

# Comment modéliser la croissance des levures à différentes échelles dans un but médical ?

Josselin SCOUARNEC, Tom LOUARN et Tanguy PAGEE

1èreS2, Lycée LPK Brest

TPE 2018-2019

## Résumé

La levure est un organisme modèle dans plusieurs domaines de recherche qui pourrait être comparé à un mécanisme d'horlogerie très complexe. Comprendre son fonctionnement est crucial pour la médecine. Nous vous présenterons comment nous avons utilisé des outils mathématiques et informatiques dans le but de simuler cet être vivant. Nous détaillerons d'abord le modèle des réaction chimique du cycle cellulaire de la levure. Par manque de temps nous n'avons pas pu beaucoup approfondir la modélisation des levures à plus grandes échelles. Nous laisserons quelques pistes de réflexions sur l'évolution de la taille d'une cellule ou la croissance d'une colonie dans un milieu.

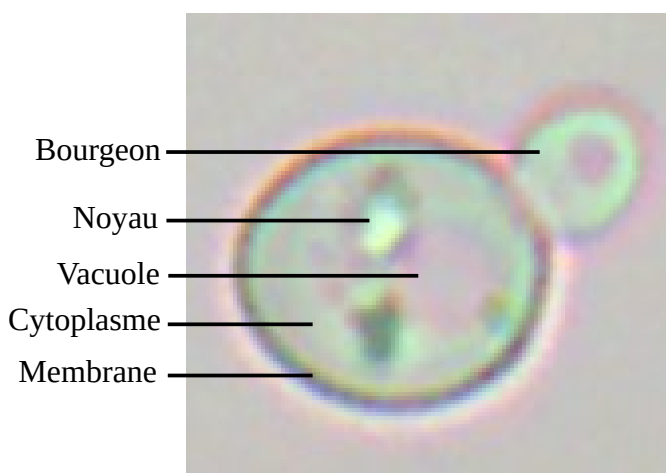
## Sommaire

Résumé.....	1
I-Introduction.....	2
II-Le modèle biochimique du cycle cellulaire.....	3
III-Nos simulations.....	8
IV Extrapolation du modèle.....	15
V-Limitations du modèle.....	18
VI-Une modélisation moins abstraite ?.....	19
VII-À l'échelle des colonie ?.....	25
VIII-Conclusion.....	26
ANNEXE A : Index des protéines du cycle cellulaire de <i>S. cerevisiae</i> .....	27
ANNEXE B : Résolution d'équations différentielles.....	28
RÉFÉRENCES.....	31

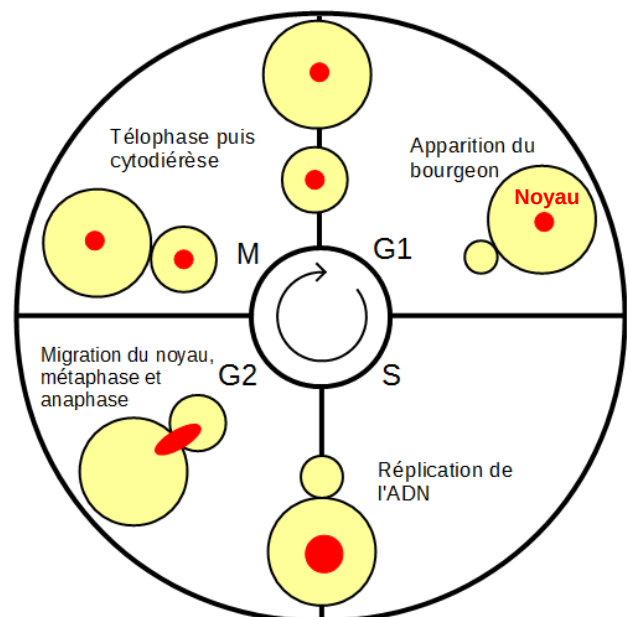
# I-Introduction

Les levures sont des organismes unicellulaires eucaryotes qui appartiennent au règne des champignons. On les connaît surtout pour leur utilisation dans la préparation du pain et la fabrication d'alcools. En effet la même espèce est utilisée dans ces deux domaines : *Saccharomyces cerevisiae*, les termes « levure de boulanger » et « levure à bière » sont donc équivalents. Bien que l'on sache qu'on en utilisait déjà en Égypte antique, c'est Louis Pasteur qui a découvert au XIXème siècle qu'il s'agissait d'êtres vivants.

La levure est aussi très utilisée dans la recherche en biologie puisqu'elle est simple à cultiver et relativement proche phylogénétiquement des cellules animales et végétales. À l'instar des souris de laboratoire et de la bactérie *E. coli*, la levure de boulanger est un organisme modèle. C'est donc en raison de sa notoriété auprès de la communauté scientifique et du grand public que nous avons décidé d'étudier *S. cerevisiae*.



*S. cerevisiae* (photo de nos observations)



Le cycle cellulaire de la levure

Les levures se reproduisent par mitose mais peuvent aussi sous une forme de reproduction sexuée que nous n'évoquerons pas davantage car cela ne se produit que sous certaines conditions. À la mitose, les cellules humaines se divisent en deux cellules filles de taille identique (c'est la scission). Mais chez *S. cerevisiae*, un bourgeon (excroissance) se forme sur la cellule mère au début de son cycle cellulaire. Il grossit jusqu'à la mitose où il se détache après avoir reçu une copie des 16 paires de chromosomes de la cellule mère. On considérera qu'après la cytodiérèse, la plus grosse des deux nouvelles cellules est toujours la même cellule mère et qu'il n'y a donc qu'une cellule fille (issue du bourgeon).

La nature « simple » de la vie d'une cellule de levure nous a poussé à nous demander si il était possible de la résumer par une série d'instruction, un programme. Comment peut-on simuler une levure ?

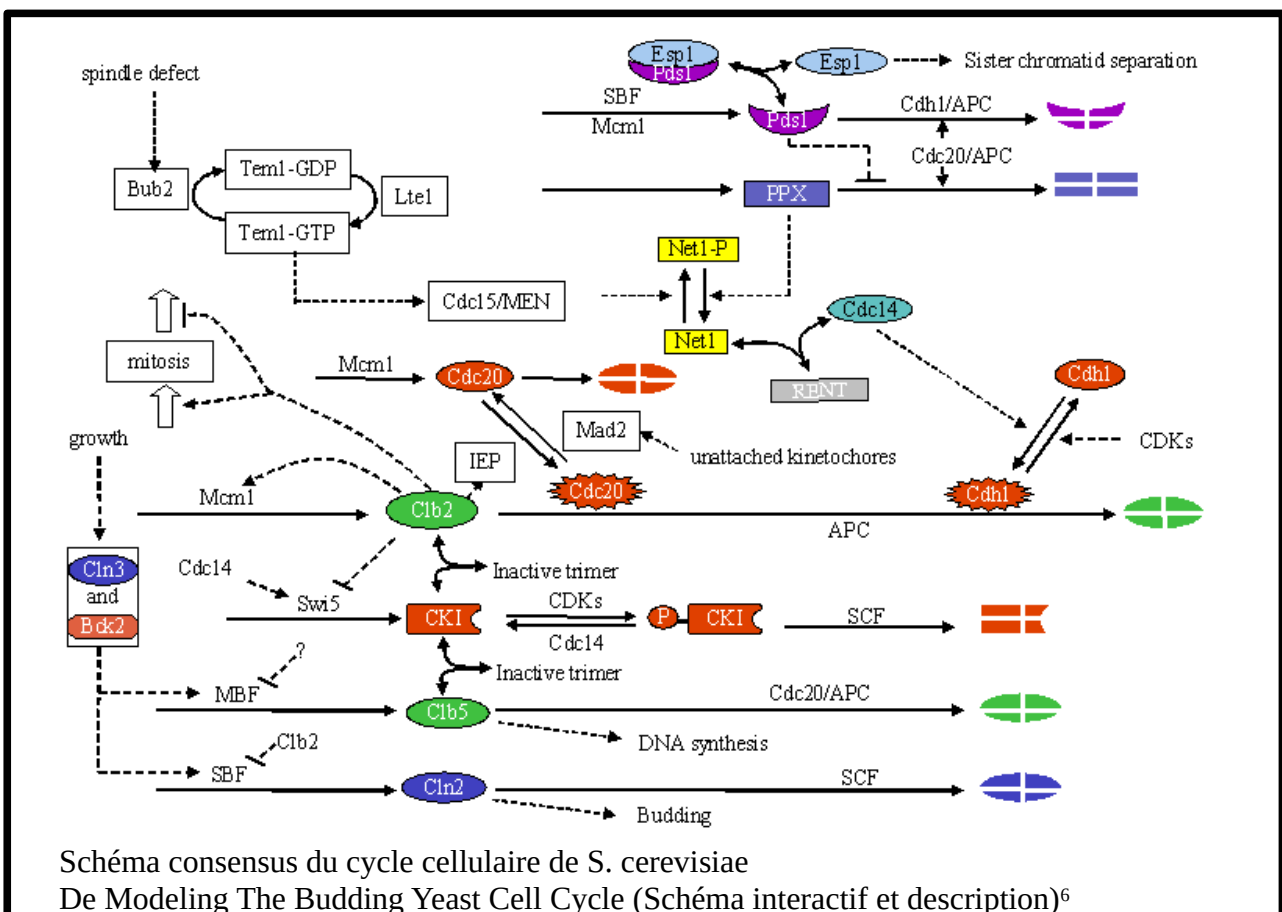
## II-Le modèle biochimique du cycle cellulaire

Nous sommes conscients que nous nous basons sur une version un peu obsolète du modèle mais c'est la mieux documentée.

Notre corps est constitué de milliards de cellules qui se renouvellent en permanence. Certaines des protéines qui sont synthétisées par ces dernières ne servent qu'à réguler les étapes de leur propre cycle cellulaire. La vie de chacune de nos cellules est donc régie par des réactions chimiques entre différentes protéines bien spécifiques. La biologie moléculaire a pour but de comprendre ces réactions.

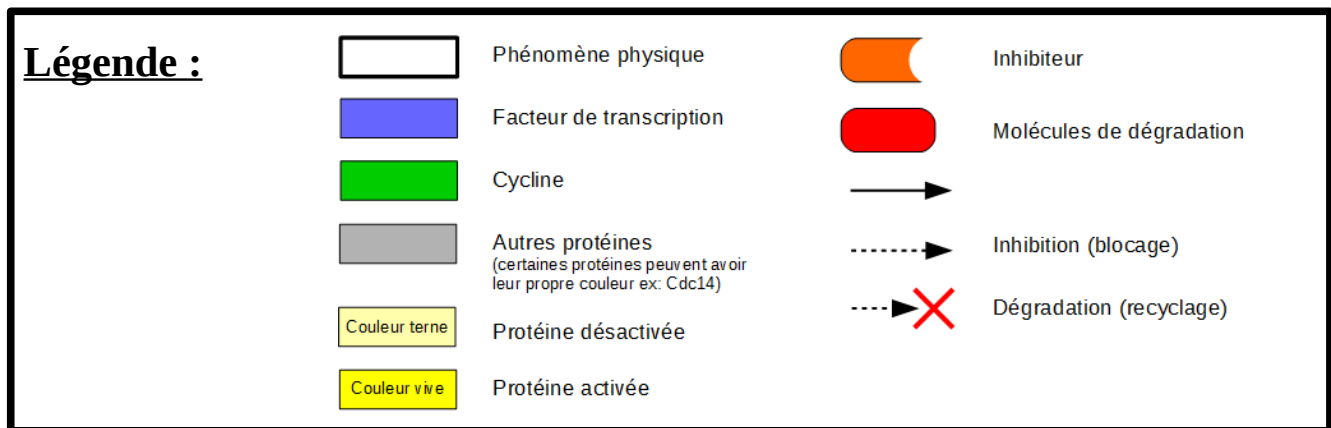
Les interactions les plus notables sont celles entre certaines kinases (une famille d'enzymes) et les cyclines, une famille de protéines uniquement impliquées dans la régulation du cycle cellulaire (d'où leur nom).<sup>3</sup> On appelle ces enzymes kinases dépendantes des cyclines (abrégé CDK). Leur particularité est que suivant à quelle cycline une CDK est associée, le duo pourra accomplir des tâches différentes. Chez l'Homme il en existe plus d'une dizaine, alors qu'il n'y a qu'une seule CDK chez la levure : la protéine Cdc28.<sup>4</sup> Elle est présente en excès dans la cellule et s'associe rapidement aux cyclines après leur synthèse. Il n'est donc pas nécessaire de connaître la quantité de CDK contrairement à la quantité de chaque cycline (de la description<sup>6</sup>).

Un facteur de transcription est une protéine qui initie la transcription d'un gène, ce qui implique la synthèse de la protéine correspondante.<sup>13</sup> De nombreuses autres molécules jouent un rôle dans la vie des cellules :

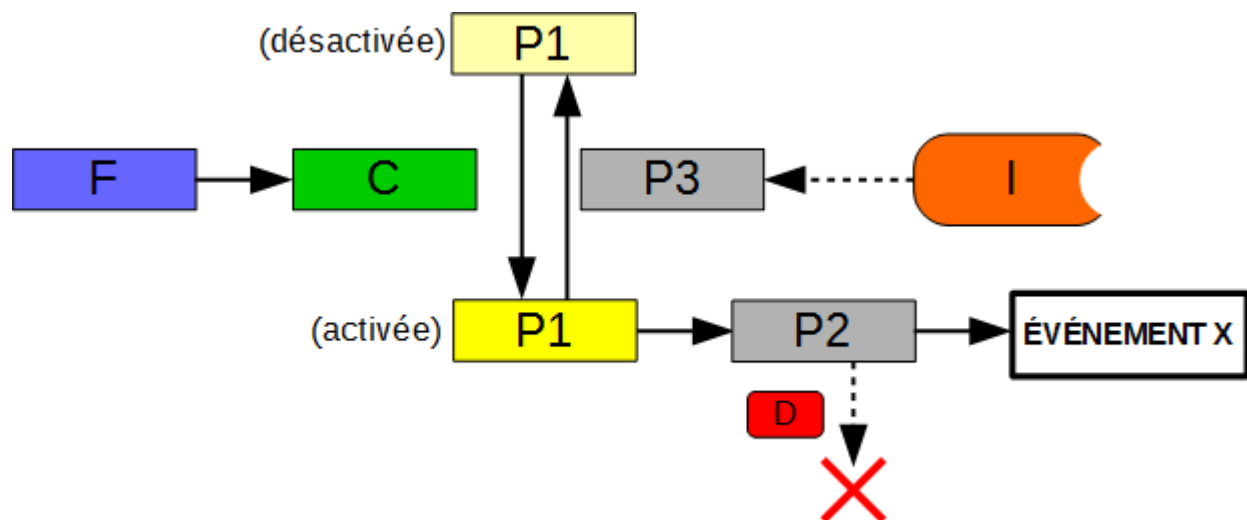


Le diagramme précédent est très complexe, nous l'avons décortiqué et séparé en cinq sous-systèmes pour mieux le comprendre. Le site<sup>6</sup> nous a grandement aidé à la compréhension (parties "description" et "justification"). Notons que certaines cyclines sont en double : dans le modèle Cln1 et Cln2 sont considérées comme étant homologues, elle sont unifiées en tant que Cln2 (De même pour Clb5,6 → Clb5 et Clb1,2 → Clb2).

Pour nos description, comme les cyclines fonctionnent toujours en conjonction avec une kinase, c'est un abus de langage de dire « Clb2 active... », il faudrait dire « Le duo Clb2/Cdc28 active... » mais cela complique les descriptions.

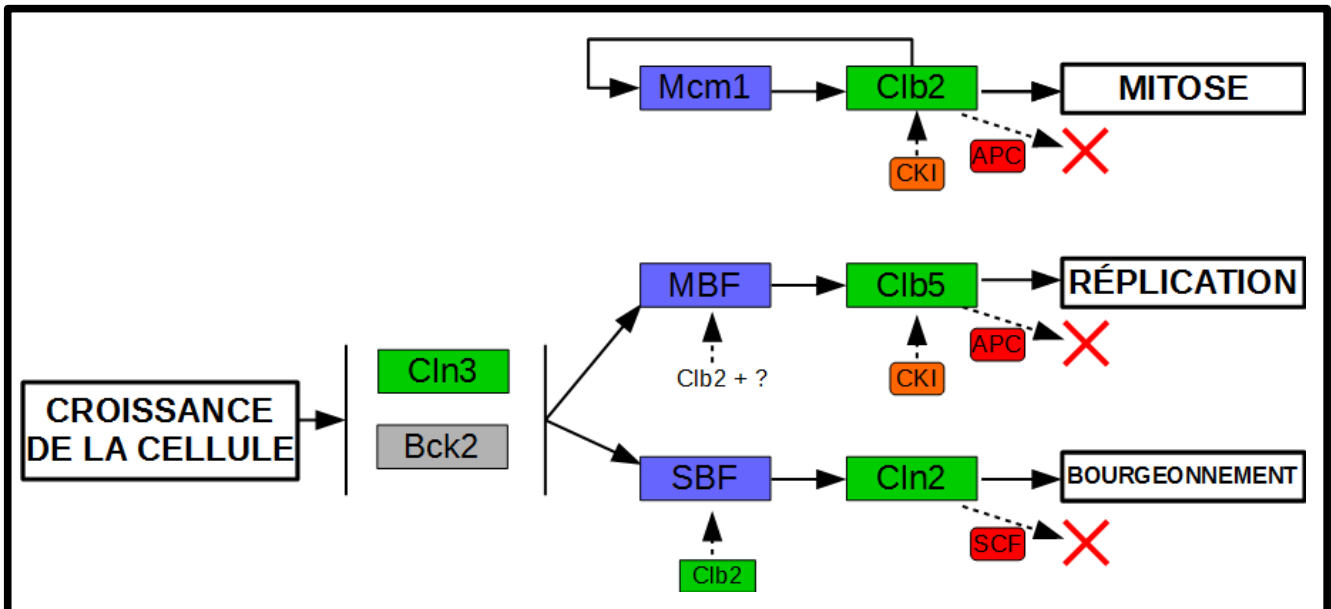


### Exemple :



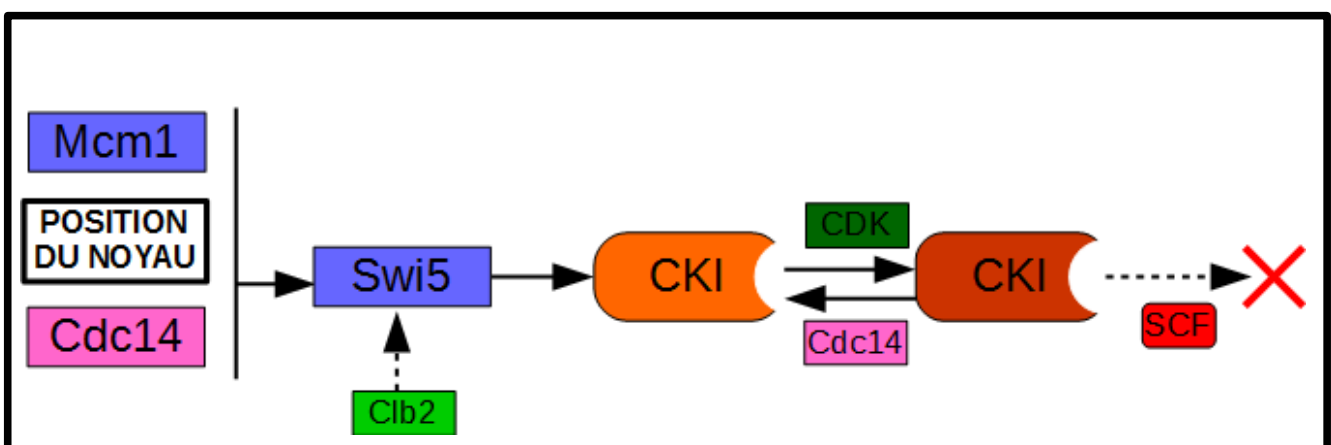
On décrirait ce schéma de la manière suivante :

- Le facteur de transcription F engendre la transcription du gène de la cycline C.
- Une CDK associée à la cycline C active la protéine P1.
- La protéine P1 permet lorsqu'elle est activée de libérer la protéine P2.
- La protéine P2 cause l'événement X
- P2 fini par être dégradée par le complexe de dégradation D.
- Mais la protéine P1 peut aussi être désactivée par la protéine P3.
- La protéine P3 est cependant inhibée par l'inhibiteur I.



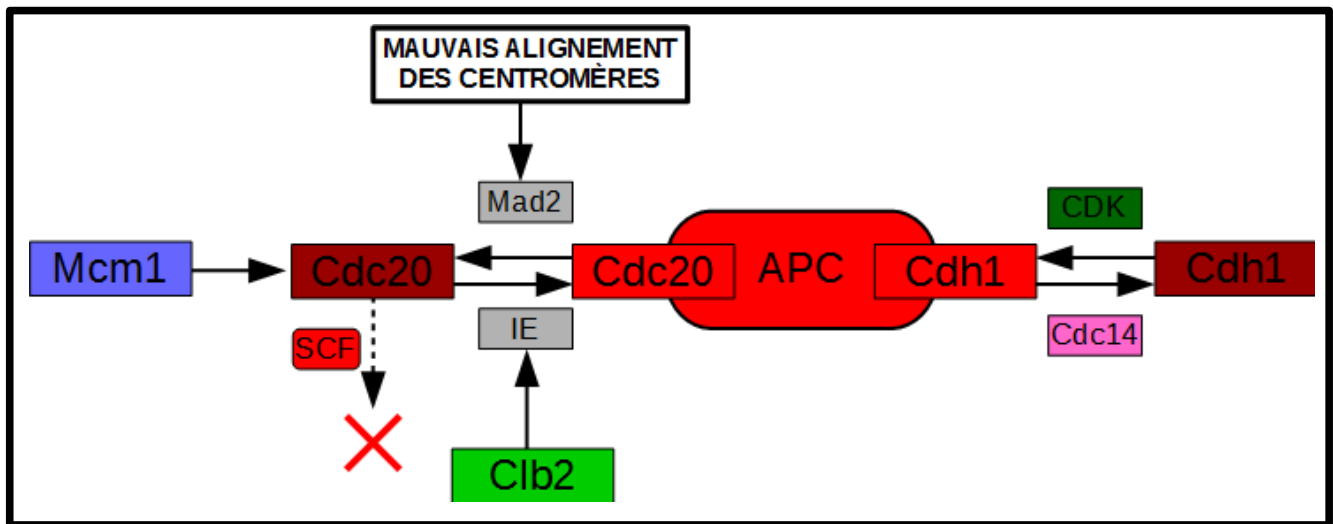
On a d'abord la partie qui décrit la synthèse des cyclines :

- La synthèse de Cln3 et Bck2 après de point de contrôle G1 marque le véritable "début" du cycle cellulaire.
- Dans le modèle, les facteurs de transcription SBF et MBF sont considérés comme identiques ils sont actifs aux mêmes moments.
- Cln2 importante pour le bourgeonnement,
- La réplication débute un peu plus tard car Clb5 est inhibée par CKI.
- Clb2 implique l'arrivée de Mcm1 qui implique la synthèse de Clb2. D'autres facteurs lancent cette réaction en chaîne importante pour la mitose.



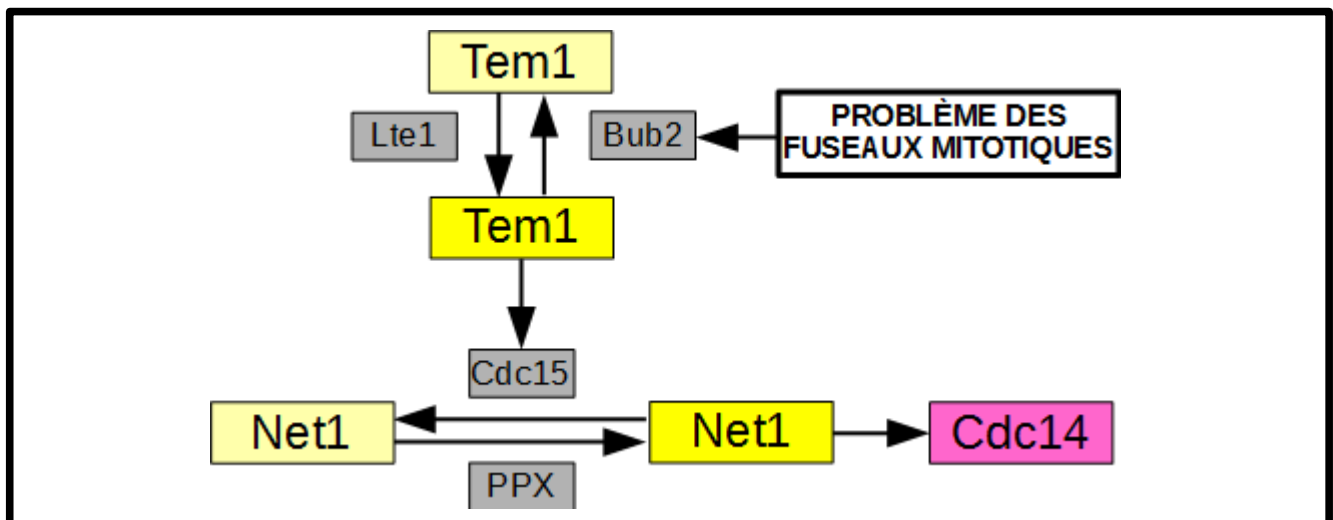
Le complexe d'inhibition (CKI), composé des protéines Cdc6 et Sic1 :

- La synthèse de Cdc6 et Sic1 démarre avec Cdc14 et la migration du noyau.
- Cdc14 active ensuite CKI à la fin de la phase M.
- CKI reste actif jusqu'à la fin de la phase G1 du cycle suivant.
- CKI est enfin désactivé par Cdc28 (la CDK) après l'arrivée de cyclines.



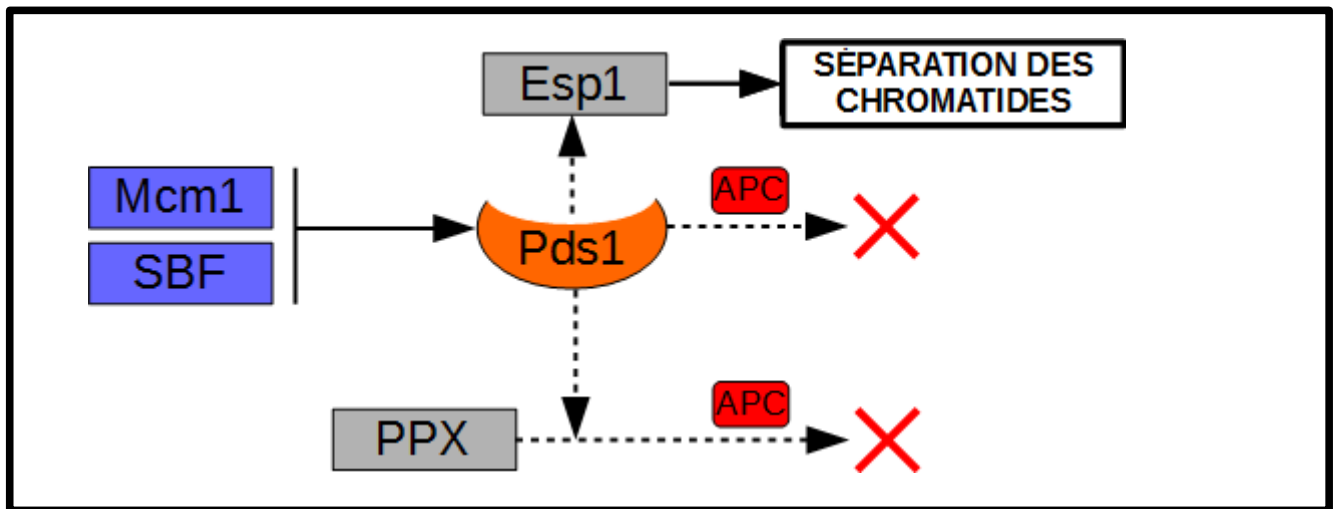
Le complexe de dégradation (APC), nécessite Cdc20 ou Cdh1 pour fonctionner (Il existe aussi le complexe SCF mais qui n'est pas décrit plus dans le modèle) :

- Clb2 active Cdc20 par l'intermédiaire de IE qui retarde le processus.
- Cdc28 (CDK + les autres cyclines) active Cdh1
- Cdc20 est désactivée s'il y a un problème au point de contrôle métaphase.
- Cdh1 est désactivée en fin de cycle par Cdc14



Les protéines MEN (pour « mitotic exit network »), actives en fin de cycle :

- Lte1 est présente dans le bourgeon, sa quantité varie peu au cours du cycle.
- Tem1 est présente dans le noyau, à sa migration Tem1 est activée par Lte1.
- Bub2 garde cependant Tem1 désactivée jusqu'au point de contrôle métaphase.
- Si un défaut est décelé, Tem1 est maintenue désactivée, la cellule est bloquée.
- Tem1 désactive Net1 par le biais de Cdc15.
- Cependant PPX maintient Net1 activé
- Net1 permet l'arrivée de Cdc14
- Cdc14 désactive Cdh1 et active CKI pour préparer le cycle suivant.



Pds1 et Esp1, actives en fin de cycle :

- Pds1 inhibe Esp1 jusqu'à sa dégradation par APC.
- Esp1 permet aux chromosomes bichromatidiens de se séparer à l'anaphase.
- Pds1 empêche la dégradation de PPX.
- PPX garde Net1 activé qui limite l'activité de l'APC le biais de Cdc14 qui désactive Cdh1. (Pds1 retarde indirectement sa propre dégradation)

### III-Nos simulations

Dans cette partie nous allons donc essayer de modéliser le cycle cellulaire de la levure à l'échelle moléculaire, c'est à dire simuler informatiquement l'évolution au cours de multiples cycles les quantités relatives des protéines qui interviennent dans le déroulement de la vie de la levure, ainsi que des paramètres importants comme la masse de la cellule. Il faudra aussi garder une trace des événements comme la mitose ou le début du processus de réplication.

Nous nous sommes inspirés de l'étude Chen (2004)<sup>7</sup>. Cette étude avait pour but de tester le modèle préétabli du mécanisme de contrôle du cycle cellulaire des levures que nous avons décrit plus haut. Pour cela les chercheurs ont intégré ce modèle en un système d'équations qui peuvent être résolues par un programme informatique. Ces équations font intervenir de nombreux paramètres choisis de manière à être fidèles au modèle. Ils ont ensuite comparé les résultats de leurs simulations à des observations de levures menées par des scientifiques indépendants à cette étude.

Nous n'avons pas les connaissances mathématiques pour concevoir nos propres équations, nous utiliserons donc celles qui ont été énoncées dans l'article (aussi disponibles sur le site<sup>6</sup> de l'étude). Les étudier en détail nous a permis de comprendre davantage le modèle. Leur système est principalement composé d'équations différentielles (certains paramètres sont quand même calculés avec des équations « classiques »). Elles servent à exprimer l'évolution d'un paramètre  $y$  par rapport l'évolution du temps  $t$ .

$$\frac{dy}{dt} = f(y)$$

On a vu qu'une protéine peut être synthétisée, dégradée ou inhibée. Pour retenir séparément la fraction de la quantité d'une protéine qui est inhibée, on utilisera deux variables et deux équations différentes pour les deux états de cette protéine.

Équation type :

$$\frac{d[X]}{dt} = k_{s,x} \cdot [F] \cdot [masse] + k_{di,x} \cdot [XP] - (k_{i,x} \cdot [I] + k_{d,x} \cdot [D]) \cdot [X]$$

- $[X]$  la quantité d'une protéine que l'on veut modéliser.

- $F$  un facteur de transcription et  $k_{s,x}$  le coefficient de synthèse de  $X$ .

- $[XP]$  la quantité de  $X$  qui est inhibée et  $k_{di,x}$  le coefficient de désinhibition de  $X$ .

- $I$  un inhibiteur de  $X$  et  $k_{i,x}$  le coefficient d'inhibition de  $X$ .

- $D$  une protéine qui peut dégrader  $X$  et  $k_{d,x}$  le coefficient de dégradation de  $X$ .



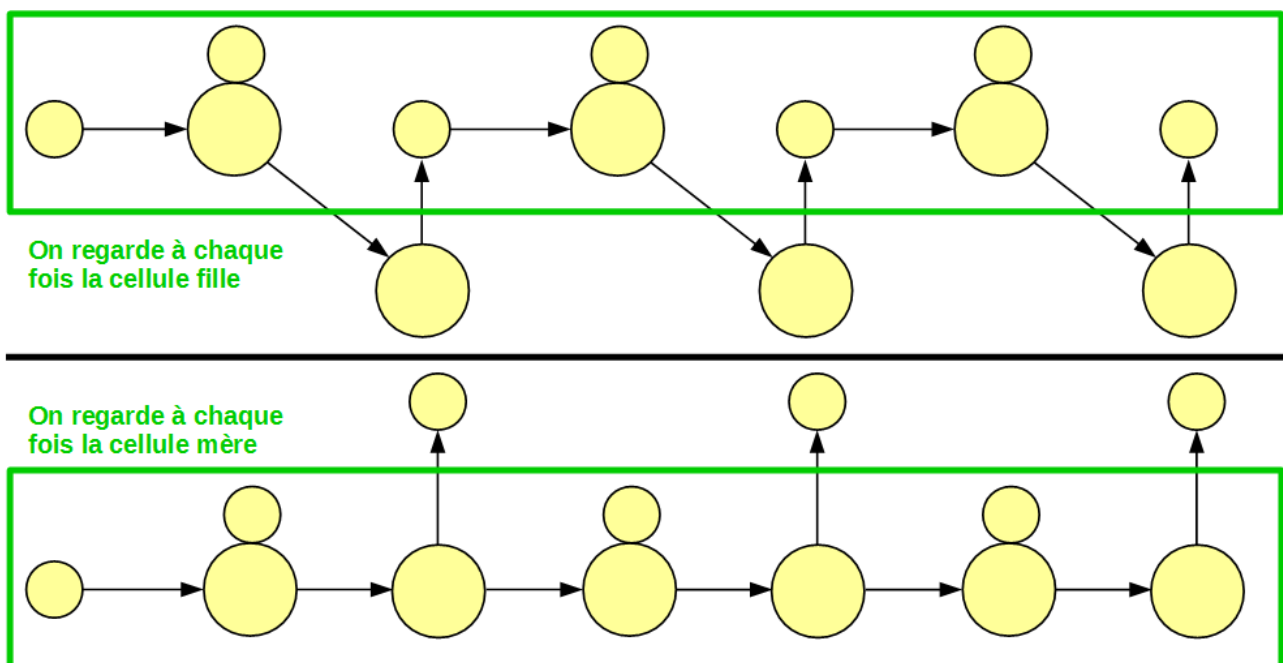
L'équipe de chercheurs avait utilisé un logiciel dédié à la résolution de ce genre d'équations. Cependant nous programmerons nous-même notre simulation pour plus de libertés de personnalisation. Nous l'avons programmée en java avec l'interface de développement Processing<sup>5</sup>. Notre méthode de résolution est détaillée dans l'annexe « Résolution d'équations différentielles ».

Le modèle mathématique doit tenir compte de quatre de ce que l'on va appeler les événements cellulaires :

- l'apparition du bourgeon (abrégé B sur les graphiques)
- le début de la phase de réplication (abrégé S)
- l'alignement des chromosomes lors de la métaphase (abrégé M)
- la cytotédiérèse (abrégé C)

Ce sont des événements ponctuels, on utilise un algorithme de seuil pour détecter leur occurrence : lorsque les protéines responsables d'un certain événement atteignent une certaine quantité, il se déclenche. Cette vérification est effectuée après chaque itération de l'algorithme de résolution.

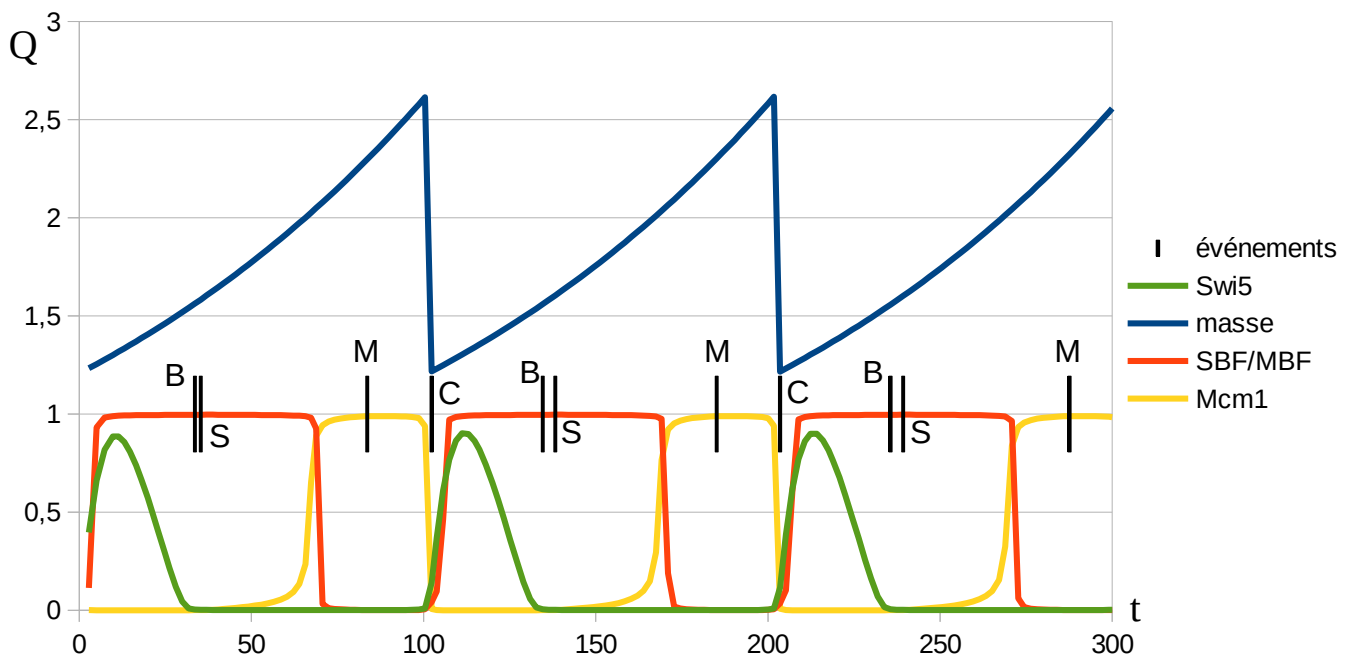
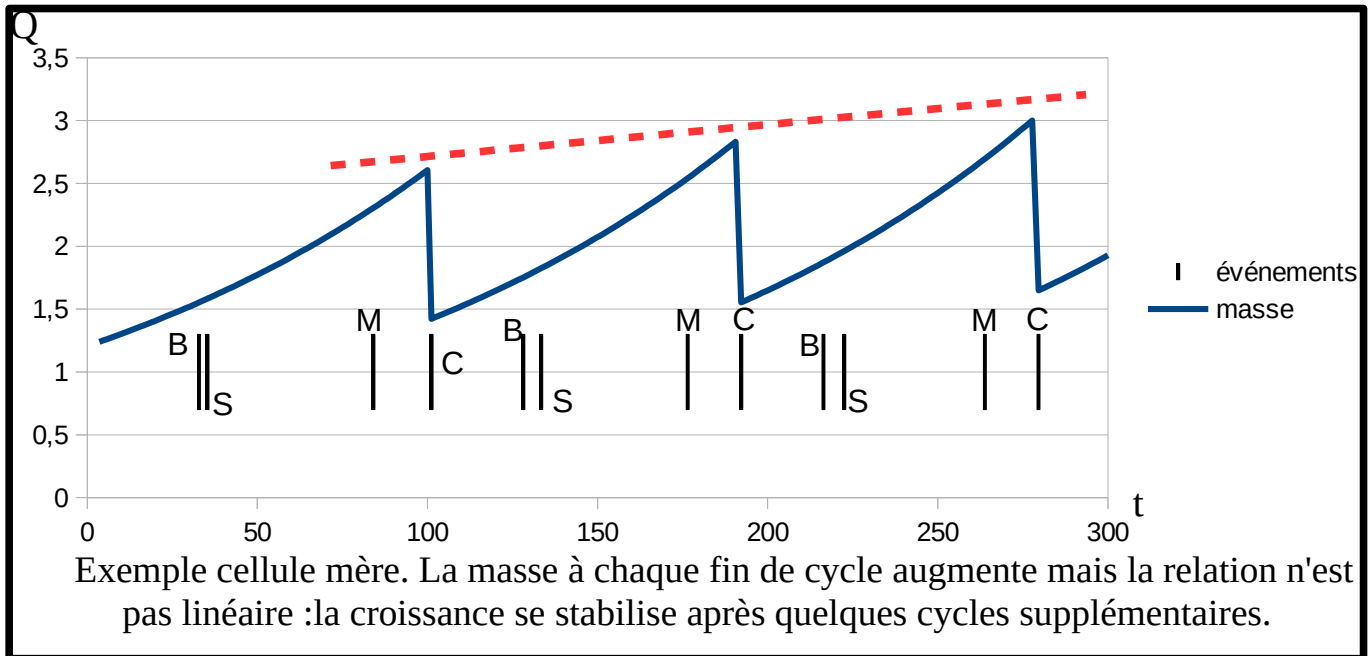
Lorsque l'événement cytotédiérèse se produit, la masse de la cellule doit être divisée. Pour calculer la nouvelle masse, on utilise le ratio de masse cellule mère/cellule fille juste après la division (observé dans la nature). On peut donc choisir laquelle des deux cellules on continue à simuler à chaque division :



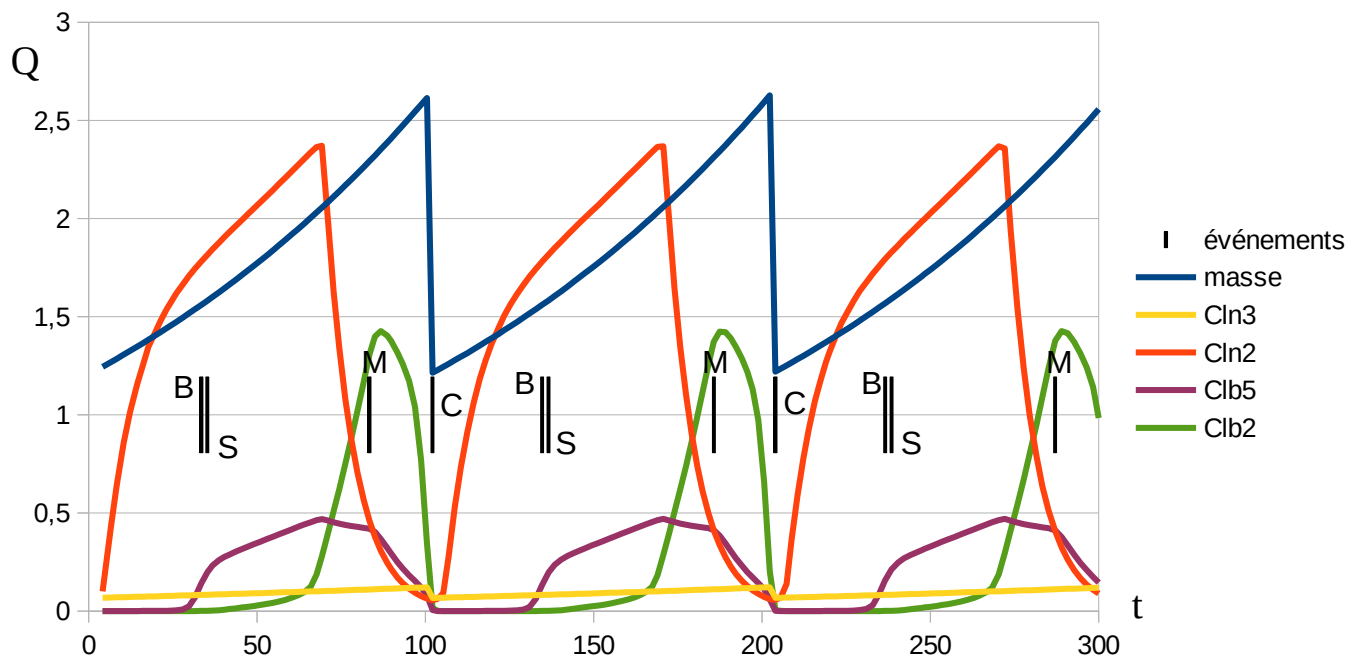
Nous choisissons par défaut de s'intéresser à chaque cycle à la cellule fille car leur masse à la « naissance » est généralement la même. Contrairement à la cellule mère qui continue à croître (nous vous montrerons un exemple).

Toutes les quantités sont en unités arbitraires mais le temps  $t$  est en minutes. Les paramètres de départ sont ceux d'une cellule fille qui vient de se séparer de sa cellule mère. Pour nos simulations, nous prenons  $\Delta t = 10^{-4}$  et nous arrêtons le programme lorsque  $t$  est supérieur à 300 (ou 350 pour certains exemples). Les données sont directement enregistrées dans un tableur pour ensuite les mettre dans des graphiques.

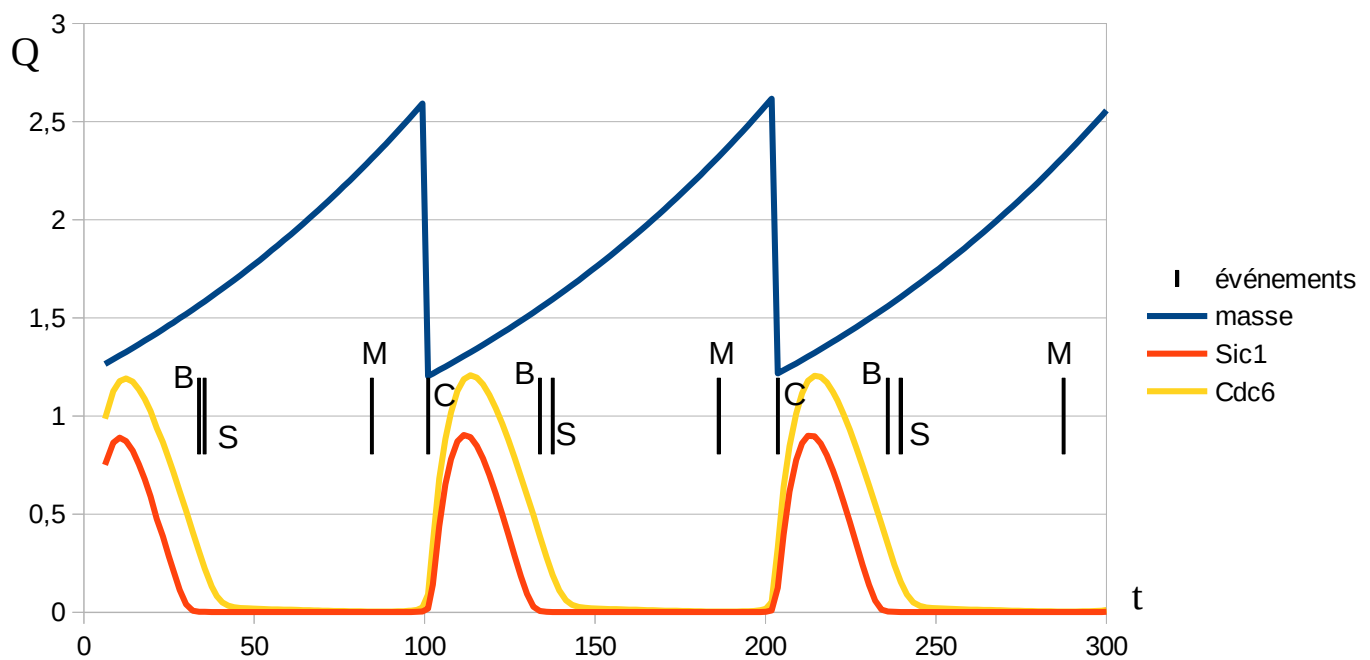
## Résultats :



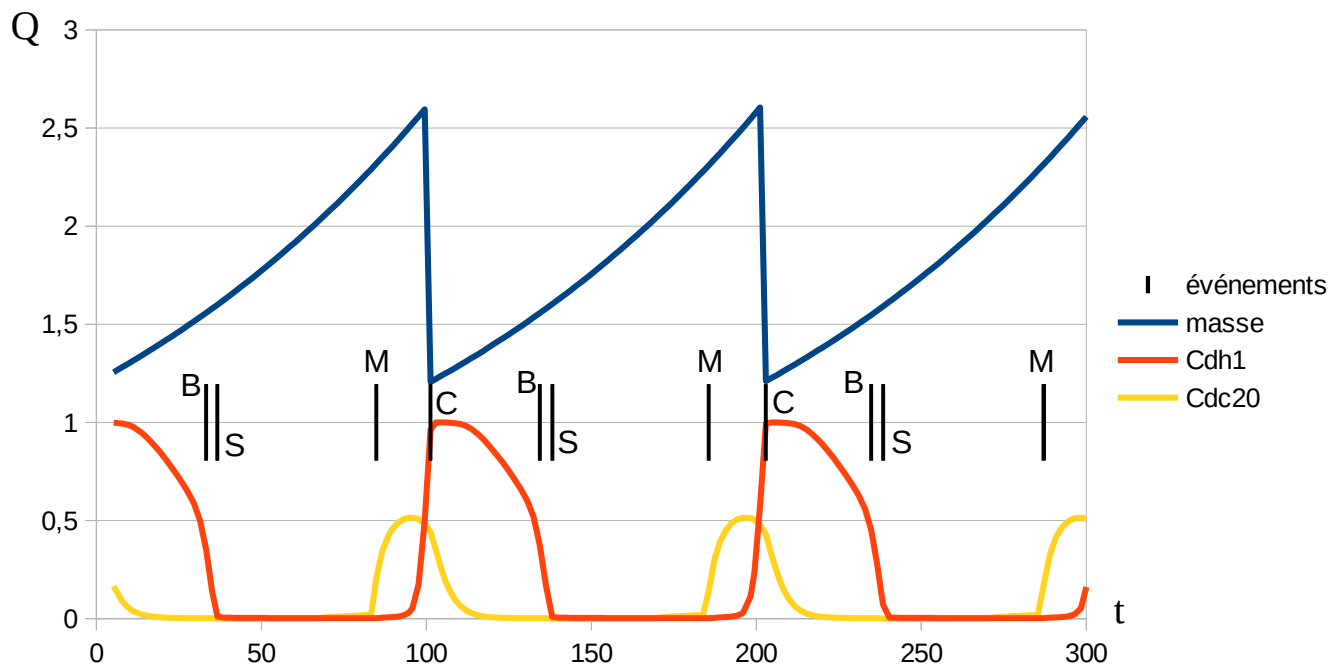
Les facteurs de transcriptions. Dans le modèle  $SBF = MBF$ . Notons que SBF et Mcm1 ne sont pas exprimés par équations différentielles, d'où l'aspect rectangulaire des courbes.



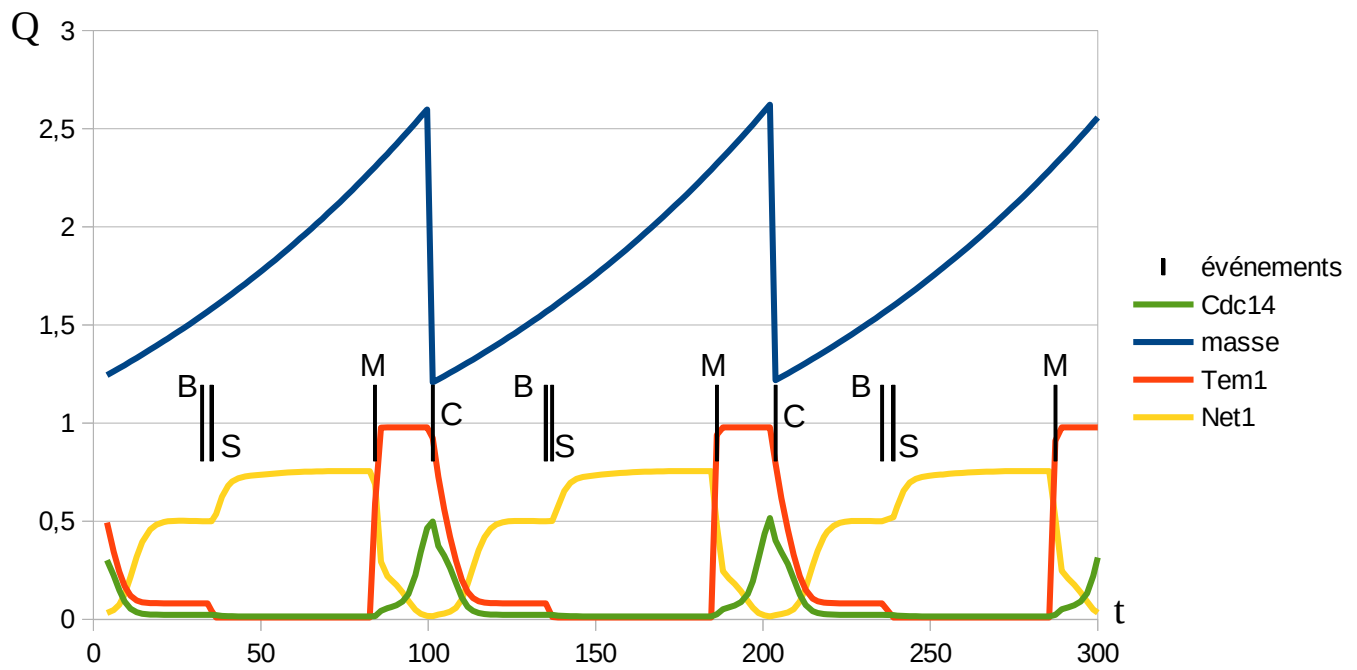
Les cyclines, chacune actives à différents stades du cycle cellulaire. Cln3 est directement fonction de la masse (sa quantité évolue donc peu).



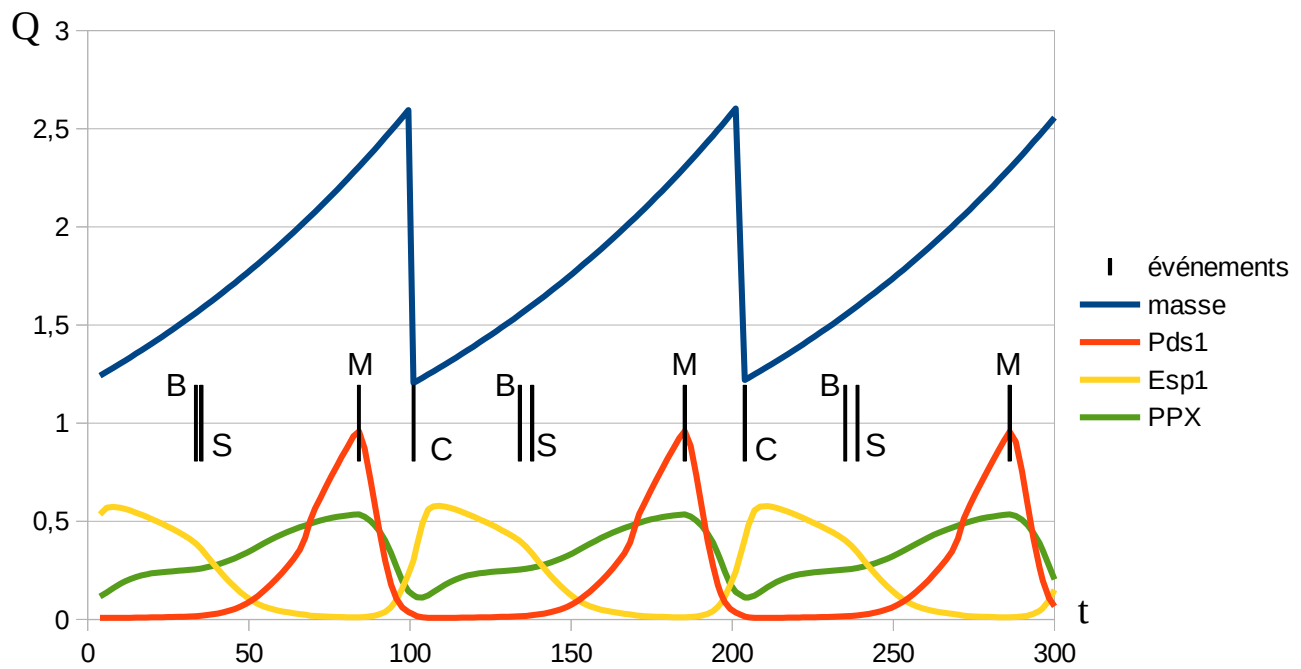
Les inhibiteurs (CKI), actifs de la fin de la phase M jusqu'à la fin de la phase G1.



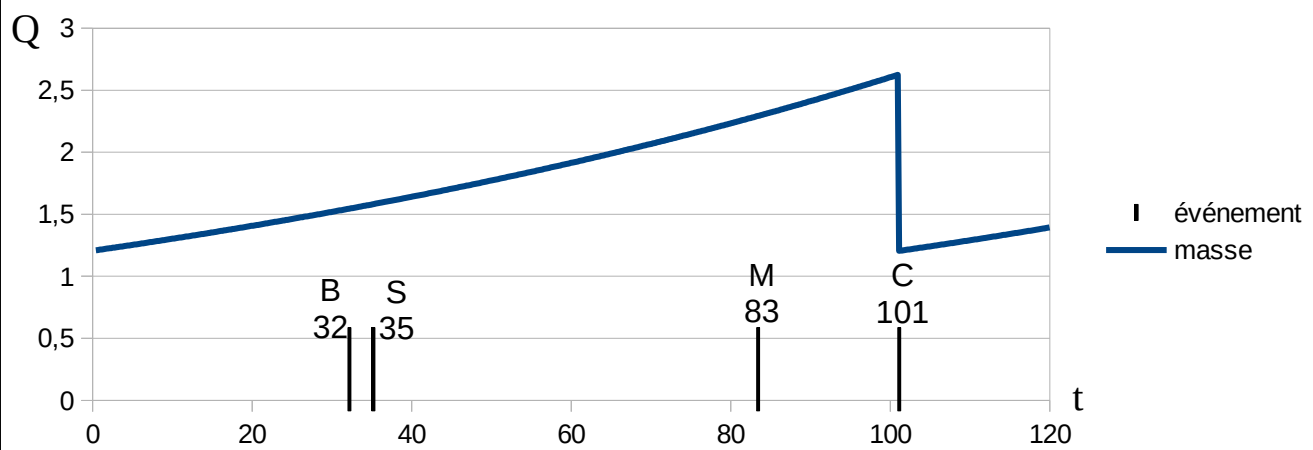
Les protéines activatrices de l'APC.



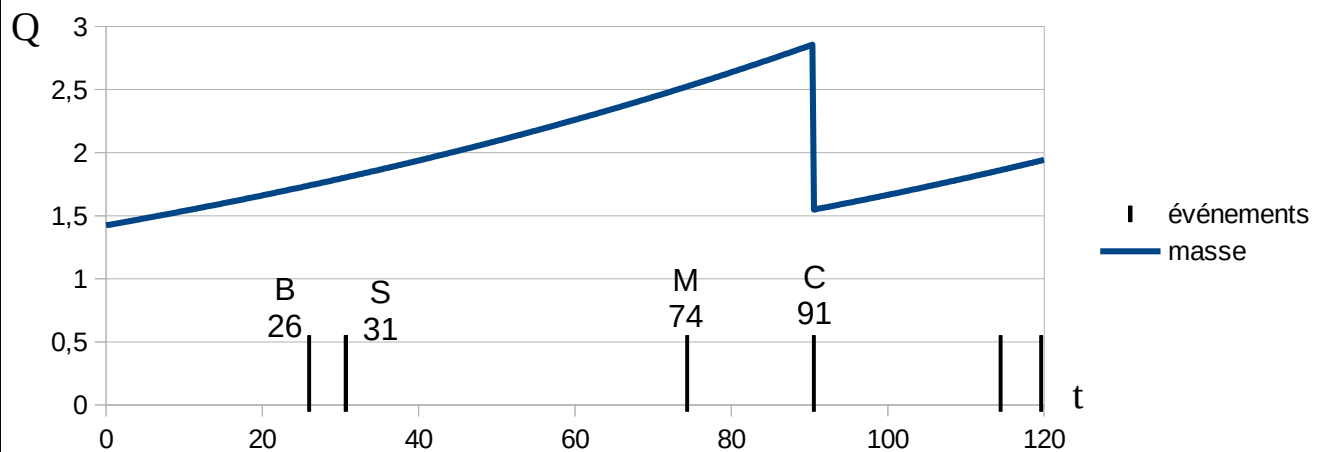
Les protéines importantes de MEN.



Les interactions entre Pds1, Esp1 et PPX.



Timing des événements (en démarrant avec les paramètres d'une cellule fille).



Timing des événements (en démarrant avec les paramètres d'une cellule mère).

## Comparaison :

On compare certains résultats de nos simulations (timing des événements) avec les observations de Brewer (1984, tableau 1, ligne « avg »)<sup>11</sup> et avec les simulations Chen (2004, fig. 2)<sup>7</sup>. On calcule à chaque fois l'erreur relative par rapport à Brewer (1984)<sup>11</sup> pour se donner une idée de la précision du modèle et de nos résultats.

$$\text{erreur relative} = \frac{|\text{valeur modélisée} - \text{valeur réelle}|}{\text{valeur réelle}}$$

Pour les cellules filles :

	Durée de G1 en min	Durée de l'interphase (durée du cycle – G1) en min	Durée du cycle en min
Brewer (1984)	37 ± 5.7	42 (± 10.4)	93 ± 4.7
Chen (2004)	36	64	101.2
Nos simulations	35	66	101

Erreur relative:

Chen (2004)	3 %	52 %	9 %
Nos simulations	5 %	57 %	9 %

Pour les cellules mères :

	Durée de G1 en min	Durée de l'interphase (durée du cycle – G1) en min	Durée du cycle en min
Brewer (1984)	21 ± 2.1	59 (± 4.2)	80 ± 2.1
Chen (2004)	28	52	80
Nos simulations	31	65	91

Erreur relative :

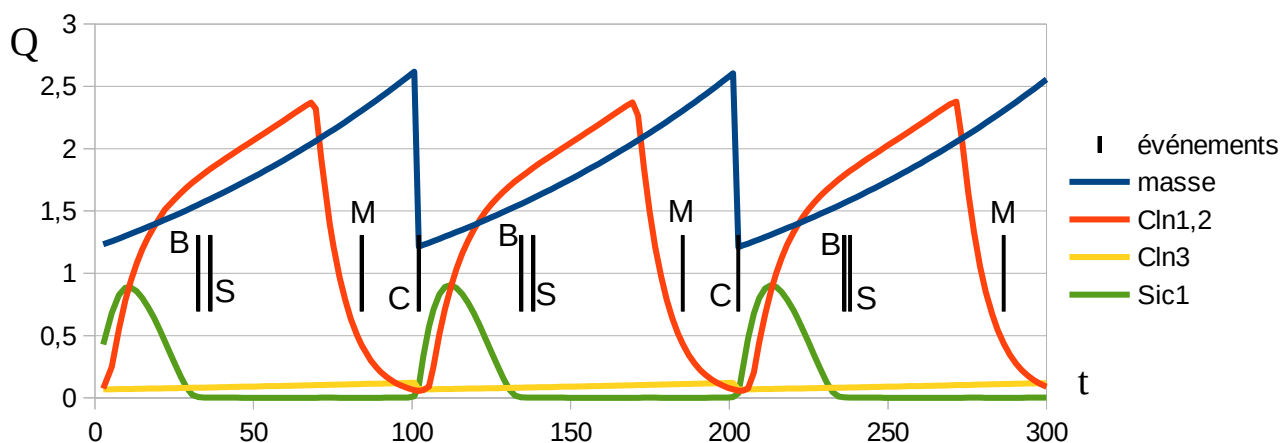
Chen (2004)	33 %	12 %	0 %
Nos simulations	48 %	10 %	14 %

On peut voir qu'à chaque fois notre erreur relative est plus importante que celle de l'étude Chen (2004)<sup>7</sup> certainement à cause de l'imprécision de nos algorithmes. On peut voir que le modèle donne une valeur plus juste pour la durée du cycle cellulaire (9 %, 9 %, 0 %, 14%) ainsi que pour la durée de la phase G1 d'une cellule fille (3 % et 5%). Il donne en revanche des estimations moins justes pour la durée de l'interphase des cellules fille (52 %, 57%).

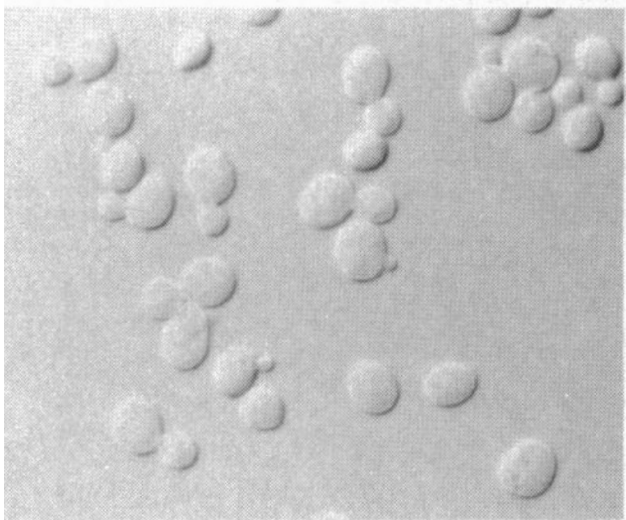
## IV Extrapolation du modèle

L'intérêt d'une telle simulation est qu'elle peut prédire dans une certaine mesure le phénotype d'une levure qui aurait des mutations particulières sur des gènes qui codent pour les protéines que l'on étudie. Il est difficile d'obtenir une cellule qui aurait un certain génotype, mais modifier les paramètres de la simulation est élémentaire. Ici nous essayerons de simuler des levures mutées et comparerons nos résultats avec les observations de l'étude de Tyers (1996)<sup>8</sup>. Bien que nous avons réalisé nos propres observations pour les sections suivantes, les manipulations requises pour obtenir ces souches de levures sont complexes et hors de notre portée, elle sont décrites dans l'article de Tyers (1996)<sup>8</sup>.

Nous allons nous pencher sur l'importance des protéines Cln1,2,3 et Sic1. Pour référence voici une simulation qui montre l'évolution de leurs quantités dans une cellule normale. On a vu qu'elles sont surtout actives en phase G1.



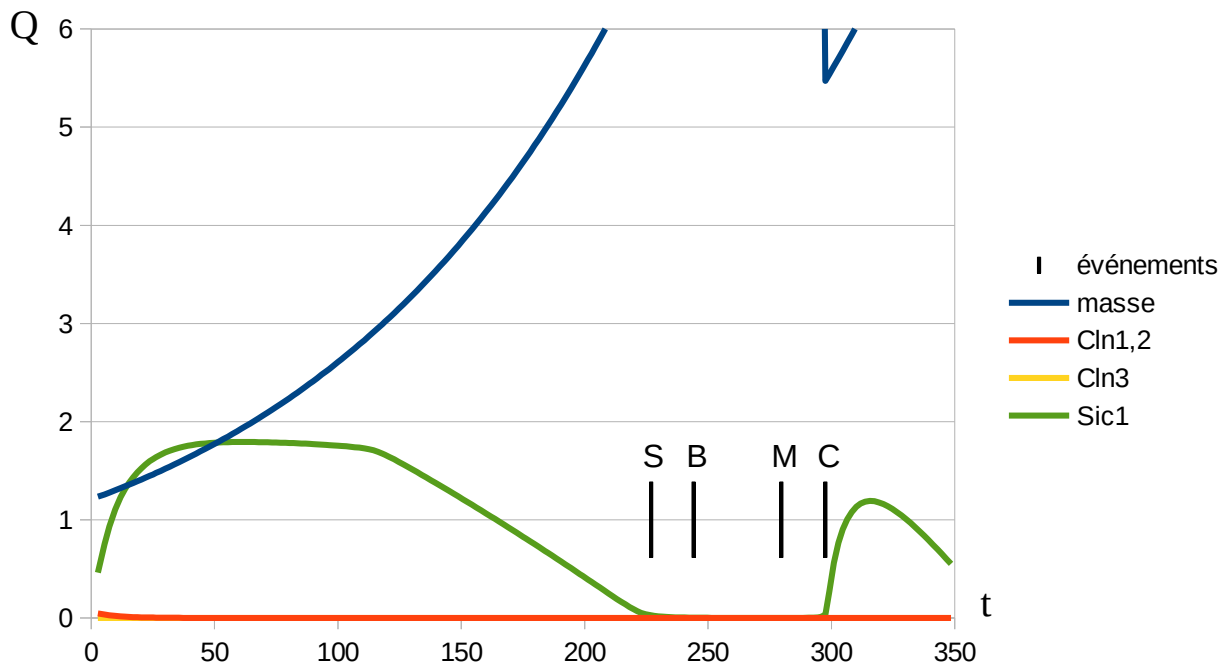
wild type



*Souche de levures non mutées*

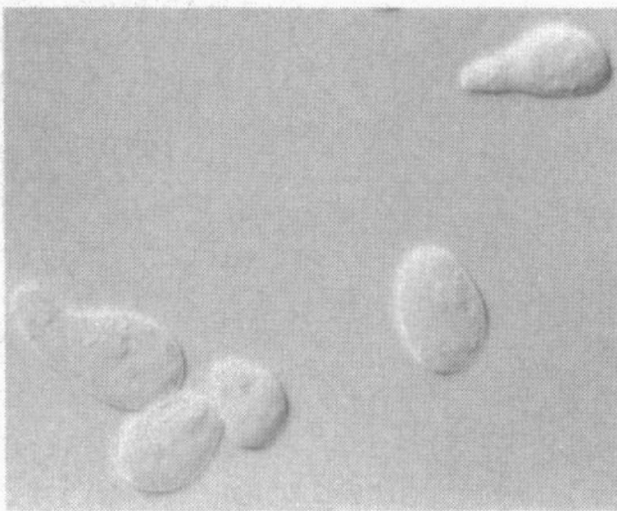
Tyers, 1996 (fig. 2)

Imaginons une levure dont les gènes qui codent pour les cyclines Cln1,2 et3 ne seraient pas fonctionnels. Cela reviendrait à mettre à zéro les constantes de la simulation qui définissent à quel point ces protéines sont synthétisées.



D'après le modèle, la cellule prend énormément de masse et sa phase de réplication débute à environ  $t = 230$ . La masse à la mitose est en dehors du graphique mais à 11,7. Ces résultats extrêmes suggèrent plutôt que la cellule serait restée bloquée en phase G1 et continue à croître jusqu'à sa mort.

*cln<sup>-</sup> arrest*



*Souche avec Cln1,2,3 mutés*

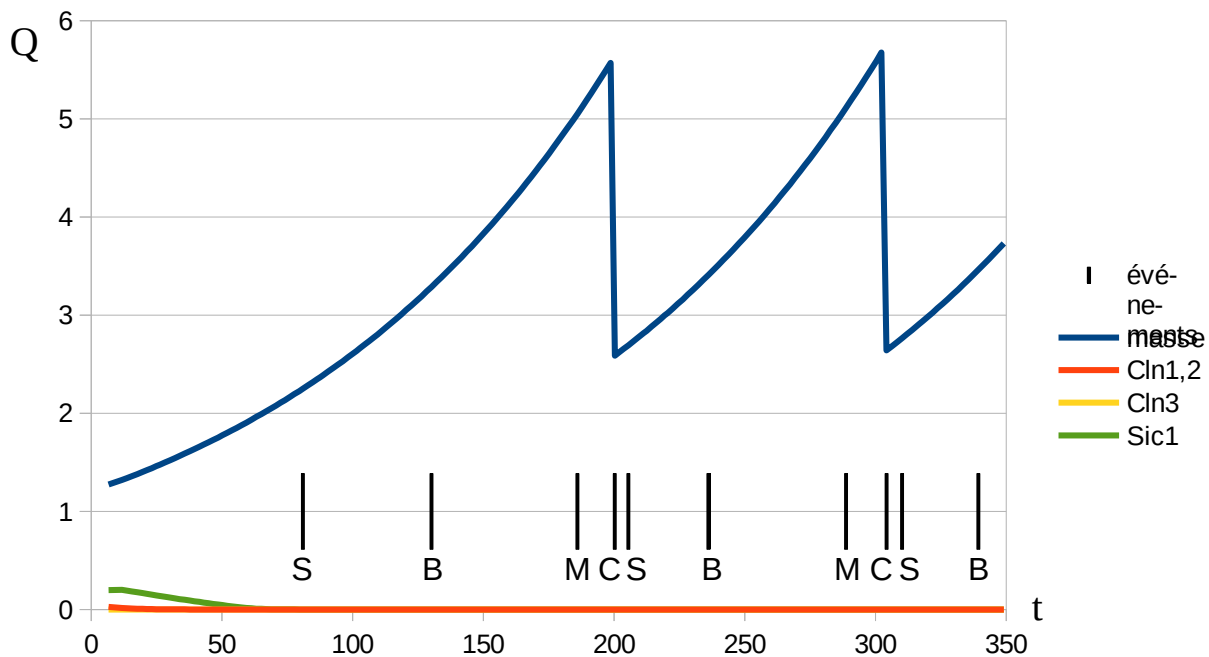
*« Les cellules se sont arrêtees à une grande taille, sans avoir bourgeonné. »*

Expérimentalement, ces levures ne survivent pas.

Tyers, 1996 (fig. 2)



Que se passerait-il désormais si notre cellule cumulait en plus une mutation qui l'empêchait de synthétiser la protéine Sic1 ?



La masse à la mitose est un peu plus de 2 fois plus grande que pour la levure témoin (2,5 contre 5,5 ici). La phase S démarre très vite après la cytotéiérèse et le bourgeon apparaît tardivement après le début de la réplication.

*cln<sup>-</sup> sic1<sup>-</sup>*

*Souche avec Cln1,2,3 et Sic1 mutés*

« Les cellules ont bourgeonné à une taille cellulaire très grande. Le goulot qui sépare le bourgeon de la cellule mère est anormalement large. La plupart sont viables pour la mitose. »

Expérimentalement, ces levures survivent.

Tyers, 1996 (fig. 2)

Le modèle peut donc montrer comment une levure invalidée par une mutation peut être sauvée par une autre mutation. La simulation prévoit bien le bourgeonnement tardif et la grosseur des cellules, ce qui est en concordance avec le fait que les cyclines Cln1,2 sont importantes pour le bourgeonnement.

## V-Limitations du modèle

D'après Richardson (1992)<sup>9</sup>, une levure qui a par exemple les gènes *Clb3* et *4* mutés ne survivrait pas, cependant avec ce modèle c'est impossible à tester puisque ces protéines ne sont omises. On ne peut pas non plus supprimer individuellement les gènes de *Clb1* et *Clb2* puisque les deux protéines sont considérées comme parfaitement identiques dans le modèle. Dans Chen (2004)<sup>7</sup>, pour simuler un mutant avec seulement *Clb2* non fonctionnelle, ils ont baissé sa constante de synthèse à 1/3 de la valeur normale. Le modèle prédit un problème lors de l'anaphase mais d'après Richardson (1992)<sup>9</sup> un tel mutant devrait être viable.

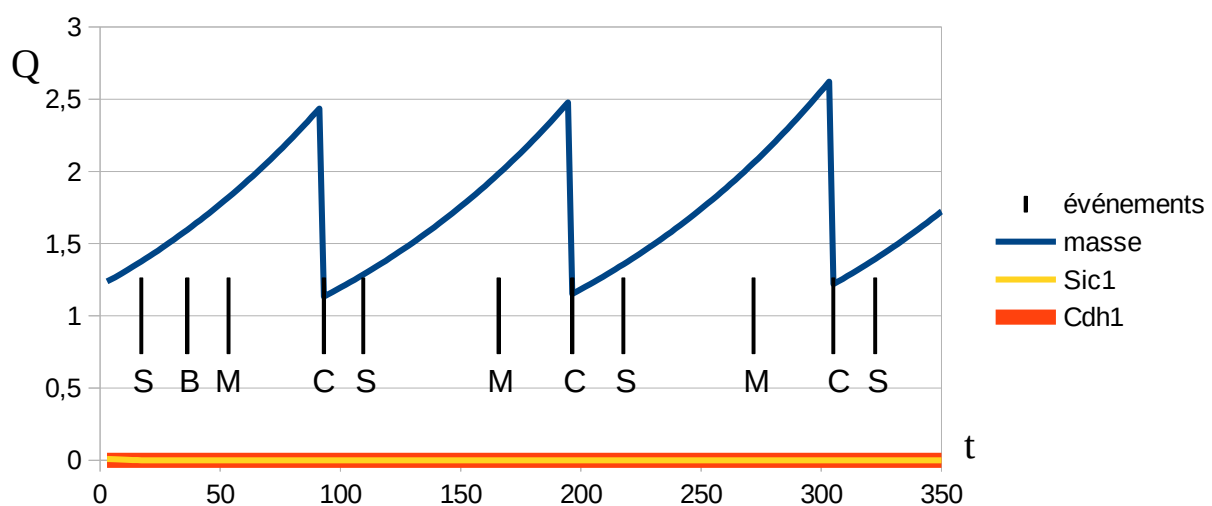
**Table 3.** Phenotypes of *clb* null mutants

Genotype	Phenotype
<i>clb1</i>	viable
<i>clb2</i>	viable
<i>clb3</i>	viable
<i>clb4</i>	viable
<i>clb1,2</i>	inviable

Richardson, 1992 (Tableau 3)

<i>clb1,3</i>	viable
<i>clb1,4</i>	viable
<i>clb2,3</i>	inviable
<i>clb2,4</i>	viable
<i>clb3,4</i>	viable
<i>clb1,2,3</i>	inviable
<i>clb1,2,4</i>	inviable
<i>clb1,3,4</i>	viable
<i>clb2,3,4</i>	inviable
<i>clb1,2,3,4</i>	inviable

De plus, on a vu qu'avec l'exemple où *Cln1,2,3* étaient mutés, la cellule devrait être stoppée en phase G1, cependant la simulation continue et finit même par achever un cycle. Le modèle ne peut donc pas prévoir la mort des cellules, les équations continuent à être résolues même si les estimations deviennent chaotiques. Il est important d'être d'esprit critique pour comprendre les résultats. Un autre exemple qui montre une incohérence, voici ce que l'on obtient avec *Sic1* et *Cdh1* mutés :



On peut voir que les cycles cellulaires s'enchaînent alors qu'il n'y a plus bourgeonnement après le premier cycle, ce qui ne fait aucun sens.

Le modèle est déterministe et ne prend donc pas en compte des mutations aléatoires qui arriveraient en cours de route.

## **VI-Une modélisation moins abstraite ?**

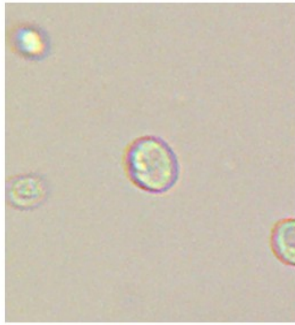
Nous voulions aussi modéliser les caractéristiques physiques d'une levure à partir des résultats de nos simulations mais elles ne disent pas tout. Nous avons donc observé des levures avec un microscope doté d'une caméra pour pouvoir quantifier la croissance d'un bourgeon par rapport à sa cellule mère. Nous nous sommes ensuite servis du logiciel ImageJ<sup>14</sup> pour mesurer sur les images brutes les aires qu'occupent à l'écran (en pixels) le bourgeon et de cellule mère. On considérera ensuite que le rapport entre l'aire de la cellule et de son bourgeon correspond aussi au ratio entre leur masse.

On va encore programmer avec Processing<sup>5</sup> puisque des fonction d'affichage de base (fonction cercle, fonction rectangle...) y sont incluses. Cela nous permettra aussi de reprendre notre programme précédent et de lui implémenter une fenêtre dédiée à l'affichage "en temps réel" (déroulement de la simulation) l'aspect physique de la levure. On va représenter les cellules en 2 dimensions, pour correspondre à ce que l'on peut au microscope.

### **Observations au microscope :**

Environ 3 heures avant les observations, nous avons mis en culture des levures dans un bécher avec de l'eau et du glucose (les quantités importaient peu) de manière à ce qu'au moment des prises de vue les levures soient en développement et dans des étapes différentes de leur cycle. Cela nous a permis de plus facilement trouver des sujets intéressants à observer.

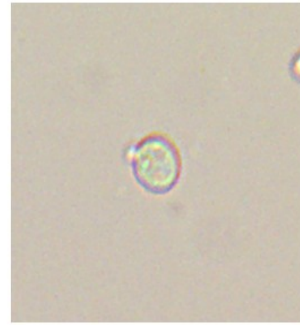
Nous nous étions définis trois objectifs : observer l'apparition d'un bourgeon, la croissance de ce dernier et de la cellule à laquelle il est rattaché et enfin sa séparation au moment de la mitose. Les trois différentes planches montrent trois cellules différentes (nous nous concentrons à chaque fois sur celle au centre de la vignette). Puisque nous avons peu de temps d'observation disponible, nous avons dû observer simultanément plusieurs cellules pour espérer atteindre nos trois buts décrits plus haut.



**t = 0min**



**t = 12min**



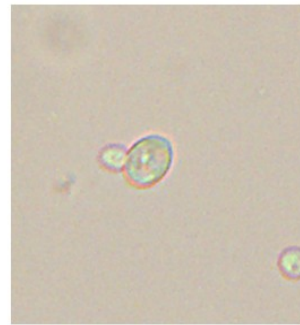
**t = 20min**



**t = 25min**

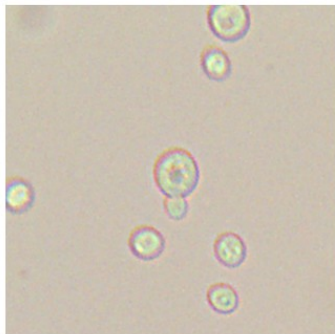


**t = 30min**

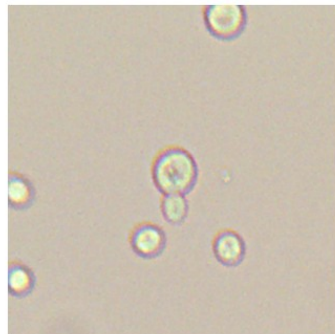


**t = 44min**

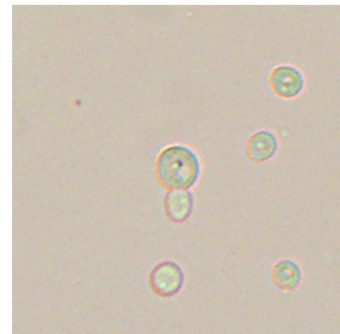
Planche 1 : apparition d'un bourgeon



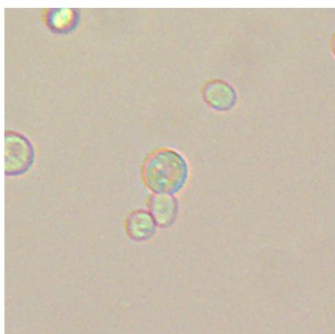
**t = 0min**



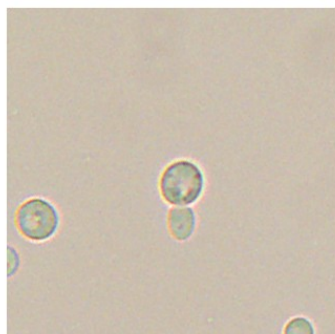
**t = 12min**



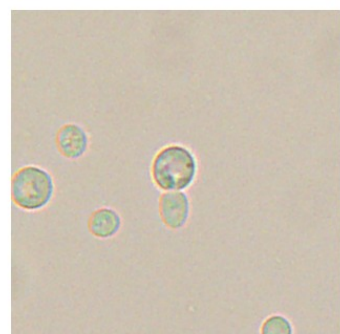
**t = 20min**



**t = 25min**

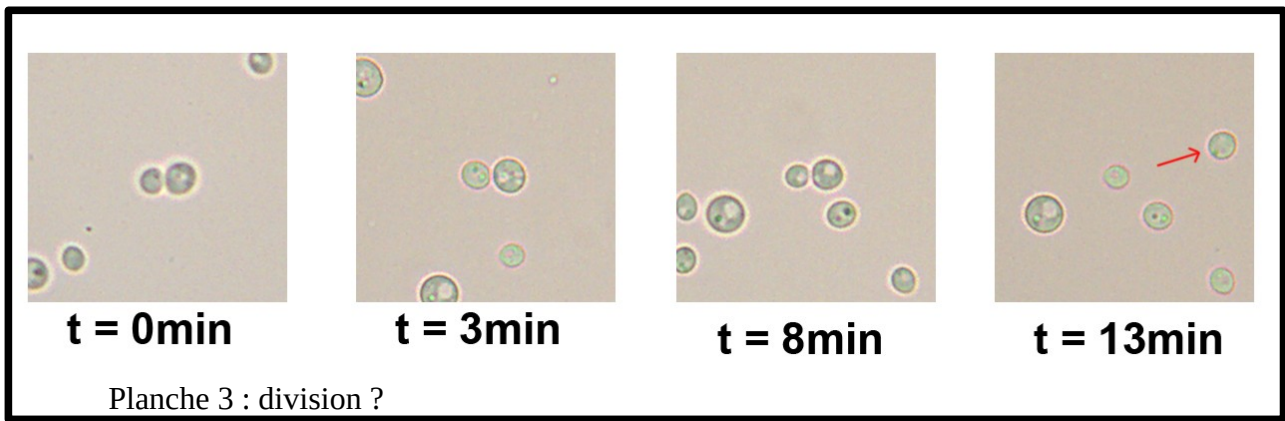


**t = 30min**



**t = 44min**

Planche 2 : croissance d'un bourgeon



### **Nos erreurs et informations utiles :**

-Nous ne pensions d'abord pas avoir réussi à observer de mitose, mais en réanalysant nos données a posteriori, il semblait qu'il y en ait une qui se soit produite. Nous ne pouvons pas l'affirmer avec certitude : il se pourrait que les deux cellules se seraient heurtées et restées collées pendant un certain temps.

-Le noyau des levures doit migrer jusqu'au niveau du bourgeon pour rendre la mitose possible, l'utilisation d'un colorant nous aurait aidé à mieux distinguer la position du noyau et nous aider à identifier les cellules en fin de cycle.

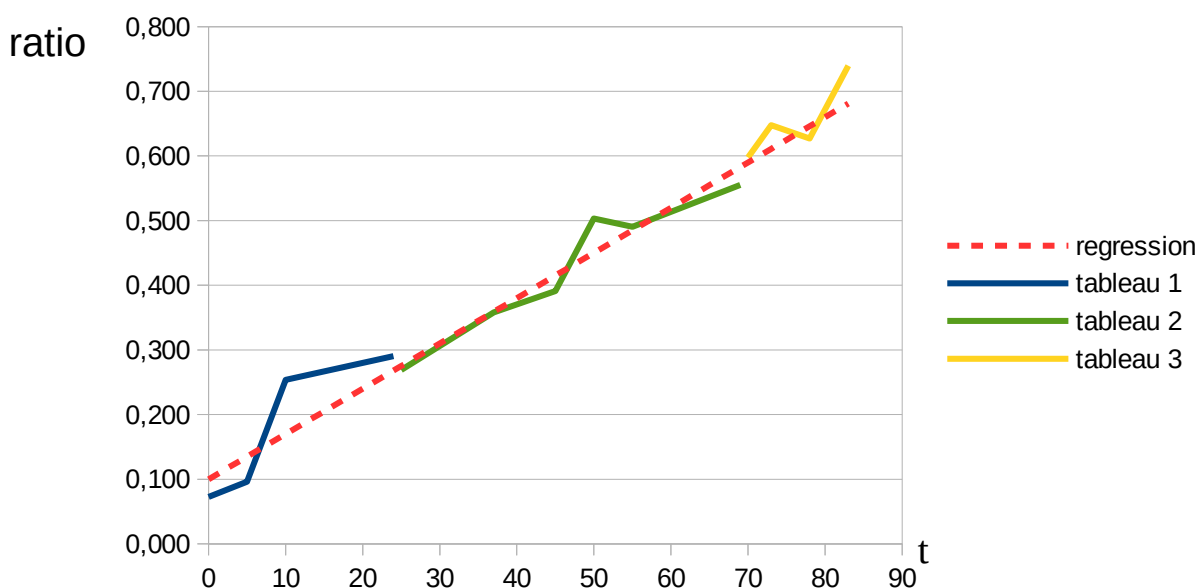
-À cause d'un problème d'organisation, nous n'avons pas pu capturer nos images à intervalle régulier, nous avons tout de même pu utiliser l'heure de création des fichiers pour retrouver l'information temporelle. Les intervalles sont identiques sur les planches 1 et 2 car les cellules ont été observées en même temps et se trouvaient dans le même cadre. Celles de la planche 3 se trouvaient aussi dans le cadre mais nous n'avons pas utilisé la même image de référence pour  $t=0$ . Nous avons rajouté des images plus antérieures que nous avons d'abord laissé de côté car la mise au point n'était pas tout à fait juste.

-Les images que nous vous présentons ont donc été rognées, les fichiers bruts étant trop grands (plus d'une centaine de cellules dans chaque image). De plus chaque vignette a été tournée de manière à conserver l'orientation de la cellule observée pour faciliter la comparaison de sa taille d'une image à l'autre.

t (min)	Aire cellule (px)	Aire bourgeon (px)	ratio
			bourgeon/cell
Planche 1			
0	1289	0	X
12	1263	0	X
20	1350	98	0,073
25	1340	129	0,096
30	1289	327	0,254
44	1360	395	0,290
Planche 1			
0	1424	383	0,269
12	1263	452	0,358
20	1294	506	0,391
25	1200	604	0,503
30	1264	620	0,491
44	1232	684	0,555
Planche 3			
0	860	514	0,598
3	988	640	0,648
8	780	489	0,627
13	611	452	0,740

Mesures faites sur nos images brutes avec le logiciel ImageJ<sup>14</sup>.

Nous avons ensuite voulu représenter graphiquement l'évolution du ratio au cours du temps. Nous devons donc réunir les données des 3 planches, la difficulté est que le temps est défini à partir de la première vignette de chaque planche. On va quand même essayer de mettre les courbes bout à bout puisque nous avons remarqué que ratios se suivaient "à peu près bien". Cette fois t=0 correspond donc à l'apparition du bourgeon.



On trouve par régression linéaire une droite d'équation  $y = (7 \times 10^{-3})x + 0,1$

## Élaboration :

Masses ?

La simulation calcule la masse de l'ensemble la cellule. On peut aussi connaître la taille du bourgeon relative à la cellule mère en connaissant depuis combien de temps la cellule a bourgeonné.

On conserve en mémoire le moment où la cellule a bourgeonné, on connaît la durée totale de la simulation, on peut donc trouver par soustraction depuis combien de temps la cellule a bourgeonné.

On peut donc trouver la masse de chaque partie de la cellule.

Rayon d'une boule ?

On considère que la cellule et son bourgeon sont des boules. Le plus important est de connaître à quelle taille les afficher. Comme on connaît la masse de chaque élément, on va calculer leur rayon en utilisant leur volume. On a donc :

$$V = \frac{m}{\rho}$$

Mais d'après Bryan (2009, figure 4.A)<sup>10</sup>, la masse volumique (en anglais « density » veut bien dire masse volumique) varie peu au cours du cycle cellulaire (variation d'environ 0.01g/mL). On va donc considérer qu'elle est constante. Comme on utilise des unités arbitraires on va la définir à 1 et ajouter un facteur de "zoom" sur le rayon de manière à avoir une levure de taille suffisante à l'écran.

On calcule le rayon de la boule à partir de son volume :

$$V = \frac{3}{4}\pi \cdot r^3 \Rightarrow r = \sqrt[3]{\frac{3 \cdot V}{4 \cdot \pi}}$$

Position du bourgeon ?

On représente la cellule par un cercle au centre de l'image. On veut pouvoir afficher le bourgeon sur la circonférence de sa cellule mère et dans n'importe quel angle. On utilise des coordonnées polaires où l'angle  $\theta$  est redéfini aléatoirement à chaque cycle et la distance étant la somme du rayon de la cellule et du rayon du bourgeon. Comme l'origine est le centre de la cellule mère.

Planche 4 : modélisation



## VII-À l'échelle des colonies ?

Une unique levure n'est pas visible à l'œil mais lorsque beaucoup se sont développées

La croissance d'une population de levure est donc exponentielle.

Comme à chaque mitose, chaque cellule se divise en deux, on serait tenté d'exprimer la population d'une culture synchrone :

$$p_n = 2^n$$

Avec  $p$  le nombre de levure dans une colonie et  $n$  le nombre de mitose.

Cependant on a vu précédemment que la durée du cycle cellulaire n'est pas la même pour deux cellules issues d'une même mitose (Brewer, 1984<sup>11</sup>). On ne peut donc pas mettre en place de culture synchrone. On va donc simuler des levures individuellement.

Pour essayer de modéliser la taille d'une colonie qui se développerait sur une boîte de pétri, nous avons besoin de connaître la densité de population d'une colonie type. Nous avons donc réalisé une mise en culture. Cependant l'expérience n'a pas pu aboutir.



On sait que les levures peuvent pratiquer la fermentation alcoolique si elles n'ont plus assez de dioxygène à disposition ou si elles ont du glucose en abondance. Mais l'alcool à trop haute concentration peut causer leur mort. Il faut donc tenir compte des conditions du milieu. On pourrait alors représenter une boîte de pétri par un système de grille avec dans chaque case le nombre de levures et la quantité de glucose présent à cet endroit. Comme le dioxygène et les vapeurs d'alcool sont volatiles on considère qu'il y en a autant partout dans la boîte.

## **VIII-Conclusion**

Ce TPE nous a permis d'aller beaucoup plus loin dans ce qui est proposé dans le cours de biologie et dans les activités de programmation en maths. C'est dommage qu'à cause du changement de direction tardif de notre problématique, nous n'avons pas pu achever toutes nos ambitions.

On a vu avec nos simulations et l'étude de Tyers (1996)<sup>8</sup> qu'un déséquilibre dans le cycle cellulaire pouvait être fatale à une cellule. D'après Rossi (2006)<sup>12</sup>, des molécules inhibitrices des kinases dépendantes des cyclines pourraient aider à calmer une inflammation en provoquant la mort des cellules responsables de l'inflammation. On peut aussi imaginer que l'on pourrait avec cette technique cibler des cellules cancéreuses puisque ces dernières ont déjà un cycle instable. Mieux comprendre ces protéines est donc crucial.

De plus, les levures génétiquement modifiées sont utilisées dans l'industrie pharmaceutique, pour la production d'insuline par exemple. On en utilise aussi pour améliorer la production d'alcool en les rendant plus résistantes.

On peut conclure que l'informatique est un bon outil pour mettre à l'épreuve les modèles théoriques, mais que les observations restent importantes.

Question ouverte : Une simulation d'un organisme peut-elle être considérée comme vivante ?

# **ANNEXE A : Index des protéines du cycle cellulaire de *S. cerevisiae***

*D'après Modeling the Budding Yeast Cell Cycle, (schéma et leur index des protéines).<sup>6</sup>*

Les kinases :

Cdc6	Inhibiteur des cyclines, un des facteurs du lancement de la réplication.
Cdc14	Rééquilibre les cyclines pour la mitose.
Cdc15	Intervient dans la division du noyau et importante pour l'arrivée de Cdc14.
Cdc20	Un des deux activateurs de l'APC.
Cdc28	C'est la Kinase dépendante des cyclines (CDK).

Les cyclines :

Cln1,2	Importante pour l'apparition du bourgeon.
Cln3	Initie le début du cycle cellulaire.
Clb1,2	Important pour mitose, active indirectement Cdc20.
Clb5,6	Principal facteur du lancement de la phase de réplication.

Les facteurs de transcription :

SBF/MBF	Permet la transcription de Cln2, Clb5 et Pds1.
Mcm1	Permet la transcription de Clb2, Cdc20, Swi5 et Pds1.
Swi5	Permet la transcription de Sic1 et Cdc6.

Les autres protéines :

Bck2	Initie le début du cycle cellulaire.
Sic1	Inhibiteur de Clb2 et Clb5.
IE	« Enzyme Intermédiaire », fait office de retardateur entre Clb2 et l'activation de Cdc20.
Cdh1	Un des deux activateurs de l'APC.
Pds1	Inhibiteur de Esp1, limite la dégradation de PPX.
Esp1	Protéine responsable la séparation des chromatides.
Mad2	Protéine du point de contrôle métaphase : sensible à l'alignement des chromosomes.
Bub2	Protéine du point de contrôle métaphase : sensible à l'orientation des fuseaux mitotiques.
Lte1	Activateur de Tem1, présente dans le bourgeon.
Tem1	Présente dans le noyau, donc activée lorsque le noyau se déplace vers le bourgeon.
Net1	Inhibiteur de Cdc14.
PPX	Protéine hypothétique

Complexes/regroupements de protéines :

CKI	Complexe d'inhibition, formé de Sic1 et Cdc6
APC	complexe de dégradation activé par Cdc20 et Cdh1.
SCF	Autre complexe de dégradation.
MEN	« Mitotic Exit Network » Lte1, Tem1, Bub2, Cdc15, Cdc14. Actives en fin de phase M.

## **ANNEXE B : Résolution d'équations différentielles**

### **Généralités :**

Le système que nous voulons résoudre étant très complexe, on ne peut pas calculer les solutions exactes, nous devons donc faire une approximation, on fait appel une méthode équivalente à celle d'Euler. Les variables  $t$  et  $y$  deviennent discrètes, elle ne sont plus continues, d'où l'approximation. On le symbolise par la lettre  $\Delta$ .

$$\text{Discrétisation : } \frac{dy}{dt} \text{ -----} \blacktriangleright \frac{\Delta y}{\Delta t}$$

Il faut d'abord choisir les conditions initiales : une valeur de départ pour  $t$  (par défaut on prendra toujours  $t_0=0$  ) et un pas (noté  $\Delta t$ ) . On verra plus tard qu'il faut le choisir judicieusement. On doit aussi définir une valeur initiale pour le paramètre  $y$  (notée  $y(t_0)$  donc  $y(0)$  ).

On manipule ensuite l'expression de manière à calculer  $\Delta y$ , qui correspond à la différence entre  $y(t)$  et  $y(t+\Delta t)$ . Cela permet donc de déduire la nouvelle valeur de  $y$  par addition. On incrémente enfin  $t$  par  $\Delta t$ .

$$\frac{\Delta y}{\Delta t} = f(y) \Leftrightarrow \Delta y = \Delta t \times f(y)$$

On peut donc opérer par récurrence :

$$y_{n+1} = y_n + \Delta y$$

On peut aussi l'exprimer :

$$y(t_{n+1}) = y(t_n) + \Delta y \text{ où } t_{n+1} = t_n + \Delta t$$

### **Exemple :**

On veut résoudre un système de deux équations :

$$\begin{cases} \frac{da}{dt} = 2a - b \\ \frac{db}{dt} = \frac{a \cdot b}{2} \end{cases} \text{ où } a(0)=3 \text{ et } b(0)=2$$

## Algorithme :

$\Delta t = 10^{-3}$

$t = 0$

$a = 3$

$b = 2$

On définit les valeurs initiales

Répéter

$\Delta a = \Delta t * (2a - b)$

$\Delta b = \Delta t * ab/2$

On calcule les différences

$a = a + \Delta a$

$b = b + \Delta b$

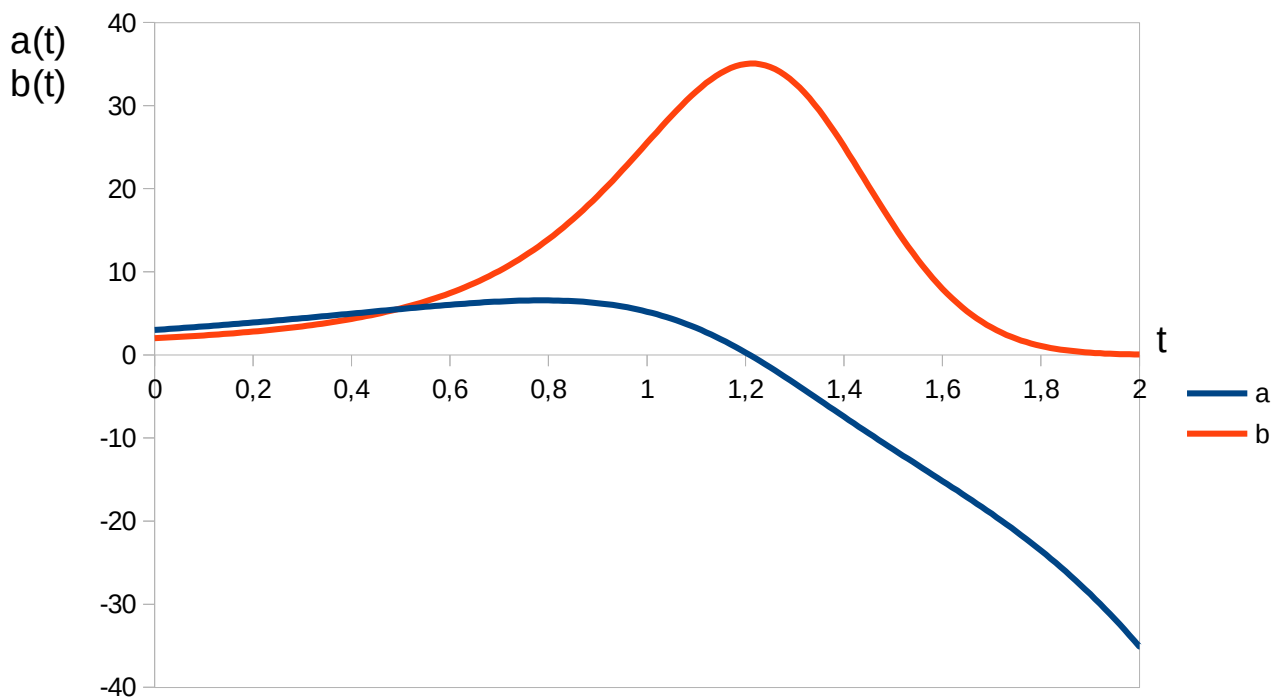
On calcule les nouvelles images

$t = t + \Delta t$

On calcule t

À chaque itération on enregistre toutes les variables dans un tableur pour ensuite les présenter dans un graphique. On peut aussi mettre une condition de sortie de la boucle pour terminer le programme, par exemple lorsque t atteint une valeur que l'on choisit.

## Résultat :

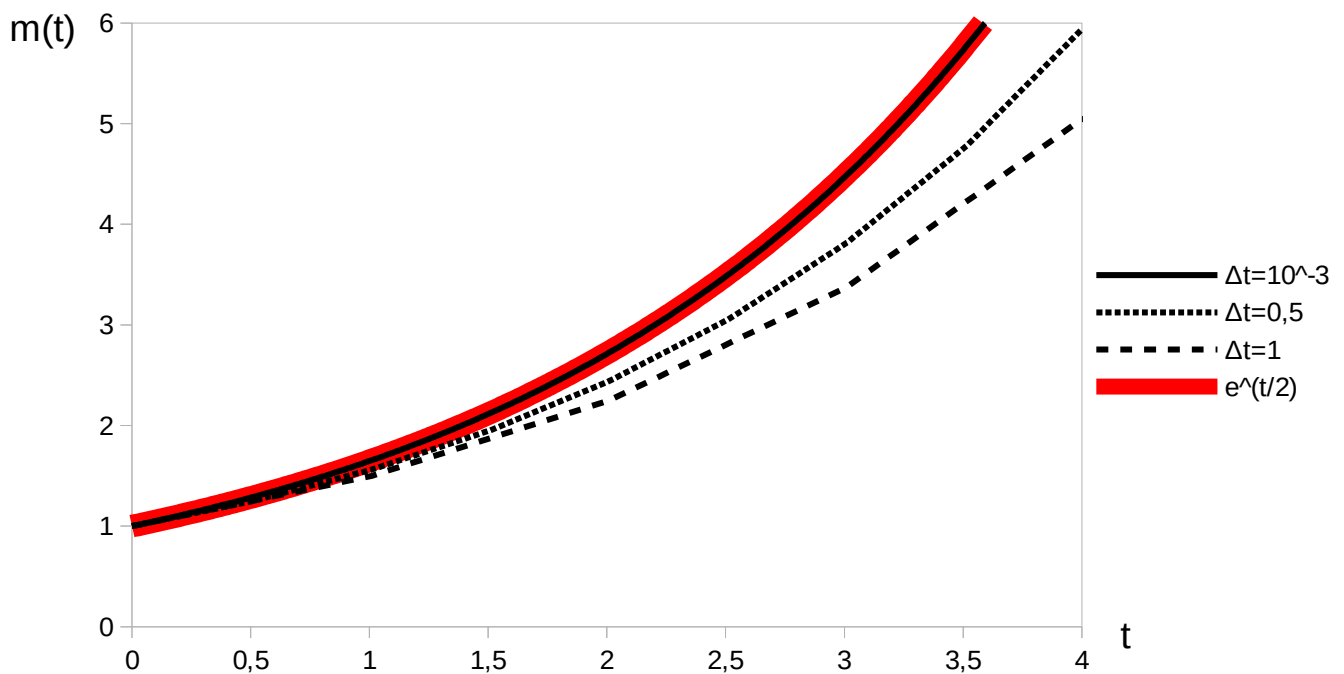


## Précision ? :

Un second exemple avec seulement l'équation  $\frac{dy}{dt} = \frac{y}{2}$  ,  $y(0)=1$

Cette équation a une solution exacte qui est la fonction  $y(t)=e^{t/2}$

Cette fois ci on fait trois simulations, avec  $\Delta t=1$  ,  $\Delta t=0,5$  puis  $\Delta t=10^{-3}$  , ce qui montre le problème de la précision. On peut voir que les courbes divergent mais que l'on se rapproche bien mieux de la solution exacte quand on prend  $\Delta t=10^{-3}$  .



## Bilan :

C'est une méthode simple pour résoudre par approximation des équations différentielles qui décrivent un phénomène physique comme une réaction chimique ou le mouvement des planètes, en effet le temps ne s'écoule que dans une direction et il n'existe souvent pas de solution exacte. Elle est aussi simple à mettre en œuvre informatiquement.

On peut noter que plus on avance dans le temps ou que plus la valeur de dt est grande, plus l'approximation est erronée. Mais si l'on prend une valeur plus petite, la simulation nécessitera davantage de calculs et sera plus lente.

## **RÉFÉRENCES**

<sup>1</sup>Levure, Wikipédia (article francophone et anglophone)

<https://fr.wikipedia.org/wiki/Levure>

<https://en.wikipedia.org/wiki/Yeast>

<sup>2</sup>Bourgeonnement, Wikipédia (article anglophone)

<https://en.wikipedia.org/wiki/Budding>

<sup>3</sup>Cyclines, Wikipédia (article anglophone)

<https://en.wikipedia.org/wiki/Cyclin>

<sup>4</sup>Kinase dépendante des cyclines, Wikipédia

[https://fr.wikipedia.org/wiki/Kinase\\_d%C3%A9pendante\\_des\\_cyclines](https://fr.wikipedia.org/wiki/Kinase_d%C3%A9pendante_des_cyclines)

<sup>13</sup>Facteur de transcription, Wikipédia

[https://fr.wikipedia.org/wiki/Facteur\\_de\\_transcription](https://fr.wikipedia.org/wiki/Facteur_de_transcription)

<sup>5</sup>Processing

<https://processing.org/>

<sup>14</sup>ImageJ

<https://imagej.nih.gov/ij/>

<sup>6</sup>*Modeling the Budding Yeast Cell Cycle*, Site de l'étude Chen (2004)

Page d'accueil : [http://mpf.biol.vt.edu/research/budding\\_yeast\\_model/pp/](http://mpf.biol.vt.edu/research/budding_yeast_model/pp/)

Description du schéma : [http://mpf.biol.vt.edu/research/budding\\_yeast\\_model/pp/model.php](http://mpf.biol.vt.edu/research/budding_yeast_model/pp/model.php)

Index des protéines : [http://mpf.biol.vt.edu/research/budding\\_yeast\\_model/pp/intro2.php](http://mpf.biol.vt.edu/research/budding_yeast_model/pp/intro2.php)

Équations : [http://mpf.biol.vt.edu/research/budding\\_yeast\\_model/pp/equations\\_notarget.php](http://mpf.biol.vt.edu/research/budding_yeast_model/pp/equations_notarget.php)

Paramètres : [http://mpf.biol.vt.edu/research/budding\\_yeast\\_model/pp/parameters.php](http://mpf.biol.vt.edu/research/budding_yeast_model/pp/parameters.php)

<sup>7</sup>Chen KC, Calzone L, Csikasz-Nagy A, Cross FR, Novak B, Tyson JJ, 2004.

*Integrative analysis of cell cycle control in budding yeast.*

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC491841/>

<sup>8</sup>Tyers M, 1996. *The cyclin-dependent kinase inhibitor p40SIC1 imposes the requirement for Cln G1 cyclin function at Start.*

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC38823/>

<sup>9</sup>Richardson H, Lew DJ, Henze M, Sugimoto K, Reed SI, 1992

*Cyclin-B homologs in Saccharomyces cerevisiae function in S phase and in G2.*

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1427070>

<sup>10</sup>Bryan AK, Goranov A, Amon A, Manalis SR, 2009  
*Measurement of mass, density, and volume during the cell cycle of yeast*  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2824314/>

<sup>11</sup>Brewer BJ, Chlebowicz-Sledziewska E, Fangman WL, 1984  
*Cell cycle phases in the unequal mother/daughter cell cycles of Saccharomyces cerevisiae.*  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC369084/>

<sup>12</sup>Rossi AG, Sawatzky DA, Walker A, Ward C, Sheldrake TA, Riley NA, Caldicott A, Martinez-Losa M, Walker TR, Duffin R, Gray M, Crescenzi E, Martin MC, Brady HJ, Savill JS, Dransfield I, Haslett C. 2006.  
*Cyclin-dependent kinase inhibitors enhance the resolution of inflammation by promoting inflammatory cell apoptosis.*  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16951685>