

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

- 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

- Perspectives

- 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 ?

Introduction

La mitose

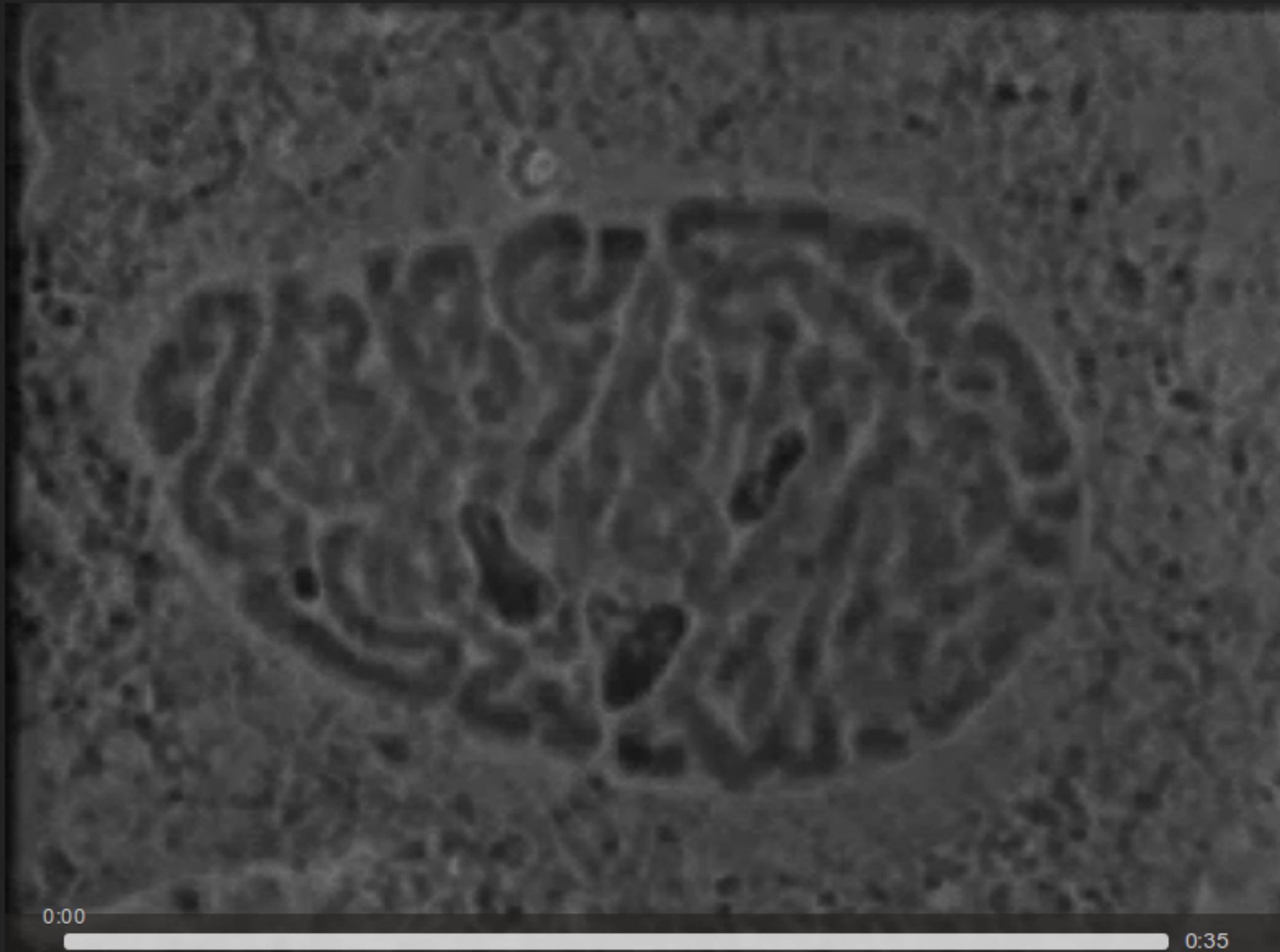
Les acteurs du fuseau mitotique

La dynamique des chromosomes

Problématique

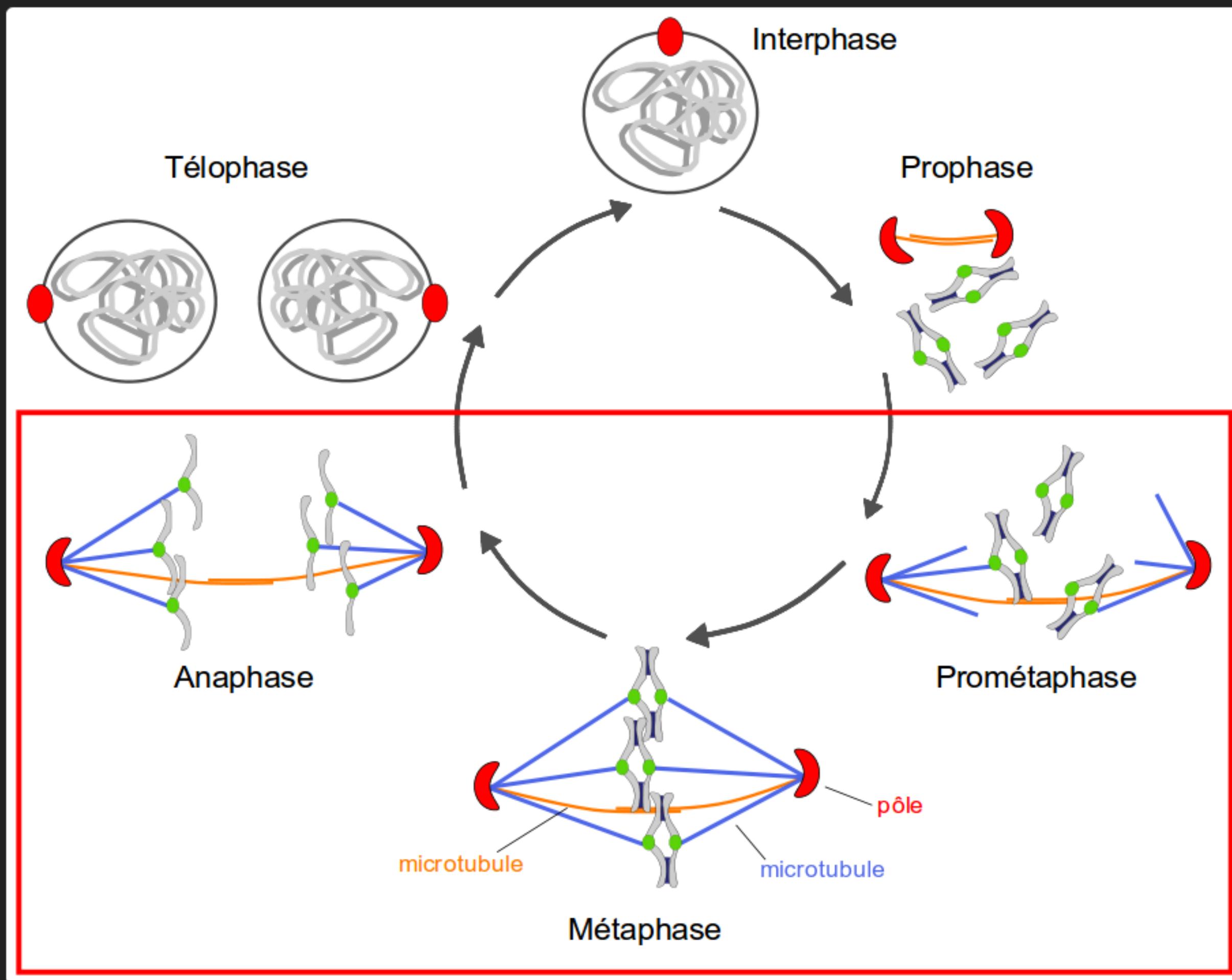
La mitose

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

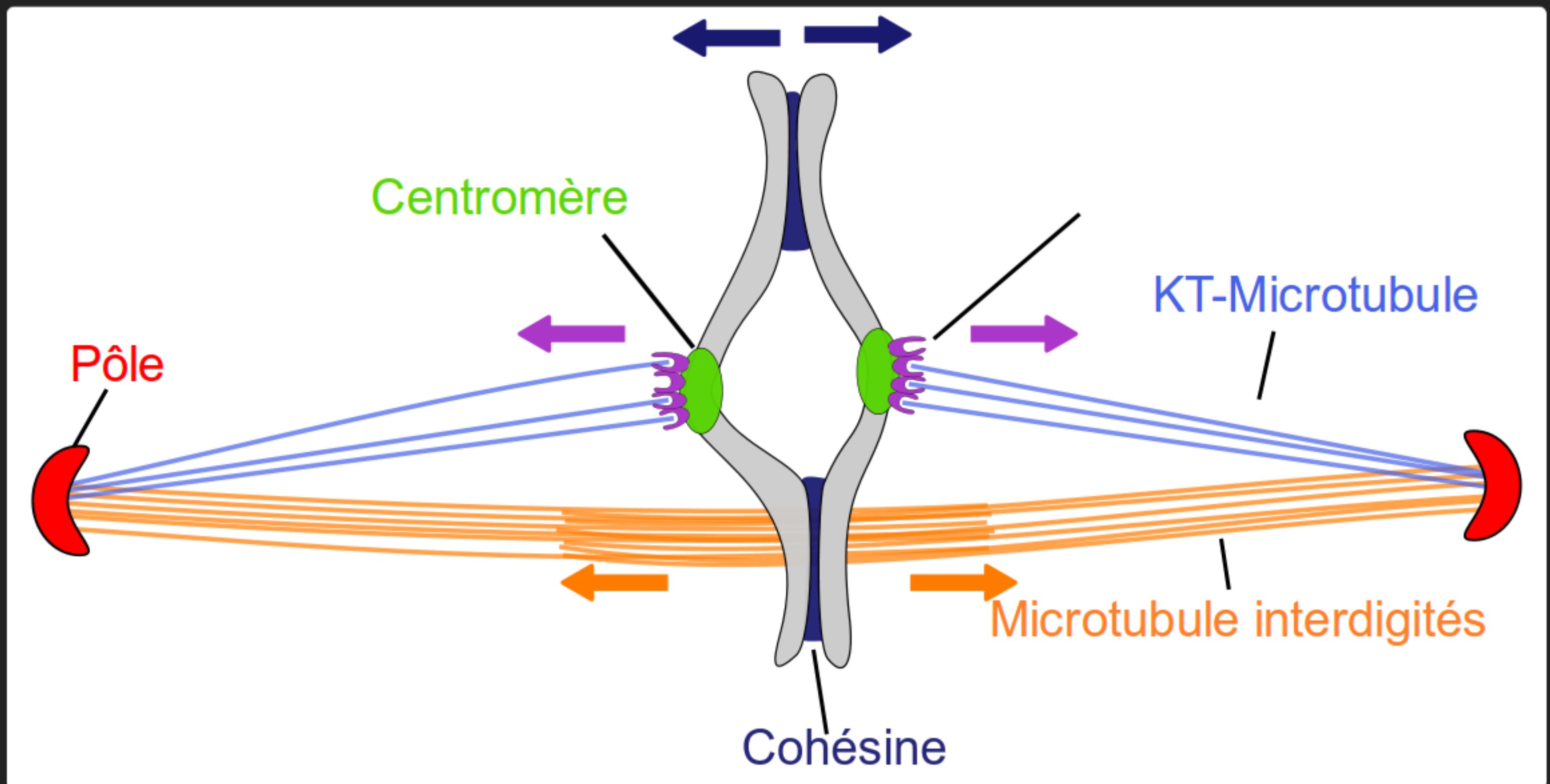


Haemanthus katherinae cell, Bajer, 1956 (time x300)

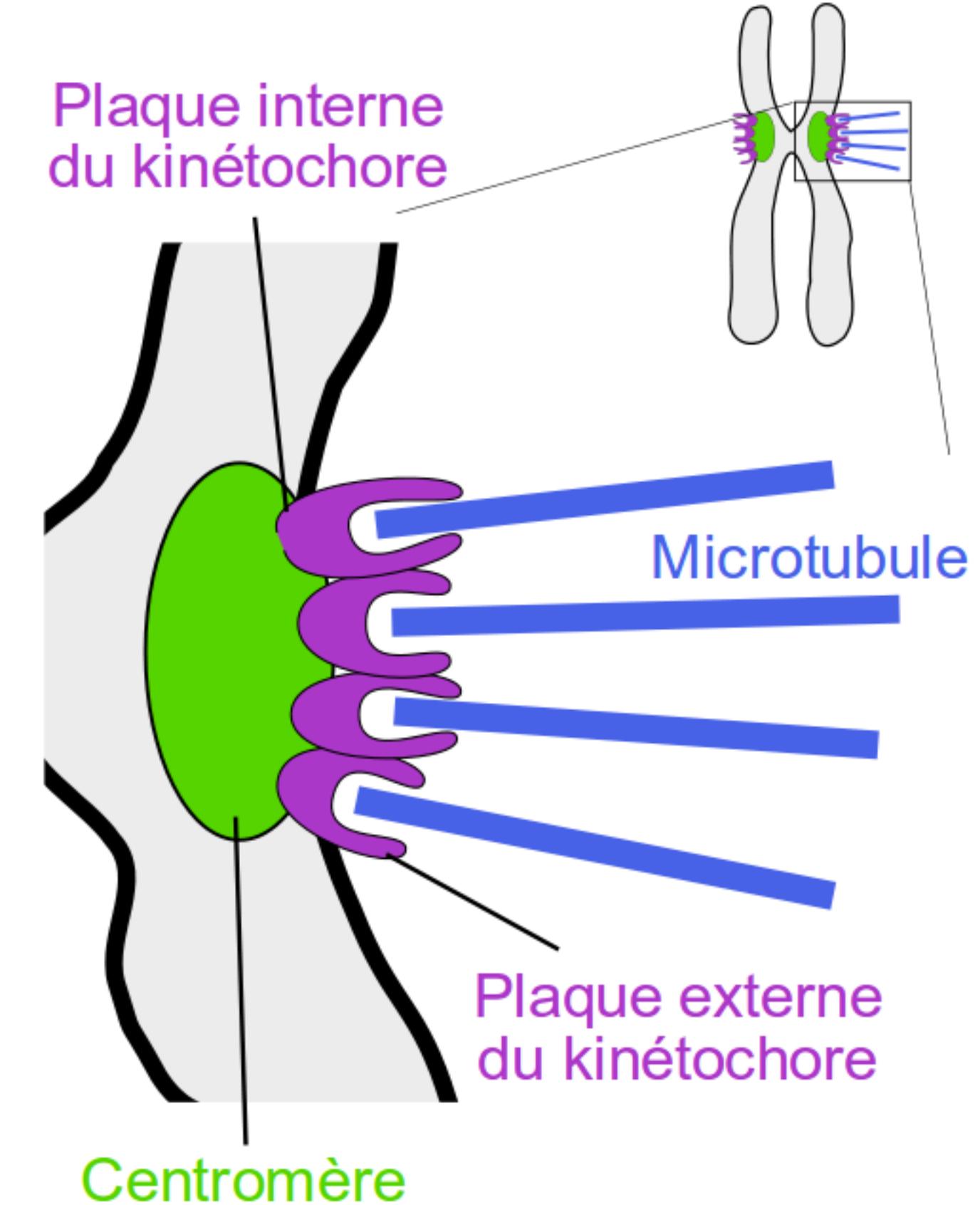
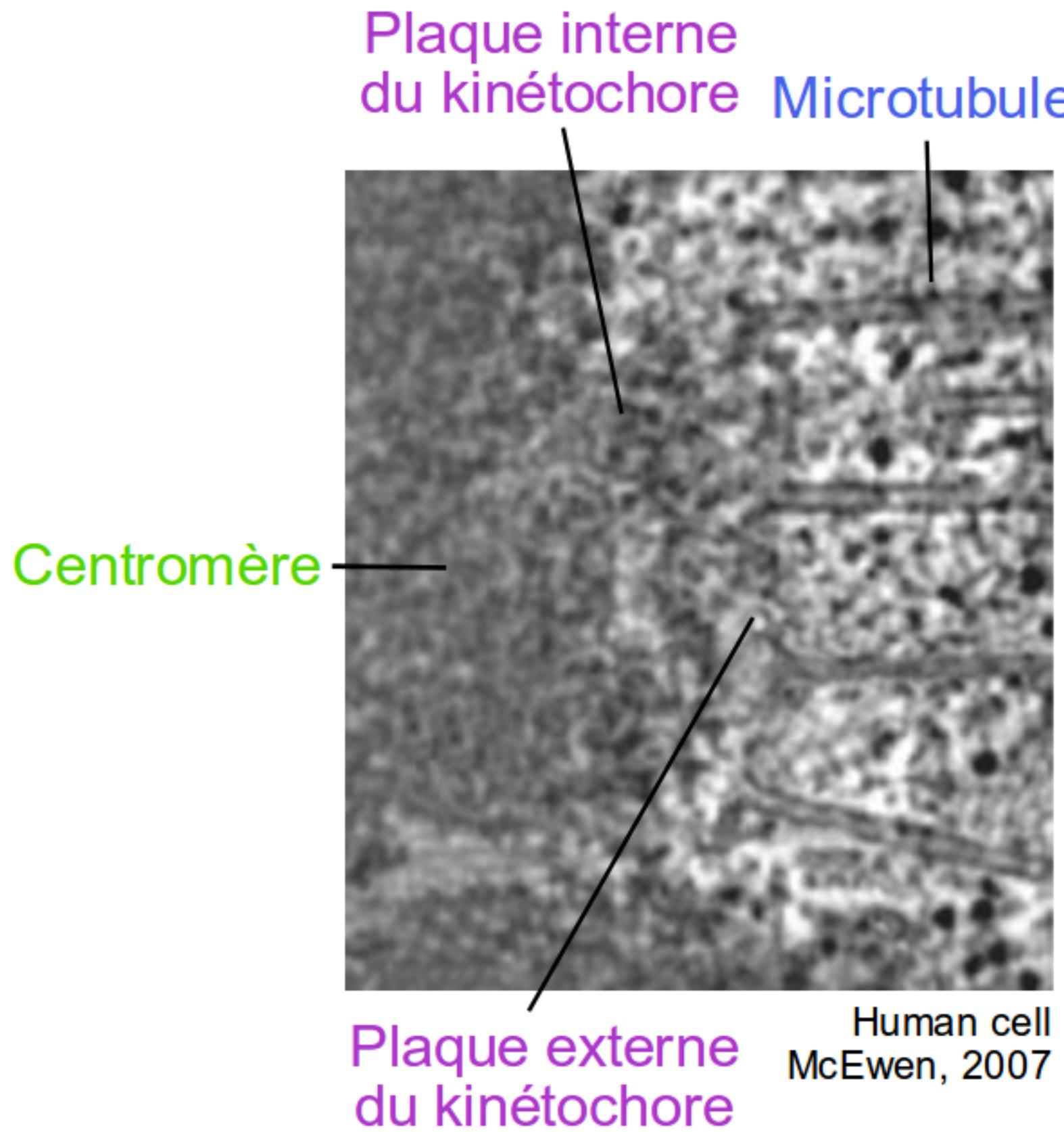
La mitose



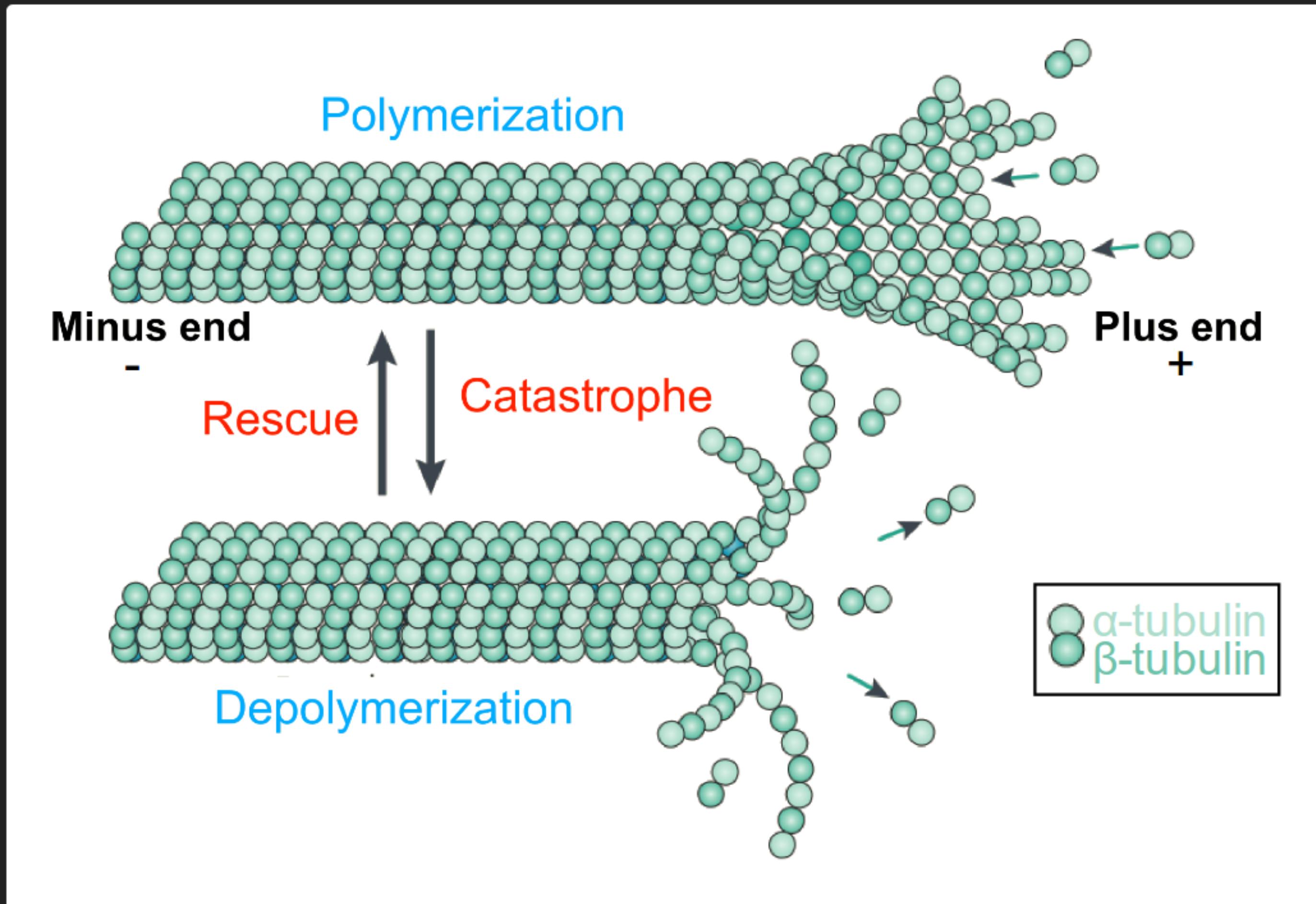
Le fuseau mitotique



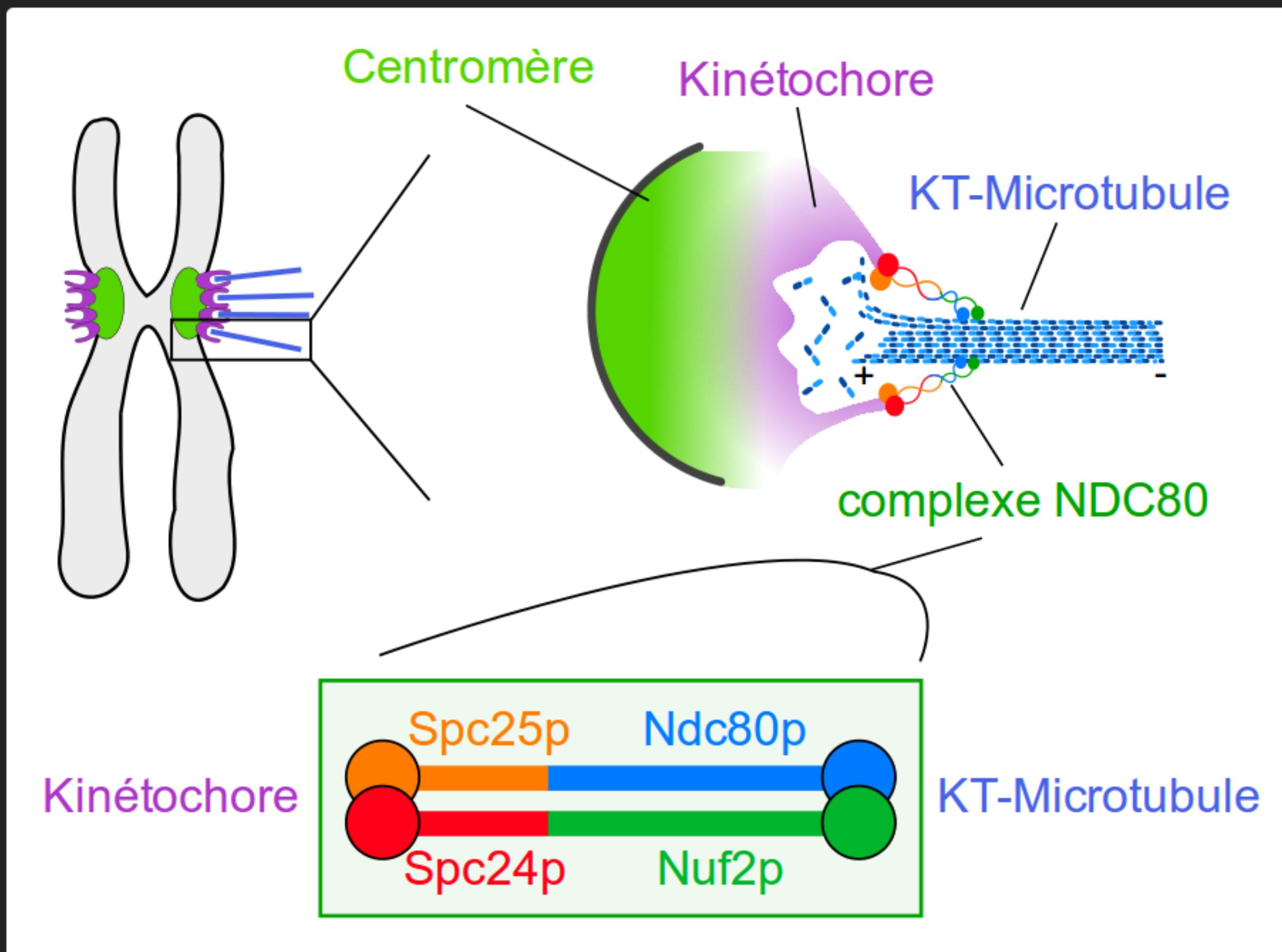
Le kinétochore



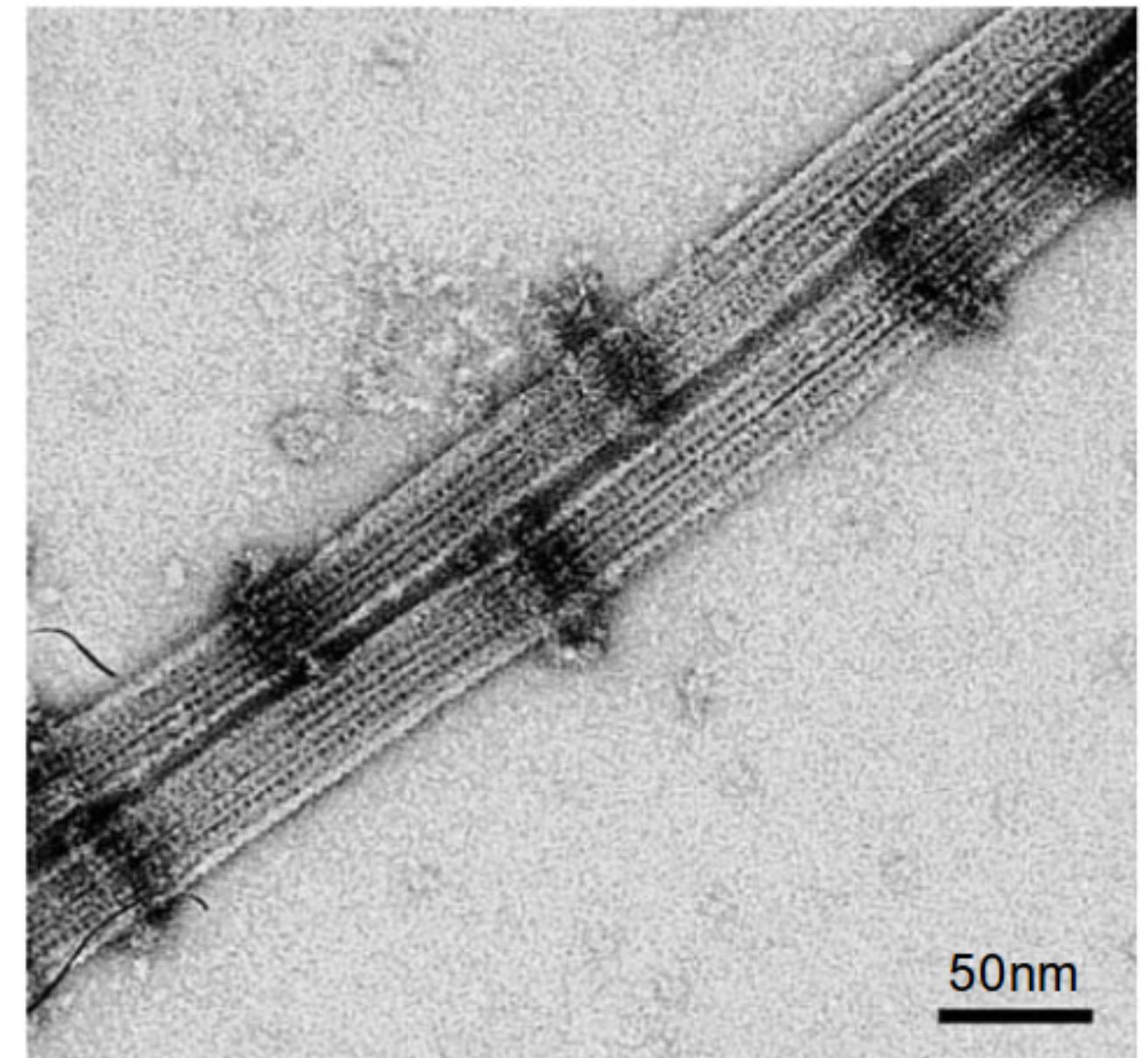
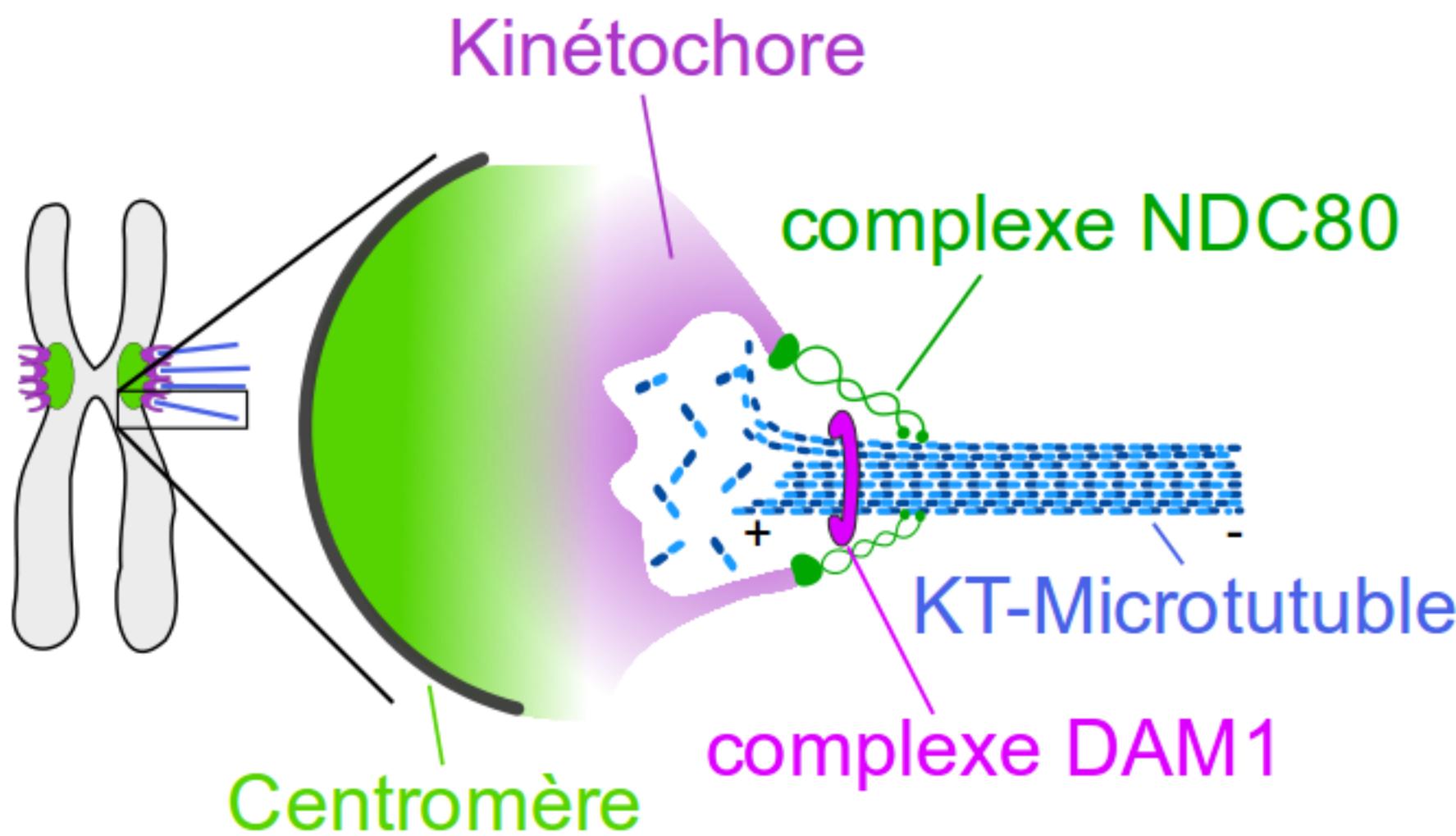
Les microtubules



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

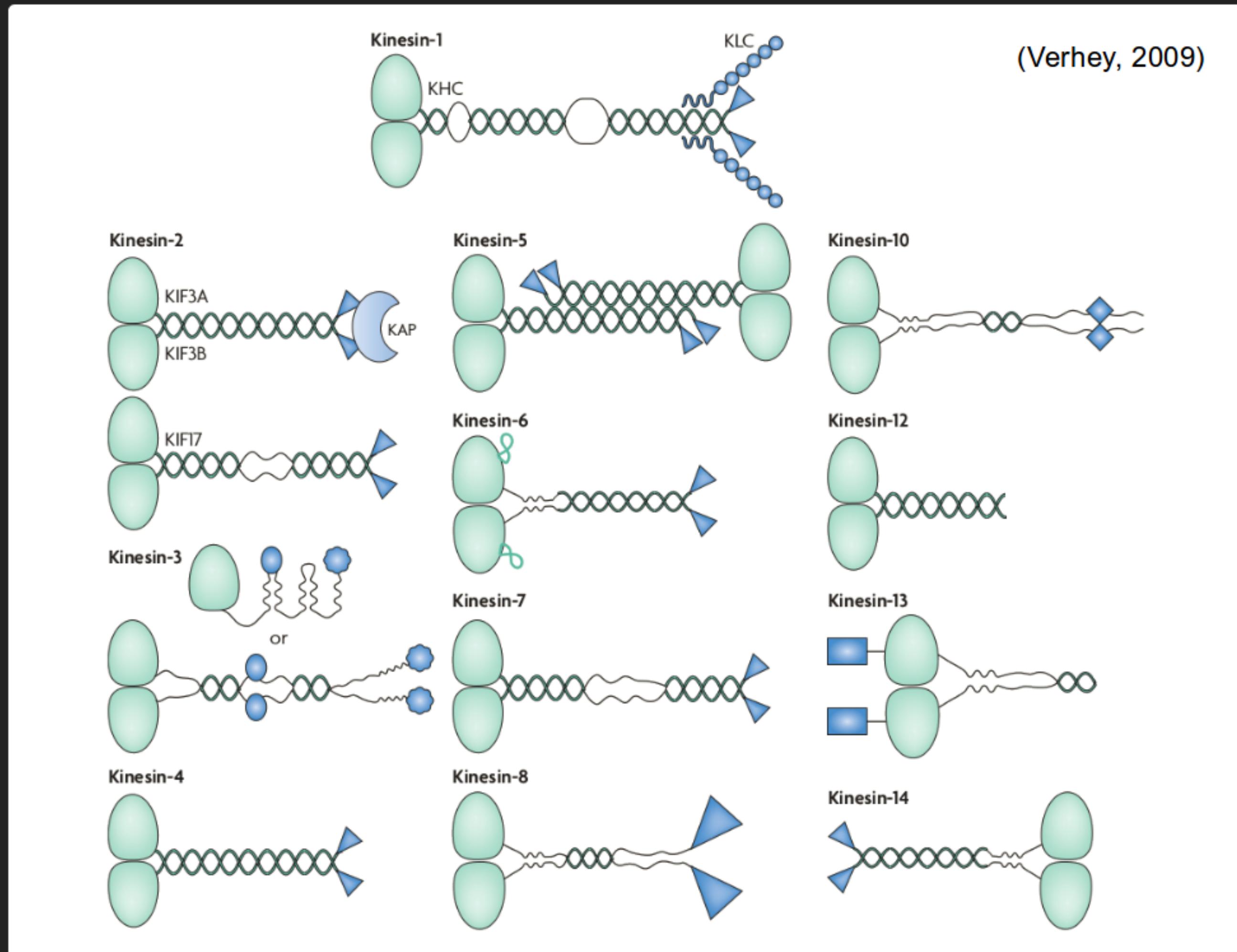


Le complexe DAM1 : un acteur clé de la stabilité de l'attachement KT-MT

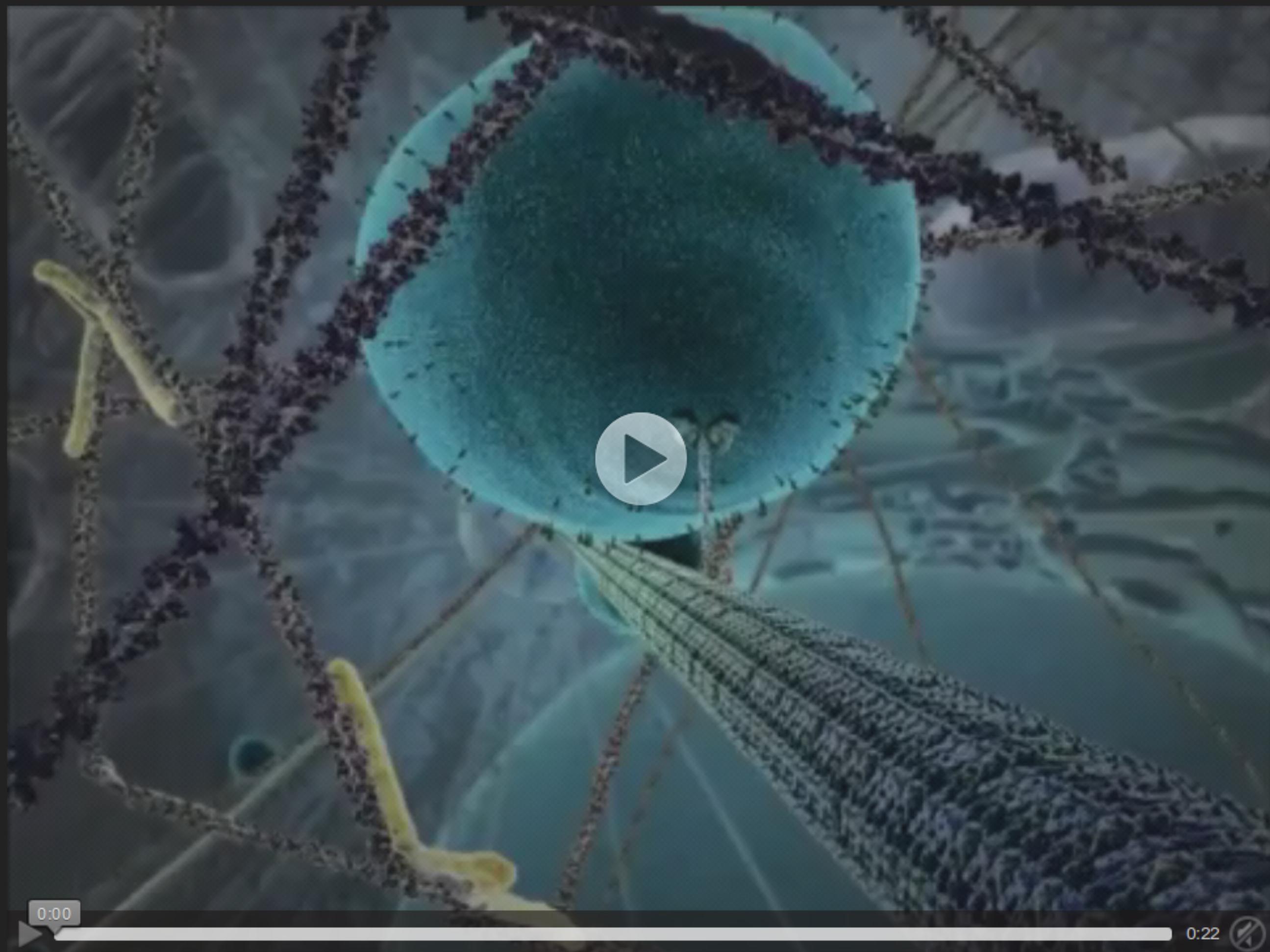


(Westermann, 2005)

Les kinésines : des protéines motrices

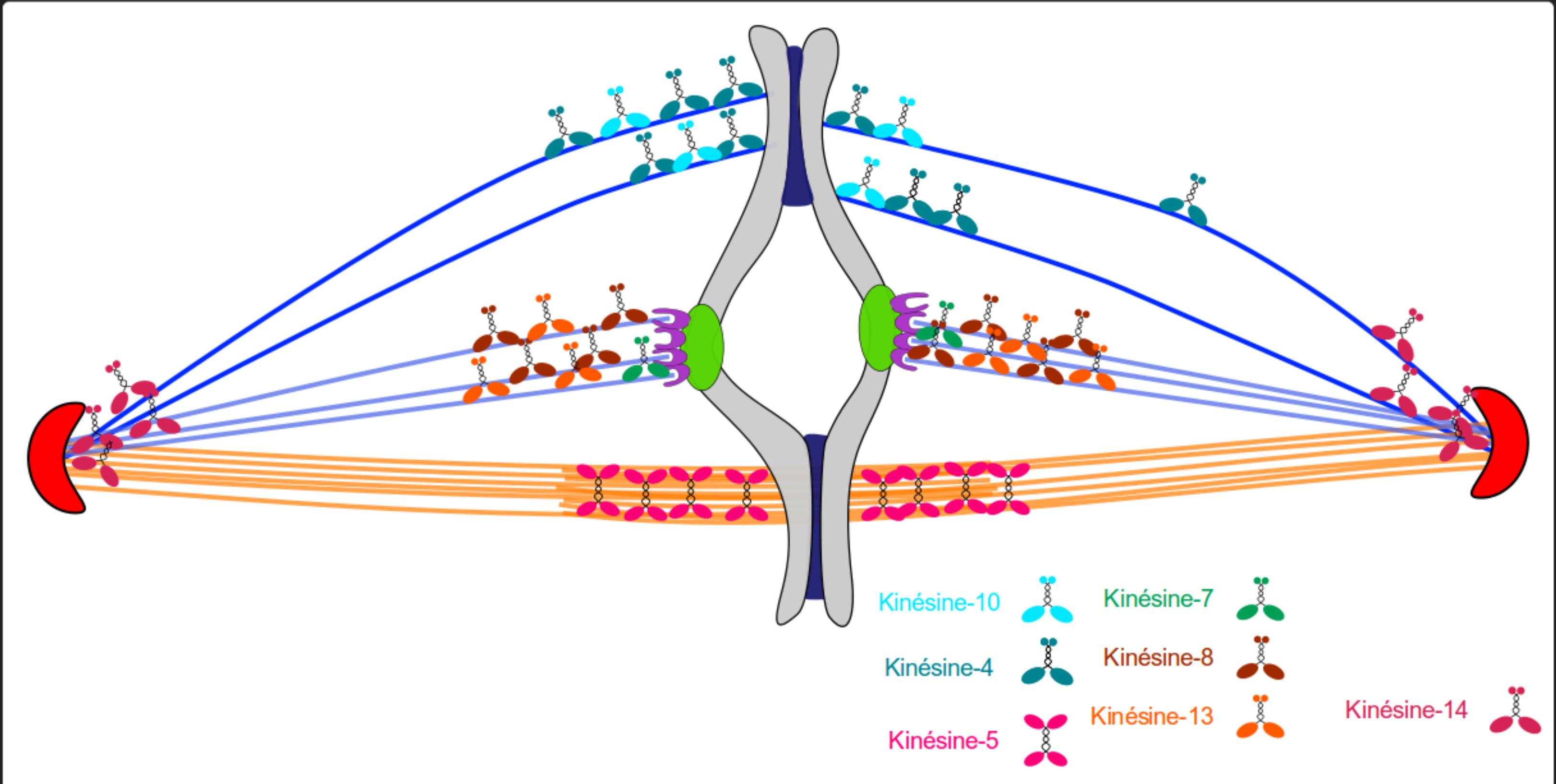


Les kinésines : des protéines motrices

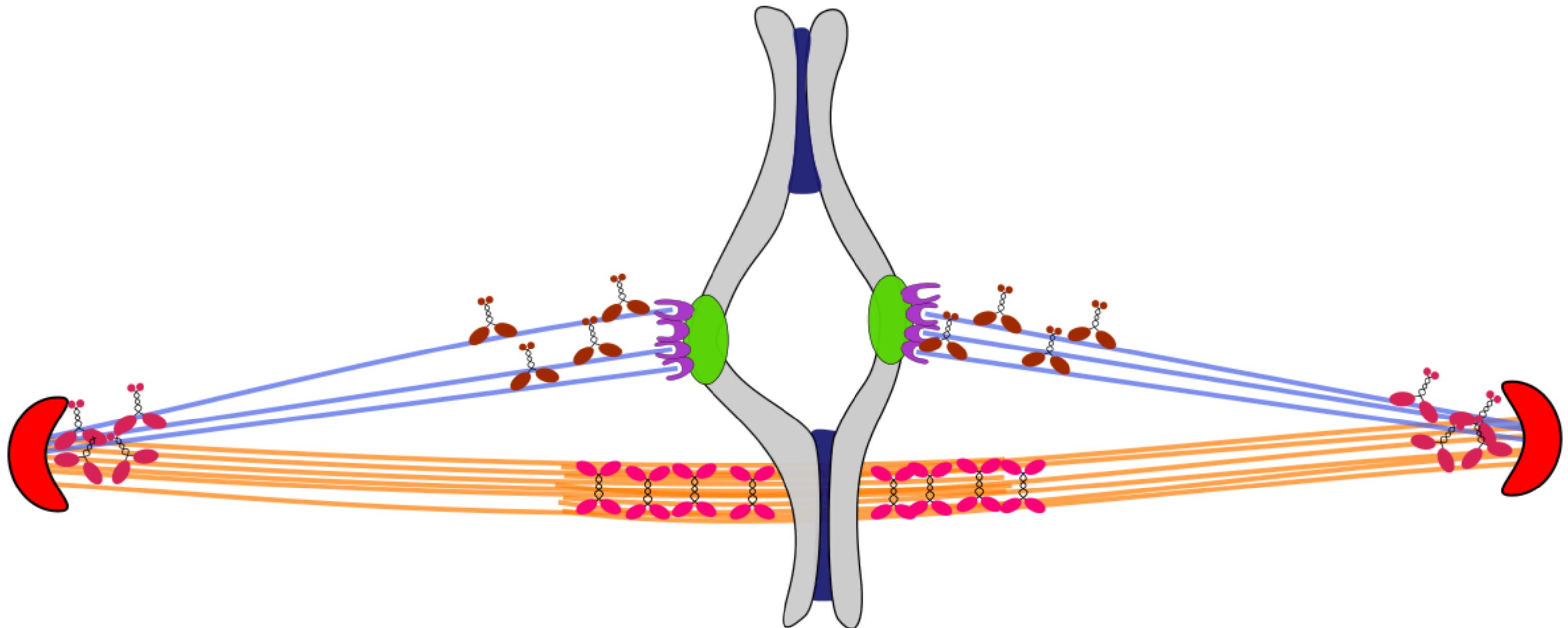


The Inner Life of the Cell, 2007

Les kinésines en métaphase



Les kinésines en métaphase

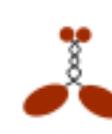


Kinésines présentes chez la levure à fission

Kinésine-5



Kinésine-8

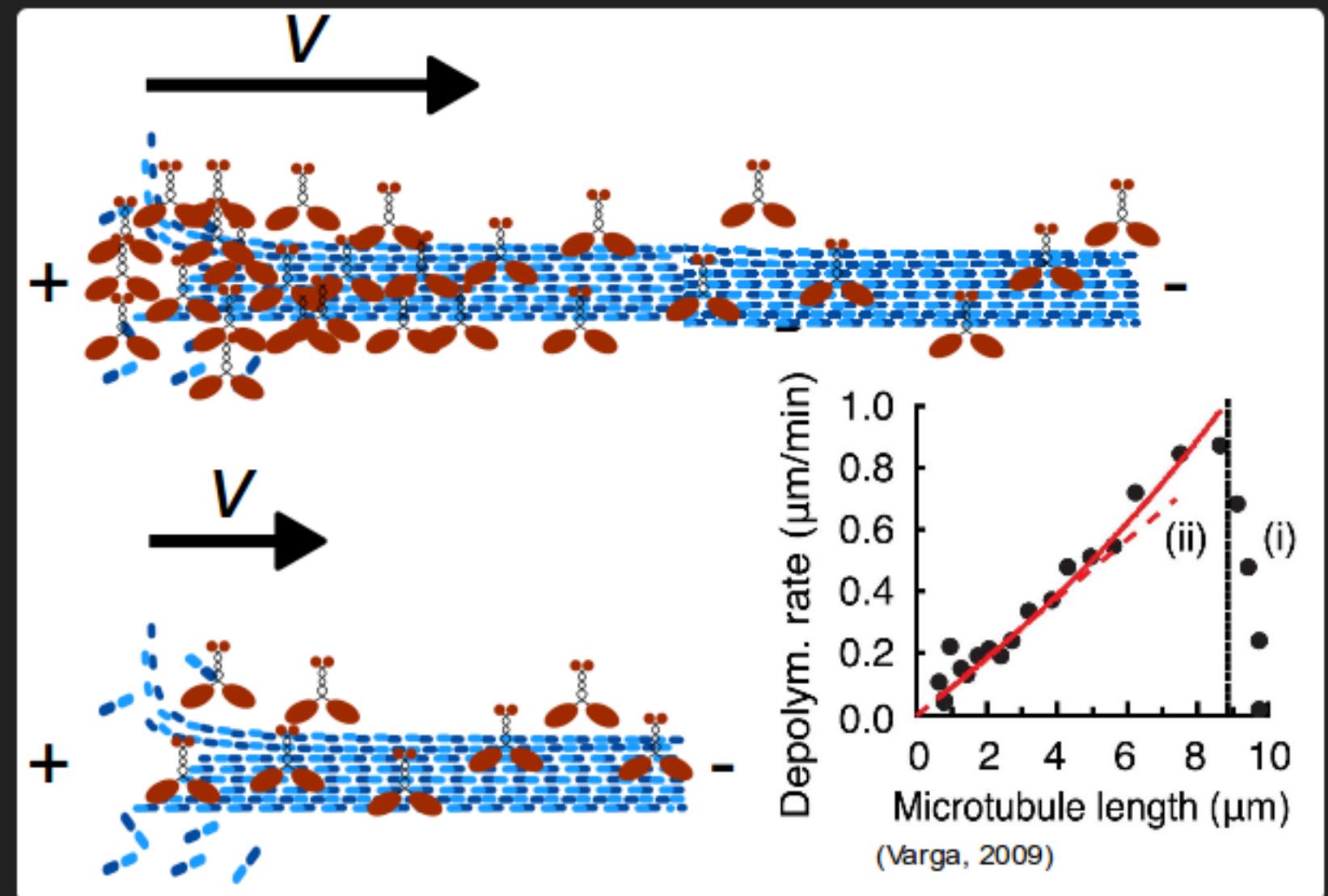


Kinésine-14



La kinésine-8 modifie la dynamique des microtubules

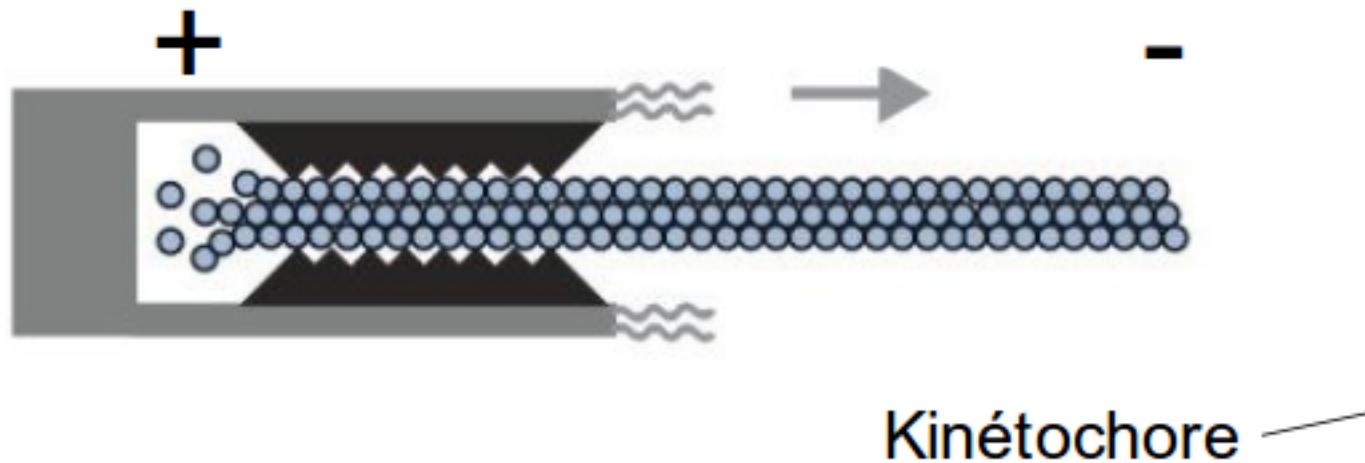
- Activité dépendante de la longueur du microtubule
- Humain : Kif18a, Kif18b
- Drosophile : Klp67A
- Levure à bourgeon : Kip3p
- Levure à fission : Klp5, Klp6



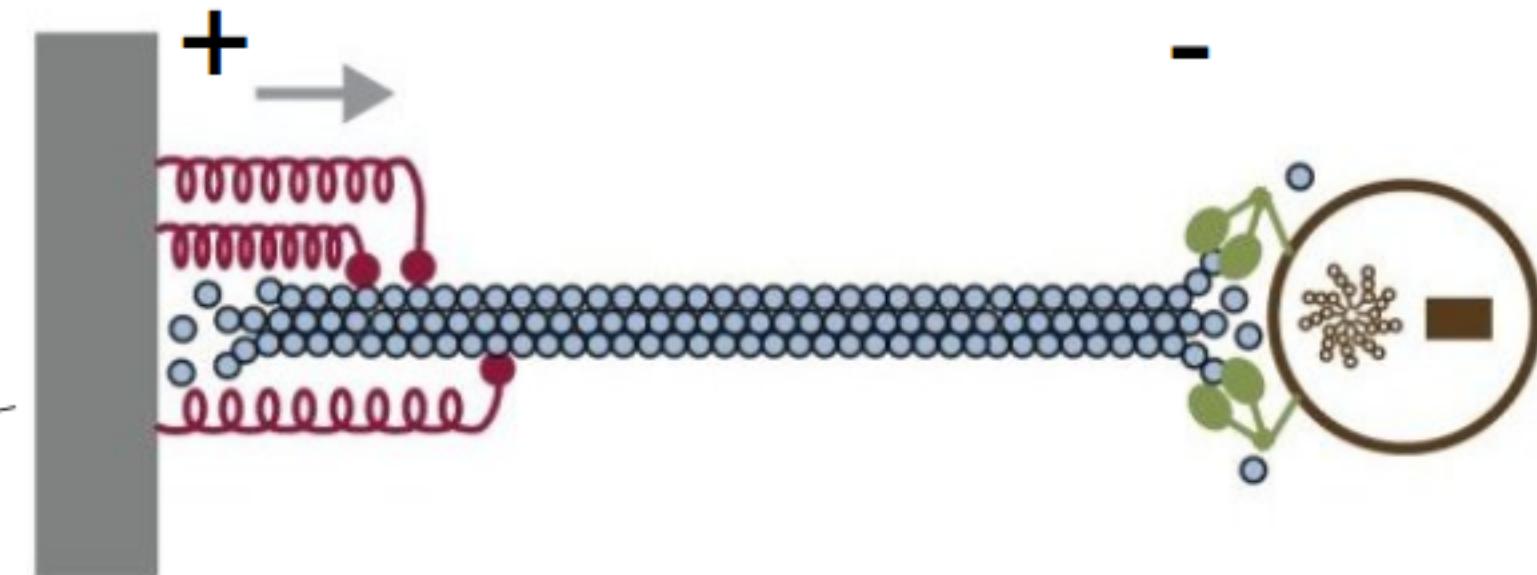
Une kinésine pouvant « capter » une information spatiale au sein de la cellule.

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

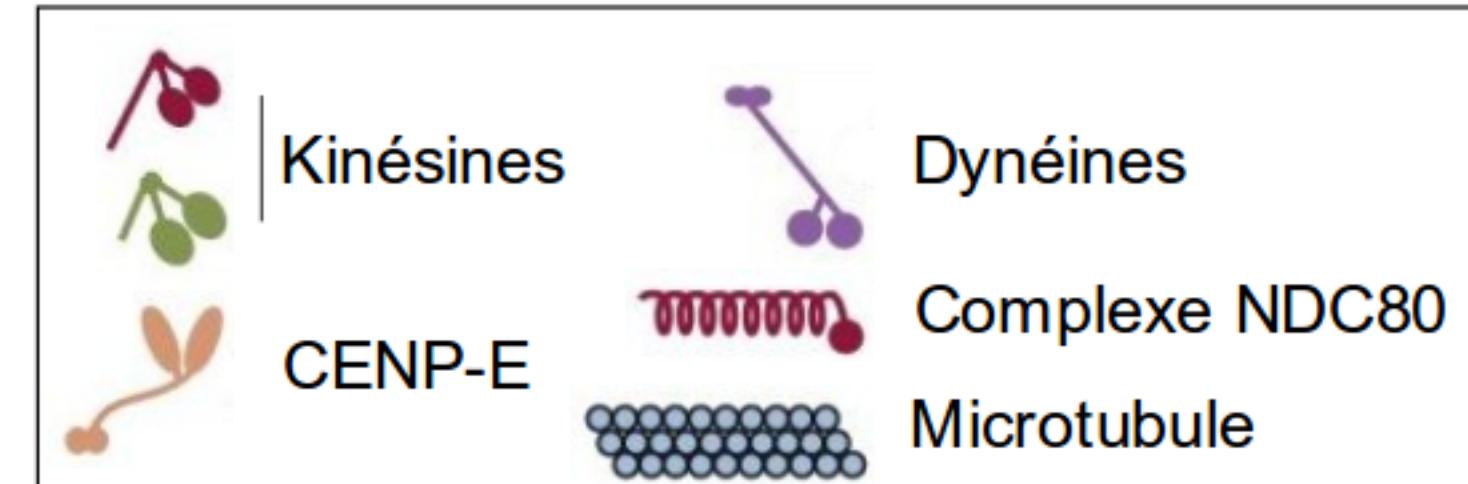
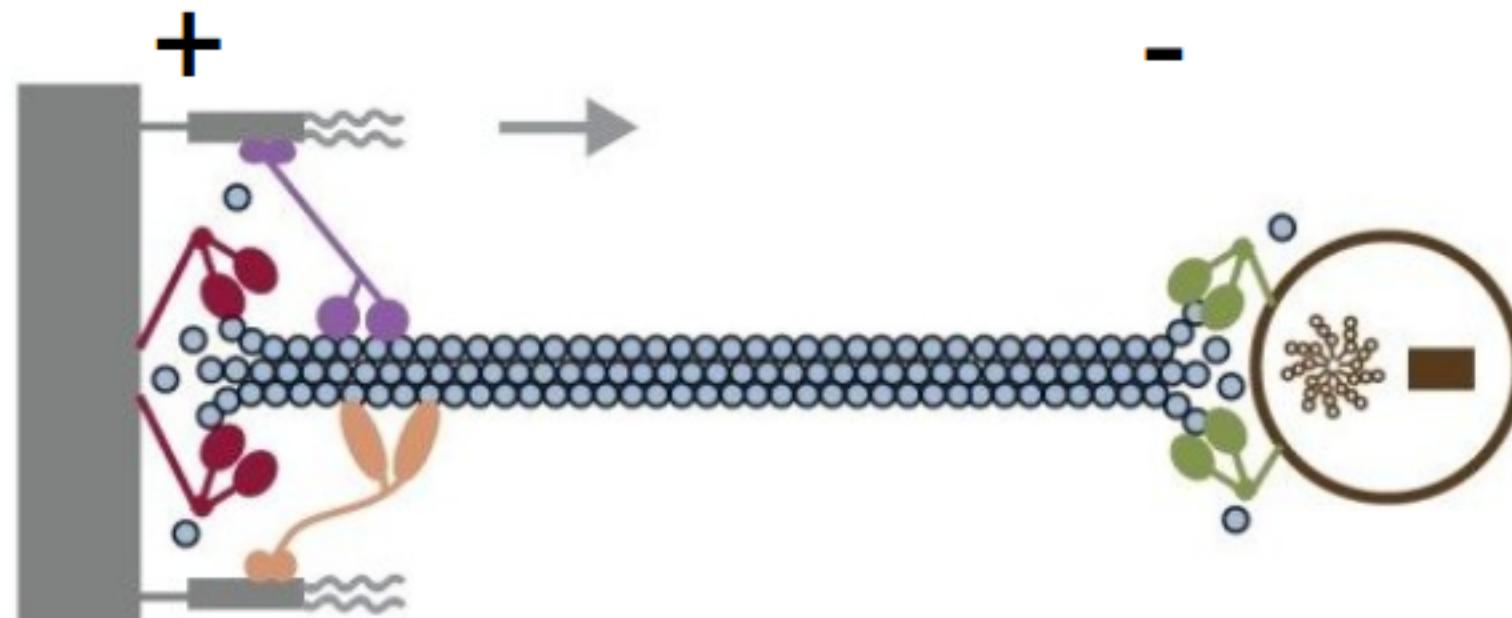
1 Modèle de Hill (1985)



3 Campas, 2006



2 Civelekoglu-Scholey, 2006



Civelekoglu-Scholey, Cimini, 2014

La métaphase : point d'orgue de la division cellulaire



cellule PtK1, Cimini, 2004



cellule HeLa, Stumpff, 2008

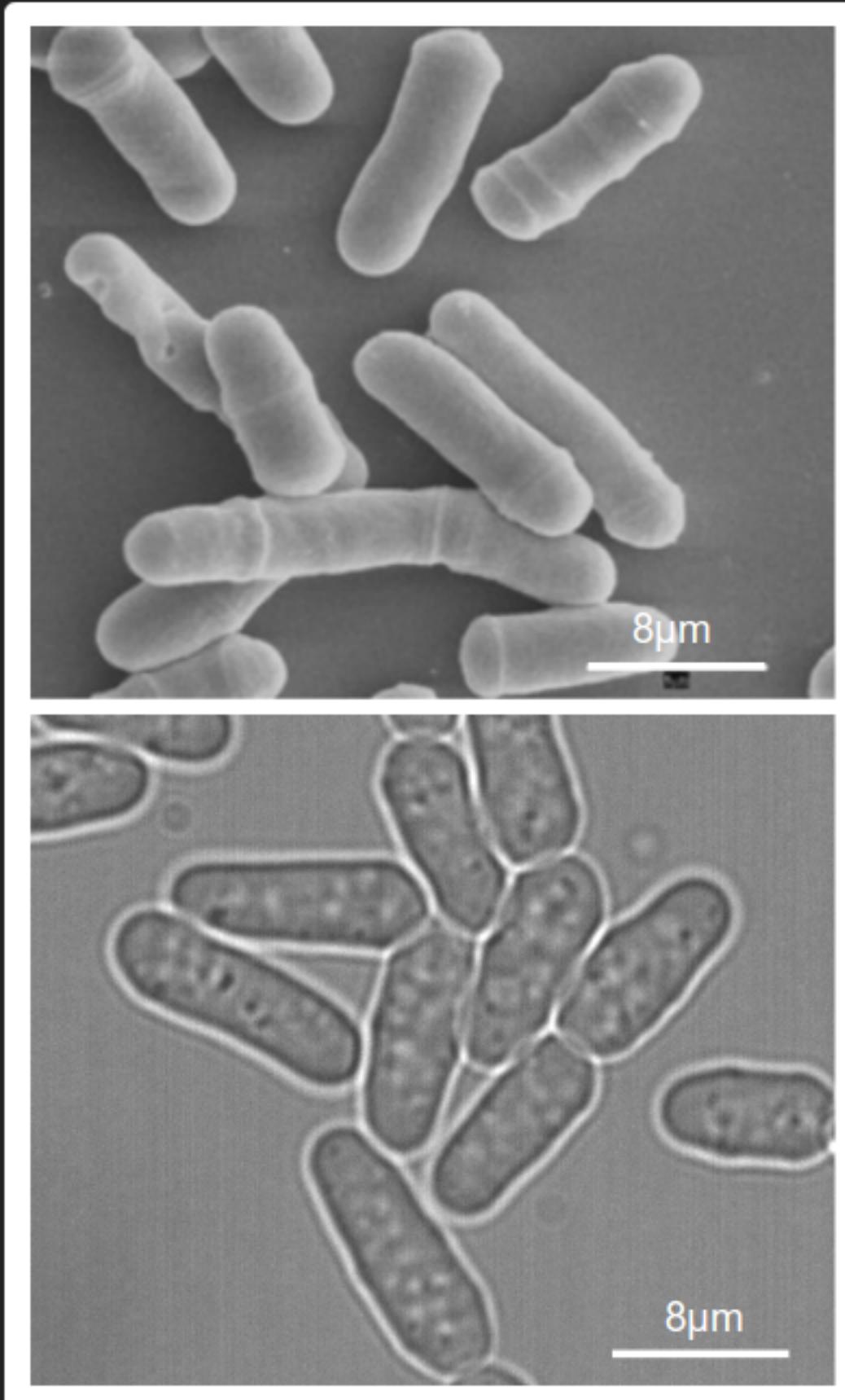
- Qu'est ce qui contrôle et génère le mouvement des chromosomes ?
- Quels mécanismes régulent l'alignement des chromosomes ?
- Le mouvement et l'alignement sont-ils deux processus indépendants ?
- Quels sont les acteurs clés agissant durant ces processus ?

Outils utilisés

S. pombe: un outil génétique puissant

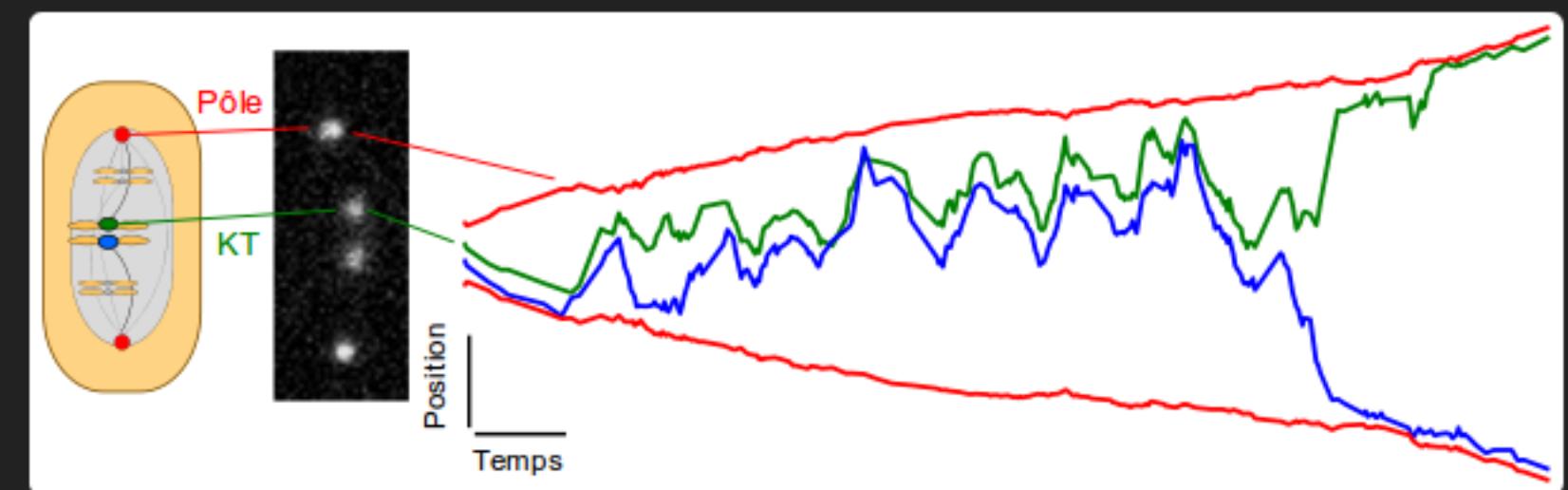
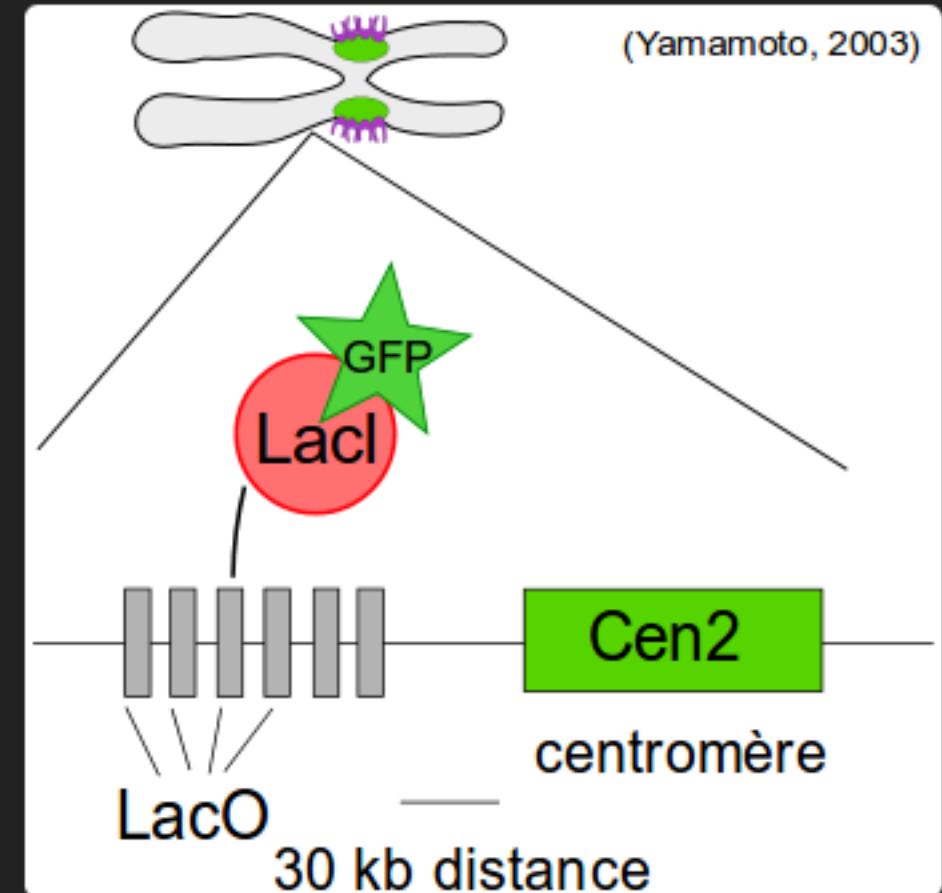
Modélisation de la dynamique des chromosomes

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



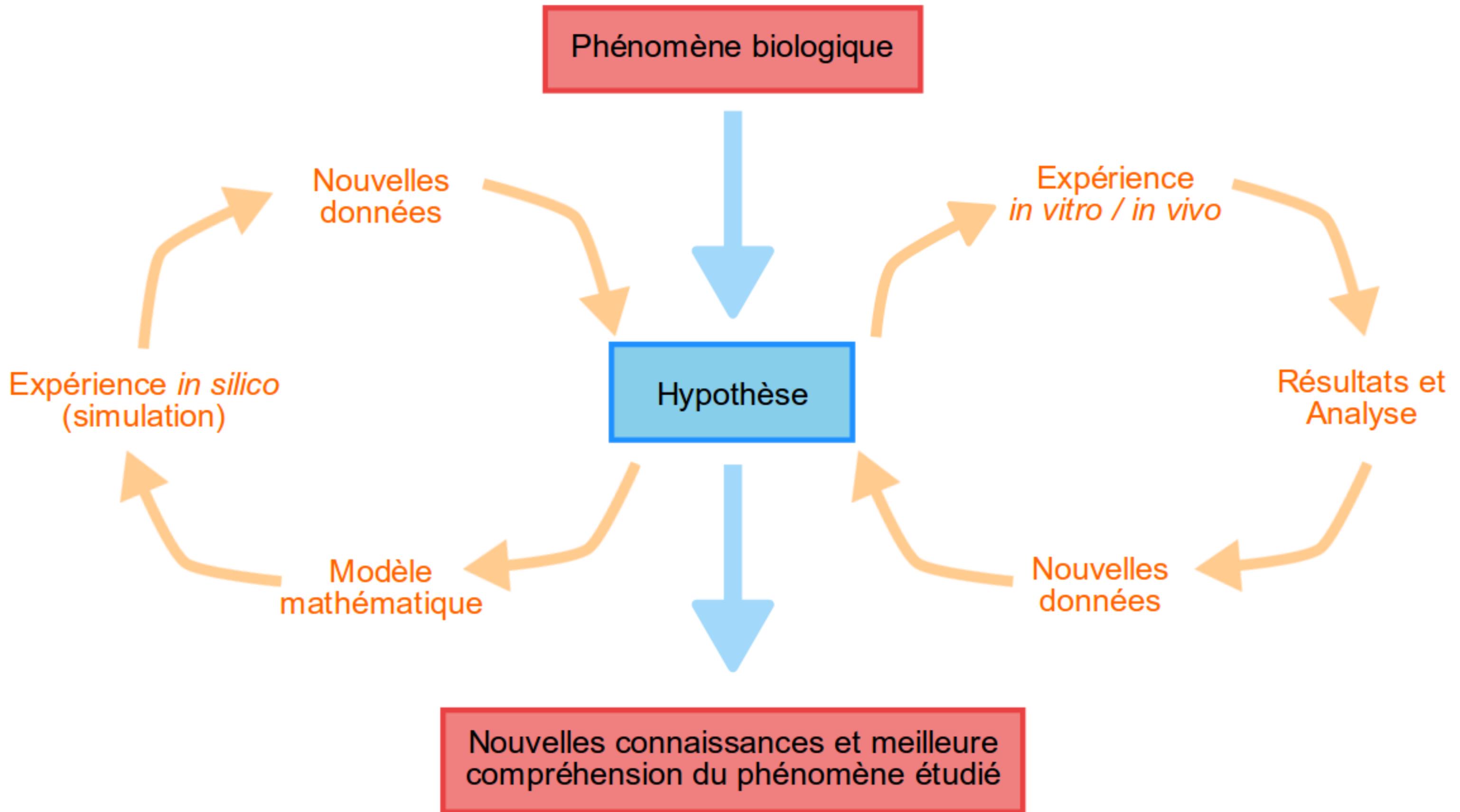
- Organisme unicellulaire
- Cellule eucaryote
- Structure du fuseau mitotique conservé
- Trois chromosomes
- Division symétrique
- Pas de chromokinésines

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

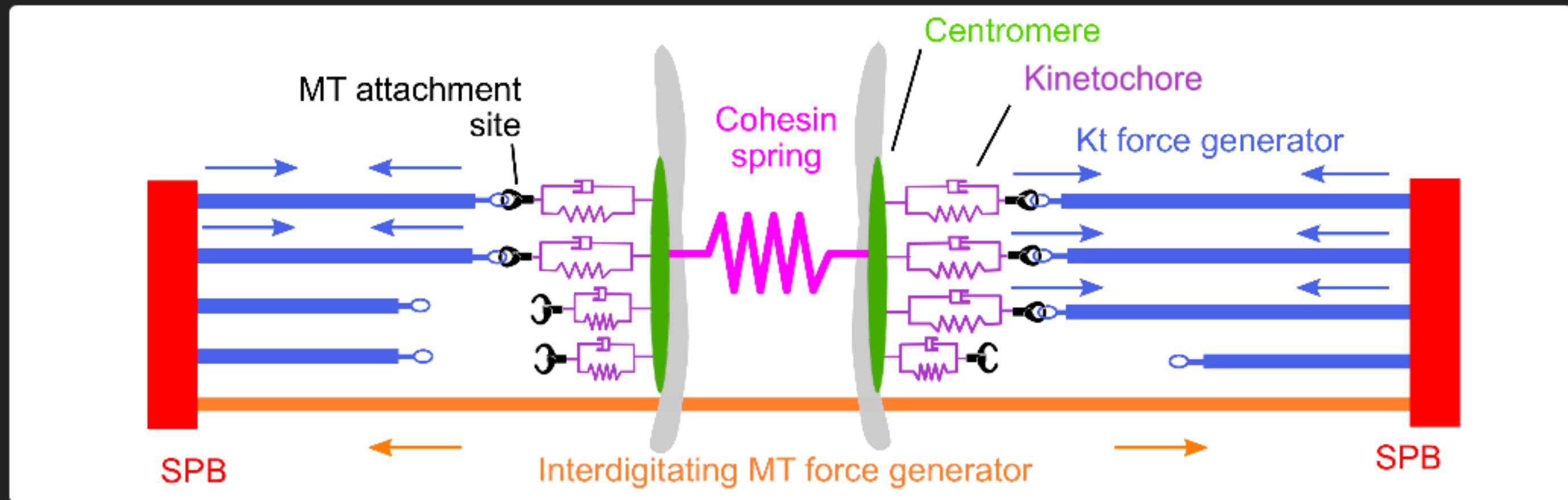


Cen2-GFP, Cdc11-GFP

La modélisation en biologie



Modélisation de la ségrégation des chromosomes : la théorie

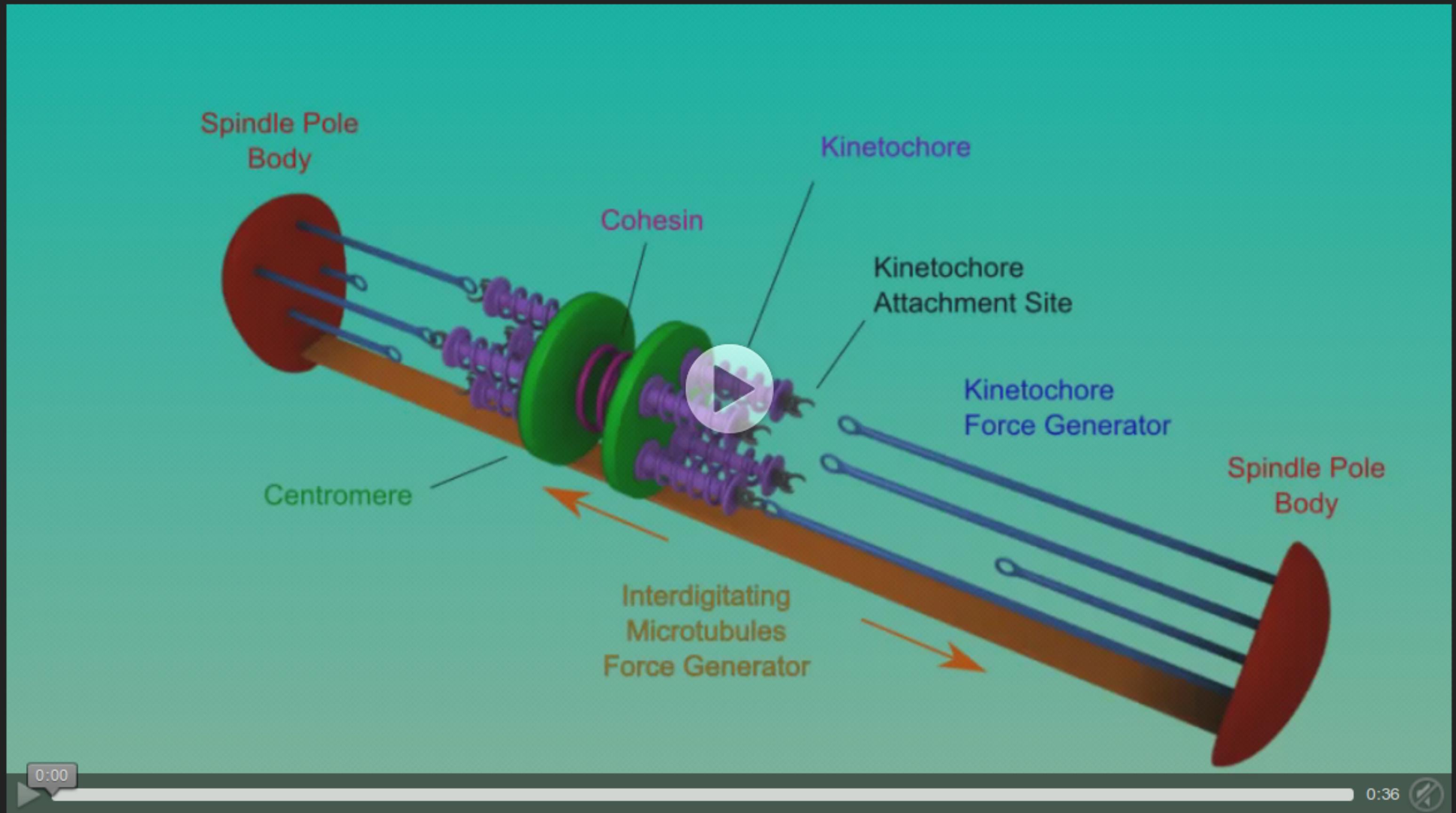


Gay, 2012

Hypothèses principales :

- Forces « passives » : piston et ressort
- Forces « actives » : moteurs
- Structure en balance de force
- Attachements et détachements stochastiques
- Reproduit la ségrégation fidèle des chromosomes

Modélisation de la ségrégation des chromosomes : la pratique



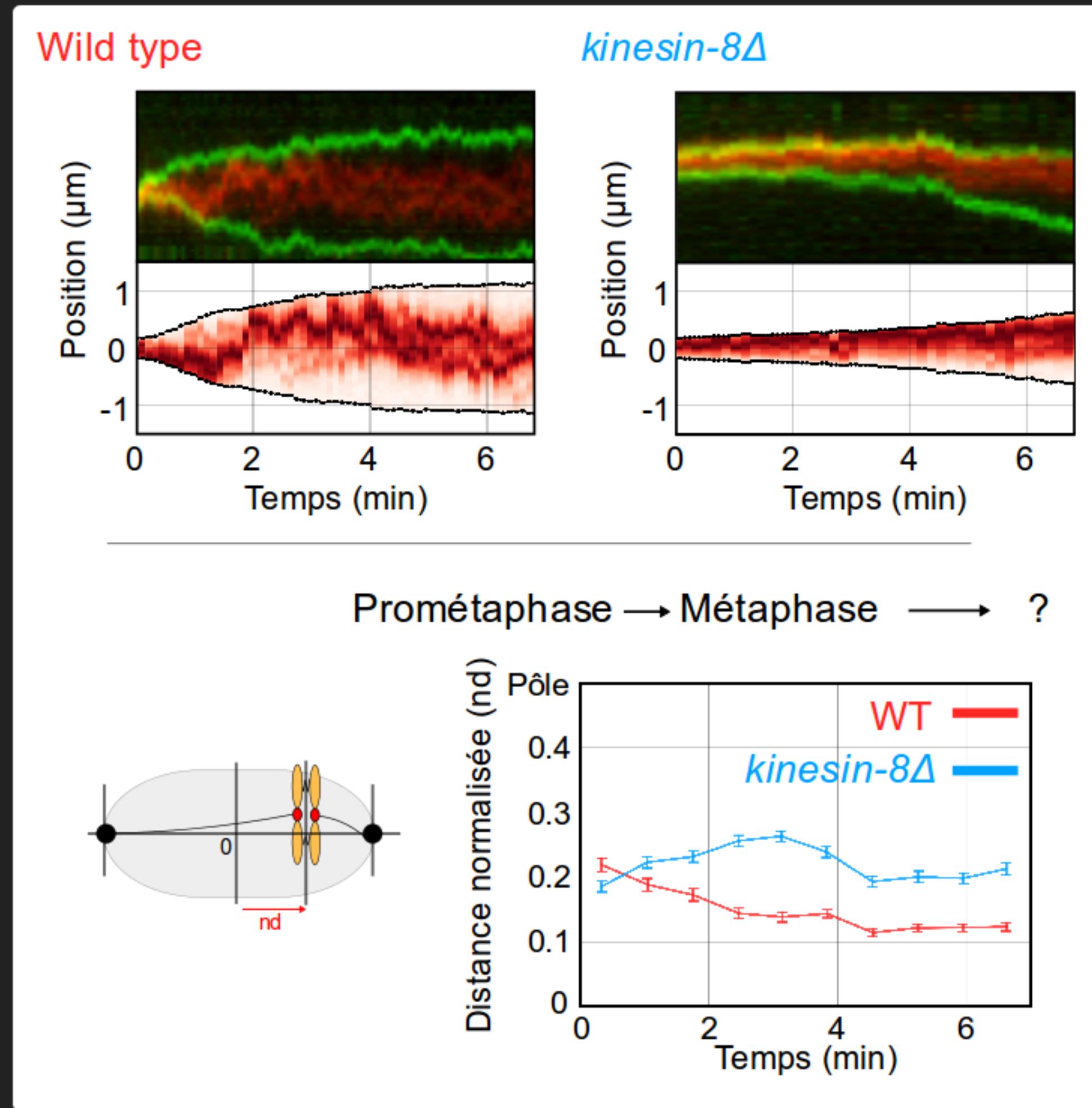
Gay, 2012

Résultats

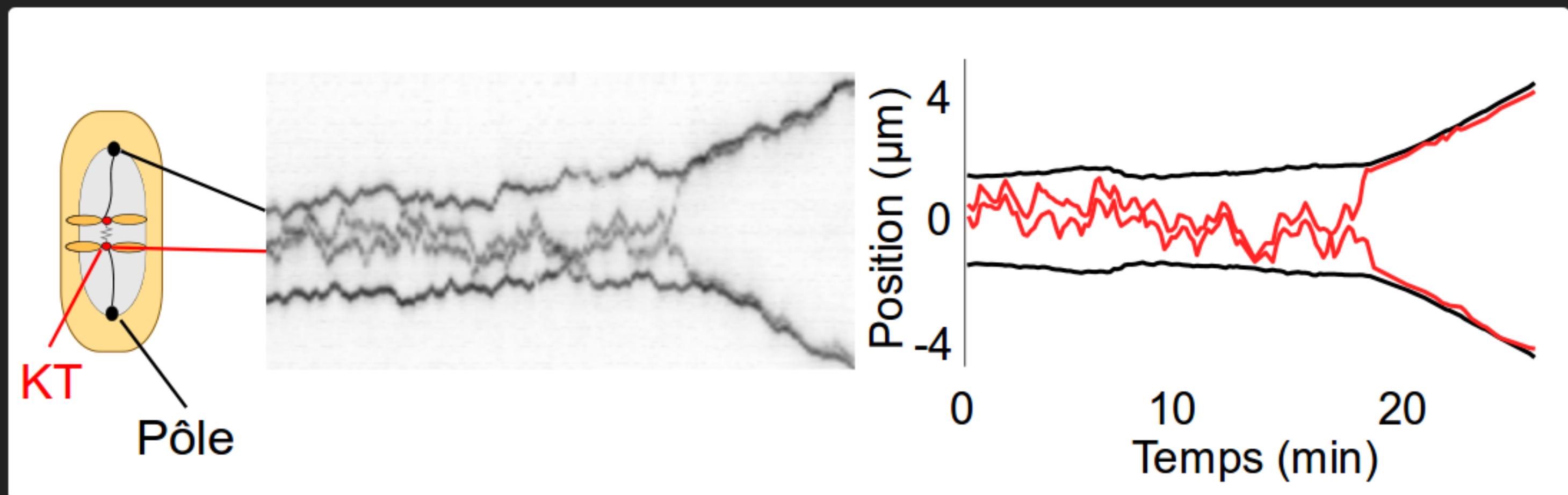
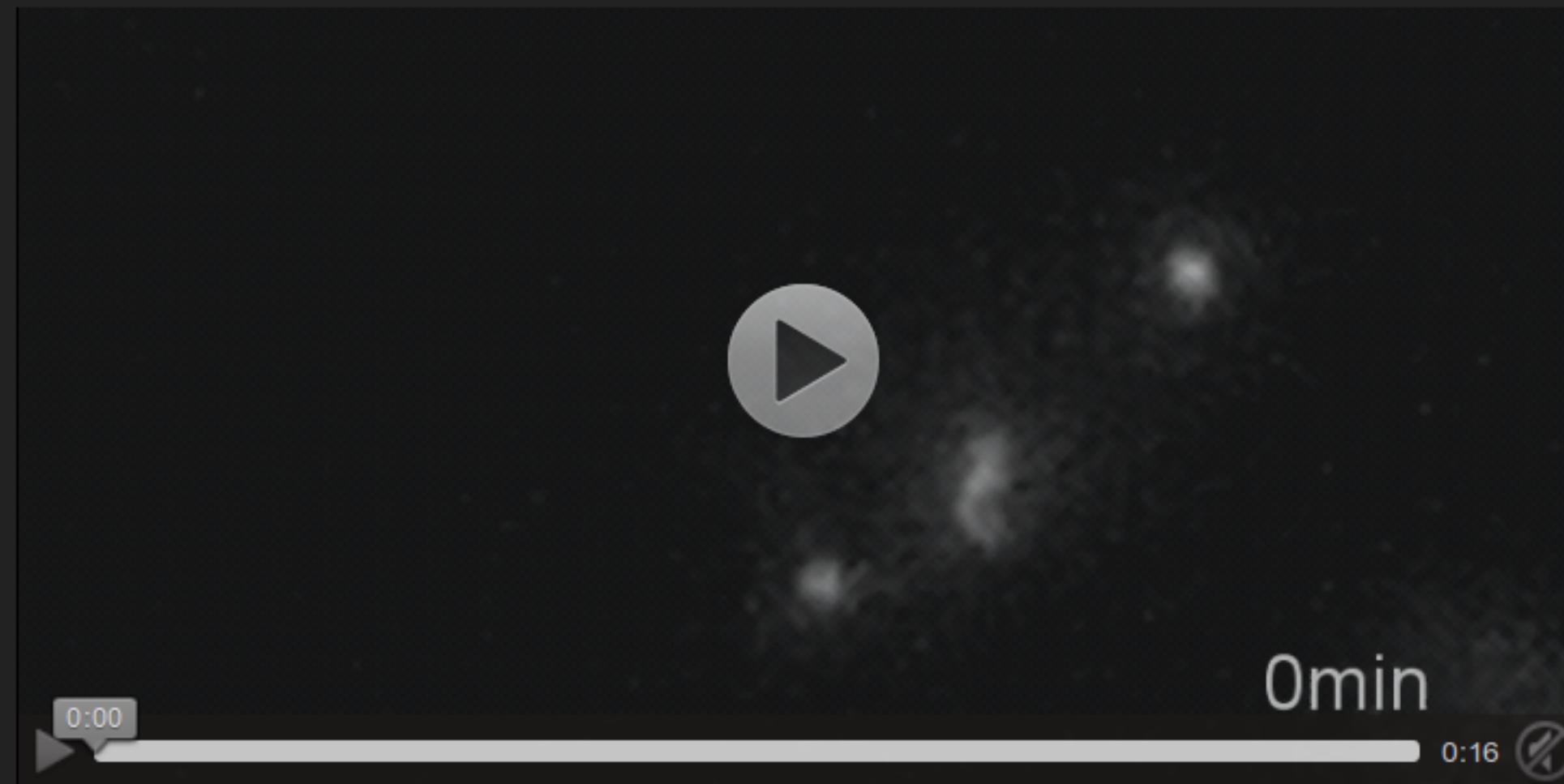
Caractérisation des mécanismes d'alignement et d'oscillation des chromosomes

Modélisation de l'alignement des chromosomes

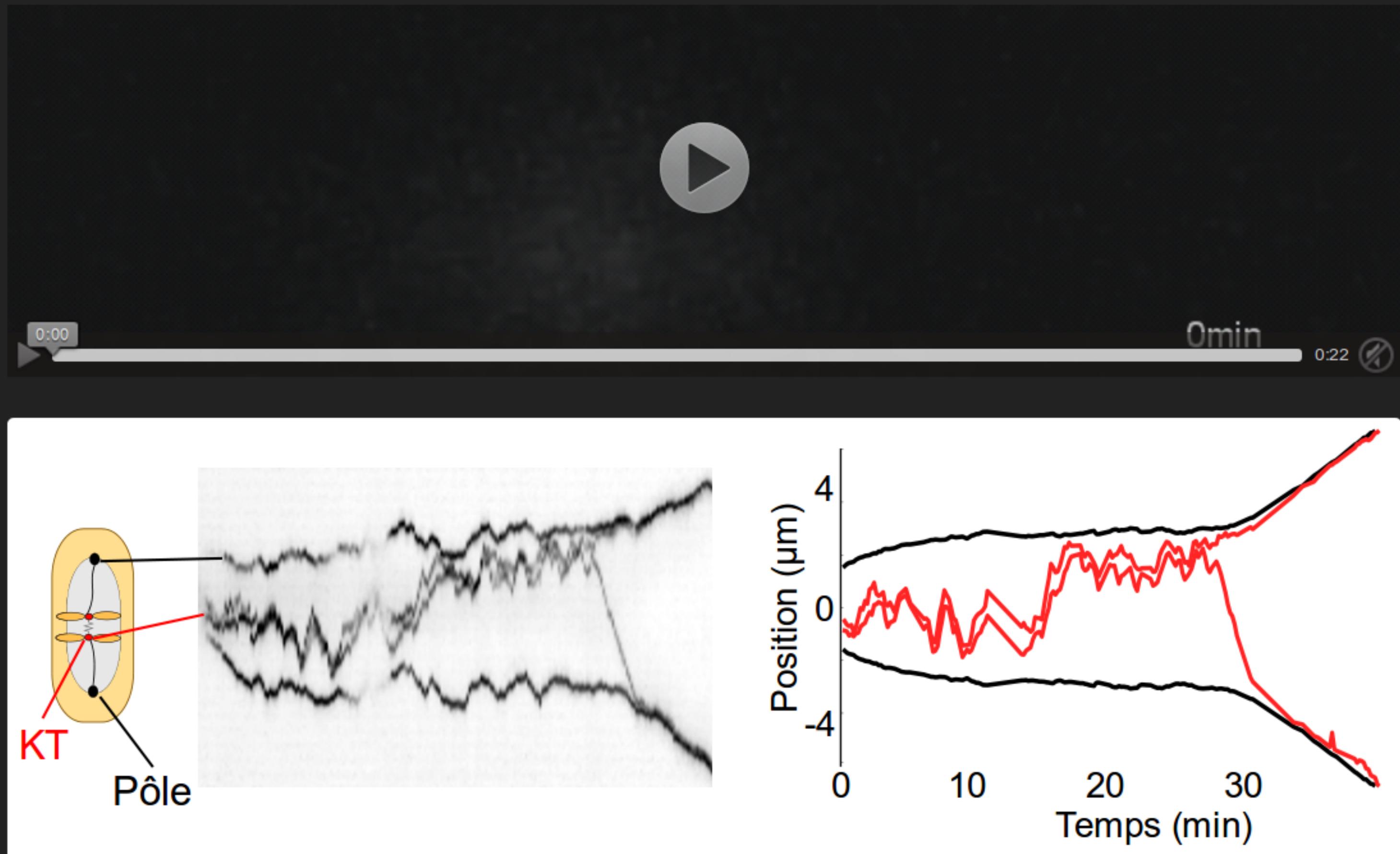
L'alignement est un processus actif qui prend place avant la métaphase



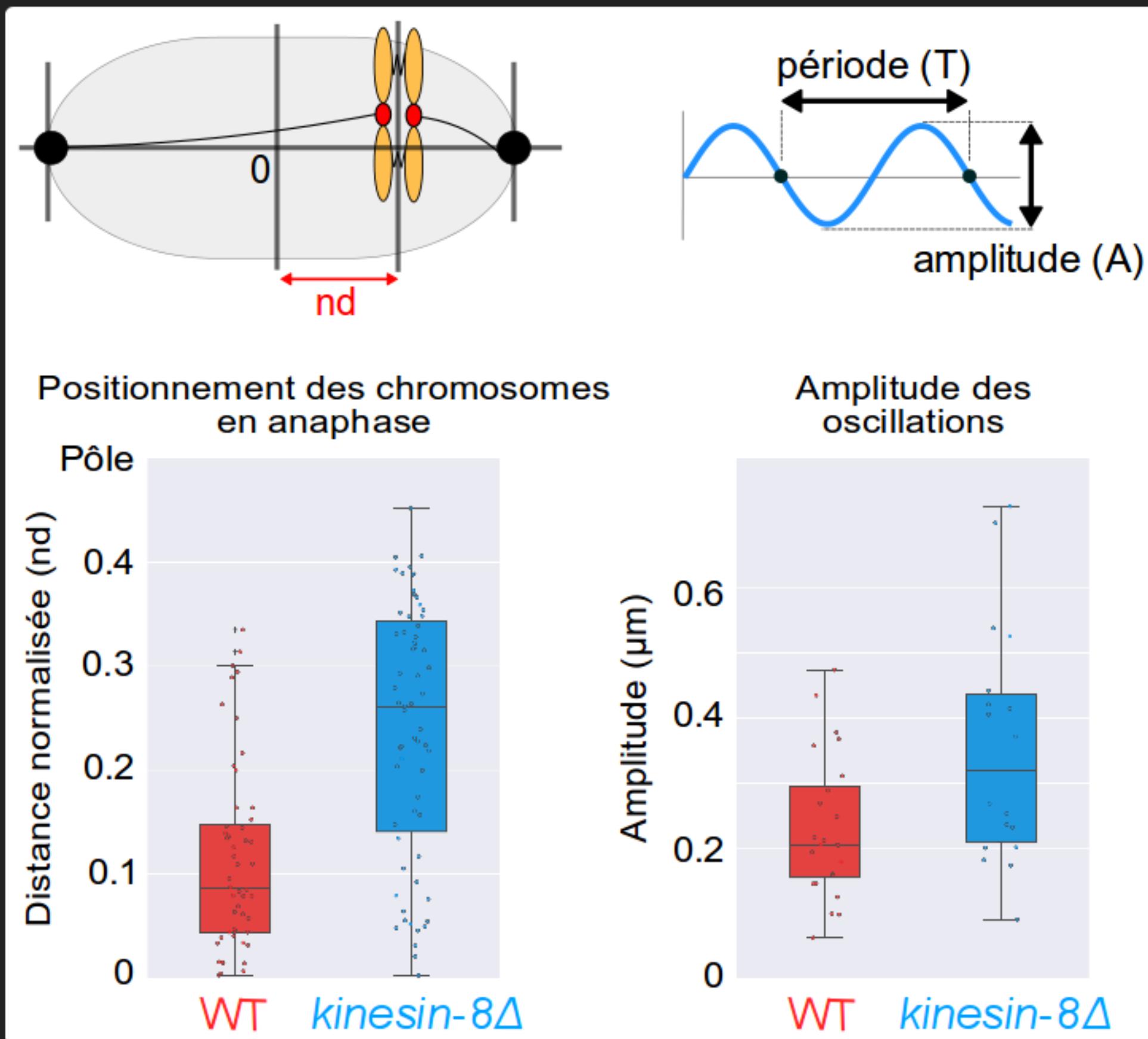
Mouvement et alignement des chromosomes en métaphase



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

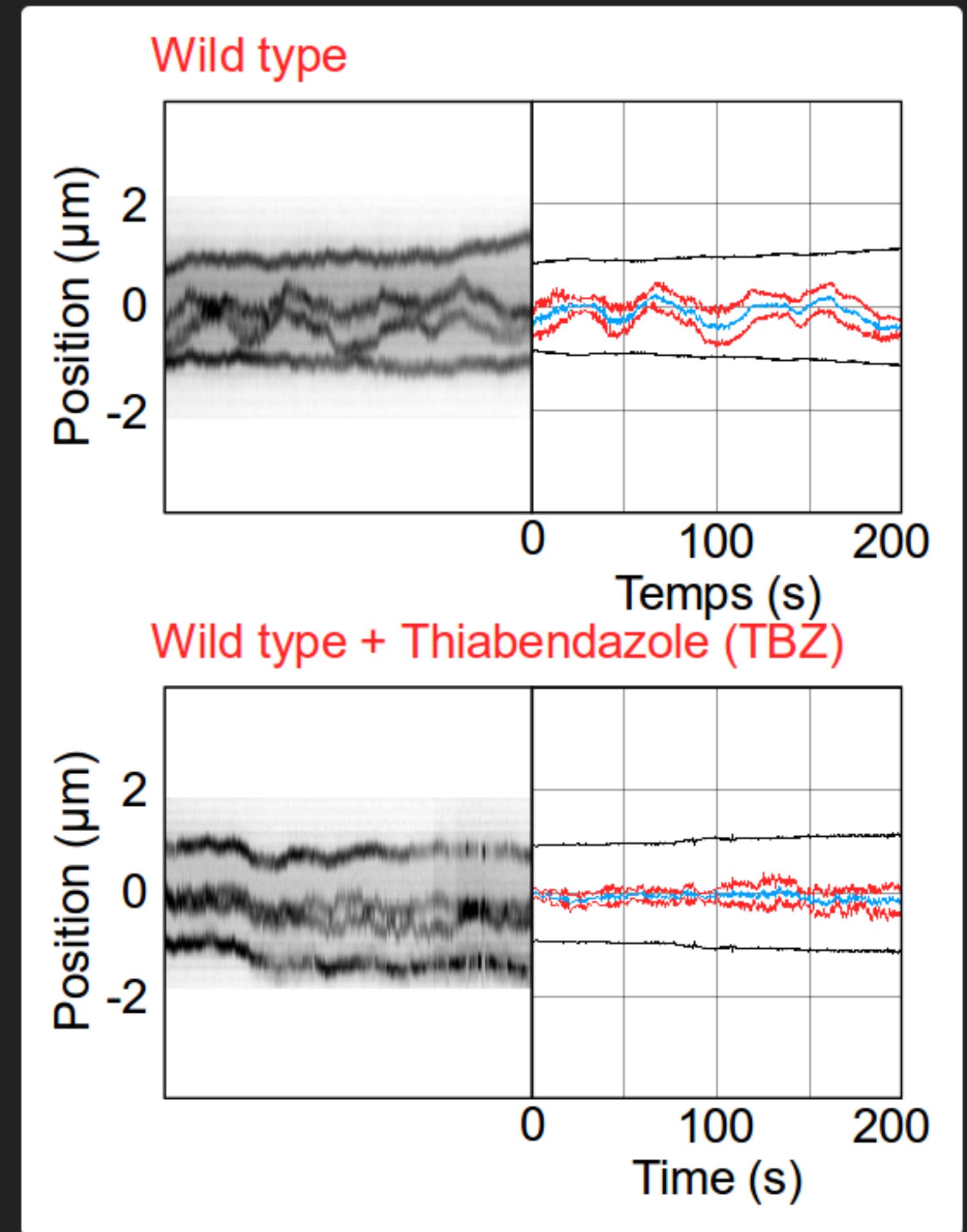


La kinésine-8 contrôle l'alignement et l'oscillation des chromosomes

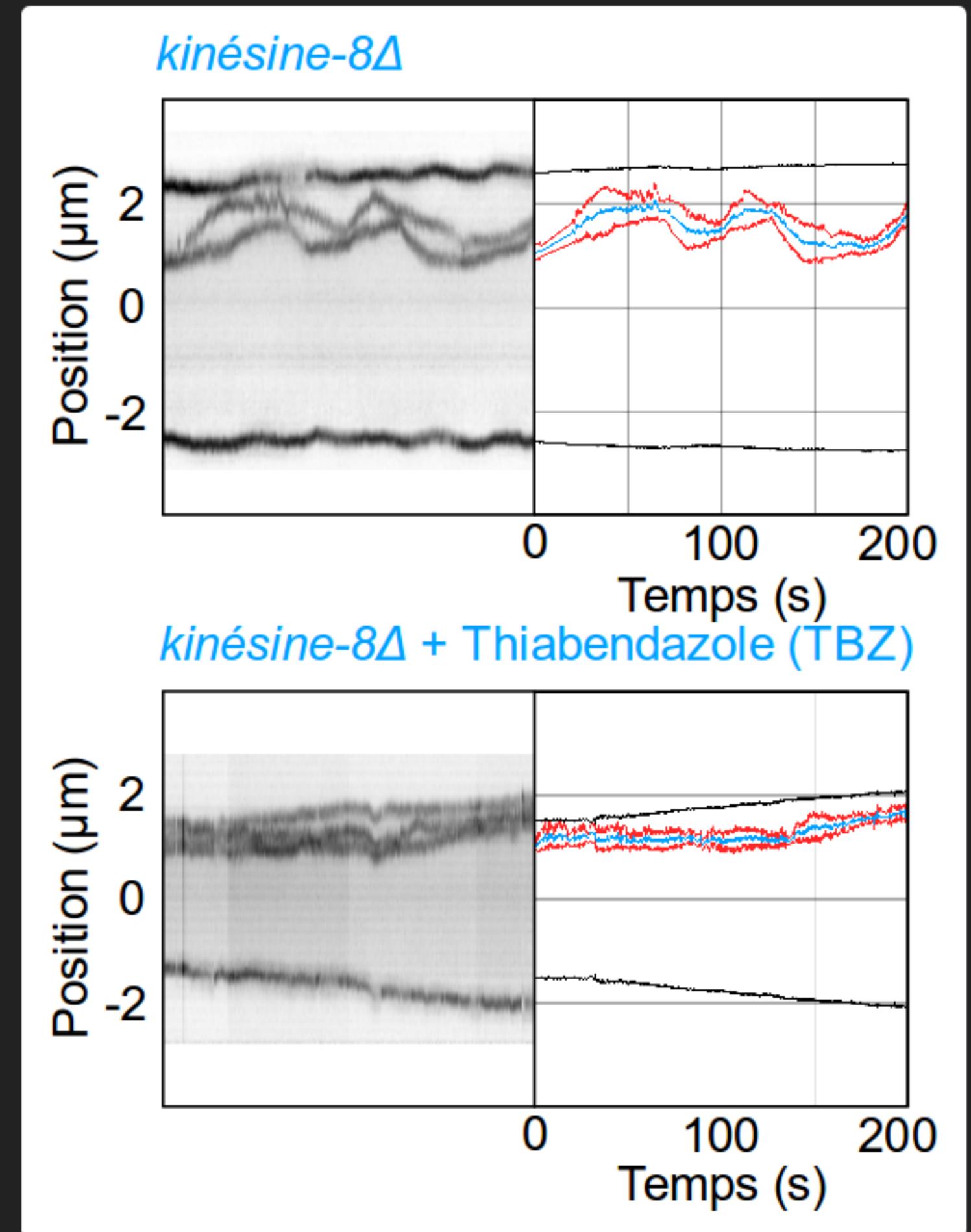


Ces résultats correspondent à ceux d'une étude précédente sur les cellules humaines (Stumpff, 2012).

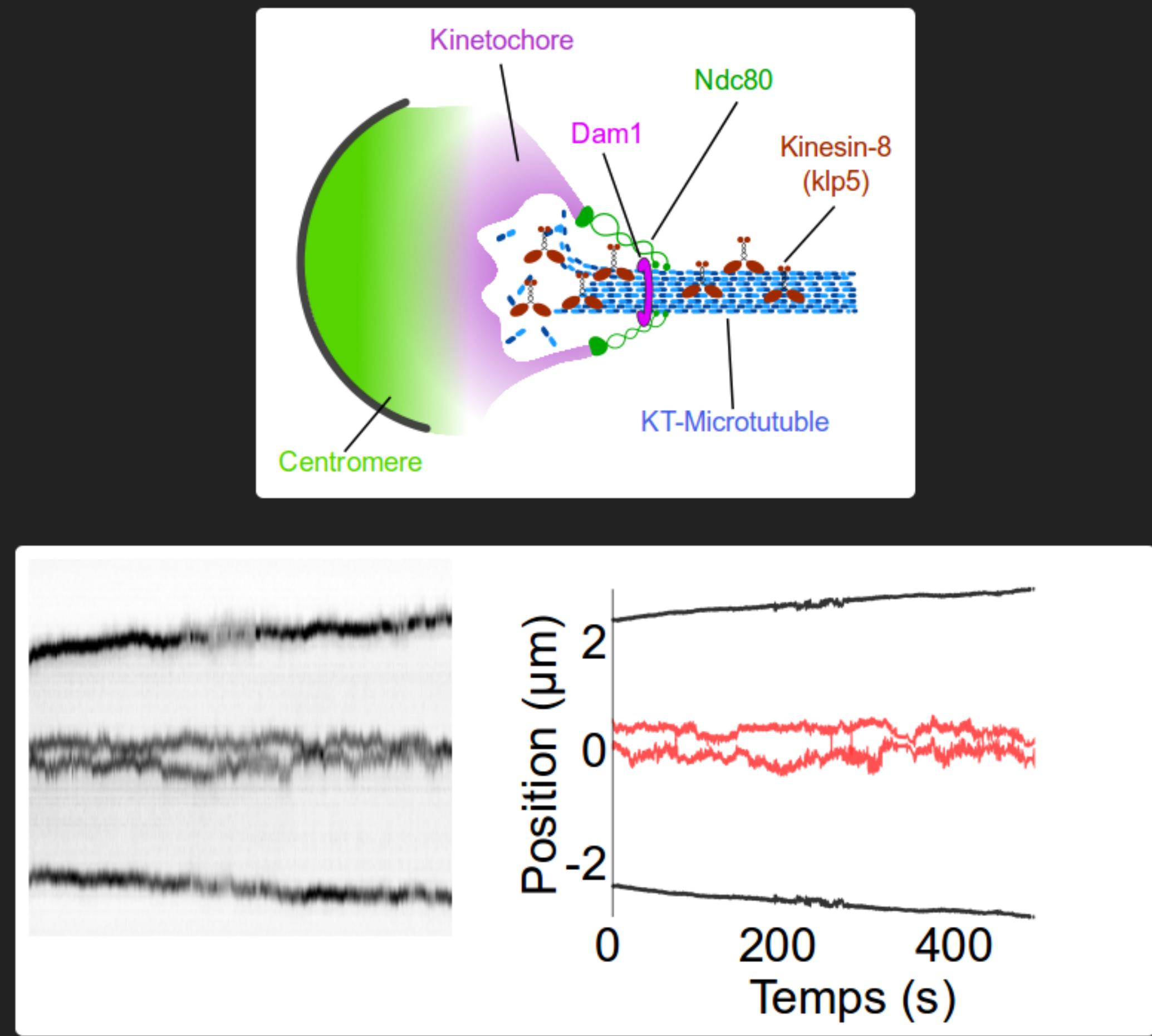
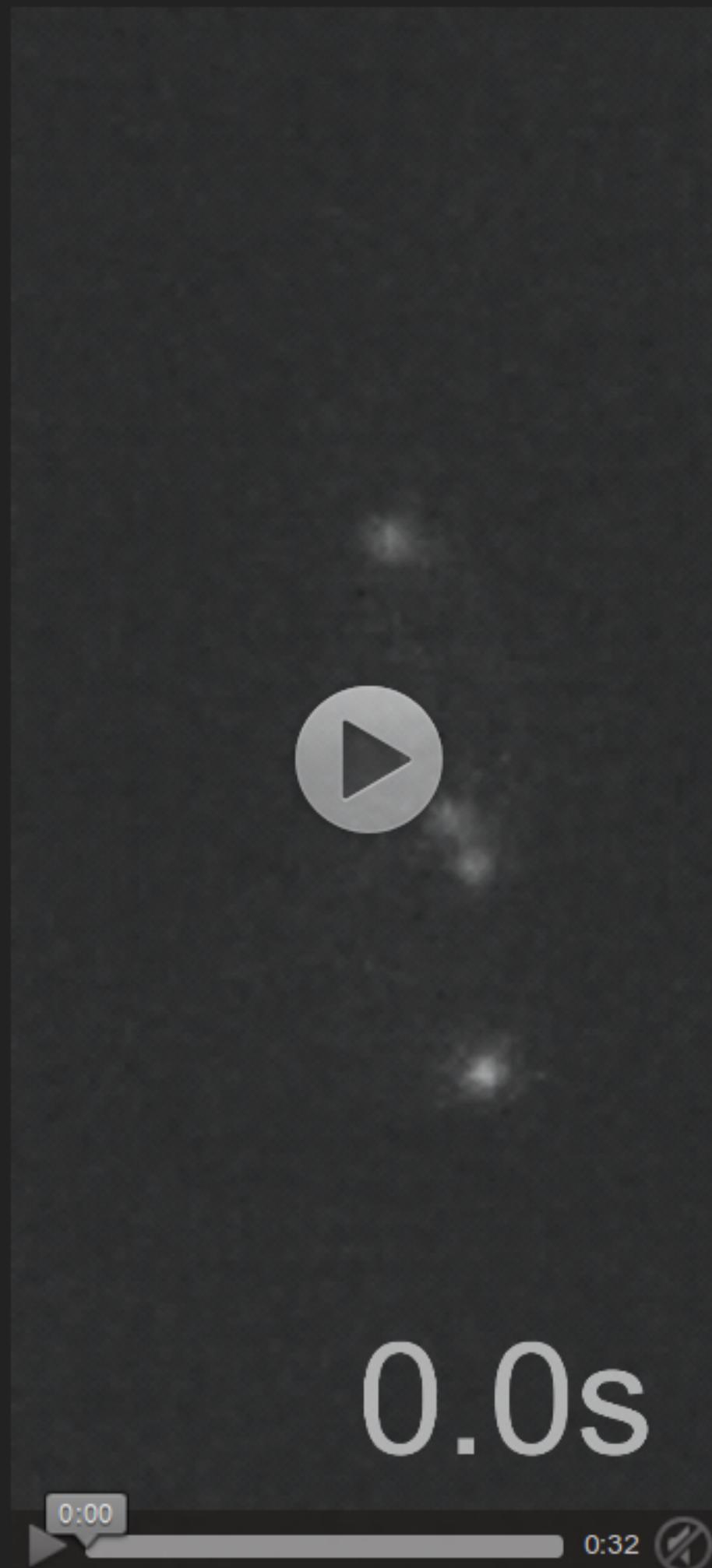
Les chromosomes peuvent s'aligner sans osciller



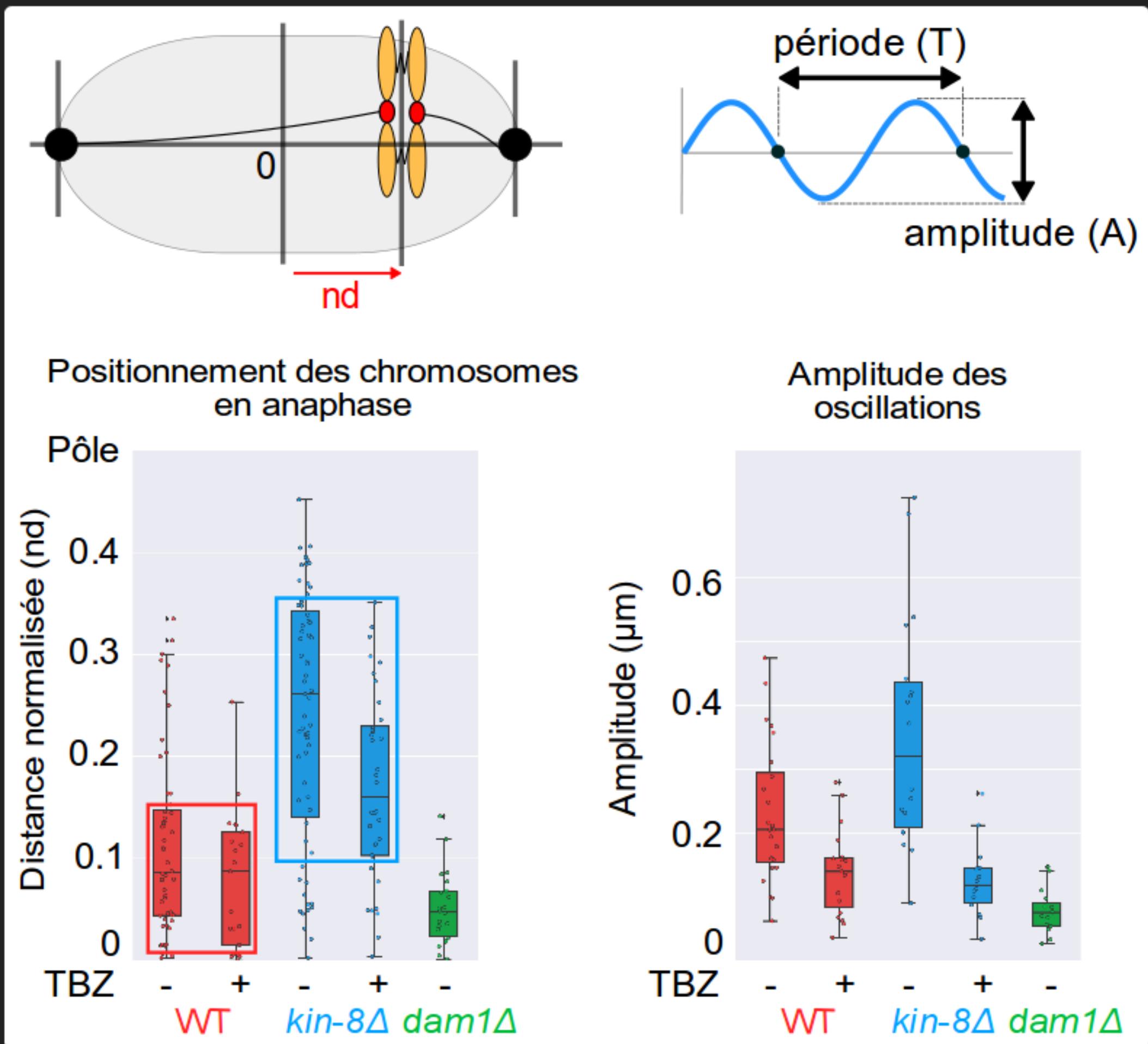
Les chromosomes peuvent s'aligner sans osciller



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



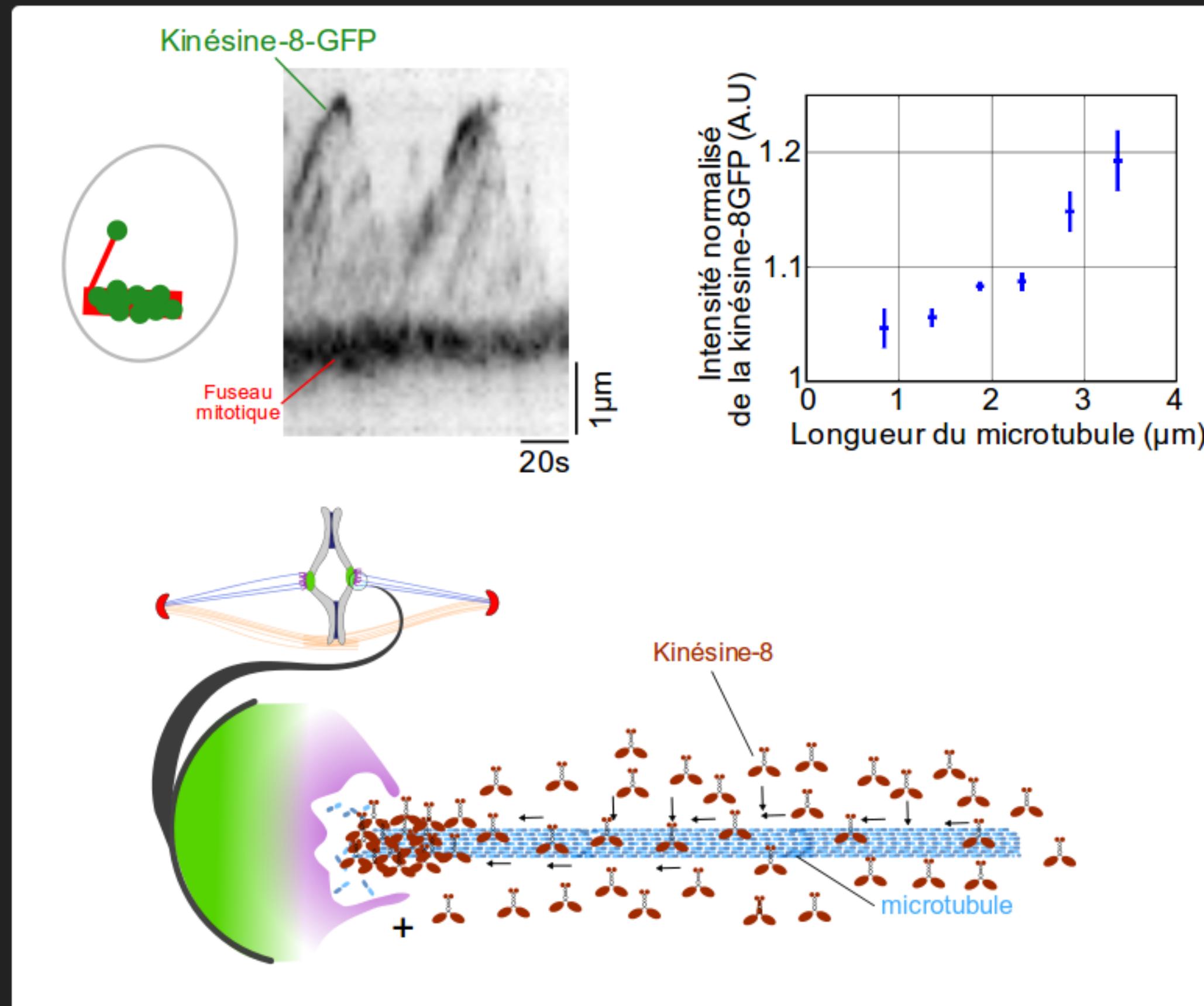
Les oscillations ne sont pas requises pour le centrage des chromosomes



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

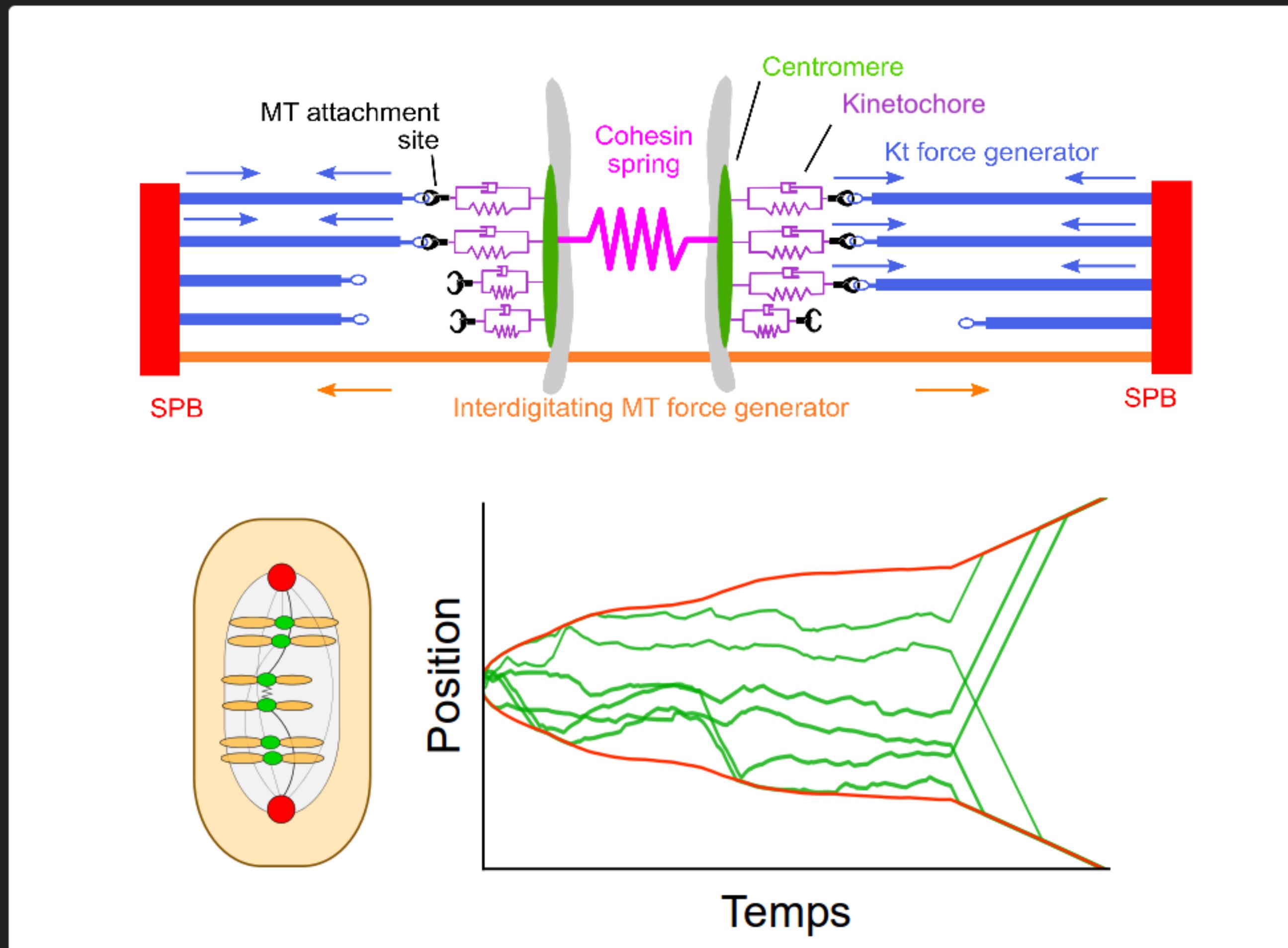
- Comment la kinésine-8 agit sur le kinétochore ?
- Quels mécanismes pourraient reproduire l'alignement des chromosomes ?

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



(Gupta, 2006; Varga, 2006; Varga, 2009)

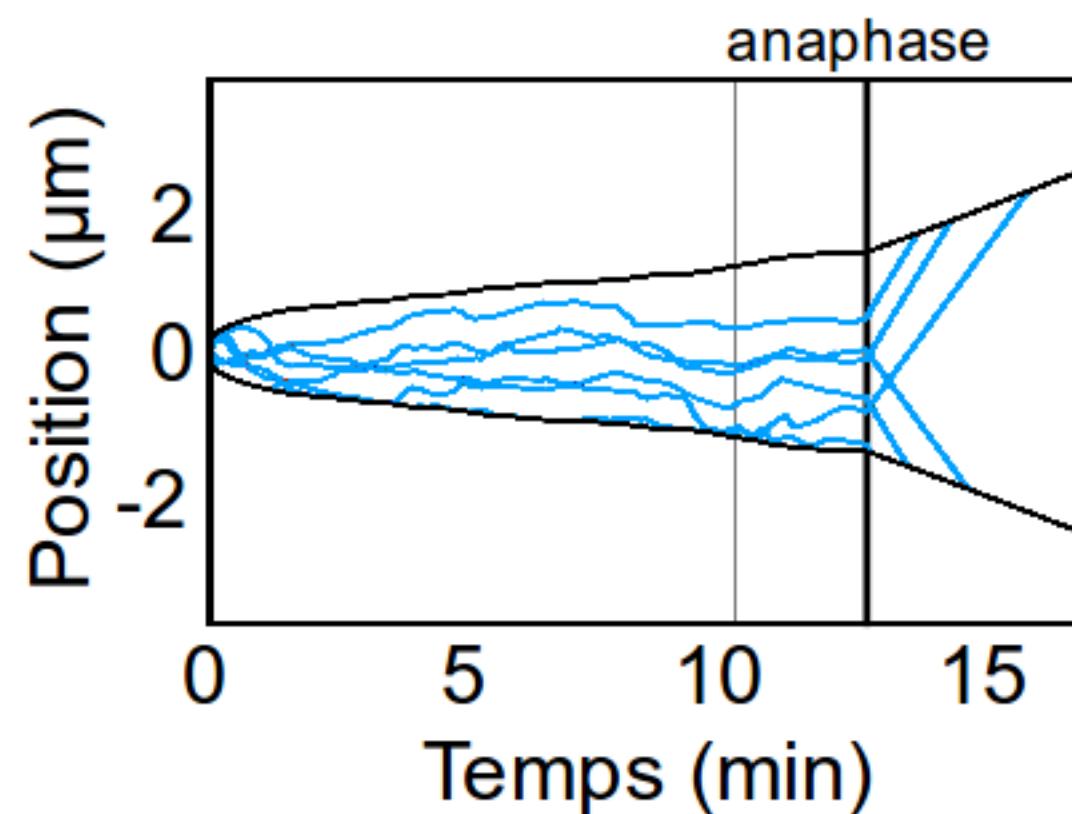
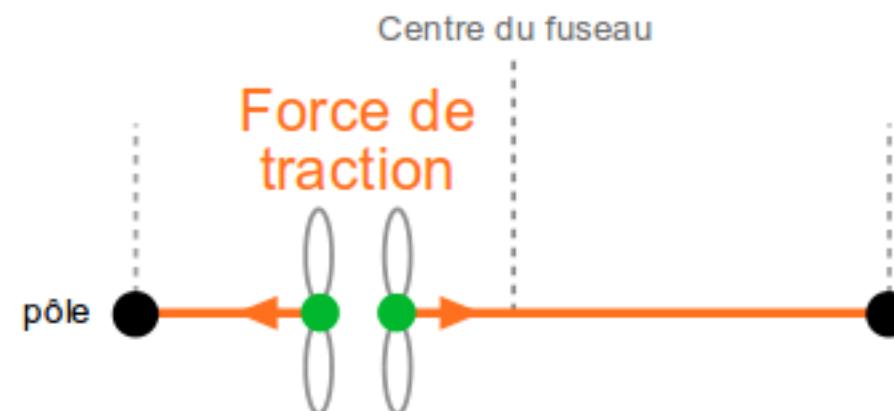
Modèle mécanique de la ségrégation des chromosomes



Hypothèse 1 : une force de traction dépendante de la longueur

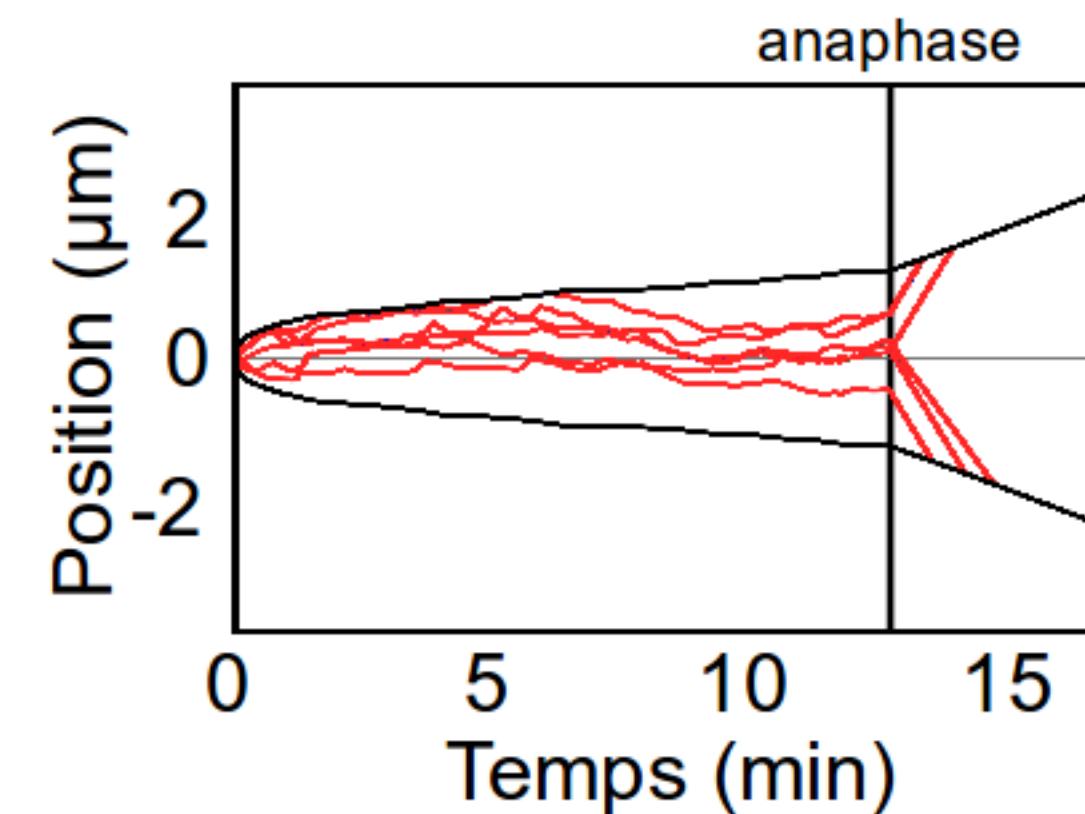
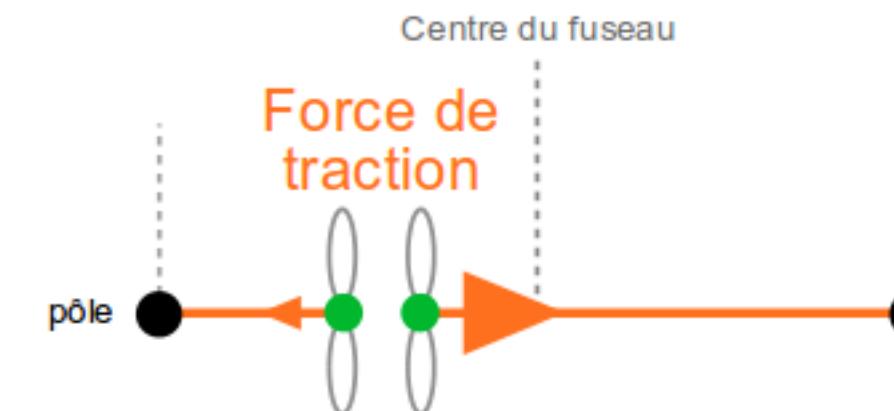
Force de traction dépendante
de la longueur OFF

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



Force de traction dépendante
de la longueur ON

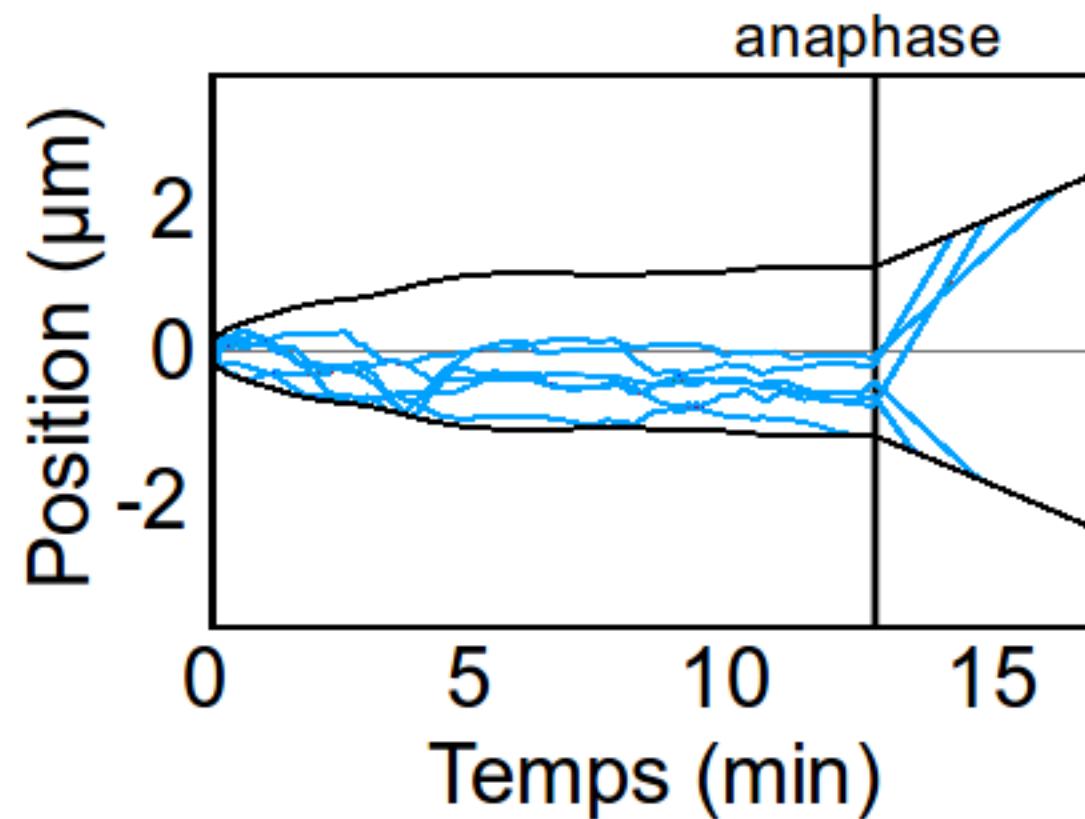
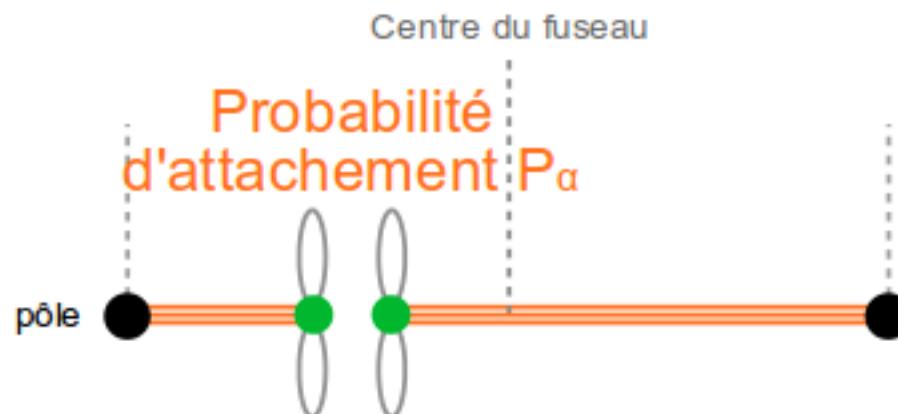
$$F = L_{dep} \pi F_k \left(1 - \frac{v}{V_k}\right)$$



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

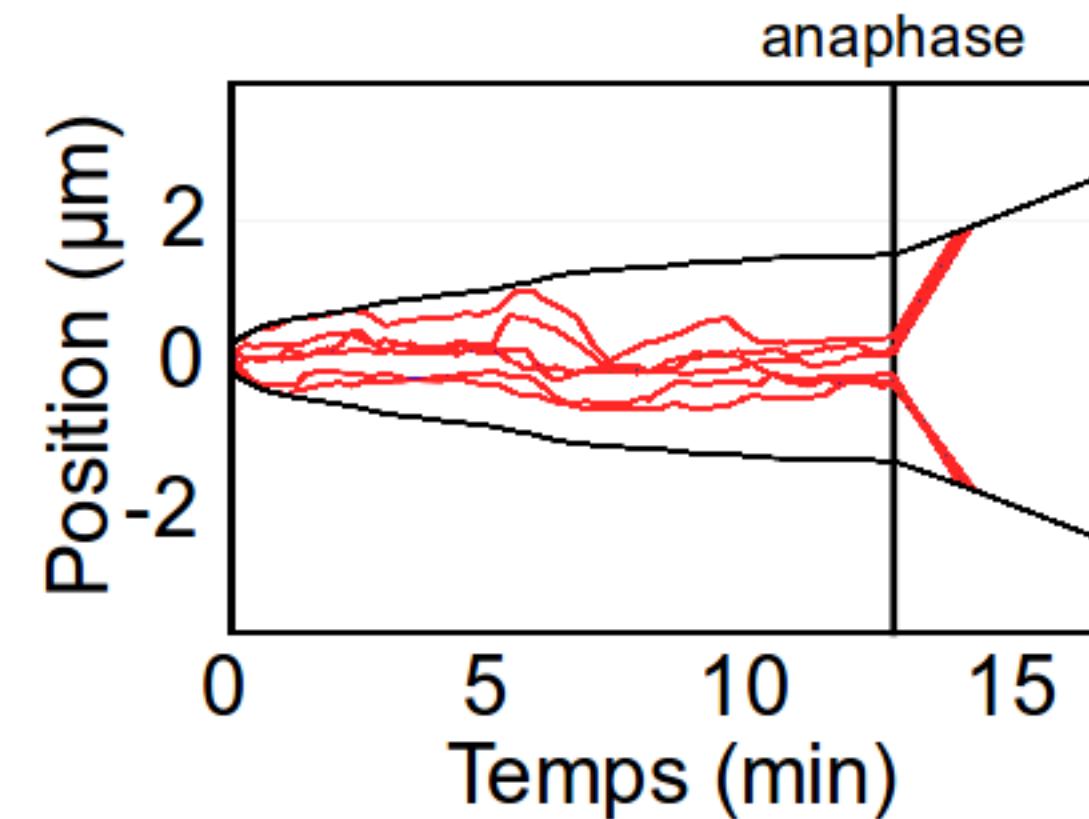
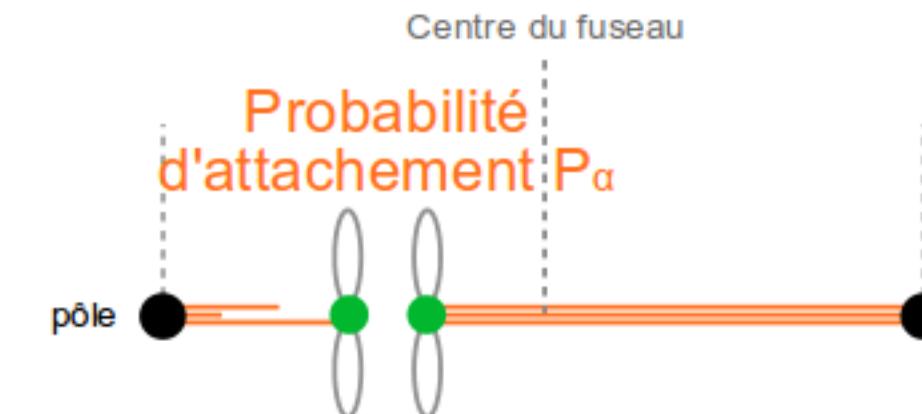
Attachement dépendant de la position OFF

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

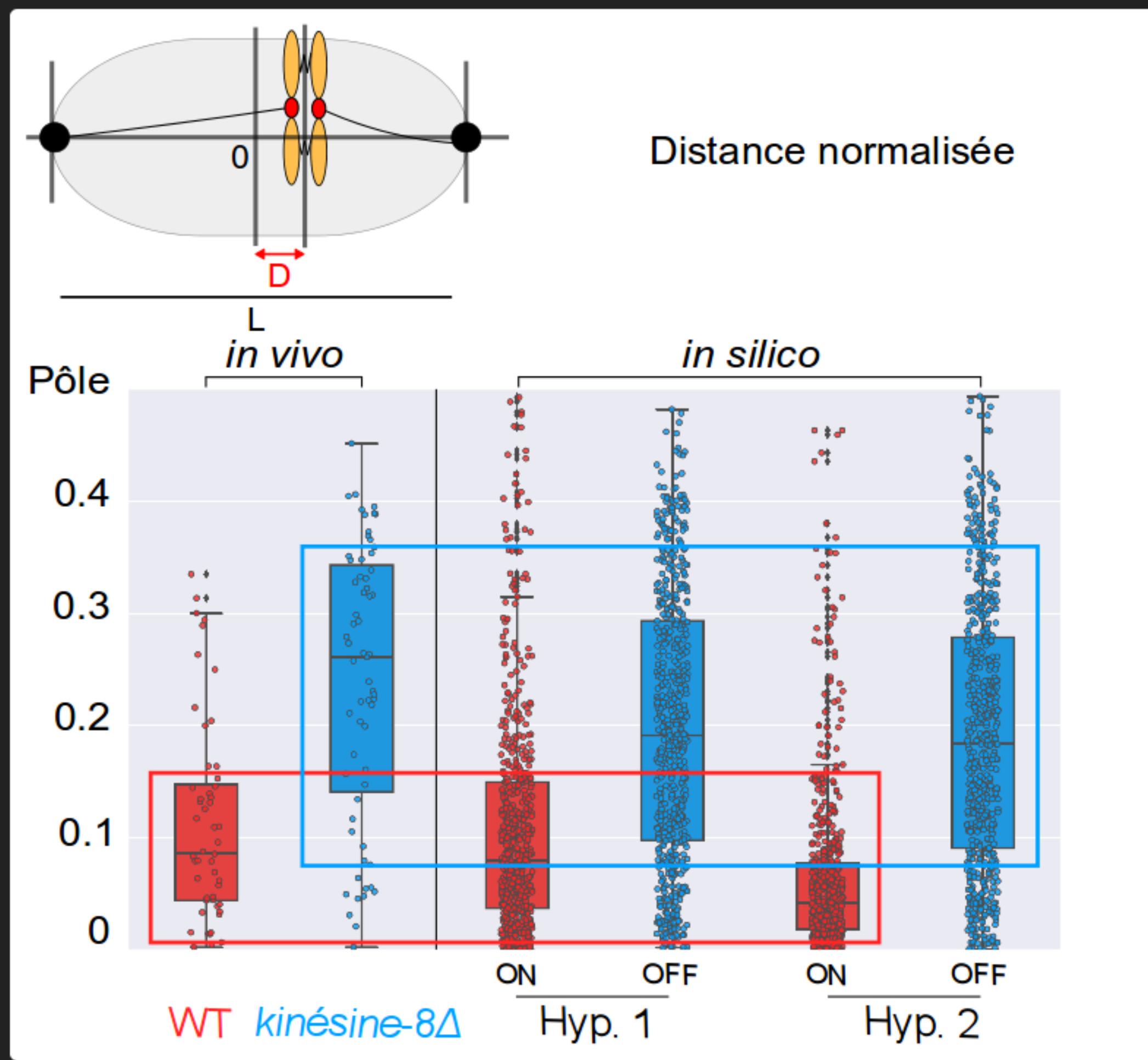


Attachement dépendant de la position ON

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



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



Conclusion

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

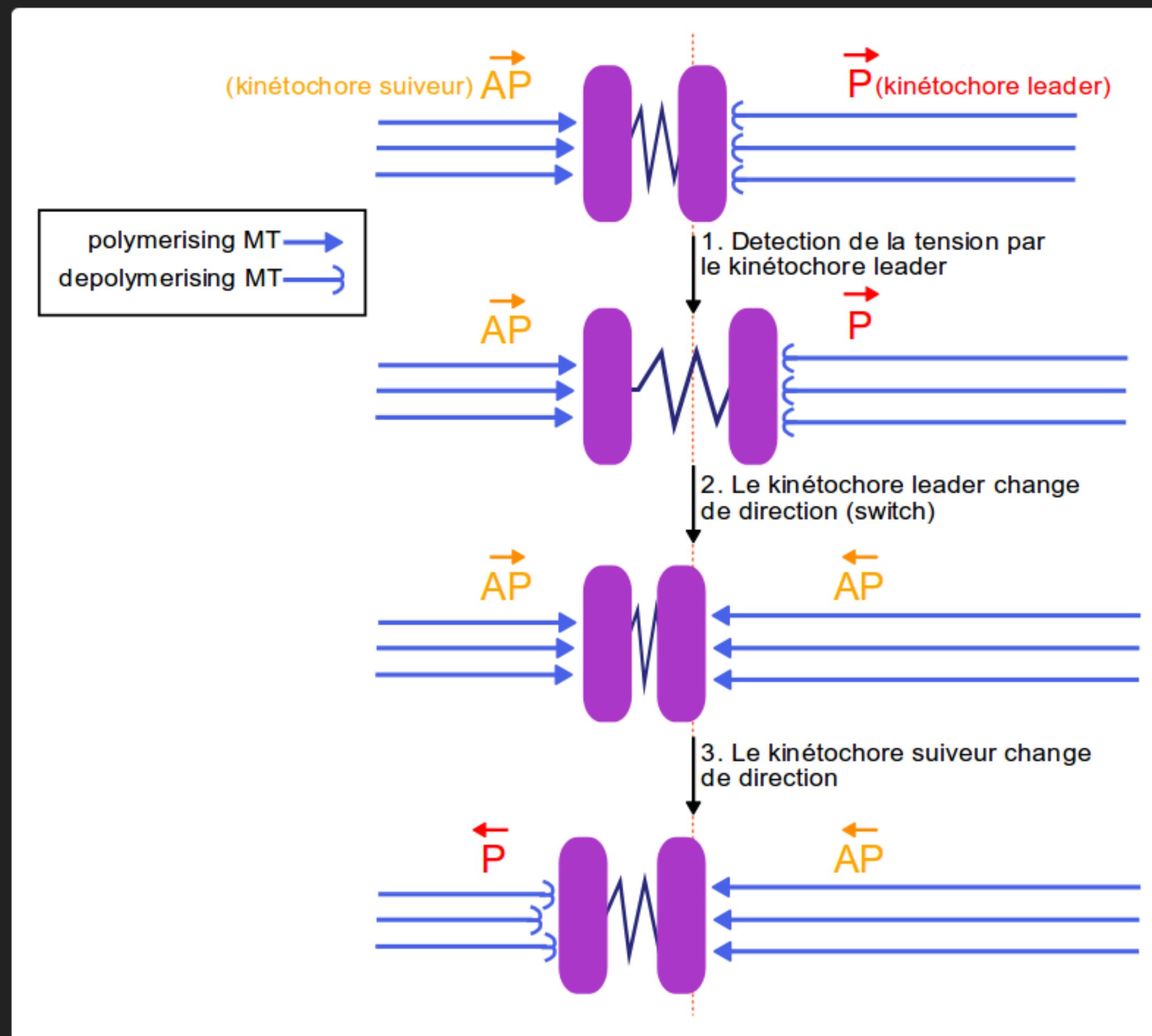
Perspectives

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 ?

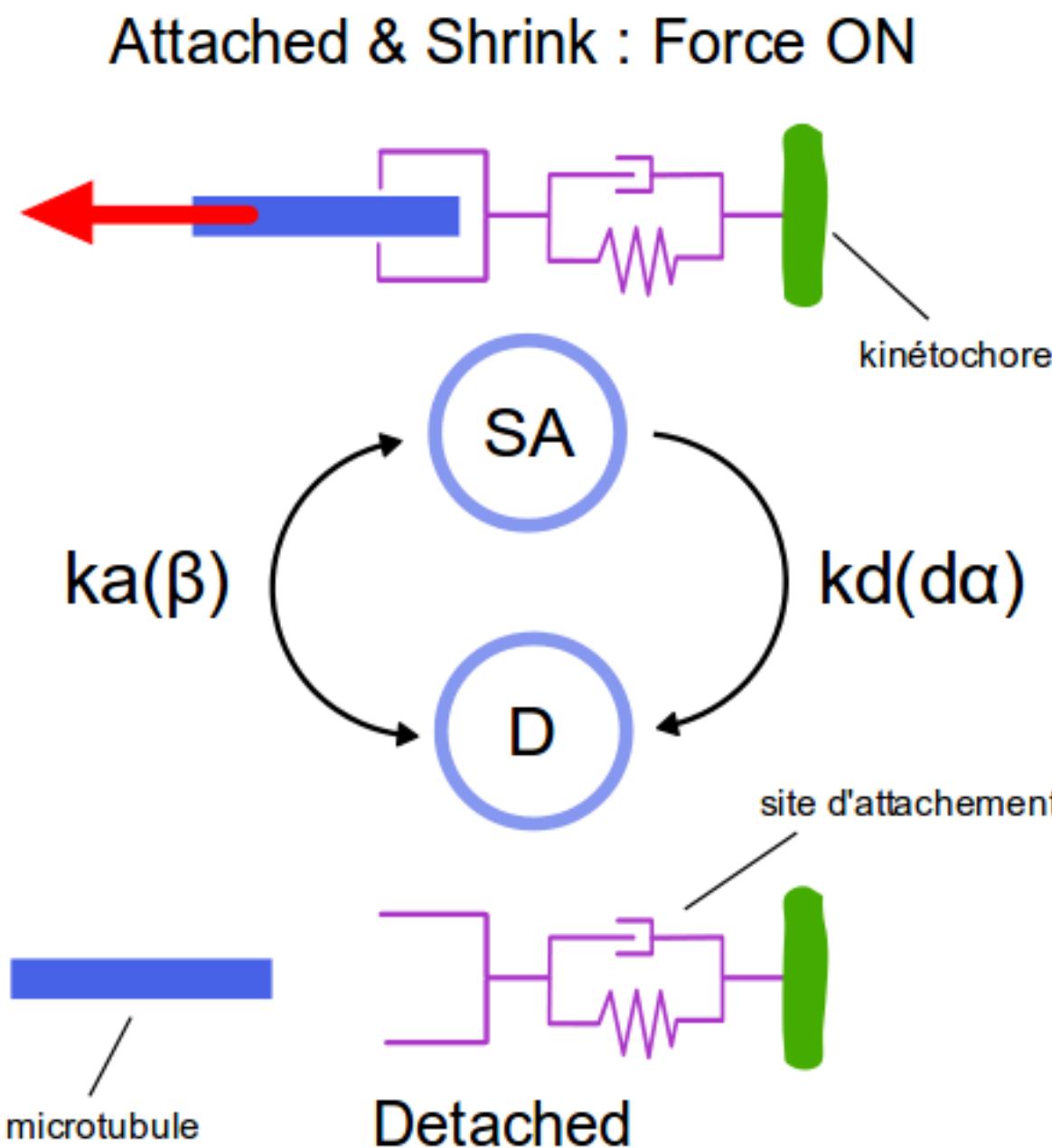
Le « switch » des kinétochores frères pourrait-il expliquer les oscillations ?



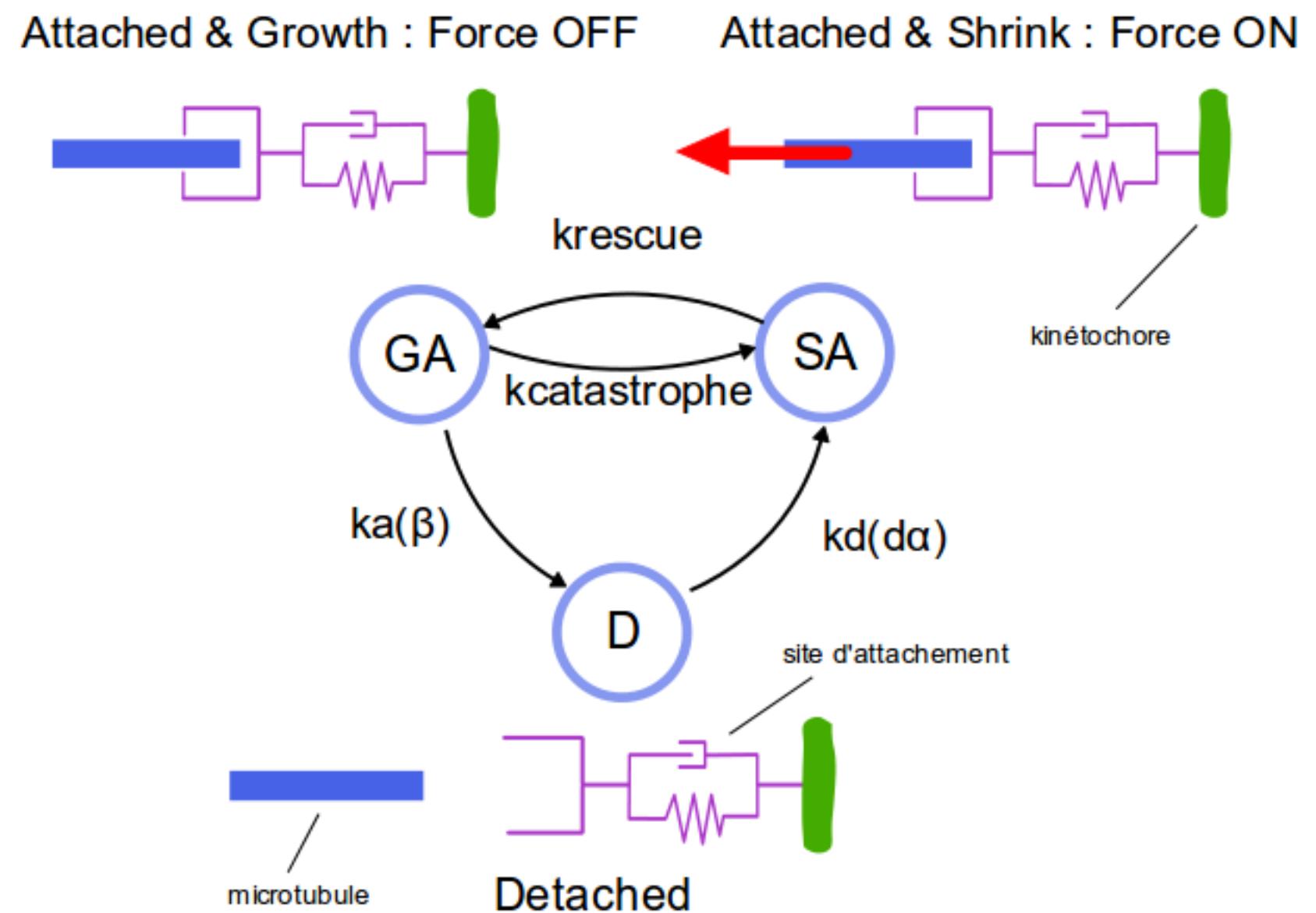
Rieder, 1994; Burroughs, 2015

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

Two states attachments model

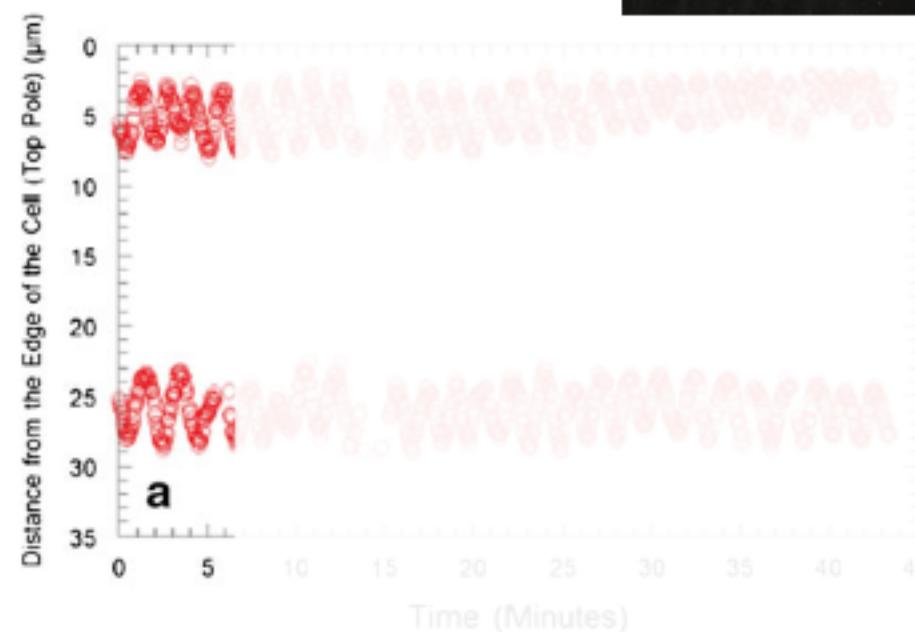


Three states attachments model



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

Spermatocytes de
Mesostoma ehrenbergii
(Ferraro-Gideon, 2014)

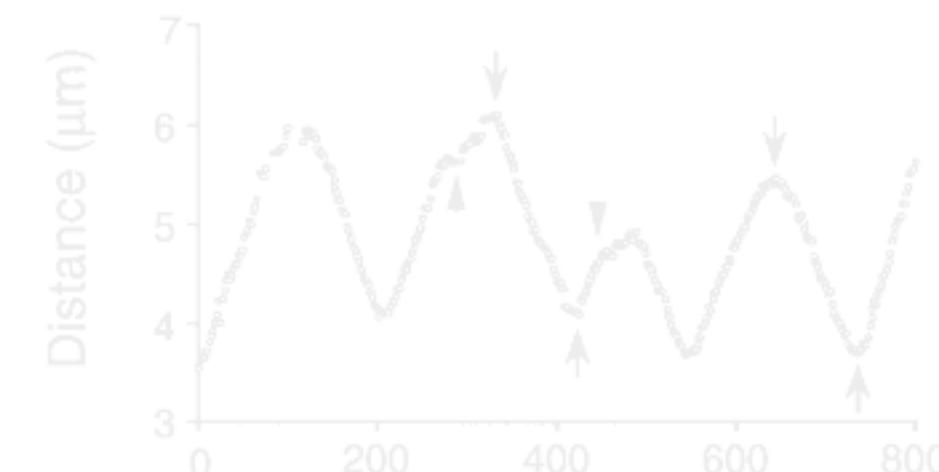


Cellule de poumon
de triton
(Skibbens, 1993)



Cellule de poumon de triton

(Skibbens, 1993)

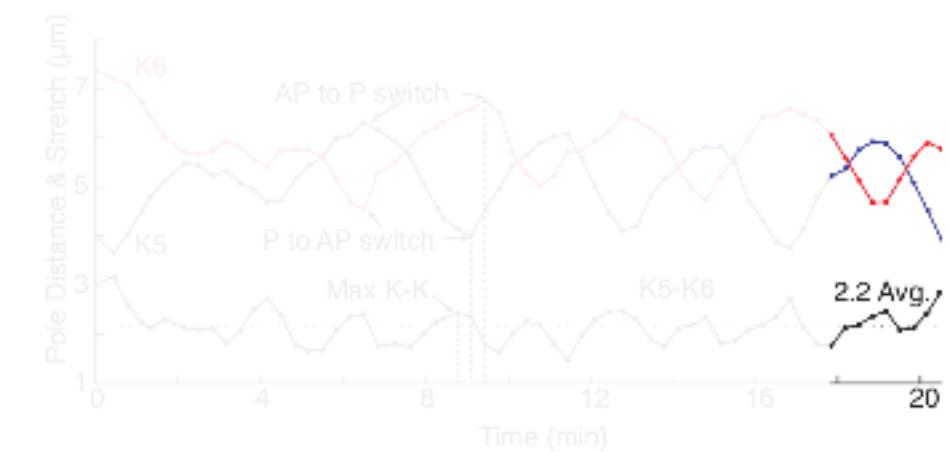


Cellule PtK1
(Wan, 2012)



Cellule PtK1

(Wan, 2012)

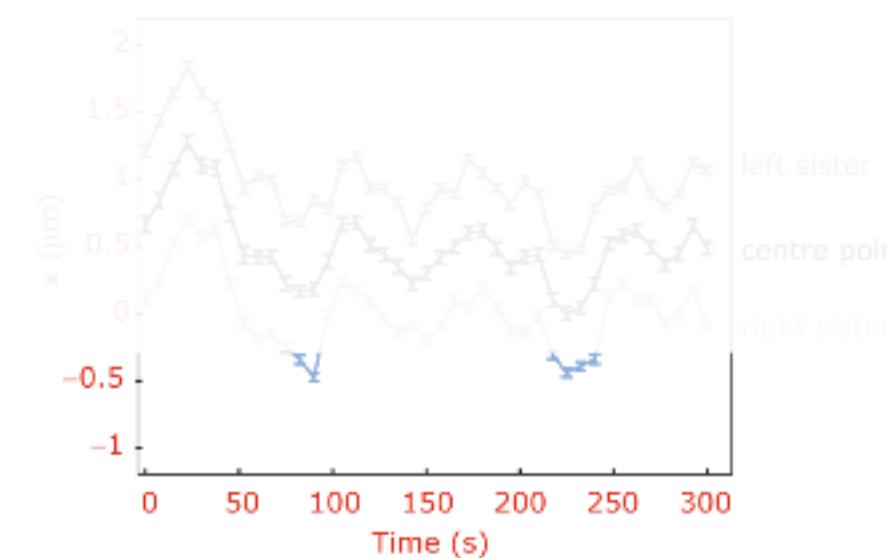
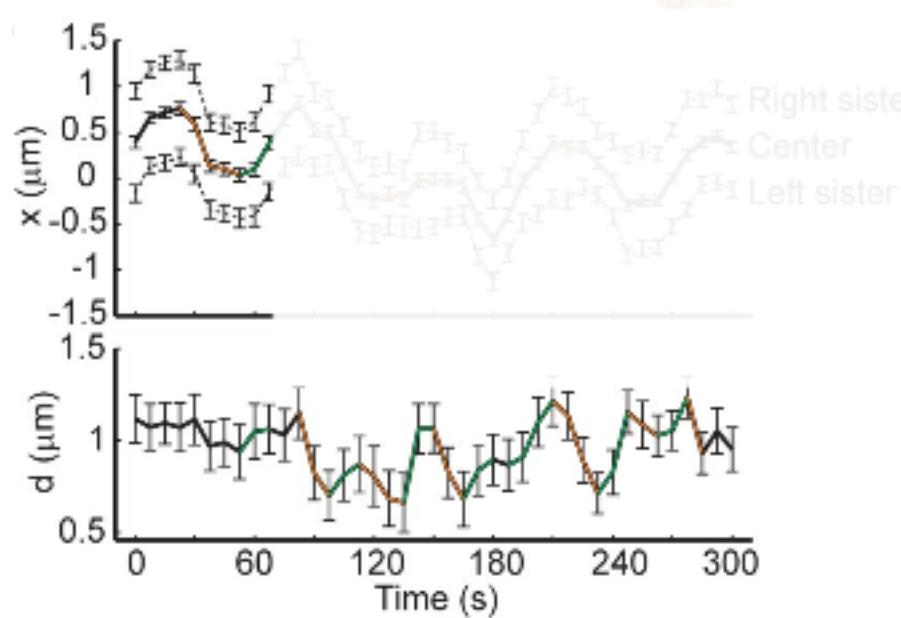


Cellule HeLa
(Jaqaman, 2010)

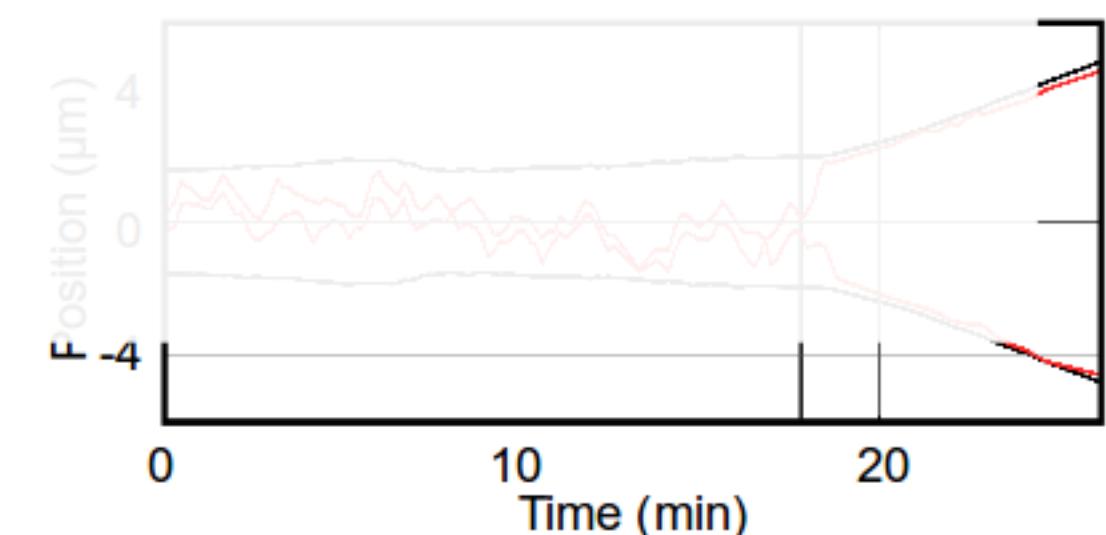
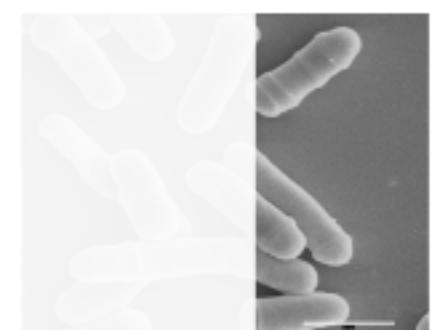


période des oscillations ≈ 100 s

Cellule HeLa
(Vladimirou, 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

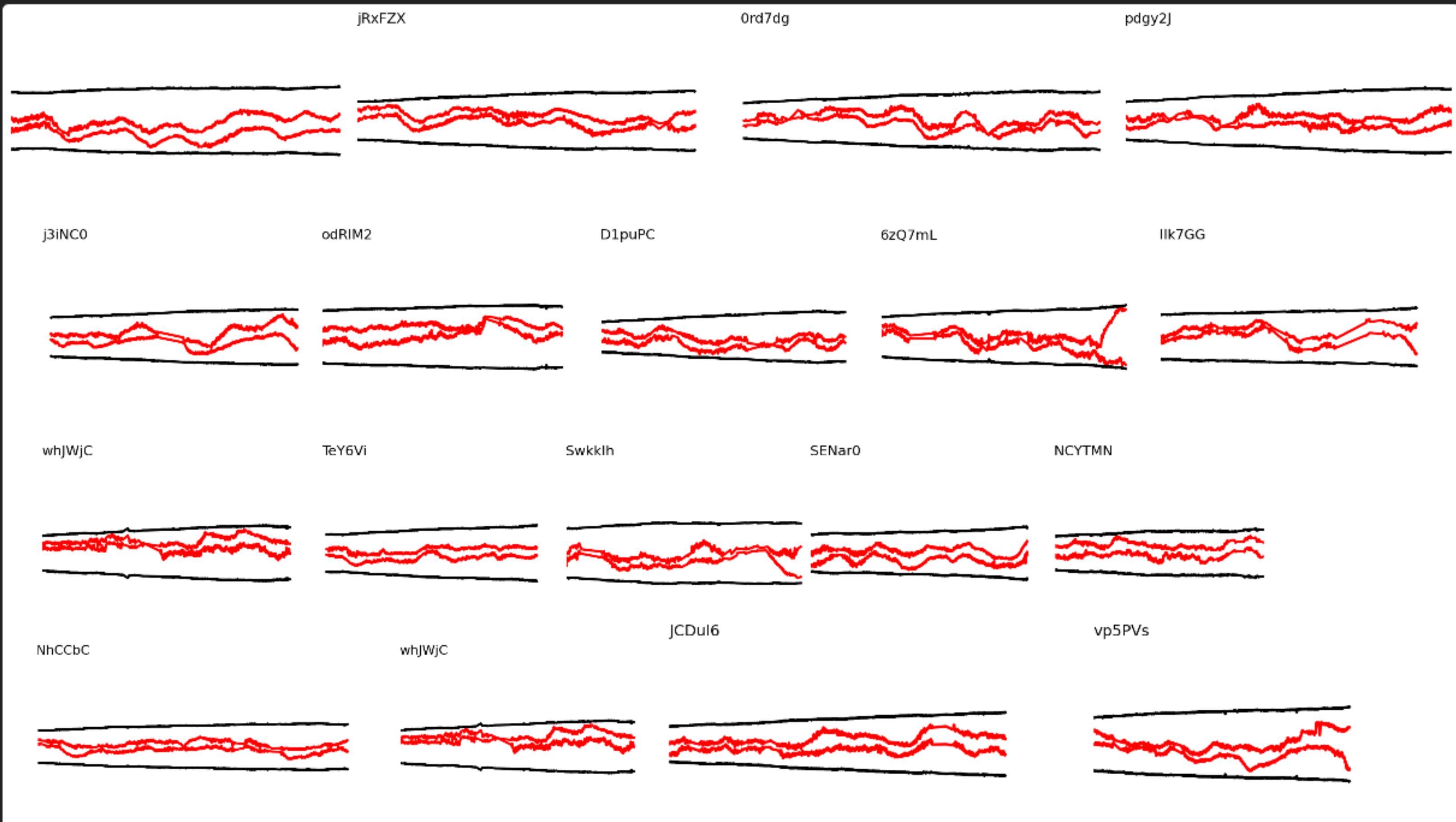


Ce travail de thèse a été soutenu par ANR Blanc 1206 01 "Chromocatch" et FRM (ING 2012 1226 280) "innovative project".

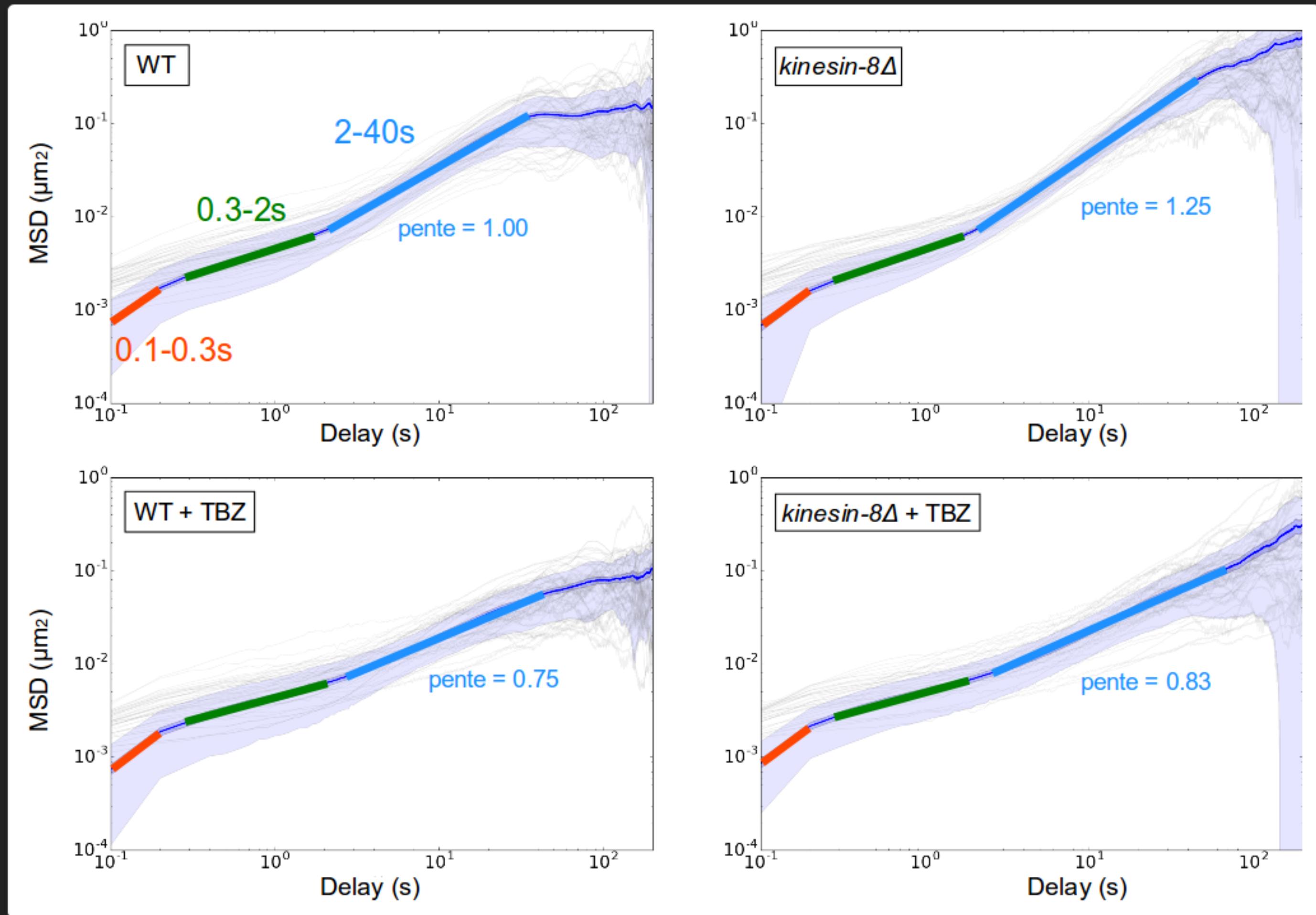
Merci

Les supp

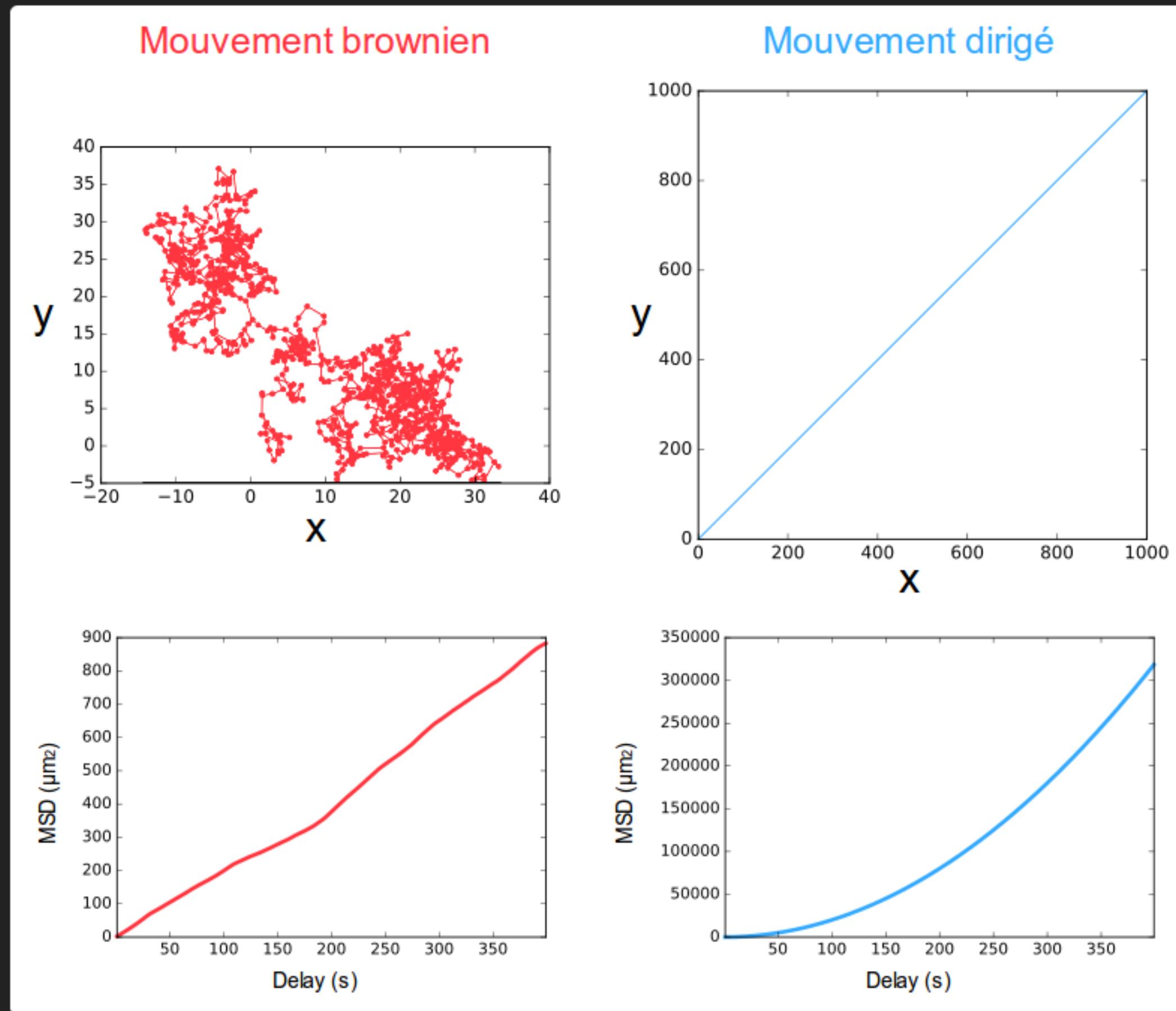
La régularité des oscillations des chromosomes



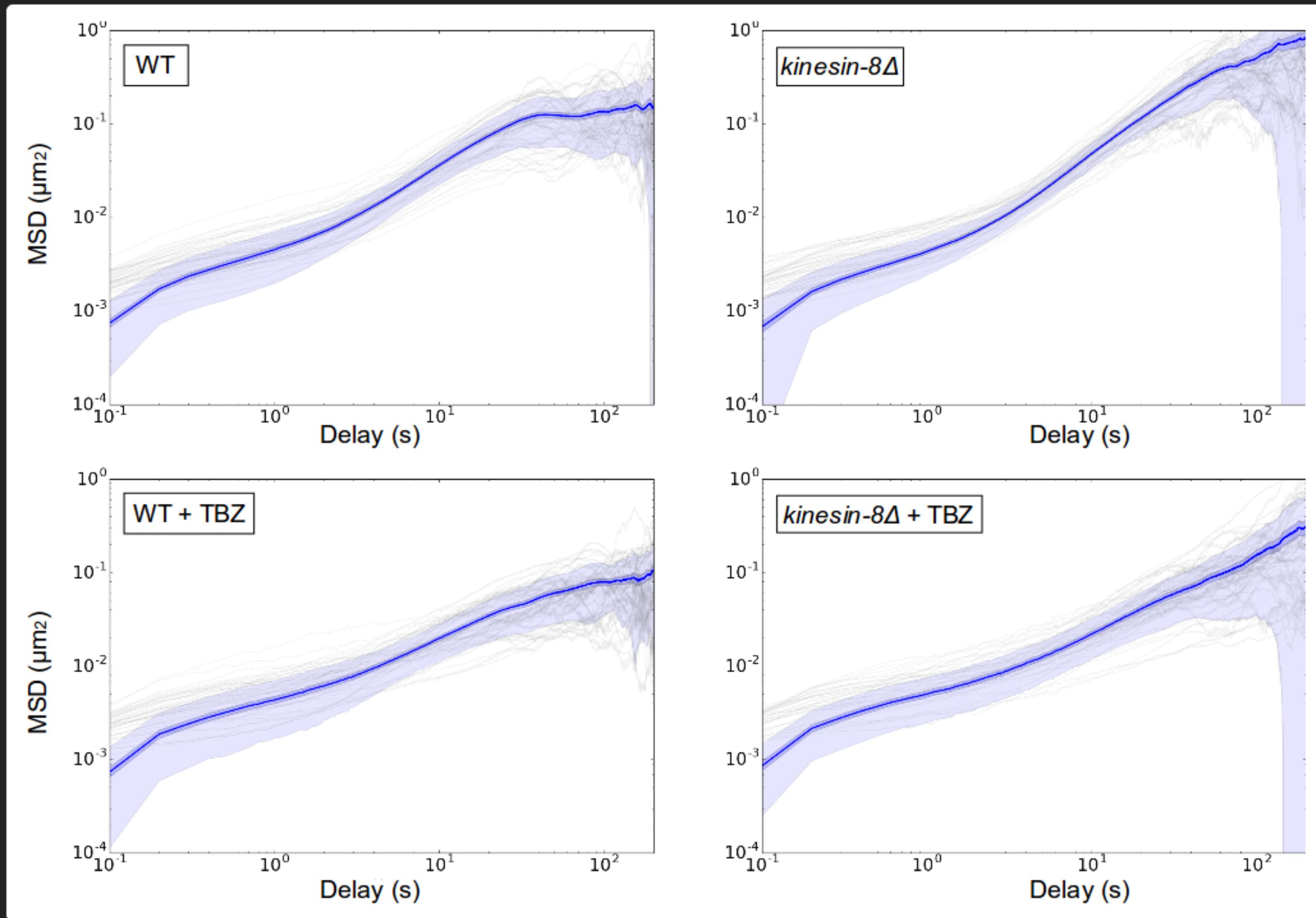
Analyse des trajectoires *in vivo* par MSD



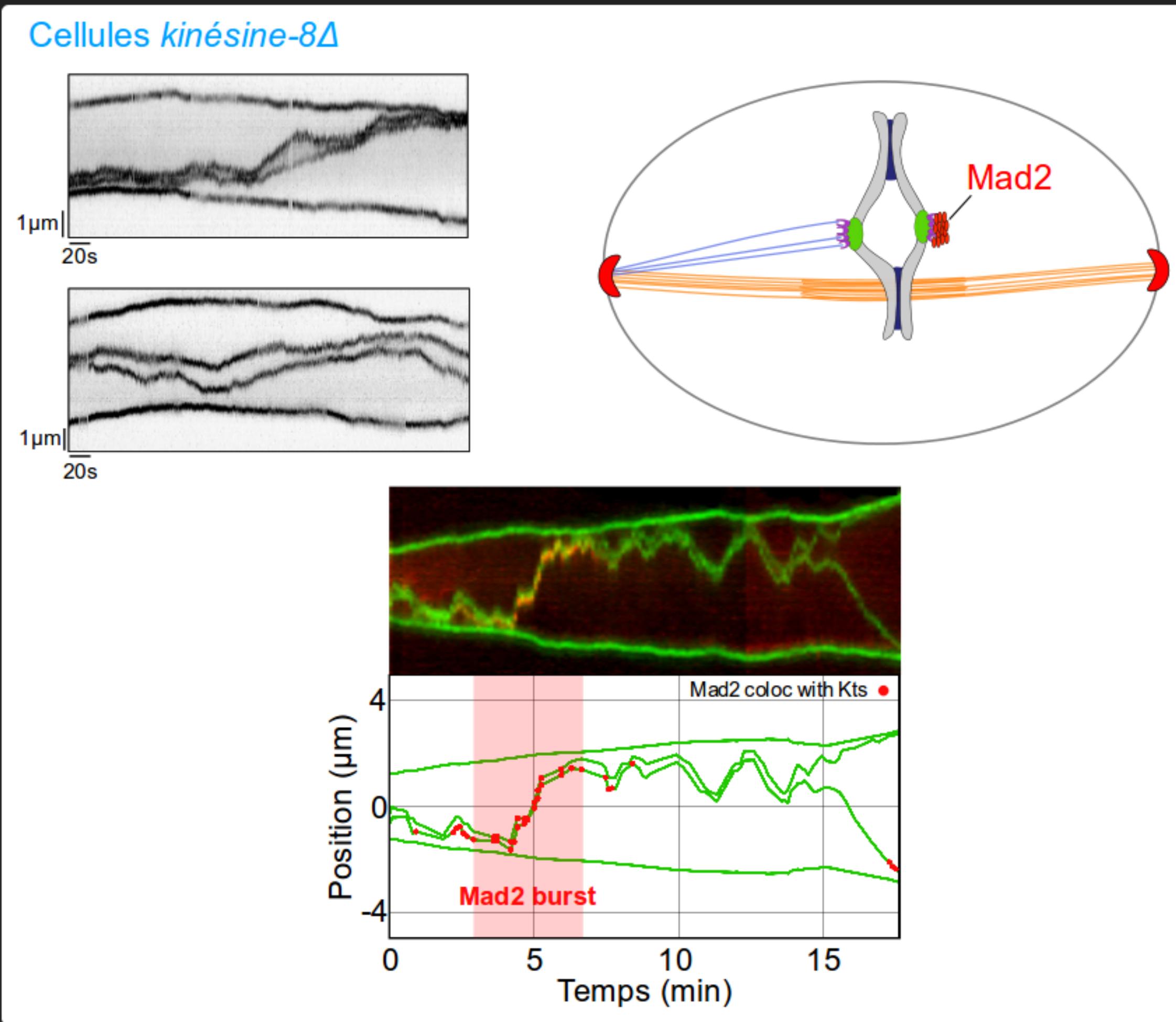
Analyse des trajectoires *in vivo* par la mesure du déplacement quadratique moyen (MSD)



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



Déséquilibre des forces de tractions

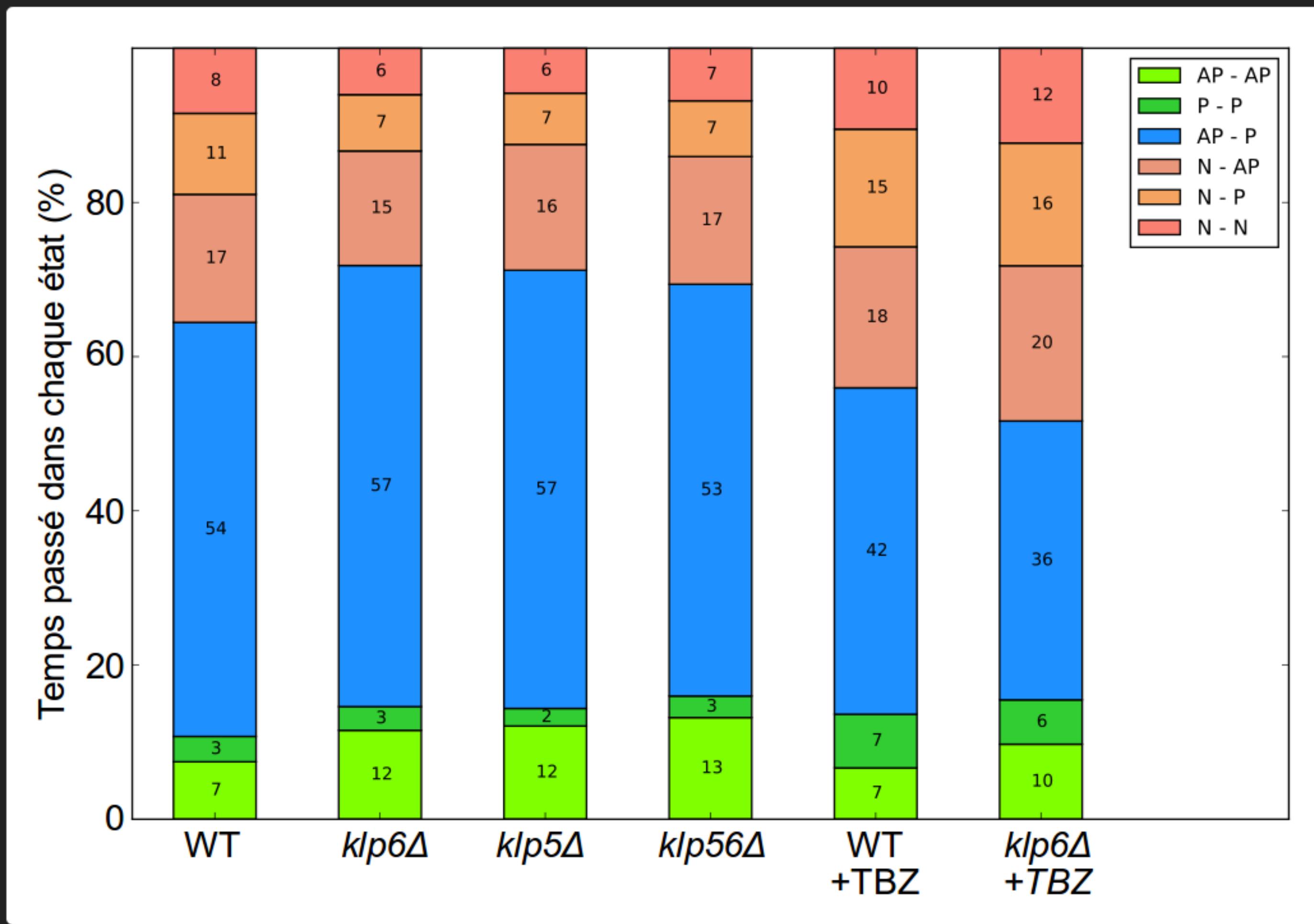


Vers un modèle global de la mitose

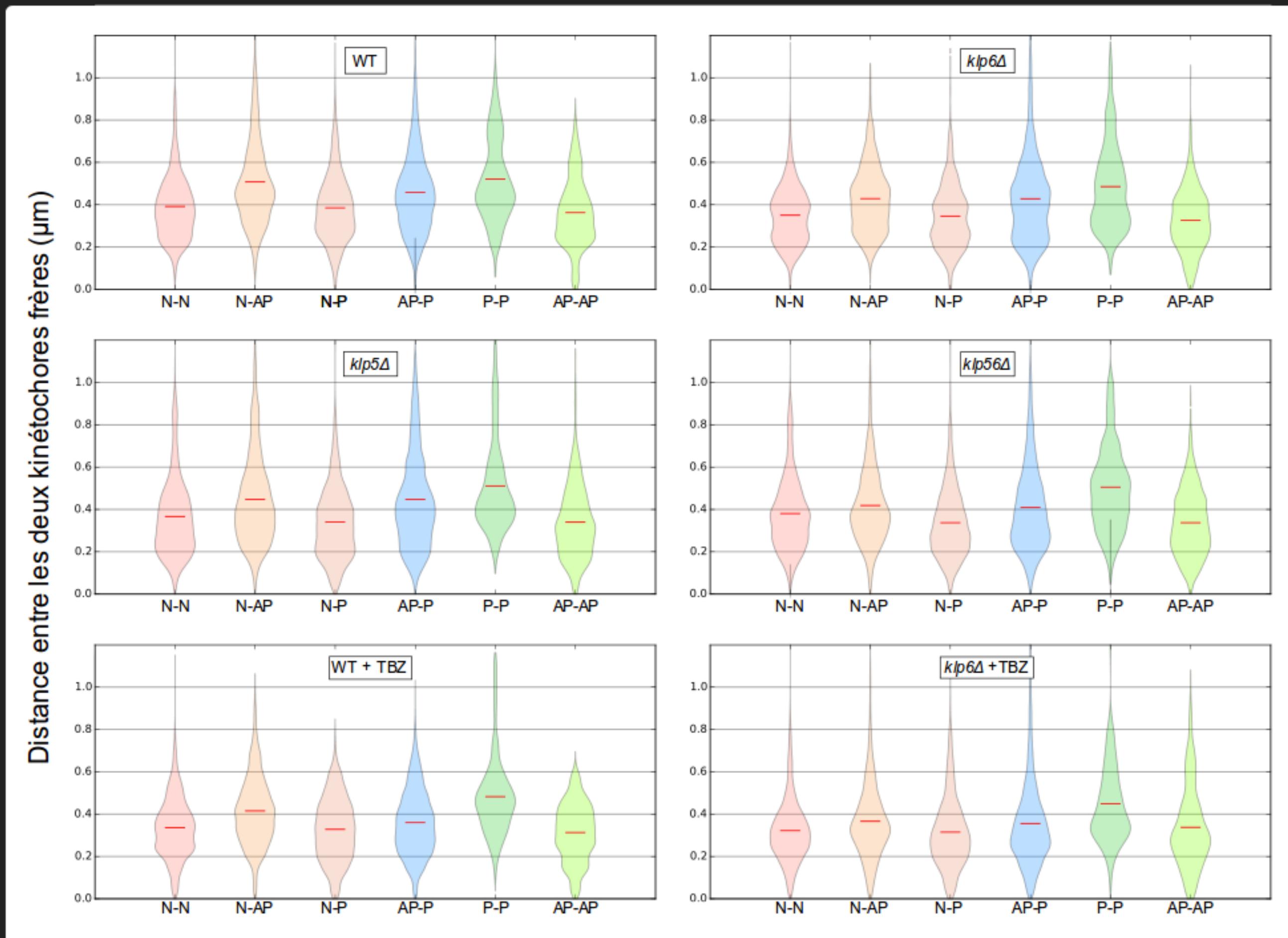
- Passage en trois dimensions.
 - Ségrégation des chromosomes chez *C. elegans*.
 - Modélisation de l'orientation du fuseau mitotique dans la cellule.
 - En collaboration avec Guillaume Gay (damcb.com) et Jacques Pécreaux (Rennes).
-



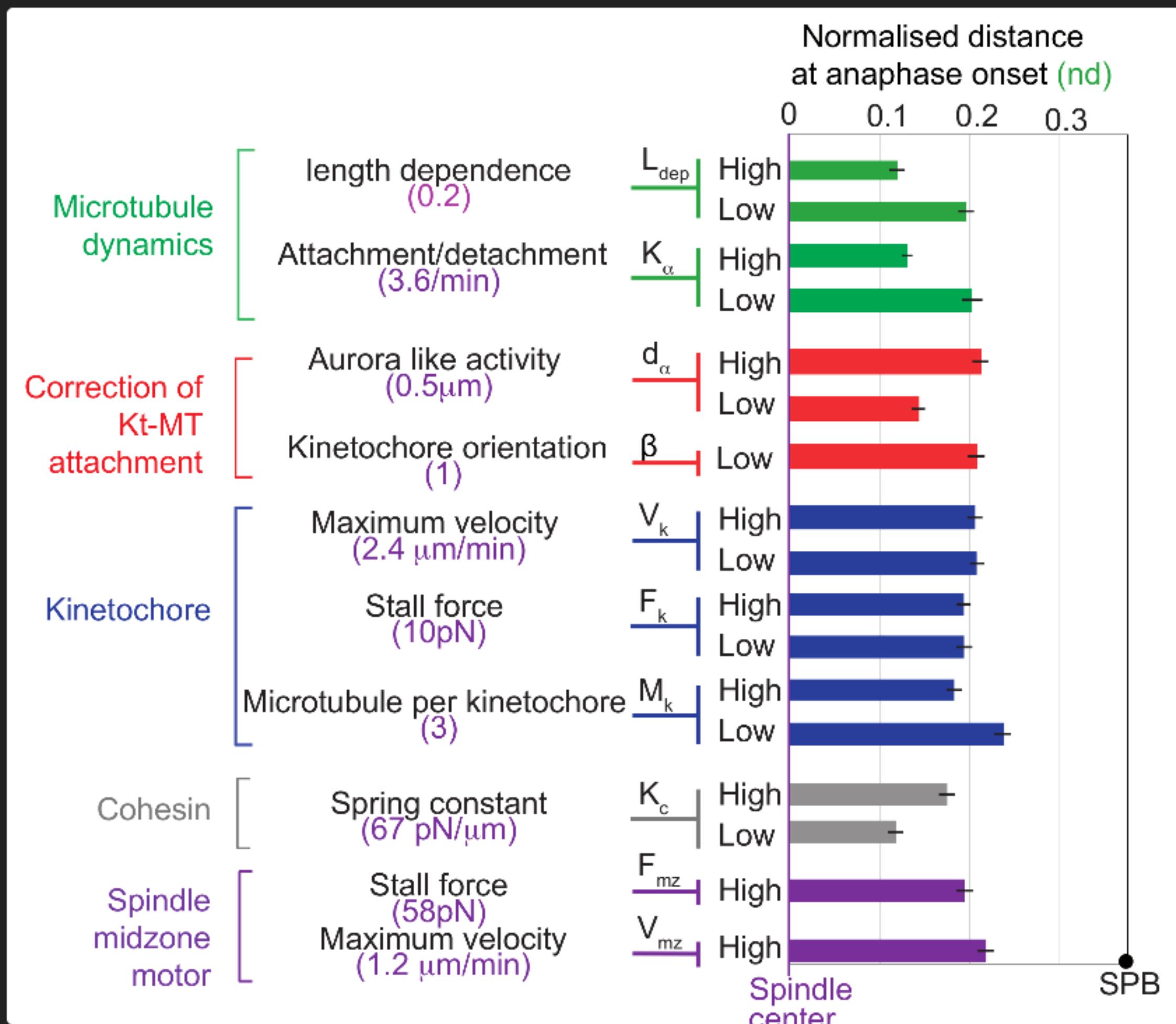
L'état de cohérence des kinétochores frères (1)



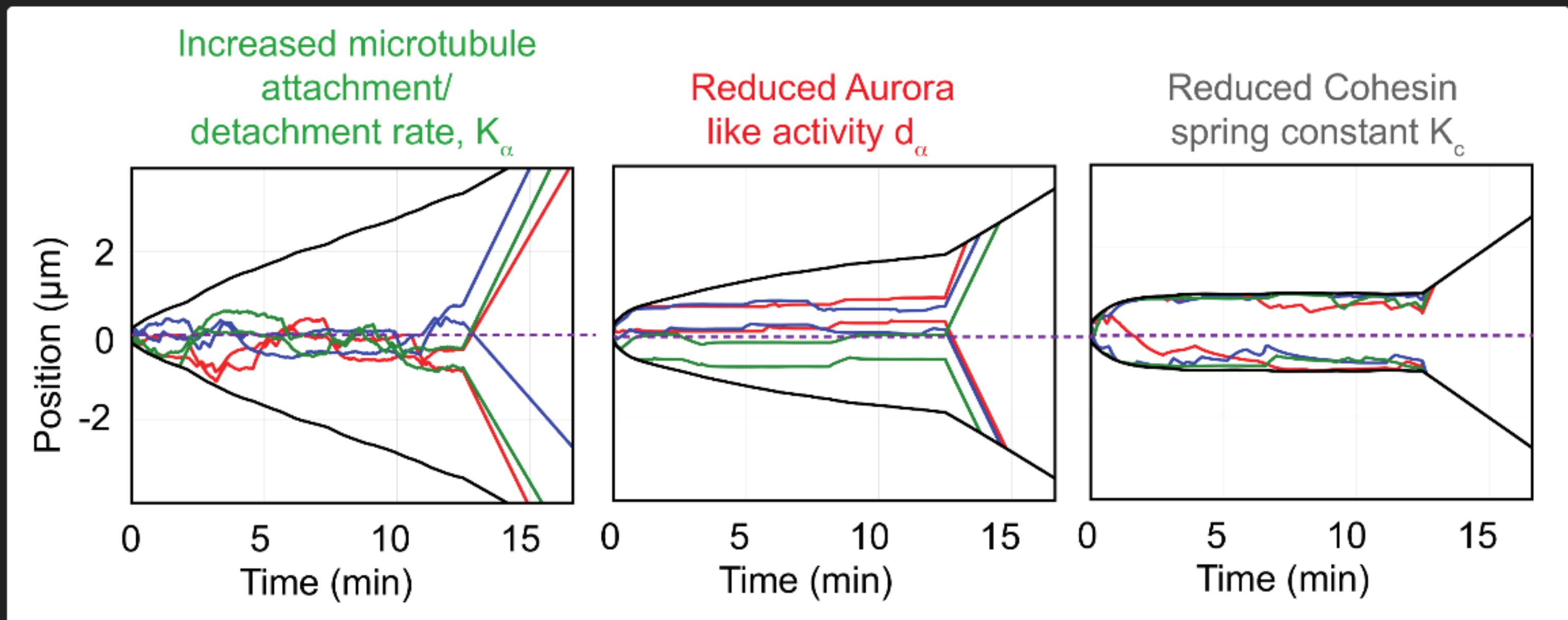
L'état de cohérence des kinétochores frères (2)



L'effet des différents paramètres du modèle sur le centrage (1)

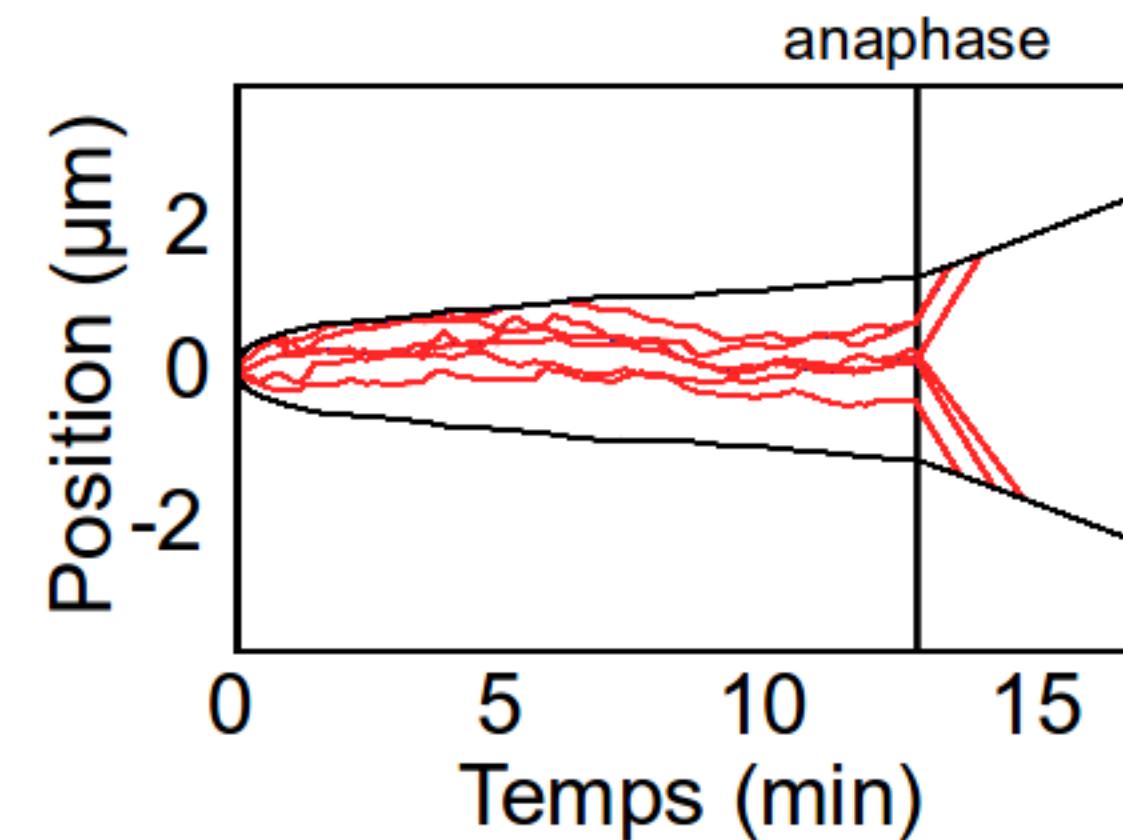
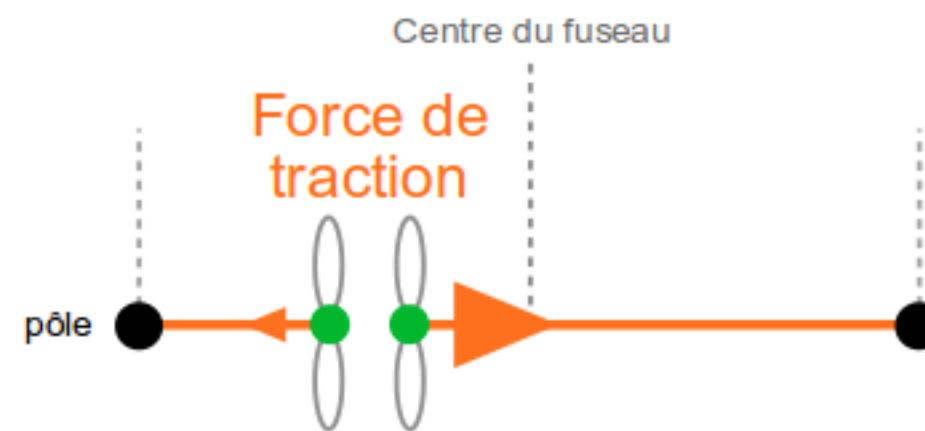


L'effet des différents paramètres du modèle sur le centrage (2)



Implémentation de l'hypothèse 1

Force de traction dépendante de la longueur ON



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

$$L_{dep} = 1 + \alpha(d_{site-pole} - d_{mean})$$

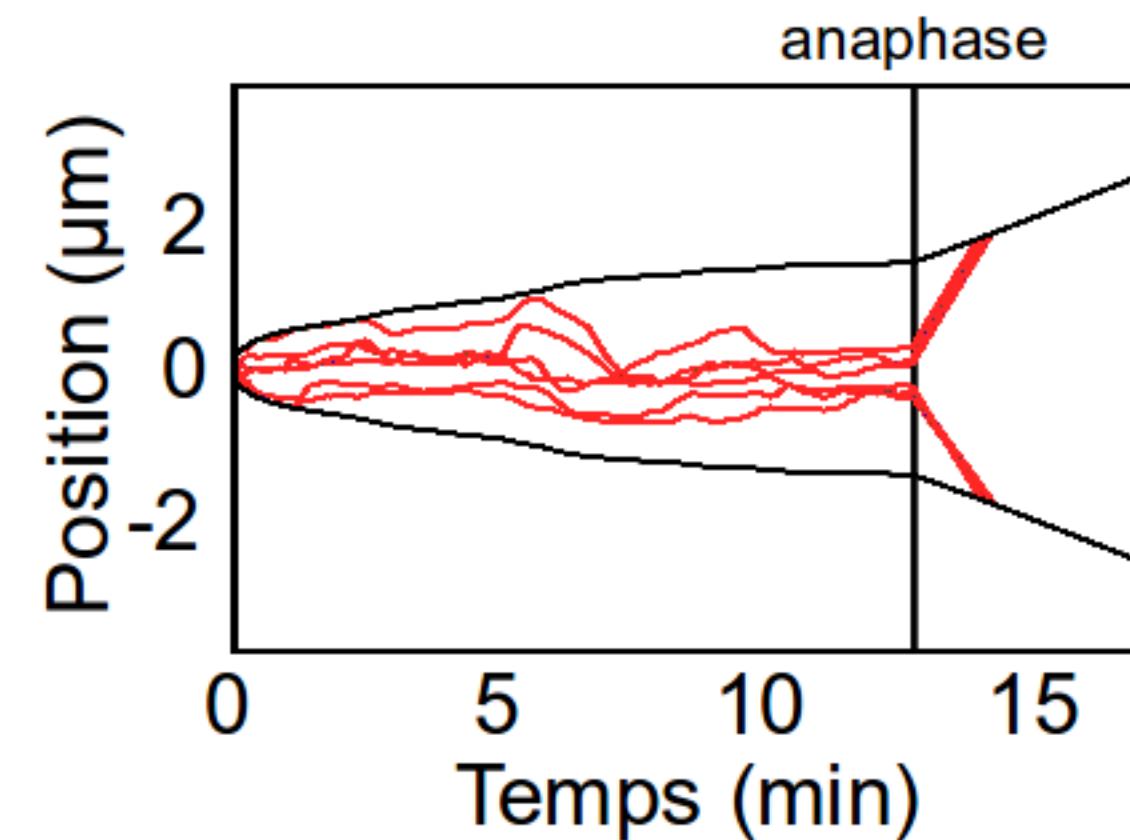
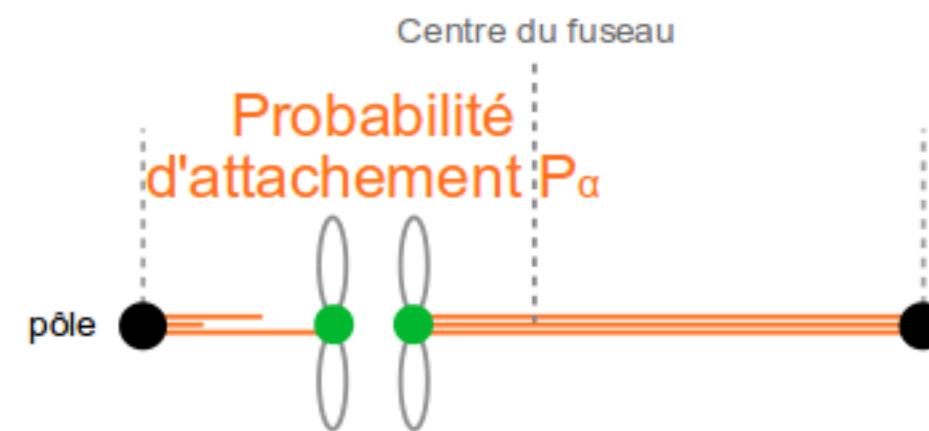
$d_{site-pole}$: distance between KT and pole

d_{mean} : mean distance between KT and pole

α : free parameter

Implémentation de l'hypothèse 2

Attachement dépendant de la position ON



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

$$n_{dep} = \frac{1}{\pi \gamma (\frac{d_{KT} - x_0}{\gamma})^2}$$

γ : scale parameter

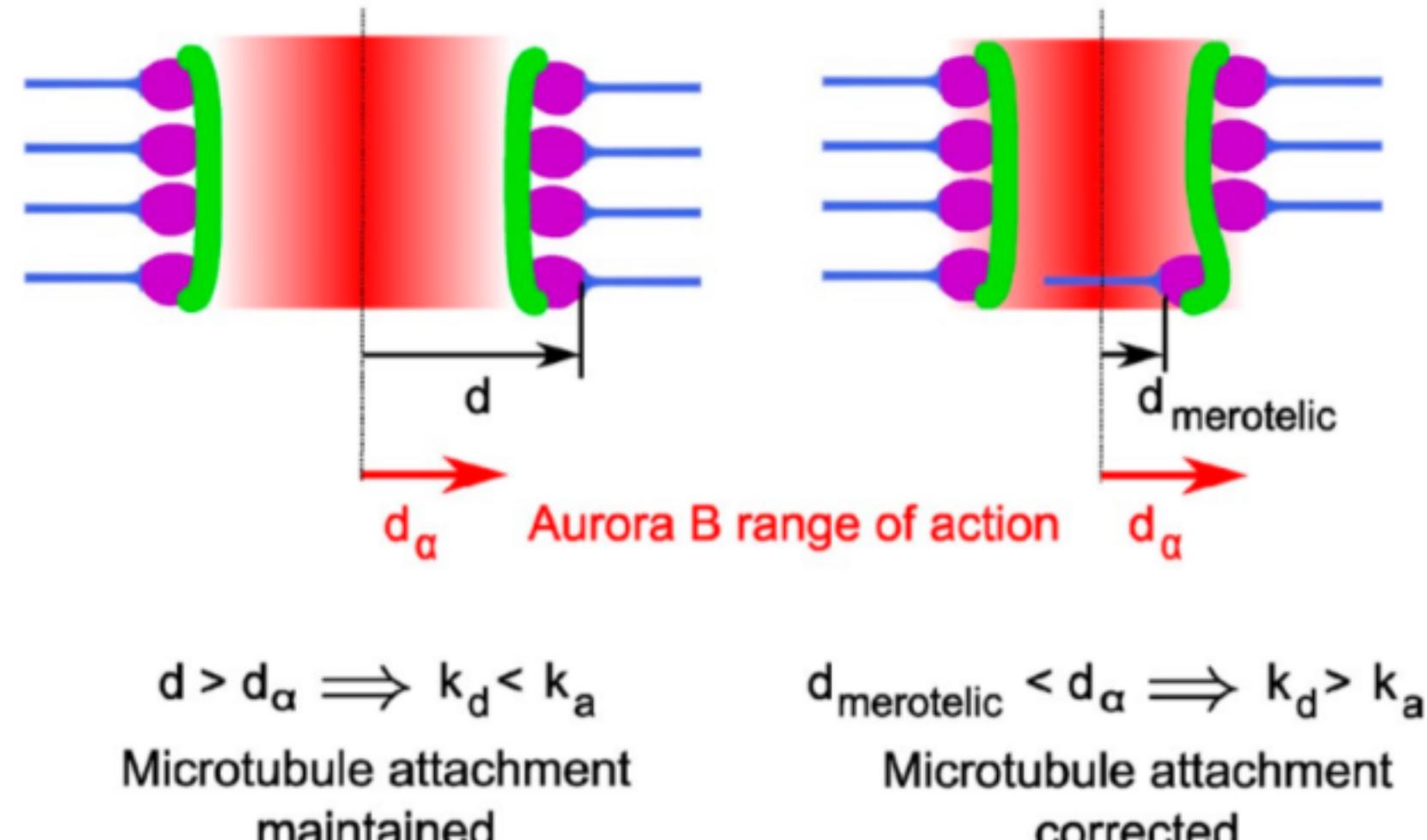
x_0 : location parameter

Mécanisme de correction du modèle

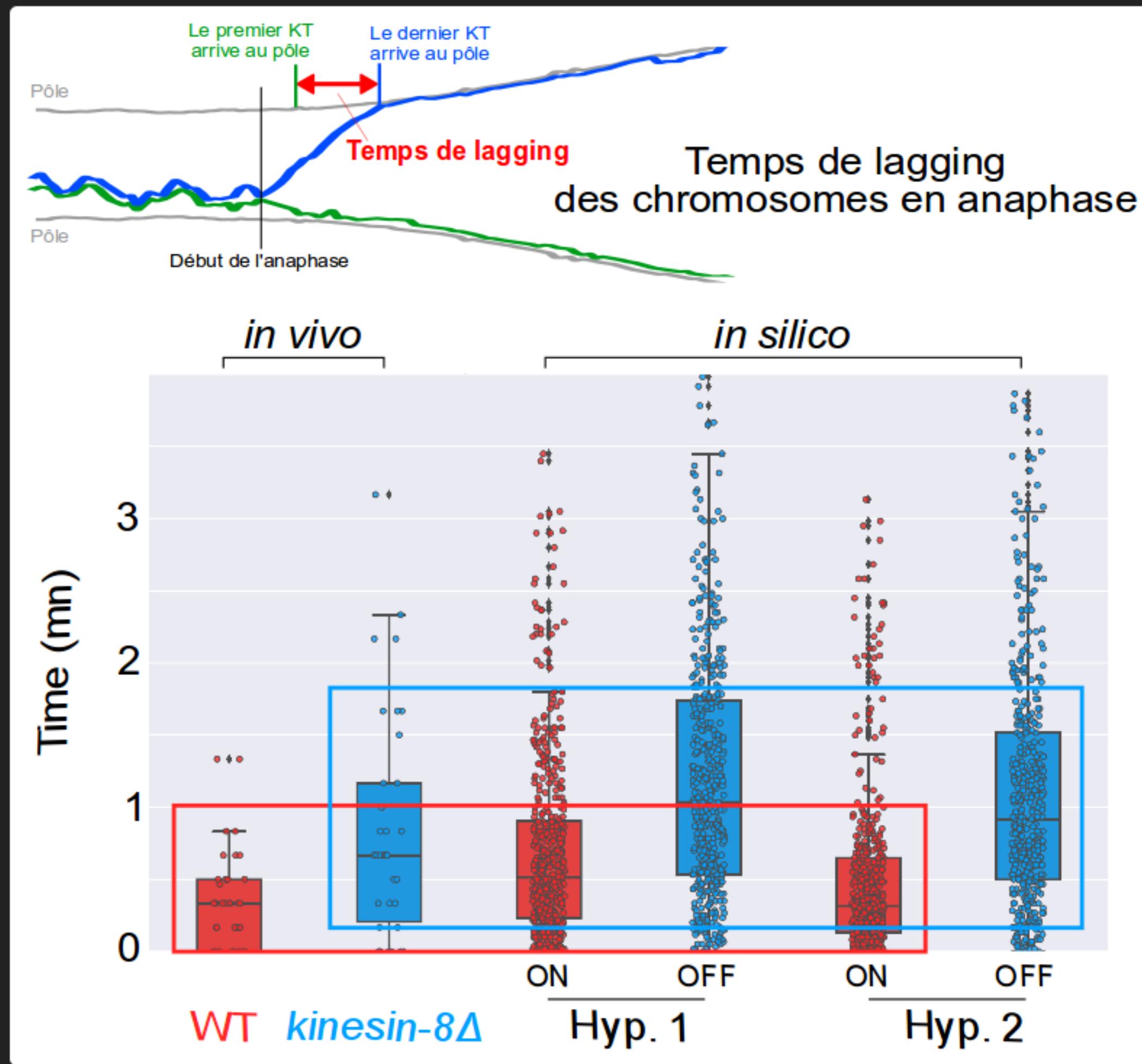
A Kinetochore orientation effect

	maximum orientation ($\beta = 1$)	no orientation ($\beta = 0$)
amphitelic	$P_C = 1$ $P_E = 0$	$P_C = 1/2$ $P_E = 1/2$
merotelic	$P_C = 2/3$ $P_E = 1/3$	$P_C = 1/2$ $P_E = 1/2$
merotelic	$P_C = 1/2$ $P_E = 1/2$	$P_C = 1/2$ $P_E = 1/2$

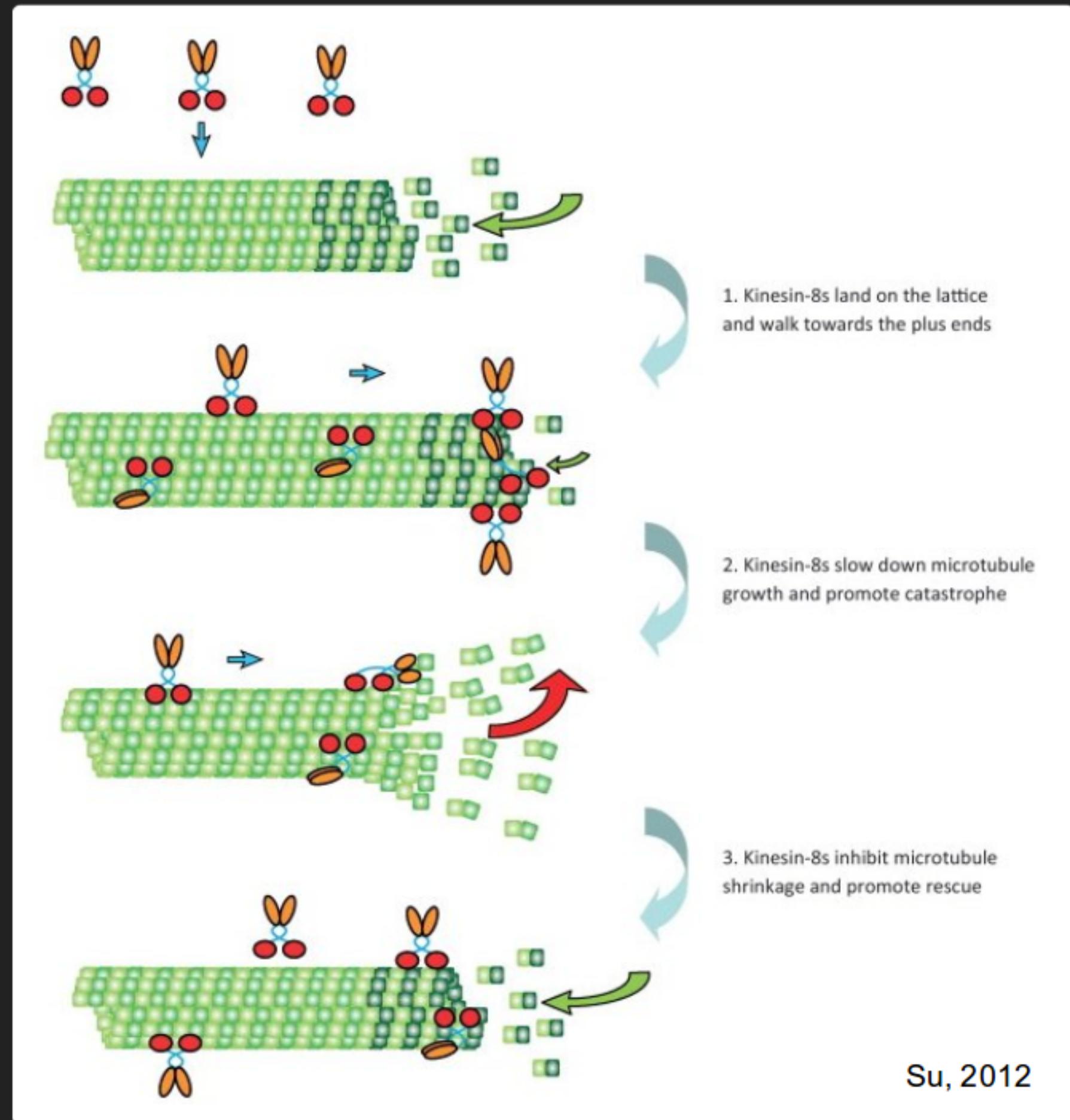
B Aurora B-like destabilization effect



Les chromosomes non alignés augmentent le temps de lagging en anaphase



Kinésine-8 : mécanisme d'action



Article figures

Figure 1

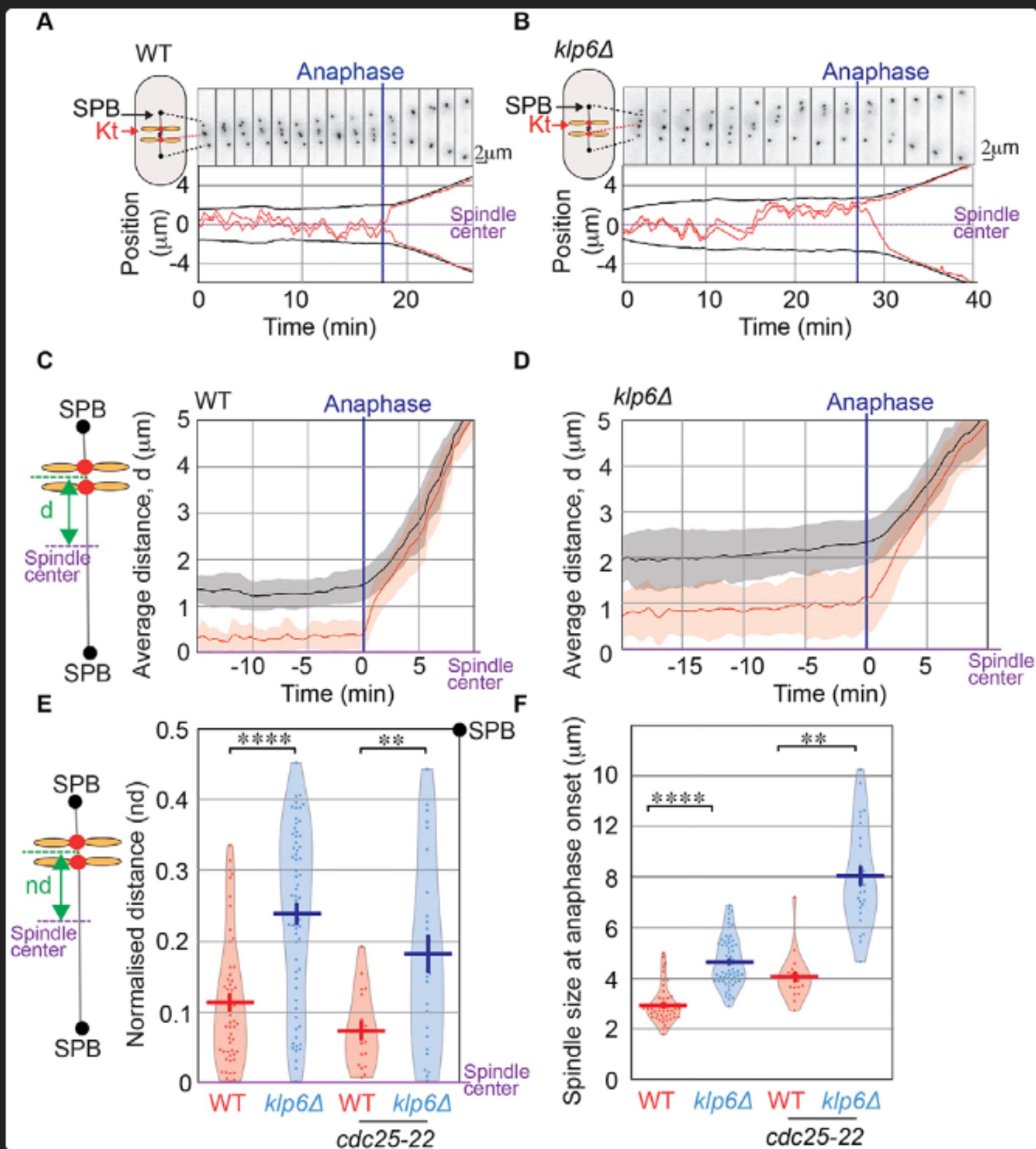


Figure 2

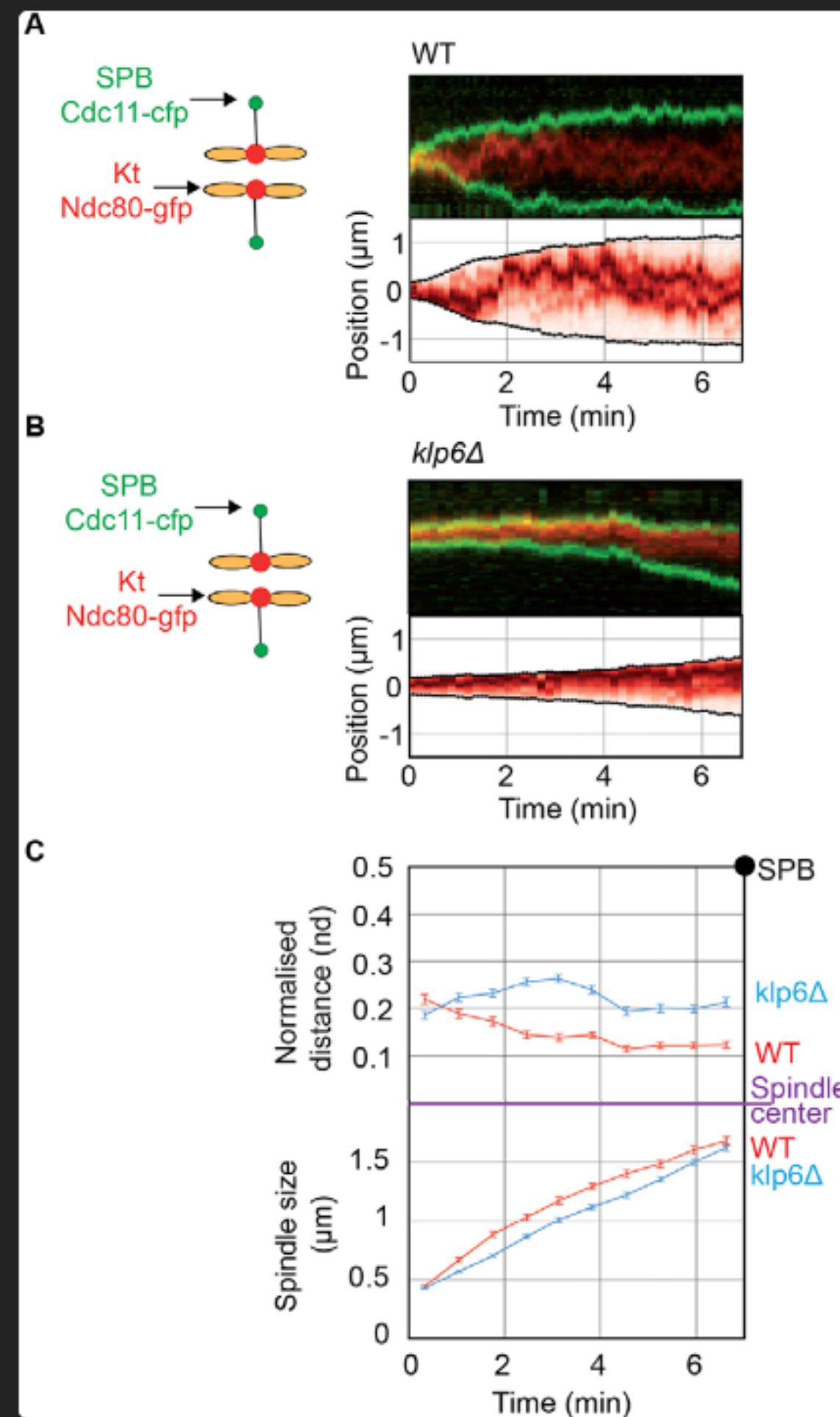


Figure 3

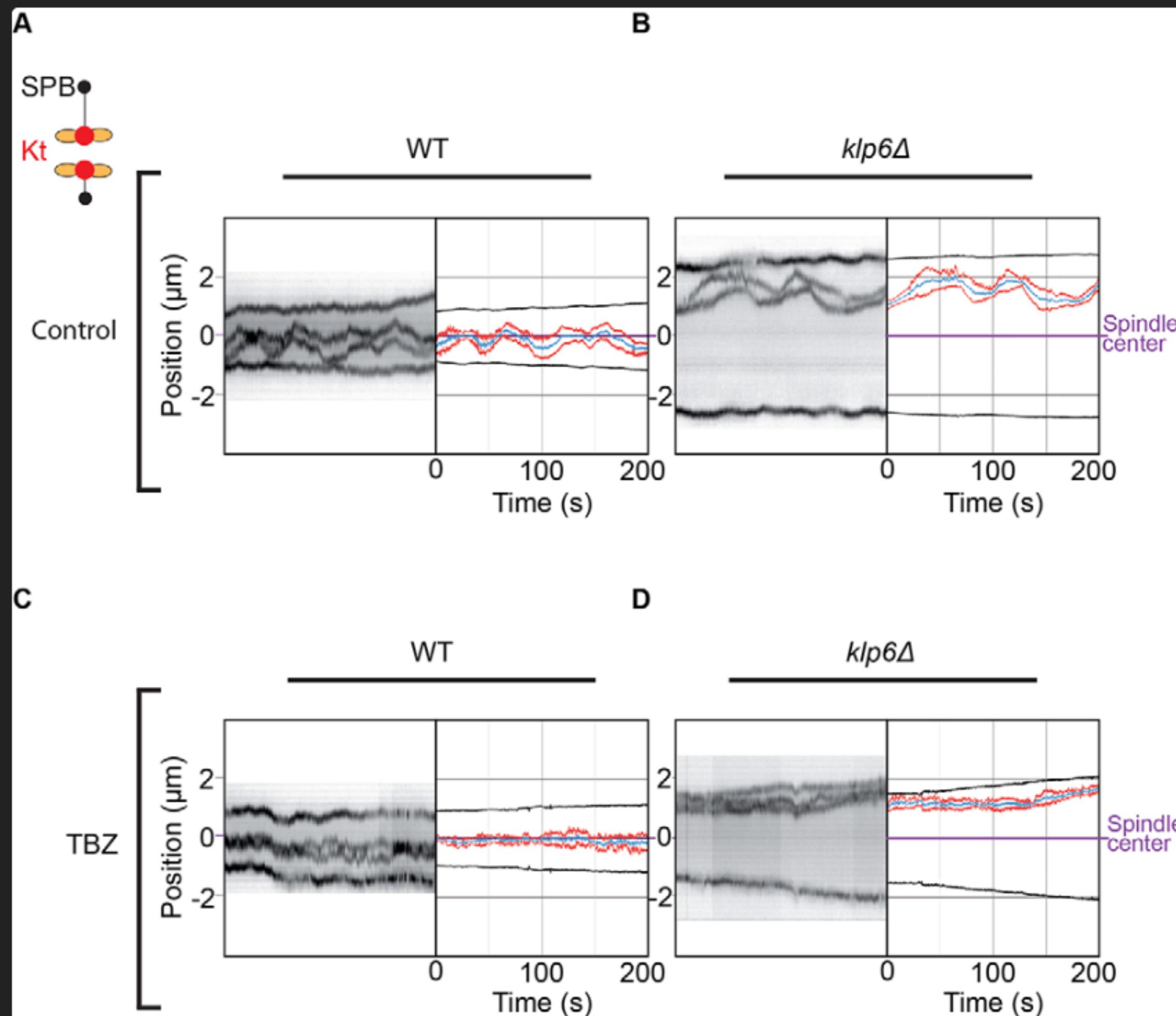


Figure 4

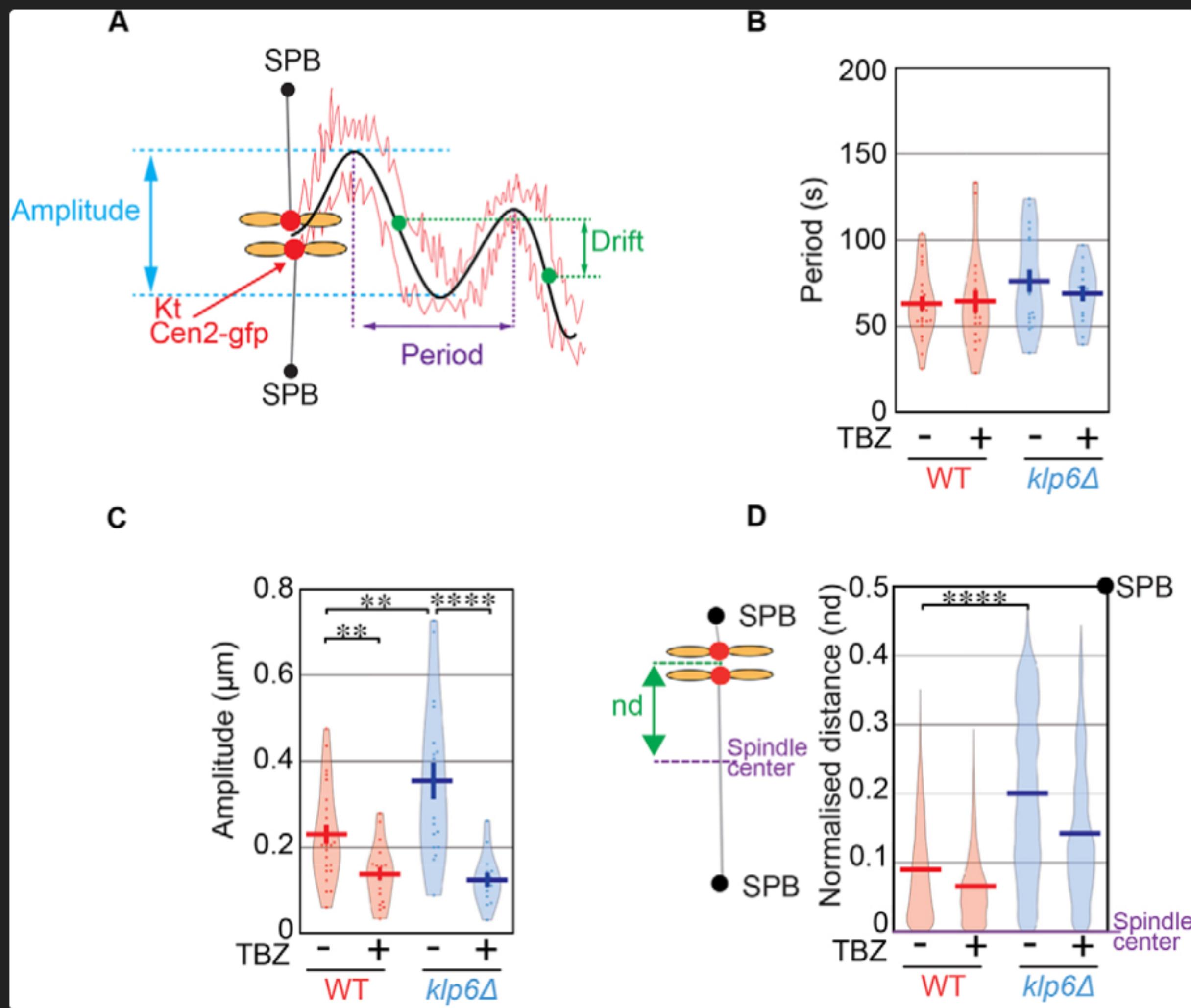


Figure 5

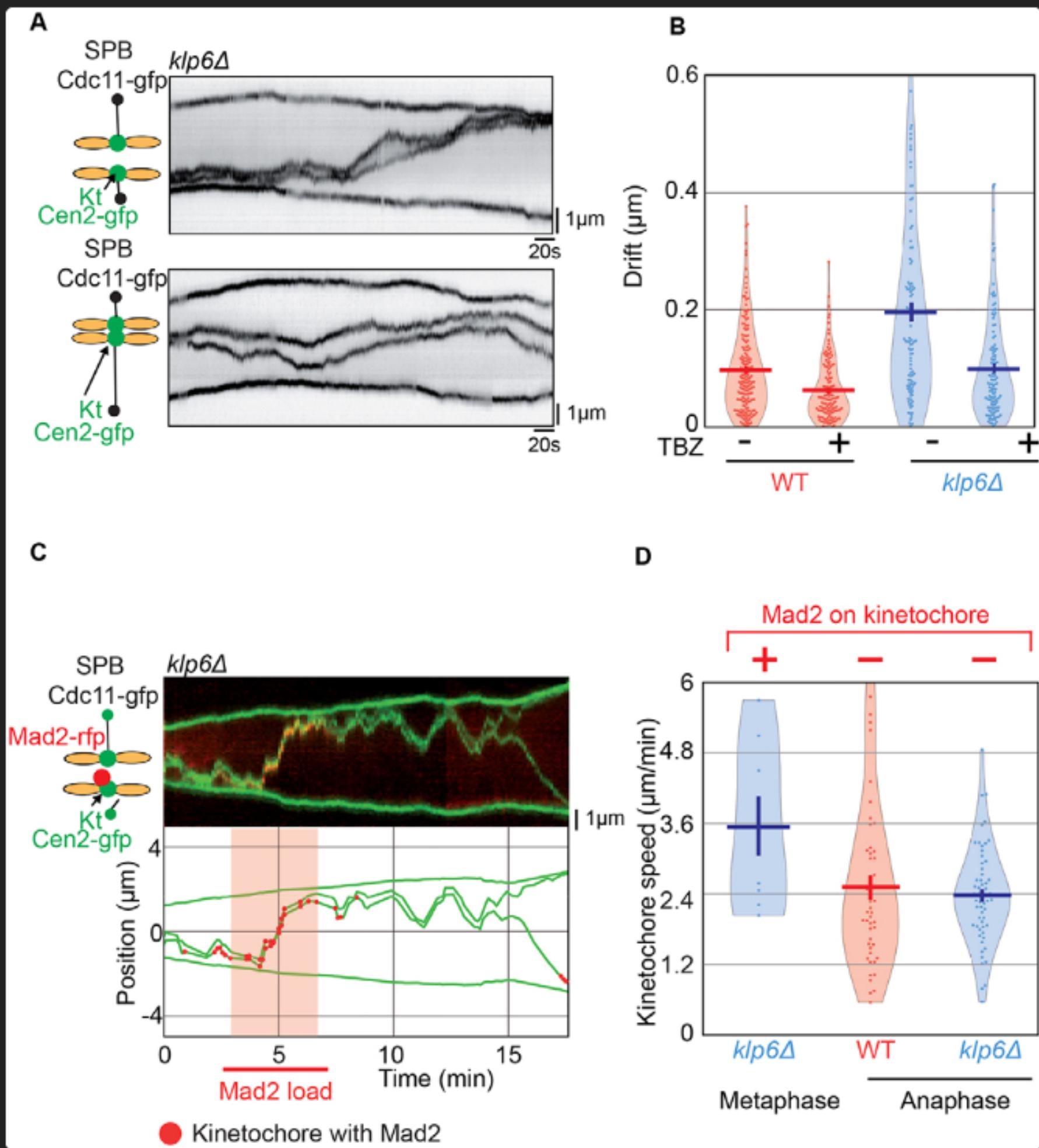


Figure 6

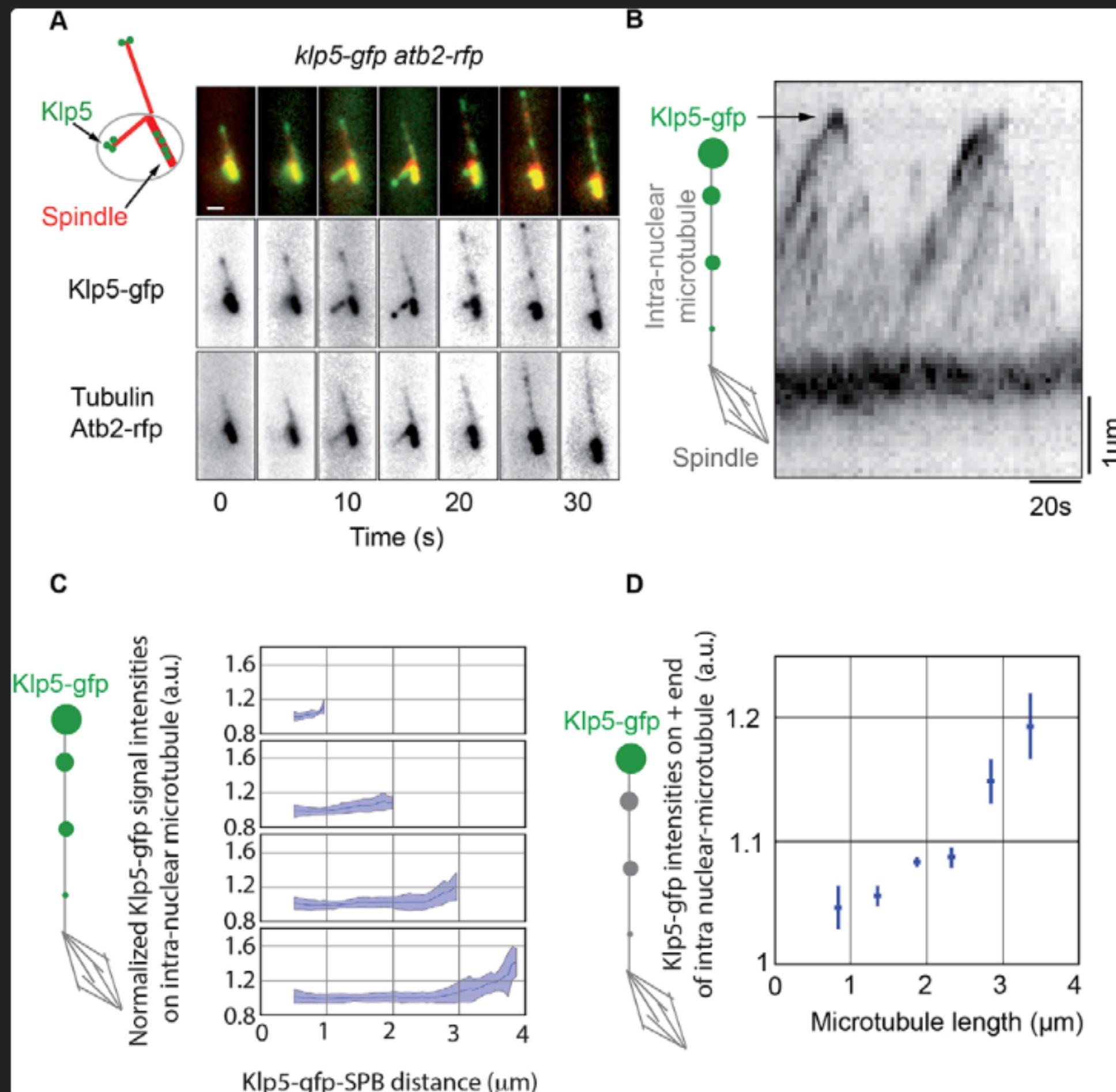


Figure 7

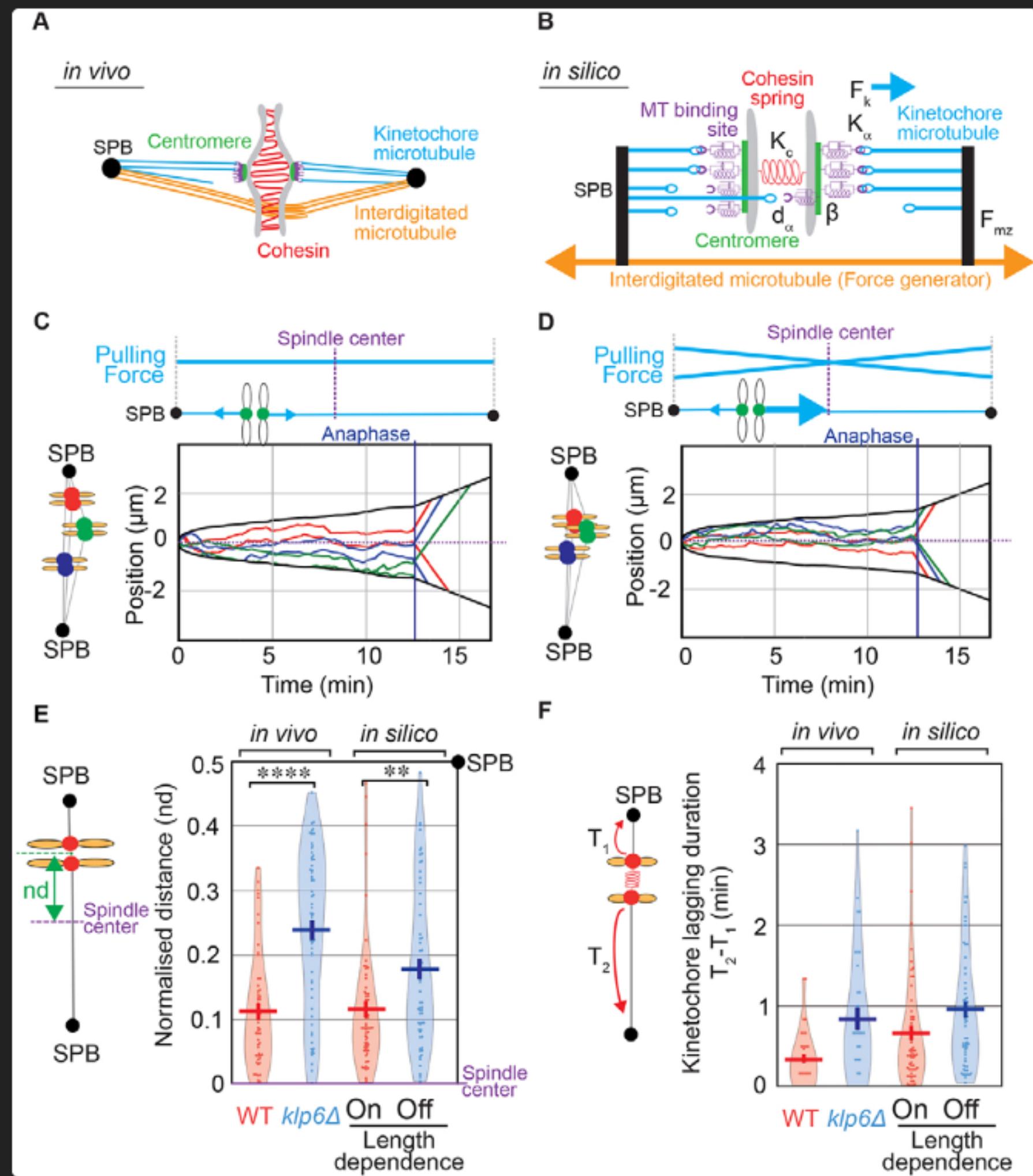


Figure 8

