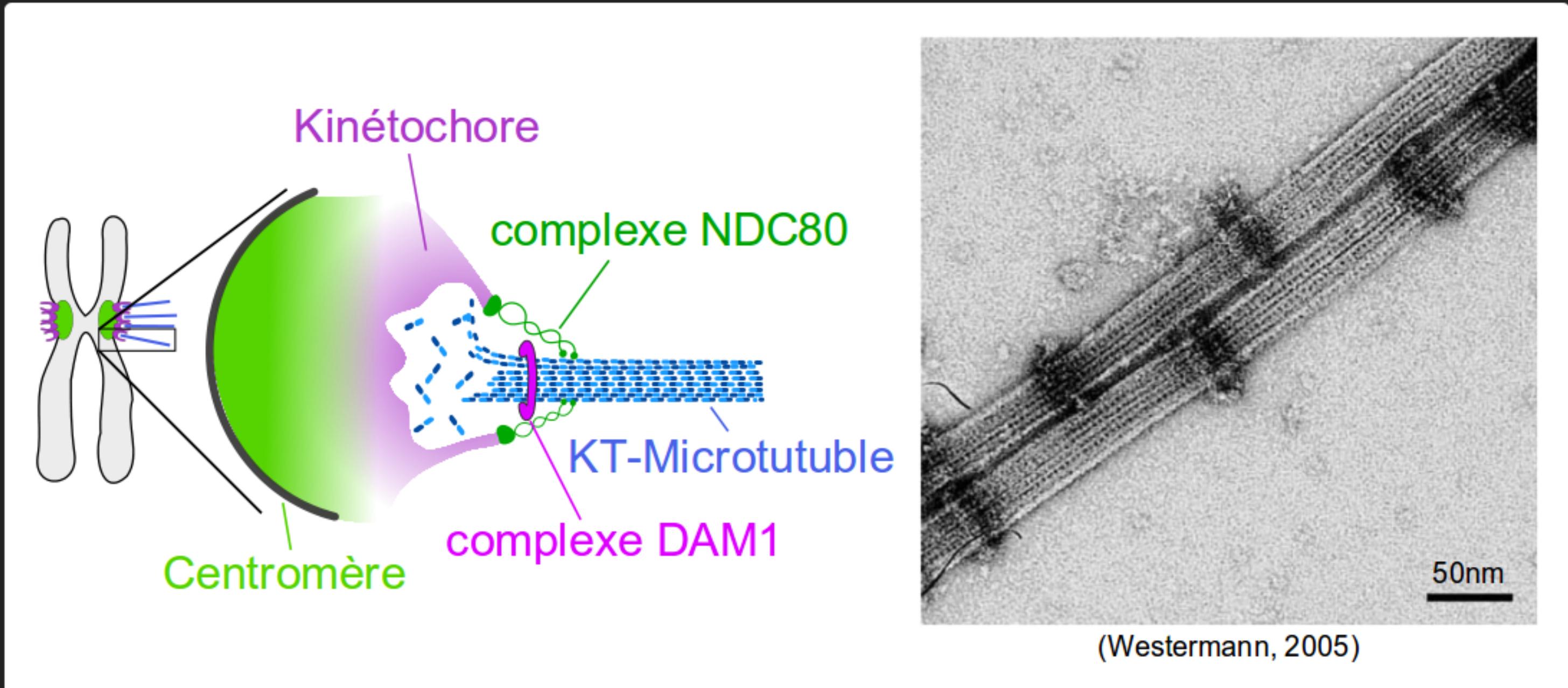
Les microtubules



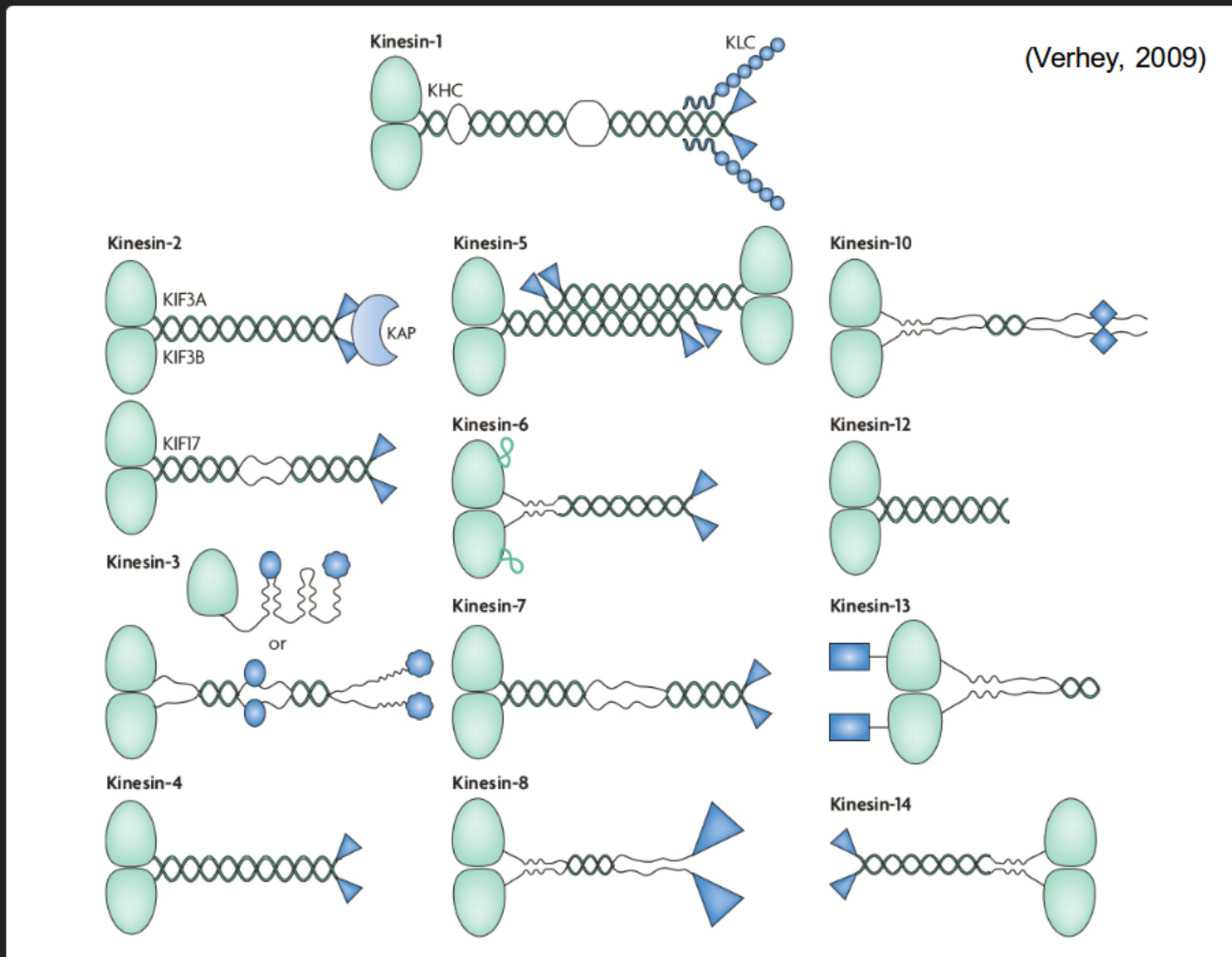
Le complexe NDC80 : un acteur clé de l'attachement KT-MT



Le complexe DAM1 : un acteur clé de la stabilité de l'attachement KT-MT



Les kinésines : des protéines motrices

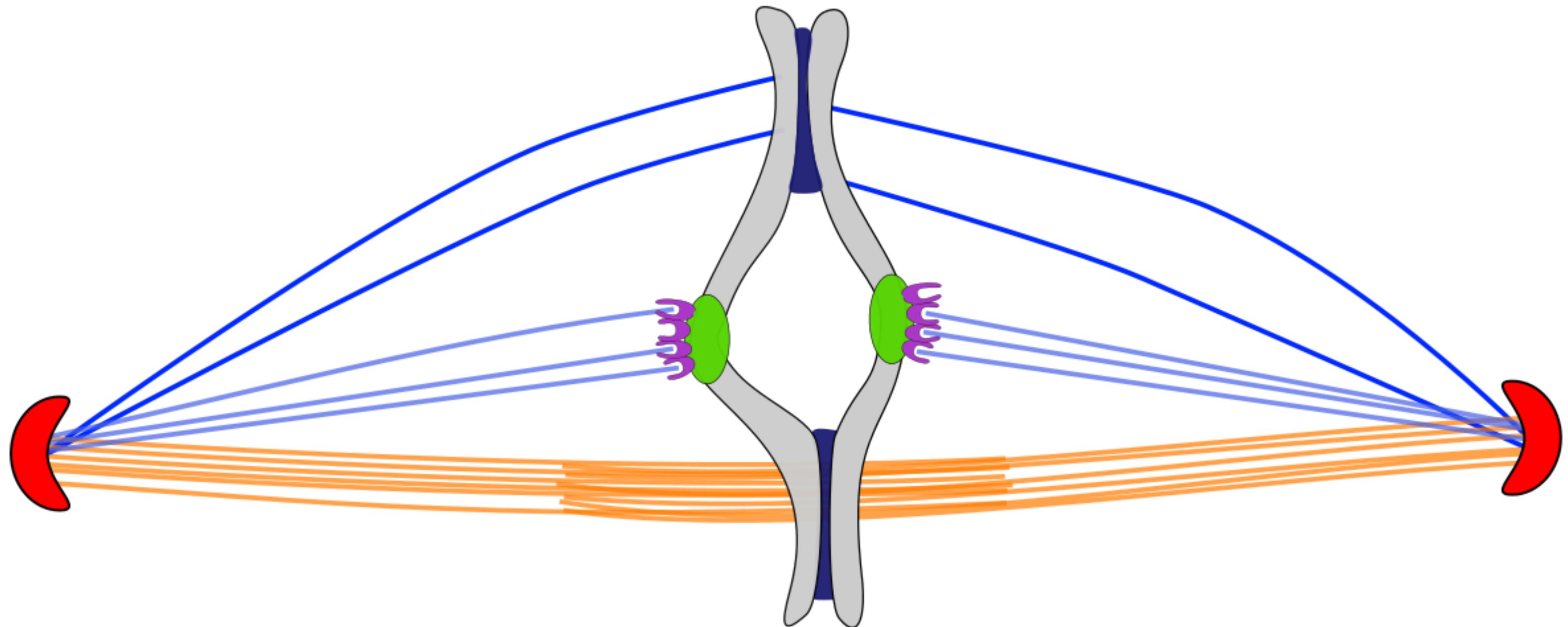


Les kinésines : des protéines motrices

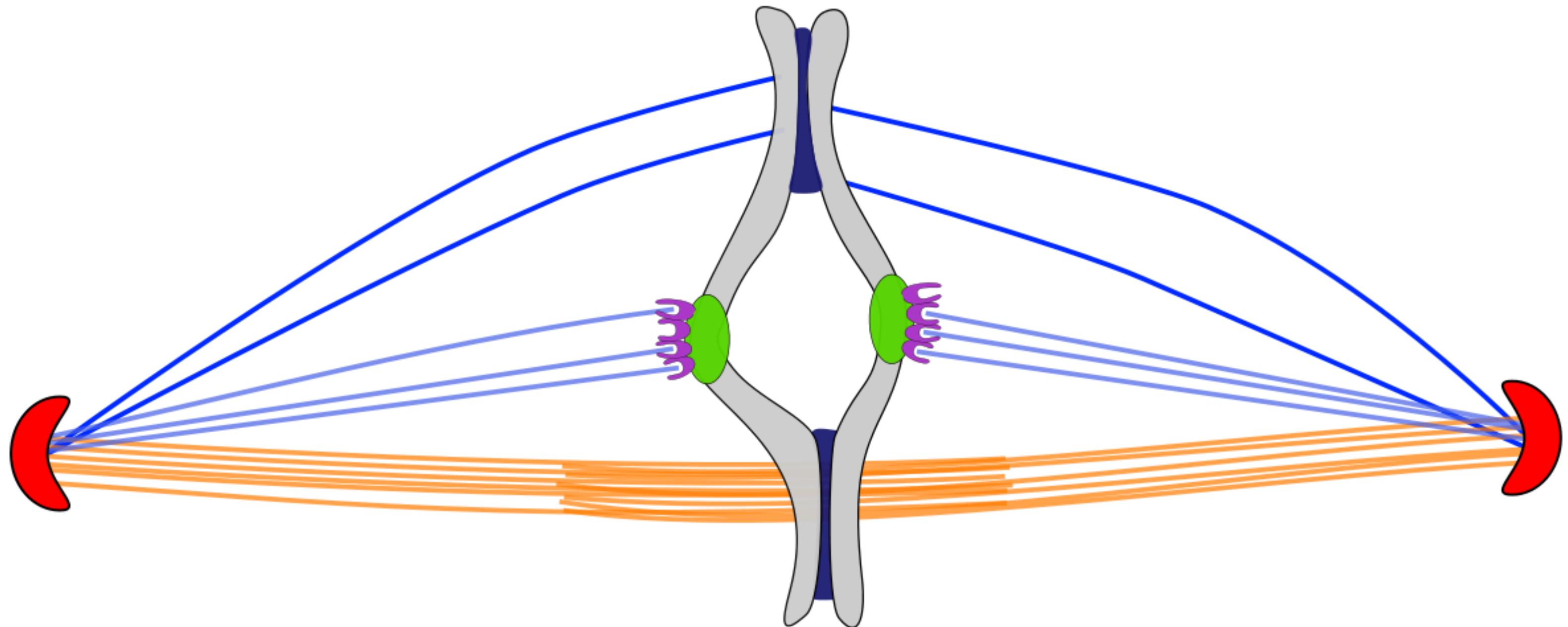


The Inner Life of the Cell, 2007

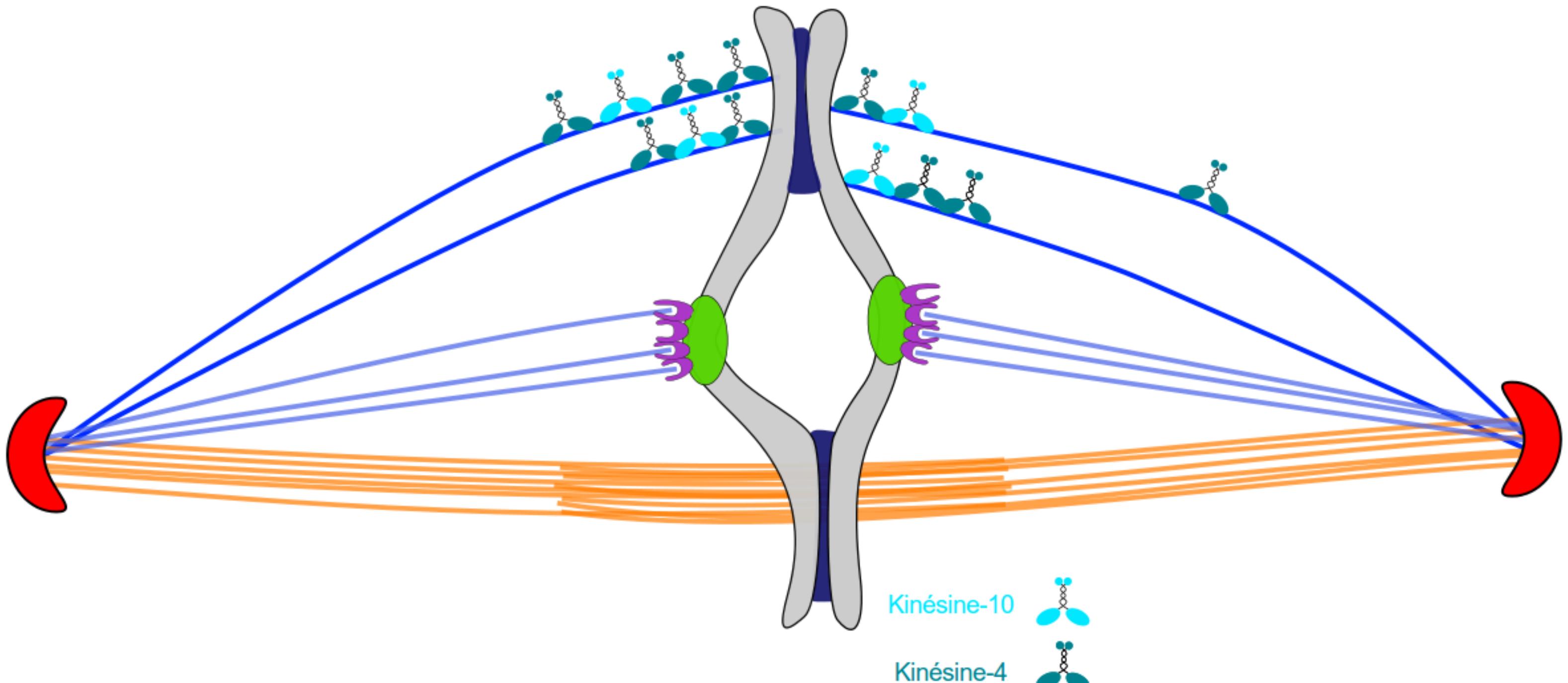
Les kinésines en mitose



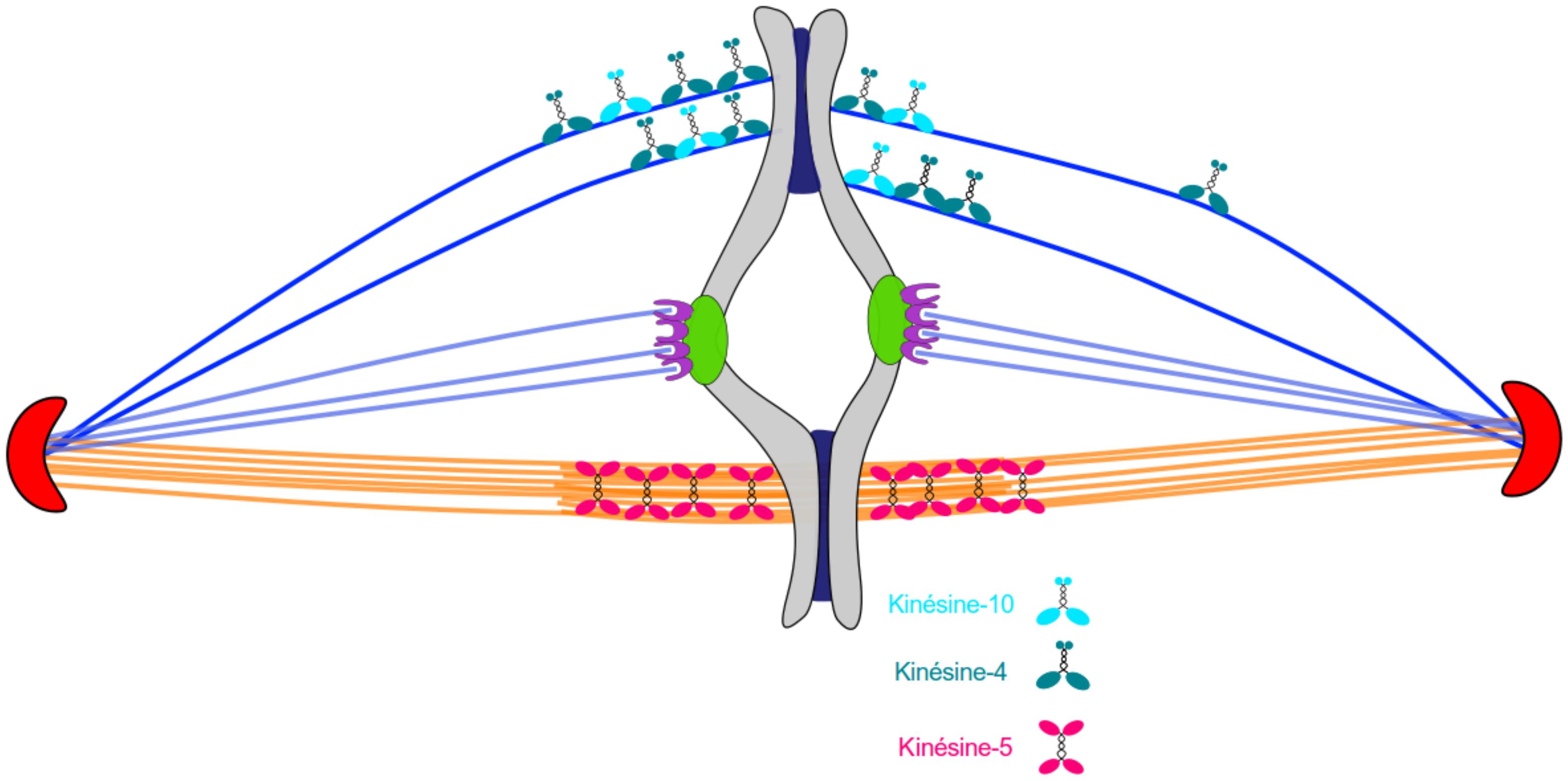
Les kinésines en mitose



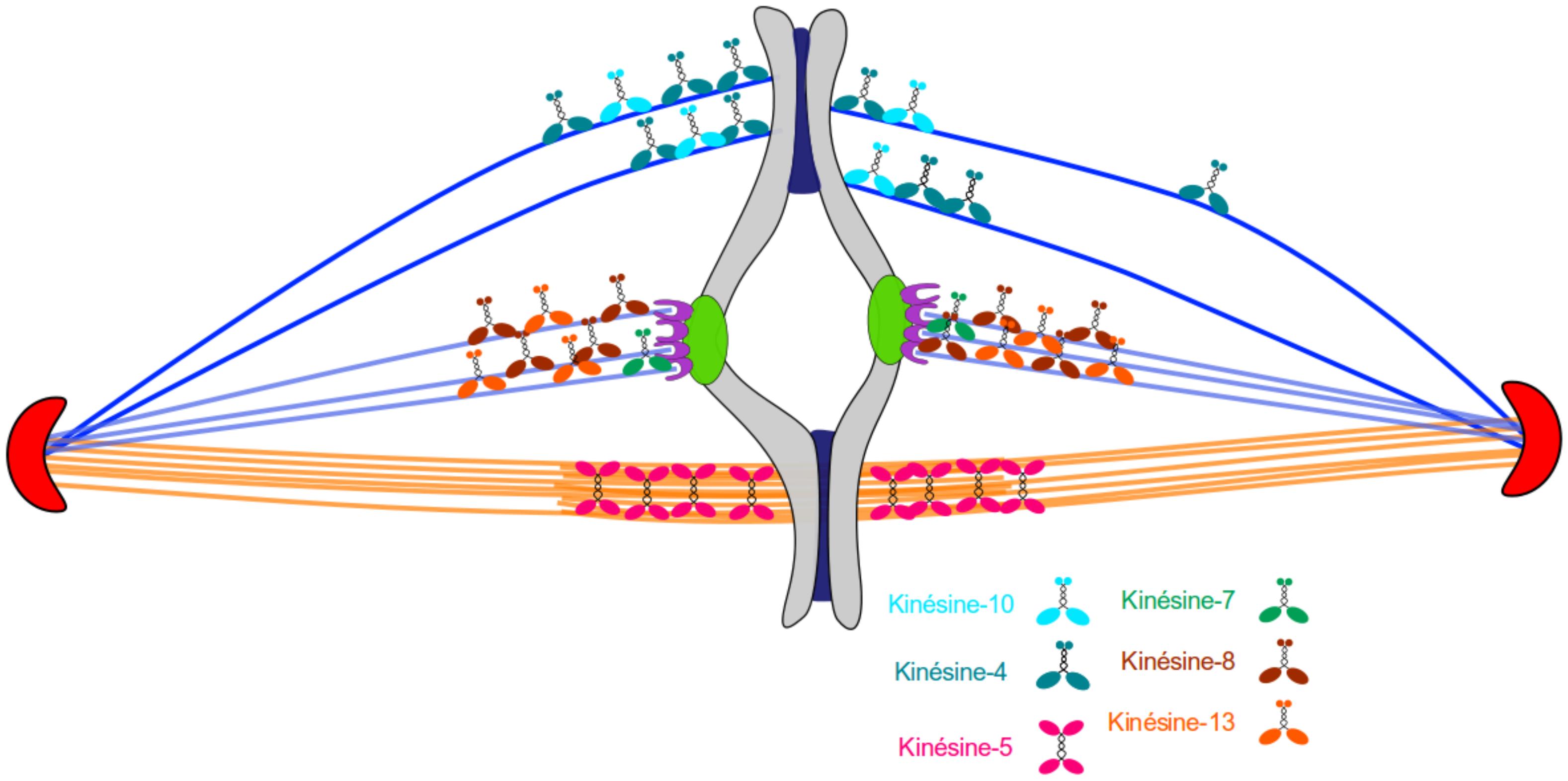
Les kinésines en mitose



Les kinésines en mitose

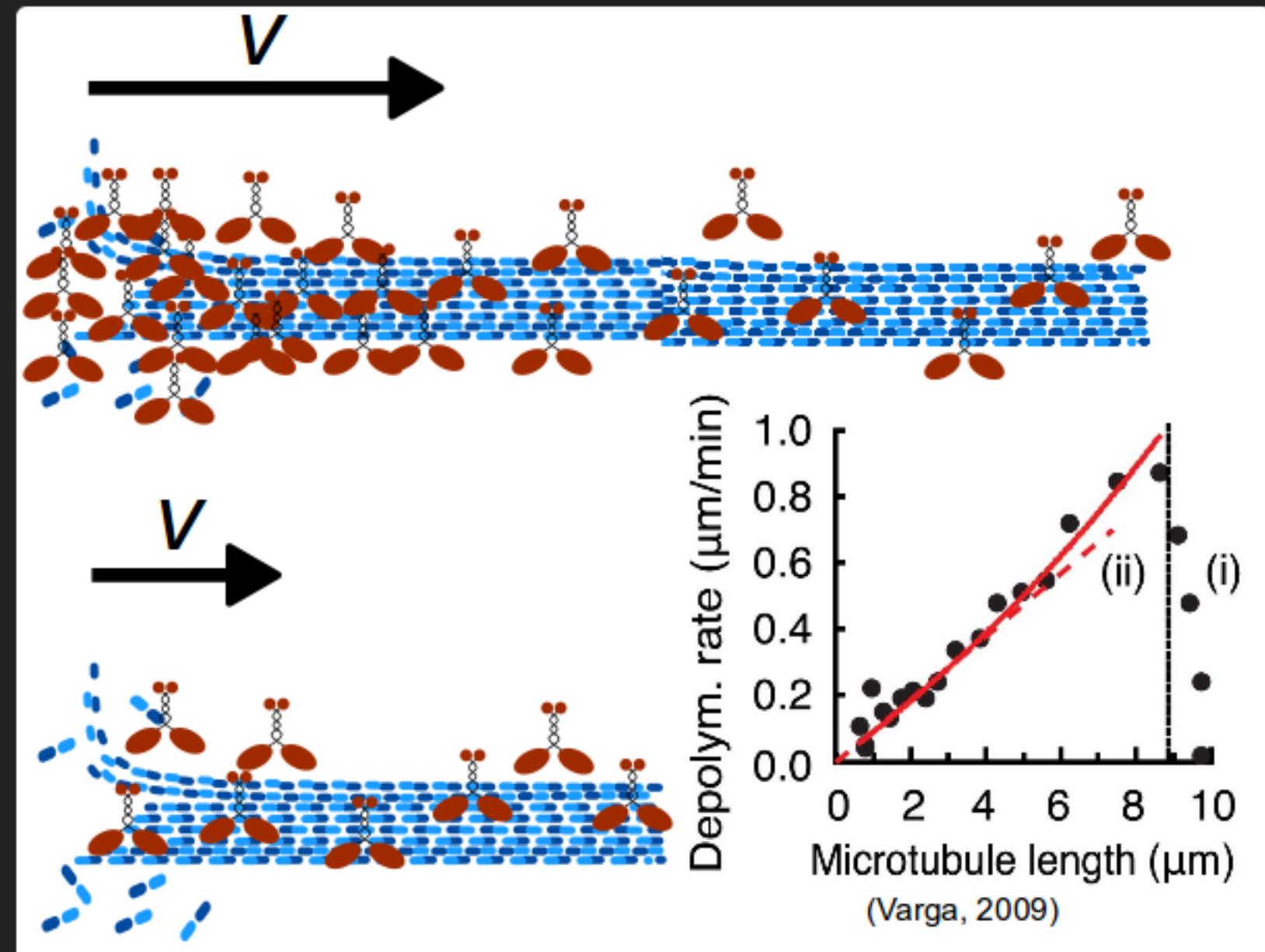


Les kinésines en mitose



La kinésine-8 modifie la dynamique des microtubules

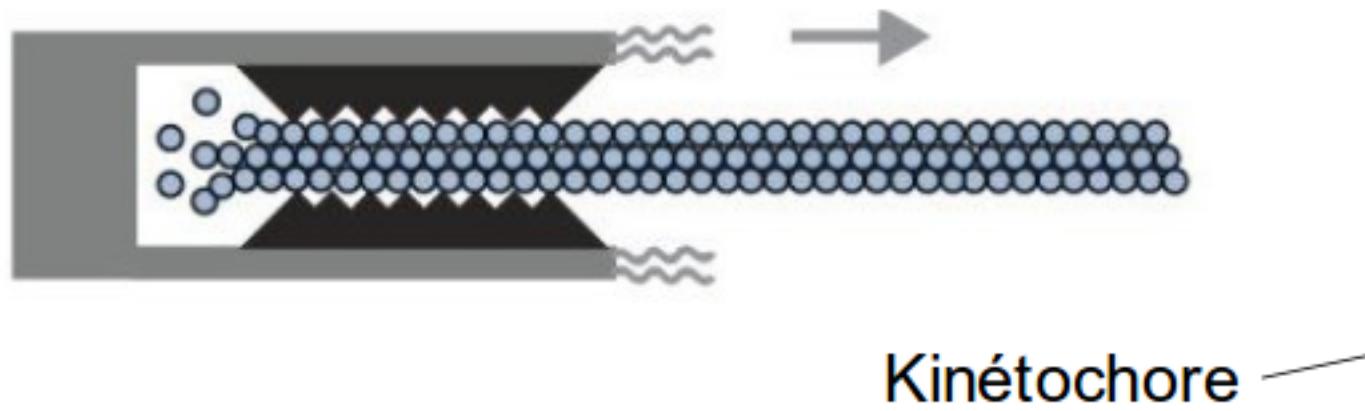
- Activité dépendante de la longueur du microtubule
- Humain : Kif18a, Kif18b
- Drosophile : Klp67A
- Levure à bourgeon : Kip3p
- Levure à fission : Klp5, Klp6



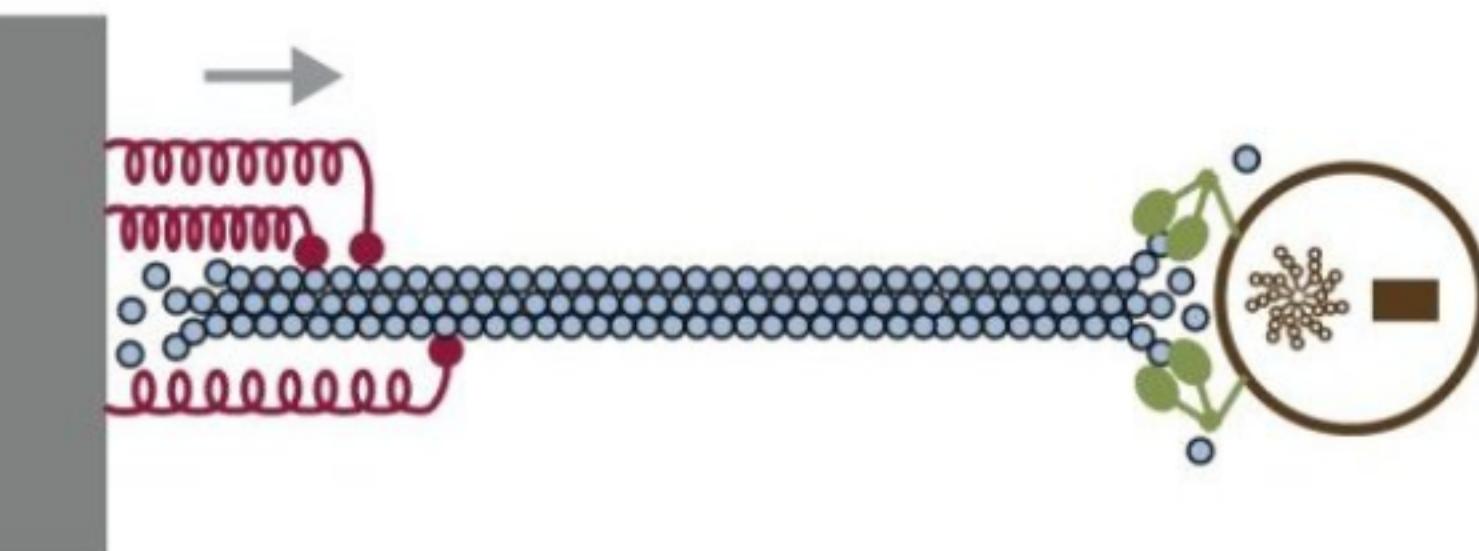
Une kinésine capable de « capter » une information spatiale au sein de la cellule.

Les différents modèles générant la force de traction au niveau du kinétochore

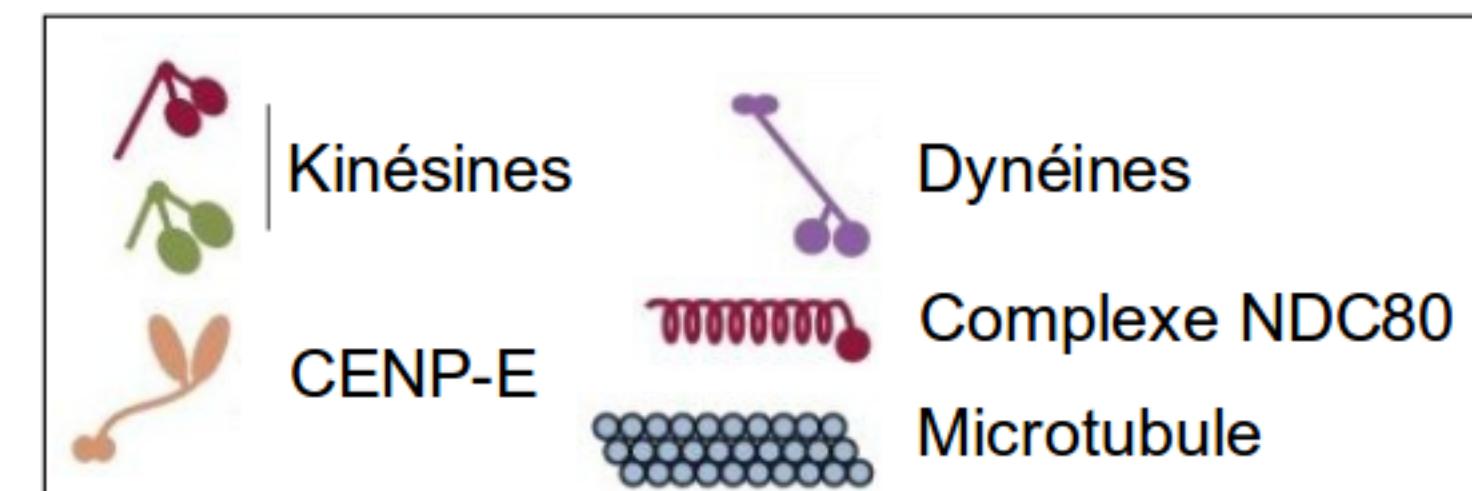
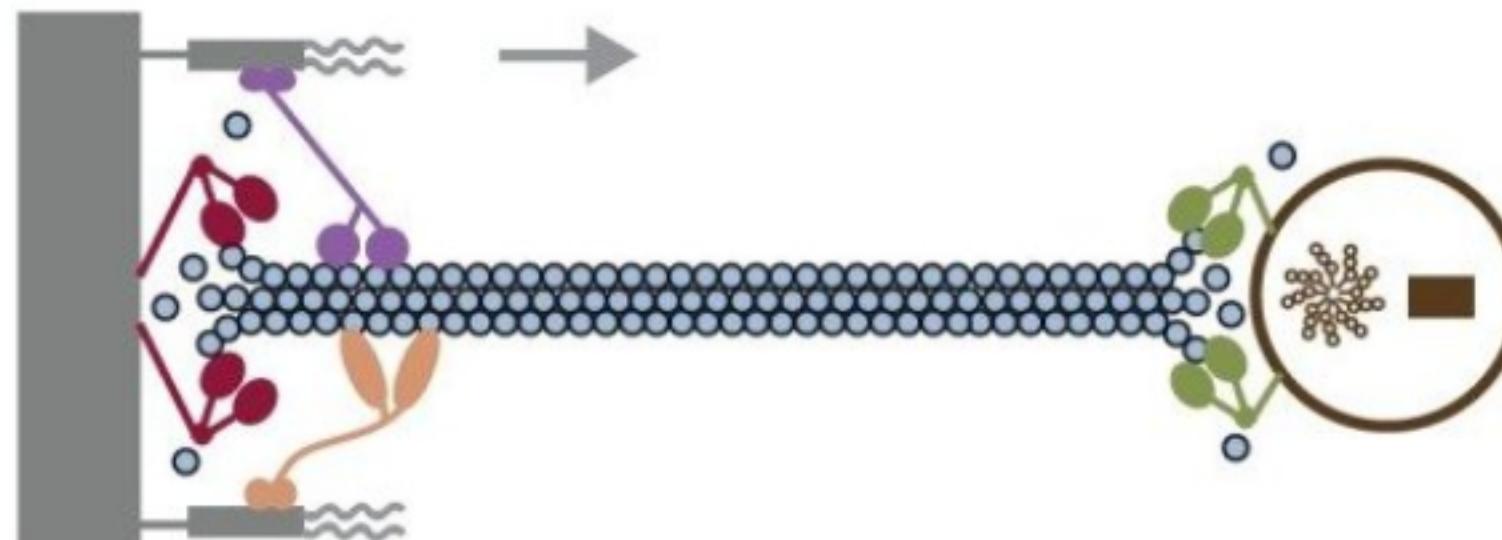
1 Modèle de Hill (1985)



3



2



Civelekoglu-Scholey, Cimini, 2014

La métaphase : point d'orgue de la division cellulaire



cellule PtK1, Cimini, 2004



cellule HeLa, Stumpff, 2008

La métaphase : point d'orgue de la division cellulaire



cellule PtK1, Cimini, 2004



cellule HeLa, Stumpff, 2008

La métaphase : point d'orgue de la division cellulaire



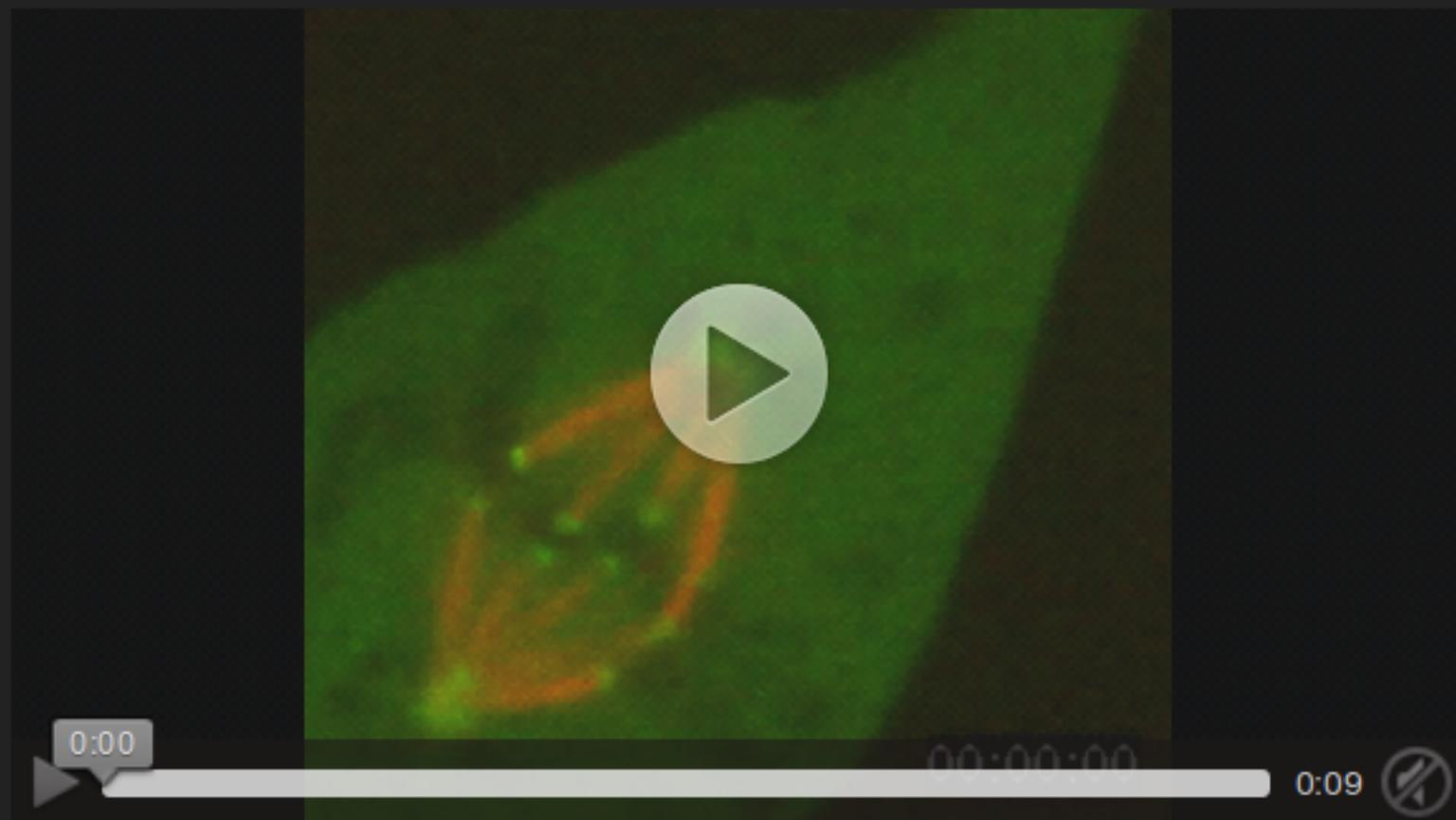
cellule PtK1, Cimini, 2004



cellule HeLa, Stumpff, 2008

- Qu'est ce qui contrôle et génère le mouvement des chromosomes ?

La métaphase : point d'orgue de la division cellulaire



cellule PtK1, Cimini, 2004



cellule HeLa, Stumpff, 2008

- Qu'est ce qui contrôle et génère le mouvement des chromosomes ?
- Quels mécanismes régulent l'alignement des chromosomes ?

La métaphase : point d'orgue de la division cellulaire



cellule PtK1, Cimini, 2004



cellule HeLa, Stumpff, 2008

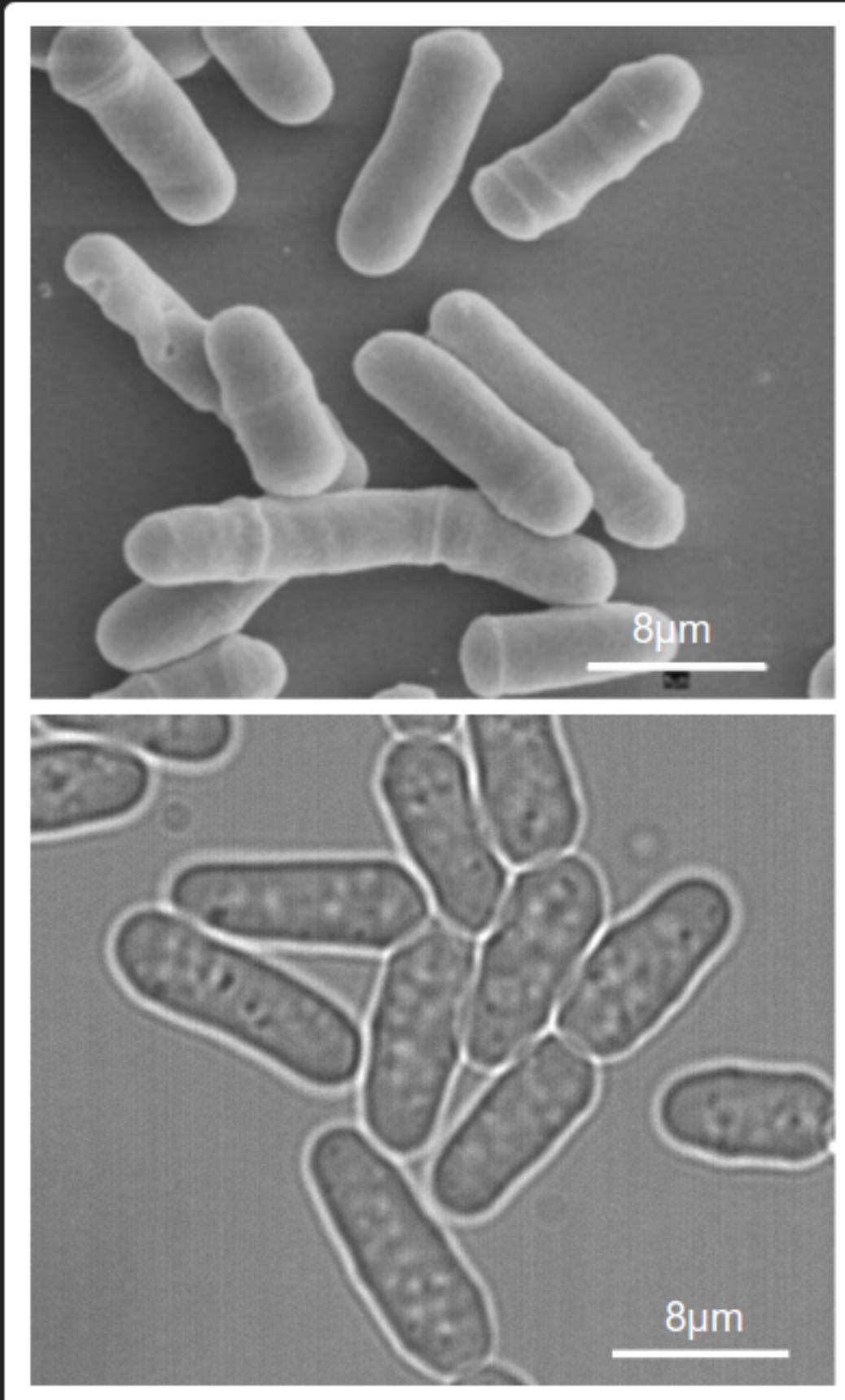
- Qu'est ce qui contrôle et génère le mouvement des chromosomes ?
- Quels mécanismes régulent l'alignement des chromosomes ?
- Le mouvement et l'alignement sont-ils deux processus indépendants ?

Outils utilisés

S. pombe: un outil génétique puissant

Modélisation de la dynamique des chromosomes

Un modèle d'étude pour la dynamique des chromosomes : *Schizosaccharomyces pombe*



- organisme unicellulaire
- cellule eucaryote
- fuseau mitotique conservé
- trois chromosomes
- division symétrique

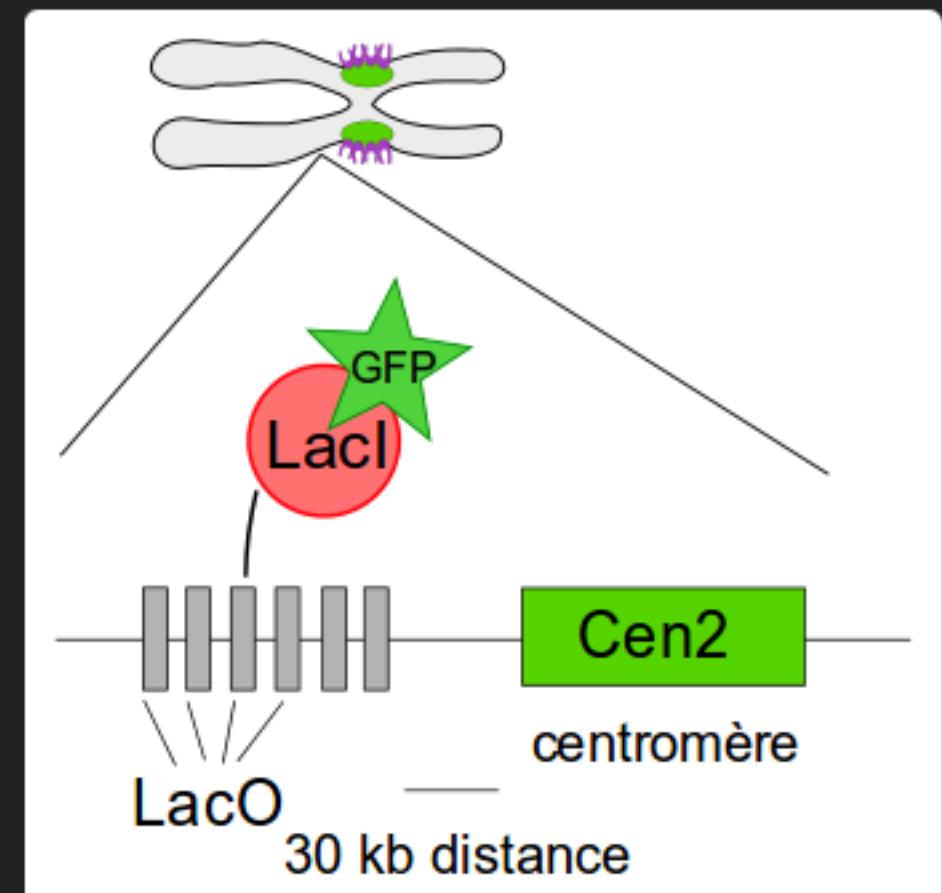
Un modèle d'étude pour la dynamique des chromosomes : *Schizosaccharomyces pombe*

Un modèle d'étude pour la dynamique des chromosomes : *Schizosaccharomyces pombe*

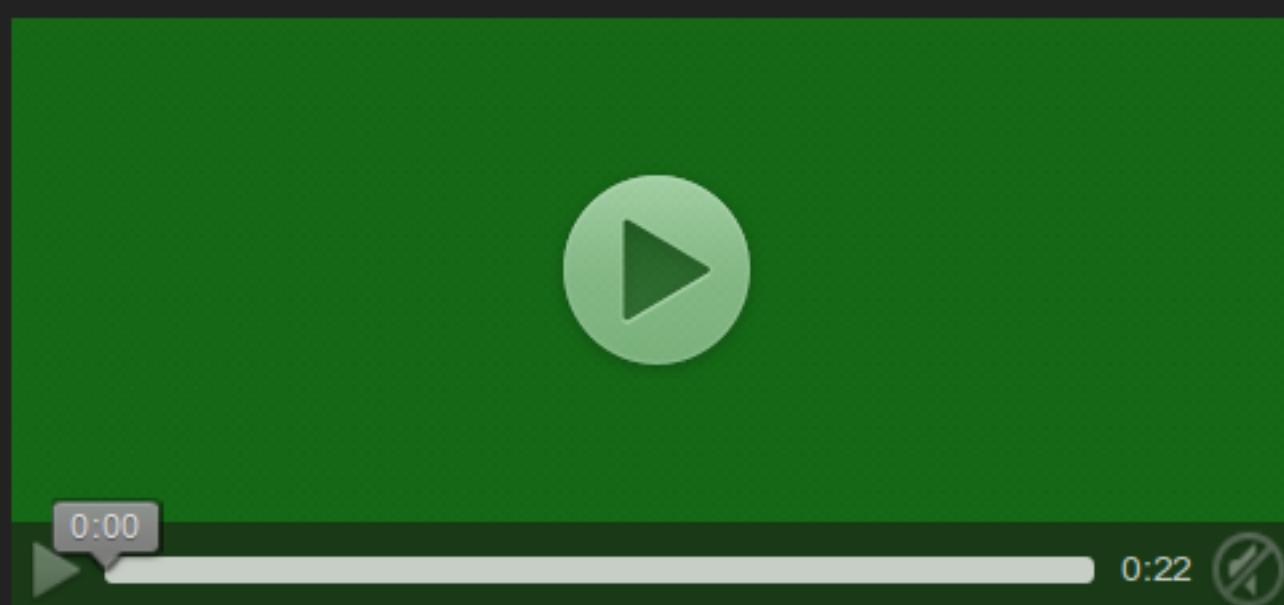
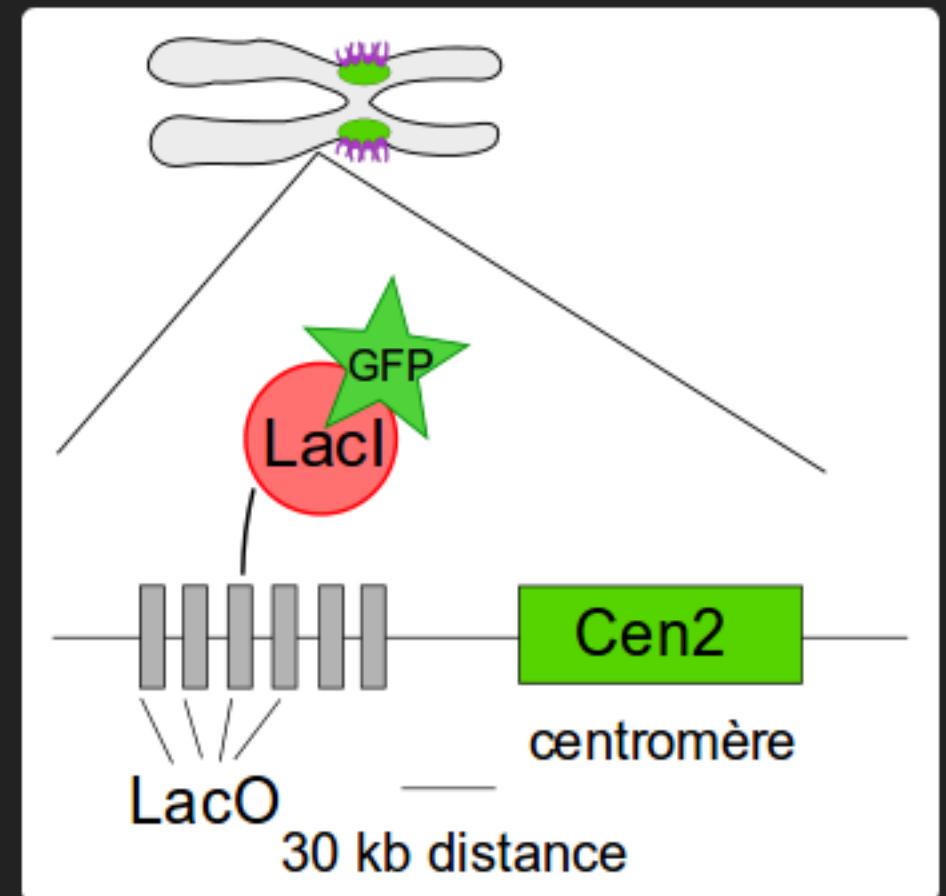
Un modèle d'étude pour la dynamique des chromosomes : *Schizosaccharomyces pombe*



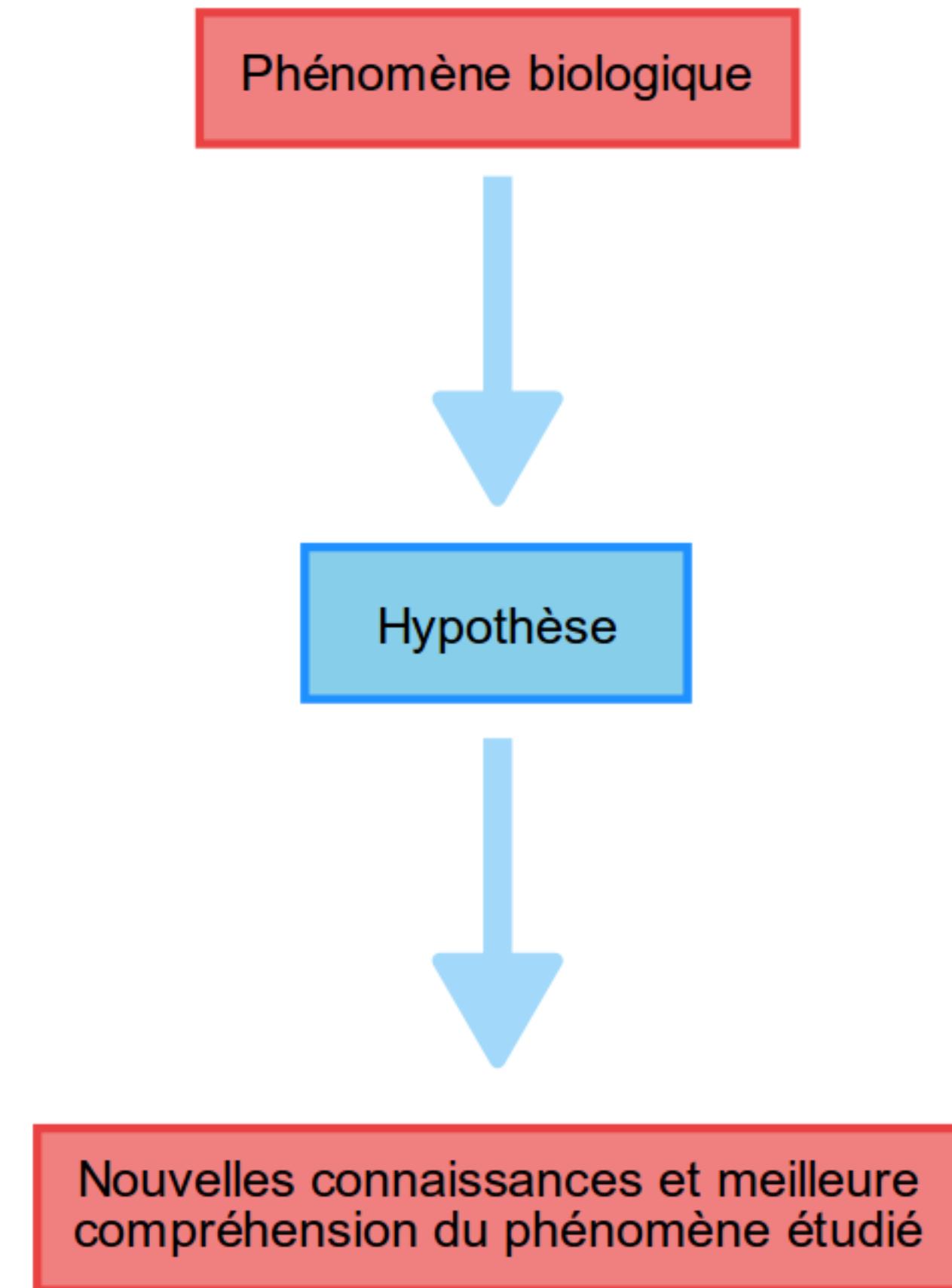
Un modèle d'étude pour la dynamique des chromosomes : *Schizosaccharomyces pombe*



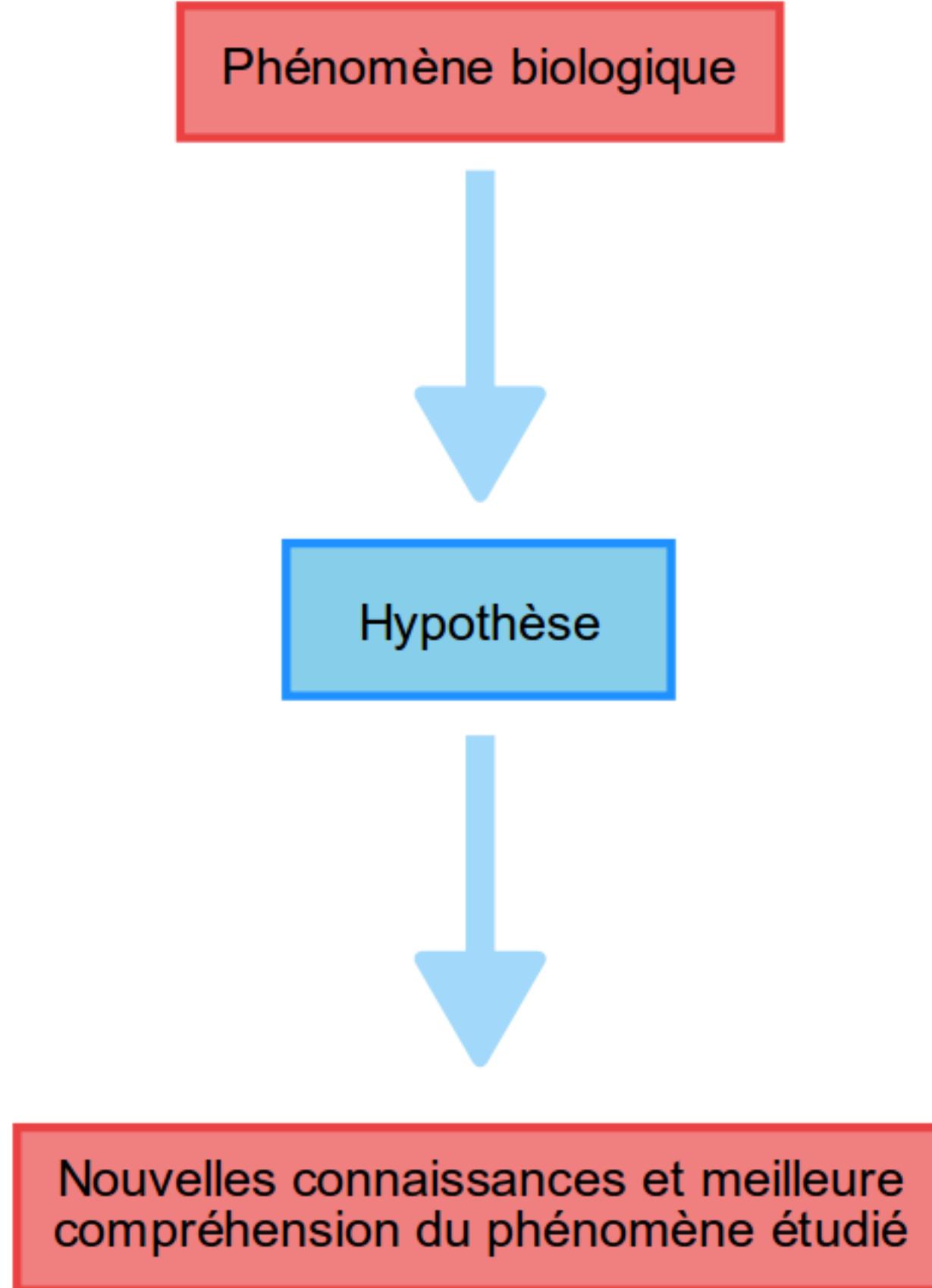
Un modèle d'étude pour la dynamique des chromosomes : *Schizosaccharomyces pombe*



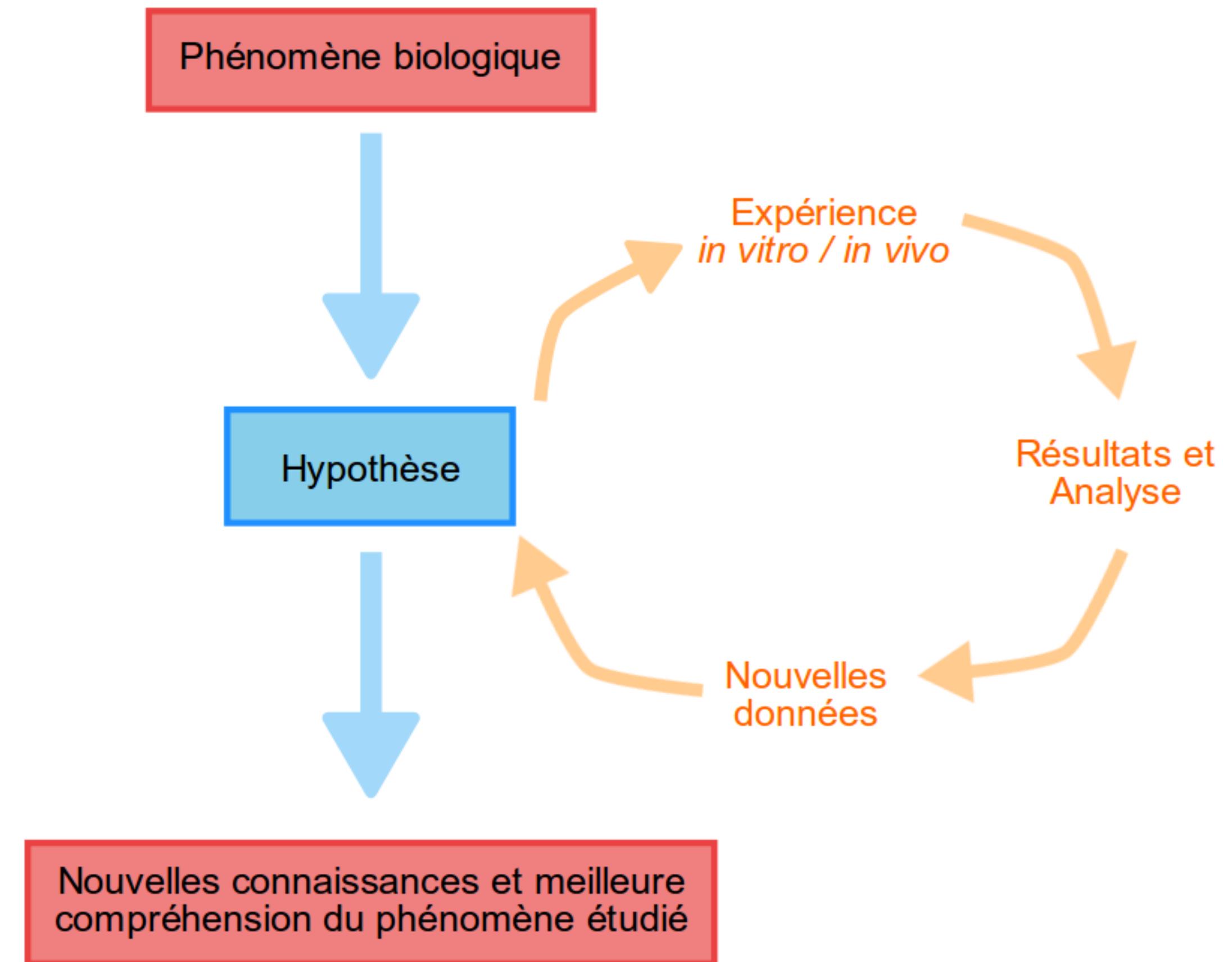
La modélisation en biologie



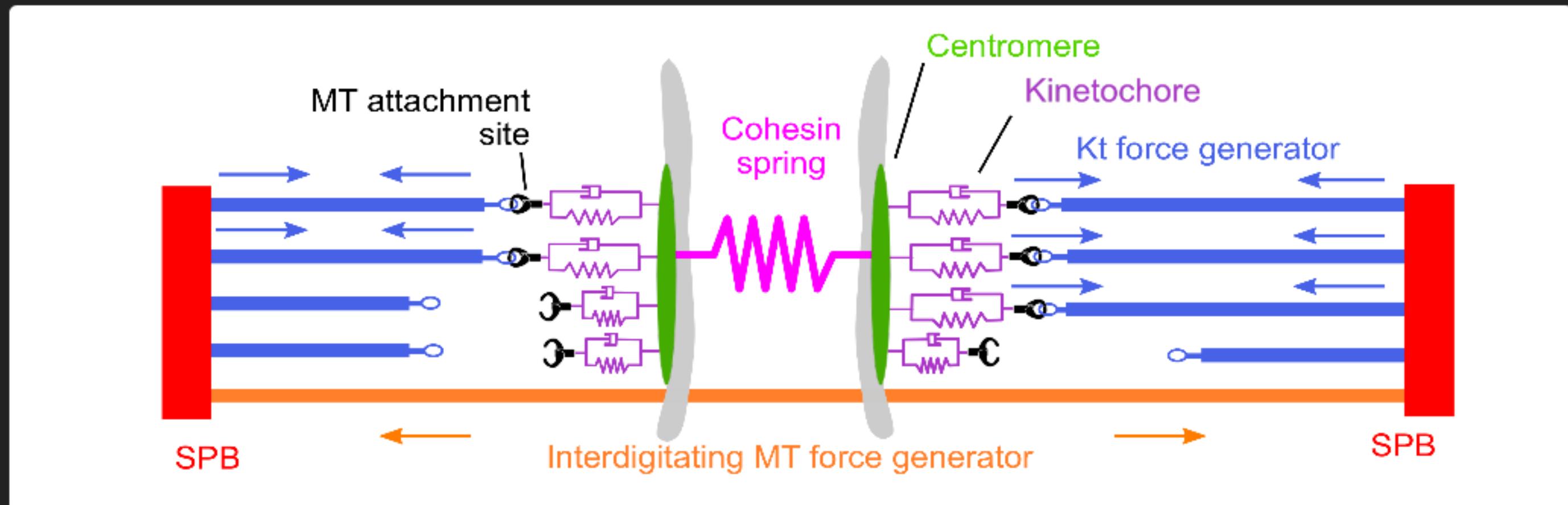
La modélisation en biologie



La modélisation en biologie



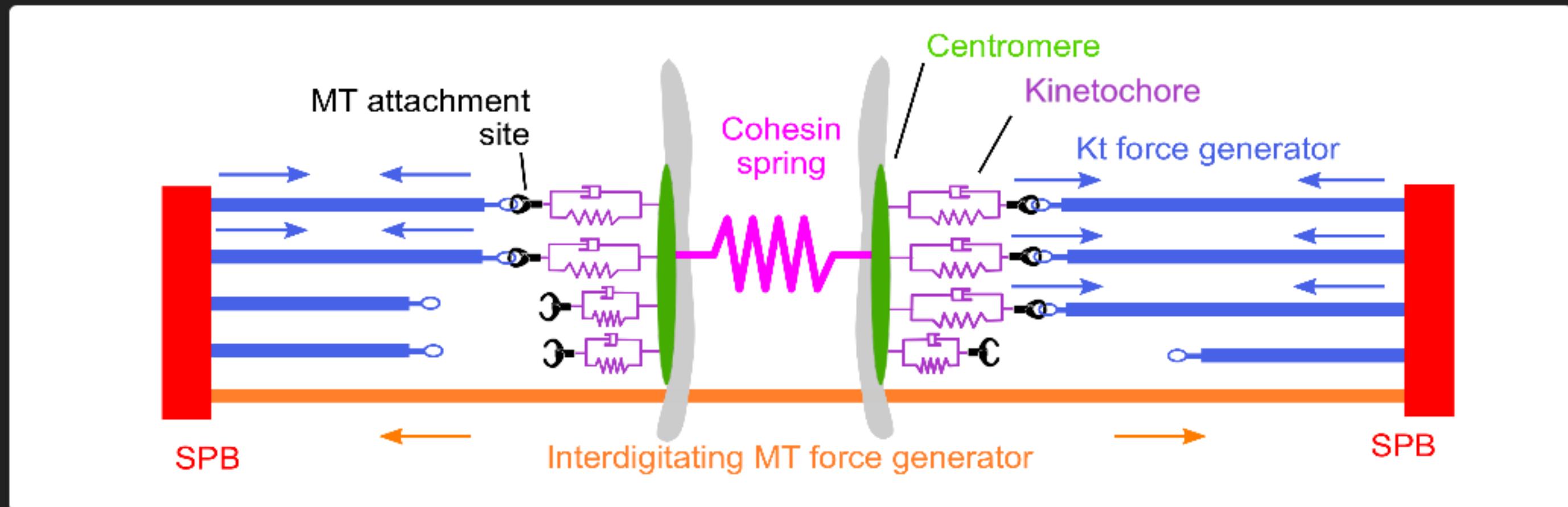
Modélisation de la ségrégation des chromosomes : la théorie



Gay, 2012

Hypothèses principales :

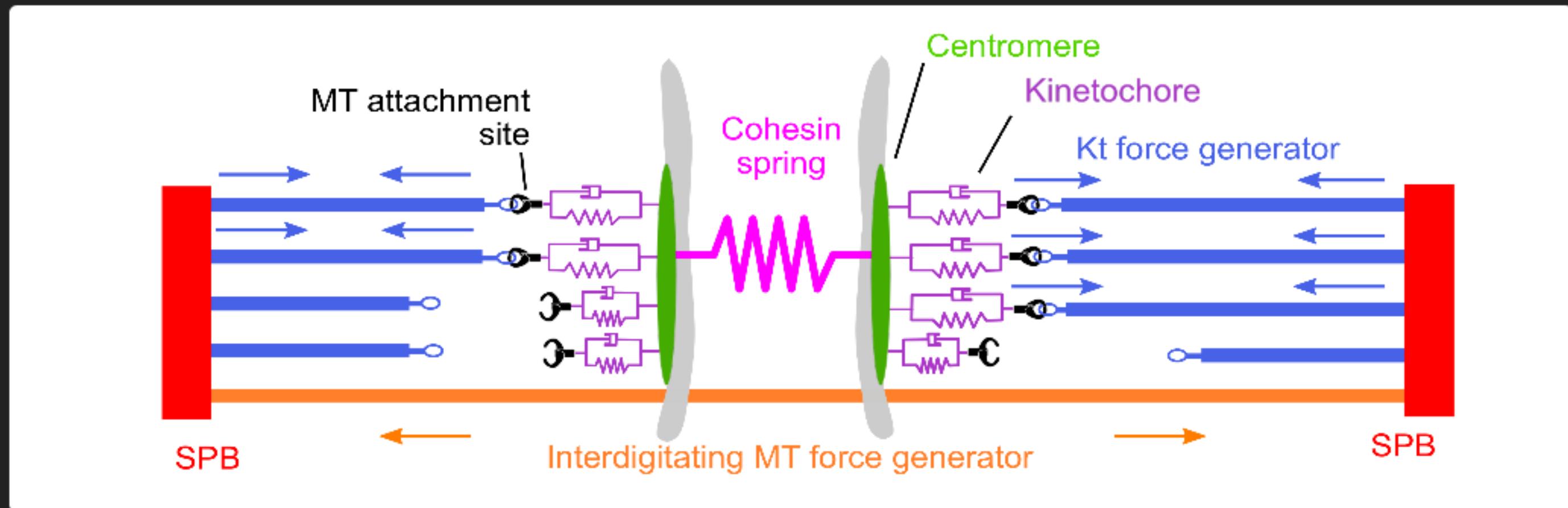
Modélisation de la ségrégation des chromosomes : la théorie



Gay, 2012

Hypothèses principales :

Modélisation de la ségrégation des chromosomes : la théorie

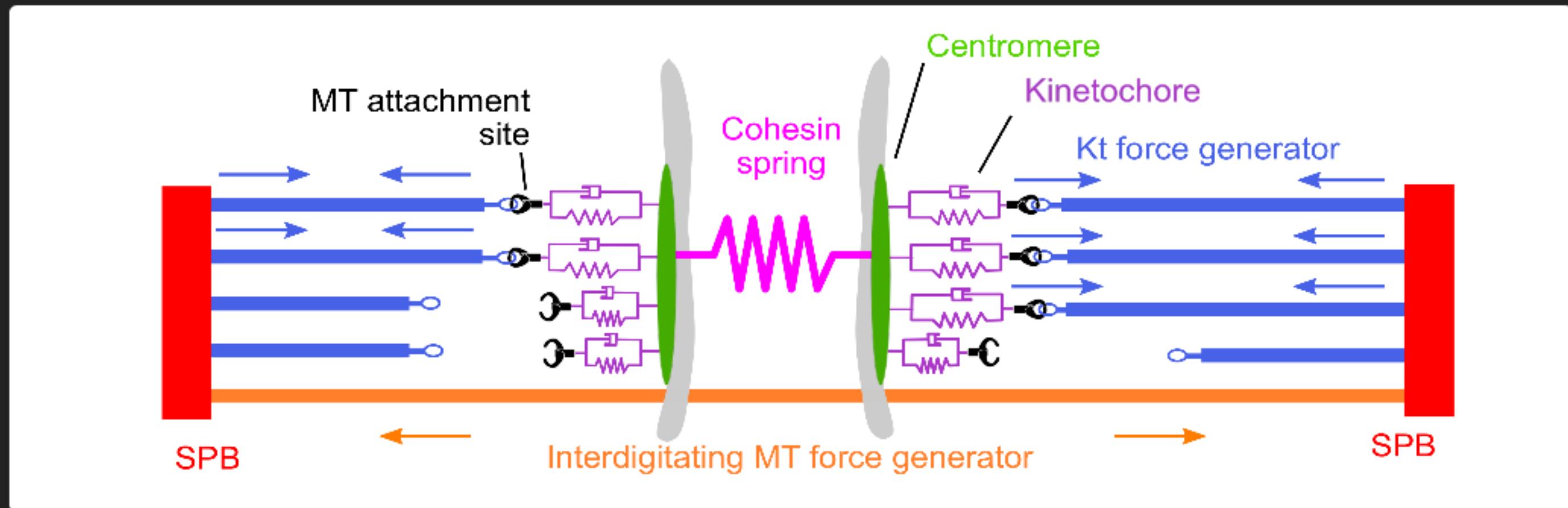


Gay, 2012

Hypothèses principales :

- Forces « passives » : piston et ressort

Modélisation de la ségrégation des chromosomes : la théorie

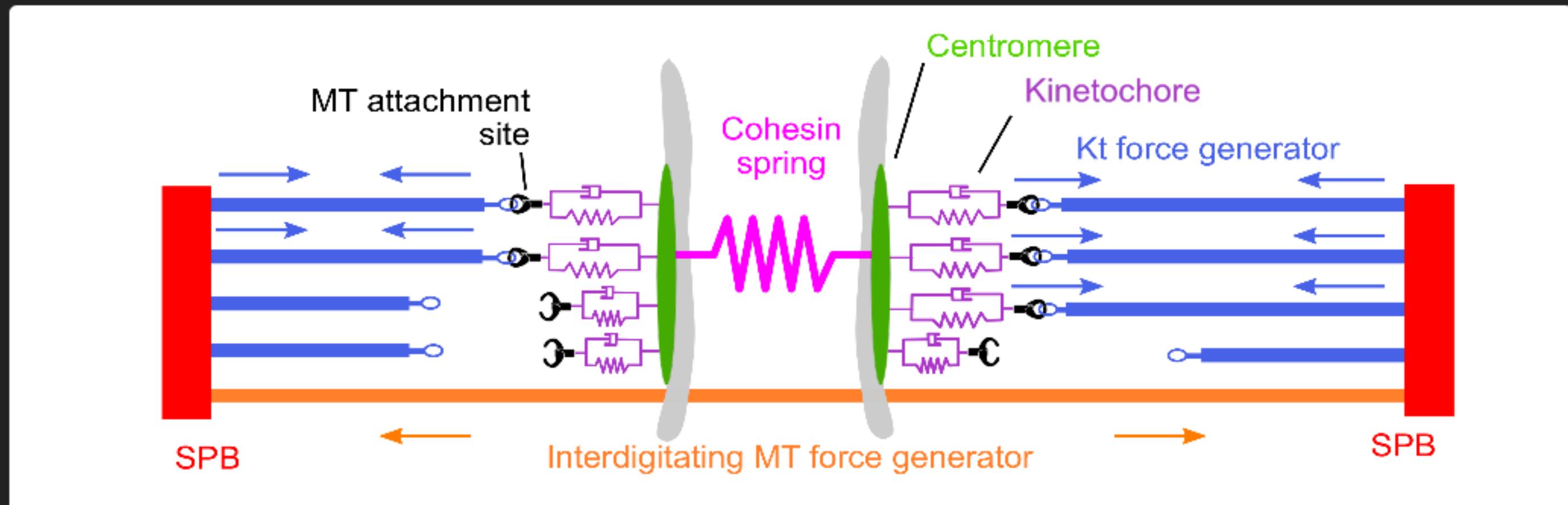


Gay, 2012

Hypothèses principales :

- Forces « passives » : piston et ressort
- Forces « actives » : moteurs

Modélisation de la ségrégation des chromosomes : la théorie

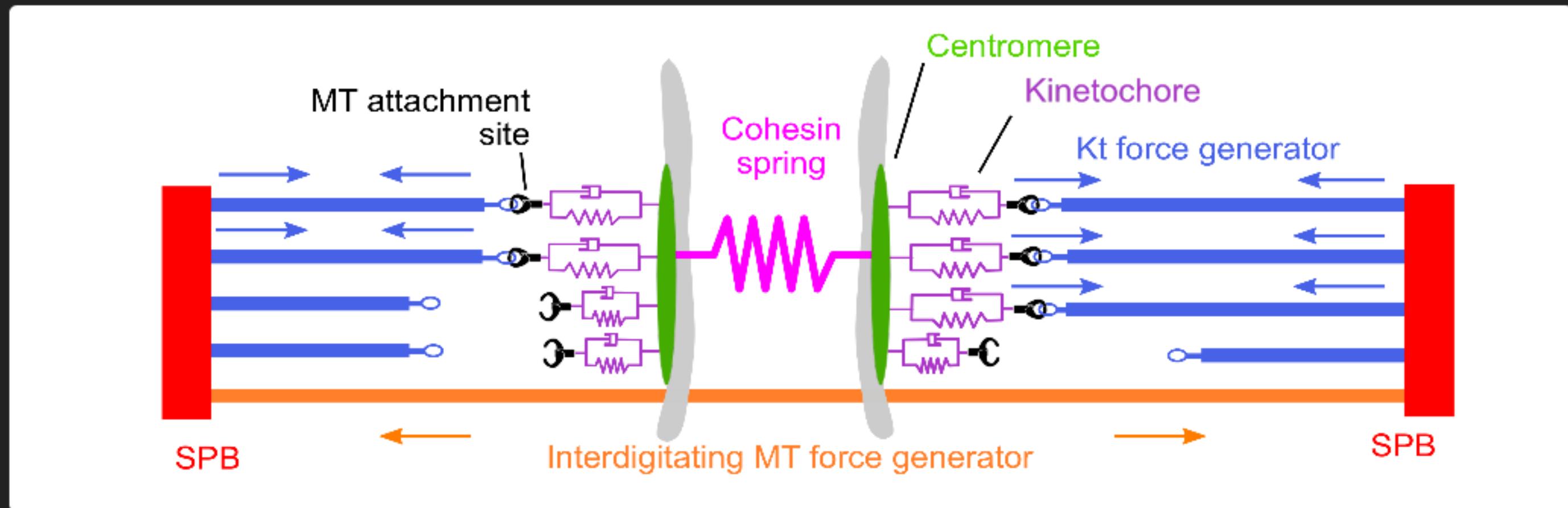


Gay, 2012

Hypothèses principales :

- Forces « passives » : piston et ressort
- Forces « actives » : moteurs
- Modèle en balance de force

Modélisation de la ségrégation des chromosomes : la théorie

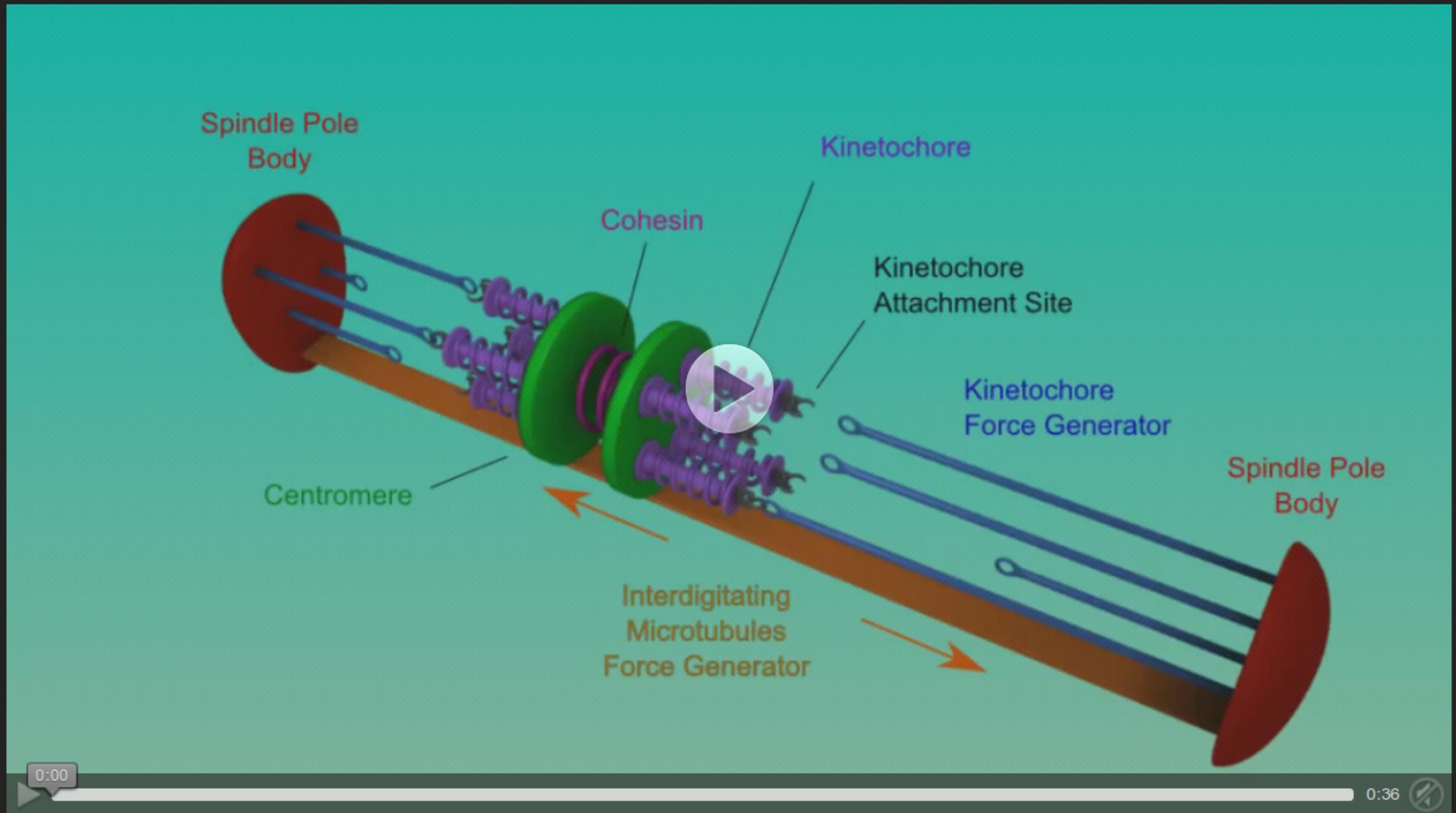


Gay, 2012

Hypothèses principales :

- Forces « passives » : piston et ressort
- Forces « actives » : moteurs
- Modèle en balance de force
- Attachements et détachements stochastiques

Modélisation de la ségrégation des chromosomes : la pratique



Gay, 2012

Résultats

Caractérisation des mécanismes d'alignement et d'oscillation des chromosomes

Modélisation de l'alignement des chromosomes

L'alignement est un processus actif qui prend place avant la métaphase

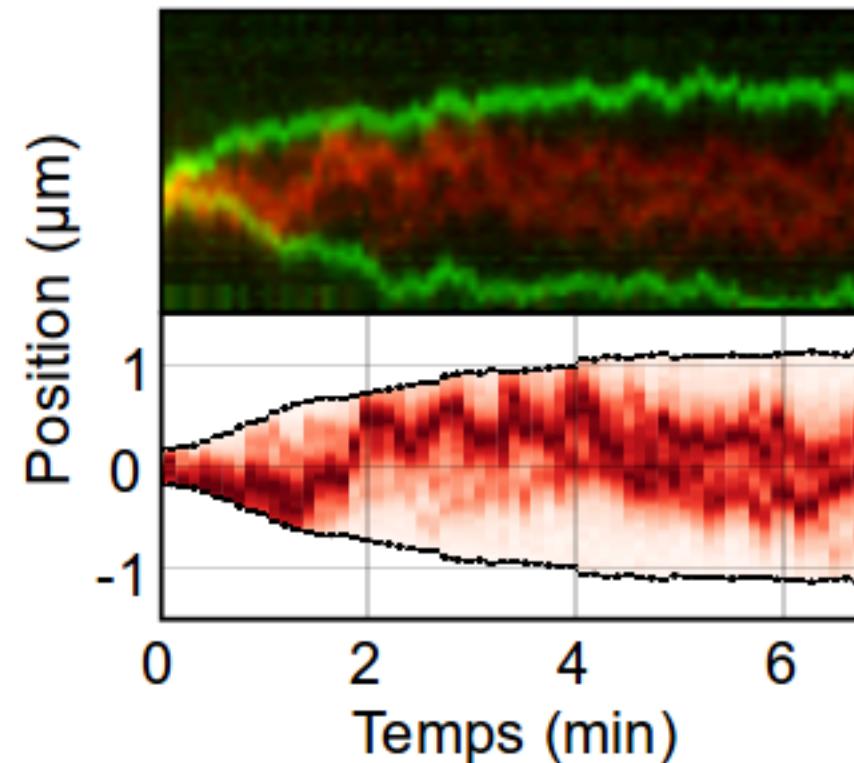


L'alignement est un processus actif qui prend place avant la métaphase

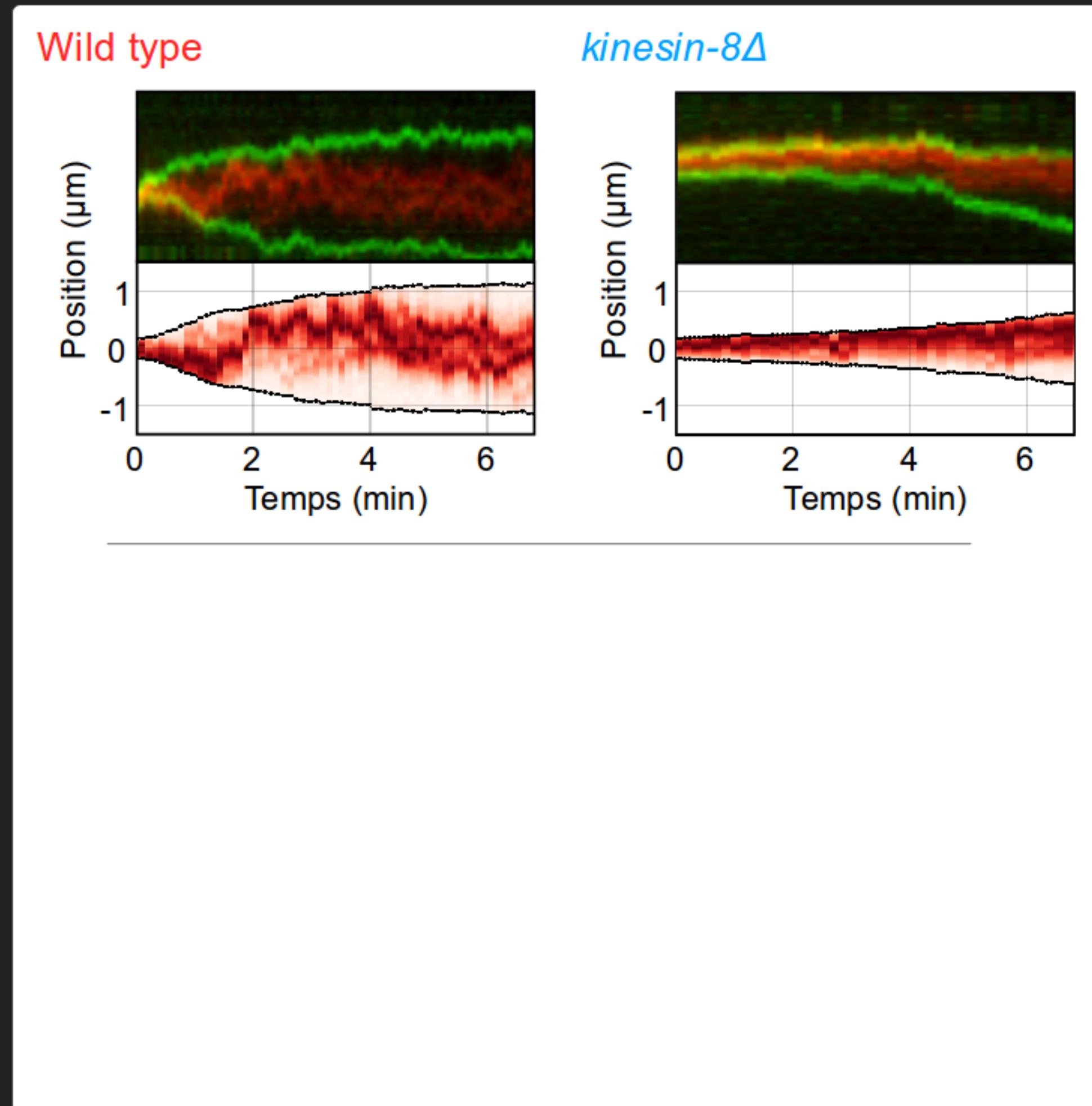


L'alignement est un processus actif qui prend place avant la métaphase

Wild type



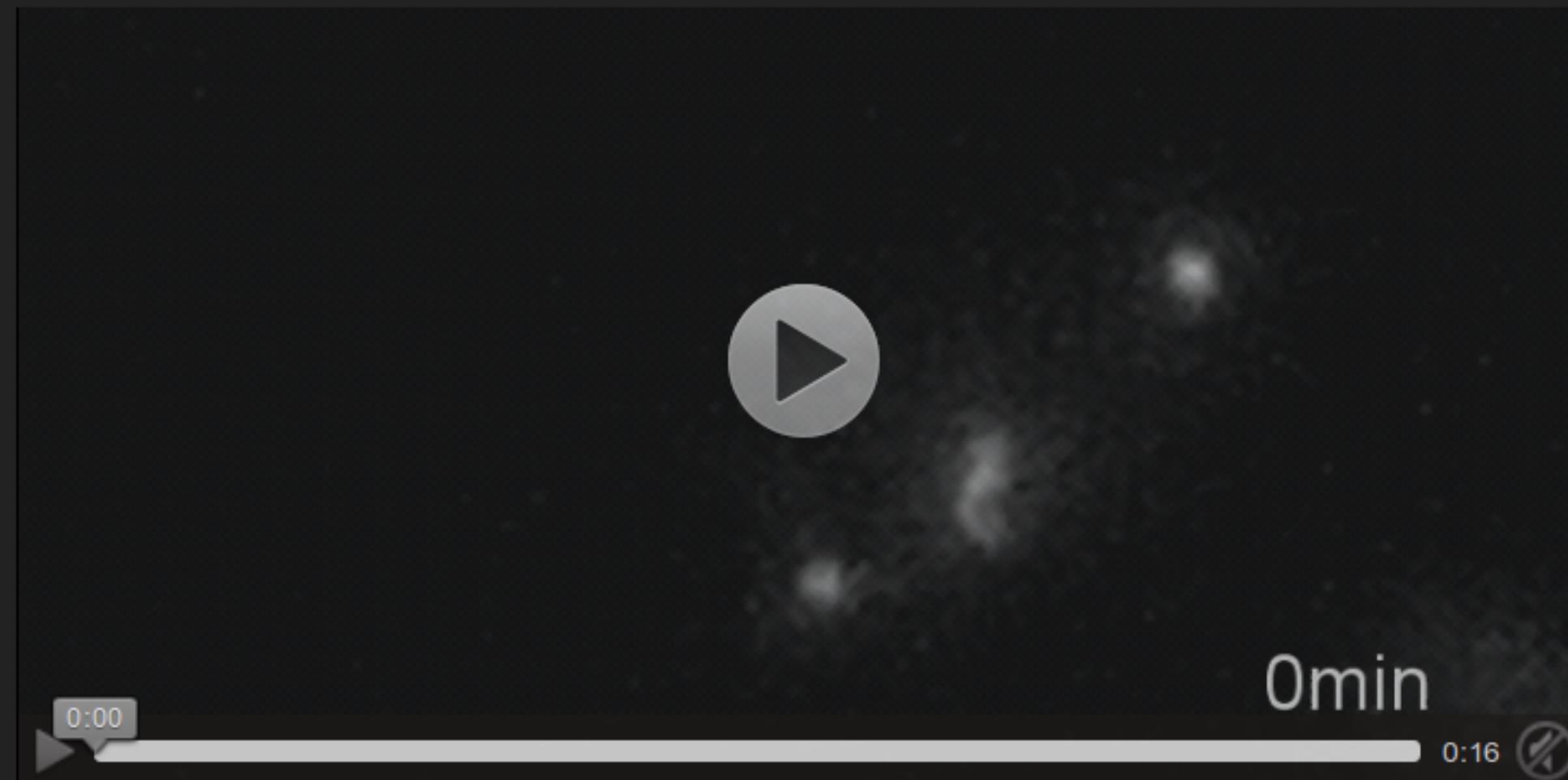
L'alignement est un processus actif qui prend place avant la métaphase



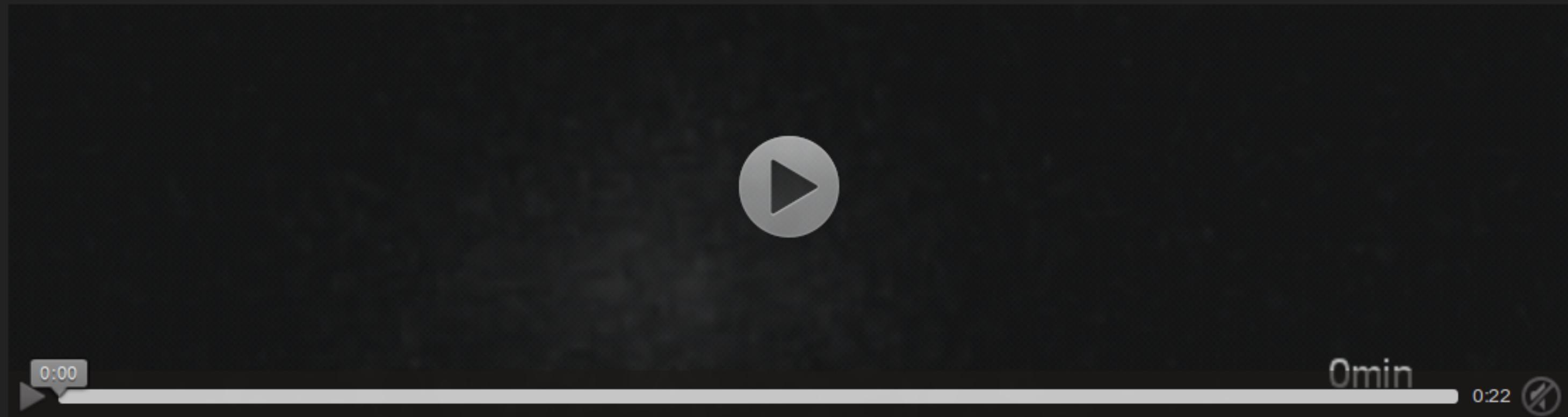
Mouvement et alignement des chromosomes en métaphase



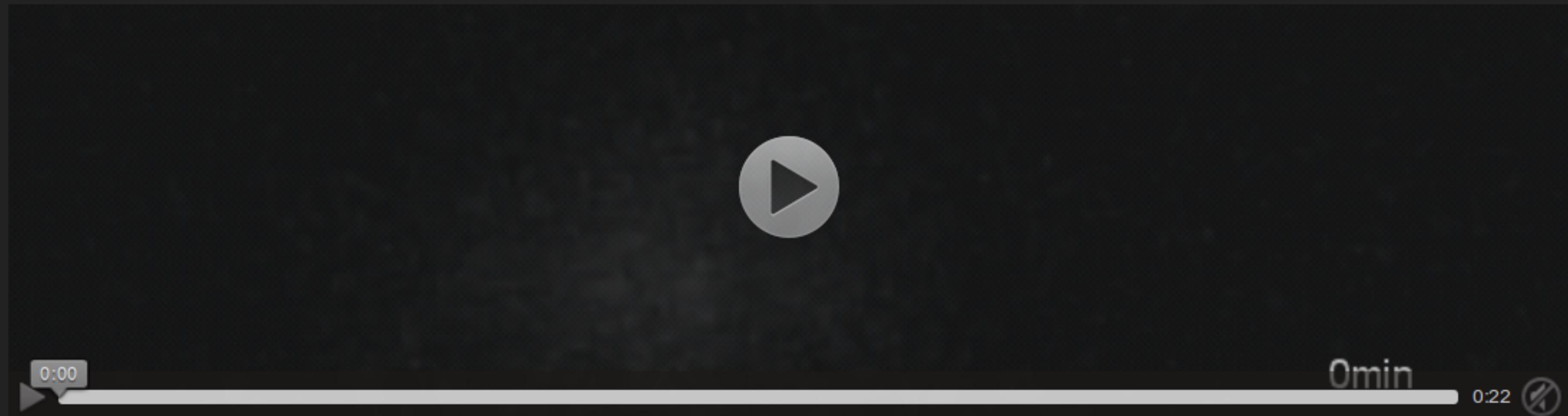
Mouvement et alignement des chromosomes en métaphase



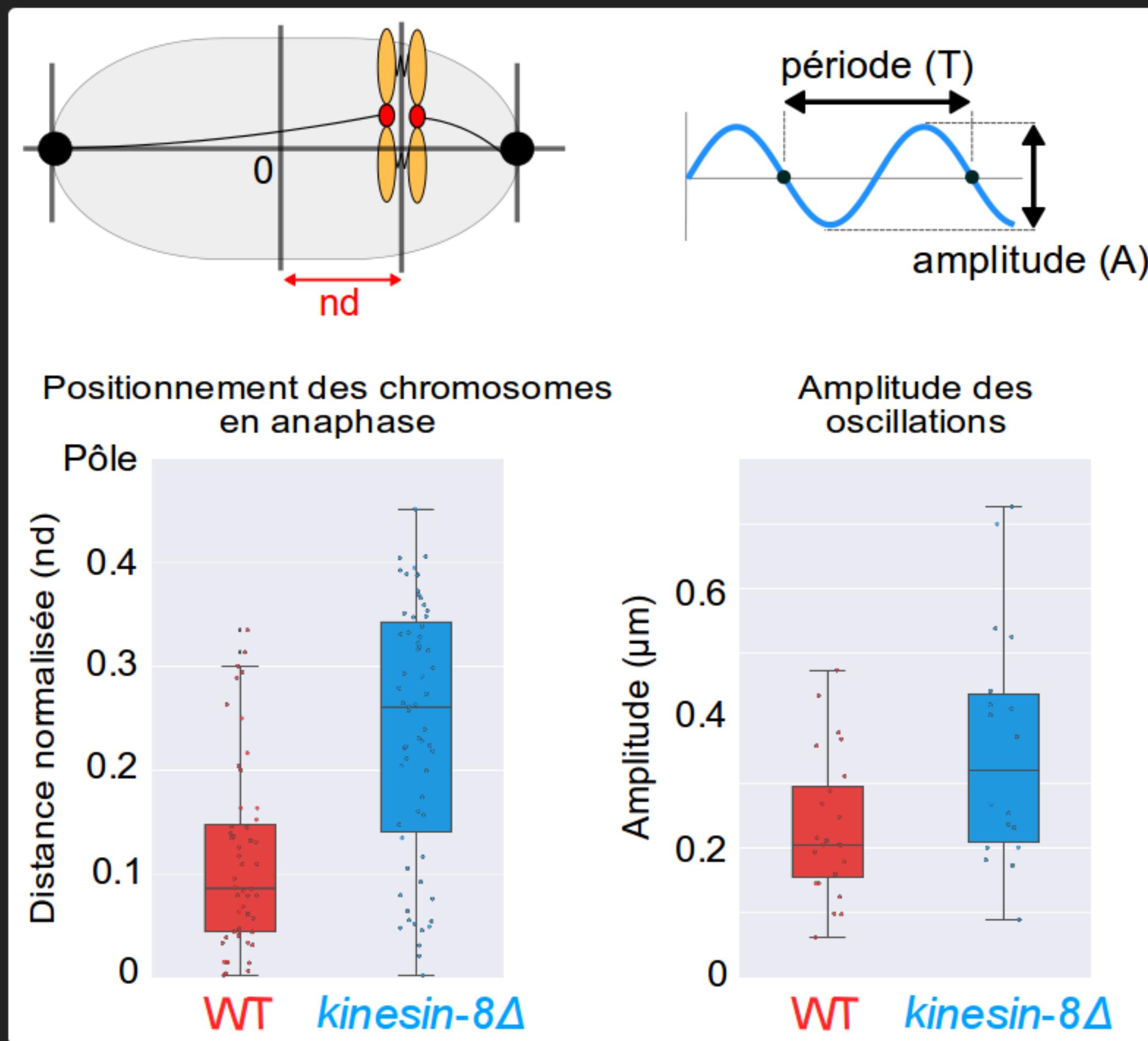
Mouvement et alignement des chromosomes en métaphase sans la kinésine-8



Mouvement et alignement des chromosomes en métaphase sans la kinésine-8



La kinésine-8 contrôle l'alignement et l'oscillation des chromosomes



Les chromosomes peuvent s'aligner sans osciller



Wild type



Wild type + TBZ

Les chromosomes peuvent s'aligner sans osciller

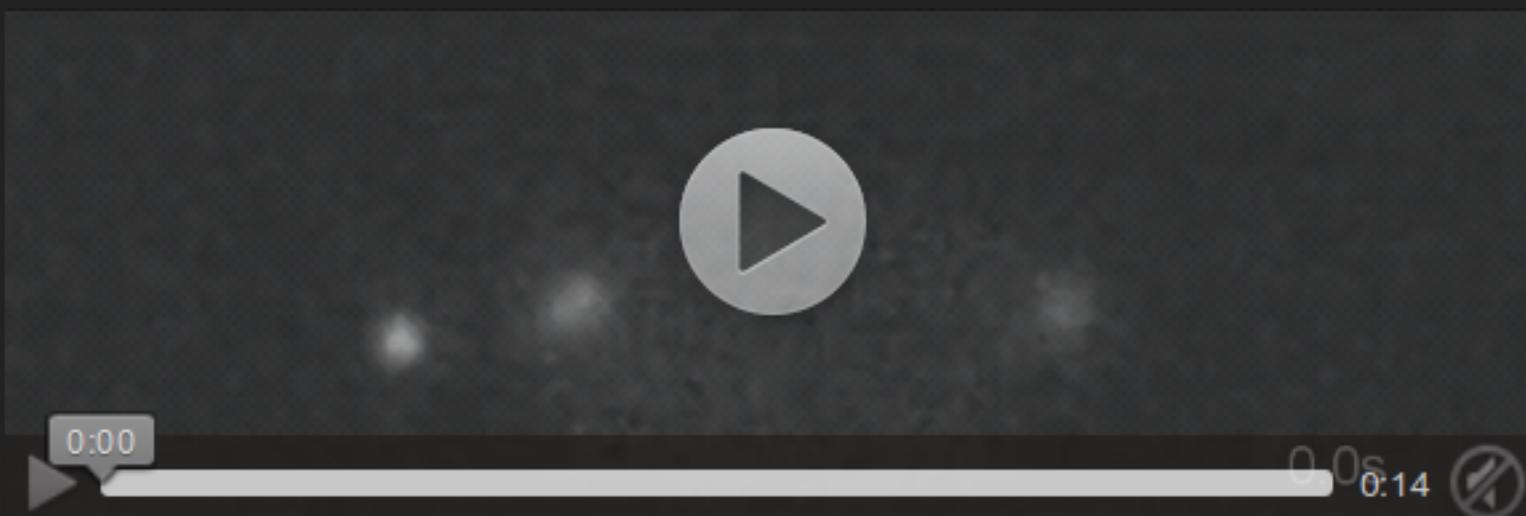


Wild type

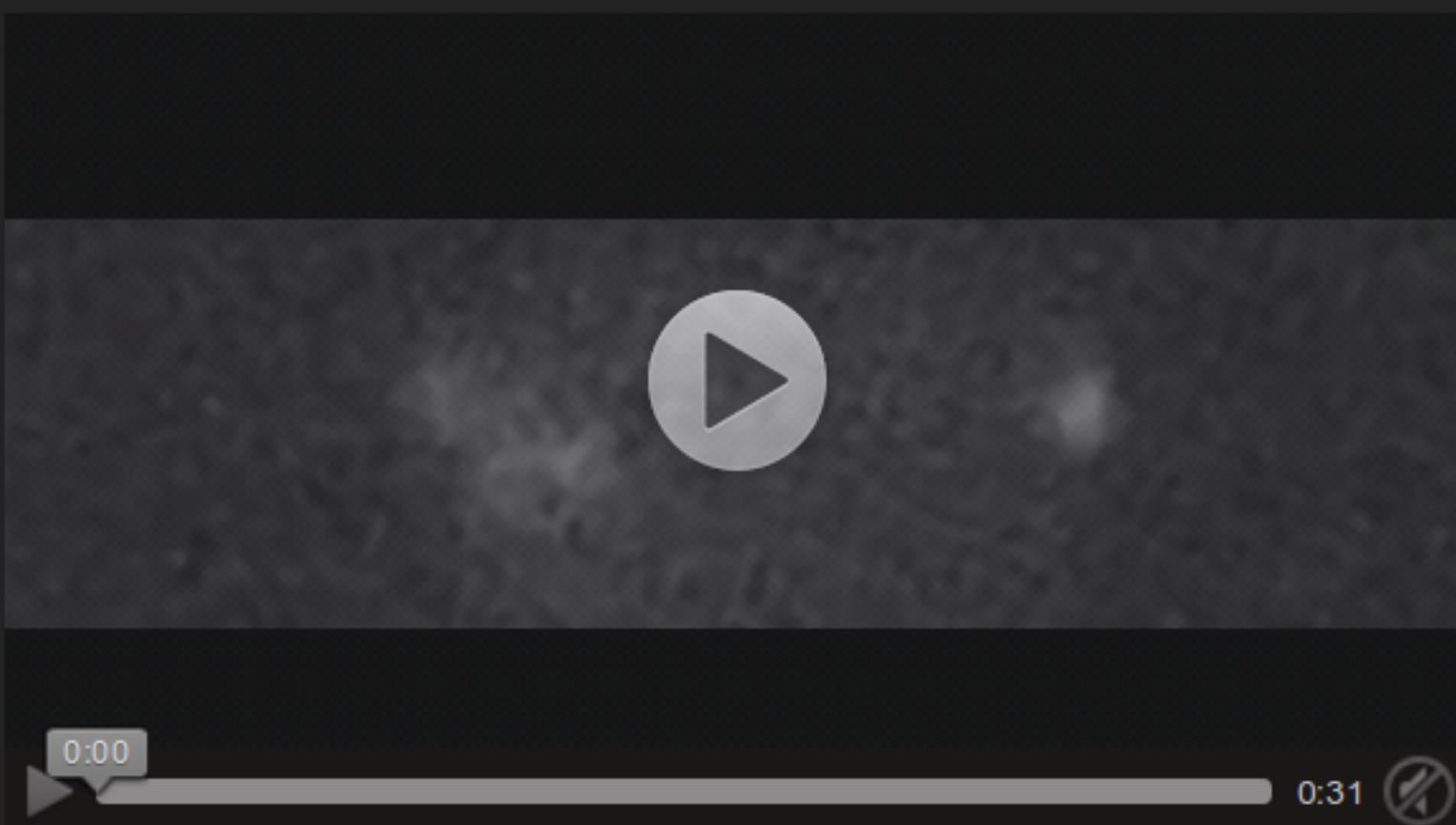


Wild type + TBZ

Les chromosomes peuvent s'aligner sans osciller

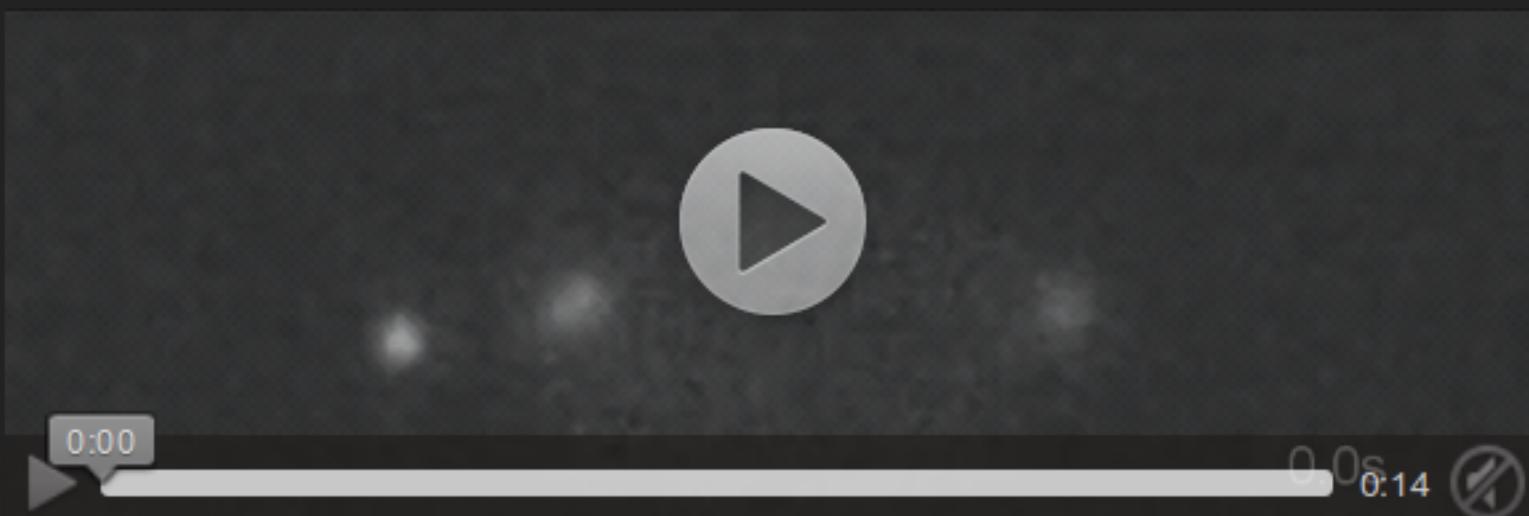


kinésine-8Δ

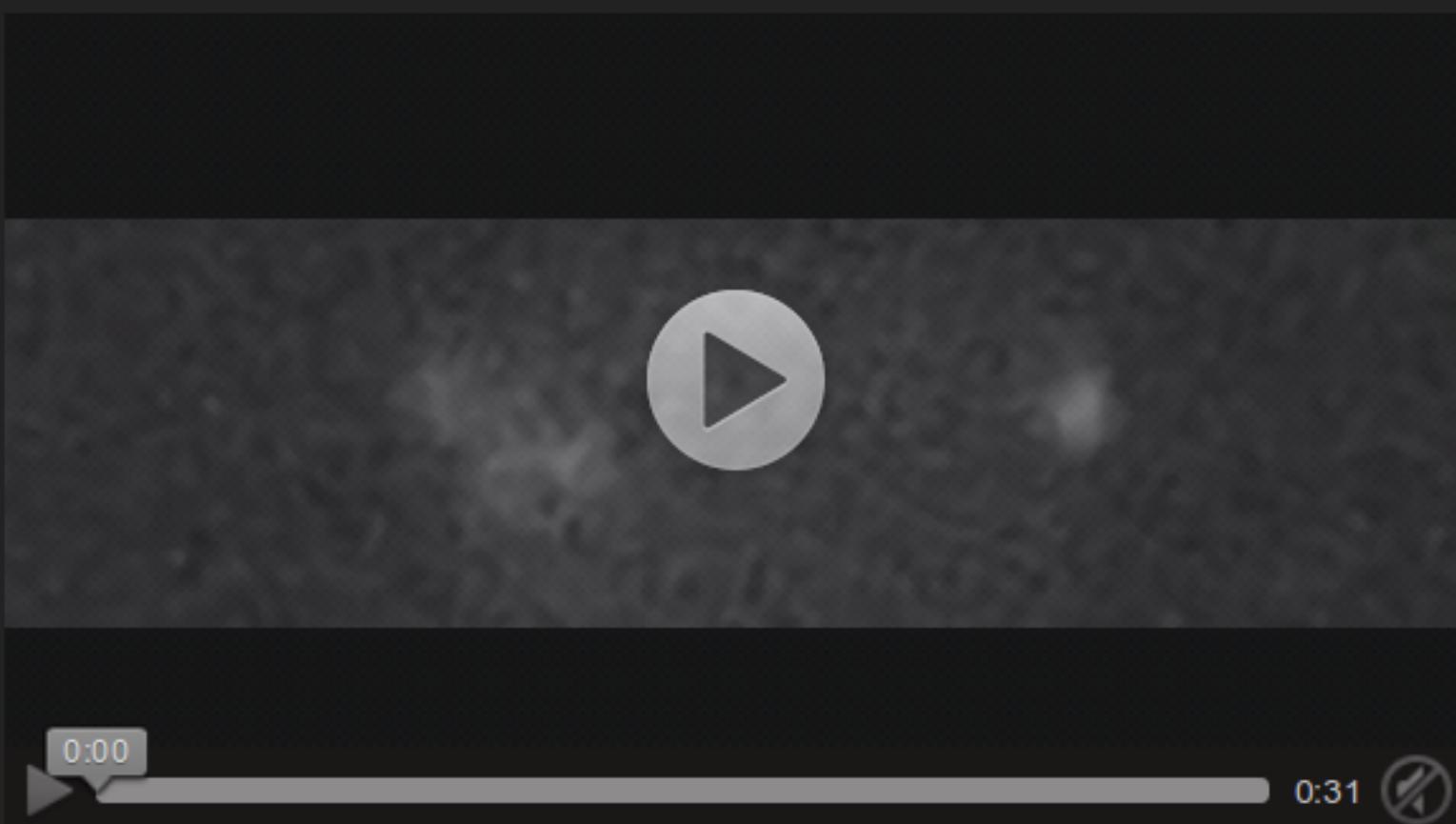


kinésine-8Δ + TBZ

Les chromosomes peuvent s'aligner sans osciller

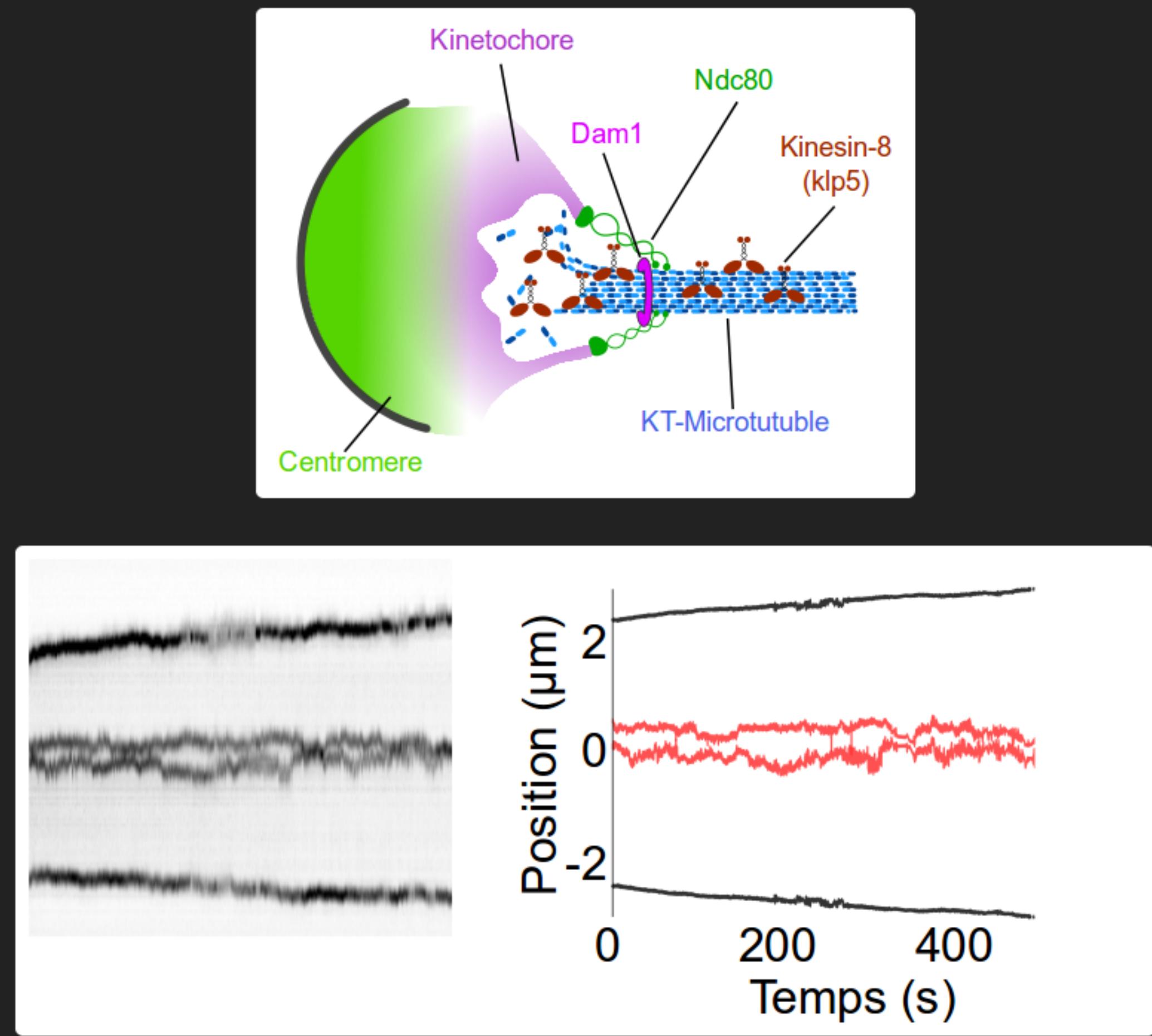
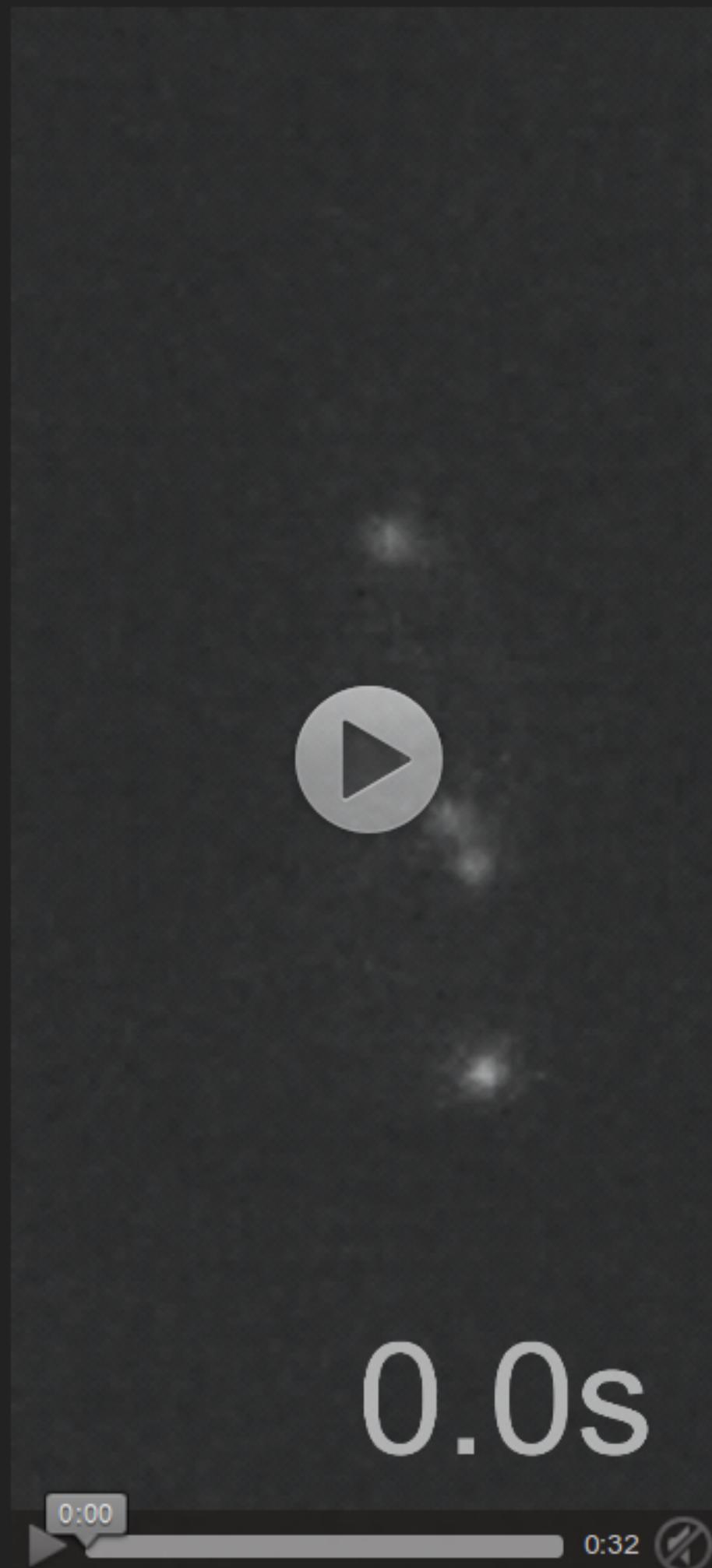


kinésine-8Δ

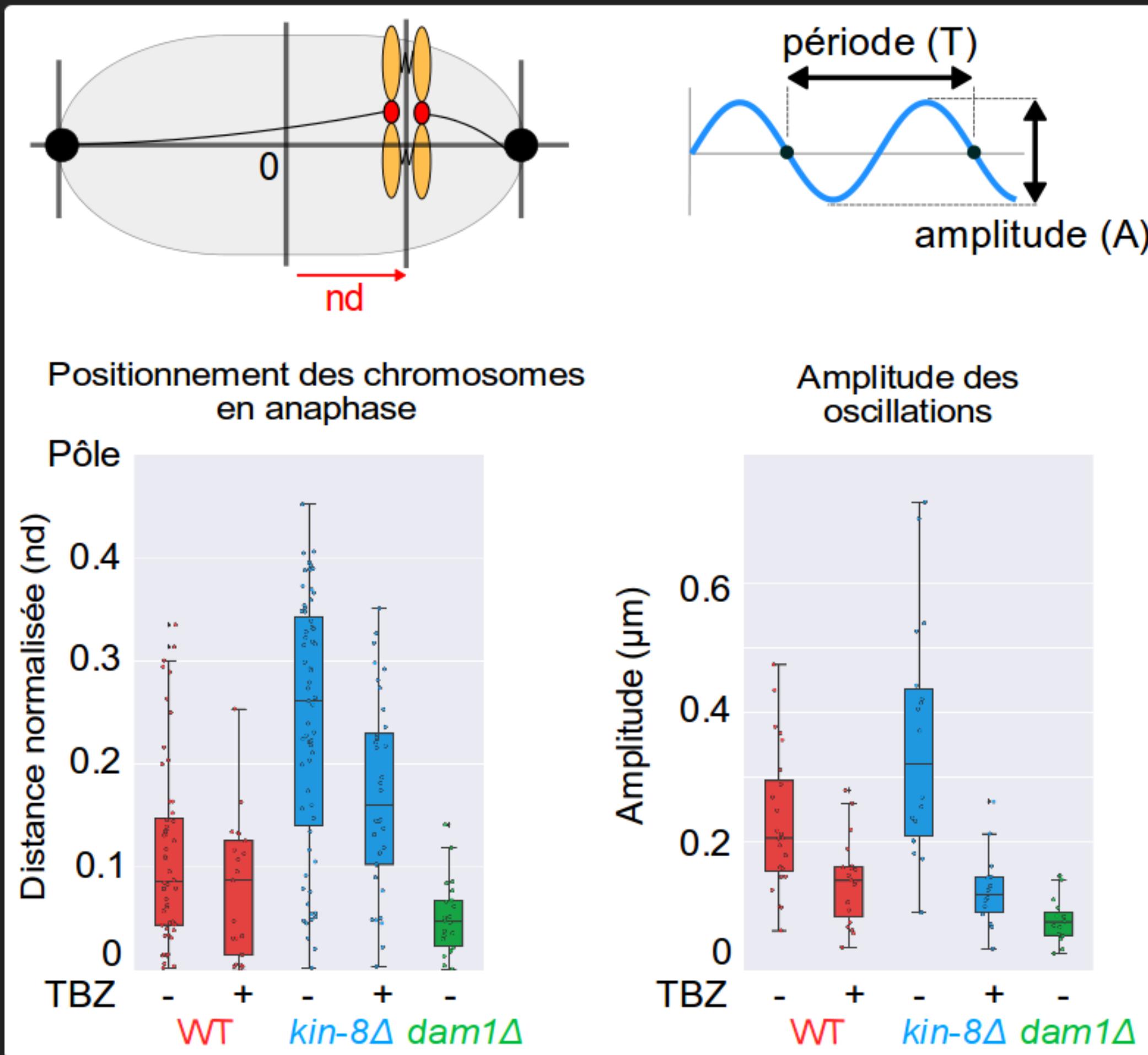


kinésine-8Δ + TBZ

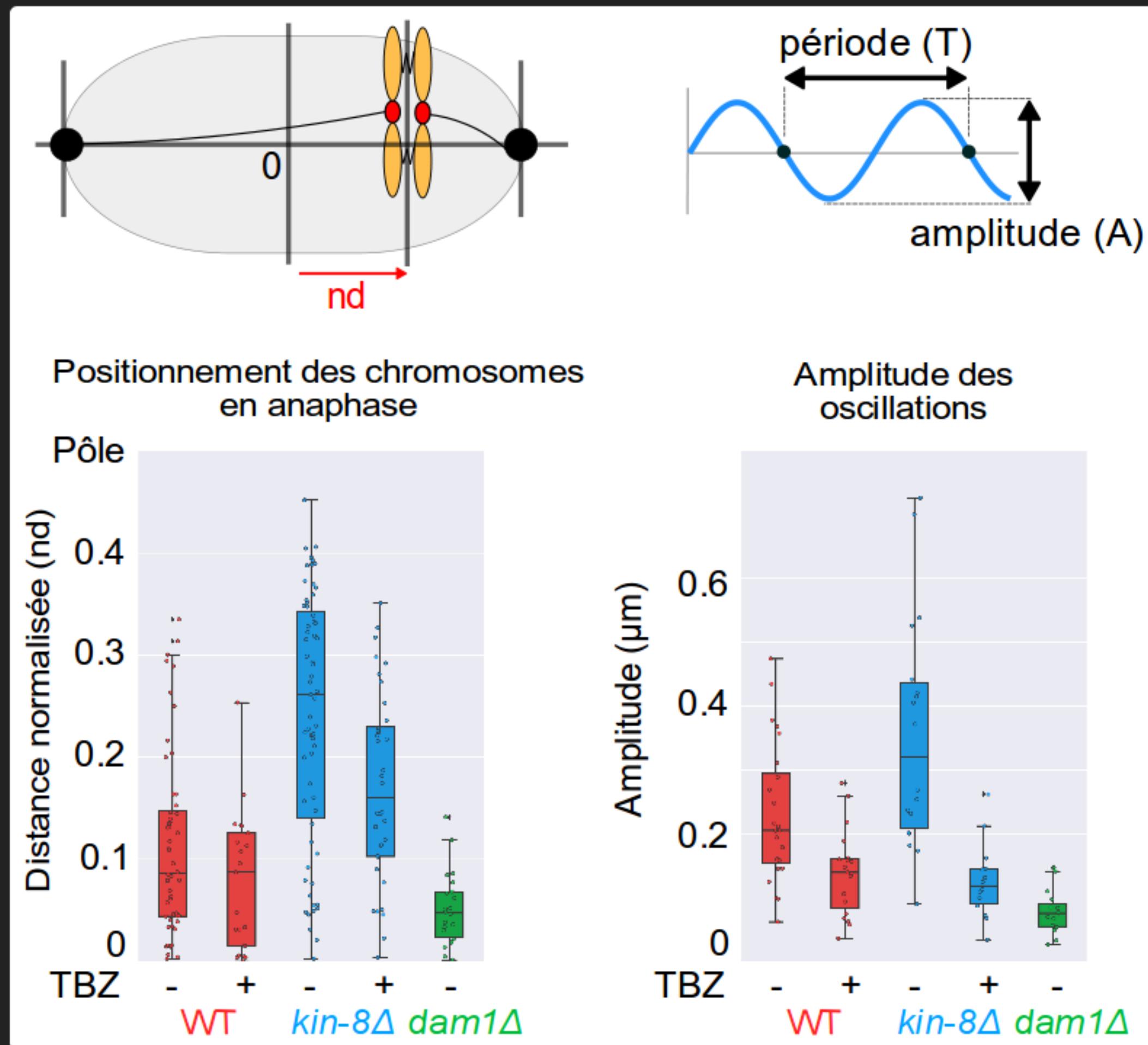
Le mutant *dam1Δ* aligne ses chromosomes en l'absence d'oscillations



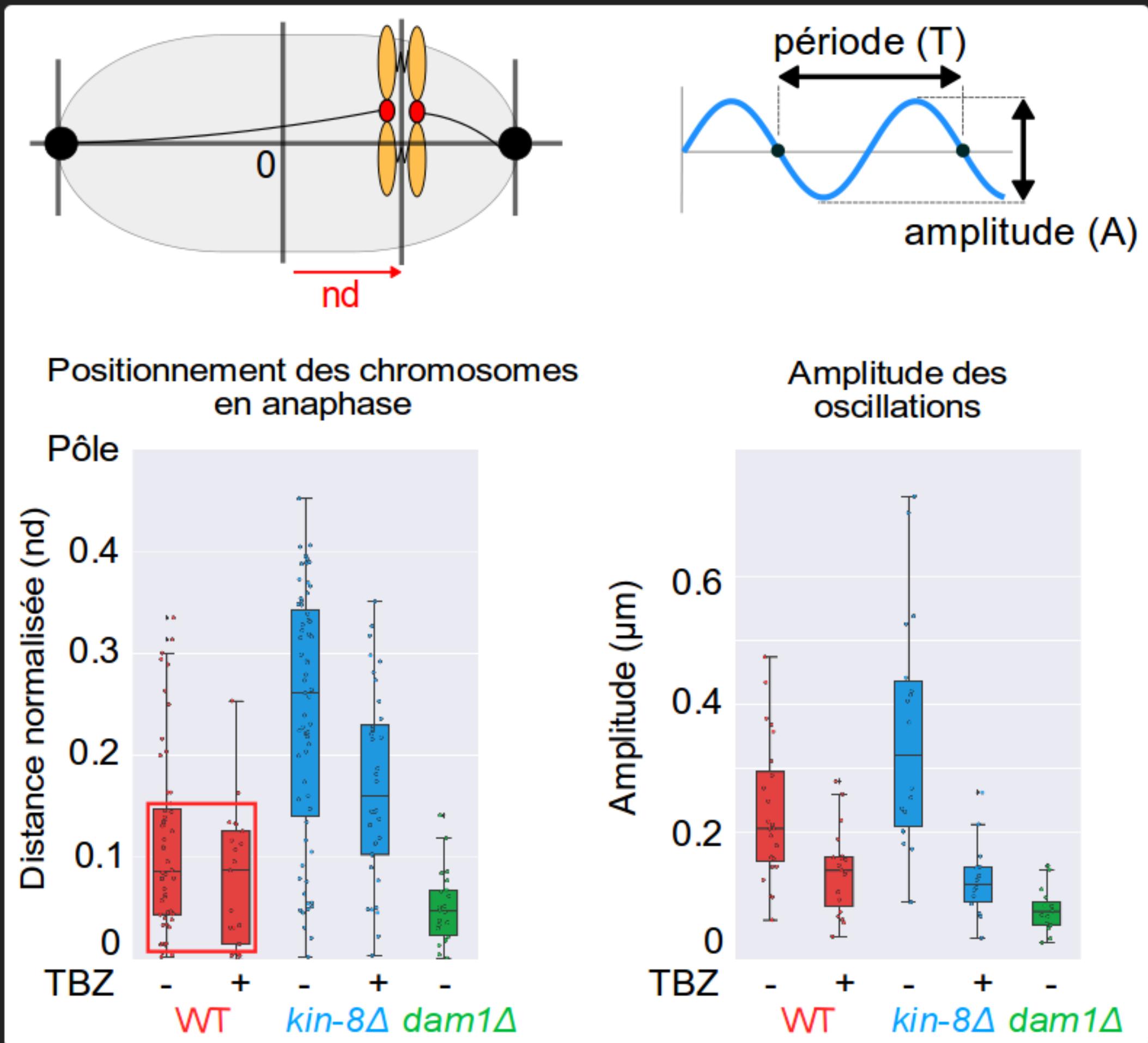
Les oscillations ne sont pas requises pour le centrage des chromosomes



Les oscillations ne sont pas requises pour le centrage des chromosomes



Les oscillations ne sont pas requises pour le centrage des chromosomes



- La kinésine-8 permet le centrage des chromosomes
-

- La kinésine-8 permet le centrage des chromosomes
 - L'amplitude des oscillations n'est pas requise pour l'alignement
-

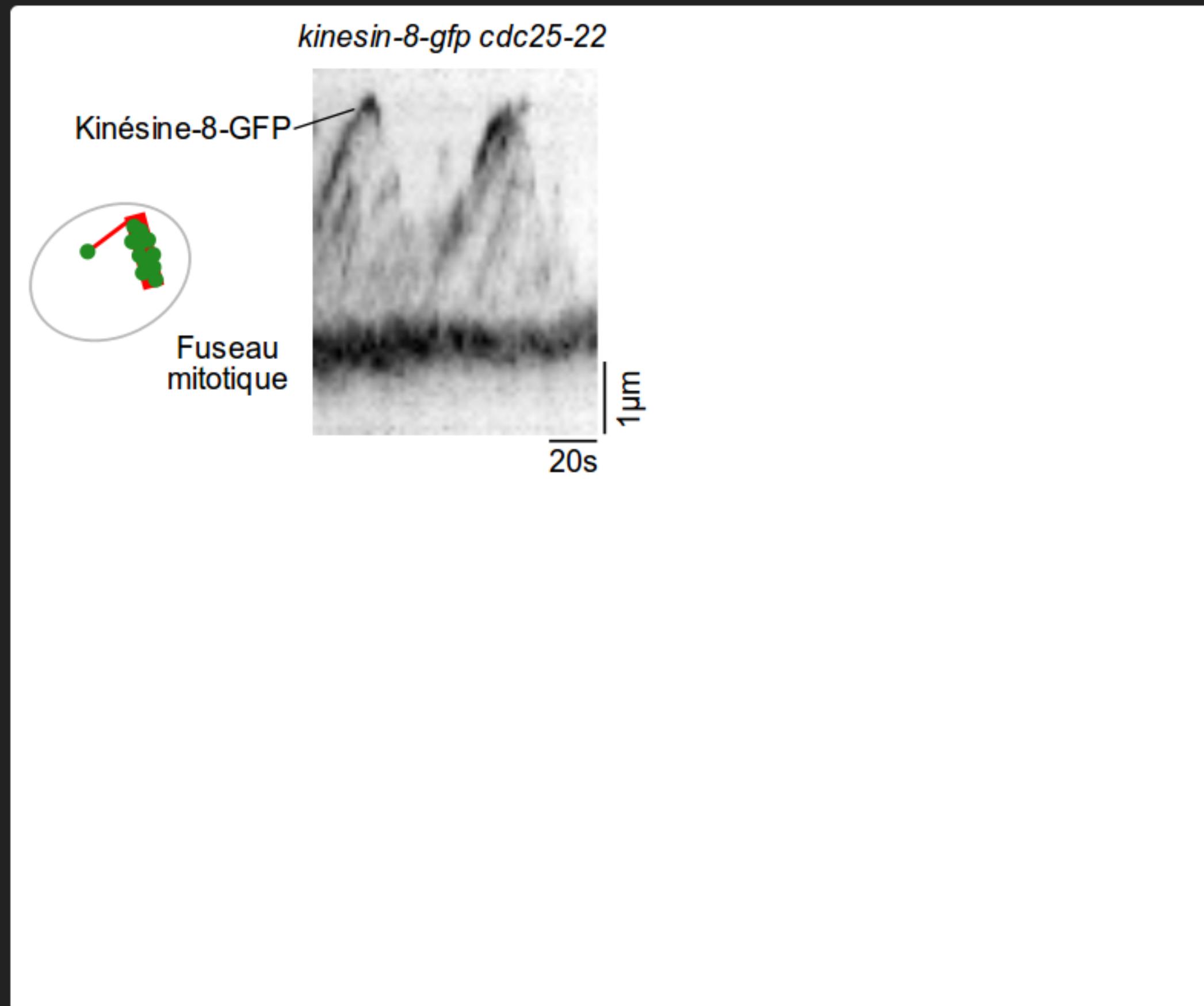
- La kinésine-8 permet le centrage des chromosomes
 - L'amplitude des oscillations n'est pas requise pour l'alignement
-

- Comment la kinésine-8 agit sur le kinétochore ?

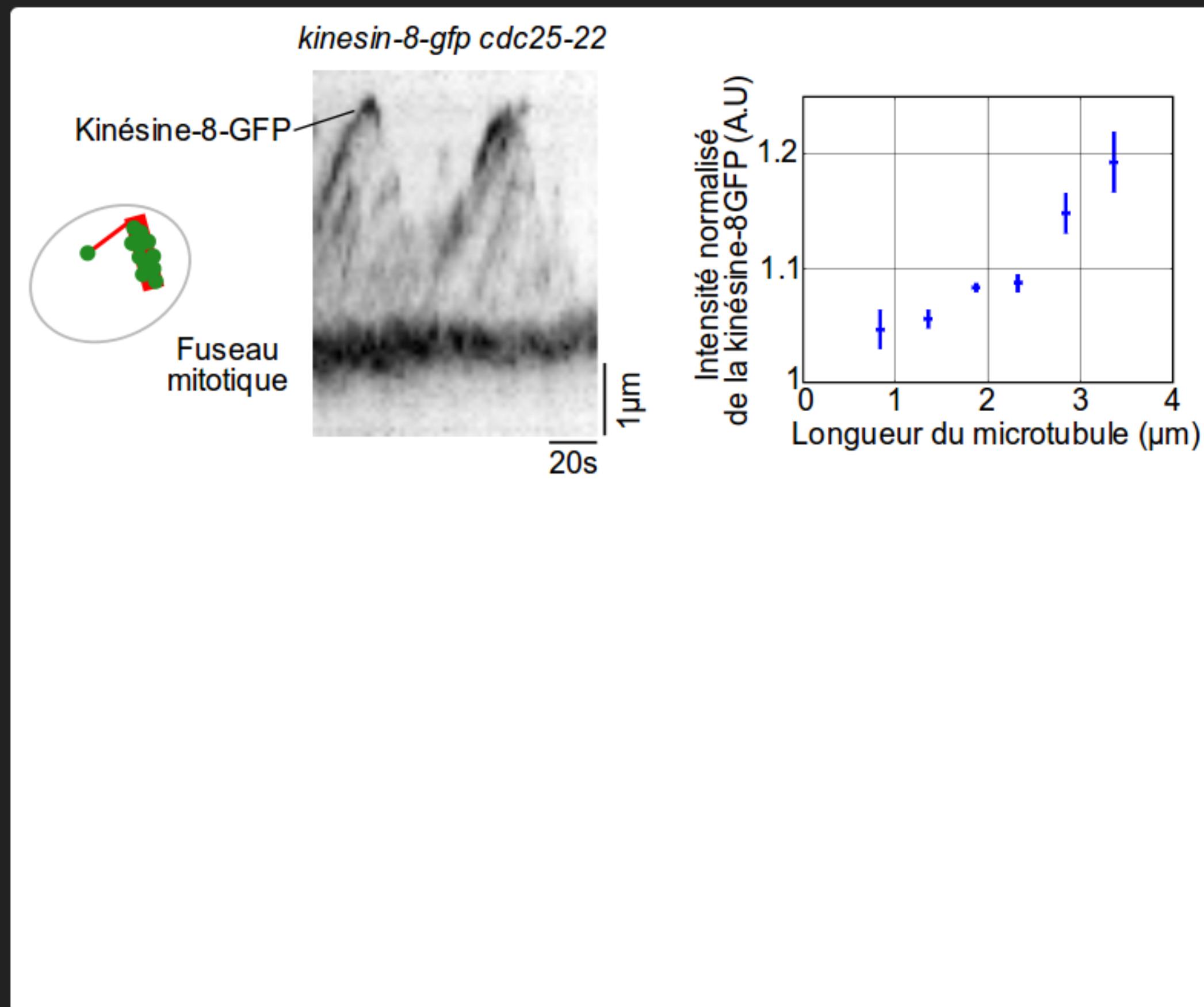
La kinésine-8 s'accumule à l'extrémité plus des MTs de façon dépendante de leur longueur

La kinésine-8 s'accumule à l'extrémité plus des MTs de façon dépendante de leur longueur

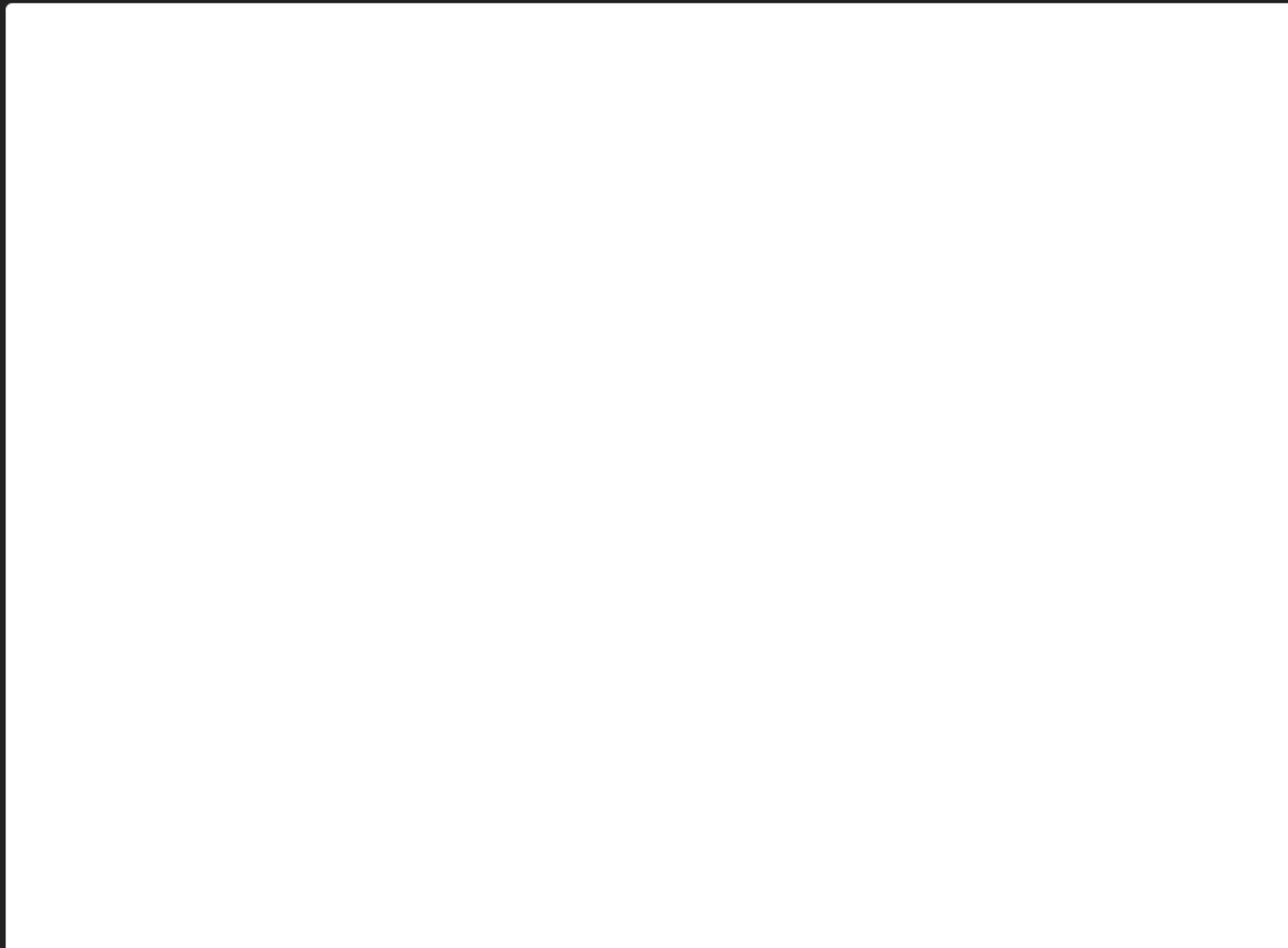
La kinésine-8 s'accumule à l'extrémité plus des MTs de façon dépendante de leur longueur



La kinésine-8 s'accumule à l'extrémité plus des MTs de façon dépendante de leur longueur



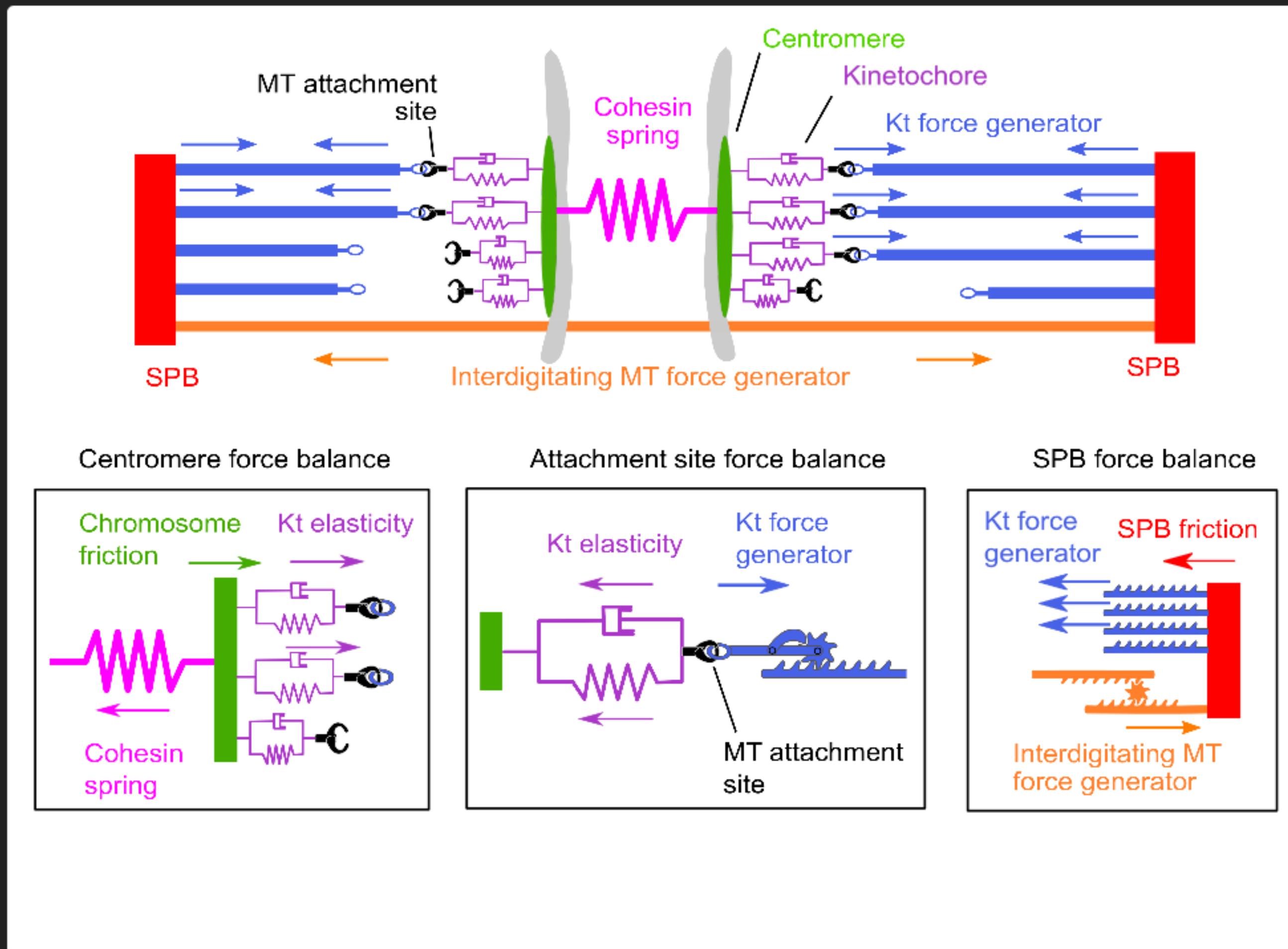
Modèle mécanique de la ségrégation des chromosomes



Modèle mécanique de la ségrégation des chromosomes



Modèle mécanique de la ségrégation des chromosomes



Hypothèse 1 : une force de traction dépendante de la longueur



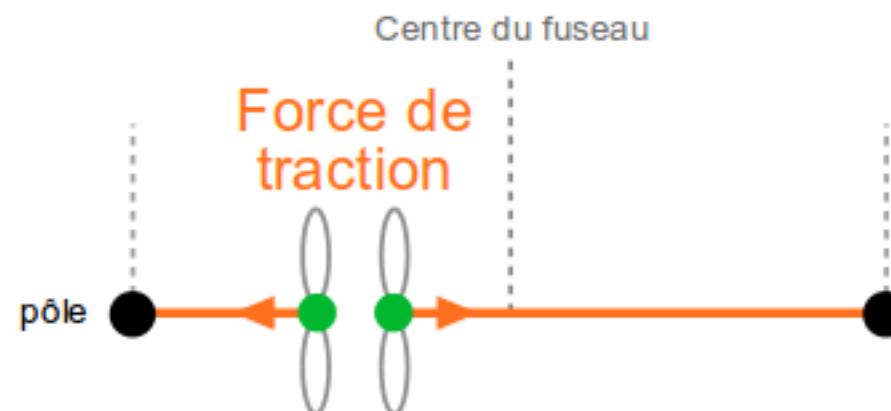
Hypothèse 1 : une force de traction dépendante de la longueur



Hypothèse 1 : une force de traction dépendante de la longueur

Force de traction dépendante
de la longueur OFF

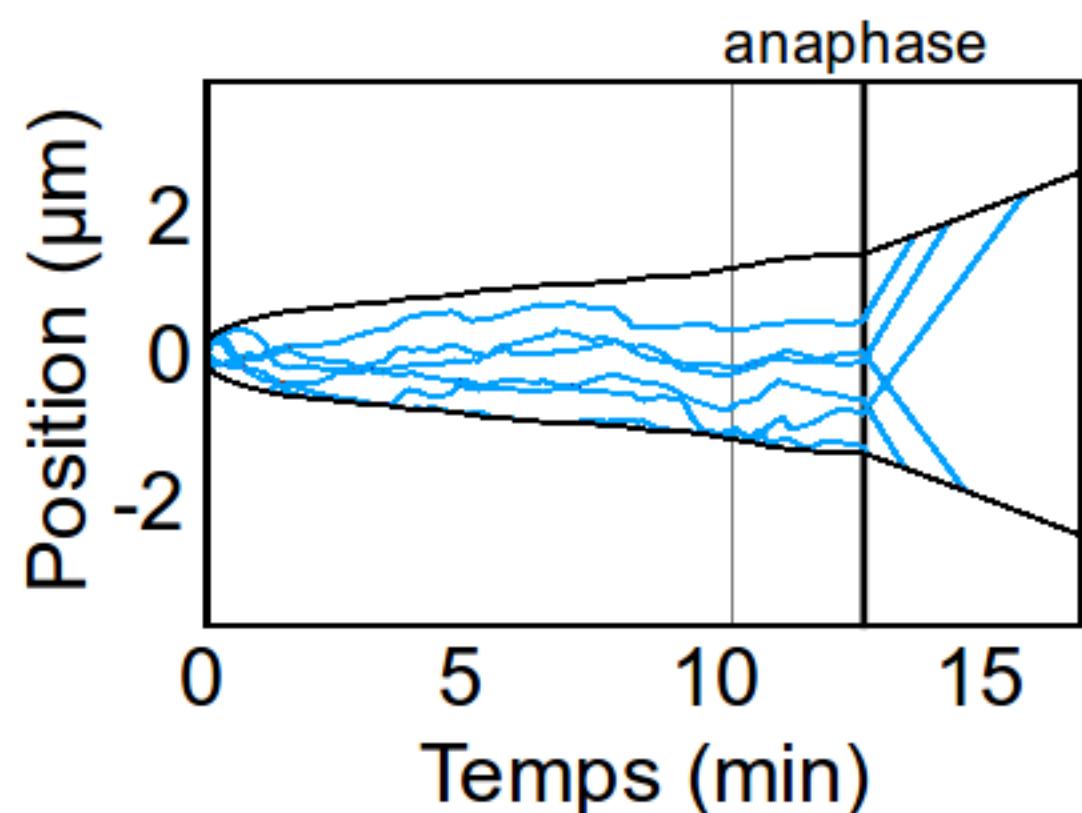
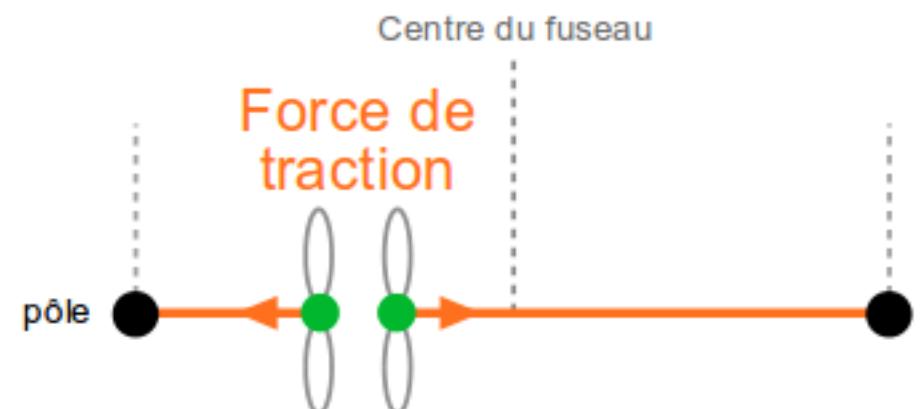
$$F = \pi F_k \left(1 - \frac{v}{V_k}\right)$$



Hypothèse 1 : une force de traction dépendante de la longueur

Force de traction dépendante
de la longueur OFF

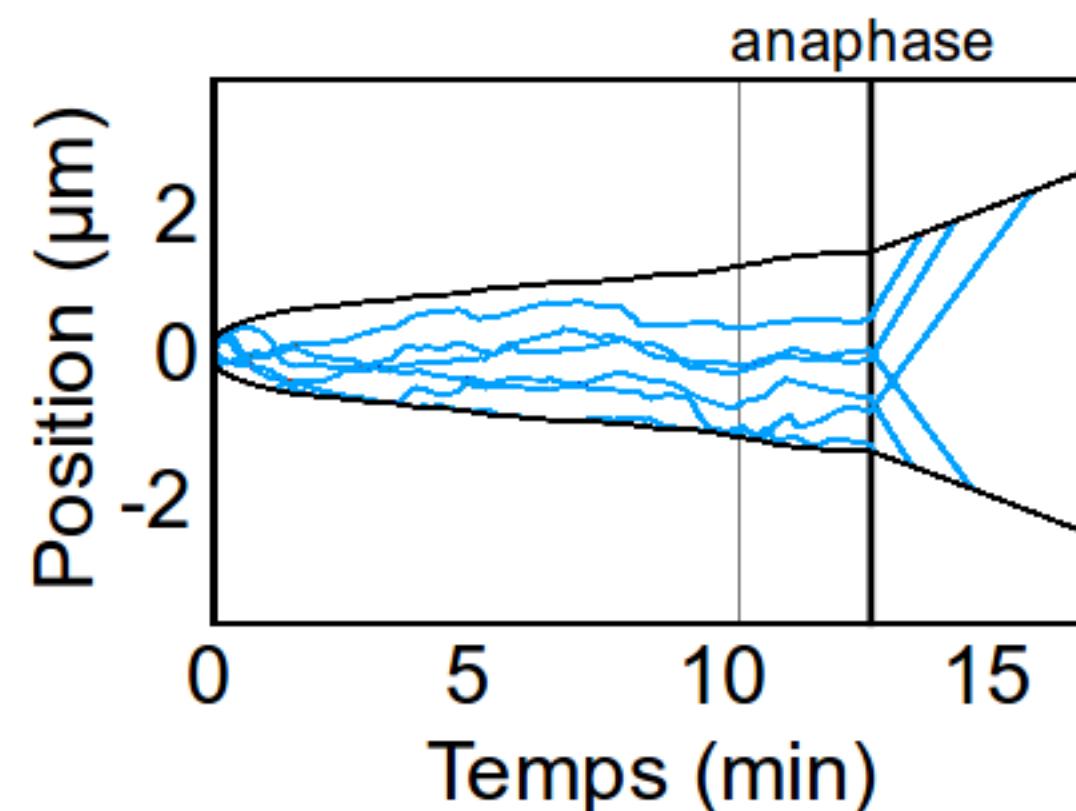
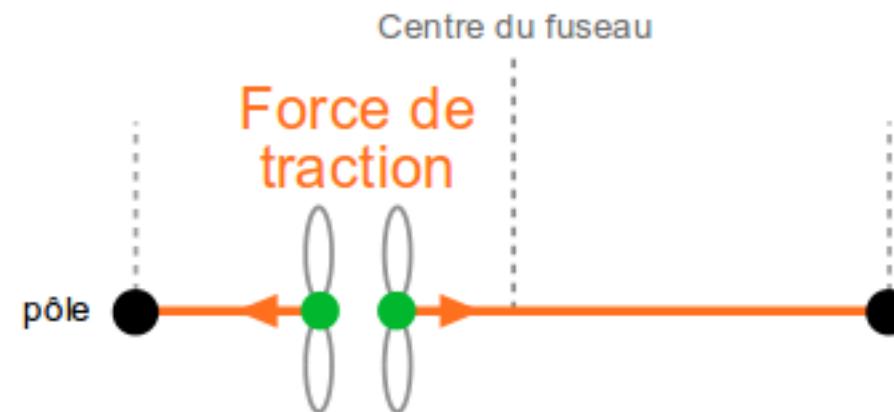
$$F = \pi F_k \left(1 - \frac{v}{V_k}\right)$$



Hypothèse 1 : une force de traction dépendante de la longueur

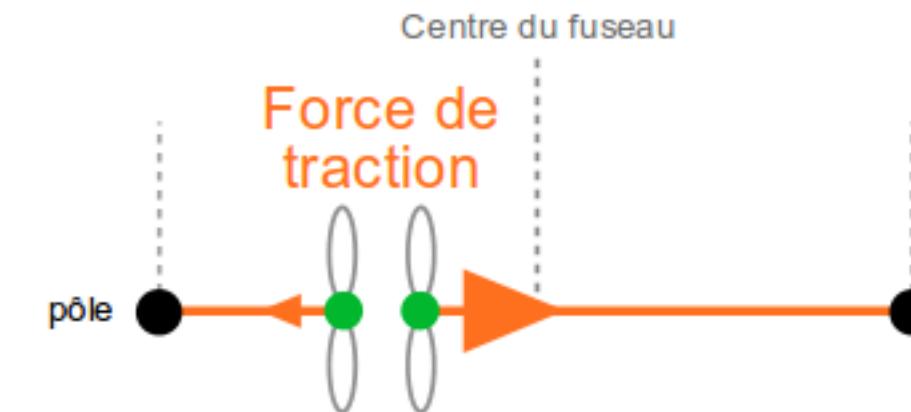
Force de traction dépendante
de la longueur OFF

$$F = \pi F_k \left(1 - \frac{v}{V_k}\right)$$



Force de traction dépendante
de la longueur ON

$$F = L_{dep} \pi F_k \left(1 - \frac{v}{V_k}\right)$$



Hypothèse 2 : une probabilité d'attachement dépendant de la position



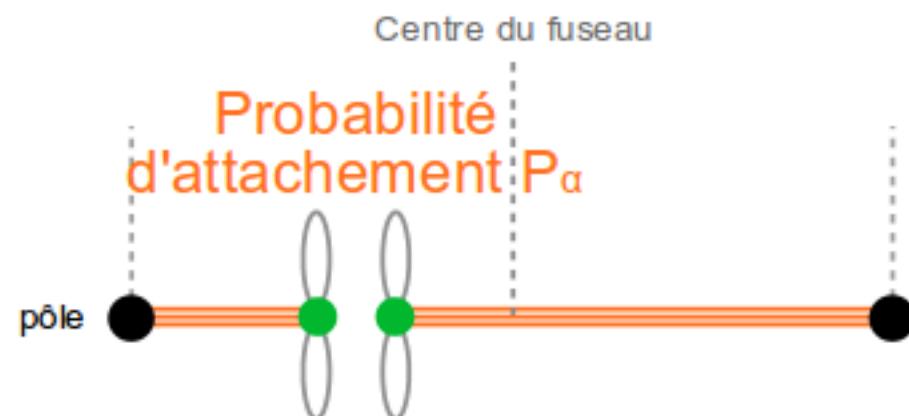
Hypothèse 2 : une probabilité d'attachement dépendant de la position



Hypothèse 2 : une probabilité d'attachement dépendant de la position

Attachement dépendant de
la position OFF

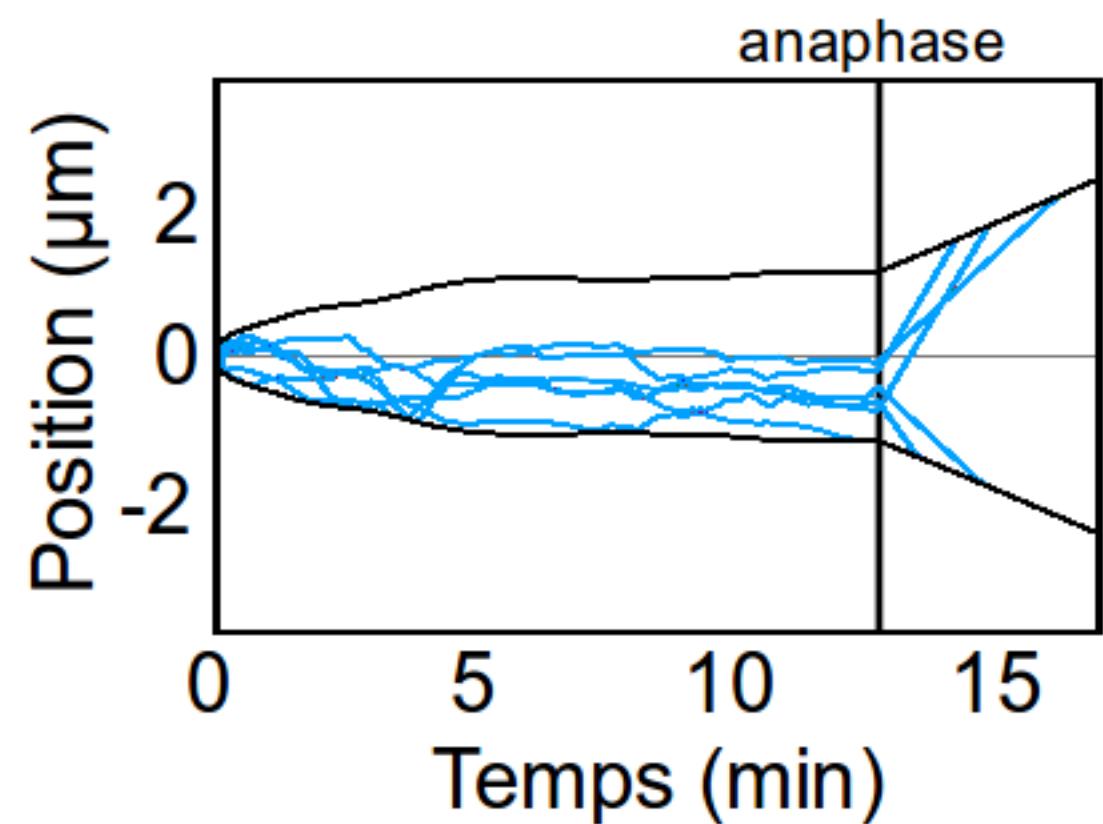
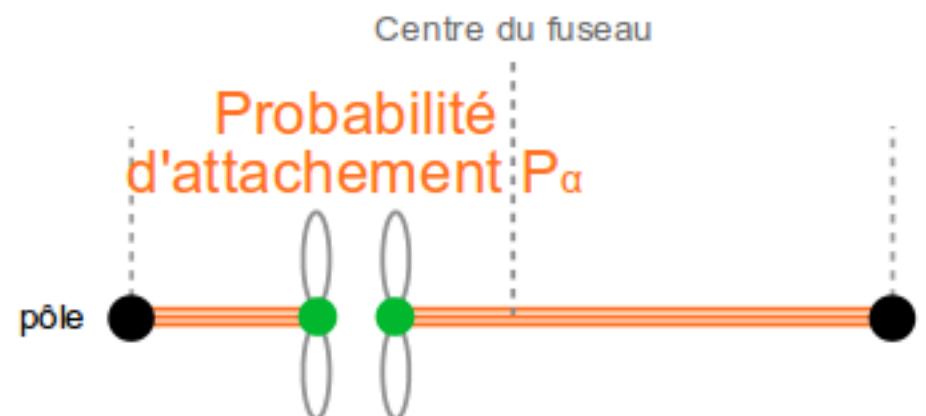
$$P_\alpha = 1 - e^{k_\alpha dt}$$



Hypothèse 2 : une probabilité d'attachement dépendant de la position

Attachement dépendant de la position OFF

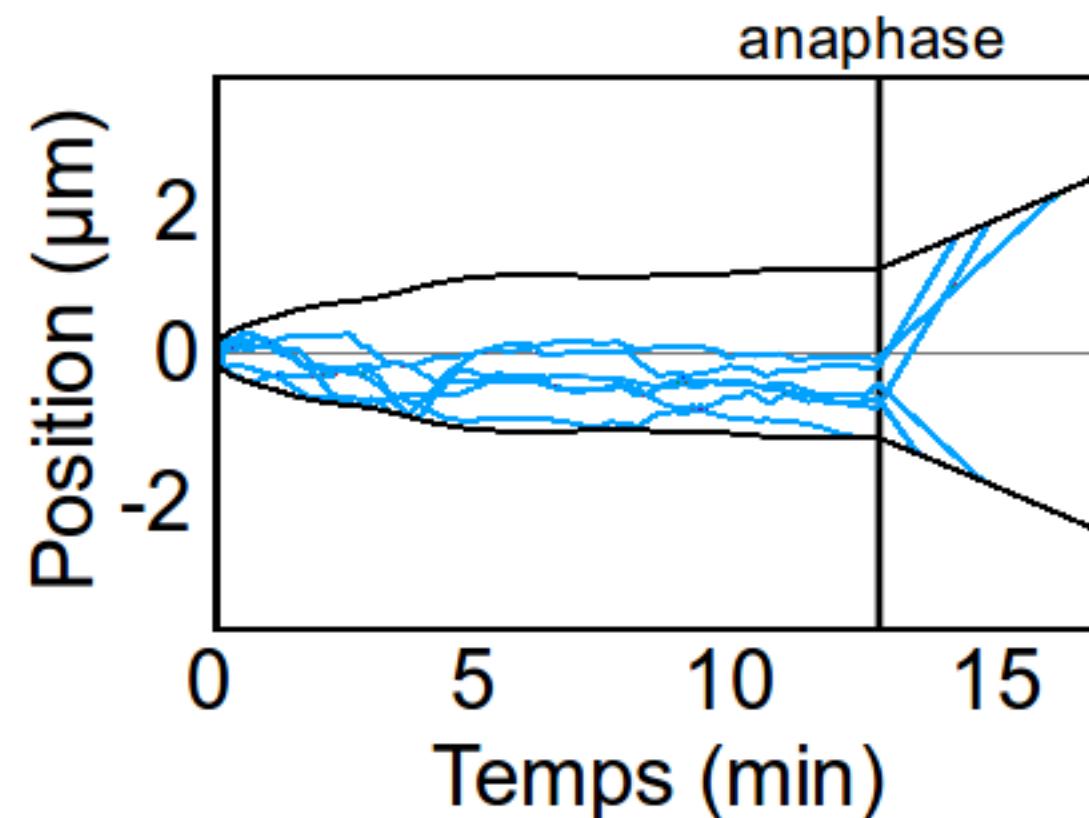
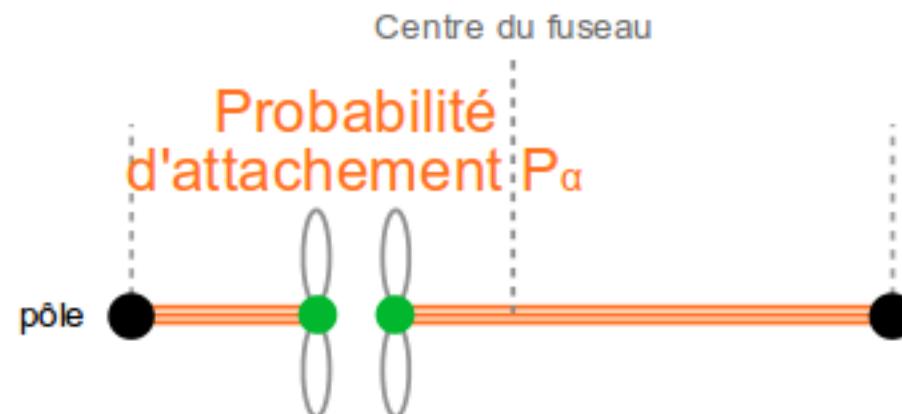
$$P_\alpha = 1 - e^{k_\alpha dt}$$



Hypothèse 2 : une probabilité d'attachement dépendant de la position

Attachement dépendant de la position OFF

$$P_\alpha = 1 - e^{k_\alpha dt}$$

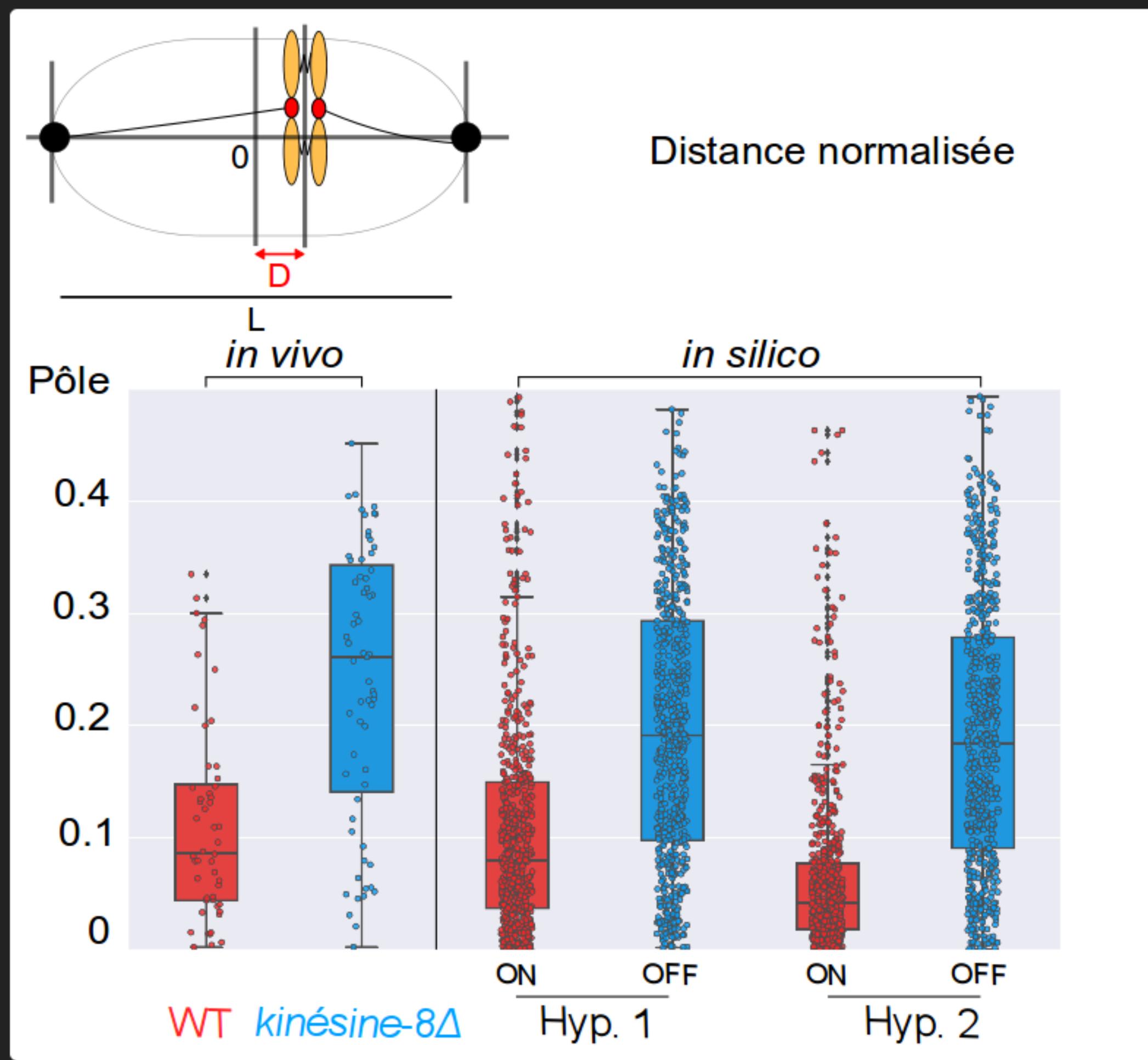


Attachement dépendant de la position ON

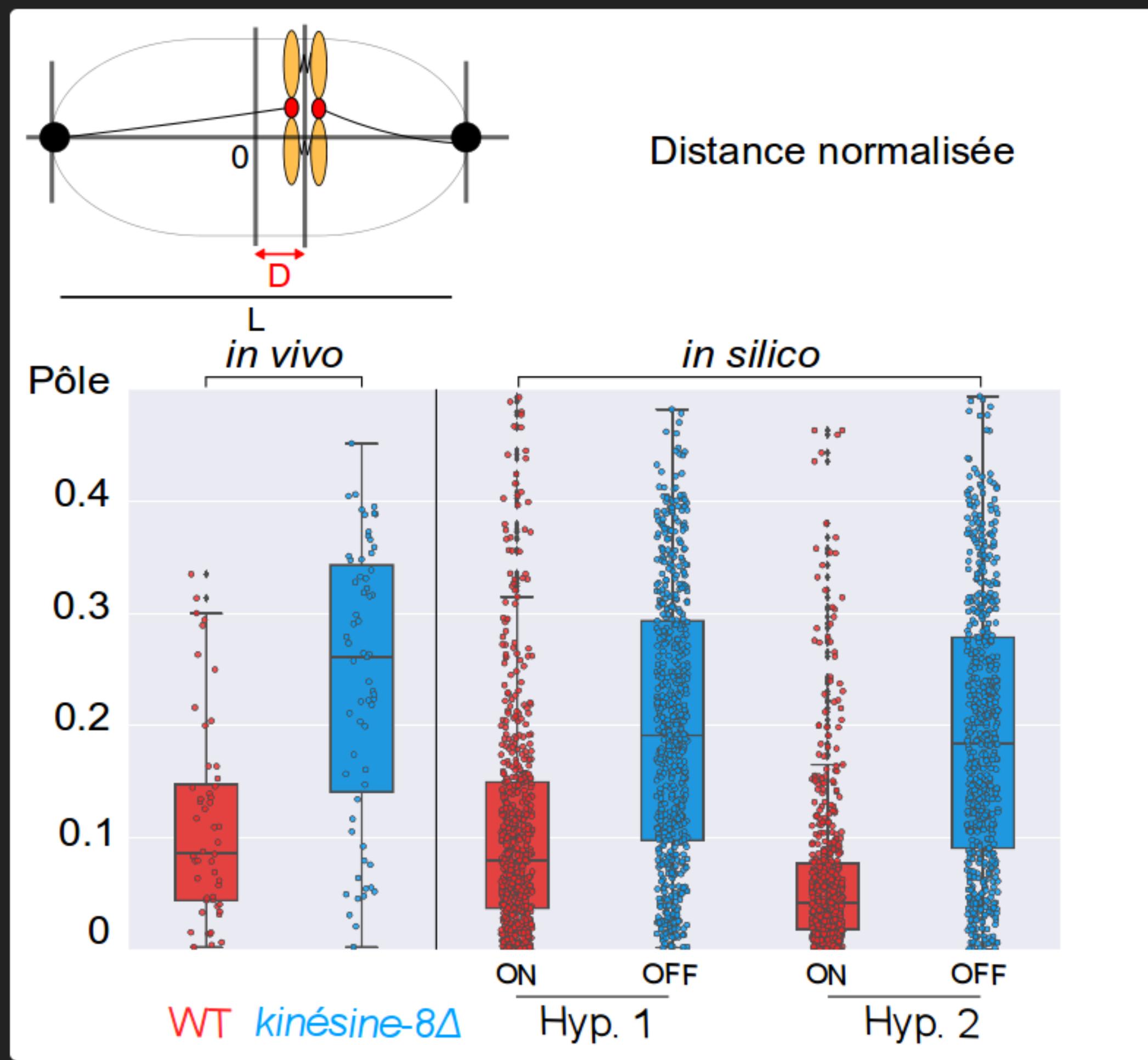
$$P_\alpha = 1 - e^{k_\alpha dt n_{dep}}$$



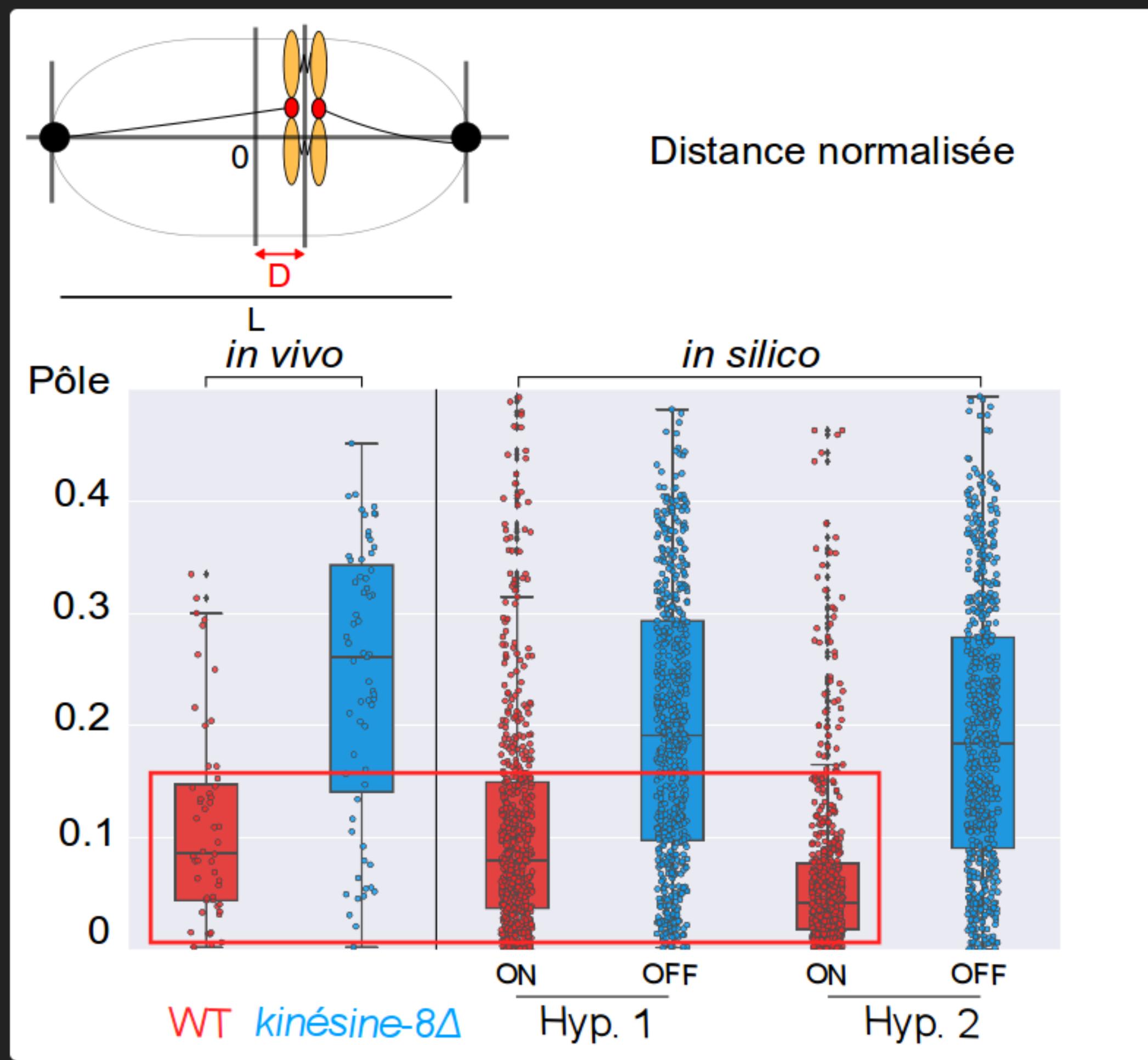
Une activité dépendante de la longueur reproduit les effets de la kinésine-8



Une activité dépendante de la longueur reproduit les effets de la kinésine-8



Une activité dépendante de la longueur reproduit les effets de la kinésine-8



Conclusion

- Quels sont les acteurs impliqués dans l'alignement des chromosomes ?

- Quels sont les acteurs impliqués dans l'alignement des chromosomes ?
- Les oscillations et l'alignement sont-ils deux processus indépendants ?

- Quels sont les acteurs impliqués dans l'alignement des chromosomes ?
- Les oscillations et l'alignement sont-ils deux processus indépendants ?
- Quels mécanismes régulent l'alignement des chromosomes ?

- Quels sont les acteurs impliqués dans l'alignement des chromosomes ?
- Les oscillations et l'alignement sont-ils deux processus indépendants ?
- Quels mécanismes régulent l'alignement des chromosomes ?
 - Une force de traction dépendant de la taille du microtubule kinétochorien.

- Quels sont les acteurs impliqués dans l'alignement des chromosomes ?
- Les oscillations et l'alignement sont-ils deux processus indépendants ?
- Quels mécanismes régulent l'alignement des chromosomes ?
 - Une force de traction dépendant de la taille du microtubule kinétochorien.
 - Une probabilité d'attachement KT-MT dépendant de la position au sein du fuseau mitotique.

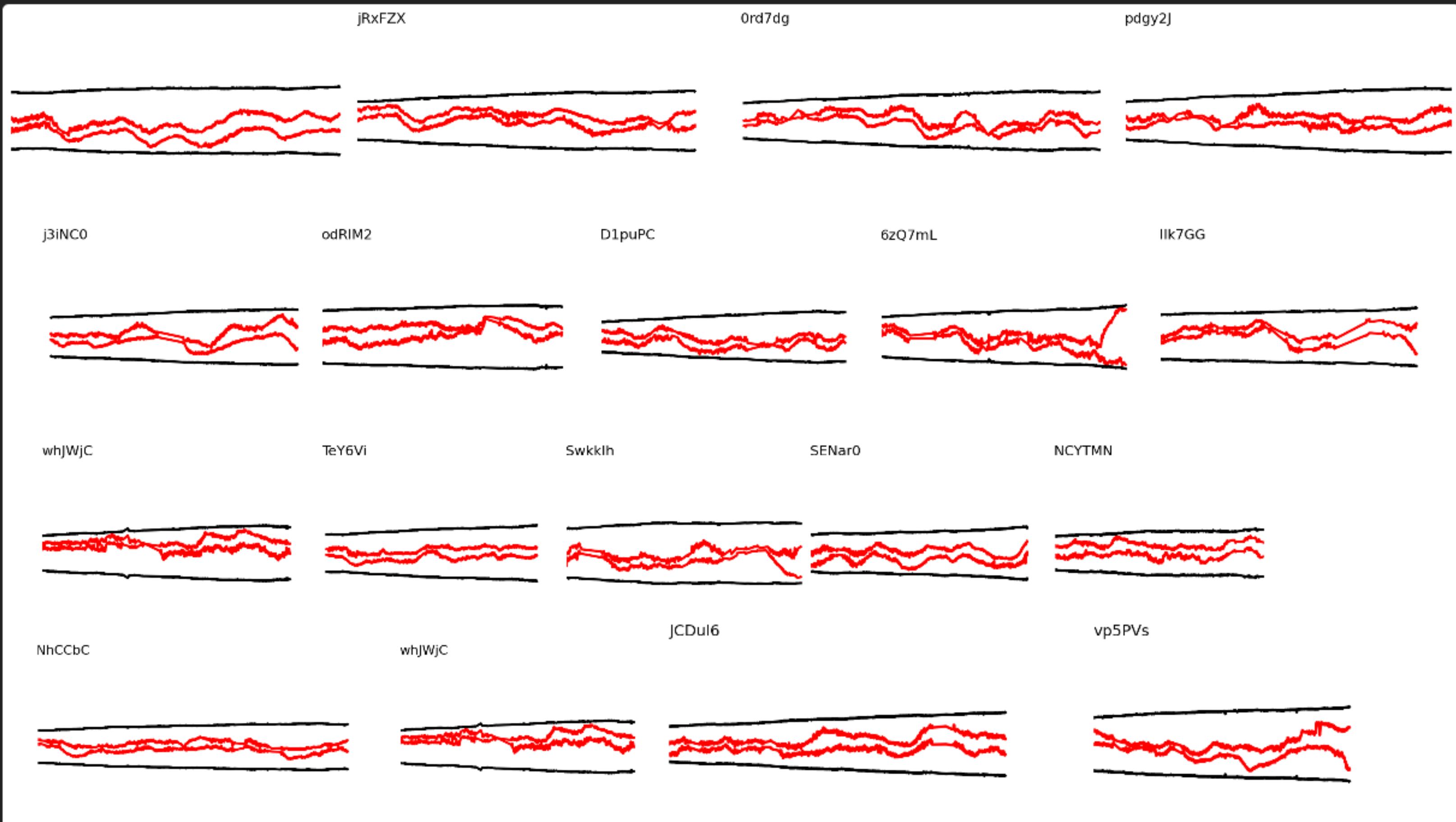
Perspective

Les oscillations du mouvement des chromosomes

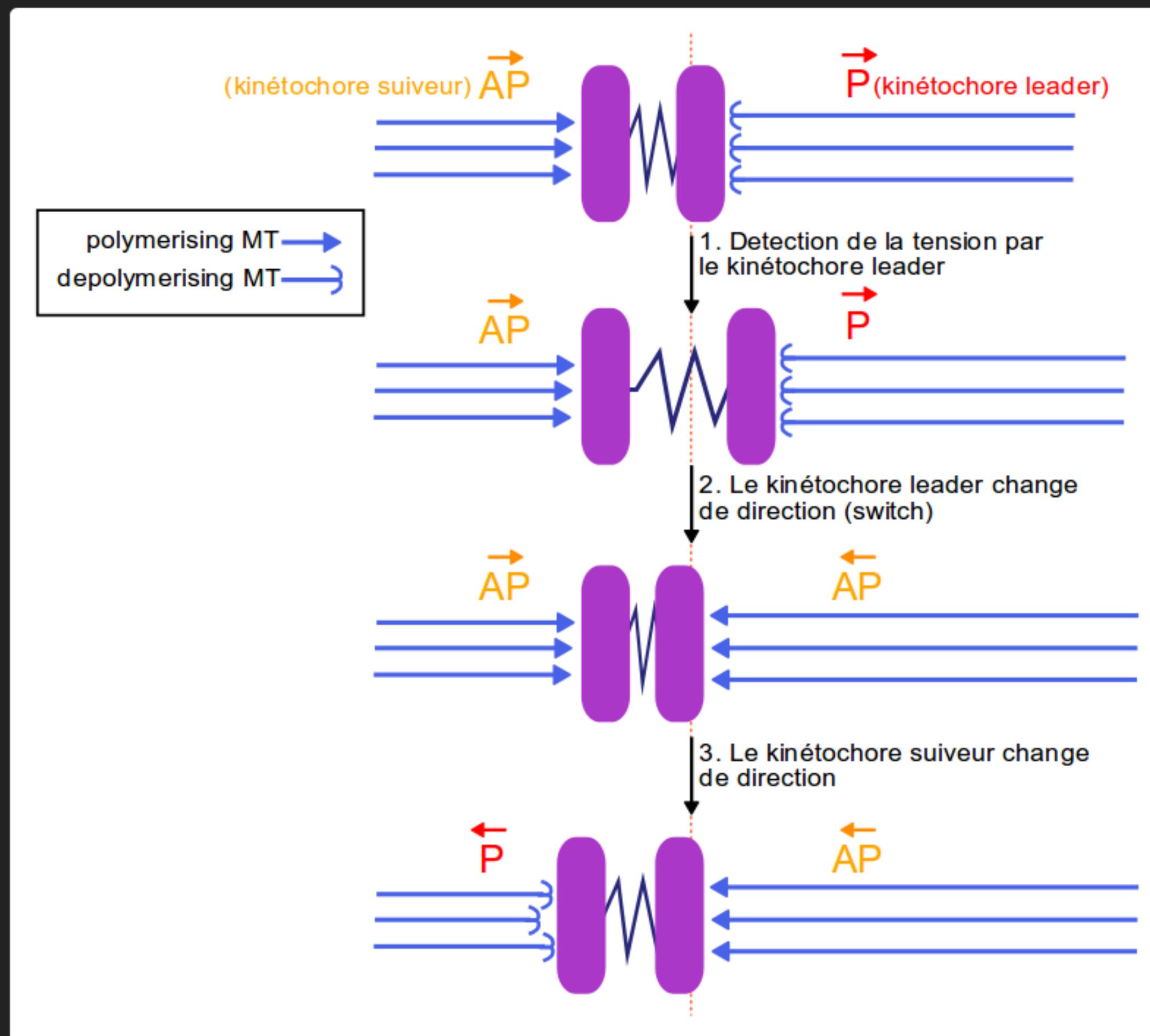
Modéliser les oscillations : un modèle d'attachement à trois états

Un unique mécanisme à l'origine des oscillations des chromosomes ?

La régularité des oscillations des chromosomes



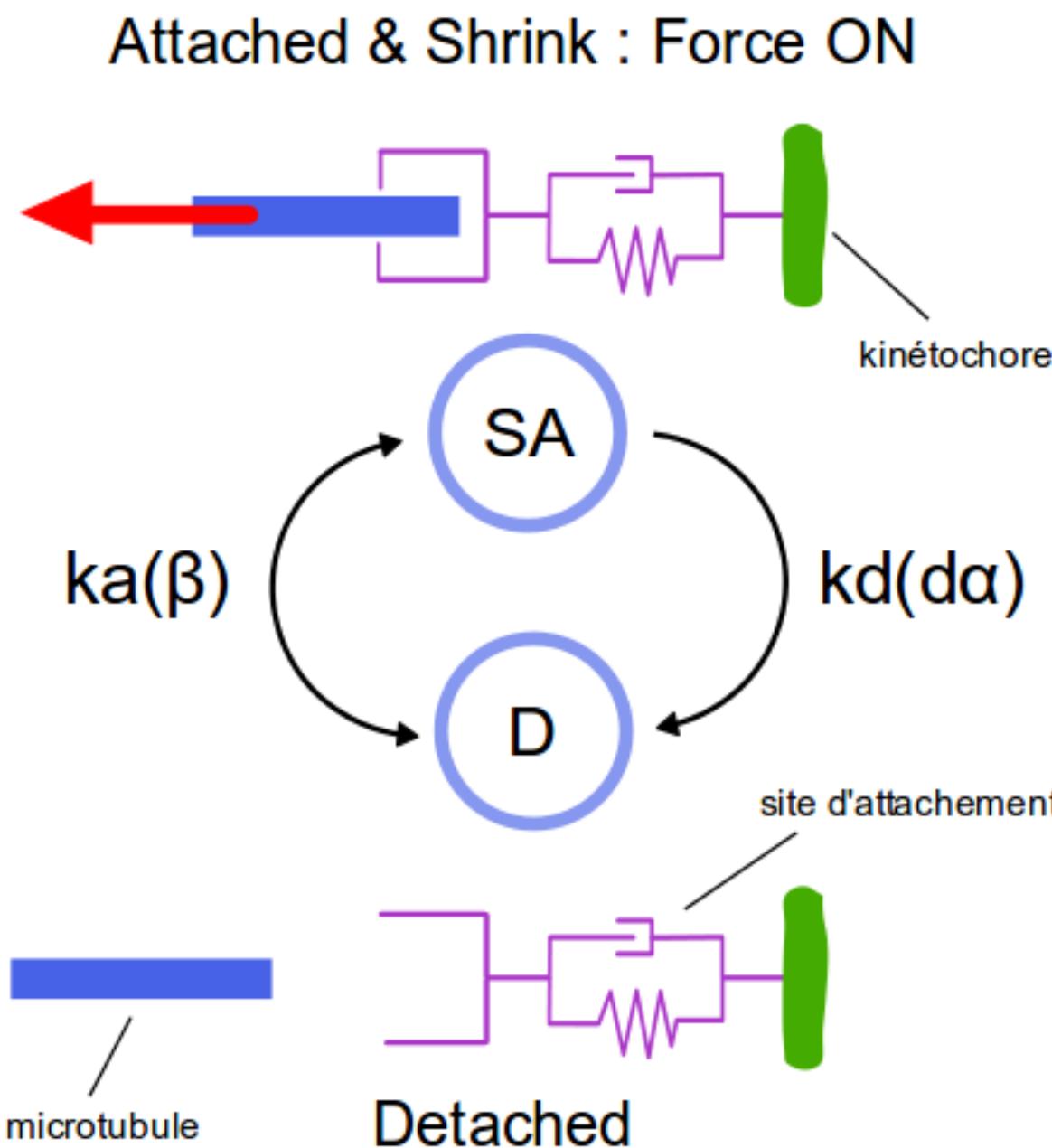
Le « switch » des kinétochores frêres pourrait expliquer les oscillations



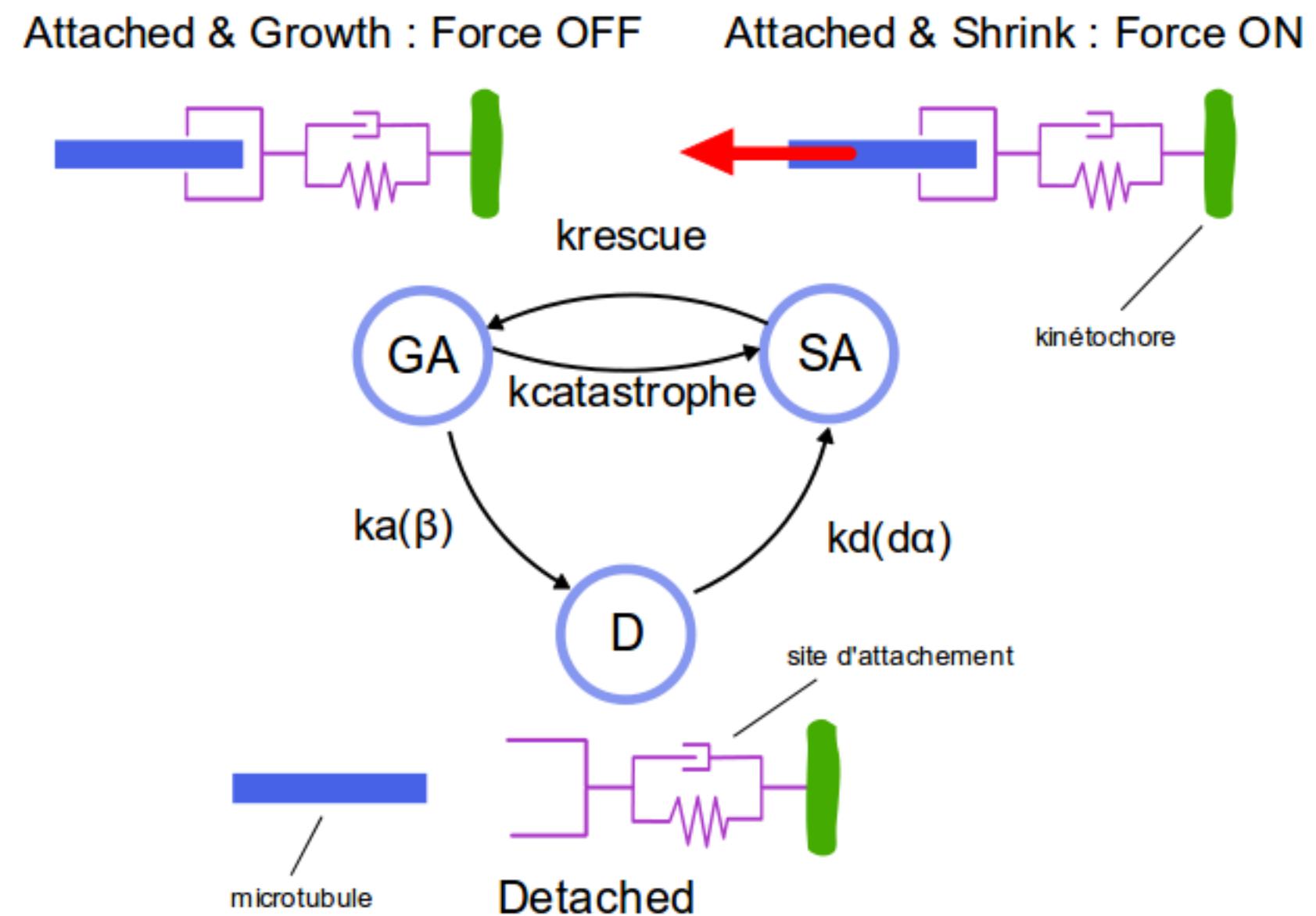
Rieder, 1994

Modéliser les oscillations : un modèle d'attachement à trois états

Two states attachments model



Three states attachments model

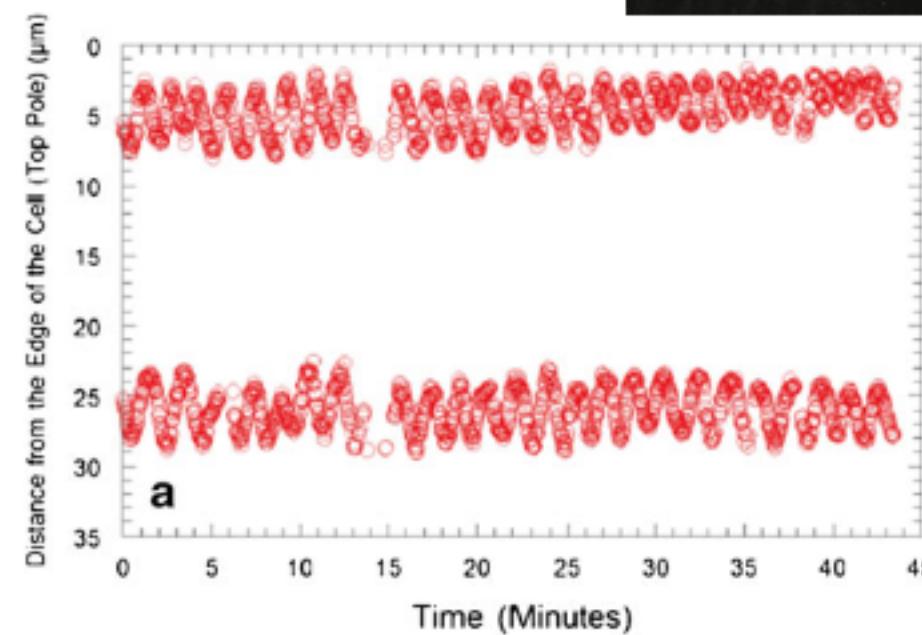


Un unique mécanisme à l'origine des oscillations des chromosomes ?

Un unique mécanisme à l'origine des oscillations des chromosomes ?

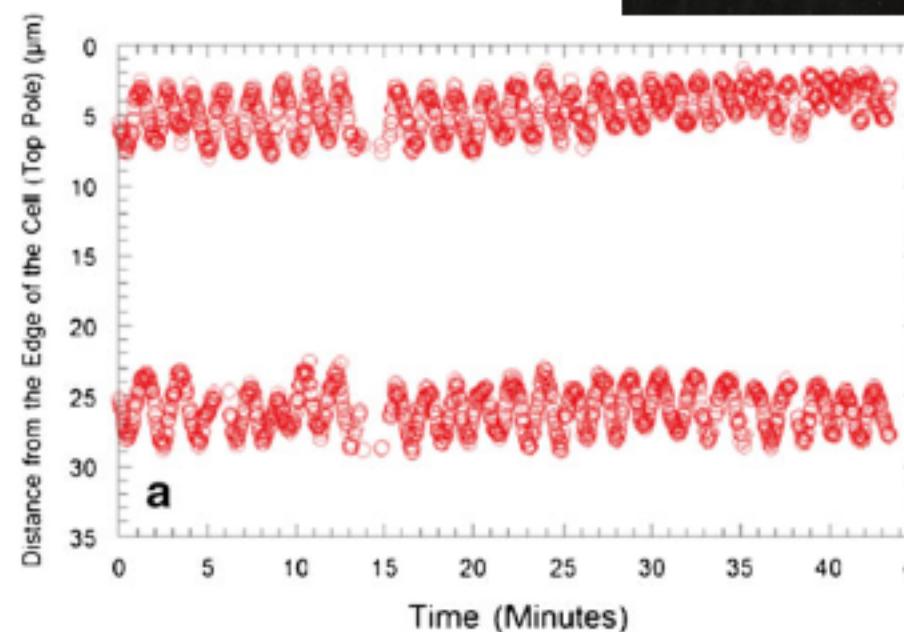
Un unique mécanisme à l'origine des oscillations des chromosomes ?

Spermatocytes de
Mesostoma ehrenbergii
(Ferraro-Gideon, 2014)

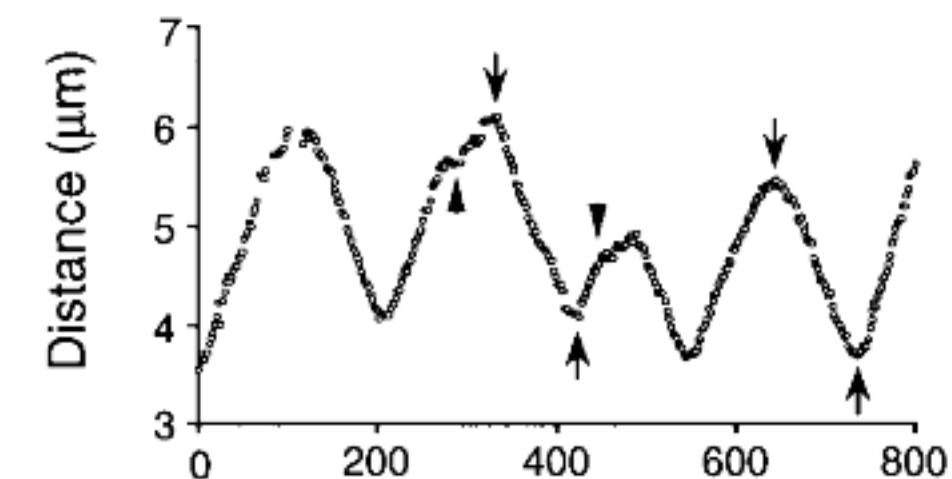


Un unique mécanisme à l'origine des oscillations des chromosomes ?

Spermatocytes de
Mesostoma ehrenbergii
(Ferraro-Gideon, 2014)

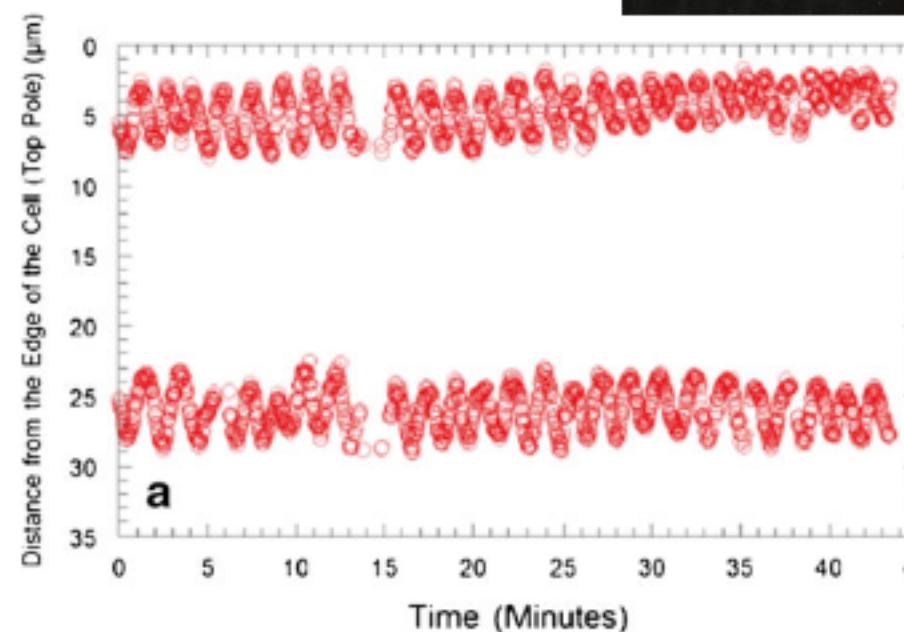


Cellule de poumon
de triton
(Skibbens, 1993)

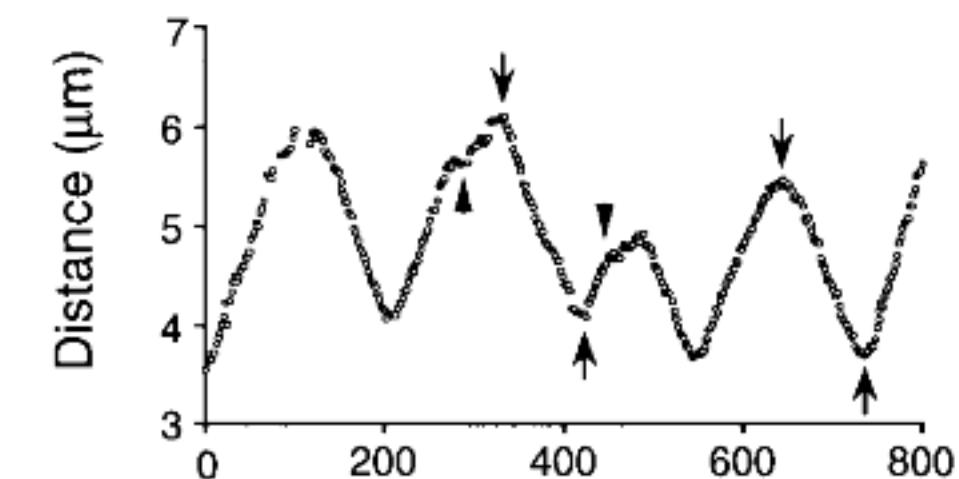


Un unique mécanisme à l'origine des oscillations des chromosomes ?

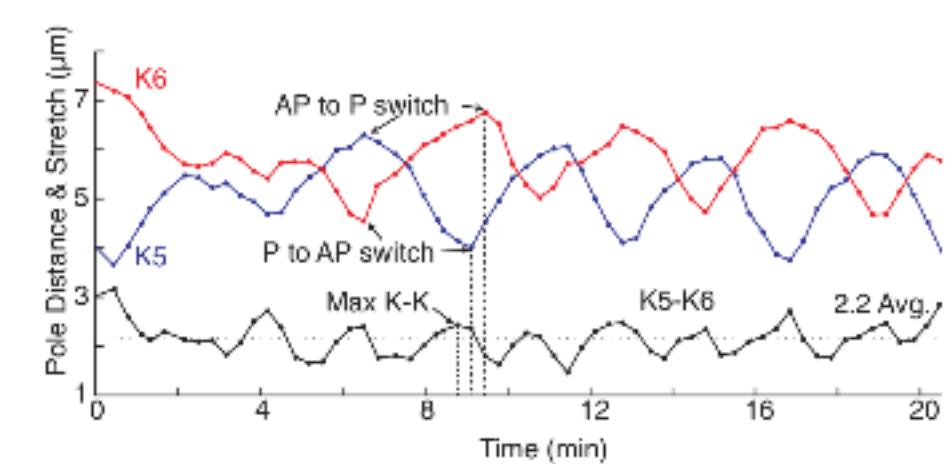
Spermatocytes de
Mesostoma ehrenbergii
(Ferraro-Gideon, 2014)



Cellule de poumon
de triton
(Skibbens, 1993)

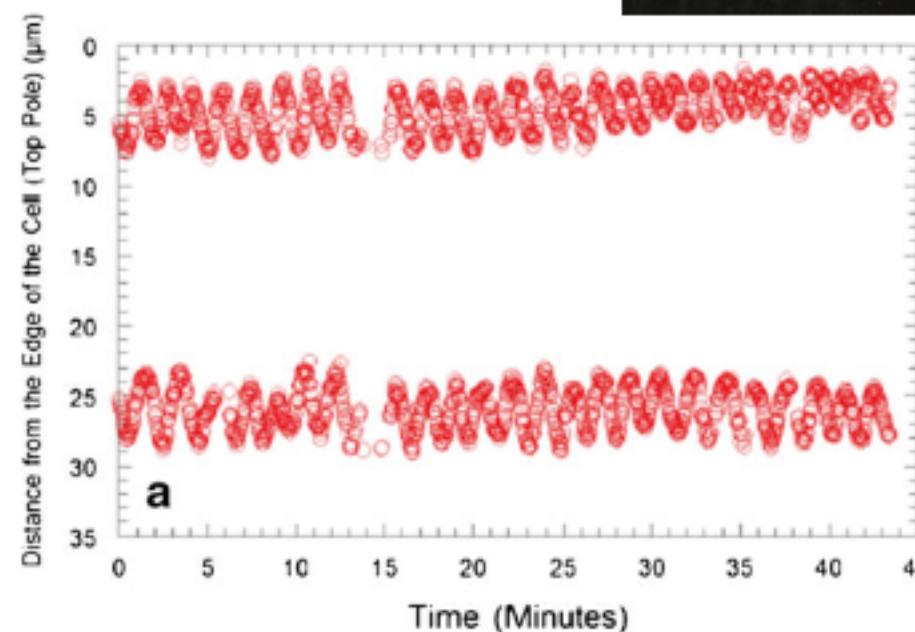


Cellule PtK1
(Wan, 2012)



Un unique mécanisme à l'origine des oscillations des chromosomes ?

Spermatocytes de
Mesostoma ehrenbergii
(Ferraro-Gideon, 2014)

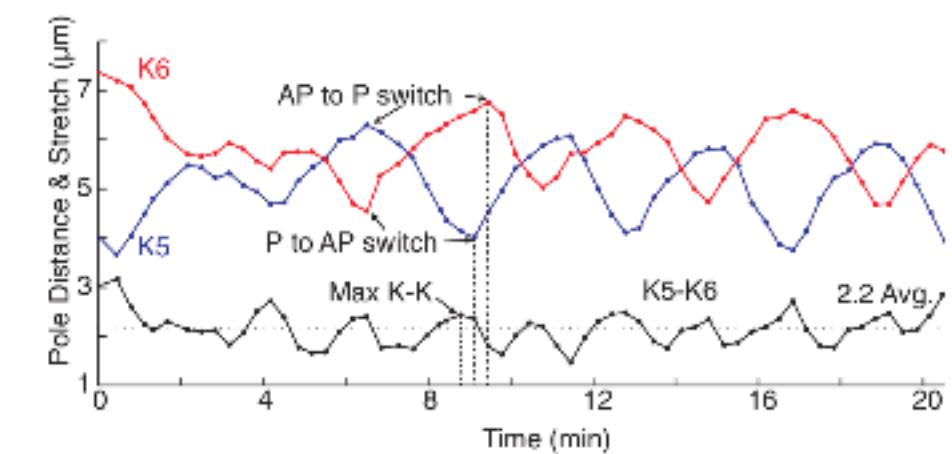


Cellule de poumon
de triton

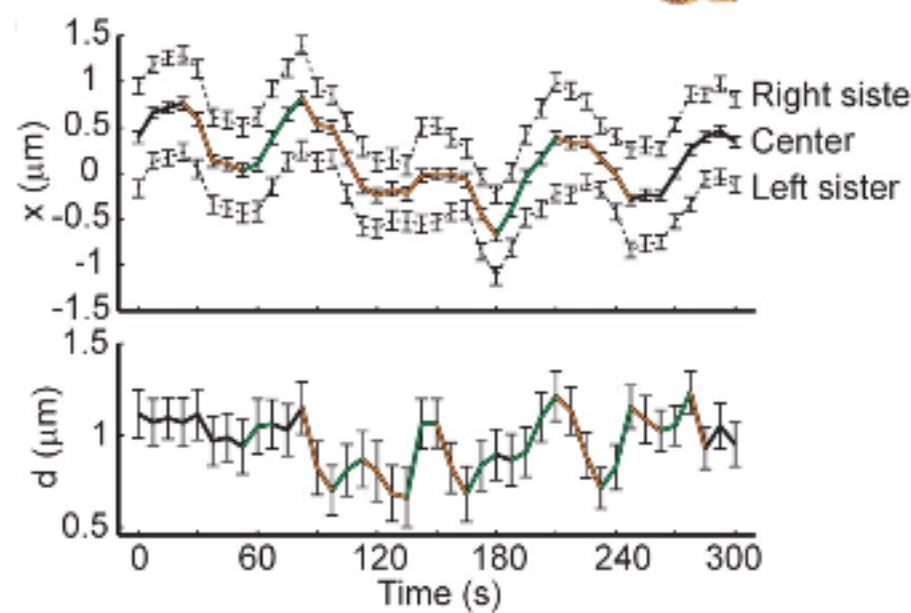


(Skibbens, 1993)

Cellule PtK1
(Wan, 2012)

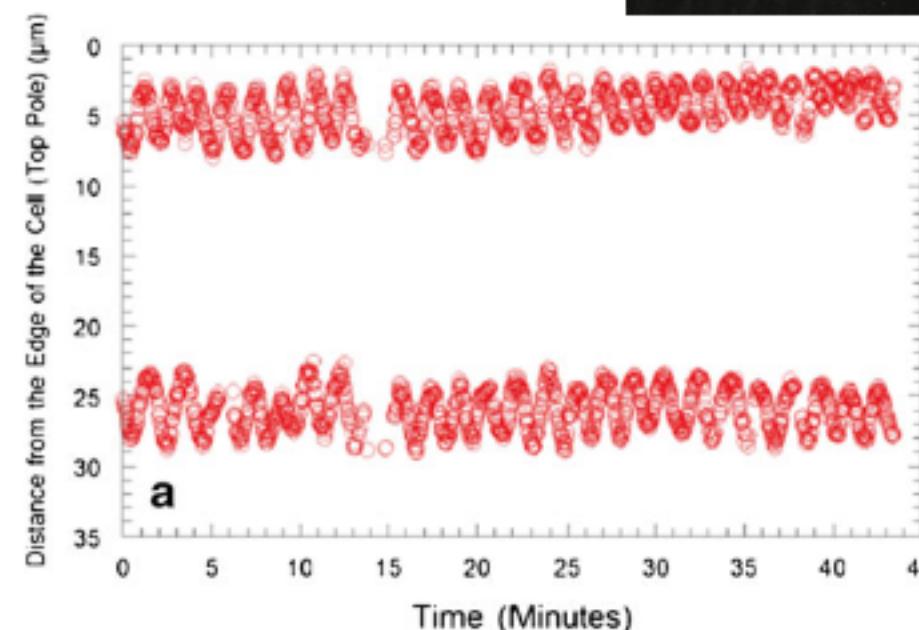


Cellule HeLa
(Jaqaman, 2010)



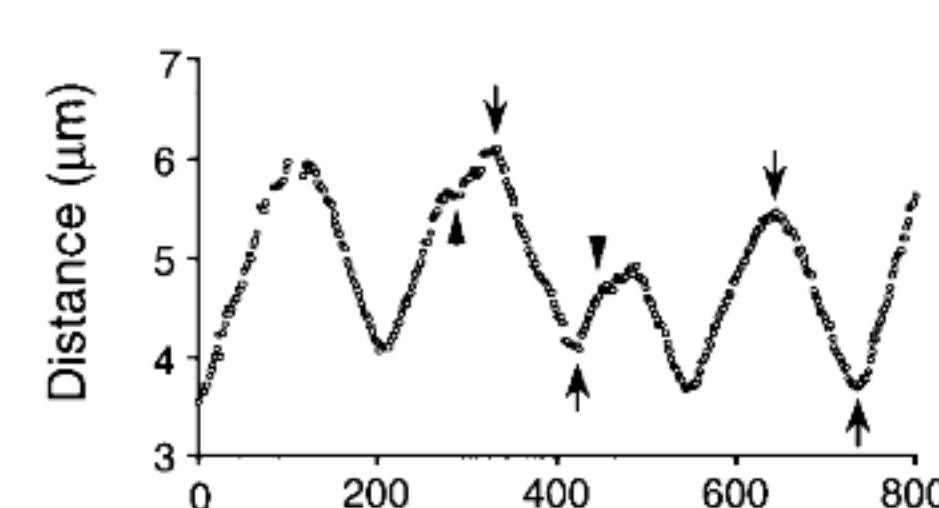
Un unique mécanisme à l'origine des oscillations des chromosomes ?

Spermatocytes de
Mesostoma ehrenbergii
(Ferraro-Gideon, 2014)

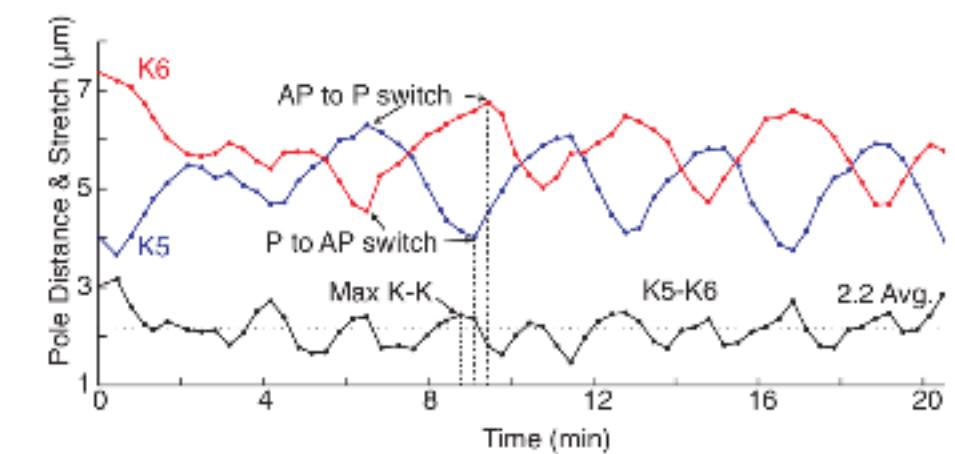


Cellule de poumon
de triton

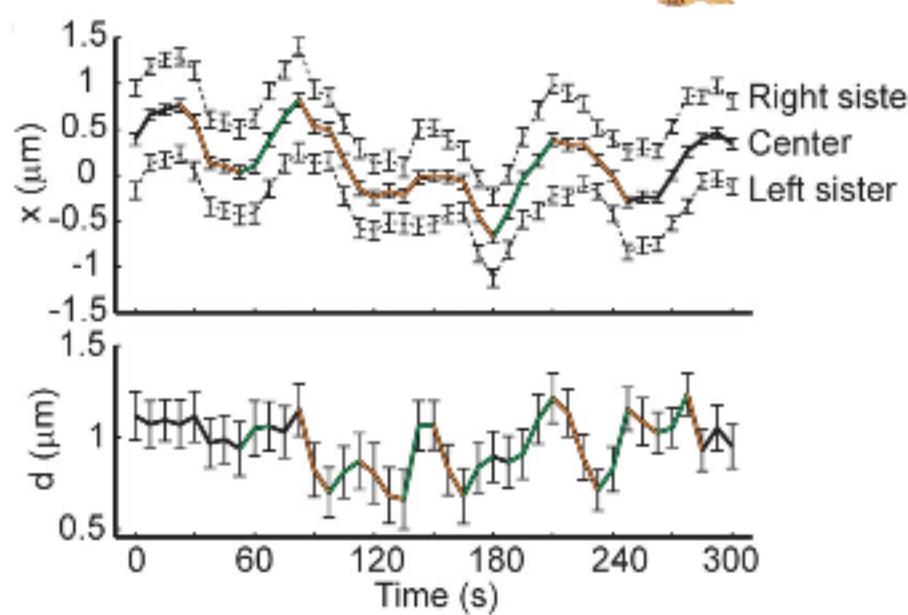
(Skibbens, 1993)



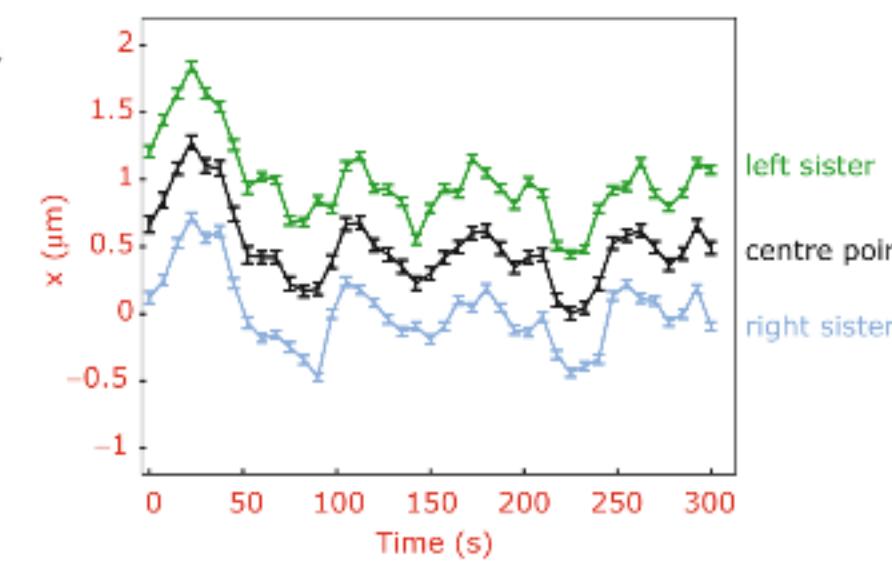
Cellule PtK1
(Wan, 2012)



Cellule HeLa
(Jaqaman, 2010)

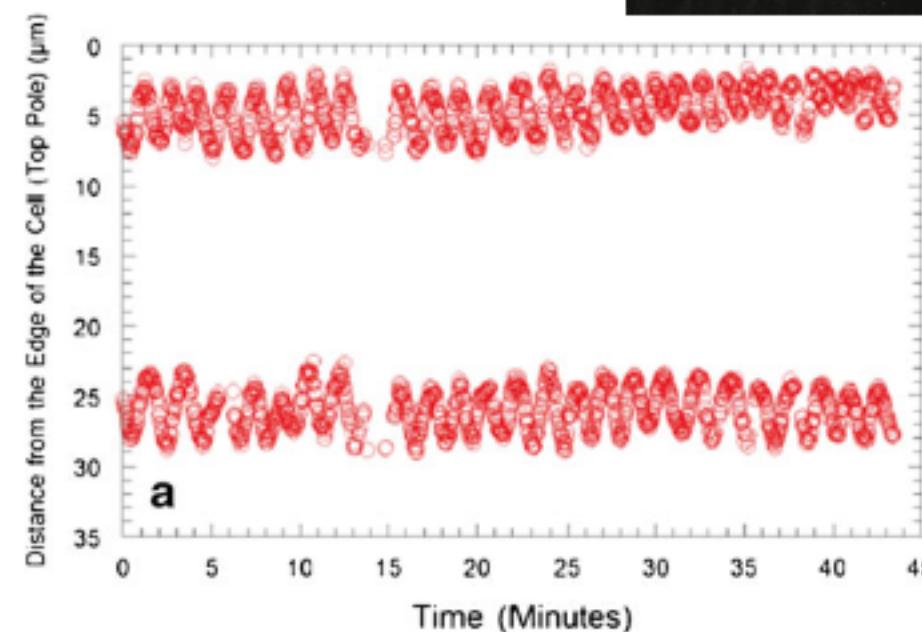


Cellule HeLa
(Vladimirou, 2011; Burroughs, 2015)



Un unique mécanisme à l'origine des oscillations des chromosomes ?

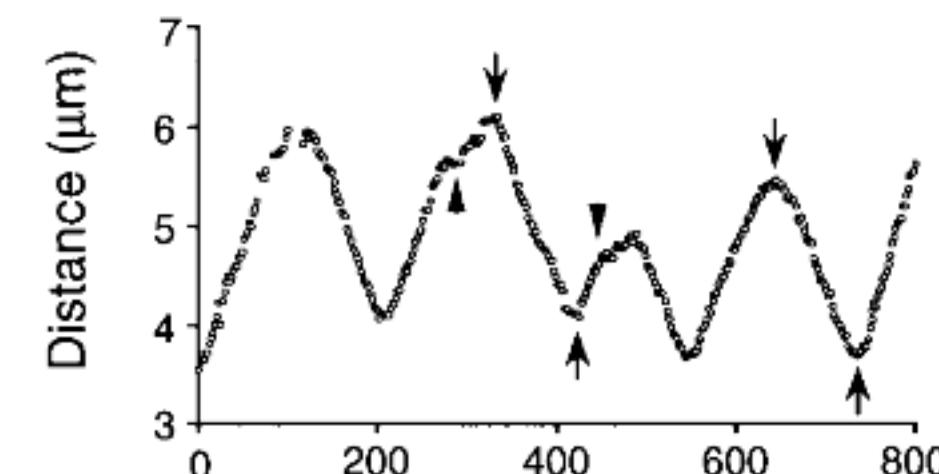
Spermatocytes de
Mesostoma ehrenbergii
(Ferraro-Gideon, 2014)



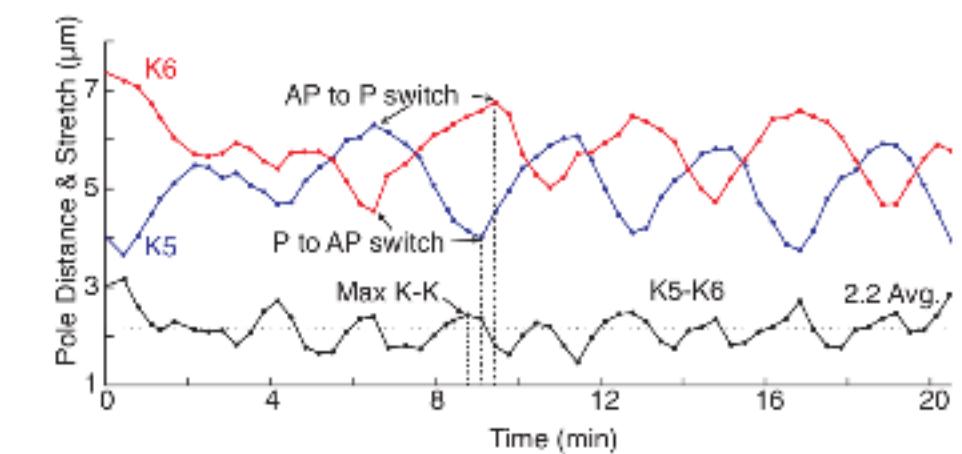
Cellule de poumon
de triton



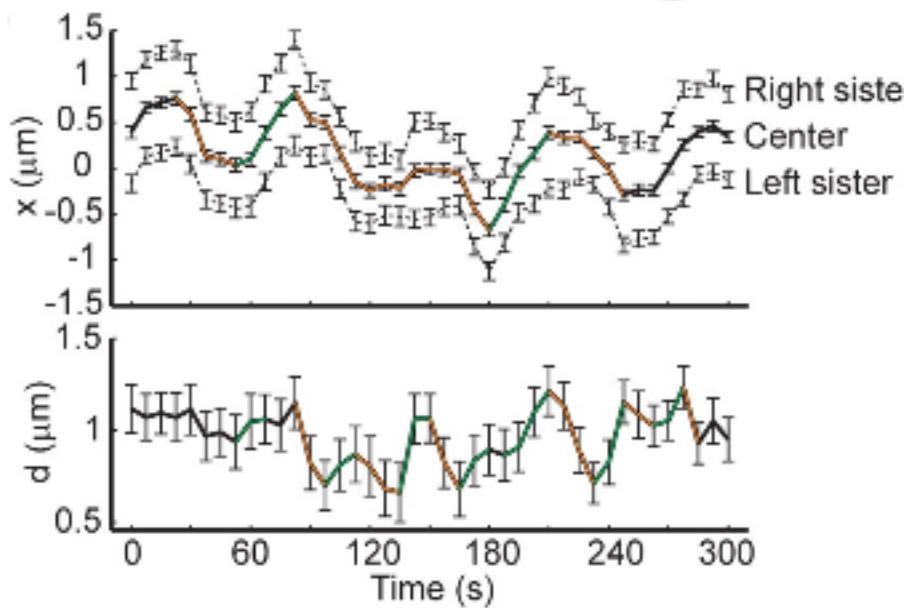
(Skibbens, 1993)



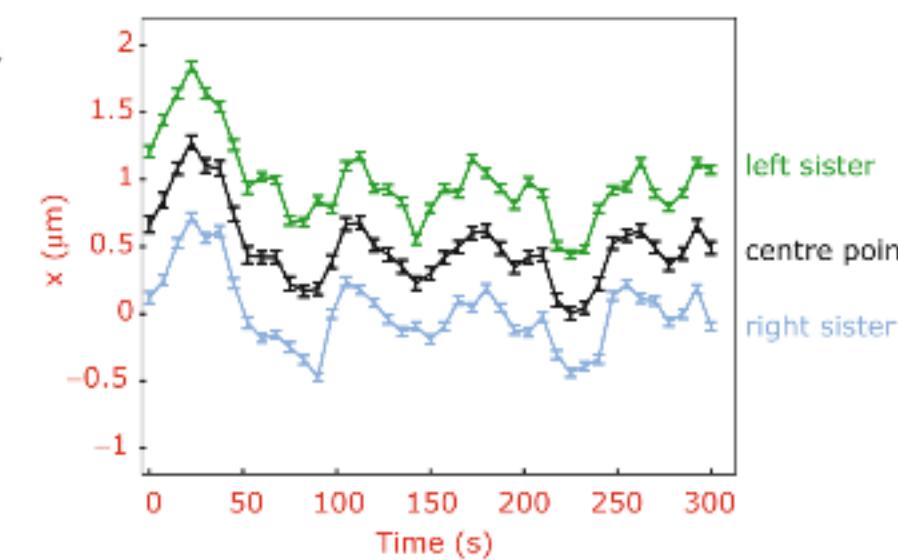
Cellule PtK1
(Wan, 2012)



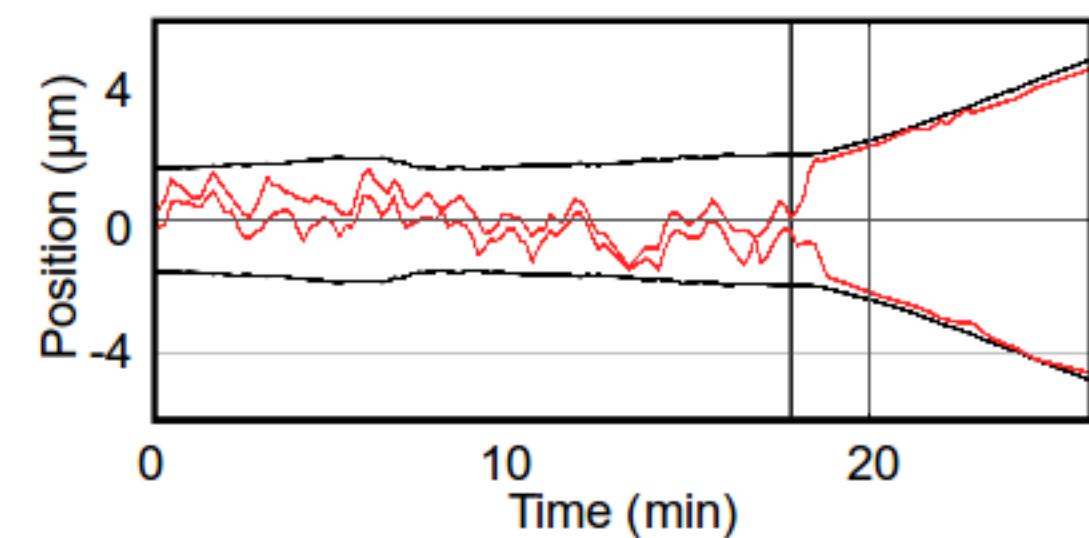
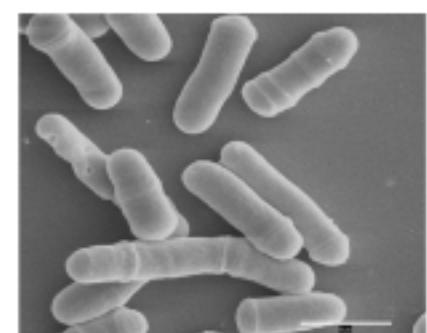
Cellule HeLa
(Jaqaman, 2010)



Cellule HeLa
(Vladimirov, 2011; Burroughs, 2015)



Cellule de *S. Pombe*
(Mary, 2015)



Equipe Tournier-Gachet (LBCMCP)

- Céline Reyes
- Tong Li
- Simon Cabello
- Yannick Gachet
- Sylvie Tournier

Autres

- Guillaume Gay (damcb.com)
- Jonathan Fouchard (co-premier auteur de Mary et al., JCS, 2015)
- Tiphaine Gautier
- Clémence Gruget
- Thomas Mangeat

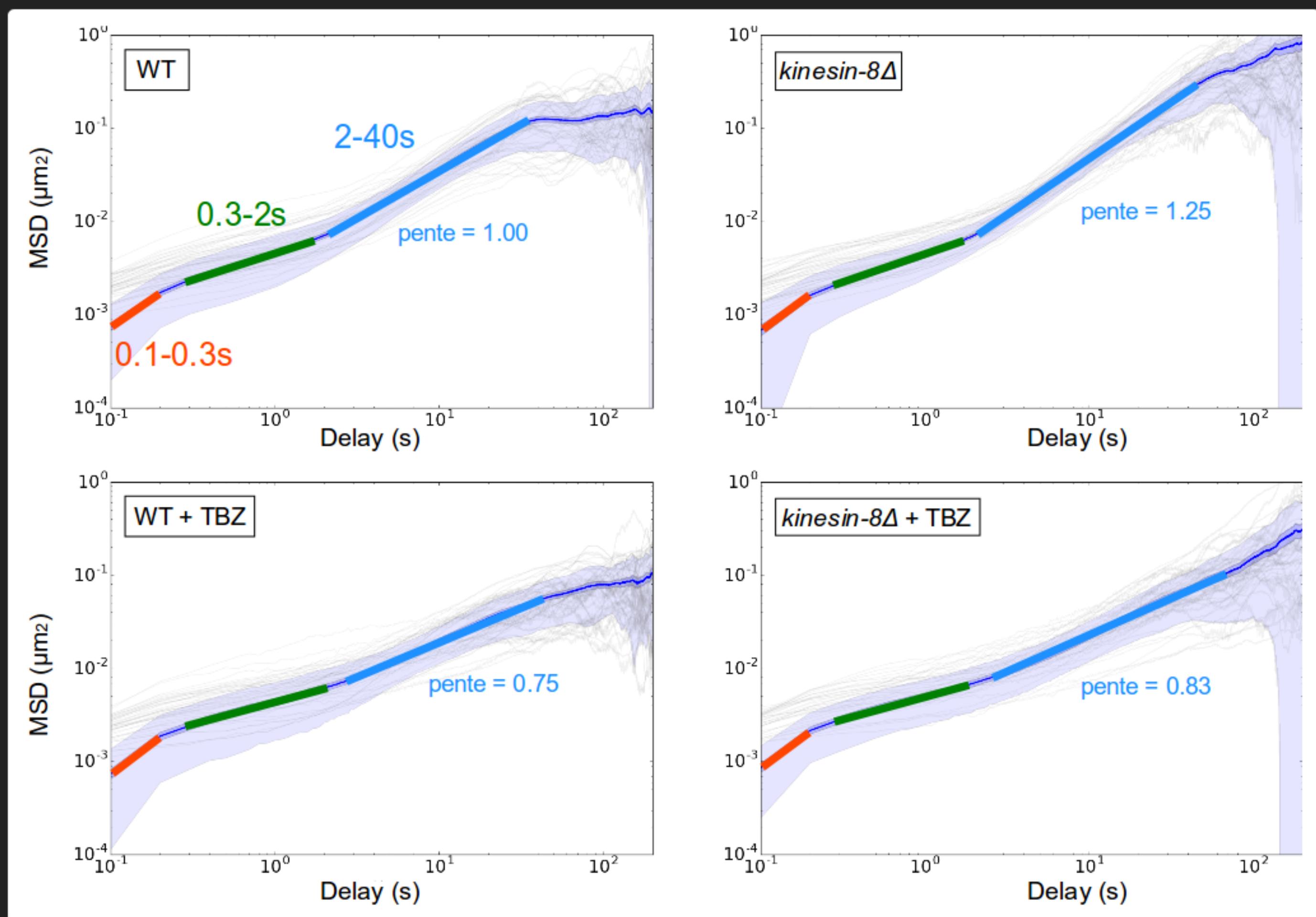


Ce travail de thèse a été soutenu par ANR Blanc 1206 01 "Chromocatch" et FRM (ING 2012 1226 280) "innovative project".

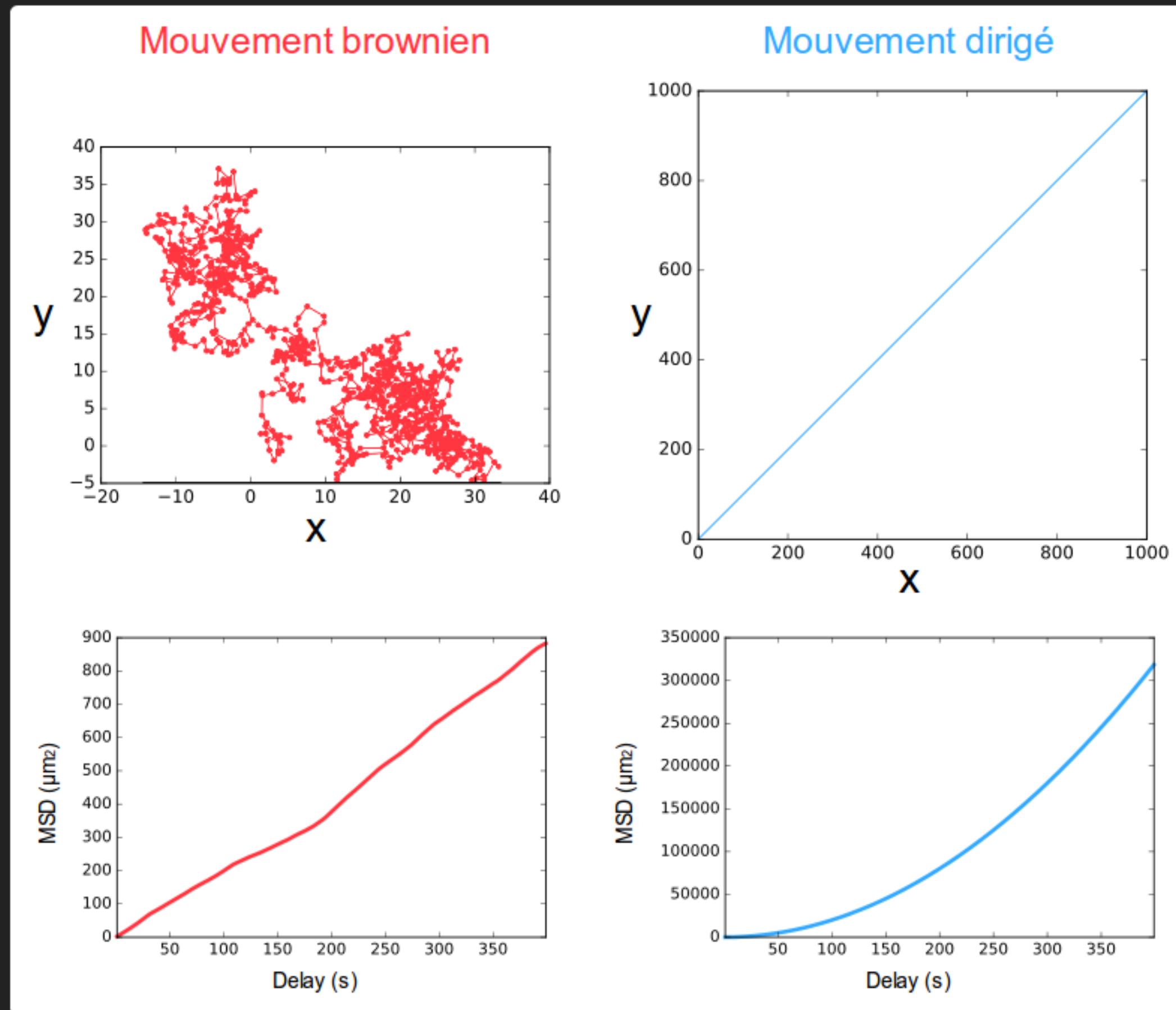
Merci

Les supp

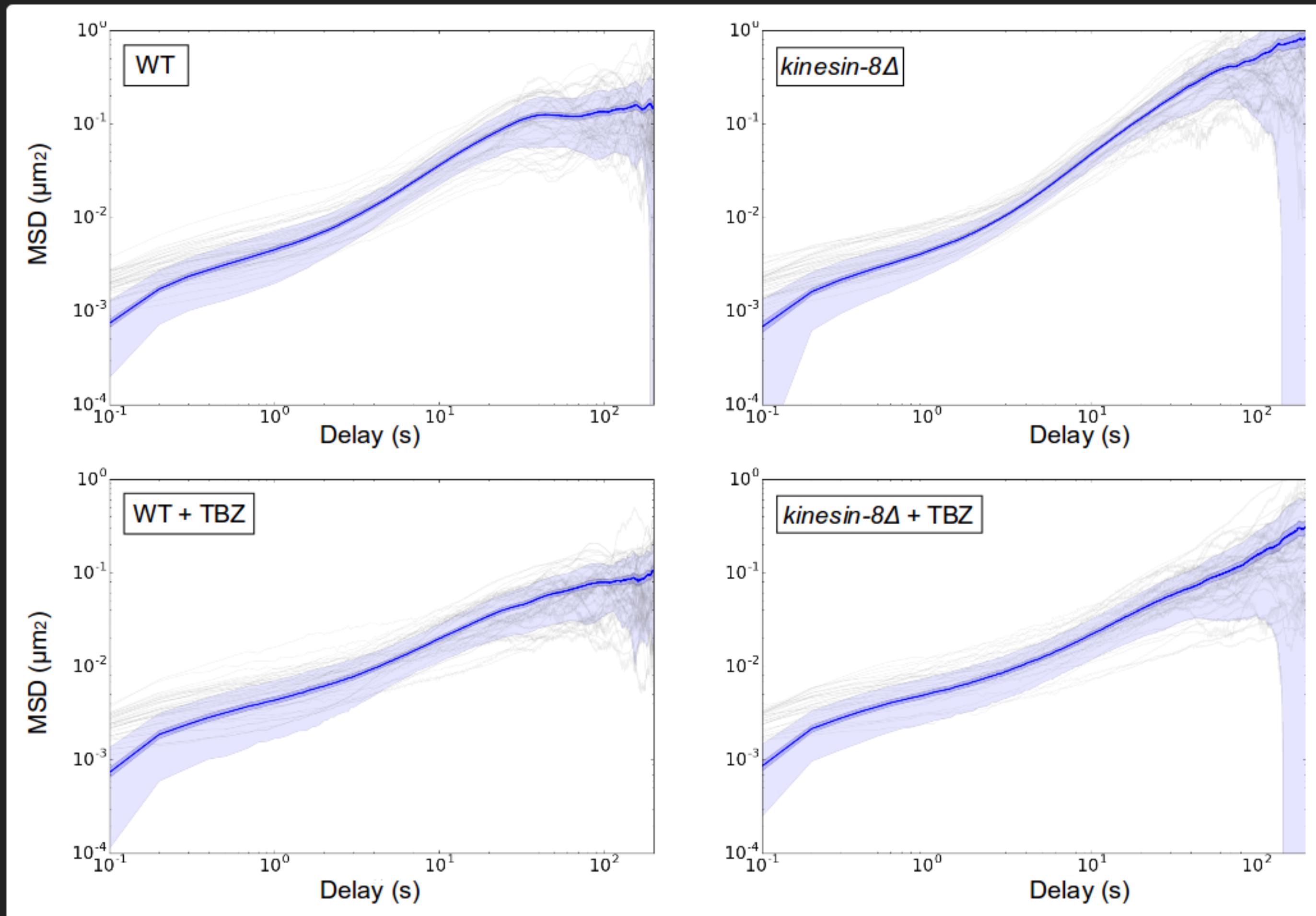
Analyse des trajectoires *in vivo* par MSD



Analyse des trajectoires *in vivo* par la mesure du déplacement quadratique moyen (MSD)



Analyse des trajectoires *in vivo* par MSD (log-log)

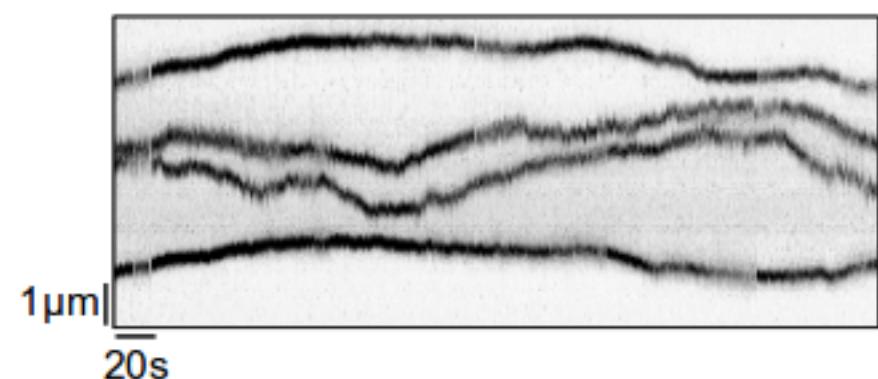
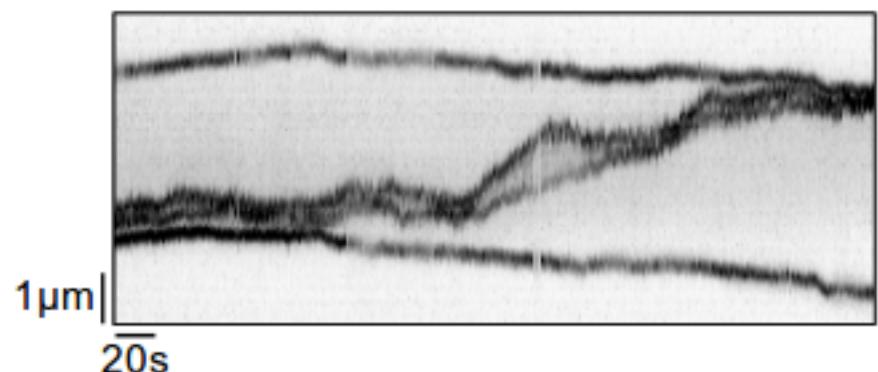


Déséquilibre des forces de tractions

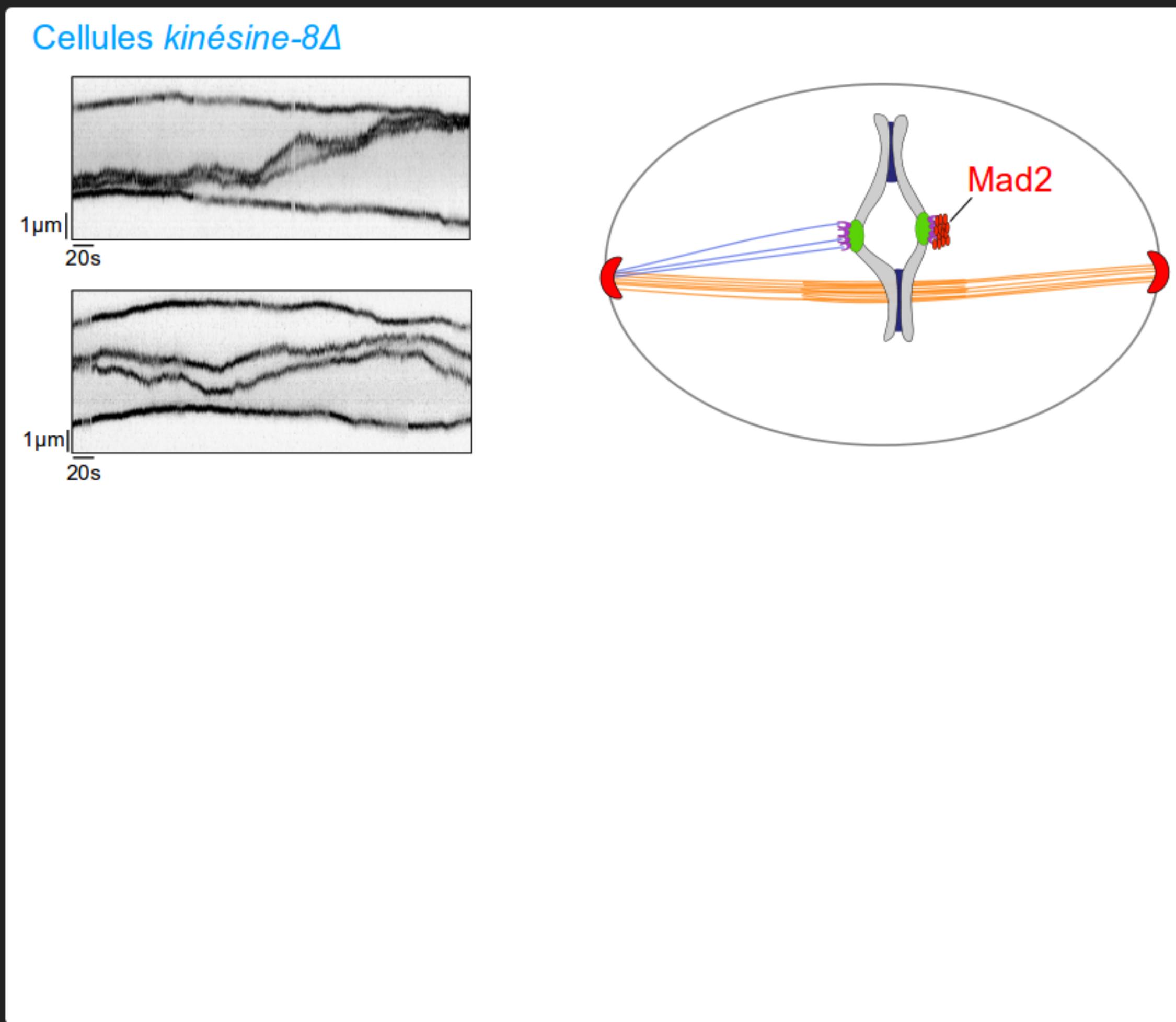
Déséquilibre des forces de tractions

Déséquilibre des forces de tractions

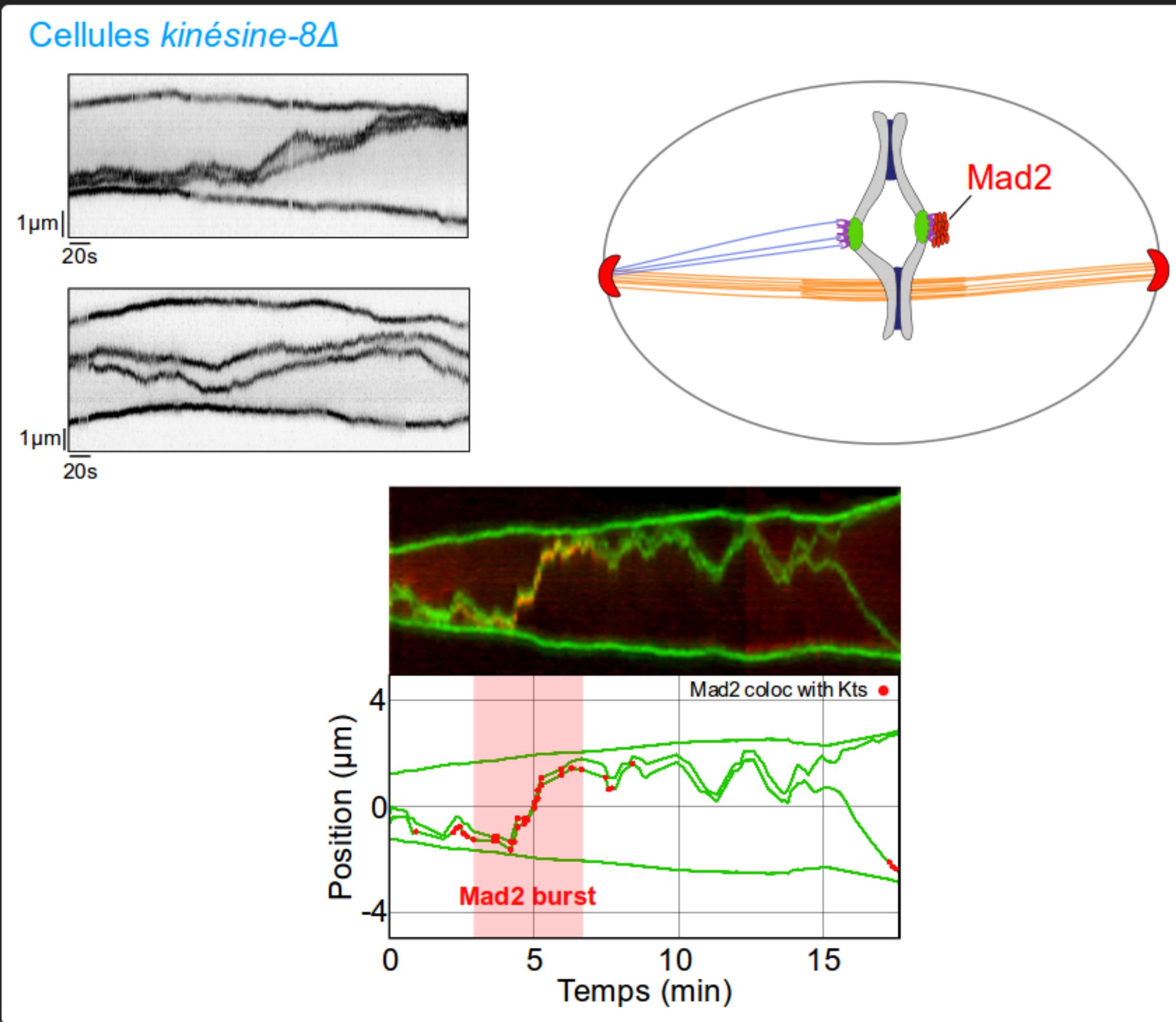
Cellules *kinésine-8Δ*



Déséquilibre des forces de tractions



Déséquilibre des forces de tractions

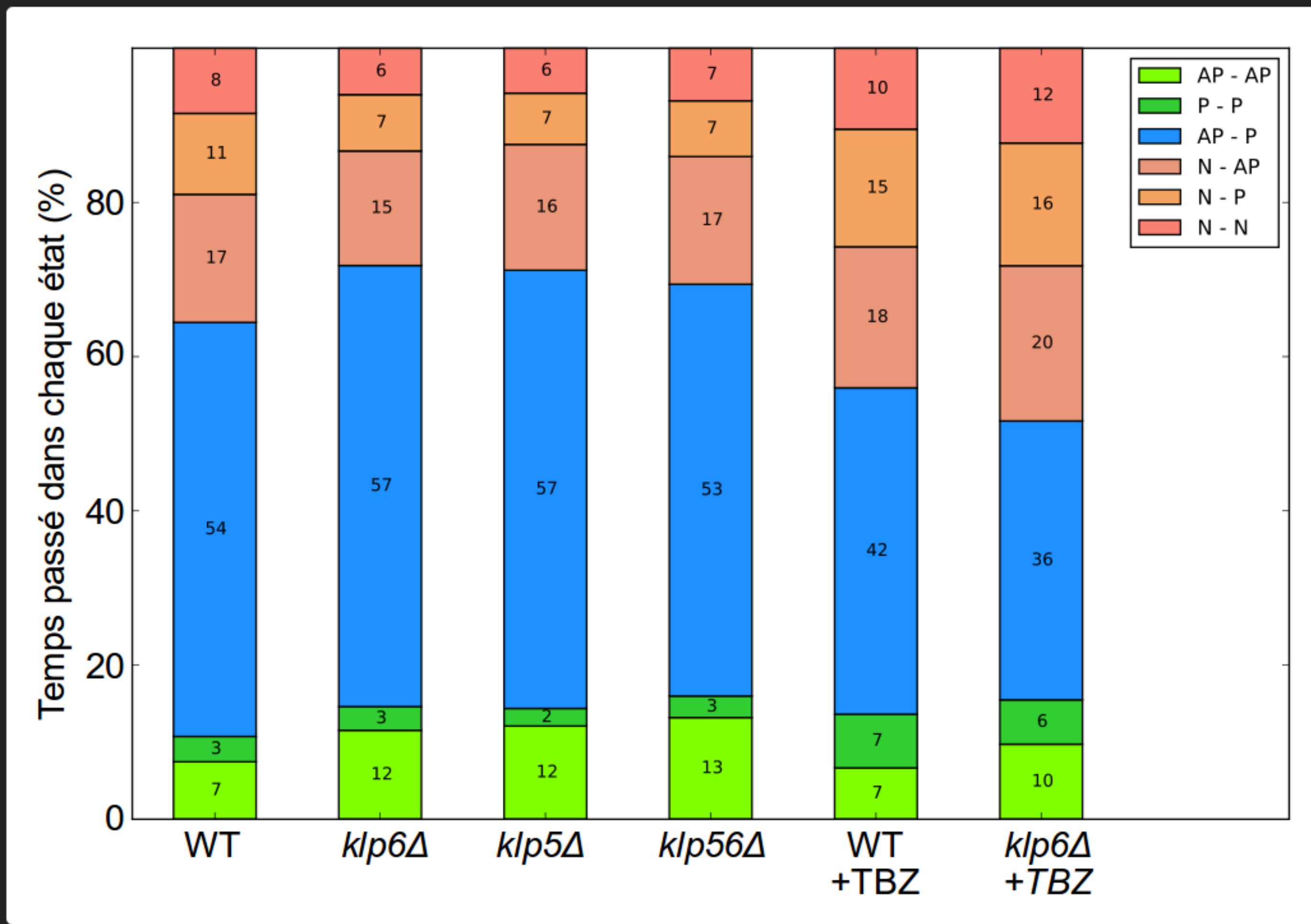


Vers un modèle global de la mitose

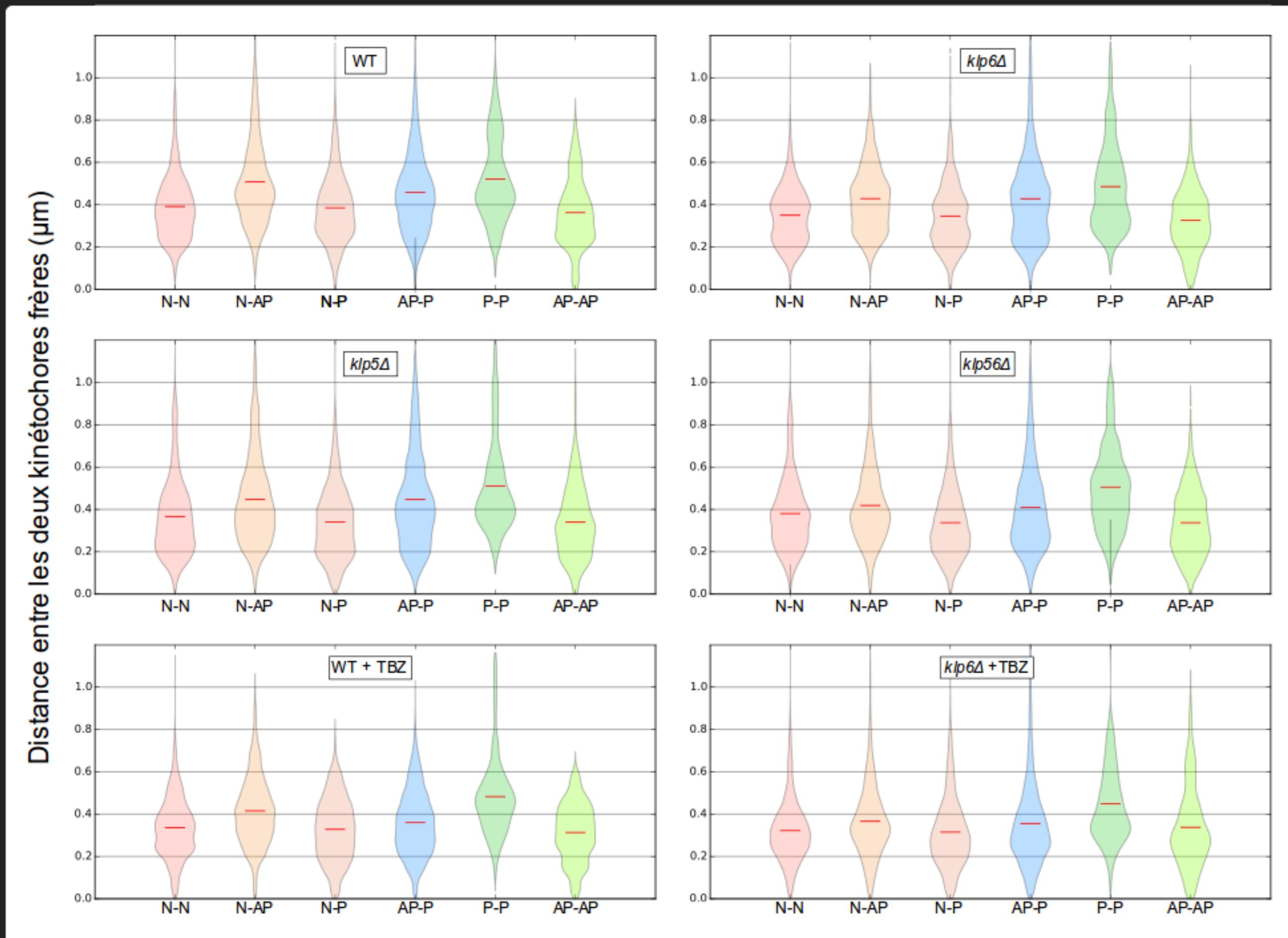
- Passage en trois dimensions.
- Ségrégation des chromosomes chez *C. elegans*.
- Modélisation de l'orientation du fuseau mitotique dans la cellule.
- En collaboration avec Guillaume Gay (damcb.com) et Jacques Pécreaux (Rennes).



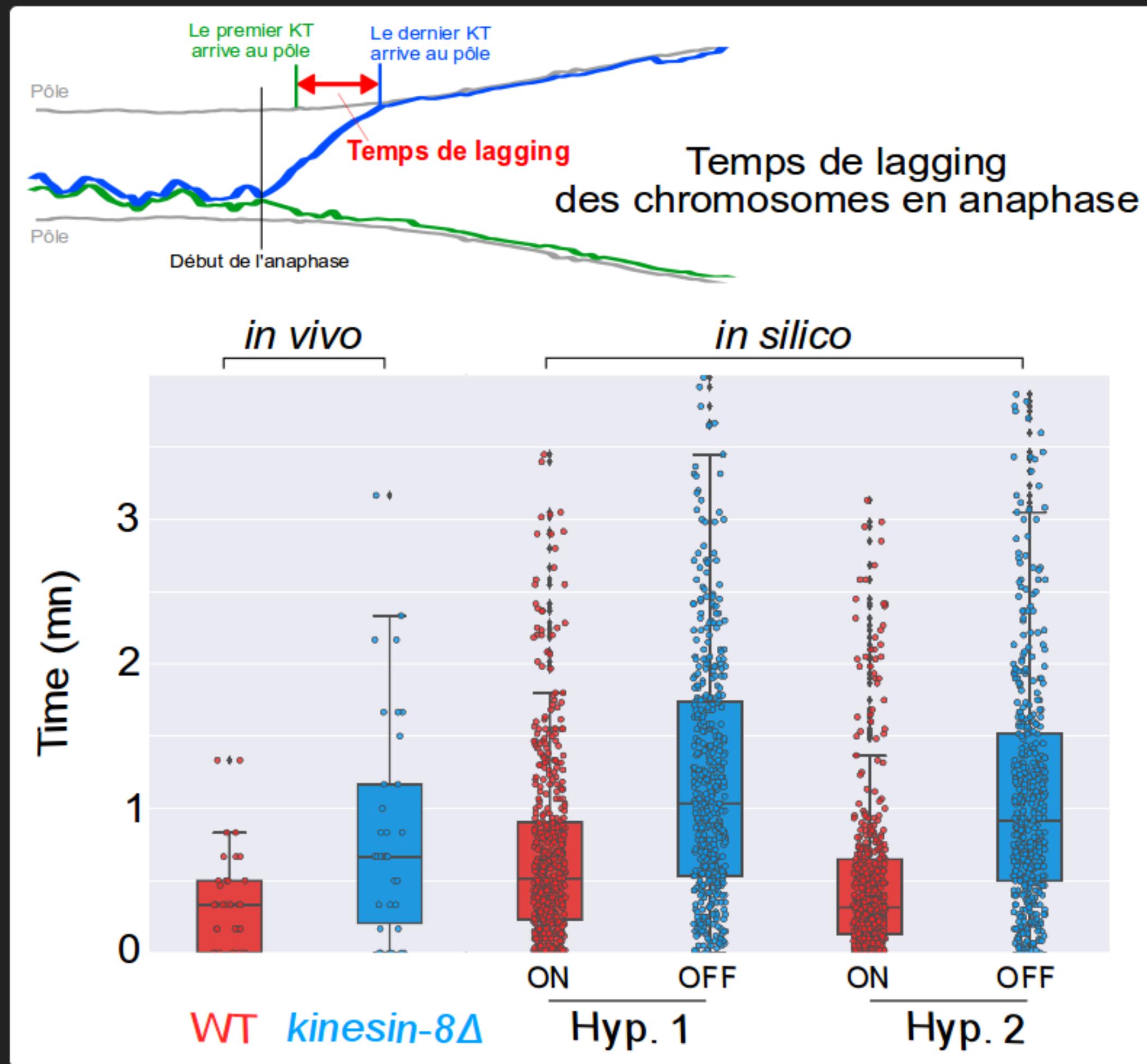
L'état de cohérence des kinétochores frères (1)



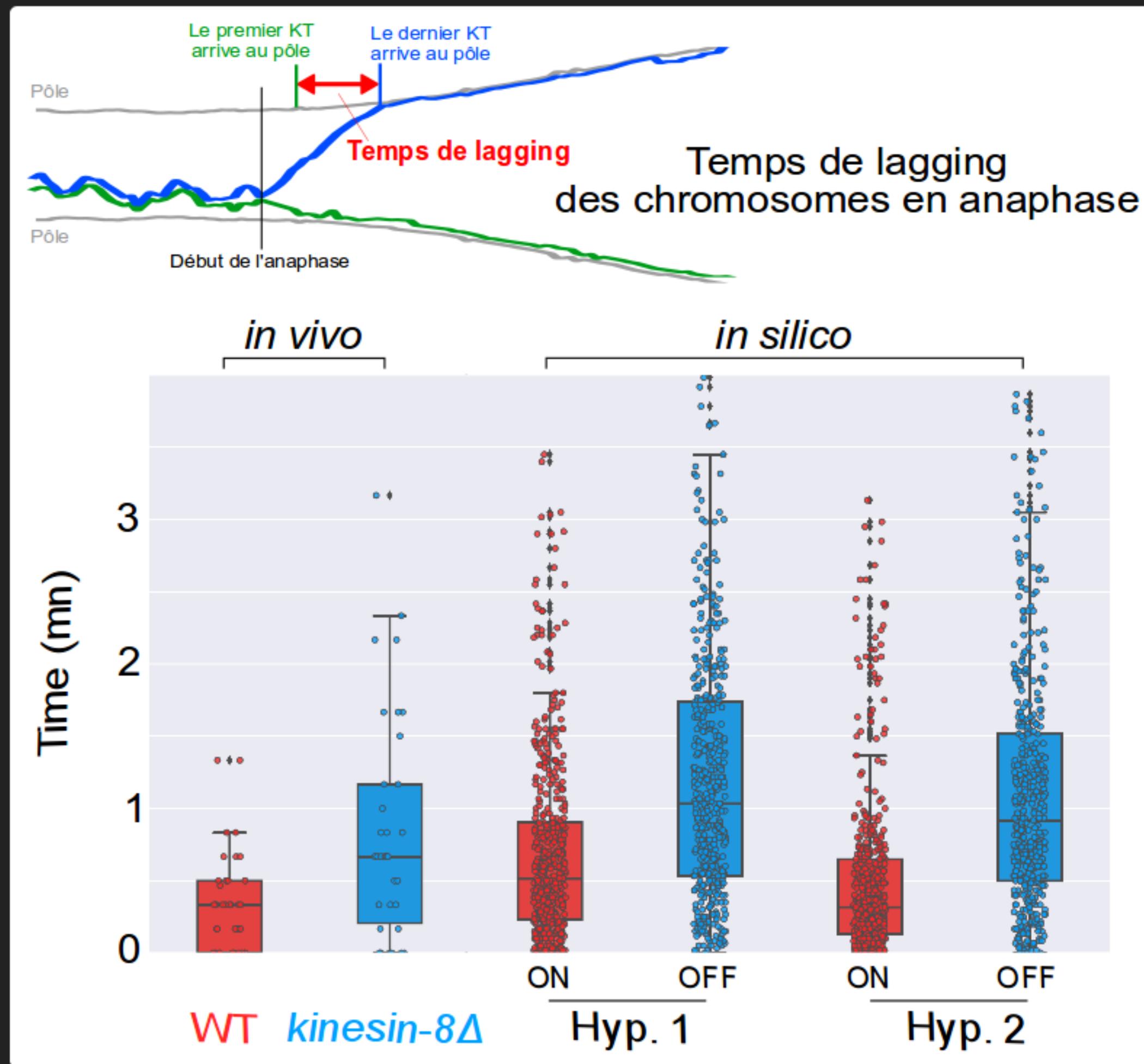
L'état de cohérence des kinétochores frères (2)



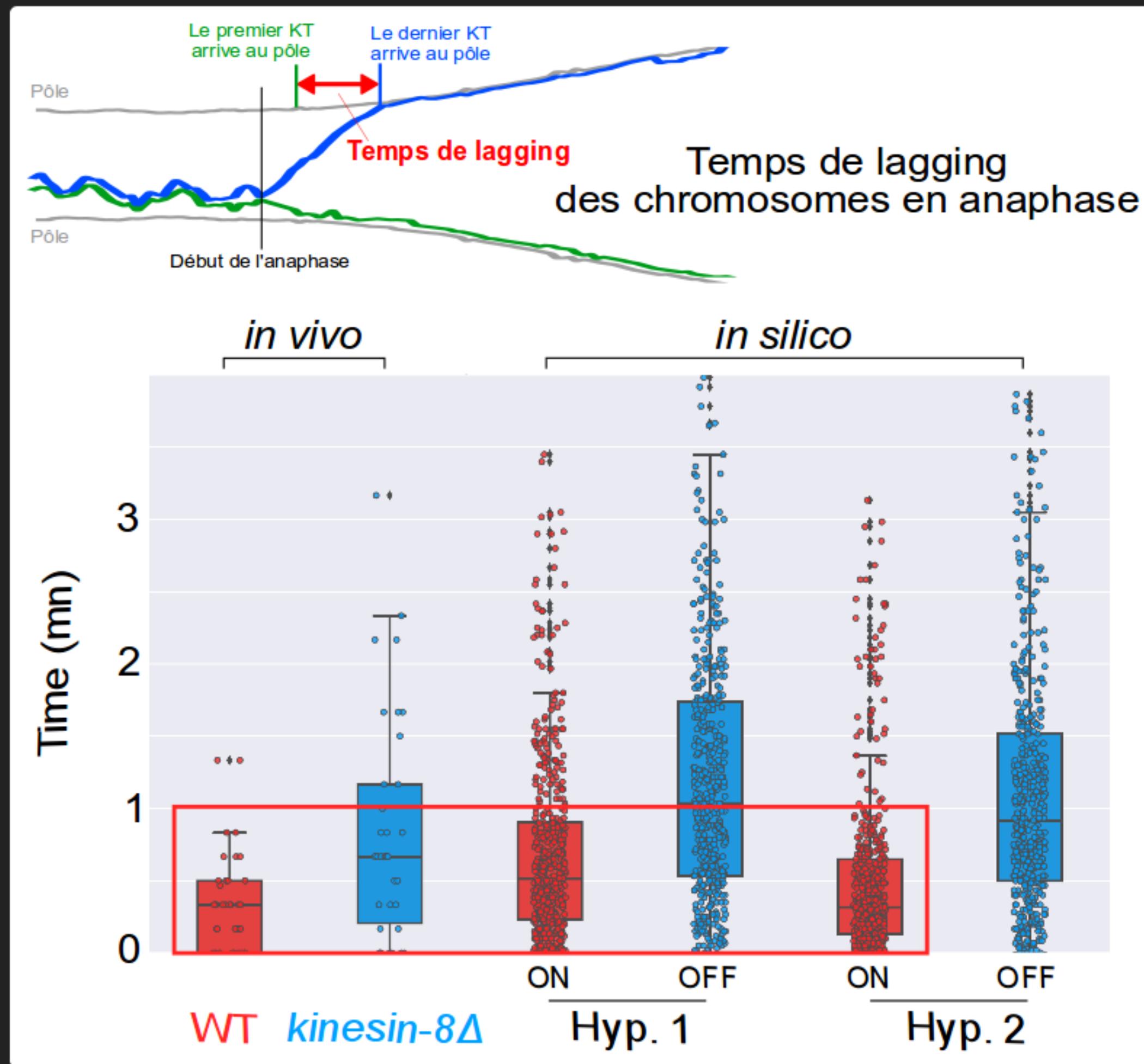
Les chromosomes non alignés augmentent le temps de lagging en anaphase



Les chromosomes non alignés augmentent le temps de lagging en anaphase



Les chromosomes non alignés augmentent le temps de lagging en anaphase



Kinésine-8 : mécanisme d'action

