



HAL
open science

Analyse des voies métaboliques au cours du cycle cellulaire : application au métabolisme du cancer

Cecile Moulin

► **To cite this version:**

Cecile Moulin. Analyse des voies métaboliques au cours du cycle cellulaire : application au métabolisme du cancer. Bio-Informatique, Biologie Systémique [q-bio.QM]. Université Paris-Saclay, 2020. Français. NNT : 2020UPASG022 . tel-03164566

HAL Id: tel-03164566

<https://theses.hal.science/tel-03164566v1>

Submitted on 10 Mar 2021

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.

Analyse des voies métaboliques au cours du cycle cellulaire : Application au métabolisme du cancer

Thèse de doctorat de l'Université Paris-Saclay

École doctorale n° 580 Sciences et Technologies de
l'Information et de la Communication (STIC)
Spécialité de doctorat: Informatique
Unité de recherche: Université Paris-Saclay, CNRS, Laboratoire de
recherche en informatique, 91405, Orsay, France
Réfèrent: Faculté des sciences d'Orsay

**Thèse présentée et soutenue en visioconférence totale,
le 5 novembre 2020, par**

Cécile MOULIN

Composition du jury:

Pascale Le Gall Professeure, CentraleSupélec	Présidente
Jean-Paul Comet Professeur, Université de Nice Sophia Antipolis	Rapporteur et Examineur
Jean-Marc Schwartz Professeur associé, University of Manchester	Rapporteur et Examineur
Laurent Schwartz Docteur, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris	Examineur
Sabine Peres Maître de conférence, HDR, Université Paris-Saclay	Directrice de thèse
Laurent Tournier Chargé de recherche, INRAE Jouy-en-Josas (MalAGE)	Co-encadrant de thèse
Matthieu Jules Professeur, INRAE Jouy-en-Josas (Micalis)	Invité

Aux êtres chers disparus et à ceux qui sont encore là.

Remerciements

De nombreuses personnes ont contribué, à leur manière, à la rédaction de ce manuscrit. Voici une liste hélas non-exhaustive des personnes que je souhaite remercier.

Tout d'abord merci à Sabine Peres et Laurent Tournier de m'avoir encadrée durant cette thèse. Je sais que la tâche n'a pas toujours été facile et je ne vous remercierai jamais assez de m'avoir soutenue et encouragée dans cette expérience, surtout dans mes périodes de doute.

Merci à Anne Vilnat et François Fages d'avoir accepté d'évaluer mon travail à mi-parcours et d'avoir trouvé des mots qui m'ont aidée alors que j'étais au plus bas. Merci à Pascale Le Gall, Jean-Paul Comet, Jean-Marc Schwartz, Matthieu Jules et Laurent Schwartz d'avoir évalué la version finale de ce travail et d'avoir fait partie de mon jury de thèse. Merci pour vos commentaires sur mon travail, mon manuscrit, ma présentation. Ils me donnent confiance en moi pour la suite.

Merci aux membres des équipes BioInfo du LRI et Biosys de MaIAGE pour le temps passé ensemble. Merci pour votre écoute, vos retours et vos conseils lors de mes répétitions et présentations. Merci aux personnes avec lesquelles je mangeais le midi. Les discussions que l'on avait étaient toujours très intéressantes. Adeline, Pierre, merci pour votre aide dans la résolution des problèmes du Marathon de Maths.

Merci aussi à toutes les personnes ayant partagé mon bureau d'avoir égayé l'espace de travail : Alexandra, Stéphanie, Alice, Ousmane, Yunjiao. Continuez à dessiner sur le tableau! Ana, thank you a lot for our conversations.

Merci à mes proches de m'avoir supportée (dans les deux sens) durant ces quatre années. Je sais que ça n'a pas toujours été facile de me suivre dans cette expérience, merci pour votre patience, pour votre écoute et pour toutes les fois où j'ai parlé de mon travail sans que vous ne compreniez mais en étant quand même très attentif (ou alors vous faites bien semblant). Merci aux membres du Discord *La Recherche au Temps du Corona* de m'avoir épaulée pour la dernière ligne droite qui n'est déjà pas une étape facile mais qui s'est aussi déroulée en pleine pandémie mondiale.

Merci aussi à toutes les personnes que je ne connais pas mais qui m'ont aidé : merci à tous les chercheurs qui m'ont précédée et qui m'ont transmis leur(s) témoin(s) dans cette longue course de relais qu'est la recherche. Merci à Jorge Cham pour *PhD Comics*, merci aux personnes gérant et participant à *Ciel Mon Doctorat* et merci à Alexandra Elbakyan.

Finalement, merci à la molécule d'eau d'être coudée.

Table des matières

Introduction	7
1 Contexte et problématiques	9
1.1 Le métabolisme cellulaire	9
1.1.1 La cellule	9
1.1.2 Le métabolisme : un réseau de production	10
1.1.3 Dynamique du métabolisme	14
1.1.4 Modélisation du métabolisme	18
1.2 Modélisation de la dynamique du métabolisme	19
1.2.1 La catalyse enzymatique : modèle de Michaelis-Menten	19
1.2.2 Régulations allostériques	21
1.2.3 Modèle simplifié de la croissance d'une population de cellules	22
1.3 Le métabolisme au cours du cycle cellulaire	23
1.3.1 Description du cycle cellulaire mammifère	23
1.3.2 Évolution du métabolisme au cours du cycle cellulaire	24
1.3.3 Modélisation du métabolisme au cours du cycle cellulaire	27
2 Construction et analyse d'un modèle dynamique du métabolisme central du carbone	29
2.1 Construction du modèle	29
2.1.1 Le réseau de réactions	29
2.1.2 Le système d'équations différentielles	30
2.1.3 Définition des vitesses de réaction	32
2.1.4 Les entrées et les paramètres	34
2.2 Simulations du modèle	35
2.2.1 Une première simulation : obtention d'un point d'équilibre	35
2.2.2 Analyse de l'équilibre en glucose	38
2.2.3 Étude de l'équilibre en glutamine	40
3 Construction et analyse d'un système hybride du métabolisme au cours du cycle cellulaire	45
3.1 Principales variations métaboliques au cours des phases du cycle cellulaire	45
3.1.1 Analyse bibliographique : le contrôle du métabolisme au cours du cycle cellulaire	45
3.1.2 Analyse du modèle : le contrôle du métabolisme au cours du cycle cellulaire	46
3.2 Intégration des phases du cycle cellulaire	51
3.2.1 Création d'un modèle pour chaque phase	51
3.2.2 Assemblage en un système hybride	54
3.3 Analyse du système hybride	57
3.3.1 Simulation et comportement asymptotique du système hybride	57
3.3.2 Analyse par phase	59
3.3.3 Analyse de la durée du cycle cellulaire	62

4	Utilisation du modèle : analyse du métabolisme des cellules cancéreuses	65
4.1	Principales variations métaboliques connues dans les cellules cancéreuses	65
4.1.1	Comment le métabolisme s'adapte au cancer	66
4.1.2	Les différences enzymatiques entre cellules saines et cellules cancéreuses	67
4.1.3	Sélection des paramètres les plus influents	69
4.2	Sélection de modèles intégrant ces principales variations	74
4.2.1	Création de jeux de paramètres	74
4.2.2	Sélection de jeux de paramètres	74
4.2.3	Statistiques des jeux de paramètres sélectionnés	76
4.3	Extension de l'automate hybride au métabolisme des cellules cancéreuses	79
	Conclusion et Perspectives	83
	Annexes	87
A	Construction et analyse d'un modèle dynamique du métabolisme central du carbone	87
A.1	Le réseau de réactions	87
A.2	Les métabolites	89
A.3	Le système d'équations différentielles	89
A.4	Les régulations allostériques	91
A.5	Les vitesses	91
A.6	Les paramètres du modèle	93
A.7	Concentrations initiales	94
B	Article : Using a Hybrid Approach to Model Central Carbon Metabolism Across the Cell Cycle	95
C	Utilisation du modèle : analyse du métabolisme des cellules cancéreuses	111
C.1	Sélectionner les paramètres les plus influents	111
C.2	Extension de l'automate hybride au métabolisme des cellules cancéreuses	112
	Bibliographie	115

Introduction

Diviser pour mieux régner est une stratégie politique ou militaire visant à semer la discorde entre les parties d'un tout afin de les affaiblir et d'avoir du pouvoir sur ces parties. Cette stratégie est aussi utilisée en informatique, en particulier dans la conception d'algorithmes, et vise à subdiviser des problèmes importants en plus petits problèmes que l'on peut résoudre plus facilement. Plus généralement, cette stratégie peut être appliquée à tout sujet trop complexe pour être attaqué d'un bloc. C'est par exemple le cas en biologie cellulaire, discipline scientifique où les cellules sont étudiées. Une cellule est un écosystème dynamique et auto-régulé dont la vie et la survie sont assurées par une multitude de réactions chimiques coordonnées. Comment ces réactions sont coordonnées et comment elles assurent le fonctionnement de la cellule sont deux questions au cœur de la biologie cellulaire. Pour les aborder on divise souvent le fonctionnement de la cellule en *processus cellulaires* que l'on étudie indépendamment les uns des autres. Les deux processus cellulaires qui nous intéressent dans cette thèse sont le *métabolisme* et le *cycle cellulaire*. Le métabolisme est l'ensemble des réactions biochimiques de la cellule assurant la transformation des nutriments en énergie et en autres éléments nécessaires à son fonctionnement et à sa survie. Le cycle cellulaire est, quant à lui, l'ensemble des étapes qui assurent sa division et sa prolifération. Ces deux processus sont centraux dans la vie de la cellule. On sait aussi qu'ils sont fortement interconnectés, en particulier car le métabolisme fournit à la cellule les éléments nécessaires aux différentes étapes de sa division. Malgré cela, et malgré le fait que l'on étudie ces processus depuis plus d'un siècle - on étudie la division cellulaire depuis au moins la deuxième partie du XIX^{ème} siècle [1] et le métabolisme au moins depuis le début du XX^{ème} siècle [2] - on connaît encore très peu de choses sur leurs connexions.

Comprendre comment le métabolisme et le cycle cellulaire fonctionnent ensemble relève de plusieurs enjeux. Il s'agit tout d'abord de la mission première de la recherche : "explorer des nouveaux phénomènes étranges, découvrir de nouvelles choses, et au mépris des difficultés, faire avancer la frontière de nos connaissances"¹. Il y a aussi des enjeux plus concrets. Mieux comprendre comment ces deux processus se coordonnent peut permettre de mieux comprendre les dysfonctionnements pouvant les affecter ou affectant leur coordination, comme c'est le cas dans le cancer. Le cancer est un ensemble de maladies caractérisées par la prolifération anarchique des cellules touchées. Dans les cellules cancéreuses, de nombreux processus cellulaires sont affectés et en particulier, nous pouvons observer des différences importantes au niveau du métabolisme et du cycle cellulaire. Plus précisément, il semblerait que le métabolisme soit détourné pour soutenir la prolifération des cellules cancéreuses. Ainsi, avoir une meilleure compréhension des connexions entre le métabolisme et le cycle cellulaire pourrait permettre d'identifier de nouvelles cibles de traitement.

Bien qu'il reste encore de nombreuses questions à propos du métabolisme et du cycle cellulaire seuls, nous avons une compréhension suffisamment fine de ces deux processus pour que l'on puisse maintenant étudier leur couplage. Le couplage du métabolisme et du cycle cellulaire est la problématique centrale de cette thèse. En particulier nous nous intéressons à l'évolution du métabolisme mammifère au cours du cycle cellulaire et nous proposons un modèle pour l'étudier. D'après Dr James Black², les modèles mathématiques sont "des descriptions précises de notre pensée pathétique de la nature". Les modèles créent une réalité simplifiée que nous pouvons observer sous de nombreux angles, une réalité sur laquelle nous pouvons raisonner, une réalité que nous pouvons manipuler de différentes façons et dont nous pouvons tirer des informations que nous confrontons ensuite à la réalité de notre monde. En résumé, les modèles mathématiques sont de précieux outils dans l'étude des phénomènes complexes présents en biologie. Pour plus de détails sur la modélisation en biologie, nous conseillons la lecture de [3]. Dans cette thèse, nous étudions tout d'abord le métabolisme indépendamment du cycle cellulaire par le biais

1. adaptation libre du générique de Star Trek

2. prix Nobel de physiologie ou médecine en 1988

d'un modèle dynamique. Ensuite, nous cherchons comment la cellule adapte son métabolisme au cycle cellulaire et nous incluons finalement dans le modèle métabolique certains aspects de cette adaptation, construisant ainsi un modèle représentant l'évolution métabolisme au cours du cycle cellulaire.

Dans le premier chapitre de cette thèse, nous présentons tout d'abord le contexte général et les problématiques abordées. Nous présentons plus en détail ce que sont le métabolisme et le cycle cellulaire. Nous décrivons ensuite certaines connexions entre le métabolisme et le cycle cellulaire. Finalement, nous résumons l'approche que nous avons utilisé pour construire notre modèle du métabolisme au cours du cycle cellulaire. Ensuite dans le chapitre 2, nous construisons un système d'équations différentielles représentant la dynamique du métabolisme au cours de la croissance cellulaire et ne prenant pas en compte les spécificités propres à chaque étape du cycle cellulaire. Nous analysons ensuite ce modèle en fonction de son milieu et nous comparons sa dynamique à nos connaissances du métabolisme. Comme nous retrouvons les principaux comportements attendus, nous utilisons ce modèle comme base pour la suite. Dans le chapitre 3, nous continuons d'analyser le modèle du chapitre 2. Nous cherchons tout d'abord à savoir si nous y retrouvons certaines réponses du métabolisme aux variations dues au cycle cellulaire. Satisfaits des résultats obtenus, nous intégrons à ce modèle les spécificités du cycle cellulaire et nous construisons la principale contribution de cette thèse : un modèle hybride représentant le métabolisme au cours du cycle cellulaire. Dans la dernière partie de ce chapitre, nous analysons ce modèle hybride et nous retrouvons les principales tendances du métabolisme au cours du cycle cellulaire. Finalement, nous perturbons, dans le chapitre 4, ce modèle hybride en y intégrant des modifications du métabolisme que l'on observe dans les cellules cancéreuses afin d'étudier ses réponses à ces modifications.

Chapitre 1

Contexte et problématiques

1.1 Le métabolisme cellulaire

Le terme *métabolisme* désigne un ensemble de processus de transformation de matière liés à l'alimentation et à la survie des êtres vivants. Ce terme regroupe plusieurs notions à travers différentes disciplines. En physiologie et plus particulièrement en nutrition, on parle du *métabolisme actif* et du *métabolisme basal* (au repos). En écologie, on parle de *métabolisme autotrophe* lorsque l'organisme se nourrit exclusivement de matières minérales (végétaux) ou *hétérotrophe* lorsque l'organisme se nourrit également d'autres organismes (animaux). Dans cette thèse, nous nous intéressons au métabolisme à l'échelle d'une cellule : le *métabolisme cellulaire*.

Le métabolisme cellulaire peut être vu comme un réseau complexe de réactions biochimiques, qui permet à la cellule de produire les éléments dont elle a besoin pour assurer son fonctionnement ainsi que sa survie. Ayant lieu dans la cellule, nous présentons tout d'abord ce qu'est une cellule. Nous présentons ensuite la structure du métabolisme cellulaire dans la partie 1.1.2. Dans la partie 1.1.3 nous nous intéressons à la dynamique du métabolisme. Finalement dans la partie 1.1.4 nous présentons comment nous pouvons modéliser le métabolisme.

1.1.1 La cellule

La cellule est l'unité anatomique fondamentale de tous les êtres vivants. Comme le dit Jacques Monod dans **Le hasard et la nécessité**, la cellule est à la fois l'unité *structurale* et *fonctionnelle* du vivant [4].

Unité structurale du vivant

La cellule est appelée unité structurale du vivant car tous les organismes vivants actuellement connus sont composés d'une ou plusieurs cellules. Les organismes composés d'une seule cellule sont appelés organismes unicellulaires tandis que ceux composés de plusieurs cellules sont des organismes pluricellulaires. Une cellule est un espace limité par une membrane plasmique contenant du cytoplasme et du matériel génétique. Les cellules *eucaryotes* sont des cellules dont le cytoplasme est organisé en différents compartiments. Ces compartiments sont appelés organites et ont une fonction propre. Nous montrons sur la figure 1.1 la coupe d'une cellule eucaryote. Nous pouvons y voir la membrane plasmique, ainsi que différents organites dans le cytosol. En particulier, nous pouvons noter la présence d'un *noyau*, marqueur des cellules eucaryotes (*eu-*, avec, *-caryote* noyau). Le rôle du noyau est de contenir le génome nucléaire, c'est-à-dire la principale partie du matériel génétique de la cellule. Ce matériel génétique est stocké sous forme d'*ADN* (acide désoxyribonucléique), regroupé en différents chromosomes. Nous pouvons aussi noter la présence des *mitochondries*. Les mitochondries sont le siège de la *chaîne respiratoire*, une partie importante du métabolisme. La chaîne respiratoire fait partie de la *respiration cellulaire aérobie*, ensemble de réactions qui dégrade le sucre en énergie pour la cellule en présence de dioxygène. On désigne souvent les mitochondries comme étant les *usines énergétiques de la cellule* car la respiration cellulaire aérobie est capable de produire beaucoup d'énergie.

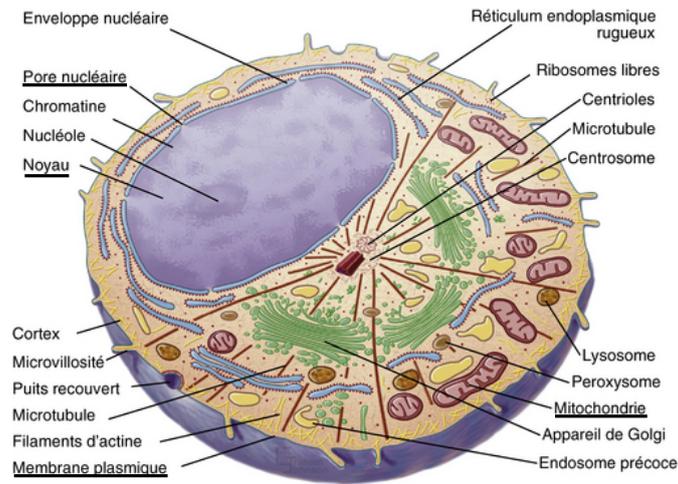


FIGURE 1.1 – Illustration de la coupe d’une cellule eucaryote montrant les éléments internes. Source : Pollard TD, Earnshaw WC, **Biologie cellulaire**, Coll. Campus. Elsevier 2004 [5].

Unité fonctionnelle du vivant

Dans son essai, Jacques Monod décrit la cellule comme l’unité fonctionnelle du vivant car il s’agit de la plus petite structure ayant toutes les propriétés du vivant [4]. Ces propriétés sont, d’après lui, l’*invariance reproductrice* (la capacité à se reproduire en transmettant sa structure), la *morphogenèse autonome* (la capacité à se créer soi-même) et la *téléonomie* (la capacité d’une espèce à se conserver dans le temps).

Définir ce qui est vivant est complexe [6]. Le cas des virus est par exemple sujet à débat : sont-ils ou non vivant ? [7, 8]. Nous n’entrons pas ici dans plus de détails au sujet de cette définition. Dans cette thèse, nous nous intéressons aux trois caractéristiques centrales suivantes :

- La cellule doit tout d’abord s’approvisionner en éléments nécessaires à son fonctionnement. Cela peut être puiser directement ces éléments dans son environnement ou bien les extraire à partir de la transformation d’éléments disponibles dans l’environnement. Dans la cellule, le métabolisme assure cette fonction. En effet, le métabolisme transforme les nutriments présents dans le milieu en énergie ou en éléments de base pour la construction des constituants de la cellule comme les membranes ou les organites.
- La cellule doit être capable d’interagir et de s’adapter à son environnement. Ceci se fait grâce à de multiples réseaux de signalisation [9] ou de régulation génétiques [10]. Ces réseaux permettent à la cellule de transmettre l’information captée par les récepteurs membranaires et d’adapter au mieux le fonctionnement de la cellule. Nous pouvons citer comme exemple la répression catabolique [11, 12, 13]. Il s’agit de la capacité des bactéries à modifier leur métabolisme afin de consommer en priorité la source de carbone qui leur est la plus favorable lorsqu’il y a plusieurs sources de carbone dans le milieu.
- Enfin, la cellule doit pouvoir se reproduire. La cellule se reproduit en se divisant en deux cellules. Pour cela, elle suit les étapes du *cycle cellulaire*, un processus que nous présentons dans la partie 1.3.1.

1.1.2 Le métabolisme : un réseau de production

Le métabolisme est central dans la vie de la cellule. Comme dit précédemment, le rôle du métabolisme est de produire l’énergie et les éléments nécessaires à la survie de la cellule à partir des nutriments présents dans le milieu. La cellule puise dans son milieu différents nutriments : glucose, acides aminés ou encore dioxygène (O_2). Une fois les nutriments dans la cellule, ils peuvent être directement utilisés ou alors sont transformés par le métabolisme en briques de base pour les constituants de la cellule ou pour son fonctionnement. Par exemple les nutriments peuvent être transformés en nucléotides pour l’ADN,

en acides aminés pour les protéines, en lipides pour les différentes membranes ou encore en réserve de carbone (glycogène chez les cellules animales, amidon chez les cellules végétales). Le métabolisme produit aussi de l'énergie à partir de ces nutriments. Cette énergie est principalement stockée sous forme d'ATP (adénosine triphosphate). La cellule utilise l'ATP pour de nombreuses fonctions cellulaires.

Le métabolisme est un réseau complexe composé d'un très grand nombre de réactions biochimiques. Par exemple, Orth *et al.* proposent un modèle du métabolisme d'*Escherichia coli* où il y a plus de 2 000 réactions [14]. Brunk *et al.* quant à eux proposent un modèle du métabolisme humain ayant plus de 13 000 réactions [15]. Les réactions du métabolisme sont des réactions catalysées par des *enzymes* ; on les appelle des *réactions enzymatiques*. Au début du XX^e siècle, Victor Henri [16], Leonor Michaelis [17] et Maud Menten [18] ont proposé un modèle classique de la réaction enzymatique $S \xrightarrow{E} P$. Dans ce modèle, illustré par la figure 1.2, le substrat S se fixe dans un premier temps sur le site actif de l'enzyme E pour former le complexe enzyme substrat ES (de façon réversible) qui peut alors former le produit P tout en relâchant l'enzyme E. Ce modèle est couramment utilisé de nos jours pour décrire le fonctionnement d'une enzyme ainsi que pour calculer la vitesse d'une réaction enzymatique (voir partie 1.2.1).

Les réactions du métabolisme sont organisées en *réseau*. En effet, les réactions enzymatiques sont interconnectées les unes aux autres, le produit d'une réaction servant de substrat à d'autres réactions. À l'échelle du métabolisme, les substrats et les produits sont appelés *métabolites*. Le réseau métabolique est souvent représenté graphiquement par un hypergraphe orienté comme dans la figure 1.3a, où les nœuds sont les métabolites et les arcs les réactions. Chaque arc est labellisé du nom de l'enzyme catalysant la réaction.

Du fait du grand nombre de réactions et de leurs nombreuses interconnexions, l'analyse de la dynamique des réseaux métaboliques est une tâche complexe. Pour en faciliter l'étude, ces réseaux sont généralement découpés en *voies métaboliques*. Une voie métabolique est un ensemble de réactions enzymatiques partageant un rôle commun, comme par exemple la production d'un composé particulier. Sur la figure 1.3b, nous présentons une illustration des principales voies du métabolisme.

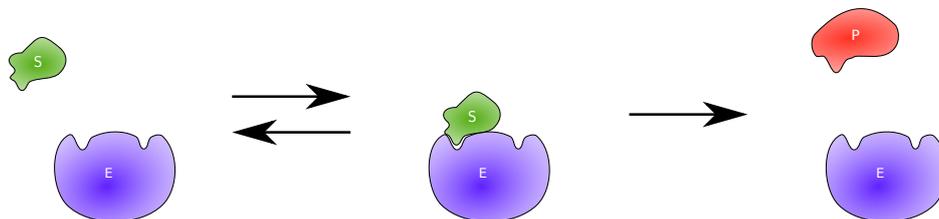
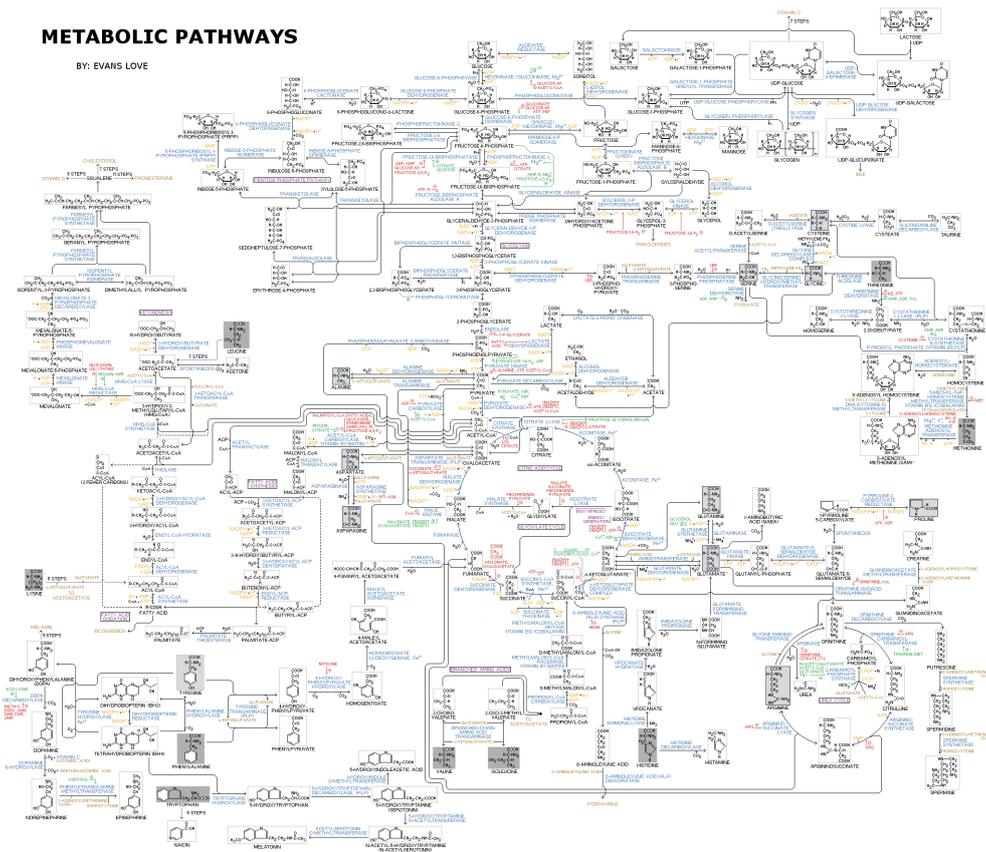


FIGURE 1.2 – Une réaction enzymatique d'après V.Henri, L. Michaelis et M. Menten.

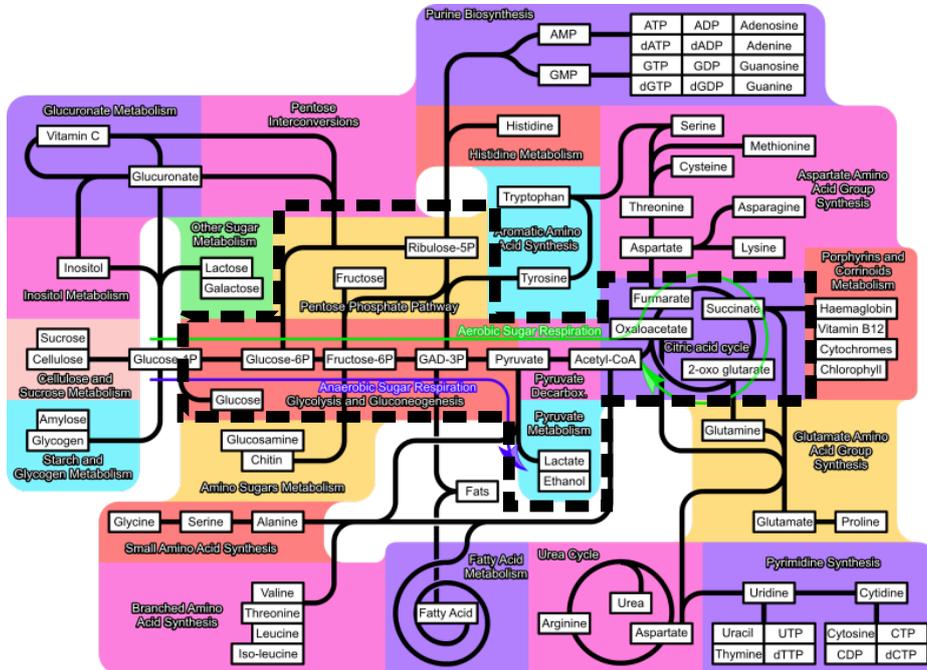
Dans cette thèse, nous nous intéressons à un sous-ensemble de voies métaboliques appelé *métabolisme central du carbone*, ou CCM (Central Carbon Metabolism). Le CCM est dit *central* car il est fortement conservé à travers le vivant : on le retrouve à la fois chez des bactéries comme *Escherichia Coli*, les levures ou les mammifères. Le CCM transforme les sources de carbone, généralement du glucose, en énergie et en précurseurs pour les autres voies métaboliques. Comme nous pouvons le voir sur la figure 1.3b où le CCM est encadré, le CCM est connecté à toutes les autres voies métaboliques. En particulier, et c'est ce qui nous intéresse dans cette thèse, le CCM est connecté aux voies de synthèse des nucléotides, acides aminés et lipides. Le CCM produit aussi la majeure partie de l'énergie de la cellule. Le métabolisme central du carbone regroupe la *glycolyse*, la *voie des pentoses phosphates*, le *cycle de Krebs* (aussi appelé TCA cycle ou juste TCA pour TriCarboxylic Acid cycle) et l'*overflow*. Dans cette thèse, nous considérons aussi la *glutaminolyse*. Nous schématisons le CCM et ce qu'il permet de produire dans la figure 1.4 et nous présentons chacune de ses voies ci-dessous :

METABOLIC PATHWAYS

BY: EVANS LOVE



(a) Le réseau métabolique humain [19]



(b) Les principales voies du métabolisme [20]. Encadré : le métabolisme central du carbone.

FIGURE 1.3 – Le réseau métabolique et les voies métaboliques. Sources : Wikipédia Commons.

- *La glycolyse*, que nous représentons en bleu, a comme entrée le glucose et comme sortie le pyruvate. Le rôle de la glycolyse est de décomposer le glucose, un élément à six atomes de carbone, en pyruvate, un élément à trois atomes de carbone. Durant cette décomposition, la glycolyse produit de l'énergie sous forme d'ATP. La glycolyse a un rendement net de deux molécules d'ATP pour chaque molécule de glucose consommée.
- *La voie des pentoses phosphates*, représentée en vert, a comme entrée le glucose-6-phosphate (G6P), métabolite issu de la transformation du glucose par la première étape de la glycolyse. Cette voie produit plusieurs précurseurs importants dont le ribose-5-phosphate (R5P) pour les nucléotides et l'érythrose-4-phosphate pour les acides aminés aromatiques. Le flux restant de la voie revient en fructose-6-phosphate (F6P) et en glycéraldéhyde-3-phosphate, deux métabolites de la glycolyse. La voie des pentoses phosphates produit aussi du NADPH dont nous parlons plus en détail dans la partie 1.1.3.
- Nous représentons *le cycle de Krebs* en rouge. Contrairement aux autres voies métaboliques du CCM, la plupart des réactions de cette voie ont lieu dans la mitochondrie chez les cellules eucaryotes. L'entrée du cycle de Krebs est le pyruvate, qui entre tout d'abord dans la mitochondrie. Le pyruvate mitochondrial est ensuite transformé en acétyl-CoA (ACoA) par le *complexe pyruvate déshydrogénase*. Une partie de l'acétyl-CoA retourne dans le cytoplasme et sert de substrat pour la production des lipides. L'autre partie est utilisée par les autres réactions du cycle de Krebs. L'un des rôles du cycle de Krebs est de produire du NADH et du FADH₂. Ces deux métabolites sont utilisés avec le dioxygène (O₂) par la chaîne respiratoire pour produire de l'énergie sous forme d'ATP. Le cycle de Krebs produit donc indirectement de l'ATP : une dizaine molécules d'ATP pour une molécule de pyruvate [21]. Le cycle de Krebs est aussi connecté à de nombreuses autres voies métaboliques comme on peut le voir sur la figure 1.3b. En particulier, certains métabolites du cycle de Krebs peuvent être utilisés pour produire des nucléotides ou des acides aminés.
- *L'overflow* est représenté en violet sur le schéma de la figure 1.4. Cette voie est, tout comme le cycle de Krebs, une voie de dégradation du pyruvate. Cependant l'overflow nécessite moins d'enzymes que le cycle de Krebs : le cycle de Krebs décompose le pyruvate avec neuf enzymes différentes tandis que l'overflow le décompose avec une ou deux enzymes selon l'organisme. La sortie de cette voie est elle aussi différente selon les organismes. Cela peut être de l'acétate, de l'éthanol ou bien du lactate. Dans cette thèse, nous étudions les cellules mammifères qui produisent du lactate par le biais de l'overflow. Contrairement aux autres voies du métabolisme central du carbone, le rôle de l'overflow est plus discuté. Nous présentons ci-dessous une discussion de son rôle dans le CCM.
- *La glutaminolyse*, représentée en bleu clair, a comme entrée la glutamine, un acide aminé. La sortie de cette voie est le lactate chez les cellules mammifères. Pour transformer la glutamine en lactate, la glutaminolyse emprunte une partie du cycle de Krebs, ainsi que l'overflow. L'un des rôles de cette voie est de fournir au cycle de Krebs des métabolites intermédiaires pour compenser les métabolites consommés par les différentes voies de synthèse connectées au cycle de Krebs (lipides, nucléotides, acides aminés). Dans cette thèse, nous ajoutons cette voie au CCM car elle est particulièrement importante pour le cycle cellulaire et pour les cellules cancéreuses qui sont des cellules présentant des anomalies métaboliques que nous étudions dans le chapitre 4.

On connaît principalement l'overflow pour son rôle dans la fermentation : lorsqu'il n'y a pas suffisamment de dioxygène dans le milieu, la cellule ne peut pas utiliser le cycle de Krebs et élimine donc le pyruvate en produisant lactate/éthanol/acétate. L'overflow permet alors d'éliminer le pyruvate, ce qui permet à la cellule de continuer la glycolyse et donc la production d'énergie. Cependant, cette voie peut aussi être utilisée par la cellule en présence de dioxygène. Nous pouvons par exemple citer l'*effet Crabtree* [22] : la levure *Saccharomyces cerevisiae* produit de l'éthanol lorsqu'il y a beaucoup de glucose dans le milieu, même en présence de dioxygène. On peut aussi citer l'*effet Warburg* [23] du nom du Docteur Otto Warburg qui a découvert dans les années 1930 que les cellules cancéreuses produisaient leur énergie en utilisant la glycolyse et la production de lactate plutôt qu'en utilisant la glycolyse et le cycle de Krebs, même en présence de dioxygène. Cela est assez surprenant sur le plan du rendement énergétique. En effet, la dégradation du glucose en lactate ne produit que deux molécules d'ATP pour une molécule de glucose tandis que la respiration cellulaire aérobie (glycolyse, cycle de Krebs et chaîne respiratoire) produit entre 30 et 38 molécules d'ATP pour une molécule de glucose [21]. D'après Warburg, l'utilisation de l'overflow est due à une anomalie des mitochondries [24].

Dans son livre **Overflow Metabolism From Yeast to Marathon Runners**, Vazquez propose de regrouper les différents effets (fermentation, effet Crabtree, effet Warburg ...) sous le nom de *overflow metabolism* [25]. Il décrit l'overflow comme étant une voie d'évacuation, permettant à la cellule de se débarrasser du surplus de pyruvate que le cycle de Krebs ne peut pas gérer. Cela se comprend assez facilement dans le cas de la fermentation ou de l'effet Crabtree. Dans le cas de la fermentation, il n'y a pas assez de dioxygène et le cycle de Krebs ne peut pas fonctionner. La cellule évacue donc le pyruvate par l'overflow. Dans le cas de l'effet Crabtree, il y a beaucoup de glucose dans le milieu et une inhibition de la respiration cellulaire, ce qui entraîne un flux de production de pyruvate trop important par rapport à la capacité du cycle de Krebs. Le surplus de pyruvate est donc évacué sous forme de lactate, éthanol ou acétate. Dans le cas de l'effet Warburg, il existe des cas où les mitochondries sont défectueuses [26]. La cellule utilise alors l'overflow tout comme dans la fermentation ou l'effet Crabtree : parce que le cycle de Krebs ne peut pas dégrader tout le pyruvate. Cependant, dans certains cas, les mitochondries des cellules cancéreuses ne présentent pas d'anomalie et sont tout à fait capable de fonctionner normalement [26]. Dans ces cas, il semblerait qu'il soit plus avantageux pour la cellule d'évacuer son pyruvate sous forme de lactate plutôt que de l'utiliser dans le cycle de Krebs. Nous discutons plus en détail des avantages de ce phénomène, que l'on retrouve aussi dans les cellules immunitaires activées [27] ou les cellules en cours de prolifération [28], dans la partie 1.3.2.

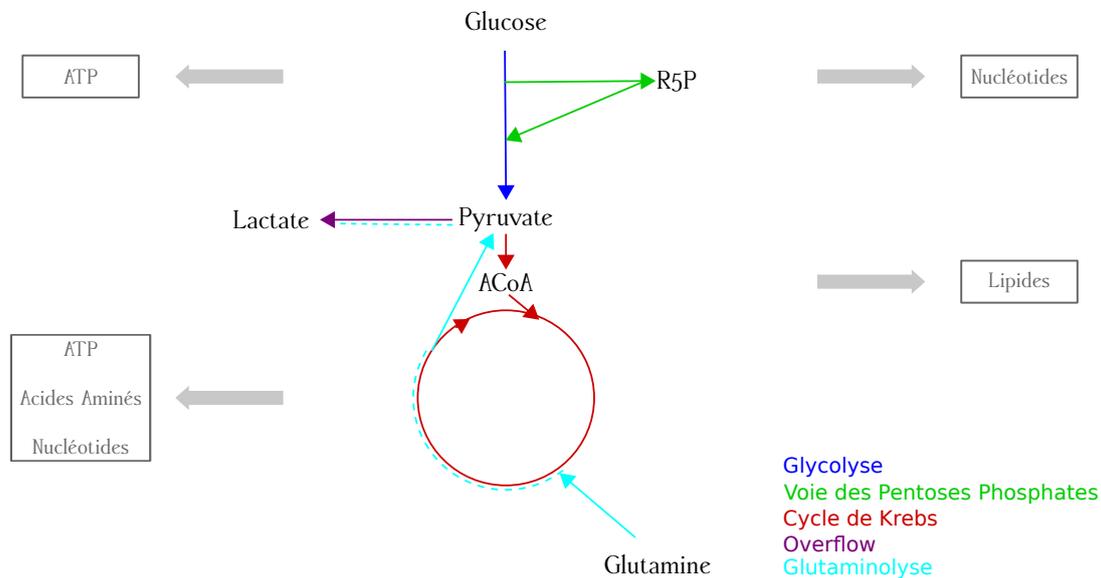


FIGURE 1.4 – Schéma du métabolisme central du carbone : les voies métaboliques et les principaux composés qu'elles produisent. Il est à noter que la glutaminolyse emprunte une partie du cycle de Krebs et de l'overflow.

1.1.3 Dynamique du métabolisme

Dans la partie précédente, nous présentons l'overflow comme une voie permettant d'éliminer le pyruvate quand le cycle de Krebs est limité, et ainsi continuer la glycolyse. En effet, l'accumulation de pyruvate dans la cellule peut empêcher le bon déroulement de la glycolyse. D'après la deuxième loi de la thermodynamique, toutes les réactions enzymatiques sont théoriquement réversibles [29] et le sens de la réaction dépend du rapport entre les concentrations des substrats et celles des produits. Ainsi, lorsque les produits d'une réaction enzymatique s'accumulent, ils peuvent empêcher cette réaction d'avoir lieu ou même en inverser le sens. L'accumulation de pyruvate peut ainsi entraîner le ralentissement voire l'arrêt de la glycolyse. C'est pour cette raison que la cellule a différents moyens d'éviter l'accumulation des métabolites, comme l'existence de voies alternatives. Il est à noter que si en théorie les réactions enzymatiques sont toutes réversibles, en pratique ces réactions ont un sens favorisé par rapport à l'autre,

ce dernier nécessitant plus d'énergie. Lorsque les conditions favorables à cet autre sens sont suffisamment rares, on considère que la réaction est irréversible.

Dans cette thèse, nous voulons étudier la dynamique des voies métaboliques au cours du temps. Pour cela, nous devons prendre en compte non seulement la dynamique de la catalyse enzymatique (décrite plus en détail dans la partie 1.2.1) mais également différents processus de régulation des réactions métaboliques. Dans ce qui suit, nous résumons les principales sources de régulation du métabolisme dans la cellule, intervenant à des niveaux différents : la production des enzymes, les régulations allostériques, ainsi que la présence de certains cofacteurs (couples énergétiques, redox) assurant de nombreuses interdépendances entre les différentes voies métaboliques.

Production des enzymes

La dynamique du métabolisme dépend d'abord de la production des enzymes dans la cellule. Comme présenté dans la partie 1.2.1, la vitesse d'une réaction catalysée par une enzyme (qui est une protéine) dépend directement de la concentration de cette enzyme. Si la concentration en enzyme diminue, alors la réaction est ralentie voire empêchée. Nous présentons sur la figure 1.5 un schéma expliquant les différentes étapes de la production d'une protéine. Tout d'abord un *gène*, l'unité de base de l'information génétique, est *transcrit* en un brin d'ARN (acide ribonucléique) dit ARN messager ou ARNm. Cet ARN messager est ensuite *traduit* en une séquence d'acides aminés par des *ribosomes*, des complexes macromoléculaires. Une fois traduite, la séquence d'acides aminés subit alors des modifications post-traductionnelles comme la méthylation ou la phosphorylation. Finalement, elle se replie seule ou avec d'autres chaînes d'acides aminés pour former une protéine.

Chaque étape de la production d'une protéine est finement contrôlée dans la cellule. C'est ce qu'on appelle la *régulation de l'expression des gènes*. Voici différents exemples de cette régulation. La transcription est régulée par des protéines appelées *facteurs de transcription*. Ces facteurs de transcription peuvent, par exemple, contrôler la condensation des chromosomes, permettant ou non à la machinerie transcriptionnelle d'accéder au gène à transcrire. La traduction est, quant à elle, régulée par des protéines appelées *facteurs de traduction*. Ces protéines peuvent par exemple se fixer au brin d'ARNm pour empêcher le ribosome de lire et traduire cette séquence en protéine. Elles peuvent aussi se fixer au brin d'ARNm pour, au contraire, faciliter la rencontre avec le ribosome et ainsi faciliter la traduction. Une fois repliée, une protéine peut subir différentes modifications post-traductionnelles. Parmi ces modifications, on peut par exemple citer l'*ubiquitination*, qui consiste à fixer sur la protéine une séquence protéique appelée *ubiquitine* qui sert de marqueur pour les protéines à dégrader. La cellule peut ainsi contrôler la concentration d'une protéine, ou d'une enzyme dans le cas du métabolisme, en contrôlant directement son taux de production et/ou de dégradation.

Ces différents mécanismes de contrôle de la concentration des enzymes sont utilisés par exemple dans le phénomène de *répression catabolique* ou *carbon catabolite repression* (CCR) en anglais que nous abordons dans la partie 1.1.1. La répression catabolique est un mécanisme utilisé par la cellule (bactéries, levures et champignon) lorsqu'elle est en présence de plusieurs sources de carbone. Au lieu de produire toutes les enzymes catalysant la métabolisation de chaque source, la cellule ne produit que les enzymes liées à la source de carbone lui étant la plus favorable. En ne produisant que ces enzymes-là, la cellule peut ainsi économiser des ressources et rester compétitive [11, 12, 13].

Régulation allostérique

Outre la concentration d'enzyme, la vitesse d'une réaction dépend aussi de l'*activité* de l'enzyme. L'activité d'une enzyme est sa capacité à transformer les substrats en produits. Cette activité peut être modifiée de différentes façons. Les transformations post-traductionnelles en sont un exemple : la glycogène synthase est inhibée lorsqu'elle est phosphorylée [30]. Une autre façon de modifier l'activité d'une enzyme réside dans les *régulations allostériques*. D'après le concept formalisé par Monod, Wyman et Changeux dans les années 60 [31], une enzyme allostérique a plusieurs sites : des *sites actifs* où se fixent les substrats et des *sites régulateurs* où peuvent se fixer d'autres molécules. Ces molécules sont appelées *régulateurs* et ont pour effet de modifier l'activité de l'enzyme. Cela peut être une augmentation de l'activité de l'enzyme : on parle alors d'*activation* et le régulateur est un *activateur*, ou une diminution : on parle alors d'*inhibition* et le régulateur est un *inhibiteur*. Les deux effets peuvent même se conjuguer.

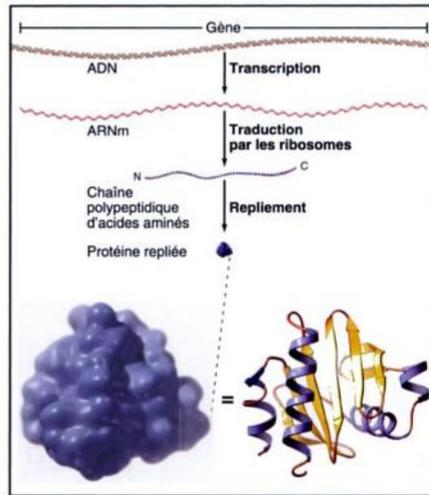
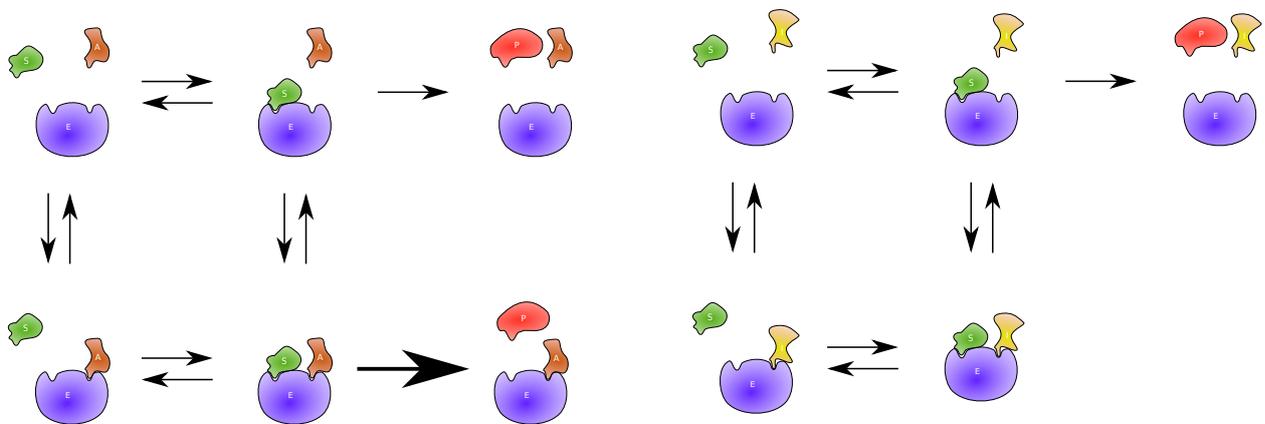


FIGURE 1.5 – Schéma de la production d'une protéine à partir d'un gène (droite). Source : Pollard TD, Earnshaw WC, **Biologie cellulaire**, Coll. Campus. Elsevier 2004 [5].

Par exemple la phosphofructokinase, une enzyme de la glycolyse, est activée par l'AMP, l'adénosine monophosphate [32, 33] et est inhibée par le citrate, un métabolite du cycle de Krebs [32, 33].

Il existe différents types d'activation ou d'inhibition. On peut par exemple citer le phénomène d'activation non essentielle, représentée dans la figure 1.6a ou bien celui d'inhibition non compétitive, représentée dans la figure 1.6b, les deux régulations utilisées dans cette thèse.



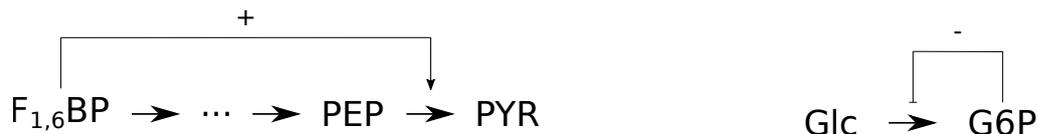
(a) Activation non essentielle. A (orange) activateur - E (bleu) enzyme - S (vert) substrat - P (rouge) produit. La fixation de l'activateur sur l'enzyme accélère la réaction qui transforme le substrat en produit.

(b) Inhibition non compétitive. I (jaune) inhibiteur - E (bleu) enzyme - S (vert) substrat - P (rouge) produit. La fixation de l'inhibiteur sur l'enzyme n'empêche pas la fixation du substrat sur l'enzyme, mais empêche le transformation du substrat en produit.

FIGURE 1.6 – Modèles de régulation allostérique. Gauche : Activation non essentielle. Droite : Inhibition non compétitive

Nous venons de présenter deux niveaux différents de contrôle d'une réaction métabolique dans la cellule : le contrôle par la régulation de l'expression des gènes qui est plutôt lent, et le contrôle par les régulations allostériques qui est un moyen plus rapide et réversible (à l'échelle de l'enzyme) de contrôler la

réaction métabolique. Les régulations allostériques permettent à la cellule de mettre en place des *boucles de contrôle* efficaces, comme la *boucle d'anticipation positive* (un métabolite active une enzyme qui se trouve en aval dans la voie métabolique) ou la *boucle de rétroaction négative* (un métabolite inhibe une enzyme qui se trouve en amont dans la voie métabolique). Par exemple, sur la figure 1.7a, nous représentons une boucle d'anticipation positive : le fructose 1,6-biphosphate (F1,6BP), un métabolite intermédiaire de la glycolyse active la pyruvate kinase, la dernière enzyme de la glycolyse [32, 33]. Cela permet, entre autre, d'augmenter la vitesse de la glycolyse et d'éviter l'accumulation de métabolites intermédiaires. Sur la figure 1.7b nous représentons une boucle de rétroaction négative : le glucose-6-phosphate (G6P), un métabolite se trouvant au début de la glycolyse, inhibe l'hexokinase, l'enzyme qui produit du G6P à partir du glucose. Cela permet à la cellule d'éviter l'accumulation de G6P et d'éviter de consommer du glucose dont elle n'a pas besoin.



(a) F_{1,6}BP active la pyruvate kinase qui transforme le phosphoénolpyruvate (PEP) en pyruvate (PYR).

(b) G6P inhibe l'hexokinase qui transforme le glucose (Glc) en glucose-6-phosphate (G6P).

FIGURE 1.7 – Exemples de boucle de contrôle. Gauche : boucle d'anticipation positive. Droite : Boucle de rétroaction négative.

Complexité et connectivité du réseau métabolique

Dans la partie 1.1.2 nous présentons les voies métaboliques comme des modules bien séparés et couplés uniquement par les métabolites se trouvant à leurs jonctions. Nous présentons par exemple le pyruvate comme un métabolite se trouvant entre la glycolyse, le cycle de Krebs et l'overflow. Cependant, les voies métaboliques sont aussi fortement connectées par l'ATP, l'ADP, l'AMP (l'adénosine tri/di/mono/phosphate), le NAD, le NADH (le nicotinamide adénine dinucléotide oxydé/réduit) le NADP et le NADPH (le nicotinamide adénine dinucléotide phosphate oxydé/réduit). Ces métabolites fonctionnent en couple (ATP/ADP, ADP/AMP, NADH/NAD, NADPH/NADP), comprenant un donneur (à gauche) et un récepteur (à droite) dans des réactions de transfert d'électrons (nicotinamide) ou de phosphate (adénosine) et ils sont continuellement recyclés. Dans cette thèse, nous les appelons les *métabolites d'échange* (currency metabolites [34]).

Ces métabolites d'échange prennent part à de nombreuses réactions à travers tout le métabolisme, couplant les différentes voies ou bien des parties d'une même voie et ont donc une influence majeure sur la dynamique du réseau métabolique. Par exemple, l'ATP intervient à deux niveaux dans la glycolyse : dans la première partie de la glycolyse, dite d'investissement, en tant que donneur de phosphate servant à phosphoryler les métabolites et dans la deuxième partie de la glycolyse, dite de remboursement, en tant qu'accepteur de phosphate lors de la déphosphorylation des métabolites. Comme la glycolyse a besoin d'ATP pour s'initier, cette voie est donc indirectement régulée par le taux d'ATP disponible dans la cellule.

La voie des pentoses phosphates et la voie de production des lipides sont aussi couplées par des métabolites d'échange : le couple NADP/NADPH. La voie des pentoses phosphates consomme du NADP et produit du NADPH tandis que la voie de production des lipides consomme du NADPH et produit du NADP. C'est pour cela que lorsque la cellule doit produire des lipides, on peut retrouver une forte activité de la voie des pentoses phosphates : pour recycler le NADPH en NADP [28].

De par leur place centrale dans l'ensemble du réseau métabolique, le taux de ces différents métabolites d'échange est un régulateur (indirect) important de la dynamique du réseau. Des études ont montré que les concentrations des métabolites d'échange peuvent évoluer fortement au cours du cycle cellulaire [35,

36] ou bien sont significativement différentes d'une cellule saine à une cellule cancéreuse [36], indiquant que l'inclusion de ce type de régulation est cruciale dans l'analyse de la dynamique du métabolisme.

1.1.4 Modélisation du métabolisme

Dans les parties précédentes nous présentons deux aspects différents du métabolisme : dans la partie 1.1.2 nous présentons principalement le côté *statique* du métabolisme tandis que nous présentons des notions *dynamiques* dans la partie 1.1.3. Le fait que l'on puisse aborder le métabolisme de différentes façons entraîne l'existence de différents types de modélisations mathématiques du métabolisme : les modèles d'interaction, les modèles à base de contraintes et les modèles mécanistiques [37].

Les modèles d'interaction

Les modèles d'interaction s'intéressent principalement à la topologie du réseau métabolique. Ces modèles sont des modèles statiques, qui ne prennent en général pas en compte la stœchiométrie des réactions et ne nécessitent que très peu de paramètres [37]. Dans ces modèles, le métabolisme est en général représenté par un graphe ou un hypergraphe, et est étudié grâce aux outils de la théorie des graphes [37]. On peut par exemple comparer les réseaux métaboliques de différents organismes afin de découvrir des propriétés topologiques communes à ces graphes [38] ou bien retrouver une organisation modulaire [39]. Pour citer un autre exemple, Gerlee *et al.* ont élagué le graphe du réseau de réactions d'*Escherichia Coli* en enlevant les nœuds de plus haut degrés (les *currency metabolites*) et ont retrouvé des chemins fonctionnels correspondant aux voies métaboliques connues [34].

Les modèles à base de contraintes

Dans ces modèles, le métabolisme est étudié à l'état *stationnaire*, c'est-à-dire lorsque les *flux* à travers les réactions enzymatiques ont atteint un régime d'équilibre. En d'autres termes, pour chaque métabolite, il y a égalité entre son flux de production et son flux de consommation. Les modèles à base de contraintes prennent en compte la stœchiométrie des réactions enzymatiques et nécessitent relativement peu de paramètres (comparé aux modèles mécanistiques ci-après) [37]. Ce type de modèles étudie l'ensemble des flux à l'équilibre, soumis à différentes contraintes comme la conservation de la masse, la thermodynamique ou encore la densité de la cellule. Nous subdivisons cette catégorie de modèles en deux groupes : les outils utilisés pour décrire l'espace des flux possibles [29, 40, 41, 42, 43] et les modèles utilisés pour trouver des flux de cet espace optimisant un ou plusieurs critères [44, 45, 46, 47]. Les outils de description de l'espace des flux possibles, comme par exemple les modes élémentaires, peuvent servir à analyser des flux expérimentaux [48, 49] ou bien des ensembles de flux expérimentaux [50, 51]. Les modèles utilisant l'optimisation peuvent être utilisés pour construire et compléter un réseau métabolique à l'échelle du génome, à trouver les voies redondantes, à étudier la variabilité de certains flux métaboliques ou encore à tester la robustesse d'un réseau [44, 52].

Les modèles mécanistiques

Les modèles mécanistiques permettent l'étude de la dynamique du métabolisme en représentant le mécanisme de chaque réaction. Ces modèles sont en général plus complexes et plus précis que les modèles précédents et nécessitent souvent de nombreux paramètres (paramètres cinétiques, probabilités de rencontre et d'interaction entre molécules ...) [37]. Tous les modèles mécanistiques n'ont pas le même niveau de détail, et ne sont pas basés sur les mêmes outils mathématiques. Ainsi, dans les modèles basés sur l'algorithme de Gillespie [53, 54] ou bien les réseaux de Petri [55] les molécules (métabolites et enzymes) sont représentées individuellement et la réalisation des réactions se fait de façon probabiliste. Pour d'autres, les métabolites ne sont pas représentées individuellement mais sous forme de concentrations. Ces modèles sont basés principalement sur des équations différentielles. Ils peuvent être stochastiques [56] ou déterministes [13, 32, 57, 58]. Ce sont ces derniers qui seront utilisés dans cette thèse et décrits plus en détail dans la partie suivante.

1.2 Modélisation de la dynamique du métabolisme

Dans cette thèse, nous souhaitons analyser la dynamique du métabolisme de cellules mammifères. En particulier, l'une des principales contributions de cette thèse est l'étude du métabolisme au cours du cycle cellulaire. Nous utiliserons pour cela un système d'équations différentielles que nous présentons dans le chapitre 2.

Les systèmes d'équations différentielles permettent de modéliser de façon continue l'évolution de la concentration de chaque entité étudiée au cours du temps (que ce soit des métabolites, des enzymes, des complexes ...). Chaque variable $x_i(t)$ du système représente la concentration d'une entité au temps t . L'état du système à l'instant t est représenté par le vecteur

$$x(t) = \begin{pmatrix} x_1(t) \\ x_2(t) \\ \dots \\ x_n(t) \end{pmatrix} \in \mathbb{R}^n,$$

où n est le nombre d'entités étudiées.

Nous supposons que l'évolution de $x(t)$ est déterminée par l'équation suivante :

$$\forall t, \frac{dx(t)}{dt} = F(x(t)),$$

où $F : \mathbb{R}^n \rightarrow \mathbb{R}^n$ est un champ de vecteurs. Chaque composante de F peut s'écrire sous la forme :

$$F_i(x(t)) = \text{Production}_i(x(t)) - \text{Consommation}_i(x(t)).$$

Lorsque l'entité i est un métabolite, les termes $\text{Production}_i(x(t))$ et $\text{Consommation}_i(x(t))$ sont des flux de réactions métaboliques. Dans la partie 1.2.1, nous présentons le modèle de Michaelis-Menten qui est le modèle classique de la vitesse de la réaction $S \xrightarrow{E} P$. Dans la partie 1.2.2 nous présentons comment modéliser certaines régulations allostériques, affectant ainsi ce modèle de base [32]. Finalement, dans la partie 1.2.3, nous présentons la construction d'un système d'équations différentielles générique modélisant la croissance d'une population de cellules.

1.2.1 La catalyse enzymatique : modèle de Michaelis-Menten

Comme évoqué dans la partie 1.1.2, V.Henri, L.Michaelis et M.Menten ont proposé le modèle illustré par la figure 1.8 pour la réaction $S \xrightarrow{E} P$. À partir de ce modèle, ils ont déterminé la vitesse de cette réaction en fonction de la concentration du substrat et de l'enzyme [59, 60] :

$$\nu_{S \xrightarrow{E} P} = k_{\text{cat}} E_{\text{tot}} \frac{S}{S + K_m} \quad (1.1)$$

Nous présentons ci-dessous les principales étapes menant à cette expression.

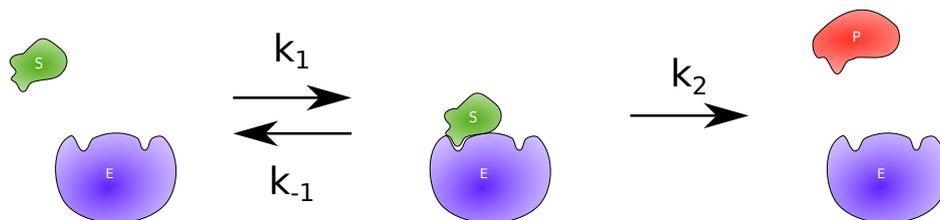
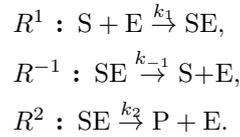


FIGURE 1.8 – Une réaction enzymatique d'après V.Henri, L. Michaelis et M. Menten

Pour déterminer cette vitesse, nous supposons que la réaction a lieu dans un milieu isolé¹, homogène² et de volume constant³. Nous supposons aussi que chaque réaction élémentaire de ce modèle suit la loi d'action de masse [61], c'est-à-dire que sa vitesse est proportionnelle au produit de la concentration de ses substrats. Les k_i de la figure 1.8 sont les coefficients de proportionnalité de chaque réaction. Ces réactions élémentaires sont :



Nous considérons quatre variables :

- $s(t)$ est la concentration du substrat S au temps t ,
- $e(t)$ est la concentration de E, l'enzyme libre,
- $c(t)$ est la concentration du complexe ES et
- $p(t)$ est la concentration du produit P.

Ces quatre concentrations sont exprimées en mM.

L'utilisation de la loi d'action de masse sur les trois réactions élémentaires mène au système

$$\begin{cases} \frac{ds(t)}{dt} = -k_1 \cdot s(t) \cdot e(t) + k_{-1} \cdot c(t), \\ \frac{de(t)}{dt} = -k_1 \cdot s(t) \cdot e(t) + k_{-1} \cdot c(t) + k_2 \cdot c(t), \\ \frac{dc(t)}{dt} = k_1 \cdot s(t) \cdot e(t) - k_{-1} \cdot c(t) - k_2 \cdot c(t), \\ \frac{dp(t)}{dt} = k_2 \cdot c(t), \end{cases} \quad (1.2)$$

où k_1 , exprimé en $\text{mM}^{-1} \text{s}^{-1}$, k_{-1} et k_2 , exprimés en s^{-1} sont des réels positifs. On associe à ce système la condition initiale suivante :

$$\begin{aligned} s(0) &= s_0, \\ e(0) &= e_0, \\ c(0) &= 0, \\ p(0) &= 0, \end{aligned}$$

où s_0 et e_0 sont deux réels positifs.

Nous pouvons remarquer la présence dans ce système des deux lois de conservation suivantes :

$$\frac{ds(t)}{dt} + \frac{dc(t)}{dt} + \frac{dp(t)}{dt} = 0 \quad (1.3)$$

$$\frac{de(t)}{dt} + \frac{dc(t)}{dt} = 0. \quad (1.4)$$

L'équation (1.3) correspond à la conservation totale de la matière : la somme $s(t) + c(t) + p(t)$ est constante au cours du temps. L'équation (1.4) correspond au fait que l'enzyme n'est globalement pas consommée lors d'une réaction enzymatique : la concentration totale d'enzyme E_{tot} (libre et complexée) reste constante au cours du temps : $E_{\text{tot}} := e(t) + c(t) = e_0$. Nous en déduisons :

$$\begin{aligned} p(t) &= s_0 - s(t) - c(t) \\ e(t) &= e_0 - c(t). \end{aligned}$$

1. pas d'entrées ou de sorties
2. on suppose que les composés se déplacent assez vite pour que le milieu soit homogène à tout instant. Plus la concentration d'un composé diminue, moins cette hypothèse est valide
3. le volume du milieu influence la concentration. Voir partie 1.2.3

En utilisant ces deux égalités, nous ramenons la résolution du système (1.2) à celle du système :

$$\begin{cases} \frac{ds(t)}{dt} = -k_1 \cdot e_0 \cdot s(t) + (k_1 \cdot s(t) + k_{-1}) \cdot c(t) \\ \frac{dc(t)}{dt} = k_1 \cdot e_0 \cdot s(t) - (k_1 \cdot s(t) + k_{-1} + k_2) \cdot c(t). \end{cases} \quad (1.5)$$

Pour résoudre ce système, nous utilisons l'hypothèse de quasi-équilibre, aussi appelé *quasi-steady-state approximation* ou bien *pseudo-steady-state hypothesis* [62]. Une interprétation de cette hypothèse est que le complexe ES se forme instantanément, menant à l'équation algébrique :

$$k_1 \cdot e_0 \cdot s - (k_1 \cdot s + k_{-1} + k_2) \cdot c = 0.$$

De cette équation, nous déduisons la concentration du complexe :

$$c(t) = \frac{k_1 \cdot e_0 \cdot s(t)}{k_1 \cdot s(t) + k_{-1} + k_2}.$$

En intégrant ceci au système (1.5), nous obtenons :

$$\frac{ds(t)}{dt} = -k_2 e_0 \cdot \frac{s(t)}{s(t) + \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}},$$

qui correspond à l'équation (1.1), avec $k_{\text{cat}} := k_2$ (s^{-1}), la constante catalytique de l'enzyme, E_{tot} (mM), la concentration totale d'enzyme et $K_m := \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$ (mM) la constante de Michaelis de l'enzyme.

Ce modèle est très utilisée dans le domaine de la biochimie par exemple [63] et dans les modèles dynamiques métaboliques [13, 32]. Il est cependant à noter que faire cette hypothèse de quasi-équilibre peut supprimer certains comportements dans le système simplifié. Flach et Schnell ont par exemple montré qu'en appliquant cette hypothèse sur le mécanisme de réaction Van Slyke-Cullen, le point d'équilibre obtenu était stable alors que le point d'équilibre du système original ne l'était pas et atteignait un cycle limite [64].

1.2.2 Régulations allostériques

Comme évoqué plus haut, les régulations allostériques peuvent affecter l'activité d'une enzyme et ainsi modifier directement cette vitesse. Ces modifications découlent du même genre de raisonnement que celui de la partie précédente. Nous présentons ici les deux régulations utilisées dans la suite de cette thèse.

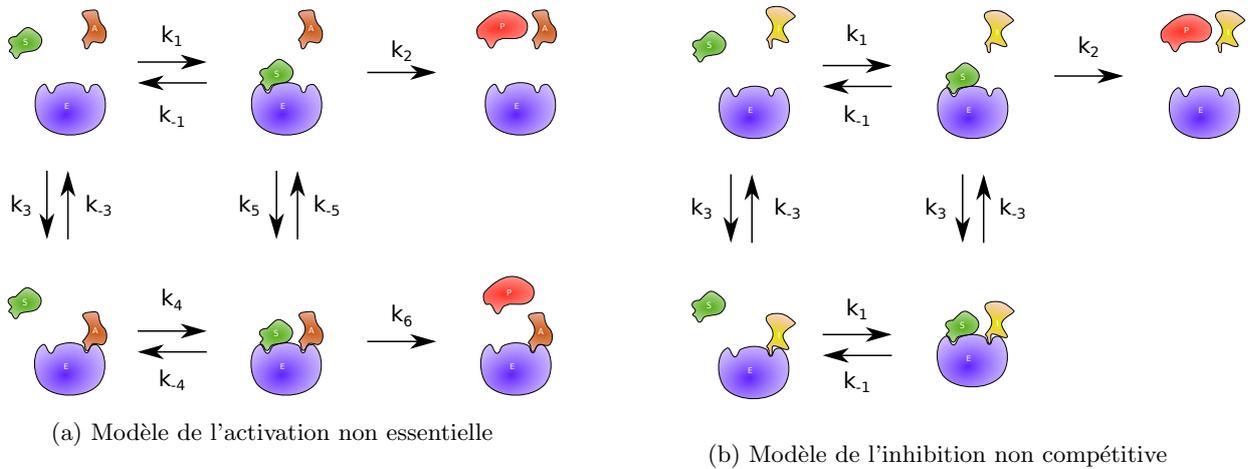


FIGURE 1.9 – Deux exemples de deux modèles de régulation allostérique

La première régulation que nous présentons est l'activation non-essentielle schématisée par la figure 1.9a. Selon [65], on suppose qu'un activateur peut se fixer à l'enzyme pour faciliter la transformation de S en P, mais que la présence de cet activateur n'est pas obligatoire. La vitesse de cette réaction est :

$$\nu(t) := k_{\text{cat}} E_{\text{tot}} \cdot \frac{(1 + \frac{\beta}{\alpha K_A} a(t)) \cdot s(t)}{(1 + \frac{1}{K_A} a(t)) \cdot K_S + (1 + \frac{1}{\alpha K_A} a(t)) \cdot s(t)}, \quad (1.6)$$

où $s(t)$ et $a(t)$ (mM) sont les concentrations du substrat S et de l'activateur A, E_{tot} est la concentration totale de l'enzyme, $k_{\text{cat}} := k_2$ (s^{-1}) est la constante catalytique de l'enzyme $K_S := \frac{k_{-1}}{k_1}$ et $K_A := \frac{k_{-3}}{k_3}$ (mM) sont les constantes de dissociation des complexes SE et AE. K_A est aussi appelée constante d'activation. Les paramètres α et β sont des paramètres sans unité propres à l'activation. Pour plus de détails sur ce modèle, nous conseillons la lecture de [65].

Le deuxième exemple que nous présentons est l'inhibition non compétitive schématisée par la figure 1.9b. Selon [65], on suppose qu'un inhibiteur peut se fixer à l'enzyme, se qui empêche la transformation de S en P. Cette inhibition est dite non compétitive car la fixation de l'inhibiteur ne change pas la fixation du substrat et inversement. La vitesse de cette réaction est :

$$\nu(t) := k_{\text{cat}} E_{\text{tot}} \cdot \frac{s(t)}{s(t) + K_S} \cdot \frac{K_I}{K_I + i(t)}, \quad (1.7)$$

où $s(t)$ et $i(t)$ (mM) sont les concentrations du substrat S et de l'inhibiteur I, E_{tot} est la concentration totale de l'enzyme, $k_{\text{cat}} := k_2$ (s^{-1}) est la constante catalytique de l'enzyme. $K_S := \frac{k_{-1}}{k_1}$ et $K_I := \frac{k_{-3}}{k_3}$ (mM) sont les constantes de dissociation des complexes SE et IE. K_I est aussi appelée constante d'inhibition.

Dans les équations (1.1), (1.6), (1.7), E_{tot} est une constante car dans les modèles sous-jacents à ces équations, la concentration totale d'enzyme ne varie pas. Dans une cellule cependant, les enzymes sont produites, dégradées ... et leur concentration varie au cours du temps (de façon lente, comme vu plus haut). Dans cette thèse, nous faisons l'hypothèse que les enzymes sont en concentration constante au cours du temps et nous utilisons le paramètre $\nu_{\text{max}} := k_{\text{cat}} E_{\text{tot}}$ dans les expressions de vitesse des réactions enzymatiques. ν_{max} représente alors la vitesse maximale de la réaction. Enfin, on notera que, en pratique, les paramètres K_S et K_m (constante de dissociation et constante de Michaelis) sont souvent confondues.

1.2.3 Modèle simplifié de la croissance d'une population de cellules

Afin de voir comment représenter la dynamique d'un réseau métabolique dans un système d'équations différentielles ordinaires, nous proposons ici un modèle générique représentant la croissance d'une population de cellules. Ce modèle est volontairement simpliste (voir [66]) et sert ici de support pour intégrer les équations du métabolisme à la croissance d'une population de cellules. Il sera complété et amélioré dans le chapitre 2.

Nous considérons une population de cellules, occupant un volume $v_B(t)$, exprimé en L. Nous faisons l'hypothèse que la population est en phase de croissance exponentielle, c'est-à-dire :

$$\frac{dv_B(t)}{dt} = \mu v_B(t), \quad (1.8)$$

où $\mu > 0$ (s^{-1}) est le taux de croissance, supposé constant, de la population.

Nous considérons le vecteur $x(t) \in \mathbb{R}_+^m$ (mM) des concentrations des m métabolites du réseau considéré. Pour obtenir l'évolution de $x(t)$, nous effectuons un bilan de matière décrivant l'évolution de $n(t)$, le vecteur des quantités de matière, exprimé en mmol. Ces deux vecteurs sont liés par

$$n(t) := x(t)v_B(t).$$

À partir de cette égalité, nous déduisons

$$\begin{aligned}\frac{dn(t)}{dt} &= \frac{dx(t)}{dt} v_B(t) + \frac{dv_B(t)}{dt} x(t) \\ &= \frac{dx(t)}{dt} v_B(t) + \mu v_B(t) x(t)\end{aligned}$$

que nous pouvons réécrire

$$\frac{dx(t)}{dt} = \frac{dn(t)}{dt} \frac{1}{v_B(t)} - \mu x(t). \quad (1.9)$$

Nous supposons que l'évolution de $n(t)$ est uniquement due aux réactions métaboliques :

$$\frac{dn(t)}{dt} = S\tilde{\nu}(n(t)). \quad (1.10)$$

Dans cette équation, $\tilde{\nu} \in \mathbb{R}^r$ désigne le vecteur des vitesses à travers les r réactions du réseau. $\tilde{\nu}$ représente la quantité de matière produite et consommée par le réseau métabolique par unité de temps. Chaque élément de ce vecteur s'exprime en mmol s^{-1} . $S \in \mathbb{R}^{m \times r}$ désigne la *matrice de stœchiométrie* du réseau. Cette matrice a m lignes et r colonnes et chaque élément s_{ij} où $1 \leq i \leq m$ et $1 \leq j \leq r$ est défini par :

$$s_{ij} = \begin{cases} a & \text{si la réaction } j \text{ produit } a \text{ i,} \\ -a & \text{si la réaction } j \text{ consomme } a \text{ i,} \\ 0 & \text{sinon} \end{cases}$$

avec a un réel positif⁴.

En intégrant l'équation (1.10) dans (1.9), nous obtenons :

$$\frac{dx(t)}{dt} = S\nu(x(t)) - \mu x(t), \quad (1.11)$$

où $\nu(x(t)) := \tilde{\nu}(x(t)) \times v_B(t) \frac{1}{v_B(t)}$ est le flux de concentration des métabolites à travers le réseau. Il est exprimé en mM s^{-1} . Les vitesses $\nu_i(x(t))$ peuvent ensuite être déterminées, par exemple, à partir des modèles (1.1), (1.6) ou (1.7) décrits dans les parties précédentes.

Dans le chapitre 2, nous revenons sur l'hypothèse de croissance exponentielle (μ constant) et nous intégrons de façon plus précise les demandes métaboliques spécifiques à la croissance de la population de cellules.

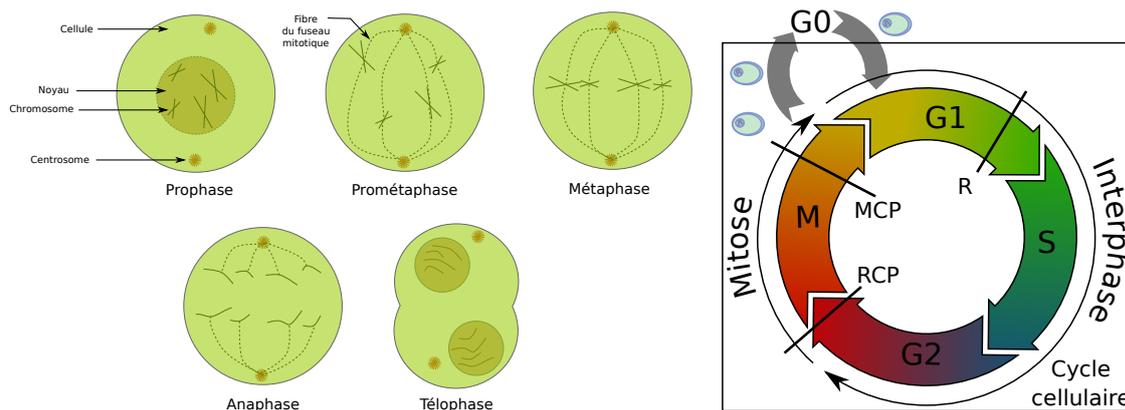
Nous venons de présenter le métabolisme comme un réseau de production à la dynamique complexe et devant s'adapter à différents contextes. En particulier, le métabolisme suit le déroulement du cycle cellulaire, le processus menant la cellule à se diviser. Ces deux processus sont centraux dans la vie de la cellule et leur interconnexion est au cœur de la problématique de cette thèse.

1.3 Le métabolisme au cours du cycle cellulaire

1.3.1 Description du cycle cellulaire mammifère

Le cycle cellulaire des cellules mammifères est découpé en deux grandes phases temporelles : la mitose (notée M) où la cellule d'origine, appelée *cellule-mère* se divise en deux cellules de matériel génétique identiques, appelées *cellule-fille* et l'interphase, où la cellule se prépare à la division. La mitose est découpée en cinq parties : la prophase, la prométaphase, la métaphase, l'anaphase et la télophase. Sur la figure 1.10a nous présentons un schéma du déroulement de la mitose. L'interphase, elle, est découpée en trois phases temporelles différentes : G1, S et G2. La phase S est la phase dite de synthèse : la cellule duplique son ADN afin que les deux cellules-filles puissent avoir chacune un exemplaire des différents chromosomes. Cette phase est précédée de la phase G1 (Growth ou Gap) qui est une phase de croissance : la cellule se prépare à la phase S et à dupliquer son ADN. Une fois l'ADN dupliqué, la cellule entre dans la phase G2, qui est aussi une phase de croissance : la cellule se prépare à se diviser. Lorsque la cellule n'est pas en train de se diviser, on dit qu'elle est en phase de *quiescence* notée généralement G0.

4. en général $a \in \mathbb{Q}^+$



(a) Déroulement de la mitose

(b) Les phases du cycle cellulaire

FIGURE 1.10 – Représentations du cycle cellulaire

Le cycle cellulaire est un processus complexe finement contrôlé. Le déroulement du cycle cellulaire est principalement contrôlé par des complexes protéiques appelés cyclines et kinases cycline dépendantes, ou Cdk (Cyclin-dependent kinase). Sous l'effet de différents signaux, les cyclines et les Cdk s'associent pour former des complexes cycline/Cdk. Ces complexes vont alors agir sur d'autres protéines, ou complexes protéiques, permettant le bon déroulement du cycle.

Il est crucial pour la cellule que le cycle cellulaire se déroule sans problème. Des erreurs peuvent mener à des dysfonctionnements sérieux pour l'organisme. Par exemple, une mauvaise répartition des chromosomes peut mener à la mort des cellules-filles. C'est pour ces raisons que le cycle cellulaire est aussi doté de points de contrôle, appelé *checkpoints*. Les trois points de contrôle les plus connus sont le *point de restriction*, aussi appelé point R, le Replication CheckPoint (RCP) et le Mitotic CheckPoint (MCP). Le point de restriction se situe à la fin de la phase G1 et est défini comme le point à partir duquel la cellule n'a plus besoin de facteurs de croissance⁵ pour faire progresser le cycle cellulaire. Le RCP se trouve entre les phases G2 et M et permet de vérifier que la duplication de l'ADN est bien terminée. Le MCP se trouve dans la mitose, entre la métaphase et l'anaphase et permet de vérifier que les chromosomes sont bien alignés avant de pouvoir séparer les chromatides-sœur. Si une cellule ne remplit pas les conditions d'un point de contrôle, le cycle cellulaire peut être arrêté le temps que la cellule remplisse les conditions (réparation de l'ADN par exemple). Si ces conditions ne peuvent être remplies, la cellule peut déclencher un programme de mort cellulaire comme l'apoptose par exemple.

Les différentes interactions entre les acteurs du contrôle du cycle cellulaire forment un réseau de régulation très complexe que nous ne détaillons pas ici. Pour plus de détail, nous invitons le lecteur à lire par exemple les articles [67, 68].

1.3.2 Évolution du métabolisme au cours du cycle cellulaire

La plupart des modèles dynamiques du métabolisme ne prennent pas en compte explicitement le déroulement des phases du cycle cellulaire. Pourtant, plusieurs études récentes ont mis en évidence des différences notables de certains flux métaboliques entre les différentes phases [28, 36]. Ces différences peuvent notamment s'expliquer par les différences de rôle de chacune de ces phases, entraînant des besoins métaboliques spécifiques. L'objectif principal de cette thèse étant de mieux comprendre le couplage du réseau métabolique et du cycle cellulaire, nous proposons dans cette partie un résumé des principales fluctuations connues du métabolisme au cours du cycle cellulaire. Nous y reviendrons plus en détail dans le chapitre 3, dans lequel nous proposons un modèle intégrant les deux phénomènes.

5. des signaux extérieurs à la cellule déclenchant le début du cycle cellulaire

L'évolution des besoins métaboliques au cours du cycle

Pour accomplir chaque phase du cycle cellulaire, la cellule a besoin d'éléments différents. Elle doit donc adapter son métabolisme pour subvenir à ces différents besoins [35], résumés dans la figure 1.11.

- G1** : La phase G1 est une phase où la cellule prépare la synthèse de l'ADN. Elle produit alors beaucoup de protéines qui lui serviront à dupliquer l'ADN dans la phase S. C'est pour cela que l'on dit que la phase G1 est une phase de croissance protéique. La cellule a donc principalement besoin de nucléotides (pour les ARNs), d'acides aminés (composants principaux des protéines) et d'énergie.
- S** : La phase S est la phase de duplication de l'ADN à proprement parler. Durant cette phase, la cellule a principalement besoin de nucléotides, qui sont les composants principaux de l'ADN.
- G2** : Durant la phase G2, la cellule se prépare à la mitose, c'est-à-dire à la division cellulaire. L'un des principaux constituants produit durant cette phase est la membrane cellulaire, utilisée notamment pour les parois des futures cellules-filles [35, 69]. En particulier, la phase G2 voit une augmentation notable de la production de lipides.

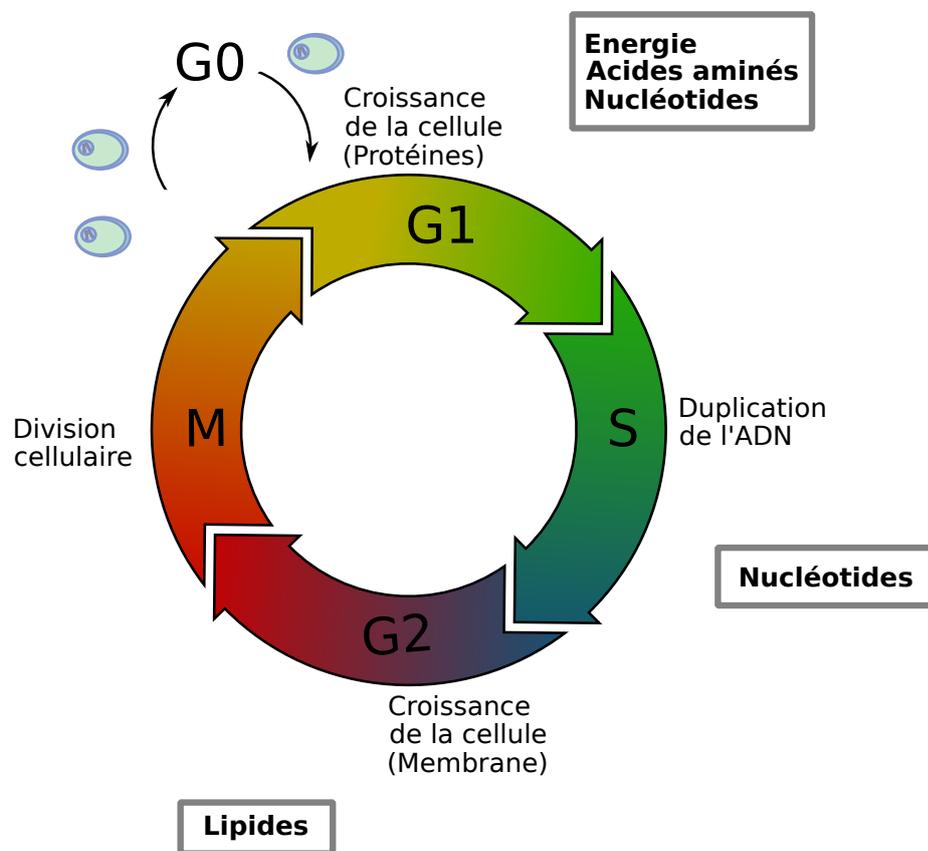


FIGURE 1.11 – Les principaux besoins métaboliques au cours du cycle cellulaire.

Principales fluctuations des voies métaboliques durant le cycle

Pour satisfaire à ces besoins, la dynamique du métabolisme va donc varier au cours du cycle cellulaire [28, 36]. La figure 1.4 présentait les voies du CCM et leurs principales productions. Nous reprenons ce schéma dans la figure 1.12 afin de représenter les voies les plus utilisées au cours des différentes phases du cycle cellulaire. La plupart des informations de cette partie proviennent de l'article de Diaz-Moralli *et al* [28].

- G1** : Durant la phase G1, il semble que la dégradation du glucose se fasse principalement par la glycolyse suivie de la voie de production de lactate. Durant cette phase, la cellule consomme aussi beaucoup de glutamine, qu'elle dégrade également en lactate par la glutaminolyse.
- S** : Durant la phase S, on note une augmentation du flux de la voie des pentoses phosphates pour produire des précurseurs nécessaires à la production de nucléotides.
- G2** : Durant la phase G2, le flux à travers la voie des pentoses phosphates reste élevé et on note une augmentation du flux glycolytique vers la voie de production de palmitate, qui est un précurseur des lipides. La voie des pentoses phosphates permet à la cellule de produire du NADPH, nécessaire à la production du palmitate (voir 1.1.3).

Dans le chapitre 3, nous étudions plus en détail les mécanismes mis en œuvre par la cellule pour modifier ainsi son métabolisme au cours du cycle cellulaire.

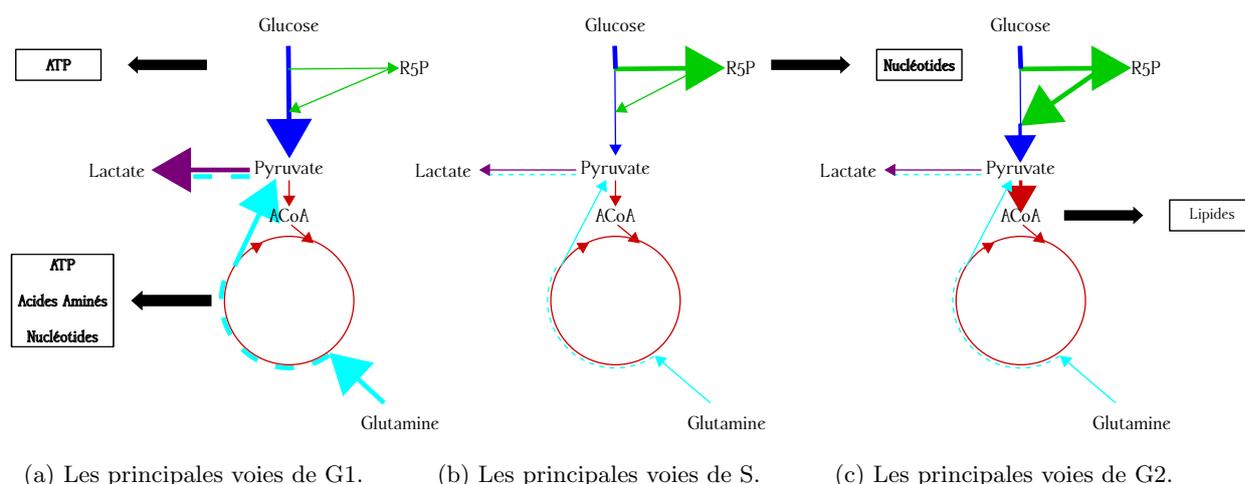


FIGURE 1.12 – Les principales voies métaboliques utilisées au cours des phases du cycle cellulaire. Bleu : Glycolyse. Vert : Voies des Pentoses Phosphates. Rouge : Cycle de Krebs. Violet : Overflow. Bleu clair : Glutaminolyse. L'épaisseur des traits correspond à l'activité relative des voies. Inspiré de [28]

Besoin énergétique et utilisation de la voie du lactate

D'après ce qui précède, durant la phase G1 la cellule dégrade son pyruvate principalement par la production de lactate. Cette phase étant gourmande en énergie, il peut sembler paradoxal d'utiliser l'overflow plutôt que le cycle de Krebs pour dégrader le pyruvate puisque ce dernier a un meilleur rendement glucose/énergie. Nous évoquons déjà ce paradoxe dans la partie 1.1.2, il est à rapprocher de l'effet Warburg lorsque les mitochondries ne présentent pas d'anomalie. Dans la suite, nous reprenons différents arguments mettant en avant l'avantage de ce phénomène pour la cellule, provenant principalement de l'étude de l'effet Warburg chez les cellules cancéreuses. Nous pouvons citer d'autres types de cellules où l'on retrouve une forte utilisation de l'overflow en présence de dioxygène : les lymphocytes T activés [70], les cellules souches, les cellules embryonnaires [71, 72].

Le premier argument en faveur de l'effet Warburg pour produire de l'énergie est l'économie sur le nombre d'enzymes utilisées. En effet, pour dégrader le pyruvate en lactate, la cellule n'a besoin que d'une enzyme (la lactate déshydrogénase) tandis que la dégradation du pyruvate par le cycle de Krebs nécessite onze étapes catalysées par neuf enzymes différentes. Ainsi, même si le cycle de Krebs produit plus d'énergie par molécule de glucose, la cellule doit investir beaucoup plus (énergie, acides aminés et nucléotides notamment) pour maintenir son fonctionnement.

Le second argument en faveur de l'effet Warburg repose sur l'utilisation du carbone. Lorsqu'une molécule de pyruvate est entièrement dégradée par le cycle de Krebs, tout le carbone est transformé en CO_2 . Or, lors du cycle la cellule a besoin de carbone pour produire différents précurseurs, comme les lipides ou certains acides aminés. De plus, lors de la dégradation du pyruvate en lactate, la cellule recycle le NADH en NAD, ce qui permet de conserver des conditions thermodynamiquement favorables

à la glycolyse [35, 70]. Limiter l'utilisation du cycle de Krebs a aussi un effet indirect positif sur l'entrée de glucose. En effet, l'ATP mitochondrial et le citrate mitochondrial produits lors de la dégradation du pyruvate par le cycle de Krebs inhibent la phosphofructokinase, ce qui inhibe par extension toute la glycolyse [72].

Peu de choses précises sont connues sur le métabolisme au cours du cycle cellulaire au niveau expérimental. À notre connaissance, [36] est l'une des rares études expérimentales proposant des données chiffrées pour une cellule mammifère tout au long du cycle cellulaire. Dans cette étude, da Veiga Moreira *et al.* mesurent la concentration d'ATP, des ratio redox (NAD/NADH, NADP/NADPH) et du pH dans les différentes phases du cycle de cellules humaines. Nous nous servons de ces données dans le chapitre 3 pour valider notre modèle.

1.3.3 Modélisation du métabolisme au cours du cycle cellulaire

La plupart des modèles représentant le cycle cellulaire se concentrent sur le réseau de régulation du cycle (centré sur les cyclines et leurs cofacteurs). Ils se répartissent en deux types : les modèles continus et les modèles discrets. Les modèles continus sont majoritairement des systèmes d'équations différentielles ordinaires. Tout comme pour le métabolisme, ces modèles peuvent être déterministes [68, 73, 74] ou bien stochastiques [75]. Dans ces modèles, les variables sont principalement les concentrations des complexes protéiques impliqués dans la succession des phases. Dans les modèles discrets, les variables ne représentent plus des concentrations mais plutôt des niveaux d'expression. Par exemple, dans les modèles Booléens [67, 76, 77] les variables valent 0 ou 1, ce qui signifie que les complexes protéiques n'ont que deux niveaux de fonctionnement : soit ils sont absents (0), soit ils sont présents (1). Les variables s'influencent alors les unes les autres via des fonctions Booléennes : la protéine p_1 est présente si et seulement si la protéine p_2 est absente s'exprime par $p_1 = \text{NOT } p_2$. En général, les modèles discrets ont besoin de beaucoup moins de paramètres que les modèles continus et peuvent être de plus grande dimension.

Modéliser le réseau de régulation du cycle cellulaire permet d'étudier des propriétés générales telles que la stabilité et la robustesse des attracteurs [67] ou bien la robustesse temporelle [77]. Ces modèles permettent également d'étudier par exemple le fonctionnement du point de restriction (le checkpoint se trouvant dans la phase G1) [74] ou bien le système de contrôle de la mitose [73]. En revanche, ils sont en général peu, voire pas liés au métabolisme cellulaire.

À notre connaissance, peu de modèles intègrent à la fois le métabolisme et le déroulement du cycle cellulaire dans la littérature. On peut par exemple citer le modèle de Karr *et al.* [78]. Il s'agit d'un modèle *cellule complète* (*whole-cell model* en anglais) de l'organisme *Mycoplasma genitalium*, une bactérie pathogène de l'humain. Ce modèle intègre la plupart des processus cellulaires centraux de cet organisme et constitue un outil de simulation très intéressant. Cependant c'est aussi un modèle très complexe et difficile à manipuler pour étudier les liens spécifiques entre deux processus particuliers, comme par exemple le métabolisme et le cycle cellulaire. De plus, son grand nombre de paramètres en font un outil peu facilement transférable à d'autres organismes.

De manière générale, le couplage de plusieurs processus cellulaires en un modèle dynamique unique reste délicat. Il faut par exemple trouver un compromis entre les différentes échelles de temps des différents processus. Par exemple, alors que le métabolisme se déroule en général dans des temps de l'ordre de la seconde ou de la minute, le cycle cellulaire se déroule en heures voire en jours [79]. Coupler plusieurs processus demande aussi de nombreuses connaissances (qualitatives et quantitatives) sur les interactions entre les processus, qui sont souvent difficile à obtenir. Ainsi, les études analysant les effets du cycle cellulaire sur le métabolisme sont plutôt récentes et encore relativement peu nombreuses [28, 80, 81]. Il en va de même pour les études sur les effets du métabolisme sur le déroulement du cycle cellulaire [80, 82, 83] et les modèles du cycle cellulaire qui les prennent en compte se limitent le plus souvent à des paramètres globaux comme par exemple la taille de la cellule, faisant l'hypothèse que le métabolisme fournit de lui-même tous les éléments nécessaires quand il le faut [67, 74, 75].

Dans cette thèse, nous nous concentrons sur la modélisation fine du réseau métabolique, sous la forme d'un système d'équations différentielles que nous présentons dans le chapitre 2. Nous cherchons par la suite à y intégrer les principales variations de flux observées au cours des phases du cycle cellulaire [28]. Notre démarche est à rapprocher de celle de van der Zee et Barberis [84] qui proposent un couplage

similaire dans le cadre de cellules de levure. Ces auteurs présentent aussi dans un autre article [85], une revue de différentes tentatives de couplage entre le métabolisme et d'autres réseaux de régulation. Contrairement à van der Zee et Barberis, qui représentent la partie métabolique par un système à base de contraintes (du type Flux Balance Analysis [44]), nous représentons la partie métabolique par un système dynamique (avec un temps explicite). En revanche, contrairement à [84] nous n'intégrons pas directement la régulation du cycle cellulaire. En effet, comme nous ne disposons que de peu d'informations précises au sujet des effets des flux métaboliques sur les variables du cycle, nous nous contentons de représenter directement l'enchaînement des phases dans le système différentiel. Nous obtenons ainsi un système hybride, dans lequel la partie discrète est une représentation minimale du cycle cellulaire sous la forme de l'enchaînement des trois phases G1, S et G2. La construction et l'analyse de ce système hybride est présentée dans le chapitre 3. Il permet notamment de retrouver plusieurs caractéristiques importantes du métabolisme au cours du cycle cellulaire. Encouragés par ces résultats, nous proposons dans le chapitre 4 de perturber ce modèle hybride afin d'étudier certains dysfonctionnements connus du métabolisme dans des cellules cancéreuses. Notamment, nous retrouvons des différences qualitatives sur la concentration de certains métabolites particulièrement affectés par ces dysfonctionnements. Nous observons par exemple une hausse de la concentration de lactate au cours de chaque phase du cycle cellulaire.

Chapitre 2

Construction et analyse d'un modèle dynamique du métabolisme central du carbone

Nous présentons dans ce chapitre la construction et l'analyse d'un système d'équations différentielles représentant la dynamique du métabolisme central du carbone (CCM) au cours de la croissance d'une population de cellules mammifères. Pour construire ce modèle, nous nous inspirons de deux modèles de la littérature : du modèle de Robitaille *et al.* [32] et du modèle de da Veiga Moreira *et al.* [57]. Robitaille *et al.* modélisent la dynamique du CCM dans une population de cellules CHO (Chinese Hamster Ovaries) placée dans un réacteur. da Veiga Moreira *et al.* se basent sur le modèle de Robitaille *et al.* afin d'étudier l'impact de différentes thérapies métaboliques sur la croissance de tumeurs chez les souris.

Dans la première partie de ce chapitre, nous présentons comment nous construisons le système d'équations différentielles. Nous décrivons tout d'abord le réseau de réactions enzymatiques que nous considérons. Ensuite, nous présentons la structure de notre système d'équations différentielles. Après cela nous expliquons comment sont calculées les vitesses des réactions de ce modèle. Finalement, nous détaillons les entrées et les paramètres de notre modèle. Dans la seconde partie de ce chapitre, nous analysons différentes simulations. Nous présentons tout d'abord une simulation temporelle afin d'étudier la dynamique globale de notre système. Ensuite, nous étudions plus précisément la dynamique de notre modèle en fonction de ses entrées afin de valider ce modèle et de mettre en avant certaines de ses limites.

2.1 Construction du modèle

2.1.1 Le réseau de réactions

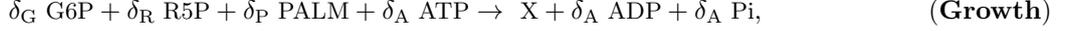
Dans ce chapitre nous construisons un modèle représentant la croissance d'une population de cellules. Dans le chapitre 1 (voir équation (1.8)), nous considérons un modèle simple où nous faisons l'hypothèse que la population est en phase de croissance exponentielle. Ceci est représenté par l'équation de Malthus [86, 87], modèle classique en dynamique des populations :

$$\frac{dv_B(t)}{dt} = \mu v_B(t),$$

où $v_B(t)$ désigne le volume de la population et μ , le taux de croissance de la population, est considéré comme constant. Dans la réalité, ce taux n'est pas constant et dépend de la capacité des cellules à produire leurs différents constituants en vue de se diviser. Pour produire ces constituants, les cellules ont besoin d'énergie et de briques de base, fournies par le métabolisme. μ dépend donc directement de la dynamique du métabolisme des cellules étudiées.

Pour pouvoir définir $\mu(t)$, nous nous intéressons à la composition des cellules. D'après Sheikh *et al.*, une cellule est principalement composée de nucléotides, d'acides aminés, de lipides et de glycogène [88]. Comme nous le présentons dans le chapitre 1 (1.1.2), les nucléotides servent principalement à la production de l'ADN et des ARNs, les acides aminés permettent la production des protéines, les lipides sont

notamment utilisés dans les membranes et le glycogène sert de réserve de carbone chez les animaux. Ici, nous supposons que les métabolites G6P, R5P et PALM sont les précurseurs de tous ces éléments. Le glucose-6-phosphate, G6P, est la source de carbone qui permet la formation de glycogène, le ribose-5-phosphate, R5P, est la source des nucléotides et le palmitate, PALM, celle des lipides. Pour simplifier, nous ne prenons pas en compte explicitement la demande en acides aminés : elle est intégrée directement dans le paramètre μ_{\max} (voir 2.1.4). Pour produire ses constituants à partir de ces précurseurs, la cellule a aussi besoin d'énergie, c'est-à-dire d'ATP. Nous modélisons ces besoins pour la croissance cellulaire par la réaction



où X représente une unité de biomasse et δ_G , δ_R , δ_P et δ_A sont des coefficients stœchiométriques dont nous parlons plus en détails dans la partie 2.1.4. Le taux de croissance de la population de cellules est alors

$$\mu(t) = \mu_{\max} \frac{\text{G6P}(t)}{K_{m1} + \text{G6P}(t)} \frac{\text{R5P}(t)}{K_{m2} + \text{R5P}(t)} \frac{\text{PALM}(t)}{K_{m3} + \text{PALM}(t)} \frac{\text{ATP}(t)}{K_{m4} + \text{ATP}(t)}. \quad (2.1)$$

Nous détaillons dans la partie 2.1.3 comment nous obtenons cette expression.

G6P, R5P, PALM et ATP sont des métabolites produits et consommés par le métabolisme. Afin d'inclure leur dynamique, nous ajoutons 28 réactions du métabolisme [32, 57]. L'ensemble de ces 28 réactions est schématisé par le graphe de la figure 2.1 et est listé en annexe : A.1. Ce réseau représente le métabolisme central du carbone. Aux voies présentées dans la partie 1.1.2 (glycolyse, voie des pentoses phosphates, cycle de Krebs, production de lactate et glutaminolyse) nous ajoutons deux réactions modélisant la voie de production des lipides, une réaction modélisant la respiration cellulaire ainsi que des réactions de maintenance énergétique et des couples redox (NAD-NADH, NADP-NADPH).

Nous considérons dans notre réseau trois entrées principales : le glucose (GLC_{ex}) qui est l'entrée de la glycolyse, la glutamine (GLN_{ex}) qui est l'entrée de la glutaminolyse et le dioxygène (O_2). Ce dernier est utilisé comme substrat dans la réaction **Resp**, réaction qui modélise la respiration cellulaire.

Remarque : Dans notre modèle, certaines réactions sont agrégées comme dans le modèle de Robitaille *et al.* [32]. Par exemple, nous agrégeons les réactions catalysées par la phosphofructokinase, l'aldolase et la triose phosphate isomérase en une réaction que nous appelons **PFK**. Nous présentons dans la table A.1 la liste des réactions agrégées.



2.1.2 Le système d'équations différentielles

Nous présentons dans cette partie la structure de notre système d'équations différentielles

$$\frac{dx(t)}{dt} = F(x(t)), \quad (2.2)$$

où $x(t) \in \mathbb{R}_+^{27}$ est le vecteur d'état de ce système et $F : \mathbb{R}^{27} \rightarrow \mathbb{R}^{27}$ est le champ de vecteurs décrivant l'évolution de $x(t)$.

Nous découpons les variables en trois groupes :

$$x(t) = \begin{pmatrix} x_I(t) \\ x_{II}(t) \\ x_B(t) \end{pmatrix}, \quad (2.3)$$

où $x_I(t) \in \mathbb{R}_+^{19}$ est le vecteur des concentrations des métabolites (en vert dans la figure 2.1) et $x_{II}(t) \in \mathbb{R}_+^7$ est celui des concentrations des métabolites d'échange (en gris sur la figure). Chaque élément de ces deux

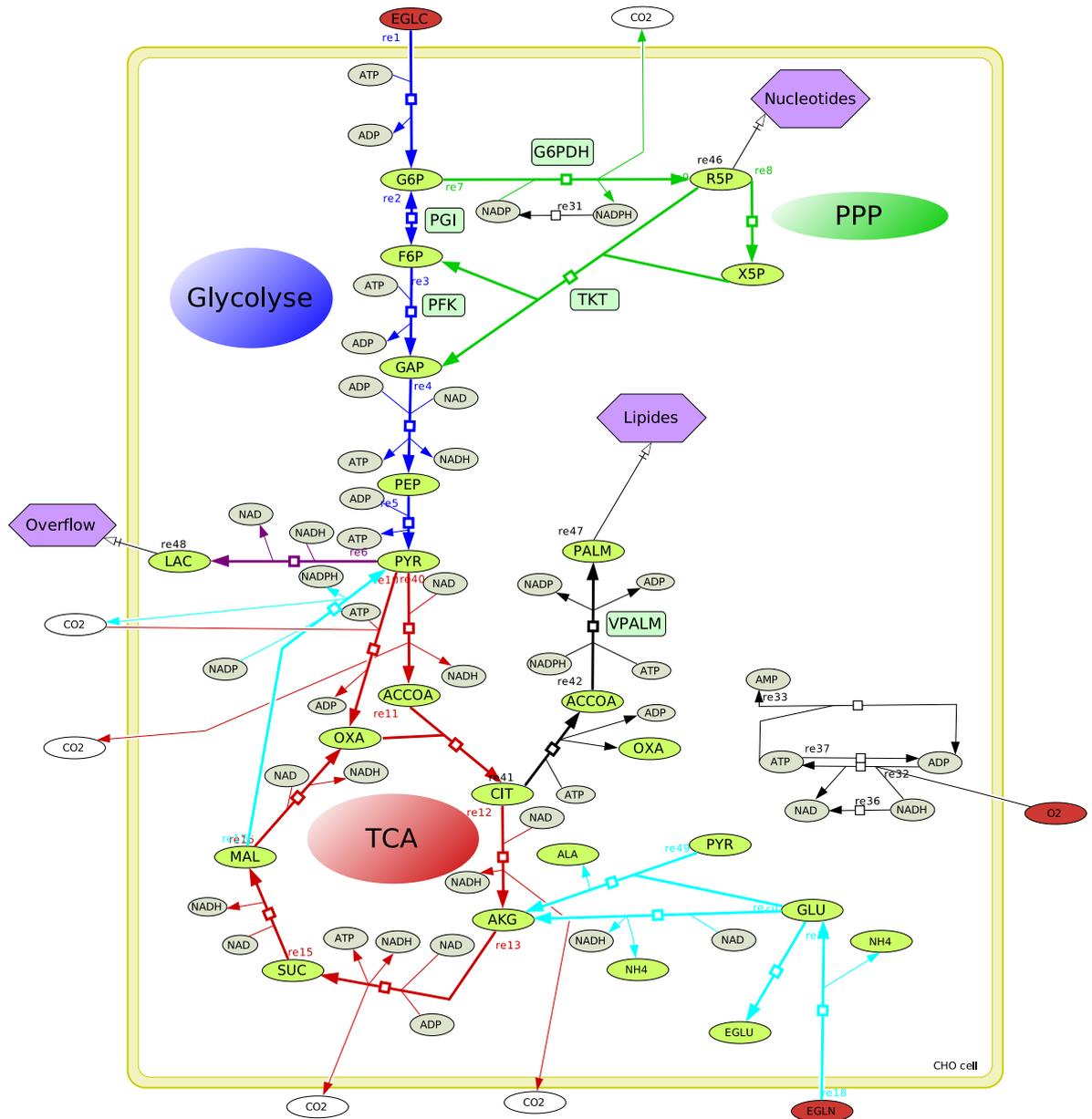


FIGURE 2.1 – Réseau de réactions du modèle. Les métabolites verts et gris sont des variables du système (respectivement les vecteurs x_I et x_{II} définis dans la partie 2.1.2) et les métabolites rouges sont les entrées du système (le vecteur u , défini dans 2.1.4). La couleur des réactions indique dans quelle voie métabolique se trouve la réaction : bleu - glycolyse, vert - voie des pentoses phosphates, rouge - cycle de Krebs, violet - overflow, bleu clair - glutaminolyse, noir - production de lipides. Les réactions sans couleur (en noir et en trait fin) sont la respiration cellulaire et les réactions de maintenance énergétique et des couples redox.

vecteurs est exprimé en mM. Enfin la biomasse est représentée par $x_B(t) \in \mathbb{R}_+$, le volume occupé par les cellules, exprimé en mL. Le vecteur complet est présenté en annexe A.2. Nous divisons $\mathcal{S} \in \mathbb{R}^{26 \times 29}$, la matrice de stœchiométrie du réseau de façon similaire et nous posons $\mathcal{S}_I \in \mathbb{R}^{19 \times 29}$ et $\mathcal{S}_{II} \in \mathbb{R}^{7 \times 29}$ telles que $\mathcal{S} = \begin{pmatrix} \mathcal{S}_I \\ \mathcal{S}_{II} \end{pmatrix}$.

Comme énoncé plus tôt, nous décrivons l'évolution de la biomasse par l'équation (2.4) où $\mu(x(t))$, exprimé en h^{-1} , est décrit par l'équation (2.1).

$$\frac{dx_B(t)}{dt} = \mu(x(t))x_B(t) \quad (2.4)$$

L'équation (1.11) présentée dans le chapitre 1 décrit l'évolution de $x_I(t)$:

$$\frac{dx_I(t)}{dt} = \mathcal{S}_I \nu(x(t)) - \mu(x(t))x_I(t), \quad (2.5)$$

où $\nu(x(t)) \in \mathbb{R}^{27}$ est le vecteur des vitesses du réseau, exprimé en mM h^{-1} . Nous détaillons dans la partie 2.1.3 comment nous calculons ces vitesses.

Nous décrivons l'évolution de $x_{II}(t)$ par l'équation suivante :

$$\frac{dx_{II}(t)}{dt} = \mathcal{S}_{II} \nu(x(t)).$$

Comme mentionné plus tôt, $x_{II}(t)$ est le vecteur des concentrations des métabolites d'échange. Nous différencions ces métabolites des autres métabolites (regroupés dans x_I) en ne leur appliquant pas le terme de dilution : $-\mu(x(t))x_{II}(t)$. Nous agissons ainsi car ces métabolites n'ont pas de production *de novo* dans le modèle. En effet, nous pouvons remarquer dans la liste des réactions que nous avons un pool initial d'adénosine (sous trois formes : ATP, ADP, AMP), un pool de nicotinamide adénine dinucléotide (sous deux formes : NAD, NADH) et un de nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (sous deux formes : NADP, NADPH) qui ne sont pas approvisionnés : à l'intérieur de ces pools, les métabolites passent d'une forme à l'autre (ATP en ADP, NAD en NADH, ...) sans terme de production ou de consommation extérieur. Si nous appliquons l'équation (2.5) aux métabolites d'échange, le terme de dilution ($-\mu(x(t))x_{II}(t)$) ferait tendre $x_{II}(t)$ vers 0, ce qui entraînerait l'arrêt de la croissance (par exemple parce que ATP est l'un des substrats de **Growth**). En d'autres mots, les trois pools s'épuiseraient avec la croissance de la population, ce qui finirait par empêcher cette croissance. En réalité il existe des réactions qui créent ces métabolites. Nous pourrions donc faire le choix de conserver la dilution pour les termes de $x_{II}(t)$ et d'ajouter des réactions de production *de novo* de ces métabolites dans notre modèle. Cependant, étendre un modèle en y intégrant un nouveau processus est toujours complexe : il faut notamment trouver les bons paramètres et les intégrer convenablement à l'existant. C'est particulièrement délicat pour les métabolites d'échange car ils sont utilisés dans la plupart des voies métaboliques, y compris au-delà du CCM, et dans de nombreux processus cellulaires. C'est pour cela que nous faisons le choix de ne pas ajouter de production *de novo* et de plutôt supprimer le terme de dilution pour les métabolites d'échange.

En regroupant ce qui précède, notre système s'écrit :

$$\begin{cases} \frac{dx_I(t)}{dt} &= \mathcal{S}_I \nu(x(t)) - \mu(x(t))x_I(t), \\ \frac{dx_{II}(t)}{dt} &= \mathcal{S}_{II} \nu(x(t)), \\ \frac{dx_B(t)}{dt} &= \mu(x(t))x_B(t). \end{cases} \quad (2.6)$$

2.1.3 Définition des vitesses de réaction

Dans cette partie, nous expliquons étape par étape la construction de chaque élément du vecteur vitesse $\nu(x(t))$, que nous notons dans cette partie $\nu(t)$ pour simplifier. Tout comme dans les modèles de Robitaille *et al.* [32] et de da Veiga Moreira *et al.* [57], nous utilisons le modèle de Michaelis-Menten, basé sur l'hypothèse de quasi-équilibre, présenté dans le chapitre 1. En particulier, nous étendons l'expression (1.1) aux différents cas que nous avons dans ce modèle.

Réaction réversible/irréversible

Tout comme nous le présentons dans le chapitre 1, en pratique une réaction peut être réversible ou bien irréversible. Lorsque la réaction est réversible, nous faisons le choix de la diviser en deux réactions irréversibles et nous définissons la vitesse de cette réaction comme étant la différence des vitesses des deux sous-réactions. Prenons par exemple la réaction **PGI** (Glucose-6-phosphate isomérase) qui est réversible. On la divise d'abord en **PGI_{dir}** et **PGI_{rev}** :



puis nous définissons la vitesse de **PGI**, $\nu_{\text{PGI}}(t)$ par :

$$\nu_{\text{PGI}}(t) := \nu_{\text{PGI}_{\text{dir}}}(t) - \nu_{\text{PGI}_{\text{rev}}}(t).$$

Réaction à plusieurs substrats

Lorsqu'une réaction a plusieurs substrats, nous définissons sa vitesse par le produit de l'expression de Michaelis-Menten pour chacun des substrats de la réaction. Ainsi, la vitesse de la réaction **CS** (citrate synthase) est définie par l'équation (2.7).



$$\nu_{\text{CS}}(t) = \nu_{\text{maxCS}} \frac{\text{ACoA}(t)}{K_{m1} + \text{ACoA}(t)} \frac{\text{OXA}(t)}{K_{m2} + \text{OXA}(t)}, \quad (2.7)$$

où K_{m1} et K_{m2} sont exprimés en mM. Par rapport à l'expression (1.1) nous faisons l'hypothèse que la concentration d'enzyme est constante¹ et nous regroupons le produit $k_{\text{cat}}E_{\text{tot}}$ en un unique paramètre : ν_{max} , la vitesse maximale de la réaction, qui est exprimée en mM h^{-1} .

Réaction impliquant des métabolites d'échange

Dans ce modèle, les métabolites d'échange n'ont pas le même statut selon la réaction dans laquelle ils sont impliqués. Dans la réaction modélisant la croissance (**Growth**) et dans les réactions de maintenance énergétique et des couples redox (**ATPase**, **NADPHox**, **leak** et **AK**), les métabolites d'échange ont le statut de substrat principal. Dans toutes les autres réactions, ils agissent comme *cofacteurs*. Dans ces réactions, ce n'est pas leur concentration qui est importante mais le ratio substrat/produit. Ainsi, dans la réaction **PFK**, ATP et ADP sont des cofacteurs et la vitesse de cette réaction est définie par l'équation (2.8).



$$\nu_{\text{PFK}}(t) = \nu_{\text{maxPFK}} \frac{\text{F6P}(t)}{K_{m1} + \text{F6P}(t)} \frac{\frac{\text{ATP}(t)}{\text{ADP}(t)}}{K_{m2} + \frac{\text{ATP}(t)}{\text{ADP}(t)}}. \quad (2.8)$$

K_{m2} est dans ce cas sans unité. Cette prise en compte des métabolites d'échange a été proposée par Ghorbaniaghdam *et al.* [89] et plusieurs fois utilisée avec succès dans différents modèles de l'équipe de Mario Jolicœur [32].

Réaction régulée par allostérie

Comme nous le présentons dans le chapitre 1, l'activité d'une enzyme peut être modifiée par la présence de régulateurs. Dans notre modèle, nous avons deux types de régulations : les activations non essentielles et les inhibitions non compétitives. La liste des régulations allostériques que nous modélisons est présentée en annexe A.4.

1. on suppose donc que chaque cellule produit assez d'enzymes pour maintenir les concentrations constantes

L'activation : La phosphofructokinase, une des enzymes catalysant la réaction agrégée **PFK**, est sensible à la quantité d'ATP et à celle d'AMP. En particulier, l'activité de cette enzyme augmente quand le ratio AMP/ATP augmente [32, 33]. Pour modéliser cela, nous considérons que le ratio AMP/ATP active la réaction. Pour l'intégrer dans le modèle, nous changeons le facteur

$$\frac{F6P(t)}{K_{m1} + F6P(t)}$$

en

$$\frac{\left(1 + \frac{\beta}{\alpha K} \frac{AMP(t)}{ATP(t)}\right) F6P(t)}{\left(1 + \frac{1}{K} \frac{AMP(t)}{ATP(t)}\right) K_{m1} + \left(1 + \frac{1}{\alpha K} \frac{AMP(t)}{ATP(t)}\right) F6P(t)},$$

où K est la constante d'activation, sans unité dans ce cas mais exprimé en mM lorsque l'activateur est un métabolite et non un ratio. α et β sont les coefficients du changement d'activité et sont sans unité. Cette formule est celle de l'activation non-essentielle (voir partie 1.2.2), décrite plus en détails par Segel [65]. La vitesse de la réaction **PFK** est maintenant :

$$\nu_{PFK}(t) = \nu_{\max PFK} \frac{\left(1 + \frac{\beta}{\alpha K} \frac{AMP(t)}{ATP(t)}\right) F6P(t)}{\left(1 + \frac{1}{K} \frac{AMP(t)}{ATP(t)}\right) K_{m1} + \left(1 + \frac{1}{\alpha K} \frac{AMP(t)}{ATP(t)}\right) F6P(t)} \frac{ATP(t)}{ADP(t)}.$$

L'inhibition : En plus d'être sensible à AMP/ATP, on sait que la phosphofructokinase est inhibée par le citrate [32, 33]. Pour intégrer cela au modèle, nous utilisons une inhibition non-compétitive. Pour cela, nous multiplions la vitesse de la réaction par le facteur :

$$\frac{K_i}{K_i + CIT(t)},$$

où K_i est la constante d'inhibition, exprimée en mM. Ainsi en prenant tout cela en compte, la vitesse finale de la réaction **PFK** est :

$$\nu_{PFK}(t) = \nu_{\max PFK} \frac{\left(1 + \frac{\beta}{\alpha K} \frac{AMP(t)}{ATP(t)}\right) F6P(t)}{\left(1 + \frac{1}{K} \frac{AMP(t)}{ATP(t)}\right) K_{m1} + \left(1 + \frac{1}{\alpha K} \frac{AMP(t)}{ATP(t)}\right) F6P(t)} \frac{ATP(t)}{ADP(t)} \frac{K_i}{K_i + CIT(t)}.$$

Nous décrivons l'expression de chaque vitesse en annexe A.5. Toutes les vitesses de ce modèle sont calculées comme nous venons de le présenter, y compris $\mu(t)$. Le taux de croissance de la population est en effet calculé comme la vitesse de la réaction **Growth** (voir partie 2.1.1). La seule différence est son unité : $\mu(t)$ est exprimé en h^{-1} alors que les autres vitesses sont exprimées en $mM h^{-1}$.

Enfin, dans un soucis d'exhaustivité, nous rappelons que l'équation différentielle de chacun des métabolites impliqués dans la réaction **Growth**, c'est-à-dire G6P, R5P, PALM, ATP et ADP, contient un terme de consommation supplémentaire² : $-\delta \mu(t)$, représentant la participation du métabolite à la production de biomasse.

2.1.4 Les entrées et les paramètres

Les entrées

Dans ce modèle, nous nous concentrons sur les trois entrées suivantes : le glucose (GLC_{ex}), le dioxygène (O_2) et la glutamine (GLN_{ex}). Comme évoqué plus haut, le glucose est considéré comme la source principale de carbone et le dioxygène nous permet de modéliser la respiration cellulaire. Nous considérons la glutamine pour étudier le rôle de la glutaminolyse dans le cycle cellulaire (voir chapitres 1 et 3).

Nous regroupons ces entrées dans le vecteur $u(t)$:

$$u(t) = \begin{pmatrix} GLC_{ex}(t) \\ O_2(t) \\ GLN_{ex}(t) \end{pmatrix}.$$

Dans toutes les simulations présentées dans cette thèse, nous considérons ces entrées comme constantes.

2. C'est un terme de production pour ADP

Les paramètres

Notre modèle métabolique dépend de 109 paramètres numériques que nous regroupons dans le vecteur θ , détaillé en annexe A.6. Nous notons à partir de maintenant le champ de vecteur de notre modèle (2.6) $F_\theta(x(t))$. Parmi ces paramètres, 105 sont des paramètres enzymatiques : ν_{\max} , la vitesse maximale, K_m , la constante de Michaelis, provenant tous deux de l'expression de Michaelis-Menten (équation (1.1)), K_a , la constante de dissociation du complexe enzyme-activateur, α et β des paramètres d'activation (voir équation (1.6)) et K_i , la constante de dissociation du complexe enzyme-inhibiteur (voir équation (1.7)). La plupart des valeurs numériques de ces paramètres sont issues du modèle de da Veiga Moreira *et al.* [57]. Les autres, certains ν_{\max} listés ci-dessous, intègrent des demandes de métabolites qui sont représentés implicitement dans notre modèle alors que da Veiga Moreira *et al.* représentent explicitement ces métabolites (les acides aminés, le phosphate Pi et le dioxyde de carbone CO₂).

Par exemple, la demande en acides aminés pour la croissance est intégrée dans notre modèle dans le paramètre μ_{\max} . da Veiga Moreira *et al.* prennent explicitement en compte cette demande en incluant dans l'expression de $\mu(x(t))$ les facteurs $\frac{aa_i(t)}{K_m + aa_i(t)}$ pour chaque acide aminé considéré. Dans notre modèle, nous remplaçons $aa_i(t)$ par $aa_i(0)$, la concentration initiale de l'acide aminé dans le modèle [57], modifiant ainsi la valeur apparente de μ_{\max} .

Nous listons ci-dessous les paramètres modifiés de cette manière :

- μ_{\max} prend en compte la demande en acides aminés,
- $\nu_{\max\text{PGK}}$, $\nu_{\max\text{AKGDH}}$ et $\nu_{\max\text{Resp}}$ prennent en compte la demande en phosphate Pi,
- $\nu_{\max\text{PC}}$ prend en compte la demande en CO₂.

La matrice de stœchiométrie de notre modèle est composée de 108 valeurs non nulles dont 103 sont déterminées par le réseau métabolique. Les 5 derniers coefficients stœchiométriques sont les coefficients de la réaction **Growth** : $-\delta_G$, $-\delta_R$, $-\delta_P$, $-\delta_A$ et $+\delta_A$. Les quatre paramètres, δ_G , δ_R , δ_P et δ_A , sont intégrés dans le vecteur θ .

La valeur de ces paramètres est calculée en fonction de la composition d'une cellule : Robitaille *et al.* [32] ont déduit des données de Sheikh *et al.* [88] pour chaque métabolite la quantité de matière nécessaire à la fabrication d'une unité de biomasse : $\delta_G = 8.79 \cdot 10^{-5}$ mM, $\delta_R = 7.35 \cdot 10^{-5}$ mM, $\delta_P = 7.35 \cdot 10^{-5}$ mM et $\delta_A = 1.19 \cdot 10^{-2}$ mM. Contrairement aux autres coefficients stœchiométriques ces coefficients peuvent fortement dépendre de l'organisme. Remarquons que bien que nous ne modifions pas ces paramètres dans cette thèse, nous pourrions faire l'hypothèse qu'ils évoluent au cours du temps et en particulier au cours des phases du cycle cellulaire.

2.2 Simulations du modèle

Dans cette partie, nous présentons différentes simulations de notre modèle métabolique afin d'étudier sa dynamique. Dans un premier temps, nous proposons une simulation simple afin d'observer sa dynamique globale. Dans un second temps, nous étudions un peu plus précisément les réponses du modèle en fonction de ses différentes entrées, afin de le comparer à des connaissances biologiques.

2.2.1 Une première simulation : obtention d'un point d'équilibre

Toutes les simulations que nous présentons dans cette thèse sont obtenues avec la fonction *ode15s* du logiciel Matlab (version R2017b) [90]. En général dans cette thèse, nous considérons que la concentration des métabolites est initialement à 0 excepté pour les métabolites d'échange à cause de l'absence de production *de novo* de ces métabolites. Nous prenons pour ces derniers les valeurs de concentrations initiales du modèle de da Veiga Moreira *et al.* Nous faisons de même pour la biomasse. La condition initiale de notre modèle est détaillée en annexe A.7.

Pour notre première simulation, nous étudions la dynamique de notre modèle lorsqu'il y a en entrée beaucoup de glucose et beaucoup de dioxygène : $\text{GLC}_{\text{ex}} := 6.55$ mM, $\text{O}_2 := 5.1$ mM et $\text{GLN}_{\text{ex}} := 0$ mM. Nous regroupons les courbes de cette simulation dans la figure 2.2.

Ce milieu est normalement un milieu favorable à la croissance cellulaire. On s'attend donc à ce que la population croisse. Comme on peut le voir sur la figure 2.2c, c'est bien ce que nous obtenons. La

population de cellules croît et atteint un régime de croissance exponentielle : nous observons qu’au bout d’un moment, le taux de croissance $\mu(x(t))$ finit par converger vers une valeur strictement positive (environ $8 \cdot 10^{-4} \text{h}^{-1}$). A ce moment, le système converge numériquement vers un régime exponentiel. Nous décrivons ci-dessous la dynamique des concentrations des métabolites.

Nous commençons par analyser la dynamique des métabolites du vecteur $x_{\text{I}}(t)$. Nous traçons l’évolution de ces concentrations sur la figure 2.2a.

Comme nous pouvons le voir sur cette figure, lorsqu’il y a du glucose et du dioxygène dans le milieu, la concentration de chaque métabolite de la glycolyse (G6P, F6P, GAP, PEP et PYR, en bleu sur la figure) tend vers une valeur positive. Cela indique que la glycolyse fonctionne : le glucose entre dans la cellule en G6P puis est transformé à travers cette voie en pyruvate.

Nous pouvons aussi déduire de ces courbes que lorsqu’il y a du glucose et du dioxygène, la voie des pentoses phosphates (R5P et X5P en vert), le cycle de Krebs (ACoA, CIT, AKG, SUC, MAL et OXA en rouge) et la voie de production de lipides (PALM en noir) fonctionnent aussi et assurent notamment la production de R5P et de PALM pour la production de biomasse.

Comme il n’y a pas de glutamine dans le milieu, la glutaminolyse ne fonctionne pas et les concentrations des métabolites propres à cette voie (GLU, ALA, NH_4 et GLU_{ex} en bleu clair) restent à 0.

Concernant l’overflow, on voit que lorsqu’il y a du glucose et du dioxygène, la concentration de lactate ne reste pas à 0. Ce qui signifie que les cellules en produisent. Cependant, on peut remarquer que la valeur est faible par rapport à celle de la plupart des autres métabolites. Les cellules que nous modélisons produisent relativement peu de lactate quand il y a du dioxygène. Seule une faible partie du pyruvate est transformée en lactate, tandis que la majorité du pyruvate disparaît dans la dilution et en CO_2 , via le cycle de Krebs. Cette faible production de lactate est attendue puisque lorsqu’il y a du dioxygène les cellules respirent et le cycle de Krebs peut fonctionner normalement. Dans la partie 2.2.2 nous montrons que la production de lactate est plus importante lorsqu’il y a moins de dioxygène dans le milieu, ce qui s’approche du processus de fermentation [25].

Pour conclure, nous pouvons noter que l’évolution de ces concentrations au cours du temps correspondent aux attentes que l’on peut avoir d’un modèle métabolique représentant le CCM en présence de glucose et de dioxygène.

Nous présentons maintenant l’évolution de la concentration des métabolites d’échange que nous traçons sur la figure 2.2b. Comme nous pouvons le remarquer sur cette figure, la concentration d’AMP varie très peu comparé aux concentrations d’ATP et d’ADP. Nous observons la même chose dans toutes les simulations que nous avons faites. Par la suite, nous ne montrons que l’évolution de la concentration d’ATP. Pour les couples redox NAD-NADH et NADP-NADPH, suivant une convention souvent utilisée dans les articles expérimentaux [36], nous afficherons les ratio $\text{NAD}(t)/\text{NADH}(t)$ et $\text{NADP}(t)/\text{NADPH}(t)$.

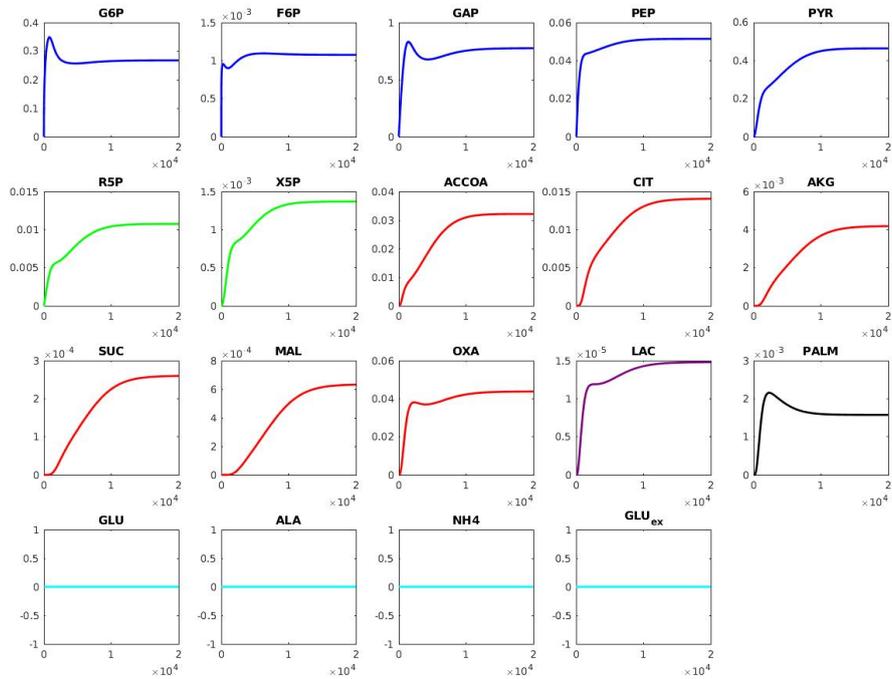
L’étude de ces variables nous permet d’avoir un point de vue plus global sur la dynamique du métabolisme. En effet, dans une cellule, connaître la concentration d’ATP nous permet de connaître le statut énergétique de cette cellule, tandis que le ratio NAD/NADH est un marqueur du *catabolisme* (partie du métabolisme comprenant les processus de dégradation des nutriments) et le ratio NADP/NADPH est un marqueur de l’*anabolisme* (partie du métabolisme comprenant les processus de biosynthèse des briques élémentaires de la cellule) [35, 36]. Dans notre modèle, la concentration d’ATP et le ratio NAD/NADH sont principalement liés à la glycolyse et à la respiration cellulaire tandis que le ratio NADP/NADPH est lié à la voie des pentoses phosphates et à la production de lipides (voir figure 2.1).

Comme évoqué plus haut, nous observons sur la figure 2.2 que la concentration des métabolites semble se stabiliser et que la population de cellules semble tendre vers un régime de croissance exponentielle. Nous avons observé cela dans toutes les simulations que nous avons étudiées. Ceci semble indiquer que les variables $x_{\text{I}}(t)$ et $x_{\text{II}}(t)$ convergent vers un point d’équilibre que nous notons x_{I}^* et x_{II}^* ³.

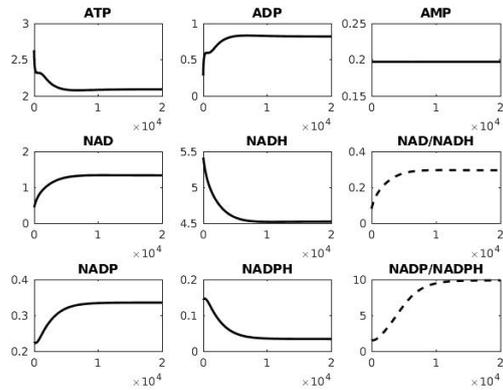
Dans la suite de cette thèse, nous utilisons ce point d’équilibre pour comparer différentes simulations. Pour obtenir une approximation de ce point, nous utilisons l’option *Events* de la fonction *ode15s* de Matlab. Cette option permet d’arrêter une simulation quand une condition est rencontrée. Dans notre cas, nous arrêtons la simulation quand :

$$\|F(x(t))\|_1 = \epsilon, \quad (2.9)$$

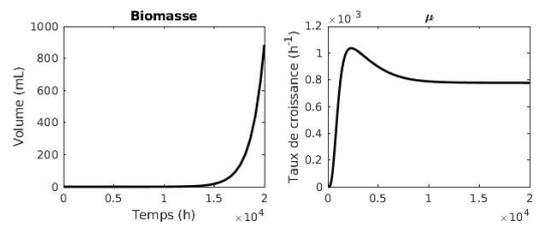
3. L’appellation *point équilibre* est un abus de langage pour le système (2.6) car $x_{\text{B}}(t)$ ne converge pas



(a) Évolution de x_I .



(b) Évolution de x_{II} .



(c) Évolution de x_B (gauche) et μ (droite).

FIGURE 2.2 – Évolution des variables au cours du temps lorsqu'il y a beaucoup de glucose et de dioxygène dans le milieu : $GLC_{ex} := 6.55 \text{ mM}$, $O_2 := 5.1 \text{ mM}$ et $GLN_{ex} := 0 \text{ mM}$.

où $F(x(t))$ représente le champ de vecteur du système (2.6) sans $\frac{dx_B(t)}{dt}$ et où $\|\cdot\|_1$ désigne la norme 1. Nous fixons pour toute cette thèse $\epsilon := 1 \cdot 10^{-6}$. À partir du point d'équilibre, nous définissons le vecteur de vitesse à l'équilibre :

$$\nu^* := \nu \begin{pmatrix} x_I^* \\ x_{II}^* \end{pmatrix},$$

et le taux de croissance à l'équilibre :

$$\mu^* := \mu \begin{pmatrix} x_I^* \\ x_{II}^* \end{pmatrix}.$$

2.2.2 Analyse de l'équilibre en glucose

Dans cette partie, nous étudions comment notre modèle se comporte lorsque nous lui donnons différentes concentrations de glucose. Pour cela, nous calculons le point d'équilibre du système pour différentes concentrations de glucose dans le milieu et nous comparons ensuite les différentes valeurs. Sur la figure 2.3, nous traçons une partie de x^* lorsque GLC_{ex} vaut 0.5 mM, 1.5 mM et 6.55 mM. Dans les simulations que nous présentons dans cette figure, la concentration de dioxygène est élevée (5.1 mM) et il n'y a pas de glutamine dans le milieu.

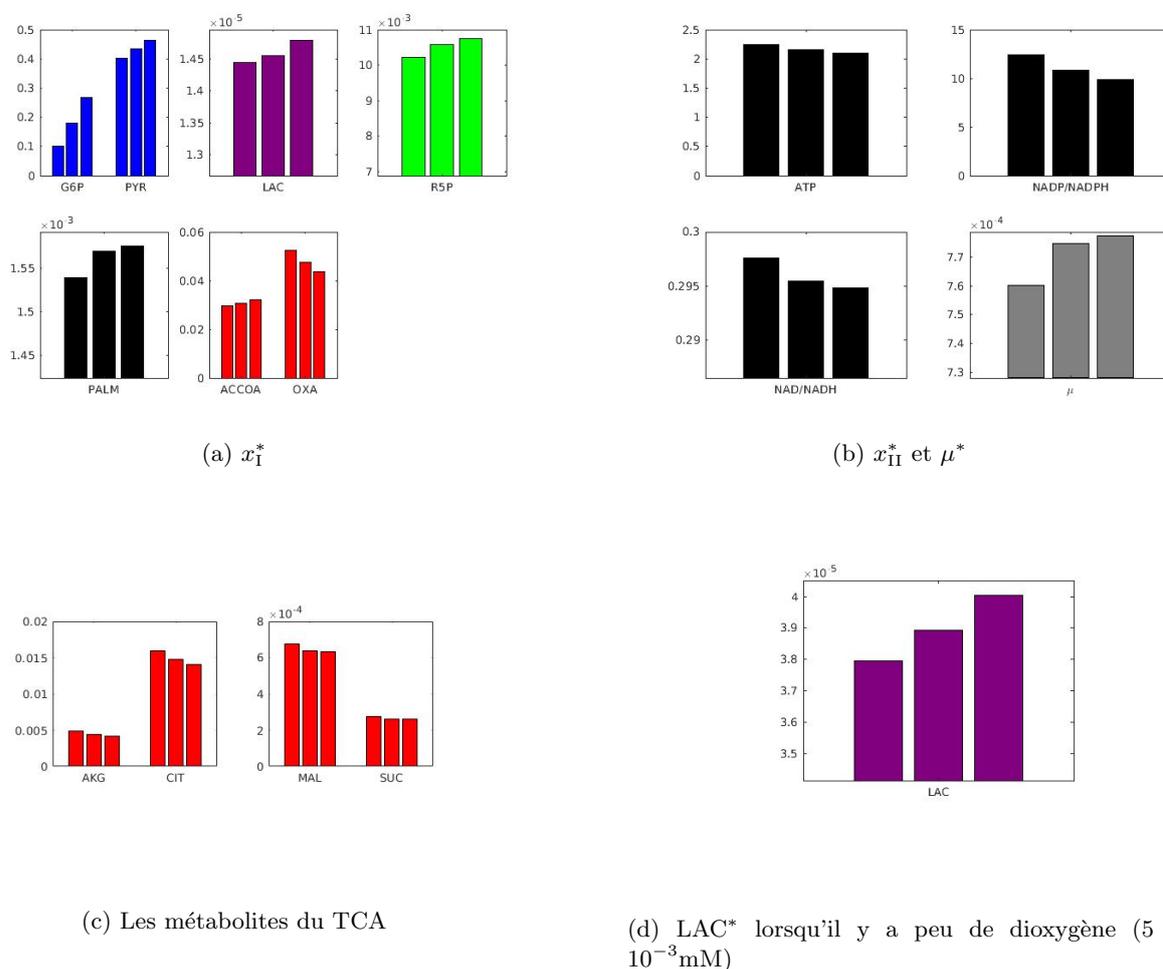


FIGURE 2.3 – Comparaison du point d'équilibre pour des valeurs croissantes de glucose (0.5 mM, 1.5 mM et 6.55 mM) et en présence de beaucoup de dioxygène (5.1 mM). (a), (b) et (c) représentent respectivement les métabolites x_I^* , les métabolites x_{II}^* et μ^* et des métabolites du cycle de Krebs. Dans la figure (d), nous regardons LAC* cette fois avec peu de dioxygène ($5 \cdot 10^{-3}$ mM).

Nous commençons par étudier comment fonctionnent les différentes voies du CCM en fonction de la quantité de glucose présente dans le milieu. Pour cela nous observons la concentration à l'équilibre de

métabolites que nous présentons sur la figure 2.3a. Quand c'est possible, nous comparons les résultats de nos simulations avec des données de la littérature [91, 92]. Dans ces articles, Blank *et al.* étudient le métabolisme central du carbone des levures *Saccharomyces cerevisiae*. En particulier, ils étudient l'activité de certaines voies métaboliques en fonction du flux d'entrée de glucose.

Glycolyse : Pour évaluer l'activité de la glycolyse, nous étudions les concentrations de G6P et PYR à l'équilibre, le premier et dernier métabolite de cette voie. Comme nous pouvons le voir sur la figure, lorsque l'on augmente la concentration de glucose dans le milieu, la concentration à l'équilibre de G6P et PYR augmentent. Cela signifie que l'activité de la glycolyse augmente, ce qui est attendu puisque le glucose est la source de la glycolyse.

Overflow (production de lactate) : Nous pouvons remarquer sur la figure 2.3a que la concentration de lactate à l'équilibre augmente quand la concentration en glucose dans le milieu augmente. Cette augmentation est plus marquée lorsque l'on diminue la concentration de dioxygène (voir figure 2.3d). Ces résultats sont cohérents avec les résultats de Blank *et al.* [91]. Dans cet article, Blank *et al.* montrent que la production d'éthanol et d'acétate, les deux produits de l'overflow chez les levures, augmente quand l'entrée de glucose augmente.

Voie des pentoses phosphates : Pour évaluer l'activité de la voie des pentoses phosphates, nous étudions R5P*, métabolite central de cette voie. Comme nous pouvons le voir sur la figure 2.3a, R5P* augmente lorsque la concentration de glucose augmente dans le milieu. Cela indique que l'activité de la voie des pentoses phosphates augmente quand la concentration de glucose augmente. C'est cohérent avec les données de Blank *et al.*, qui trouvent que les flux de la voie des pentoses phosphates augmentent quand les flux d'entrée de glucose augmente.

Le cycle de Krebs : Évaluer l'activité du cycle de Krebs dans notre modèle n'est pas aussi facile que pour les autres voies. Nous souhaitons observer les concentrations d'ACoA et d'OXA, les deux métabolites clé de cette voie et en déduire le fonctionnement du cycle de Krebs. Cependant, nous pouvons remarquer sur la figure 2.3a que ces deux métabolites n'ont pas le même comportement lorsque la concentration de glucose dans le milieu augmente : ACoA* augmente, tandis que OXA* diminue. Il nous faut alors observer le comportement des autres métabolites du cycle de Krebs : figure 2.3c. Comme nous le voyons sur cette figure, la concentration des autres métabolites du cycle de Krebs diminue quand on augmente la concentration de glucose dans le milieu. Cela peut s'expliquer par le fait que l'acétyl-CoA et l'oxaloacétate réagissent ensemble sous l'action de la citrate synthase (réaction **CS**) pour former du citrate, qui va à son tour former les autres métabolites du cycle de Krebs. Dans la réaction **CS** de notre modèle, OXA est limitant. Donc quand on augmente la concentration de glucose dans le milieu, la concentration d'OXA à l'équilibre diminue, ce qui diminue la formation de citrate et des autres métabolites du cycle de Krebs. Ainsi, nous pouvons dire que globalement, l'activité du cycle de Krebs diminue quand il y a plus de glucose dans le milieu. Ce qui est cohérent avec les données de Blank *et al.* [91, 92].

Nous nous intéressons maintenant à comprendre pourquoi ACoA* et OXA* évoluent différemment alors qu'ils sont tous les deux formés, au moins en partie, à partir du pyruvate. Comme l'activité de la glycolyse augmente lorsque la concentration de glucose augmente, on peut s'attendre à ce que ACoA* et OXA* augmentent aussi. Or, si c'est bien le cas pour ACoA, ce n'est pas le cas pour OXA. La réaction qui produit de l'oxaloacétate à partir du pyruvate, la pyruvate carboxylase **PC**, est limitée par la concentration d'ATP. Or la concentration d'ATP à l'équilibre diminue quand la concentration de glucose augmente comme on peut le voir sur la figure 2.3b. Nous revenons plus en détail sur ce résultat plus loin. Ainsi, même si le pyruvate augmente quand la concentration en glucose augmente, la production d'oxaloacétate est limitée par l'ATP, ce qui diminue l'activité du cycle de Krebs.

Production de lipides : Finalement, sur cette figure 2.3a, nous pouvons aussi remarquer que plus il y a de glucose dans le milieu, plus les cellules produisent de lipides. Nous l'observons par l'augmentation de PALM*. Blank *et al.*, n'ont pas dans leurs articles cités ci-dessus, étudié la question, mais cela semble cohérent car les lipides sont un des produits de la dégradation du glucose (par la glycolyse et la voie de production des lipides).

Nous étudions maintenant comment évoluent les métabolites d'échange et le taux de croissance des cellules en fonction de la concentration de glucose. Nous traçons sur la figure 2.3b ATP*, NAD*/NADH*,

NADP*/NADPH* ainsi que μ^* . Nous pouvons observer sur cette figure que ATP*, NAD*/NADH* et NADP*/NADPH* diminuent lorsque la concentration de glucose augmente. μ^* , quant à lui, augmente avec cette concentration.

La concentration d'ATP à l'équilibre diminue quand on augmente la concentration de glucose dans le milieu car dans notre modèle, l'ATP est principalement consommé par la glycolyse et principalement produit par la respiration cellulaire. Or en augmentant la concentration de glucose dans le milieu, nous augmentons l'activité de la glycolyse et donc la consommation d'ATP. La respiration (non montrée) augmente aussi lorsque la concentration de glucose augmente, mais pas de façon suffisante pour compenser la perte due à la glycolyse.

L'évolution du ratio NAD*/NADH* en fonction de la concentration de glucose est due aux mêmes raisons. Dans notre modèle, NAD est principalement consommé par la glycolyse et produit par la respiration cellulaire.

L'évolution du ratio NADP*/NADPH* est quant à elle due à l'augmentation de l'activité de la voie des pentoses phosphates. Plus il y a de glucose, plus la voie des pentoses phosphates est active et plus elle consomme du NADP et produit du NADPH. La voie de production de lipides augmente aussi, consommant à l'inverse du NADPH et produisant du NADP mais pas de façon suffisante pour compenser la consommation de NADP par la voie des pentoses phosphates. Il en résulte une baisse du ratio.

Finalement, μ^* augmente lorsque la concentration de glucose augmente car G6P*, R5P* et PALM* augmentent avec le glucose. Parmi les métabolites servant à la croissance cellulaire, seule la concentration d'ATP à l'équilibre diminue. Ce métabolite n'étant pas limitant pour la croissance, cette baisse n'affecte pas l'augmentation de μ^* .

2.2.3 Étude de l'équilibre en glutamine

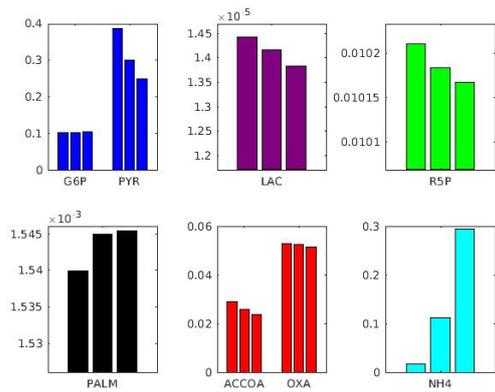
Dans cette partie, nous étudions comment notre modèle utilise la glutamine. La glutamine est un acide aminé qui peut à la fois servir de source d'azote et de carbone au métabolisme. Comme le glucose est aussi une source de carbone, nous étudions notre modèle avec peu de glucose dans le milieu : $5 \cdot 10^{-3}$ mM. Afin que le manque de dioxygène ne soit pas une limitation, nous étudions le modèle avec beaucoup de dioxygène dans le milieu : 5.1 mM. Nous regroupons les résultats obtenus dans la figure 2.4.

Nous commençons par étudier l'impact de la glutamine sur sa voie de consommation : la glutaminolyse. La glutamine étant l'entrée de la glutaminolyse, on s'attend à observer une augmentation de l'activité de cette voie. La glutaminolyse est une voie métabolique complexe qui, en particulier, utilise des réactions du cycle de Krebs et de l'overflow (voir figure 2.1). Pour étudier l'impact de la glutamine sur cette voie, nous la découpons en trois parties : les réactions avant le cycle de Krebs (*ie* jusqu'à AKG, voir figure 2.1) que nous appelons réactions *pre-TCA*, les réactions communes au cycle de Krebs et à la glutaminolyse (de AKG à la production de malate) et les réactions après le cycle de Krebs (jusqu'à la production de lactate) que nous appelons réactions *post-TCA*. Nous étudions l'effet de la glutamine sur chacune de ces parties :

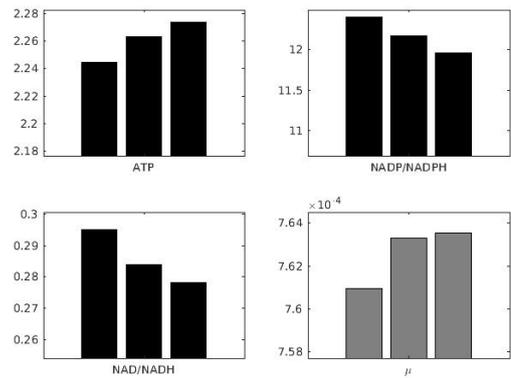
pré-TCA : Pour vérifier que l'augmentation de la concentration de glutamine entraîne bien une augmentation de l'activité de cette partie de la voie, nous observons la concentration à l'équilibre de NH_4 , un des produits (avec GLU_{ex} et ALA) des réactions du début de la glutaminolyse. Comme nous pouvons le voir sur la figure 2.4a, NH_4^* augmente quand on augmente la concentration de glutamine.

TCA : Pour vérifier que l'augmentation de la concentration de glutamine entraîne bien une augmentation de l'activité de cette partie de la voie, nous observons la concentration à l'équilibre des métabolites communs au cycle de Krebs et à la glutaminolyse : AKG, SUC et MAL. Comme on peut le voir sur la figure 2.4c, la concentration de ces métabolites augmente quand on augmente la concentration de glutamine dans le milieu.

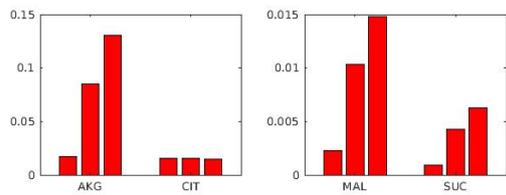
post-TCA : Pour vérifier que l'augmentation de la concentration de la glutamine entraîne bien une augmentation de l'activité de cette partie de la glutaminolyse, nous observons la concentration de pyruvate et de lactate à l'équilibre. Comme on peut le voir sur la figure 2.4a, la concentration de ces métabolites diminue quand on augmente la concentration de glutamine, ce qui est contraire à nos attentes, le pyruvate et le lactate étant les produits finaux de la glutaminolyse. Pourquoi dans notre modèle nous n'observons pas une augmentation de production de lactate quand il y a plus



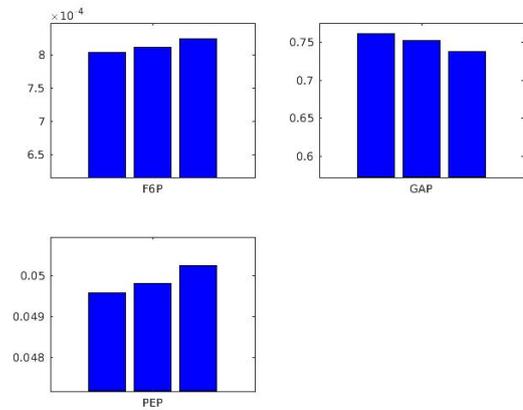
(a) x_I^*



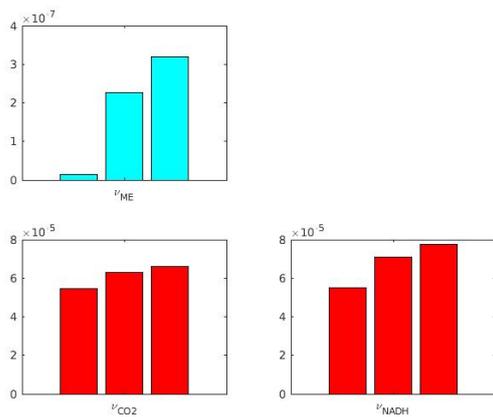
(b) x_{II}^* et μ^*



(c) Les métabolites du TCA



(d) Les métabolites de la glycolyse



(e) Flux de la glutaminolyse (ν_{ME}) et du cycle de Krebs (ν_{CO_2} et ν_{NADH})

FIGURE 2.4 – Comparaison du point d'équilibre pour des valeurs croissantes de glutamine ($5 \cdot 10^{-3}$ mM, $5 \cdot 10^{-2}$ mM et 0.724 mM) avec $GLC_{ex} = 5 \cdot 10^{-3}$ mM et $O_2 = 5.1$ mM.

de glutamine ? Tout d'abord, nous observons que la vitesse de l'enzyme malique, **ME** (réaction de la glutaminolyse qui produit du pyruvate à partir du malate) augmente bien quand on augmente la concentration de glutamine (voir figure 2.4e). La baisse de concentration de pyruvate quand on augmente la concentration de glutamine s'explique par le fait que l'alanine aminotransférase, **AlaTA**, une réaction de la glutaminolyse, consomme du pyruvate. Plus on augmente la concentration de glutamine dans le milieu, plus le pyruvate est consommé par cette réaction. Or, comme il s'avère que cette réaction consomme plus de pyruvate que **ME** n'en produit, la glutaminolyse de notre modèle consomme du pyruvate au lieu d'en produire. Plus il y a de glutamine dans le milieu, plus la glutaminolyse est active et plus elle consomme de pyruvate. Ce qui entraîne aussi une baisse de ressources pour le lactate, qui diminue aussi quand on augmente la concentration de glutamine dans le milieu.

Nous déduisons de ces trois points que l'activité de la glutaminolyse dans notre modèle augmente bien quand on augmente la concentration de glutamine. Nous retenons aussi que la baisse de PYR^* et LAC^* quand GLN_{ex} augmente est due au fait que dans notre modèle, la glutaminolyse consomme plus de pyruvate qu'elle n'en produit.

Nous étudions maintenant l'impact de la glutamine sur les autres voies.

Glycolyse : Pour déterminer l'impact de la glutamine sur la glycolyse, nous ne pouvons pas utiliser les concentrations à l'équilibre des métabolites de la glycolyse. Comme nous pouvons le voir sur les figures 2.4a et 2.4d, en dehors de PYR^* , ces concentrations varient peu, et pas toutes dans le même sens. Nous décidons alors d'observer l'évolution de la concentration d'ATP, qui dépend principalement de la respiration et de la glycolyse. Comme nous pouvons le voir sur la figure 2.4b, ATP^* augmente quand on augmente la concentration de glutamine dans le milieu. Quand on cherche les raisons de cette augmentation dans notre modèle, nous trouvons que c'est principalement dû à une augmentation de la respiration cellulaire et à une diminution de la consommation par la glycolyse. On peut donc déduire que dans notre modèle, augmenter la glutamine dans le milieu entraîne une baisse d'activité de la glycolyse.

Overflow : Comme nous le présentons ci-dessus, quand on augmente la concentration de glutamine dans le milieu, la concentration de pyruvate diminue, à la fois par une augmentation de sa consommation par la glutaminolyse et par une diminution de sa production par la glycolyse. Comme il y a moins de pyruvate, les cellules produisent moins de lactate. Cela semble être une limitation de notre modèle d'après une partie de la littérature qui dit que la glutamine est bien l'une des sources du lactate [93]. Cependant, il est à noter que la question n'est pas tranchée puisqu'il semblerait que la glutamine produise du pyruvate *mitochondrial* qui produit de l'alanine alors que le lactate est produit par le pyruvate *cytosolique* qui provient du glucose [29, 94].

Voies des pentoses phosphates : Comme on peut le voir sur la figure 2.4a, l'impact de la glutamine sur la voie des pentoses phosphates est relativement faible. Quand on augmente la concentration de glutamine dans le milieu, R5P^* diminue. Cela peut sembler étrange car G6P^* augmente quand on augmente la concentration de glutamine. La baisse de R5P^* s'explique par la baisse de NADP^* que l'on peut voir sur la figure 2.4b et que nous expliquons plus loin.

Cycle de Krebs : Comme nous pouvons le voir sur la figure 2.4a et sur la figure 2.4c, la concentration des métabolites propres au cycle de Krebs (ACoA , CIT et OXA) diminue quand on augmente la concentration de glutamine. Cela est dû à la baisse de l'activité de la glycolyse. Comme tous les métabolites du cycle de Krebs n'ont pas le même comportement, nous ne pouvons pas conclure sur l'activité du cycle de Krebs à partir de ces concentrations. Nous choisissons alors d'observer la vitesse de production du CO_2 et du NADH par le cycle de Krebs. Nous posons :

$$\begin{aligned}\nu_{\text{CO}_2}^* &:= \nu_{\text{PDH}}^* + \nu_{\text{CITS}}^* + \nu_{\text{AKGDH}}^* \\ \nu_{\text{NADH}}^* &:= \nu_{\text{PDH}}^* + \nu_{\text{CITS}}^* + \nu_{\text{AKGDH}}^* + 0.66 \cdot \nu_{\text{SDH}}^* + \nu_{\text{MLD}}.\end{aligned}$$

Comme nous pouvons le voir sur la figure 2.4e, ces valeurs augmentent quand on augmente la concentration de glutamine dans le milieu. Ce qui nous indique que l'activité du cycle de Krebs augmente avec la glutamine.

Production de lipides : Tout comme pour la voie des pentoses phosphates, l'impact de la glutamine sur la voie de productions de lipides est relativement faible. Quand on augmente la concentration

de glutamine dans le milieu, la production de lipides augmente. Tout comme pour la voie des pentoses phosphates, cette variation est due à la variation du couple redox NADP/NADPH. Quand on augmente la concentration de glutamine, NADPH* augmente ce qui permet aux cellules de produire plus de lipides.

Nous étudions maintenant l'impact de la glutamine sur l'énergie, les couples redox et la croissance de la population de cellules.

Comme nous pouvons le voir sur la figure 2.4b et comme nous le présentons dans l'analyse de l'impact de la glutamine sur la glycolyse, la concentration d'ATP à l'équilibre augmente avec la concentration de la glutamine. Cela est dû à la fois à une baisse de l'activité de la glycolyse et à une hausse de la respiration cellulaire.

Sur la même figure, nous pouvons remarquer que le ratio NADP/NADPH diminue quand il y a plus de glutamine dans le milieu. Cela est dû à l'augmentation de l'activité de la glutaminolyse et plus précisément de l'enzyme malique (**ME**) qui transforme plus de NADP en NADPH.

Nous pouvons aussi observer que le ratio NAD/NADH diminue quand on augmente la concentration de la glutamine. Cela est dû à l'augmentation de l'activité du cycle de Krebs, qui transforme plus de NAD en NADH.

Finalement, nous pouvons observer que l'augmentation de la glutamine dans le milieu entraîne une augmentation du taux de croissance à l'équilibre : la population de cellules croît plus vite quand il y a plus de glutamine.

Dans ce chapitre, nous avons construit un système d'équations différentielles représentant la croissance d'une population de cellules et intégrant la dynamique du métabolisme central du carbone. Ce système représente les principales voies du métabolisme central du carbone, ainsi que la production de lipides, la respiration cellulaire et des réactions de maintenance énergétique et des couples redox. Il contient au total 29 réactions, 27 équations différentielles non linéaires et plus de 100 paramètres. En plus de nous donner une vue d'ensemble sur la dynamique du métabolisme central du carbone, ce modèle nous permet d'observer l'évolution des concentrations des métabolites d'échange, ce qui nous permet d'accéder à l'état énergétique et redox, marqueurs du fonctionnement général des voies métaboliques.

Nous simulons tout d'abord notre modèle dans des conditions basiques de croissance : nous fournissons du glucose comme source de carbone et du dioxygène pour assurer la respiration cellulaire. Nous retrouvons dans cette simulation une dynamique qui correspond à ce que nous attendions : la population de cellules croît et les différentes voies métaboliques fonctionnent globalement comme attendu. Il est à noter que cette simulation converge vers un point d'équilibre, correspondant à un régime de croissance exponentielle de la population. Nous poursuivons notre analyse du modèle par une série de simulation où nous faisons varier la concentration des sources : nous analysons la réponse de notre modèle à ces différentes concentrations. Là encore, les réponses du modèles sont satisfaisantes : nous retrouvons dans ces analyses les principaux comportements qualitatifs attendus. Nous mettons aussi en évidence une limite de notre modèle : alors que d'après la littérature il semble que l'augmentation de glutamine dans le milieu entraîne une augmentation de la production de lactate, notre modèle au contraire en produit moins. Nous expliquons cela par le fait que, dans notre modèle, la glutaminolyse consomme plus de pyruvate qu'elle n'en produit.

Notre modèle reproduit donc de manière satisfaisante la dynamique du métabolisme au cours de la croissance cellulaire. Cependant il n'intègre pas explicitement certaines spécificités du cycle de division cellulaire. Dans le chapitre suivant, nous analysons notre modèle de façon plus approfondie dans l'optique de l'étendre et de modéliser la dynamique du métabolisme au cours des phases du cycle cellulaire.

Chapitre 3

Construction et analyse d'un système hybride du métabolisme au cours du cycle cellulaire

Dans le chapitre précédent, nous présentons un modèle métabolique de la croissance d'une population de cellules construit sans prendre en compte le déroulement temporel spécifique du cycle cellulaire, c'est-à-dire la succession des phases menant une cellule à se diviser. Par rapport au modèle (2.6), le comportement réel du métabolisme évolue au cours de la croissance cellulaire. En effet, comme énoncé dans la partie 1.3.2, on observe expérimentalement des différences dans la dynamique du métabolisme d'une phase du cycle cellulaire à l'autre [28, 36]. Ces différences s'expliquent par les changements de besoins de la cellule au cours de ces phases.

Dans ce chapitre, nous étudions les comportements connus du métabolisme au cours des phases du cycle cellulaire et nous créons un modèle représentant ces comportements. Tout d'abord, nous recherchons dans la littérature comment la cellule adapte son métabolisme aux phases du cycle cellulaire. Nous analysons ensuite comment notre système d'équations différentielles répond aux régulations trouvées dans la littérature. À partir de ces réponses, nous construisons un système hybride, représentant l'évolution du métabolisme au cours des phases du cycle cellulaire. Finalement, nous analysons ce système hybride, confrontant son comportement à nos connaissances biologiques.

Ce chapitre est principalement basé sur l'article [95] reproduit en annexe B et que j'ai présenté à la conférence *Hybrid Systems and Biology* en avril 2019.

3.1 Principales variations métaboliques au cours des phases du cycle cellulaire

Dans ce chapitre, nous voulons construire un modèle reproduisant les comportements métaboliques présentés dans le chapitre 1. Pour cela, nous commençons par rechercher dans la littérature quels sont les moyens utilisés par la cellule pour modifier son métabolisme au cours des phases du cycle cellulaire. Nous listons les principales variations enzymatiques faisant varier la dynamique du métabolisme au cours du cycle cellulaire dans la partie 3.1.1 puis nous vérifions dans la partie 3.1.2 que ces variations entraînent les mêmes changements de comportements dans notre modèle (2.6).

3.1.1 Analyse bibliographique : le contrôle du métabolisme au cours du cycle cellulaire

Comme énoncé dans le chapitre 1, le cycle cellulaire et le métabolisme sont deux processus cellulaires fortement interconnectés. En particulier, dans chaque phase du cycle cellulaire, la cellule a des objectifs spécifiques, ce qui entraîne des besoins métaboliques différents dans chaque phase. En réponse à ces besoins, le métabolisme change de comportement d'une phase à l'autre. Nous résumons ces différents liens, présentés dans le chapitre 1, dans la table 3.1.

Phase	Objectif principal	Demande métabolique	Principale voie métabolique active
G1	Croître et produire protéines	Énergie (ATP), acides-aminés, nucléotides	Glycolyse et Glutaminolyse
S	Dupliquer l'ADN	Nucléotides	PPP
G2	Croître et produire de la membrane	Lipides	Production de lipides

TABLE 3.1 – Synthèse des objectifs de chaque phase, des principales demandes métaboliques et des principales voies métaboliques [28, 35, 36].

Afin que le métabolisme produise au bon moment ce dont la cellule a besoin au cours du cycle cellulaire, la cellule doit coordonner ces deux processus. Ci-dessous, nous listons par quels moyens la cellule modifie son métabolisme en fonction des phases du cycle cellulaire, résumant les résultats de nos recherches bibliographiques ([28] principalement) :

Phase G1

- L'enzyme PFKFB3 s'accumule. Cette enzyme est une phosphofructokinase qui, comme PFK-1 la phosphofructokinase de la glycolyse, phosphoryle F6P. Cependant, ces deux enzymes ne produisent pas le même métabolite. PFK-1 produit du F1,6BP qui est ensuite utilisé dans le reste de la glycolyse, tandis que PFKFB3 produit du F2,6BP. Ce dernier est un activateur allostérique de PFK-1. L'accumulation de PFKFB3 au cours de G1 entraîne donc une augmentation de l'activité de la glycolyse [27, 28, 96, 97, 98].
- L'enzyme GLS1, la glutaminase, s'accumule. La glutaminase est la première enzyme de la glutaminolyse. Cette voie métabolique consomme de la glutamine et produit du lactate en utilisant des réactions du cycle de Krebs. Ainsi, l'accumulation de GLS1 entraîne une augmentation de la production de lactate [27, 28, 98, 99].
- Les enzymes lipidiques sont inhibées. La voie de production des lipides est alors limitée et le carbone est redirigé vers la production de lactate. L'inhibition des enzymes lipidiques entraîne donc une augmentation de la production de lactate [28].

Phase S

- La concentration de PFKFB3 diminue. Cela entraîne une limitation de la glycolyse. Le glucose est alors redirigé vers la voie des pentoses phosphates. La baisse de concentration de PFKFB3 entraîne donc une augmentation de la voie des pentoses phosphates [28, 98].
- L'activité de G6PDH, la première enzyme de la voie des pentoses phosphates, augmente. Cela augmente l'activité de cette voie [28].

Phase G2

- Les enzymes lipidiques ne sont plus inhibées et leur concentration augmente. Ainsi, La production de lipides augmente [28].
- L'activité de la transkétolase, TKT, augmente. La transkétolase est une enzyme de la fin de la voie des pentoses phosphates. L'augmentation de son activité permet à la cellule de recycler le surplus de R5P vers la glycolyse. Cela entraîne donc une augmentation de la fin de la glycolyse [28].

Dans la figure 3.1, nous incluons ces informations dans les schémas des principales voies métaboliques au cours des phases du cycle cellulaire présentés dans le chapitre 1 (figure 1.12).

3.1.2 Analyse du modèle : le contrôle du métabolisme au cours du cycle cellulaire

Nous pouvons remarquer que dans tous les cas présentés, le métabolisme est affecté par un changement enzymatique : un changement de concentration ou bien d'activité d'une ou plusieurs enzymes. Dans

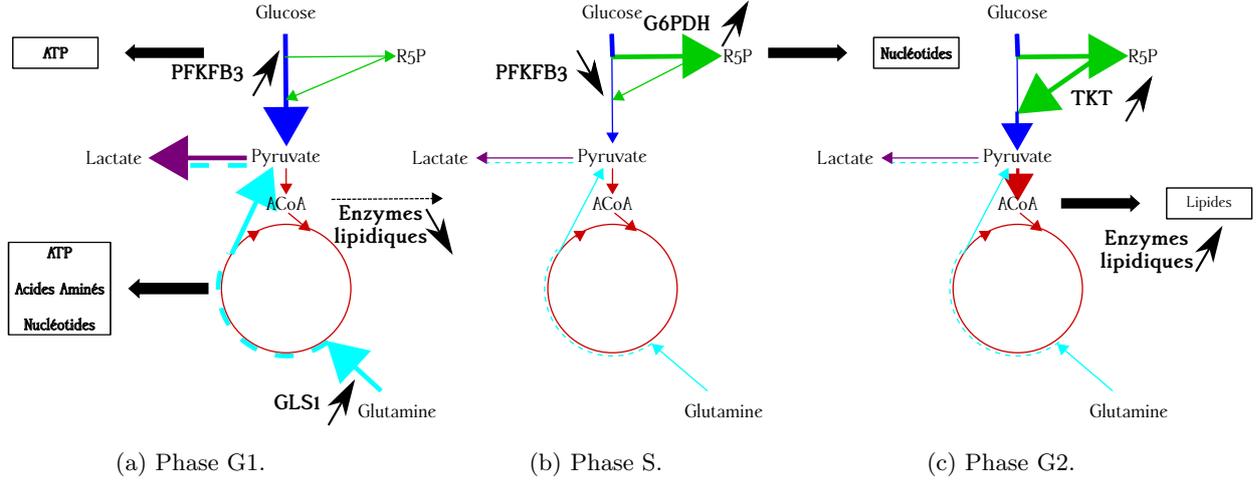


FIGURE 3.1 – Les principales régulations enzymatiques au cours des phases du cycle cellulaire. Bleu : Glycolyse. Vert : Voies des Pentoses Phosphates. Rouge : Cycle de Krebs. Violet : Overflow. Bleu clair : Glutaminolyse. Cette figure est basée sur la figure 1.12 et est inspirée de [28]

cette partie, nous cherchons à reproduire ces variations enzymatiques afin de vérifier si cela affecte le comportement de notre modèle métabolique comme décrit dans la littérature.

Pour chaque point présenté dans la partie précédente, nous modélisons la variation enzymatique en faisant varier un paramètre choisi en fonction de l'enzyme. Nous choisissons de modifier à chaque fois le paramètre ν_{\max} d'une réaction. Comme énoncé dans le chapitre 1, ce paramètre est le produit entre la concentration E_{tot} de l'enzyme et sa constante catalytique k_{cat} , qui représente l'activité de l'enzyme. L'augmentation (resp. diminution) de la concentration d'une enzyme ou de son activité est liée à l'augmentation (resp. diminution) de la vitesse maximale de la réaction qu'elle catalyse :

$$\nu_{\max} = k_{\text{cat}} \cdot E_{\text{tot}}.$$

Pour vérifier si la modification du paramètre entraîne la variation métabolique attendue, nous calculons pour plusieurs valeurs de ν_{\max} l'équilibre approché du système comme décrit dans la partie 2.2.1 et nous choisissons une variable x_i^* pour observer son sens de variation en fonction de ν_{\max} et le comparer à la littérature. Pour chaque cas, nous traçons $\frac{x_i^*(\nu_{\max})}{x_i^*(\nu_{\max}^{\text{def}})}$ où ν_{\max}^{def} est la valeur par défaut de ν_{\max} , celle du chapitre 2, indiquée en annexe A.6. Nous choisissons d'observer le ratio $\frac{x_i^*(\nu_{\max})}{x_i^*(\nu_{\max}^{\text{def}})}$ pour mieux visualiser la croissance ou décroissance relative du métabolite concerné. Nous regroupons ces différentes courbes dans la figure 3.2. Nous décidons de faire varier ν_{\max} selon une échelle logarithmique car il s'agit d'un paramètre multiplicatif dont l'ordre de grandeur a plus d'importance que la valeur même. Sauf mention du contraire, nous faisons varier les paramètres dans les bornes affichées sur la figure car elles suffisent à observer l'allure générale de ces courbes. Dans chaque simulation que nous faisons, nous posons $\text{GLC}_{\text{ex}} = 6.55 \text{ mM}$, $\text{O}_2 = 5.1 \text{ mM}$ et $\text{GLN}_{\text{ex}} = 0.724 \text{ mM}$. Nous décrivons ci-dessous quels x_i^* nous observons ainsi que les résultats que nous obtenons.

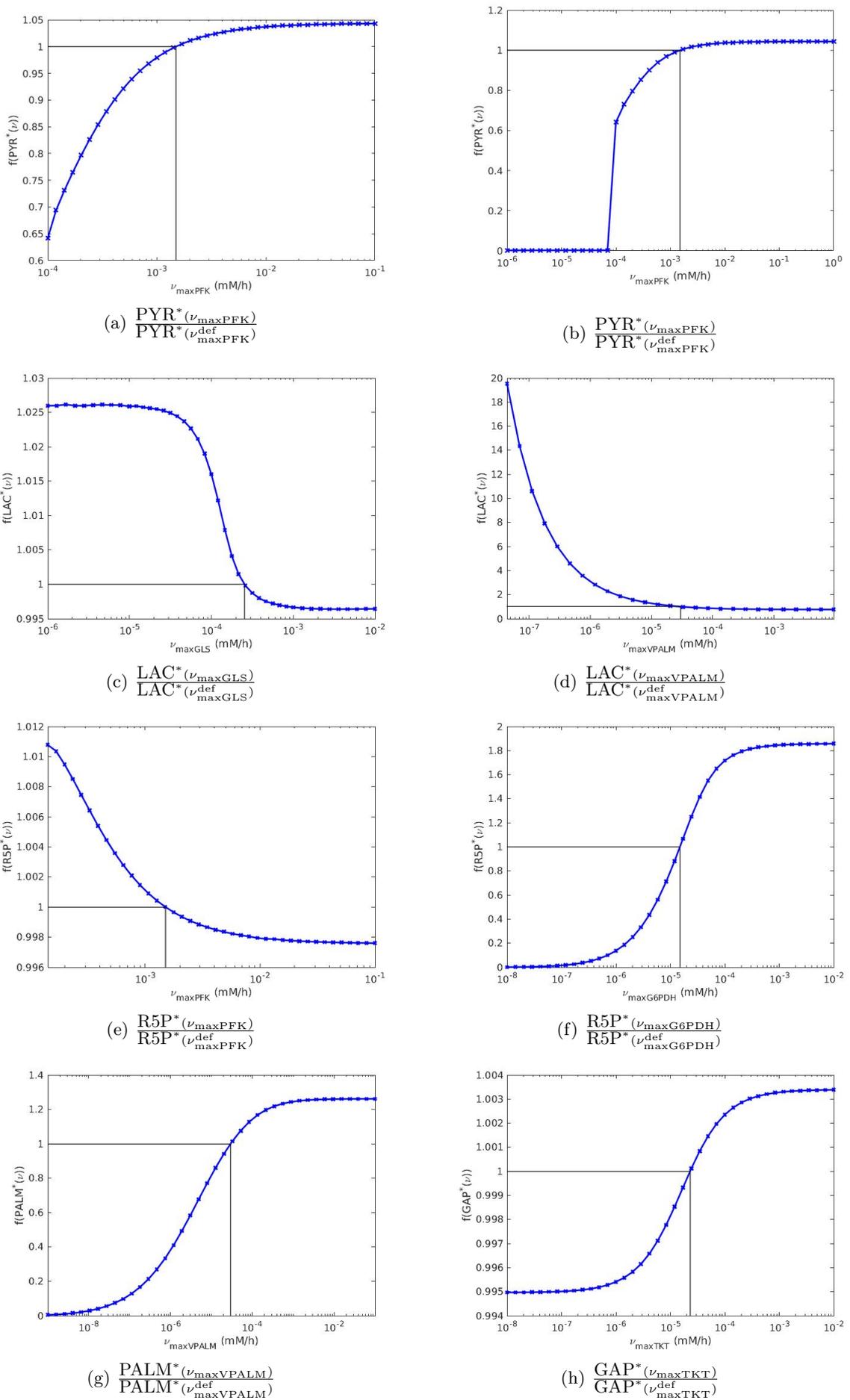


FIGURE 3.2 – Évolution de différents ratio $\frac{x_i^*(\nu_{\max})}{x_i^*(\nu_{\max}^{\text{def}})}$ en fonction des valeurs de paramètres enzymatiques ν_{\max} . $\text{GLC}_{\text{ex}} = 6.55 \text{ mM}$, $\text{O}_2 = 5.1 \text{ mM}$ et $\text{GLN}_{\text{ex}} = 0.724 \text{ mM}$. Le trait plein indique ν_{\max}^{def} , la valeur par défaut du paramètre.

Phase G1

- L'enzyme PFKFB3 n'est pas modélisée dans notre modèle. Cependant, son produit, F2,6BP est un activateur allostérique de la phosphofruktokinase PFK-1, dont la réaction est présente dans le modèle. Nous choisissons donc de faire varier $\nu_{\max\text{PFK}}$ pour modéliser des changements de concentration de PFKFB3.

Pour évaluer l'activité de la glycolyse, nous choisissons d'observer les variations de PYR^* , le dernier métabolite de la glycolyse dans notre modèle. Une augmentation de cette valeur sera interprétée comme une augmentation de l'activité de la glycolyse.

Comme nous pouvons le voir sur la figure 3.2a, PYR^* est une fonction croissante de $\nu_{\max\text{PFK}}$, ce qui correspond à ce que nous attendions.

Dans cette courbe, nous faisons varier $\nu_{\max\text{PFK}}$ dans l'intervalle $]1 \cdot 10^{-4}, 1 \cdot 10^{-1}]$. La borne supérieure de l'intervalle est fixée à $1 \cdot 10^{-1}$ car la courbe semble atteindre un plateau entre $1 \cdot 10^{-2}$ et $1 \cdot 10^{-1}$, plateau plus visible sur un intervalle plus grand (voir figure 3.2b).

Nous présentons maintenant pourquoi la borne inférieure est $1 \cdot 10^{-4}$. Sur la courbe de la figure 3.2b, on peut remarquer que PYR^* change de façon abrupte autour de $\nu_{\max\text{PFK}} = 10^{-4} \text{mM h}^{-1}$. Quand $\nu_{\max\text{PFK}} \leq 1 \cdot 10^{-4}$, notre modèle produit peu d'énergie et de lipides ce qui limite fortement la croissance. Par exemple, lorsque $\nu_{\max\text{PFK}} = 9 \cdot 10^{-5} \text{mM}$, μ^* est de l'ordre de 10^{-7}h^{-1} tandis que lorsque $\nu_{\max\text{PFK}} = 1.5 \cdot 10^{-3} \text{mM}$ (la valeur par défaut), μ^* est de l'ordre de 10^{-3}h^{-1} . Les taux de croissance atteints lorsque $\nu_{\max\text{PFK}} \leq 1 \cdot 10^{-4}$ étant très faibles, nous utilisons la valeur $1 \cdot 10^{-4}$ comme borne inférieure.

- La glutaminase est représentée dans notre modèle par la réaction **GLS**. Nous modélisons l'accumulation de GLS1 par l'augmentation de $\nu_{\max\text{GLS}}$.

Pour vérifier l'impact de $\nu_{\max\text{GLS}}$ sur la production de lactate, nous étudions comment LAC^* évolue en fonction de ce paramètre.

Nous pouvons observer sur la courbe de la figure 3.2c que LAC^* est, dans notre modèle, une fonction décroissante de $\nu_{\max\text{GLS}}$, ce qui ne correspond pas à nos attentes. Les raisons de cette décroissance sont similaires à celles présentées dans la partie 2.2.3 : en augmentant la réaction d'entrée de la glutamine, nous augmentons bien la production de pyruvate par la glutaminolyse via la réaction **ME**, représentant la réaction catalysée par l'enzyme malique. Cependant, nous augmentons aussi la consommation de pyruvate par la réaction **AlaTA** (Alanine aminotransférase). Comme le bilan production/consommation penche du côté de la consommation, la concentration de pyruvate diminue quand on augmente la glutaminolyse et donc la cellule produit moins de lactate.

Comme nous n'observons pas ce qui est décrit dans la littérature, nous décidons de ne pas conserver cette variation enzymatique dans la suite de cette thèse. Il serait cependant intéressant de mieux comprendre les différences entre notre modèle et la littérature afin de pouvoir l'intégrer dans de futurs travaux.

- Dans notre modèle, les enzymes lipidiques sont modélisées par la réaction **VPALM**. Nous faisons donc varier $\nu_{\max\text{VPALM}}$ pour représenter leur inhibition.

Pour vérifier que cette inhibition entraîne une augmentation de la production de lactate dans notre modèle, nous observons les variations de LAC^* en fonction de ce paramètre. Nous nous attendons à observer une courbe décroissante.

Comme on peut l'observer sur la courbe de la figure 3.2d, LAC^* est bien une fonction décroissante de $\nu_{\max\text{VPALM}}$, ce qui signifie que, dans notre modèle, l'inhibition des la production de lipides entraîne bien une augmentation de la production de lactate.

Phase S

- Tout comme en G1, nous modélisons les variations de concentration de PFKFB3 en faisant varier le paramètre $\nu_{\max\text{PFK}}$.

Pour observer les effets de ce changement de concentration sur l'activité de la voie des pentoses phosphates, nous observons les variations de R5P^* , métabolite source des nucléotides. Nous interprétons une augmentation de R5P^* comme une augmentation de l'activité de la voie des pentoses phosphates.

Comme on peut le voir sur la courbe de la figure 3.2e, R5P^* est une fonction décroissante de $\nu_{\max\text{PFK}}$. Cela correspond à la littérature : quand la concentration de PFKFB3 diminue, l'activité de la voie des pentoses phosphates augmente.

- L'enzyme G6PDH est représentée par la réaction **G6PDH** dans notre modèle. Nous modifions donc $\nu_{\max\text{G6PDH}}$ pour étudier son impact sur la voie des pentoses phosphates
 Tout comme dans le point précédent, nous observons les variations de R5P* pour étudier les variations de l'activité de la voie des pentoses phosphates.
 Nous pouvons observer sur la figure 3.2f que dans notre modèle, R5P* est une fonction croissante de $\nu_{\max\text{G6PDH}}$. Cela signifie que dans notre modèle, nous avons bien une augmentation de l'activité de la voie des pentoses phosphates lorsque nous augmentons l'activité de l'enzyme G6PDH.

Phase G2

- Tout comme en G1, nous modélisons la variation de concentration des enzymes lipidiques par une variation du paramètre $\nu_{\max\text{VPALM}}$.
 Pour vérifier que l'augmentation de la concentration de ces enzymes entraîne bien dans notre modèle une augmentation de la production des lipides, nous observons le sens de variation de PALM*, le métabolite représentant les lipides.
 Comme on peut le voir sur la courbe de la figure 3.2g, la concentration de palmitate à l'équilibre augmente quand on augmente la valeur de $\nu_{\max\text{VPALM}}$. Cela correspond à nos attentes.
- Nous modélisons la transkétolase par la réaction **TKT**. Nous décidons de faire varier la valeur de $\nu_{\max\text{TKT}}$ pour étudier son impact sur la fin de la voie des pentoses phosphates.
 Pour vérifier qu'une augmentation de l'activité de TKT entraîne bien une augmentation de l'activité de la fin de la voie des pentoses phosphates, nous étudions les variations de GAP* en fonction de ce paramètre. GAP est, dans notre modèle, l'un des métabolites de sortie de la voie des pentoses phosphates.
 Nous pouvons observer sur la courbe de la figure 3.2h que GAP* augmente lorsque nous augmentons la valeur de $\nu_{\max\text{TKT}}$, ce qui correspond à ce qui est décrit dans la littérature.

Nous résumons les résultats de cette partie dans la table 3.2. Nous cherchons dans cette partie comment la cellule adapte son métabolisme au cours des phases du cycle cellulaire. Nous retrouvons dans notre modèle les principales variations enzymatiques décrites dans la littérature, exceptée celle concernant la glutaminolyse. Encouragés par ces résultats, nous intégrons ces changements enzymatiques à notre modèle métabolique. Nous décrivons notre démarche dans la partie suivante.

Littérature			Modélisation		
Phase	Variation enzymatique	Variation métabolique	Paramètre modifié	Variation attendue	Variation observée
G1	PFKFB3 ↗	glycolyse ↗	$\nu_{\max\text{PFK}}$	PYR* ↗	PYR* ↗(✓)
G1	Enzymes lipidiques ↘	production lactate ↗	$\nu_{\max\text{VPALM}}$	LAC* ↘	LAC* ↘(✓)
G1	GLS1 ↗	production lactate ↗	$\nu_{\max\text{GLS}}$	LAC* ↗	LAC* ↘(✗)
S	G6PDH ↗	PPP ↗	$\nu_{\max\text{G6PDH}}$	R5P* ↗	R5P* ↗(✓)
S	PFKFB3 ↘	PPP ↗	$\nu_{\max\text{PFK}}$	R5P* ↘	R5P* ↘(✓)
G2	TKT ↗	fin PPP ↗	$\nu_{\max\text{TKT}}$	GAP* ↗	GAP* ↗(✓)
G2	Enzymes lipidiques ↗	production lipides ↗	$\nu_{\max\text{VPALM}}$	PALM* ↗	PALM* ↗(✓)

TABLE 3.2 – Synthèse de la partie 3.1. À gauche, nous présentons les informations provenant de la littérature, c'est-à-dire les variations enzymatiques au cours des phases du cycle cellulaire et leurs effets sur le métabolisme. À droite, nous présentons nos choix de modélisation : quel paramètre nous modifions, quelle variation nous attendons et le résultat que nous obtenons.

3.2 Intégration des phases du cycle cellulaire

Nous construisons dans cette partie un système hybride modélisant les variations du métabolisme au cours du cycle cellulaire. Pour cela nous commençons par créer, dans la partie 3.2.1, une version du modèle (2.6) adaptée à chacune des phases G1, S et G2 du cycle cellulaire. Après avoir vérifié que ces modèles ont le comportement métabolique décrit par la littérature, nous les regroupons en un système hybride dans la partie 3.2.2.

3.2.1 Création d'un modèle pour chaque phase

Dans cette partie, nous voulons modifier les paramètres ν_{\max} des réactions **PFK**, **G6PDH**, **TKT** et **VPALM** afin de créer trois versions différentes de notre modèle (2.6) : une version pour représenter G1, une version pour représenter S et une pour représenter G2. Nous faisons dans cette thèse, l'hypothèse que chacune des enzymes considérées a deux modes de fonctionnement au cours des phases du cycle cellulaire : un mode où sa concentration/activité est basse et un mode où sa concentration/activité est élevée. C'est une hypothèse que l'on fait classiquement dans les modèles discrets ou hybride pour représenter un phénomène complexe.

Pour construire ces modèles, nous affectons tout d'abord deux valeurs à chacun des paramètres $\nu_{\max\text{PFK}}$, $\nu_{\max\text{G6PDH}}$, $\nu_{\max\text{TKT}}$ et $\nu_{\max\text{VPALM}}$: une valeur basse notée ν_{\max}^- et une valeur haute notée ν_{\max}^+ . Ensuite, nous assignons à chaque enzyme un mode de fonctionnement par phase et finalement, nous comparons le comportement de ces trois modèles avec les données de la littérature afin de les valider.

Dans la figure 3.3, nous définissons pour chaque paramètre les valeurs de ν_{\max}^- et ν_{\max}^+ . Pour cela, nous ajoutons aux courbes de la figure 3.2, les valeurs sélectionnées ainsi que la valeur par défaut du modèle en pointillés. Nous regroupons ces valeurs dans la table 3.3 où les valeurs par défaut sont aussi données à titre indicatif. Nous décrivons ci-dessous comment nous choisissons ces valeurs.

Réaction	ν_{\max}^-	ν_{\max}^{def}	ν_{\max}^+
PFK	$10^{-3.3}$	$1.5 \cdot 10^{-3} \simeq 10^{-2.8}$	$10^{-1.5}$
G6PDH	10^{-5}	$1.5 \cdot 10^{-5} \simeq 10^{-4.8}$	$10^{-3.5}$
TKT	10^{-7}	$2.3 \cdot 10^{-5} \simeq 10^{-4.6}$	10^{-3}
VPALM	10^{-6}	$2.95 \cdot 10^{-5} \simeq 10^{-4.5}$	10^{-2}

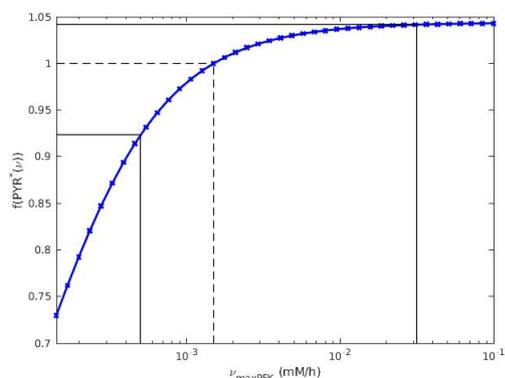
TABLE 3.3 – Les valeurs basse, par défaut et haute des paramètres.

Comme nous n'avons pas de données expérimentales et que nous travaillons principalement avec des informations qualitatives, nous souhaitons prendre pour chaque paramètre des valeurs hautes et basses très différentes pour avoir des comportements métaboliques marqués. Nous prenons, à chaque fois que c'est possible, une valeur de ν_{\max} de façon à ce que la valeur de la variable observée soit sur un plateau de la courbe, c'est-à-dire à un endroit où la concentration à l'équilibre est (presque) constante en fonction de ν_{\max} . Nous pouvons le faire pour les valeurs de :

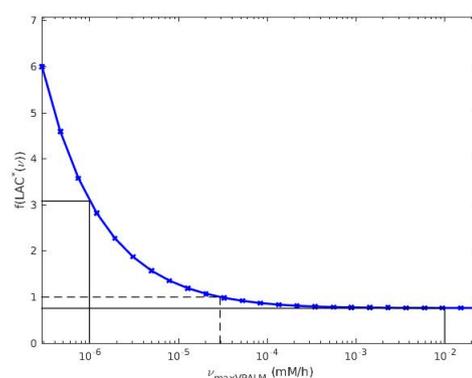
- $\nu_{\max\text{PFK}}^+$
- $\nu_{\max\text{VPALM}}^+$
- $\nu_{\max\text{TKT}}^-$
- $\nu_{\max\text{TKT}}^+$

Pour les autres valeurs, nous devons faire des compromis entre prendre une valeur extrême et avoir un fonctionnement satisfaisant du modèle.

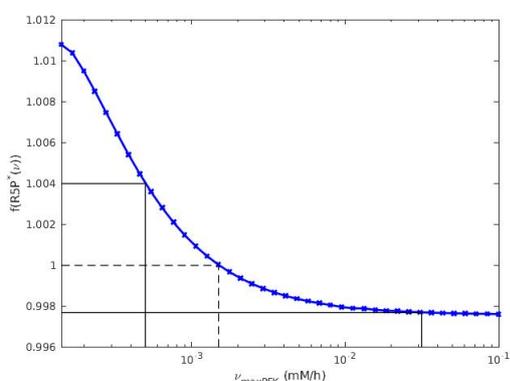
- D'après la figure 3.3e, on pourrait choisir $\nu_{\max\text{PALM}}^-$ aux alentours de $1 \cdot 10^{-8} \text{mM h}^{-1}$. Cependant, il faut prendre en compte le fait que certaines variables augmentent fortement lorsque $\nu_{\max\text{VPALM}}$ diminue. C'est par exemple le cas de LAC^* , comme on peut le voir sur la figure 3.3b. C'est aussi le cas pour GAP^* . Cette augmentation de GAP^* est due au fait que la réaction **VPALM** consomme beaucoup d'ATP. Lorsque cette réaction est limitée (parce que la vitesse maximale est basse), l'ATP s'accumule, ce qui entraîne une diminution de la concentration d'ADP. Dans le modèle, la baisse d'ADP limite la fin de la glycolyse et en particulier entraîne l'accumulation de GAP . Pour donner un



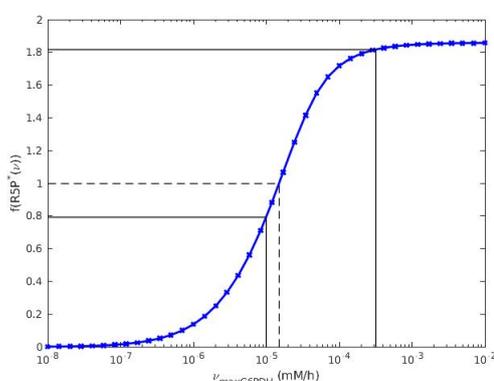
$$(a) \frac{\text{PYR}^*(\nu_{\max\text{PFK}})}{\text{PYR}^*(\nu_{\max\text{PFK}}^{\text{def}})}$$



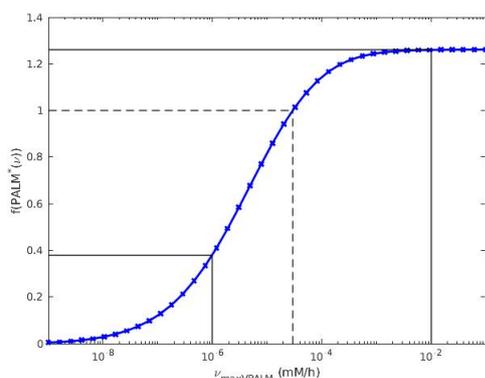
$$(b) \frac{\text{LAC}^*(\nu_{\max\text{VPALM}})}{\text{LAC}^*(\nu_{\max\text{VPALM}}^{\text{def}})}$$



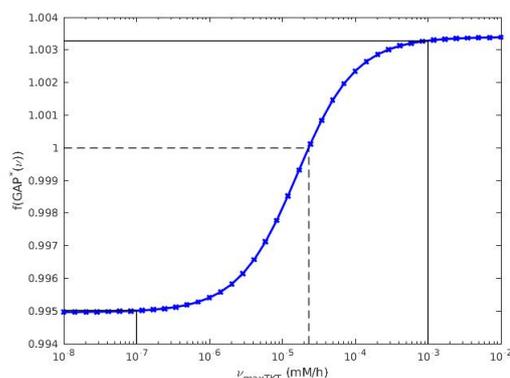
$$(c) \frac{\text{R5P}^*(\nu_{\max\text{PFK}})}{\text{R5P}^*(\nu_{\max\text{PFK}}^{\text{def}})}$$



$$(d) \frac{\text{R5P}^*(\nu_{\max\text{G6PDH}})}{\text{R5P}^*(\nu_{\max\text{G6PDH}}^{\text{def}})}$$



$$(e) \frac{\text{PALM}^*(\nu_{\max\text{VPALM}})}{\text{PALM}^*(\nu_{\max\text{VPALM}}^{\text{def}})}$$



$$(f) \frac{\text{GAP}^*(\nu_{\max\text{TKT}})}{\text{GAP}^*(\nu_{\max\text{TKT}}^{\text{def}})}$$

FIGURE 3.3 – Choix des valeurs hautes et valeurs basses des ν_{\max} sur les courbes de la figure 3.2. Les traits plein représentent les valeurs ν_{\max}^- et ν_{\max}^+ et les pointillés représentent les valeurs par défaut des paramètres.

ordre d'idée, lorsque nous posons $\nu_{\max\text{VPALM}} = 1 \cdot 10^{-7} \text{mM h}^{-1}$, $\frac{\text{GAP}^*}{\text{GAP}_{\text{def}}^*}$ et $\frac{\text{LAC}^*}{\text{LAC}_{\text{def}}^*}$ valent environ 10. En choisissant $\nu_{\max\text{VPALM}}^- = 1 \cdot 10^{-6} \text{mM h}^{-1}$, ces ratio valent environ 3, ce qui nous semble plus acceptable.

- Pour $\nu_{\max\text{G6PDH}}^-$, nous devons prendre en compte que la réaction **G6PDH** est la source principale de NADPH, nécessaire à la production de lipides et donc à la croissance de la cellule. Lorsque l'on diminue la valeur de $\nu_{\max\text{G6PDH}}$, on limite donc indirectement la croissance de la cellule. Par exemple, lorsque $\nu_{\max\text{G6PDH}} = 1 \cdot 10^{-6} \text{mM h}^{-1}$, $\frac{\text{NADPH}^*}{\text{NADPH}_{\text{def}}^*}$ vaut 0.1 et $\frac{\mu^*}{\mu_{\text{def}}^*}$ vaut 0.35. Par contre, lorsque $\nu_{\max\text{G6PDH}} = 1 \cdot 10^{-5} \text{mM h}^{-1}$, $\frac{\text{NADPH}^*}{\text{NADPH}_{\text{def}}^*}$ et $\frac{\mu^*}{\mu_{\text{def}}^*}$ valent environ 0.6.
- Pour $\nu_{\max\text{PFK}}^-$ et $\nu_{\max\text{G6PDH}}^+$ nous devons prendre en compte le fait que $\nu_{\max\text{G6PDH}}$ a un impact sur les bornes de valeurs possibles pour $\nu_{\max\text{PFK}}$. Dans la partie 3.1.2, nous avons vu que lorsque $\nu_{\max\text{PFK}} \leq 1 \cdot 10^{-4}$, le modèle ne fonctionne pas correctement. Lorsque nous augmentons la valeur de $\nu_{\max\text{G6PDH}}$, la limite basse de $\nu_{\max\text{PFK}}$ augmente aussi, *ie* le changement abrupte de PYR^* se fait pour une valeur plus élevée de $\nu_{\max\text{PFK}}$. Nous fixons donc d'abord $\nu_{\max\text{G6PDH}}^+$ à $1 \cdot 10^{-3.5} \text{mM h}^{-1}$ afin de pouvoir ensuite fixer $\nu_{\max\text{PFK}}^-$ à $1 \cdot 10^{-3.3} \text{mM h}^{-1}$, une valeur un peu plus basse que la valeur par défaut.

Nous assignons maintenant à chaque enzyme un mode de fonctionnement par phase. Nous décrivons ci-dessous ce que nous savons de [28].

Phase G1

- La concentration de PFKFB3 est élevé.
- L'activité des enzymes lipidiques est faible.

Phase S

- La concentration de PFKFB3 est faible.
- L'activité de G6PDH est élevé.

Phase G2

- L'activité des enzymes lipidiques est élevé.
- L'activité de TKT est élevé.
- L'activité de G6PDH reste élevé. Cela permet à la cellule d'utiliser la voie des pentoses phosphates pour produire du NADPH, un métabolite d'échange utilisé lors de la production de lipides.
- La concentration de PFKFB3 reste faible. D'après Duan et Pagano, cette concentration n'augmente que durant G1 [98].

Nous modélisons cela en attribuant les valeurs hautes et basses comme décrit dans la table 3.4. Le symbole + indique que nous choisissons la valeur haute tandis que le symbole – indique que nous choisissons la valeur basse. Pour certaines phases, nous n'avons pas trouvé d'informations. Pour créer des modèles, nous devons cependant prendre des décisions. Nous faisons les choix décrits ci-dessous, mis en avant par les parenthèses dans la table.

Phase G1

- Nous supposons que l'activité de G6PDH est faible afin de favoriser l'activité de la glycolyse.
- Nous supposons que l'activité de TKT est faible puisque celle de G6PDH l'est.

Phase S

- Nous supposons que l'activité de TKT est faible afin de favoriser l'utilisation de R5P pour produire des nucléotides.
- Nous supposons que l'activité des enzymes lipidiques est faible, et qu'elle n'augmente qu'en G2 pour produire des lipides.

Réaction	G1	S	G2
PFK	+	-	-
G6PDH	(-)	+	+
TKT	(-)	(-)	+
VPALM	-	(-)	+

TABLE 3.4 – Définition du mode de chaque enzyme par phase. + : fonctionnement élevé, – fonctionnement bas. Nous affichons entre parenthèses les choix que nous avons dû faire.

Nous créons nos modèles G1, S et G2 à partir des tables 3.3 et 3.4. Par exemple, pour créer le modèle G1, nous posons $\nu_{\max\text{PFK}} := \nu_{\max\text{PFK}}^+$, $\nu_{\max\text{G6PDH}} := \nu_{\max\text{G6PDH}}^-$, $\nu_{\max\text{TKT}} := \nu_{\max\text{TKT}}^-$ et $\nu_{\max\text{VPALM}} := \nu_{\max\text{VPALM}}^-$. Nous notons θ_{G1} , θ_S et θ_{G2} les vecteurs de paramètres ainsi modifiés et $F_{G1}(x(t)) := F_{\theta_{G1}}(x(t))$, $F_S(x(t)) := F_{\theta_S}(x(t))$ et $F_{G2}(x(t)) := F_{\theta_{G2}}(x(t))$, les champs de vecteurs des systèmes d'équations différentielles de chaque phase.

Afin de valider les modèles que nous venons de construire et de vérifier que les variations enzymatiques se combinent correctement dans ces modèles, nous comparons leur comportement aux comportements connus du métabolisme au cours des phases du cycle cellulaire. Nous résumons ci-dessous ces principaux comportements, détaillés dans la partie 3.1. En G1, la glycolyse est la voie la plus importante et la cellule produit beaucoup de lactate. En S, le début de la voie des pentoses phosphates est active afin de produire des nucléotides. Finalement en G2, la cellule produit des lipides et utilise la voie des pentoses phosphates pour produire du NADPH.

Pour vérifier que nos modèles ont ces comportements, nous comparons les concentrations à l'équilibre de métabolites clés. Ces concentrations sont sur la figure 3.4. Les concentrations en blanc proviennent du modèle G1, en gris du modèle S et les concentrations en noir viennent du modèle G2. Les concentrations du modèle par défaut sont données à titre indicatif. Nous décrivons ci-dessous, ce que nous obtenons pour chacun des modèles.

Phase G1

- La concentration de G6P et de pyruvate est élevée à l'équilibre, indiquant une forte activité de la glycolyse.
- Le modèle produit beaucoup de lactate.

Phase S

- La concentration de R5P à l'équilibre est plus élevée qu'en G1, indiquant que l'activité de la voie des pentoses phosphates augmente.

Phase G2

- La concentration de R5P est la plus forte, indiquant une forte activité de la voie des pentoses phosphates.
- Le modèle produit beaucoup de lipides.

Nous retrouvons ainsi dans nos modèles les principales tendances du métabolisme au cours des différentes phases du cycle cellulaire. Nous avons donc maintenant un modèle représentatif du métabolisme de la phase G1, un de la phase S et un de la phase G2. Nous regroupons ces trois modèles en un automate hybride que nous présentons dans la partie suivante.

3.2.2 Assemblage en un système hybride

Dans cette partie, nous assemblons les trois modèles G1, S et G2 en un système hybride modélisant l'évolution du métabolisme au cours des phases du cycle cellulaire. Nous schématisons ce système dans la figure 3.5. De manière générale, un système hybride est défini par différentes caractéristiques [100], listées ci-dessous.

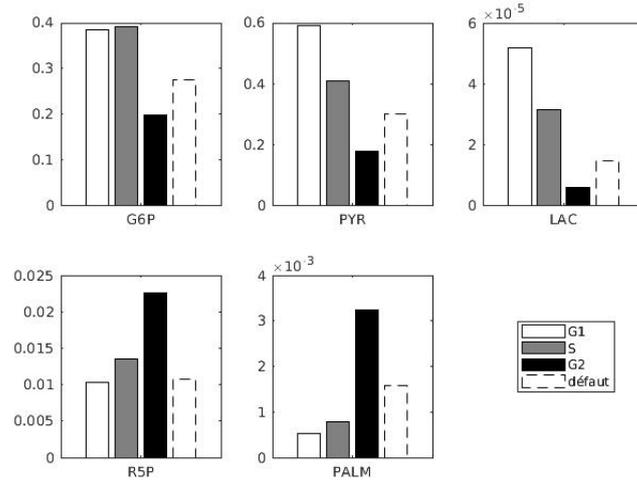


FIGURE 3.4 – Comparaison des concentrations des métabolites clés à l'équilibre pour les trois modèles. Blanc : G1. Gris : S. Noir : G2. La barre en tiret correspond au modèle par défaut.

- Un ensemble fini d'états \mathcal{E} . Dans notre cas, $\mathcal{E} := \{G1, S, G2\}$, les trois phases du cycle cellulaire.
- Un état initial $e_0 \in \mathcal{E}$ et un ensemble d'états finaux $\mathcal{F} \subset \mathcal{E}$. Dans notre cas, $e_0 := G1$ et $\mathcal{F} = \{G2\}$.
- Un ensemble de transitions $\delta : \mathcal{E} \rightarrow \mathcal{E}$, ici simplement réduit à la succession des phases : $G1 \rightarrow S$ et $S \rightarrow G2$.
- À chaque état $e \in \mathcal{E}$ est associé un vecteur de variables continues $X_e(t)$. Dans notre cas, il s'agit du même vecteur $x(t) \in \mathbb{R}_+^{27}$ défini dans le chapitre 2 par l'équation (2.3).
- À chaque état $e \in \mathcal{E}$ est associé un champs de vecteurs $F_e(x(t))$. Dans notre cas, il s'agit des champs de vecteurs définis plus tôt : F_{G1} , F_S et F_{G2} .

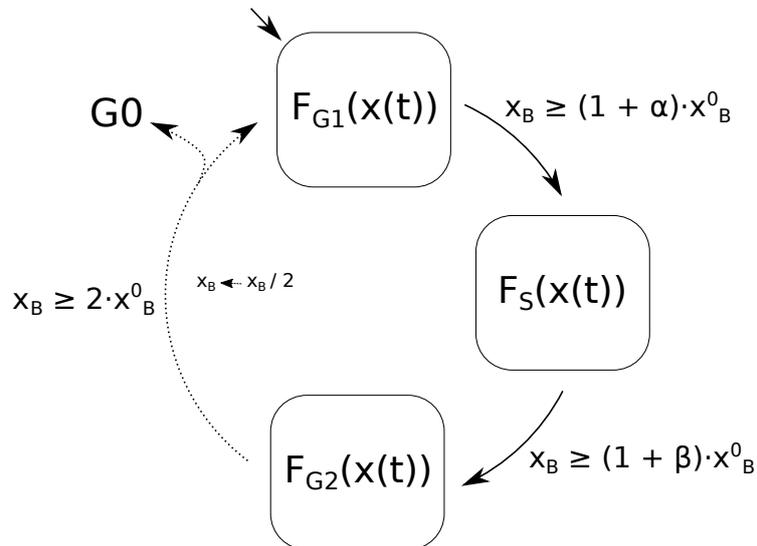


FIGURE 3.5 – Schéma du système hybride modélisant le métabolisme au cours du cycle cellulaire.

Il est à noter que la succession des phases de notre automate hybride est une simplification de la réalité biologique. Dans la réalité, une cellule peut s'arrêter à différents endroits du cycle cellulaire

(principalement aux points de contrôle présentés dans le chapitre 1). Dans notre modèle, nous considérons, au contraire, que le cycle cellulaire doit arriver à son terme.

Nous revenons maintenant sur les transitions δ . Dans un système hybride, la transition $e_1 \rightarrow e_2$ détermine comment le système passe de l'état e_1 à l'état e_2 . Tout d'abord, une condition doit être vérifiée pour que le système passe de e_1 à e_2 . Il s'agit typiquement d'une variable qui doit atteindre ou dépasser un seuil. Finalement, il faut aussi spécifier comment est réinitialisé le vecteur $x(t)$ dans l'état e_2 , c'est-à-dire spécifier quelle est la nouvelle condition initiale du système différentiel dans l'état e_2 . Dans notre cas, nous considérons une réinitialisation par continuité : notons τ , l'instant où la condition de transition est vérifiée et où le système passe de e_1 à e_2 . Notons $x(\tau^-)$ l'état du système continu dans e_1 au moment de la transition et $x(\tau^+)$ la condition initiale du système continu dans l'état e_2 . Nous posons alors $x(\tau^+) := x(\tau^-)$.

Dans ce modèle, nous décidons d'utiliser la biomasse pour suivre l'avancée du cycle cellulaire et définir les transitions de notre système hybride. En particulier, chaque changement de phase est conditionné par la variable $x_B(t)$. Nous posons $x_B^0 := x_B(0)$ la biomasse initiale, t_1 l'instant où le système passe de G1 à S et t_2 l'instant où le système passe de S à G2. t_1 et t_2 sont définis par :

$$\begin{aligned} x_B(t_1) &\geq (1 + \alpha)x_B^0 \\ x_B(t_2) &\geq (1 + \beta)x_B^0 \end{aligned} \tag{3.1}$$

où α et β sont deux paramètres vérifiant $0 < \alpha < \beta < 1$. Ils représentent la fraction de biomasse que la cellule doit produire pour entrer dans la phase suivante.

Lorsque l'on veut aller plus loin et modéliser l'enchaînement de plusieurs cycles cellulaires, on ajoute une transition $G2 \rightarrow G1$ qui se déroule au temps t_3 défini par :

$$- x_B(t_3) = 2 \cdot x_B^0.$$

Ainsi, lorsque l'on passe de G2 à G1 et que l'on réinitie un nouveau cycle, nous modélisons une mitose instantanée en posant la nouvelle condition initiale de G1 :

$$x(t_3^+) = \begin{pmatrix} x_I(t_3^-) \\ x_{II}(t_3^-) \\ \frac{x_B(t_3^-)}{2} \end{pmatrix}.$$

Cela revient à supposer que lors de la division cellulaire, la cellule-mère se divise en deux cellules-filles de volume identique. Lors de la mitose, nous supposons que les métabolites se répartissent de la même façon dans les deux cellules-filles. Les quantités de matière sont donc divisées par 2. Comme le volume est aussi divisé par 2, les concentrations restent donc inchangées.

Choisir la biomasse comme indicateur de l'avancée du cycle cellulaire peut sembler être une simplification drastique. En effet, dans la réalité, le déroulement du cycle cellulaire est contrôlé par un réseau de régulation complexe [74, 76, 101]. Nous discutons maintenant les raisons de ce choix. Le but premier de ce réseau est simplement d'assurer à la cellule d'avoir fini les actions propres à la phase en cours et d'être prête pour la phase suivante. Si on revient au but principal de chaque phase (voir table 3.1), la cellule doit, par exemple, s'assurer d'avoir dupliqué son ADN pour passer de la phase S à la phase G2. Pour dupliquer son ADN, la cellule a besoin de nucléotides, besoin justement modélisé dans notre modèle par la présence de R5P dans la réaction **Growth**. Le principal besoin de la cellule dans la phase G2 est la production de lipides, représenté par PALM, qui est aussi un des substrats de **Growth**. Dans notre modèle, la biomasse, qui représente la taille de la cellule, augmente justement quand la cellule produit les macromolécules et l'énergie dont elle a besoin pour avancer dans le cycle cellulaire. Prendre la biomasse comme indicateur réduit alors le réseau de contrôle de l'avancée du cycle cellulaire à son but principal : s'assurer que la cellule est prête pour passer à la phase suivante.

Nous revenons maintenant sur les liens entre le cycle cellulaire et le métabolisme et en particulier sur les effets du métabolisme sur le cycle cellulaire. En effet, les systèmes de régulation contrôlant le déroulement du cycle cellulaire dépendent, entre autres, du métabolisme [83, 99]. Par exemple, au cours de la phase G1, la concentration de l'enzyme PFKFB3 augmente. Une partie de ces enzymes reste dans le cytoplasme et entraîne une augmentation de l'activité de la glycolyse comme nous l'avons vu dans

la partie 3.1. Une autre partie des enzymes PFKFB3 entre dans le noyau de la cellule et produit aussi du F2,6BP. Dans le noyau, F2,6BP permet l'augmentation de Cdk1, une kinase dépendante des cyclines et la dégradation de p27, une protéine inhibitrice de Cdk. Par ce biais, l'enzyme PFKFB3, enzyme du métabolisme, agit directement sur la régulation du cycle cellulaire et permet à la cellule de passer de la phase G1 à la phase S [83]. Cette action directe du métabolisme sur le cycle cellulaire n'est certainement pas la seule. En faisant l'inventaire de telles actions, nous nous sommes cependant rendus compte que nous manquons d'informations précises sur les autres transitions. Utiliser la biomasse comme un indicateur global de l'avancée du cycle cellulaire permet de pallier ce manque d'information.

Finalement, il est à noter que différentes sources indiquent que la biomasse joue un rôle important dans l'évolution du cycle cellulaire [102]. Dans un tissu cellulaire, l'homogénéité de la taille des cellules est un facteur important de bonne santé du tissu. Dans leur article, Ginzberg *et al.* ont étudié comment le cycle cellulaire et la croissance des cellules animales sont coordonnées. Ils ont trouvé que la taille de la cellule joue un rôle important dans le cycle cellulaire. En particulier, ils ont montré que pour passer de la phase G1 à la phase S, la cellule devait atteindre une certaine taille. C'est une hypothèse que l'on retrouve dans différents types de cellules, comme chez les levures bourgeonnantes, bien qu'elle soit remise en question par différents travaux : la taille de la cellule à l'entrée de la phase S pourrait également être une conséquence du taux de croissance plutôt qu'une condition à respecter [103, 104]. Qu'elle soit cause ou conséquence, la taille de la cellule est de toutes façons un marqueur de la transition de la phase G1 à la phase S.

3.3 Analyse du système hybride

Dans cette partie, nous analysons notre système hybride, créé dans la partie précédente. Nous étudions tout d'abord le comportement asymptotique général de notre système. Nous étudions ensuite son comportement asymptotique phase par phase et nous le comparons aux connaissances biologiques afin de le valider. Finalement, nous discutons de la principale limite de notre système et nous proposons différentes façons d'aborder ce problème.

Dans toutes les simulations de cette partie nous posons $GLC_{ex} := 6.55 \text{ mM}$, $O_2 := 5.1 \text{ mM}$ et $GLN_{ex} := 0.724 \text{ mM}$ ainsi que $\alpha := 0.45$ et $\beta := 0.8$. Nous revenons dans la partie 3.3.3, sur ces derniers paramètres.

3.3.1 Simulation et comportement asymptotique du système hybride

Nous simulons tout d'abord un cycle cellulaire à partir de la concentration initiale présentée dans le chapitre 2 et en annexe A.7. Le système arrive à doubler sa biomasse en environ 4500 heures à partir de cette condition.

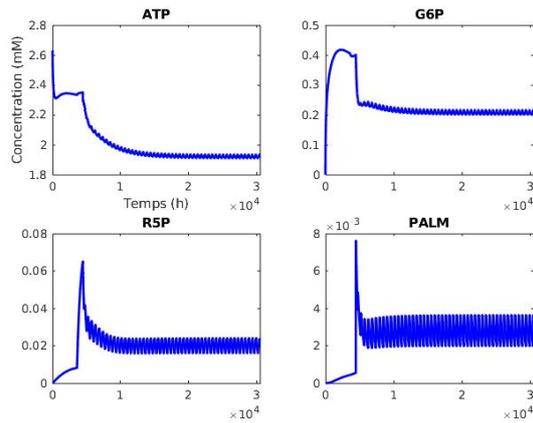
Nous décidons ensuite de modéliser l'enchaînement de plusieurs cycles. Nous simulons l'enchaînement de 50 cycles et nous regroupons sur la figure 3.6a l'évolution de la concentration des quatre métabolites impliqués dans la croissance cellulaire le long de ces 50 cycles. Comme nous pouvons le voir sur cette figure, cette simulation semble avoir deux régimes différents. Après un régime transitoire d'une douzaine de cycles, la simulation semble se stabiliser. Bien que les variables oscillent, elles se stabilisent autour de certaines valeurs : l'ATP semble se stabiliser autour de 2 mM, G6P autour de 0.2 mM, R5P oscille entre 0.02 mM et 0.03 mM et PALM semble se stabiliser autour de $3 \cdot 10^{-3} \text{ mM}$. Notons que le modèle du chapitre 2 se stabilise à des valeurs du même ordre dans les mêmes conditions (ATP aux alentours de 2.2 mM, G6P environ 0.3 mM, R5P 0.01 mM et PALM $2 \cdot 10^{-3} \text{ mM}$).

Nous avons observé cette convergence numérique dans toutes les simulations étudiées. Il semble donc que notre système converge numériquement vers un régime stationnaire oscillant, aussi appelé *cycle limite*. Un cycle limite est une trajectoire caractérisée par l'oscillation des différentes variables du modèle sans changement de période et d'amplitude. Plus précisément, une trajectoire est un cycle limite quand il existe $\tau > 0$ tel que $\forall t \in \mathbb{R}, x(t + \tau) = x(t)$.

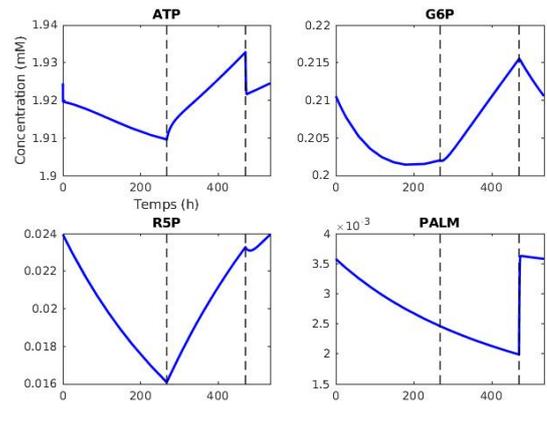
Pour confirmer que notre simulation tend vers un cycle limite, nous calculons pour chaque cycle l'écart :

$$\Delta_i := \left\| \begin{pmatrix} x_1(t_{d,i}) \\ x_{11}(t_{d,i}) \end{pmatrix} - \begin{pmatrix} x_1(t_{f,i}) \\ x_{11}(t_{f,i}) \end{pmatrix} \right\|_2, \quad (3.2)$$

où $t_{d,i}$ et $t_{f,i}$ sont le début et la fin du i^e cycle. Notons que par construction $t_{d,(i+1)} := t_{f,i}$. Dans la suite de cette thèse, nous considérons que l'écart (3.2) est un bon indicateur de la convergence d'une



(a) 50 cycles cellulaires

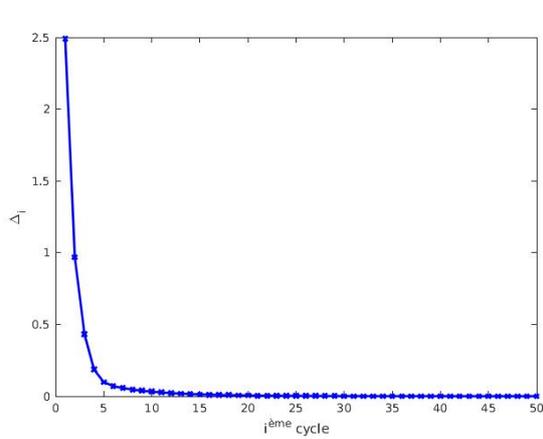


(b) Approximation du cycle limite

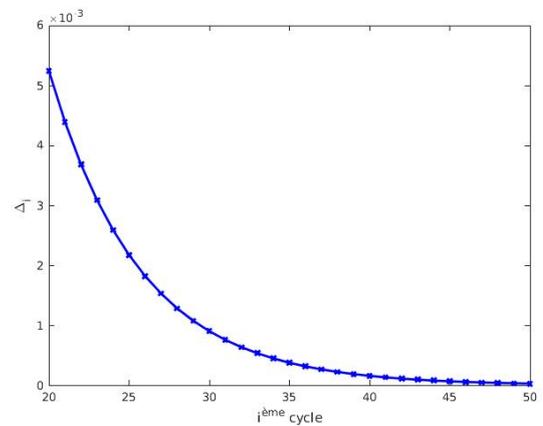
FIGURE 3.6 – Concentration des métabolites de la biomasse le long de cycles cellulaires.

simulation vers un cycle limite : plus il s'approche de 0, plus le cycle courant s'approche du cycle limite. Nous traçons sur la figure 3.7 l'évolution de Δ_i au cours de la simulation présentée plus tôt. Comme on peut le voir, cet écart tend vers 0, ce qui nous confirme que, numériquement, notre système hybride converge vers un cycle limite.

Dans la suite de cette thèse, nous approximations le cycle limite d'une simulation par le premier cycle tel que $\Delta_i \leq 1 \cdot 10^{-5}$. Sur la figure 3.6b nous présentons l'approximation du cycle limite de notre simulation. Sur ces courbes, nous mettons en avant les transitions de G1 à S et de S à G2 par des traits verticaux. Sur ces courbes, la fin du cycle correspond avec la fin de la courbe. Dans la suite de ce chapitre, nous analysons le comportement de notre modèle en étudiant l'évolution des variables le long de cette approximation que nous appellerons cycle limite par abus de langage.



(a) Évolution de Δ_i le long de 50 cycles cellulaires.



(b) Évolution de Δ_i le long des 30 derniers cycles cellulaires.

FIGURE 3.7 – Confirmation de la convergence vers un cycle limite.

Le fait que notre système hybride converge vers un cycle limite est particulièrement intéressant pour étudier la dynamique de ce système : nous pouvons en effet comparer la dynamique de notre modèle avec la littérature en étudiant seulement la dynamique du cycle limite. C'est ce que nous faisons dans la partie suivante.

3.3.2 Analyse par phase

Dans cette partie, nous étudions le comportement par phase de notre système hybride et nous le comparons à nos connaissances. Nous affichons sur la figure 3.8 l'évolution des variables de notre système et de certains flux au cours du cycle limite.

Tout d'abord, nous pouvons remarquer sur la figure 3.8c que la biomasse double en un peu plus de 500 heures. Nous pouvons aussi remarquer sur cette courbe, que la croissance semble être plus rapide durant la phase G2. Cela est confirmé par la courbe $\mu(t)$ sur la même figure, qui a une valeur plus grande en G2. On peut remarquer que $\mu(t)$ a les mêmes variations que $PALM(t)$. Il s'avère que dans notre modèle, le palmitate est, dans la plupart des cas étudiés, le substrat limitant. Cela explique le fait que l'on retrouve les mêmes variations dans ces deux courbes. Nous revenons plus en détail sur le palmitate limitant dans la partie 3.3.3.

Nous étudions maintenant le comportement des différentes voies métaboliques au cours du cycle cellulaire. Nous décrivons dans un premier temps la dynamique de chaque voie métabolique au cours des différentes phases. Nous comparons ensuite ces dynamiques au comportement attendu décrit dans la littérature.

Glycolyse : Nous traçons l'évolution des concentrations des métabolites de la glycolyse en bleu sur la figure 3.8a. Comme nous pouvons le voir sur ces courbes, il semble qu'en G1, la glycolyse soit fortement active. Différents points nous mènent à cette conclusion. Tout d'abord, nous observons au début de cette phase une (forte) baisse des concentrations des métabolites se trouvant au début de la glycolyse (en particulier avant la réaction **PFK**) : G6P et F6P. La concentration de ces métabolites diminue car ces métabolites sont consommés par la glycolyse, indiquant que cette voie est active. Ensuite, nous pouvons noter qu'à la fin de la phase G1, la concentration des métabolites se trouvant à la fin de cette voie, PEP et PYR, augmente, indiquant aussi une forte activité de la glycolyse. Finalement, nous confirmons cela en observant une baisse de la concentration d'ATP durant cette phase (voir plus bas).

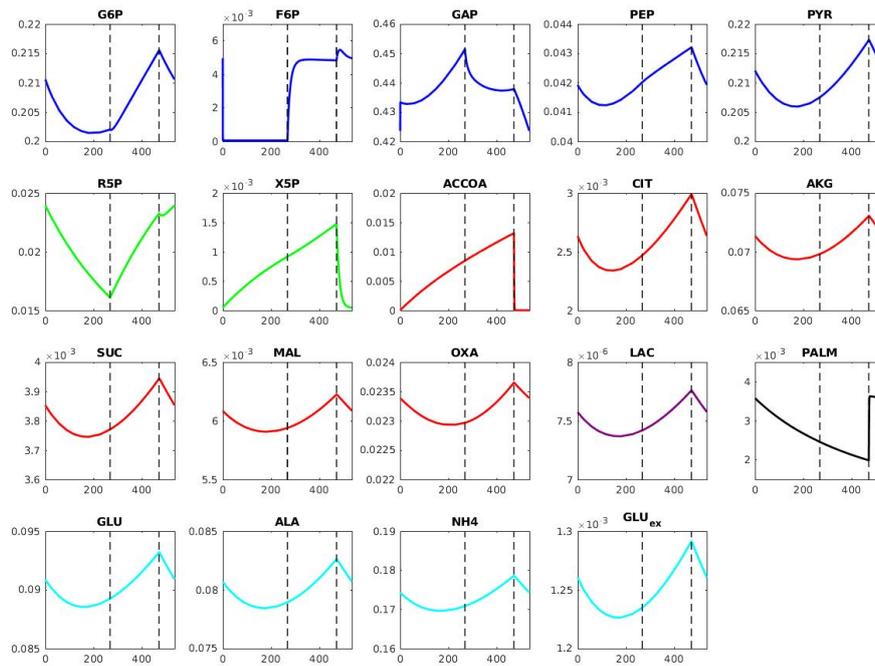
Durant la phase S, il semble que l'activité de la glycolyse diminue dans notre modèle : G6P et F6P ne sont plus autant consommés et leur concentration augmente. Nous observons aussi une hausse de la concentration d'ATP dans cette phase. La concentration de PEP et PYR continue d'augmenter dans cette phase, car comme nous l'indiquons ci-dessous, l'activité de la voie des pentoses phosphates augmente. Or la sortie de cette voie est connectée avec la fin de la glycolyse, ce qui explique l'augmentation de la concentration de PEP et PYR malgré la baisse d'activité de la glycolyse.

Voies des pentoses phosphates : Nous traçons l'évolution des concentrations des métabolites de cette voie en vert sur la figure 3.8a. Pour analyser la dynamique de cette voie, nous utilisons $R5P(t)$ comme un marqueur de l'activité du début de la voie et $X5P(t)$ comme marqueur de l'activité de la fin de la voie. Comme nous pouvons le voir sur ces courbes, il semble que l'activité de cette voie augmente durant la phase S. En particulier, nous notons une augmentation de la concentration de R5P qui indique que G6P est maintenant principalement redirigé vers la voie des pentoses phosphates. Durant cette phase, la fin de cette voie est cependant moins active que le début : la concentration de X5P augmente car ce métabolite est plus produit que consommé.

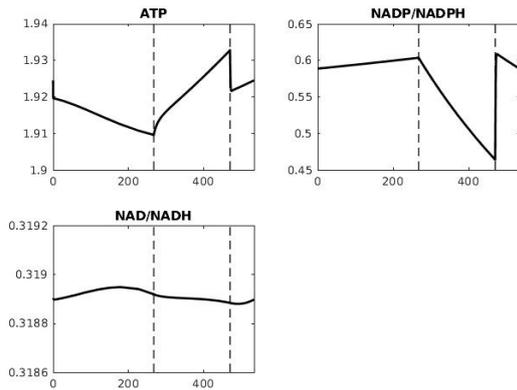
Durant la phase G2, la concentration de R5P continue d'augmenter : le début de la voie semble toujours fortement actif. Nous pouvons aussi observer que, contrairement à la phase S, la concentration de X5P diminue durant cette phase. Cela indique que ce métabolite est maintenant fortement consommé par la fin de la voie des pentoses phosphates, et donc que cette partie de la voie est fortement active en G2.

Production de lipides : Comme nous pouvons le voir sur la courbe de $PALM(t)$, durant la phase G1 et S, notre système produit peu de lipides : la concentration de palmitate diminue. Cependant, durant la phase G2, la concentration de ce métabolite augmente fortement, indiquant une grande activité de la voie de production de lipides.

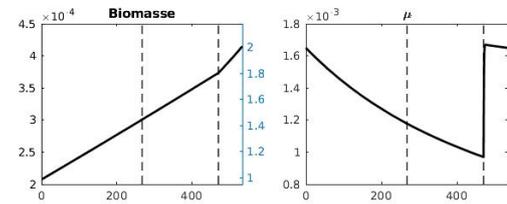
Overflow : Nous représentons $LAC(t)$ en violet sur la figure 3.8a. Comme nous pouvons le voir sur cette figure, la concentration de lactate change peu au cours du cycle cellulaire. Nous considérons que dans notre modèle la production de lactate est presque constante au cours du cycle cellulaire.



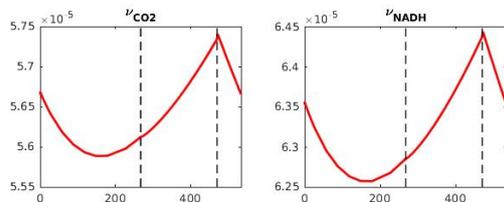
(a) Évolution de x_I .



(b) Évolution de x_{II} .



(c) Évolution de x_B (gauche) et μ (droite).



(d) Évolution des flux de production du cycle de Krebs.

Cycle de Krebs : Nous déduisons des courbes des métabolites du cycle de Krebs (en rouge) que, dans notre modèle, l'activité de cette voie évolue peu au cours du cycle cellulaire et que cette activité est faible. En effet, comme nous pouvons le voir sur cette figure, la plupart des concentrations des métabolites du cycle de Krebs varient peu au cours du cycle cellulaire. Nous confirmons cette faible variation en étudiant l'évolution des flux de production de CO_2 et de NADH par le cycle de Krebs sur la figure 3.8d, flux définis dans le chapitre 2.

Nous déduisons la faible activité du cycle de Krebs de $\text{ACoA}(t)$. En effet, nous pouvons remarquer que durant les phases G1 et S, ce métabolite s'accumule, indiquant qu'il est peu consommé. Durant la phase G2, la concentration d'ACoA diminue fortement car il est utilisé dans la production de lipides.

Glutaminolyse : Tout comme pour le cycle de Krebs, nous déduisons des courbes des métabolites de la glutaminolyse (en bleu clair sur la figure) que l'activité de cette voie varie peu au cours du cycle cellulaire dans notre modèle.

Nous revenons maintenant aux dynamiques décrites dans la littérature et résumées dans la table 3.1. Comme nous pouvons le remarquer sur les courbes et dans l'analyse ci-dessus, nous retrouvons dans notre système hybride les grandes tendances du métabolisme au cours des phases du cycle cellulaire. En effet, nous retrouvons une forte activité de la glycolyse en G1, une redirection du flux de carbone vers la voie des pentoses phosphates ainsi qu'une forte activité du début de cette voie en S et une forte activité de la voie des pentoses phosphates et de la production de lipides en G2. Notons que nous ne retrouvons pas cependant la forte activité de la glutaminolyse en G1, ce qui était attendu puisque nous n'avons pas intégré cet effet dans le système hybride, et que contrairement à nos attentes, nous n'observons pas de forte production de lactate durant cette phase.

Nous nous intéressons maintenant à l'évolution des métabolites d'échange, les marqueurs des voies métaboliques, au cours du cycle cellulaire que nous traçons sur la figure 3.8b. Nous pouvons remarquer que nous retrouvons les grandes tendances du métabolisme au cours du cycle cellulaire décrites ci-dessus dans l'évolution de la concentration d'ATP et du ratio NADP/NADPH. En effet, ATP est lié à la glycolyse et à la voie de production de lipides, et NADP/NADPH à la voie des pentoses phosphates et à la production de lipides.

Durant la phase G1, la concentration d'ATP diminue, principalement parce que sa consommation par la glycolyse augmente durant cette phase. Dans la phase suivante, la glycolyse est moins active, l'ATP est donc moins consommé et sa concentration augmente. Finalement, nous pouvons observer une chute de la concentration d'ATP à l'entrée de la phase G2. Cela est dû à la hausse de l'activité de la production de lipides qui consomme aussi de l'ATP. Dans la suite de cette phase, la concentration d'ATP continue d'augmenter car la glycolyse est toujours peu active.

Sur la courbe de NADP/NADPH au cours du temps, nous pouvons remarquer que ce ratio diminue fortement durant la phase S. Cela s'explique par la hausse d'activité de la voie des pentoses phosphates dans cette phase : la réaction **G6PDH** transforme maintenant beaucoup de NADP en NADPH. Nous observons ensuite une hausse rapide de ce ratio à l'entrée dans la phase G2 : la voie de production des lipides est active en G2 et transforme beaucoup de NADPH en NADP. Durant la phase G2, la valeur de NADP/NADPH diminue car la voie des pentoses phosphates est plus active que celle de production des lipides.

Finalement, nous pouvons observer que le ratio NAD/NADH varie très peu au cours du cycle cellulaire dans notre modèle. Nous pouvons noter une légère augmentation de cette valeur durant la phase G1, ainsi qu'une baisse en S et une augmentation en G2.

Pour aller plus loin, nous comparons aussi notre simulation aux données expérimentales présentées par da Veiga Moreira *et al.* [36]. Dans cet article, les auteurs présentent les variations d'ATP et des ratio NAD/NADH et NADP/NADPH au cours du cycle cellulaire chez des cellules saines et des cellules cancéreuses. Nous nous intéressons ici aux variations chez les cellules saines. Nous pouvons remarquer que nous retrouvons qualitativement dans notre simulation différentes variations présentes dans ces données expérimentales :

- une baisse d'ATP en G1 suivi d'une hausse durant la phase S.
- le ratio NADP/NADPH augmente légèrement durant la phase G1 et diminue durant la phase S.

Nous pouvons aussi noter que, expérimentalement le ratio NADP/NADPH varie entre 0.2 et 0.4 et que dans notre simulation, il varie entre 0.4 et 0.6, des valeurs du même ordre.

On peut aussi remarquer de grandes différences avec les données expérimentales. Tout d'abord, bien que l'on observe des variations qualitativement similaires entre le ratio NAD/NADH de notre simulation et le ratio expérimental (augmentation en G1, diminution en S et augmentation à la fin de G2), nous pouvons surtout noter que dans notre modèle, ce ratio est quasiment constant alors que le ratio expérimental varie entre 5 et 10. On note aussi la grande différence de valeur puisque le ratio de notre modèle varie très peu autour de 0.319. Nous ne pouvons pas comparer les valeurs pour l'ATP car les concentrations du modèle et les concentrations expérimentales n'ont pas la même unité.

Finalement, voici des points que nous ne savons pas trancher. Tout d'abord, bien que la concentration d'ATP diminue brutalement au changement de phase entre S et G2, sa concentration augmente principalement durant la phase G2 alors que d'après [36], on s'attend à ce que l'ATP diminue. Il en va de même pour le ratio NADP/NADPH. Il augmente au début de la phase G2, mais diminue ensuite alors que expérimentalement, ce ratio augmente en G2.

Ainsi, dans cette partie, nous retrouvons les grandes tendances du métabolisme au cours des différentes phases du cycle cellulaire ainsi que certaines variations qualitatives expérimentales présentées par da Veiga Moreira *et al.* dans [36]. Ces bons résultats nous encouragent dans l'utilisation des modèles hybrides pour étudier l'évolution du métabolisme au cours du cycle cellulaire.

3.3.3 Analyse de la durée du cycle cellulaire

Dans cette partie, nous abordons le sujet de la durée du cycle cellulaire. Dans la simulation décrite précédemment, la biomasse double de volume en plus de 500 heures. Toutes les autres simulations étudiées ont des durées de cycle similaires. Or la durée du cycle cellulaire de cellules mammifères est de l'ordre de la vingtaine d'heures, classiquement 24 pour les cellules humaines (avec une certaine variabilité selon le type cellulaire). La durée du cycle cellulaire est donc une limite importante de notre modèle. Dans cette partie, nous étudions plus en détails deux zones du modèle : les paramètres du changement de phases (α et β) et le taux de croissance $\mu(t)$.

Effet des paramètres α et β

Nous proposons tout d'abord d'étudier l'impact des paramètres α et β sur la durée du cycle cellulaire de notre modèle. Ces deux paramètres sont propres à notre modèle hybride et définissent les changements de phase (voir inéquation (3.1)). Nous comparons sur la figure 3.9 l'évolution de variables clés pour différentes valeurs de couple (α, β) . Les courbes de la figure 3.9a sont les courbes de la simulation décrite dans la partie 3.3.2.

Notons tout d'abord que les paramètres α et β n'influencent pas le comportement qualitatif du modèle et que nous retrouvons bien les tendances décrites dans la partie précédente. Nous pouvons observer sur cette figure que la valeur des paramètres α et β influencent par contre la durée de chaque phase du modèle. Nous pouvons par exemple observer que plus α est petit, plus la phase G1 sera courte. Nous regroupons dans la table 3.5 pour chaque couple (α, β) , la durée relative de la phase G1 dans le cycle (que l'on peut associer au paramètre α) et celle des phases G1 et S (que l'on peut associer à β). Comme nous le voyons dans cette table, nous obtenons des proportions très proches des valeurs des paramètres α et β . Ainsi, nous pouvons ajuster ces paramètres aux données biologiques et contrôler la durée relative du cycle cellulaire que l'on simule. D'après [105], dans le cycle cellulaire humain, la phase G1 représente environ 45% du cycle cellulaire, la phase S 35% tandis que les phases G2 et M ensemble comptent pour environ 20%. C'est pour cela que nous utilisons les valeurs $\alpha = 0.45$ et $\beta = 0.8 = 0.45 + 0.35$.

Modification du taux de croissance

Le cycle cellulaire que nous modélisons est trop long. Afin qu'il soit plus court, il faudrait que la biomasse double plus vite. Dans notre modèle, la croissance de la biomasse est déterminée par son taux

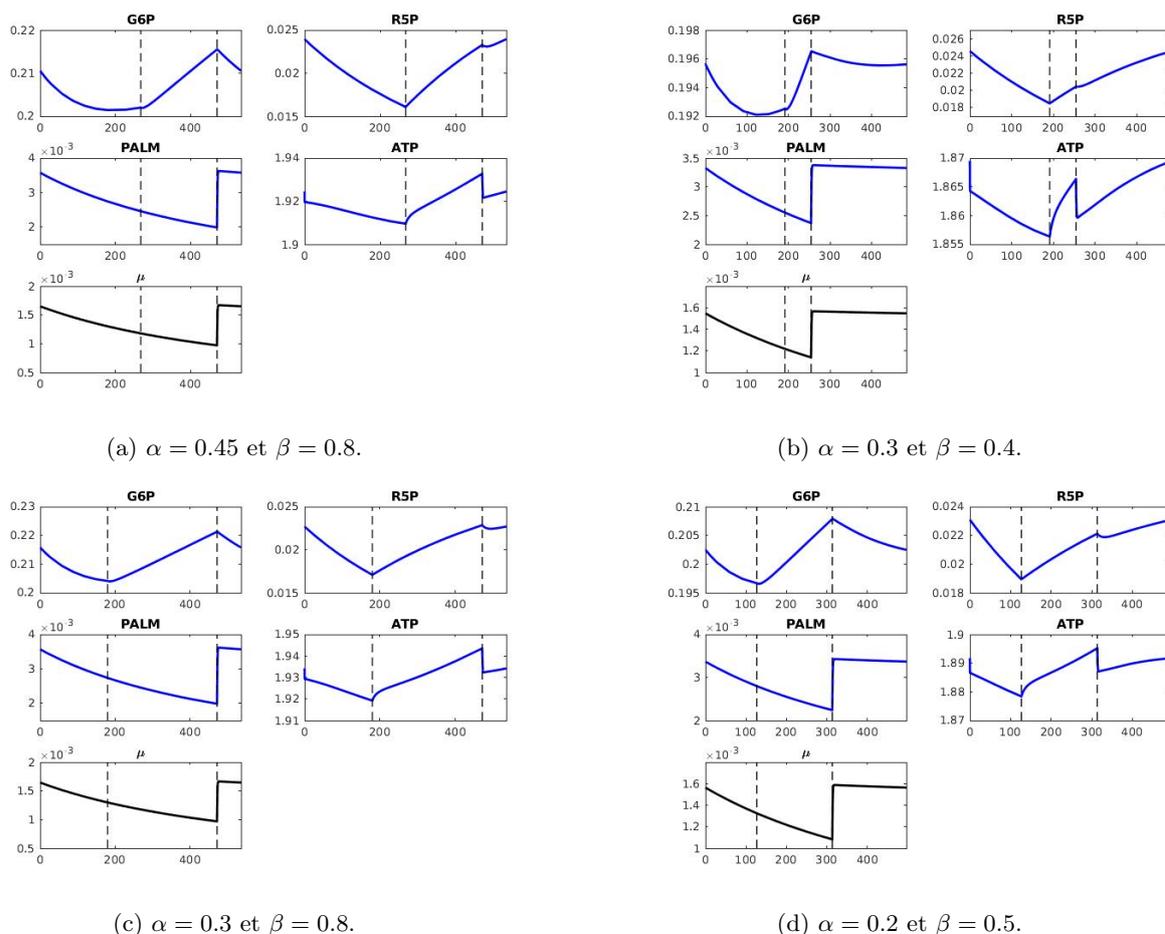


FIGURE 3.9 – Évolution de variables clés le long de cycles limites pour différentes valeurs de (α, β) .

(α, β)	Durée relative de G1	Durée relative de G1 et S
(0.45, 0.8)	50%	88%
(0.3, 0.4)	40%	53%
(0.3, 0.8)	34%	88%
(0.2, 0.5)	26%	63%

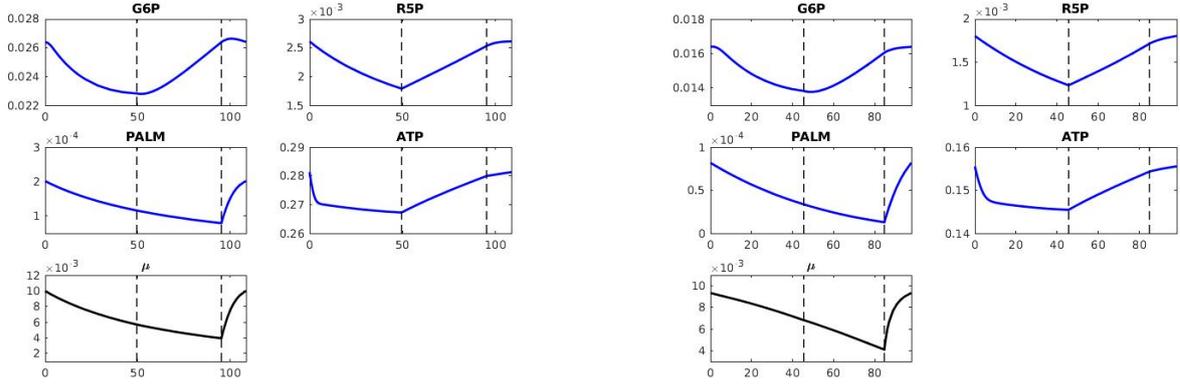
TABLE 3.5 – Comparaison entre les paramètres α et β et les durées relatives des phases.

de croissance $\mu(x(t))$ défini par

$$\mu(x(t)) = \overbrace{\mu_{\max}}^{\text{Taux maximal}} \underbrace{\frac{G6P(t)}{K_{m1} + G6P(t)} \frac{R5P(t)}{K_{m2} + R5P(t)} \frac{PALM(t)}{K_{m3} + PALM(t)} \frac{ATP(t)}{K_{m4} + ATP(t)}}_{\text{Demandes en métabolites}}$$

Afin d'accélérer la croissance de la biomasse, nous pouvons par exemple modifier la valeur de μ_{\max} . La valeur initiale de μ_{\max} est $1.35 \cdot 10^{-2} \text{h}^{-1}$. Dans la figure 3.10a, nous multiplions ce paramètre par 100 et nous obtenons un cycle limite durant 108 heures. Notons que si nous multiplions μ_{\max} par 100, cela n'augmente $\mu(t)$ que d'un facteur 4. Il semble que notre réseau métabolique ne soit pas capable de soutenir une croissance aussi forte.

Pour accélérer la croissance de la biomasse, nous pouvons aussi nous intéresser à la partie de $\mu(x(t))$ qui dépend de $x(t)$, la partie des demandes en métabolites. Lorsque nous étudions ces facteurs au cours



(a) $\mu_{\max} = 1.35 \text{ h}^{-1}$

(b) $K_{m_Growth_PALM} = 2.55 \cdot 10^{-5} \text{ mM}$

FIGURE 3.10 – Évolution de variables clés du système en faisant varier les paramètres μ_{\max} et $K_{m_Growth_PALM}$.

du temps, il s'avère que $\frac{G6P(t)}{K_{m1}+G6P(t)}$, $\frac{R5P(t)}{K_{m2}+R5P(t)}$ et $\frac{ATP(t)}{K_{m4}+ATP(t)}$ sont proches de 1, ce qui signifie que la demande en ces métabolite est presque saturée. $\frac{PALM(t)}{K_{m3}+PALM(t)}$ est au contraire loin de 1, ce qui signifie que la demande en palmitate n'est pas saturée et que le palmitate est limitant dans la croissance de la biomasse. Nous décidons ici de saturer artificiellement la demande en palmitate en diminuant la valeur du paramètre $K_{m_Growth_PALM}$. Initialement à $2.55 \cdot 10^{-2} \text{ mM}$, nous divisons cette valeur par 1000 et nous affichons les courbes de cette simulation dans la figure 3.10b. Nous obtenons ainsi un cycle cellulaire qui dure un peu moins de 100 heures. Nous pouvons noter que nous obtenons pour $\mu(x(t))$ des valeurs similaires, que l'on multiplie μ_{\max} par 100 ou bien que l'on divise $K_{m_Growth_PALM}$ par 1000.

Ainsi, en saturant artificiellement la demande en palmitate, ou bien en augmentant la valeur du taux de croissance maximal, nous arrivons à accélérer la production de biomasse et donc à diminuer le temps du cycle cellulaire. Ainsi, il pourrait être intéressant de revenir sur la gestion de la croissance de la biomasse, et en particulier de nous pencher un peu plus sur la production de lipides afin de comprendre pourquoi la croissance de la biomasse est plutôt lente dans notre modèle.

Dans ce chapitre nous avons construit un système hybride modélisant la dynamique du métabolisme au cours des phases du cycle cellulaire. Pour cela, nous avons tout d'abord recherché dans la littérature quelles sont les principales variations métaboliques au cours du cycle cellulaire et par quels moyens la cellule adapte son métabolisme aux différentes phases du cycle cellulaire. Nous avons ensuite utilisé ces informations pour modifier le modèle du chapitre 2 et en créer trois versions : un modèle ayant certaines spécificités de la phase G1, un celles de la phase S et un de la phase G2. Une fois ces versions créées, nous les avons assemblées en un système hybride où la succession des phases est contrôlée par la biomasse. Finalement, nous avons analysé ce système, montrant qu'on y retrouvait les principales tendances des voies métaboliques au cours du cycle cellulaire (G1 glycolyse, S voie des pentoses phosphates, G2 production de lipides). Nous avons aussi comparé nos résultats avec des données expérimentales, mettant à profit la présence des métabolites d'échange dans notre modèles. Finalement, nous avons exploré des pistes pour mieux contrôler et réduire la durée du cycle et de chaque phase.

Encouragés par les bons résultats de ce système hybride, nous l'utilisons dans le chapitre suivant pour étudier la dynamique d'un métabolisme altéré : celui des cellules cancéreuses.

Chapitre 4

Utilisation du modèle : analyse du métabolisme des cellules cancéreuses

Comme nous le présentons dans le chapitre 1, une caractéristique importante du vivant est sa capacité d'adaptation. La cellule, unité du vivant, doit être capable d'adapter son métabolisme, processus central à sa survie, à son environnement ou à ses besoins. Dans le chapitre 2 nous proposons un modèle nous permettant d'étudier comment la cellule adapte son métabolisme à son environnement. Dans le chapitre 3, nous intégrons à ce modèle des régulations enzymatiques ayant lieu au cours des différentes phases du cycle cellulaire, ce qui nous permet d'étudier comment la cellule s'adapte à ces différentes phases.

Au cours de la vie d'un organisme, son métabolisme peut être altéré de multiple façons. La plupart du temps, ces altérations proviennent de mutations génétiques. Les cellules peuvent alors soit ne pas produire telle ou telle enzyme ou bien en produire une version qui ne remplit pas correctement son rôle, menant à des dysfonctionnements du métabolisme. On peut donner l'exemple de la galactosémie ou bien de la maladie de Hartnup qui sont des maladies où le métabolisme ne fonctionne pas normalement. Dans le cas de la galactosémie, l'enzyme catalysant la dégradation du galactose en glucose ne fonctionne pas. Lorsqu'il n'y a pas de traitement, ce dysfonctionnement entraîne différentes défaillances de l'organisme pouvant mener à la mort. La maladie de Hartnup est, quant à elle, causée par des problèmes concernant les enzymes chargées du transport d'acides aminés. Les individus ayant cette maladie ont en autres des éruptions cutanées et des anomalies du système nerveux central.

Dans certains cas, ces altérations du métabolisme peuvent mener à la mort des cellules touchées. Dans d'autres cas, les cellules continuent de fonctionner mais différemment des cellules saines : le métabolisme peut même être détourné pour soutenir une prolifération anarchique. C'est ce dernier cas qui nous intéresse dans ce chapitre. Bien que ces altérations du métabolisme aient un impact délétère sur l'organisme, il est intéressant de remarquer que le réseau métabolique est capable de continuer à fonctionner : le métabolisme est, lui, tout à fait capable de s'adapter à ces perturbations. Dans ce chapitre, nous nous intéressons aux principales modifications métaboliques connues des cellules cancéreuses. Nous perturbons nos modèles dans ce sens afin d'étudier leurs réponses à ces modifications.

4.1 Principales variations métaboliques connues dans les cellules cancéreuses

Dans ce chapitre, nous étudions comment nos modèles s'adaptent aux perturbations métaboliques que subissent les cellules cancéreuses. Pour cela, nous définissons dans la partie 4.1.1 six critères que nous pouvons étudier dans nos modèles et représentant les principales différences que nous pouvons observer entre le comportement des cellules saines et des cellules cancéreuses. Nous sélectionnons dans la partie 4.1.2 seize paramètres de nos modèles pouvant reproduire les principales différences enzymatiques entre les cellules saines et les cellules cancéreuses, différences qui pourraient expliquer les observations présentées dans la partie 4.1.1. Finalement, nous analysons la sensibilité de nos modèles à ces seize

paramètres et nous sélectionnons ceux ayant le plus d'influence sur les critères que nous avons choisis.

4.1.1 Comment le métabolisme s'adapte au cancer

Le cancer est un ensemble de maladies caractérisées par la multiplication anarchique de cellules dites cancéreuses. En proliférant ainsi, les cellules cancéreuses envahissent peu à peu l'organisme dont elles font partie et engendrent différents dysfonctionnements qui peuvent entraîner, à plus ou moins long terme, la mort de l'organisme. Le cancer est, d'après la *Global Burden of Disease Cancer Collaboration*, la deuxième cause de mortalité dans le monde en 2015 [106]. Certaines caractéristiques des cancers sont très différentes : l'agressivité de la maladie, les organes initialement touchés ... mais les cellules cancéreuses ont des points communs. En particulier les cellules cancéreuses présentent toutes des différences génétiques notables par rapport aux cellules saines. L'étude de ces différences génétiques est d'ailleurs un vaste champ de recherche dans l'étude du cancer depuis plusieurs décennies [107, 108]. Ces différences génétiques affectent les différents processus cellulaires et en particulier le cycle cellulaire et le métabolisme.

Le cancer est principalement une maladie du dérèglement du contrôle du cycle cellulaire [28, 109]. En effet, les mutations génétiques des cellules cancéreuses entraînent des dysfonctionnement des points de contrôle du cycle cellulaire. En particulier, les cellules cancéreuses ne seraient plus capables d'interrompre le cycle cellulaire pour réparer les dommages au niveau de l'ADN [110] et échapperaient aux processus de mort cellulaire [111]. Il semblerait même que les cellules cancéreuses soient capables d'influencer les cellules saines voisines, les "parasitant" pour obtenir plus de nutriments [112] ou bien de produire leur propre facteur de croissance [113]. Les cellules cancéreuses sont alors en constante prolifération et utilisent tous les nutriments disponibles, empêchant les cellules saines de proliférer. Il semblerait qu'elles se divisent aussi plus vite que les cellules saines [114], entraînant une croissance plus rapide des populations de cellules cancéreuses par rapport aux populations de cellules saines. D'autres études cependant semblent indiquer que les cellules cancéreuses ne se divisent pas forcément plus vite que les cellules saines, et que la différence de croissance de population est plutôt due au fait que les cellules cancéreuses échappent plus facilement à la mort cellulaire que les cellules saines [115].

Les mutations génétiques des cellules cancéreuses affectent aussi le métabolisme de façon à ce qu'il puisse soutenir cette prolifération anarchique. En particulier ces mutations engendrent un certains nombres de différences qualitatives dans la production de certains métabolites, que nous allons chercher à observer dans nos modèles.

De manière générale, les cellules cancéreuses produisent plus de lactate [24, 116] et de lipides [117] que les cellules saines. Nous présentons dans la partie 4.1.2 les modifications enzymatiques qui pourraient être à l'origine de ces différences. Une autre différence importante entre les deux types de cellules est le sens de la réaction catalysée par l'isocitrate déshydrogénase. Chez les cellules saines, l'isocitrate déshydrogénase produit de l'AKG à partir de l'isocitrate. Chez les cellules cancéreuses, la réaction a principalement lieu dans l'autre sens : l'isocitrate déshydrogénase produit de l'isocitrate à partir d'AKG [116]. Comme nous l'expliquons dans la partie suivante, cela permet aux cellules cancéreuses d'utiliser la glutamine pour produire des lipides. Finalement, comme nous pouvons le voir sur les courbes expérimentales de da Veiga Moreira *et al.* [36], les cellules cancéreuses produisent moins d'ATP que les cellules saines et les ratios NAD/NADH et NADP/NADPH sont plus élevés chez les cellules cancéreuses tout au long du cycle cellulaire. On peut aussi remarquer sur ces courbes que la concentration d'ATP semble moins varier que chez les cellules saines tandis que les ratio semblent au contraire moins varier chez les cellules saines au cours du cycle cellulaire.

À partir de nos lectures résumées ci-dessus et des variables présentes dans nos modèles, nous définissons ci-dessous six critères que nous étudierons dans la suite de ce chapitre. En particulier, nous utiliserons ces critères pour comparer les modèles construits dans les chapitres précédents et ceux construits dans ce chapitre, obtenus en intégrant des différences enzymatiques dues au cancer dans les modèles initiaux. Nous rechercherons dans la suite de ce chapitre :

1. une baisse générale de la contraction d'ATP,
2. une hausse de la concentration de lactate
3. et de celle de palmitate,

4. une hausse du ratio NADP/NADPH
5. et du ratio NAD/NADH,
6. un renversement du sens de la réaction catalysée par l'isocitrate déshydrogénase. Nous nous intéressons pour cela au signe de ν_{CITS} et nous souhaitons en particulier, avoir une valeur négative pour ce flux.

En plus de cela, nous rechercherons dans les systèmes hybrides un temps de cycle cellulaire plus court, une baisse de la variation d'ATP au cours du temps et une hausse de la variation des ratio au cours du temps.

Dans les différents modèles métaboliques présentés jusqu'à présent, la réaction **CITS** est irréversible et ν_{CITS} ne peut pas être négatif. Pour donner la possibilité à cette réaction d'aller dans le sens inverse, nous modifions les modèles en posant :

$$\nu_{\text{CITS}} := \nu_{\text{maxCITSdir}} \frac{\text{CIT}}{K_{m1} + \text{CIT}} \frac{\frac{\text{NAD}}{\text{NADH}}}{K_{m2} + \frac{\text{NAD}}{\text{NADH}}} - \nu_{\text{maxCITSrev}} \frac{\text{AKG}}{K_{m3} + \text{AKG}} \frac{\frac{\text{NADH}}{\text{NAD}}}{K_{m4} + \frac{\text{NADH}}{\text{NAD}}}, \quad (4.1)$$

avec $\nu_{\text{maxCITSdir}} := \nu_{\text{maxCITSrev}} := \nu_{\text{maxCITS}}$, $K_{m_{\text{CITS_AKG}}} := K_{m_{\text{AKGDH_AKG}}}$ et $K_{m_{\text{CITS_NADH/NAD}}} := K_{m_{\text{LDH_NADH/NAD}}}$. À partir de maintenant et dans le reste de ce chapitre tous les modèles contiennent cette modification¹.

4.1.2 Les différences enzymatiques entre cellules saines et cellules cancéreuses

Nous sélectionnons dans cette partie des paramètres pouvant représenter les principales différences enzymatiques entre les cellules saines et les cellules cancéreuses. Nous présentons tout d'abord les différences enzymatiques liées à la consommation du glucose et à la consommation de la glutamine, deux zones du CCM sujettes à de nombreuses différences entre le métabolisme sain et le métabolisme cancéreux. Finalement, nous listons les paramètres de notre modèle que nous sélectionnons à partir de cette revue de la littérature.

L'une des plus grandes différences connues entre le métabolisme des cellules saines et le métabolisme des cellules cancéreuses est la consommation de glucose. Les cellules cancéreuses consomment globalement plus de glucose que les cellules saines et c'est d'ailleurs utilisé pour détecter les cancers à l'aide de pet-scans [117]. Plusieurs modifications enzymatiques peuvent expliquer cette différence.

Tout d'abord, les cellules cancéreuses ont plus de transporteurs de glucose que les cellules saines [116] et l'activité des hexokinases (HK, première enzyme de la glycolyse) des cellules cancéreuses est plus élevée [116]. Cela donne aux cellules cancéreuses la possibilité de consommer plus de glucose que les cellules saines.

D'autres modifications dans la glycolyse accentuent la différence de consommation du glucose. L'enzyme PFKFB3, une phosphofructokinase, est plus exprimée chez les cellules cancéreuses que chez les cellules saines [83, 116] ce qui augmente l'activité de la glycolyse (voir 3.1.1 pour plus de détails). En plus de cela, chez les cellules cancéreuses, PFK-1 est moins sensible à l'inhibition par ATP et plus sensible à l'activation de F2,6BP, le produit de PFKFB3 [116].

Jusqu'à présent nous avons présenté les enzymes comme des groupes uniformes : les enzymes phosphofructokinases, les pyruvate kinases ... Il s'avère cependant que les cellules produisent différentes versions de ces enzymes. Nous avons déjà évoqué PFKFB3 et PFK-1, deux phosphofructokinases, qui ne catalysent pas exactement la même réaction. Cependant il existe aussi des versions différentes d'une même enzyme qui catalysent la même réaction mais pas exactement de la même façon. L'une peut par exemple être plus active que l'autre, ou bien moins sensible à certains types de régulations. Dans les cellules cancéreuses, la version la plus exprimée de la pyruvate kinase (PK, dernière réaction de la glycolyse) est PK-M2. Les cellules saines, quant à elles, expriment en général d'autres versions de cette enzyme [71, 99, 116, 117]. PK-M2 est connue pour être moins active que les autres versions de la pyruvate kinase.

1. la réversibilité de cette réaction ne modifie pas qualitativement les comportements des modèles construits dans les chapitres précédents.

Associée avec l'augmentation de consommation de glucose (HK, PFK), cette baisse d'activité de la pyruvate kinase est liée à une hausse de la concentration des métabolites intermédiaires de la glycolyse et permettrait une hausse de substrats disponibles pour la voie des pentoses phosphates et la production de nucléotides [117].

Chez les cellules cancéreuses, le pyruvate est principalement orienté vers la production de lactate plutôt que vers le cycle de Krebs [116]. Cela s'explique par deux grandes différences enzymatiques. Tout d'abord, les cellules cancéreuses ont plus d'enzymes LDH (lactate deshydrogénase) et de MCT (mono-carboxylate transporters ie transporteurs de lactate à l'extérieur de la cellule) [116]. Ensuite la pyruvate deshydrogénase, qui transforme le pyruvate en ACoA, est moins active chez les cellules cancéreuses [116]. De plus, dans certains types de cancer, la pyruvate carboxylase (PYR vers OXA) est supprimée [117].

Ainsi, chez les cellules cancéreuses, le glucose est principalement utilisé pour produire des nucléotides et de l'énergie (voir discussion dans la partie 1.3.2). La glycolyse est donc d'autant plus importante pour les cellules cancéreuses que ces cellules respirent moins bien que les cellules saines [24].

Nous pouvons aussi observer des différences au niveau de la production de lipides chez les cellules saines et les cellules cancéreuses. Comme nous le présentons dans la partie 4.1.1, les cellules cancéreuses produisent plus de lipides que les cellules saines. Cela est en partie dû au fait que les cellules cancéreuses expriment plus d'ATP-Citrate liases et d'acide gras synthase, des enzymes impliquées dans la production de lipides [117].

Comme nous le présentons dans le début de cette partie, les cellules cancéreuses ont moins d'apport de carbone via la glycolyse pour produire des lipides (PDH moins active, PC supprimée dans certains cancers) mais parviennent quand même à produire plus de lipides que les cellules saines. Le carbone utilisé pour produire les lipides dans les cellules cancéreuses provient, d'après la littérature, principalement de la glutaminolyse qui est plus active chez les cellules cancéreuses [116, 117]. Notons d'ailleurs que la glutamine est un acide aminé non essentiel chez les cellules saines mais qu'elle est indispensable pour certains types de cellules cancéreuses : sa suppression entraînant la mort des cellules concernées [116].

En entrant dans le cycle de Krebs par l'AKG, la glutaminolyse fournit au cycle de Krebs des intermédiaires. Tout d'abord, une partie du flux de la glutaminolyse sert directement à la production de lipides. En effet, l'isocitrate deshydrogénase des cellules cancéreuses fonctionne principalement dans le sens inverse, produisant de l'isocitrate à partir d'AKG [116]. L'isocitrate est ensuite transformé en citrate qui permet de produire des lipides via l'ATP-Citrate liase et l'acide gras synthase.

L'autre partie du flux de la glutaminolyse continue le cycle de Krebs dans le sens habituel (AKG \rightarrow SUC \rightarrow MAL) et soutient la production de protéines [117, 118].

En plus d'être une source de carbone pour la production de lipides, la glutaminolyse favorise la production de lipides via la production de NADPH par la réaction catalysée par l'enzyme malique (ME) (voir figure 2.1). Ce phénomène est accentué chez certains types de cellules cancéreuses où l'expression de cette enzyme augmente [117].

À partir des informations trouvées dans la littérature, nous sélectionnons des paramètres dans notre modèle à même de représenter ces différences. Nous regroupons ces paramètres dans la table 4.1 et nous décrivons ci-dessous nos différents choix :

- L'augmentation du nombre de transporteurs de glucose et celle de l'activité des hexokinases des cellules cancéreuses peuvent être directement représentées par une augmentation du paramètre $\nu_{\max\text{HK}}$.
- Tout comme dans le chapitre 3, nous représentons l'augmentation de la concentration de PFKFB3 par l'augmentation de $\nu_{\max\text{PFK}}$.
- Pour représenter l'augmentation de la sensibilité de la phosphofructokinase PFK-1 à F2,6BP, nous décidons de diminuer la valeur de $K_{m_PFK_F6P}$.
- La baisse de sensibilité de PFK-1 à l'ATP est plus délicate à représenter. Dans notre modèle, quatre paramètres sont envisageables : $K_{m_PFK_ATP/ADP}$, $K_{a_PFK_ATP/ADP}$, $\alpha_{PFK_ATP/ADP}$ et $\beta_{PFK_ATP/ADP}$. Nous décidons de sélectionner chacun de ces paramètres pour le moment.
- Nous diminuons $\nu_{\max\text{PK}}$ pour représenter le fait que les cellules cancéreuses expriment une forme moins active de l'enzyme pyruvate kinase.
- L'augmentation du nombre d'enzymes LDH et de MCT peut être directement représentée par une augmentation de $\nu_{\max\text{LDH}}$.

Différence enzymatique	Paramètre sélectionné	Variation du paramètre
↗ transporteurs de glucose et hexokinase	$\nu_{\max\text{HK}}$	Augmentation
↗ PFKFB3	$\nu_{\max\text{PFK}}$	Augmentation
↗ sensibilité de PFK-1 à F2,6BP	$K_{m_PFK_F6P}$	Diminution
↘ Sensibilité de PFK à l'ATP	$K_{m_PFK_ATP/ADP}$	Inconnue
	$K_{a_PFK_AMP/ATP}$	
	$\alpha_{PFK_AMP/ATP}$	
	$\beta_{PFK_AMP/ATP}$	
↗ expression PK-M2	$\nu_{\max\text{PK}}$	Diminution
↗ LDH et MCT	$\nu_{\max\text{LDH}}$	Augmentation
↘ PDH	$\nu_{\max\text{PDH}}$	Diminution
Suppression PC	$\nu_{\max\text{PC}}$	Diminution
↘ respiration	$\nu_{\max\text{Resp}}$	Diminution
↗ ATP-Citrate liase	$\nu_{\max\text{ACL}}$	Augmentation
↗ acide gras synthase	$\nu_{\max\text{VPALM}}$	Augmentation
Isocitrate déshydrogénase sens inverse	$\nu_{\max\text{CITSrev}}$	Augmentation
↗ ME	$\nu_{\max\text{ME}}$	Augmentation

TABLE 4.1 – Les 16 paramètres sélectionnés à partir de la littérature pour représenter des différences enzymatiques entre les cellules saines et cancéreuses. La troisième colonne indique dans quel sens nous faisons varier le paramètre pour représenter la différence enzymatique.

- Nous représentons la diminution d'activité de la pyruvate déshydrogénase par la baisse de $\nu_{\max\text{PDH}}$.
- Pour représenter la suppression de la pyruvate carboxylase chez certains types de cancer, nous décidons de diminuer la valeur du paramètre $\nu_{\max\text{PC}}$.
- Nous diminuons $\nu_{\max\text{Resp}}$ pour représenter le fait que les cellules cancéreuses respirent moins bien que les cellules saines.
- Pour représenter l'augmentation de l'expression de l'ATP-Citrate liase et celle de l'expression d'acide gras synthase, nous augmentons respectivement $\nu_{\max\text{ACL}}$ et $\nu_{\max\text{VPALM}}$.
- Nous augmentons $\nu_{\max\text{CITSrev}}$ pour représenter le fait que l'isocitrate déshydrogénase fonctionne dans le sens inverse.
- Et finalement, nous représentons l'augmentation de l'expression de l'enzyme malique par l'augmentation de $\nu_{\max\text{ME}}$.

Nous obtenons ainsi seize paramètres candidats qui reprennent certaines des différences majeures entre le métabolisme sain et cancéreux. Dans la suite de cette partie, nous observons la réponse de notre modèle (2.6) aux variations de ces paramètres.

4.1.3 Sélection des paramètres les plus influents

Dans cette partie, nous voulons sélectionner parmi les paramètres candidats de la table 4.1, ceux ayant un effet majeur allant dans le sens des critères présentés dans la partie 4.1.1. Pour cela, nous observons la sensibilité de l'équilibre du modèle (2.6) aux paramètres listés dans la table 4.1. En reprenant les critères définis plus tôt, nous nous intéressons aux concentrations à l'équilibre de l'ATP, de LAC et de PALM. Nous nous intéressons aussi aux valeurs des ratio NADP/NADPH et NAD/NADH et au signe de ν_{CITS} .

Afin d'analyser la sensibilité de notre système, nous proposons l'algorithme suivant : nous définissons tout d'abord un quadrillage de l'espace des paramètres (\mathbb{R}^{16}) dans la table 4.2. Nous calculons ensuite le point d'équilibre du modèle en différents points de ce quadrillage. Finalement, nous traçons les réponses du système en fonction de ces paramètres. Plus précisément, nous traçons les nuages de points formés par projection des points d'équilibre sur les axes (**paramètre**, **observation**), où **paramètre** est l'un des paramètres de la table 4.1 et **observation** appartient à l'ensemble $\{\text{ATP}^*, \text{LAC}^*, \text{PALM}^*, \frac{\text{NAD}^*}{\text{NADH}^*}, \frac{\text{NADP}^*}{\text{NADPH}^*}, \nu_{\text{CITS}}^*\}$.

Nous recherchons dans ces nuages de points des tendances de croissance ou de décroissance, correspondant aux critères présentés dans la partie 4.1.1. Nous décrivons plus précisément ces trois étapes ci-dessous.

Quadrillage de l'espace des paramètres

Pour quadriller l'espace des paramètres, nous définissons pour chacun des seize paramètres, une borne inférieure et une borne supérieure en nous basant sur des simulations du modèle de façon à avoir : borne inférieure < valeur par défaut < borne supérieure. Nous discrétisons l'intervalle ainsi formé en 100 points répartis de façon uniforme, sur une échelle logarithmique. Nous présentons dans la table 4.2 les différentes bornes choisies pour chaque paramètre.

Paramètre	Borne inférieure	Valeur par défaut	Borne supérieure
$\nu_{\max\text{HK}}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-2}$	1
$\nu_{\max\text{PFK}}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$1.5 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-1}$
$K_{m_PFK_F6P}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-2}$	1
$K_{m_PFK_ATP/ADP}$	$1 \cdot 10^{-2}$	5	100
$K_{a_PFK_AMP/ATP}$	$1 \cdot 10^{-5}$	$9 \cdot 10^{-2}$	10
$\alpha_{PFK_AMP/ATP}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$5 \cdot 10^{-1}$	10
$\beta_{PFK_AMP/ATP}$	10	10.5	1000
$\nu_{\max\text{PK}}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$1.5 \cdot 10^{-3}$	1
$\nu_{\max\text{LDH}}$	$1 \cdot 10^{-13}$	$6 \cdot 10^{-9}$	$1 \cdot 10^{-4}$
$\nu_{\max\text{PDH}}$	$1 \cdot 10^{-6}$	$7 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-3}$
$\nu_{\max\text{PC}}$	$1 \cdot 10^{-9}$	$2 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-2}$
$\nu_{\max\text{Resp}}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$1.5 \cdot 10^{-3}$	1
$\nu_{\max\text{ACL}}$	$1 \cdot 10^{-8}$	$2.5 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-2}$
$\nu_{\max\text{VPALM}}$	$1 \cdot 10^{-8}$	$3 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-2}$
$\nu_{\max\text{CITSrev}}$	$1 \cdot 10^{-9}$	$4 \cdot 10^{-5}$	1
$\nu_{\max\text{ME}}$	$1 \cdot 10^{-10}$	$1.5 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-2}$

TABLE 4.2 – Quadrillage de l'espace des paramètres. Pour chaque paramètre, nous discrétisons l'intervalle en 100 points répartis de façon uniforme, sur une échelle logarithmique.

Simulations du modèle

Nous effectuons dans un premier temps 1000 simulations. Pour chaque simulation, nous définissons tout d'abord la valeur des paramètres à partir du quadrillage défini plus tôt. Plus précisément, pour chaque paramètre, nous sélectionnons aléatoirement une valeur en suivant une loi uniforme discrète sur les 100 valeurs possibles. Finalement, nous calculons le point d'équilibre du système ainsi modifié comme présenté dans le chapitre 2. Une fois les 1000 points d'équilibre calculés, nous les projetons sur les axes (**paramètre,observation**) comme décrit plus tôt. En observant les différents nuages de points (non montrés), nous définissons deux groupes de paramètres : les paramètres ayant un effet positif sur nos critères et ceux n'ayant pas d'effet visible sur ces critères. Les paramètres du premier groupe sont : $\nu_{\max\text{HK}}$, $\nu_{\max\text{PK}}$, $\nu_{\max\text{LDH}}$, $\nu_{\max\text{PDH}}$, $\nu_{\max\text{Resp}}$, $\nu_{\max\text{VPALM}}$, $\nu_{\max\text{CITSrev}}$ et $\nu_{\max\text{ME}}$.

Pour affiner cette décision, nous appliquons le même protocole sur chacun des deux groupes pris séparément : nous effectuons à nouveau 1000 simulations en ne modifiant que les paramètres du premier groupe (les autres étant fixés à leur valeur par défaut), puis dans un deuxième temps nous effectuons encore 1000 simulations en ne modifiant que les paramètres du deuxième groupe. À partir de ces résultats, nous décidons de déplacer les paramètres $\nu_{\max\text{ACL}}$ et $\nu_{\max\text{PC}}$ dans le premier groupe. En effet, il s'avère que dans cette deuxième étape, nous pouvons observer des variations non détectées à la première étape. Au final, nous sélectionnons les dix paramètres suivants comme étant les plus significatifs : $\nu_{\max\text{HK}}$, $\nu_{\max\text{PK}}$, $\nu_{\max\text{LDH}}$, $\nu_{\max\text{PDH}}$, $\nu_{\max\text{Resp}}$, $\nu_{\max\text{VPALM}}$, $\nu_{\max\text{CITSrev}}$, $\nu_{\max\text{ME}}$, $\nu_{\max\text{ACL}}$ et $\nu_{\max\text{PC}}$.

Résultats

Nous regroupons dans la figure 4.1 les nuages de points des dix paramètres ayant un effet significatif et positif sur certains critères définis dans la partie 4.1.1. Pour information, les nuages de points des autres paramètres se trouvent en annexe : C.1. Nous décrivons ci-dessous les tendances trouvées pour chaque paramètre.

$\nu_{\max\text{HK}}$ Comme nous pouvons le voir sur la figure 4.1a, augmenter la valeur de $\nu_{\max\text{HK}}$ semble diminuer la valeur de ATP^* et augmenter celle de PALM^* . Cela va dans le sens de ce que nous présentons dans les parties 4.1.1 et 4.1.2. Nous conservons donc ce paramètre pour la suite de notre chapitre.

$\nu_{\max\text{PK}}$ Nous présentons les résultats de ce paramètre sur la figure 4.1b. Comme nous pouvons le voir sur cette figure, diminuer la valeur de ce paramètre semble diminuer la valeur de ATP^* , ce qui est l'un de nos critères de sélection.

$\nu_{\max\text{LDH}}$ Comme attendu, augmenter la valeur de ce paramètre augmente la production de lactate : voir figure 4.1c.

$\nu_{\max\text{PDH}}$ Ce paramètre a un effet un peu plus subtile à décrire. Nous pouvons tout d'abord remarquer sur la figure 4.1d que diminuer la valeur de ce paramètre semble diminuer la valeur de ν_{CITS}^* , ce qui correspond à nos attentes.

Nous pouvons aussi remarquer que diminuer ce paramètre entraîne la baisse de PALM^* ce qui ne va pas dans le sens de la littérature puisque les cellules cancéreuses produisent plus de lipides. Cependant, c'est un résultat attendu puisque dans notre modèle la réaction **PDH** fournit au cycle de Krebs et à la voie de production des lipides de l'ACoA. En diminuant la vitesse maximale de cette réaction, on diminue l'apport en ACoA à ces deux voies et en particulier on diminue PALM^* . Comme nous le présentons dans les points suivants, d'autres paramètres influencent positivement la concentration de palmitate à l'équilibre. C'est pour cette raison, ainsi que l'effet sur ν_{CITS}^* que nous conservons ce paramètre et que nous le modifions dans les parties suivantes de ce chapitre.

$\nu_{\max\text{PC}}$ Nous pouvons remarquer sur la figure 4.1e que diminuer la valeur de $\nu_{\max\text{PC}}$ permet d'augmenter $\frac{\text{NADP}^*}{\text{NADPH}^*}$ et de diminuer ν_{CITS}^* , qui atteint même des valeurs négatives. Ces deux points correspondent à nos critères présentés dans la partie 4.1.1.

Concernant les autres variables, on peut remarquer que lorsque la valeur de $\nu_{\max\text{PC}}$ est inférieure à sa valeur par défaut (trait noir vertical), la concentration d'ATP, de lactate et de palmitate et le ratio NAD/NADH à l'équilibre changent peu (trait noir horizontal). C'est pour cela que nous conservons ce paramètre dans la suite de ce chapitre.

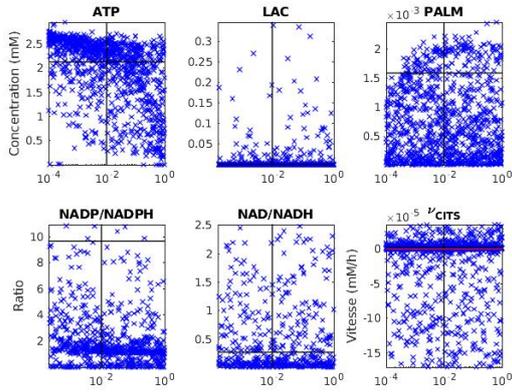
$\nu_{\max\text{Resp}}$ Comme nous pouvons le voir sur la figure 4.1f, diminuer la valeur de $\nu_{\max\text{Resp}}$ entraîne principalement une baisse d'ATP* ainsi qu'une hausse de LAC^* (déjà discuté dans le chapitre 2). Ces deux points vont dans le sens de nos attentes.

Faire varier la valeur de ce paramètre a aussi un effet sur $\frac{\text{NAD}^*}{\text{NADH}^*}$. Comme nous pouvons le voir sur la figure, ce ratio augmente exponentiellement lorsque $\nu_{\max\text{Resp}}$ augmente. Bien que cela soit compréhensible dans notre modèle puisque la respiration cellulaire consomme du NADH et produit du NAD, cela ne va pas dans le sens de ce que nous présentons au début de ce chapitre, à savoir que d'un côté les cellules cancéreuses ont un ratio NAD/NADH plus élevé que celui des cellules saines et de l'autre que ces cellules respirent moins bien. Cependant, rien dans la littérature n'indique que l'observation sur le ratio est due à la différence de respiration. Nous décidons donc de conserver ce paramètre pour la suite du chapitre.

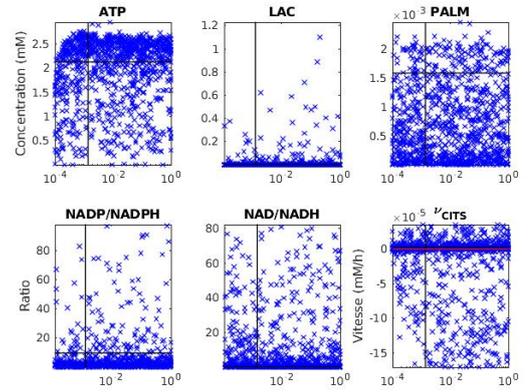
$\nu_{\max\text{ACL}}$ D'après la figure 4.1g, augmenter la valeur de $\nu_{\max\text{ACL}}$ tend à augmenter PALM^* , $\frac{\text{NADP}^*}{\text{NADPH}^*}$ et $\frac{\text{NAD}^*}{\text{NADH}^*}$ ainsi qu'à diminuer la vitesse ν_{CITS}^* . Bien que ces variations soient faibles, nous décidons de sélectionner ce paramètre.

$\nu_{\max\text{VPALM}}$ Nous pouvons observer sur la figure 4.1h qu'augmenter la valeur du paramètre $\nu_{\max\text{VPALM}}$ a un impact clair sur l'augmentation de PALM^* . Ce qui est attendu puisque la réaction **VPALM** produit du palmitate. On peut aussi observer une légère baisse de ATP^* et de ν_{CITS}^* . Nous pensons aussi distinguer une hausse du ratio NADP/NADPH à l'équilibre, attendu aussi puisque la réaction **VPALM** consomme du NADPH et produit du NADP.

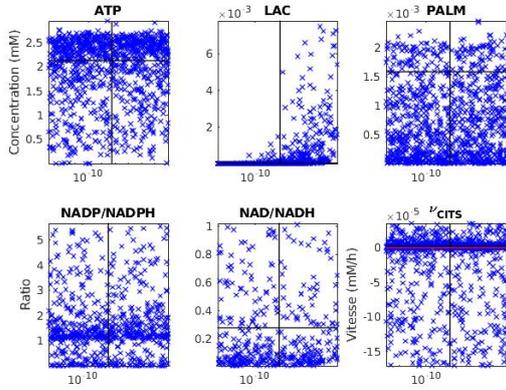
$\nu_{\max\text{CITSrev}}$ Nous pouvons observer sur la figure 4.1i que l'augmentation de $\nu_{\max\text{CITSrev}}$ entraîne une baisse de ν_{CITS}^* et permet à cette vitesse d'être négative.



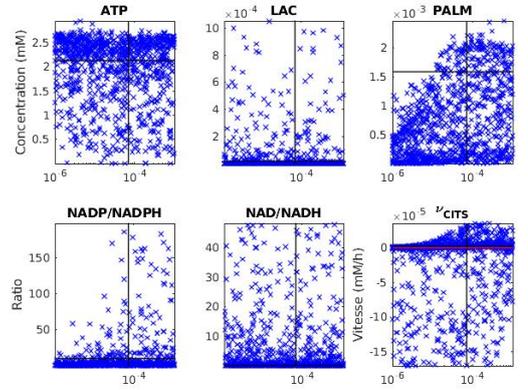
(a) $\nu_{\max\text{HK}}$: baisse d'ATP* et hausse de PALM*



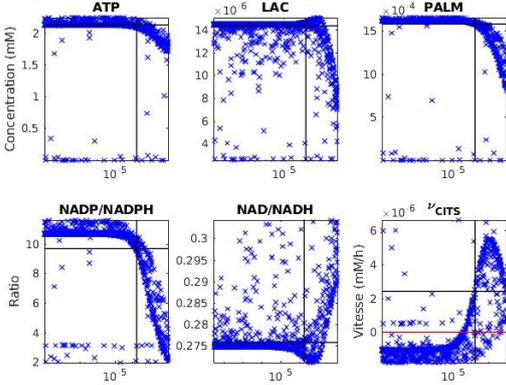
(b) $\nu_{\max\text{PK}}$: baisse d'ATP*



(c) $\nu_{\max\text{LDH}}$: hausse LAC*



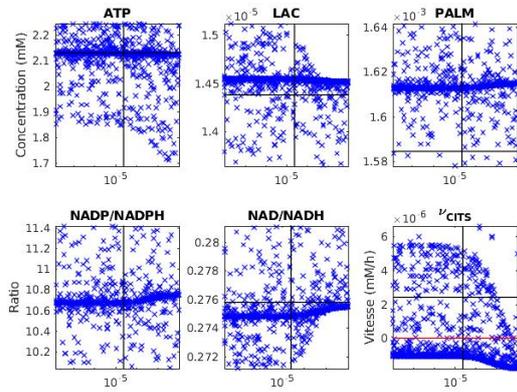
(d) $\nu_{\max\text{PDH}}$: baisse de ν_{CITS}^*



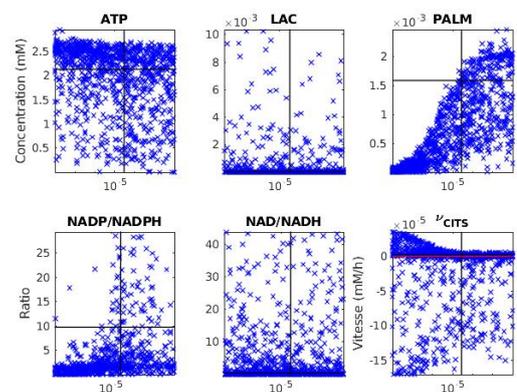
(e) $\nu_{\max\text{PC}}$: hausse de $\frac{\text{NADP}^*}{\text{NADPH}^*}$ et baisse de ν_{CITS}^*

(f) $\nu_{\max\text{Resp}}$: baisse d'ATP* et hausse de LAC*

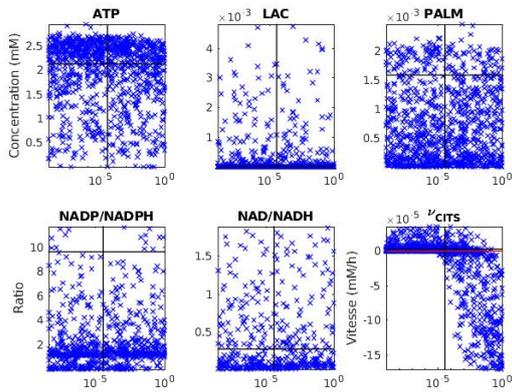
FIGURE 4.1 – Projections en nuage de points des 1000 équilibres sur les axes (paramètres, observation). Les traits verticaux noirs indiquent les valeurs par défaut des paramètres. Les traits horizontaux noirs représentent les valeurs des variables à l'équilibre dans le modèle par défaut. Pour ν_{CITS} , nous représentons l'axe $\nu_{\text{CITS}}^* = 0$ en rouge.



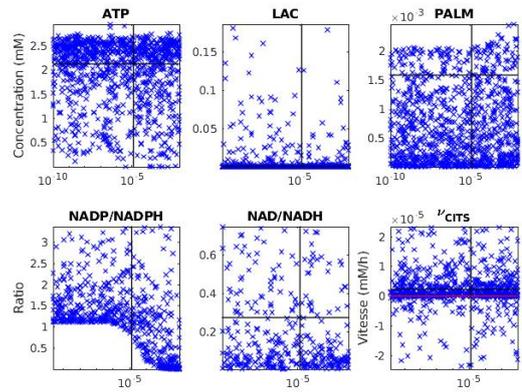
(g) $\nu_{\max ACL}$: hausse de $PALM^*$, de $\frac{NADP^*}{NADPH^*}$ et $\frac{NAD^*}{NADH^*}$ et baisse de ν_{CITS}^*



(h) $\nu_{\max VPALM}$: hausse de $PALM^*$ et de $\frac{NADP^*}{NADPH^*}$, baisse de ATP^* et de ν_{CITS}^*



(i) $\nu_{\max CITSrev}$: baisse de ν_{CITS}^*



(j) $\nu_{\max ME}$: hausse de $PALM^*$

FIGURE 4.1 – (Suite) Projections en nuage de points des 1000 équilibres sur les axes (paramètres, observation). Les traits verticaux noirs indiquent les valeurs par défaut des paramètres. Les traits horizontaux noirs représentent les valeurs des variables à l'équilibre dans le modèle par défaut. Pour ν_{CITS} , nous représentons l'axe $\nu_{CITS}^* = 0$ en rouge.

$\nu_{\max\text{ME}}$ Sur la figure 4.1j nous pouvons observer qu'augmenter $\nu_{\max\text{ME}}$ entraîne une baisse du ratio NADP/NADPH à l'équilibre. Cela est cohérent avec le modèle puisque **ME** consomme du NADP et produit du NADPH, mais cela ne va pas dans le sens de ce que nous présentons au début du chapitre. Cependant, augmenter la valeur de ce paramètre semble augmenter légèrement la valeur de PALM*. Pour cela nous décidons de conserver ce paramètre pour la suite de ce chapitre.

En conclusion, nous considérons que ces dix paramètres, regroupés dans le vecteur (4.2) sont des candidats pertinents pour analyser les comportements métaboliques altérés des cellules cancéreuses. Dans la suite de ce chapitre, nous étudions plus en détail la réponse de nos modèles à ces dix paramètres.

$$\begin{pmatrix} \nu_{\max\text{HK}} \\ \nu_{\max\text{PK}} \\ \nu_{\max\text{LDH}} \\ \nu_{\max\text{PDH}} \\ \nu_{\max\text{PC}} \\ \nu_{\max\text{Resp}} \\ \nu_{\max\text{ACL}} \\ \nu_{\max\text{VPALM}} \\ \nu_{\max\text{CITSrev}} \\ \nu_{\max\text{ME}} \end{pmatrix} \quad (4.2)$$

4.2 Sélection de modèles intégrant ces principales variations

Dans cette partie, nous étudions la réponse de notre modèle aux dix paramètres (4.2) de façon plus systématique que dans la partie précédente. En particulier, nous étudions ces paramètres ensembles et non plus un à un. Dans la partie 4.2.1, nous créons des jeux de paramètres en attribuant à chaque paramètre trois valeurs possibles. Dans la partie 4.2.2, nous sélectionnons les jeux de paramètres en fonction des réponses du modèle (2.6) et des modèles G1, S et G2 créés dans le chapitre 3. Finalement, nous présentons une vue d'ensemble de ces jeux de paramètres dans la partie 4.2.3.

4.2.1 Création de jeux de paramètres

Pour attribuer des valeurs aux paramètres sélectionnés dans la partie 4.1, nous nous inspirons de la création des modèles par phase dans le chapitre 3. Nous attribuons à chaque paramètre trois valeurs possibles, créant ainsi $3^{10} = 59049$ jeux de paramètres que nous allons étudier. Nous présentons ces valeurs dans la table 4.3. L'une de ces valeurs est la valeur par défaut du modèle, c'est-à-dire la valeur du chapitre 2 (case grisée), les deux autres sont choisies arbitrairement. Pour chaque paramètre que nous voulons diminuer, nous choisissons d'attribuer deux valeurs plus petites que la valeur par défaut. Pour les paramètres que nous voulons augmenter, nous attribuons deux valeurs plus grandes que la valeur par défaut. Ainsi pour chaque combinaison de valeurs possibles, nous savons que le jeu de paramètres est conforme aux informations trouvées dans la littérature. Par exemple, d'après la littérature, nous savons que les cellules cancéreuses ont plus de transporteurs de glucose et que leur hémokinase est plus active. Nous modélisons cela par l'augmentation du paramètre $\nu_{\max\text{HK}}$. En prenant comme valeurs possibles pour ce paramètre la valeur par défaut et deux valeurs plus grandes, nous savons que dans toutes les combinaisons possibles que nous créons à partir de la table 4.3, la valeur de $\nu_{\max\text{HK}}$ sera supérieure ou égale à la valeur de ce paramètre dans le modèle initial.

4.2.2 Sélection de jeux de paramètres

Dans cette partie nous sélectionnons les jeux de paramètres qui vérifient les critères de la partie 4.1.1.

Pour chaque jeu de paramètres $\Theta_i \in \mathbb{R}_+^{10}$ où $i = \{1, \dots, 59049\}$, nous simulons le modèle (2.6) correspondant et nous calculons son point d'équilibre \tilde{x}_i^* . x^* désignant le point d'équilibre du modèle par

$\nu_{\max\text{HK}}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$5 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-1}$
$\nu_{\max\text{PK}}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-4}$	$1.4 \cdot 10^{-3}$
$\nu_{\max\text{LDH}}$	$6 \cdot 10^{-9}$	$5 \cdot 10^{-8}$	$1 \cdot 10^{-7}$
$\nu_{\max\text{PDH}}$	$5 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-5}$	$7.1 \cdot 10^{-5}$
$\nu_{\max\text{PC}}$	$1.76 \cdot 10^{-8}$	$1.76 \cdot 10^{-6}$	$1.76 \cdot 10^{-4}$
$\nu_{\max\text{Resp}}$	$5 \cdot 10^{-4}$	$8 \cdot 10^{-4}$	$1.3 \cdot 10^{-3}$
$\nu_{\max\text{ACL}}$	$2.4 \cdot 10^{-5}$	$2.4 \cdot 10^{-4}$	$2.4 \cdot 10^{-3}$
$\nu_{\max\text{VPALM}}$	$2.95 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-3}$
$\nu_{\max\text{CITSrev}}$	$3.9 \cdot 10^{-5}$	$3.9 \cdot 10^{-3}$	$3.9 \cdot 10^{-1}$
$\nu_{\max\text{ME}}$	$1.3 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-3}$

TABLE 4.3 – Les valeurs attribuées à chaque paramètre. Les cases grisés sont les valeurs par défaut des paramètres, les valeurs du chapitre 2.

défaut, nous vérifions les conditions suivantes :

$$\left\{ \begin{array}{l} \tilde{\text{ATP}}_i^* < \text{ATP}^* \\ \tilde{\text{LAC}}_i^* > \text{LAC}^* \\ \tilde{\text{PALM}}_i^* > \text{PALM}^* \\ \frac{\tilde{\text{NAD}}_i^*}{\tilde{\text{NADH}}_i^*} > \frac{\text{NAD}^*}{\text{NADH}^*} \\ \frac{\tilde{\text{NADP}}_i^*}{\tilde{\text{NADPH}}_i^*} > \frac{\text{NADP}^*}{\text{NADPH}^*} \\ \tilde{\nu}_{\text{CITS}i}^* < 0 \end{array} \right. \quad (4.3)$$

Si les six conditions sont vérifiées, alors nous conservons Θ_i , et si au moins l'une de ces conditions n'est pas vérifiée, nous le rejetons.

Parmi les 3^{10} modèles créés, seuls 7051 modèles vérifient ces conditions. Cela nous permet d'éliminer 88% des jeux de paramètres initiaux. Nous allons plus loin en appliquant les mêmes conditions aux modèles par phase créés dans le chapitre 3.

Tout comme précédemment, pour chaque jeu de paramètre Θ_i vérifiant (4.3), nous calculons les points d'équilibre des modèles G1 ($\tilde{x}_{G1,i}^*$), S ($\tilde{x}_{S,i}^*$) et G2 ($\tilde{x}_{G2,i}^*$) modifiés et nous les comparons aux points d'équilibre des modèles G1 (x_{G1}^*), S (x_S^*) et G2 (x_{G2}^*) initiaux :

$$G1 \left\{ \begin{array}{l} \tilde{\text{ATP}}_{G1,i}^* < \text{ATP}_{G1}^* \\ \tilde{\text{LAC}}_{G1,i}^* > \text{LAC}_{G1}^* \\ \tilde{\text{PALM}}_{G1,i}^* > \text{PALM}_{G1}^* \\ \frac{\tilde{\text{NAD}}_{G1,i}^*}{\tilde{\text{NADH}}_{G1,i}^*} > \frac{\text{NAD}_{G1}^*}{\text{NADH}_{G1}^*} \\ \frac{\tilde{\text{NADP}}_{G1,i}^*}{\tilde{\text{NADPH}}_{G1,i}^*} > \frac{\text{NADP}_{G1}^*}{\text{NADPH}_{G1}^*} \\ \tilde{\nu}_{\text{CITS}G1,i}^* < 0 \end{array} \right. \quad S \left\{ \begin{array}{l} \tilde{\text{ATP}}_{S,i}^* < \text{ATP}_S^* \\ \tilde{\text{LAC}}_{S,i}^* > \text{LAC}_S^* \\ \tilde{\text{PALM}}_{S,i}^* > \text{PALM}_S^* \\ \frac{\tilde{\text{NAD}}_{S,i}^*}{\tilde{\text{NADH}}_{S,i}^*} > \frac{\text{NAD}_S^*}{\text{NADH}_S^*} \\ \frac{\tilde{\text{NADP}}_{S,i}^*}{\tilde{\text{NADPH}}_{S,i}^*} > \frac{\text{NADP}_S^*}{\text{NADPH}_S^*} \\ \tilde{\nu}_{\text{CITS}S,i}^* < 0 \end{array} \right. \quad G2 \left\{ \begin{array}{l} \tilde{\text{ATP}}_{G2,i}^* < \text{ATP}_{G2}^* \\ \tilde{\text{LAC}}_{G2,i}^* > \text{LAC}_{G2}^* \\ \tilde{\text{PALM}}_{G2,i}^* > \text{PALM}_{G2}^* \\ \frac{\tilde{\text{NAD}}_{G2,i}^*}{\tilde{\text{NADH}}_{G2,i}^*} > \frac{\text{NAD}_{G2}^*}{\text{NADH}_{G2}^*} \\ \frac{\tilde{\text{NADP}}_{G2,i}^*}{\tilde{\text{NADPH}}_{G2,i}^*} > \frac{\text{NADP}_{G2}^*}{\text{NADPH}_{G2}^*} \\ \tilde{\nu}_{\text{CITS}G2,i}^* < 0 \end{array} \right.$$

Il nous reste alors 514 jeux de paramètres, soit environ 1% du nombre de jeux de paramètres que l'on avait au début.

Il faut noter que pour pouvoir modifier les modèles G1, S et G2 comme décrit ci-dessus, il nous a fallu prendre en compte le fait que le paramètre $\nu_{\max\text{VPALM}}$ est aussi modifié au cours du cycle cellulaire. Dans le chapitre 3, nous avons choisi une valeur se trouvant sur le plateau pour $\nu_{\max\text{VPALM}}^+$. Cela signifie que prendre une valeur plus haute pour ce paramètre n'entraînera probablement pas une hausse de PALM^* . Nous décidons donc de diminuer la valeur de $\nu_{\max\text{VPALM}}^+$ dans le modèle G2 initial, ainsi que la valeur de $\nu_{\max\text{VPALM}}^-$ dans les modèles G1 et S initiaux. Ces nouvelles valeurs sont indiquées dans la première ligne de la table 4.4.

Nous décidons aussi de changer la valeur de $\nu_{\max\text{VPALM}}^-$ et $\nu_{\max\text{VPALM}}^+$ dans les modèles modifiés en

fonction de la valeur de $\nu_{\max\text{VPALM}}$ (notée $\nu_{\max\text{VPALM}}^{\text{def}}$ dans la table) de Θ_i . Ainsi, si par exemple $\nu_{\max\text{VPALM}i} = 1 \cdot 10^{-3}$, alors $\nu_{\max\text{VPALM}i}^- = 1 \cdot 10^{-5}$ et $\nu_{\max\text{VPALM}i}^+ = 1 \cdot 10^{-1}$.

$\nu_{\max\text{VPALM}}^{\text{def}}$	$\nu_{\max\text{VPALM}}^-$	$\nu_{\max\text{VPALM}}^+$
$2.95 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-7}$	$5 \cdot 10^{-3}$
$5 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-2}$
$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-1}$

TABLE 4.4 – Les valeurs de ν_{VPALM}^- et ν_{VPALM}^+ en fonction de $\nu_{\max\text{VPALM}}^{\text{def}}$ (dans Θ_i ou bien dans les modèles par phase initiaux)

Pour sélectionner des jeux de paramètres, nous imposons aux quatre versions du modèle ((2.6), et les modèles par phase G1, S et G2) les six conditions (4.3). Or il n'est pas exclu que ces conditions soient vérifiées *en moyenne* mais pas tout au long du cycle cellulaire. Par exemple, nous savons que les cellules cancéreuses produisent *en moyenne* plus de lactate que les cellules saines, mais est-ce vrai dans toutes les phases ?

D'après les données expérimentales de da Veiga Moreira *et al.* [36], les conditions que l'on présente sont vérifiées tout au long du cycle pour la concentration d'ATP et les ratio NAD/NADH et NADP/NADPH, mais nous n'avons pas d'information pour les autres conditions. Dans cette thèse nous faisons le choix d'imposer ces conditions à toutes les phases. Nous pourrions, dans de futurs travaux, relacher ces contraintes et les adapter à ce qui serait connu pour chacune des phases du cycle cellulaire.

4.2.3 Statistiques des jeux de paramètres sélectionnés

Nous avons sélectionné dans la partie précédente un ensemble de 514 jeux de paramètres Θ_i . Nous n'avons pas étudié en détail chacun de ces jeux de paramètres. Nous l'avons fait pour un petit nombre et nous présentons l'analyse d'un de ces jeux de paramètres dans la partie 4.3. Dans cette partie-ci, nous tentons de donner un aperçu général de ces 514 jeux de paramètres et plus particulièrement, nous cherchons à savoir comment sont organisées les valeurs des paramètres dans cet ensemble.

Nous comptons tout d'abord pour chaque $\Theta_i \in \mathbb{R}_+^{10}$ le nombre de paramètres n'ayant pas la même valeur que dans le modèle initial, c'est-à-dire le nombre de paramètres effectivement modifiés dans le jeu sélectionné. Nous notons cette valeur $n_d \in \llbracket 1, 10 \rrbracket$. Une valeur élevée de n_d indique un jeu de paramètres se trouvant loin du jeu de paramètre initial, tandis qu'une petite valeur de n_d indique un jeu de paramètres plus proche.

Nous comptons ensuite pour chaque $j \in \llbracket 1, 10 \rrbracket$, le nombre de jeux de paramètres tels que $n_d = j$. Ces valeurs sont indiquées dans la table suivante :

j	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Nombre de Θ_i tels que $n_d = j$	0	0	2	12	68	148	172	96	16	0	0

Nous faisons la même chose pour les 3^{10} jeux de paramètres initiaux et nous comparons les deux distributions dans la figure 4.2. Nous pouvons remarquer sur cette figure que la majorité des Θ_i que nous avons sélectionnés ont cinq ou six paramètres n'ayant pas la valeur par défaut, tandis que dans l'ensemble initial de jeux de paramètres, la majeure partie ont six ou sept paramètres modifiés. Il semble donc que, en moyenne, les 514 jeux de paramètres sélectionnés dans la partie précédente sont plus parcimonieux que les jeux de paramètres initiaux.

À partir de ce comptage, nous pouvons aussi remarquer que les deux Θ_i les plus parcimonieux parmi les 514 jeux sélectionnés ne changent que deux paramètres pour remplir les différentes conditions que nous imposons. Nous affichons ces deux jeux de paramètres dans la table 4.5 où nous n'affichons que les valeurs différentes de la valeur par défaut. Il est intéressant de noter que dans les deux cas, les deux mêmes paramètres sont modifiés : $\nu_{\max\text{ACL}}$, qui vaut dans les deux cas $2.4 \cdot 10^{-3}$ et $\nu_{\max\text{LDH}}$ qui prend sa valeur intermédiaire ($5 \cdot 10^{-8}$) dans un cas et sa valeur extrême ($1 \cdot 10^{-7}$) dans l'autre.

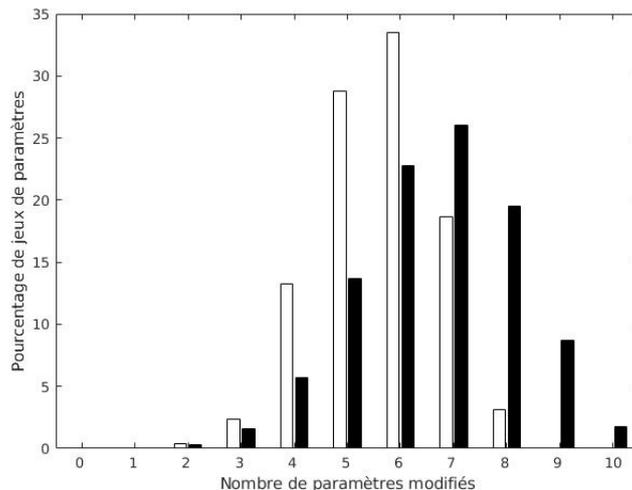


FIGURE 4.2 – Distribution du pourcentage de Θ_i en fonction du nombre de paramètres modifiés. En noir, nous représentons la distribution des 3^{10} jeux de paramètres initiaux. En blanc, nous représentons celle des 514 jeux de paramètres sélectionnés.

Paramètre	Jeu 1	Jeu 2
$\nu_{\max\text{HK}}$		
$\nu_{\max\text{PK}}$		
$\nu_{\max\text{LDH}}$	$5 \cdot 10^{-8}$	$1 \cdot 10^{-7}$
$\nu_{\max\text{PDH}}$		
$\nu_{\max\text{PC}}$		
$\nu_{\max\text{Resp}}$		
$\nu_{\max\text{ACL}}$	$2.4 \cdot 10^{-3}$	$2.4 \cdot 10^{-3}$
$\nu_{\max\text{VPALM}}$		
$\nu_{\max\text{CITSrev}}$		
$\nu_{\max\text{ME}}$		

TABLE 4.5 – Les deux jeux de paramètres parcimonieux

Nous étudions maintenant, pour chaque paramètre du vecteur (4.2), la proportion de Θ_i ayant la valeur par défaut, la valeur intermédiaire et la valeur extrême (définies dans la table 4.3). Nous affichons ces proportions sur la figure 4.3.

Nous séparons alors les paramètres en trois groupes : les indispensables, qui doivent être modifiés pour satisfaire les critères, les accessoires, que l'on peut garder à leur valeur par défaut et les paramètres intermédiaires, qui ont une distribution plus homogène.

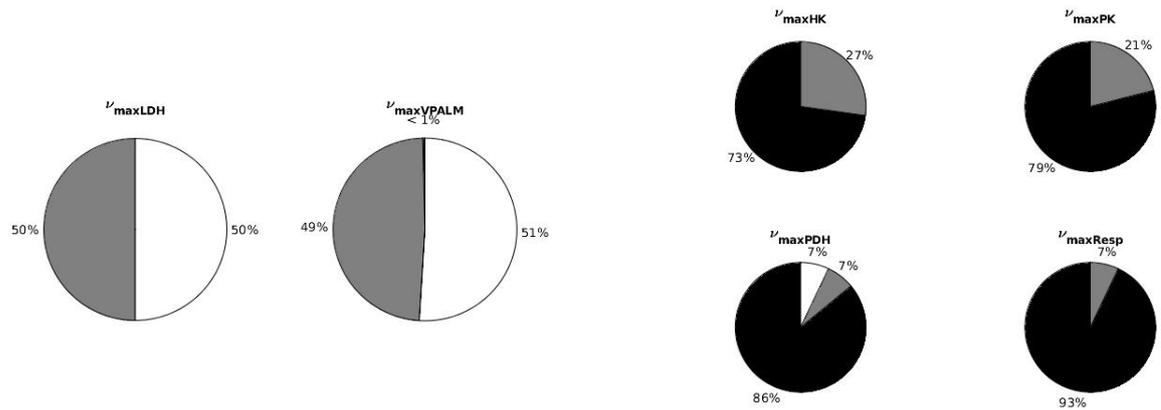
Le premier groupe de paramètres, ceux devant être modifiés, figure 4.3a, est composé des paramètres $\nu_{\max\text{LDH}}$ et $\nu_{\max\text{VPALM}}$. Il s'agit des paramètres qui n'ont jamais leur valeur par défaut à part une exception. En effet, il existe deux jeux de paramètres où $\nu_{\max\text{VPALM}}$ est égal à sa valeur par défaut. Ces deux jeux de paramètres sont les jeux présentés dans la table 4.5. Il est intéressant de noter que dans ces jeux de paramètres, le deuxième paramètre modifié est $\nu_{\max\text{ACL}}$. Ce paramètre est, tout comme $\nu_{\max\text{VPALM}}$, impliqué dans la production de lipides. Il semble que dans notre modèle, la gestion du lactate et celle des lipides soient des marqueurs forts du métabolisme du cancer.

Le deuxième groupe de paramètres, figure 4.3b, est au contraire composé des paramètres qui ont principalement leur valeur par défaut : $\nu_{\max\text{HK}}$, $\nu_{\max\text{PDH}}$, $\nu_{\max\text{PK}}$ et $\nu_{\max\text{Resp}}$. Dans nos modèles, il ne semble pas nécessaire de modifier ces paramètres pour vérifier les critères que l'on impose. Ainsi, nous pourrions décider de ne pas modifier ces paramètres par la suite. Cela pourrait par exemple nous permettre de gagner en précision dans l'étude des autres paramètres. En effet, nous pourrions recommencer

l'étude que nous venons de présenter avec six valeurs par paramètre au lieu de trois tout en ayant environ le même nombre de jeux de paramètres à étudier ($6^6 = 46656$).

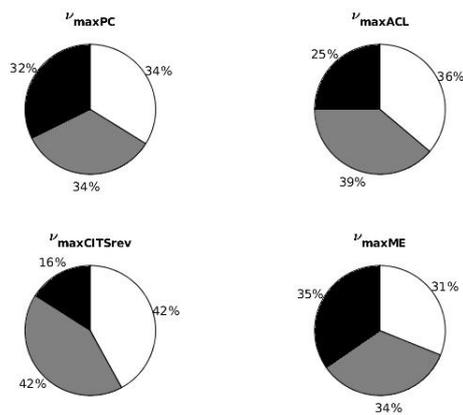
Finalement, le troisième groupe de paramètres, figure 4.3c, est composé des derniers paramètres ($\nu_{\max\text{ACL}}$, $\nu_{\max\text{CITSrev}}$, $\nu_{\max\text{ME}}$ et $\nu_{\max\text{PC}}$). Comme on peut le voir sur la figure, la distribution des différentes valeurs est homogène pour ces paramètres : environ un tiers des Θ_i ont la valeur par défaut, un tiers la valeur intermédiaire et un tiers la valeur extrême.

La création de ces trois groupes nous permet de donner à chaque paramètre un statut différent. Ainsi, nous savons que nous devons modifier les paramètres du premier groupe pour obtenir les résultats que nous imposons, tandis que nous pouvons laisser aux paramètres du deuxième groupe leur valeur par défaut.



(a) Les paramètres devant être modifiés

(b) Les paramètres étant majoritairement à la valeur par défaut



(c) Les paramètres dont la distribution est relativement homogène

FIGURE 4.3 – Pour chaque paramètre, proportion de jeux de paramètres ayant la valeur par défaut (noir), la valeur intermédiaire (gris), la valeur extrême (blanc).

Dans cette partie 4.2, nous avons attribué aux paramètres sélectionnés dans la partie précédente différentes valeurs. Nous avons créé différents modèles et nous avons obtenus 514 jeux de paramètres répondant à nos critères. Nous savons ainsi que les modèles métaboliques créés dans cette partie sont, à l'équilibre, capables de s'adapter comme décrit dans la littérature aux modifications enzymatiques induites par le cancer. Obtenons-nous la même chose avec l'automate hybride ?

4.3 Extension de l'automate hybride au métabolisme des cellules cancéreuses

Dans cette partie, nous étudions comment notre système hybride s'adapte aux modifications enzymatiques dues au cancer. Pour cela, nous sélectionnons arbitrairement l'un des 514 jeux de paramètres de la partie précédente, nous créons à partir de ce jeu de paramètres les modèles par phase G1, S et G2 et nous les assemblons en un système hybride comme décrit dans le chapitre 3. Nous présentons dans la table 4.6 le jeu de paramètres sélectionné. Nous rappelons aussi les valeurs des paramètres qui changent au cours des phases du cycle cellulaire.

Paramètre	Valeur	Réaction	G1	S	G2
$\nu_{\max\text{HK}}$		PFK	$10^{-1.5}$	$10^{-3.3}$	$10^{-3.3}$
$\nu_{\max\text{PK}}$		G6PDH	10^{-5}	$10^{-3.5}$	$10^{-3.5}$
$\nu_{\max\text{LDH}}$	$5 \cdot 10^{-8}$	TKT	10^{-7}	10^{-7}	10^{-3}
$\nu_{\max\text{PDH}}$		VPALM	10^{-5}	10^{-5}	10^{-1}
$\nu_{\max\text{PC}}$	$1.76 \cdot 10^{-8}$				
$\nu_{\max\text{Resp}}$					
$\nu_{\max\text{ACL}}$	$2.4 \cdot 10^{-3}$				
$\nu_{\max\text{VPALM}}$	$1 \cdot 10^{-3}$				
$\nu_{\max\text{CITSrev}}$	$3.9 \cdot 10^{-3}$				
$\nu_{\max\text{ME}}$	$1 \cdot 10^{-3}$				

TABLE 4.6 – Valeur des paramètres pour le système hybride modifié. Une case vide représente la valeur par défaut du paramètre.

Nous vérifions tout d'abord que nous conservons avec le système hybride les critères que nous imposons aux modèles par phase (4.3)). Pour cela nous comparons dans la figure 4.4a les valeurs de concentrations d'ATP, de lactate, de palmitate et les valeurs des ratio du modèle hybride sain et du modèle hybride modifié. Nous vérifions aussi que dans le modèle hybride modifié $\nu_{\text{CITS}} < 0$ au cours du cycle cellulaire. Comme nous pouvons le voir sur cette figure, nous conservons avec ce jeu de paramètres les résultats que nous avons sur l'équilibre des modèles par phase. Il est important de noter que valider ces critères dans les modèles par phase n'assure pas de valider ces critères dans le système hybride. En effet, nous avons trouvé un jeu de paramètres faisant partie des 514 jeux sélectionnés (et donc vérifiant les critères par phase) qui ne validait pas les critères imposés dans le système hybride. Nous le présentons en annexe C.2.

Remarque : En général, deux cycles limites provenant chacun de deux simulations différentes n'ont pas les mêmes durées de phases. Afin de pouvoir les comparer, nous ne traçons pas les variables en fonction du temps mais en fonction de $\frac{x_{\text{B}}(t)}{x_{\text{B}}^0}$ qui représente l'avancement de la croissance de la biomasse. Cette valeur évolue entre 1 et 2 pour chaque simulation.

Nous comparons ensuite le comportement métabolique global du système hybride modifié avec le système hybride représentant un métabolisme sain. Pour cela nous comparons l'évolution des concentrations des métabolites impliqués dans la croissance de la biomasse ainsi que l'évolution du taux de croissance au cours du cycle cellulaire. Certaines de ces concentrations étant déjà dans la figure 4.4a, nous ne traçons que les variables manquantes sur la figure 4.4b. Comme nous pouvons le voir sur ces figures, nous retrouvons dans le modèle modifié les mêmes grandes tendances des voies métaboliques au cours du cycle cellulaire décrites dans le chapitre 3. Ce n'est pas surprenant car nous n'avons pas modifié de façon fondamentale le déroulement du cycle cellulaire entre les deux modèles. Cependant, nous ne savons pas si c'est représentatif de la réalité biologique. En effet, nous avons peu d'informations sur l'évolution du métabolisme des cellules cancéreuses au cours du cycle cellulaire. Les seules données que nous connaissons à ce propos, les données expérimentales de [36], semblent indiquer que l'évolution du métabolisme au cours du cycle cellulaire est qualitativement différente chez les cellules cancéreuses par rapport aux cellules saines. En effet, nous pouvons observer que, d'après ces données, la dynamique

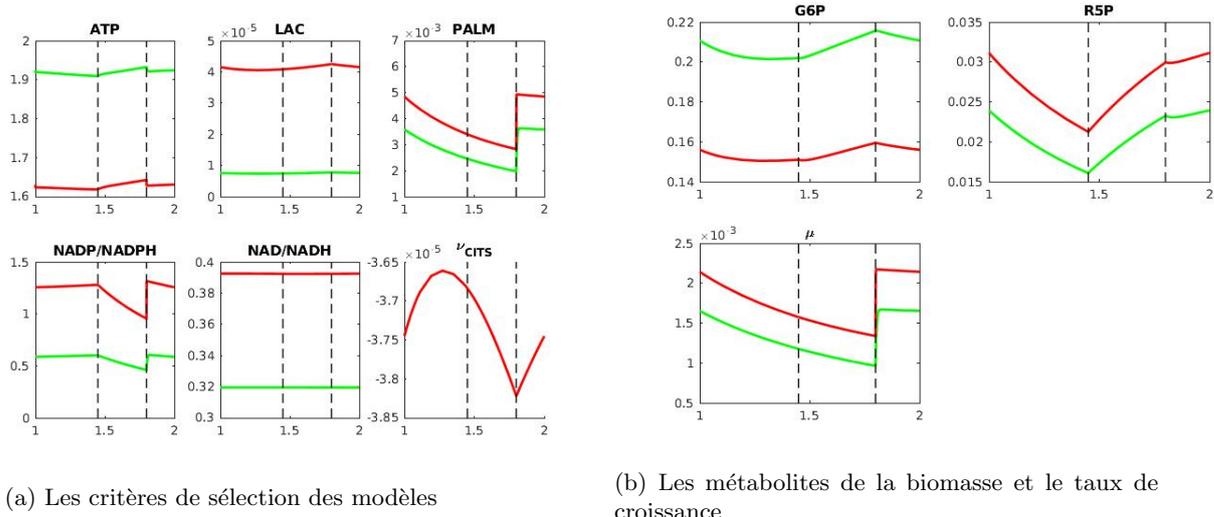


FIGURE 4.4 – Comparaison entre le modèle hybride sain (vert) et le modèle hybride modifié (rouge). Gauche : vérification des critères de sélection. Droite : Métabolites de la biomasse et taux de croissance.

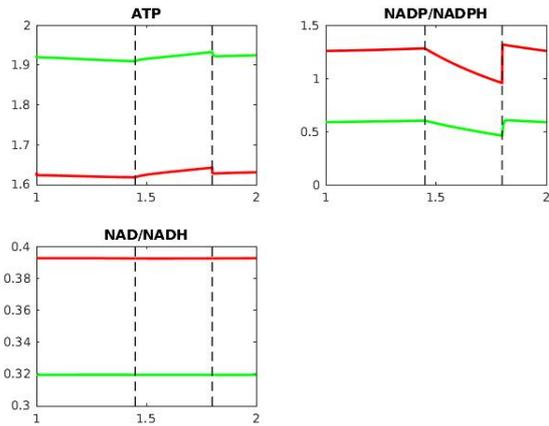
des métabolites d'échange, les métabolites marqueurs des voies, diffère entre les deux types de cellules. Il serait donc intéressant de savoir en quoi le déroulement du cycle cellulaire des cellules cancéreuses est différent de celui des cellules saines.

Nous pouvons aller plus loin que ces résultats en mettant à profit le fait qu'avec un système hybride nous avons accès à l'évolution des concentrations et des vitesses au cours d'un cycle cellulaire et non plus seulement à l'équilibre d'une phase. Nous pouvons tout d'abord comparer la durée du cycle cellulaire dans ces deux systèmes. La durée du cycle cellulaire du système représentant le métabolisme sain est de 535 heures alors que le cycle cellulaire du système modifié dure 402 heures. Ainsi, même si ces durées restent très éloignées de la réalité biologique, en apportant des modifications enzymatiques dues au cancer, nous diminuons le temps du cycle cellulaire dans notre système hybride d'environ 25%.

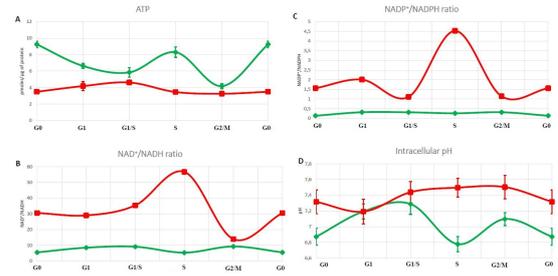
Nous pouvons aussi comparer les différences que nous avons entre nos deux modèles et les différences que l'on retrouve expérimentalement entre les cellules saines et les cellules cancéreuses. Dans la figure 4.5, nous traçons d'un côté les courbes de nos modèles et de l'autre nous reprenons les courbes expérimentales de [36].

Nous pouvons remarquer que nous retrouvons dans notre modèle une légère augmentation de l'amplitude du ratio NADP/NADPH, bien qu'elle soit plus importante dans les données expérimentales. Par contre, nous ne retrouvons pas les autres changements d'amplitudes : la concentration d'ATP ne varie pas moins et le ratio NAD/NADH est dans nos deux systèmes hybrides pratiquement constant. Nous pouvons aussi remarquer que nous ne retrouvons pas les changements de variations que l'on retrouve expérimentalement : les courbes de nos systèmes hybrides sont pratiquement parallèles, ce qui est conforme à ce que nous trouvons dans les courbes de la figure 4.4 : dans nos deux modèles, le déroulement du cycle cellulaire est identique.

Dans cette partie, nous avons étudié comment notre système hybride se comporte lorsqu'on lui applique des modifications métaboliques représentant les modifications subies par les cellules cancéreuses. Nous avons tout d'abord vérifié que nous retrouvons dans ce système les comportements métaboliques globaux altérés, comportements que l'on avait imposés aux modèles par phase (partie 4.2). Nous avons aussi mis à profit le fait que notre système hybride représente l'évolution du métabolisme au cours des phases du cycle cellulaire. En effet, nous avons alors pu comparer la durée du cycle cellulaire ainsi que les amplitudes de variations de l'ATP et des ratio NADP/NADPH et NAD/NADH à nos connaissances biologiques. Dans cette partie, nous avons illustré comment nous pouvons utiliser notre modèle hybride pour étudier des phénomènes qui affectent le métabolisme au cours du cycle cellulaire. Nous avons créé un système hybride en modifiant toutes les phases de la même façon. Mais tout comme nous ne savons pas si les cellules cancéreuses produisent plus de lactate dans toutes les phases ou bien juste *en moyenne*



(a) Courbes des modèles



(b) Courbes expérimentales

FIGURE 4.5 – Gauche : comparaison des métabolites d'échange entre le modèle hybride sain (vert) et le modèle hybride modifié (rouge). Droite : comparaison expérimentale des métabolites d'échange entre les cellules saines (vert) et les cellules cancéreuses (rouge). Les courbes expérimentales proviennent de [36]

(voir discussion dans 4.2.2), nous ne savons pas si les cellules cancéreuses expriment, par exemple, plus d'hexokinase dans toutes les phases. Il pourrait être intéressant d'étudier plus en détail ces questions, et ainsi peut-être appliquer différents changements enzymatiques en fonction des phases du cycle cellulaire. Nous pourrions alors utiliser pleinement l'aspect hybride de ce modèle en modifiant différemment les modèles G1, S et G2.

Conclusion et Perspectives

Le résultat principal de cette thèse est la construction du modèle hybride dans le chapitre 3. Nous avons réussi à intégrer les spécificités du cycle cellulaire à un modèle du métabolisme en construisant trois versions de ce modèle. Nous avons ensuite réussi à regrouper ces trois versions en un modèle hybride, représentant l'évolution du métabolisme au cours du cycle cellulaire. L'obtention de ce modèle nous permet d'avoir des résultats que nous n'aurions pu avoir avec un modèle plus classique du métabolisme comme celui du chapitre 2. En effet, nous retrouvons dans le modèle hybride des oscillations que nous ne pouvons pas retrouver dans le modèle du chapitre 2 qui tend vers un point d'équilibre.

Par ce modèle, nous proposons un résumé de nos connaissances sur les liens entre le métabolisme et le cycle cellulaire. En particulier, nous regroupons dans ce modèle nos connaissances sur l'adaptation du métabolisme au cours du cycle cellulaire. Dans cette thèse, nous n'avons pas couvert tous les aspects du couplage entre le métabolisme et le cycle cellulaire. En particulier, nous n'avons pas étudié l'influence du métabolisme sur le réseau de régulations contrôlant le déroulement de ce cycle. Bien que ces aspects ne soient pas traités, en créant notre modèle hybride, nous avons délimité les zones du modèle à modifier pour intégrer ces éléments. En effet, dans notre modèle, la partie continue représente le métabolisme et la partie discrète le cycle cellulaire. L'intégration du réseau de contrôle du cycle cellulaire se déroulera principalement au niveau de la partie discrète du modèle et l'intégration de l'influence du métabolisme sur le cycle cellulaire pourrait se faire en remplaçant la biomasse par d'autres variables adéquates comme indicateur de l'avancée du cycle cellulaire. Ainsi, il nous semble que l'approche que nous présentons est une bonne approche pour étudier le couplage entre le métabolisme et le cycle cellulaire.

Dans le chapitre 4, nous montrons aussi que notre modèle hybride est un bon outil pour étudier les maladies affectant le métabolisme et le cycle cellulaire, comme par exemple le cancer. Dans ce chapitre, nous avons perturbé nos différents modèles afin d'étudier leurs réponses à certaines modifications enzymatiques identifiées dans certains cancers. Nous avons comparé ces réponses à celles des cellules cancéreuses et nous avons retrouvé certains comportements décrits dans la littérature. Nous pourrions cependant aller plus loin et intégrer plus finement des modifications du métabolisme des cellules cancéreuses spécifiques à chaque phase. En effet, dans ce chapitre, nous avons imposé les mêmes conditions à tous les modèles par phase et nous avons appliqué les mêmes changements enzymatiques à chacun d'entre eux (à part pour les enzymes affectées par le déroulement du cycle cellulaire). Or comme énoncé dans ce chapitre, il est possible que les différences décrites dans la littérature soient en fait générales et non présentes dans chacune des phases du cycle cellulaire. Pour reprendre les exemples donnés dans ce chapitre, il est possible que les cellules produisent plus de lactate que les cellules saines dans la phase G1 mais pas dans les autres phases. Ou bien que les cellules cancéreuses aient plus d'hexokinases que les cellules saines dans la phase G1 et la phase S mais pas la phase G2. Nous pourrions aussi intégrer dans ce modèle hybride les particularités du déroulement des phases du cycle cellulaire chez les cellules cancéreuses. Ainsi, l'analyse de notre système hybride dans le chapitre 4 est un bon premier pas dans l'étude du couplage du métabolisme et du cycle cellulaire au sein des cellules cancéreuses.

Nous pouvons aussi affiner nos modèles en étudiant plusieurs pistes. Tout d'abord, nous pouvons par exemple étudier la glutaminolyse dans notre modèle afin de comprendre pourquoi dans les chapitres 2 et 3 nous n'obtenons pas ce que nous attendions à son propos : lorsque l'on augmente l'activité de la glutaminolyse, en augmentant la concentration de glutamine ou bien en augmentant le paramètre $\nu_{\max\text{GLS}}$, nous observons une diminution de la production de lactate au lieu d'une augmentation. Nous pouvons aussi, comme proposé à la fin du chapitre 3, étudier la gestion de la croissance et la production de lipides pour comprendre pourquoi le cycle cellulaire que nous simulons est si long. Nous pouvons

choisir d'étudier plus en détail l'ensemble des 514 jeux de paramètres sélectionnés dans le chapitre 4, en cherchant à savoir par exemple si certains paramètres sont toujours modifiés ensemble ou au contraire, s'il y a certains paramètres qui ne sont jamais modifiés en même temps. Finalement, nous pouvons aussi décider de changer d'approche par rapport à l'intégration des phases du cycle cellulaire dans le métabolisme. Dans cette thèse, nous avons fait le choix d'intégrer ces phases en intégrant les régulations ayant lieu sur certaines enzymes au cours du cycle cellulaire. Nous pourrions décider d'intégrer ces phases en modifiant la composition des cellules en fonction des besoins métaboliques propres à chaque phase. Selon les résultats obtenus, il pourrait aussi être envisageable de coupler les deux façons d'intégrer le cycle cellulaire.

Ainsi, comme souvent en recherche, nous avons commencé un travail avec en tête un certain nombre de pistes à étudier et nous finissons ce travail avec encore plus de pistes à explorer.

Annexes

Annexe A

Construction et analyse d'un modèle dynamique du métabolisme central du carbone

A.1 Le réseau de réactions

Dans la table A.1 nous listons les réactions que nous modélisons. La colonne "Nom" donne le nom de la réaction dans le modèle. Dans la colonne "Enzyme(s)" nous indiquons le nom de l'enzyme catalysant la réaction. Quand la réaction est une réaction agrégée, nous donnons le nom des enzymes de la chaîne de réactions. Finalement, nous donnons la réaction dans la colonne "Réaction". Les métabolites avec un e en exposant sont les entrées du modèle. Leurs concentrations sont constantes et regroupées dans le vecteur u . Les métabolites ayant un $*$ en exposant sont considérés en excès.

Nom	Enzyme(s)	Réaction
HK	Transport de glucose et Hexokinase	$GLC_{ex}^e + ATP \rightarrow G6P + ADP$
PGI	Glucose-6-phosphate isomérase	$G6P \leftrightarrow F6P$
PFK	Phosphofructokinase, Aldolase et Triose phosphate isomérase	$F6P + ATP \rightarrow 2\text{GAP} + ADP$
PGK	Glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase, Phosphoglycérate kinase, Phosphoglycérate mutase et Énolase	$GAP + ADP + NAD + Pi^* \rightarrow PEP + ATP + NADH$
PK	Pyruvate kinase	$PEP + ADP \rightarrow PYR + ATP$
G6PDH	Glucose-6-phosphate déshydrogénase, Gluconolactonase, 6-Phosphogluconate déshydrogénase, Ribulose-5-Phosphate isomérase	$G6P + 2\text{NADP} \rightarrow R5P + 2\text{NADPH} + CO_2^*$
EP	Ribulose-5-Phosphate isomérase et Épimérase	$R5P \rightarrow X5P$
TKT	Transkétolase et Transaldolase	$R5P + 2\text{X5P} \rightarrow 2\text{F6P} + \text{GAP}$
PDH	Pyruvate déshydrogénase	$PYR + NAD + CoA^* \rightarrow ACoA + NADH + CO_2^*$
CS	Citrate synthase	$ACoA + OXA \rightarrow CIT + CoA^*$
CITS	Aconitase et Isocitrate déshydrogénase	$CIT + NAD \rightarrow AKG + NADH + CO_2^*$

Nom	Enzyme(s)	Réaction
AKGDH	α -Cétoglutarate deshydrogénase et Succinyl-CoA synthétase	$AKG + NAD + ADP + Pi^* \rightarrow SUC + NADH + ATP + CO_2^*$
SDH	Succinate deshydrogénase, Fumarase et une partie de la chaîne respiratoire	$SUC + 0.66 NAD \rightarrow MAL + 0.66 NADH$
MLD	Malate déshydrogénase	$MAL + NAD \rightarrow OXA + NADH$
PC	Pyruvate carboxylase	$PYR + ATP + CO_2^* \rightarrow OXA + ADP + Pi^*$
LDH	Lactate déshydrogénase	$PYR + NADH \rightarrow LAC + NAD$
ACL	ATP citrate lyase	$CIT + CoA^* + ATP \rightarrow OXA + ACoA + ADP + Pi^*$
VPALM	Voir le cours [119]	$8 ACoA + 7 ATP + 14 NADPH \rightarrow PALM + 8 CoA^* + 7 ADP + 14 NADP + 7 Pi^*$
GLS	Glutaminase	$GLN_{ex}^e \rightarrow GLU + NH_4$
GLDH	Glutamate déshydrogénase	$GLU + NAD \rightarrow AKG + NADH + NH_4$
AlaTA	Alanine aminotransférase	$GLU + PYR \rightarrow AKG + ALA$
ME	Enzyme malique à NADP	$MAL + NADP \rightarrow PYR + NADPH + CO_2^*$
GluT	Transport de glutamate	$GLU \rightarrow GLU_{ex}$
ATPase	ATPase	$ATP \rightarrow ADP + Pi^*$
NADPHox	NADPH oxydase	$NADPH \rightarrow NADP$
Resp	Chaîne respiratoire	$2 NADH + 4.2 ADP + O_2^e + 4.2 Pi^* \rightarrow 2 NAD + 4.2 ATP$
leak	Fuite d'électron	$2 NADH \rightarrow 2 NAD$
AK	Adénylate kinase	$ATP + AMP \leftrightarrow 2 ADP$
Growth	Modélisation de croissance	$\delta_G G6P + \delta_R R5P + \delta_P PALM + \delta_A ATP \rightarrow X + \delta_A ADP + \delta_A Pi^*$

TABLE A.1 – Liste des réactions du modèle.

A.2 Les métabolites

Nous listons dans la table A.2 les métabolites et les variables du modèle. Nous indiquons dans la colonne “Statut” si le métabolite est une variable, une entrée du modèle ou bien un métabolite en excès. Dans la colonne “Vecteur” nous indiquons dans quel vecteur le métabolite se trouve. Dans les deux colonnes suivantes, nous donnons le nom et l’abréviation du métabolite.

Statut	Vecteur	Nom	Abréviation
Variables	$x_I(t)$	Glucose-6-phosphate	G6P
		Fructose-6-Phosphate	F6P
		Glycéraldéhyde Phosphate	GAP
		Acide phosphoénolpyruvique	PEP
		Pyruvate	PYR
		Ribose-5-Phosphate	R5P
		Xylulose-5-Phosphate	X5P
		Acétyl CoA	ACoA
		Citrate	CIT
		α Cétoglutarate	AKG
		Succinate	SUC
		Malate	MAL
		Oxalo-acétate	OXA
		Lactate	LAC
		Palmitate	PALM
		Glutamate	GLU
		Alanine	ALA
		Ammonium	NH ₄
	Glutamate extérieur	GLU _{ex}	
	$x_{II}(t)$	Adénosine triphosphate	ATP
Adénosine diphosphate		ADP	
Adénosine monophosphate		AMP	
Nicotinamide adénine dinucléotide oxydé		NAD	
Nicotinamide adénine dinucléotide réduit		NADH	
Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate oxydé		NADP	
Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit		NADPH	
$x_B(t)$	Biomasse	X	
Entrées	$u(t)$	Glucose extérieur	GLC _{ex}
		Dioxygène	O ₂
		Glutamine extérieure	GLN _{ex}
Excès		Phosphate	Pi*
		Dioxyde de Carbone	CO ₂ *
		Coenzyme A	CoA*

TABLE A.2 – Liste des métabolites et des variables du modèle.

A.3 Le système d’équations différentielles

Ci-dessous se trouvent le système d’équations différentielles du modèle. ν_{nom} est la vitesse de la réaction **nom**, présentée dans la partie A.5. Pour simplifier les notations, le temps n’est pas indiqué. Certains métabolites d’échange participent à de nombreuses réactions. Pour simplifier l’écriture, certains termes ont donc été regroupés en fonction des voies métaboliques. Ces regroupements sont indiqués par $\tilde{\nu}$ et sont détaillés par la suite.

$$\begin{aligned}
\frac{dG6P}{dt} &= \nu_{HK} - \nu_{PGI} - \nu_{G6PDH} - \delta_G \mu - \mu_{G6P} \\
\frac{dF6P}{dt} &= \nu_{PGI} - \nu_{PFK} + 2 \nu_{TKT} - \mu_{F6P} \\
\frac{dGAP}{dt} &= 2 \nu_{PFK} - \nu_{PGK} + \nu_{TKT} - \mu_{GAP} \\
\frac{dPEP}{dt} &= \nu_{PGK} - \nu_{PK} - \mu_{PEP} \\
\frac{dPYR}{dt} &= \nu_{PK} - \nu_{LDH} - \nu_{PDH} - \nu_{PC} + \nu_{ME} - \nu_{AlaTA} - \mu_{PYR} \\
\frac{dR5P}{dt} &= \nu_{G6PDH} - \nu_{EP} - \nu_{TKT} - \delta_R \mu - \mu_{R5P} \\
\frac{dX5P}{dt} &= \nu_{EP} - 2 \nu_{TKT} - \mu_{X5P} \\
\frac{dACoA}{dt} &= \nu_{PDH} - \nu_{CS} + \nu_{ACL} - 8 \nu_{PALM} - \mu_{ACoA} \\
\frac{dCIT}{dt} &= \nu_{CS} - \nu_{CITS} - \nu_{ACL} - \mu_{CIT} \\
\frac{dAKG}{dt} &= \nu_{CITS} - \nu_{AKGDH} + \nu_{GLDH} + \nu_{AlaTA} - \mu_{AKG} \\
\frac{dSUC}{dt} &= \nu_{AKGDH} - \nu_{SDH} - \mu_{SUC} \\
\frac{dMAL}{dt} &= \nu_{SDH} - \nu_{MLD} - \nu_{ME} - \mu_{MAL} \\
\frac{dOXA}{dt} &= -\nu_{CS} + \nu_{ACL} + \nu_{MLD} + \nu_{PC} - \mu_{OXA} \\
\frac{dLAC}{dt} &= \nu_{LDH} - \mu_{LAC} \\
\frac{dPALM}{dt} &= \nu_{VPALM} - \delta_P \mu - \mu_{PALM} \\
\frac{dGLU}{dt} &= \nu_{GLS} - \nu_{GluT} - \nu_{GLDH} - \nu_{AlaTA} - \mu_{GLU} \\
\frac{dALA}{dt} &= \nu_{AlaTA} - \mu_{ALA} \\
\frac{dNH_4}{dt} &= \nu_{GLS} + \nu_{GLDH} - \mu_{NH_4} \\
\frac{dGLU_{ex}}{dt} &= \nu_{GluT} - \mu_{GLU_{ex}} \\
\frac{dATP}{dt} &= \tilde{\nu}_{glyc} + \tilde{\nu}_{psTCA} + \tilde{\nu}_{NRJ} - \delta_A \mu \\
\frac{dADP}{dt} &= -\tilde{\nu}_{glyc} - \tilde{\nu}_{psTCA} - \tilde{\nu}_{NRJ} + \nu_{AK} + \delta_A \mu \\
\frac{dAMP}{dt} &= -\nu_{AK} \\
\frac{dNAD}{dt} &= \tilde{\nu}_{glycLac} - \tilde{\nu}_{TCA} - \nu_{GLDH} + \tilde{\nu}_{cof} \\
\frac{dNADH}{dt} &= -\tilde{\nu}_{glycLac} + \tilde{\nu}_{TCA} + \nu_{GLDH} - \tilde{\nu}_{cof} \\
\frac{dNADP}{dt} &= -2 \nu_{G6PDH} - \nu_{ME} + \nu_{NADPHox} + 14 \nu_{PALM} \\
\frac{dNADP}{dt} &= 2 \nu_{G6PDH} + \nu_{ME} - \nu_{NADPHox} - 14 \nu_{PALM} \\
\frac{dx_B}{dt} &= \mu_{x_B}
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
\tilde{\nu}_{\text{glyc}} &= -\nu_{\text{HK}} - \nu_{\text{PFK}} + \nu_{\text{PGK}} + \nu_{\text{PK}} \\
\tilde{\nu}_{\text{psTCA}} &= -\nu_{\text{ACL}} - \nu_{\text{PC}} + \nu_{\text{AKGDH}} - 7 \nu_{\text{VPALM}} \\
\tilde{\nu}_{\text{NRJ}} &= -\nu_{\text{ATPase}} + 4.2 \nu_{\text{Resp}} - \nu_{\text{AK}} \\
\tilde{\nu}_{\text{glycLac}} &= -\nu_{\text{PGK}} + \nu_{\text{LDH}} \\
\tilde{\nu}_{\text{TCA}} &= \nu_{\text{PDH}} + \nu_{\text{CITS}} + \nu_{\text{AKGDH}} + 0.66 \nu_{\text{SDH}} + \nu_{\text{MLD}} \\
\tilde{\nu}_{\text{cof}} &= 2 \nu_{\text{resp}} + 2 \nu_{\text{leak}}
\end{aligned}$$

A.4 Les régulations allostériques

Nous listons toutes les régulations allostériques que nous modélisons dans la table A.3.

Réaction	Inhibiteur	Réaction	Activateur
HK	G6P	HK	AMP/ATP
PGI_{dir}	PEP	PFK	AMP/ATP
PFK	CIT	PK	F6P
		LDH	AMP/ATP

TABLE A.3 – Liste des régulations modélisées.
Gauche : les inhibitions. Droite : les activations.

A.5 Les vitesses

Nous présentons ci-dessous la vitesse de chaque réaction. Pour simplifier les notations, le temps n'est pas indiqué et les paramètres sont numérotés par réaction, sauf les ν_{max} . Par exemple, dans la vitesse de **HK**, il y a deux K_m : K_{m1} et K_{m2} . K_{m1} apparait dans le facteur lié à GLC_{ex} , il correspond donc à $K_{m_{\text{HK_GLC}_{\text{ex}}}}$ dans la table des paramètres A.4. K_{m2} correspond à $K_{m_{\text{HK_ATP/ADP}}}$.

$$\begin{aligned}
\nu_{\text{HK}} &= \nu_{\text{maxHK}} \frac{\text{GLC}_{\text{ex}} \left(1 + \frac{\beta}{\alpha K_a} \frac{\text{AMP}}{\text{ATP}}\right)}{K_{m1} \left(1 + \frac{1}{K_a} \frac{\text{AMP}}{\text{ATP}}\right) + \text{GLC}_{\text{ex}} \left(1 + \frac{1}{\alpha K_a} \frac{\text{AMP}}{\text{ATP}}\right)} \frac{\frac{\text{ATP}}{\text{ADP}}}{K_{m2} + \frac{\text{ATP}}{\text{ADP}}} \frac{K_i}{K_i + \text{G6P}} \\
\nu_{\text{PGI}} &= \nu_{\text{maxPGI}_{\text{dir}}} \frac{\text{G6P}}{K_{m1} + \text{G6P}} \frac{K_i}{K_i + \text{PEP}} - \nu_{\text{maxPGI}_{\text{rev}}} \frac{\text{F6P}}{K_{m2} + \text{F6P}} \\
\nu_{\text{PFK}} &= \nu_{\text{maxPFK}} \frac{\text{F6P} \left(1 + \frac{\beta}{\alpha K_a} \frac{\text{AMP}}{\text{ATP}}\right)}{K_{m1} \left(1 + \frac{1}{K_a} \frac{\text{AMP}}{\text{ATP}}\right) + \text{F6P} \left(1 + \frac{1}{\alpha K_a} \frac{\text{AMP}}{\text{ATP}}\right)} \frac{\frac{\text{ATP}}{\text{ADP}}}{K_{m2} + \frac{\text{ATP}}{\text{ADP}}} \frac{K_i}{K_i + \text{CIT}} \\
\nu_{\text{PGK}} &= \nu_{\text{maxPGK}} \frac{\text{GAP}}{K_{m1} + \text{GAP}} \frac{\frac{\text{ADP}}{\text{ATP}}}{K_{m2} + \frac{\text{ADP}}{\text{ATP}}} \frac{\frac{\text{NAD}}{\text{NADH}}}{K_{m3} + \frac{\text{NAD}}{\text{NADH}}} \\
\nu_{\text{PK}} &= \nu_{\text{maxPK}} \frac{\text{PEP} \left(1 + \frac{\beta}{\alpha K_a} \text{F6P}\right)}{K_{m1} \left(1 + \frac{1}{K_a} \text{F6P}\right) + \text{PEP} \left(1 + \frac{1}{\alpha K_a} \text{F6P}\right)} \frac{\frac{\text{ADP}}{\text{ATP}}}{K_{m2} + \frac{\text{ADP}}{\text{ATP}}} \\
\nu_{\text{LDH}} &= \nu_{\text{maxLDH}} \frac{\text{PYR} \left(1 + \frac{\beta}{\alpha K_a} \frac{\text{AMP}}{\text{ATP}}\right)}{K_{m1} \left(1 + \frac{1}{K_a} \frac{\text{AMP}}{\text{ATP}}\right) + \text{PYR} \left(1 + \frac{1}{\alpha K_a} \frac{\text{AMP}}{\text{ATP}}\right)} \frac{\frac{\text{NADH}}{\text{NAD}}}{K_{m2} + \frac{\text{NADH}}{\text{NAD}}} \\
\nu_{\text{G6PDH}} &= \nu_{\text{maxG6PDH}} \frac{\text{G6P}}{K_{m1} + \text{G6P}} \frac{\frac{\text{NADP}}{\text{NADPH}}}{K_{m2} + \frac{\text{NADP}}{\text{NADPH}}} \\
\nu_{\text{EP}} &= \nu_{\text{maxEP}} \frac{\text{R5P}}{K_m + \text{R5P}}
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
\nu_{\text{TKT}} &= \nu_{\text{maxTKT}} \frac{\text{R5P}}{K_{m1} + \text{R5P}} \frac{\text{X5P}}{K_{m2} + \text{X5P}} \\
\nu_{\text{PDH}} &= \nu_{\text{maxPDH}} \frac{\text{PYR}}{K_{m1} + \text{PYR}} \frac{\frac{\text{NAD}}{\text{NADH}}}{K_{m2} + \frac{\text{NAD}}{\text{NADH}}} \\
\nu_{\text{CS}} &= \nu_{\text{maxCS}} \frac{\text{ACoA}}{K_{m1} + \text{ACoA}} \frac{\text{OXA}}{K_{m2} + \text{OXA}} \\
\nu_{\text{CITS}} &= \nu_{\text{maxCITS}} \frac{\text{CIT}}{K_{m1} + \text{CIT}} \frac{\frac{\text{NAD}}{\text{NADH}}}{K_{m2} + \frac{\text{NAD}}{\text{NADH}}} \\
\nu_{\text{AKGDH}} &= \nu_{\text{maxAKGDH}} \frac{\text{AKG}}{K_{m1} + \text{AKG}} \frac{\frac{\text{NAD}}{\text{NADH}}}{K_{m2} + \frac{\text{NAD}}{\text{NADH}}} \frac{\frac{\text{ADP}}{\text{ATP}}}{K_{m3} + \frac{\text{ADP}}{\text{ATP}}} \\
\nu_{\text{SDH}} &= \nu_{\text{maxSDH}} \frac{\text{SUC}}{K_{m1} + \text{SUC}} \frac{\frac{\text{NAD}}{\text{NADH}}}{K_{m2} + \frac{\text{NAD}}{\text{NADH}}} \\
\nu_{\text{MLD}} &= \nu_{\text{maxMLD}} \frac{\text{MAL}}{K_{m1} + \text{MAL}} \frac{\frac{\text{NAD}}{\text{NADH}}}{K_{m2} + \frac{\text{NAD}}{\text{NADH}}} \\
\nu_{\text{PC}} &= \nu_{\text{maxPC}} \frac{\text{PYR}}{K_{m1} + \text{PYR}} \frac{\frac{\text{ATP}}{\text{ADP}}}{K_{m2} + \frac{\text{ATP}}{\text{ADP}}} \\
\nu_{\text{ACL}} &= \nu_{\text{maxACL}} \frac{\text{CIT}}{K_{m1} + \text{CIT}} \frac{\frac{\text{ATP}}{\text{ADP}}}{K_{m2} + \frac{\text{ATP}}{\text{ADP}}} \\
\nu_{\text{PALM}} &= \nu_{\text{maxPALM}} \frac{\text{ACoA}}{K_{m1} + \text{ACoA}} \frac{\frac{\text{ATP}}{\text{ADP}}}{K_{m2} + \frac{\text{ATP}}{\text{ADP}}} \frac{\frac{\text{NADPH}}{\text{NADP}}}{K_{m3} + \frac{\text{NADPH}}{\text{NADP}}} \\
\nu_{\text{GLS}} &= \nu_{\text{maxGLS}} \frac{\text{GLN}_{\text{ex}}}{K_m + \text{GLN}_{\text{ex}}} \\
\nu_{\text{GLDH}} &= \nu_{\text{maxGLDH}} \frac{\text{GLU}}{K_{m1} + \text{GLU}} \frac{\frac{\text{NAD}}{\text{NADH}}}{K_{m2} + \frac{\text{NAD}}{\text{NADH}}} \\
\nu_{\text{AlaTA}} &= \nu_{\text{maxAlaTA}} \frac{\text{GLU}}{K_{m1} + \text{GLU}} \frac{\text{PYR}}{K_{m2} + \text{PYR}} \\
\nu_{\text{ME}} &= \nu_{\text{maxME}} \frac{\text{MAL}}{K_{m1} + \text{MAL}} \frac{\frac{\text{NADP}}{\text{NADPH}}}{K_{m2} + \frac{\text{NADP}}{\text{NADPH}}} \\
\nu_{\text{GluT}} &= \nu_{\text{maxGluT}} \frac{\text{GLU}}{K_m + \text{GLU}} \\
\nu_{\text{ATPase}} &= \nu_{\text{maxATPase}} \frac{\text{ATP}}{K_m + \text{ATP}} \\
\nu_{\text{NADPHox}} &= \nu_{\text{maxNADPHox}} \frac{\text{NADPH}}{K_m + \text{NADPH}} \\
\nu_{\text{Resp}} &= \nu_{\text{maxResp}} \frac{\frac{\text{NADH}}{\text{NAD}}}{K_{m1} + \frac{\text{NADH}}{\text{NAD}}} \frac{\frac{\text{ADP}}{\text{ATP}}}{K_{m2} + \frac{\text{ADP}}{\text{ATP}}} \frac{\text{O}_2}{K_{m3} + \text{O}_2} \\
\nu_{\text{leak}} &= \nu_{\text{maxleak}} \frac{\text{NADH}}{K_m + \text{NADH}} \\
\nu_{\text{AK}} &= \nu_{\text{AKdir}} \frac{\text{ATP}}{K_{m1} + \text{ATP}} \frac{\text{AMP}}{K_{m2} + \text{AMP}} - \nu_{\text{maxAKrev}} \frac{\text{ADP}}{K_{m3} + \text{ADP}} \\
\mu &= \mu_{\text{max}} \frac{\text{G6P}}{K_{m1} + \text{G6P}} \frac{\text{R5P}}{K_{m2} + \text{R5P}} \frac{\text{PALM}}{K_{m3} + \text{PALM}} \frac{\text{ATP}}{K_{m4} + \text{ATP}}
\end{aligned}$$

A.6 Les paramètres du modèle

Dans la table A.4 nous listons tous les paramètres du modèle avec leur valeur et leur unité. Ces paramètres proviennent des modèles de da Veiga Moreira *et al.* [57] et Robitaille *et al.* [32].

Nom	Valeur	Unité
$\nu_{\max HK}$	$1.0 \cdot 10^{-2}$	mM h^{-1}
$K_{m_HK_GLC_{ex}}$	3	mM
$K_{m_HK_ATP/ADP}$	5	\emptyset
$K_{a_HK_AMP/ATP}$	$9.04 \cdot 10^{-2}$	\emptyset
$\alpha_{HK_AMP/ATP}$	$4.712 \cdot 10^{-1}$	\emptyset
$\beta_{HK_AMP/ATP}$	10.4557	\emptyset
$K_{i_HK_G6P}$	$1.09 \cdot 10^{-2}$	mM
$\nu_{\max PGI_{dir}}$	$7.6 \cdot 10^{-4}$	mM h^{-1}
$K_{m_PGI_{dir}_G6P}$	$1.83 \cdot 10^{-2}$	mM
$K_{i_PGI_{dir}_PEP}$	$2.357 \cdot 10^{-1}$	mM
$\nu_{\max PGI_{rev}}$	$3.5 \cdot 10^{-4}$	mM h^{-1}
$K_{m_PGI_{rev}_F6P}$	$1.0 \cdot 10^{-2}$	mM
$\nu_{\max PFK}$	$1.5 \cdot 10^{-3}$	mM h^{-1}
$K_{m_PFK_F6P}$	$1.0 \cdot 10^{-2}$	mM
$K_{m_PFK_ATP/ADP}$	5	\emptyset
$K_{a_PFK_AMP/ATP}$	$9.04 \cdot 10^{-2}$	\emptyset
$\alpha_{PFK_AMP/ATP}$	$4.712 \cdot 10^{-1}$	\emptyset
$\beta_{PFK_AMP/ATP}$	10.4557	\emptyset
$K_{i_PFK_CIT}$	471.3376	mM
$\nu_{\max PGK}$	$9.91 \cdot 10^{-4}$	mM h^{-1}
$K_{m_PGK_GAP}$	0.1	mM
$K_{m_PGK_ADP/ATP}$	0.2	\emptyset
$K_{m_PGK_NAD/NADH}$	$4.8 \cdot 10^{-2}$	\emptyset
$\nu_{\max PK}$	$1.4 \cdot 10^{-3}$	mM h^{-1}
$K_{m_PK_PEP}$	$5 \cdot 10^{-2}$	mM
$K_{m_PK_ADP/ATP}$	0.2	\emptyset
$K_{a_PK_F6P}$	3.121	mM
α_{PK_F6P}	4.1113	\emptyset
β_{PK_F6P}	1.745	\emptyset
$\nu_{\max G6PDH}$	$1.5 \cdot 10^{-5}$	mM h^{-1}
$K_{m_G6PDH_G6P}$	$1.83 \cdot 10^{-2}$	mM
$K_{m_G6PDH_NADP/NADPH}$	2	\emptyset
$\nu_{\max EP}$	$1.3 \cdot 10^{-5}$	mM h^{-1}
$K_{m_EP_R5P}$	$4.46 \cdot 10^{-2}$	mM
$\nu_{\max TKT}$	$2.3 \cdot 10^{-5}$	mM h^{-1}
$K_{m_TKT_R5P}$	$4.46 \cdot 10^{-2}$	mM
$K_{m_TKT_X5P}$	$7 \cdot 10^{-3}$	mM
$\nu_{\max PDH}$	$7.1 \cdot 10^{-5}$	mM h^{-1}
$K_{m_PDH_PYR}$	0.1	mM
$K_{m_PDH_NAD/NADH}$	$4.8 \cdot 10^{-2}$	\emptyset
$\nu_{\max CS}$	$8.8 \cdot 10^{-5}$	mM h^{-1}
$K_{m_CS_ACoA}$	$1 \cdot 10^{-2}$	mM
$K_{m_CS_OXA}$	$1.401 \cdot 10^{-1}$	mM
$\nu_{\max CITS}$	$3.9 \cdot 10^{-5}$	mM h^{-1}
$K_{m_CITS_CIT}$	$1.019 \cdot 10^{-1}$	mM
$K_{m_CITS_NAD/NADH}$	$4.8 \cdot 10^{-2}$	\emptyset

$\nu_{\max AKGDH}$	$2.4 \cdot 10^{-4}$	mM h^{-1}
$K_{m_AKGDH_AKG}$	$7.006 \cdot 10^{-1}$	mM
$K_{m_AKGDH_NAD/NADH}$	$4.8 \cdot 10^{-2}$	\emptyset
$K_{m_AKGDH_ADP/ATP}$	0.2	\emptyset
$\nu_{\max SDH}$	$4 \cdot 10^{-4}$	mM h^{-1}
$K_{m_SDH_SUC}$	$1.465 \cdot 10^{-1}$	mM
$K_{m_SDH_NAD/NADH}$	$4.8 \cdot 10^{-2}$	\emptyset
$\nu_{\max MLD}$	$9.5 \cdot 10^{-5}$	mM h^{-1}
$K_{m_MLD_MAL}$	0.5	mM
$K_{m_MLD_NAD/NADH}$	$4.8 \cdot 10^{-2}$	\emptyset
$\nu_{\max PC}$	$1.76 \cdot 10^{-4}$	mM h^{-1}
$K_{m_PC_PYR}$	0.1	mM
$K_{m_PC_ATP/ADP}$	5	\emptyset
$\nu_{\max LDH}$	$6 \cdot 10^{-9}$	mM h^{-1}
$K_{m_LDH_PYR}$	0.1	mM
$K_{m_LDH_NADH/NAD}$	8.3	\emptyset
$K_{a_LDH_AMP/ATP}$	$9.04 \cdot 10^{-2}$	\emptyset
$\alpha_{LDH_AMP/ATP}$	$4.712 \cdot 10^{-1}$	\emptyset
$\beta_{LDH_AMP/ATP}$	10.4557	\emptyset
$\nu_{\max ACL}$	$2.4 \cdot 10^{-5}$	mM h^{-1}
$K_{m_ACL_CIT}$	$1.019 \cdot 10^{-1}$	mM
$K_{m_ACL_ATP/ADP}$	5	\emptyset
$\nu_{\max VPALM}$	$2.95 \cdot 10^{-5}$	mM h^{-1}
$K_{m_VPALM_ACoA}$	$1 \cdot 10^{-2}$	mM
$K_{m_VPALM_ATP/ADP}$	5	\emptyset
$K_{m_VPALM_NADPH/NADP}$	0.5	\emptyset
$\nu_{\max GLS}$	$2.54 \cdot 10^{-4}$	mM h^{-1}
$K_{m_GLS_GLN_{ex}}$	0.1	mM
$\nu_{\max GLDH}$	$1.2 \cdot 10^{-6}$	mM h^{-1}
$K_{m_GLDH_GLU}$	$1 \cdot 10^{-2}$	mM
$K_{m_GLDH_NAD/NADH}$	$4.8 \cdot 10^{-2}$	\emptyset
$\nu_{\max AlaTA}$	$1.7 \cdot 10^{-4}$	mM h^{-1}
$K_{m_AlaTA_GLU}$	$1 \cdot 10^{-2}$	mM
$K_{m_AlaTA_PYR}$	0.1	mM
$\nu_{\max ME}$	$1.3 \cdot 10^{-5}$	mM h^{-1}
$K_{m_ME_MAL}$	0.5	mM
$K_{m_ME_NADP/NADPH}$	2	\emptyset
$\nu_{\max GluT}$	$1.8 \cdot 10^{-6}$	mM h^{-1}
$K_{m_GluT_GLU}$	$1 \cdot 10^{-2}$	mM
$\nu_{\max ATPase}$	$9.14 \cdot 10^{-4}$	mM h^{-1}
$K_{m_ATPase_ATP}$	1	mM
$\nu_{\max NADPHox}$	$1.4 \cdot 10^{-5}$	mM h^{-1}
$K_{m_NADPHox_NADPH}$	$5.32 \cdot 10^{-2}$	mM
$\nu_{\max Resp}$	$1.3 \cdot 10^{-3}$	mM h^{-1}
$K_{m_Resp_NADH/NAD}$	8.3	\emptyset
$K_{m_Resp_ADP/ATP}$	0.2	\emptyset

$K_{m_Resp_O_2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	mM
$\nu_{maxleak}$	$2.9 \cdot 10^{-5}$	mM h ⁻¹
$K_{m_leak_NADH}$	0.1	mM
$\nu_{maxAKdir}$	$1.8 \cdot 10^{-8}$	mM h ⁻¹
$K_{m_AKdir_ATP}$	1	mM
$K_{m_AKdir_AMP}$	$1.5 \cdot 10^{-3}$	mM
$\nu_{maxAKrev}$	$1.2 \cdot 10^{-2}$	mM h ⁻¹
$K_{m_AKdir_ADP}$	0.2	mM

μ_{max}	$1.35 \cdot 10^{-2}$	h ⁻¹
$K_{m_Growth_G6P}$	$6.309 \cdot 10^{-7}$	mM
$K_{m_Growth_R5P}$	$7.1799 \cdot 10^{-5}$	mM
$K_{m_Growth_PALM}$	$2.55 \cdot 10^{-2}$	mM
$K_{m_Growth_ATP}$	$9.2 \cdot 10^{-3}$	mM
δ_G	$8.79 \cdot 10^{-5}$	mM
δ_R	$7.35 \cdot 10^{-5}$	mM
δ_P	$7.35 \cdot 10^{-5}$	mM
δ_A	$1.19 \cdot 10^{-2}$	mM

TABLE A.4 – Liste des paramètres du modèle avec leur valeur et leur unité

A.7 Concentrations initiales

Dans la table A.5 se trouve la condition initiale utilisée pour les simulations décrites dans cette thèse.

Variable	c_i	Variable	c_i
G6P	0	PALM	0
F6P	0	GLU	0
GAP	0	ALA	0
PEP	0	NH ₄	0
PYR	0	GLU _{ex}	0
LAC	0	ATP	2.63
R5P	0	ADP	$2.8 \cdot 10^{-1}$
X5P	0	AMP	$1.97 \cdot 10^{-1}$
ACoA	0	NAD	$4.4 \cdot 10^{-1}$
CIT	0	NADH	5.41
AKG	0	NADP	$2.22 \cdot 10^{-1}$
SUC	0	NADPH	$1.46 \cdot 10^{-1}$
MAL	0	X	$1.04 \cdot 10^{-4}$
OXA	0		

TABLE A.5 – Concentrations initiales des simulations

Annexe B

Article : Using a Hybrid Approach to Model Central Carbon Metabolism Across the Cell Cycle

Cet article a été présenté au workshop **Hybrid Systems and Biology 2019** à Prague et a été publié dans un volume de *Springer LNCS/LNBI series : LNBI 11705*.

Dans cet article, nous présentons une première version de l'automate hybride que nous construisons dans le chapitre 3. La version de l'automate de l'article et celui du chapitre 3 présentent deux différences.

Premièrement, dans cet article, le modèle métabolique n'est pas le même que celui que nous présentons dans le chapitre 2. Le modèle métabolique de l'article n'a pas les variables correspondant aux concentrations de GLU_{ex} , NH_4 et ALA . Dans le modèle métabolique de l'article, ces métabolites étaient encore considérés comme extracellulaire. Comme aucune autre variable ne dépend de ces concentrations, l'ajout de ces variables ne change pas la dynamique du modèle. Par contre, cela nous permet de mieux comprendre l'évolution de la glutaminolyse. La deuxième différence entre les deux automates hybrides est le choix des valeurs ν_{max}^{\pm} dans la construction des modèles $\frac{dx}{dt} = F_{G1}(x(t))$, $\frac{dx}{dt} = F_S(x(t))$ et $\frac{dx}{dt} = F_{G2}(x(t))$. Dans le chapitre 3, nous avons fait le choix de prendre des valeurs de ν_{max}^{\pm} sur ou proche des plateaux des courbes, tandis que dans l'article, nous avons fait le choix de prendre des valeurs proches de la valeur par défaut. La table B.1 regroupent les différentes valeurs de ces paramètres pour les deux versions de l'automate.

Les différences dans la construction de ces deux modèles amènent relativement peu de différences au niveau du comportement du modèle. Pour un même jeu de paramètres α, β les comportements métaboliques sont similaires et la durée d'un cycle varie peu. La différence la plus importante est que les variations entre les phases sont plus abruptes avec l'automate du chapitre 3 qu'avec celui de l'article.

Chapitre 3			Article		
Réaction	ν_{max}^-	ν_{max}^+	Réaction	ν_{max}^-	ν_{max}^+
PFK	$10^{-3.3}$	$10^{-1.5}$	PFK	$1.5 \cdot 10^{-3} \simeq 10^{-2.8}$	10^2
G6PDH	10^{-5}	$10^{-3.5}$	G6PDH	$1.5 \cdot 10^{-5} \simeq 10^{-4.8}$	$5 \cdot 10^{-4} \simeq 10^{-3.3}$
TKT	10^{-7}	10^{-3}	TKT	$2.3 \cdot 10^{-5} \simeq 10^{-4.6}$	$2.3e \cdot 10^{-4} \simeq 10^{-3.6}$
VPALM	10^{-6}	10^{-2}	VPALM	$3 \cdot 10^{-6} \simeq 10^{-5.5}$	$5 \cdot 10^{-5} \simeq 10^{-4.3}$

TABLE B.1 – Les valeurs basse et haute des paramètres ν_{max} dans les deux versions du modèle.



Using a Hybrid Approach to Model Central Carbon Metabolism Across the Cell Cycle

Cecile Moulin^{1,2}(), Laurent Tournier², and Sabine Peres^{1,2}

¹ Laboratoire de Recherche en Informatique,
Université Paris-Sud, CNRS, Université Paris-Saclay, Orsay, France
moulin@lri.fr

² MaIAGE, INRA, Université Paris-Saclay, 78350 Jouy-en-Josas, France

Abstract. Metabolism and cell cycle are two central processes in the life of a eukaryote cell. If they have been extensively studied in their own right, their interconnection remains relatively poorly understood. In this paper, we propose to use a differential model of the central carbon metabolism. After verifying the model accurately reproduces known metabolic variations during the cell cycle's phases, we extend it into a hybrid system reproducing an imposed succession of the phases. This first hybrid approach qualitatively recovers observations made in the literature, providing a interesting first step towards a better understanding of the crosstalks between cell cycle and metabolism.

AQ1

AQ2

Keywords: Metabolism · Cell cycle · Ordinary differential equations · Hybrid systems

1 Introduction

In cell biology, two mechanisms are absolutely central to understand the growth of a cell population: the metabolism and the cell division cycle. The former deals with the production of energy and the production of all molecular components needed for a cell to live and grow, while the latter ensures, when a cell has sufficiently grown, that it will divide into two daughter cells. Both mechanisms have been extensively studied over the years, however the exploration of interdependency between them is relatively recent [2, 10, 15]. The coupling of the two systems has attracted a lot of attention in recent years, as disruptions in their interconnection have been linked to severe pathologies such as cancer [3].

Similarly, from a modeling point of view the dynamical analysis of metabolism (*e.g.* [12]) and of cell cycle (*e.g.* [7]) are also relatively separate, and the coupling of metabolic and cell cycle models remains a challenging task in systems biology. In this paper, we propose a first approach towards this coupling by proposing a differential model of central carbon metabolism (CCM),

inspired from [4]. The CCM is an important metabolic part regarding both synthesis of precursors (amino acids, nucleotides, fatty acids *etc*), energy production (ATP) or redox ratios (NAD/NADH, NADP/NADPH), making this model a good candidate to analyze the effect of cell cycle on metabolic activity. We then construct different versions of the CCM model, reproducing major known effects of the cycle's phases. Finally we use a hybrid approach to simulate the dynamical succession of the phases.

This article is motivated by previous works of da Veiga Moreira *et al.* [3], where experimental results were obtained, in normal and cancer cells. In particular, they measured ATP concentrations and redox ratios at different phases of the cell cycle. These measures highlight variations across the cycle, with notable differences between normal and cancer cells. By qualitatively reproducing key experimental observations in normal cells in [3], our hybrid dynamical model constitutes an important first step towards a better understanding of metabolism along the cell cycle.

This article is organized as follows. We first present the dynamical model of the CCM (Sect. 2). Then, we analyze its sensitivity with respect to known regulations of the cell cycle, and propose different versions of the model, one for each phase (Sect. 3). Finally, we combine them into a hybrid model and simulate it on a full cycle (Sect. 4).

2 A Dynamical Model of Central Carbon Metabolism

We start with a brief presentation of the metabolic model used in this paper. This model consists of 24 ordinary differential equations summarizing the main pathways, together with the main regulations of the central carbon metabolism (CCM) in a growing population of eukaryotic cells. It is a slight adaptation of the model in [4], which is itself based on the work of Robitaille [12].

2.1 Description of the Metabolic Model

The state vector $x(t) \in \mathbb{R}_+^{24}$ is decomposed into three groups of variables:

$$x(t) = (x_I(t), x_{II}(t), x_{biomass}(t)),$$

where $x_I \in \mathbb{R}_+^{16}$ contains the concentration (expressed in mmol L^{-1}) of 16 metabolites in the CCM, including palmitate to represent lipid production; $x_{II} \in \mathbb{R}_+^7$ contains the concentration (expressed in mmol L^{-1}) of central cofactors: ATP-ADP-AMP (energy management), NAD-NADH and NADP-NADPH (redox management); finally $x_{biomass} \in \mathbb{R}_+$ represents biomass production, it is expressed in L. The differential system can be summarized by:

$$\begin{cases} \dot{x}_I &= \mathcal{S}_I \nu(x(t)) - \mu(x(t))x_I(t), \\ \dot{x}_{II} &= \mathcal{S}_{II} \nu(x(t)), \\ \dot{x}_{biomass} &= \mu(x(t))x_{biomass}(t). \end{cases} \quad (1)$$

Evolution of Metabolites. The first two equations in (1) govern the temporal evolution of the different metabolites and cofactors. The term $-\mu x_I$ represents a dilution term, modeling the fact that the cell population is growing. Note that the second equation does not have a dilution term: it is a modeling assumption to take into account the fact that the biosynthetic pathways of cofactors (such as the couple NAD/NADH for instance) are not included in the model. More precisely: every time a molecule of NADH is produced in the model, a molecule of NAD is consumed so that the sum $y(t) = NAD(t) + NADH(t)$ keeps constant. Thus, since the production *de novo* of these “exchange” metabolites is not included in the model (for the sake of simplicity), their dilution is ignored preventing unwanted exhaustion of their pools. This is the only reason why the metabolites are separated into the two groups of variables x_I and x_{II} . The remainder of the right-hand terms can be regrouped:

$$\begin{pmatrix} \mathcal{S}_I \\ \mathcal{S}_{II} \end{pmatrix} \nu(x(t)) = \mathcal{S} \nu(x(t)),$$

where $\mathcal{S} \in \mathbb{Q}^{23 \times 29}$ is the stoichiometric matrix and $\nu(x) \in \mathbb{R}^{29}$ is the vector of velocities of the 29 reactions involved in the model. These reactions recover the main pathways of the CCM: glycolysis, pentose-phosphate pathway (PPP), tricarboxylic acid cycle (TCA) as well as lactate and lipid production (see Fig. 1 for a graphical representation). Note that some reactions have been aggregated, according to the original model in [12].

The construction of the vector $\nu(x(t))$ of reaction rates is mainly based on the classical model of Michaelis-Menten for enzymatic catalysis. According to this model, the velocity of reaction $S \xrightarrow{E} P$ is given by

$$\nu = k_{cat} e(t) \frac{s(t)}{K_m + s(t)}, \quad (2)$$

where $e(t)$ and $s(t)$ designate the concentrations in enzyme and substrate, and k_{cat} and K_M are constants. For a reversible reaction r , we split it into a forward and a backward reaction:

$$\nu_r = \nu_{r-f} - \nu_{r-b},$$

the velocity of each reaction being given by (2), with different k_{cat} and K_m . In our model, enzyme concentrations are supposed fixed¹, simplifying (2) into

$$\nu = \nu_{max} \frac{s}{K_m + s}, \quad \text{where } \nu_{max} = k_{cat} e. \quad (3)$$

Finally, some known regulatory effects are included in the model, mainly under the form of multiplicative factors involving michaelis-like terms. To better see how the differential equations are constructed, let us consider an example.

¹ Note that this fact amounts to supposing that the “genetic part” of the cell ensures the maintenance of enzymatic pools.

To take into account the effect of cofactors ADP and ATP, we follow [12] and [4] and construct the function ν_{pfk} as the product of Michaelis-Menten terms:

$$\nu_{pfk} = \nu_{max} \frac{F6P}{K_{m1} + F6P} \frac{\frac{ATP}{ADP}}{K_{m2} + \frac{ATP}{ADP}}.$$

Now, two different regulations of this enzyme are known, namely a stimulation by the ratio $\frac{AMP}{ATP}$ and a (non-competitive) inhibition by citrate. Again, following [4,12] the final reaction rate of PFK is given by:

$$\nu_{pfk} = \nu_{max} \frac{\left(1 + \frac{\beta}{\alpha K} \frac{AMP}{ATP}\right) F6P}{\left(1 + \frac{1}{K} \frac{AMP}{ATP}\right) K_{m1} + \left(1 + \frac{1}{\alpha K} \frac{AMP}{ATP}\right) F6P} \frac{\frac{ATP}{ADP}}{K_{m2} + \frac{ATP}{ADP}} \frac{K_i}{K_i + CIT}.$$

For more details about these terms and their biological justification, the reader is referred to [12,13]. All the regulations included in the present model come from [4].

Biomass Production. The last equation in (1) models the growth of the cell population. It is modeled as a storage reaction, which mimics the use of certain central metabolites to represent biomass production. As described in [14], a cell needs a number of precursors such as amino acids², glycogen, nucleotides and lipids to grow. Articles [12] and [4] make the following assumptions: glycogen demand is represented by a demand in glucose-6-Phosphate (G6P), nucleotide demand by ribose-5-Phosphate (R5P) and lipid demand by palmitate (PALM). Moreover, growth needs energy, which is represented by an additional demand in adenosine triphosphate (ATP). These assumptions lead to the following growth rate:

$$\mu(x(t)) = \nu_{max} \frac{ATP}{K_{ATP} + ATP} \frac{G6P}{K_{G6P} + G6P} \frac{R5P}{K_{R5P} + R5P} \frac{PALM}{K_{PALM} + PALM}. \quad (4)$$

2.2 Simulation of the Model

The model consists in 24 highly nonlinear differential equations. It involves around a hundred parameters, which mainly come from [12] and [4]. Given its complexity, an analytical analysis of its asymptotic behavior is presently not available. Nevertheless, we performed multiple numerical simulations to test its behavior in different conditions. With respect to [12], we further simplified by considering glucose as the unique source of carbon (in the model, external glucose directly enters as G6P through the hexokinase reaction). In general, the model seems to converge to a stationary regime illustrated in Fig. 2.

² For the sake of simplicity, the demands in amino acids are ignored in this paper.

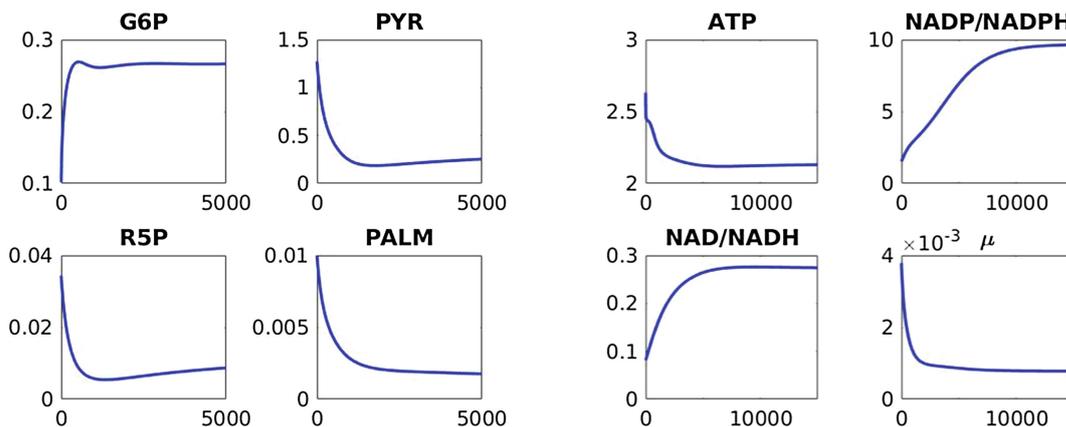


Fig. 2. Example of temporal trajectory of the metabolic model. On the left, the metabolites visually reach a stationary regime around 5 000 h. On the right, ATP, NAD/NADH and μ reach a stationary regime around 10 000 h while the ratio NADP/NADPH needs more time to reaches it. All numerical simulations of this paper are made in Matlab (The MathWorks, Inc.) with solver ode15s.

Such a stationary regime is not a proper equilibrium point, as the biomass grows exponentially. However, it seems to represent an equilibrium regime modeling a population growing in exponential phase, where all internal metabolites numerically tend to a steady state value. As expected in such conditions, glycolysis is fully running (glucose 6-phosphate and pyruvate are respectively the entry and exit points of glycolysis), while pentose phosphate pathway and lipid production are relatively low (represented respectively by ribose 5-phosphate and palmitate).

An advantage of this model is that it explicitly includes the concentration of “exchange” metabolites (group II) as variables. It is therefore possible to have a direct visualization of key functions of the cell such as energy production (through ATP) or its redox state whether in catabolism (through the ratio NAD/NADH) or in anabolism (through the ratio NADP/NADPH).

3 Reproducing Metabolic Variations Along the Cell Cycle

The system presented in the previous section is intended to model the temporal evolution of a (exponentially) growing population of cells. For a population to grow, cells need to divide, undergoing the complex process known as *cell cycle* (or cell-division cycle). This process can be defined as the series of key cellular events, including the duplication of the genetic material, to ultimately produce two genetically identical daughter cells. Schematically, it can be decomposed into four successive phases: G1-S-G2-M (sometimes a fifth phase G0 is added representing a quiescent state). The regulatory network behind this process has been extensively studied in different biological contexts, and models using different formalisms are available [7, 11]. However, understanding the interconnection between the cell cycle and metabolism remains challenging.

To understand the links between the two, a key is to understand the main role of each phase in the division process. The effects of the cycle on metabolic activity have been actively explored recently, leading to both experimental and modeling works (see *e.g.* [1,3,5,6] and references therein). Phase G1 is typically viewed as a growth phase, where the cell produces a lot of proteins. It is generally associated with high energy production, notably as ATP. Also associated with high energy, phase S is the phase of DNA duplication; it is linked to an increase of the pentose phosphate pathway, main producer of nucleotide precursors. During G2 the cell continues its growth, notably by producing membrane precursors (lipids in particular). Finally, phase M is the mitosis phase itself, where the cell actually divide into two daughter cells. Little is known about specific metabolic activity in this phase. Table 1 summarizes the main metabolic variations through the cycle's phases.

Table 1. Qualitative description of the main role of mammalian cell cycle's phases and specific metabolite demands along the phases (mainly interpreted from [3,5]).

	Main role	Specific metabolic demands
G1	Growth, production of proteins (and mRNA)	Energy (ATP) amino acids, nucleotides
S	DNA duplication	Energy and nucleotides
G2	Growth, membrane production	lipids
M	Division	not known

The main idea of this article is to use the metabolic model described in Sect. 2 to reproduce, at least on a qualitative level, the general behavior of metabolism during the cycle's phases, as described in Table 1. As a first step, in the following we investigate whether the model is able to reproduce major regulations of the CCM by the cell cycle. For that, we mainly use the review article [6] by Diaz-Moralli *et al.*, which outlines some of the major known regulations. After verifying that the model is able to reproduce all major effects described in [6], we further use this result to build three different versions of the model, each representing the CCM during a phase of the cell cycle.

3.1 Uncovering Regulatory Effects of the Cycle Phases on the CCM

For each phase G1, S and G2 we proceed in the same way. The first step is to deduce from [6] the main regulatory effects of the phase on CCM enzymes. Table 2 below reproduces all tested effects. Each regulatory effect may be positive or negative, and can act on enzyme activity (*e.g.* increased activity of G6PDH in S) or directly on enzyme level (*e.g.* accumulation of PFK in G1). In both

cases, we proceed in the same way and make vary the parameter ν_{max} (maximal velocity, see Eq. (3) above): an increase of ν_{max} either corresponds to an increased activity (*i.e.* a higher k_{cat}) or to an increase of enzyme concentration (a higher e). The second step is to select a “response” metabolite x in the model to test the expected effect. Sometimes the choice is straightforward; for instance in G1 the increase of lipogenic activity is supposed to have an effect on lactate concentration, so we test $x = LAC$. Sometimes the choice is more indirect; for instance in S the decrease of PFK concentration is linked with an increase of the pentose phosphate pathway, in that case we choose $x = R5P$ (ribose 5-phosphate, in the middle of the PPP, see Fig. 1). Once the enzyme and the response metabolite x are chosen, we simulate the model and plot the steady state value x^* for different value of the enzyme ν_{max} , thus allowing to test whether the model reproduce the desired (positive or negative) effect.

Table 2. List of the tested effects of cell cycle’s phases on the CCM, as interpreted from [6]. Note that **VPALM** corresponds to the reaction of lipid production (palmitate in our case). In G1, PFK has a high concentration while G6PDH has a low activity.

Enzyme	G1	S	G2
PFK	High	Low	Low
G6PDH	Low	High	High
TKT	Low	Low	High
VPALM	Low	Low	High

In total, we tested six different effects indicated in [6] and in each case the model recovered the expected behavior (increase or decrease of the response metabolite with respect to varying ν_{max}). These experiments are described thereafter. Since these results were encouraging, we decided to go further and to instantiate the model into three versions, each one representing a phase of the cycle. These versions were simply deduced by arbitrarily choosing high or low values for the parameters ν_{max} for each of the four enzymes PFK, G6PDH, TKT and VPALM.

Phase G1. According to [6], two main enzymes are affected during G1. First, there is an accumulation of PFK during the whole phase, leading to an increase in glycolytic activity. To observe such an activity, we tracked the concentration of pyruvate, which is the end-product of glycolysis. Figure 3 clearly shows an increase of PYR^* with respect to ν_{maxPFK} . The second regulation in G1 indicated by [6] is a decrease of lipogenic enzyme concentration leading to an increase of lactate concentration. In our model, we used the enzyme VPALM (production of palmitate) to test a decrease of lipid production, and we observed the steady state concentration of lactate. Again, as expected the model reproduce an

increase of lactate when $\nu_{maxVPALM}$ decreases (see Fig. 3). Therefore, to obtain a model for G1 we set the two parameters to the following values:

$$\begin{cases} \nu_{maxPFK}^{G1} & := 1 \cdot 10^{-2} \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}, \\ \nu_{maxVPALM}^{G1} & := 3 \cdot 10^{-6} \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}. \end{cases}$$

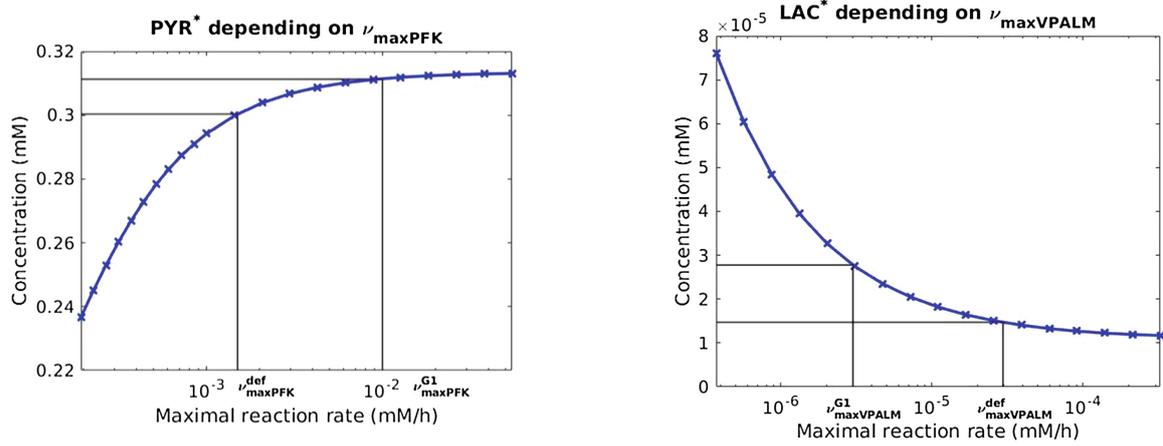


Fig. 3. Left: steady state value of pyruvate concentration for varying values of ν_{maxPFK} . Right: steady state value of lactate concentration for varying values of $\nu_{maxVPALM}$. Values ν_{max}^{def} and ν_{max}^{G1} correspond respectively to the value of the parameter ν_{max} in the initial model and in the G1 model.

Phase S. During this phase the concentration of PFK starts to decrease [6], leading to a subsequent increase of the PPP. As indicated earlier, we decided to observe this effect on the concentration of R5P, which in the model is the central metabolite of the PPP. The second change in this phase is an increase of G6PDH activity, also contributing to an increase of R5P. Figure 4 shows that the model reproduces both effects. Furthermore, since in phase S lipogenic enzymes are still supposed to be low, we instantiate a S model by setting:

$$\begin{cases} \nu_{maxVPALM}^S & := \nu_{maxVPALM}^{G1}, \\ \nu_{maxPFK}^S & := 1.5 \cdot 10^{-3} \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}, \\ \nu_{maxG6PDH}^S & := 5 \cdot 10^{-4} \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}. \end{cases}$$

Phase G2. In G2 the concentration of lipogenic enzymes increases, leading to an increase of lipid production. Lipids in the model are represented by palmitate. Moreover, increase in the activity of TKT is supposed to further activate the end of the PPP [6]. We used the metabolite GAP in the model, as it is the exit point of the PPP (where the PPP flux comes back to glycolysis). Both effects are qualitatively reproduced in the model (see Fig. 5). Further taking into account

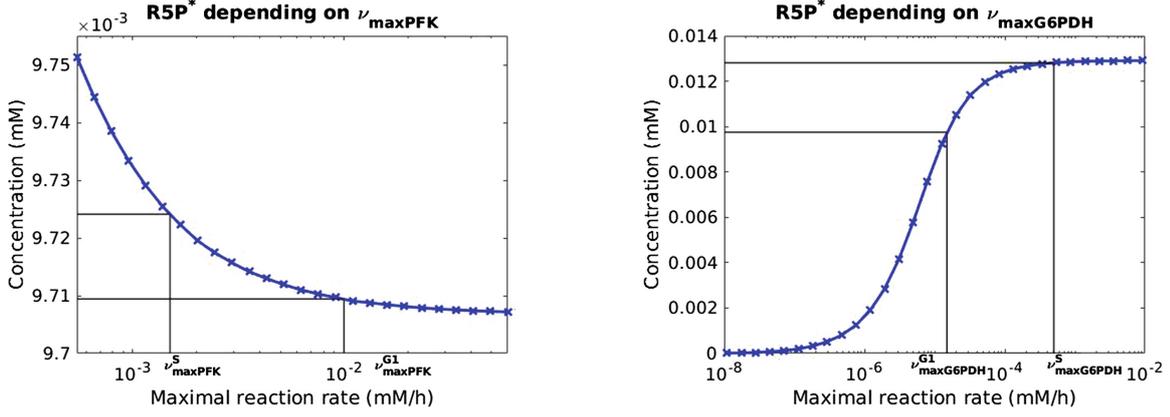


Fig. 4. Left: steady state R5P concentration with respect to $\nu_{\max\text{PFK}}$ with $\nu_{\max\text{VPALM}}^{\text{S}}$ set. Right: steady state R5P concentration with respect to $\nu_{\max\text{G6PDH}}$.

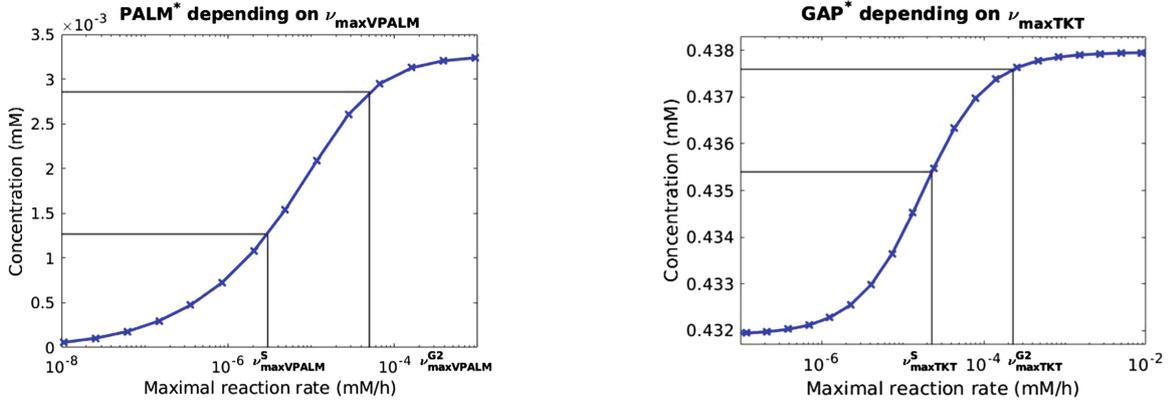


Fig. 5. Left: steady state PALM concentration with respect to $\nu_{\max\text{VPALM}}$ with $\nu_{\max\text{G6PDH}}^{\text{G2}}$ and $\nu_{\max\text{PFK}}^{\text{G2}}$ set. Right: steady state R5P concentration with respect to $\nu_{\max\text{G6PDH}}$.

the fact that PFK concentration is supposed to be low and the activity of G6PDH is supposed to be high, we instantiate a model G2 by setting:

$$\begin{cases} \nu_{\max\text{PFK}}^{\text{G2}} & := \nu_{\max\text{PFK}}^{\text{S}}, \\ \nu_{\max\text{G6PDH}}^{\text{G2}} & := \nu_{\max\text{G6PDH}}^{\text{S}}, \\ \nu_{\max\text{VPALM}}^{\text{G2}} & := 5 \cdot 10^{-5} \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}, \\ \nu_{\max\text{TKT}}^{\text{G2}} & := 2.3 \cdot 10^{-4} \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}. \end{cases}$$

3.2 Validation of the Three Models

Thanks to biological information [6], we were thus able to propose three versions of the original model, each supposed to reproduce the main metabolic behavior induced during one of the cycle's phases G1, S and G2. To further validate those models, we simulated them separately and observed the steady state values of five specific metabolites, strategically placed within the CCM: G6P and pyruvate (respectively entry and end points of glycolysis), R5P (middle of pentose phosphate pathway), palmitate (lipid production) and lactate (anaerobic energy

production). The obtained values are illustrated in Fig. 6. They seem to confirm four main biological observations made in [6]:

- Glycolysis has a high activity in G1 (higher values of G6P* and PYR*),
- Lactate production is high in G1,
- Pentose phosphate increases in S and G2 (attested by higher values of R5P*),
- Lipid production increase in G2.

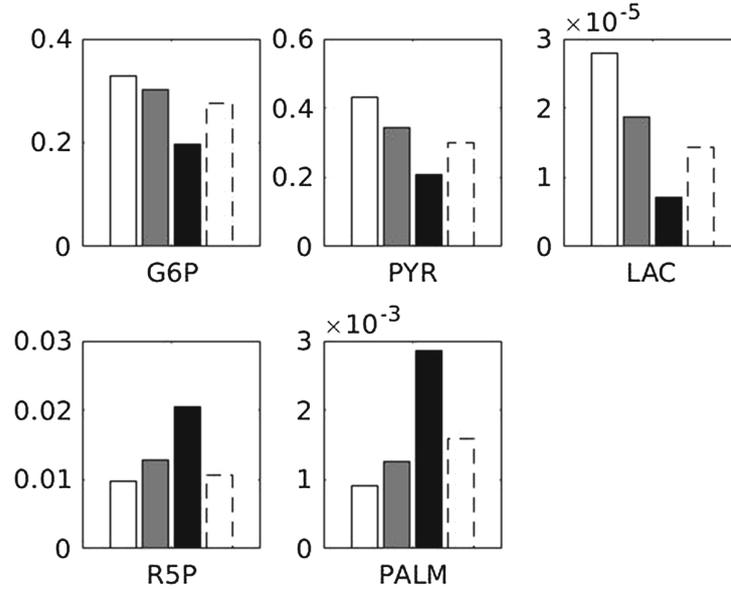


Fig. 6. Steady state concentrations of five key CCM metabolites in the G1 (white), S (grey) and G2 (black) models. For comparison, the dashed bars indicate the corresponding values for the original model.

4 Hybrid Simulation of Metabolism Along the Cell Cycle

Encouraged by the previous results, we decided to use a hybrid approach to observe the temporal succession of the three models, in the order imposed by biology. The idea was to reproduce, at least on a qualitative level, major metabolic variations as they are predicted theoretically or observed experimentally [3, 5] during a whole cycle. In reality, the correct succession of cell cycle’s phases is ensured by a complex regulatory network (see *e.g.* [7] for a discrete model in the case of mammalian cells), which is tightly linked to the cell’s metabolism [9]. However, the interconnection remains difficult as the precise biochemical connections are not fully understood. Here, we decide to drastically simplify the “cell cycle” part by imposing a switch when the biomass reaches a certain level, thus mimicking the general growth of the mother cell before its division. Despite this drastic hypothesis, we show in the following that our approach is sufficient to reproduce expected metabolic variations during a cycle.

4.1 Creating a Hybrid Trajectory

We start by the description of the hybrid automaton. This automaton contains three modes corresponding to the three phases G1, S and G2. To each of these phases corresponds a model built in Sect. 3. In a given phase, we designate the state vector by $x^{phase}(t) = (x_I^{phase}(t), x_{II}^{phase}(t), x_{biomass}^{phase}(t))$. Starting in G1 at time t_0 , we switch to S at time $t_1 > t_0$ and to G2 at time $t_2 > t_1$, where t_1 and t_2 are defined as follows:

$$\begin{aligned} - x_{biomass}^{G1}(t_1) &:= x_{biomass} + \alpha x_{biomass} = (1 + \alpha)x_{biomass}^0, \\ - x_{biomass}^S(t_2) &:= x_{biomass} + \beta x_{biomass} = (1 + \beta)x_{biomass}^0, \end{aligned}$$

$x_{biomass}^0$ being the initial biomass. In other words, in this model the succession of phases is entirely determined by biomass evolution. α and β are parameters that verify $0 < \alpha < \beta < 1$ and correspond to fractions of biomass needed to be produced to enter the next phase. At each switch, we impose the continuity of the solution by setting:

$$x^{(i)}(t_i^+) = x^{(i-1)}(t_i^-).$$

To model the completion of a cycle at the end of the phase G2, we switch back to mode G1 at time $t_3 > t_2$ defined by $x_{biomass}^{G2}(t_3) := 2 \times x_{biomass}^0$. Thus, biomass has doubled and the cell can divide itself. We actually model an instantaneous mitosis by imposing:

$$x_{biomass}^{G1}(t_3^+) := \frac{x_{biomass}^{G2}(t_3^-)}{2}.$$

We present two hybrid trajectories in Fig. 7. As an initial condition, we use the stationary regime of the original model (see Fig. 2). By simulating the above hybrid system on several cycles, we observe that the trajectories ultimately stabilize to an oscillatory regime. The two hybrid trajectories depicted in Fig. 7 correspond to two set of values for parameters α and β . The choice of α and β seems to have an impact on a quantitative level, but not so much on a qualitative level. Overall, major metabolic variations through the succession of phases are retrieved [6]. First, there is a generally high glycolytic activity in G1, as illustrated by (generally) increasing G6P and pyruvate curves. Comparatively, pentose phosphate pathway and lipid production remain low. As expected, R5P starts to increase in S reproducing a high demand in nucleotide for DNA duplication. It is associated with a sharp fall of the ratio NADP/NADPH, confirming high activation of pentose phosphate pathway. This high level continues in G2, accentuated by a higher demand in lipid (palmitate).

Furthermore, the exchange metabolite curves allow a direct comparison with experimental curves given in [3]. Major effects are qualitatively recovered:

- a decrease of ATP during G1, followed by an increase during S and a decrease during G2,

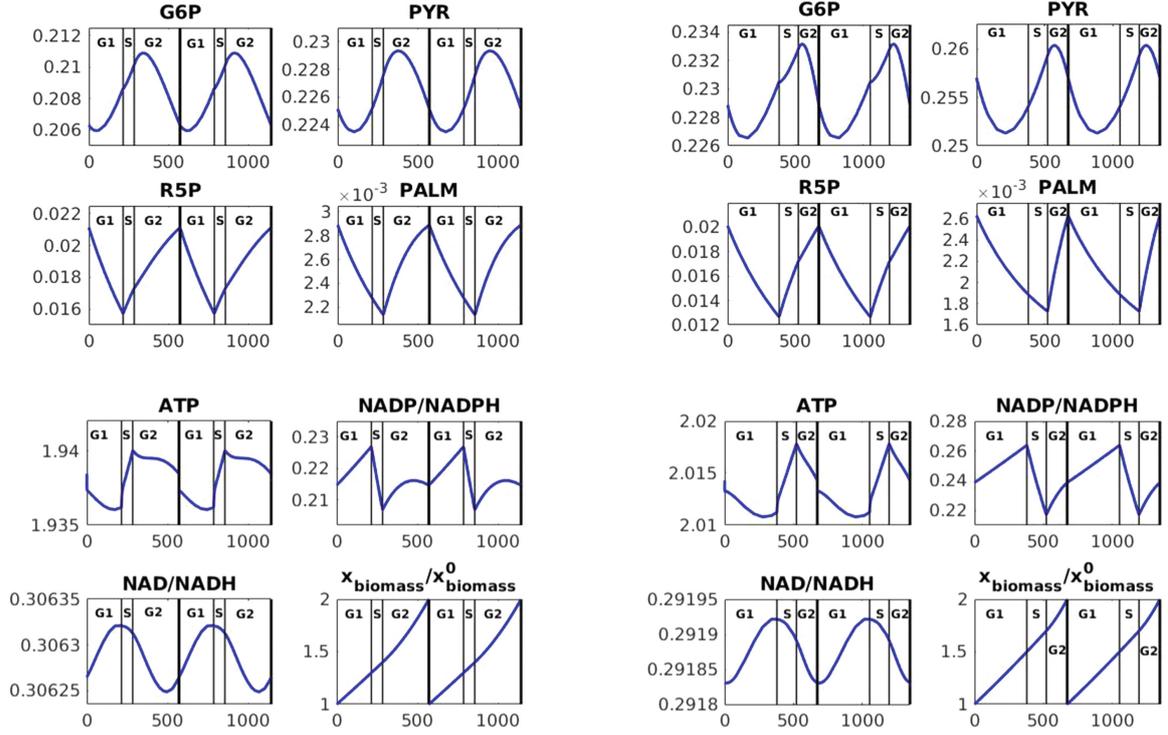


Fig. 7. Two examples of hybrid trajectories. Two cell cycles obtained for two different values of (α, β) , left: $(0.3, 0.4)$, right: $(0.5, 0.7)$.

- a relatively low variation of the redox ratios³,
- an increase of the NADP/NADPH ratio during G1, followed by a decrease during S and an increase during G2.

However, we observe a discrepancy in the NAD/NADH ratio: it decreases in G2 in the hybrid model whereas it seems to increase in experimental curves.

These first results seem promising: by combining the three versions of the model we were able to recover accurate biological observations made in [6] as well as experimental variations made in [3], thus validating the use of a hybrid approach to qualitatively capture the metabolic variations during the cycle. It is interesting to note that the modifications needed to build the hybrid system from the original ODE model are relatively parsimonious, which is always a good point from a modeling point of view. The obtained hybrid model is a good first step towards the analysis of the crosstalks between metabolism and cell cycle. If the cell cycle part is relatively simple (phases' succession is only imposed by a growth criterion), it is easy to imagine extensions including for instance a more complete representation of the cell cycle regulation network (as is [7]), or a more precise description of checkpoints as in [11]. In the next section, we propose a slight extension of the model to try to improve the model's predictions on a quantitative level.

³ in [3], the range of variation of redox ratios is low in normal cells with respect to cancer cells.

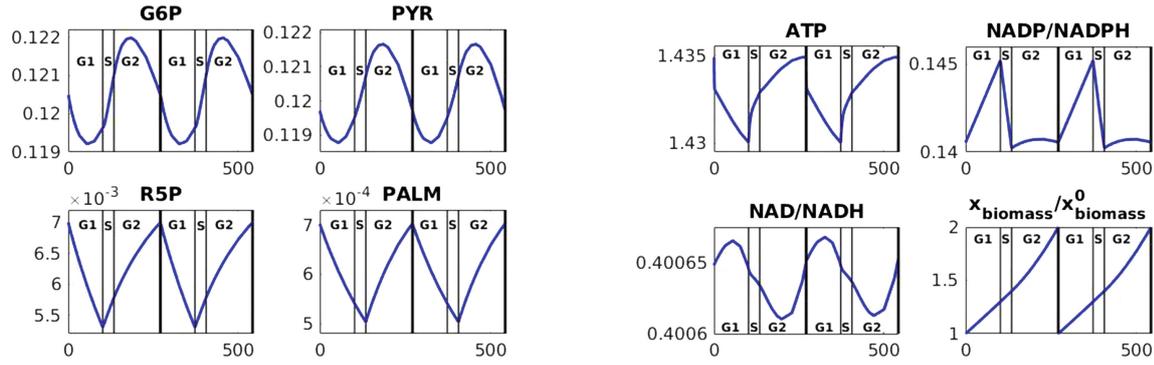


Fig. 8. Hybrid trajectory with updated palmitate demand $K_{PALM} = 2.55 \cdot 10^{-3}$. Parameters $(\alpha, \beta) = (0.3, 0.4)$.

4.2 Extension: Modifying Demand Parameters

If the hybrid simulations are relatively satisfying on a qualitative level, certain quantitative aspects still need improvement. In particular, from a dynamical system point of view the switch times seem a bit high (typically, a cell cycle is completed in tenth hours and not hundreds). By looking at the biomass ratio $\frac{x_{biomass}(t)}{x_{biomass}^0}$ in Fig. 7, we observed that its increase is particularly high in G2, when palmitate production is higher. We confirmed that by looking at the growth rate evolution $\mu(t)$ (not shown). Complementary simulations (not shown) also indicated that palmitate was usually the limiting factor of the growth rate. To alleviate this limitation, we decide to act on the demand of palmitate by reducing parameter K_{PALM} (see (4)). It was originally at $2.55 \cdot 10^{-2}$ and we reduced it to $2.55 \cdot 10^{-3}$. The results are illustrated in Fig. 8. Most of qualitative effects described previously are conserved, except for the ATP concentration during G2. The simulation time has been greatly reduced, indicating the demand parameters K_i in function μ are good candidates to calibrate the hybrid model.

5 Conclusion

The hybrid system proposed in this article is a preliminary work allowing us to analyse the temporal evolution of metabolites and fluxes through the phases of the cell cycle. First simulations are in good accordance with biological observations, at least at qualitative level. These positive results show that the hybrid approach is a promising way to combine metabolism and cell cycle. If the discrete part remains simplistic (the succession of phases is imposed), a next step will be to include more complete information about the cell cycle regulatory network [7, 11] in order to better approach possible interconnections with the cell's metabolism.

Another extension concerns the incorporation of known disruptions in the regulations, thus proposing a hybrid model for cancer cells with dysfunctioning metabolism and cell cycle. Such a model, validated on experimental data such as in [3], would pave the way to find potential targets for therapy.

References

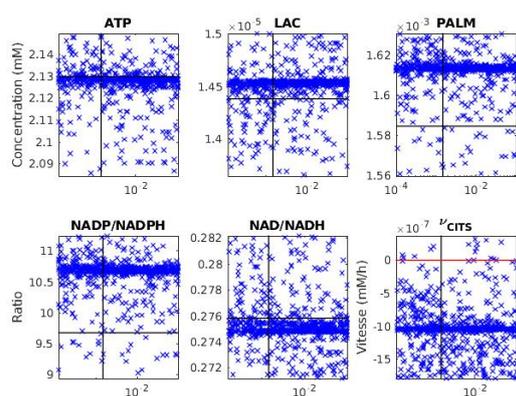
1. Barberis, M., Todd, R.G., van der Zee, L.: Advances and challenges in logical modeling of cell cycle regulation: perspective for multi-scale, integrative yeast cell models. *FEMS Yeast Res.* **17**(1), fow103 (2017). <https://doi.org/10.1093/femsyr/fow103>
2. Cai, L., Tu, B.P.: Driving the cell cycle through metabolism. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **28**(1), 59–87 (2012). <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-092910-154010>
3. da Veiga Moreira, J., et al.: The redox status of cancer cells supports mechanisms behind the Warburg effect. *Metabolites* **6**(4), 33 (2016). <https://doi.org/10.3390/metabo6040033>
4. da Veiga Moreira, J., Hamraz, M., Abolhassani, M., Schwartz, L., Jolicœur, M., Peres, S.: Metabolic therapies inhibit tumor growth in vivo and in silico. *Sci. Rep.* **9**(1) (2019). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39109-1>
5. da Veiga Moreira, J., et al.: Cell cycle progression is regulated by intertwined redox oscillators. *Theor. Biol. Med. Model.* **12**(1) (2015). <https://doi.org/10.1186/s12976-015-0005-2>
6. Diaz-Moralli, S., Tarrado-Castellarnau, M., Miranda, A., Cascante, M.: Targeting cell cycle regulation in cancer therapy. *Pharmacol. Ther.* **138**(2), 255–271 (2013). <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2013.01.011>
7. Fauré, A., Naldi, A., Chaouiya, C., Thieffry, D.: Dynamical analysis of a generic Boolean model for the control of the mammalian cell cycle. *Bioinformatics* **22**(14), e124–e131 (2006). <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btl210>
8. Funahashi, A., Matsuoka, Y., Jouraku, A., Morohashi, M., Kikuchi, N., Kitano, H.: Cell designer 3.5: a versatile modeling tool for biochemical networks. *Proc. IEEE* **96**(8), 1254–1265 (2008). <https://doi.org/10.1109/JPROC.2008.925458>
9. Kalucka, J., et al.: Metabolic control of the cell cycle. *Cell Cycle* **14**(21), 3379–3388 (2015). <https://doi.org/10.1080/15384101.2015.1090068>
10. Kaplon, J., van Dam, L., Peeper, D.: Two-way communication between the metabolic and cell cycle machineries: the molecular basis. *Cell Cycle* **14**(13), 2022–2032 (2015). <https://doi.org/10.1080/15384101.2015.1044172>
11. Novák, B., Tyson, J.J.: A model for restriction point control of the mammalian cell cycle. *J. Theor. Biol.* **230**(4), 563–579 (2004). <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2004.04.039>
12. Robitaille, J., Chen, J., Jolicœur, M.: A Single dynamic metabolic model can describe mAb producing CHO cell batch and fed-batch cultures on different culture media. *PLoS ONE* **10**(9), e0136815 (2015). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136815>
13. Segel, I.H.: *Enzyme Kinetics: Behavior and Analysis of Rapid Equilibrium and Steady State Enzyme Systems*. Wiley, New York (1993). Wiley classics library edn. oCLC: ocm31157638
14. Sheikh, K., Förster, J., Nielsen, L.K.: Modeling hybridoma cell metabolism using a generic genome-scale metabolic model of *Mus musculus*. *Biotechnol. Prog.* **21**(1), 112–121 (2008). <https://doi.org/10.1021/bp0498138>
15. Zhao, G., Chen, Y., Carey, L., Futcher, B.: Cyclin-dependent Kinase co-ordinates carbohydrate metabolism and cell cycle in *S. cerevisiae*. *Mol. Cell* **62**(4), 546–557 (2016). <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2016.04.026>

Annexe C

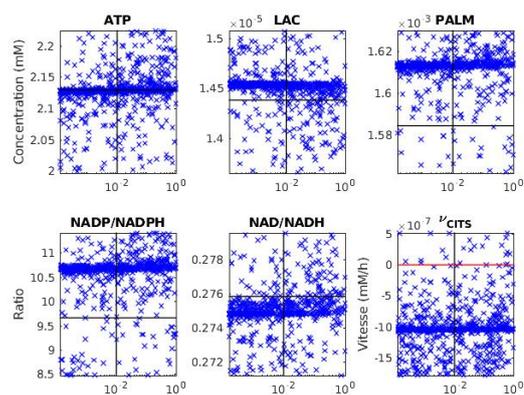
Utilisation du modèle : analyse du métabolisme des cellules cancéreuses

C.1 Sélectionner les paramètres les plus influents

Sur la figure C.1, nous présentons les nuages de points des paramètres qui n'ont pas d'effet significatif sur les variables et les vitesses que nous observons.

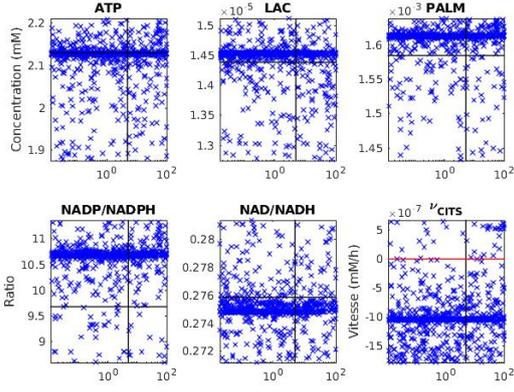


(a) Les variables observées en fonction de $\nu_{\max\text{PFK}}$

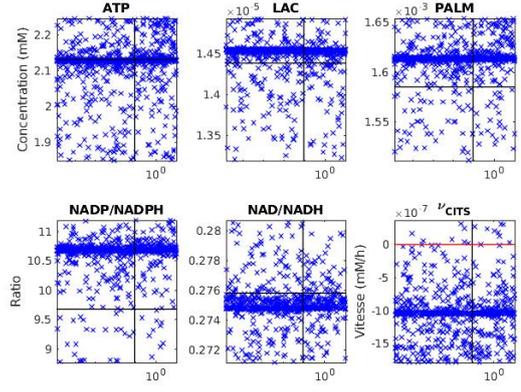


(b) Les variables observées en fonction de $K_{m_PFK_F6P}$

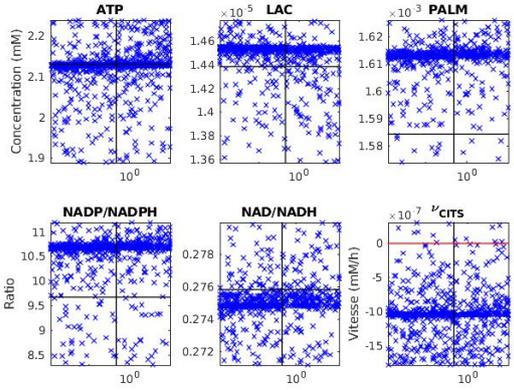
FIGURE C.1 – Projections en nuage de points des 1000 équilibres sur les axes (paramètres, observation). Les traits verticaux noirs indiquent les valeurs par défaut des paramètres. Les traits horizontaux noirs représentent les valeurs des variables à l'équilibre dans le modèle par défaut. Pour ν_{CITS} , nous représentons l'axe $\nu_{\text{CITS}}^* = 0$ en rouge.



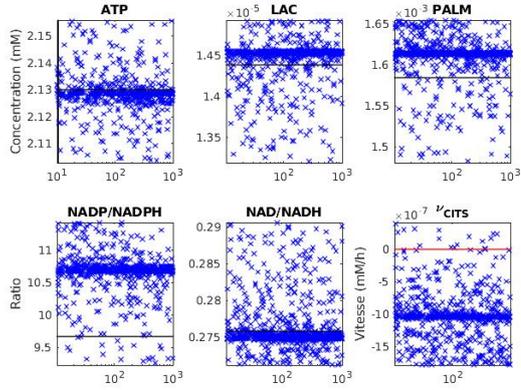
(c) Les variables observées en fonction de $K_{m_PFK_ATP/ADP}$



(d) Les variables observées en fonction de $K_{a_PFK_AMP/ATP}$



(e) Les variables observées en fonction de $\alpha_{PFK_AMP/ATP}$



(f) Les variables observées en fonction de $\beta_{PFK_AMP/ATP}$

FIGURE C.1 – (Suite) Projections en nuage de points des 1000 équilibres sur les axes (paramètres, observation). Les traits verticaux noirs indiquent les valeurs par défaut des paramètres. Les traits horizontaux noirs représentent les valeurs des variables à l'équilibre dans le modèle par défaut. Pour v_{CITS} , nous représentons l'axe $v_{CITS}^* = 0$ en rouge.

C.2 Extension de l'automate hybride au métabolisme des cellules cancéreuses

Nous présentons ci-dessous un jeu de paramètres qui vérifie les critères définis dans la partie 4.1.1 pour les modèles par phase mais pas dans le modèle hybride. Nous présentons dans la table C.1 les valeurs de ce jeu de paramètres et dans la figure C.2 l'évolution des variables de décision. Comme nous pouvons le voir, dans le système hybride modifié, le ratio NAD/NADH est inférieur au ratio du modèle sain.

Paramètre	Valeur
$\nu_{\max\text{HK}}$	
$\nu_{\max\text{PK}}$	$5 \cdot 10^{-4}$
$\nu_{\max\text{LDH}}$	$5 \cdot 10^{-8}$
$\nu_{\max\text{PDH}}$	
$\nu_{\max\text{PC}}$	$1.76 \cdot 10^{-8}$
$\nu_{\max\text{Resp}}$	$8 \cdot 10^{-4}$
$\nu_{\max\text{ACL}}$	$2.4 \cdot 10^{-4}$
$\nu_{\max\text{VPALM}}$	$5 \cdot 10^{-4}$
$\nu_{\max\text{CITSrev}}$	$3.9 \cdot 10^{-1}$
$\nu_{\max\text{ME}}$	$1 \cdot 10^{-3}$

Réaction	G1	S	G2
PFK	$10^{-1.5}$	$10^{-3.3}$	$10^{-3.3}$
G6PDH	10^{-5}	$10^{-3.5}$	$10^{-3.5}$
TKT	10^{-7}	10^{-7}	10^{-3}
VPALM	$5 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-2}$

TABLE C.1 – Valeur des paramètres pour le système hybride modifié. Une case vide représente la valeur par défaut du paramètre.

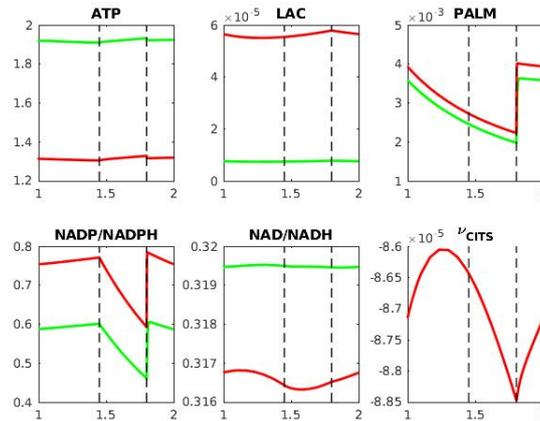


FIGURE C.2 – Vérification des critères de sélection. Vert : modèle hybride sain. Rouge : le modèle hybride modifié

Bibliographie

- [1] A. AMAR-COSTESECC. *Découvertes en Cytologie et en Biologie cellulaire*. Sept. 2018. URL : <https://perso.uclouvain.be/alain.amar-costesec/chapitre-3/#sub4>.
- [2] Lafayette B. MENDEL et Ernest W. BROWN. « OBSERVATIONS ON THE NITROGENOUS METABOLISM OF THE CAT, ESPECIALLY ON THE EXCRETION OF URIC ACID AND ALLANTOIN ». In : *American Journal of Physiology-Legacy Content* 3.6 (1900), p. 261–270. DOI : 10.1152/ajplegacy.1900.3.6.261.
- [3] Jeremy GUNAWARDENA. « Models in Biology : ‘Accurate Descriptions of Our Pathetic Thinking’ ». In : *BMC Biol* 12.1 (déc. 2014), p. 29. ISSN : 1741-7007. DOI : 10.1186/1741-7007-12-29.
- [4] Jacques MONOD. *Le Hasard et la nécessité*. Paris : Seuil, 1970. ISBN : 978-2-02-002812-7.
- [5] Thomas D POLLARD et William C EARNSHAW. *Biologie cellulaire*. Paris : Elsevier, 2004. ISBN : 978-2-84299-571-3.
- [6] Gilbert LECHERMEIER. « Définition du vivant et émergence de la vie : entre rupture et continuité, saisir l’originalité du vivant ». In : (), p. 395.
- [7] Patrick FORTERRER. « Defining Life : The Virus Viewpoint ». In : *Orig Life Evol Biosph* 40.2 (avr. 2010), p. 151–160. ISSN : 0169-6149, 1573-0875. DOI : 10.1007/s11084-010-9194-1.
- [8] Eugene V. KOONIN et Petro STAROKADOMSKYY. « Are Viruses Alive? The Replicator Paradigm Sheds Decisive Light on an Old but Misguided Question ». In : *Studies in History and Philosophy of Science Part C : Studies in History and Philosophy of Biological and Biomedical Sciences* 59 (oct. 2016), p. 125–134. ISSN : 13698486. DOI : 10.1016/j.shpsc.2016.02.016.
- [9] Evren U. AZELOGLU et Ravi IYENGAR. « Signaling Networks : Information Flow, Computation, and Decision Making ». In : *Cold Spring Harb Perspect Biol* 7.4 (avr. 2015), a005934. ISSN : 1943-0264. DOI : 10.1101/cshperspect.a005934.
- [10] Frank EMMERT-STREIB, Matthias DEHMER et Benjamin HAIBE-KAINS. « Gene Regulatory Networks and Their Applications : Understanding Biological and Medical Problems in Terms of Networks ». In : *Front. Cell Dev. Biol.* 2 (19 août 2014). ISSN : 2296-634X. DOI : 10.3389/fcell.2014.00038.
- [11] Anne GALINIER. « La répression catabolique ou comment les bactéries choisissent leurs sucres préférés ». In : *Med Sci (Paris)* 34.6-7 (juin 2018), p. 531–539. ISSN : 0767-0974, 1958-5381. DOI : 10.1051/medsci/20183406012.
- [12] A. KREMLING et al. « Understanding Carbon Catabolite Repression in *Escherichia Coli* Using Quantitative Models ». In : *Trends in Microbiology* 23.2 (fév. 2015), p. 99–109. ISSN : 0966842X. DOI : 10.1016/j.tim.2014.11.002.
- [13] Katja BETTENBROCK et al. « A Quantitative Approach to Catabolite Repression in *Escherichia Coli* ». In : *Journal of Biological Chemistry* 281.5 (3 fév. 2006), p. 2578–2584. ISSN : 0021-9258, 1083-351X. DOI : 10.1074/jbc.M508090200.
- [14] J. D. ORTH et al. « A Comprehensive Genome-Scale Reconstruction of *Escherichia Coli* Metabolism–2011 ». In : *Molecular Systems Biology* 7.1 (16 avr. 2014), p. 535–535. ISSN : 1744-4292. DOI : 10.1038/msb.2011.65.

- [15] Elizabeth BRUNK et al. « Recon3D Enables a Three-Dimensional View of Gene Variation in Human Metabolism ». In : *Nature Biotechnology* 36.3 (19 fév. 2018), p. 272–281. ISSN : 1087-0156, 1546-1696. DOI : 10.1038/nbt.4072.
- [16] WIKIPÉDIA. *Victor Henri*. URL : https://fr.wikipedia.org/wiki/Victor_Henri (visité le 22/08/2017).
- [17] WIKIPÉDIA. *Leonor Michaelis*. URL : https://fr.wikipedia.org/wiki/Leonor_Michaelis (visité le 22/08/2017).
- [18] WIKIPÉDIA. *Maud Menten*. URL : https://fr.wikipedia.org/wiki/Maud_Menten (visité le 22/08/2017).
- [19] Wikimedia COMMONS. *File :Human Metabolism - Pathways.jpg* — *Wikimedia Commons, the free media repository*. [Online ; accessed 27-July-2020]. 2020.
- [20] Wikimedia COMMONS. *File :Metabolism 790px.svg* — *Wikimedia Commons, the free media repository*. [Online ; accessed 27-July-2020]. 2014.
- [21] P.R. RICH. « The Molecular Machinery of Keilin’s Respiratory Chain ». In : *Biochemical Society Transactions* 31.6 (1^{er} déc. 2003), p. 1095–1105. ISSN : 0300-5127, 1470-8752. DOI : 10.1042/bst0311095.
- [22] Herbert Grace CRABTREE. « The Carbohydrate Metabolism of Certain Pathological Overgrowths ». In : *Biochemical Journal* 22.5 (1^{er} jan. 1928), p. 1289–1298. ISSN : 0306-3283. DOI : 10.1042/bj0221289.
- [23] O. WARBURG. « The Metabolism of Carcinoma Cells ». In : *The Journal of Cancer Research* 9.1 (1^{er} mar. 1925), p. 148–163. ISSN : 0099-7013. DOI : 10.1158/jcr.1925.148.
- [24] O. WARBURG. « On the Origin of Cancer Cells ». In : *Science* 123.3191 (24 fév. 1956), p. 309–314. ISSN : 0036-8075, 1095-9203. DOI : 10.1126/science.123.3191.309.
- [25] Alexei VAZQUEZ. *Overflow Metabolism : From Yeast to Marathon Runners*. London : San Diego, CA : Academic Press, an imprint of Elsevier, 2018. 72 p. ISBN : 978-0-12-812208-2.
- [26] Deniz SENYILMAZ et Aurelio A TELEMÁN. « Chicken or the Egg : Warburg Effect and Mitochondrial Dysfunction ». In : *F1000Prime Rep* 7 (2 avr. 2015). ISSN : 20517599. DOI : 10.12703/P7-41.
- [27] S. L. COLOMBO et al. « Anaphase-Promoting Complex/Cyclosome-Cdh1 Coordinates Glycolysis and Glutaminolysis with Transition to S Phase in Human T Lymphocytes ». In : *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107.44 (2 nov. 2010), p. 18868–18873. ISSN : 0027-8424, 1091-6490. DOI : 10.1073/pnas.1012362107.
- [28] Santiago DIAZ-MORALLI et al. « Targeting Cell Cycle Regulation in Cancer Therapy ». In : *Pharmacology & Therapeutics* 138.2 (mai 2013), p. 255–271. ISSN : 01637258. DOI : 10.1016/j.pharmthera.2013.01.011.
- [29] Sabine PERES et al. « How Important Is Thermodynamics for Identifying Elementary Flux Modes? ». In : *PLOS ONE* 12.2 (21 fév. 2017). Sous la dir. de Mukund THATTAI, e0171440. ISSN : 1932-6203. DOI : 10.1371/journal.pone.0171440.
- [30] Calum SUTHERLAND, Ian A LEIGHTON et Philip COHEN. « Inactivation of Glycogen Synthase Kinase-3 β by Phosphorylation : New Kinase Connections in Insulin and Growth-Factor Signaling ». In : (), p. 5.
- [31] Jacque MONOD, Jeffries WYMAN et Jean-Pierre CHANGEUX. « On the Nature of Allosteric Transitions : A Plausible Model ». In : (), p. 31.
- [32] Julien ROBITAILLE, Jingkui CHEN et Mario JOLICOEUR. « A Single Dynamic Metabolic Model Can Describe mAb Producing CHO Cell Batch and Fed-Batch Cultures on Different Culture Media ». In : *PLOS ONE* 10.9 (2 sept. 2015). Sous la dir. de Néstor V. TORRES, e0136815. ISSN : 1932-6203. DOI : 10.1371/journal.pone.0136815.
- [33] Jason W. LOCASALE. « New Concepts in Feedback Regulation of Glucose Metabolism ». In : *Current Opinion in Systems Biology* 8 (avr. 2018), p. 32–38. ISSN : 24523100. DOI : 10.1016/j.coisb.2017.11.005.

- [34] P. GERLEE, L. LIZANA et K. SNEPPEN. « Pathway Identification by Network Pruning in the Metabolic Network of Escherichia Coli ». In : *Bioinformatics* 25.24 (15 déc. 2009), p. 3282–3288. ISSN : 1460-2059, 1367-4803. DOI : 10.1093/bioinformatics/btp575.
- [35] Jorgelindo da VEIGA MOREIRA et al. « Cell Cycle Progression Is Regulated by Intertwined Redox Oscillators ». In : *Theoretical Biology and Medical Modelling* 12.1 (déc. 2015). ISSN : 1742-4682. DOI : 10.1186/s12976-015-0005-2.
- [36] Jorgelindo da VEIGA MOREIRA et al. « The Redox Status of Cancer Cells Supports Mechanisms behind the Warburg Effect ». In : *Metabolites* 6.4 (3 oct. 2016), p. 33. ISSN : 2218-1989. DOI : 10.3390/metabo6040033.
- [37] Jörg STELLING. « Mathematical Models in Microbial Systems Biology ». In : *Current Opinion in Microbiology* 7.5 (oct. 2004), p. 513–518. ISSN : 13695274. DOI : 10.1016/j.mib.2004.08.004.
- [38] H JEONG et al. « The Large-Scale Organization of Metabolic Networks ». In : 407 (2000), p. 4.
- [39] E. RAVASZ. « Hierarchical Organization of Modularity in Metabolic Networks ». In : *Science* 297.5586 (30 août 2002), p. 1551–1555. ISSN : 00368075, 10959203. DOI : 10.1126/science.1073374.
- [40] Stefan SCHUSTER et Claus HILGETAG. « ON ELEMENTARY FLUX MODES IN BIOCHEMICAL REACTION SYSTEMS AT STEADY STATE ». In : *Journal of Biological Systems* 02.02 (juin 1994), p. 165–182. ISSN : 0218-3390, 1793-6470. DOI : 10.1142/S0218339094000131.
- [41] Martin MORTEROL et al. « Minimality of Metabolic Flux Modes under Boolean Regulation Constraints ». In : *Workshop on Constraint-Based Methods for Bioinformatics (WCB'16)*. 2016, p. 65.
- [42] Steffen KLAMT et Jörg STELLING. « Two Approaches for Metabolic Pathway Analysis? » In : *Trends in Biotechnology* 21.2 (fév. 2003), p. 64–69. ISSN : 01677799. DOI : 10.1016/S0167-7799(02)00034-3.
- [43] Sharon J. WIBACK, Radhakrishnan MAHADEVAN et Bernhard Ø. PALSSON. « Reconstructing Metabolic Flux Vectors from Extreme Pathways : Defining the α -Spectrum ». In : *Journal of Theoretical Biology* 224.3 (oct. 2003), p. 313–324. ISSN : 00225193. DOI : 10.1016/S0022-5193(03)00168-1.
- [44] Jeffrey D ORTH, Ines THIELE et Bernhard Ø PALSSON. « What Is Flux Balance Analysis? » In : *Nature Biotechnology* 28.3 (mar. 2010), p. 245–248. ISSN : 1087-0156, 1546-1696. DOI : 10.1038/nbt.1614.
- [45] Markus W. COVERT, Christophe H. SCHILLING et Bernhard PALSSON. « Regulation of Gene Expression in Flux Balance Models of Metabolism ». In : *Journal of Theoretical Biology* 213.1 (nov. 2001), p. 73–88. ISSN : 00225193. DOI : 10.1006/jtbi.2001.2405.
- [46] Markus W. COVERT et al. « Integrating Metabolic, Transcriptional Regulatory and Signal Transduction Models in Escherichia Coli ». In : *Bioinformatics* 24.18 (15 sept. 2008), p. 2044–2050. ISSN : 1460-2059, 1367-4803. DOI : 10.1093/bioinformatics/btn352.
- [47] Anne GOELZER et Vincent FROMION. « Resource Allocation in Living Organisms ». In : *Biochemical Society Transactions* 45.4 (15 août 2017), p. 945–952. ISSN : 0300-5127, 1470-8752. DOI : 10.1042/BST20160436.
- [48] J.-M. SCHWARTZ et M. KANEHISA. « A Quadratic Programming Approach for Decomposing Steady-State Metabolic Flux Distributions onto Elementary Modes ». In : *Bioinformatics* 21 (Suppl 2 1^{er} sept. 2005), p. ii204–ii205. ISSN : 1367-4803, 1460-2059. DOI : 10.1093/bioinformatics/bti1132.
- [49] Intawat NOOKAEW et al. « Identification of Flux Regulation Coefficients from Elementary Flux Modes : A Systems Biology Tool for Analysis of Metabolic Networks ». In : *Biotechnology and Bioengineering* 97.6 (15 août 2007), p. 1535–1549. ISSN : 00063592, 10970290. DOI : 10.1002/bit.21339.
- [50] Abel FOLCH-FORTUNY et al. « Principal Elementary Mode Analysis (PEMA) ». In : *Molecular BioSystems* 12.3 (2016), p. 737–746. ISSN : 1742-206X, 1742-2051. DOI : 10.1039/C5MB00828J.

- [51] Abel FOLCH-FORTUNY et al. « Dynamic Elementary Mode Modelling of Non-Steady State Flux Data ». In : *BMC Systems Biology* 12.1 (déc. 2018). ISSN : 1752-0509. DOI : 10.1186/s12918-018-0589-3.
- [52] Markus W. COVERT et al. « Integrating High-Throughput and Computational Data Elucidates Bacterial Networks ». In : *Nature* 429.6987 (6 mai 2004), p. 92–96. ISSN : 0028-0836, 1476-4679. DOI : 10.1038/nature02456.
- [53] Patrick AMAR, Gilles BERNOT et Victor NORRIS. « HSIM : A Simulation Programme to Study Large Assemblies of Proteins ». In : *Journal of Biological Physics and Chemistry* 4 (2004), p. 79–84.
- [54] Michael KLANN, Arnab GANGULY et Heinz KOEPL. « Hybrid Spatial Gillespie and Particle Tracking Simulation ». In : *Bioinformatics* 28.18 (15 sept. 2012), p. i549–i555. ISSN : 1460-2059, 1367-4803. DOI : 10.1093/bioinformatics/bts384.
- [55] Paolo BALDAN et al. « Petri Nets for Modelling Metabolic Pathways : A Survey ». In : *Nat Comput* 9.4 (déc. 2010), p. 955–989. ISSN : 1567-7818, 1572-9796. DOI : 10.1007/s11047-010-9180-6.
- [56] P. AO. « Metabolic Network Modelling : Including Stochastic Effects ». In : *Computers & Chemical Engineering* 29.11-12 (oct. 2005), p. 2297–2303. ISSN : 00981354. DOI : 10.1016/j.compchemeng.2005.05.007.
- [57] Jorgelindo da VEIGA MOREIRA et al. « Metabolic Therapies Inhibit Tumor Growth in Vivo and in Silico ». In : *Scientific Reports* 9.1 (déc. 2019). ISSN : 2045-2322. DOI : 10.1038/s41598-019-39109-1.
- [58] Lin LIU et Alexander BOCKMAYR. *Formalizing Metabolic-Regulatory Networks by Hybrid Automata*. preprint. Systems Biology, 24 mar. 2019. DOI : 10.1101/586198.
- [59] Leonor MICHAELIS et Maud Leonora MENTEN. « Die Kinetik Der Invertinwirkung ». In : *Biochemische Zeitschrift* (1913).
- [60] Kenneth A. JOHNSON et Roger S. GOODY. « The Original Michaelis Constant : Translation of the 1913 Michaelis–Menten Paper ». In : *Biochemistry* 50.39 (4 oct. 2011), p. 8264–8269. ISSN : 0006-2960, 1520-4995. DOI : 10.1021/bi201284u.
- [61] WIKIPEDIA. *Law of mass action*. URL : https://en.wikipedia.org/wiki/Law_of_mass_action (visité le 04/08/2020).
- [62] F. G. HEINEKEN, H. M. TSUCHIYA et R. ARIS. « On the Mathematical Status of the Pseudo-Steady State Hypothesis of Biochemical Kinetics ». In : *Mathematical Biosciences* 1.1 (1967), p. 95–113.
- [63] Marzia BISI, Fiammetta CONFORTO et Laurent DESVILLETES. « Quasi-Steady-State Approximation for Reaction-Diffusion Equations ». In : *BULLETIN-INSTITUTE OF MATHEMATICS ACADEMIA SINICA* 2.4 (2007), p. 823.
- [64] Edward H. FLACH et Santiago SCHNELL. « Use and Abuse of the Quasi-Steady-State Approximation ». In : *IEEE Proceedings-Systems Biology* 153.4 (2006), p. 187–191.
- [65] Irwin H. SEGEL. *Enzyme Kinetics : Behavior and Analysis of Rapid Equilibrium and Steady State Enzyme Systems*. Wiley Classics Library ed. New York : Wiley, 1993. 957 p. ISBN : 978-0-471-30309-1.
- [66] James E. BAILEY et David F. OLLIS. *Biochemical Engineering Fundamentals*. Ed.2. New York : Mc Graw Hill : McGraw-Hill College, 1986. ISBN : 0-07-Y66601-6.
- [67] Fangting LI et al. « The Yeast Cell-Cycle Network Is Robustly Designed ». In : *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101.14 (2004), p. 4781–4786.
- [68] S. ALMEIDA et al. « A Comprehensive Reduced Model of the Mammalian Cell Cycle ». In : *IFAC-PapersOnLine* 50.1 (juil. 2017), p. 12617–12622. ISSN : 24058963. DOI : 10.1016/j.ifacol.2017.08.2204.
- [69] Philippe ICARD et al. « Interconnection between Metabolism and Cell Cycle in Cancer ». In : *Trends in Biochemical Sciences* 44.6 (juin 2019), p. 490–501. ISSN : 09680004. DOI : 10.1016/j.tibs.2018.12.007.

- [70] Jason A MACIOLEK, J ALEX PASTERNAK et Heather L WILSON. « Metabolism of Activated T Lymphocytes ». In : *Current Opinion in Immunology* 27 (avr. 2014), p. 60–74. ISSN : 09527915. DOI : 10.1016/j.coi.2014.01.006.
- [71] M. G. VANDER HEIDEN, L. C. CANTLEY et C. B. THOMPSON. « Understanding the Warburg Effect : The Metabolic Requirements of Cell Proliferation ». In : *Science* 324.5930 (22 mai 2009), p. 1029–1033. ISSN : 0036-8075, 1095-9203. DOI : 10.1126/science.1160809.
- [72] Philippe ICARD et al. « How the Warburg Effect Supports Aggressiveness and Drug Resistance of Cancer Cells? ». In : *Drug Resistance Updates* 38 (mai 2018), p. 1–11. ISSN : 13687646. DOI : 10.1016/j.drup.2018.03.001.
- [73] John J. TYSON et Béla NOVÁK. « Models in Biology : Lessons from Modeling Regulation of the Eukaryotic Cell Cycle ». In : *BMC Biology* 13.1 (déc. 2015). ISSN : 1741-7007. DOI : 10.1186/s12915-015-0158-9.
- [74] Béla NOVÁK et John J. TYSON. « A Model for Restriction Point Control of the Mammalian Cell Cycle ». In : *Journal of Theoretical Biology* 230.4 (oct. 2004), p. 563–579. ISSN : 00225193. DOI : 10.1016/j.jtbi.2004.04.039.
- [75] Ralf STEUER. « Effects of Stochasticity in Models of the Cell Cycle : From Quantized Cycle Times to Noise-Induced Oscillations ». In : *Journal of Theoretical Biology* 228.3 (juin 2004), p. 293–301. ISSN : 00225193. DOI : 10.1016/j.jtbi.2004.01.012.
- [76] A. FAURÉ et al. « Dynamical Analysis of a Generic Boolean Model for the Control of the Mammalian Cell Cycle ». In : *Bioinformatics* 22.14 (15 juil. 2006), e124–e131. ISSN : 1367-4803, 1460-2059. DOI : 10.1093/bioinformatics/bt1210.
- [77] Karan MANGLA, David L. DILL et Mark A. HOROWITZ. « Timing Robustness in the Budding and Fission Yeast Cell Cycles ». In : *PLoS ONE* 5.2 (1^{er} fév. 2010). Sous la dir. de Vladimir BREZINA, e8906. ISSN : 1932-6203. DOI : 10.1371/journal.pone.0008906.
- [78] Jonathan R. KARR et al. « A Whole-Cell Computational Model Predicts Phenotype from Genotype ». In : *Cell* 150.2 (juil. 2012), p. 389–401. ISSN : 00928674. DOI : 10.1016/j.cell.2012.05.044.
- [79] Markus W. COVERT et Bernhard Ø. PALSSON. « Transcriptional Regulation in Constraints-Based Metabolic Models of *Escherichia Coli* ». In : *Journal of Biological Chemistry* 277.31 (2 août 2002), p. 28058–28064. ISSN : 0021-9258, 1083-351X. DOI : 10.1074/jbc.M201691200.
- [80] Joanna KAPLON, Loes van DAM et Daniel PEEPER. « Two-Way Communication between the Metabolic and Cell Cycle Machineries : The Molecular Basis ». In : *Cell Cycle* 14.13 (3 juil. 2015), p. 2022–2032. ISSN : 1538-4101, 1551-4005. DOI : 10.1080/15384101.2015.1044172.
- [81] S. LIM et P. KALDIS. « Cdks, Cyclins and CKIs : Roles beyond Cell Cycle Regulation ». In : *Development* 140.15 (1^{er} août 2013), p. 3079–3093. ISSN : 0950-1991, 1477-9129. DOI : 10.1242/dev.091744.
- [82] Abdullah YALCIN et al. « Nuclear Targeting of 6-Phosphofructo-2-Kinase (PFKFB3) Increases Proliferation via Cyclin-Dependent Kinases ». In : *Journal of Biological Chemistry* 284.36 (4 sept. 2009), p. 24223–24232. ISSN : 0021-9258, 1083-351X. DOI : 10.1074/jbc.M109.016816.
- [83] A YALCIN et al. « 6-Phosphofructo-2-Kinase (PFKFB3) Promotes Cell Cycle Progression and Suppresses Apoptosis via Cdk1-Mediated Phosphorylation of P27 ». In : *Cell Death & Disease* 5.7 (juil. 2014), e1337–e1337. ISSN : 2041-4889. DOI : 10.1038/cddis.2014.292.
- [84] Lucas van der ZEE et Matteo BARBERIS. « Advanced Modeling of Cellular Proliferation : Toward a Multi-Scale Framework Coupling Cell Cycle to Metabolism by Integrating Logical and Constraint-Based Models ». In : *Yeast Systems Biology*. Sous la dir. de Stephen G. OLIVER et Juan I. CASTRILLO. T. 2049. Methods in Molecular Biology. New York, NY : Springer New York, 2019, p. 365–385. ISBN : 978-1-4939-9735-0 978-1-4939-9736-7. DOI : 10.1007/978-1-4939-9736-7_21.
- [85] Matteo BARBERIS, Robert G. TODD et Lucas van der ZEE. « Advances and Challenges in Logical Modeling of Cell Cycle Regulation : Perspective for Multi-Scale, Integrative Yeast Cell Models ». In : *FEMS Yeast Research* 17.1 (jan. 2017). Sous la dir. de Jens NIELSEN, fow103. ISSN : 1567-1364, 1567-1364. DOI : 10.1093/femsyr/fow103.

- [86] Thomas MALTHUS. « An Essay on the Principle of Population ». In : (), p. 134.
- [87] Peter TURCHIN. « Does Population Ecology Have General Laws? » In : *Oikos* 94.1 (juil. 2001), p. 17–26. ISSN : 0030-1299, 1600-0706. DOI : 10.1034/j.1600-0706.2001.11310.x.
- [88] Kashif SHEIKH, Jochen FÖRSTER et Lars K. NIELSEN. « Modeling Hybridoma Cell Metabolism Using a Generic Genome-Scale Metabolic Model of *Mus Musculus* ». In : *Biotechnology Progress* 21.1 (5 sept. 2008), p. 112–121. ISSN : 87567938. DOI : 10.1021/bp0498138.
- [89] Atefeh GHORBANIAGHDAM, Olivier HENRY et Mario JOLICOEUR. « A Kinetic-Metabolic Model Based on Cell Energetic State : Study of CHO Cell Behavior under Na-Butyrate Stimulation ». In : *Bioprocess and Biosystems Engineering* 36.4 (avr. 2013), p. 469–487. ISSN : 1615-7591, 1615-7605. DOI : 10.1007/s00449-012-0804-3.
- [90] MATLAB. *Version 9.3.0 (R2017b)*. Natick, Massachusetts : The MathWorks Inc., 2017.
- [91] Lars M BLANK, Lars KUEPFER et Uwe SAUER. « Large-Scale ¹³C-Flux Analysis Reveals Mechanistic Principles of Metabolic Network Robustness to Null Mutations in Yeast ». In : *Genome Biol* 6.6 (2005), R49. ISSN : 14656906. DOI : 10.1186/gb-2005-6-6-r49.
- [92] Lars M. BLANK et Uwe SAUER. « TCA Cycle Activity in *Saccharomyces Cerevisiae* Is a Function of the Environmentally Determined Specific Growth and Glucose Uptake Rates ». In : *Microbiology* 150.4 (1^{er} avr. 2004), p. 1085–1093. ISSN : 1350-0872, 1465-2080. DOI : 10.1099/mic.0.26845-0.
- [93] Jason DEAN et Pranhitha REDDY. « Metabolic Analysis of Antibody Producing CHO Cells in Fed-Batch Production ». In : *Biotechnol. Bioeng.* 110.6 (juin 2013), p. 1735–1747. ISSN : 00063592. DOI : 10.1002/bit.24826.
- [94] Zahra SHEIKHOLESLAMI, Mario JOLICOEUR et Olivier HENRY. « Probing the Metabolism of an Inducible Mammalian Expression System Using Extracellular Isotopomer Analysis ». In : *Journal of Biotechnology* 164.4 (avr. 2013), p. 469–478. ISSN : 01681656. DOI : 10.1016/j.jbiotec.2013.01.025.
- [95] Cecile MOULIN, Laurent TOURNIER et Sabine PERES. « Using a Hybrid Approach to Model Central Carbon Metabolism Across the Cell Cycle ». In : *Hybrid Systems Biology*. Sous la dir. de Milan ČEŠKA et Nicola PAOLETTI. T. 11705. Cham : Springer International Publishing, 2019, p. 132–146. ISBN : 978-3-030-28041-3. DOI : 10.1007/978-3-030-28042-0_9.
- [96] Salvador MONCADA, E. Annie HIGGS et Sergio L. COLOMBO. « Fulfilling the Metabolic Requirements for Cell Proliferation ». In : *Biochemical Journal* 446.1 (15 août 2012), p. 1–7. ISSN : 0264-6021, 1470-8728. DOI : 10.1042/BJ20120427.
- [97] A. ALMEIDA, J. P. BOLANOS et S. MONCADA. « E3 Ubiquitin Ligase APC/C-Cdh1 Accounts for the Warburg Effect by Linking Glycolysis to Cell Proliferation ». In : *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107.2 (12 jan. 2010), p. 738–741. ISSN : 0027-8424, 1091-6490. DOI : 10.1073/pnas.0913668107.
- [98] S. DUAN et M. PAGANO. « Linking Metabolism and Cell Cycle Progression via the APC/CCdh1 and SCF TrCP Ubiquitin Ligases ». In : *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108.52 (27 déc. 2011), p. 20857–20858. ISSN : 0027-8424, 1091-6490. DOI : 10.1073/pnas.1118443109.
- [99] Joanna KALUCKA et al. « Metabolic Control of the Cell Cycle ». In : *Cell Cycle* 14.21 (2 nov. 2015), p. 3379–3388. ISSN : 1538-4101, 1551-4005. DOI : 10.1080/15384101.2015.1090068.
- [100] Jan LUNZE et Francoise LAMNABHI-LAGARRIGUE, éd. *Handbook of Hybrid Systems Control : Theory, Tools, Applications*. Cambridge : Cambridge University Press, 2009. ISBN : 978-0-511-80793-0. DOI : 10.1017/CB09780511807930.
- [101] Ousmane DIOP, Laurent TOURNIEL et Vincent FROMION. « Summarizing Complex Asynchronous Boolean Attractors, Application to the Analysis of a Mammalian Cell Cycle Model ». In : *2019 18th European Control Conference (ECC)*. 2019 18th European Control Conference (ECC). Naples, Italy : IEEE, juin 2019, p. 1677–1682. ISBN : 978-3-907144-00-8. DOI : 10.23919/ECC.2019.8795712.
- [102] Miriam Bracha GINZBERG et al. « Cell Size Sensing in Animal Cells Coordinates Anabolic Growth Rates and Cell Cycle Progression to Maintain Cell Size Uniformity ». In : *eLife* 7 (11 juin 2018), e26957. ISSN : 2050-084X. DOI : 10.7554/eLife.26957.

- [103] Francisco FERREZUELO et al. « The Critical Size Is Set at a Single-Cell Level by Growth Rate to Attain Homeostasis and Adaptation ». In : *Nature Communications* 3 (21 août 2012), p. 1012. ISSN : 2041-1723. DOI : 10.1038/ncomms2015.
- [104] Matteo BARBERIS et al. « Cell Size at S Phase Initiation : An Emergent Property of the G1/S Network ». In : *PLoS Computational Biology* 3.4 (2007), e64. ISSN : 1553-734X, 1553-7358. DOI : 10.1371/journal.pcbi.0030064.
- [105] Geoffrey M. COOPER. *The Cell : A Molecular Approach*. 2. ed. Washington, DC : ASM Press [u.a.], 2000. 689 p. ISBN : 978-0-87893-106-4 978-0-87893-074-6.
- [106] Christina FITZMAURICE et GLOBAL BURDEN OF DISEASE CANCER COLLABORATION. « Global, Regional, and National Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived with Disability, and Disability-Adjusted Life-Years for 29 Cancer Groups, 2006 to 2016 : A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study. » In : *JCO* 36 (15_suppl 20 mai 2018), p. 1568–1568. ISSN : 0732-183X, 1527-7755. DOI : 10.1200/JCO.2018.36.15_suppl.1568.
- [107] J. BISHOP. « The Molecular Genetics of Cancer ». In : *Science* 235.4786 (16 jan. 1987), p. 305–311. ISSN : 0036-8075, 1095-9203. DOI : 10.1126/science.3541204.
- [108] Christoph LENGAUER, Kenneth W. KINZLER et Bert VOGELSTEIN. « Genetic Instabilities in Human Cancers ». In : *Nature* 396.6712 (déc. 1998), p. 643–649. ISSN : 0028-0836, 1476-4687. DOI : 10.1038/25292.
- [109] Irene FOSTER. « Cancer : A Cell Cycle Defect ». In : *Radiography* 14.2 (mai 2008), p. 144–149. ISSN : 10788174. DOI : 10.1016/j.radi.2006.12.001.
- [110] Felix DIETLEIN, Lisa THELEN et H. Christian REINHARDT. « Cancer-Specific Defects in DNA Repair Pathways as Targets for Personalized Therapeutic Approaches ». In : *Trends in Genetics* 30.8 (août 2014), p. 326–339. ISSN : 01689525. DOI : 10.1016/j.tig.2014.06.003.
- [111] G Steven MARTIN. « Cell Signaling and Cancer ». In : *CANCER CELL* (2003), p. 8.
- [112] Ubaldo E. MARTINEZ-OUTSCHOORN et al. « Stromal–Epithelial Metabolic Coupling in Cancer : Integrating Autophagy and Metabolism in the Tumor Microenvironment ». In : *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 43.7 (juil. 2011), p. 1045–1051. ISSN : 13572725. DOI : 10.1016/j.biocel.2011.01.023.
- [113] Anton Scott GOUSTIN et al. « Growth Factors and Cancer ». In : 46 (1986), p. 16.
- [114] H LODISH, A BERK et SL ZIPURSKY. « Section 24.1, Tumor Cells and the Onset of Cancer ». In : *Molecular Cell Biology*. 4^e éd. New York : W. H. Freeman, 2000.
- [115] D.A. REW et G.D. WILSON. « Cell Production Rates in Human Tissues and Tumours and Their Significance. Part II : Clinical Data ». In : *European Journal of Surgical Oncology (EJSO)* 26.4 (juin 2000), p. 405–417. ISSN : 07487983. DOI : 10.1053/ejso.1999.0907.
- [116] Hilary A. COLLER. « Is Cancer a Metabolic Disease ? » In : *The American Journal of Pathology* 184.1 (jan. 2014), p. 4–17. ISSN : 00029440. DOI : 10.1016/j.ajpath.2013.07.035.
- [117] Ralph J DEBERARDINIS et al. « Brick by Brick : Metabolism and Tumor Cell Growth ». In : *Current Opinion in Genetics & Development* 18.1 (fév. 2008), p. 54–61. ISSN : 0959437X. DOI : 10.1016/j.gde.2008.02.003.
- [118] R. J. DEBERARDINIS et al. « Beyond Aerobic Glycolysis : Transformed Cells Can Engage in Glutamine Metabolism That Exceeds the Requirement for Protein and Nucleotide Synthesis ». In : *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104.49 (4 déc. 2007), p. 19345–19350. ISSN : 0027-8424, 1091-6490. DOI : 10.1073/pnas.0709747104.
- [119] Claude ZINSOU. *Cours de Métabolisme - Chapitre 12 - Biosynthèse des lipides (Lipogénèse)*. URL : <http://calamar.univ-ag.fr/deugsv/Documents/Cours/Bioch-Zinsou/Lipidsynt10.pdf> (visité le 22/07/2019).

Titre: Analyse des voies métaboliques au cours du cycle cellulaire : Application au métabolisme du cancer

Mots clés: Métabolisme, Cycle cellulaire, Métabolisme du cancer, Système d'équations différentielles, Système hybride

Résumé: L'objectif de cette thèse est d'étudier comment la cellule mammifère adapte son métabolisme aux étapes du cycle cellulaire. Le cycle cellulaire est l'ensemble des étapes menant une cellule à se diviser. Le rôle du métabolisme est de fournir à la cellule les éléments et l'énergie dont elle a besoin pour fonctionner. En particulier, à chaque étape du cycle cellulaire, la cellule a besoin de différents éléments pour pouvoir, à terme, se diviser correctement. Il est donc crucial pour la cellule de coordonner le métabolisme et le cycle cellulaire et en particulier de contrôler ce que le métabolisme produit au cours du cycle cellulaire.

Pour mieux comprendre ce lien entre ces deux processus, nous avons étudié comment un mod-

èle mathématique du métabolisme répondait à différentes variations imposées par le cycle cellulaire et nous avons comparé ces réponses à la littérature. Satisfaits des résultats obtenus, nous avons alors construit un modèle hybride représentant l'évolution du métabolisme au cours du cycle cellulaire. Nous retrouvons dans ce modèle hybride les grandes variations connues des voies métaboliques au cours des phases du cycle cellulaire ainsi que des variations expérimentales des métabolites énergétiques et redox.

Encouragés par ces résultats, nous avons finalement perturbé notre modèle hybride pour retrouver des tendances du métabolisme dues au cancer, un ensemble de maladies touchant à la fois le cycle cellulaire et le métabolisme.

Title: Metabolic network analysis during the cell cycle: application to the cancer metabolism

Keywords: Metabolism, Cell cycle, Cancer metabolism, Ordinary differential equation system, Hybrid system

Abstract: The goal of this thesis is to study how the mammal cell adjusts its metabolism to the steps of the cell cycle. The cell cycle is the series of events leading a cell to divide itself. The purpose of the metabolism is to supply the cell with all the elements and the energy it needs to work. In particular, at every step of the cell cycle, the cell needs different elements to properly divide itself. So, it is crucial for the cell to coordinate the metabolism and the cell cycle and in particular to control what the metabolism produces through the cell cycle.

To have a better understanding of the links between these two processes, we studied how a math-

ematical model representing the metabolism answered to different variations imposed by the cell cycle and we compared those answers to the literature. Satisfied by the results, we therefore built a hybrid model representing the evolution of the metabolism through the cell cycle. We recover in this hybrid model the main known variations of the metabolism through the cycle's phases as well as experimental variations of the energetic and redox metabolites.

Encouraged by these results, we finally disturbed our hybrid model to recover metabolic tendencies due to cancer, a set of diseases affecting both the metabolism and the cell cycle.

