



HAL
open science

Analyse de l'agrégation des protéines dans les maladies neurodégénératives amyloïdes : application aux maladies à prion

Hadjer Wafaa Haffaf

► To cite this version:

Hadjer Wafaa Haffaf. Analyse de l'agrégation des protéines dans les maladies neurodégénératives amyloïdes : application aux maladies à prion. Mathématiques générales [math.GM]. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2014. Français. NNT : 2014PA066263 . tel-01143554

HAL Id: tel-01143554

<https://theses.hal.science/tel-01143554>

Submitted on 18 Apr 2015

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE PARIS VI - PIERRE ET MARIE CURIE
ECOLE DOCTORALE DE MATHÉMATIQUES

T H E S E

pour obtenir le titre de

Docteur ès Sciences

de l'Université Pierre et Marie Curie
Mention : MATHÉMATIQUES APPLIQUÉES

Présentée et soutenue par
Hadjer Wafaâ HAFFAF

**Analyse de l'agrégation des protéines dans les maladies
neurodégénératives amyloïdes - Application aux
maladies à prion**

Thèse dirigée par Marie DOUMIC et Benoît PERTHAME
préparée au LJLL et à Inria Paris-Rocquencourt
soutenue le 17 octobre 2014

Jury :

Miguel ESCOBEDO MARTÍNEZ	Professeur	Rapporteur
Frédéric LAGOUTIÈRE	Professeur	Rapporteur
Luís ALMEIDA	Directeur de Recherche	Examineur
Human REZAEI	Directeur de Recherche	Examineur
Mohammed Tarik TOUAOULA	Professeur	Examineur
Marie DOUMIC	Ingénieur en Chef	Directeur
Benoît PERTHAME	Professeur	Directeur

*À maman,
À mes grands-parents Korso,*

Remerciements

Comme il est de tradition, je tiens à consacrer les premières pages de mon manuscrit pour dire merci aux personnes qui ont participé à sa concrétisation. En premier lieu, c'est à mes directeurs de thèse que je voudrais m'adresser. Un grand merci à Marie Doumic de m'avoir acceptée dans son équipe pour travailler dans son projet de recherche. Merci Marie de m'avoir proposé un sujet bien appliqué, concret et fort intéressant, et de m'avoir suivie de près durant ces trois années de thèse. Merci aussi de m'avoir permis de découvrir Inria, où j'ai pu évoluer en parallèle avec le LJLL. Merci aussi à Benoît Perthame de m'avoir acceptée dans son équipe et de m'avoir mise en relation avec Marie Doumic.

Je voudrais ensuite remercier nos collaborateurs biologistes de l'INRA, qui sont la motivation même de ce travail de recherche. Merci à Human Rezaei, à Stéphanie Prigent, à Davy Martin et Joan Torrent, pour leur collaboration motivante et très agréable, et pour toutes ces discussions autour de l'énigme prion. Merci Stéphanie pour nos heures de travail et de discussion. Ton aide m'a été précieuse (biologie, taxe d'habitation et autres!)

Ma reconnaissance va ensuite à ceux qui ont accepté la tâche peu réjouissante que de rapporter ma thèse : Miguel Escobedo Martinez de l'université du Pays basque (Espagne) et Frédéric Lagoutière de l'université d'Orsay, à qui je suis, par ailleurs, d'avantage gré d'avoir accepté de prendre part au jury de ma thèse. Aussi, je remercie les autres membres du jury, qui me font l'honneur d'accepter d'examiner ma thèse et qui se contraignent à être présents le jour fixé : Merci à Human Rezaei de l'INRA, à Luis Almeida du LJLL et à Mohammed Tarik Touaoula de l'université de Tlemcen (Algérie).

Même si notre travail n'a pas réellement abouti, je voudrais remercier Philippe Moireau d'Inria et Marc Fragu (ex Inria) pour leur initiation à la bibliothèque d'assimilation de données, Verdandi.

Je tiens à remercier aussi Mme Snouci Brix, mon enseignante de mathématiques au collège, qui m'a fait voir l'élégance des mathématiques (parce qu'avant je n'aimais pas ça, moi non plus), et Ms Ahmed Abdul Rahman et Abdelhak Moussaoui, de l'école Hexalogy, de m'avoir initiée avec goût à la programmation numérique. Je pense aussi à tous mes enseignants qui m'ont aidée à faire mon

chemin, en particulier ceux qui m'ont encadrée en licence et en master : Boumediene Abdellaoui et Mohamed Bouchekif de l'université de Tlemcen.

Merci à Tewfik Sari de l'université de Haute Alsace de m'avoir conseillée lors de mon choix d'un laboratoire de recherche à intégrer.

Le laboratoire Jacques-Louis-Lions est un cadre de travail enrichissant et exceptionnel. Avec Inria, ces deux lieux de travail m'ont permis de côtoyer des gens tout aussi enrichissants et d'évoluer agréablement.

Je voudrais tout d'abord remercier les maîtres informaticque du LJLL : Merci Khashayar, Altaïr, et Hugues de m'être venus en secours à chaque fois que j'en avais besoin.

Aussi, je voudrais dire un grand merci à mes co-bureaux et ceux qui le squattaient : Magali Tournus, Benjamin Aymard, Quang Nguyen, Thibault Bourgeron, Ibrahim Cheddadi et Anne-Céline Boulanger du LJLL, qui m'ont été bien bénéfiques à mon arrivée en France, à la fin de ma thèse et entre les deux ; mais encore Aurora Armiento, Eugenio, Saverio Smaldone et Grégory Arbia d'Inria qui attendent depuis trois ans mon couscous.

Merci à Sarra Maarouf du LJLL et à Chloé Audebert, Sanjay Pant et Elisa Schenone d'Inria pour les pauses. Merci à Damiano Lombardi pour les tentatives de cours d'italien. Merci à Xavier Dupuis, Annabelle Collin, Noemie Boissier, Benoît Fabrèges, Mikel Landajuela, Matteo Aletti, Jessica Oakes, Stephanie Lindsey, Aissiouene Nora, Raouf Hamouda et Yi Yin. Merci à Juliette Bouhours pour sa grande sympathie. Merci à Amine Loumi pour toutes les réponses sur mes démarches d'enseignements futurs. Merci à Carola Kruse, Sarah Eugène, Mamadou Gueye, Rahma Agroum, Thibault Liard, Pierre Jounieaux, Elias Jan, Maxime Chupin, Ange Toulougoussou, Ryadh Haferssas, Dena Kazerani, Emako Casimir, Jean-Paul Daniel, Malik Drici et Philippe Ung. Merci à Giacomo Canevari pour son tiramisu. Et merci à Richard James pour toute son aide en anglais.

Je salue aussi les anciens membres de l'équipe-projet BANG ainsi que tous ceux de l'actuelle équipe MAMBA.

Je voudrais remercier tous mes amis qui explosaient leurs forfaits téléphoniques pour des conversations Algérie-France. Merci à Yasmina et Souhila pour leur soutien.

Merci à Asmaà qui a connu les mêmes périples que moi et qui a été là lors de mes problèmes de santé (entre autres!).

Mes plus précieuses pensées vont à ma famille qui me soutient inconditionnellement. À maman qui a tant regretté de ne pouvoir se dédoubler durant ces trois ans. À mes petits trésors : ma petite sœur Hiba et mon petit frère Imed que j'ai tant fait pleurer, malgré moi, à chaque départ et qui guettaient mes valises à chaque arrivée ! À ma tante Malika qui, avec maman, sont les seules à trouver intéressant mon choix de faire des Mathématiques. Merci à Ahmed, Nadia, Nesro, Khala et tous mes cousins et cousines qui attendaient impatiemment mon retour et qui, avec

leur question répétitive : "Alors, tu finis quand ?", m'ont permis de rester motivée, m'obligeant ainsi à garder mon but en tête.

Enfin, merci à tous ceux qui ont été sur mon passage, ne serait-ce que ponctuellement, et qui m'ont aidé de quelque manière que ce soit.

Analyse de l'agrégation des protéines dans les maladies neurodégénératives amyloïdes - Application aux maladies à prion

Résumé

L'objectif de cette thèse est d'analyser l'agrégation des protéines prion. Ce phénomène d'élongation de protéines, conduisant à la formation de fibres amyloïdes, est impliquée dans plusieurs maladies neurodégénératives, dont les maladies à prion. Ces mécanismes d'agrégation sont encore mal compris par les spécialistes, et, pour la plupart, hypothétiques seulement.

Pour clarifier les interactions entre fibres et unités de protéines prion, on analyse dans cette thèse, et en étroite collaboration avec une équipe de biophysiciens de l'INRA, des expériences biologiques faites dans ce but. La modélisation de la cinétique de ces réactions est alors incontournable.

La thèse est constituée de deux parties.

Dans la première partie, on présente un premier modèle pour l'agrégation des protéines. Il s'agit d'un modèle discret, infini et connu de la littérature. On résume les propriétés formulées autour de ce modèle et on établit un résultat d'équilibre pour ce système dans des conditions plus cohérentes aux expériences étudiées. Une limite continue de ce système est rappelée, également, dans le but de préparer le cadre à des travaux futurs.

On confronte ensuite ce modèle théorique aux données expérimentales en estimant les paramètres cinétiques des réactions.

Dans la deuxième partie, on introduit un deuxième modèle pour l'agrégation des protéines, avec une hypothèse réactionnelle additionnelle, formulée à partir des simulations du premier modèle. Il s'agit, dans cette partie, d'un modèle d'équations différentielles ordinaires, infini, considérant la formation de fibres *différentes*.

On étudie alors ce système, le confrontant aux données expérimentales et estimant les paramètres cinétiques.

Mots clés

agrégation, amyloïdes, modélisation, Becker-Döring, Lifshitz-Slyozov, prion, polymérisation, PrP, estimation de paramètres

Analysis of Protein Aggregation in Amyloid Neurodegenerative Diseases - Case of Prion Diseases

Abstract

The purpose of the present thesis is to analyse the protein aggregation. This phenomenon of protein elongation, which leads to the formation of amyloid fibrils, is involved in several neurodegenerative diseases, including the prion diseases. These kinetics of aggregation are still misunderstood by the specialists, and, for the most of them, only hypothetical.

To clarify the interactions between the fibrils and the units of prion proteins, we analyse in this work, and with an important collaboration with a team of biophysicists from the INRA, the biological experiments realized in this purpose. The modelling of the kinetic of these reactions is, then, necessary.

This thesis is made in two parts.

In the first part, we present a first model for the protein aggregation. It is an infinite and discrete model, well-known in the specialized literature. We summarise the properties of this model and we establish an equilibrium result for this system in some particular conditions which are more coherent with the experiments we study. A continuous limit of this system is also recalled, in the aim of preparing the framework to some future works.

Then, we compare this theoretical model with the data given from the experiments, relying on the parameter estimation of the kinetic coefficients of the reactions.

In the second part, we introduce a second model for the protein aggregation, with an additional reaction assumption, deduced from the simulations of the first model. This is, in this part of the study, an infinite model of ordinary differential equations, which takes into account the formation of some *different* kind of fibrils. Then, we investigate this system of equations, comparing it with the experimental data and estimating its kinetic parameters.

Key words

aggregation, amyloid, modelling, Becker-Döring, Lifshitz-Slyozov, prion, polymerisation, PrP, parameter estimation

Table des matières

1	Introduction générale	1
1.1	Maladies neurodégénératives amyloïdes - Maladies à prion	2
1.2	Expériences biologiques et collecte de données	4
1.2.1	Préparation des fibres	5
1.2.2	Description de l'expérience - Système dépolymérisant	6
1.2.3	Description de l'expérience - Système polymérisant	7
1.2.4	Taille des fibres	8
1.3	Formalisation des propriétés et mécanismes	10
1.3.1	Nucléation	10
1.3.2	Polymérisation/Dépolymérisation	10
1.4	Introduction aux modèles pour l'agrégation du prion et plan de travail	12
1.4.1	Loi d'action de masse	13
1.4.2	Plan du manuscrit	14
2	Modèle mathématique discret pour l'agrégation de fibres	17
2.1	Transcription discrète - Système de Becker-Döring	18
2.1.1	Existence, unicité et conservation de masse	19
2.1.2	Équilibre, stabilité et comportement asymptotique	20
2.2	Autres solutions du système discret appliqué - Estimations numériques	37
2.2.1	Expérience polymérisante	37
2.2.2	Expérience dépolymérisante	42
3	Modèle mathématique continu pour l'agrégation de fibres	49
3.1	De Becker-Döring à Lifshitz-Slyozov	50
3.2	Existence, unicité	51
3.3	Équilibre et stabilité	52
3.4	Modèle continu avec diffusion	54
3.4.1	Existence, unicité	55
3.4.2	Équilibre et stabilité	56
3.4.3	Comparaison entre les modèles	57
4	Modèle mathématique pour le templating	59
4.1	Modèle classique	60
4.2	Modèle à deux compartiments	62
4.2.1	Système à deux compartiments simplifié	65
4.2.2	États stationnaires et équilibres	70
4.2.3	Estimation des paramètres	72
4.3	Modèle à plusieurs compartiments - inactivation progressive	76
4.3.1	Système simplifié	78
4.3.2	États stationnaires et équilibres	82

4.3.3 Schémas numériques : remarques et précisions	85
A Proceedings : Modelling and Analysis of Protein Aggregation	89
B Article : Size distribution of amyloid fibrils.	101
Bibliographie	137

CHAPITRE 1

Introduction générale

Sommaire

1.1	Maladies neurodégénératives amyloïdes - Maladies à prion	2
1.2	Expériences biologiques et collecte de données	4
1.2.1	Préparation des fibres	5
1.2.2	Description de l'expérience - Système dépolymérisant	6
1.2.3	Description de l'expérience - Système polymérisant	7
1.2.4	Taille des fibres	8
1.3	Formalisation des propriétés et mécanismes	10
1.3.1	Nucléation	10
1.3.2	Polymérisation/Dépolymérisation	10
1.4	Introduction aux modèles pour l'agrégation du prion et plan de travail	12
1.4.1	Loi d'action de masse	13
1.4.2	Plan du manuscrit	14

1.1 Maladies neurodégénératives amyloïdes - Maladies à prion

Maladies neurodégénératives amyloïdes

Une maladie neurodégénérative correspond à une pathologie progressive qui affecte les cellules du système nerveux, entraînant des lésions irréversibles et, parfois, la mort des cellules. Certaines maladies neurodégénératives sont associées à des agrégats, intra ou extra cellulaires, de protéines qui peuvent former des fibres appelées amyloïdes. Concrètement cela est dû à une protéine monomérique mal repliée, configuration qui facilite son agrégation en fibres de protéines polymériques, formant ainsi des dépôts et des cavités à l'intérieur des neurones.

Il existe plus d'une vingtaine de maladies neurodégénératives amyloïdes, les plus célèbres (par leur taux de mortalité) sont : la maladie d'Alzheimer dont la protéine caractéristique est l' $A\beta$, la maladie de Parkinson causée par l' α -synucléine, la maladie de Huntington caractérisée par la protéine huntingtin ou encore, celles qui nous intéressent plus dans le cadre de cette thèse, les maladies à prion [25, 51].

Maladies à prion

Les maladies à prions ou encéphalopathies subaiguës spongiformes transmissibles (ESST) sont des maladies neurodégénératives affectant le système nerveux central, à savoir le cerveau et la moelle épinière (d'où l'appellation d' "encéphalopathie"). Elles touchent certaines espèces animales telles que les moutons, les chèvres, les bovins et autres ruminants (la maladie de la vache folle, la tremblante ou scrapie

en anglais), ainsi que l'homme (la maladie de Creutzfeldt-Jakob, le kuru, l'insomnie fatale familiale) [5,6].

Ces maladies sont à évolution lente, sans rémission, avec, en général, une période d'incubation asymptomatique (jusqu'à 40 ans chez l'homme). Après l'apparition des premiers symptômes, l'évolution est généralement rapidement fatale. Les lésions observées sont localisées dans le cerveau et forment des cavités au sein des neurones, d'où le caractère spongiforme de ces maladies.

Les maladies à prions peuvent être transmissibles (par voie alimentaire notamment) au sein de la même espèce, et parfois d'une espèce à une autre, mais le plus souvent elles sont dues, comme la plupart des maladies neurodégénératives, à une mutation génétique héréditaire. Cette mutation génétique concerne, dans le cas de cette classe de maladies, des agents infectieux, particulièrement résistants aux procédés classiques d'inactivation, dénommés agents transmissibles non conventionnels (ATNC) ou encore prions.

Le prion est un agent infectieux de nature exclusivement protéique. Contrairement aux virus et bactéries, la protéine prion se réplique sans transmission inter-individus d'ADN ni d'ARN. La notion de prion (acronyme de PRoteinaceous Infectious Only particle) a été introduite pour la première fois par S. Prusiner en 1982 et lui valut le prix Nobel en physiologie et médecine en 1997. En effet, Prusiner réussit à isoler, pour la première fois alors, la protéine prion à partir de cerveaux de hamsters purifiés, après leur avoir inoculé la tremblante du mouton [49]. Une fois isolée et séquencée, cette protéine est nommée PrP^{Sc} (pour scrapie). En parallèle, une protéine prion ayant la même séquence est découverte dans des tissus sains, elle est nommée PrP^C (pour cellular) et représente protéine prion *normale*.

Le prion sous sa forme normale (PrP^C) se trouve donc chez l'être sain. Depuis le

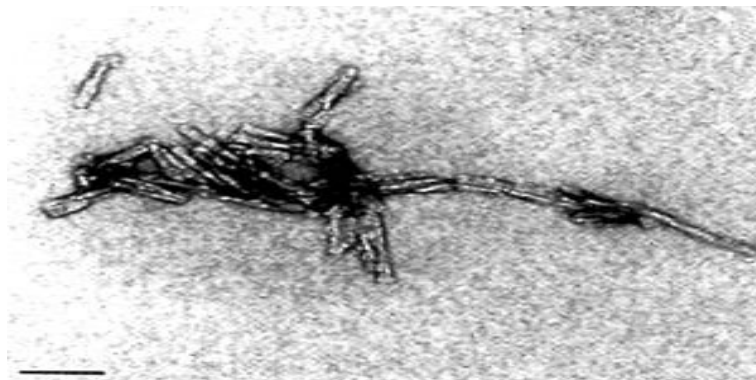


FIGURE 1.1 – Microscopie électronique de la PrP^{Sc} purifiée [50]

début des années 90 des scientifiques étudient des modèles de souris dépourvues de la protéine prion pour voir ce que son absence provoque, et plusieurs propositions quant au rôle de la PrP ont été faites depuis. L'équipe de chercheurs suisses d'A. Aguzzi et J. Bremer ont constaté que les prions (normaux) jouaient un rôle crucial dans l'entretien de la myéline, la gaine protectrice qui entoure les nerfs [1].

Ceci étant, mal repliée, la protéine prion s'accumule dans certains tissus car sa forme *nouvelle*, différente de celle de la protéine normale présente à l'état naturel chez l'hôte, est plus difficile à dégrader par l'organisme. Cette protéine anormale (PrP^{Sc}) engendre les ESST (ou maladies à prions).

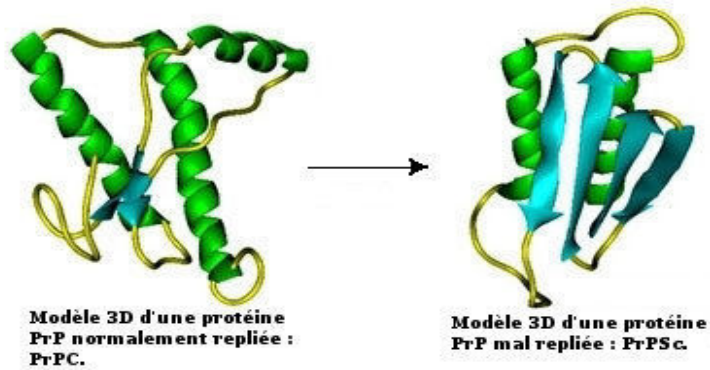


FIGURE 1.2 – Modèle d'une conformation normale de la PrP (gauche) et d'une conformation anormale de la PrP (droite).

Adaptée à partir de [38]

1.2 Expériences biologiques et collecte de données

Le mauvais repliement des protéines est, comme décrit précédemment, sinon la cause, du moins étroitement liés aux maladies amyloïdes en général, et aux maladies à prions en particulier. Mieux comprendre les dynamiques de changement de conformation de ces protéines et leurs mécanismes d'agrégation aiderait fortement à mieux comprendre les pathologies concernées au niveau moléculaire, pour pouvoir envisager des pistes thérapeutiques par la suite. C'est dans ce but que l'équipe de H. Rezaei, de l'INRA, s'est penchée sur l'étude des dynamiques conformationnelles de la PrP [42, 52] et de leurs mécanismes d'agrégation et de fragmentation [53]. Des fibres prion ont été fabriquées *in vitro* et étudiées. Les réactions cinétiques ont été suivies et mesurées par diffusion statique de lumière ou SLS (pour Static Light Scattering) appliquée à une cuve contenant des fibres PrP dans un tampon de solution aqueuse. Le signal mesuré alors par la machine SLS est quantifié par la formule :

$$\alpha \left(\sum_{i \geq 1} i^2 c_i \right) + \beta$$

où c_i représente la concentration en polymères de taille i dans une unité de volume, α et β des constantes relatives à chaque expérience (sensibles au paramétrage et aux conditions de l'expérience) et dont on ne connaît pas les valeurs. Ce signal représenterait donc une combinaison linéaire du moment d'ordre deux des concentrations en polymères de tailles $i \geq 1$.

L'échantillon expérimental étant une mixture hétérogène de polymères de différentes tailles, cette technique de mesure ne permet pas d'avoir accès à la concentration de polymères d'une taille précise.

1.2.1 Préparation des fibres

Les expériences étudiées nécessitent, pour leur réalisation, de fortes quantités de fibres. Les fibres à expérimenter sont alors produites *in vitro*. La préparation des fibres se fait en deux grandes étapes : une production des protéines et ensuite la formation des fibres à utiliser, comme décrit dans [53].

- **Extraction et purification des protéines.** Les protéines peuvent être obtenues à partir de tissus ou par leur surexpression dans un organisme modèle, tel que des cellules de mammifères, des levures ou des bactéries en culture, comme c'est le cas pour nos fibres de PrP. Les protéines sont ensuite passées dans un système de purification dont l'objectif est de conserver la plus grande quantité de protéines fonctionnelles avec le moins de contaminants possible. Ce procédé consiste à isoler les protéines d'intérêt, sur la base de différences dans leurs propriétés physiques comme leur solubilité, leur taille ou, comme pour le cas des protéines de PrP, leur affinité avec les ions de nickel. Les protéines prion utilisées dans les expériences étudiées ici sont de type PrP humain. Afin de les produire, des cellules bactériennes exprimant le gène de la PrP (cellule de E.coli) sont multipliées dans du milieu de culture [53]. Les cellules sont ensuite séparées du milieu de culture par centrifugation. Cela revient à agiter le tout de manière rotatoire dans un appareil, la centrifugeuse, constitué d'un rotor tournant à grande vitesse angulaire (5000 rotations par minute) permettant ainsi de séparer les parties de densité différente. Les protéines sont libérées des corps d'inclusion (les cellules) en cassant les membranes cellulaires avec du détergent et des ultrasons, un procédé appelé sonication. Après une nouvelle étape de centrifugation, les protéines récoltées sont dissoutes dans un solvant dénaturant des protéines, le chlorure de guanidinium, afin de les stabiliser à l'état dénaturé.

Après encore une étape de centrifugation, le liquide surnageant est passé dans une colonne de purification des protéines (colonne de nickel (Ni) Sepharose) pour purifier les protéines produites, en séparant la PrP par rapport aux autres molécules qui ne fixent pas le nickel, et pour replier la PrP.

La solution est ensuite dessalée sur colonne d'exclusion de taille, puis lyophilisée, ce qui facilite son stockage.

L'état de la PrP ainsi obtenue est monomérique. En effet, cet état est confirmé par électrophorèse sur gel de polyacrylamide [53].

- **Formation des fibres.** À partir de la PrP monomérique obtenue, des fibres purifiées sont alors préparées suivant la méthode décrite par El Moustaine *et*

al. [17].

In vitro, une quantité de 22 micro moles par litre (μM) de PrP monomérique est ajoutée dans du solvant dénaturant des protéines, le chlorure de guanidinium, à une température fixe, valant $37^{\circ}C$. La solution est ensuite centrifugée à une vitesse angulaire de 22 rotations par minute.

La formation des fibres amyloïdes a été quotidiennement suivie sur des fractions de la solution en utilisant un colorant fluorescent : la Thioflavine T ou ThT. La masse polymérisée qui se forme est alors estimée en mesurant l'émission fluorescente de la ThT. Une fois que la fluorescence a atteint un plateau, l'incubation est stoppée. Afin de séparer les fibres par rapport aux monomères qui n'ont pas réagi et d'enlever le guanidinium, des échantillons sont centrifugés, à trois reprises. Après chaque centrifugation, les résidus, ou culots, sont remis en suspension dans le tampon final. i.e. $10\mu M$ de tampon d'acétate de sodium à pH 5.0 (utilisant de l'acide acétique pour ajuster le pH). Les échantillons sont stockés à une température valant $4^{\circ}C$.

1.2.2 Description de l'expérience - Système dépolymérisant

La première expérience présentée par nos collaborateurs est une expérience ayant pour but de regarder comment se comportent ces fibres de prion mal-repliée et plus particulièrement leur stabilité.

Dans une cuve expérimentale, un volume de 420 micro litre (μL) de solution aqueuse contenant exclusivement des fibres de PrP humain est ajouté. La température à l'intérieur de la cuve est maintenue à $50^{\circ}C$, ce qui est supposé, biologiquement, favoriser davantage la perte de monomères (à partir des fibres). L'évolution de ce système expérimental est alors suivie par diffusion statique de lumière ou SLS, sur une durée de 24 heures. Figure 1.2.2.

Cette même expérience, où la décroissance du signal (et, à priori, de la taille des fibres) semble être favorisée, est répétée avec différentes concentrations initiales de fibres dans la solution.

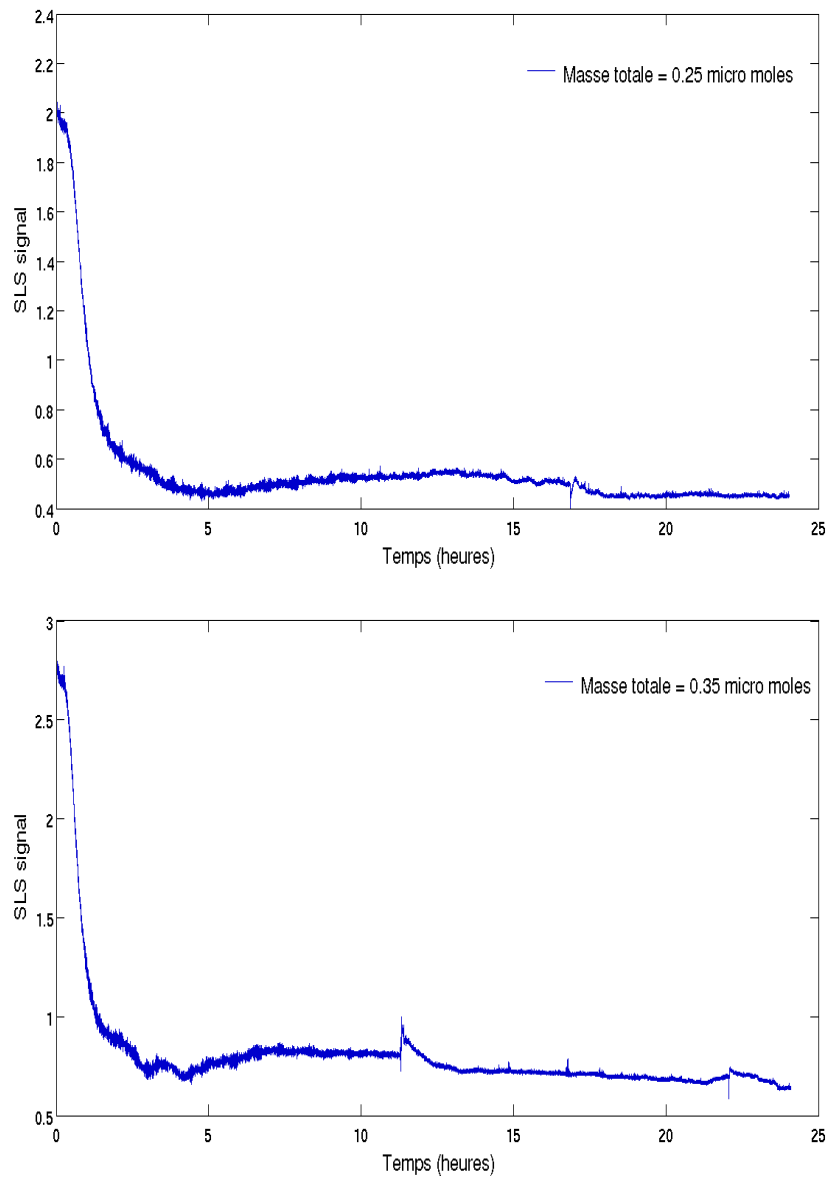


FIGURE 1.3 – Signal SLS de l'expérience dépolymérisante. En haut, la masse initiale en fibre est de $\rho = 0.25 \mu M$, et en bas elle est de $\rho = 0.35 \mu M$.

1.2.3 Description de l'expérience - Système polymérisant

Pour mieux comprendre comment des protéines peuvent-elles agréger des monomères selon le principe



l'approche biologique consista en des additions successives de monomères sur des fibres purifiées, en suivant le tout par SLS. Figure 1.2.3.

Au temps $t = 0$ la polymérisation est lancée en ajoutant aux fibres un taux excessif de monomères. Afin d'éviter de nouvelles formations d'oligomères (polymères de petites tailles) à partir des monomères, les monomères sont ajoutés successivement et à petites concentrations au lieu d'un seul ajout de la concentration totale voulue (concentration très élevée donc).

Une fois que le signal SLS trace un quasi-plateau, c'est-à-dire une fois que les réactions semblent s'équilibrer, un nouvel ajout d'un taux élevé de monomères est effectué, toujours à de petites doses.

Pour ces premières étapes d'addition, les fibres ainsi que le monomère ajouté sont de type PrP humain. La quantité de monomères humains incorporée dans les fibres humaines s'étend de 4 à 7% du taux de monomères ajoutés, selon une estimation du monomère humain libre restant une fois le plateau atteint.

A partir d'un certain nombre d'additions de monomères de PrP humains, les fibres de PrP humaines ne semblent plus pouvoir incorporer davantage de monomères PrP humains. Ceci dit, le signal SLS se met à croître de nouveau si des monomères de PrP ovins sont ajoutés, i.e. les fibres de PrP humaines s'allongent davantage avec du monomère PrP de type différent.

L'agrégation des monomères (5 micro moles par litre, μM) sur les fibres ($0.2\mu M$) est mesurée en fonction du temps dans un tampon de $10\mu M$ d'acétate de sodium à pH 5.0 et à température constante de $50^\circ C$ en utilisant un signal SLS multi-longueur d'onde.

1.2.4 Taille des fibres

La distribution initiale de la taille des fibres est mesurée par microscopie électronique en transmission ou TEM (acronyme pour Transmission Electron Microscopy). Quelques fractions (ou aliquotes pour être plus technique) de la solution "stock" des fibres sont prélevées pour être, tout d'abord, colorées avec de l'acétate d'uranyle, puis mesurées après dilution sur des grilles de TEM recouvertes de carbone. Cette méthode de mesure est décrite par Moustaine *et al.* dans [17].

À partir des images obtenues, la longueur ainsi que la largeur des fibres sont déterminées (en nanomètre nm).

Ces fibres de PrP étant considérées comme une association/agrégation de plusieurs monomères de PrP, leur taille est en pratique exprimée en nombre de monomères par fibre.

Le nombre de monomères par fibre est alors estimé à partir du volume de fibres PrP mesuré, divisé par le volume d'une molécule de PrP. Ceci dit, le volume d'une molécule de PrP change si la structure de la PrP change. En effet, la PrP^{Sc} dont la structure est riche en feuillet β occupe certainement un volume différent de celui

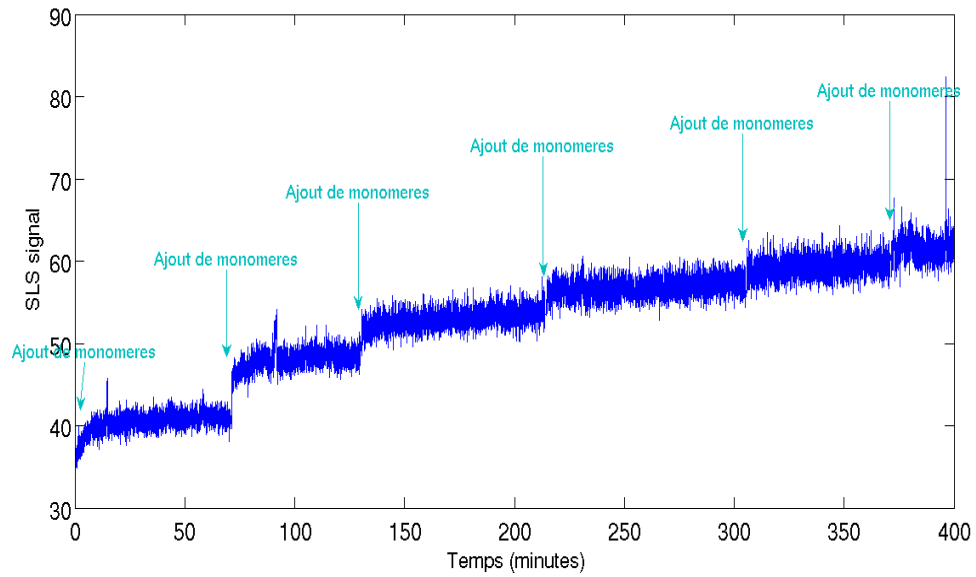


FIGURE 1.4 – Signal SLS de l’expérience polymérisante.

d’une PrP^C dont la structure est principalement en hélice α . Dans notre cas, la structure fine de la PrP incluse dans les fibres est inconnue, et donc son volume (de la molécule PrP fibrillaire) est inconnu. Afin de pouvoir caractériser, grossièrement, la distribution globale de la taille des fibres expérimentales et l’estimer en nombre de monomères par fibre, l’équipe de Rezaei a choisi d’utiliser le volume théorique obtenu par Anderson *et al.*, basé sur la formule de Voronoï, à partir de la structure fine bien connue de la PrP cellulaire [2] :

$$\text{Nombre de monomères/fibre} = \frac{\text{Volume des fibres}}{\text{Volume d'une molécule}}$$

où $\text{Volume d'une molécule} = 28nm^3$ [2].

Cette méthode de microscopie ne permet pas de détecter avec certitude les objets de taille plus petite que 10 nm . Cependant les monomères et les petits polymères étant enlevés par centrifugation lors de l’étape de préparation des fibres, on peut considérer qu’il n’y a pas de fibre de taille inférieure à 10 nm au temps $t = 0$. En terme de monomères par fibre, la plus petite taille détectable par cette méthode correspond à environ 145 monomères. La taille moyenne des fibres expérimentales est alors estimée entre 380 et 400 monomères.

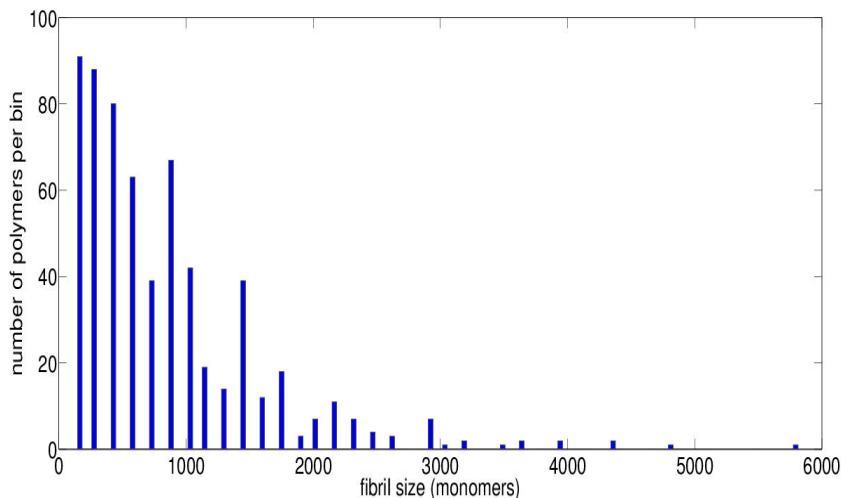


FIGURE 1.5 – Fréquence des tailles exprimées en monomères par fibres selon TEM par S. Prigent [48]. Le nombre de fibres de tailles plus petites que 145 monomères est inconnu. Voir article en Annexe B.

1.3 Formalisation des propriétés et mécanismes

La formation des fibres amyloïdes suit des mécanismes moléculaires d'agrégation et de désagrégation des protéines. Biologiquement, ces mécanismes (Figure 1.6) restent encore mal compris et la formulation de beaucoup d'étapes reste encore hypothétique. Dans le cas de la protéine prion, la théorie la plus reprise est celle de l'élongation nucléée ou la polymérisation nucléée.

1.3.1 Nucléation

La formation des fibres est généralement considérée comme due à une phase de nucléation. La description du processus de nucléation est un exercice particulièrement difficile dû à la taille critique des nuclei. Théoriquement, les unités de base, les monomères, forment un nucleus de taille critique qui permet la formation de filaments et leur élongation [42]. Cette réaction reste hypothétique dans le cas des protéines prions.

1.3.2 Polymérisation/Dépolymérisation

La polymérisation des fibres est leur élongation par addition de monomère, que l'on suppose longitudinale (voir le schéma Figure 1.3.2). Une fibre, appelée aussi polymère, de taille i , peut récupérer un monomère pour donner un polymère de taille $i + 1$. Cette réaction s'appelle agrégation ou polymérisation, et elle se produit avec un taux que l'on note k_i^{on} .

Inversement, un polymère de taille i , peut aussi perdre un monomère, donnant ainsi

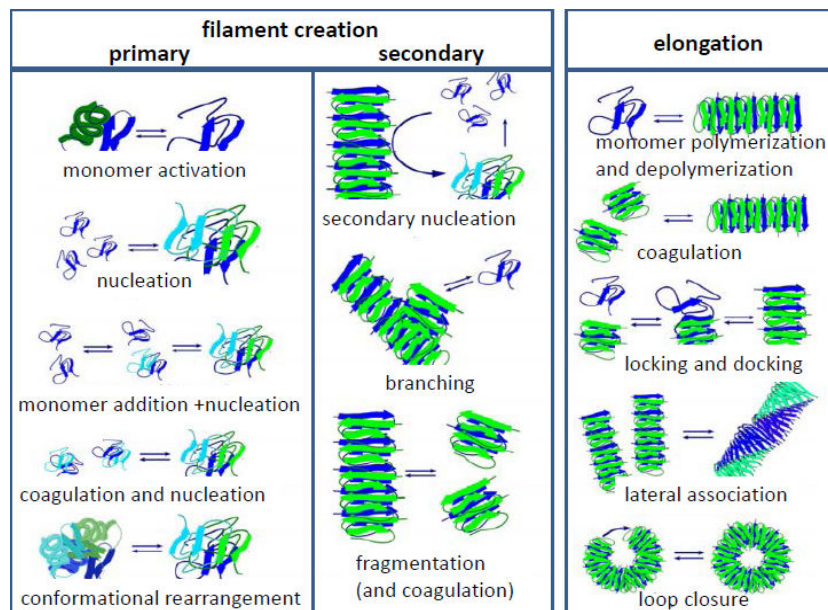


FIGURE 1.6 – Résumé des mécanismes généralement plausibles pour la formation des fibres. [22]

un polymère de taille $i - 1$ et un monomère libre. Cette réaction inverse s'appelle dépolymérisation. La dépolymérisation se produit avec un taux que l'on note k_i^{dep} (Figure 1.3.2).

Un polymère de taille i peut aussi se casser en deux polymères plus petits, de tailles j et $i - j$ avec $j < i$. Cette réaction est appelée fragmentation. La fragmentation peut être due à un stress mécanique, du à une interaction avec des membranes cellulaires *in vivo*, ou à une agitation, par exemple, *in vitro* [59]. Dans les expériences étudiées ici, aucune force de fragmentation n'est appliquée. Même si cela ne nous permet pas pour autant d'éliminer la fragmentation des réactions plausibles lors de ces expériences, elle peut être négligée comme réaction secondaire par rapport à la dépolymérisation et à la polymérisation.



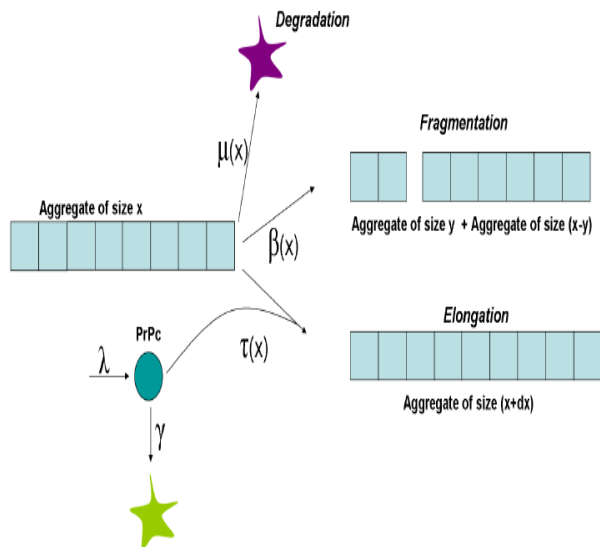


FIGURE 1.7 – Réactions cinétiques pour l’agrégation des prions adaptée de [38]

1.4 Introduction aux modèles pour l’agrégation du prion et plan de travail

L’analyse des mécanismes d’agrégation des fibres amyloïdes est une étude complexe et attractive, qui a intéressé différents spécialistes (médecins, biologistes, biophysiciens, mathématiciens). En effet, ces mécanismes sont encore mal connus et, souvent, hypothétiques seulement. Cette complexité est notamment due à la difficulté à observer ces interactions qui se font à une échelle nanoscopique. L’apport des mathématiques est alors nécessaire pour confirmer ou infirmer les hypothèses théoriques, en modélisant le phénomène puis en confrontant les observations expérimentales aux simulations du modèle. Plusieurs modèles ont été proposés dans ce but [20, 23, 38, 46], pour une revue plus complète, se référer à [35, 39].

Un des premiers modèles écrit pour la modélisation de la formation d’amyloïdes de prion *in vivo* a été introduit par Masel *et al.* en 1999, [38]. Le modèle décrit l’évolution de la concentration de protéine prion cellulaire PrP^{C} (noté ν dans l’article en question) et de fibres amyloïdes PrP^{Sc} (noté p_i) en fonction de leur taille i . Deux phénomènes sont alors pris en comptes comme étant à l’origine de la réplification de la PrP^{C} . Le premier processus est la polymérisation (avec un taux τ_i). Le second phénomène est la fragmentation (avec un taux $\beta_i \kappa_{i,j}$). Voir paragraphe 1.3. Les auteurs de ce modèle considèrent aussi, l’existence d’une taille critique de polymères, donnée par $i_0 > 0$, en dessous de laquelle il n’existe pas de polymères de PrP^{Sc} . De ce fait, ce modèle suppose que si un polymère de taille i se fragmente, donnant un polymère de taille $j < i_0$, alors celui-ci se décompose instantanément

en j monomères. Le modèle construit s'écrit alors comme suit :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{d\nu}{dt} = \lambda - \gamma\nu - \sum_{i \geq i_0} \tau_i \nu p_i + 2 \sum_{j \geq i_0} \sum_{i < i_0} i \beta_j \kappa_{i,j} p_j, \\ \frac{dp_i}{dt} = -\mu_i p_i - (\tau_i \nu p_i - \tau_{i-1} \nu p_{i-1}) - \beta_i p_i + 2 \sum_{j \geq i+1} \beta_j \kappa_{i,j} p_j, \end{array} \right. \quad \text{pour } i \geq i_0. \quad (1.1)$$

où la constante $\lambda > 0$ représente le taux de production de la PrP^C par le système, $\gamma > 0$ le taux de sa dégradation et μ_i celui de la dégradation de la PrP^{Sc}.

Dans sa forme originelle, le modèle introduit par Masel *et al.* considère les coefficients cinétiques de la variation des fibres PrP^{Sc}, à savoir τ et μ , comme constants. Le modèle modifié, écrit ci-dessus, est étudié par Doumic *et al.* dans [19].

Ceci étant, les expériences décrites dans les parties 1.2.2 et 1.2.3 qu'on analyse dans cette thèse, sont réalisées *in vitro*. Les unités de prion PrP^C sont récupérées d'une solution stock, et les fibres de prion sont produites avant la réalisation des expériences selon la description du paragraphe 1.2.4.

On étudie alors deux modèles pour la description et l'analyse de l'agrégation des protéines prion. Le premier modèle est celui de Becker-Döring [7,8] : un système infini d'équations différentielles ordinaires, à deux composantes qui, dans notre application, représentent les fibres de prion et les unités de prion. Ce modèle est utilisé pour la modélisation d'une grande variété de phénomènes en cinétique de transition de phase. Le deuxième modèle étudié présente une composante supplémentaire par rapport au système de Becker-Döring, comprenant deux types de fibres de prion : des fibres *classiques* et des fibres *défectueuses*. On introduit cette composante additionnelle afin de ralentir la polymérisation, dans le but de mieux coller aux expériences biologiques.

Selon le procédé itératif de modélisation, et utilisant la loi d'action de masse, les hypothèses réactionnelles faites sur les mécanismes d'agrégation fibres-monomères sont traduites en équations différentielles ordinaires exprimant une variation de concentration. Des simulations numériques de ces équations sont ensuite confrontées aux données expérimentales. Cette confrontation permet donc de soutenir ou d'éliminer les hypothèses réactionnelles considérées, selon l'adhésion des simulations aux expériences. Une analyse qualitative est alors à faire.

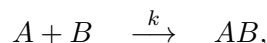
Pour entreprendre ces simulations, il est nécessaire de déterminer les paramètres biophysiques des fibres, les vitesses de réaction, à savoir les $(k_i^{\text{on}})_{i>1}$ pour les réactions de polymérisation, les $(k_i^{\text{dep}})_{i>2}$ pour les réactions de dépolymérisation.

1.4.1 Loi d'action de masse

La loi d'action de masse est l'un des principes généraux de la modélisation de la cinétique des réactions chimiques par des équations différentielles ordinaires. En 1867, Guldberg et Waage ont énoncé explicitement cette loi, appelée aussi loi d'action des concentrations ou encore loi de l'équilibre chimique, stipulant que :

“La vitesse d’une réaction est proportionnelle aux concentrations de chacune des substances réactantes” [24].

Où, par *vitesse de réaction*, il faut comprendre la variation instantanée de la concentration du réactif. Ce qui revient à dire que, si l’on a :



alors la vitesse de réaction est donnée par :

$$\text{Vitesse de réaction} = \frac{d[AB]}{dt} = k \cdot [A] \cdot [B],$$

où $[A]$ représente la concentration de l’espèce A dans le système [56].

1.4.2 Plan du manuscrit

Dans le chapitre 2, on traduit le schéma réactionnel considéré dans le paragraphe 1.3.2, ce qui nous mène au système de Becker-Döring. On rappelle certains des résultats formulés autour de ce système, notamment des résultats d’existence, d’unicité et de comportement asymptotique. On énonce ensuite un résultat d’équilibre portant sur des conditions de réactions plus simples que ceux rappelés avant. Dans la dernière partie de ce chapitre, on confronte le modèle obtenu aux données biologiques, évaluant les paramètres cinétiques des réactions simulées. Les conditions expérimentales n’étant pas exactement les mêmes pour l’expérience polymérisante 1.2.3 et l’expérience dépolymérisante 1.2.2, on distingue nos estimations de paramètres en deux sous-parties. Les estimations faites pour l’expérience polymérisante sont reprises dans l’article [26].

Dans le chapitre 3, on s’intéresse aux travaux portant sur le passage au continu. Pour préparer le cadre à des problèmes inverses (sujet de thèse d’A. Armianto), on évoque l’approximation continue du système de Becker-Döring. Cette approche est présentée en 2002 par Collet *et al.* dans [16] et, par la suite, par Doumic *et al.* dans [19]. Cette limite continue consiste en un système fini composé d’une équation de transport couplé à une contrainte de conservation de masse totale. Ce système est connu sous le nom de Lifshitz-Slyozov (Lifshitz-Slyozov-Wagner) [36, 37]. L’étude asymptotique de ce système continu s’avère différente de celle du système discret. Les solutions d’équilibres pour ce système sont monodisperses (mesures et non fonctions continues).

En 1999, S. Hariz propose une version modifiée du système de Lifshitz-Slyozov, qu’elle étudie dans son manuscrit de thèse [27], et montre qu’il constitue une *meilleure* approximation du système discret de Becker-Döring. Le système de Lifshitz-Slyozov modifié est un système de transport avec diffusion couplé à une contrainte de conservation de la masse totale.

Toujours dans le but de préparer le cadre à des travaux en perspectives, on rappelle, dans la dernière partie du chapitre 3, quelques résultats formulés autour de ce

système.

Dans le chapitre 4, le dernier de ce manuscrit, on introduit un modèle discret différent, qu'on écrit en nous basant sur des hypothèses de réactions fibres-monomères différentes. Dans ce chapitre, c'est l'expérience polymérisante 1.2.3 qui est étudiée. Les simulations faites avec le premier modèle, celui de Becker-Döring, étant satisfaisantes pour la première étape de cette expérience seulement, on émet de nouvelles hypothèses réactionnelles que l'on transcrit en un système infini d'équations différentielles ordinaires à trois composantes. On analyse ensuite ce système numériquement, en étudiant ses équilibres, estimant les paramètres cinétiques et le comparant aux données biologiques liées à cette expérience. Ce chapitre a fait l'objet de la publication [47].

CHAPITRE 2

Modèle mathématique discret pour l'agrégation de fibres

Sommaire

2.1	Transcription discrète - Système de Becker-Döring	18
2.1.1	Existence, unicité et conservation de masse	19
2.1.2	Equilibre, stabilité et comportement asymptotique	20
2.2	Autres solutions du système discret appliqué - Estimations numériques	37
2.2.1	Expérience polymérisante	37
2.2.2	Expérience dépolymérisante	42

Dans le but de comprendre ce qui arrive aux fibres, de valider ou d'exclure les hypothèses réactionnelles faites autour des expériences étudiées, on modélise, dans ce chapitre, les réactions des fibres de protéines décrites dans la partie 1.2.

L'évolution du système expérimental concerné étant essentiellement due à la polymérisation et la dépolymérisation (gain et perte d'un monomère), la coalescence et la fragmentation sont ici négligées, comme étant des réactions secondaires. Pour des travaux sur la croissance de protéines avec fragmentation voir par exemple [21,35].

2.1 Transcription discrète - Système de Becker-Döring

Modéliser mathématiquement des expériences biologiques revient à exprimer la vitesse de variation des composantes biologiques en jeu. Cela se fait suivant une loi chimique, dite loi d'action de masse (chapitre 1, paragraphe 1.4.1). Appliquant cette loi plusieurs fois de suite aux schémas réactionnels de la partie 1.3.2, on arrive à la transcription déterministe suivante :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dc_i}{dt} = -k_i^{\text{on}} c_1 c_i + k_{i-1}^{\text{on}} c_1 c_{i-1} - k_i^{\text{dep}} c_i + k_{i+1}^{\text{dep}} c_{i+1} \quad i \geq 2, \\ \frac{dc_1}{dt} = - \sum_{i=2}^{\infty} \left(k_i^{\text{on}} c_1 c_i - k_{i+1}^{\text{dep}} c_{i+1} \right) - 2 \left(k_1^{\text{on}} c_1^2 - k_2^{\text{dep}} c_2 \right), \end{array} \right. \quad (2.1)$$

qu'on peut réécrire sous sa forme plus connue

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dc_i}{dt} = J_{i-1}(c) - J_i(c) \quad i \geq 2, \\ \frac{dc_1}{dt} = - \sum_{i=2}^{\infty} J_i(c) - 2J_1(c), \end{array} \right.$$

où le taux de croissance J_i s'écrit $J_i(c) = k_i^{\text{on}} c_1 c_i - k_{i+1}^{\text{dep}} c_{i+1}$ pour toute taille $i \geq 1$. Ce système infini d'équations différentielles ordinaires est connu sous le nom de

système de Becker-Döring. Introduit en 1935 par Becker et Döring [7], ce système cinétique peut être utilisé pour modéliser des phénomènes variés en cinétique de transition de phase, tels que la répartition de métastabilité dans une vapeur sursaturée, comme la vapeur d'eau dans l'air par un soir d'hiver, la transition de phase dans un alliage binaire, etc.

Il s'agit d'un système à deux composantes : les fibres polymériques d'une protéine et les unités monomériques de cette même protéine.

Dans sa forme originelle, le système de Becker-Döring considérait le nombre de monomères comme étant constant : il ne prenait pas en considération la diminution du nombre de monomères lorsque de plus grand polymères se formaient. La version qu'on étudie, qui prend en considération la consommation des monomères et qui est toujours référée à Becker et Döring, a été introduite par Burton en 1977 [8].

Du point de vue physique, mathématique et numérique, le système de Becker-Döring a été largement étudié [3, 4, 9, 30, 40, 43, 44, 55, 58]. On retrouve notamment un théorème d'existence de solutions, de leur dépendance continue par rapport à la condition initiale, d'unicité de la solution, de son comportement asymptotique et une propriété de conservation de masse.

Nous résumons ici quelques-unes des propriétés principales de ce système.

2.1.1 Existence, unicité et conservation de masse

Afin de présenter les résultats donnés par Ball, Carr et Penrose dans [4], on se met dans le cadre fonctionnel introduit dans cet article :

$$E^+ = \{c \in E : c_i \geq 0 \quad \forall i\},$$

$$\text{où} \quad E = \{c = (c_i)_{i \in \mathbb{N}} : \|c\| < \infty\}, \quad \|c\| = \sum_{i=1}^{\infty} i |c_i|.$$

Théorème 2.1. [4] *Supposons que les coefficients de polymérisation satisfont*

$$k_i^{on} = O(i), \quad i \rightarrow \infty \tag{2.2}$$

et que la condition initiale c_0 appartienne à E^+ .

Alors, le système d'équations (2.1) admet une solution c pour tous les temps positifs t , telle que $c(0) = c_0$.

Si, de plus, la condition initiale vérifie

$$\sum_{i=1}^{\infty} i^2 c_i < \infty \tag{2.3}$$

alors, la solution est unique.

Réciproquement, si k_i^{on} croît plus vite que i , lorsque $i \rightarrow \infty$, alors (2.1) n'admet aucune solution.

Dans le résultat 2.2, Ball *et al.* montrent que la masse totale (densité totale) est conservée par la solution du système. Cette propriété n'est pas vraie en général pour l'équation discrète de coagulation-fragmentation, qui peut perdre la conservation de la masse totale en temps fini, un phénomène connu sous le nom de gélation [10].

Théorème 2.2. [4] Soit $c : [0, T) \rightarrow E^+$ une solution de (2.1), avec $0 < T \leq \infty$. Alors, pour tout $t \in [0, T)$

$$\rho(t) := \sum_{i=1}^{\infty} i c_i(t) = \sum_{i=1}^{\infty} i c_i(0).$$

Ce résultat peut être retrouvé par un calcul formel de $\frac{d\rho}{dt}$. Le théorème 2.2 justifie donc le calcul fait sur ces sommes infinies [4].

En pratique, dans les expériences étudiées ici et contrairement aux applications pour lesquelles le système (2.1) a été originellement conçu, nous considérons que, pour une taille de polymère maximale i_{\max} fixée, $k_{i \geq i_{\max}}^{\text{on}} = 0$. Cette hypothèse est purement pratique : tronquer le système pour des raisons numériques. Ceci dit, *in vitro* et pour la durée des expériences, les fibres restent de tailles finies. Cela nous assure l'existence, l'unicité de la solution et sa conservation de la masse totale (donc pas de cas de gélation) par des résultats plus simples sur les systèmes finis d'équations différentielles ordinaires.

2.1.2 Équilibre, stabilité et comportement asymptotique

Dans cette partie, on s'intéresse aux résultats de stabilité formulés autour du système de Becker-Döring. Pour toute la suite du présent chapitre, on suppose que les hypothèses du théorème 2.1, (2.2) et (2.3), sont satisfaites.

Une solution d'équilibre du système (2.1) est une suite de points $\tilde{c} = (\tilde{c}_i) \in E^+$ qui vérifie

$$\frac{d\tilde{c}_i}{dt} = J_{i-1}(\tilde{c}) - J_i(\tilde{c}) = 0 \quad i \geq 2,$$

ce qui signifie que tous les taux de croissances J_i sont égaux pour une solution d'équilibre. Une solution d'équilibre vérifie aussi

$$\frac{d\tilde{c}_1}{dt} = \sum_{i=2}^{\infty} J_i(\tilde{c}) + 2J_1(\tilde{c}) = 0,$$

ce qui implique que $J_1 = 0$ et, par conséquent, que $J_i = 0$ pour toutes les tailles $i \geq 1$, d'où la formule de récurrence

$$k_i^{\text{on}} \tilde{c}_1 \tilde{c}_i - k_{i+1}^{\text{dep}} \tilde{c}_{i+1} = 0, \quad \forall i \geq 1 \quad (2.4)$$

Raisonnant par récurrence, et sous l'hypothèse

$$k_j^{\text{dep}} > 0, \forall j \geq 2 \quad (2.5)$$

on a :

$$\left\{ \begin{array}{l} \tilde{c}_i = \prod_{j=1}^{i-1} \left(\frac{k_j^{\text{on}}}{k_{j+1}^{\text{dep}}} \right) \tilde{c}_1, \quad i \geq 2 \\ \tilde{c}_1 \text{ choisi tel que } \tilde{c} = (\tilde{c}_i)_{i=1,2,\dots} \in \mathbb{E}^+ \end{array} \right. \quad (2.6)$$

i.e.

$$\left\{ \begin{array}{l} \tilde{c}_i = \prod_{j=1}^{i-1} \left(\frac{k_j^{\text{on}}}{k_{j+1}^{\text{dep}}} \right) \tilde{c}_1, \quad i \geq 2 \\ \tilde{c}_1 : \|\tilde{c}\| = \sum_{i=1}^{\infty} i \tilde{c}_i < \infty. \end{array} \right.$$

Considérons cette condition de masse finie. On a donc

$$\sum_{i=1}^{\infty} i \tilde{c}_i = \tilde{c}_1 + \sum_{i=2}^{\infty} i \tilde{c}_i < \infty \Rightarrow \tilde{c}_1 + \sum_{i=2}^{\infty} i \prod_{j=1}^{i-1} \left(\frac{k_j^{\text{on}}}{k_{j+1}^{\text{dep}}} \right) \tilde{c}_1 < \infty.$$

En notant $Q_i := \prod_{j=1}^{i-1} \left(\frac{k_j^{\text{on}}}{k_{j+1}^{\text{dep}}} \right)$ pour $i \geq 2$, et en posant $Q_1 := 1$, cette condition de masse finie peut être réécrite sous forme de condition de convergence de série entière

$$\sum_{i=1}^{\infty} i Q_i \tilde{c}_1^i < \infty,$$

Le rayon de convergence de cette série représente physiquement la concentration de saturation en monomères. On le note c_1^s . Selon le lemme d'Hadamard, il est donné par

$$\frac{1}{c_1^s} = \overline{\lim}_{i \rightarrow \infty} (Q_i)^{\frac{1}{i}} \geq 0,$$

On suppose que $\overline{\lim}_{i \rightarrow \infty} (Q_i)^{\frac{1}{i}} < \infty$ de sorte qu'en inversant $0 < c_1^s \leq \infty$.

Notons $F(\tilde{c}_1) = \sum_{i=1}^{\infty} i Q_i \tilde{c}_1^i$. Pour $0 \leq \tilde{c}_1 < c_1^s$, la fonction F est continue et strictement croissante. On définit alors

$$\rho^s = \sup_{0 \leq \tilde{c}_1 < c_1^s} F(\tilde{c}_1).$$

La densité ρ^s représente alors la masse de saturation (ou masse critique).

Si $c_1^s = \infty$, alors $\rho^s = \infty$. Autrement, si $0 < c_1^s < \infty$, alors $0 < \rho^s \leq \infty$. En particulier, si $0 < \rho^s < \infty$, alors $\rho^s = F(c_1^s)$. On a la proposition suivante.

Proposition 2.3. [4] *Supposons que $k_i^{\text{on}} > 0$, $k_i^{\text{dep}} > 0$ pour tout i .*

1. Soit $\rho < \infty, 0 \leq \rho \leq \rho^s$. Alors il existe exactement un état d'équilibre \tilde{c}^ρ avec une densité ρ , et il est donné par

$$\tilde{c}_i^\rho = Q_i \tilde{c}_1(\rho)^i, \quad i = 1, 2, \dots$$

où $\tilde{c}_1(\rho)$ est l'unique racine de $F(\tilde{c}_1) = \rho$, et la solution $c(t)$ du système (2.1) converge fortement vers cette solution d'équilibre lorsque le temps t tend vers l'infini, dans le sens où

$$\lim_{t \rightarrow \infty} \sum_{i=1}^{\infty} i |c_i(t) - Q_i \tilde{c}_1^i(t)| = 0.$$

2. Si $\rho^s < \rho < \infty$, il n'y a pas d'état d'équilibre avec une densité égale à ρ , et lorsque t tend vers l'infini, la solution $c(t)$ du système (2.1) converge faible * vers $Q_i (c_1^s)^i$.

Une solution est dite solution subcritique si sa masse vérifie $\rho < \rho^s$, critique si $\rho = \rho^s$ et supercritique lorsque $\rho > \rho^s$.

Dans [28], on retrouve la proposition suivante, dans laquelle Hariz et Collet donnent un encadrement de la concentration de saturation c_1^s .

Proposition 2.4. [28] Supposons que $k_i^{on} > 0, k_i^{dep} > 0$ pour tout i . Alors :

$$\liminf_i \left(\frac{k_{i+1}^{dep}}{k_i^{on}} \right) \leq c_1^s \leq \overline{\lim}_i \left(\frac{k_{i+1}^{dep}}{k_i^{on}} \right)$$

Et si $\lim_{i \rightarrow \infty} \left(\frac{k_{i+1}^{dep}}{k_i^{on}} \right)$ existe et est non nulle, alors

$$c_1^s = \lim_i \left(\frac{k_{i+1}^{dep}}{k_i^{on}} \right)$$

Dans le récent article [9], J.A. Canizo et B. Lods généralisent ce résultat d'équilibre au cas où l'on prend en compte la polymérisation ou la dépolymérisation par ajout ou perte d'oligomères (polymères de "petites" tailles $i < i_0$). Dans ce même article, les auteurs estiment la vitesse de convergence pour les équations de Becker-Döring :

Théorème 2.5. [9] Supposons que $c = (c_i)_i \in E^+$ est une solution subcritique, , non identiquement nulle, de l'équation (2.1) (les conditions d'existence du théorème 2.1 sont ainsi supposées vérifiées). Supposons qu'on ait en plus :

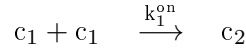
$$- \inf_{i > 1} k_i^{on} > 0,$$

- pour $\nu > 0$, $\sum_{i=1}^{\infty} \exp(\nu i) c_i^{in} < +\infty$.

Alors, il existe deux constantes explicites $C_1 > 0$ et $\kappa_1 > 0$ telles que

$$\sum_{i>1} i |c_i(t) - Q_i| \leq C_1 \exp\left(-\kappa_1 t^{\frac{1}{3}}\right), \quad \forall t \geq 0. \quad (2.7)$$

En ce qui concerne les expériences qu'on étudie (voir 1.2.2 et 1.2.3), on sait que biologiquement, la formation de nouvelles fibres selon la réaction



requiert un temps beaucoup plus grand que l'échelle de temps des expériences citées, ce qui suggère que k_1^{on} soit nul. De plus, la logique biologique suggère qu'un très petit polymère est très stable, de sorte qu'un dimère par exemple a peu de chances de se dépolymériser en deux monomères libres. Il n'est donc pas exclu que les coefficients de ces deux réactions, k_1^{on} et k_2^{dep} , soient nuls également. Ce qui ne nous positionne pas exactement dans les conditions de la proposition 2.3.

Proposition 2.6. *Supposons que*

$$\exists i_0 \in \mathbb{N}^* \quad / \quad k_{i_0+1}^{dep} = 0 \quad (2.8)$$

Sous réserve qu'on ait toujours :

$$k_{i \neq i_0+1}^{dep} > 0 \quad \text{et} \quad k_{i \neq i_0}^{on} > 0,$$

les deux cas suivants sont à distinguer.

1. Si $k_{i_0}^{on} = 0$, la solution stationnaire de (2.1), $\tilde{c} = (\tilde{c}_i) \in E^+$, est donnée par :

$$\tilde{c}_i = \begin{cases} Q_i \tilde{c}_1^i & \text{lorsque } 2 \leq i \leq i_0 \\ \frac{P_{i_0}}{\sum_{i=i_0+2}^{\infty} (T_i \tilde{c}_1^{i-(i_0+1)}) + 1} & \text{lorsque } i = i_0 + 1, \\ T_i \tilde{c}_1^{i-(i_0+1)} \tilde{c}_{i_0+1} & \text{lorsque } i_0 + 2 \leq i \leq \infty, \end{cases}$$

avec $Q_i = \prod_{j=1}^{i-1} \left(\frac{k_j^{on}}{k_{j+1}^{dep}} \right)$ pour $i \geq 2$ et $Q_1 := 1$, $T_i = \prod_{l=i_0+1}^{i-1} \left(\frac{k_l^{on}}{k_{l+1}^{dep}} \right)$ pour

$i \geq i_0 + 2$ et $T_{i_0+1} := 1$, $P_{i_0} = \sum_{i=i_0+1}^{\infty} c_i(t=0)$ et où $\tilde{c}_1(\rho)$ est l'unique racine de $G(\tilde{c}_1) = \rho$ avec

$$G(\tilde{c}_1) := \sum_{i=1}^{i_0} i Q_i \tilde{c}_1^i + \frac{P_{i_0}}{1 + \sum_{i=i_0+2}^{\infty} T_i \tilde{c}_1^{i-(i_0+1)}} \sum_{i=i_0+1}^{\infty} i T_i \tilde{c}_1^{i-(i_0+1)}.$$

2. Si $k_{i_0}^{\text{on}} \neq 0$, de deux choses l'une :

- Soit $\tilde{c}_1 = 0$ et la solution stationnaire, $\tilde{c} = (\tilde{c}_i) \in E^+$, est donnée par :

$$\tilde{c}_i = \begin{cases} \frac{\rho}{i_0 + 1} & \text{quand } i = i_0 + 1, \\ 0 & \text{ailleurs.} \end{cases}$$

- Soit la solution de (2.1) converge vers :

$$\tilde{c}_i = \begin{cases} 0 & \text{lorsque } 2 \leq i \leq i_0 \\ \frac{P_{i_0}}{\sum_{i=i_0+2}^{\infty} (T_i \tilde{c}_1^{i-(i_0+1)}) + 1} & \text{lorsque } i = i_0 + 1, \\ T_i \tilde{c}_1^{i-(i_0+1)} \tilde{c}_{i_0+1} & \text{lorsque } i_0 + 2 \leq i \leq \infty, \end{cases}$$

avec $Q_i = \prod_{j=1}^{i-1} \left(\frac{k_j^{\text{on}}}{k_{j+1}^{\text{dep}}} \right)$ pour $i \geq 2$ et $Q_1 = 1$, $T_i = \prod_{l=i_0+1}^{i-1} \left(\frac{k_l^{\text{on}}}{k_{l+1}^{\text{dep}}} \right)$ pour $i \geq i_0 + 2$ et $T_{i_0+1} = 1$, et où $\tilde{c}_1(\rho)$ est l'unique racine de $G(\tilde{c}_1) = \rho$ avec

$$G(\tilde{c}_1) := \tilde{c}_1 + \frac{P_{i_0}}{1 + \sum_{i=i_0+2}^{\infty} T_i \tilde{c}_1^{i-(i_0+1)}} \sum_{i=i_0+1}^{\infty} i T_i \tilde{c}_1^{i-(i_0+1)}.$$

Démonstration. À l'équilibre du système (2.1) nous avons donc (2.4) :

$$J_i = 0, \quad \forall i \in \mathbb{N}^*$$

En particulier pour $i = i_0$, on a :

$$J_{i_0} = k_{i_0}^{\text{on}} \tilde{c}_1 \tilde{c}_{i_0} - k_{i_0+1}^{\text{dep}} \tilde{c}_{i_0+1} = 0.$$

Sous l'hypothèse (2.8), cela donne :

$$k_{i_0}^{\text{on}} \tilde{c}_1 \tilde{c}_{i_0} = 0 \Rightarrow \begin{cases} k_{i_0}^{\text{on}} = 0, \\ \text{ou :} \\ \tilde{c}_1 = 0, \\ \text{ou :} \\ \tilde{c}_{i_0} = 0. \end{cases}$$

1) Si $k_{i_0}^{\text{on}} = 0$, alors le taux de croissance en i_0 devient :

$$J_{i_0}(c) = 0, \quad \forall t \in [0, \infty[.$$

Et donc,

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt} \sum_{i=i_0+1}^{\infty} c_i &= \sum_{i_0+1}^{\infty} \frac{dc_i}{dt}, \\ &= \sum_{i_0+1}^{\infty} (J_{i-1}(c) - J_i(c)), \\ &= -J_{i_0}(c), \\ &= 0. \end{aligned}$$

Biologiquement, ce cas signifie qu'il n'y a plus d'élongation des fibres de taille i_0 ni de dépolymérisation en fibres de taille i_0 . Le nombre total des fibres de taille $i > i_0$ reste alors constant au cours du temps. Et donc,

$$\sum_{i=i_0+1}^{\infty} c_i(t) = \sum_{i=i_0+1}^{\infty} c_i(t=0) := P_{i_0}, \quad \forall t \in [0, \infty[.$$

En raisonnant par récurrence comme pour (2.6), l'équilibre dans ce cas vérifie :

$$\left\{ \begin{array}{l} \tilde{c}_i = \prod_{l=1}^{i-1} \left(\frac{k_l^{\text{on}}}{k_{l+1}^{\text{dep}}} \right) \tilde{c}_1, \quad 2 \leq i \leq i_0 \\ \tilde{c}_{i_0+1} < \infty, \\ \tilde{c}_i = \prod_{l=i_0+1}^{i-1} \left(\frac{k_l^{\text{on}}}{k_{l+1}^{\text{dep}}} \right) \tilde{c}_1^{i-(i_0+1)} \tilde{c}_{i_0+1}, \quad i_0 + 2 \leq i \leq \infty \\ \tilde{c}_1 : \|\tilde{c}\| = \sum_{i=1}^{\infty} i \tilde{c}_i < \infty. \end{array} \right.$$

avec

$$\|\tilde{c}\| = \sum_{i=1}^{\infty} i \tilde{c}_i = \sum_{i=1}^{i_0} i Q_i \tilde{c}_1^i + (i_0 + 1) \tilde{c}_{i_0+1} + \tilde{c}_{i_0+1} \sum_{i=i_0+2}^{\infty} i T_i \tilde{c}_1^{i-(i_0+1)},$$

où $T_i = \prod_{l=i_0+1}^{i-1} \left(\frac{k_l^{\text{on}}}{k_{l+1}^{\text{dep}}} \right)$, $\forall i \geq i_0 + 2$, et où on pose $T_{i_0+1} := 1$.

De plus, la conservation du nombre total de fibres de taille $i > i_0$ implique à l'équilibre que :

$$\sum_{i=i_0+1}^{\infty} \tilde{c}_i(t) = P_{i_0},$$

ce qui, dans ce cas là, revient à écrire :

$$\sum_{i=i_0+2}^{\infty} \left(T_i \tilde{c}_1^{i-(i_0+1)} \tilde{c}_{i_0+1} \right) + \tilde{c}_{i_0+1} = P_{i_0},$$

d'où :

$$\tilde{c}_{i_0+1} = \frac{P_{i_0}}{\sum_{i=i_0+2}^{\infty} \left(T_i \tilde{c}_1^{i-(i_0+1)} \right) + 1}.$$

La condition de masse finie devient alors :

$$\begin{aligned} \|\tilde{c}\| &= \sum_{i=1}^{\infty} i \tilde{c}_i \\ &= \sum_{i=1}^{i_0} i Q_i \tilde{c}_1^i + (i_0 + 1) \frac{P_{i_0}}{1 + \sum_{i=i_0+2}^{\infty} T_i \tilde{c}_1^{i-(i_0+1)}} + \frac{P_{i_0}}{1 + \sum_{i=i_0+2}^{\infty} T_i \tilde{c}_1^{i-(i_0+1)}} \cdot \sum_{i=i_0+2}^{\infty} i T_i \tilde{c}_1^{i-(i_0+1)}. \\ &= \sum_{i=1}^{i_0} i Q_i \tilde{c}_1^i + \frac{P_{i_0}}{1 + \sum_{i=i_0+2}^{\infty} T_i \tilde{c}_1^{i-(i_0+1)}} \sum_{i=i_0+1}^{\infty} i T_i \tilde{c}_1^{i-(i_0+1)}. \end{aligned}$$

qui est finie si $\sum_{i=1}^{\infty} i T_i \tilde{c}_1^i < \infty$.

Le rayon de convergence de cette série est donné par

$$\frac{1}{c_1^s} = \overline{\lim}_{i \rightarrow \infty} (T_i)^{\frac{1}{i}} > 0.$$

$$\text{Notons } G(\tilde{c}_1) := \sum_{i=1}^{i_0} i Q_i \tilde{c}_1^i + \frac{P_{i_0}}{1 + \sum_{i=i_0+2}^{\infty} T_i \tilde{c}_1^{i-(i_0+1)}} \sum_{i=i_0+1}^{\infty} i T_i \tilde{c}_1^{i-(i_0+1)}.$$

\tilde{c}_1 est ainsi donné implicitement par :

$$G(\tilde{c}_1) = \rho.$$

La fonction G étant continue et strictement croissante, \tilde{c}_1 est défini de manière unique.

Supposons à présent que $k_i^{\text{on}} > 0, \forall i \in \mathbb{N}^*$. Les deux autres possibilités donnent :

2) Si $\tilde{c}_1 = 0$, alors J_i devient :

$$J_i = -k_{i+1}^{\text{dep}} c_{i+1} \quad \forall i \geq 1.$$

À l'équilibre on a donc :

$$\begin{aligned} k_i^{\text{dep}} c_i &= 0 \quad \forall i \geq 2, \\ \Rightarrow \forall i \geq 2, &\left\{ \begin{array}{l} k_i^{\text{dep}} = 0, \\ \text{ou :} \\ \tilde{c}_i = 0. \end{array} \right. \end{aligned}$$

Comme on a par hypothèse que : $k_{i \neq i_0+1}^{\text{dep}} > 0$, il s'en suit que :

$$\tilde{c}_i = 0 \quad \forall i \neq i_0 + 1$$

Ce qui signifie que toute la masse est concentrée dans les fibres de taille $i_0 + 1$. On a alors :

$$\tilde{c}_i = \begin{cases} \frac{\rho}{i_0 + 1} & \text{quand } i = i_0 + 1, \\ 0 & \text{ailleurs.} \end{cases}$$

3) Si par contre $\tilde{c}_1 > 0$ et que $\tilde{c}_{i_0} = 0$, J_{i_0-1} devient :

$$J_{i_0-1} = k_{i_0-1}^{\text{on}} \tilde{c}_1 \tilde{c}_{i_0-1} = 0 \Rightarrow \tilde{c}_{i_0-1} = 0.$$

De proche en proche, on obtient que :

$$\tilde{c}_{i_0} = 0 \Rightarrow \tilde{c}_i = 0, \forall i \leq i_0.$$

Lorsque $i > i_0$, on a :

$$J_i = J_{i+1} = 0,$$

ce qui, de la même manière que pour le cas 1, donne :

$$\left\{ \begin{array}{l} \tilde{c}_i = \prod_{l=i_0+1}^{i-1} \left(\frac{k_l^{\text{on}}}{k_{l+1}^{\text{dep}}} \right) \tilde{c}_1^{i-1} \tilde{c}_{i_0+1}, \quad i_0 + 2 \leq i \leq \infty \\ \tilde{c}_{i_0+1} = \frac{P_{i_0}}{\sum_{i=i_0+2}^{\infty} (T_i \tilde{c}_1^{i-1}) + 1}, \\ \tilde{c}_1 : G(\tilde{c}_1) = \rho, \end{array} \right.$$

où G est, dans ce cas, définie par :

$$G(\tilde{c}_1) := \tilde{c}_1 + \frac{P_{i_0}}{1 + \sum_{i=i_0+2}^{\infty} T_i \tilde{c}_1^{i-(i_0+1)}} \sum_{i=i_0+1}^{\infty} i T_i \tilde{c}_1^{i-(i_0+1)}.$$

□

Un cas particulier à voir aussi est celui où les coefficients cinétiques sont constants. Même si cela est peu plausible pour les expériences étudiées, ça reste néanmoins intéressant à étudier, comme une première approximation raisonnable durant un temps expérimental où les fibres sont plus ou moins de la même taille.

Corollaire 2.7. Soient $k^{\text{on}} > 0$ et $k^{\text{dep}} > 0$ deux constantes, et supposons que :

$$k_i^{\text{on}} = k^{\text{on}} \mathbb{1}_{i < i_{\text{max}}} \quad \text{et} \quad k_i^{\text{dep}} = k^{\text{dep}} \mathbb{1}_{i \leq i_{\text{max}}}, \quad (2.9)$$

1. Si $i_{max} < \infty$, l'unique équilibre $\tilde{c} \in E^+$ est alors donné par :

$$\tilde{c}_i^p = Q_i \tilde{c}_1(\rho)^i, \quad i = 1, 2, \dots, i_{max}$$

où $\tilde{c}_1(\rho)$ est l'unique racine de $G(\tilde{c}_1) = \rho$, avec $G(\tilde{c}_1) = \tilde{c}_1 \cdot \sum_{i=1}^{i_{max}} i \left(\frac{k^{on} \tilde{c}_1}{k^{dep}} \right)^{i-1}$

2. Si $i_{max} = \infty$, l'unique équilibre $\tilde{c} \in E^+$ est alors donné par :

$$\begin{cases} \tilde{c}_i = c_1^s \left(\frac{\tilde{c}_1}{c_1^s} \right)^i & \text{lorsque } 2 \leq i \leq \infty, \\ \tilde{c}_1(\rho) = c_1^s \left(1 + \frac{c_1^s - \sqrt{c_1^{s2} + 4\rho c_1^s}}{2\rho} \right). \end{cases}$$

où $c_1^s = \frac{k^{dep}}{k^{on}}$, et la solution $c(t)$ du système (2.1) converge fortement vers cette solution d'équilibre lorsque le temps t tend vers l'infini.

3. Si l'hypothèse 2.9 est modifiée de sorte que l'échange entre c_1 et c_2 soit exclu, i.e. si :

$$k_i^{on} = k^{on} \mathbb{1}_{2 \leq i < i_{max}} \quad \text{et} \quad k_i^{dep} = k^{dep} \mathbb{1}_{2 < i \leq i_{max}}, \quad (2.10)$$

L'état d'équilibre devient alors, pour $i_{max} = \infty$:

$$\begin{cases} \tilde{c}_i = P_1 \left(1 - \frac{\tilde{c}_1}{c_1^s} \right) \left(\frac{\tilde{c}_1}{c_1^s} \right)^{i-2} & \text{lorsque } 2 \leq i \leq \infty, \\ \tilde{c}_1(\rho) = \frac{1}{2} (\rho - P_1 + c_1^s) - \sqrt{(\rho - P_1 - c_1^s)^2 + 4c_1^s P_1}, \end{cases}$$

où $c_1^s = \frac{k^{dep}}{k^{on}}$, et $P_1 = \sum_2^\infty c_i(t=0)$. La solution $c(t)$ du système (2.1) converge alors fortement vers cet unique équilibre lorsque le temps t tend vers l'infini.

Démonstration. 1. Sous les hypothèses (2.9), et dans le cas où $i_{max} < \infty$, la masse est inconditionnellement finie :

$$\rho = \sum_{i=1}^{i_{max}} i \left(\frac{k^{on}}{k^{dep}} \right)^{i-1} (\tilde{c}_1)^i.$$

Ceci signifie que \tilde{c}_1 peut être aussi grand que l'on veut, il n'y a pas de concentration critique mathématiquement imposable.

Afin de déterminer \tilde{c}_1 , on procède comme dans les autres cas, en calculant la somme (finie donc) ρ .

$$\rho = \tilde{c}_1 \cdot \sum_{i=1}^{i_{max}} i \left(\frac{k^{on} \tilde{c}_1}{k^{dep}} \right)^{i-1}.$$

Vu comme fonction de c_1 , $\rho(c_1)$ est continue et strictement croissante pour c_1 dans $[0, \infty)$. De plus, $\rho(0) = 0$ et $\rho(\infty) = \infty$. On a alors :

$$\exists! \tilde{c}_1 \in (0, \infty) : \rho(\tilde{c}_1) = \rho.$$

Formellement, nous savons que :

$$\sum_{i=1}^{i_{max}} iz^{i-1} = \frac{d}{dz} \left(\sum_{i=1}^{i_{max}} z^i \right) = \frac{d}{dz} \left(\frac{1 - z^{i_{max}+1}}{1 - z} \right) = \frac{1 - z^{i_{max}+1}}{(1 - z)^2} - i_{max} \frac{z^{i_{max}}}{1 - z}.$$

En notant par z la quantité $\left(\frac{k^{on} \tilde{c}_1}{k^{dep}} \right)$, la masse totale ρ s'écrit alors :

$$\rho = \frac{k^{dep}}{k^{on}} z \cdot \sum_{i=1}^{i_{max}} iz^{i-1} = \frac{k^{dep}}{k^{on}} z \left(\frac{1 - z^{i_{max}+1}}{(1 - z)^2} - i_{max} \frac{z^{i_{max}}}{1 - z} \right).$$

En réduisant au même dénominateur et en réarrangeant les termes, on obtient l'équation polynômiale suivante :

$$i_{max} k^{dep} z^{i_{max}+2} - (i_{max} + 1) k^{dep} z^{i_{max}+1} - k^{on} \rho z^2 + (k^{dep} + 2k^{on} \rho) z - k^{on} \rho = 0.$$

Que l'on peut réécrire sous forme :

$$z^{i_{max}+2} - \frac{i_{max} + 1}{i_{max}} z^{i_{max}+1} - \frac{1}{i_{max}} \frac{k^{on}}{k^{dep}} \rho z^2 + \frac{1}{i_{max}} \frac{k^{dep} + 2k^{on} \rho}{k^{dep}} z - \frac{1}{i_{max}} \frac{k^{on}}{k^{dep}} \rho = 0.$$

En terme de \tilde{c}_1 cela donne :

$$\begin{aligned} \left(\frac{k^{on}}{k^{dep}} \right)^{i_{max}+2} \tilde{c}_1^{i_{max}+2} - \frac{i_{max} + 1}{i_{max}} \cdot \left(\frac{k^{on}}{k^{dep}} \right)^{i_{max}+1} \tilde{c}_1^{i_{max}+1} - \frac{1}{i_{max}} \left(\frac{k^{on}}{k^{dep}} \right)^3 \rho \tilde{c}_1^2 \\ + \frac{1}{i_{max}} \frac{k^{dep} + 2k^{on} \rho}{k^{dep}} \left(\frac{k^{on}}{k^{dep}} \right) \tilde{c}_1 - \frac{1}{i_{max}} \frac{k^{on}}{k^{dep}} \rho = 0. \end{aligned}$$

Que l'on peut aussi réarranger sous forme :

$$\begin{aligned} \tilde{c}_1^{i_{max}+2} - \frac{1 + i_{max}}{i_{max}} \frac{k^{dep}}{k^{on}} \tilde{c}_1^{i_{max}+1} - \frac{1}{i_{max}} \rho \left(\frac{k^{dep}}{k^{on}} \right)^{i_{max}-1} \tilde{c}_1^2 \\ + \frac{1}{i_{max}} \left(1 + 2 \frac{k^{on}}{k^{dep}} \rho \right) \left(\frac{k^{dep}}{k^{on}} \right)^{i_{max}+1} \tilde{c}_1 - \frac{1}{i_{max}} \rho \left(\frac{k^{dep}}{k^{on}} \right)^{i_{max}+1} = 0. \end{aligned}$$

On en vient donc à un polynôme en \tilde{c}_1 de degré $i_{max} + 2$.

2. Dans le cas où $i_{max} = \infty$, et toujours sous les hypothèses (2.9), on a $Q_i = \left(\frac{k^{on}}{k^{dep}} \right)^{i-1}$ pour $1 \leq i \leq \infty$ et

$$\rho = \sum_{i=1}^{\infty} i Q_i \tilde{c}_1^i. \quad (2.11)$$

La condition de masse finie implique que $\tilde{c}_1 < c_1^s := \frac{k^{\text{dep}}}{k^{\text{on}}}$ et ρ devient :

$$\rho = \sum_{i=1}^{\infty} i \left(\frac{k^{\text{on}}}{k^{\text{dep}}} \right)^{i-1} (\tilde{c}_1)^i.$$

En posant $z := \frac{\tilde{c}_1}{c_1^s}$, on obtient :

$$\rho = c_1^s z \sum_{i \geq 1} i z^{i-1}$$

La fonction $z \mapsto \rho(z)$ étant strictement croissante sur $[0, 1[$, la masse critique ρ^s vaut alors :

$$\rho^s = \sup_{0 \leq z < 1} \rho(z) = \lim_{z \rightarrow 1} \rho(z) = \infty,$$

et comme conclut plus haut, ce système admet un unique point d'équilibre, donné par la proposition 2.3. Ainsi, quelque soit la condition initiale ρ , on a pour tout $k^{\text{on}} > 0, k^{\text{dep}} > 0$:

$$\left\{ \begin{array}{l} c_1^s = \frac{k^{\text{dep}}}{k^{\text{on}}}, \\ \tilde{c}_i = \left(\frac{1}{c_1^s} \right)^{i-1} (\tilde{c}_1(\rho))^i = c_1^s \left(\frac{\tilde{c}_1}{c_1^s} \right)^i, \\ \tilde{c}_1(\rho) : \sum_{i=1}^{\infty} i \left(\frac{1}{c_1^s} \right)^{i-1} \tilde{c}_1^i = \rho. \end{array} \right.$$

Il reste donc à expliciter l'expression de $\tilde{c}_1(\rho)$. On a alors :

$$\begin{aligned} \rho = c_1^s z \sum_{i \geq 1} i z^{i-1} &\Rightarrow c_1^s \frac{z}{(1-z)^2}, \\ &\Rightarrow z^2 - \frac{c_1^s + 2\rho}{\rho} z + 1 = 0. \end{aligned}$$

Le déterminant de cette équation quadratique donne

$$\left\{ \begin{array}{l} \Delta = \frac{c_1^{s^2} + 4\rho c_1^s}{\rho^2} > 0 \\ z = 1 + \frac{c_1^s \pm \sqrt{c_1^{s^2} + 4\rho c_1^s}}{2\rho} \end{array} \right.$$

Comme $z < 1$, il en résulte que :

$$z = 1 + \frac{c_1^s - \sqrt{c_1^{s^2} + 4\rho c_1^s}}{2\rho} \Rightarrow \tilde{c}_1 = c_1^s \left(1 + \frac{c_1^s - \sqrt{c_1^{s^2} + 4\rho c_1^s}}{2\rho} \right),$$

qui vérifie bien $\tilde{c}_1 < \frac{k^{\text{dep}}}{k^{\text{on}}} = c_1^s$.

3. À présent, on se donne l'hypothèse (2.10).

• Dans le cas où $i_{\max} = \infty$, l'équilibre est déduit de la proposition 2.6 en prenant $i_0 = 1$. On obtient alors :

$$\tilde{c}_i = \begin{cases} \frac{P_1}{\sum_{i=3}^{\infty} (T_i \tilde{c}_1^{i-2}) + 1} & \text{lorsque } i = 2, \\ T_i \tilde{c}_1^{i-2} \tilde{c}_2 & \text{lorsque } 3 \leq i \leq \infty. \end{cases}$$

avec $T_i = \left(\frac{k^{\text{on}}}{k^{\text{dep}}}\right)^{i-2}$ pour $i \geq 2$, et où $\tilde{c}_1(\rho)$ est l'unique racine de $G(\tilde{c}_1) = \rho$. Ce qui implique que :

$$\tilde{c}_i = \begin{cases} \frac{P_1}{\sum_{i=2}^{\infty} \left(\frac{k^{\text{on}}}{k^{\text{dep}}}\tilde{c}_1\right)^{i-2}} & \text{lorsque } i = 2, \\ \left(\frac{k^{\text{on}}}{k^{\text{dep}}}\tilde{c}_1\right)^{i-2} \tilde{c}_2 & \text{lorsque } 3 \leq i \leq \infty. \end{cases}$$

En posant $z := \frac{k^{\text{on}}\tilde{c}_1}{k^{\text{dep}}} = \frac{\tilde{c}_1}{c_1^s}$, cela devient :

$$\tilde{c}_i = \begin{cases} \frac{P_1}{\sum_{i=2}^{\infty} z^{i-2}} & \text{lorsque } i = 2, \\ z^{i-2} \tilde{c}_2 & \text{lorsque } 3 \leq i \leq \infty. \end{cases}$$

D'où :

$$\tilde{c}_i = \begin{cases} P_1(1-z) & \text{lorsque } i = 2, \\ z^{i-2} \tilde{c}_2 & \text{lorsque } 3 \leq i \leq \infty. \end{cases} \quad \Rightarrow \quad \tilde{c}_i = P_1 z^{i-2} (1-z), \forall i \geq 2.$$

La masse totale devient alors :

$$\begin{aligned} G(\tilde{c}_1) &:= Q_1 \tilde{c}_1 + \frac{P_1}{\sum_{i=2}^{\infty} \left(\frac{k^{\text{on}}}{k^{\text{dep}}}\tilde{c}_1\right)^{i-2}} \sum_{i=2}^{\infty} i \left(\frac{k^{\text{on}}}{k^{\text{dep}}}\tilde{c}_1\right)^{i-2} \\ &= \tilde{c}_1 + \sum_{i=2}^{\infty} iP_1 z^{i-2} (1-z) \\ &= \tilde{c}_1 + P_1(1-z) \sum_{i=1}^{\infty} iz^{i-1} + P_1(1-z) \sum_{i=0}^{\infty} z^i \\ &= \tilde{c}_1 + P_1(1-z) \cdot \frac{1}{(1-z)^2} + P_1(1-z) * \frac{1}{1-z} \\ &= \frac{k^{\text{dep}}}{k^{\text{on}}} z + P_1 \frac{2-z}{1-z}. \end{aligned}$$

Ainsi :

$$\begin{aligned} G(z) = \rho &\Rightarrow k^{\text{dep}} z^2 + (k^{\text{on}} (P_1 - \rho) + k^{\text{dep}}) z + k^{\text{on}} (\rho - 2P_1) = 0 \\ &\Rightarrow c_1^s z^2 + ((P_1 - \rho) - c_1^s) z + (\rho - 2P_1) = 0. \end{aligned}$$

Le déterminant de cette équation quadratique donne :

$$\begin{cases} \Delta = (\rho - P_1 - c_1^s)^2 + 4c_1^s P_1 > 0 \\ z = \frac{1}{2c_1^s} (\rho - P_1 + c_1^s \pm \sqrt{\Delta}). \end{cases}$$

Compte tenu de la condition de masse finie $z < 1$, on a :

$$z = z_- = \frac{1}{2c_1^s} (\rho - P_1 + c_1^s - \sqrt{\Delta}).$$

En effet, si $z = z_+$, on a :

$$z_+ = \frac{1}{2c_1^s} (\rho - P_1 + c_1^s + \sqrt{\Delta}) \geq \frac{1}{2c_1^s} (\rho - P_1 + c_1^s + |\rho - P_1 - c_1^s|).$$

De deux choses l'une, soit : $c_1^s \geq \rho - P_1$: et alors

$$z_+ \geq \frac{1}{2c_1^s} (\rho - P_1 + c_1^s + (c_1^s - \rho + P_1)) \geq 1,$$

soit $c_1^s \leq \rho - P_1$: et dans ce cas :

$$z_+ \geq \frac{1}{2c_1^s} (\rho - P_1 + c_1^s + (-c_1^s + \rho - P_1)) = \frac{\rho - P_1}{c_1^s} \geq 1,$$

Dans les deux cas, $z_+ \geq 1$. D'où : $z = z_-$.

La fonction $z \mapsto \rho(z)$ étant strictement croissante sur $[0, 1[$, la masse critique ρ^s vaut alors :

$$\rho^s = \sup_{0 \leq z < 1} \rho(z) = \lim_{z \rightarrow 1} \rho(z) = \infty,$$

Il s'en suit que, quelque soit la donnée initiale ρ , on aura $\rho < \rho^s$. Cette solution d'équilibre est donc unique. \square

Ces résultats prédisent que, quelque soit la forme de la distribution initiale des concentrations en polymères choisie, l'équilibre est le même et se comporte de manière exponentielle (Figure 2.1.2). Ceci rejoint les estimations statistiques, pour la formation des fibres analysée par microscopie, détaillées en Annexe B. En effet, cette analyse statistique montre aussi que la distribution des tailles à l'équilibre suit une loi exponentielle de la forme :

$$y = \lambda \exp^{-\lambda \cdot i}. \quad (2.12)$$

Même si dans le cas où il n'y a pas d'échange avec les dimères, l'équilibre dépend de la quantité totale des monomères agrégés (monomères non libres, formant les

fibres), P_1 , on peut estimer la concentration critique des monomères, c_1^s , en identifiant la formule d'équilibre du Corollaire 2.7 dans le cas où l'échange entre dimères et monomères est permis (la microscopie étant faite pour la formation des fibres à partir de monomères) avec la loi statistique (2.12). On obtient :

$$\begin{aligned} \exp^{-\lambda i} &= \left(\frac{\tilde{c}_1}{c_1^s} \right)^i \Rightarrow \exp^{-\lambda} = \frac{\tilde{c}_1}{c_1^s}, \\ \Rightarrow \exp^{-\lambda} &= 1 + \frac{c_1^s - \sqrt{c_1^{s2} + 4\rho c_1^s}}{2\rho}, \\ \Rightarrow \rho \exp^{\lambda} (e^{-\lambda} - 1)^2 &= c_1^s. \end{aligned}$$

Ainsi, les concentrations critiques de monomères admissibles sont :

$$c_1^s = \rho (e^{-\lambda} + e^{\lambda} - 2).$$

Dans cette même analyse statistique la valeur de λ , dans le cas de l'expérience faite avec une masse totale de fibres et monomères $\rho = 2.2 \cdot 10^{-5} \mu M$, est estimée à $\lambda = \frac{1}{706.48}$ (Annexe B). Le calcul donne alors :

$$c_1^s = 4.41 \cdot 10^{-11} \mu M. \quad (2.13)$$

De là, on obtient aussi une estimation du ratio cinétique $k^{\text{dep}}/k^{\text{on}}$ et de la concentration des monomères libres à l'équilibre, \tilde{c}_1 :

$$\begin{aligned} \frac{k^{\text{dep}}}{k^{\text{on}}} &= 4.41 \cdot 10^{-11} \mu M, \\ \tilde{c}_1 &= 4.40 \cdot 10^{-11} \mu M. \end{aligned}$$

Cette concentration, très petite, est parfaitement en accord avec un taux de monomères expérimentalement indétectable à la fin de la réaction. Les simulations numériques utilisant ce taux de croissance nécessitent un temps très grand pour atteindre l'équilibre. Ce qui est complètement cohérent avec les observations expérimentales, qui montrent que 4 à 7 jours sont nécessaires pour atteindre un équilibre apparent de la masse polymérisée.

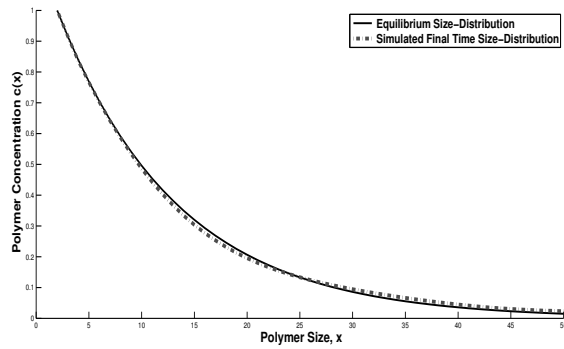


FIGURE 2.1 – Distribution des tailles à l'équilibre. La courbe en ligne continue noire représente la distribution des tailles théorique à l'équilibre, tandis que la courbe en tirets représente la distribution des tailles simulée pour des temps grands ($t = 10^6 \text{min}$). Les deux courbes coïncident, ce qui valide notre code numérique. Pour ces simulations on a pris $k^{\text{dep}}/k^{\text{on}} = 2 \cdot 10^{-5} \mu M$, et $\rho = c_1(t=0) = 22 \cdot 10^{-6} \mu M$.

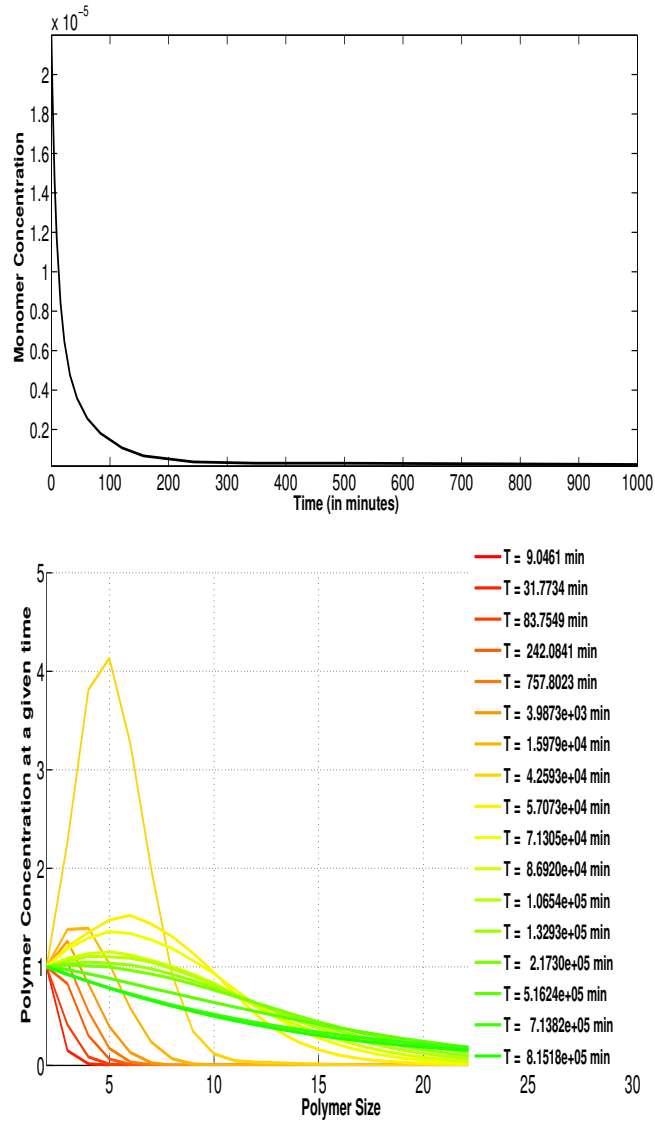


FIGURE 2.2 – À gauche, une évolution temporelle de la concentration des monomères, avec $k^{\text{dep}}/k^{\text{on}} = 2.10^{-5} \mu M$, et $\rho = c_1(t = 0) = 2.2.10^{-5} \mu M$. La courbe décroît rapidement, ce qui est justifié par une rapide consommation des monomères, pour ensuite atteindre la concentration critique en monomères $c_1^s = 2.10^{-5} \mu M$ tout d'abord, et l'équilibre $\tilde{c}_1 = 1.5.10^{-7} \mu M$ en second. À droite, une distribution des tailles des polymères à différents temps.

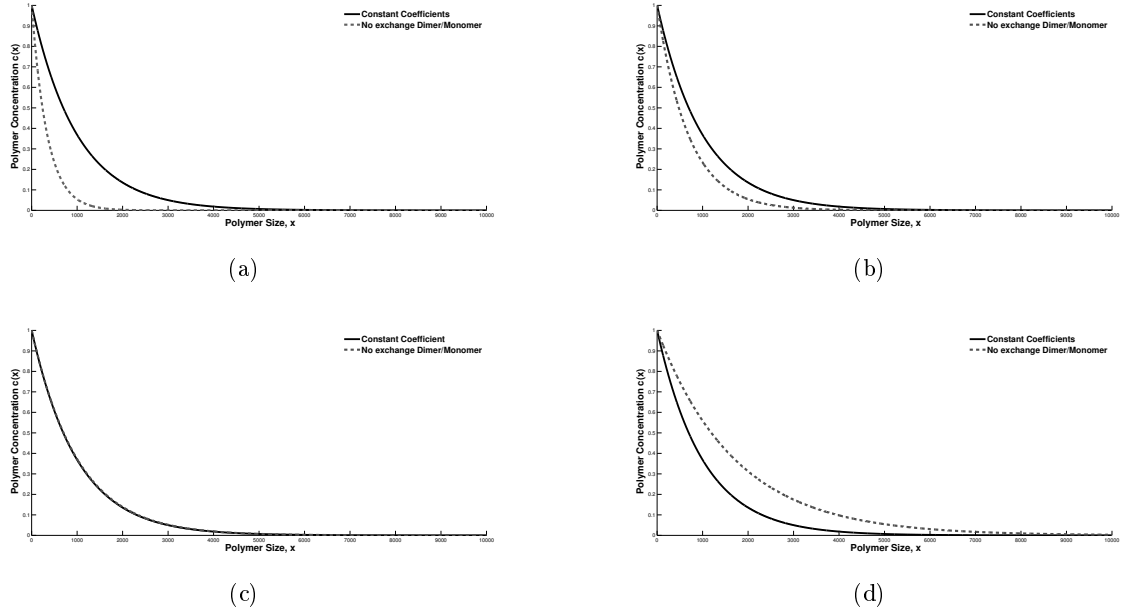


FIGURE 2.3 – Distribution des tailles des fibres à l'équilibre du système (2.1) où la masse totale (polymères et monomères) est prise $\rho = 5.10^5 \mu M$.

La courbe en ligne continue la distribution des tailles à l'équilibre lorsque les coefficients cinétiques sont indépendants de la taille des fibres ($k^{\text{on}} = 2.10^6 \mu M^{-1} \text{min}^{-1}$, $k^{\text{dep}} = 10^6 \text{min}^{-1}$). La courbe en petits tirets représente la distribution des tailles à l'équilibre lorsque les coefficients cinétiques sont indépendants de la taille des polymères ($k^{\text{on}} = 2.10^6 \mu M^{-1} \text{min}^{-1}$, $k^{\text{dep}} = 10^6 \text{min}^{-1}$) et nuls pour les monomères ($k^{\text{on}}(1) = k^{\text{dep}}(2) = 0$). La concentration critique des monomères est fixée à $c_1^s = 5.10^{-1} \mu M$.

Dans 2.3(a) et 2.3(b) la masse initiale des polymères (notée $m(t=0)$) est plus grande ou égale à concentration initiale des monomères, on a pris $c_1(t=0) = 50 \mu M$, $m(t=0) = 5.10^5 \mu M$ et $c_1(t=0) = 25.10^4 \mu M$, $m(t=0) = 25.10^4 \mu M$ respectivement.

Dans 2.3(c) et 2.3(d) la masse initiale des polymères est plus petite que la concentration initiale en monomères, on a pris $c_1(t=0) = 33.10^4 \mu M$, $m(t=0) = 17.10^4 \mu M$ et $c_1(t=0) = 4.10^5 \mu M$, $m(t=0) = 10^5 \mu M$ respectivement.

Dans tous ces cas, la concentration en monomères converge vers $\tilde{c}_1 = 4.99.10^{-1} \mu M$. (Ces valeurs théoriques utilisées ont été choisies de sorte à avoir des graphes clairs - elles ne représentent pas les concentrations utilisées expérimentalement-.)

Dans la figure 2.2, nous pouvons bien voir que, peu importe la distribution en tailles initiale de la concentration en polymères ($c_i^{\text{in}})_{i \geq 2}$, la distribution en tailles à l'équilibre sera la même, celle donnée explicitement par le corollaire 2.7. Selon le ratio $c_1^s = k^{\text{dep}}/k^{\text{on}}$, la distribution en tailles s'étalera ou, comme c'est le cas dans la figure 2.2, se concentrera autour d'une taille moyenne pour ensuite s'équilibrer en exponentielle décroissante.

2.2 Autres solutions du système discret appliqué - Estimations numériques

Notre modèle (2.1) étant validé par la solution d'équilibre (2.1.2) on passe à sa confrontation temporelle à l'évolution des expériences.

2.2.1 Expérience polymérisante

On s'intéresse dans cette partie à la confrontation du modèle avec l'expérience polymérisante (Figure 2.2.1) qui consiste en la première étape des expériences d'ajouts de monomères décrites dans le chapitre 1 (1.2.3). L'hypothèse considérant

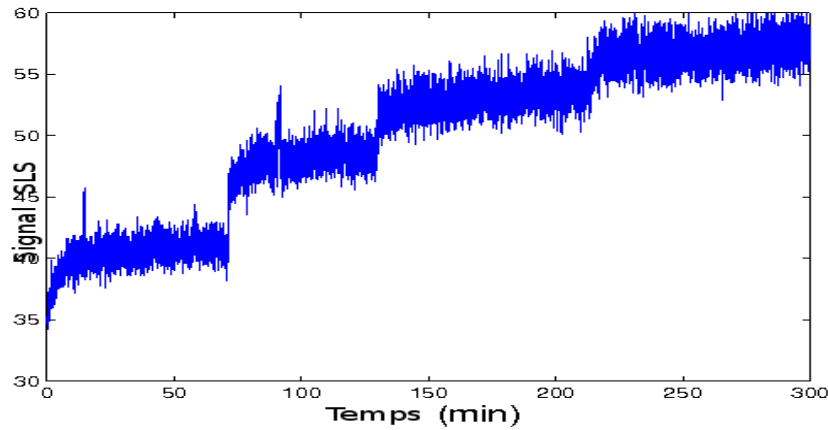


FIGURE 2.4 – Signal SLS de l'expérience décrite dans 1.2.3. On considère ici la première étape, où l'on part, à $t = 0$ de fibres + monomères. Le signal est arrêté après s'être équilibré.

les coefficients cinétiques k^{on} et k^{dep} comme étant constants en taille semble donc être correcte pour une première étude numérique. En effet, l'intérêt de ces simulations étant de comprendre l'agrégation de fibres déjà formées et dans un contexte expérimental où la solution étudiée est constituée de fibres de grandes tailles essentiellement et est quasiment homogène, c'est-à-dire que les fibres sont plus ou moins de la même taille. Ainsi, sous l'hypothèse 2.9, et dans le but d'obtenir un modèle plus maniable, on se propose de sommer le système infini (2.1) sur toutes les tailles i . On se donne les notations suivantes : $P := \sum_{i \geq 2} c_i(t)$ qui représente la concentration totale en fibres, sommées sur toutes les tailles $i \geq 2$ et $M := \sum_{i \geq 2} i c_i(t)$ qui représente le moment d'ordre 1 des concentrations des fibres ou leur masse totale sommée sur toutes les tailles $i \geq 2$. L'équation de variation des monomères c_1 du système (2.1) s'écrit alors :

$$\frac{dc_1}{dt} = -k^{\text{on}}c_1P + k^{\text{dep}}P + k^{\text{dep}}c_2. \quad (2.14)$$

La somme des équations restantes sur les concentrations c_i des différentes tailles nous donne donc la variation de la concentration totale des polymères P :

$$\begin{aligned}\frac{dP}{dt} &= \frac{d}{dt} \sum_{i \geq 2} c_i = \sum_{i \geq 2} \frac{dc_i}{dt}, \\ &= \sum_{i \geq 2} \left(-k_i^{\text{on}} c_1 c_i + k_{i-1}^{\text{on}} c_1 c_{i-1} - k_i^{\text{dep}} c_i + k_{i+1}^{\text{dep}} c_{i+1} \right), \\ &\Rightarrow \frac{dP}{dt} = -k^{\text{dep}} c_2.\end{aligned}\quad (2.15)$$

Et dans le but de vérifier et de récupérer le critère de conservation de masse totale des fibres polymériques et monomériques, on écrit l'équation de variation de la masse totale des polymères aussi, et ce en multipliant les équations par i avant de les sommer :

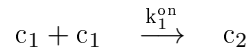
$$\begin{aligned}\frac{dM}{dt} &= \frac{d}{dt} \sum_{i \geq 2} i c_i = \sum_{i \geq 2} i \frac{dc_i}{dt}, \\ &= \sum_{i \geq 2} i \left(-k_i^{\text{on}} c_1 c_i + k_{i-1}^{\text{on}} c_1 c_{i-1} - k_i^{\text{dep}} c_i + k_{i+1}^{\text{dep}} c_{i+1} \right), \\ &= k^{\text{on}} c_1 \sum_{i \geq 2} c_i - k^{\text{dep}} \sum_{i \geq 3} c_i - 2k^{\text{dep}} c_2, \\ &\Rightarrow \frac{dM}{dt} = k^{\text{on}} c_1 P - k^{\text{dep}} P - k^{\text{dep}} c_2.\end{aligned}\quad (2.16)$$

En somme, le système infini (2.1) se simplifie en :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dP}{dt} = -k^{\text{dep}} c_2, \\ \frac{dM}{dt} = k^{\text{on}} c_1 P - k^{\text{dep}} P - k^{\text{dep}} c_2, \\ \frac{dc_1}{dt} = -k^{\text{on}} c_1 P + k^{\text{dep}} P + k^{\text{dep}} c_2. \end{array} \right.$$

La conservation de la masse totale des fibres polymériques et monomériques est alors évidente après addition des deux dernières équations de (2.2.1).

Ceci étant, pour que de nouvelles fibres se forment selon le schéma réactionnel suivant :



il faut un temps réactionnel bien plus grand que l'échelle de temps des expériences polymérisante et dépolymérisante étudiées ici (voir paragraphes (1.2.3-1.2.2)). Ceci a été déduit d'une expérience contrôle où le signal SLS observé durant le même laps de

temps (300min) reste constant si l'on ne part que de monomères. Pour cette raison, le coefficient de polymérisation k_1^{on} est supposé nul ($k_1^{\text{on}} = 0$). De plus, comme les expériences étudiées partent de fibres de très grandes tailles ($i \simeq 300$ -mer), on est tenté de supposer que même s'il y a formation de dimères (fibres de taille $i = 2$) au cours du temps (via la dépolymérisation), leur concentration c_2 reste négligeable. Ceci nous mène à un système fermé en c_1 , P et M :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dP}{dt} = 0, \\ \frac{dM}{dt} = k^{\text{on}}c_1P - k^{\text{dep}}P, \\ \frac{dc_1}{dt} = -k^{\text{on}}c_1P + k^{\text{dep}}P. \end{array} \right.$$

La concentration totale des polymères reste alors constante lorsqu'il n'y a pas d'échange entre dimères et monomères (Corollaire 2.7). Et le système (2.2.1) admet donc une unique solution analytique :

$$\left\{ \begin{array}{l} P = P^{\text{in}}, \\ M(t) = M^{\text{in}} - k^{\text{on}}(c_1^{\text{in}} - \tilde{c}_1) e^{-k^{\text{on}}P^{\text{in}}t} P^{\text{in}} + (c_1^{\text{in}} - \tilde{c}_1), \\ c_1(t) = (c_1^{\text{in}} - \tilde{c}_1) e^{-k^{\text{on}}P^{\text{in}}t} + \tilde{c}_1. \end{array} \right. \quad (2.17)$$

où $P^{\text{in}} = P(0)$ représente la concentration totale initiale des polymères et $M^{\text{in}} = M(0)$ leur masse totale initiale, $c_1^{\text{in}} = c_1(t=0)$ la concentration initiale en monomères et $\tilde{c}_1 = k^{\text{dep}}/k^{\text{on}}$ la concentration en monomères à l'équilibre.

À partir de l'expression du moment d'ordre 1, $M(t)$, ci-dessus on peut voir qu'une condition sur la donnée initiale ρ s'impose. En effet, nous devons avoir

$$c_1^{\text{eq}} = \frac{k^{\text{dep}}}{k^{\text{on}}} \leq c_1^{\text{in}} + M^{\text{in}} = \rho,$$

sinon, négliger c_2 dans (2.1) devient incorrecte et la masse des polymères $M(t)$ définie par (2.17) peut devenir négative pour des temps grands.

Les observations expérimentales auxquelles on veut confronter notre système étant le signal SLS représentant une transformation linéaire de

$$M_2^{\text{measured}} := \sum_{i \geq 1} i^2 c_i,$$

(voir 1.2), on écrit aussi l'équation de la variation du moment d'ordre 2 des concentrations des fibres et que l'on note $M_2^{\text{measured}} := c_1 + M^2$, où $M^2 = \sum_{i \geq 2} i^2 c_i(t)$. En

multipliant les équations de (2.1) par i^2 cette fois-ci, et en les sommant sur toutes les tailles, on obtient :

$$\begin{aligned} \frac{dM_2^{measured}}{dt} &= \frac{dM^2}{dt} + \frac{dc_1}{dt}, \\ &= 2k^{on}c_1M + k^{on}c_1P - 2k^{dep}M + k^{dep}P - k^{dep}c_2 - k^{on}c_1P + k^{dep}P + k^{dep}c_2, \\ \Rightarrow \frac{dM_2^{measured}}{dt} &= 2k^{on}c_1M - 2k^{dep}(M - P). \end{aligned} \quad (2.18)$$

Ainsi, en utilisant la solution analytique de (2.2.1) on arrive à une expression analytique de la quantité biologiquement observée :

$$M_2^{measured} = A + B(e^{-k^{on}P^{in}t} - 1) + C(e^{-2k^{on}P^{in}t} - 1) + 2k^{dep}P^{in}t,$$

avec $A = (M^2)^{in}$, $B = -\frac{2}{P^{in}}(M^{in} + c_1^{in} - \tilde{c}_1)(c_1^{in} - \tilde{c}_1)$ and $C = \frac{(\tilde{c}_1 - c_1^{in})^2}{P^{in}}$.

L'étape qui vient après dans cette partie de confrontation du modèle est l'estimation des paramètres cinétiques k^{on} , k^{dep} , α et β utilisant les observations expérimentales retournées par la machine *SLS* où $SLS = \alpha M_2^{measured} + \beta$ (voir paragraphe 1.2). Nous reformulons ce problème inverse sous forme de problème de minimisation du critère des moindres carrés correspondant :

$$J(k^{on}, k^{dep}, \alpha, \beta) = \sum_{i=1}^n \left| \left(\alpha M_2^{measured}(t_i; k^{on}, k^{dep}) + \beta \right) - SLS(t_i) \right|^2$$

L'unicité d'un jeu de paramètres optimal n'est pas triviale, comme pour la plupart des problèmes inverses non linéaires. Ceci est essentiellement due à la non convexité de la fonctionnelle énergie J . Toutefois, cette minimisation nous permet d'obtenir des estimations satisfaisantes des premières étapes des expériences étudiées (Figure 2.5).

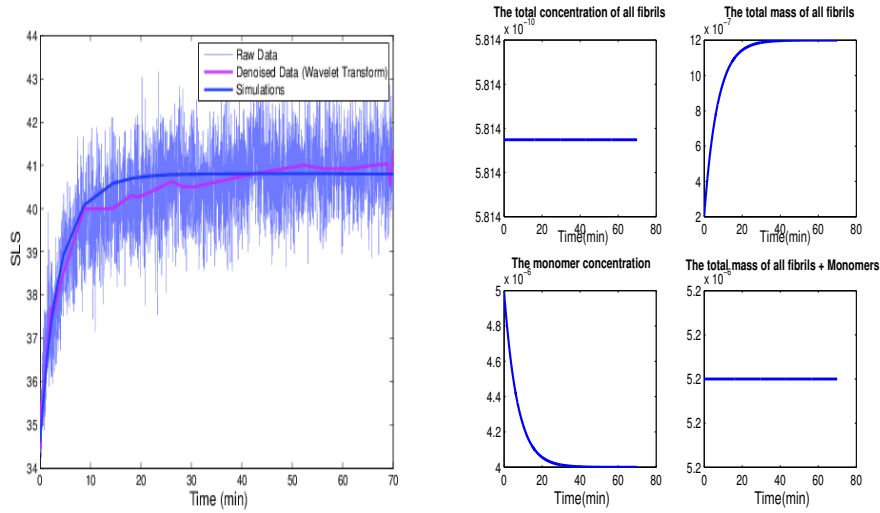


FIGURE 2.5 – Simulation de la première étape des expériences. À gauche la superposition du signal SLS récupéré expérimentalement (courbe bleue oscillante) et de la simulation du $M_2^{measured}$ avec des coefficients cinétiques constants pour les polymères $k^{on} = 10^8 \mu M^{-1} min^{-1}$ et $k^{dep} = 8.10^2 min^{-1}$, et nuls pour les monomères. À droite, la concentration totale des polymères qui reste constante, la masse des polymères qui croît, indiquant une forte élongation des fibres avant de s'équilibrer, la concentration des monomères qui décroît, rejoignant l'idée de forte élongation des fibres et donc de forte consommation des monomères et enfin la masse totale des fibres polymériques et monomériques qui reste constante, validant le critère de conservation de masse du modèle.

(Les quantités sont exprimées en $mol.L^{-1}$.)

2.2.2 Expérience dépolymérisante

À présent on se penche sur l'expérience dépolymérisante (Chapitre 1, paragraphe 1.2.2). Dans ce cas, la taille des fibres ne peut plus être considérée comme uniforme, la dépolymérisation étant, sinon autant favorisée que la polymérisation, largement plus importante pour certaines phases de l'expérience. Il n'est donc plus correcte de sommer les équations du système (2.1) sur toutes les tailles.

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dc_i}{dt} = -k_i^{\text{on}}c_1c_i + k_{i-1}^{\text{on}}c_1c_{i-1} - k_i^{\text{dep}}c_i + k_{i+1}^{\text{dep}}c_{i+1} \quad i \geq 2, \\ \frac{dc_1}{dt} = -\sum_{i=2}^{\infty} (k_i^{\text{on}}c_1c_i - k_{i+1}^{\text{dep}}c_{i+1}) - 2(k_1^{\text{on}}c_1^2 - k_2^{\text{dep}}c_2). \end{array} \right.$$

Partant donc du modèle (2.1) rappelé ci-dessus, on essaie de reproduire l'allure générale des courbes expérimentales Figure 2.6, en estimant les paramètres cinétiques k_i^{on} et k_i^{dep} (dont la dépendance de la taille des fibres polymériques est ici importante) et analysant les réactions fibres-monomères.

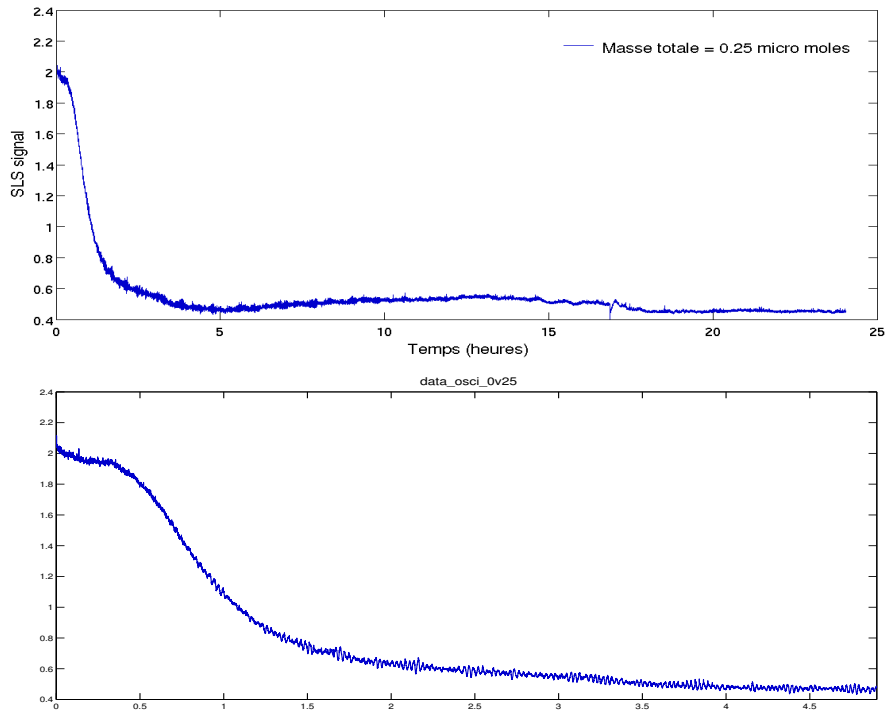


FIGURE 2.6 – Signal SLS retourné expérimentalement à partir d'une concentration initiale $\rho = 0.25\mu M$. La première figure représente le signal globale. La deuxième figure est un zoom sur les premières minutes de dépolymérisation rapide.

Pour la réalisation de cette expérience, une masse totale de fibres $\rho = 0.25\mu M$ est utilisée à $t = 0$. La concentration des monomères libres est nulle à $t = 0$ puisque l'expérience est lancée uniquement avec des fibres déjà formées ($c_1(t = 0) = 0$). L'intervalle de temps est : $t \in [0, 1500]mn$ (se reporter au Chapitre 1, paragraphe 1.2.2 pour la description de l'expérience).

Durant ce laps de temps, la taille moyenne observée des polymères estimée est de $i_M = 280_{\text{mers}}$.

Au début de la courbe expérimentale (à partir de $t = 0$ jusqu'à atteindre le minimum vers $t \simeq 291mn$), la courbe est fortement décroissante (Figure 2.6), ce qui suggère que les fibres polymères dépolymérisent fortement. Ainsi, nous pouvons supposer que pour le début de la réaction $k_i^{\text{on}} = 0 \quad \forall i$, et nous essayons d'estimer k_i^{dep} à partir du graphe, directement, en calculant la pente (Figure 2.6).

En effet, au début de la réaction, on a, graphiquement, pour $t \in [0, 4.5]$ heures,

$$SLS(t) = SLS(0) - a.t, \quad \text{où } a > 0.$$

D'un autre côté, la pente a est donnée par le système (2.1) :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dc_i}{dt} = k^{\text{dep}}(c_{i+1} - c_i), \\ \frac{dc_1}{dt} = k^{\text{dep}} \sum_{i=2}^{\infty} c_i, \end{array} \right.$$

et donc :

$$\begin{aligned} a &= \frac{dc_1}{dt} + i_M^2 \sum_{i=2}^{\infty} \frac{dc_i}{dt}, \\ &= \frac{dc_1}{dt}, \\ &= k^{\text{dep}} \sum_{i=2}^{\infty} c_i, \\ &= k^{\text{dep}} \frac{SLS(t)}{i_M}. \end{aligned}$$

Ainsi, on obtient une estimation du coefficient de dépolymérisation :

$$k^{\text{dep}} = a \frac{i_M}{SLS(t_0)}.$$

En distinguant 4 pentes différentes sur la courbe lors de la partie décroissante (Figure 2.6), on peut résumer les estimations de k^{dep} dans le tableau suivant :

y (t_0)	t_1 (h)	$y(t_1)$	t_2 (h)	$y(t_2)$	a	k^{dep}	t_{min} (h)	$y(t_{\text{min}})$
2.073	0.01	2.073	0.454	1.869	$0.222 h^{-1}$ = $0.0037 mn^{-1}$	$4.829 h^{-1}$ = $2.9008.10^2 mn^{-1}$	4.860	0.211
	0.454	1.869	1.059	1.016	$0.680 h^{-1}$ = $0.0113 mn^{-1}$	$14.809 h^{-1}$ = $8.859.10^2 mn^{-1}$		
	1.059	1.016	1.564	0.705	$0.297 h^{-1}$ = $0.00495 mn^{-1}$	$6.468 h^{-1}$ = $3.8808.10^2 mn^{-1}$		
	1.564	0.705	4.860	0.438	$0.059 h^{-1}$ = $9.83.10^{-4} mn^{-1}$	$1.301 h^{-1}$ = $77.0672 mn^{-1}$		

Tableau 2.1 – Ce tableau résume les estimations de k^{dep} . La donnée y représente la valeur numérique du SLS prise sur la courbe zoomée Figure 2.6. Les estimations de la pente a et celles du coefficient de dépolymérisation k^{dep} sont calculées en h^{-1} à partir des données graphiques. Elles sont ensuite converties en mn^{-1} pour faciliter la comparaison avec les estimations de l'expérience polymérisante du paragraphe 2.2.1. Les valeurs de k^{dep} sont d'ailleurs du même ordre de grandeur que celles qui permettent de reproduire le signal *SLS* de l'expérience polymérisante (Figure 2.5).

Ainsi, à partir du Tableau 2.1, nous pouvons définir un coefficient de dépolymérisation k_i^{dep} , constant par morceaux, sur un domaine de taille $2 \leq i \leq 300\text{mers}$:

$$k_i^{\text{dep}} = \begin{cases} 0.161x - 4.829 & \text{lorsque } 30 \leq i < 60 \\ 4.829 & \text{lorsque } 60 \leq i < 80 \\ 14.809 & \text{lorsque } 80 \leq i < 150 \\ 6.468 & \text{lorsque } 150 \leq i < 200 \\ 1.301 & \text{lorsque } 200 \leq i < 299 \\ 0 & \text{ailleurs} \end{cases} \quad (2.19)$$

Dans le même principe, on définit un coefficient de polymérisation par morceaux, de sorte à avoir la bonne allure du signal *SLS* simulé.

$$k_i^{\text{on}} = \begin{cases} 20 & \text{lorsque } 1 \leq i < 100 \\ -0.125i + 32.5 & \text{lorsque } 100 \leq i < 180 \\ 10 & \text{lorsque } 180 \leq i < 260 \\ -0.25i + 16.5 & \text{lorsque } 260 \leq i < 300 \\ 0 & \text{ailleurs} \end{cases} \quad (2.20)$$

Les simulations obtenus avec ces coefficients cinétiques ont une allure générale qui semble satisfaisante. Décroissant jusqu'à $t \simeq 180\text{min}$, puis polymérisant légèrement avant de s'équilibrer (Figure 2.8). Ceci conforte notre hypothèse d'une très faible

polymérisation au début de l'expérience, c'est-à-dire lorsque les fibres polymériques sont de très grandes tailles (Figure 2.7).

Cependant, la décroissance est trop rapide, et le minimum du signal *SLS* simulé est atteint bien avant celui du signal *SLS* observé Figure 2.8.

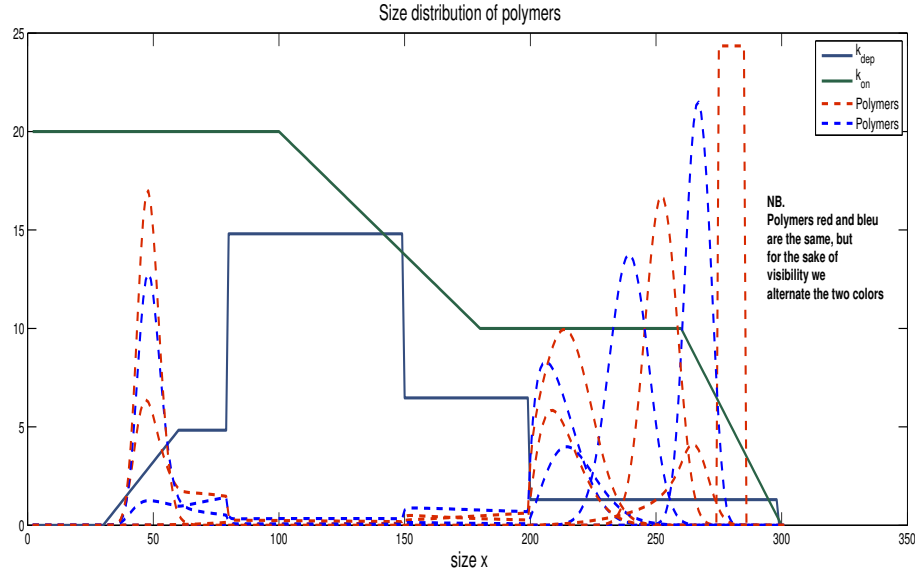


FIGURE 2.7 – Distribution en taille de la concentration des fibres polymères, c_i , à différents temps, superposée sur le tracé des deux fonctions coefficients k_i^{on} et k_i^{dep} . La courbe continue bleue représente le coefficient de dépolymérisation k^{dep} qui est donné par (2.19). Le coefficient de polymérisation k^{on} , donné par (2.20), est représenté par la courbe continue verte.

Les courbes en ligne discontinue représentent la distribution en taille des polymères à des temps différents. La distribution en taille des polymères part d'un créneau autour d'une taille moyenne de fibres, expérimentalement estimée à $i = 280\text{mers}$. La couleur de la courbe discontinue est alternée entre le rouge et le bleu pour deux temps de réaction successifs.

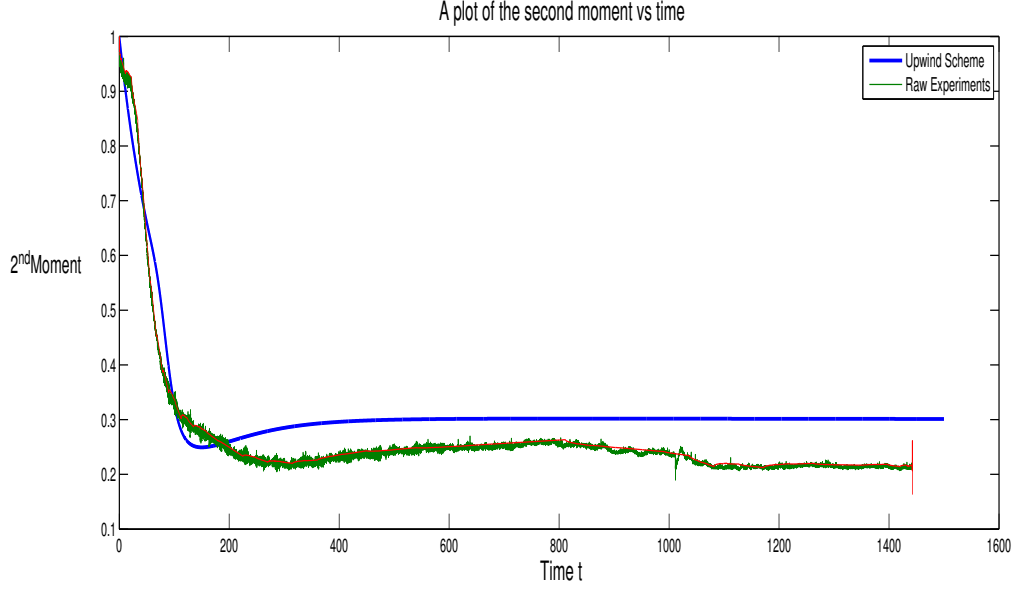


FIGURE 2.8 – Signal SLS normalisé. La courbe verte oscillante représente le SLS observé, normalisé à 1. La courbe bleue continue représente le SLS simulé, normalisé à 1, avec les coefficients (2.19) et (2.20). Le temps ici est en minutes.

De plus, le coefficient de polymérisation k^{on} devenant plus important que le coefficient de dépolymérisation k^{dep} , la masse dépolymérisée est plus petite que l'expérimentale (Figure 2.8). Un k^{dep} plus grand semble être plus adéquat.

$$k_i^{\text{dep}} = \begin{cases} 0.161i - 4.829 & \text{lorsque } 30 \leq i < 60 \\ 4.829 & \text{lorsque } 60 \leq i < 80 \\ 15 & \text{lorsque } 80 \leq i < 85 \\ 6.468 & \text{lorsque } 85 \leq i < 180 \\ 1.5 & \text{lorsque } 180 \leq i < 299 \\ 0 & \text{ailleurs} \end{cases} \quad (2.21)$$

Et pour favoriser la dépolymérisation d'avantage, nous négligeons d'avantage la polymérisation pour les grandes tailles ($k_i^{\text{on}} = 0$ lorsque $i > 250\text{mers}$) :

$$k_i^{\text{on}} = \begin{cases} 20 & \text{lorsque } 1 \leq i < 100 \\ -0.125i + 32.5 & \text{lorsque } 100 \leq i < 180 \\ 10 & \text{lorsque } 180 \leq i < 240 \\ -0.25i + 16.5 & \text{lorsque } 240 \leq i < 250 \\ 0 & \text{ailleurs} \end{cases} \quad (2.22)$$

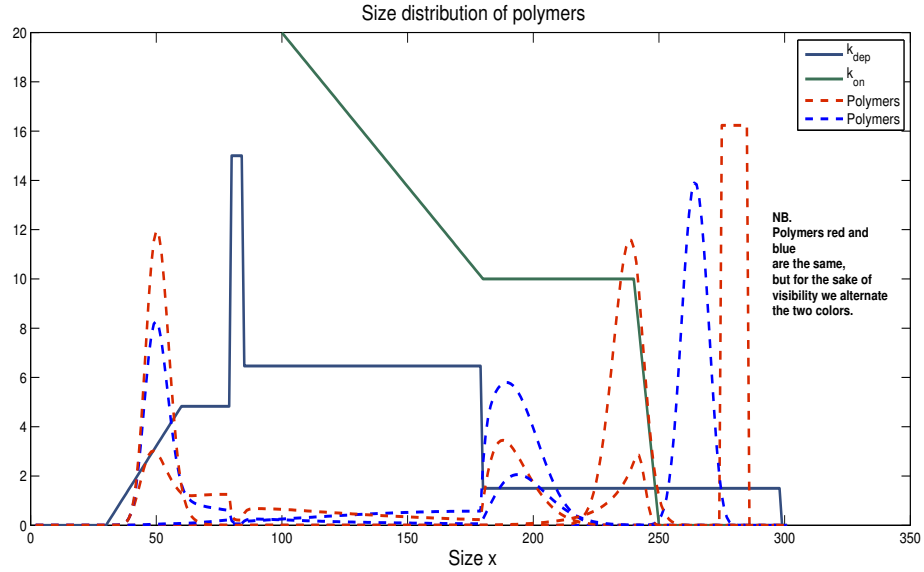


FIGURE 2.9 – Distribution en taille de la concentration des fibres polymères, c_i , à différents temps, superposée sur le tracé des deux fonctions coefficients k_i^{on} et k_i^{dep} . La courbe continue bleue représente le coefficient de dépolymérisation k_i^{dep} qui est donné par (2.21). Le coefficient de polymérisation k_i^{on} , donné par (2.22), est représenté par la courbe continue verte.

Les courbes en ligne discontinue représentent la distribution en taille des polymères à des temps différents. La distribution en taille des polymères part d'un créneau autour d'une taille moyenne de fibres, expérimentalement estimée à $i = 280\text{mers}$. La couleur de la courbe discontinue est alternée entre le rouge et le bleu pour deux temps de réaction successifs.

Avec ce jeu de coefficients, l'allure générale du signal *SLS* simulé reste satisfaisante. De plus, la masse dépolymérisée est beaucoup plus proche de la masse observée expérimentalement (Figure 2.10).

Le signal simulé ne croît plus avoir atteint le minimum ($t \simeq 180\text{min}$) et s'équilibre. La polymérisation se trouve être beaucoup moins marquée.

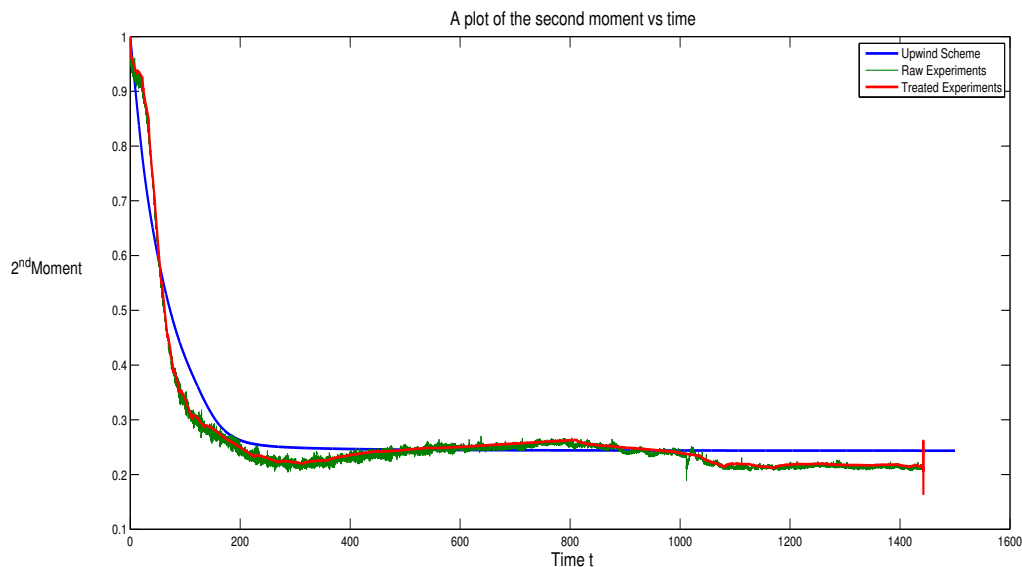


FIGURE 2.10 – Signal SLS normalisé. La courbe oscillante représente le SLS observé, normalisé à 1. La ligne bleue continue représente le SLS simulé, normalisé à 1, avec les coefficients (2.21) et (2.22). Le temps ici est en minutes.

Conclusion

La confrontation du modèle (2.1) aux données expérimentales nous conforte quant à notre choix des réactions fibres-monomères considérées. La distribution des fibres polymères à l'équilibre, théorique et numérique, se trouve bien cohérente avec l'étude de microscopie faite expérimentalement. De plus, les estimations des coefficients de réactions, polymérisation et dépolymérisation, permettent de reproduire les expériences de manière assez satisfaisante, et ce pour des coefficients de mêmes ordres de grandeur pour les deux expériences : pour la formation de fibres à partir des monomères, et celles où l'une des deux réactions agrégation/désagrégation est favorisée.

Une estimation plus précise des coefficients cinétiques k^{on} et k^{dep} permettrait d'obtenir des fits plus satisfaisants. Pour cela, et pour une manipulation plus facile des coefficients cinétiques, une approximation continue du modèle de Becker-Döring est présentée dans le chapitre 3.

Modèle mathématique continu pour l'agrégation de fibres

Sommaire

3.1	De Becker-Döring à Lifshitz-Slyozov	50
3.2	Existence, unicité	51
3.3	Équilibre et stabilité	52
3.4	Modèle continu avec diffusion	54
3.4.1	Existence, unicité	55
3.4.2	Équilibre et stabilité	56
3.4.3	Comparaison entre les modèles	57

Le modèle de Becker-Döring obtenu étant un système infini, il paraît pratique de considérer son approximation continue, connue sous l'appellation de système de Lifshitz-Slyozov, et qui se réduit à un système de deux équations : une équation aux dérivées partielles couplée à une contrainte de conservation de masse

$$\begin{cases} \frac{\partial}{\partial t} c(t, x) + \frac{\partial}{\partial x} ((k^{\text{on}}(x)c_1(t) - k^{\text{dep}}(x))c(t, x)) = 0, & x > 0, \\ c_1(t) + \int_0^\infty xc(t, x)dx = \rho_0 > 0. \end{cases} \quad (3.1)$$

3.1 De Becker-Döring à Lifshitz-Slyozov

Rappelons que l'on s'intéresse dans ce travail à des dynamiques dans lesquelles l'évolution du système est due essentiellement à des échanges entre particules de très grandes tailles et des monomères. De plus, les agrégats sont distribués de manière uniforme, par conséquent la dépendance spatiale est négligeable. Dans ce cas, il paraît naturel de traiter la variable taille discrète i comme une variable continue x .

Dans [16, 19], les auteurs introduisent un paramètre d'échelonnage ε et montrent que la solution des équations de Becker-Döring converge faible $*$ vers la solution des équations de Lifshitz-Slyozov lorsque ε tend vers 0.

Suivant cette même méthode on passe du système (2.1) au système (LS). Cela consiste donc à considérer une variable taille $x = \varepsilon i$ (on agrandit l'échelle d'observation du système) et à associer à la suite de concentrations $c(t) = (c_i(t))$, une fonction, $c^\varepsilon(t, x)$, constante par morceaux, constante sur chaque intervalle du type $[\varepsilon i, \varepsilon(i+1)[$, où ε est un paramètre positif, suffisamment petit, qu'on fait tendre vers 0. Les sommes infinies sur i sont interprétées comme des sommes de Riemann dont la limite continue est une intégrale. Les différences finies des c_i deviennent quant à elles des dérivées au passage à la limite.

Physiquement, si la variable taille discrète i représente le nombre de particules (monomères) composant la fibre, la variable taille continue x représente le volume. De plus, si les i -particules sont des sphères de rayon r_i , on a la relation

$$i = \frac{4\pi r_i^3 \mathcal{N}}{3V_m}$$

où V_m est le volume molaire des atomes libres, et \mathcal{N} le nombre d'Avogadro. Considérons la fonction c^ε qu'on définit, pour tout $t > 0$, par

$$c^\varepsilon(t, x) = \begin{cases} c_i(t), & x \in [\varepsilon i, \varepsilon(i+1)[, & i \geq 2 \\ 0 & x \in [0, 2\varepsilon[, & (\text{i.e. } i = 0, 1.) \end{cases}$$

où $(c_i)_{i \geq 1}$ est la solution du système (2.1). Cette dernière vérifie donc

$$\begin{aligned} \frac{dc_i}{dt}(t) &= k_{i-1}^{\text{on}} c_1(t) c_{i-1}(t) - k_i^{\text{dep}} c_i(t) - k_i^{\text{on}} c_1(t) c_i(t) + k_{i+1}^{\text{dep}} c_{i+1}(t) \\ &= -\frac{k_i^{\text{on}} - k_{i-1}^{\text{on}}}{i - (i-1)} c_1(t) c_{i-1}(t) - k_i^{\text{on}} c_1(t) \frac{c_i(t) - c_{i-1}(t)}{i - (i-1)} \\ &\quad + \frac{k_{i+1}^{\text{dep}} - k_i^{\text{dep}}}{i+1-i} c_{i+1} + k_i^{\text{dep}} \frac{c_{i+1} - c_i}{i+1-i}. \end{aligned}$$

Formellement, on obtient l'approximation suivante

$$\begin{aligned} \frac{\partial c^\varepsilon}{\partial t}(t, x) &= -\frac{\partial k^{\text{on}}}{\partial x}(x) c_1(t) c^\varepsilon(t, x - \varepsilon) - k^{\text{on}}(x) c_1(t) \frac{\partial c^\varepsilon}{\partial x}(t, x) \\ &\quad + \frac{\partial k^{\text{dep}}}{\partial x}(x) c^\varepsilon(t, x + \varepsilon) + k^{\text{dep}}(x) \frac{\partial c^\varepsilon}{\partial x}(x). \end{aligned}$$

3.2 Existence, unicité

Le système de Lifshitz-Slyozov est initialement formulé par Lifshitz et Slyozov en 1961 [36, 37], mais ce n'est qu'en fin d'année 1999 que Collet et Goudon établissent un théorème d'existence et d'unicité d'une solution globale [15]. S'en sont suivies différentes approches pour établir ce résultat [15, 34, 41].

Une solution du système (3.1) est la paire (c_1, c) vérifiant :

$$\begin{aligned} c_1 &\in \mathcal{C}^0([0, T]), \\ xc &\in \mathcal{L}^\infty([0, \infty]) \cup \mathcal{L}^1([0, T]) \end{aligned}$$

Théorème 3.1. [15] *Supposons que les coefficients cinétiques du système (3.1), k^{on} et k^{dep} soient de classe \mathcal{C}^1 , en x , sur l'intervalle $[0, \infty[$ et vérifient les propriétés suivantes :*

$$\forall x \in [0, \infty[: \quad \left| k^{\text{on}'}(x) \right|, \left| k^{\text{dep}'}(x) \right| \leq K \quad (3.2)$$

$$\forall x \in [0, \infty[: \quad k^{\text{on}}(x) \geq 0 \quad k^{\text{dep}}(x) > 0 \quad (3.3)$$

$$k^{\text{on}}(0), k^{\text{dep}}(0) \leq K \quad k^{\text{on}}(0) \rho - k^{\text{dep}}(0) \leq 0. \quad (3.4)$$

Et supposons que la condition initiale c_0 vérifie

$$c_0(x) \geq 0, \forall x \in [0, \infty[\quad \int_0^\infty c_0(x) dx < \infty \quad \int_0^\infty x c_0(x) dx \leq \rho.$$

Alors le système (3.1) admet une unique solution pour tout t positif.

Avant de parler d'existence de solution, il faudrait d'abord voir le caractère bien posé de notre système. Ceci est assuré par la propriété (3.4). En effet, une vitesse de transport négative en $x = 0$ implique que les caractéristiques de l'équation de transport pointent dans le sens négatif lorsque $x = 0$. Concrètement, cela signifie que les fibres de taille zéro sont complètement dissoutes, et donc, ne sont plus prises en considération. Techniquement, ça signifie qu'il n'y a pas besoin d'une condition au bord en $x = 0$. Le problème (3.1) est ainsi bien posé.

Théorème 3.2. [15] *Supposons que les coefficients cinétiques satisfont $k^{\text{on}}(0) = k^{\text{dep}}(0) = 0$ et (3.2), (3.3). Et supposons que la condition initiale c_0 vérifie $c_0(x) \geq 0, \forall x \in [0, \infty[$ et $xc_0(x) \in \mathcal{L}^1([0, T])$. Alors le système (3.1) admet une unique solution pour tout t positif.*

3.3 Équilibre et stabilité

Dans leur papier introductif du système (3.1), Lifshitz et Slyozov énoncent des conjectures quant au profil asymptotique du système dans le cas de leur application, c'est-à-dire, lorsque $k^{\text{on}}(x) = x^{1/3}$ et $k^{\text{dep}}(x) = 1$ [36, 37]. Ils y prédisent que :

- $c_1(t)$ est une fonction décroissante et qu'elle tend vers zéro en temps grand, se comportant comme $Kt^{-1/3}$.
- Le profil asymptotique de $c(t, x)$ est indépendant de la distribution initiale et ne dépend que de la masse totale. (CLS4)

Cette dernière conjecture a été d'abord vérifiée en 1993 par Chen et Voorhees dans [13], où ils partent d'une condition initiale à support non borné. Il s'est avéré par la suite que le postulat (CLS4) ainsi énoncé, n'était pas toujours vrai. En effet, des analyses mathématiques faites par la suite, ont montré que le comportement asymptotique dépend fortement du support de la donnée initiale [11, 41]. Ce n'est qu'en 2004 que Carrillo et Goudon montrent, après étude numérique, que des conditions sur la distribution initiale sont nécessaires [12], cependant ce résultat est établi pour un système (3.1) muni de vitesse de réaction $k^{\text{on}}(x) = x^{1/3}$ et $k^{\text{dep}}(x) = 1$. Les auteurs montrent alors que le système converge vers le profil conjecturé à condition de partir d'une donnée initiale à support non borné et dont la "fin de courbe" est assez lisse. Leur résultat souligne que le comportement asymptotique dépend fortement des clusters de grandes tailles dans la solution [12].

En ce qui concerne les expériences étudiées ici, il s'avère que ce choix de coefficients cinétiques ([36]) est inadéquat.

Plus généralement, pour des coefficients cinétiques $k^{\text{on}}(x)$ et $k^{\text{dep}}(x)$ continus en x et positifs, les solutions stationnaires du système (3.1) sont les couples (\tilde{c}_1, \tilde{c}) qui annulent le flux

$$(k^{\text{on}}(x) \tilde{c}_1 - k^{\text{dep}}(x)) \tilde{c}(x) = 0, \forall x \in (0, \infty].$$

Ce qui nous donne deux équilibres possibles : le premier est défini par $\tilde{c} \equiv 0$ et, en vertu de la conservation de la masse totale du système, $\tilde{c}_1 = \rho$. Le deuxième

équilibre éventuel est conditionné par $k^{\text{on}}(x) > 0$, pour toute valeur de $x > 0$ et il est donné par

$$\tilde{c}_1 = \frac{k^{\text{dep}}(x)}{k^{\text{on}}(x)}.$$

Il s'avère alors que dans le cas de coefficients non constants, le système (3.1) n'admet pas de solution stationnaire continue non identiquement nulle.

On cherche alors des fonctions stationnaires des concentrations $\tilde{c}(x)$ dans l'espace des mesures \mathcal{M}^1 . Dans [27], les solutions d'équilibres sont caractérisées comme monodisperses :

Lemme 3.3. [27] *On suppose la fonction $u(x) := \frac{k^{\text{dep}}(x)}{k^{\text{on}}(x)}$ continue et monotone. Alors les équilibres avec la densité ρ sont monodisperses, c'est-à-dire : $\tilde{c}(x) = a\delta_{x_c}$, où a et x_c vérifient : $u(x_c) = \tilde{c}_1$ et $\tilde{c}_1 + au^{-1}(\tilde{c}_1) = \rho$.*

Contrairement au modèle discret de Becker-Döring présenté dans le chapitre 2, la densité donnée ρ du système ne détermine pas les équilibres du modèle de manière unique.

Il est à noter que, même si la masse totale en fibres polymères, M , devient constante (Figure 3.1, gauche), le moment d'ordre deux total, M^2 , continue à croître avant d'atteindre le pseudo équilibre (Figure 3.1, droite).

Pour comprendre cela, il est intéressant de voir la formule à travers la théorie des variables aléatoires. Posons $\mathbb{E}(X) = M$. On a alors,

$$\sigma^2 = \mathbb{E}((X - \mathbb{E}(X)))^2 = \mathbb{E}(X^2) - \mathbb{E}(X)^2 = M^2 - (M)^2$$

Ainsi, même si le moment d'ordre un, M , est constant, le moment d'ordre deux M^2 évolue de la même manière que la variance σ^2 , et continue à s'étaler à travers le temps. Ce qui nous mène à la théorie de diffusion.

En effet, lorsqu'on reprend l'équation de variation du moment d'ordre 2 on note une perte du terme de diffusion. Formellement, on retrouve

$$\begin{aligned} \frac{dM^2}{dt} &= \frac{d}{dt} \int_0^\infty x^2 c(t, x) dx \\ &= \int_0^\infty x^2 \left(\frac{\partial}{\partial t} c(t, x) \right) dx \\ &= \int_0^\infty x^2 \left(-\frac{\partial}{\partial x} ((k^{\text{on}}(x)c_1(t) - k^{\text{dep}}(x))c(t, x)) \right) dx \\ &= 2 \int_0^\infty x (k^{\text{on}}(x)c_1(t) - k^{\text{dep}}(x)) c(t, x) dx \end{aligned}$$

En supposant que les coefficients sont constants, on a

$$\frac{dM^2}{dt} = 2 (k^{\text{on}}c_1(t) - k^{\text{dep}}) M$$

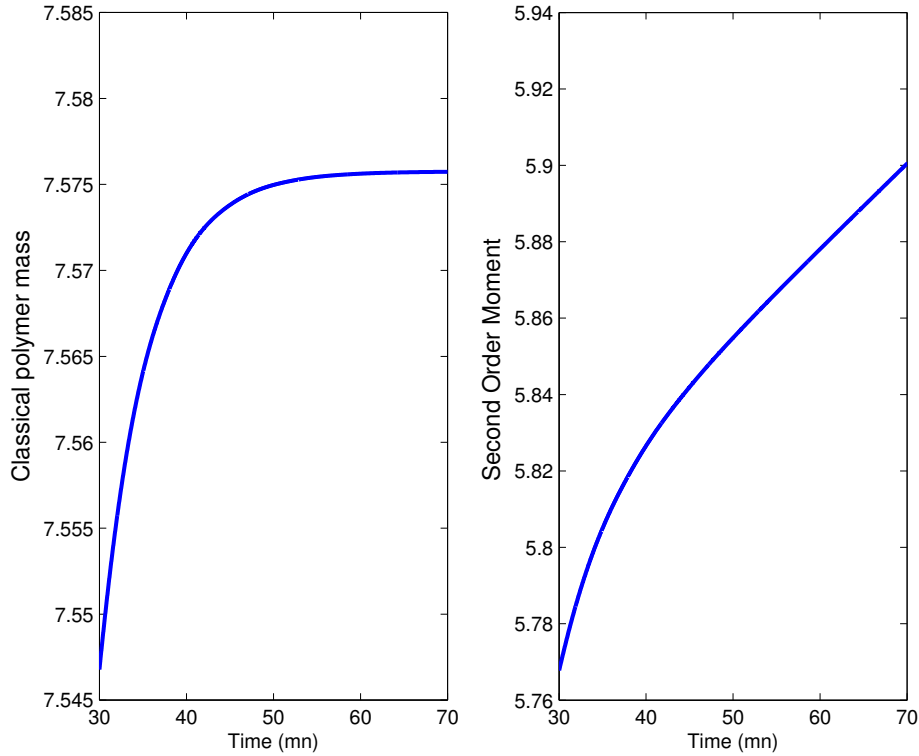


FIGURE 3.1 – Simulation des moments d'ordre 1 et 2 des concentrations des polymères, avec le ssysteme (2.1). À gauche, le moment d'ordre 1, la masse des concentrations. À droite, le moment d'ordre 2 des concentrations.

Ce qui ne se retrouve pas dans l'équation de variation de M^2 discrète (2.18) :

$$\frac{dM_2^{measured}}{dt} = 2(k^{on}c_1 - k^{dep})M + 2k^{dep}P.$$

Le terme en $2k^{dep}P$ marquant la diffusion en taille x est perdu lors du passage au continu. Dans [54], B. Dadyburjor et E. Ruckenstein présentent le modèle de Lifshitz-Slyozov comme un modèle simplifié qui ne prend pas compte de la diffusion en taille. Ces auteurs notent que ce terme ne peut pas toujours être négligé.

3.4 Modèle continu avec diffusion

Afin de récupérer le terme de diffusion en taille perdu lors du passage au continu, on se base, pour le passage à la limite du modèle discret, sur un développement de Taylor du second ordre. Cette solution est illustrée par S. Hariz dans son manuscrit de thèse [27]. On arrive alors à un modèle continu dit modèle de Lifshitz-Slyozov

modifié :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial}{\partial t} c(t, x) + \frac{\partial}{\partial x} ((k^{\text{on}}(x)c_1(t) - k^{\text{dep}}(x))c(t, x) \\ \quad - \frac{1}{2} \frac{\partial}{\partial x} ((k^{\text{on}}(x)c_1(t) + k^{\text{dep}}(x))c(t, x))) = 0, \quad x > 0, \\ c_1(t) + \int_0^\infty xc(t, x)dx = \rho_0 > 0. \end{array} \right. \quad (3.5)$$

Où l'on considère comme condition initiale :

$$\begin{aligned} c_1(0) &= c_1^{\text{in}} \geq 0, \quad c(0, x) = c^{\text{in}}(x), \quad x \in (0, \infty) \\ c(t, 0) &= c_1(t), \quad t \geq 0. \end{aligned} \quad (3.6)$$

En effet, l'équation du moment d'ordre 2, on obtient

$$\begin{aligned} \frac{dM^2}{dt} &= \frac{d}{dt} \int_0^\infty x^2 c(t, x) dx, \\ &= \int_0^\infty x^2 \left(\frac{\partial}{\partial t} c(t, x) \right) dx, \\ &= \int_0^\infty x^2 \left(-\frac{\partial}{\partial x} ((k^{\text{on}}(x)c_1(t) - k^{\text{dep}}(x))c(t, x) + \frac{1}{2} \frac{\partial}{\partial x} ((k^{\text{on}}(x)c_1(t) + k^{\text{dep}}(x))c(t, x))) \right) dx, \\ &= 2 \int_0^\infty x (k^{\text{on}}(x)c_1(t) - k^{\text{dep}}(x)) c(t, x) dx + \int_0^\infty (k^{\text{on}}(x)c_1(t) + k^{\text{dep}}(x)) c(t, x) dx, \\ &= 2 \int_0^\infty x (k^{\text{on}}(x)c_1(t) - k^{\text{dep}}(x)) c(t, x) dx + \int_0^\infty (k^{\text{on}}(x)c_1(t) + k^{\text{dep}}(x)) c(t, x) dx. \end{aligned}$$

Et en supposant que les coefficients sont constants, on a :

$$\frac{dM^2}{dt} = 2 (k^{\text{on}}(x)c_1(t) - k^{\text{dep}}(x)) M + (k^{\text{on}}(x)c_1(t) + k^{\text{dep}}(x)) P$$

La raison du choix de ce système d'équations étant claire, nous énonçons ci-dessous quelques principaux résultats établis dans la thèse de S. Hariz [27].

3.4.1 Existence, unicité

On introduit tout d'abord le cadre fonctionnel dans lequel sont établis les résultats d'existence et d'unicité [27].

Soit $t \in]0, T[$, soit C^p l'espace des fonctions temporelles défini par :

$$C^p(]0, T[;]0, +\infty[) := \{c_1(t) \in \mathcal{C}^0(]0, T[;]0, +\infty[) / 0 \leq c_1(t) \leq \rho\},$$

et soit W l'espace fonctionnel défini par :

$$\begin{aligned} W &= W(]0, T[, H_0^1(]0, +\infty[), H_0^{1'}(]0, +\infty[)) \\ &:= \left\{ c \in \mathcal{L}^2(]0, T[; H_0^1(]0, +\infty[)) / c' \in \mathcal{L}^2(]0, T[; H_0^{1'}(]0, +\infty[)) \right\}. \end{aligned}$$

Dans toute la suite du chapitre, les coefficients cinétiques k^{on} et k^{dep} vérifieront les hypothèses suivantes :

$$k^{\text{on}}, k^{\text{dep}} \in \mathcal{C}_b^2([0, \infty[). \quad (3.7)$$

Où $b(t, x) = \frac{1}{2} (k^{\text{on}}(x) c_1(t) + k^{\text{dep}}(x))$. Et :

$$0 < \underline{k}^{\text{dep}} \leq k^{\text{dep}}(x) \leq \overline{k}^{\text{dep}}, \quad 0 \leq k^{\text{on}}(x) \leq \overline{k}^{\text{on}}, \quad \text{pour tout } x \geq 0. \quad (3.8)$$

Vient alors le théorème d'existence et d'unicité de solution globale en temps.

Théorème 3.4. [27] *Les hypothèses (3.7)-(3.8) sur les coefficients cinétiques sont supposées vérifiées. La donnée initiale c^{in} est supposée dans $\mathcal{L}^2([0, \infty[)$ et ses moments d'ordre un et zéro sont supposés finis*

$$\int_0^\infty c^{\text{in}}(x) dx < \infty, \quad \int_0^\infty x c^{\text{in}}(x) dx \leq \rho.$$

Alors le système (3.5)-(3.6) possède au moins un couple (c_1, c) comme solution, avec $c_1 \in C^p$ et $c \in W$.

Si, de plus, tous les moments de c^{in^2} jusqu'à un certain ordre s supérieur à trois sont finis, alors la solution (c_1, c) du système (3.5)-(3.6) est unique.

3.4.2 Équilibre et stabilité

Une solution stationnaire du système (3.5) est le couple $(\tilde{c}_1, \tilde{c}(x))$ qui annule le flux de l'équation parabolique du système :

$$(k^{\text{on}}(x) \tilde{c}_1 - k^{\text{dep}}(x)) \tilde{c}(x) - \frac{1}{2} \frac{\partial}{\partial x} ((k^{\text{on}}(x) \tilde{c}_1 + k^{\text{dep}}(x)) \tilde{c}(x)) = 0. \quad (3.9)$$

Ce qui revient à résoudre une équation différentielle ordinaire, du premier ordre, en $\tilde{c}(x)$, sur $[0, \infty[$:

$$(k^{\text{on}}(x) \tilde{c}_1 + k^{\text{dep}}(x)) \frac{\partial \tilde{c}}{\partial x} - \left(2(k^{\text{on}}(x) \tilde{c}_1 - k^{\text{dep}}(x)) - \left(\frac{dk^{\text{on}}}{dx}(x) \tilde{c}_1 + \frac{dk^{\text{dep}}}{dx}(x) \right) \right) \tilde{c} = 0.$$

avec comme condition initiale $\tilde{c}(0) = \tilde{c}_1$. En intégrant l'équation différentielle par rapport à x , on obtient :

$$\int_0^x \frac{\partial \tilde{c}}{\tilde{c}}(y) dy = \int_0^x 2 \frac{k^{\text{on}}(y) \tilde{c}_1 - k^{\text{dep}}(y)}{k^{\text{on}}(y) \tilde{c}_1 + k^{\text{dep}}(y)} dy - \int_0^x \frac{\frac{dk^{\text{on}}}{dx}(y) \tilde{c}_1 + \frac{dk^{\text{dep}}}{dx}(y)}{k^{\text{on}}(y) \tilde{c}_1 + k^{\text{dep}}(y)} dy,$$

$$\Rightarrow \log \left(\frac{\tilde{c}(x)}{\tilde{c}(0)} \right) = \int_0^x 2 \frac{k^{\text{on}}(y) \tilde{c}_1 - k^{\text{dep}}(y)}{k^{\text{on}}(y) \tilde{c}_1 + k^{\text{dep}}(y)} dy - \log \left(\frac{k^{\text{on}}(x) \tilde{c}_1 + k^{\text{dep}}(x)}{k^{\text{on}}(0) \tilde{c}_1 + k^{\text{dep}}(0)} \right),$$

$$\Rightarrow \tilde{c}(x) = \tilde{c}(0) \cdot \frac{k^{\text{on}}(0) \tilde{c}_1 + k^{\text{dep}}(0)}{k^{\text{on}}(x) \tilde{c}_1 + k^{\text{dep}}(x)} \cdot \exp \left(\int_0^x 2 \frac{k^{\text{on}}(y) \tilde{c}_1 - k^{\text{dep}}(y)}{k^{\text{on}}(y) \tilde{c}_1 + k^{\text{dep}}(y)} dy \right).$$

Les solutions d'équilibre du modèle de Lifshitz-Slyozov modifié ne sont plus monodisperses. Comme pour le cas modèle discret (2.1), la densité totale du système de Lifshitz-Slyozov modifié, ρ , définit de manière unique l'équilibre du système. Ce qui n'était pas vrai pour le modèle de Lifshitz-Slyozov (3.1), [27, 28].

3.4.3 Comparaison entre les modèles

Dans ce sous-paragraphe, on cherche à comparer les équilibres (2.1.2) et (3.4.2) du modèle discret de Becker-Döring et du modèle continu de Lifshitz-Slyozov modifié (respectivement).

Supposons dans cette partie, que les coefficients cinétiques discrets k_i^{on} et k_i^{dep} ainsi que les fonctions coefficients $k^{\text{on}}(x)$ et $k^{\text{dep}}(x)$ sont constants.

- Pour le cas continu, l'équilibre est donné, selon les calculs du paragraphe 3.4.2, par :

$$\begin{aligned}\tilde{c}(x) &= \tilde{c}(0) \cdot \frac{k^{\text{on}}\tilde{c}_1 + k^{\text{dep}}}{k^{\text{on}}\tilde{c}_1 + k^{\text{dep}}} \cdot \exp\left(\int_0^x 2 \frac{k^{\text{on}}\tilde{c}_1 - k^{\text{dep}}}{k^{\text{on}}\tilde{c}_1 + k^{\text{dep}}} dy\right), \\ &= \tilde{c}(0) \exp\left(2x \frac{k^{\text{on}}\tilde{c}_1 - k^{\text{dep}}}{k^{\text{on}}\tilde{c}_1 + k^{\text{dep}}}\right).\end{aligned}$$

Remarque : Il ressort de ce premier calcul que, pour que $\tilde{c}(x)$ soit bien définie pour tout $x \in [0, \infty[$ et que $x\tilde{c}(x)$ soit intégrable sur $[0, \infty[$, il est nécessaire d'avoir :

$$k^{\text{on}}\tilde{c}_1 - k^{\text{dep}} < 0 \quad \Rightarrow \quad 0 \leq \tilde{c}_1 < \frac{k^{\text{dep}}}{k^{\text{on}}} =: c_1^s$$

ce qui donne un résultat analogue au cas discret.

D'autre part, considérons \tilde{c} comme fonction de \tilde{c}_1 , et faisons un développement limité de \tilde{c} au premier ordre en \tilde{c}_1 au voisinage de la concentration de saturation c_1^s . On obtient alors :

$$\begin{aligned}\tilde{c}(\tilde{c}_1) &= \tilde{c}(c_1^s) + \tilde{c}'(c_1^s)(\tilde{c}_1 - c_1^s) + o(\tilde{c}_1 - c_1^s), \\ &= \tilde{c}(0) + \tilde{c}(0) \cdot x \frac{k^{\text{on}}}{k^{\text{dep}}} (\tilde{c}_1 - c_1^s) + o(\tilde{c}_1 - c_1^s),\end{aligned}$$

Ce qui donne :

$$\tilde{c}(\tilde{c}_1) = \tilde{c}(0) \cdot \left(1 + x \frac{k^{\text{on}}}{k^{\text{dep}}} (\tilde{c}_1 - c_1^s)\right) + o(\tilde{c}_1 - c_1^s). \quad (3.10)$$

- Pour le cas discret, l'équilibre est donné par le corollaire 2.7 du chapitre 2 :

$$\begin{aligned}\tilde{c}_i &= c_1^s \left(\frac{\tilde{c}_1}{c_1^s}\right)^i, \quad i \geq 2, \\ &= c_1^s \exp\left(i \log\left(\frac{\tilde{c}_1}{c_1^s}\right)\right), \quad i \geq 2.\end{aligned}$$

où la concentration de saturation est donnée donc par : $c_1^s = k^{\text{dep}}/k^{\text{on}}$. Comme pour le cas continu, considérons \tilde{c} comme fonction de \tilde{c}_1 et faisons un développement limité de \tilde{c} au premier ordre en \tilde{c}_1 au voisinage de c_1^s . Cela donne :

$$\begin{aligned}\tilde{c}(\tilde{c}_1) &= \tilde{c}(c_1^s) + \tilde{c}'(c_1^s)(\tilde{c}_1 - c_1^s) + o(\tilde{c}_1 - c_1^s), \\ &= c_1^s + c_1^s \cdot i \frac{k^{\text{on}}}{k^{\text{dep}}} (\tilde{c}_1 - c_1^s) + o(\tilde{c}_1 - c_1^s),\end{aligned}$$

Ce qui donne :

$$\tilde{c}(\tilde{c}_1) = c_1^s \cdot \left(1 + i \frac{k^{\text{on}}}{k^{\text{dep}}} (\tilde{c}_1 - c_1^s) \right) + o(\tilde{c}_1 - c_1^s). \quad (3.11)$$

Conclusion

Le système de Lifshitz-Slyozov modifié est une approximation continue plus adaptée du système discret de Becker-Döring. Les équilibres des deux systèmes ne sont pas monodisperses, et pour les deux modèles, la densité ρ détermine totalement la concentration d'équilibre des monomères \tilde{c}_1 . Et comme pour le modèle de Becker-Döring, le modèle de Lifshitz-Slyozov modifié admet une concentration de saturation (et donc une densité de saturation) qui est analogue à celle du cas discret.

Les estimations des paramètres cinétiques et l'étude des problèmes inverses de ces systèmes continus font l'objet d'une autre thèse de ce même projet pour laquelle ce chapitre sert de point de départ.

Pour la suite de notre manuscrit, on s'intéresse à une nouvelle expérience des fibres prion, qui demande d'avantage de réflexion à propos des mécanismes réactionnels fibres-monomères.

CHAPITRE 4

Modèle mathématique pour le templating

Dans ce chapitre on se focalise sur l'expérience polymérisante décrite dans le paragraphe 1.2.3, celle que nos collaborateurs biologistes appellent expérience du templating. L'idée est donc de simuler avec notre modèle les ajouts successifs de monomères dilués dans un volume fixe, dans le but de reproduire les plateaux successifs observés en SLS (Figure 4).

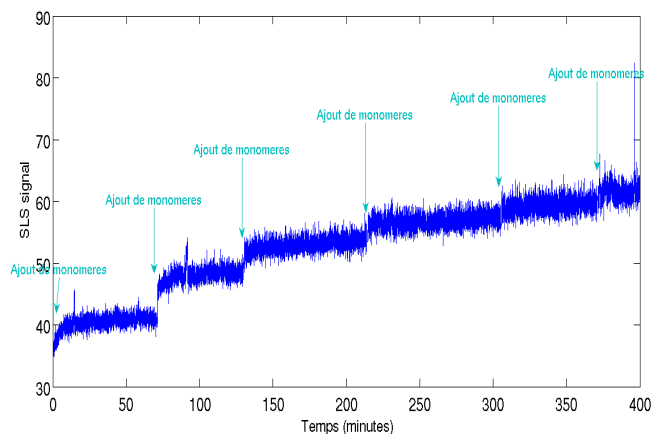


FIGURE 4.1 – SLS - Données expérimentales des ajouts successifs de monomères sur des fibres PrP humaines. Voir description du chapitre 1, paragraphe 1.2.3.

4.1 Modèle classique

Se basant sur le schéma *classique* de réactions polymérisation/dépolymérisation (cf. Chapitre 2), on est arrivé à reproduire, avec le modèle (2.1)

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dc_i}{dt} = -k_i^{\text{on}} c_1 c_i + k_{i-1}^{\text{on}} c_1 c_{i-1} - k_i^{\text{dep}} c_i + k_{i+1}^{\text{dep}} c_{i+1} \quad i \geq 2, \\ \frac{dc_1}{dt} = - \sum_{i=2}^{\infty} (k_i^{\text{on}} c_1 c_i - k_{i+1}^{\text{dep}} c_{i+1}) - 2 (k_1^{\text{on}} c_1^2 - k_2^{\text{dep}} c_2), \end{array} \right.$$

la première étape de l'expérience 1.2.3,

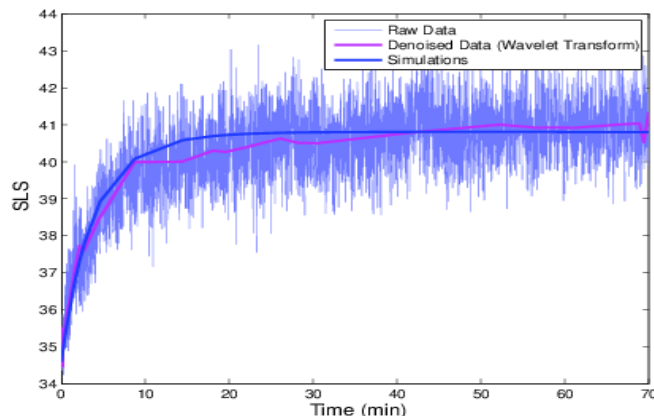


FIGURE 4.2 – Simulation de la première étape des expériences. Superposition du signal SLS récupéré expérimentalement (courbe bleue oscillante) et de la simulation du $M_2^{measured}$ avec des coefficients cinétiques constants pour les polymères $k^{on} = 10^8 \mu M^{-1} min^{-1}$ et $k^{dep} = 8 \cdot 10^2 min^{-1}$, et nuls pour les monomères. Voir Chapitre 2, paragraphe 2.2.1.

En partant de là, on simule les étapes suivantes de l'expérience. Cependant le résultat n'est pas aussi satisfaisant que pour la première étape. En effet, à chaque nouvelle addition de monomères au soluté, les fibres de PrP humaine continuent à polymériser, consommant ainsi davantage de monomères (Figure 4.3). Même si la quantité de monomères consommée est plus petite comparée à celle consommée lors de la première étape de l'expérience, ce qui est essentiellement dû à la dilution du volume dans la cuve expérimentale, et donc biologiquement cohérent, le saut entre deux ajouts successifs est de plus en plus grand (Figure 4.3). Ce qui est essentiellement dû à la croissance rapide du terme de taille i^2 dans le signal simulé :

$$\left(\sum_{i \geq 1}^n i^2 c_i \right) + \beta.$$

On en vient à conclure que la polymérisation doit être freinée. Il y a inactivation de polymérisation mais probablement pas due à une limitation de taille de fibres. Cette affirmation nous vient d'une expérience additionnelle faite à la fin de l'expérience 1.2.3. En effet, les fibres humaines, déjà allongées par les additions successives de monomères humains, ont été récoltées et purifiées par centrifugation, afin d'enlever les monomères résiduels qui n'ont pas réagis ainsi que les oligomères. Les fibres humaines ainsi obtenue sont incapables de s'allonger davantage avec du monomère humain, cependant elles sont capables de s'allonger avec du monomère ovin (Rezaei *et al.* article en préparation) .

Nous émettons, alors, l'hypothèse de création de fibres défectueuses, des fibres incapables de polymériser davantage, pas avec la même espèce de monomère PrP.

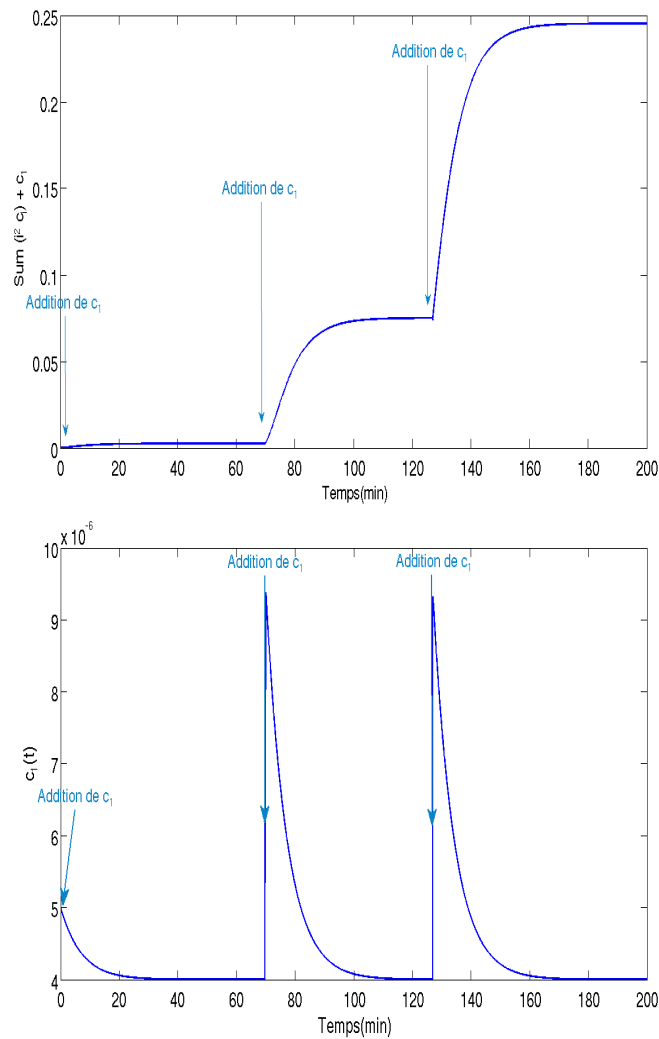


FIGURE 4.3 – Simulation des trois premières additions de monomères avec une dilution dans le soluté dans le deuxième et troisième ajout. À gauche, la simulation de l'intensité SLS. À droite la concentration en monomères. Les sauts de l'intensité SLS sont de plus en plus grands et la consommation de monomères toujours aussi forte à chaque addition (effet de dilution mis à part).

4.2 Modèle à deux compartiments - hypothèse de fibres défectueuses

On émet ici l'hypothèse de création de fibres *défectueuses*. Défectueuses dans le sens où l'agrégation de ces fibres est moins aisée que celles des fibres *classiques*. Cette théorie émise par Rezaei *et al.* (article en cours de préparation) voudrait qu'à un certain moment du processus, il y ait création de fibres de PrP avec un défaut de

conformation. Ce léger changement de conformation n'est pas à comprendre comme un changement fondamental de la protéine, mais plutôt une cristallisation du bout de la protéine, de sorte que l'agrégation d'un monomère libre est soit impossible, soit différente de la polymérisation classique, dans le sens où le polymère résultant est aussi un polymère *cristallisé* ou *maclé* (Figure 4.4).

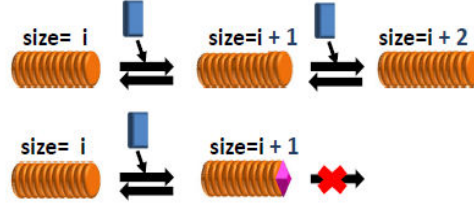


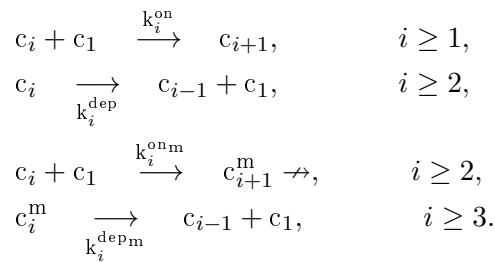
FIGURE 4.4 – Schéma considéré pour l'agrégation des fibres-monomères.

Ainsi, notant c_i^m la concentration en fibres défectueuses de taille i (m pour maclé), l'intensité du signal SLS deviendrait :

$$M_2^{measured} = \alpha \left(\sum_{i=1}^{\infty} i^2 c_i + \sum_{i=1}^{\infty} i_m^2 c_i^m \right) + \beta,$$

où i_m représente la taille de la fibre cristallisée.

Théoriquement, cette nouvelle hypothèse ralentirait la forte croissance du signal SLS simulé en freinant la polymérisation classique, limitant la forte croissance de la taille des fibres classiques sans pour autant en fixer une taille maximale. La modélisation que l'on fait de cette hypothèse se base sur le schéma réactionnel suivant :



C'est-à-dire qu'en plus de la polymérisation et dépolymérisation classiques décrites dans le paragraphe 2.1 du chapitre 2, une fibre classique de taille i peut aussi récupérer un monomère libre, avec un taux noté k_i^{onm} , pour donner une fibre défectueuse (cristallisée) de taille $i+1$. Cette dernière ne serait pas capable de polymériser davantage mais peut dépolymériser en libérant un monomère avec un taux noté $k_i^{\text{dep}_m}$, donnant ainsi une fibre classique de taille i et un monomère libre.

Remarque : On ne fait jusque là aucune hypothèse sur le monomère libéré par les fibres maclées. En effet, suite à la purification et la séparation des monomères résidus par centrifugation, le résultat obtenu après de nouvelles additions de monomères “frais” reste le même. On n’émet donc pas d’hypothèse de monomères défectueux, pas pour le moment.

En appliquant la loi d’action de masse à plusieurs reprises pour chaque type de fibre, on arrive aux équations de variation des concentrations suivantes :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dc_i}{dt} = -k_i^{\text{on}}c_1c_i + k_{i-1}^{\text{on}}c_1c_{i-1} - k_i^{\text{onm}}c_1c_i - k_i^{\text{dep}}c_i + k_{i+1}^{\text{dep}}c_{i+1} + k_{i+1}^{\text{depm}}c_{i+1}^{\text{m}}, \quad i \geq 2 \\ \frac{dc_i^{\text{m}}}{dt} = k_{i-1}^{\text{onm}}c_1c_{i-1} - k_i^{\text{depm}}c_i^{\text{m}}, \quad i \geq 3 \\ \frac{dc_1}{dt} = -\sum_{i=2}^{\infty} k_i^{\text{on}}c_1c_i - \sum_{i=2}^{\infty} k_i^{\text{onm}}c_1c_i + \sum_{i=2}^{\infty} k_i^{\text{dep}}c_i + \sum_{i=3}^{\infty} k_i^{\text{depm}}c_i^{\text{m}} - 2 \left(k_1^{\text{on}}c_1^2 - k_2^{\text{dep}}c_2 \right). \end{array} \right. \quad (4.1)$$

Le système obtenu est donc un système infini, à trois composantes : les polymères classiques, les polymères défectueux et les monomères. Les paramètres à estimer pour la simulation du moment d’ordre 2 sont encore une fois une infinité.

Initialement, pour la première étape d’ajout, nous considérons qu’il n’y a pas de fibres défectueuses. On prend alors comme conditions initiales pour ce système :

$$\forall i \geq 3, c_i^{\text{m}}(t=0) = 0, \quad \sum_{i \geq 2} c_i(t=0) =: P^{\text{total}} > 0, \quad \text{et} \quad \sum_{i \geq 1} ic_i(t=0) = \rho > 0. \quad (4.2)$$

La variation du moment d’ordre 2 des fibres s’exprime alors comme suit :

$$\frac{dM_2^{\text{measured}}}{dt} = \frac{dc_1}{dt} + \frac{dM^2}{dt} + \frac{d(M^{\text{m}})^2}{dt}. \quad (4.3)$$

où :

$$\frac{dM^2}{dt} = \frac{d}{dt} \sum_{i=2}^{\infty} i^2 c_i = \sum_{i=2}^{\infty} i^2 \frac{dc_i}{dt},$$

et :

$$\frac{d(M^{\text{m}})^2}{dt} = \frac{d}{dt} \sum_{i=3}^{\infty} i^2 c_i^{\text{m}} = \sum_{i=3}^{\infty} i^2 \frac{dc_i^{\text{m}}}{dt}.$$

La permutation entre les opérateurs somme et différentiation étant justifiée tant que (c_i) et (c_i^{m}) appartiennent à l’espace E^+ défini par

$$E^+ = \{c \in E : c_i \geq 0 \quad \forall i\},$$

$$\text{où} \quad E = \{c = (c_i)_{i \in \mathbb{N}} : \|c\| < \infty\}, \quad \|c\| = \sum_{i=1}^{\infty} i |c_i|,$$

et qu'elles vérifient les conditions (2.3) :

$$\sum_{i=1}^{\infty} i^2 c_i < \infty, \quad (4.4)$$

$$\sum_{i=1}^{\infty} i^3 c_i^m < \infty. \quad (4.5)$$

4.2.1 Système à deux compartiments simplifié

Dans un but de simplification et pour les mêmes arguments que ceux du paragraphe 2.2.1, on se propose de sommer le système (4.1), sur toutes les tailles i , en considérant que les coefficients cinétiques vérifient :

$$k_i^{\text{on}} = k^{\text{on}} \mathbb{1}_{2 \leq i < \infty}, \quad k_i^{\text{dep}} = k^{\text{dep}} \mathbb{1}_{2 < i \leq \infty}, \quad (4.6)$$

$$k_i^{\text{on}_m} = k^{\text{on}_m} \mathbb{1}_{2 \leq i < \infty}, \quad k_i^{\text{dep}_m} = k^{\text{dep}_m} \mathbb{1}_{3 \leq i \leq \infty}, \quad (4.7)$$

où k^{on} , k^{on_m} , k^{dep} et k^{dep_m} sont des constantes.

De la même manière que pour les moments classiques, on se donne en plus les notations suivantes : $P^m := \sum_{i \geq 3} c_i^m(t)$ qui représente la concentration totale en fibres défectueuses, sommées sur toutes les tailles $i \geq 3$ et $M^m := \sum_{i \geq 3} i c_i^m(t)$ qui représente le moment d'ordre 1 des concentrations des fibres défectueuses ou leur masse totale sommée sur toutes les tailles $i \geq 3$. L'équation de variation des monomères c_1 du système (4.1) s'écrit alors :

$$\frac{dc_1}{dt} = -k^{\text{on}} c_1 P - k^{\text{on}_m} c_1 P + k^{\text{dep}} P + k^{\text{dep}_m} P^m. \quad (4.8)$$

Il reste donc à sommer les équations de variations des fibres de même structure entre elles.

- À partir de la variation des concentration des fibres classiques on obtient :

$$\begin{aligned} \frac{dP}{dt} &= \frac{d}{dt} \sum_{i \geq 2} c_i = \sum_{i \geq 2} \frac{dc_i}{dt} \\ &= \sum_{i \geq 2} \left(-k_i^{\text{on}} c_1 c_i + k_{i-1}^{\text{on}} c_1 c_{i-1} - k_i^{\text{on}_m} c_1 c_i - k_i^{\text{dep}} c_i + k_{i+1}^{\text{dep}} c_{i+1} + k_{i+1}^{\text{dep}_m} c_{i+1}^m \right). \\ &= -c_1 \sum_{i \geq 2} k_i^{\text{on}} c_i + c_1 \sum_{i \geq 2} k_{i-1}^{\text{on}} c_{i-1} - c_1 \sum_{i \geq 2} k_i^{\text{on}_m} c_i \\ &\quad - \sum_{i \geq 2} k_i^{\text{dep}} c_i + \sum_{i \geq 2} k_{i+1}^{\text{dep}} c_{i+1} + \sum_{i \geq 2} k_{i+1}^{\text{dep}_m} c_{i+1}^m. \end{aligned}$$

après réindexation, et sous l'hypothèse (4.6) on obtient :

$$\begin{aligned}
\frac{dP}{dt} &= -k^{\text{on}}c_1 \sum_{i \geq 2} c_i + c_1 \sum_{i \geq 1} k_i^{\text{on}}c_i - k^{\text{onm}}c_1 \sum_{i \geq 2} c_i - k^{\text{dep}} \sum_{i \geq 3} c_i + k^{\text{dep}} \sum_{i \geq 3} c_i + k^{\text{dep}_m} \sum_{i \geq 3} c_i^m. \\
&= -k^{\text{on}}c_1 \sum_{i \geq 2} c_i + k^{\text{on}}c_1 \sum_{i \geq 2} c_i - k^{\text{onm}}c_1 \sum_{i \geq 2} c_i - k^{\text{dep}} \sum_{i \geq 3} c_i + k^{\text{dep}} \sum_{i \geq 3} c_i + k^{\text{dep}_m} \sum_{i \geq 3} c_i^m, \\
&= -k^{\text{on}}c_1P + k^{\text{on}}c_1P - k^{\text{onm}}c_1P - k^{\text{dep}}(P - c_2) + k^{\text{dep}}(P - c_2) + k^{\text{dep}_m}P^m.
\end{aligned}$$

Le système étudié étant un système polymérisant (de tailles croissantes) et comme nous supposons que, dans cette partie, il n'y a pas de formation de dimères c_2 à partir des monomères c_1 , c_2 peuvent être négligés. On a alors :

$$\frac{dP}{dt} = -k^{\text{onm}}c_1P + k^{\text{dep}_m}P^m. \quad (4.9)$$

De la même manière, nous écrivons l'équation de variation de la masse totale des polymères classique. En effet :

$$\begin{aligned}
\frac{dM}{dt} &= \frac{d}{dt} \sum_{i \geq 2} ic_i = \sum_{i \geq 2} i \frac{dc_i}{dt} \\
&= \sum_{i \geq 2} i \left(-k_i^{\text{on}}c_1c_i + k_{i-1}^{\text{on}}c_1c_{i-1} - k_i^{\text{onm}}c_1c_i - k_i^{\text{dep}}c_i + k_{i+1}^{\text{dep}}c_{i+1} + k_{i+1}^{\text{dep}_m}c_{i+1}^m \right). \\
&= -c_1 \sum_{i \geq 2} ik_i^{\text{on}}c_i + c_1 \sum_{i \geq 2} ik_{i-1}^{\text{on}}c_{i-1} - c_1 \sum_{i \geq 2} ik_i^{\text{onm}}c_i - \sum_{i \geq 2} ik_i^{\text{dep}}c_i \\
&\quad + \sum_{i \geq 2} ik_{i+1}^{\text{dep}}c_{i+1} + \sum_{i \geq 2} ik_{i+1}^{\text{dep}_m}c_{i+1}^m.
\end{aligned}$$

après réindexation :

$$\begin{aligned}
\frac{dM}{dt} &= -c_1 \sum_{i \geq 2} ik_i^{\text{on}}c_i + c_1 \sum_{i \geq 1} (i+1) k_i^{\text{on}}c_i - c_1 \sum_{i \geq 2} ik_i^{\text{onm}}c_i - \sum_{i \geq 2} ik^{\text{dep}}(i)c_i \\
&\quad + \sum_{i \geq 2} (i-1) k_i^{\text{dep}}c_i + \sum_{i \geq 2} (i-1) k_i^{\text{dep}_m}c_i^m.
\end{aligned}$$

Comme $k^{\text{on}}(1) = k^{\text{dep}}(1) = 0$, on obtient :

$$\begin{aligned}
\frac{dM}{dt} &= -k^{\text{on}}c_1M + k^{\text{on}}c_1M + k^{\text{on}}c_1P - k^{\text{onm}}c_1M - k^{\text{dep}}(M - 2c_2) + k^{\text{dep}}(M - 2c_2 - (P - c_2)) \\
&\quad + k^{\text{dep}_m}(M^m - 2c_2^m - (P^m - c_2^m)). \\
&= k^{\text{on}}c_1P - k^{\text{onm}}c_1M - k^{\text{dep}}(P - c_2) + k^{\text{dep}_m}(M^m - P^m - c_2^m).
\end{aligned}$$

Et, encore une fois, en négligeant les dimères c_2 et comme on considère que c_2^m n'existent pas, l'équation de la variation de la masse s'écrit :

$$\frac{dM}{dt} = k^{\text{on}}c_1P - k^{\text{onm}}c_1M - k^{\text{dep}}P + k^{\text{dep}_m}(M^m - P^m) \quad (4.10)$$

• Et partant des équations de variation des concentrations des fibres défectueuses on obtient :

$$\begin{aligned} \frac{dP^m}{dt} &= \frac{d}{dt} \sum_{i \geq 3} c_i^m = \sum_{i \geq 3} \frac{dc_i^m}{dt} \\ &= \sum_{i \geq 3} \left(k_{i-1}^{\text{onm}} c_1 c_{i-1} - k_i^{\text{dep}_m} c_i^m \right). \\ &= c_1 \sum_{i \geq 3} k_{i-1}^{\text{onm}} c_{i-1} - \sum_{i \geq 3} k_i^{\text{dep}_m} c_i^m. \end{aligned}$$

après réindexation :

$$\frac{dP^m}{dt} = c_1 \sum_{i \geq 2} k_i^{\text{onm}} c_i - \sum_{i \geq 3} k_i^{\text{dep}_m} c_i^m.$$

et comme $k^{\text{onm}}(2) = 0$, $k_i^{\text{onm}} = \text{constante}$ pour $i \geq 3$ and $k_i^{\text{dep}_m} = \text{constante}$ pour $i \geq 3$, on déduit que :

$$\begin{aligned} \frac{dP^m}{dt} &= k^{\text{onm}} c_1 \sum_{i \geq 3} c_i - k^{\text{dep}_m} \sum_{i \geq 3} c_i^m \\ &= k^{\text{onm}} c_1 (P - c_2) - k^{\text{dep}_m} P^m \end{aligned}$$

négligeant c_2 devant P , on obtient l'équation de variation de la concentration totale de toutes les fibres défectueuses :

$$\frac{dP^m}{dt} = k^{\text{onm}} c_1 P - k^{\text{dep}_m} P^m \quad (4.11)$$

De la même manière, on obtient l'équation de variation de la masse de toutes les fibres défectueuses :

$$\begin{aligned} \frac{dM^m}{dt} &= \frac{d}{dt} \sum_{i \geq 3} i c_i^m = \sum_{i \geq 3} i \frac{dc_i^m}{dt} \\ &= \sum_{i \geq 3} i \left(k_{i-1}^{\text{onm}} c_1 c_{i-1} - k_i^{\text{dep}_m} c_i^m \right). \\ &= c_1 \sum_{i \geq 3} i k_{i-1}^{\text{onm}} c_{i-1} - k^{\text{dep}_m} \sum_{i \geq 3} i c_i^m. \end{aligned}$$

après réindexation, on obtient :

$$\begin{aligned} \frac{dM^m}{dt} &= c_1 \sum_{i \geq 2} (i+1) k_i^{\text{onm}} c_i - k^{\text{dep}_m} \sum_{i \geq 3} i c_i^m \\ &= k^{\text{onm}} c_1 \sum_{i \geq 3} i c_i + k^{\text{onm}} c_1 \sum_{i \geq 3} c_i - k^{\text{dep}_m} \sum_{i \geq 3} i c_i^m \\ &= k^{\text{onm}} c_1 (M - 2c_2) + k^{\text{onm}} c_1 (P - c_2) - k^{\text{dep}_m} M^m \end{aligned}$$

En négligeant le terme c_2 en comparaison avec les séries, on a :

$$\frac{dM^m}{dt} = k^{\text{on}m}c_1(P + M) - k^{\text{dep}m}M^m. \quad (4.12)$$

On arrive au système à cinq équations différentielles suivant :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dP}{dt} = -k^{\text{on}m}c_1P + k^{\text{dep}m}P^m, \\ \frac{dP^m}{dt} = k^{\text{on}m}c_1P - k^{\text{dep}m}P^m, \\ \frac{dM}{dt} = k^{\text{on}}c_1P - k^{\text{on}m}c_1M - k^{\text{dep}}P + k^{\text{dep}m}(M^m - P^m), \\ \frac{dM^m}{dt} = k^{\text{on}m}c_1(P + M) - k^{\text{dep}m}M^m, \\ \frac{dc_1}{dt} = -k^{\text{on}}c_1P - k^{\text{on}m}c_1P + k^{\text{dep}}P + k^{\text{dep}m}P^m. \end{array} \right. \quad (4.13)$$

Comme pour le classique, ce système sommé conserve le nombre total des fibres, P^{total} , au cours du temps. En effet à partir de (4.13) nous avons :

$$\frac{dP^{\text{total}}}{dt} = \frac{dP}{dt} + \frac{dP^m}{dt} = 0.$$

Et les conditions initiales (4.2) impliquent que :

$$P(t=0) = P^{\text{total}} > 0, \quad P^m(t=0) = 0. \quad (4.14)$$

Nous noterons que la variation des fibres classiques ne dépend que des coefficients cinétiques des réactions des/en fibres défectueuses.

Idem, la masse totale des trois composantes reste bien constante :

$$\frac{dM}{dt} + \frac{dM^m}{dt} + \frac{dc_1}{dt} = 0.$$

De la même manière que pour la masse des fibres, on écrit la variation du moment d'ordre deux des fibres :

- En ce qui concerne les fibres classiques, on a :

$$\begin{aligned} \frac{dM^2}{dt} &= \frac{d}{dt} \sum_{i \geq 2} i^2 c_i = \sum_{i \geq 2} i^2 \frac{dc_i}{dt} \\ &= \sum_{i \geq 2} i^2 \left(-k_i^{\text{on}}c_1c_i + k_{i-1}^{\text{on}}c_1c_{i-1} - c_1k_i^{\text{on}m}c_i - k_i^{\text{dep}}c_i + k_{i+1}^{\text{dep}}c_{i+1} + k_{i+1}^{\text{dep}m}c_{i+1}^m \right) \\ &= -c_1 \sum_{i \geq 2} i^2 k_i^{\text{on}}c_i + c_1 \sum_{i \geq 2} i^2 k_{i-1}^{\text{on}}c_{i-1} - c_1 \sum_{i \geq 2} i^2 k_i^{\text{on}m}c_i \\ &\quad - \sum_{i \geq 2} i^2 k_i^{\text{dep}}c_i + \sum_{i \geq 2} i^2 k_{i+1}^{\text{dep}}c_{i+1} + \sum_{i \geq 2} i^2 k_{i+1}^{\text{dep}m}c_{i+1}^m, \\ &= -k^{\text{on}}c_1M^2 + c_1 \sum_{i \geq 1} (i+1)^2 k_i^{\text{on}}c_i - c_1 k^{\text{on}m}M^2 \\ &\quad - k^{\text{dep}}M^2 + \sum_{i \geq 2} k_i^{\text{dep}}(i-1)^2 c_i + \sum_{i \geq 2} k_i^{\text{dep}m}(i-1)^2 c_i^m. \end{aligned}$$

En négligeant la formation c_2 à partir de monomères c_1 , on obtient :

$$\begin{aligned} \frac{dM^2}{dt} = & -k^{\text{on}}c_1M^2 + k^{\text{on}}c_1M^2 + 2k^{\text{on}}c_1M + k^{\text{on}}c_1P - c_1k^{\text{onm}}M^2 - k^{\text{dep}}M^2 + k^{\text{dep}}M^2 \\ & - 2k^{\text{dep}}M + k^{\text{dep}}P + k^{\text{dep}_m}(M^{\text{m}})^2 - 2k^{\text{dep}_m}M^{\text{m}} + k^{\text{dep}_m}P^{\text{m}} \end{aligned}$$

d'où :

$$\frac{dM^2}{dt} = k^{\text{on}}c_1(2M + P) - k^{\text{onm}}c_1M^2 - k^{\text{dep}}(2M - P) + k^{\text{dep}_m}\left((M^{\text{m}})^2 - 2M^{\text{m}} + P^{\text{m}}\right).$$

- Quant aux fibres défectueuses (maclées) :

$$\begin{aligned} \frac{d(M^{\text{m}})^2}{dt} &= \sum_{i \geq 2} i^2 \frac{dc_i^{\text{m}}}{dt}, \\ &= \sum_{i \geq 2} i^2 \begin{pmatrix} k_{i-1}^{\text{onm}} & c_1 & c_{i-1} & -k_i^{\text{dep}_m} & c_i^{\text{m}} \end{pmatrix}, \\ &= \sum_{i \geq 3} (i+1)^2 (k_i^{\text{onm}}c_1c_i) - k^{\text{dep}_m} \sum_{i \geq 3} i^2 c_i^{\text{m}} \\ &= k^{\text{onm}}c_1 \sum_{i \geq 3} (i^2c_i + 2ic_i + c_i) - k^{\text{dep}_m}(M^{\text{m}})^2, \\ &= k^{\text{onm}}c_1(M^2 - 4c_2 + 2M - 4c_2 + P - c_2) - k^{\text{dep}_m}(M^{\text{m}})^2, \end{aligned}$$

En négligeant c_2 , on obtient l'équation de variation du moment d'ordre 2 des fibres défectueuses :

$$\frac{d(M^{\text{m}})^2}{dt} = k^{\text{onm}}c_1M^2 + 2k^{\text{onm}}c_1M + k^{\text{onm}}c_1P - k^{\text{dep}_m}(M^{\text{m}})^2.$$

En résumé on obtient :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dM^2}{dt} = k^{\text{on}}c_1(2M + P) - k^{\text{onm}}c_1M^2 - k^{\text{dep}}(2M - P) + k^{\text{dep}_m}\left((M^{\text{m}})^2 - 2M^{\text{m}} + P^{\text{m}}\right), \\ \frac{d(M^{\text{m}})^2}{dt} = k^{\text{onm}}c_1M^2 + 2k^{\text{onm}}c_1M + k^{\text{onm}}c_1P - k^{\text{dep}_m}(M^{\text{m}})^2. \end{array} \right.$$

D'où l'expression du M_2^{measured} :

$$\begin{aligned} \frac{dM_2^{\text{measured}}}{dt} &= \frac{dM^2}{dt} + \frac{d(M^{\text{m}})^2}{dt} + \frac{dc_1}{dt}, \\ &= \left(k^{\text{on}}c_1(2M + P) - k^{\text{onm}}c_1M^2 - k^{\text{dep}}(2M - P) + k^{\text{dep}_m}\left((M^{\text{m}})^2 - 2M^{\text{m}} + P^{\text{m}}\right) \right) \\ &\quad + \left(k^{\text{onm}}c_1M^2 + 2k^{\text{onm}}c_1M + k^{\text{onm}}c_1P - k^{\text{dep}_m}(M^{\text{m}})^2 \right) \\ &\quad + \left(-k^{\text{on}}c_1P - k^{\text{onm}}c_1P + k^{\text{dep}}P + k^{\text{dep}_m}P^{\text{m}} \right), \end{aligned}$$

qui se simplifie en :

$$\frac{dM_2^{\text{measured}}}{dt} = 2k^{\text{on}}c_1M - 2k^{\text{dep}}(M - P) + 2k^{\text{onm}}c_1M - 2k^{\text{dep}_m}(M^{\text{m}} - P^{\text{m}}). \quad (4.15)$$

Le système étant cette fois-ci non linéaire, on ne peut le résoudre analytiquement. Nous n'avons donc pas d'Expression analytique de la quantité simulée $M_2^{measured}$, c'est pourquoi on se tourne vers les états stationnaires et l'analyse numérique de ce système.

4.2.2 États stationnaires et équilibres

Nous formulons dans le résultat suivant l'expression de la solution d'équilibre, du système à deux types de fibres simplifié, en fonction des données initiales : la masse totale du système, ρ , et la concentration totale en fibres (classiques et défectueuses), P^{total} .

Proposition 4.1. *Soient k^{on} , k^{on_m} , k^{dep} et k^{dep_m} des constantes positives. Alors, l'unique équilibre du système (4.13), $(\tilde{P}, \tilde{P}^m, \tilde{M}, \tilde{M}^m, \tilde{c}_1)$, est donné par :*

$$\left\{ \begin{array}{l} \tilde{P} = \frac{k^{dep_m}}{k^{on_m} \tilde{c}_1 + k^{dep_m}} P^{total}, \\ \tilde{P}^m = \left(1 - \frac{k^{dep_m}}{k^{on_m} \tilde{c}_1 + k^{dep_m}} \right) P^{total}, \\ \tilde{M} = \frac{k^{dep_m}}{k^{on_m} \tilde{c}_1 + k^{dep_m}} (\rho - \tilde{c}_1) - \frac{k^{on_m} \tilde{c}_1}{k^{on_m} \tilde{c}_1 + k^{dep_m}}, \\ \tilde{M}^m = \left(1 - \frac{k^{dep_m}}{k^{on_m} \tilde{c}_1 + k^{dep_m}} \right) (\rho - \tilde{c}_1) - \frac{k^{on_m} \tilde{c}_1}{k^{on_m} \tilde{c}_1 + k^{dep_m}} \tilde{P} \\ \tilde{c}_1 = \frac{k^{dep}}{k^{on}}. \end{array} \right.$$

Démonstration. Une solution stationnaire du système (4.13) est un quintuplé $(\tilde{P}, \tilde{P}^m, \tilde{M}, \tilde{M}^m, \tilde{c}_1)$ qui vérifie :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dP}{dt} = 0, \\ \frac{dP^m}{dt} = 0, \\ \frac{dM}{dt} = 0, \\ \frac{dM^m}{dt} = 0, \\ \frac{dc_1}{dt} = 0. \end{array} \right. \Rightarrow \left\{ \begin{array}{l} -k^{on_m} c_1 P + k^{dep_m} P^m = 0, \\ k^{on_m} c_1 P - k^{dep_m} P^m = 0, \\ k^{on} c_1 P - k^{on_m} c_1 M - k^{dep} P + k^{dep_m} (M^m - P^m) = 0, \\ k^{on_m} c_1 (P + M) - k^{dep_m} M^m = 0, \\ -k^{on} c_1 P - k^{on_m} c_1 P + k^{dep} P + k^{dep_m} P^m = 0. \end{array} \right.$$

Des deux premières équations équivalentes on obtient :

$$k^{on_m} c_1 P = k^{dep_m} P^m$$

Un premier équilibre est atteint lorsque le ratio P^m/P atteint une valeur égale à $c_1 k^{\text{on}_m}/k^{\text{dep}_m}$, en supposant que la constante k^{dep_m} ne soit pas nulle.

En injectant cette dernière formule dans l'équation de variation de c_1 à l'équilibre, on obtient :

$$\begin{cases} k^{\text{on}_m} c_1 P = k^{\text{dep}_m} P^m \\ -k^{\text{on}_m} c_1 P + k^{\text{dep}_m} P = 0 \end{cases} \Rightarrow \begin{cases} k^{\text{on}_m} c_1 P = k^{\text{dep}_m} P^m \\ (-k^{\text{on}_m} c_1 + k^{\text{dep}_m} = 0) \vee (P = 0) \end{cases}$$

Ainsi, deux états stationnaires sont théoriquement possibles :

$$(-k^{\text{on}_m} \tilde{c}_1 + k^{\text{dep}_m} = 0) \quad \text{et} \quad (\tilde{P} = 0).$$

Dans le cas où la concentration totale en polymères classiques est nulle à l'équilibre, i.e. $\tilde{P} = 0$, il résulte que,

$$k^{\text{on}_m} \tilde{c}_1 \tilde{P} = k^{\text{dep}_m} \tilde{P}^m \Rightarrow \tilde{P}^m = 0.$$

Cependant, compte tenu des conditions initiale (4.14), l'option

$$\tilde{P} = \tilde{P}^m = 0$$

est écartée. Il en découle que

$$-k^{\text{on}_m} \tilde{c}_1 + k^{\text{dep}_m} = 0$$

définit l'unique équilibre du système (4.13). On déduit dans ce cas que, sous les hypothèses (4.6),

$$\tilde{c}_1 = \frac{k^{\text{dep}_m}}{k^{\text{on}_m}},$$

qui est le même équilibre pour les monomères que celui du système classique (2.2.1). L'équilibre de (4.13) est, ainsi, complètement défini par :

$$\begin{cases} -k^{\text{on}_m} \tilde{c}_1 \tilde{P} + k^{\text{dep}_m} \tilde{P}^m = 0, \\ k^{\text{on}_m} c_1 (P + M) - k^{\text{dep}_m} M^m = 0, \\ \tilde{c}_1 = \frac{k^{\text{dep}_m}}{k^{\text{on}_m}}, \end{cases}$$

avec les deux équations de conservation du nombre total des fibres du système ainsi que celle de conservation de la masse totale du système :

$$\begin{cases} P^{\text{total}} = \tilde{P} + \tilde{P}^m, \\ \rho = \tilde{M} + \tilde{M}^m + \tilde{c}_1. \end{cases}$$

Il en résulte que :

$$\left\{ \begin{array}{l} -k^{\text{onm}}\tilde{c}_1\tilde{P} + k^{\text{dep}_m}P^{\tilde{m}} = 0, \\ P^{\tilde{m}} = P^{\text{total}} - \tilde{P}, \\ k^{\text{onm}}\tilde{c}_1(\tilde{P} + \tilde{M}) - k^{\text{dep}_m}\tilde{M}^{\tilde{m}} = 0, \\ \tilde{M}^{\tilde{m}} = \rho - \tilde{M} - \tilde{c}_1 \\ \tilde{c}_1 = \frac{k^{\text{dep}}}{k^{\text{on}}} . \end{array} \right.$$

Ce qui implique que :

$$\left\{ \begin{array}{l} -k^{\text{onm}}\tilde{c}_1\tilde{P} + k^{\text{dep}_m}(P^{\text{total}} - \tilde{P}) = 0, \\ P^{\tilde{m}} = P^{\text{total}} - \tilde{P}, \\ k^{\text{onm}}\tilde{c}_1(\tilde{P} + \tilde{M}) - k^{\text{dep}_m}(\rho - \tilde{M} - \tilde{c}_1) = 0, \\ \tilde{M}^{\tilde{m}} = \rho - \tilde{M} - \tilde{c}_1 \\ \tilde{c}_1 = \frac{k^{\text{dep}}}{k^{\text{on}}} . \end{array} \right.$$

D'où :

$$\left\{ \begin{array}{l} \tilde{P} = \frac{k^{\text{dep}_m}}{k^{\text{onm}}\tilde{c}_1 + k^{\text{dep}_m}}P^{\text{total}}, \\ P^{\tilde{m}} = \left(1 - \frac{k^{\text{dep}_m}}{k^{\text{onm}}\tilde{c}_1 + k^{\text{dep}_m}}\right)P^{\text{total}}, \\ \tilde{M} = \frac{k^{\text{dep}_m}}{k^{\text{onm}}\tilde{c}_1 + k^{\text{dep}_m}}(\rho - \tilde{c}_1) - \frac{k^{\text{onm}}\tilde{c}_1}{k^{\text{onm}}\tilde{c}_1 + k^{\text{dep}_m}}, \\ \tilde{M}^{\tilde{m}} = \left(1 - \frac{k^{\text{dep}_m}}{k^{\text{onm}}\tilde{c}_1 + k^{\text{dep}_m}}\right)(\rho - \tilde{c}_1) - \frac{k^{\text{onm}}\tilde{c}_1}{k^{\text{onm}}\tilde{c}_1 + k^{\text{dep}_m}}\tilde{P} \\ \tilde{c}_1 = \frac{k^{\text{dep}}}{k^{\text{on}}} . \end{array} \right.$$

□

4.2.3 Estimation des paramètres

Dans cette partie, on se focalise sur l'estimation des coefficients cinétiques ($k^{\text{on}}, k^{\text{dep}}, k^{\text{onm}}, k^{\text{dep}_m}$), de sorte à avoir des simulations du signal SLS qui miment au mieux le signal observé (Figure 4). Lorsqu'on se place au voisinage de l'équilibre la concentration totale en fibres classiques, P , ainsi que la concentration totale en fibres défectueuses, $P^{\tilde{m}}$ sont considérées comme constantes au cours du temps. i.e.

$$\frac{dP}{dt} = \frac{dP^{\tilde{m}}}{dt} = 0.$$

Et donc, au voisinage de l'équilibre, on a :

$$P(t) = \tilde{P} \quad \text{et} \quad P^m(t) = \tilde{P}^m.$$

En l'injectant dans l'équation de variation des monomères, (4.8), cela donne :

$$\frac{dc_1}{dt} = -k^{\text{on}}c_1(t)\tilde{P} + k^{\text{dep}}\tilde{P}.$$

Et, comme énoncé dans la proposition (4.1), $k^{\text{on}}c_1(t^{eq}) = k^{\text{dep}}$, il vient que :

$$\frac{dc_1}{dt} = -k^{\text{on}}c_1(t)\tilde{P} + k^{\text{on}}c_1(t^{eq})\tilde{P}.$$

En intégrant par rapport à t , on obtient :

$$c_1 = (c_1(t=0) - c_1(t^{eq}))e^{-k^{\text{on}}\tilde{P}t} + \tilde{c}_1,$$

d'où :

$$c_1 = (c_1^{\text{in}} - \tilde{c}_1)e^{-k^{\text{on}}\tilde{P}t} + \tilde{c}_1. \quad (4.16)$$

Lorsque $t \rightarrow t^{eq}$, on a $c_1 \rightarrow \tilde{c}_1$, et donc la quantité $(c_1^{\text{in}} - \tilde{c}_1)e^{-k^{\text{on}}\tilde{P}t}$ dans (4.16) devient négligeable devant \tilde{c}_1 . i.e :

$$(c_1^{\text{in}} - \tilde{c}_1)e^{-k^{\text{on}}\tilde{P}t^{eq}} = o(\tilde{c}_1).$$

Initialement, on a c_1^{in} de l'ordre de $10^{-6}\mu M$, selon les données 4.2, et à l'équilibre, la concentration des monomères est estimée expérimentalement entre :

$$\frac{75}{100}c_1^{\text{in}} \leq \tilde{c}_1 \leq \frac{96}{100}c_1^{\text{in}}. \quad (4.17)$$

La concentration \tilde{c}_1 est donc de l'ordre de 10^{-6} aussi. Il suffit alors de prendre $e^{-k^{\text{on}}\tilde{P}t^{eq}}$ de l'ordre de 10^{-1} dans (4.16). i.e. approximativement, cela donne :

$$k^{\text{on}}\tilde{P}t^{eq} = 2 \quad \Rightarrow \quad k^{\text{on}} = \frac{2}{\tilde{P}t^{eq}}. \quad (4.18)$$

Si l'on sait que P^{totale} est constant au cours du temps, nous ne disposons d'aucune information sur les taux de \tilde{P} ou de \tilde{P}^m . La concentration totale des fibres défectueuses peut varier de 0 de P^{totale} à 100 de P^{totale} . i.e :

$$0 \leq \tilde{P}^m \leq P^{\text{totale}}. \quad (4.19)$$

Une fois k^{on} estimé, le coefficient de dépolymérisation classique est déduit de l'équilibre du système :

$$k^{\text{on}}\tilde{c}_1 = k^{\text{dep}}.$$

De même, les coefficients des réactions des fibres défectueuses sont déduites de la formule d'équilibre :

$$\tilde{P} = \frac{k^{\text{dep}_m}}{k^{\text{on}_m}\tilde{c}_1 + k^{\text{dep}_m}}P^{\text{total}} \Rightarrow k^{\text{on}_m} = \frac{k^{\text{dep}_m}P^m}{\tilde{c}_1(P^{\text{total}} - \tilde{P}^m)},$$

P_m^{eq} (% of P_{total})	k_{on}	k_{dep}	k_{on}^m	k_{dep}^m
0	4.10^8	2.10^3	0	0
0.5	4.10^8	2.10^3	1.10^1 to 1.10^7	8.10^{-3} to 1.10^4
10	5.10^8	2.10^3	2.10^3	6.10^{-2}
30	6.10^8	2.10^3	1.10^7 to 1.10^9	1.10^2 to 1.10^4
50	9.10^8	3.10^3	2.10^7	1.10^2
80	2.10^9	8.10^3	1.10^8	1.10^2
95	9.10^9	3.10^4	3.10^7	10
99	4.10^{10}	2.10^5	3.10^7 to 1.10^9	1 to 10
99.99	4.10^{12}	2.10^7	3.10^9 to 3.10^{12}	1 to 1.10^3
0 to 100%	4.10^8 to 4.10^{12}	2.10^3 to 2.10^7	0 to 3.10^{12}	0 to 1.10^4

FIGURE 4.5 – Constantes cinétiques (k^{on} , k^{on_m} , k^{dep} et k^{dep_m}) permettant de bien reproduire le signal SLS obtenu après la première addition des monomères, avec le modèle avec macles (4.13). k^{on} et k^{dep} sont obtenus par analogie avec les modèle classique (2.2.1), k^{on_m} et k^{dep_m} , en fonction de P^m (concentration totale des fibres défectueuses à l'état d'équilibre), à l'aide d'un petit problème inverse. Plusieurs valeurs de P^m ont été utilisées afin de tester un large créneau lors de l'initialisation du problème inverse. La dernière ligne résume les valeurs pour toutes les valeurs de P^m .

où P^m et \tilde{c}_1 sont donnés par (4.17) et (4.19) respectivement.

La figure 4.5 présente les valeurs des coefficients cinétiques permettant de reproduire le signal SLS correctement avec le modèle (4.13). Chaque pourcentage des fibres défectueuses à l'équilibre, de 0 jusqu'à 100 % de la concentration totale des fibres, P^{in} , permet de bien reproduire le signal SLS obtenu après la première addition des monomères (Figure 4.6).

L'étape suivante est alors de tester l'addition de monomères au volume de fibres obtenu après équilibre. Pour cela on a testé tous les jeux de paramètres cinétiques (k^{on} , k^{on_m} , k^{dep} , k^{dep_m}) qui ont permis de mimer la première addition de monomères. En ajustant ces valeurs pour une deux additions successives de monomères, un jeu de paramètre était capable de reproduire les deux premières étapes de l'expérience (Figure 4.6).

En reprenant l'équation de variation de $M_2^{measured}$, (4.15) :

$$\frac{dM_2^{measured}}{dt} = 2c_1 M (k^{on} + k^{on_m}) + 2k^{dep} (P - M) + 2k^{dep_m} (P^m - M^m)$$

on peut voir que la partie positive dépend des coefficients des réactions de polymérisation (k^{on} et k^{on_m}) et les termes négatifs dépendent des constantes de dépolymérisation (k^{dep} et k^{dep_m}).

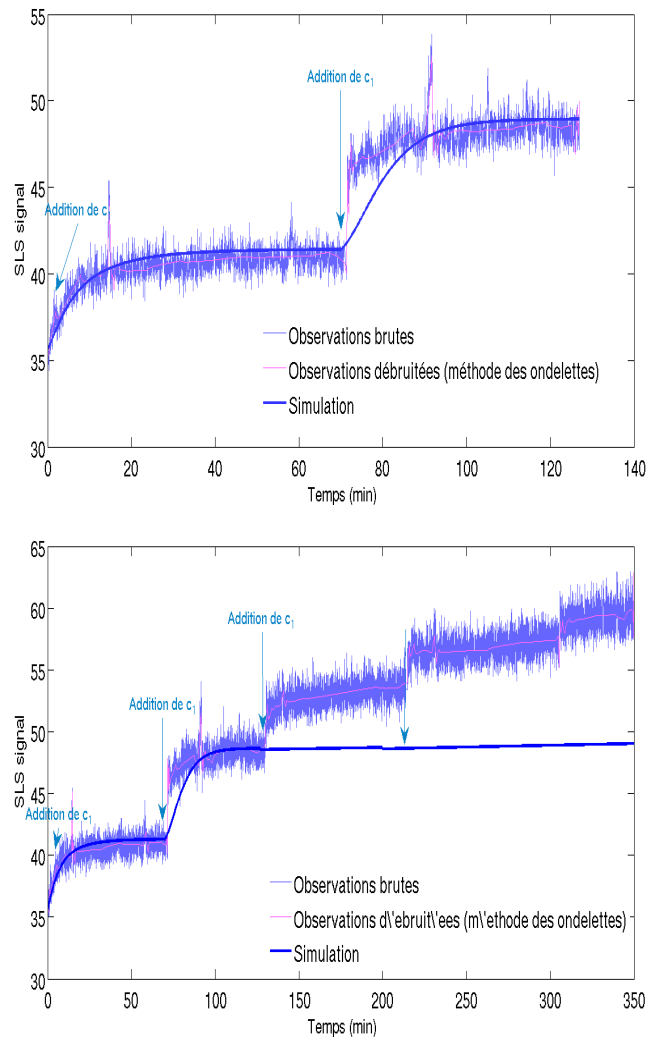


FIGURE 4.6 – Simulations numérique du signal SLS obtenu après, à gauche deux ajouts successifs de monomères, et à droite quatre ajouts. Ceci est obtenu avec le modèle (4.13) et avec $k^{\text{on}} = 3.5 \cdot 10^8 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$; $k^{\text{dep}} = 1.6 \cdot 10^3 \text{ min}^{-1}$; $k^{\text{on}_m} = 1.7 \cdot 10^4 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ et $k^{\text{dep}_m} = 1 \cdot 10^{-6} \text{ min}^{-1}$

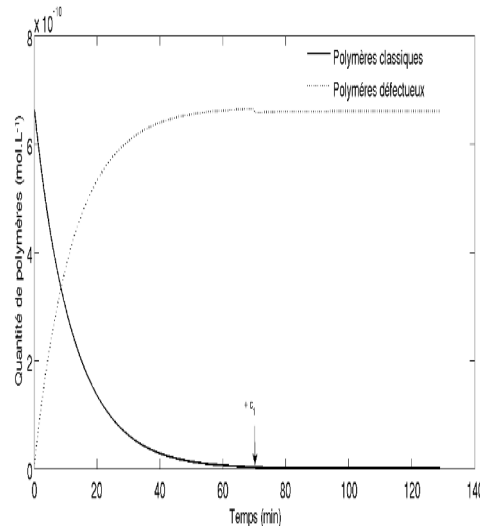


FIGURE 4.7 – La quantité des fibres défectueuses en fonction du temps avec $k^{\text{on}} = 3.5.10^8 \text{ mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$, $k^{\text{dep}} = 1.6.10^3 \text{ min}^{-1}$, $k^{\text{on}_m} = 1.7.10^4 \text{ mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$ et $k^{\text{dep}_m} = 1.10^{-6} \text{ min}^{-1}$

Expérimentalement, il est observé qu'après un certain nombre d'ajouts successifs de monomères, le signal SLS ne croît plus (ou quasiment plus) Figure 4. On peut alors postuler que la quasi totalité des fibres deviennent défectueuses à ce moment. i.e \tilde{P}^m est très grand. Ce qui correspond à l'ensemble de paramètres de la figure 4.5 qui simule de manière correcte les deux premières étapes de l'expérience. Il est alors confirmé que, contrairement au modèle classique, le modèle avec macule permet de reproduire de manière satisfaisante le signal SLS après une deuxième addition de monomères (Figure 4.6, gauche). Cependant le troisième et quatrième ajout ne correspondent pas (Figure 4.6, droite). Le fait que la troisième addition de monomères simulée n'a pas permis au signal SLS de croître suffisamment peut être expliqué par le coefficient k^{dep_m} qui est trop petit et le taux de fibres défectueuses trop élevé à l'équilibre Figure 4.7 [26].

4.3 Modèle à plusieurs compartiments - inactivation progressive

Afin de retarder cet arrêt de polymérisation à un temps expérimentalement plus cohérent, on pense à une inactivation progressive de la polymérisation. L'hypothèse d'une fibre qui ne polymérise plus s'étant avérée un peu "brusque", on considère la création successive de fibres défectueuses de différents degrés de défaut (Figure 4.8). Ainsi un polymère classique peut polymériser en un polymère défectueux avec un taux noté $(k^{\text{on}})^{m_1}$, qui à son tour peut polymériser en un polymère défectueux dont le degré de défaut est plus grand, m_2 , avec un taux de polymérisation qu'on note $(k^{\text{on}})^{m_2}$, et ainsi de suite jusqu'à arriver, progressivement, à une dernière fibre

défectueuse de degré $m_N > m_{N-1} > \dots > m_1$, qui n'est plus capable de polymériser du tout.

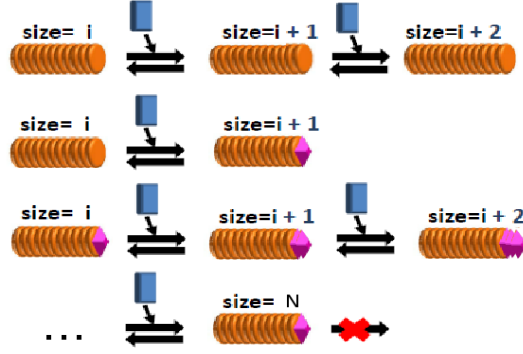
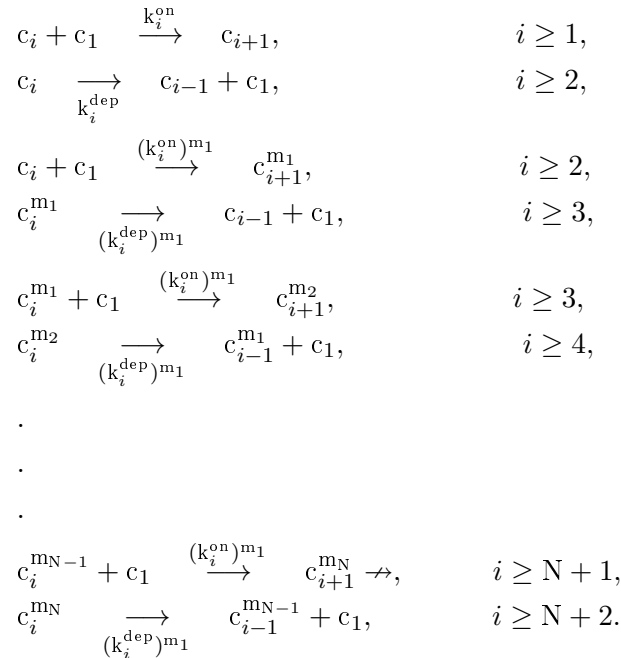


FIGURE 4.8 – Schéma considéré pour l'agrégation des fibres-monomères.

Comme pour les modèles précédents, ces réactions de polymérisation sont toutes inversibles, ce qui signifie que chaque fibre de degré de défaut m_j peut dépolymériser en fibre de degré m_{j-1} et ce avec un taux de réaction $(k_i^{\text{dep}})^{m_{j-1}}$. En rajoutant les réactions polymérisation/dépolymérisation classiques, nous pouvons résumer le tout dans le schéma réactionnel suivant :



En appliquant la loi d'action de masse à plusieurs reprises, on arrive à écrire le

système d'équations différentielles suivant :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dc_i}{dt} = -k_i^{\text{on}} c_1 c_i + k_{i-1}^{\text{on}} c_1 c_{i-1} - (k_i^{\text{on}})^{m_1} c_1 c_i - k_i^{\text{dep}} c_i + k_{i+1}^{\text{dep}} c_{i+1} + (k_{i+1}^{\text{dep}})^{m_1} c_{i+1}^2, \quad i \geq 2 \\ \frac{dc_i^{m_k}}{dt} = (k_{i-1}^{\text{on}})^{m_k} c_1 c_{i-1}^{m_k} - (k_i^{\text{dep}})^{m_k} c_i^{m_k} - (k_i^{\text{on}})^{m_{k+1}} c_1 c_i^{m_k} + (k_{i+1}^{\text{dep}})^{m_{k+1}} c_{i+1}^{m_{k+1}}, \quad i \geq k+2, \\ \hspace{25em} k = 1, \dots, N-1, \\ \frac{dc_i^{m_N}}{dt} = (k_{i-1}^{\text{on}})^{m_N} c_1 c_{i-1}^{m_N} - (k_i^{\text{dep}})^{m_N} c_i^{m_N}, \quad i \geq N+2, \\ \frac{dc_1}{dt} = \sum_{i \geq 2} \left(-k_i^{\text{on}} c_1 c_i + k_{i+1}^{\text{dep}} c_{i+1} \right) + \sum_{1 \leq k \leq N} \sum_{i \geq k+2} \left(-(k_i^{\text{on}})^{m_k} c_1 c_i^{m_k} + (k_{i+1}^{\text{dep}})^{m_k} c_{i+1}^{m_k} \right) \\ \hspace{25em} - \left(-k_1^{\text{on}} c_1^2 + k_2^{\text{dep}} c_2 \right). \end{array} \right. \quad (4.20)$$

Le système obtenu est infini et à $N+2$ composantes : les fibres classiques, les N fibres défectueuses et les monomères. Le nombre des différents degrés de défaut des fibres, nécessaire pour simuler correctement toutes les étapes expérimentales, est aussi à estimer avec l'ensemble (infini) des coefficients cinétiques.

Comme conditions initiales on pose :

$$\forall i \geq k+2, c_i^{m_k}(t=0) = 0, \quad \sum_{i \geq 2} c_i(t=0) =: P^{\text{total}} > 0, \quad \text{et} \quad \sum_{i \geq 1} i c_i(t=0) = \rho > 0. \quad (4.21)$$

Ainsi, l'intensité du signal SLS devient :

$$M_2^{\text{measured}} = \alpha \left(\sum_{i=1}^{\infty} i^2 c_i + \sum_{k=1}^N \sum_{i=k+2}^{\infty} i^2 c_i^{m_k} \right) + \beta.$$

4.3.1 Système simplifié

Nous émettons ici les hypothèses suivantes sur les coefficients cinétiques :

$$k_i^{\text{on}} = k^{\text{on}} \mathbb{1}_{2 \leq i < \infty}, \quad k_i^{\text{dep}} = k^{\text{dep}} \mathbb{1}_{2 < i \leq \infty}, \quad (4.22)$$

$$\forall 1 \leq k \leq N \quad (4.23)$$

$$(k^{\text{on}_m})_i^{m_k} = (k^{\text{on}_m})^{m_k} \mathbb{1}_{k+2 \leq i < \infty}, \quad (4.24)$$

$$(k^{\text{dep}_m})_i^{m_k} = (k^{\text{dep}_m})^{m_k} \mathbb{1}_{k+2 \leq i \leq \infty}, \quad (4.25)$$

où k^{on} , k^{on_m} , k^{dep} et k^{dep_m} sont des constantes.

• En ce qui concerne les fibres classiques, leur variation étant induite par les mêmes réactions que le modèle (4.1), les équation sommées des variations de P , M

et M^2 restent inchangées :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dP}{dt} = -k^{\text{on}_m} c_1 P + k^{\text{dep}_m} P^m, \\ \frac{dM}{dt} = k^{\text{on}} c_1 P - k^{\text{on}_m} c_1 M - k^{\text{dep}} P + k^{\text{dep}_m} (M^m - P^m), \\ \frac{dM^2}{dt} = k^{\text{on}} c_1 (2M + P) - k^{\text{on}_m} c_1 M^2 - k^{\text{dep}} (2M - P) + k^{\text{dep}_m} \left((M^m)^2 - 2M^m + P^m \right). \end{array} \right. \quad (4.26)$$

Il reste donc à sommer les équations de variations des fibres défectueuses, de même degré de défaut, entre elles.

• Pour $1 \leq k \leq N - 1$, la somme, sur toutes les tailles $i \geq k+2$, des équations de variations des concentrations c^{mk} donne :

$$\begin{aligned} \frac{dP^{\text{mk}}}{dt} &= \frac{d}{dt} \sum_{i \geq k+2} c_i^{\text{mk}} = \sum_{i \geq k+2} \frac{dc_i^{\text{mk}}}{dt}, \\ &= \sum_{i \geq k+2} \left((k_{i-1}^{\text{on}})^{\text{mk}} c_1 c_{i-1}^{\text{mk}-1} - (k_i^{\text{dep}})^{\text{mk}} c_i^{\text{mk}} - (k_i^{\text{on}})^{\text{mk}+1} c_1 c_i^{\text{mk}} + (k_{i+1}^{\text{dep}})^{\text{mk}+1} c_{i+1}^{\text{mk}+1} \right), \\ &= \sum_{i \geq k+1} k_i^{\text{on}}{}^{\text{mk}} c_1 c_i^{\text{mk}-1} - \sum_{i \geq k+2} (k_i^{\text{dep}})^{\text{mk}} c_i^{\text{mk}} - \sum_{i \geq k+2} (k_i^{\text{on}})^{\text{mk}+1} c_1 c_i^{\text{mk}} + \sum_{i \geq k+3} (k_{i+1}^{\text{dep}})^{\text{mk}+1} c_{i+1}^{\text{mk}+1}, \end{aligned}$$

Sous les hypothèses (4.22) et en notant par $P^{\text{mk}} := \sum_{i \geq k+2} c_i^{\text{mk}}(t)$ qui représente la concentration totale en fibres défectueuse de degré mk , sommées sur toutes les tailles $i \geq k+2$ et $M^{\text{mk}} := \sum_{i \geq k+2} i c_i^{\text{mk}}(t)$ qui représente leur moment d'ordre 1 ou leur masse totale sommée sur toutes les tailles $i \geq k+2$, on obtient :

$$\frac{dP^{\text{mk}}}{dt} = (k^{\text{on}})^{\text{mk}} c_1 P^{\text{mk}-1} - (k^{\text{dep}})^{\text{mk}} P^{\text{mk}} - (k^{\text{on}})^{\text{mk}+1} c_1 P^{\text{mk}} + (k^{\text{dep}})^{\text{mk}+1} P^{\text{mk}+1}.$$

En multipliant la concentration par la taille des fibres on obtient l'équation de variation de la masse :

$$\begin{aligned} \frac{dM^{\text{mk}}}{dt} &= \frac{d}{dt} \sum_{i \geq k+2} i c_i^{\text{mk}} = \sum_{i \geq k+2} i \frac{dc_i^{\text{mk}}}{dt}, \\ &= \sum_{i \geq k+2} i \left((k_{i-1}^{\text{on}})^{\text{mk}} c_1 c_{i-1}^{\text{mk}-1} - (k_i^{\text{dep}})^{\text{mk}} c_i^{\text{mk}} - (k_i^{\text{on}})^{\text{mk}+1} c_1 c_i^{\text{mk}} + (k_{i+1}^{\text{dep}})^{\text{mk}+1} c_{i+1}^{\text{mk}+1} \right), \\ &= c_1 \sum_{i \geq k+1} ((i+1) (k^{\text{on}})_i^{\text{mk}} c_i^{\text{mk}-1}) - \sum_{i \geq k+2} \left(i (k^{\text{dep}})_i^{\text{mk}} c_i^{\text{mk}} \right) \\ &\quad - \sum_{i \geq k+2} (i (k^{\text{on}})^{\text{mk}+1} c_1 c_i^{\text{mk}}) + \sum_{i \geq k+3} (i-1) (k^{\text{dep}})_i^{\text{mk}+1} c_i^{\text{mk}+1}. \end{aligned}$$

D'où :

$$\frac{dM^{\text{mk}}}{dt} = (k^{\text{on}})^{\text{mk}} c_1 (P^{\text{mk}-1} + M^{\text{mk}-1}) + (k^{\text{dep}})^{\text{mk}} M^{\text{mk}} - (k^{\text{on}})^{\text{mk}+1} c_1 M^{\text{mk}}.$$

- À présent, il s'agit de sommer l'équation de variation des concentrations des fibres qui ne polymérisent pas, les $c_i^{m_N}$, on obtient :

$$\begin{aligned} \frac{dP^{m_N}}{dt} &= \frac{d}{dt} \sum_{i \geq N+2} c_i^{m_N} = \sum_{i \geq N+2} \frac{dc_i^{m_N}}{dt}, \\ &= \sum_{i \geq N+2} \left((k^{\text{on}})_{i-1}^{m_N} c_1 c_{i-1}^{m_N-1} - (k^{\text{dep}})_i^{m_N} c_i^{m_N} \right), \\ &= c_1 \sum_{i \geq N+2} (k^{\text{on}})_{i-1}^{m_N} c_{i-1}^{m_N-1} - \sum_{i \geq N+2} (k^{\text{dep}})_i^{m_N} c_i^{m_N}. \end{aligned}$$

Tenant compte des conditions (4.22), l'équation en P^{m_N} devient :

$$\frac{dP^{m_N}}{dt} = (k^{\text{on}})^{m_N} c_1 P^{m_N-1} - (k^{\text{dep}})^{m_N} P^{m_N}.$$

De la même manière, on obtient l'équation de variation de la masse des fibres défectueuses de degré m_N :

$$\begin{aligned} \frac{dM^{m_N}}{dt} &= \frac{d}{dt} \sum_{i \geq N+2} i c_i^{m_N} = \sum_{i \geq N+2} i \frac{dc_i^{m_N}}{dt}, \\ &= \sum_{i \geq N+2} i \left((k^{\text{on}})_{i-1}^{m_N} c_1 c_{i-1}^{m_N-1} - (k^{\text{dep}})_i^{m_N} c_i^{m_N} \right), \\ &= c_1 \sum_{i \geq N+2} i (k^{\text{on}})_{i-1}^{m_N} c_{i-1}^{m_N-1} - (k^{\text{dep}})^{m_N} \sum_{i \geq N+2} i c_i^{m_N}. \end{aligned}$$

Après réindexation, et toujours sous les conditions (4.22), on obtient :

$$\frac{dM^{m_N}}{dt} = (k^{\text{on}})^{m_N} c_1 (P^{m_N-1} + M^{m_N-1}) - (k^{\text{dep}})^{m_N} M^{m_N}.$$

- Et finalement, l'équation de variation des monomères c_1 du système (4.20) s'écrit :

$$\frac{dc_1}{dt} = -k^{\text{on}} c_1 P + k^{\text{dep}} P + \sum_{1 \leq k \leq N} \left(-(k^{\text{on}})^{m_k} c_1 P^{m_k-1} + (k^{\text{dep}})^{m_k} P^{m_k} \right).$$

Et lorsque $k = N$,

$$\frac{d(M^2)^{m_N}}{dt} = \sum_{i \geq N+2} i^2 \frac{dc_i^{m_N}}{dt},$$

$$\frac{d(M^2)^{m_N}}{dt} = (k^{\text{on}})^{m_N} c_1 ((M^2)^{m_{N-1}} + 2M^{m_{N-1}} + P^{m_{N-1}}) - (k^{\text{dep}})^{m_N} (M^2)^{m_N}.$$

Et la variation du moment d'ordre deux s'exprime comme suit :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dM^2}{dt} = k^{\text{on}} c_1 (2M + P) - (k^{\text{on}})^{m_1} c_1 M^2 - k^{\text{dep}} (2M - P) + (k^{\text{dep}})^{m_1} ((M^2)^{m_1} - 2M^{m_1} + P^{m_1}) \\ \frac{d(M^2)^k}{dt} = (k^{\text{on}})^{m_k} c_1 ((M^2)^{m_{k-1}} + 2M^{m_{k-1}} + P^{m_{k-1}}) - (k^{\text{dep}})^{m_k} (M^2)^{m_k} - (k^{\text{on}})^{m_{k+1}} c_1 (M^2)^{m_k} \\ \quad + (k^{\text{dep}})^{m_{k+1}} ((M^2)^{m_{k+1}} - 2M^{m_{k+1}} + P^{m_{k+1}}) \\ \frac{d(M^2)^{m_N}}{dt} = (k^{\text{on}})^{m_N} c_1 ((M^2)^{m_{N-1}} + 2M^{m_{N-1}} + P^{m_{N-1}}) - (k^{\text{dep}})^{m_N} (M^2)^{m_N} \end{array} \right.$$

D'où l'expression du M_2^{measured}

$$\frac{dM_2^{\text{measured}}}{dt} = \sum_{1 \leq k \leq N} (2(k^{\text{on}})^{m_k} c_1 M^{m_{k-1}} - 2(k^{\text{dep}})^{m_k} (M^{m_k} - P^{m_k})) + 2k^{\text{on}} c_1 M - 2k^{\text{dep}} (M - P).$$

4.3.2 États stationnaires et équilibres

Une solution stationnaire du système (4.27) est définie par :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dP}{dt} = 0, \\ \frac{dP^{m_k}}{dt} = 0, \quad k = 1, \dots, N-1, \\ \frac{dP^{m_N}}{dt} = 0, \\ \frac{dM}{dt} = 0, \\ \frac{dM^{m_k}}{dt} = 0, \quad k = 1, \dots, N-1, \\ \frac{dM^{m_N}}{dt} = 0, \\ \frac{dc_1}{dt} = 0. \end{array} \right.$$

Or, l'équation de variation des fibres défectueuses de degrés m_k , $1 \leq k \leq N - 1$,

$$\frac{dP^{m_k}}{dt} = 0,$$

implique que, pour $1 \leq k \leq N - 1$, on a :

$$(k^{\text{on}})^{m_k} c_1 P^{m_{k-1}} - (k^{\text{dep}})^{m_k} P^{m_k} - (k^{\text{on}})^{m_{k+1}} c_1 P^{m_k} + (k^{\text{dep}})^{m_{k+1}} P^{m_{k+1}} = 0,$$

ce qui revient à écrire, pour $1 \leq k \leq N - 1$,

$$(k^{\text{on}})^{m_k} c_1 P^{m_{k-1}} - (k^{\text{dep}})^{m_k} P^{m_k} = (k^{\text{on}})^{m_{k+1}} c_1 P^{m_k} - (k^{\text{dep}})^{m_{k+1}} P^{m_{k+1}}.$$

En particulier, pour $k = 1$, on a :

$$(k^{\text{on}})^{m_1} c_1 P - (k^{\text{dep}})^{m_1} P^{m_1} = (k^{\text{on}})^{m_2} c_1 P^{m_2} - (k^{\text{dep}})^{m_2} P^{m_2}.$$

D'un autre côté, l'équation d'équilibre des fibres classiques donne :

$$\frac{dP}{dt} = 0 \Rightarrow -(k^{\text{on}})^{m_1} c_1 P + (k^{\text{dep}})^{m_1} P^{m_1} = 0.$$

Ce qui implique que

$$(k^{\text{on}})^{m_1} c_1 P - (k^{\text{dep}})^{m_1} P^{m_1} = (k^{\text{on}})^{m_2} c_1 P^{m_2} - (k^{\text{dep}})^{m_2} P^{m_2} = 0,$$

et de proche en proche, pour $1 \leq k \leq N - 1$, on obtient

$$\begin{aligned} (k^{\text{on}})^{m_k} c_1 P^{m_{k-1}} - (k^{\text{dep}})^{m_k} P^{m_k} &= (k^{\text{on}})^{m_{k+1}} c_1 P^{m_k} - (k^{\text{dep}})^{m_{k+1}} P^{m_{k+1}} = 0, \\ \Rightarrow (k^{\text{on}})^{m_k} c_1 P^{m_{k-1}} - (k^{\text{dep}})^{m_k} P^{m_k} &= 0, \quad 1 \leq k \leq N - 1. \end{aligned}$$

En y rajoutant l'équation d'équilibres des fibres de degré de défaut m_N

$$\frac{dP^{m_N}}{dt} = 0 \Rightarrow (k^{\text{on}})^{m_N} c_1 P^{m_{N-1}} - (k^{\text{dep}})^{m_N} P^{m_N} = 0,$$

on obtient

$$(k^{\text{on}})^{m_k} \tilde{c}_1 P^{\tilde{m}_{k-1}} - (k^{\text{dep}})^{m_k} P^{\tilde{m}_k} = 0, \quad \forall k = 1, \dots, \leq N. \quad (4.29)$$

L'équilibre des monomères, quant à lui, donne :

$$\frac{dc_1}{dt} = -k^{\text{on}} c_1 P + k^{\text{dep}} P + \sum_{1 \leq k \leq N} (-(k^{\text{on}})^{m_k} c_1 P^{m_{k-1}} + (k^{\text{dep}})^{m_k} P^{m_k}) = 0.$$

Or, depuis (4.29) il découle que

$$\sum_{1 \leq k \leq N} (-(k^{\text{on}})^{m_k} c_1 P^{m_{k-1}} + (k^{\text{dep}})^{m_k} P^{m_k}) = 0,$$

L'équilibre des monomères s'écrit alors :

$$(k^{\text{on}} \tilde{c}_1 - k^{\text{dep}}) \tilde{P} = 0.$$

De la même manière que pour le modèle (4.13), on montre que $\tilde{P} = 0$ n'est pas un équilibre possible pour le système (4.27). En effet, supposons que $\tilde{P} = 0$, les équations (4.29) impliquent que

$$P^{\tilde{m}_k} = 0, \quad \forall k = 1, \dots, N,$$

et donc que

$$\sum_{k=1}^N P^{\tilde{m}_k} = P^{total} = 0,$$

ce qui est contradictoire avec la condition initiale $P^{total} > 0$ (4.28).

L'unique équilibre du système (4.27) est donc donné par

$$k^{on} \tilde{c}_1 - k^{dep} = 0. \quad (4.30)$$

L'équilibre des monomères du modèle à N fibres défectueuses (4.27) est alors le même équilibre que celui du modèle à une fibre défectueuse (4.13) ainsi que celui du modèle classique (2.2.1). Ce qui suggère que le modèle (4.27) ne sera pas plus précis que le modèle à une seule fibre (4.13).

4.3.3 Schémas numériques : remarques et précisions

• La résolution des précédents systèmes différentiels est faite sous le logiciel de calcul matriciel Matlab en utilisant la routine **ode23tb** qui est l'implémentation numérique d'une formule implicite de Runge-Kutta à deux phases [29,31-33].

Notons par X le vecteur d'état regroupant les quantités mesurées P, M et c_1 (aussi P^m, M^m , selon le modèle étudié), et par $F(X)$ la fonctionnelle telle que

$$\frac{dX}{dt} = F(X) \tag{4.31}$$

soit le système différentiel à intégrer.

Le schéma utilisé pour résoudre (4.31) entre les instants t_n et $t_{n+1} = t_n + \Delta t_n$ est d'abord une intégration par trapèzes sur $[t_n, t_{n+\delta}]$ où $t_{n+\epsilon} = t_n + \epsilon \Delta t_n$ ([18,32]) :

$$X^{n+\epsilon} - X^n = \epsilon \frac{\Delta t_n}{2} (F^{n+\epsilon} + F^n).$$

La première phase d'une étape itérative consiste donc à résoudre :

$$X^{n+\epsilon} - \epsilon \frac{\Delta t_n}{2} F^{n+\epsilon} = X^n + \epsilon \frac{\Delta t_n}{2} F^n.$$

La deuxième phase de cette même étape consiste à avancer entre $t_{n+\epsilon}$ et t_{n+1} en utilisant une formule de différences finies décentrée (arrière) du second ordre [18,32]. Le choix de cet algorithme de résolution est justifié par sa stabilité [31-33].

• Les expériences simulées dans ce chapitre sont faites de plusieurs étapes d'ajout de monomères au soluté. L'ajout se fait par des volumes de soluté concentrés en monomères. Chaque ajout implique donc une dilution du soluté total, que l'on calcul selon les formules suivantes :

$$\text{Facteur de dilution des fibres} = \frac{\text{Volume initial}}{\text{Volume initial} + \text{Volume ajouté}};$$

$$\text{Facteur de dilution des monomères} = \frac{\text{Volume ajouté}}{\text{Volume initial} + \text{Volume ajouté}};$$

Les nouvelles mesures du vecteur d'état X deviennent alors à l'instant t_n :

$$X^{\text{dilué}^n}(i) = X^n(i) \cdot \text{Facteur de dilution.}$$

$$\text{où Facteur de dilution} = \begin{cases} \text{Facteur de dilution des fibres} & \text{si } X(i) \neq c_1, \\ \text{Facteur de dilution des monomères} & \text{si } X(i) = c_1. \end{cases}$$

Le vecteur $X^{\text{dilué}}$ devient le vecteur d'état initial pour l'étape expérimentale suivante :

$$X^{n+1} = X^{\text{dilué}^n}$$

$$\text{Volume initial}^{n+1} = \text{Volume initial}^n + \text{Volume ajouté}^n.$$

- Concernant les données utilisées, étant beaucoup bruitées initialement, une étape de débruitage a été nécessaire. Pour se faire, un schéma des ondelettes leur a été appliqué, utilisant la routine Matlab **FWT_PO** (pour Forward Wavelet Transform, Periodized-Orthogonal). Cette méthode s'ajoute aux outils classiques d'analyse du signal [45].

La décomposition en ondelettes est une variante de celle en transformées de Fourier, et elle est donnée par la formule suivante :

$$g(a, b) = \int_{-\infty}^{\infty} f(t) \bar{\psi}_{(a,b)}(t) dt$$

où : f représente le signal des données, ψ une fonction obtenue par une translation de facteur b et une dilatation de facteur a d'une fonction particulière, appelée ondelette mère.

L'algorithme utilisé par **FWT_PO** reçoit en entrée le signal temporel SLS , et renvoi en sortie la projection de ce signal sur une base d'ondelette. Elle met l'accent sur les caractéristiques importantes du signal [14, 57].

Conclusion

Dans ce travail nous nous sommes intéressés à la modélisation de l'agrégation des protéines prion, en nous basant sur des résultats d'expériences biologiques mettant en jeu l'incorporation d'unités monomériques de prion sur des fibres de prion. Ces résultats expérimentaux ne procurent pas un accès direct aux concentrations des fibres en fonction de leur taille, mais reflètent le moment d'ordre 2 du système.

Deux modèles ont été envisagés. Le premier, le système de Becker-Döring, supposait que l'évolution du système fibres-monomères est essentiellement due à deux réactions : la polymérisation et la dépolymérisation. En estimant approximativement les paramètres cinétiques de ces réactions, les observations biologiques portant sur la première étape d'une quantité de monomères ont été mimées de manière satisfaisante.

Ceci étant, après l'équilibre du système, simuler un ajout supplémentaire d'une quantité de monomères relance la polymérisation du système, toujours selon le schéma polymérisation/dépolymérisation et ce mécanisme est amplifié de façon croissante à chaque ajout. Ce dernier résultat numérique contredisant l'observation biologique, une nouvelle hypothèse de réaction fibres-monomères a été introduite.

Le nouveau modèle obtenu est un modèle se basant sur deux réactions réversibles : polymérisation/dépolymérisation et polymérisation en fibres à défaut/ dépolymérisation, les fibres à défaut étant supposées incapables de se polymériser davantage. Ce modèle, après étude numérique, nous permet de reproduire la deuxième étape expérimentale d'ajout de monomères.

La plupart des mécanismes biologiques fibres-monomères étant hypothétiques, d'autres hypothèses pourraient être tester pour améliorer l'adhésion des simulations aux expériences biologiques et pour reproduire les étapes suivantes des expériences. Il serait intéressant de tester une agrégation faisant intervenir plusieurs extrémités des fibres, ou un mécanisme de formation de fibres à défaut nécessitant l'addition de plusieurs monomères consécutifs. Cela pourrait permettre d'affiner notre modèle pour à terme clarifier les processus régissant le recrutement de protéines non-pathogènes par des fibres amyloïdes.

ANNEXE A

Proceedings : Modelling and Analysis of Protein Aggregation

MODELLING AND ANALYSIS OF PROTEIN AGGREGATION - COMPETING PATHWAYS IN PRION (PRP) POLYMERISATION

WAFÂ HAFFAF¹ AND STÉPHANIE PRIGENT²

Abstract. Protein aggregation leading to the formation of amyloid fibrils is involved in several neurodegenerative diseases such as prion diseases. To clarify how these fibrils are able to incorporate additional units, prion fibril aggregation and disaggregation kinetics were experimentally studied using Static Light Scattering (SLS). Values that are functions of $\sum_{i \geq 1} i^2 c_i$, with c_i being the concentration of fibrils of size i , were then measured as a function of time. An initial model, adapted from the Becker-Döring system that considers all fibrils to react similarly is not able to reproduce the observed *in vitro* behaviour. Our second model involves an additional compartment of fibrils unable to incorporate more prion units. This model leads to kinetic coefficients which are biologically plausible and correctly simulates the first experimental steps for prion aggregation.

Résumé. L'agrégation des protéines conduisant à la formation de fibres amyloïdes est impliquée dans plusieurs maladies neurodégénératives telles que les maladies à prion. Pour clarifier la manière dont les fibres de prion incorporent des unités supplémentaires, les cinétiques d'agrégation et de désagrégation des fibres ont été étudiées expérimentalement (par SLS, "Static Light Diffusion"). Ainsi des valeurs fonction de $\sum_{i \geq 1} i^2 c_i$ avec c_i la concentration en fibres de taille i ont été obtenues en fonction du temps.

Un premier modèle, adapté du système de Becker-Döring, qui considère que la totalité des fibres réagit de manière similaire ne permet pas de reproduire le comportement observé *in vitro*. Notre deuxième modèle met en jeu un compartiment additionnel de fibres incapables d'incorporer davantage d'unités de PrP. Celui-ci aboutit à des coefficients cinétiques biologiquement plausibles et simule correctement les premières étapes expérimentales de l'agrégation de prions.

Keywords:

aggregation; prion; fibril; modelling; polymerisation; Becker-Döring; parameter estimation; protein; PrP

INTRODUCTION

More than twenty diseases, known as amyloid diseases and which include Alzheimer's, Huntington's and prion diseases are due to the conversion of a protein structure into a misfolded conformation that induces protein aggregation. Recent studies have shown that injections of aggregated proteins involved in Alzheimer's and Parkinson's diseases follow a prion-like mechanism behaviour by a cell-to-cell transmission [6]. However, the

¹ Inria, Paris-Rocquencourt, Domaine de Voluceau, BP105, 78153 Le Chesnay, France; LJLL, Laboratoire Jacques-Louis Lions, Pierre et Marie Curie University, Boite courrier 187, 75252 Paris Cedex 05, France)

² Inria; LJLL; INRA, VIM, Domaine de Vilvert, 78352 Jouy-en-Josas cedex, France

exact mechanisms for incorporating prion (PrP) protein to a prion aggregate remain to be clarified. To better understand how PrP fibrils can recruit PrP molecules that were not misfolded, we have studied the kinetics of PrP fibril elongation, focusing on polymerisation through the addition of monomer(s) on fibrils. A loss of fibril ability for further polymerisation was experimentally observed after a given number of additions of monomers. Among several hypothetical mechanisms and according to different experiments [7], a hypothetical occurrence of a structural defect on fibrils could explain this loss of the ability to polymerise.

Relying on the iterative modeling process, we have written two models for the simulation of prion polymerisation/depolymerisation. The first model, the basic one, led us to the Becker-Döring system for phase transition phenomena. Nevertheless, this model was unable to reproduce the loss of fibril ability for polymerisation. The second model involves the formation of fibrils with a structural defect preventing them from any further polymerisation. This model, with suitable parameter estimations, numerically reproduces part of the empirically observed curves of prion fibril kinetics.

1. BIOLOGICAL EXPERIMENTS

To clarify prion aggregation mechanisms, polymerisation and depolymerisation of prion fibrils were studied *in vitro* as a function of time, starting from preformed fibrils. These experiments were set up and performed by the team of Dr. H. Rezaei, Dr. D. Martin and Dr. J. Torrent Y Mas from INRA (Jouy-en-Josas, France). The kinetics were followed by SLS (Static Light Scattering) performed on a cuvette containing PrP fibrils in an aqueous buffer solution. SLS measures $\alpha(\sum_{i \geq 1} i^2 c_i) + \beta$, with c_i being the concentration of polymers of size i , and α and β being parameters that are constant during each experiment. Because the experimental sample is a heterogeneous mixture of polymers of various sizes, this technique does not give access to the concentration of polymers of a precise size. To clarify the mechanisms involved in fibril growth once fibrils have formed, i.e. how additional monomers are recruited by fibrils, the experimental approach consisted in successive additions of monomers on fibrils (Figure 1). At time 0 a first addition of monomers was performed on the fibrils. The following additions of monomers were made once the SLS measurement had reached a quasi plateau. After a certain number of additions of human PrP monomers on human PrP fibrils, the SLS signal did not increase any further. However, the SLS signal was increased by a further addition of mutant PrP monomers that differ from human PrP monomers in their structure. This observation and other experiments indicate that fibrils growth probably does not stop simply because the fibril has reached a certain size [7]. Complementary experiments using another technique (spectrophotometry) were also performed to get a crude estimate of the concentration of free monomers at the end of the first two plateaux; these indicated that only a small percentage of initial monomers was incorporated onto fibrils.

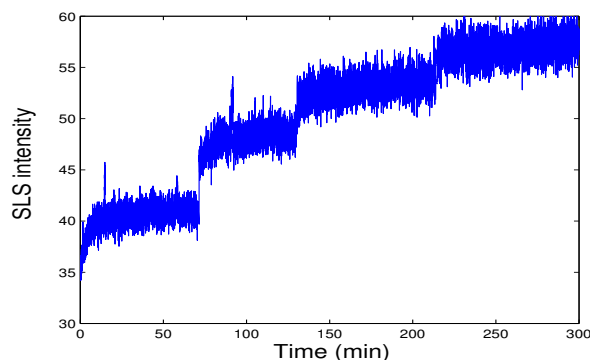


FIGURE 1. SLS experimental data of successive additions of monomers on PrP human fibrils

2. BASIC MODEL FOR FIBRIL-MONOMER REACTION

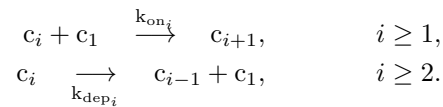
We start this modeling process by considering only *classic* prion fibrils with their *basic* reactions, which results in the following model.

2.1. Basic model

An i -sized polymer can gain a free monomer to become an $(i + 1)$ -sized polymer. This reaction is called polymerisation, it occurs with a non-negative size-dependant rate k_{on_i} .

An i -sized polymer can also release a monomer, giving rise to a smaller polymer, of size $i - 1$, and a free monomer. This reaction is named depolymerisation. It occurs with a non-negative size-dependant rate, k_{dep_i} .

Denoting by c_i the concentration in polymers of size i , with $i = 1, 2, \dots$, we get the following scheme of reactions:



In terms of equations, it gives the well-known Becker-Döring system [2] :

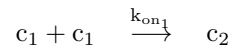
$$\begin{cases} \frac{dc_i}{dt} = -k_{on_i} c_1 c_i + k_{on_{i-1}} c_1 c_{i-1} - k_{dep_i} c_i + k_{dep_{i+1}} c_{i+1} & i \geq 2, \\ \frac{dc_1}{dt} = - \sum_{i=2}^{\infty} (k_{on_i} c_1 c_i - k_{dep_{i+1}} c_{i+1}) - 2(k_{on_1} c_1^2 - k_{dep_2} c_2). \end{cases} \quad (1)$$

This is obtained directly from the schemes reactions, using the law of mass action several times. One can notice that a particular equation is needed for the variation of concentration of 1-sized particules that are called monomers. This is due to their interaction in all the processes.

A detailed qualitative study of this system was carried out in several articles, such as [1], [3], and [5]. In [1], the authors give theorems of existence, uniqueness, continuous dependence of initial data and the fundamental mass conservation property:

$$c_1(t) = \sum_{i=1}^{\infty} (i c_i(0)) - \sum_{i=2}^{\infty} (i c_i(t)).$$

For new fibrils to be created through the reaction



biologically requires a greater time than the time-scale of the experiments reported here. This was deduced through a control experiment where a constant signal was observed when using only monomers in the same duration (300min). Therefore, the coefficient k_{on_1} is assumed to be null ($k_{on_1} = 0$).

2.2. Simplified system

To gain further qualitative insight into the dynamics of these equations and a concrete idea about the order of magnitude of the kinetics coefficients k_{on} and k_{dep} , we initially consider a simplified system (which we will make more complex afterwards). This involves a summation of all the equations of the infinite Becker-Döring system (1) over all sizes. The simplification is the assumption we make on the coefficients k_{on} and k_{dep} by considering them to be constant. As all the fibrils are almost the same size, this assumption is justified. Moreover, we consider a time-scale where the concentration in dimers, c_2 , is negligible. This results in the following simplified system :

$$\begin{cases} \frac{dP}{dt} = 0 \\ \frac{dM}{dt} = k_{\text{on}}c_1P - k_{\text{dep}}P \\ \frac{dc_1}{dt} = -k_{\text{on}}c_1P + k_{\text{dep}}P \end{cases} \quad (2)$$

where $P = \sum_{i \geq 2} c_i(t)$ represents the total concentration of fibrils summed over all sizes $i \geq 2$,

$M = \sum_{i \geq 2} ic_i(t)$ represents the total mass of fibrils summed over all sizes $i \geq 2$,

c_1 the concentration of monomers.

The total mass conservation is then obvious.

The equation of the second order moment (measured data) variation is also simplified into :

$$\frac{dM_2^{\text{measured}}}{dt} = 2M(k_{\text{on}}c_1 - k_{\text{dep}}) + 2k_{\text{dep}}P$$

and once the closed simplified system (2) has been solved, an analytical expression for M_2^{measured} can be easily deduced. Indeed, after integrating (2) we get :

$$\begin{cases} P = P^{\text{in}} \\ M(t) = M^{\text{in}} - k_{\text{on}}(c_1^{\text{in}} - c_1^{\text{eq}})e^{-k_{\text{on}}P^{\text{in}}t}P^{\text{in}} + (c_1^{\text{in}} - c_1^{\text{eq}}) \\ c_1(t) = (c_1^{\text{in}} - c_1^{\text{eq}})e^{-k_{\text{on}}P^{\text{in}}t} + c_1^{\text{eq}} \end{cases} \quad (3)$$

where $P^{\text{in}} = P(0)$ represents the initial total concentration of polymers and $M^{\text{in}} = M(0)$ their initial total mass, $c_1^{\text{in}} = c_1(t=0)$ the initial concentration of monomers and $c_1^{\text{eq}} = \frac{k_{\text{dep}}}{k_{\text{on}}}$ the concentration of monomers at equilibrium state (when $\frac{dc_1}{dt} = 0$, see (2)).

Thus,

$$M_2^{\text{measured}} = A + B(e^{-k_{\text{on}}P^{\text{in}}t} - 1) + C(e^{-2k_{\text{on}}P^{\text{in}}t} - 1) + 2k_{\text{dep}}P^{\text{in}}t,$$

with $A = M_2^{\text{in}}$, $B = -\frac{2}{P^{\text{in}}}(M^{\text{in}} + c_1^{\text{in}} - c_1^{\text{eq}})(c_1^{\text{in}} - c_1^{\text{eq}})$ and $C = \frac{(c_1^{\text{eq}} - c_1^{\text{in}})^2}{P^{\text{in}}}$.

One can notice from the mass expression $M(t)$ above that we need to assume $c_1^{\text{eq}} = \frac{k_{\text{dep}}}{k_{\text{on}}} \leq c_1^{\text{in}} + M^{\text{in}}$, else neglecting c_2 in (1) is not valid and $M(t)$ defined by (3) would become negative for large time.

The next step is then to estimate the parameters k_{on} , k_{dep} , α and β using the experimental data of *SLS* with $SLS = \alpha M_2^{\text{measured}} + \beta$.

We reformulate this inverse problem into the minimisation of the corresponding least squares criterion

$$J(k_{\text{on}}, k_{\text{dep}}, \alpha, \beta) = \sum_{i=1}^n \left| \left(\alpha M_2^{\text{measured}}(t_i; k_{\text{on}}, k_{\text{dep}}) + \beta \right) - SLS(t_i) \right|^2$$

The uniqueness of the solution is, as for most non-linear inverse problems, non-trivial. This is essentially due to the non-convexity of the *cost functional* J .

This minimisation allows us to get a satisfactory estimation for the first step of the experiments (Figure 2), but only for the first addition of monomers. At each new addition of monomers to the solute, fibrils once again start polymerising, consuming monomers. Despite the fact that the consumption of monomers is lower than in

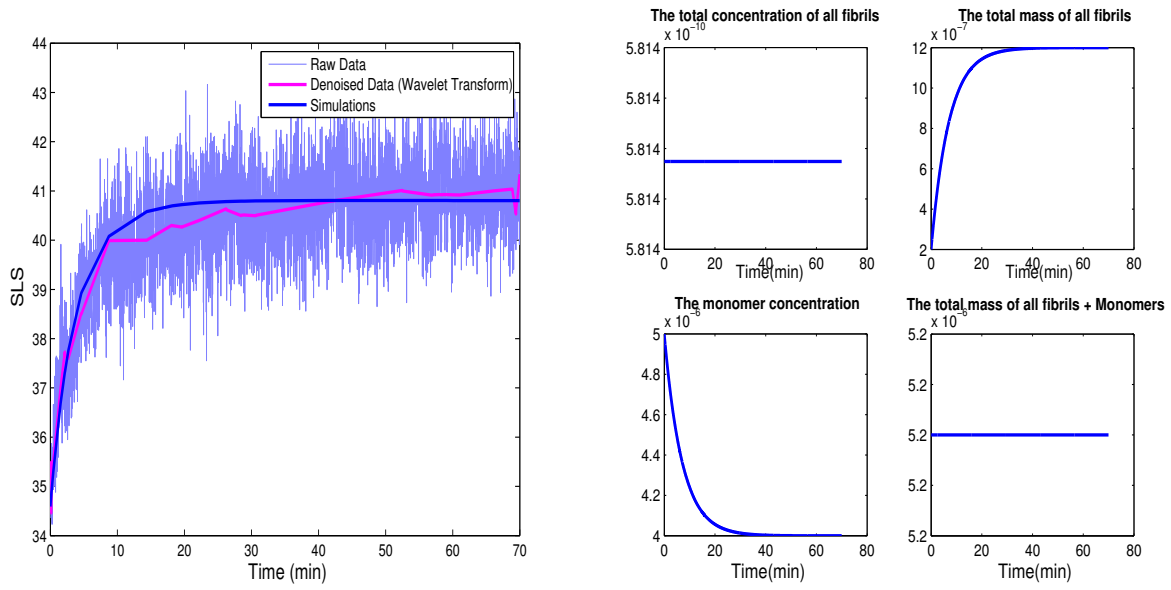


FIGURE 2. Simulation of the first addition of monomers. (Quantities are in $mol.L^{-1}$.)

the first step (due to volume dilution in the cuvette), the gap between two successive additions is higher and higher (Figure 3). This is due to the i^2 term in the simulated quantity $\alpha(\sum_{i \geq 1}^n i^2 c_i) + \beta$ (Figure 3).

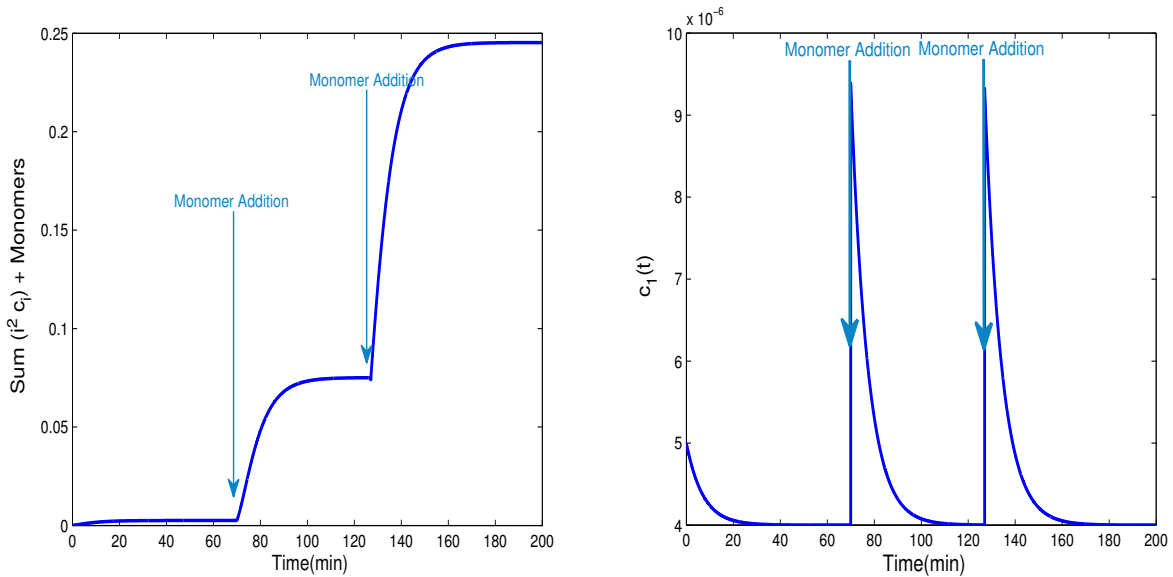


FIGURE 3. Simulation of the first three additions of monomers with solute-dilution in the second and third ones.

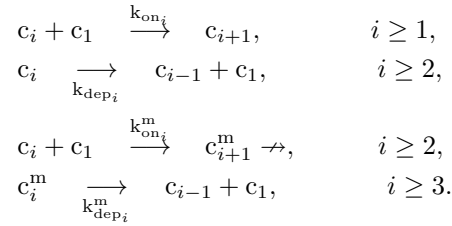
We conclude here that a stop pathway is needed to slow down the polymerisation of fibrils and the growth of their average size i and, hence, i^2 .

3. TWO-COMPARTMENT MODEL

3.1. Discrete model

To force the polymerisation to stop, we set the hypothesis of creating a different fibril that will no longer be able to polymerise due to a defect in its structure.

This *defective* fibril would be the result of the polymerisation of a *classic* fibril with a polymerisation rate k_{on}^m . We denote by c_i^m the concentration of the defective fibrils of size i . The reactions are now:



Which can be translated into the following ordinary differential equations system :

$$\left\{ \begin{aligned} \frac{dc_i}{dt} &= -k_{\text{on}_i} c_1 c_i + k_{\text{on}_{i-1}} c_1 c_{i-1} - k_{\text{on}_i}^m c_1 c_i - k_{\text{dep}_i} c_i \\ &\quad + k_{\text{dep}_{i+1}} c_{i+1} + k_{\text{dep}_{i+1}}^m c_{i+1}^m, \quad i \geq 2 \\ \frac{dc_i^m}{dt} &= k_{\text{on}_{i-1}}^m c_1 c_{i-1} - k_{\text{dep}_i}^m c_i^m, \quad i \geq 3 \\ \frac{dc_1}{dt} &= - \sum_{i=2}^{\infty} k_{\text{on}_i} c_1 c_i - \sum_{i=2}^{\infty} k_{\text{on}_i}^m c_1 c_i + \sum_{i=2}^{\infty} k_{\text{dep}_i} c_i + \sum_{i=3}^{\infty} k_{\text{dep}_i}^m c_i^m \\ &\quad - 2(k_{\text{on}_1} c_1^2 - k_{\text{dep}_2} c_2) \end{aligned} \right.$$

3.2. The two-compartment simplified system

We denote by $P^m = \sum_{i \geq 3} c_i^m(t)$ the total concentration of defective polymers.

$M^m = \sum_{i \geq 3} i c_i^m(t)$ the total mass of defective polymers.

Summing once again over all sizes, we obtain the following system :

$$\left\{ \begin{aligned} \frac{dP}{dt} &= -k_{\text{on}}^m c_1 P + k_{\text{dep}}^m P^m \\ \frac{dP^m}{dt} &= k_{\text{on}}^m c_1 P - k_{\text{dep}}^m P^m \\ \frac{dM}{dt} &= k_{\text{on}} c_1 P - k_{\text{on}}^m c_1 M - k_{\text{dep}} P + k_{\text{dep}}^m (M^m - P^m) \\ \frac{dM^m}{dt} &= k_{\text{on}}^m c_1 (P + M) - k_{\text{dep}}^m M^m \\ \frac{dc_1}{dt} &= -k_{\text{on}} c_1 P - k_{\text{on}}^m c_1 P + k_{\text{dep}} P + k_{\text{dep}}^m P^m \end{aligned} \right. \quad (4)$$

and the measured data :

$$\frac{dM_2^{measured}}{dt} = 2c_1M(k_{on} + k_{on}^m) + 2k_{dep}(P - M) + 2k_{dep}^m(P^m - M^m) \quad (5)$$

In order to fit the experimental data for the first addition of monomers, kinetic parameters for the two-compartment model were obtained as follows.

We suppose the fibrils to be exclusively composed of classic fibrils at time 0, and that defective fibrils are absent. We start with a simplified view of the system to obtain certain values of kinetic constants able to fit the data. For this reason, we consider that at the beginning of the experiment the system is nearly a model with only one compartment.

For the basic model, we can deduce from (3) that after a certain time denoted t^{eq} (for equilibrium time), the quantity $(c_1^{in} - c_1^{eq})e^{-k_{on}P^{in}t^{eq}}$ is negligible when compared to c_1^{eq} . We consider $e^{-k_{on}P^{in}t^{eq}}$ in the 10^{-1} range, i.e. $-k_{on}P^{in}t^{eq} \simeq -2$. Therefore, for the basic model, we have approximately :

$$\begin{aligned} k_{on}P^{in}t^{eq} &= 2 \\ \Rightarrow k_{on} &= \frac{2}{P^{in}t^{eq}} \end{aligned} \quad (6)$$

By analogy with the basic model, after replacing P^{in} (P initial) by P^{eq} (P of classic fibrils at equilibrium state) in the k_{on} formula (6) from the basic model, we can obtain certain values of k_{on} and k_{dep} , for the two-compartment model, able to fit the first minutes. To calculate k_{on} , we use a fixed value for $t^{eq} = 8$ min (chosen from the minimal time where the experimental SLS slope reaches nearly 0).

For k_{dep} , with $k_{dep} = k_{on}c_1^{eq}$, we use $\frac{75}{100}c_1^{in} \leq c_1^{eq} \leq \frac{96}{100}c_1^{in}$ (from experimentally estimated values of c_1) where $c_1^{in} = 5.10^{-6}mol.L^{-1}$.

In this way, during the first minutes, the concentration of consumed c_1 is modulated by the classic fibrils (more exactly by the ratio k_{dep}/k_{on}) whereas any effect of the few defective fibrils on the concentration of monomers can be ignored. This analogy with the 'basic model' offers access to a part of the sets of plausible kinetic constants able to fit the first addition of monomers.

Once k_{on} and k_{dep} were calculated as functions of $P^{m^{eq}}$ (the concentration of defective fibrils at equilibrium state, with a value from 0 to 100 % of P^{in}), the kinetic constants k_{dep}^m and then k_{on}^m for defective fibrils were deduced. k_{dep}^m was got by a small inverse problem (using the Matlab routine `fminsearch`) from a broad range of potential k_{dep}^m values ($0 \leq k_{dep}^m \leq 10^4$).

k_{on}^m was deduced from the equilibrium state between classic and defective fibrils:

$$\begin{aligned} \frac{dP}{dt} = \frac{dP^m}{dt} &= 0 & \Rightarrow -k_{on}^m c_1 P + k_{dep}^m P^m &= 0 \\ \Rightarrow k_{on}^m &= \frac{k_{dep}^m P^m}{c_1 P} \end{aligned}$$

Table 1 presents calculated values for the kinetic parameters allowing us to reproduce the SLS signal for the first addition of monomers. Each percentage of defective fibrils, from 0 up to 100 % of the initial concentration of total fibrils, P^{in} , allows the SLS signal to be mimicked for the first addition of monomers; this was accompanied by a broad range of k_{on}^m (0 to $3.10^{12}mol.L^{-1}.min^{-1}$) and of k_{dep}^m (0 to 1.10^4min^{-1}).

The next step is to fit the effect of a second addition of monomers on the SLS signal once this signal has reached a plateau. To reach this goal, let us focus on and try to simplify the term representative of the SLS signal, $\alpha M_2^{measured} + \beta$ (with α and β being constant as previously mentioned)

P_m^{eq} (% of P_{total})	k_{on}	k_{dep}	k_{on}^m	k_{dep}^m
0	4.10^8	2.10^3	0	0
0.5	4.10^8	2.10^3	1.10^1 to 1.10^7	8.10^{-3} to 1.10^4
10	5.10^8	2.10^3	2.10^3	6.10^{-2}
30	6.10^8	2.10^3	1.10^7 to 1.10^9	1.10^2 to 1.10^4
50	9.10^8	3.10^3	2.10^7	1.10^2
80	2.10^9	8.10^3	1.10^8	1.10^2
95	9.10^9	3.10^4	3.10^7	10
99	4.10^{10}	2.10^5	3.10^7 to 1.10^9	1 to 10
99.99	4.10^{12}	2.10^7	3.10^9 to 3.10^{12}	1 to 1.10^3
0 to 100%	4.10^8 to 4.10^{12}	2.10^3 to 2.10^7	0 to 3.10^{12}	0 to 1.10^4

TABLE 1. Kinetic constants (k_{on} , k_{on}^m , k_{dep} and k_{dep}^m) able to fit the first addition of monomers for the two-compartment model. k_{on} and k_{dep} are obtained by analogy with the basic model, k_{on}^m and k_{dep}^m , as a function of $P^{m^{eq}}$ (total concentration of defective fibrils at equilibrium state), through an inverse problem. Various values of $P^{m^{eq}}$ were used in order to test a wide range of initializations of the minimization algorithm. The lack of identifiability of the inverse problem leads to several sets of kinetic constants which are reported above. The last line summarizes the values for the whole range of $P^{m^{eq}}$.

whose variation is given in Equation (5):

$$\frac{dM_2^{measured}}{dt} = 2c_1M(k_{on} + k_{on}^m) + 2k_{dep}(P - M) + 2k_{dep}^m(P^m - M^m)$$

From this equation, as logically expected, the positive part depends on the polymerisation constants (k_{on} and k_{on}^m) and the negative parts on the depolymerisation constants (k_{dep} and k_{dep}^m), the subtraction between fibril concentration and fibril mass ($P - M$) rendering these parts negative.

It was experimentally observed that with a given number of successive additions, the SLS signal almost stops increasing (Figure 1). We thus can postulate that nearly 100 % of fibrils became defective at that moment and it might indicate a high stability of defective fibrils i.e. $k_{dep}^m \approx 0$. However, even if such an assumption $k_{dep}^m \approx 0$ could be verified, neglecting the term $2k_{dep}^m(P^m - M^m)$ in Equation (5) is not possible: indeed the very low values of c_1 (5.10^{-6}), P ($0 \leq P \leq 6.67.10^{-10}$) and M ($0 \leq M \leq 2.10^{-5}$ roughly) and the potential numerical values for k_{on} , k_{on}^m and k_{dep} easily turn the three terms of Equation (5) into values of similar or almost similar numerical ranges.

To fit the second addition of monomers, we tested all the previously found sets of kinetic constants (k_{on} , k_{on}^m , k_{dep} and k_{dep}^m) that closely mimicked the first addition of monomers. After adjusting these values for a satisfactory curve-fitting of the height of the second addition of monomers, one set of values was able to reproduce the first addition and the height of the second one (Figure 4, left panel). It is therefore confirmed that, in contrast to the basic model, the two-compartment model makes it possible to mimick the increase in the SLS signal by a second addition of monomers. However, the beginning of the slope of the second addition was not satisfactory, nor was the height for the third and subsequent additions of monomers (Figure 4, right panel). The fact that

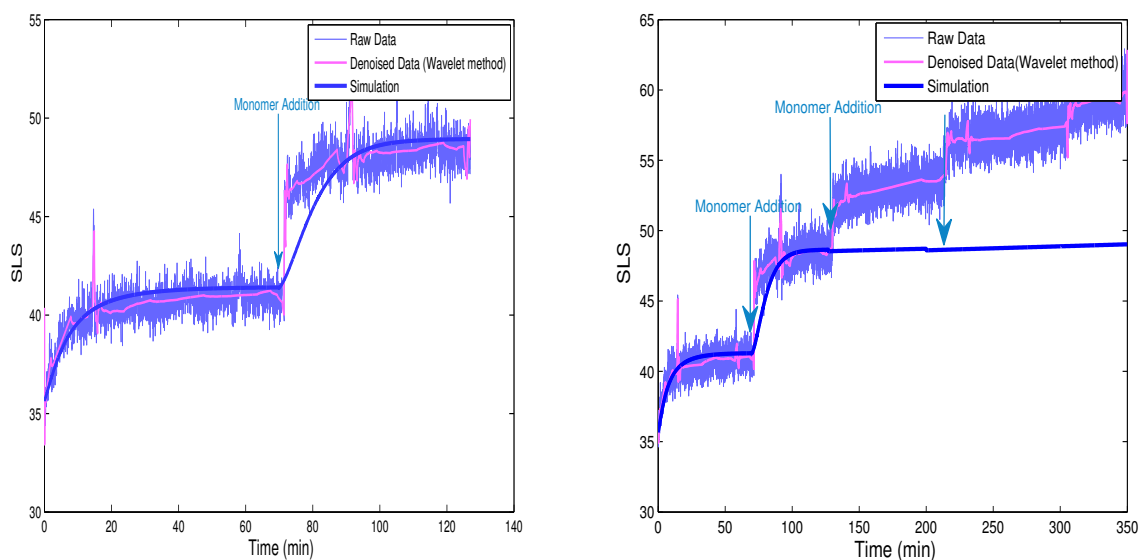


FIGURE 4. Curve fitting for two (left panel) and four (right panel) successive additions of monomers, with the two-compartment model (using $k_{\text{on}} = 3.5 \cdot 10^8 \text{ mol.L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$; $k_{\text{dep}} = 1.6 \cdot 10^3 \text{ min}^{-1}$; $k_{\text{on}}^{\text{m}} = 1.7 \cdot 10^4 \text{ mol.L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ and $k_{\text{dep}}^{\text{m}} = 1.10^{-6} \text{ min}^{-1}$)

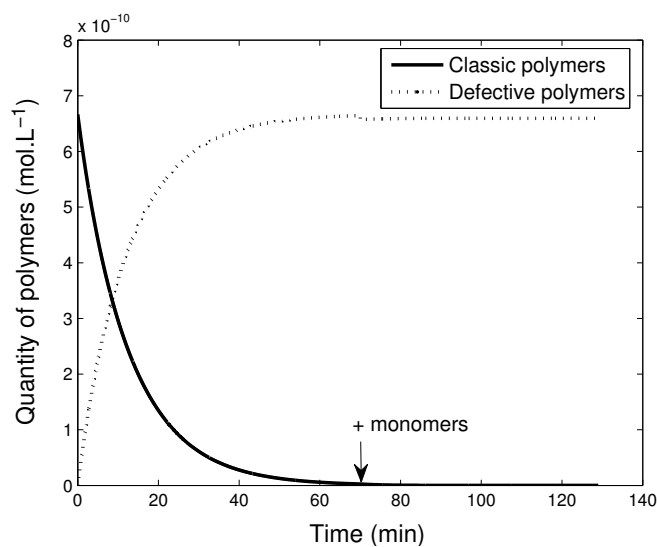


FIGURE 5. Quantity of defective fibrils as a function of time for the set of kinetic coefficients able to fit the heights of the two first additions of monomers (i.e. set of values used in Figure 5: $k_{\text{on}} = 3.5 \cdot 10^8 \text{ mol.L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, $k_{\text{dep}} = 1.6 \cdot 10^3 \text{ min}^{-1}$, $k_{\text{on}}^{\text{m}} = 1.7 \cdot 10^4 \text{ mol.L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ and $k_{\text{dep}}^{\text{m}} = 1.10^{-6} \text{ min}^{-1}$)

the third addition did not make it possible to increase sufficiently the simulated signal can be explained by the low k_{dep}^m and the high percentage of modified fibrils (Figure 5). Regarding the slopes, the contribution of the different biological parameters will be mathematically studied in a future sensitivity problem. This study will enable us, for instance, to confirm (or infirm) that a high ratio $\frac{k_{\text{on}}^m}{k_{\text{dep}}^m}$ compared to the ratio $\frac{k_{\text{on}}}{k_{\text{dep}}}$ could decrease the slopes (as the formation of defective fibrils prevents a further increase in its size).

This work has shown that the basic model with only one type of fibril could not explain the observed kinetic behavior of prion fibrils. Therefore, a model with at least two compartments is necessary. Biologically speaking, this could be the result of the occurrence of defective fibrils in addition to classic fibrils. This two-compartment model leads to polymerising constant values, k_{on} , from 4.10^8 up to $4.10^{12} \text{mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$. Such a range of values for polymerising constants (also named in literature as association rate constants, k_{on} , k_a or k_+) is commonly encountered in other examples of protein-protein associations (aggregation) when fast polymerising constants are involved [8]. On the other hand, the depolymerising constant values (k_{dep} from 2.10^3 up to 2.10^7min^{-1}) are representative for a very high dissociation rate constant which, although rare, as they are usually lower than 1min^{-1} , can be encountered for another aggregating protein, tubulin [4]. For a better modulation of slopes and heights, an additional assumption could be added to the two-compartment model such as a progressive formation of a defective fibril by more than only one monomer. Recent experimental observations from our collaborating team are indeed in favor of such a complementary hypothesis for explaining the kinetics of prion fibrils.

Acknowledgements: *The authors would like to warmly thank the head of this project, Marie Doumic-Jauffret (INRIA), for her major contribution to this work and Human Rezaei, Davy Martin (INRA) and Joan Torrent Y Mas (INSERM) for initiating this topic, the experimental part and discussions. This research was supported by the ERC Starting Grant SKIPPER^{AD} (fully for S. Prigent and partially for W. Haffaf).*

REFERENCES

- [1] J. M. Ball and J. Carr and O. Penrose, *The Becker-Döring cluster equations: Basic properties and asymptotic behaviour of solutions*, Commun. Math. Phys., 104: 657-692, 1986
- [2] R. Becker and W. Döring, Ann. Phys, 416: 719-752, 1935
- [3] F.P.Da Costa, *Asymptotic behaviour of low density solutions to the generalized Becker-Döring equations*, NoDEA Nonlinear Differential Equations Appl.,5: 23-37,1998
- [4] M. Gardner, B. Charlebois, I. Jánosi, J. Howard, A. Hunt, and D. Odde, *Rapid Microtubule Self-Assembly Kinetics*, Cell, 146: 582-592, 2011
- [5] B. Niethammer. *On the Evolution of Large Clusters in the Becker-Döring Model*, J. Nonlinear Sci., 13:115-122, 2003
- [6] M. Polymenidou and D. Cleveland, *Prion-like spread of protein aggregates in neurodegeneration*, J. Exp. Med., 209 : 889-893, 2012
- [7] S. Prigent and D. Martin, C. Sizuin, V. Beringue, A. Igel-Egalon, P. Marchand, G. van der Rest, C. Malosse, M. Adrover, M. van Audenhaege, C. Chapuis, J. Torrent and H. Rezaei, *Molecular basis of structural information transference during prion conversion*, paper in preparation
- [8] H.-X. Zhou and P. A. Bates, *Modeling protein association mechanisms and kinetics*, Curr. Opin. Struct. Biol., 23:1-7, 2013

ANNEXE B

**Article : Size distribution of
amyloid fibrils.**

Size distribution of amyloid fibrils. Mathematical models and experimental data.

S. Prigent ^{*†} H. W. Haffaf ^{*} H.T. Banks [‡] M. Hoffmann [§]
H.Rezaei [¶] M. Doumic ^{*†}

April 24, 2014

Abstract

More than twenty types of proteins can adopt misfolded conformations, which can co-aggregate into amyloid fibrils, and are related to pathologies such as Alzheimer's disease. This article surveys mathematical models for aggregation chain reactions, and discuss the ability to use them to understand amyloid distributions. Numerous reactions have been proposed to play a role in their aggregation kinetics, though the relative importance of each reaction in vivo is unclear: these include activation steps, with nucleation compared to initiation, disaggregation steps, with depolymerization compared to fragmentation, and additional processes such as filament coalescence or secondary nucleation. We have statistically analysed the shape of the size distribution of prion fibrils, with the specific example of truncated data due to the experimental technique (electron microscopy). A model of polymerization and depolymerization succeeds in explaining this distribution. It is a very plausible scheme though, as evidenced in the review of other mathematical models, other types of reactions could also give rise to the same type of distributions.

^{*}Inria, Institut National de Recherche en Informatique et Automatique, Rocquencourt, France, and Pierre et Marie Curie University, Paris-Diderot University, CNRS UMR 7598, Paris, France.

[†]Corresponding authors. Email: S_prigent@hotmail.com, marie.doumic@inria.fr.

[‡]Center for Research in Scientific Computation (CRSC), North Carolina State University, Raleigh, N.C., USA

[§]CEREMADE (Centre de REcherche en MATHématique de la DEcision), CNRS-UMR 7534 and CREST. University Paris-Dauphine, Paris, France

[¶]Institut National de Recherche Agronomique, Jouy-en-Josas, France

Keywords: protein aggregation; PrP fiber; Becker-Döring system; statistical test; kernel density estimation.

Mathematical Subject Classification: 92D25, 34E99, 62G07, 62P10.

1 Introduction

Among the more than 20 proteins associated with amyloid diseases [43] including Alzheimer’s disease, prion PrP was the first protein considered as a non conventional transmissible agent. The peculiar infectious property of these agents resides in their ability to transmit an infection though devoid of nucleic acid (DNA, RNA) [1]. In contrast to classic pathogens such as viruses, the replication mechanism namely ‘the protein only mechanism’ does not induce the synthesis of new molecules, but the structure modification of an existing protein, e.g., PrP^c for “cellular prion” that is ubiquitously expressed in the human body, into a misfolded structure prone to aggregation (e.g., PrP^{sc} for ‘scrapie’).

The infectivity of the modified prion structure is responsible for transmitted encephalopathies such as vCJD or variant Creutzfeldt-Jakob disease, the disease strongly linked to bovine spongiform encephalopathy (BSE) responsible for mad cow disease. The number of human British cases deceased because of vCJD reached a peak in the year 2000 [47]. Nevertheless the risk of two additional types of cases may be envisaged. A second wave of cases could be due to i) a slower disease development in certain individuals (due to a different PrP genetic sequence and/or secondary routes of body infection) and/or ii) an iatrogenic person-to-person spread. Recent experimental and clinical data might corroborate these hypotheses. An experimental study suggests that the protocols of detection previously employed to detect abnormal PrP may have underestimated the human species barrier against BSE prions when tests have been exclusively restricted to brain analysis [8]. An analysis not on brain tissue, but on appendix tissue, indicates a high prevalence (1:2,000) of abnormal PrP in the present British population [22]. As the authors pointed out, it is not known whether these abnormal- PrP carriers will develop a clinical prion disease within their lifetime and whether they represent a potential source of disease transmission through medical tools or blood and other tissue donation. However, as demonstrated on animals, the risk of iatrogenic transmission of spongiform encephalopathies (TSE), especially through blood transfusion [3], has to be considered.

Prion structure modification is responsible not only for transmitted encephalopathies but also for hereditary diseases such as Creutzfeldt-Jakob

disease (CJD), Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrome (GSS) and fatal familial insomnia (FFI). No efficient therapy has yet been developed against these diseases. One possible therapy is to target the pathogenic molecules, although a controversy resides in the nature of this: are the final aggregated step, fibrils, a source of infectious transmissible protein (by releasing reactive seeds) or to the contrary, a way for cells to safely isolate abnormal proteins? This controversy has led to two different types of therapeutic approaches, one targeting the monomeric protein units whereas another aims at accelerating fibrillogenesis [29]. The hypothesis of a protective role of amyloid fibrils against disease progression has emerged in parallel with the discovery of functional amyloid or amyloid-like fibrils. Both detrimental and advantageous properties of amyloid or amyloid-like fibrils were described in the animal, fungi, plant and bacteria kingdoms, e.g., a structural template for melanin polymers in mammals, advantageous phenotypes for yeast and biofilms for bacteria [21, 32, 41]. Their mechanical properties also make amyloid-like fibrils interesting candidates for future nanomaterial.

The formation of these amyloid or amyloid-like fibrils follows kinetics which is governed by molecular mechanisms of protein aggregation and disaggregation. Though this kinetics is usually summarized as a nucleation-elongation process, it is not clear whether nucleation and/or monomer activation occurs. De novo fibril formation is usually considered to be due to a hypothetical primary nucleation where basic units, monomers, would form a nucleus of a critical size which will then develop into filaments, precursors of mature fibrils. In fibril forming systems where no oligomeric species is experimentally detected as a critical on-pathway intermediate for filament growth, monomer addition is usually assumed to be the dominant elongation process. Such elongation by monomer addition was for instance demonstrated for the growth of amyloid fibril of yeast prion Sup35 [13]. In the opposite direction to the elongation by monomer addition (or by addition of oligomeric species), depolymerization, i.e., dissociation occurs by the loss of monomers (or oligomeric species).

Though the number of polymers may be increased by fragmentation of protein aggregates, the relative contribution of fragmentation to the formation of additional polymers remains to be quantified. The occurrence of fragmentation may be enhanced *in vivo* by molecular partners (chaperones or heat shock proteins) or mechanical stress (membrane interaction) as indicated by *in vitro* experiments on mammal prion (PrP) fibrils [45]. The stability of the polymers against dissociation which includes depolymerization, by loss of monomers, and fragmentation may depend on the maturity level of the fibrils, mature fibrils being more stable than early aggregates

against high pressure or high temperature treatments [30]. However, the level of maturity may not affect stability against chemical treatment, as early and late aggregates can be disrupted by chemical treatments with equal efficiency. As discussed by the authors [30], stability highly depends on the nature of the solution (e.g., pH) used to form fibrils or to test fibril stability as environment controls protein structure. The same amyloid protein, for instance A β 1 – 40 involved in Alzheimer’s disease, can lead to polymorphism, i.e., several monomer conformations and filament packing, depending on the aggregation conditions [38]. Differences in fibril stability are thus related to the versatility in the structure of the assemblies [46].

In addition to primary nucleation, elongation (polymerization), dissociation (depolymerization) and fragmentation, amyloid kinetics is further influenced by additional processes that have been recently reviewed by Gillam and MacPhee [23]: monomer activation, formation of prenuclear species, secondary nucleation of monomers on fibril surface and branching, association of two polymers (described as “coagulation” in mathematics or “coalescence” in biology) including lateral association and bundling, conformational rearrangement (including micelles, i.e., loop closure for some amyloid proteins and an hypothetical lock-and-dock mechanism) and off-pathways. As some of these processes depend on polymer size, maturity level and/or concentrations, modelling the whole scheme of the reactions that govern kinetics of fibril growth is quite complex.

Prior to the use of fibrils for clarifying amyloid mechanisms or for applied goals, it is necessary to determine well the biophysical parameters of the fibrils. Among these parameters, the measurement of fibril size is a basic requirement that permits, for example, one to determine to what extent fibrils could be a source of infectious protein, by releasing reactive seeds. To focus on size distribution, we have measured the size distribution of prion fibrils from experimental data and compared it to mathematical modelling of size distribution. Our mathematical approach analyses two possible cases. The first case, by using the total polymerized mass as a basis, corresponds to a state where both formation of new fibrils and elongation of fibrils take place. The second case considers that no additional fibril is formed and thus it can be applied to a biological state where elongation predominates and no new fibril formation occurs. In both cases, dissociation, i.e., depolymerization is taken into account. We show that an exponential law describes well the size distribution of prion fibrils from our experimental data. We further confirm this exponential trend by both mathematical models obtained at equilibrium. This article also provides guidelines to experimentalists for statistical analysis of their own data. This may be of particular interest for

experimental techniques which have censored data, i.e., have access only to a part of the values, such as our results from microscopy lacking access to the smallest polymer sizes. Our presentation may also assist biophysicists or biologists in the choice of the minimal number of objects (polymers) that have to be measured to obtain a statistically representative size distribution for polymers and to determine the underlying mathematical laws (exponential for instance). Overall this paper aims at better characterizing the size distribution of fibrils, the size distribution being information that is useful for the analysis of biological mechanisms such as the amyloid biochemistry and for the development of potential nanomaterial.

After describing the experimental procedures performed to measure fibril sizes at a state that is supposed to be near equilibrium in Section 2, the shape of the size distribution is statistically analysed in Section 3. Then in Section 4 a mathematical model of polymerization-depolymerization is developed which is in agreement with our experimental data. The possibility of additional or different reactions (nucleation vs. initiation, fragmentation vs. depolymerization, secondary nucleation) is then discussed in Section 5 along with a literature review of existing mathematical models.

2 Experimental procedures to measure fibril sizes

Formation of fibrils. Experimental methods

Purified fibrillar aggregates from recombinant human PrP monomers obtained from the method of Rezaei [40] were prepared as described in El Moustaine et al., [19]. Briefly, to obtain a large amount of fibrillar aggregates within one week, PrP monomers ($22 \mu\text{M}$) were incubated in a classic protein-denaturing solvent (guanidinium chloride) at 310 K (37°C) with a slow rotating agitation (22 rpm on a 1 cm-radius axis, i.e., 0.005 g). The polymerized mass formation was estimated on aliquots by thioflavin T fluorescence (from 460 up to 520 nm after excitation at 445 nm) until reaching a plateau for fluorescence. The fibrillar aggregates were then concentrated and separated from monomers and small oligomers by three steps of centrifugation (at 17,900 g during 45 min for each step). At each step the fibrillar aggregates were suspended and washed in sodium acetate buffer (10 mM, pH 5.0 using acetic acid for pH adjustment). The concentration of fibrillar aggregates was calculated from absorbance at 280 nm after baseline correction for turbidity and the samples were stored at 277 K (4°C).

Estimation of the experimental number of monomers per fibril

We collected two samples, one of size $n = 531$ and one of size $n = 95$. The frequency of the size expressed as monomers per fibril is presented on Figure 1.

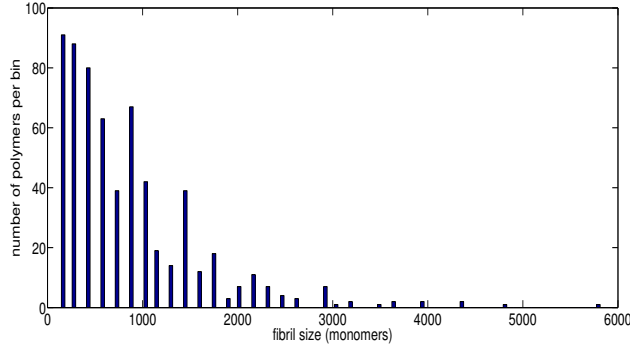


Figure 1: Experimental distribution of the sample x_i , $1 \leq i \leq n$, representing the measured sizes of polymers (the number of polymers below a certain size (145 monomers) is unknown). The total size of the sample is $n = 626$, resulting from the combination of two samples of respective sizes $n = 531$ and $n = 95$. For instance, $x_i = 145$ is satisfied for 91 values of i on this sample, which gives a bar of height 91 for $x = 145$.

The size of the each fibril was measured after dilution (to $0.1 \mu\text{M}$) of aliquots from the stock solution of fibrils, by transmission electron microscopy (after negative staining by uranyl acetate on Formvar carbon-coated grids as described in El Moustaine and co-workers [19]). From these images, the length and width (in nm) were determined. The number of monomers per fibril was roughly estimated from the measured fibril volume divided by a theoretical numerical value that represents the volume of one molecule of native PrP. The PrP included in fibrils, enriched in β sheet structure, is certainly packed into a different volume than the native PrP that mainly presents an alpha helix structure. However, the fine structure of the PrP included in fibrils and, therefore, the volume of the fibrillar PrP are not known. For this reason we used the theoretical value obtained for the well-known fine structure of the native PrP (28 nm^3 per molecule of PrP) [2], to roughly characterize the overall fibril size distribution expressed as an estimation of monomers per fibril.

The minimum size that can be detected by microscopy corresponds to roughly 145 monomers. Two types of noise affect the values of size determination:

- i) a lack of technical precision for the measurement in nanometers,
- ii) the uncertainty on the conversion from the measured volume in nm^3 to a size in number of monomers.

Adding these two types of noise leads to an uncertainty from -53 to $+73$ monomers per polymer. These values were calculated as follows.

We suppose the volume of one molecule of fibrillar PrP is $28 \pm 2 nm^3$. Furthermore the minimum detectable size on our MET images was measured as $34.8 \pm 1.0 nm$. From the volume formula of the number of monomers per polymer which is considered as a cylinder, we have

$$\text{number of monomers} = \frac{\text{measured polymer length in nm} \times \pi \times r^2}{\text{monomer volume}}.$$

With the radius $r = 6.1 \pm 1.0nm$, the smallest detectable polymer size is contained between

$$\frac{(34.8 - 1.0)\pi(6.1 - 1.0)^2}{28 + 2} = 92$$

and

$$\frac{(34.8 + 1.0)\pi(6.1 + 1.0)^2}{28 - 2} = 218.$$

As the smallest detectable polymer is considered to be roughly 145 monomers (from $34.8 \times \pi \times 6.1^2/28$), this leads to a precision around -53 and $+73$ monomers per polymer which is an absolute error range imposed by our measurement technology.

3 Statistical analysis of the data

As exemplified below by the Becker-Döring model, many mathematical models which may describe the formation of fibrils from monomers tend to a steady distribution for the sizes of the fibrils. This is true not only for Becker-Döring equation [5], but also for growth fragmentation equations [15, 4], for stochastic models [16], etc. This is one of the reasons that makes size distribution analysis so important: if taken at an instant where steady state

or steady growth is observed, it is possible to interpret it as solution of a time-independent equation and thus to estimate kinetic coefficients from its shape. One key example concerns the growth-fragmentation equation: from the size distribution it is possible to estimate the division rate of the individuals [18, 17, 16].

Based on these previous studies, we can make the assumption that our size sample x_1, \dots, x_n , as depicted in Figure 1, is the realization of n independent identically distributed (i.i.d.) variables, whose size distribution is the steady state (or equivalently the invariant probability measure) of the system of equations/stochastic processes which adequately describe the reaction scheme.

In the case under study, our knowledge of the reactions that truly occur is too limited to choose with certainty among all the available mathematical models. A heuristic approach thus consists first in comparing the experimental empirical distribution with a classical parametric distribution, such as exponential, Weibull, normal etc. If such a parametric distribution proved to be in good agreement with the empirical one, this could permit one to select a model (perhaps not a unique one) able to produce such a distribution. This is the fundamental premise underlying our discussions.

Under a certain threshold $x_{min} = 145$, we are under the level of detection of the experimental technique (MET) so that it is not possible to measure the data. In our sample (see Figure 1), this threshold is equal to the smallest size class where there is a high amount of data. Nevertheless, as the monomers and the soluble oligomers, i.e., soluble small polymers were experimentally separated from the fibrils (by the centrifugation step), the number of the smallest polymers that electron microscopy is not able to detect should tend towards 0 when the size of the polymers tends to 0.

For reasons explained below, in all the following we define the sample of i.i.d. variables y_i as

$$y_i = x_i - x_{min}, \quad 1 \leq i \leq n, \quad (1)$$

with $x_{min} = 145$ the threshold under which we are not able to measure any fibril. We study this new sample $\{y_i\}_{1 \leq i \leq n}$, which is of course equivalent to a study of $\{x_i\}_{1 \leq i \leq n}$, since the probability density function of $\{y_i\}_{1 \leq i \leq n}$ at a certain point y is the probability density function of $\{x_i\}_{1 \leq i \leq n}$ taken in $x = y + x_{min}$.

3.1 Kernel density estimation

Let us assume that we have a sample y_1, \dots, y_n of n experimental measurements, each y_i being the realization of independent identically distributed random variables, whose underlying size distribution (or *density*) is $N(y)$. This modelling assumption is partly justified in our case by the mathematical analysis on the Becker-Döring system and the large amount of polymers, leading to an equilibrium. The sample can then be considered *as if* the polymers would be independent.

To estimate the underlying density $f(y)$, kernel estimation methods [42] we propose to define an estimate \hat{f} of f by setting

$$\hat{f}(y) := \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n K_h * \delta_{y_i}(y) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n K_h(y - y_i), \quad (2)$$

where δ_{y_i} denotes the Dirac mass in y_i and $K_h(y) := \frac{1}{h} K(\frac{y}{h})$ is a mollifier sequence, K being a function satisfying

$$K \in C_0^\infty(\mathbb{R}), \quad \int K(y) dy = 1.$$

For instance, K may be chosen as the Gaussian kernel. To choose the small parameter h , called the “bandwidth” or sometimes the “regularization parameter”, there is a trade-off between smoothness of the estimate \hat{f} and accuracy of the estimation: the smaller h , the smaller the distance between the empirical distribution $\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \delta_{y_i}$ and \hat{f} , but the less smooth the estimate \hat{f} . Data-driven methods exist, such as the one very recently introduced by Goldenshluger and Lepski [25, 24, 17], which permit one to choose the optimal parameter h .

Here we used the `ksdensity` procedure of the Matlab statistical toolbox. We obtained a first estimation of the density in Figure 2 (curve in a full black line). As expected visually from the experimental data (the histograms of Figure 1), we obtain a decreasing distribution on the range of measured values. This first result led us to test the sample against an exponential law. We could also have tested other types of distributions such as log-normal, Weibull, etc., but all these distributions are one-peaked whereas our distribution is purely decreasing. When fitted with our data, a one-peak distribution would necessarily have its peak situated for some $y < 0$ (or equivalently $x < x_{min}$, in the x -variable of the initial sample x_i , with $x = y + x_{min}$), what would not provide us with further useful information.

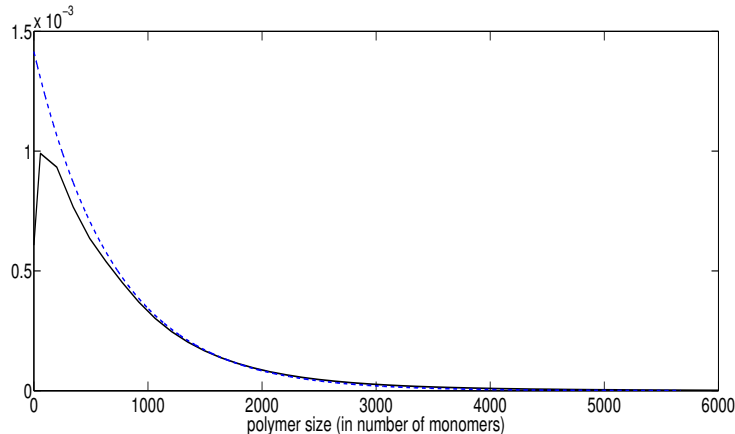


Figure 2: Density estimation of the size distribution of polymers larger than x_{min} , represented by y_i (in comparison to Figure 1, all sizes have been translated to the left by a distance of 145 monomers). Dashed line: exponential distribution $p_{\lambda^{MLE}}$, solid line: kernel density estimation.

Theory [42] reveals that we expect an approximation of the density on the order of $n^{-\frac{s}{2s+1}}$ where n is the size of the sample and $s = \min(p, N)$, p the regularity of the underlying function $f(y)$ (p -times differentiable) and N the order of the regularization kernel ($\int y^k K(y) dy = 0$ for $k = 1, \dots, N$). Even if this is only a qualitative remark, we may take $s = 1$ (for instance for the Gaussian kernel) so that we expect an error in the order of $n^{-\frac{1}{3}}$. This could give clues to determine the size of sample that we need: it is unnecessary to collect a sample that would give a value of $n^{-\frac{1}{3}}$ smaller than the experimental noise. Our dataset (the histograms of Figure 1) shows an average size of 706, and noise is at least on the order of an additive noise of 126 monomers (linked to the precision of the measurement, see Section 2 for the description of the data). This means a noise larger than 18% of the average size value. Evaluating the multiplicative noise linked to the error when converting measured volume to the number of monomers is hazardous, but we know it is present and should be added to this value. Our sample size is $n = 626$, so that we have $n^{-\frac{1}{3}} \approx 12\%$ which is already smaller than the minimal noise. This implies that it is unnecessary to collect larger samples, as this would not improve our results. This is also exemplified below: the statistical results on the sample of size 626 are not improved

compared to the results obtained for the sample of size 531.

3.2 Statistical tests for censored data

Before applying a parametric density distribution $f(y)$ to our data y_i , we need to take into account the fact that our measurements will not be distributed along $f(y)$ but rather along $g(y)$ defined by

$$g(y) = \frac{f(y)\mathbb{1}_{y \geq 0}}{\int_0^{\infty} f(y)dy},$$

with $\mathbb{1}$ representing the Heaviside function: the probability for a measured data to be negative is equal to zero (or, for the original kernel, the probability to be smaller than x_{min}).

For the exponential distribution that we want to test here, since it is supported in \mathbb{R}_+ we have $g(y) = f(y)$, but this would not be true in general.

Maximum likelihood estimator

Given the family of exponential laws $p_\lambda := \lambda e^{-\lambda x}$, the maximum likelihood estimation method gives the following closed formula to estimate λ from the sample y_1, \dots, y_n [42]

$$\lambda^{MLE} = \frac{n}{\sum_{i=1}^n y_i}.$$

Results: For our data consisting in the concatenation of two samples of the same experiment, one of size $n = 95$ and one of size $n = 531$, we obtain numerically the value $\lambda = 1.415 \cdot 10^{-3}$. Comparing the value of λ for these two samples taken separately, we have an insignificant error smaller than 3% between them, which readily supports combining the data.

3.3 χ^2 test

We would now like to quantify the confidence we may have in the hypothesis H_0 : “this sample is distributed along $p_{\lambda^{MLE}}$ ”. This may be done by the χ^2 test, that we describe here briefly for the sake of clarity and for non-statistician readers.

Let us calculate the statistics

$$\chi_n := \sum_{j=1}^K \frac{\left(N_j - nP_{\lambda^{MLE}}(A_j)\right)^2}{N_j},$$

where we have divided \mathbb{R}_+ in K intervals A_j , $1 \leq j \leq K$, and $P_{\chi^{MLE}}(A_j) = \int_{A_j} p_{\chi^{MLE}}(s)ds$ represents the probability of the interval A_j , and $N_j = \sum_{i=1}^n \mathbf{1}_{y_i \in A_j}$ counts empirically the number of data in the class A_j .

Theory [48] reveals that for $n \rightarrow \infty$, if the hypothesis is true, then χ_n converges in law to a $\chi^2(K-2)$ distribution. Thus if the distance in law between χ_n and $\chi^2(K-2)$, for a well-adapted K , is sufficiently small, we may accept the hypothesis; otherwise we should reject it.

The hypothesis H_0 may be rejected with a confidence $1-\alpha$ if the distance between χ_n and $\chi^2(K-2)$ is larger than $1-\alpha$. Mathematically speaking, we define the level $q_{1-\alpha}^{K-2}$ as defining the zone where a proportion α of random variables distributed along $\chi^2(K-2)$ would lie: let Z_{K-2} be a random variable of density $\chi^2(K-2)$, $q_{1-\alpha}^{K-2}$ is defined by the relation

$$\mathbb{P}(Z_{K-2} \geq q_{1-\alpha}^{K-2}) = \int_{q_{1-\alpha}^{K-2}}^{\infty} \chi^2(K-2)(s)ds = \alpha,$$

and we can thus define

$$W_{n,\alpha} = \mathbb{1}_{\{\chi_n \geq q_{1-\alpha}^{K-2}\}}.$$

If $W_{n,\alpha} = 0$, we can accept H_0 ; otherwise we reject it.

The largest α such that the hypothesis H_0 is accepted is called the p-value, thus defined by

$$p_K = \text{Max} \left\{ \alpha > 0, W_{n,\alpha} = \mathbb{1}_{\{\chi_n \geq q_{1-\alpha}^{K-2}\}} = 0 \right\}.$$

If p_K is sufficiently large, then we are confident in not rejecting the hypothesis H_0 .

Results: Our measurements are discrete and noisy, as shown by Figure 1:

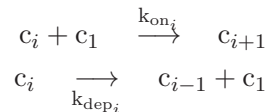
- The precision of the measurement is between -53 and $+73$ monomers, so that a minimal size for a bin should be larger.
- Since the distribution is rapidly decreasing and the tested density is exponential, the size of the bins A_j should not be constant but rather determined by a constant value for $nP_{\chi^{MLE}}(A_j)$.

With these two conditions, since the first bin (sizes around 145 for x_i , 0 for y_i) contains 91 elements, we propose to define the bins by $nP_{\lambda^{MLE}}(A_j) = 91$. This gives a p-value of 17.6%, what is rather satisfactory, and we may assume that the exponential law is satisfied by our sample - up to the measurement noise described above and the sampling uncertainty. However, due to the measurement errors, the test is sensitive to the number of bins, their position, their average number of data. We may obtain still higher p-values (e.g., for 11 equally-sized bins, we have a p-value of 60%), but also much smaller ones.

In Figure 2 we compare the distribution obtained by a kernel density estimation (through the `ksdensity` algorithm given by Matlab) and the exponential density $p_{\lambda^{MLE}}$ for the sample y_i . Their closeness shows also how much our hypothesis of an exponential distribution may be considered as acceptable. At lowest sizes, the exponential density fits less well than the kernel density estimate, but this is due to boundary effects of the kernel density method, and could also be explained by the truncation of the data.

4 Mathematical model: polymerization and depolymerization

To obtain a mathematical transcription of these biological kinetics of the PrP protein formation, two different components can be distinguished: the polymeric fibrils of the PrP protein and the monomeric units of this same protein. The polymeric fibrils (polymers) are considered to be a linear addition of a discrete number of monomeric units (monomers), which represents the fibril size. The kinetic reactions we consider are, hence, two : polymerization and depolymerization. Polymers of size i , for $i \geq 1$, can either polymerize (gain one additional monomer) into polymers of size $i + 1$, with a coefficient k_{on_i} , or depolymerize (lose one monomer) into polymers of size $i - 1$, with a coefficient k_{dep_i} . Denoting by c_i the concentration of polymeric fibrils of size i ($i \geq 1$), we can summarize these reactions in the following scheme :



Thus, polymers of size $i \geq 1$ can also be a result of polymerization of polymers of size $i - 1$ or a result of depolymerization of polymers of size $i + 1$. Using the law of mass action [28] several times, once for each size, we obtain

an infinite set of ordinary differential equations, one equation for each size, describing the variation of the concentration of polymers c_i . We arrive at the following system :

$$\begin{cases} \frac{dc_i}{dt} = J_{i-1}(c) - J_i(c) & i \geq 2, \\ \frac{dc_1}{dt} = - \sum_{i=2}^{\infty} J_i(c) - 2J_1(c), \end{cases} \quad (3)$$

where the rate of growth J_i is defined by

$$J_i(c) = k_{\text{on}_i} c_1 c_i - k_{\text{dep}_{i+1}} c_{i+1} \quad \text{for } i \geq 1. \quad (4)$$

One can observe that one special equation is needed for the monomer variation, because of their interaction with all the polymers.

This infinite system is known as the Becker-Döring system. Introduced in 1935 by Becker and Döring [7], this kinetic model, despite its simple aspects, has been useful to describe various phenomena of phase transition in physics and chemistry (colloid chemistry, nucleation theory, RNA chain formation in the prebiotic world, etc). In their original paper Becker and Döring [7] set the number of monomers, c_1 , to be constant in time, which, clearly, does not hold in our experiments. Here the total mass is being conserved just as in the model proposed by Burton [10] and, later, by Penrose and Lebowitz [37].

The existence of positive solutions of (3) has been proved by Ball, Carr and Penrose in [6] under general assumptions (a polymerization coefficient that does not grow faster than the polymer size, i.e., $k_{\text{on}_i} = O(i), i \rightarrow \infty$), while uniqueness is obtained for instance under an additional condition on the second order moment ($\sum_{i=1}^{\infty} i^2 c_i < \infty$). When talking about a solution, we mean a sequence of terms in the functional space

$$E^+ = \{c \in E : c_i \geq 0 \quad \forall i\},$$

$$\text{where } E = \{c = \{c_i\}_{i \in \mathbb{N}} : \|c\| < \infty\}, \quad \|c\| = \sum_{i=1}^{\infty} i |c_i|.$$

Total mass conservation is then a direct consequence [7, 36]:

$$\rho(t) := \sum_{i=1}^{\infty} i c_i(t) = \sum_{i=1}^{\infty} i c_i(0), \quad t \in [0, T].$$

In the experiments detailed in Section 2, the PrP fibrils are assumed not to polymerize above an upper size i_{max} , so that we consider their polymerization coefficient to be null so that $k_{\text{on}_{i \geq i_{\text{max}}}} = 0$. Hence, the existence, uniqueness and mass conservation hold for the solution of our model.

There is a critical mass ρ_s (which can be finite or not) such that for each initial condition $\rho \leq \rho_s$ there exists a unique equilibrium state. If $\rho \geq \rho_s$, then each component c_i converges to the same equilibrium state component which corresponds to the critical mass ρ_s and the mass excess is lost in the aggregates of infinite mass [6]. The solution $\{c_i\}_{i \geq 1}$ converges to the equilibrium state strongly in E^+ , where an equilibrium state of (3) is given by the sequence $\tilde{c} = \{\tilde{c}_i\} \in E^+$ satisfying

$$J_{i-1}(\tilde{c}) - J_i(\tilde{c}) = 0 \quad i \geq 2, \quad (5)$$

$$\sum_{i=2}^{\infty} J_i(\tilde{c}) + 2J_1(\tilde{c}) = 0, \quad (6)$$

with J_i defined by Equation (4). The equation (5) implies that all the growth rates J_i are equal for an equilibrium solution, and the equation (6) implies that $J_1 = 0$ and, hence, $J_i = 0, \forall i = 1, 2, \dots$. We thus have

$$k_{on_i} \tilde{c}_1 \tilde{c}_i - k_{dep_{i+1}} \tilde{c}_{i+1} = 0, \quad \forall i = 1, 2, \dots$$

By induction, one finds that, for $k_{dep_{j+1}} > 0, \forall j$:

$$\left\{ \begin{array}{l} \tilde{c}_i = Q_i \tilde{c}_1^i, \quad i \geq 2 \\ \sum_{i=1}^{\infty} i Q_i \tilde{c}_1^i = \rho, \end{array} \right.$$

where $Q_i := \prod_{j=1}^{i-1} \left(\frac{k_{on_j}}{k_{dep_{j+1}}} \right)$ for $i \geq 2$, with $Q_1 := 1$.

For the sake of completeness, we summarize in the following proposition the analytical formulae for \tilde{c}_i for cases where the coefficients are constant.

Proposition 4.1 (Steady state profile). *1. Let $k_{on} > 0$ and $k_{dep} > 0$ be two constants, and assume that*

$$k_{on_i} = k_{on} \mathbb{1}_{i < i_{max}} \quad \text{and} \quad k_{dep_i} = k_{dep} \mathbb{1}_{i \leq i_{max}}, \quad (7)$$

If $i_{max} = \infty$, the equilibrium $\tilde{c} \in E^+$ is then given by :

$$\left\{ \begin{array}{l} \tilde{c}_i = c_1^s \left(\frac{\tilde{c}_1}{c_1^s} \right)^i \\ \tilde{c}_1(\rho) = c_1^s \left(1 + \frac{c_1^s - \sqrt{c_1^{s2} + 4\rho c_1^s}}{2\rho} \right), \end{array} \right. \quad \text{when } 2 \leq i \leq \infty,$$

where $c_1^s = \frac{k_{dep}}{k_{on}}$. This formula yields a good approximation for $i_{max} \gg 1$.

2. If Assumption 7 is modified to exclude exchange between c_1 and c_2 , i.e., if we have

$$k_{on_i} = k_{on} \mathbb{1}_{2 \leq i < i_{max}} \quad \text{and} \quad k_{dep_i} = k_{dep} \mathbb{1}_{2 < i \leq i_{max}}, \quad (8)$$

then the equilibrium state becomes, for $i_{max} = \infty$:

$$\begin{cases} \tilde{c}_i = P_1 \left(1 - \frac{\tilde{c}_1}{c_1^s}\right) \left(\frac{\tilde{c}_1}{c_1^s}\right)^{i-2} & \text{when } 2 \leq i \leq \infty, \\ \tilde{c}_1(\rho) = \frac{1}{2}(\rho - P_1 + c_1^s) - \sqrt{(\rho - P_1 - c_1^s)^2 + 4c_1^s P_1}, \end{cases}$$

where $c_1^s = \frac{k_{dep}}{k_{on}}$, and $P_1 = \sum_2^\infty c_i(t=0)$.

If i_{max} is finite - as it is most probably the case in our application - these formula have to be modified by similar calculations as shown below (for the sake of simplicity we do not detail these cases here). The approximation will be on the order of $O\left(\left(\frac{\tilde{c}_1}{c_1^s}\right)^{i_{max}}\right)$.

Proof: 1. Under assumption (7), we have $Q_i := \left(\frac{k_{on}}{k_{dep}}\right)^{i-1}$ for $1 \leq i \leq i_{max}$ with $\tilde{c}_i = Q_i \tilde{c}_1^i$ for all $1 \leq i \leq i_{max}$ and

$$\sum_{i=1}^{i_{max}} i Q_i \tilde{c}_1^i = \rho. \quad (9)$$

For a matter of finite mass, if $i_{max} = \infty$ we find that $\tilde{c}_1 < c_1^s := \frac{k_{dep}}{k_{on}}$.

Setting $z := \frac{\tilde{c}_1}{c_1^s} < 1$, the mass conservation condition (9) yields (for $i_{max} = \infty$):

$$\rho = c_1^s z \sum_{i=1}^{i_{max}} i z^{i-1} = c_1^s \frac{z}{(1-z)^2} \Rightarrow z^2 - \frac{c_1^s + 2\rho}{\rho} z + 1 = 0.$$

The determinant of this quadratic equation yields two possible values for z :

$$\begin{cases} \Delta = \frac{c_1^{s^2} + 4\rho c_1^s}{\rho^2} > 0 \\ z = 1 + \frac{c_1^s \pm \sqrt{c_1^{s^2} + 4\rho c_1^s}}{2\rho}. \end{cases}$$

Since $z < 1$, it can only take the value of the smaller root of the quadratic equation, and we finally obtain

$$z = 1 + \frac{c_1^s - \sqrt{c_1^{s^2} + 4\rho c_1^s}}{2\rho} \Rightarrow \tilde{c}_1 = c_1^s \left(1 + \frac{c_1^s - \sqrt{c_1^{s^2} + 4\rho c_1^s}}{2\rho} \right).$$

2. Let us now assume (8). Biologically, this means that there is neither elongation for monomers nor depolymerization for fibrils of size $i_{\min} = 2$. Hence, the total number of fibrils of size $2 \leq i \leq i_{\max}$ remains constant in time :

$$k_{\text{on}1} = k_{\text{dep}2} = 0 \Rightarrow J_1(c) = 0 \Rightarrow \frac{d}{dt} \sum_{i=i_2}^{i_{\max}} c_i = 0, \quad \forall t \in [0, \infty[.$$

The equilibrium solution is given by

$$\tilde{c}_i = T_i \tilde{c}_1^{i-2} \tilde{c}_2, \quad 2 \leq i \leq i_{\max} \quad (10)$$

$$\frac{d}{dt} \sum_{i=2}^{i_{\max}} \tilde{c}_i = 0, \quad (11)$$

$$\|\tilde{c}\| = \rho, \quad (12)$$

where $T_i = \left(\frac{k_{\text{on}}}{k_{\text{dep}}} \right)^{i-2}$ for $2 \leq i \leq i_{\max}$.

From (11), the total number conservation implies that, for $i_{\max} = \infty$,

$$\tilde{c}_2 = \frac{P_1}{\sum_{i=2}^{\infty} (T_i \tilde{c}_1^{i-2})} = P_1 \left(1 - \frac{\tilde{c}_1}{c_1^s} \right),$$

where $P_1 := \sum_{i=2}^{\infty} c_i(t=0)$. Here again, this implies that $\tilde{c}_1 < c_1^s := \frac{k_{\text{dep}}}{k_{\text{on}}}$.

On the other hand, we have the mass conservation equation which implies, by setting $z := \frac{\tilde{c}_1}{c_1^s}$:

$$\|\tilde{c}\| = \tilde{c}_1 + \sum_{i=2}^{\infty} i P_1 z^{i-2} (1-z) = c_1^s z + P_1 \frac{2-z}{1-z}.$$

Hence, the total mass conservation (12) gives :

$$c_1^s z^2 + ((P_1 - \rho) - c_1^s) z + (\rho - 2P_1) = 0.$$

The determinant of this quadratic equation gives

$$\begin{cases} \Delta = (\rho - P_1 - c_1^s)^2 + 4c_1^s P_1 > 0 \\ z = \frac{1}{2c_1^s} (\rho - P_1 + c_1^s - \sqrt{\Delta}). \end{cases}$$

The choice of the smaller root is, here again, guided by the fact that $z < 1$ by definition. To prove this, we observe that

$$z_+ = \frac{1}{2c_1^s} (\rho - P_1 + c_1^s + \sqrt{\Delta}) \geq \frac{1}{2c_1^s} (\rho - P_1 + c_1^s + |\rho - P_1 - c_1^s|).$$

Let us first assume that $c_1^s \geq \rho - P_1$, then

$$z_+ \geq \frac{1}{2c_1^s} (\rho - P_1 + c_1^s + (c_1^s - \rho + P_1)) \geq 1.$$

On the contrary, if $c_1^s \leq \rho - P_1$,

$$z_+ \geq \frac{1}{2c_1^s} (\rho - P_1 + c_1^s + (-c_1^s + \rho - P_1)) = \frac{\rho - P_1}{c_1^s} \geq 1.$$

Independently of the shape of the initial condition, the equilibrium solution of the system (3) behaves as an exponential as time becomes large, see Figures 3 and 4. This supports the estimation for fibril formation developed in Section 2 (Figure 2).

As the size-distribution in Section 2 was found to follow an exponential law: $y = \lambda e^{-\lambda i}$ (Figure 2) the critical monomer concentration c_1^s can be estimated by an identification with the equilibrium formula of Proposition (4.1) from which we obtain

$$\begin{aligned} e^{-\lambda i} &= \left(\frac{\tilde{c}_1}{c_1^s} \right)^i \Rightarrow e^{-\lambda} = \frac{\tilde{c}_1}{c_1^s}, \\ \Rightarrow e^{-\lambda} &= 1 + \frac{c_1^s + \sqrt{c_1^{s2} + 4\rho c_1^s}}{2\rho}, \\ \Rightarrow \rho e^\lambda (e^{-\lambda} - 1)^2 &= c_1^s. \end{aligned}$$

Hence, the admissible critical monomer concentration that comes by this identification is

$$c_1^s = \rho (e^{-\lambda} + e^\lambda - 2).$$

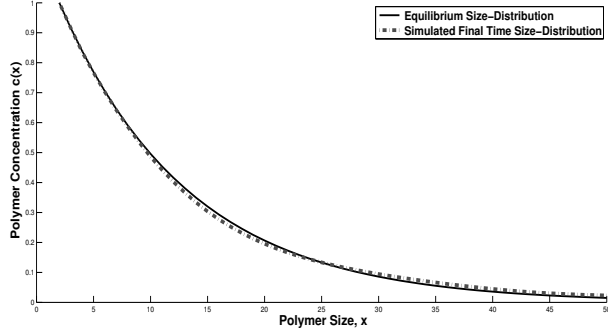


Figure 3: Equilibrium size-distribution of the polymers. In black full line the theoretical equilibrium size-distribution, and in dashed-line the simulated size-distribution for large time ($t = 10^6 \text{ min}$). Here $k_{\text{dep}}/k_{\text{on}} = 2.10^{-5} \mu M$, and $\rho = c_1(t = 0) = 22.10^{-6} \mu M$.

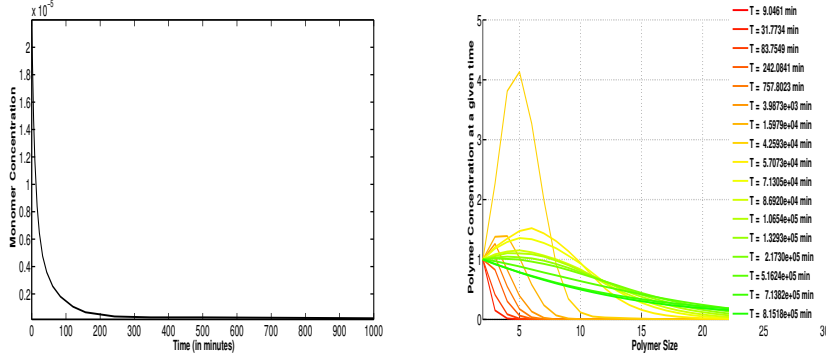


Figure 4: In the left panel, the time evolution of monomer concentration, with $k_{\text{dep}}/k_{\text{on}} = 2.10^{-5} \mu M$, and $\rho = c_1(t = 0) = 2.2.10^{-5} \mu M$. The curve is quickly decreasing, which is explained by a quick monomer consumption, to reach the critical monomer concentration $c_1^s = 2.10^{-5} \mu M$ first and then the equilibrium $\tilde{c}_1 = 1.5.10^{-7} \mu M$. In the right panel, the size-distribution of polymer concentration at different times: it reaches its equilibrium in much longer time than the concentration of monomers on the left.

Since $\lambda = \frac{1}{706.48}$, and $\rho = 2.2.10^{-5} \mu M$, we obtain

$$c_1^s = 4.41.10^{-11} \mu M.$$

Thus we obtain an estimation of both of the kinetic ratio and the equilibrium monomer concentration given by

$$\frac{k_{\text{dep}}}{k_{\text{on}}} = 4.41 \cdot 10^{-11} \mu M,$$
$$\tilde{c}_1 = 4.40 \cdot 10^{-11} \mu M.$$

This implies that no monomers would have been detected experimentally. The numerical simulations using this experimental growth rate require a very large time to reach the equilibrium (see Figure 4). This is in agreement with the experimental observations, where from 4 up to 7 days are necessary to reach an apparent equilibrium in the polymerized mass (if we consider that the plateau in ThT fluorescence values can be an indication of a potential equilibrium for the polymerized mass).

5 Discussion

Due to the variety of the mechanisms involved in protein aggregation, different mathematical models have been developed. The main models and the main analysis of experimental data that have been tentatively applied to kinetics and/or size distribution of protein filament and fibril formation are outlined below. As amyloid filaments can be viewed as a linear shape formed by end-to-end association of units, we do not consider the case of protein aggregations that leads to globular unstructured clusters (such as the aspecific aggregation induced near the protein isoelectric point).

Polymerization-depolymerization models.

The growth of protein fibrils and the formation of synthetic polymers share analogous mechanisms which can embrace nucleation, polymerization, depolymerization, fragmentation and branching. Both protein fibrils and some synthetic polymers can be depicted as polymers called “living polymers”, i.e., polymers that are not terminated and can freely polymerize or depolymerize. Starting from the theory of polymerization of synthetic compounds with their reactivity independent of the size of the polymers [20], Oosawa [34] mathematically described the size distribution of protein polymers and applied these ideas to experimental data on actin and flagellin polymerization. Using the law of mass action and thermodynamic laws on the interaction free energy of a monomer to a polymer, he obtained at equilibrium

$$\tilde{c}_i = K_i \tilde{c}_1^i, \quad \text{for } i > i_0, \quad (13)$$

where i_0 is the size of the nucleus. Here K is assumed to be independent of i for sufficiently large sizes and is defined as $K = \exp\{\frac{\epsilon}{kT}\}$, with $-\epsilon$ being the interaction free energy of a monomer added to the end of a polymer of size $i - 1$ to form a polymer of size i .

If we consider K as equal to $\frac{k_{\text{dep}j}}{k_{\text{on}j}}$ for the size $j \geq 1$, this model of nucleation-polymerization-depolymerization is comparable to the formula of our mathematical model of polymerization-depolymerization (described in the previous section)

$$\tilde{c}_i = c_1^s \left(\frac{\tilde{c}_1}{c_1^s} \right)^i \quad \text{when } 2 \leq i \leq \infty \quad (14)$$

where $c_1^s = \frac{k_{\text{dep}}}{k_{\text{on}}}$.

Nucleation-polymerization-depolymerization vs. initiation-polymerization-depolymerization models.

The first step of amyloid filament formation has not yet been clearly determined. Several studies propose, for prion conversion, the occurrence of a nucleation step, i.e., the formation of a nucleus, an oligomer of a critical size that permits a further elongation by addition of monomers (or small units), whereas oligomers of a size lower than the nucleus size would be unstable. However the assumption of a nucleation step in amyloid aggregation is usually based on the presence of a lag phase. But a lag phase has been demonstrated to be possible even for models without nucleation and even when seed fibrils are already present [11].

As there is no proof for nucleation to be the step responsible for protein aggregation, other types of activation may be envisaged. Another type of activation step called initiation is well known in the field of chemical synthesis. Initiation can be seen as a kind of “ignition”, due, for instance, to heating or to addition of an initiator, and generates a reactive intermediate. To compare the effect of nucleation and that of chemical initiation on aggregation kinetics and size distribution, Greer has compared a theoretical model of the nucleation-polymerization of the actin protein with a model of initiation-polymerization of the synthetic alpha-methylstyrene [26]. In both cases the models involve at least two reactions: i) a reversible activation step which is a nucleation or an initiation, and ii) a reversible polymerization step, called also elongation and propagation, by monomers. With a closed system, when the concentration of free monomers is considered to be capable of varying, once the elongation step has been entered, the molecular weight distribution of the polymers is assumed to encounter three stages [31]. (i) As written by Brown and Szwarc for an “initiation-polymerization-depolymerization” system proceeding to the elongation step, the immediate but nonequilibrium result is the formation of a narrow Poisson distribution of polymers, if the number of monomers added by polymerization is very much higher than the ones removed by depolymerization [9]. At this first stage, we may define the generating function, $L(\lambda, \tau)$, of the size distribution by

$$L(\lambda, \tau) = \sum_{i=0}^{\infty} \lambda^i \mu_i(\tau),$$

where $\mu_i(\tau)$ is a dimensionless version of the concentration of polymers of size i at time $\tau = k_{\text{on}} M_0 t$. The authors show that this generating function closely follows the equations of irreversible polymerization, i.e., a system where depolymerization is not present [31]

$$L(\lambda, \tau) = B e^{-(1-\lambda)v(\tau)}.$$

Here

$$v(\tau) = \frac{(1 - e^{-B\tau})}{B}$$

with $B = \frac{I_0}{M_0}$, I_0 being the initial initiator concentration and M_0 , the initial monomer concentration. This is the generating function of a Poisson distribution of parameter $v(\tau)$.

(ii) Then possible sizes extend to a wider interval and free monomers reach an equilibrium concentration M_{eq} given by

$$M_{eq} \cong \frac{k_{dep}}{k_{on}}$$

while number- and weight-average sizes remain near their Poisson values $1/B$ [31].

(iii) Over a longer time, the weight-average size (and the initiator concentration) evolve to a final equilibrium.

The times for the completion for the two first stages are of the order of $1/(k_{on}I_0)$, while the time for the completion of the third stage is of the order of $1/(k_{dep}B^2)$ [31]. More precisely, the times for completion for each stage are the following.

$$t_1 \cong \ln \frac{B}{k_{on}I_0} \frac{A}{A}, \quad t_2 \cong \ln \frac{1}{k_{on}I_0} \frac{A}{A}, \quad t_3 = \frac{1}{2k_{dep}B^2},$$

with A equal to $\frac{k_{dep}}{k_{on}M_0}$ [31]. The time for completion of the last step strongly depends on the ratio between the initiator concentration and the monomer concentration. In the case of amyloid proteins, we can take a value for k_{dep} usually encountered in biology, for instance 10^{-4} sec^{-1} . If we consider the monomers to be directly and fully converted into an activated conformer that can be depicted as a kind of initiator, the final equilibrium for the size distribution would be rapidly completed (within hours). On the contrary, if only a small percentage of the monomers is transformed in an activated form or if the rate of activation is slow, reaching the final size distribution can require years.

The final distribution of “initiation-polymerization-depolymerization” systems has been studied by both “mean field” and “non-mean-field” theories, as summarized by Greer [26]. Because both theories leads to a size distribution that may not easily be distinguished [26], we only discuss the result of the mean field theory. The mean field models (or self consistent field models) “treat the microscopic system as having an average intermolecular interaction, devoid of correlated interactions between or among molecules” [26] (as contrary to non-mean-field models). The mean field theory predicts that the equilibrium size distribution will be of the Flory-Schulz form

$$P_i = p^{i-1} (1 - p),$$

with P_i the mole fraction of polymers of size i , and p the probability that each monomer reacts to link to the growing polymer chains. When p tends to 1, the Flory-Schulz distribution becomes an exponential distribution [26]. An exponential final size distribution was experimentally observed both for actin and for alpha-methylstyrene, and a transition from Poisson to the exponential distribution was detected for actin [26]. However the rate-limiting step, i.e., the reaction step that slows down the whole aggregation process was found to be the activation step for actin and the elongation step for organic polymers. This difference may be explained by the fact that the activation step is a slow nucleation step for actin, whereas the activation step is an initiation step which immediately fixes the number of propagating species for alpha-methylstyrene [26]. As a conclusion, the final size distribution may have the same shape for protein polymerization that involves a nucleation as for synthetic polymerization of living polymers that starts by an initiation, but the kinetics induced by a nucleation may strongly differ from the one induced by an initiation. However in the cases of protein polymerization that are quickly activated, i.e., where nucleation does not exist (nucleus size considered as equal to 1) or is not a rate-limiting step [39], the kinetics might be similar to that of synthetic living polymers.

Nucleation-polymerization-depolymerization-coalescence model.

We next focus exclusively on protein polymerization, describing the experimental results and analytical theory applied to them. Subsequent to the work of Oosawa on protein reversible polymerization, the aggregation of proteins has been tentatively modeled either by a model of polymerization and depolymerization, or by a polymerization and secondary nucleation pathways including fragmentation. The possibility of depolymerization unit by unit has been taken into account in modelling the polymerization of $A\beta$,

the peptide involved in Alzheimer’s disease. The authors of [35] postulate, as other authors have done also for $A\beta$, that the experimental conditions (highly concentrated urea) used to launch fibril growth by unfolding the monomeric peptide induce an irreversible modification that leads a part of the peptides to an amyloid status and another part to a modified monomer or dimer status unable to adopt an amyloid status. In order to model the concentration in monomers, dimers and polymers that has been deduced from experimental data at three different initial monomer concentrations, the authors tested the following five-step model:

- (i) rapid commitment to a stable monomer or dimer or an unstable intermediate (as a kind of chemical initiation step),
- (ii) cooperative association of intermediate into a multimeric “nucleus”,
- (iii) reversible elongation by addition of intermediates to form filaments,
- (iv) lateral aggregation of filaments into fibrils,
- and (v) fibril elongation via end-to-end association [35].

Model parameters were derived by fitting experimental data to the model equation, using a parameter estimation package. First, the “refolding” parameters involved in step (i) were determined. Then, as lateral aggregation and end-to-end association seemed experimentally negligible at the lowest protein concentration, the parameters involved in filament initiation and elongation could be obtained from the data measured at the lowest protein concentration. Lastly, the parameters describing lateral aggregation and end-to-end association were determined, after considering that filament initiation and filament elongation to be essentially irreversible, i.e., considering depolymerization as negligible. Their model was able to reproduce their experimental data as, at short times, the average length of filaments or fibrils formed at the lowest monomeric concentration is much higher than the one at higher concentrations, due to the competition between nucleus formation and filament elongation for the consumption of intermediates. One can remark that also for our simple “polymerization-depolymerization” model, at equilibrium, the smaller the mass ρ , the longer the average size i , when considering fixed c_1^s (see Proposition 4.1). In the case of the model that contains also nucleation and coalescence, at long times, the average size is not necessarily higher for the lowest monomeric concentration [35]. This underlines that, depending on the initial concentration of monomers, the relative importance of elongation, or polymerization, compared to the one of initiation and lateral filament aggregation, or coalescence, may greatly vary, regarding fibril lengths [35].

Experimental data analysis by Xue and coworkers [50] and com-

parison to our data and our “polymerization-depolymerization” model.

Xue and co-workers [50] have analysed by statistical tests the fibril size distribution obtained after an extensive experimental study. The sizes of β -2-microglobulin fibrils formed in vitro by adding fibril seeds to monomers have been experimentally measured, after a certain time under quiescent conditions or agitation. The authors have developed and applied a correction factor on their data to correct for the fact that longer fibrils were underestimated compared to smaller fibrils. This experimental bias is due to two reasons: longer fibrils may less efficiently deposit on the mica surface of the AFM (atomic force microscope) and longer fibrils have a higher probability to not be successfully traced on images because of fibril overlap and cut-off by image boundaries. This bias can also be encountered for the technique used for our experiments described in Section 2 above, TEM (transmission electron microscopy). To avoid fibril overlap and cut-off by image boundaries, a low fibril concentration was used and our images were carefully taken to avoid as much as possible cut-off of long fibrils on image sides. Concerning difference in fibril deposition on the carbon-formvar surface as a function of fibril size, this problem is particularly present for samples containing a high concentration of fibrils and especially a high concentration of monomers as the monomers strongly compete with longer fibrils for adsorption on the carbon-formvar surface [33]. We have not corrected for a bias that would be due to difference in fibril deposition as a function of fibril length, but we have minimized this problem by using a low fibril concentration on the grids (0.1 μ M). Xue and coworkers compared the overall distribution shape to distribution models that belongs or can belong (by fixing some parameters) to the exponential family [50]. The Weibull distribution and, to a lesser extent, the Gamma distribution, consistently fitted the data, whereas the other models, the normal, log-normal, exponential and Rayleigh distributions, fitted significantly more poorly the measured sample distributions as judged by the Kolmogorov-Smirnov test. Note that our experimental data also may be viewed as fitting a Weibull distribution, since the Weibull distribution, defined by the formula below, with a shape parameter k equal to 1 is an exponential:

$$f(i; \lambda, k) = \frac{k}{\lambda} \left(\frac{i}{\lambda}\right)^{k-1} \exp^{-(i/\lambda)^k}$$

where $i \geq 0$ and $\lambda > 0$. Because our data are truncated for small sizes (due to experimental limit detection), it is also possible that our data might fit a

Weibull distribution with various values of k .

The dome-shaped experimental distributions observed by Xue and coworkers are different from the pure exponential shape of our mathematical polymerization-depolymerization model at equilibrium. At least two hypotheses can easily explain this difference: i) their system also follows a polymerization-depolymerization model however their experimental state has not reached equilibrium, or ii) an additional mechanism needs to be added to our polymerization-depolymerization model. Regarding the first hypothesis, one can envisage that the distribution experimentally observed by the authors is an intermediate step before reaching a “pure” exponential distribution at equilibrium (as there is no clue to the stage reached by the samples). Concerning the second hypothesis, an additional mechanism, fragmentation, has been shown to play a major role in kinetic of fibrils that grow under agitation, as explained below.

Because the length distribution of the fibrils obtained by addition of a small percentage of seeds (0.1%) to monomers has approximately the same shape as the one obtained by addition of a high percentage of seeds (10%) to monomers, Xue and coworkers proposed that fragmentation might be a significant event even when samples are not agitated [50]. However the average size between these two samples may seem different. It would be interesting to compare these data to a sample that does not contain added seeds and has grown under quiescent conditions. That would help to estimate to what extent the number of fibrils that are due to seed elongation contributes to the number of total fibrils (fibrils due to seed elongation and fibrils directly formed from monomers) and to the incorporation of monomers. This would help to distinguish between the effect of seed elongation, the effect of elongation of new nucleus formed from monomers and the effect of a hypothetical fragmentation under quiescent conditions.

When fibrils grown under quiescent conditions are subsequently mechanically agitated, the size distribution shifted to lower sizes due to fibril fragmentation [49, 51]. Also in the case of fibril growth under quiescent conditions, it has been proposed, to explain the kinetics of experimentally measured average fibril length, that fragmentation can occur [44]. However the relative importance of fragmentation compared to depolymerization is unknown.

Nucleation-polymerization-fragmentation vs. nucleation-polymerization-depolymerization.

To compare the theoretical effect of fragmentation with the one of depolymerization, Cohen and co-workers [11] have constructed several models.

Their models consist in nucleation, polymerization, in the absence or the presence of fragmentation and/or depolymerization. The depolymerization parameter was not included in the expression of the concentration of fibrils, P , assuming that once formed, a fibril cannot vanish by the effect of depolymerization. The authors of [11] demonstrated that, in the absence of fragmentation, the following equation which shares some analogy with Johnson-Melch-Avrami-Kolmogorov equation for crystallisation, is obtained

$$M(t) = m_{tot} \left(1 - \exp \left(-k_{on} k_n m_{tot}^{n_c} t^2 - 2k_{on} P(0)t - \frac{M(0)}{m_{tot}} \right) \right). \quad (15)$$

Here $M(t)$ is the mass concentration of polymers, $P(t)$ is the number concentration of polymers, k_{on} is the polymerization coefficient, k_n is the coefficient for nucleation, m_{tot} is the total monomer concentration (free monomers plus monomers included in polymers), and n_c is the critical nucleus size.

If total monomer concentration is kept constant, through, for example, protein synthesis or experimental supply to the system, or in the early time limit, fibril growth tends to a polynomial form in time given by

$$M_0(t) = M(0) + k_{on} k_n m_{tot}^{n_c+1} t^2 + 2k_{on} m_{tot} P(0)t + n_c k_n m_{tot}^{n_c} t. \quad (16)$$

Because filament growth can be bidirectional with a varying degree of reactivity depending on which of the two extremities is considered (as shown by microscopy on yeast prion fibers [27, 14]), Cohen and co-workers included a factor 2 in the polymerization and depolymerization expressions. In the mass equation of Cohen and co-workers, the t^2 dependence of the Oosawa solution equation is recovered even though Oosawa considered one unique reactive site per polymer.

The width of the filament length distribution is represented by the variance $\sigma^2(t)$ of the filament population. In the presence of fragmentation and by considering the effect of fragmentation as limited (assuming $m(0)k_{on} \gg k_{fragm}$), and the monomer concentration as approximately constant, the following equation was obtained

$$\sigma(t) = \frac{1}{\sqrt{3}} \mu(t), \quad (17)$$

where $\mu(t)$ is the mean length of the distribution. This equation means that, for this system of fragmenting filaments growing in constant free monomer

concentration, the ratio of the mean filament length to the standard deviation of the distribution of filament lengths is constant. At longer times, when monomers become depleted, both mean filament length and the standard deviation of the filament length distribution decrease because of fragmentation [11].

As discussed in [12], for systems with a constant concentration of total protein (free monomers plus monomeric units included in polymers) that encompass nucleation, polymerization and fragmentation, the concentration of polymers of each size can be written at steady state $t = \infty$ as

$$\frac{c_i}{P} = \frac{n_c ((n_c - 1) n_c)^{i-n_c} (n_c - n_c^2 + i + i^2) (n_c^2 - 1)!}{(1 + (n_c - 1) n_c + i)!} \quad (18)$$

with c_i , the concentration of polymers of size i , P the total concentration of polymers and n_c , the critical nucleus size. As can be seen, the only reaction that controls the shape of the length distribution at steady state is the nucleation reaction. The polymerization and the fragmentation only affect the time-scale necessary to reach the steady state length distribution. In the continuum limit, after simplifications [12], the length distribution at steady state in such system which includes nucleation, polymerization and fragmentation, has a biased Gaussian form given by

$$\frac{c_i}{P} = \frac{2(-i^2 + n_c^2)}{e(1 - 2n_c)^2} \frac{(4i^2 - (1 - 2n_c)^2)}{(1 - 2n_c)^2 n_c}. \quad (19)$$

The fibril size distribution should therefore exhibit a Gaussian form when fragmentation is involved and, as written above, an exponential form in the absence of fragmentation. This difference could have been easily expected as fragmentation induces the formation of small filaments at the expense of long filaments. For our experimental study, due to the data truncation for concentrations of small polymers, we cannot confirm or disaffirm an occurrence of fragmentation. However, as the fibril formation has been performed under a relatively smooth agitation, fragmentation may be limited.

Additional process: secondary nucleation.

The effect of an hypothetical secondary process that creates new structures of a critical size n_2 through “nucleation” on the surface of existing polymers was also discussed by Cohen and coworkers [11, 12]. If $n_2 \approx n_c$, the distribution is expected to be of qualitatively similar form, with an equilibrium

distribution of the exponential type as in the case of a system with primary nucleation [11, 12].

Conclusion.

A number of mathematical models have been developed in the recent years and have been applied with a, at least partial, success to experimental data on fibril distribution. According to these models, an exponential distribution is expected in the case of polymerization-depolymerization reactions, whether or not nucleation is present. If fragmentation is not negligible, fibril sizes should then exhibit a peaked shape. An exponential distribution and therefore a polymerization-depolymerization model were found to apply to actin and flagellin. It may also apply to our data on prion fibril formation. Though, due the truncation in our data, it might be possible that other models, such as one including a fragmentation step, may also reproduce the prion data.

Generally speaking the relative importance of each of the possible amyloid reactions remains to be clarified. To reach this goal, mathematical models should be tested on experimental size distributions obtained ideally at various times and various monomer concentrations. Because biochemical and biophysical studies usually require and therefore use amyloidic protein concentrations much higher than the ones encountered in vivo, these techniques can offer a way to identify the existing amyloid reactions, but deducing the relative importance of each amyloid reaction from these techniques may not be relevant to in vivo conditions. The development of high-resolution techniques on cells combined to automated data analysis software could offer numerous data on fibril size distribution for in-cellula environments. These technical developments would help to identify the characteristics of the most reactive amyloid forms that recruit native monomers within one cell. To extrapolate to in vivo conditions, it will still remain to determine whether the most reactive amyloid species within one cell is also responsible for the infectious character within one individual and whether it is the species able to spread between individuals.

Acknowledgements. The authors thank Joan Torrent Y Mas (INSERM-INRA), for the help on fibril production and for discussion. This research was supported by the ERC Starting Grant SKIPPER^{AD} (fully for M. Doumic and S. Prigent and partly for W. Haffaf and H. Rezaei).

References

- [1] T. Alper, W. A. Cramp, D. A. Haig, and M. C. Clarke. Does the agent of scrapie replicate without nucleic acid ? *Nature*, 214:764–766, 1967.
- [2] M. Anderson, O. V. Bocharova, N. Makarava, L. Breydo, V. V. Salnikov, and I. V. Baskakov. Polymorphism and ultrastructural organization of prion protein amyloid fibrils: an insight from high resolution atomic force microscopy. *Journal of Molecular Biology*, 358(2):580–96, 2006.
- [3] O. Andreoletti, L. Litaize, H. , Simmons, F. Corbiere, S. Lugan, F. Costes, F. Schelcher, D. Vilette, J. Grassi, and C. Lacroux. Highly efficient prion transmission by blood transfusion. *PLoS Path*, 8:e1002782, 2012.
- [4] D. Balagué, J. Cañizo, and P. Gabriel. Fine asymptotics of profiles and relaxation to equilibrium for growth-fragmentation equations with variable drift rates. *Kinetic Related Models*, 2013. in press.
- [5] J. M. Ball and J. Carr. Asymptotic behaviour of solutions to the becker-döring equations for arbitrary initial data. *Proc. Roy. Soc. Edinburgh Sect.*, A 108:109–116, 1988.
- [6] J. M. Ball, J. Carr, and O. Penrose. The Becker-Döring cluster equations: Basic properties and asymptotic behaviour of solutions. *Commun. Math. Phys.*, 104:657–692, 1986.
- [7] R. Becker and W. Döring. Kinetische Behandlung der Keimbildung in übersättigten Dämpfern. *Ann. Phys.*, 24:719–752, 1935.
- [8] V. Beringue, L. Herzog, E. Jaumain, F. Reine, P. Sibille, A. Le Dur, J.-L. Vilotte, and Laude H. Facilitated cross-species transmission of prions in extraneural tissue. *Science*, 335:472–475, 2012.
- [9] W.-B Brown and M. Szwarc. Molecular weight distribution of "living" polymers. *Trans. Faraday Soc.*, 54:416–419, 1958.
- [10] J J Burton. *Nucleation theory*. Statistical mechanics, Part A : Equilibrium techniques. Springer US, 1977.
- [11] S. Cohen, M. Vendruscolo, M. E. Welland, C. M. Dobson, E. M. Terentjev, and T. P. J. Knowles. Nucleated polymerization with secondary

- pathways. I. Time evolution of the principal moments. *The Journal of Chemical Physics*, 135(6):065105, 2011.
- [12] S. I. Cohen, M. Vendruscolo, C. M. Dobson, and T. P. J. Knowles. Nucleated polymerization with secondary pathways. III. Equilibrium behavior and oligomer populations. *The Journal of Chemical Physics*, 135(6):065107, 2011.
- [13] S. R. Collins, A. Douglass, R. D. Vale, and J. S. Weissman. Mechanism of prion propagation: amyloid growth occurs by monomer addition. *PLOS Biology*, 2:e321, 2004.
- [14] A. H. DePace and J. S. Weissman. Origins and kinetic consequences of diversity in Sup35 yeast prion fibers. *Nature Structural Biology*, 9(5):389–96, 2002.
- [15] M. Doumic and P. Gabriel. Eigenelements of a general aggregation-fragmentation model. *Mathematical Models and Methods in Applied Sciences*, 20(05):757, 2009.
- [16] M. Doumic, M. Hoffmann, N. Krell, and L. Robert. Statistical estimation of a growth-fragmentation model observed on a genealogical tree. *Bernoulli*, under revision, 2014.
- [17] M. Doumic, M. Hoffmann, P. Reynaud, and V. Rivoirard. Nonparametric estimation of the division rate of a size-structured population. *SIAM J. on Numer. Anal.*, 50(2):925–950, 2012.
- [18] M. Doumic, B. Perthame, and J.P. Zubelli. Numerical solution of an inverse problem in size-structured population dynamics. *Inverse Problems*, 25(4):045008, 2009.
- [19] D. El Moustaine, V. Perrier, I. Acquatella-Tran van Va, F. Meersman, V. G. Ostapchenko, I. V. Baskakov, R. Lange, and Torrent J. Amyloid features and neuronal toxicity of mature prion fibrils are highly sensitive to high pressure. *Journal of Biological Chemistry*, 286:13448–13459, 2011.
- [20] P. J. Flory. *Principles of Polymer Chemistry*. Cornell University Press, 1953.
- [21] Y. Furukawa and N. Nukina. Functional diversity of protein fibrillar aggregates from physiology to rna granules to neurodegenerative diseases. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1832:1271–1278, 2013.

- [22] N. Gill, Y. Spence, A. Richard-Loendt, A. Kelly, R. Dabaghian, L. Boyes, J. Linehan, M. Simmons, P. Webb, P. Bellerby, N. Andrews, D. A. Hilton, J. W. Ironside, J. Beck, M. Poulter, S. Mead, and S. Brandner. Prevalent abnormal prion protein in human appendixes after bovine spongiform encephalopathy epizootic: large scale survey. *BMJ*, 347:f5675, 2013.
- [23] J. E. Gillam and C. E. MacPhee. Modelling amyloid fibril formation kinetics: mechanisms of nucleation and growth. *J. Phys. Condens. Matter*, 2013:25, 373101.
- [24] A. Goldenshluger and O. Lepski. Bandwidth selection in kernel density estimation: oracle inequalities and adaptive minimax optimality. *Ann. Statist.*, 39:1608–1632, 2011.
- [25] A. Goldenshluger and O. Lepski. Uniform bounds for norms of sums of independent random functions. *Ann. Probab.*, 39:2318–2384, 2011.
- [26] S. C. Greer. Reversible polymerizations and aggregations. *Annual Review of Physical Chemistry*, 53:173–200, 2002.
- [27] Y. Inoue, A. Kishimoto, J. Hirao, M. Yoshida, and H. Taguchi. Strong growth polarity of yeast prion fiber revealed by single fiber imaging. *The Journal of Biological Chemistry*, 276(38):35227–30, 2001.
- [28] I. Koch and W. Reisig. *Modeling in Systems Biology - The Petri Net Approach*. Springer, 2011.
- [29] T. Liu and Bitan G. Modulating self-assembly of amyloidogenic proteins as a therapeutic approach for neurodegenerative diseases: Strategies and mechanisms. *Chem Med Chem*, 7:359–374, 2012.
- [30] F. Meersman and C. M. Dobson. Probing the pressure-temperature stability of amyloid fibrils provides new insights into their molecular properties. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1764:452–460, 2006.
- [31] A. Miyake and W. H. Stockmayer. Theoretical reaction kinetics of reversible living polymerization. *Die Makromolekulare Chemie*, 88:90–116, 1965.
- [32] A. S. Mostaert, C. Giordani, R. Crockett, U. Karsten, R. Schumann, and S. P. Parvis. Characterisation of amyloid nanostructures in the natural adhesive of unicellular subaerial algae. *Journal of Adhesion*, 85:465–485, 2009.

- [33] M. Necula and J. Kuret. Electron microscopy as a quantitative method for investigating tau fibrillization. *Analytical Biochemistry*, 329(2):238–46, 2004.
- [34] F. Oosawa. Size distribution of protein polymers. *Journal of Theoretical Biology*, 27(1):69–86, 1970.
- [35] M. M. Pallitto and R. M. Murphy. A mathematical model of the kinetics of beta-amyloid fibril growth from the denatured state. *Biophysical Journal*, 81(3):1805–22, 2001.
- [36] O. Penrose. The Becker-Döring equations for the kinetics of phase transitions. *Math. Proc. Camb. Phil. Soc.*, 96, 2001.
- [37] O. Penrose and J.L. Lebowitz. *Towards a Rigorous Molecular Theory of Metastability*. Gauthier-Villars, 1979.
- [38] A. T. Petkova, R. D. Leapman, Z. Guo, W. M. Yau, M. P. Mattson, and R. Tycko. Self-propagating, molecular-level polymorphism in alzheimers’s beta-amyloid fibrils. *Science*, 307:262–265, 2005.
- [39] S. Prigent, A. Ballesta, F. Charles, N. Lenuzza, P. Gabriel, L.-M. Tine, H. Rezaei, and M. Doumic. An efficient kinetic model for assemblies of amyloid fibrils and its application to polyglutamine aggregation. *Plos One*, 7:0043273, 2012.
- [40] H. Rezaei, D. Marc, Y. Choiset, M. Takahashi, G. Hui Bon Hoa, T . Haertle, J. Grosclaude, and P. Debey. High yield purification and physico-chemical properties of full-length recombinant allelic variants of sheep prion protein linked to scrapie susceptibility. *European Journal of Biochemistry*, 267:2833—2839, 2000.
- [41] K. Schwartz and B. R. Boles. Microbial amyloids – functions and interactions within the host. *Current Opinion in Microbiology*, 2012:93–99, 2012.
- [42] B Silverman. *Density Estimation for Statistics and Data Analysis*. Monographs on Statistics and Applied Probability. Chapman and Hall, London, 1986.
- [43] J. D. Sipe and A. Cohen. Review: History of the amyloid fibril. *Journal of Structural Biology*, 130:88–98, 2000.

- [44] J. F. Smith, T. P. J. Knowles, C. M. Dobson, C. E. Macphee, and M. E. Welland. Characterization of the nanoscale properties of individual amyloid fibrils. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(43):15806–11, 2006.
- [45] Y. Sun, N. Makarava, C.I. Lee, P. Laksanalamai, F. T. Robb, and I. V. Baskakov. Conformational stability of prp amyloid fibrils controls their smallest possible fragment size. *J Mol Biol.*, 376:1155–1167, 2008.
- [46] K. K. M. Sweers, M. L. Bennink, and V. Subramaniam. Nanomechanical properties of single amyloid fibrils. *J. Phys.: Condens. Matter*, 24:243101, 2012.
- [47] National CJD Surveillance Unit. <http://www.cjd.ed.ac.uk/>. 2013.
- [48] L. Wasserman. All of statistics : A concise course in statistical inference brief contents. *Simulation*, C(1):461, 2004.
- [49] W.-F. Xue, S. W. Homans, and S. E. Radford. Systematic analysis of nucleation-dependent polymerization reveals new insights into the mechanism of amyloid self-assembly. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(26):8926–31, 2008.
- [50] W.-F. Xue, S. W. Homans, and S. E. Radford. Amyloid fibril length distribution quantified by atomic force microscopy single-particle image analysis. *Protein Engineering, Design & Selection : PEDS*, 22(8):489–96, 2009.
- [51] W.-F. Xue and S. E. Radford. An imaging and systems modeling approach to fibril breakage enables prediction of amyloid behavior. *Biophysical Journal*, 105(12):2811–9, 2013.

Bibliographie

- [1] A. AGUZZI, F. BAUMANN & J. BREMER – « The prion’s elusive reason for being », *Annu. Rev. Neurosci.* **31** (2008). (Cité en page 3.)
- [2] M. ANDERSON, O. V. BOCHAROVA, N. MAKARAVA, L. BREYDO, V. V. SALNIKOV & I. V. BASKAKOV – « Polymorphism and ultrastructural organization of prion protein amyloid fibrils : an insight from high resolution atomic force microscopy. », *Journal of molecular biology* **358** (2006), no. 2, p. 580–96. (Cité en page 9.)
- [3] J. M. BALL & J. CARR – « Asymptotic behaviour of solutions to the Becker-Döring equations for arbitrary initial data », *Proc. Roy. Soc. Edinburgh Sect. A* **108** (1988). (Cité en page 19.)
- [4] J. M. BALL, J. CARR & O. PENROSE – « The Becker-Döring cluster equations : Basic properties and asymptotic behaviour of solutions », *Commun. Math. Phys.* **104** (1986). (Cité en pages 19, 20 et 21.)
- [5] P. BEAUVAIS – *Les maladies   prion*, MIRM DECINE SCIENCES FLAMMARION, 2005. (Cité en page 3.)
- [6] P. BEAUVAIS & T. B. DE VILLEMEUR – *Maladie de Creutzfeldt-Jakob et autres maladies   prion*, 1996. (Cité en page 3.)
- [7] R. BECKER & W. DÖRING – *Ann. Phys.* **416** (8) (1935). (Cité en pages 13 et 19.)
- [8] J. J. BURTON – « Nucleation theory of statistical mechanics, Part A : Equilibrium techniques », *Plenum* (1977). (Cité en pages 13 et 19.)
- [9] J. A. CANIZO & B. LODS – « Exponential convergence to equilibrium for subcritical solutions of the Becker-Döring equations », *J. Diff. Equa.* **255** (2013). (Cité en pages 19 et 22.)
- [10] J. CARR & F. P. DA COSTA – « Instantaneous gelation in coagulation dynamics », *Z Angew. Math. Phys.* **43** (1992). (Cité en page 20.)
- [11] J. CARR & O. PENROSE – « Asymptotic behaviour of solutions to a simplified Lifshitz-Slyozov equation », *Journal Physica D* **124** (1998). (Cité en page 52.)
- [12] J. A. CARRILLO & T. GOUDON – « A numerical study on large-time asymptotics of the Lifshitz-Slyozov system », *J. Sci. Comput.* **113** (2004). (Cité en page 52.)
- [13] M. K. CHEN & P. W. VOORHEES – « The dynamics of transient Ostwald ripening », *Modelling and Simulation in Materials Science and Engineering* **1** (1993). (Cité en page 52.)
- [14] A. COHEN – « Numerical analysis of wavelet methods », *Studies in mathematics and its applications* **32** (2003). (Cité en page 86.)

- [15] J.-F. COLLET & T. GOUDON – « On solutions of the Lifshitz-Slyozov model. », *Nonlinearity* **13** (2000). (Cité en pages 51 et 52.)
- [16] J.-F. COLLET, T. GOUDON, F. POUPAUD & A. VASSEUR – « The Becker-Döring system and its Lifshitz-Slyozov limit », *SIAM J. Appl. Math.* **62** (2002). (Cité en pages 14 et 50.)
- [17] I. A.-T. v. V. F. M. V. O. I. B. R. L. D. EL MOUSTAINE, V. PERRIER & J. TORRENT – « Amyloid features and neuronal toxicity of mature prion fibrils are highly sensitive to high pressure », *Journal of Biological Chemistry* **286** (2011), p. 13448–13459. (Cité en pages 6 et 8.)
- [18] S. DHARMARAJA – « An analysis of the tr-bdf2 integration scheme », Thèse, Massachusetts Institute of Technology, 2007. (Cité en page 85.)
- [19] M. DOUMIC, T. GOUDON & T. LEPOUTRE – « The scaling limit of a discret prion dynamics model », *Commun. Math. Phys.* **104** (2009). (Cité en pages 13, 14 et 50.)
- [20] F. FERRONE – « Analysis of protein aggregation kinetics », **309** (1999), p. 256–274. (Cité en page 12.)
- [21] P. GABRIEL – « équations de transport-fragmentation et applications aux maladies à prions », Thèse, Université Paris VI Pierre et Marie Curie, 2011. (Cité en page 18.)
- [22] GILLAM & MCPHEE – (2013). (Cité en page 11.)
- [23] M. L. GREER, L. PUJO-MENJOUET & G. F. WEBB – « A mathematical analysis of the dynamics of prion proliferation », *Journal of Theoretical Biology* **242(3)** (2006), p. 598–606. (Cité en page 12.)
- [24] C. M. GULDBERG & P. WAAGE – *études sur les affinités chimiques*, Christiana : Brøgger and Christie, 1867. (Cité en page 14.)
- [25] J. L. GUO & V. M. Y. LEE – « Cell-to-cell transmission of pathogenic proteins in neurodegenerative diseases », *Nature Medicine* **20** (2013), p. 130–138. (Cité en page 2.)
- [26] H. W. HAFFAF & S. PRIGENT – « Modelling and analysis of protein aggregation - competing pathways in prion (prp) polymerisation », *ESAIM Procs* (Accepted). (Cité en pages 14 et 76.)
- [27] S. C. HARIZ – « Une version modifiée du système de Lifshitz-Slyozov : Existence et unicité de la solution, simulations numériques », Thèse, Université de Nice Sophia-Antipolis, 1999. (Cité en pages 14, 53, 54, 55, 56 et 57.)
- [28] S. C. HARIZ & J.-F. COLLET – « A modified version of the Lifshitz-Slyozov model », *App. Math. Letters* **12** (1999). (Cité en pages 22 et 57.)
- [29] P. J. P. J. R. DORMAND – « A family of embedded runge-kutta formulae », *J. Comp. Appl. Math.* **6** (1980). (Cité en page 85.)
- [30] P. E. JABIN & B. NIETHAMMER – « On the rate of convergence to equilibrium in the Becker-Döring equations », *J. Diff. Equa.* **191** (2003). (Cité en page 19.)

- [31] J. K. L. F. SHAMPINE, M. W. REICHELDT – « Solving index-1 daes in matlab and simulink », *SIAM Review* **41** (1999). (Cité en page 85.)
- [32] M. E. H. L. F. SHAMPINE – « Analysis and implementation of tr-bdf2 », *Applied Numerical Mathematics* **20** (1996). (Cité en page 85.)
- [33] M. W. R. L. F. SHAMPINE – « The matlab ode suite », *SIAM Journal on Scientific Computing* **18** (1997). (Cité en page 85.)
- [34] P. LAURENÇOT & S. MISCHLER – « From the discrete to the continuous coagulation-fragmentation equations », *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh* **132A** (2002). (Cité en page 51.)
- [35] N. LENUZZA – « Modélisation de la répliquions des prions : Implication de la dépendance en taille des agrégats de prp et de l'hétérogénéité des populations cellulaires », Thèse, École Centrale Paris, 2009. (Cité en pages 12 et 18.)
- [36] E. LIFCHITZ & L. PITAYEVSKI – *Cinétique physique*, Editions MIR, Librairie du globe, Union Soviétique, 1979. (Cité en pages 14, 51 et 52.)
- [37] I. M. LIFSHITZ & V. SLYOZOV – « The kinetics of precipitation from supersaturated solid solutions », *J. Phys. Chem. Solids* **19** (1961). (Cité en pages 14, 51 et 52.)
- [38] J. MASEL, V. A. JANSEN & M. A. NOWAK – « Quantifying the kinetic parameters of prion replication. biophysical chemistry », **77(2-3)** (1999), p. 139–152. (Cité en pages 4 et 12.)
- [39] A. M. MORRIS, M. A. WATZKY & R. G. FINKE – « Protein aggregation kinetics, mechanism, and curve-fitting : a review of the literature », *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics* **1794** (2009), p. 375–397. (Cité en page 12.)
- [40] B. NIETHAMMER – « On the evolution of large clusters in the becker-döring model », *Journal of Nonlinear Science* **13** (2003), no. 1, p. 115–122. (Cité en page 19.)
- [41] B. NIETHAMMER & R. L. PEGO – « On the initial-value problem in the Lifshitz–Slyozov–Wagner. Theory of Ostwald ripening », *SIAM J. Math. Anal.* **31(3)** (2000). (Cité en pages 51 et 52.)
- [42] S. NOINVILLE, J.-F. CHICH & H. REZAEI – « Misfolding of the prion protein : linking biophysical and biological approaches », *SIAM J. Math. Anal.*, **31(3)** (2008). (Cité en pages 4 et 10.)
- [43] O. PENROSE – « The Becker-Döring equations at large times and their connection with the LSW theory of coarsening », *J. Stat. Phys.* **89** (1) (1997). (Cité en page 19.)
- [44] — , « The Becker-Döring equations for the kinetics of phase transitions », *Math. Proc. Camb. Phil. Soc.* **96** (2001). (Cité en page 19.)
- [45] G. PEYRE – « A numerical tour of signal processing », *Matlab Central* (2006). (Cité en page 86.)

- [46] E. T. POWERS & D. L. POWERS – « The kinetics of nucleated polymerizations at high concentrations : amyloid fibril formation near and above the 'supercritical concentration' », *Biophysical journal* **91** (2006), p. 122–132. (Cité en page 12.)
- [47] S. PRIGENT, H. W. HAFFAF, H. BANKS, M. HOFFMANN, H. REZAEI & M. DOUMIC – « Size distribution of amyloid fibrils. mathematical models and experimental data », *International Journal of Pure and Applied Mathematics* (Accepted). (Cité en page 15.)
- [48] S. PRIGENT, W. HAFFAF, M. HOFFMANN, H. REZAEI & M. DOUMIC – « Size distribution of amyloid fibrils. mathematical models and experimental data. », *J. Bio. Dyn.* **XX** (20XX). (Cité en page 10.)
- [49] S. PRUSINER – « Prion diseases and the BSE Crisis », *Science* **278(5336)** (1997). (Cité en page 3.)
- [50] S. PRUSINER, M. MCKINLEY, K. BOWMAN, D. BOLTON, P. BENDHEIM, D. GROTH & AL. – « Scrapie prions aggregate to form amyloid-like birefringent rods », *Cell* **35** (1983). (Cité en page 3.)
- [51] S. PRZEDBORSKI, M. VILA & V. JACKSON-LEWIS – « Series introduction : Neurodegeneration : What is it and where are we ? », *The Journal of Clinical Investigation* **111** (2003), no. 1, p. 3–10. (Cité en page 2.)
- [52] H. REZAEI – « Prion protein oligomerization », *SIAM J. Math. Anal.*, **31(3)** (2008). (Cité en page 4.)
- [53] H. REZAEI, D. MARC, Y. CHOISET, M. TAKAHASHI, G. H. B. HOA, T. HAERTLE, J. GROSCLAUDE & P. DEBEY – « High yield purification and physico-chemical properties of full-length recombinant allelic variants of sheep prion protein linked to scrapie susceptibility », *European Journal of Biochemistry* **267** (2000), p. 2833–2839. (Cité en pages 4 et 5.)
- [54] E. RUCKENSTEIN & D. DADYBURJOR – « Mechanisms of aging of supported metal catalysts », *J. of Catalysis* **48** (1977), p. 73–86. (Cité en page 54.)
- [55] J. L. SPOUGE – « An existence theorem for the discrete coagulation-fragmentation equations », *Math. Proc. Camb. Phil. Soc.* **96** (1984). (Cité en page 19.)
- [56] J. TOULLEC & M. MOTTET – *Analyse chimique quantitative de vogel; traduction et r vision scientifique de la 6e  dition américaine par jean toullec et monique mottet*, Bruxelles, 2006. (Cité en page 14.)
- [57] K. URBAN – « Wavelets in numerical simulation ; problem adapted construction and applications », *Lecture Notes in Computational Science and Engineering* **22** (2002). (Cité en page 86.)
- [58] J. A. D. WATTIS & J. R. KING – « Asymptotic solutions of the becker-döring equations », *Journal of Physics A : Mathematical and General* **31** (1999), no. 34, p. 7169–7189. (Cité en page 19.)

- [59] H.-X. ZHOU & P. A. BATES – « Modeling protein association mechanisms and kinetics ». (Cité en page 11.)