



**HAL**  
open science

# Description théorique et numérique de l'interaction entre les moteurs processifs et un microtubule

William Lecompte

► **To cite this version:**

William Lecompte. Description théorique et numérique de l'interaction entre les moteurs processifs et un microtubule. Autre [cond-mat.other]. Université Grenoble Alpes [2020-..], 2023. Français. NNT : 2023GRALY001 . tel-04105145

**HAL Id: tel-04105145**

**<https://theses.hal.science/tel-04105145>**

Submitted on 24 May 2023

**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.

THÈSE

Pour obtenir le grade de

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ GRENOBLE ALPES**

École doctorale : PHYS - Physique

Spécialité : Physique pour les Sciences du Vivant

Unité de recherche : Laboratoire Interdisciplinaire de Physique

**Description théorique et numérique de l'interaction entre les moteurs processifs et un microtubule**

**Theoretical and numerical description of the interaction between processive motors and the microtubule lattice**

Présentée par :

**William LECOMPTE**

Direction de thèse :

**Catherine QUILLIET**

MAITRE DE CONFERENCES, Université Grenoble Alpes, LIPhy

**Karin JOHN**

CHARGEÉE DE RECHERCHE, Université Grenoble Alpes, LIPhy

Directrice de thèse

Co-encadrante de thèse

Rapporteurs :

**CHARLOTTE AUMEIER**

Professeure assistante, Université de Genève, Département de Biochimie

**HERVE MOHRBACH**

Professeur des Universités, Université de Lorraine, Laboratoire de Physique et Chimie Théoriques

Thèse soutenue publiquement le **31 janvier 2023**, devant le jury composé de :

**CHARLOTTE AUMEIER**

Professeur assistant, Université de Genève

Rapporteuse

**HERVE MOHRBACH**

Professeur des Universités, UNIVERSITE DE LORRAINE

Rapporteur

**ISABELLE ARNAL**

Directeur de recherche, CNRS DELEGATION ALPES

Examinatrice

**BERTRAND FOURCADE**

Professeur des Universités, UNIVERSITE GRENOBLE ALPES

Président





---

*À Papi Lucien,*

*J'ai tendance à croire que le savoir scientifique a des propriétés fractales ; que peu importe ce que nous apprenons, ce qui reste, aussi petit que cela puisse paraître, est tout aussi infiniment complexe que le tout ne l'était au départ.  
Tel est, je pense, le secret de l'Univers.*

*I, Asimov : A Memoir – 1995*

---



## Remerciements

Comment pourrai-je énumérer toutes les personnes et évènements qui m'ont aidé à mener à bien ce doctorat et ce manuscrit ? Je ne peux tout simplement pas le faire par manque de temps, d'espace, et de discernement quant à leur implication, aussi indirecte soit-elle. Néanmoins, avec le peu de temps, d'espace et de discernement dont je dispose, je vais essayer d'écrire quelques lignes de remerciements.

Tout d'abord, je souhaite exprimer ma gratitude envers Karin John pour m'avoir guidé tout au long de ce parcours. J'ai grandement apprécié nos échanges réguliers qui m'ont souvent permis de mettre en lumière mes erreurs de raisonnements, de calculs et de codes informatiques. Nos discussions ont été le point de départ de nombreuses idées et hypothèses qui sont au coeur du modèle MoTub. Sa disponibilité, sa patience et son soutien me serviront d'exemple.

Je souhaite ensuite remercier Philippe Beys pour son travail de l'ombre d'administrateur du cluster de CPU du LIPhy. Grâce à ses machines au fonctionnement irréprochable, j'ai pu effectuer des centaines de milliers d'heures de calculs pour mes simulations, ce qui n'aurait jamais été possible avec mon humble ordinateur personnel.

Quant à la réalisation de ce manuscrit, je suis reconnaissant à toutes les personnes qui m'ont aidé à affiner mes propos, mes réflexions et ma grammaire. Je pense en particulier à Paul Adam, à Catherine Quilliet et à Karin John. Je vous remercie du temps précieux que vous avez consacré à cette tâche quelque peu ardue de lire un document en cours d'élaboration. Je tiens également à remercier spécifiquement Charlotte Aumeier et Hervé Mohrbach pour leur travail en tant que rapportrice et de rapporteur pour ce manuscrit de thèse.

Je suis intimement reconnaissant envers toutes les personnes avec lesquelles j'ai partagé ces dernières années, à toutes celles qui m'ont permis d'échanger de manière informelle sur mon travail de recherche et (surtout) de me procurer des espaces mentaux pour me ressourcer. Je pense en particulier aux amis et amies de Grenoble comme Wave, Jean, Morgane, Maxime, Florie, Maria ; aux amis et amies du LIPhy, comme Saranath, Laïla, Loeiz, George, Wanda, Alexander, Caroline ; aux amis et amies de longue date comme Jonathan, Guillaume, Divya, Clément(s), Giulia, Louise, César, Mamatt, Corentin, Bérénice, Victor. Je m'arrête ici, mais la liste est aussi gigantesque que l'impact bénéfique que vous avez eu sur moi.

Je souhaite témoigner d'une profonde gratitude envers mon noyau familial. Merci à Vale, Elliot, Rachel, et ma mère. Je vous remercie pour votre amour inconditionnel et quotidien.

Et finalement, je suis reconnaissant envers moi-même. Plus précisément, je remercie mes moi passés pour avoir pris soin de mon moi présent, et je continuerai à faire de même pour mes moi futurs.



# Table des matières

Remerciements . . . . .	i
Table des matières . . . . .	iii
<b>Liste de symboles</b>	<b>1</b>
<b>Introduction générale</b>	<b>5</b>
<b>1 Structures et fonctions des microtubules et des moteurs processifs associés</b>	<b>9</b>
1.1 Le microtubule, une structure dynamique . . . . .	10
1.1.1 Du microtubule à la tubuline . . . . .	10
1.1.2 Phénomène d’instabilité dynamique . . . . .	12
1.1.3 Intégrité du microtubule . . . . .	15
1.2 Les protéines motrices, des convoyeurs hâtifs . . . . .	17
1.2.1 Deux superfamilles de moteurs processifs associés au microtubule	17
1.2.2 Caractéristiques dynamiques des moteurs processifs . . . . .	18
1.3 Indications d’une interaction moteur-microtubule . . . . .	20
<b>2 Simulations Monte Carlo cinétique</b>	<b>25</b>
2.1 Méthode VSS standard . . . . .	26
2.1.1 Généralités sur les simulations Monte Carlo . . . . .	26
2.1.2 Formalisme des simulations kMC . . . . .	26
2.1.3 Implémentation générique de la méthode VSS . . . . .	28
2.1.4 Avantages d’un algorithme kMC en méthode VSS . . . . .	29
2.1.5 Limites d’un algorithme kMC en méthode VSS . . . . .	31
2.2 Éléments d’optimisation de la méthode VSS . . . . .	32
2.2.1 Implémentation de la méthode VSSa . . . . .	32
2.2.2 Mise à jour au voisinage de la réaction . . . . .	33
2.2.3 Redondance à l’aide de listes de listes . . . . .	33
<b>3 Modélisation de l’interaction entre des moteurs processifs et un microtubule</b>	<b>37</b>
3.1 Modèle kMC d’un microtubule dynamique . . . . .	38
3.1.1 Hypothèses nécessaires pour une instabilité dynamique . . . . .	38
3.1.2 Modèle Attachement-Hydrolyse-Détachement . . . . .	39
3.1.3 Anisotropie d’un microtubule . . . . .	41
3.1.4 Dynamique à l’extrémité (+) du réseau . . . . .	42
3.2 Modélisation kMC d’un flux de moteurs processifs . . . . .	45
3.2.1 Modèle Attachement-Marche-Détachement . . . . .	45
3.2.2 Dynamique caractéristique des moteurs processifs . . . . .	46



3.3	Modèle d'interaction Moteur-Tubuline . . . . .	50
3.3.1	Hypothèse sur un effet stabilisant des moteurs . . . . .	50
3.3.2	Hypothèse sur un effet déstabilisant des moteurs . . . . .	51
3.3.3	Localisation de la pénalité induite par les moteurs . . . . .	52
3.4	Version effective du modèle MoTub . . . . .	54
<b>4</b>	<b>Implications d'une interaction moteur-tubuline</b>	<b>59</b>
4.1	Création de défauts de type trou . . . . .	60
4.2	Dynamique de fracture d'un microtubule . . . . .	66
4.2.1	Impact de la position du défaut sur la fracture . . . . .	67
4.2.2	Impact des moteurs sur la fracture . . . . .	75
4.2.3	Temps de survie d'un microtubule . . . . .	80
4.3	Renouvellement de la tubuline . . . . .	82
4.3.1	Dynamique de remodelage et réaction d'hydrolyse . . . . .	82
4.3.2	Impact des moteurs sur la dynamique de remodelage . . . . .	86
<b>5</b>	<b>Perspectives d'exploration du modèle MoTub</b>	<b>93</b>
5.1	Réparation du microtubule . . . . .	94
5.2	Compétition fracture/réparation . . . . .	97
5.3	Impact des défauts sur la dynamique d'un microtubule . . . . .	100
	<b>Conclusion générale</b>	<b>103</b>
<b>A</b>	<b>Calibrage du modèle MoTub</b>	<b>107</b>
A.1	Comparaison des modèles d'anisotropie . . . . .	108
A.2	Calibrage des paramètres du réseau . . . . .	111
A.2.1	Ajustement de l'énergie totale d'une tubuline-GDP . . . . .	111
A.2.2	Mesure du temps caractéristique . . . . .	112
A.2.3	Ajustement de la constante d'hydrolyse et du coefficient de contraste	114
<b>B</b>	<b>Description de l'état stationnaire d'un flux de moteurs processifs</b>	<b>119</b>
B.1	Mise à l'équilibre d'un flux de moteurs . . . . .	120
B.2	Proportions de tubulines non bloquées en absence de défaut . . . . .	121
B.3	Proportions de tubulines non bloquées en présence d'un défaut . . . . .	122
	<b>Bibliographie</b>	<b>I</b>
	<b>Liste des figures</b>	<b>XIII</b>
	<b>Liste des tableaux</b>	<b>XXIII</b>





# Liste de symboles

## Constantes physiques

$k_B$	$\simeq 1.380649 \times 10^{-38} \text{ J} \cdot \text{K}^{-1}$ , constante de Boltzmann
$\Delta G_{\text{ATP}}$	$\sim 27 k_B T$ , énergie relachée lors de l'hydrolyse d'une molécule d'ATP dans une cellule musculaire d'humain

## Notations

ADP	nucléotide d'adénosine diphosphate
ATP	nucléotide d'adénosine triphosphate
ANP-PNP	adénylyl-imidodiphosphate, analogue structurel non hydrolysable du nucléotide ATP
GDP	nucléotide de guanosine diphosphate
GTP	nucléotide de guanosine triphosphate
GMPCPP	guanylyl-(alpha, beta)-méthylène-diphosphonate, analogue structurel non hydrolysable du nucléotide GTP
kMC	kinetic Monte Carlo ou Monte Carlo cinétique
MAP	microtubule associated protein ou protéine associée au microtubule
MT	microtubule
Tubuline-GTP /-GDP/-GMPCPP	dimère de tubuline avec un nucléotide -GTP/-GDP/-GMPCPP sur le monomère de tubuline- $\beta$

## Observables

$v_g$	vitesse de polyémérisation pour un microtubule dynamique
$v_s$	vitesse d'effondrement pour un microtubule dynamique
$f_c$	fréquence spatiale de catastrophe pour un microtubule dynamique
$f_r$	fréquence spatiale de sauvetage pour un microtubule dynamique
$\langle \tau_d \rangle$	temps moyen de création de défaut pour un microtubule stabilisé par ces extrémités
$\langle \tau_f \rangle$	temps moyen de fracture pour un microtubule stabilisé par ces extrémités
$\langle L_f \rangle$	longueur moyenne de fracture pour un microtubule stabilisé par ces extrémités
$\rho_s$	densité à l'état stationnaire des moteurs processifs présents sur le microtubule
$\phi_s$	flux à l'état stationnaire des moteurs processifs présents sur le microtubule
$c_g$	proportion de dimères dans l'état fondamental et en capacité de se détacher du microtubule, sans défaut ni en amont, ni en aval
$c_e$	proportion de dimères dans l'état excité et en capacité de se détacher du microtubule, sans défaut ni en amont, ni en aval
$c_g^u$	proportion de dimères dans l'état fondamental et en capacité de se détacher du microtubule, avec un défaut en amont
$c_e^u$	proportion de dimères dans l'état excité et en capacité de se détacher du microtubule, avec un défaut en amont
$c_g^d$	proportion de dimères dans l'état fondamental et en capacité de se détacher du microtubule, avec un défaut en aval
$c_e^d$	proportion de dimères dans l'état excité et en capacité de se détacher du microtubule, avec un défaut en aval

## Paramètres

$\Delta G_{tot}^D$	énergie totale de liaison pour une tubuline-GDP
$\Delta G_{long}^D$	énergie d'une liaison longitudinale entre deux tubulines-GDP
$\Delta G_{lat}^D$	énergie d'une liaison latérale entre deux tubulines-GDP

$\Delta G_{tot}^T$	énergie totale de liaison pour une tubuline-GTP
$\Delta G_{long}^T$	énergie d'une liaison longitudinale entre deux tubulines-GTP
$\Delta G_{lat}^T$	énergie d'une liaison latérale entre deux tubulines-GTP
$\Delta G_{T-T}$	énergie de stabilisation pour une liaison longitudinale entre deux tubulines-GTP
$\Delta G_b$	énergie de liaison d'un dimère de tubuline, dépendant de son voisinage
$\Delta G^*$	énergie de liaison pour une tubuline-GTP à l'extrémité (+) d'un microtubule
$\gamma$	$= \frac{\Delta G_{lat}^D}{\Delta G_{long}^D}$ , coefficient d'isotropie d'un dimère de tubuline-GDP
$\eta$	$= \frac{\Delta G_{tot}^T}{\Delta G_{tot}^D}$ , coefficient de contraste entre l'énergie de liaison d'une tubuline-GTP et celle d'une tubuline-GDP
$\tau$	$= \frac{1}{k_{off}^*}$ , temps caractéristique de détachement à l'extrémité (+) d'un microtubule
$k_{off}^*$	constante de détachement pour une tubuline-GTP à l'extrémité (+) d'un microtubule
$k_{off}$	constante de détachement pour un dimère de tubuline, dépendant de son voisinage
$k_{on}$	constante d'attachement pour une tubuline-GTP
$k_h$	constante de réaction pour l'hydrolyse du nucléotide GTP d'une tubuline-GTP
$k_+$	constante d'attachement pour un moteur processif
$k_-$	constante de détachement pour un moteur processif
$k_-^E$	constante modifiée de détachement pour un moteur processif avec une seule tête accrochée au microtubule
$k_w$	constante de marche pour un moteur processif
$k_r$	constante de relaxation d'un dimère dans l'état excité
$\Delta G_p$	énergie de pénalité pour un dimère excité, suite à la marche d'un moteur processif



## Introduction générale

Les microtubules sont des éléments structurels clés des cellules vivantes qui sont indispensables à la division cellulaire, au transport intracellulaire, à la motilité. Ils constituent des structures dissipatives et dynamiques qui croissent ou rétrécissent principalement par l'ajout ou le retrait de dimères de tubuline à leurs extrémités. Leur comportement hors équilibre résulte du changement irréversible de conformation de la tubuline-GTP en tubuline-GDP lors de la polymérisation [1]. Celui-ci se manifeste par des transitions stochastiques entre les phases de croissance et d'effondrement, appelées instabilité dynamique [2–6]. L'instabilité dynamique a constitué un axe majeur de la recherche sur les microtubules au cours des 30 dernières années. En revanche, le long du microtubule a longtemps été considéré comme une structure inerte, en raison de la grande stabilité du réseau à l'écart des extrémités.

Le manuscrit présent a pour objectif d'apporter un nouveau cadre de réflexion théorique et numérique pour explorer les mécanismes d'interaction entre un microtubule et les moteurs moléculaires comme les kinésines et les dynéines. Ce cadre permet d'obtenir une description qualitative des conséquences d'une telle interaction sur les processus dynamiques présents le long du microtubule. La motivation d'un tel travail de recherche provient d'une série d'observations expérimentales surprenantes [7–9]; ces dernières démontrent une interaction non négligeable entre des moteurs moléculaires processifs et les microtubules. Au cours de ces expériences, principalement effectuées *in vitro*, il a été observé un remodelage accru le long des microtubules catalysé par la présence des moteurs processifs. Cela a pour conséquence d'altérer la dynamique globale des microtubules, car les zones de remodelage du réseau peuvent servir de sites de sauvetage. Le caractère hors-équilibre des microtubules entraîne une dynamique singulière où alternent phases de croissance et phases d'effondrement. Le passage d'une phase d'effondrement à une phase de croissance est appelé sauvetage. Bien que les études citées ci-dessus aient formulé quelques hypothèses sur les mécanismes d'interaction entre les moteurs et le microtubule, à ce jour aucun cadre de travail n'a été conceptualisé pour décrire la validité de ces dernières.

Au cours du Chapitre 1, je présente dans un premier temps les caractéristiques retenues pour décrire la dynamique d'un microtubule. Puis dans un second, celles des moteurs moléculaires qui parcourent le réseau du microtubule sur une distance de quelques centaines de nanomètres – ces protéines motrices sont également appelées "moteurs processifs". Ce chapitre se clôture sur les preuves empiriques d'une interaction entre ces deux composants du transport intracellulaire.

J'ai pour ambition de construire un modèle numérique pour étudier cette interaction. Avec un tel modèle, nous serons en mesure d'implémenter, avec simplicité, un ensemble d'hy-



pothèses sur les mécanismes qui régissent l'interaction moteur-microtubule. Le formalisme de référence pour modéliser l'évolution au cours du temps d'un réseau est l'algorithme Monte Carlo cinétique (ou kMC pour *kinetic Monte Carlo*). Son fonctionnement est entièrement détaillé au cours du Chapitre 2.

Le Chapitre 3 décrit en détail le fonctionnement de deux modèles : un premier pour la dynamique d'un microtubule, puis un second qui concerne la dynamique des moteurs. Par la suite, je décris un couplage inédit entre ces deux modèles afin de rendre compte d'une interaction moteur-tubuline. Ainsi, je serai apte à décrire l'impact d'un flux de moteurs processifs sur la dynamique d'un microtubule.

À l'aide de ce modèle moteur-tubuline (MoTub) j'expose, au Chapitre 4, les implications de la présence des moteurs processifs sur différents processus dynamiques le long du microtubule. En particulier, je me concentre sur la création de défauts, la fracture du réseau et le renouvellement de la tubuline. À l'aide d'analyses statistiques, je décris qualitativement l'impact de ces protéines motrices au regard de leur densité et de l'intensité de leur interaction avec le réseau. Ce chapitre constitue le cœur du manuscrit. Il introduit des concepts scientifiques qui n'ont pas encore été ainsi énoncés dans la littérature du domaine. Une partie de ce chapitre a été publiée en tant que préprint [10]. Le résultat principal est le suivant : une faible déstabilisation transitoire du réseau, causée par la marche des moteurs, catalyse la formation de défauts dynamiques. En l'absence de tubuline libre, le défaut grandit rapidement et conduit à une fracture complète du microtubule. Inversement en présence de tubuline libre, la marche des moteurs induit une advection du défaut dans la direction opposée à la marche. Cette advection est accompagnée par l'incorporation directe et localisée de tubulines libres le long de la trajectoire du défaut. Ces résultats sont cohérents avec les expériences et démontrent qu'une faible interaction réseau-moteur est responsable d'un remodelage accéléré le long des microtubules.

Dans le Chapitre 5, je présente quelques perspectives de modélisation possibles et présentant un intérêt biologique potentiel. Enfin, je cloture ce manuscrit en spéculant sur le rôle du modèle MoTub pour approfondir nos connaissances concernant les implications biologiques d'une interaction moteur-tubuline.





# 1

## Structures et fonctions des microtubules et des moteurs processifs associés

### Sommaire

---

<b>1.1</b>	<b>Le microtubule, une structure dynamique</b>	<b>10</b>
1.1.1	Du microtubule à la tubuline	10
1.1.2	Phénomène d'instabilité dynamique	12
1.1.3	Intégrité du microtubule	15
<b>1.2</b>	<b>Les protéines motrices, des convoyeurs hâtifs</b>	<b>17</b>
1.2.1	Deux superfamilles de moteurs processifs associés au microtubule	17
1.2.2	Caractéristiques dynamiques des moteurs processifs	18
<b>1.3</b>	<b>Indications d'une interaction moteur-microtubule</b>	<b>20</b>

---

## 1.1 Le microtubule, une structure dynamique

Toute cellule eucaryote<sup>1</sup> possède différents types de filaments dont les microtubules. Les microtubules, en raison de la multitude de leur fonctions, sont essentiels pour le bon fonctionnement de la cellule. Ces structures sont une des composantes principales des axonèmes qui composent la partie mobile des cils présents dans les cellules épithéliales respiratoires, ou des flagelles au sein des spermatozoïdes. Leur flexibilité et leur capacité à se réorganiser leur confèrent le rang d'organiseurs de l'intérieur de la cellule ; elles participent donc à la forme générale de la cellule, à sa mobilité, mais également à l'assemblage d'organelles comme l'appareil de Golgi ou le reticulum endoplasmique. Lors de la division cellulaire, les microtubules se restructure pour définir le plan de division et sont impliqués dans la ségrégation des chromosomes lors de l'anaphase [11].

En plus de toutes ces fonctions, les microtubules sont à la base du transport intracellulaire. Le transport intracellulaire correspond au phénomène de transport actif de molécules. Les deux composantes principales de ce transport sont : les microtubules, longues structures tubulaires jouant le rôle d'axes routiers, et les protéines motrices processives, qui font office de transporteurs. Au sein de cette section, nous décrivons ce qu'est un microtubule (MT) au travers de sa structure et de la dynamique de son réseau.

### 1.1.1 Du microtubule à la tubuline

Le microtubule est un filament creux pouvant mesurer jusqu'à plusieurs dizaines de micromètres avec un diamètre d'environ 25 nm et une épaisseur de paroi d'environ 5 nm [12, 13]. Les MTs ont des propriétés mécaniques remarquables car leur longueur de persistance<sup>2</sup> est de l'ordre du millimètre [14, 15], ce qui correspond à un module de Young<sup>3</sup> de l'ordre du dixième de giga-Pascal ( $\sim 0.1 \text{ GPa}$ ). Bien que la mesure de la longueur de persistance dépende de nombreux facteurs (comme les conditions de la solution tampon ou la méthode employée [16]), nous pouvons retenir que les MTs font partie des structures cellulaires les plus rigides qui soient. Une telle rigidité permet aux MTs de supporter de fortes tensions lorsqu'ils se dépolymérisent [17]. Ce travail fourni par les MTs est notamment employé lors de la division cellulaire. Cela est particulièrement le cas lors de la séparation des chromosomes au cours de la mitose.

Cette rigidité tire son origine de la structure *microscopique* du MT. En effet, la structure d'un MT émerge suite à la polymérisation d'un réseau de dimères de tubuline – eux-même composés de deux monomères de tubuline- $\alpha$  et - $\beta$  (voir Figure 1.1). Le MT est un filament polarisé : l'extrémité du MT présentant l'interface - $\alpha$  (resp. - $\beta$ ) est notée (-) [resp. (+)]. *In vivo*, les MTs se polymérisent à partir d'une organelle proche du noyau de la cellule, appelée le centrosome [18, p. 930]. Le centrosome comme étant

1. Les cellules eucaryotes possèdent un noyau. Les cellules animales, végétales et celles des champignons sont donc des cellules eucaryotes.

2. La longueur  $L_p$  de persistance est la longueur à partir de laquelle les forces induites par les fluctuations thermiques sont de l'ordre des forces de flambement ( $L_p = \frac{B_s}{k_B T}$  avec  $B_s$  la constante de rigidité de flexion,  $k_B$  la constante de Boltzmann et  $T$  la température en Kelvin).

3. Le module  $E$  de Young s'exprime comme  $E = \frac{L_p \cdot k_B T}{I}$  avec le moment d'inertie  $I$  égal à  $\frac{\pi}{64} \cdot (D_{\text{out}}^4 - D_{\text{in}}^4)$  pour un tube dont le diamètre externe (resp. interne) est  $D_{\text{in}}$  (resp.  $D_{\text{out}}$ ).

composé majoritairement de tubulines va servir de *noyau de polymérisation* aux dimères de tubuline libres. Toutefois les MTs peuvent également se polymériser loin des centrosomes. Par exemple le long des fibres nerveuses, à condition que soient présentes des protéines qui se fixent spécifiquement aux extrémités (–) et les stabilisent [19, 20]. Les noyaux de polymérisation sont également utilisées lors de la production de MTs *in vitro*, et se composent généralement de tubulines avec un nucléotide analogue au GTP mais non-hydrolysable [21].

La polymérisation d'un MT provient de l'affinité des dimères de tubulines entre eux [23]. En effet, l'interface  $-\alpha$  d'un dimère de tubuline aura une forte tendance à s'attacher à l'interface  $-\beta$  d'un second dimère créant alors un empilement de dimères de tubuline, aussi appelé protofilament (voir Figure 1.1). En interagissant entre eux, les protofilaments font émerger la structure tubulaire des MTs. Le nombre de protofilaments pour former un MT dépend de l'organisme auquel appartient la cellule, et peut-être même du type de la cellule [24]. Par exemple, chez certaines espèces de trichoptères le nombre de protofilaments peut aller jusqu'à 19 au niveau de l'axomène, alors que chez l'humain le nombre moyen est de  $13 \pm 1$  [25, 26].

De part les interactions entre protofilaments, la structure du MT est contrainte à une symétrie hélicoïdale [27]. La structure d'un MT ayant 13 protofilaments est composée de deux sous-réseaux, car une jonction (ou *seam* en anglais) est présente le long du MT. Au niveau de la jonction, il y a entre les deux protofilaments un décalage de trois monomères (ou d'un demi dimère) qui est présent – les dimères possèdent 2 demi-voisins dans la direction de la jonction : c'est le réseau A. À l'inverse à l'écart de la jonction, les dimères voisins sont bien alignés entre eux : c'est le réseau B (voir Figure 1.1). Un MT avec une telle structure présente une symétrie hélicoïdale nommée "13 – 3" ou "3-start".

Étant donné que la taille caractéristique du dimère de tubuline soit de 8 nm, un MT d'une dizaine de micromètres compte plus d'une dizaine de milliers de dimères de tubuline [28]. La structure du dimère de tubuline est complexe. Il est important de mentionner que le monomère de tubuline- $\beta$  possède un nucléotide de guanosine triphosphaste (GTP) qui, sous certaines conditions, s'hydrolysera ( $GTP \rightarrow GDP + P_i$ ) de manière irréversible [1]. Suite à cette hydrolyse, un changement de conformation du dimère de tubuline s'opère. Celle-ci impacte notamment l'intensité avec laquelle le dimère va interagir avec les autres

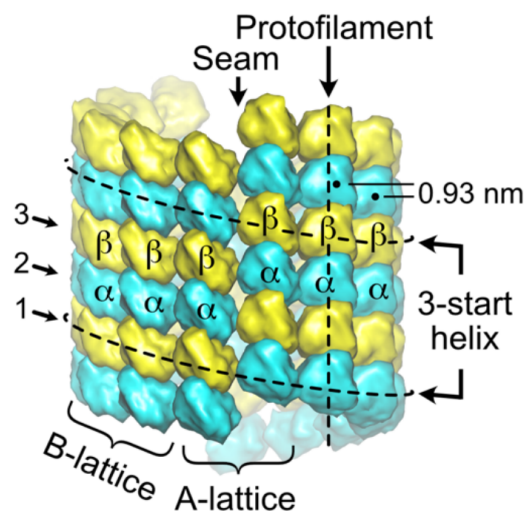


FIGURE 1.1 – Représentation de la structure d'un microtubule, reprise de Guyomar et al. [22], à l'échelle du monomère de tubuline (tubuline- $\alpha$  en cyan et tubuline- $\beta$  en jaune). La jonction (ou *seam*) entre deux protofilaments montre un décalage de 3 monomères. Un microtubule 13 – 3 possède deux sous-réseaux : le réseau A au niveau de la jointure, et le réseau B loin de la jointure.

dimères de tubuline. Pour distinguer clairement ces deux configurations, nous notons les dimères dont le nucléotide n'est pas hydrolysé "dimères de tubuline-GTP" ou simplement "tubulines-GTP", et "dimères de tubuline-GDP" ou "tubulines-GDP" ceux dont le nucléotide est hydrolysé. Ce changement de conformation irréversible est à l'origine du comportement hors-équilibre du MT.

### 1.1.2 Phénomène d'instabilité dynamique

Lorsque la concentration en tubuline-GTP libre dépasse une valeur critique<sup>4</sup>, les extrémités d'un MT ne sont, de par l'attachement et le détachement des dimères de tubulines, jamais à l'équilibre [32]. En effet, pour une même concentration de tubuline-GTP donnée, le MT alterne entre des phases de croissance (voir étape 1 de la Figure 1.2) et d'effondrement (étape 3 dans la Figure 1.2). La vitesse de croissance d'un MT est de l'ordre du micromètre par minute, alors que la vitesse d'effondrement est, en général, dix fois plus rapides. Ce phénomène d'alternance de phases, appelé *instabilité dynamique*, a été observé pour la première fois il y a 38 ans [2]. Pour expliquer cette instabilité, Mitchison *et al.* ont formulé un raisonnement à partir de trois hypothèses : (i) l'hydrolyse des dimères (tubuline-GTP  $\rightarrow$  tubuline-GDP) serait irréversible et surviendrait uniquement lorsque les dimères-GTP aient intégré le réseau, (ii) le microtubule serait composé d'une coiffe de dimères de tubulines-GTP, alors que le reste de la structure serait composée de dimères de tubulines-GDP (suite à l'hydrolyse de leur nucléotide GTP), (iii) le dimère de tubuline-GTP aurait des liaisons plus fortes avec ses voisins que son homologue -GDP.

Ainsi lorsque la concentration de tubuline est suffisante, cette coiffe serait suffisamment large pour que le MT soit dans une phase de croissance. À l'inverse, si la concentration est trop faible, la coiffe s'affinerait (suite aux changements irréversibles de conformation) au point de disparaître, amenant alors la structure à se dépolymériser rapidement. Il existerait alors un intervalle de concentration, pour lequel la stochasticité de l'attachement et détachement des tubulines-GTP aux extrémités serait telle que les phases de croissance et d'effondrement co-existeraient. Lorsque le MT passe d'une phase de croissance à une phase d'effondrement nous appelons cela une catastrophe, et un sauvetage lorsqu'un MT passe d'une phase d'effondrement à une phase de croissance (voir Figure 1.2). En dépit d'une forte dépendance à la composition de la solution-tampon, les catastrophes sont, en général, plus fréquentes que les sauvetages.

Cette hypothèse a été démontrée expérimentalement dix ans plus tard. Pour cela Dreschel *et al.* ont polymérisé des MTs à partir de tubulines-GTP, puis les ont coiffés de tubulines modifiées, appelées "tubulines-GMPCPP" [33]. Leur particularité est d'être synthétisées avec un nucléotide analogue au GTP, le GMPCPP, dont l'hydrolyse est très lente. En effet, leur constante de réaction est de l'ordre de  $10^{-7} \text{ s}^{-1}$ , ce qui correspond à un temps caractéristique d'environ 29 jours [34]. Par conséquent, l'affinement de la coiffe du MT est interrompu. Ainsi, le MT reste stable sur une échelle de temps de l'ordre de la dizaine de minutes, et cela malgré l'absence de tubuline libre en solution [7].

---

4. La concentration critique pour initier la polymérisation d'un microtubule est très sensible aux conditions expérimentales, comme par exemple la composition de la solution tampon [29–31].

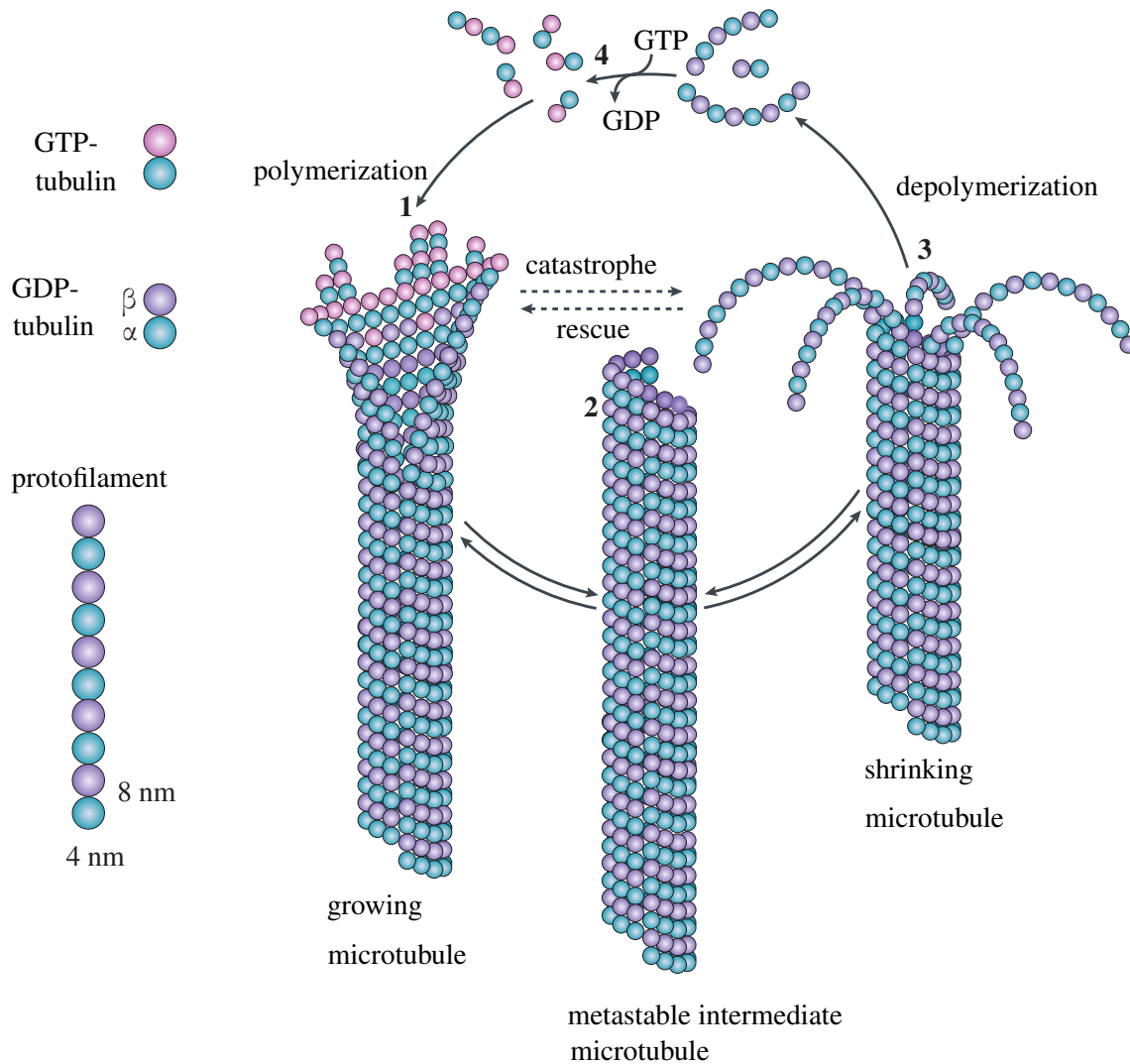


FIGURE 1.2 – Schéma tiré de Akhmanova et al. [35], illustrant le phénomène d'instabilité dynamique pour un microtubule. Un microtubule dans sa phase de croissance (1) peut à tout moment passer dans un état métastable (2) ou entrer en phase d'effondrement (3). L'attachement et le détachement de tubulines (4) s'effectuent à ses extrémités.

Expérimentalement, l'instabilité dynamique est entièrement décrite à partir de quatre observables [36] :

1. La vitesse  $v_g$  de croissance ( $g$  pour *growth*) correspondant à la vitesse avec laquelle le MT se polymérise dans sa phase de croissance.
2. La vitesse  $v_s$  d'effondrement ( $s$  pour *shrink*) correspondant à la vitesse avec laquelle le MT se dépolymérise dans sa phase d'effondrement.
3. La fréquence  $f_c$  de catastrophe, correspondant à la fréquence avec laquelle le MT passe d'une phase de croissance à une phase d'effondrement.
4. La fréquence  $f_r$  de sauvetage ( $r$  pour *rescue*), correspondant à la fréquence avec laquelle le MT passe d'une phase d'effondrement à une phase de croissance.

Bien qu'il soit possible de mesurer ces observables pour les deux extrémités (+) et (-) du MT, la plupart des mesures *in vitro* se focalisent sur l'extrémité (+) car elle est celle qui est majoritairement exposée au sein de la cellule [2].



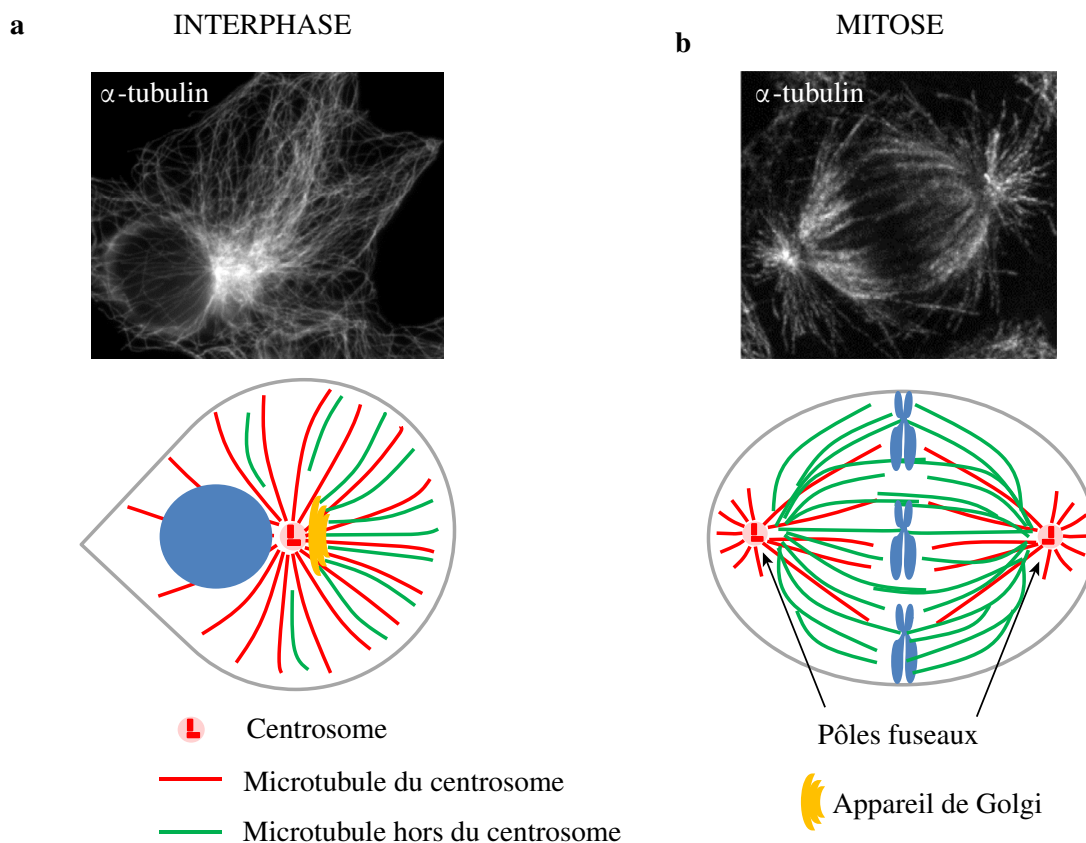


FIGURE 1.3 – Figure tirée de Martin et al. [37] illustrant l'organisation des microtubules durant l'interphase et la mitose. Deux types de microtubules peuvent être distingués, ceux ancrés au centrosome (en rouge) et ceux qui ne le sont pas (en vert). Durant l'interphase (a cellule RPE1), une grande proportion des microtubules non-associés au centrosome se situe au niveau de l'appareil de Golgi pour assurer la polarité de la cellule. Lorsqu'une cellule HeLa (b) entre en mitose, tous les microtubules se ré-organisent, notamment à l'aide du phénomène d'instabilité dynamique, pour former les pôles fuseau nécessaires pour l'alignement des chromosomes avant leur ségrégation.

Les cellules eucaryotes tirent avantage de la nature hors-équilibre des MTs. En effet, le phénomène d'instabilité dynamique qu'exhibent les MTs est, entre autres, employé comme moyen pour explorer le milieu cellulaire. Par exemple, cela s'observe lors de la formation du fuseau mitotique au cours de la première phase de la division cellulaire [38], ou lors de la réorganisation de la structure interne de la cellule avec l'alignement des chromosomes au cours de la métaphase [39] (voir Figure 1.3). Par ailleurs, l'instabilité dynamique des MTs assure également le bon fonctionnement du génome à travers un mécanisme de mécanotransduction<sup>5</sup> lors de l'interphase (la phase de croissance cellulaire) [40]. Nous venons de voir que la dynamique aux extrémités du MT est substantiel. Mais qu'en est-il des processus dynamiques présents le long de cette structure ?

5. La mécanotransduction est un mécanisme qui repose sur le fait de transformer une activité mécanique en signal biochimique. Ce mécanisme est, entre autre, à l'origine du sens du toucher ou de l'ouïe. Les MTs, en appliquant des forces de pression sur le noyau cellulaire, régulent des processus biochimiques comme la réparation de l'ADN, sa réplication ou sa transcription.

### 1.1.3 Intégrité du microtubule

La dynamique des extrémités des microtubules a capté l'attention des chercheurs et des chercheuses pendant des décennies. Cela s'explique, en partie, par le fait que le phénomène d'instabilité dynamique est un processus complexe et sensible aux conditions expérimentales. Le type de tubuline employé [41] ou la présence de protéines associées au MT (ou MAP), tel que le taxol [42] ou des moteurs processifs [17], sont d'autant de variations possibles dans les conditions expérimentales à analyser afin d'appréhender leur impact respectif et couplé sur la dynamique de croissance des microtubules. Néanmoins le reste de la structure du microtubule n'est pas pour autant inerte. Récemment Reid *et al.* [43] *et al.* ont conclu que l'intégrité du réseau de tubulines d'un microtubule peut être compromis. Ils infèrent cela à partir de l'observation de tubulines-GTP fluorescentes le long du microtubule. Or l'incorporation de ces tubulines ne peut se faire à la condition que le réseau comporte un défaut structurel. Treize ans plus tôt, Schaap *et al.* [44] avaient déjà identifié par microscopie à force atomique (AFM) l'absence de dimères le long de MTs.

Selon Thery *et al.* [45], un défaut est défini comme une sous-structure énergétiquement favorable pour la dépolymérisation *et* la polymérisation au sein du MT. Un défaut présent le long du MT peut donc prendre plusieurs formes. Cela peut être un simple trou vacant suite à l'absence d'un ou plusieurs dimères de tubuline, un changement du nombre de protofilaments au sein du MT [46, 47] ou bien même un décalage dans le pas de l'hélice de la symétrie hélicoïdale créant ainsi plusieurs jonctions le long du microtubule [48] (voir Figure 10 de Guyomar *et al.* [22]). Ces différents types de défauts sont illustrés dans la Figure 1.4.

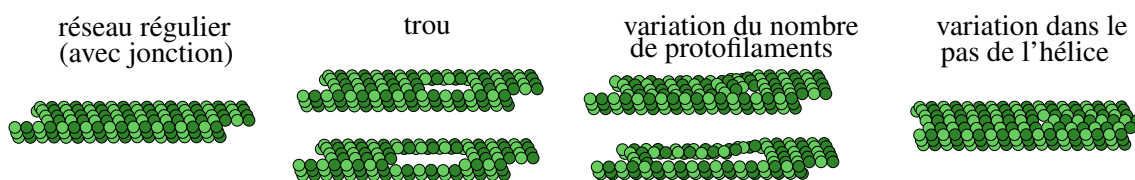


FIGURE 1.4 – Illustration tirée de Théry *et al.* [45] des différents types de défaut pour un microtubule avec une jonction S3 : lorsqu'un ou plusieurs dimères sont absents le long du réseau, le nombre de protofilaments peut varier le long de la structure, comme le pas de l'hélice créant un demi-trou.

Au cours des dernières années, plusieurs études ont conclu que la dynamique de renouvellement de la tubuline, aussi appelée "remodelage du MT", est stimulée par la présence de défauts structurels [49–51]. Il a été observé que l'incorporation de tubuline-GTP libre s'effectue directement le long du réseau du MT. De plus, cette incorporation s'effectue sur une longueur de  $\sim 1 \mu\text{m}$  après 10 minutes. En outre, ces sites d'incorporation sont rares avec une fréquence de l'ordre de  $0.1 \mu\text{m}^{-1}$  – soit en moyenne une incorporation de tubulines-GTP tous les dix micromètres.

Les zones d'incorporation sont une piste prometteuse pour expliquer les sites de sauvetage. De fait, une corrélation entre la présence de tubuline-GTP au sein du réseau et les événements de sauvetage a été observé [52]. Toutefois, plusieurs modèles [53–55] et mesures *in vitro* [56, 57] s'accordent sur le fait qu'une fois incorporé au réseau une tubuline-GTP adopte une conformation de tubuline-GDP au cours d'une période de temps

de l'ordre de la seconde. En ne considérant uniquement l'attachement aux extrémités du MT, il est difficile de consentir à la survie d'ilots de tubuline-GTP après une dizaine de minutes. Néanmoins considérer que l'incorporation du tubuline-GTP puisse se faire également le long d'un MT ouvre de nouvelles perspectives de recherche quant à l'étude des sites de sauvetage. Cette dynamique le long des MTs représente, à elle seule, un nouveau territoire à explorer sur lequel de nombreuses questions restent sans réponse :

- Quels sont les mécanismes favorisant la production de défauts ?
- Comment le renouvellement de tubuline impacte-t-il la dynamique aux extrémités du MT ?
- Comment décrire la stabilité accrue des MTs en présence de défauts ? [51]

D'autre part, *in vivo*, des protéines interagissent spécifiquement avec le MT et altèrent la dynamique le long du réseau de tubulines. Par exemple, Vemu *et al.* [58] ont démontré une dynamique de remodelage accrue en présence de katanines ou de spastines – enzymes associées avec la fragmentation de MTs. Ce résultat met en lumière un mécanisme indirect et singulier pour stabiliser l'ensemble du MT : une perturbation locale du réseau accélère le remodelage du microtubule et augmente par conséquent la fréquence de sauvetage. En parallèle de cela, le MT est une structure fondamentale pour le transport de protéines au sein de la cellule. Les MTs jouent le rôle d'axes routiers pour le transport intracellulaire, et des protéines spécialisées, appelées "moteurs moléculaires", agissent comme des convoyeurs. Ces moteurs étant processifs, ils vont nécessairement interagir lors de leur trajet avec le réseau du MT et ses défauts. Cela modifie alors leur dynamique de marche ainsi que celle du réseau. Récemment, trois études ont pu observer *in vitro* et *in vivo* les conséquences d'une telle interaction [7–9]. Nous détaillons leurs résultats et interprétations au cours de la section 1.3. Avant cela, nous décrivons plus amplement ce que sont les protéines motrices relatives au MT afin de mieux saisir le type d'interaction qu'elles puissent avoir avec la structure du MT.

## 1.2 Les protéines motrices, des convoyeurs hâtifs

Nous introduisons dans cette section les moteurs processifs associés aux microtubules. Ces protéines forment un sous-ensemble des moteurs moléculaires. De tels moteurs sont dits "processifs" car ils parcourent, sans se détacher du MT, une distance de quelques centaines de nanomètres. Bien que leur diversité soit à l'image du vivant, notre objectif est de souligner leurs caractéristiques cinétiques communes pour les modéliser avec simplicité.

Les cellules eucaryotes font face à un problème d'acheminement des ressources. En effet, le lieu de synthèse d'une protéine est rarement le même que son lieu de fonctionnement. Cela est particulièrement le cas pour des cellules nerveuses où les protéines doivent être acheminées d'un bout à l'autre de l'axone. Le cytoplasme d'une cellule eucaryote est si dense que le coefficient de diffusion d'une protéine de 30 kDa est de l'ordre de  $D \sim 30 \mu\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  [59, p 259]. En considérant une telle protéine comme une particule brownienne<sup>6</sup>, nous pouvons estimer qu'il lui faudrait 5 minutes pour diffuser sur  $100 \mu\text{m}$  à travers une cellule, et plus de 10 heures pour diffuser au sein d'un neurone long de 1 mm. Pourtant nous sommes bien composés de telles cellules ; ce qui implique nécessairement l'existence d'un phénomène de transport actif.

Ce phénomène est conduit par les MTs, une myriade de moteurs processifs et des vésicules contenant les protéines à transporter. Les MTs servent de routes de transport aux protéines motrices. À l'aide de l'hydrolyse de l'ATP, ces moteurs peuvent effectuer un certain nombre de pas uni-directionnels sur le MT tout en tirant une vésicule remplie de protéines. À chaque pas, une molécule d'ATP est hydrolysée [60]. Chez l'humain l'ordre de grandeur de la vitesse de ces moteurs est de  $1 \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ . Or le gain en efficacité est d'autant plus grand que la distance à parcourir est grande. Ainsi avec un tel transport, il suffirait de 2 minutes pour acheminer une vésicule sur  $100 \mu\text{m}$  soit une réduction de 60% du temps. Alors que pour 1 mm cela nécessiterait seulement 17 minutes, soit une réduction du temps de transport de plus de 97%.

### 1.2.1 Deux superfamilles de moteurs processifs associés au microtubule

Pour les MTs on peut distinguer deux super-familles de moteurs processifs [61] :

- les kinésines, avec plus de 14 familles de moteurs différents [62, 63]
- les dynéines, avec au moins 3 familles différentes [64]

Ce qui différencie fondamentalement ces deux superfamilles, c'est leur direction de marche par rapport à la polarité du MT. Les premières se déplacent vers l'extrémité (+) du MT, alors que les secondes vers l'extrémité (-). En d'autres termes, les kinésines acheminent les protéines du centre vers la périphérie de la cellule, alors que les dynéines effectuent le travail inverse. Bien que ces deux superfamilles possèdent une structure moléculaire différente, nous pouvons en avoir une représentation simplifiée. Toutes ces protéines motrices sont composées de deux têtes qui s'attachent au MT, et reliées entre elles par une

---

6. À partir des lois de Fick nous pouvons dériver que le temps  $\tau$  de diffusion est proportionnelle au carré de la distance  $L$ . Nous avons donc  $\tau \propto \frac{L^2}{D}$ , avec  $D$  le coefficient de diffusion.

chaîne moléculaire pour coordonner la marche le long du MT. De par l'irréversibilité de la réaction d'hydrolyse de l'ATP, la marche d'un moteur s'effectue dans une unique direction. La marche est dite asymétrique (voir Figure 1.5). Toutefois, cela n'empêche pas qu'en de rares occasions le moteur effectue un pas dans la direction opposée [65].

La marche asymétrique de ces moteurs est rendue possible grâce à un cycle mécano-chimique. Le nucléotide d'adénoside triphosphate (ATP) joue un rôle essentiel au cours ce cycle. Cependant il n'y a pas, à ce jour, de consensus sur le mécanisme à l'origine de la production d'énergie nécessaire au déplacement du moteur; cela peut provenir de soit l'attachement même de l'ATP au niveau de la tête avant, soit de l'énergie libérée lors de l'hydrolyse de l'ATP. Nous pouvons tout de même décomposer un pas de cette protéine motrice en deux phases :

1. La phase active, alimentée par l'ATP, qui consiste à détacher la tête arrière du moteur et à la faire déplacer sur la moitié de la distance à parcourir jusqu'au prochain dimère libre. (cf. étape 1 de la Figure 1.5)
2. La phase passive qui consiste en une recherche diffusives jusqu'à ce que la tête arrière s'attache de nouveau au MT (voir étape 2 et 3 de la Figure 1.5)

## 1.2.2 Caractéristiques dynamiques des moteurs processifs

Ces dernières années, avec l'avènement des pinces optiques, il a été mesuré que la force de traction maximale est de  $F \approx 5 \text{ pN}$  pour des moteurs processifs comme la kinésine-1 ou la dynéine cytoplasmique [66–68]. En considérant une distance caractéristique d'un dimère ( $d = 8 \text{ nm}$ ), cela correspond à un travail de  $F \cdot d = 4 \cdot 10^{-20} \text{ J} \simeq 10 k_B T$ . Pour mettre cela en perspective, l'hydrolyse d'une molécule d'ATP, dans une cellule musculaire au repos d'un humain, libère environ  $27 k_B T$  [59]. À l'aide d'expériences similaires, il a été également possible de suivre la marche d'un moteur individuel. Cela donne accès à la distance moyenne parcourue, appelée "processivité", ainsi qu'à la vitesse moyenne à laquelle le moteur se déplace [69, 70]. Par exemple, la processivité d'une kinésine-1 est de l'ordre du micromètre et sa vitesse est d'environ  $100 \text{ pas} \cdot \text{s}^{-1}$ , ce qui correspond à  $\sim 0.8 \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$  <sup>7</sup>.

Effectuer des expériences *in vitro* et *in vivo* avec des moteurs processifs relève du défi. La complexité réside autant dans la détection de ces moteurs nanométriques, que dans la quantification de leurs caractéristiques dynamiques et de leur densité sur le MT. Pour contourner cela, des moteurs modifiés sont synthétisés avec un fluorophore pour permettre l'observation au microscope [71]. Une seconde méthode consiste à user de billes en silice revêtues d'une protéine avec laquelle les moteurs s'attachent facilement [72]. Dans les deux cas, nous ne connaissons pas l'impact de ces modifications structurales sur la dynamique des moteurs. Au regard de la simplicité souhaitée de notre modèle, seules la directionnalité, la vitesse, et la processivité seront considérées pour caractériser les moteurs. De plus, nous réduirons leur structure complexe à seulement deux têtes inséparables se déplaçant d'un dimère de tubuline à l'autre.

---

7. À titre de comparaison si un humain pouvait effectuer 100 pas par seconde, à raison d'un mètre par pas, il se déplacerait à plus de  $360 \text{ km} \cdot \text{h}^{-1}$ , ce qui est dix fois plus grand que la vitesse moyenne au 100 m de Usain Bolt qui est d'environ  $37 \text{ km} \cdot \text{h}^{-1}$ .

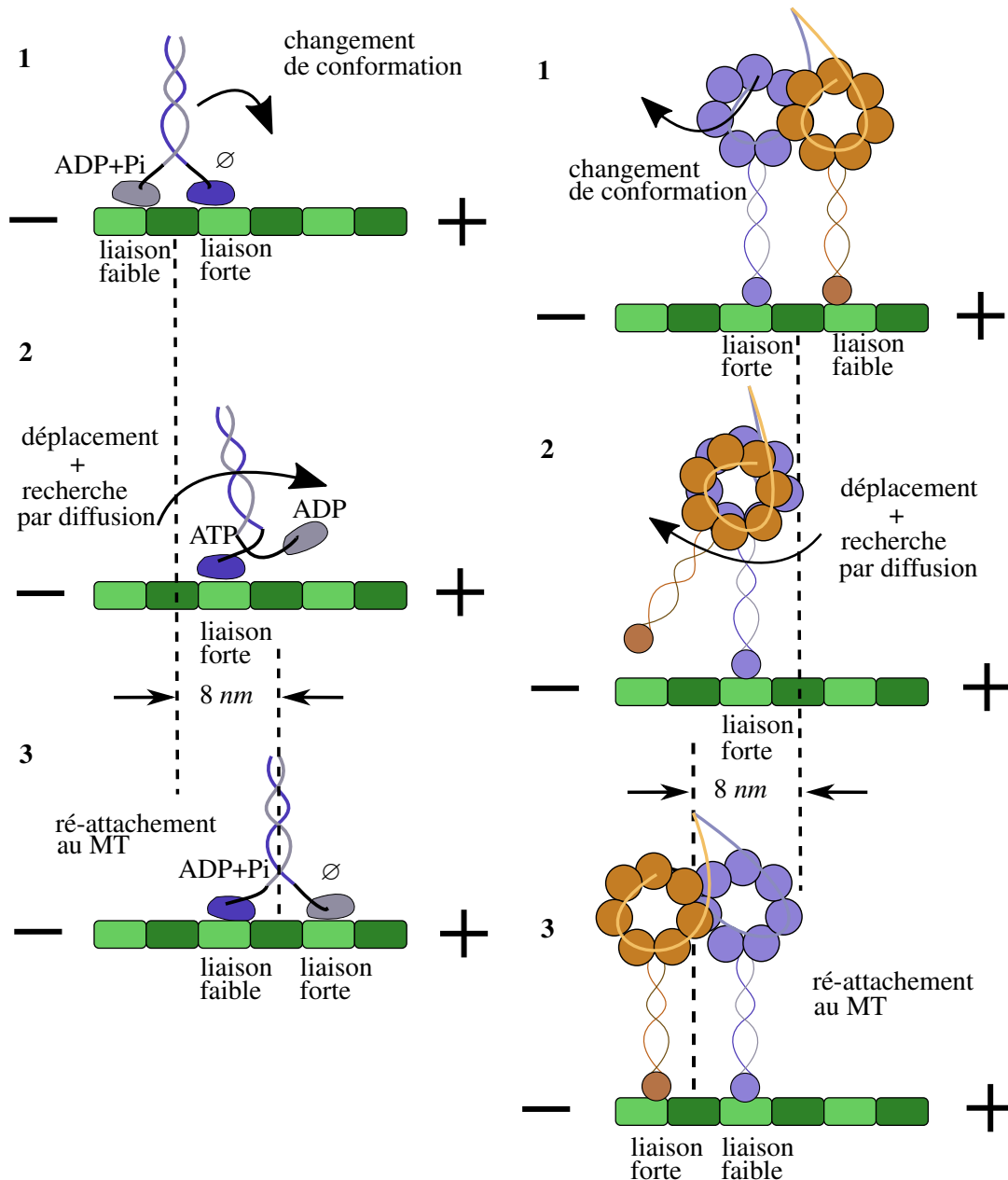


FIGURE 1.5 – Illustration tirée de Gennerich et al. [73] de la marche asymétrique pour un moteur apparenté à la superfamille des kinésines (à gauche) et apparenté à la superfamille des dynéines (à droite). L'ajout de l'état des nucléotides pour chaque tête de la kinésine est tirée de Qin et al [74]. Dans l'étape 1 les moteurs ont une tête avant fortement liée au microtubule (sans nucléotide) et une tête arrière faiblement liée (avec un nucléotide ATP qui vient de s'hydrolyser en ADP+P<sub>i</sub>). Suite à l'attachement d'une molécule d'ATP au niveau de la tête avant et la diffusion de la molécule de phosphate P<sub>i</sub>, le moteur va subir un changement de conformation. Ce qui amène à 2 un détachement complet de la tête arrière (suite à la diffusion du phosphate) et un déplacement de la moitié de la distance à parcourir (suite à l'attachement de l'ATP). Enfin après une recherche par diffusion, et une fois que le nucléotide ADP se soit détaché, la tête arrière va 3 s'attacher de nouveau fortement au réseau. Le moteur se retrouve alors à l'étape 1 et peut continuer son cycle mécano-chimique pour effectuer sa marche asymétrique. Entre chaque pas le centre de masse du moteur se déplace de 8nm, ce qui correspond à la taille d'un dimère de tubuline.

### 1.3 Indications d'une interaction moteur-microtubule

Au sein de la cellule, les MTs interagissent spécifiquement avec de nombreuses protéines : ce sont les MAPs pour *Microtubule Associated Proteins*. Ces MAPs vont altérer la dynamique et l'intégrité du réseau de tubulines. La plupart influence la stabilité du MT, comme par exemple la protéine Tau qui s'attache tout au long des MTs [75–77]. D'autres, comme la protéine EB1, impactent la dynamique du MT en interagissant avec l'extrémité (+) [78, 79]. En servant de marqueur de l'extrémité (+), cette protéine permet d'optimiser la recherche et la saisie de certains composants de la cellule comme les chromosomes [80]. Cette caractéristique est également mise à profit, lors des expériences *in vitro*, comme méthode pour différencier les deux extrémités d'un MT [81].

En 2018, Vemu *et al.* ont mis en évidence un nouveau mécanisme d'interaction des MAPs [58]. Bien qu'il semble à première vue contradictoire, ce mécanisme stabilise le MT en le déstabilisant localement. Les MAPs à l'origine de ce mécanisme sont la katanine et la spastine ; des moteurs non-processifs qui s'assemblent le long du MT [82, 83]. En s'agençant entre eux, les monomères de ces moteurs forment une enzyme de séparation [84]. Au travers d'un cycle mécano-chimique, ces moteurs libèrent une quantité d'énergie suffisante pour fortement déstabiliser les liaisons entre les tubulines. Le réseau se retrouve irréversiblement endommagé [85]. Par conséquent, cette zone déstabilisée possède une plus forte probabilité de se détacher que le reste du réseau. Un défaut de type "trou" se forme, lorsque plusieurs dizaines de dimères de tubuline se décrochent du réseau. Celui-ci peut même s'étendre jusqu'à ce que le MT se retrouve sectionné en deux. Cependant en présence de tubuline-GTP libre en solution, ces défauts nanométriques peuvent être réparés (voir Figure 1.6). En présence de moteurs non-processifs, Vemu *et al.* ont observé une intensification du renouvellement de la tubuline le long du MT, mais également une augmentation de la fréquence de sauvetage. Cela est donc un nouveau mécanisme permettant d'impacter la dynamique et la stabilité globale du MT. Il se démarque des autres mécanismes dit "traditionnels", car l'effet sur la stabilité est de second ordre. Au sens où, il faut dans un premier temps déstabiliser le réseau pour qu'ensuite celui-ci se retrouve plus stable qu'il ne l'était au départ.

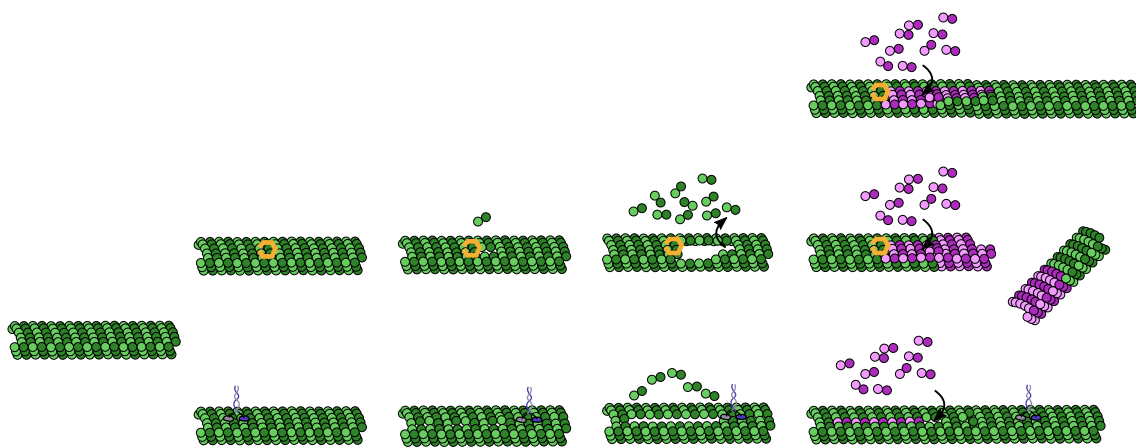


FIGURE 1.6 – Illustration tirée de Théry *et al.* [45] d'une hypothétique interaction entre un moteur non-processif (resp. processif) en haut (resp. en bas) et le réseau du microtubule. En déstabilisant le réseau, les moteurs moléculaires catalysent la dynamique de renouvellement de la tubuline.

Contrairement aux katanines et aux spastines, les moteurs processifs comme les kinésines et les dynéines n'ont pas comme fonction première de déstabiliser le réseau du MT. Néanmoins afin de se déplacer le long du réseau, ces moteurs consomment de l'ATP pour alimenter leur cycle mécano-chimique [86]. Compte tenu du second principe de la thermodynamique, nous pouvons conjecturer l'existence d'un transfert d'énergie vers le réseau de tubuline, qui serait dû à une perte d'énergie lors de ce cycle. Si ce transfert déstabilise les liaisons entre les dimères de tubuline, alors la marche de moteurs devrait modifier la dynamique et la stabilité du MT. Toutefois, un tel phénomène serait-il détectable ?

C'est par l'affirmative que Triclin *et al.* [7] ont répondu à cette question, en effectuant des expériences *in vitro* en présence de moteurs processifs. Comme Dreschsel *et al.* [33], ils ont utilisé des coiffes composées de tubulines-GMPCPP pour stabiliser les MTs en absence de tubuline libre en solution. Puis, ils ont démontré qu'en présence de dynéines de levures actives, la proportion de MTs se dépolymérisant depuis l'intérieur augmente significativement : 37 % avec une concentration de 50  $\mu M$  de dynéines en présence d'ATP, contre 15 % en absence de moteur, et contre 13 % en présence de dynéines mais en absence d'ATP. Le reste des MTs se dépolymérise depuis leurs extrémités. Triclin *et al.* ont également constaté que la durée de vie des MTs en présence de dynéines est d'autant plus réduite que la concentration en moteur augmente. Ils ont interprété cela comme étant la preuve de l'existence d'une interaction déstabilisante du moteur lors de la marche, car en absence d'ATP l'impact n'est plus observable. En effet, la présence des moteurs sans ATP semble, au contraire, stabiliser les MTs. Ensuite, ils ont observé l'impact des kinésines-1 sur des MTs stabilisés aux extrémités, mais cette fois-ci en présence de tubuline libre en solution. En utilisant une tubuline-GTP modifiée fluorescente Triclin *et al.* ont observé qu'en l'absence de moteurs, les MTs survivent sur de longues périodes de temps (environ 30 minutes) et de petites zones d'incorporation de tubuline-GTP sont détectables ( $< 0.5 \mu m$ ). Ceci est également le cas en présence de kinésines-1 en faible concentration (10  $nM$ ), néanmoins la fréquence et la taille de ces zones d'incorporation augmentent considérablement. Le renouvellement de la tubuline le long de la structure est alors stimulé par la présence des moteurs processifs. Le fait qu'ils aient employé de très faibles concentrations de moteurs et tout de même observé un effet de la part de ces protéines motrices rend leurs résultats d'autant plus remarquables.

Cet impact, induit par un flux de moteurs processifs, sur les processus dynamiques le long des MTs a été également corroboré récemment par d'autres observations expérimentales [87, 88]. Au cours desquelles, il a été démontré que la longueur d'incorporation ainsi qu'une fréquence d'incorporation plus importante sont positivement corrélées avec la concentration en kinésine-1. Ces deux études ont donc mis en évidence l'impact de la kinésine-1 sur la stabilité des MTs *in vitro* et *in vivo*. En effet, une augmentation considérable de la fréquence de sauvetage en présence d'une concentration plus faible ( $c = 2 nM$  [87]) que Triclin *et al.* et plus élevée ( $c = 18 nM$  [88]) a été observé. En outre, cette augmentation semble proportionnelle à la concentration de kinésine-1 [87]. Un effet supplémentaire rapporté est l'impact des kinésines-1 sur la croissance du MT *in vivo* ; les moteurs, en augmentant la fréquence de sauvetage, modifient la distribution en longueur des MTs. En absence de moteurs, les MTs non-attachés à leurs extrémités exhibent un effet de tapis-roulant (ou *treadmill effect* en anglais) les amenant à atteindre un état stationnaire vis-à-vis de leur longueur [89]. Or à partir d'une concentration critique de



kinésines-1, Andreu-Carbó *et al.* ont observé que cet état stationnaire n'est plus atteint, et que par conséquent la longueur moyenne du MT ne cesse de croître [87]. Dès lors, une boucle de rétroaction positive est mise en évidence : plus le nombre de moteurs présents sur le MT augmente, plus la fréquence de sauvetage augmente. En augmentant la stabilité globale du MT, la longueur moyenne du MT augmente, permettant ainsi à un plus grand nombre de moteurs de s'attacher sur le MT.

Ce phénomène d'emballement a été également la conclusion logique à laquelle sont parvenus They *et al.* [45]. Leur raisonnement est basé sur une hypothétique interaction entre les moteurs processifs et les dimères de tubuline. They *et al.* s'appuient sur le postulat suivant : les moteurs processifs, en effectuant leur marche, déstabilisent localement les liaisons des tubulines. Cette déstabilisation augmente la probabilité qu'une zone d'incorporation de la tubuline-GTP se forme, ce qui a pour conséquence un effet de second ordre qui stabilise l'ensemble de la structure du MT (voir Figure 1.6). Cependant comme ils l'ont mentionné dans leur conclusion, le mécanisme d'interaction entre les dimères de tubuline et les moteurs reste, à ce jour, encore inconnu.

Nous venons d'introduire les caractéristiques cinétiques propres aux microtubules (MTs) et aux moteurs processifs associés, tel que la kinésine-1 et la dynéine de levure. Ensemble, ils forment les composantes principales du transport intracellulaire. En parcourant le long des MTs, ces moteurs processifs sont des convoyeurs nanométriques remorquant des vésicules pleines de protéines d'un bout à l'autre de la cellule. La stabilité des MTs est essentiel pour le transport intracellulaire, notamment au sein des cellules nerveuses. Par ailleurs *in vivo*, la présence des MAPs (*Microtubule Associated Proteines*) influencent considérablement la stabilité des MTs. Or récemment, un nouveau mécanisme qui semble *a priori* paradoxal a été mis en lumière : les moteurs non-processifs (comme la katanine et la spatines) et processifs (comme la kinésine-1 et la dynéine de levure) augmente la stabilité générale du MT en déstabilisant localement le réseau de tubulines [7, 45, 58, 87, 88]. Bien que les preuves empiriques sont cohérentes entre elles, l'origine de cette interaction moteur-microtubule reste inconnu. Ainsi au Chapitre 3, nous introduisons un modèle numérique pour décrire un mécanisme hypothétique à l'origine de l'interaction moteur-microtubule. Ce modèle nous offre alors un cadre théorique dans lequel nous pouvons analyser qualitativement l'impact des moteurs processifs sur les processus dynamiques des MTs. Le modèle en question repose sur un formalisme propre aux simulations Monte Carlo cinétique, que nous décrivons plus en détails au Chapitre 2.





# 2

## Simulations Monte Carlo cinétique

### Sommaire

---

<b>2.1</b>	<b>Méthode VSS standard</b>	<b>26</b>
2.1.1	Généralités sur les simulations Monte Carlo	26
2.1.2	Formalisme des simulations kMC	26
2.1.3	Implémentation générique de la méthode VSS	28
2.1.4	Avantages d'un algorithme kMC en méthode VSS	29
2.1.5	Limites d'un algorithme kMC en méthode VSS	31
<b>2.2</b>	<b>Éléments d'optimisation de la méthode VSS</b>	<b>32</b>
2.2.1	Implémentation de la méthode VSSa	32
2.2.2	Mise à jour au voisinage de la réaction	33
2.2.3	Redondance à l'aide de listes de listes	33

---

## 2.1 Méthode VSS standard

Le modèle que nous avons développé pour étudier l'interaction moteur-tubuline repose entièrement sur un algorithme Monte Carlo cinétique ou kMC pour *kinetic Monte Carlo*. Nous consacrons ce chapitre au fonctionnement de ce type d'algorithme. En particulier, nous nous focalisons sur la méthode dite à "pas de taille variable" ou VSS pour "*Variable Step Size*". Puis, nous discutons des avantages et des limites qu'apporte cette méthode pour suivre l'évolution temporelle de notre système. Afin d'optimiser les performances de l'algorithme, nous avons développé plusieurs implémentations de la méthode VSS. Nous clôturons alors ce chapitre par une présentation concise de ces améliorations, ainsi qu'une comparaison du temps d'exécution en fonction de la taille du réseau.

### 2.1.1 Généralités sur les simulations Monte Carlo

Un algorithme Monte Carlo (MC) consiste à échantillonner, à l'aide de nombres pseudo-aléatoires <sup>1</sup>, un système afin de calculer numériquement une valeur. Ce type d'algorithme s'emploie aussi bien pour estimer les décimales de pi [90] que pour construire le diagramme de phase d'un système à l'équilibre thermodynamique [91]. Les applications sont pratiquement infinies et ont en commun l'intégration d'une part d'aléatoire dans le système considéré [92–94]; on parle alors de processus stochastique (*stokhos* signifie conjecture en grec) par opposition au processus déterministe.

Une version dynamique des algorithmes MC est nécessaire lorsque nous souhaitons suivre un processus stochastique au cours du temps. Cette sous-classe des algorithmes MC a été originellement appliquée au modèle d'Ising [95] et au modèle des réactions chimiques couplées [96]. Bien que de nombreuses implémentations de cet algorithme existent, elles ont toutes comme but commun de simuler l'évolution d'une variable temporelle à partir d'un nombre pseudo-aléatoire et d'un facteur de normalisation propre à la configuration à l'instant  $t$  du système. Pour expliquer ce que cela signifie, nous décrivons l'implémentation d'une méthode kMC qui s'inspire d'une des méthodes décrites par Lukkien *et al.* [97]. Cependant il nous faut, avant d'explicitier les particularités de cette méthode, synthétiser le formalisme général sur lequel elle repose.

### 2.1.2 Formalisme des simulations kMC

Soit un système pouvant être associé à un réseau 2D composé de  $N$  sites. Chaque site du réseau se caractérise par un état qui se modifie au gré des réactions ayant lieu sur cette surface. L'ensemble des états des sites à un instant  $t$  définit une configuration  $c(t)$  du réseau. Ainsi, l'évolution temporelle des différentes configurations est décrite par

---

1. Comme les ordinateurs sont des machines qui exécutent uniquement des processus déterministes, il est impossible de générer un nombre purement aléatoire. Toutefois, plusieurs méthodes existent pour générer des suites de nombres qui partagent les mêmes propriétés que celles d'une série de nombres aléatoires. La plus connue des méthodes consiste à prendre un nombre à quatre chiffres, puis de prendre son carré et enfin de ne sélectionner que les quatre chiffres du milieu. On ré-utilise ensuite ce nombre pour générer le prochain. Par exemple, si nous partons de 1111 cela donne {1111, 3432, 7786, 6217, 6510, ...}.

l'équation maîtresse suivante :

$$\frac{d\mathbb{P}(c,t)}{dt} = \sum_{c' \neq c} \left[ \mathbb{P}(c',t)k_{c'c} - \mathbb{P}(c,t)k_{cc'} \right] \quad (2.1)$$

avec  $\mathbb{P}(c,t)$  la probabilité de trouver le système dans la configuration  $c$  à l'instant  $t$  et  $k_{cc'}$  la probabilité de transfert de la configuration  $c$  vers  $c'$ . Par analyse dimensionnelle, la probabilité de transfert est analogue à une constante de réaction du 1<sup>er</sup> ordre, ce qui, en Chimie, renvoie à la vitesse d'une réaction. Cette équation dérive d'une hypothèse fondamentale pour structurer un algorithme kMC, formulée par Gillespie en 1975 [94] :

*"La probabilité qu'une réaction, amenant un changement de configuration tel que  $c \rightarrow c'$ , se produise dans une période de temps infinitésimal  $\delta t$  est donnée par  $k_{cc'} \delta t$ ."*

Un corollaire de cette hypothèse est le fait que la probabilité d'une telle réaction suivra nécessairement une distribution exponentielle. Nous pouvons retrouver ce résultat à partir d'une propriété des systèmes dit "sans mémoire" : l'état futur d'un système sans mémoire ne dépend pas de ses états passés, mais uniquement de son état présent. On parle aussi de processus de Markov. Mathématiquement on exprime cette propriété par

$$\mathbb{P}(T \geq t + t_0 | T \geq t_0) = \mathbb{P}(T \geq t). \quad (2.2)$$

À partir de cette propriété, nous pouvons définir la probabilité  $\mathbb{P}(c, t + \delta t)$  que le système soit dans la configuration  $c$  à l'instant  $t + \delta t$  comme la somme de deux termes :

1. La probabilité que le système étant dans la configuration  $c$  à l'instant  $t$  reste dans cette même configuration pendant une période de temps  $\delta t$
2. La probabilité que le système étant dans une quelconque configuration  $c'$  à l'instant  $t$ , adopte la configuration  $c$  au cours d'un intervalle de temps  $\delta t$ .

En explicitant cette formulation nous obtenons

$$\mathbb{P}(c, t + \delta t) = \mathbb{P}(c, t) \left( 1 - \delta t \sum_{c' \neq c} k_{cc'} \right) + \sum_{c' \neq c} \mathbb{P}(c', t) k_{c'c} \delta t. \quad (2.3)$$

En ré-ajustant les termes et en prenant la limite  $\delta t \rightarrow 0$ , l'équation (2.3) retombe sur l'équation maîtresse (2.1).

Un corollaire complémentaire de l'hypothèse de Gillespie est l'élaboration d'une évolution temporelle discrète. Pour démontrer cela, nous devons nous appuyer sur une propriété des distributions exponentielles pouvant être formulée comme suit [97] :

*Soit une série de  $N$  variables aléatoires notées  $\{T_1, \dots, T_N\}$  indépendantes et distribuées exponentiellement selon leur paramètre respectif  $\{\lambda_1, \dots, \lambda_N\}$ , alors le minimum de cette série est également distribué exponentiellement selon le paramètre  $\sum_{i=1}^n \lambda_i$ , appelé le taux global .*

Appliqué à notre cas, nous obtenons

$$\mathbb{P}(\min \{T_i\} \geq t) = \exp \left\{ - \sum_{c' \neq c} k_{cc'} t \right\}. \quad (2.4)$$

Il suffit alors de poser que la probabilité  $\mathbb{P}(\min\{T_i\} \geq t_{j+1} + t_j)$  soit équivalente à une variable aléatoire uniformément distribuée entre 0 et 1, notée  $u$ , pour obtenir l'expression du pas de temps entre deux réactions. La variable temporelle  $t$  s'exprime alors de manière récursive :

$$t_{j+1} = t_j - \frac{\ln(u)}{\sum_{c' \neq c} k_{cc'}}. \quad (2.5)$$

Nous avons jusqu'à présent résumé le cadre général dans lequel s'inscrit un algorithme kMC, néanmoins il nous faut éclaircir la signification du terme  $k_{cc'}$ . Interpréter physiquement ce terme revient à effectuer un choix dans la méthode d'implémentation de l'algorithme kMC. C'est au travers de la méthode dite à "pas variable" (ou VSS pour *variable step size*) que nous allons expliciter cette probabilité de transfert  $k_{cc'}$ . Comme nous n'avons pas de fortes contraintes de la part de notre modèle, c'est la facilité d'implémentation qui a guidé notre choix.

### 2.1.3 Implémentation générique de la méthode VSS

Pour une configuration  $c$  donnée un certain nombre de réactions peut se produire. Cependant, nous pouvons remarquer qu'une partie d'entre elles ne sont qu'une même réaction se produisant à différents sites du réseau. Il est donc judicieux de catégoriser les réactions possibles par types de réaction. Une réaction de type  $i$  est alors entièrement caractérisée par trois informations :

- Une constante de réaction  $k_i$
- Une condition d'activation
- Le nombre  $n_i(c)$  de sites dans la configuration  $c$  respectant la condition d'activation.

À l'aide de cette approche, nous pouvons redéfinir le taux global  $\sum_{c' \neq c} k_{cc'}$  comme

$$\sum_{c' \neq c} k_{cc'} = \sum_i n_i(c) k_i = C(c). \quad (2.6)$$

Nous pouvons remarquer que  $C(c)$  joue le rôle de facteur de normalisation. En effet, pour un réseau dans la configuration  $c$ , la probabilité  $p_i$  qu'une réaction de type  $i$  soit la suivante à se produire s'exprime comme

$$p_i(c) = \frac{n_i(c) k_i}{C(c)}. \quad (2.7)$$

Enfin, nous faisons l'hypothèse d'équiprobabilité parmi  $n_i$  sites afin de sélectionner la position dans le réseau de la prochaine réaction de type  $i$ . Entre chaque réaction, l'algorithme tire trois nombres pseudo-aléatoires pour déterminer (i) le type de la prochaine réaction, (ii) sa position et (iii) le pas de temps entre les deux réactions. La procédure VSS présentée par Lukkien *et al.* [97] peut être schématisée par la Figure 2.1 et synthétisée au travers des étapes suivantes :

1. Initialisation des paramètres du réseau
2. Initialisation de la première configuration  $c_0$
3. Calcul du facteur de normalisation  $C(c_j)$
4. Tirage du type de la prochaine réaction

5. Tirage de la position de la prochaine réaction
6. Tirage du pas de temps jusqu'à la prochaine réaction
7. Mise à jour de la configuration ( $c_j \rightarrow c_{j+1}$ )
8. Mise à jour du vecteur  $n(c_j)$  du nombre d'occurrences par type de réaction
9. Mise à jour de la liste  $\mathcal{E}$  des sites activés par type de réaction
10. Si condition d'arrêt non satisfaite, retour à l'étape 3.

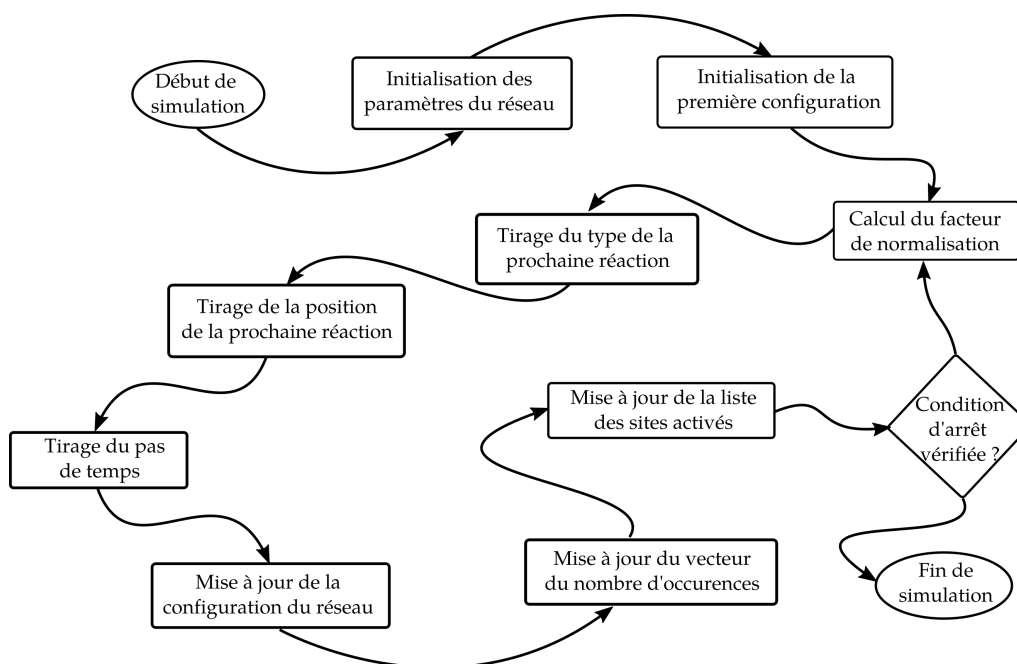


FIGURE 2.1 – Schéma d'un algorithme Monte Carlo cinétique en suivant la méthode à pas variable (VSS).

### 2.1.4 Avantages d'un algorithme kMC en méthode VSS

Examinons les avantages qu'offre un algorithme kMC, en particulier ceux de la méthode VSS. Puis dans un second temps nous présentons les éventuelles limites rencontrées (voir section 2.1.5). Tout d'abord, notre motivation première est de décrire les mécanismes sous-jacents à la dynamique de notre système, sans devoir simuler l'entièreté des interactions hydrodynamiques, mécaniques et chimiques auxquelles sont soumis les microtubules. Tout cette complexité peut être décrite via des processus stochastiques. Les simulations kMC, dont le formalisme repose exclusivement sur des processus stochastiques, nous permettent alors de simuler l'évolution temporelle d'une telle dynamique.

Comme nous l'avons mentionné au cours de la section 2.1, avec la méthode VSS l'évolution d'un système est entièrement définie à l'aide d'un ensemble de réactions caractérisées par une condition d'activation, une constante de réaction et une configuration du réseau donnée. La résolution spatiale est alors limitée par la taille d'un site du réseau, car celui-ci représente l'élément le plus petit sur lequel un mécanisme physique peut être étudié. Quant à la taille du réseau lui-même, elle fixe l'échelle la plus grande à laquelle nous pouvons étudier les effets des mécanismes considérés. Ici, nous définissons la taille d'un



site comme étant équivalente à celle d'un dimère de tubuline. Du fait que nous souhaitons étudier des MTs de plusieurs micromètres de long, le réseau sera composé d'environ  $10^4$  sites. Dès lors, le premier bénéfice qu'apporte l'algorithme kMC est de nous permettre de décrire la dynamique sur plusieurs ordres de grandeurs spatiales – des mécanismes *microscopiques* à l'échelle du site, aux observables *macroscopiques* à l'échelle du réseau.

Le fait de pouvoir définir sans contrainte les différents états possibles que peuvent prendre les sites du réseau nous permet de simuler des systèmes complexes, c'est-à-dire composés d'éléments de nature différente. Dans notre cas, cela correspond aux moteurs processifs et aux dimères de tubuline. En outre, le MT est lui-même un système complexe, car sa dynamique de croissance ne peut être modélisée qu'en considérant au moins deux conformations différentes (tubulines-GDP et -GTP). Nous verrons cela plus en détail dans la section 3.1.

La méthode VSS ne donne également aucune restriction quant aux valeurs des constantes de réaction. Cela permet de modéliser plusieurs mécanismes (réactions) sur différentes échelles de temps. Ainsi, nous sommes en mesure de décrire l'effet résultant sur la dynamique globale du système sans se préoccuper du pas de temps, car celui-ci est défini par le modèle lui-même [voir Eq. (2.5)]. À l'inverse pour d'autres méthodes de simulations, comme par exemple les simulations de dynamique moléculaire (MD), le pas de temps doit être ajusté de manière optimale. En effet, si le pas de temps est trop grand la fidélité de la modélisation est moindre. *A contrario* lorsque celui-ci est trop petit, la demande en ressource de calcul et le temps de simulation explosent [98]. Pour des systèmes comme les MTs, de telles simulations permettent uniquement d'explorer la dynamique de déformation sur une échelle de plusieurs dizaines de dimères, et jusqu'à atteindre un état d'équilibre [99] – ce qui exclut complètement la possibilité de décrire la dynamique à l'échelle de plusieurs dizaine de minutes. Or comme nous l'avons vu précédemment (voir section 1.2) une kinésine effectue 100 pas par seconde, ce qui donne un temps caractéristique de 10ms. Pourtant, nous souhaitons observer la dynamique des moteurs à l'échelle de l'instabilité dynamique, qui est de l'ordre de la minute. Il y a donc à minima une différence de trois ordres de grandeur. Plus loin, nous verrons qu'en optimisant l'algorithme kMC un tel système peut être simulé (voir section 2.2).

En plus de tous ces avantages, cette méthode est facile à implémenter. Comme nous avons vu dans la section 2.1.3, la procédure de la méthode VSS est composée de dix étapes, chacune très simple à conceptualiser. Nous avons pu concevoir de zéro des scripts en python qui implémentent la méthode VSS [100]. Sa simplicité réside aussi dans son formalisme, c'est-à-dire dans sa manière de définir le modèle. Chaque mécanisme est entièrement caractérisé par une réaction. Cette dernière est définie par une condition d'activation et une constante de réaction. Nous verrons à la section 3.2 que certaines constantes de réaction se calibre aisément, car celles-ci s'apparentent à une probabilité par unité de temps qui renvoie à une quantité physique du système.

Pour résumer, les algorithmes kMC sont simple à implémenter et permettent de simuler des systèmes complexes dont la dynamique peut être décrite par des processus stochastiques. Par ailleurs, la résolution spatiale de ces simulations est défini par le plus petit élément considéré dans le modèle, et l'évolution temporelle peut être suivie sur plusieurs ordres de grandeurs par rapport au pas de temps moyen. Au regard des ces avantages,

la méthode VSS semble être la méthode la plus appropriée pour étudier l'interaction des moteurs processifs avec un réseau de tubulines, ainsi que leurs conséquences sur la dynamique globale du microtubule.

### 2.1.5 Limites d'un algorithme kMC en méthode VSS

Toute méthode possède ses limites. Il est donc essentiel d'explicitement celles d'un algorithme kMC en méthode VSS pour être en mesure d'établir si les avantages contrebalancent les limitations.

Tout d'abord, comme nous associons la structure d'un MT à une surface 2D, nous sommes amenés à complètement négliger les forces mécaniques auxquelles est soumise la structure. Or les MTs sont sensibles au phénomène de flambement [13, 101] et en particulier en présence de moteurs processifs [102–104].

La seconde limite provient du fait qu'au sein d'un modèle basé sur le formalisme d'un algorithme kMC tout est réaction. Or nous avons vu dans la section 2.1 que le temps de réaction est distribué selon une loi exponentielle. Ainsi, toute observable associée à la variable temporelle, comme par exemple une durée, suivra nécessairement une distribution exponentielle. Cela amène une difficulté au sens où une grande statistique ( $N_{\text{stat}} > 1000$ ) est donc nécessaire pour obtenir une mesure fiable et robuste de la moyenne de l'observable. Pour pallier ce problème afin d'obtenir une moyenne et un écart-type avec ce genre d'observables, nous avons utilisé une méthode d'échantillonnage par "bootstrap". Cette méthode consiste à simuler une distribution normale à partir d'un ensemble de mesures. Plus exactement, à partir d'un ensemble de  $n$  mesures tel que  $\mathcal{O} = \{o_1, o_2, \dots, o_n\}$ , une distribution de  $N$  mesures est simulée à partir de la valeur moyenne de chacun des  $N$  ensembles de mesures obtenus à partir d'un échantillonnage avec remplacement. La distribution contenant les  $N$  mesures moyennes de l'observable suit alors une loi normale, ce qui, par conséquent, définit une moyenne et un écart-type.

Enfin, la limite la plus contraignante que nous rencontrons avec la méthode VSS présentée par Lukkien *et al.* [97] est le temps de calcul. En effet, le temps de calcul pour cette méthode est dépendant de la taille du réseau et de la complexité du modèle considéré. Dans sa version la plus simple, nous obtenons vite un temps de calcul qui peut être de l'ordre du jour, voir de la semaine pour une unique simulation, en particulier en présence de moteurs. Du fait que la dynamique des moteurs soit 100 fois plus rapides que la dynamique de croissance du MT, le pas de temps moyen est considérablement petit comparé au temps caractéristique de la tubuline. Pour éviter de faire face à un temps de calcul de cette envergure, il est essentiel d'optimiser la méthode VSS. Nous allons, dans la section 2.2, présenter deux améliorations qui, lorsque combinées, permettent de réduire drastiquement la vitesse d'exécution de l'algorithme kMC.

## 2.2 Éléments d'optimisation de la méthode VSS

La contrepartie de la simplicité d'implémentation de la méthode VSS est son temps de calcul qui explose rapidement lorsque nous simulons de grands réseaux. Simuler un MT de  $6\mu\text{m}$  de long correspond à un réseau composé de  $10^4$  sites. Dans cette section, nous allons comparer le temps  $t_b$  d'exécution d'une boucle pour les différentes implémentations de la méthode VSS. Cette analyse prouve qu'en combinant deux modifications dans l'implémentation VSSa présentée par Lukkien *et al* [97], le temps d'exécution peut être drastiquement réduit. Nous constatons même une faible dépendance du temps d'exécution vis-à-vis de la taille du réseau.

### 2.2.1 Implémentation de la méthode VSSa

Nous avons vu au paragraphe 2.1.3 le formalisme théorique de la méthode VSSa. Ici, nous détaillons spécifiquement l'implémentation de la méthode dite "VSSa" de Lukkien *et al.* [97]. En particulier, nous décrivons les objets numériques nécessaires pour implémenter cette méthode. Afin de simuler l'évolution d'un réseau rectangle de  $n$  sites de longueur et  $m$  sites de largeur en considérant  $n_r$  réactions, il nous faut quatre objets :

1. une matrice 2D  $\mathcal{M}(n, m)$  répertoriant les états des  $N$  sites ( $N = n \times m$ )
2. un vecteur 1D noté  $\vec{k}$  de  $n_r$  composantes contenant les valeurs des constantes de réactions
3. un vecteur 1D noté  $\vec{n}$  de  $n_r$  composantes contenant le nombre de sites activés pour chaque type de réaction
4. une matrice 2D, notée  $\mathcal{E}(N, n_k)$ , d'encodage one-hot<sup>2</sup> répertoriant pour chaque site quelles réactions sont activées ou non.

Après chacune des réactions le réseau  $\mathcal{M}$  est mis à jour, le vecteur  $\vec{n}$  et la matrice  $\mathcal{E}$  doivent donc l'être également, ce qui nécessite de parcourir l'entièreté de la matrice  $\mathcal{M}$ . Ensuite, il faut choisir le site où s'effectuera la prochaine réaction. Pour cela, il faut parcourir la colonne correspondante de la matrice  $\mathcal{E}$  pour construire la liste des positions possibles. Dès lors, plus la taille du réseau est grande, plus le temps pour effectuer une boucle sera long. À partir de cela nous pouvons supposer que le temps  $t_b$  devrait être proportionnel à  $N$ . Cette implémentation a alors une complexité linéaire  $\mathcal{O}(N)$ <sup>3</sup>. C'est bien ce que nous constatons lorsque nous effectuons une mesure du temps d'exécution en fonction de la taille du réseau (voir Figure 2.2).

Au cours de la thèse deux améliorations ont été apportées à cette méthode. Nous allons à présent expliquer leur fonctionnement respectif.

---

2. une matrice d'encodage one-hot est une matrice contenant uniquement des 0 et de 1. Elle permet d'attribuer facilement des caractéristiques booléennes (selon les colonnes) à des individus (selon les lignes). La contrepartie provient du fait que ces matrices sont dites de faible densité, car la matrice contient en général beaucoup plus de 0 que de 1, l'information est donc diffuse.

3. La complexité d'un algorithme décrit la dépendance du temps d'exécution avec la taille des objets de l'algorithme. Elle est généralement écrite sous la notation de Landau, c'est à dire  $\mathcal{O}(n)$ . La complexité peut être, entre autre, quadratique  $\mathcal{O}(N^2)$ , linéaire  $\mathcal{O}(N)$  ou constante  $\mathcal{O}(a)$ .

### 2.2.2 Mise à jour au voisinage de la réaction

La première amélioration repose sur l'hypothèse suivante :

*L'effet d'une réaction à un site donné influence uniquement les sites situés au voisinage de la réaction.*

Cela signifie qu'au delà du voisinage de la réaction, les conditions d'activation des sites restent inchangées. Il est donc sous-optimal de parcourir l'entièreté de la matrice  $\mathcal{M}$  après chaque réaction pour mettre à jour la matrice  $\mathcal{E}$  et le vecteur  $\vec{n}$ . Il suffit de parcourir uniquement une sous-partie de  $\mathcal{M}$ , notée  $\mathcal{V}(n_v, m_v)$  qui correspond à un rectangle ( $n_v \times m_v$ ) centré sur le site où la réaction s'est produite. Si la taille de  $\mathcal{V}$  est très petite devant celle de  $\mathcal{M}$  alors la réduction du temps d'exécution d'une boucle sera considérable, car le temps d'exécution de la mise à jour de  $\mathcal{E}$  et  $\vec{n}$  devient indépendant de la taille du réseau. Néanmoins le temps d'exécution de l'algorithme reste dépendant de la taille du réseau car cette modification n'impacte pas la méthode de sélection pour la position de la prochaine réaction.

En implémentant cette amélioration, nous réduisons le temps de calcul d'un facteur 30 pour  $N = 10^5$ , soit une réduction de 96.7% (voir Figure 2.2). L'avantage avec cette amélioration, c'est que plus le réseau est grand plus la réduction du temps de calcul est grande. Ceci est une propriété attendue, car la taille du voisinage est indépendante de la taille du réseau.

### 2.2.3 Redondance à l'aide de listes de listes

La seconde amélioration est indépendante de toute hypothèse. Elle consiste simplement à remplacer la matrice  $\mathcal{E}$  par deux objets plus *denses* en information :

1.  $\mathcal{L}_S$  = une liste de  $n_k$  listes où la  $i$ -ième liste contient une liste des sites activés pour la réaction de type  $i$
2.  $\mathcal{L}_R$  = une liste de  $N$  listes où la  $k$ -ième liste contient une liste de réactions possibles pour le site à la position  $k$  dans le réseau.

L'équivalence entre la position  $k$  d'un site et ces coordonnées  $(x, y)$  s'exprime comme

$$k = y + x \times m. \quad (2.8)$$

Nous pouvons remarquer que  $\mathcal{L}_R$  est la liste réciproque de  $\mathcal{L}_S$ . Cette redondance dans les données est employée pour faciliter la mise à jour des informations une fois que la réaction s'est produite. L'avantage de cette amélioration provient du fait qu'à tout instant nous avons accès à la liste des sites possibles pour toute réaction. Il n'est donc plus nécessaire de la construire à chaque boucle.

Si nous implémentons uniquement cette dernière amélioration nous avons seulement une réduction du temps de calcul d'environ 23% par rapport à l'implémentation VSSa. Néanmoins lorsque nous couplons les deux améliorations, le temps d'exécution d'une boucle devient quasiment indépendant de la taille du réseau. En effet, le temps  $t_b$  est multiplié par un facteur 1.68 lorsque nous multiplions le réseau par un facteur 1000 (voir Figure 2.2). Nous obtenons alors, pour  $N = 10^5$ , une réduction du temps de calcul d'un facteur 420 soit une réduction d'environ 99.8% par rapport à l'implémentation VSSa initial. Cette

optimisation est essentielle pour suivre l'évolution du réseau avec le modèle MoTub sur des échelles de temps avec un ordre de grandeur cinq fois plus grand que le pas de temps moyen.

Nous pouvons observer sur la Figure 2.2 que le temps  $t_b$  d'exécution d'une boucle reste dépendant de la taille du réseau. Or d'un point de vue théorique grâce à l'implémentation de ces deux améliorations, le script devrait être entièrement indépendant car aucun objet composé de  $N$  éléments n'est parcouru au cours d'une boucle. Nous supposons que cette dépendance provient non pas de la complexité temporelle, mais de la complexité spatiale de l'algorithme. Le temps d'exécution d'un algorithme ne dépend pas uniquement de sa complexité en temps, mais également de sa complexité spatiale. En effet, plus la taille du réseau augmente, moins il y a d'espace libre dans la mémoire du processeur. Nécessairement, cela impacte les performances de la machine, et par conséquent augmente le temps d'exécution d'une boucle.

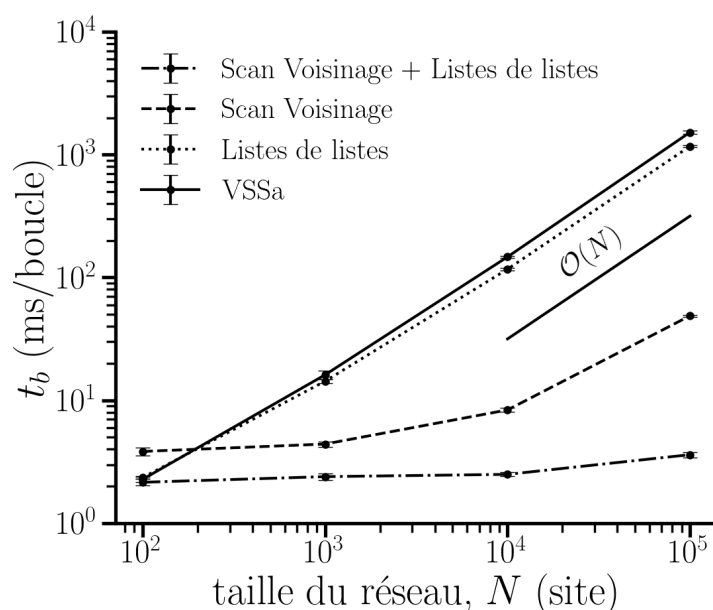


FIGURE 2.2 – Comparaison des temps  $t_b$  d'exécution d'une boucle pour différentes implémentations de la méthode VSS appliqué au modèle MoTub. À titre de comparaison, la dépendance en temps pour un algorithme d'une complexité linéaire  $\mathcal{O}(N)$  est donnée.

Nous avons vu au cours de ce chapitre le formalisme et en particulier l'implémentation sur lequel repose l'algorithme utilisé tout au long de cette thèse. Nous avons démontré qu'il était possible de réduire jusqu'à 99.8% le temps d'exécution d'une boucle en combinant deux améliorations. La première contraint la zone sur laquelle le réseau est mis à jour après chaque réaction. Quant à la seconde, elle densifie l'information gardée en mémoire entre chaque boucle. Ces deux améliorations ont été apportés dans le but qu'il ne soit plus nécessaire de parcourir d'objet composé de  $N$  éléments à chaque boucle. L'algorithme est donc, pour  $N < 10^5$ , quasiment indépendant de la taille du réseau. À présent que nous savons implémenter l'algorithme kMC de manière efficiente, nous explicitons, au Chapitre 3, les différents modèles utilisés pour étudier le mécanisme à l'origine de l'interaction moteur-tubuline et ses implications sur la dynamique du MT.





# 3

## Modélisation de l'interaction entre des moteurs processifs et un microtubule

### Sommaire

---

<b>3.1</b>	<b>Modèle kMC d'un microtubule dynamique</b>	<b>38</b>
3.1.1	Hypothèses nécessaires pour une instabilité dynamique	38
3.1.2	Modèle Attachement-Hydrolyse-Détachement	39
3.1.3	Anisotropie d'un microtubule	41
3.1.4	Dynamique à l'extrémité (+) du réseau	42
<b>3.2</b>	<b>Modélisation kMC d'un flux de moteurs processifs</b>	<b>45</b>
3.2.1	Modèle Attachement-Marche-Détachement	45
3.2.2	Dynamique caractéristique des moteurs processifs	46
<b>3.3</b>	<b>Modèle d'interaction Moteur-Tubuline</b>	<b>50</b>
3.3.1	Hypothèse sur un effet stabilisant des moteurs	50
3.3.2	Hypothèse sur un effet déstabilisant des moteurs	51
3.3.3	Localisation de la pénalité induite par les moteurs	52
<b>3.4</b>	<b>Version effective du modèle MoTub</b>	<b>54</b>

---



### 3.1 Modèle kMC d'un microtubule dynamique

Ce chapitre est consacré à la description des réactions nécessaires pour modéliser la dynamique d'un MT, de celle des moteurs processifs et de l'interaction entre les deux. Dans un premier temps, nous nous focalisons sur les réactions propres aux dimères de tubuline, puis à celles associées aux moteurs processifs. Ensuite nous allons voir comment implémenter deux hypothèses d'interaction entre les moteurs et les dimères de tubuline. L'ensemble de toutes ces réactions forme le modèle d'interaction moteur-tubuline ou "MoTub". Enfin, nous clôturons ce chapitre avec une variante du modèle MoTub. Cette variante modélise de manière effective l'impact de moteurs sur les dimères. En considérant uniquement les réactions pour les dimères de tubulines, un tel modèle effectif a l'avantage de réduire drastiquement le temps de calcul, au prix d'un cadre de validité plus restreint.

#### 3.1.1 Hypothèses nécessaires pour une instabilité dynamique

Il est possible de modéliser l'instabilité dynamique d'un MT de deux manières différentes : soit avec un modèle 1D effectif, soit avec un modèle 2D mécanistique. Pour un modèle 1D, chaque site correspond à une rangée de dimères de tubuline et le mécanisme d'instabilité dynamique ne peut être obtenu qu'en considérant des réactions qui dictent le changement de phase telles que :

$$\text{croissance} \xrightleftharpoons[f_r]{f_c} \text{effondrement} \quad (3.1)$$

avec  $f_c$  (resp.  $f_r$ ) la fréquence de catastrophe (resp. de sauvetage). *A contrario* avec un modèle 2D pour lequel le réseau du MT est associé à une surface cylindrique, les réactions s'appliquent au niveau des sites. Ainsi, l'instabilité dynamique ne peut apparaître qu'à la suite de mécanismes spécifiques aux dimères. En utilisant un modèle 2D, Bowne *et al.* ont démontré cela en décrivant le mécanisme qui est sous-jacent à l'hydrolyse du nucléotide GTP de la tubuline [53]. Comme nous souhaitons décrire les conséquences des hypothétiques mécanismes entre les moteurs et le dimère de tubuline nous faisons, par conséquent, le choix d'un modèle 2D pour lequel chaque site du réseau correspond à un dimère de tubuline.

Nos objectifs pour modéliser la dynamique d'un MT sont : (i) limiter le nombre de paramètres tout en observant un phénomène d'instabilité dynamique [2] et (ii) contraindre l'espace des paramètres afin d'obtenir une dynamique similaire à un MT. Pour rappel, la mesure exacte des observables liées à la dynamique d'un MT (vitesses de croissance et d'effondrement, fréquences de catastrophe et de sauvetage, dynamique de fracture) est fortement sensibles aux conditions expérimentales. Nous n'avons pas comme objectif d'ajuster précisément notre modèle à un ensemble de résultats provenant d'une expérience en particulier. Néanmoins, nous avons pour ambition d'obtenir une multitude d'observables ajustée afin d'obtenir l'ordre de grandeur correspondant. Nous revenons plus en détail sur cet aspect lorsque nous discutons le calibrage de la dynamique du réseau au cours de l'annexe A.2.

### 3.1.2 Modèle Attachement-Hydrolyse-Détachement

Dans un premier temps nous nous concentrons sur le premier objectif : l'obtention d'un modèle avec un minimum de paramètres. Pour cela, nous commençons par établir les hypothèses nécessaires à l'émergence d'une instabilité dynamique pour une surface 2D. Depuis plus de 25 ans, nous savons que la nature bivalente du dimère de tubuline joue un rôle prépondérant [33] et que seuls les dimères de tubuline-GTP se polymérisent spontanément à partir d'une graine dans un milieu aqueux [2, 33]. Une fois intégré au réseau un dimère de tubuline change de conformation, de manière irréversible, lorsque le nucléotide GTP du monomère  $\beta$  s'hydrolyse [53]. Par conséquent, la quasi-totalité des dimères présents à l'écart des extrémités du MT sont des tubulines-GDP. Or un réseau de tubulines-GDP est moins stable qu'un réseau composé de tubulines-GTP; cette asymétrie dans la stabilité est cruciale afin de faire apparaître un phénomène d'instabilité dynamique.

Ces caractéristiques, qui semblent être à l'origine de l'instabilité dynamique des MTs, peuvent être modélisées à partir de trois états et trois réactions différentes (cf Figure 3.1 a et c). Nous considérons également un réservoir infini de dimères de tubuline-GTP en solution à une concentration  $c$ . Enfin, nous faisons l'hypothèse que l'attachement des dimères-GDP est lente par rapport à tout autre processus se déroulant dans la solution (comme par exemple la réaction de phosphorylation du dimère-GDP en dimère-GTP, la diffusion de dimères et du GTP, etc...). Un site peut être occupé par un dimère de tubuline-GTP (**T**) ou par un dimère de tubuline-GDP (**D**), sinon il est considéré comme vacant (**V**). Une réaction d'incorporation de tubuline-GTP se produit avec une probabilité par unité de temps  $k_{\text{on}}c$  seulement lorsqu'un site vacant possède au moins un voisin non-vacant (voir Figure 3.1 c à gauche). Comme indiqué dans la section 1.1, un MT est une structure polarisée, or cela est un aspect important pour la réaction d'hydrolyse. En effet, dans ce modèle nous considérons qu'une réaction d'hydrolyse se produit avec une constante de réaction  $k_h$  uniquement lorsqu'un site  $T$  possède un voisin non-vacant dans la direction (+) du réseau – si le monomère  $\beta$  du dimère de tubuline-GTP est en contact direct avec un autre dimère de tubuline (voir Figure 3.1 c au centre). Dernièrement, la réaction de détachement peut survenir pour tout dimère de tubuline présent dans le réseau avec une constante de réaction qui est dépendante des états des sites voisins (voir Figure 3.1 c à droite). Cette propriété assure qu'une tubuline dans le réseau possédant 4 voisins aura une probabilité plus faible de se détacher qu'une tubuline n'en possédant que 2.

Nous considérons l'environnement proche du dimère à travers une énergie de liaison  $\Delta G_b$  ( $b$  pour "binding") évaluée à partir des quatre voisins les plus proches. En partant du principe de l'équilibre des réactions chimiques (ou *principle of detailed balance* en anglais) [105], nous pouvons dériver une expression de la constante de réaction  $k_{\text{off}}$  en fonction de l'énergie de liaison  $\Delta G_b$  du dimère considéré. Soit

$$\frac{k_{\text{off}}}{k_{\text{on}}c_0} = e^{-\beta\Delta G} \quad (3.2)$$

avec  $\beta^{-1} = k_B T$ ,  $c_0$  la concentration standard de tubuline libre en solution (fixée à 1 M par convention), et  $\Delta G$  la différence en énergie libre entre un dimère libre en solution et un dimère attaché au réseau. Bien que l'énergie  $\Delta G$  puisse être décomposée en de multiples contributions, nous considérons qu'elle peut être décrite comme étant, *a minima*,

la somme d'une contribution énergétique  $\Delta G_b$  suite aux liaisons avec les quatre voisins les plus proches, et d'une contribution entropique  $\Delta G_e$  en raison de l'immobilisation du dimère lorsqu'il est incorporé au réseau. L'énergie de liaison est définie comme positive ( $\Delta G_b > 0$ ) afin qu'une augmentation de  $\Delta G_b$  corresponde à une plus forte liaison entre les dimères, et par conséquent à une constante de détachement  $k_{\text{off}}$  plus petite. Cette équation peut être ré-agencée comme :

$$k_{\text{off}}(\Delta G_b) = k_{\text{on}} c_0 e^{-\beta \Delta G} = k_{\text{off}}^* e^{-\beta(\Delta G_b - \Delta G^*)} \quad (3.3)$$

avec  $k_{\text{off}}^* = k_{\text{on}} c_0 e^{-\beta(\Delta G_e + \Delta G^*)}$  et  $\Delta G^*$  l'énergie de liaison pour un dimère de tubuline-GTP à l'extrémité du MT avec un dimère-GTP comme voisin longitudinal et comme voisin latéral (voir dimère à l'extrémité du protofilament n°1 de la Figure 3.1 b). Nous remarquons qu'en exprimant  $k_{\text{off}}(\Delta G_b)$  avec comme énergie de référence  $\Delta G^*$ , nous sommes amenés à définir une unité de temps  $\tau$  telle que

$$\tau = \frac{1}{k_{\text{off}}(\Delta G_b = \Delta G^*)} = \frac{1}{k_{\text{off}}^*}. \quad (3.4)$$

Après calibration du modèle, cette unité de temps  $\tau$  correspond à environ une seconde (voir Annexe A.2).

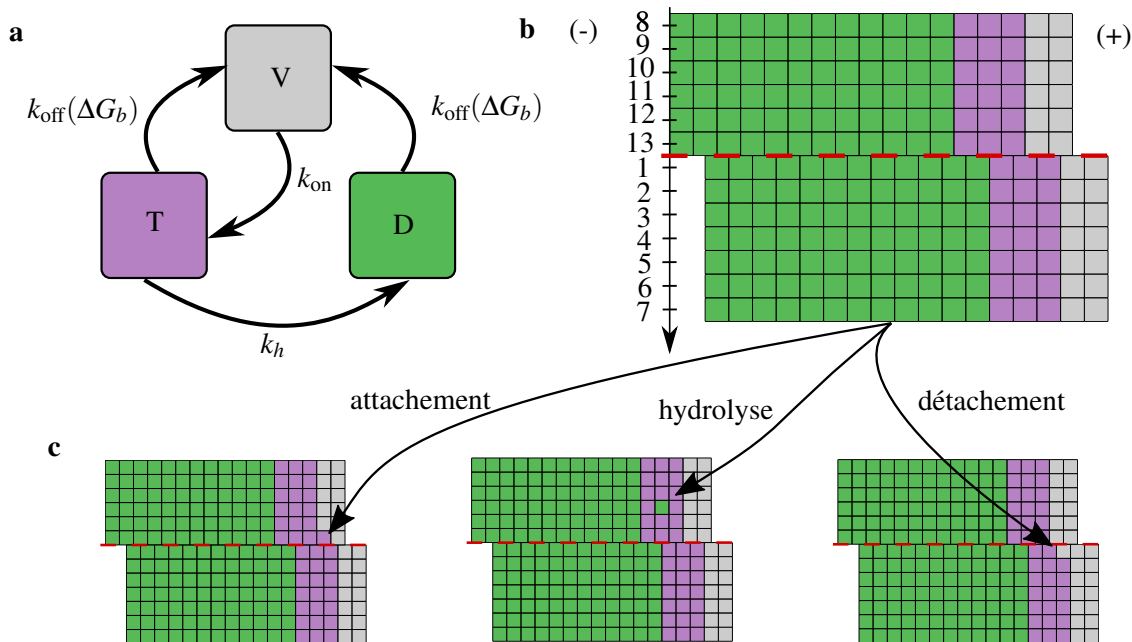


FIGURE 3.1 – **a** Schéma du modèle Attachement-Hydrolyse-Détachement à trois états. Un site peut soit être vacant (**V**), soit contenir un dimère-GTP (**T**) soit un dimère-GDP (**D**). Les flèches représentent le changement d'état après une réaction d'attachement, d'hydrolyse ou de détachement (voir texte). **b** Représentation d'un réseau 2D similaire à un microtubule composé de 13 protofilaments avec une jonction 13 – 3 entre le protofilament n°1 et 13 (ligne rouge en pointillés) et coiffé de 3 rangées de dimères-GTP. **c** 3 réactions sont données à titre d'exemple ; une réaction d'attachement au bord du réseau (à gauche), une réaction d'hydrolyse pour un dimère-GTP dans la seconde rangée de la coiffe (au centre) et une réaction de détachement pour un dimère-GTP à l'extrémité du réseau (à droite).

### 3.1.3 Anisotropie d'un microtubule

Présentons maintenant les paramètres qui caractérisent la constante de détachement, à savoir les énergies de liaisons entre les tubulines. Nous mettons ainsi en évidence les similitudes et différences avec d'autres modèles de la littérature. Comme avec les modèles développés dans VanBuren *et al.* [106, 107] et dans Schaedel *et al.* [51], nous considérons que l'interaction dite "longitudinale" (avec une tubuline sur le même protofilament), et notée  $\Delta G_{\text{long}}$ , est plus intense que l'interaction dite "latérale" (avec une tubuline d'un protofilament voisin), et notées  $\Delta G_{\text{lat}}$  :

$$\Delta G_{\text{long}} > \Delta G_{\text{lat}}. \quad (3.5)$$

Il y a donc une anisotropie dans les énergies de liaison ; pour ajuster cette anisotropie, le modèle fait appel à un coefficient, dit d'isotropie et noté  $\gamma$ , tel que :

$$\Delta G_{\text{lat}} = \gamma \Delta G_{\text{long}} \quad (3.6)$$

avec  $\gamma > 0$ . Nous insistons sur le fait que plus l'anisotropie est forte, plus le coefficient d'isotropie diminue. *A contrario* lorsque  $\gamma \rightarrow 1$  le réseau est complètement isotrope.

Dans la section 1.1, nous avons mentionné le fait que l'interaction entre tubulines-GTP soit plus stable que celle entre tubulines-GDP. Cela revient à affirmer que l'énergie de liaison totale  $\Delta G_{\text{tot}}^T$  d'un dimère de tubuline-GTP entouré de tubulines-GTP est plus grande que celle, notée  $\Delta G_{\text{tot}}^D$ , d'un dimère de tubuline-GDP entouré de tubulines-GDP. Comme pour l'anisotropie, nous décidons de rendre compte de cette propriété par un facteur de proportionnalité noté  $\eta$  entre ses deux énergies tel que :

$$\Delta G_{\text{tot}}^T = \eta \Delta G_{\text{tot}}^D \quad (3.7)$$

avec  $\eta > 1$ . Les réactions du modèle Attachement-Hydrolyse-Détachement sont alors caractérisées par un ensemble de cinq paramètres – dont trois uniquement pour calibrer la réaction de détachement – à savoir la constante de réaction d'attachement  $k_{\text{on}}$ , la constante de réaction d'hydrolyse  $k_h$ , l'énergie totale  $\Delta G_{\text{tot}}^D$  des liaisons pour une tubuline-GDP entièrement incorporé au réseau, le coefficient d'isotropie  $\gamma$  et le coefficient de contraste  $\eta$  entre l'énergie totale d'une tubuline-GTP et celle d'une tubuline-GDP.

Cependant avant que nous puissions paramétrer cet ensemble, il nous faut éclaircir un dernier point : comment l'hydrolyse du nucléotide GTP impacte-t-elle les interactions longitudinales et latérales d'un dimère de tubuline ? Il est important de noter qu'à ce jour aucun consensus scientifique n'a été établi. Une première hypothèse a été formulée par Downing *et al.* [108] sur le fait que l'hydrolyse du nucléotide aurait un fort impact sur les contacts latéraux du dimère de tubuline, alors que plus récemment il semblerait que l'hypothèse inverse soit plus raisonnable ; seuls les contacts longitudinaux seraient impactés [109, 110]. D'un point de vue théorique nous pouvons formuler trois cas de figures :

1. l'hydrolyse du nucléotide GTP impacte les contacts de manière isotrope.

L'énergie de liaisons entre tubulines-GTP s'exprime alors comme :

$$\begin{aligned} \Delta G_{\text{long}}^T &= \eta \Delta G_{\text{long}}^D \\ \Delta G_{\text{lat}}^T &= \eta \Delta G_{\text{lat}}^D \end{aligned} \quad (3.8)$$

2. l'hydrolyse du nucléotide GTP impacte uniquement les contacts longitudinaux. La différence entre l'énergie totale  $\Delta G_{tot}^T$  et l'énergie totale  $\Delta G_{tot}^D$ , notée  $2\Delta G_{T-T}$ , ne contribue que pour les interactions longitudinales. Nous pouvons donc dériver aisément l'expression des énergies d'interactions entre tubulines-GTP comme telle :

$$\begin{aligned}\Delta G_{T-T} &= \frac{1}{2}(\Delta G_{tot}^T - \Delta G_{tot}^D) = \frac{\eta - 1}{2}\Delta G_{tot}^D \\ \Delta G_{long}^T &= \Delta G_{long}^D + \Delta G_{T-T} \\ \Delta G_{lat}^T &= \Delta G_{lat}^D\end{aligned}\quad (3.9)$$

Un corollaire que nous pouvons déjà anticiper est le fait que l'anisotropie des dimères de tubulines-GTP sera plus grande que pour celle de leur homologue -GDP. Nous pouvons démontrer cela en comparant leur coefficient d'isotropie respectif.

$$\gamma_T := \frac{\Delta G_{lat}^T}{\Delta G_{long}^T} = \frac{\gamma \Delta G_{long}^D}{\Delta G_{long}^D + \Delta G_{T-T}} = \frac{\gamma}{1 + (\eta - 1)(1 + \gamma)} < \gamma \quad (3.10)$$

3. l'hydrolyse du nucléotide GTP impacte uniquement les contacts latéraux. Par conséquent, la différence entre les énergies totales, notée  $2\Delta G_{T-T}$ , ne contribue que pour les interactions latéraux. Nous pouvons également dériver l'expression des énergies d'interactions entre tubulines-GTP comme telle :

$$\begin{aligned}\Delta G_{T-T} &= \frac{1}{2}(\Delta G_{tot}^T - \Delta G_{tot}^D) = \frac{\eta - 1}{2}\Delta G_{tot}^D \\ \Delta G_{long}^T &= \Delta G_{long}^D \\ \Delta G_{lat}^T &= \Delta G_{lat}^D + \Delta G_{T-T}\end{aligned}\quad (3.11)$$

Ici encore nous pouvons anticiper que l'anisotropie sera différente entre les deux conformations de tubuline. Cependant la conséquence est symétrique au cas précédent, car l'anisotropie pour les dimères de tubulines-GTP sera plus petite que celle de leur homologue -GDP, comme nous pouvons en conclure en comparant leur expression respective :

$$\gamma_T := \frac{\Delta G_{lat}^T}{\Delta G_{long}^T} = \gamma + (\eta - 1)(1 + \gamma) > \gamma \quad (3.12)$$

Quelle hypothèse implémenter pour le modèle afin décrire la dynamique d'un microtubule? Nous ne pouvons, *a priori*, pas trancher par manque de consensus scientifique. Nous avons donc examiné, dans l'Annexe A.1, les trois hypothèses sur les observables liées à la croissance et à l'effondrement. En implémentant les deux premières hypothèses, le réseau montre un phénomène d'instabilité dynamique, ce qui n'est pas le cas pour la troisième hypothèse (voir Figure A.3). Dans la suite de ce manuscrit, nous utiliserons la seconde hypothèse ( $\gamma_T < \gamma$ ), car la première hypothèse nous amène à fixer le coefficient d'isotropie à 0.3 ce qui ne donne pas des résultats satisfaisants pour la dynamique de fracture (voir Annexe A.2.2).

### 3.1.4 Dynamique à l'extrémité (+) du réseau

Afin d'étudier la dynamique à l'extrémité (+) du réseau il faut d'abord calibrer les constantes du réseau. La calibration a été effectuée afin d'estimer le temps caractéristique

$\tau$  en comparant les vitesses  $v_g$  de croissance obtenues avec les simulations kMC et celles mesurées *in vitro* [3]. Dans l'Annexe A.2, nous précisons la méthode employée pour obtenir un temps caractéristique de l'ordre de la seconde ( $\tau \sim 1$  s).

Cette valeur est obtenue dès lors que les paramètres du réseau prennent les valeurs indiquées dans le Tableau 3.1, lorsque la stabilisation entre les dimères de tubuline-GTP est uniquement localisée au niveau des interactions longitudinales ( $\gamma > \gamma_T$ ). Cette dernière hypothèse est une caractéristique du modèle qui se différencie des précédents modèles de la littérature [51, 106, 107, 111–113], Ce qui nous permet d'obtenir un phénomène d'instabilité dynamique similaire aux MTs sans aucune hypothèse supplémentaire. En effet, en augmentant la concentration de tubuline-GTP libre au dessus d'une concentration critique ( $c \simeq 17 \mu\text{M}$ ) une alternance de phases de croissance et d'effondrement émerge, puis, si la concentration continue d'augmenter, les catastrophes n'apparaissent que lorsque le réseau atteint la taille limite de la boîte de simulation (voir Figure 3.2).

Paramètre	Notation	Valeur	Remarque
Énergie d'interaction longitudinale (T-D, D-D)	$\Delta G_{\text{long}}^D$	$15 k_B T$	Grande variabilité au sein de la littérature [51, 106, 107, 111–113]. Le coefficient d'isotropie du réseau est $\gamma = \Delta G_{\text{lat}}^D / \Delta G_{\text{long}}^D = 1/2$ , et le coefficient de contraste est $\eta = \Delta G_{\text{tot}}^T / \Delta G_{\text{tot}}^D = 1.28$
Énergie d'interaction latérale (T-D, D-D)	$\Delta G_{\text{lat}}^D$	$7.5 k_B T$	
Énergie de stabilisation longitudinale (T-T)	$\Delta G_{T-T}$	$6.3 k_B T$	
Constante de réaction pour l'hydrolyse GTP	$k_h$	$0.6 \tau^{-1}$	Comparable aux valeurs expérimentales [57] et à celles des autres modèles théoriques [51, 114, 115]
Terme entropique suite à l'immobilisation du dimère de tubuline	$\Delta G_e$	$15 k_B T$	Estimé à partir de $k_{\text{off}}^* = k_{\text{on}} c_0 e^{-\beta(\Delta G_e - \Delta G^*)}$ . Les valeurs dans la littérature sont dans un intervalle de $10 - 20 k_B T$ [106, 116, 117]
Énergie de référence aux extrémités du MT	$\Delta G^*$	$28.8 k_B T$	$\Delta G^* = \Delta G_{\text{long}}^T + \Delta G_{\text{lat}}^T$
Constante d'attachement (tubuline-GTP)	$k_{\text{on}}$	$1 \mu\text{M}^{-1} \tau^{-1}$	Constante d'attachement globale pour un MT avec 13 protofilament est de $k_{\text{on}}^{\text{MT}} = 13 \mu\text{M}^{-1} \tau^{-1}$ , comparable à d'autres recherches [3, 57, 106, 112]
Constante de détachement de référence	$k_{\text{off}}^*$	$\tau^{-1}$	Cela correspond à la constante de détachement pour une tubuline-GTP avec un voisin longitudinal et un voisin latéral

TABLEAU 3.1 – Paramètres pour les simulations Monte Carlo cinétique. T-T (D-D) indique un contact entre tubulines-GTP (tubulines-GDP), T-D indique un contact entre tubuline-GTP et -GDP. Le temps caractéristique est  $\tau = 1$  s.

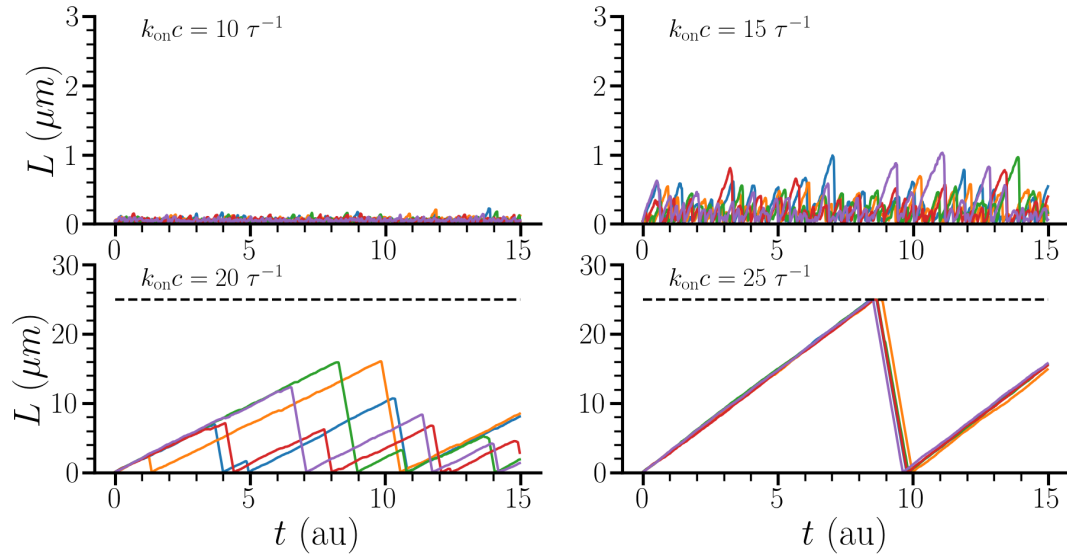


FIGURE 3.2 – Dynamique de l'extrémité (+) d'un MT en fonction de la concentration de tubuline-GTP libre  $c$  indiquée en haut à droite de chaque graphique. La barre grise désigne la limite de la boîte de simulation, qui déclenche un évènement de catastrophe. Les autres paramètres du réseau sont fixés comme précisé dans le Tableau 3.1

## 3.2 Modélisation kMC d'un flux de moteurs processifs

Au cours de la section 1.2 nous avons mentionnée que la diversité au sein des kinésines et des dynéines est pour le moins considérable. Nous allons donc réduire toute cette complexité à uniquement sept propriétés communes à la majorité des familles de kinésines et de dynéines :

1. un moteur est composé de deux têtes [118]
2. chaque tête du moteur s'attache à un unique dimère [73]
3. à chaque pas, la tête arrière est balancée au devant de la tête avant, échangeant ainsi leur rôle [73]
4. en présence d'ATP en solution, un moteur se déplace à une vitesse moyenne  $\langle v \rangle$  [70, 119, 120]
5. un moteur reste attaché au réseau pendant  $\langle T \rangle \sim 0.1 - 1 s$  [69, 70, 120, 121]
6. un moteur se déplace toujours vers une extrémité du MT (+ ou -) [118, 122]
7. une fois accroché sur un protofilament, un moteur ne peut pas en changer [123]

### 3.2.1 Modèle Attachement-Marche-Détachement

Récemment Rank *et al.* [124] ont établi un modèle simple décrivant la dynamique de tels moteurs processifs. Nous allons donc reprendre leur modèle, cependant, par souci de simplicité, nous préférons omettre l'interaction moteur-moteur.

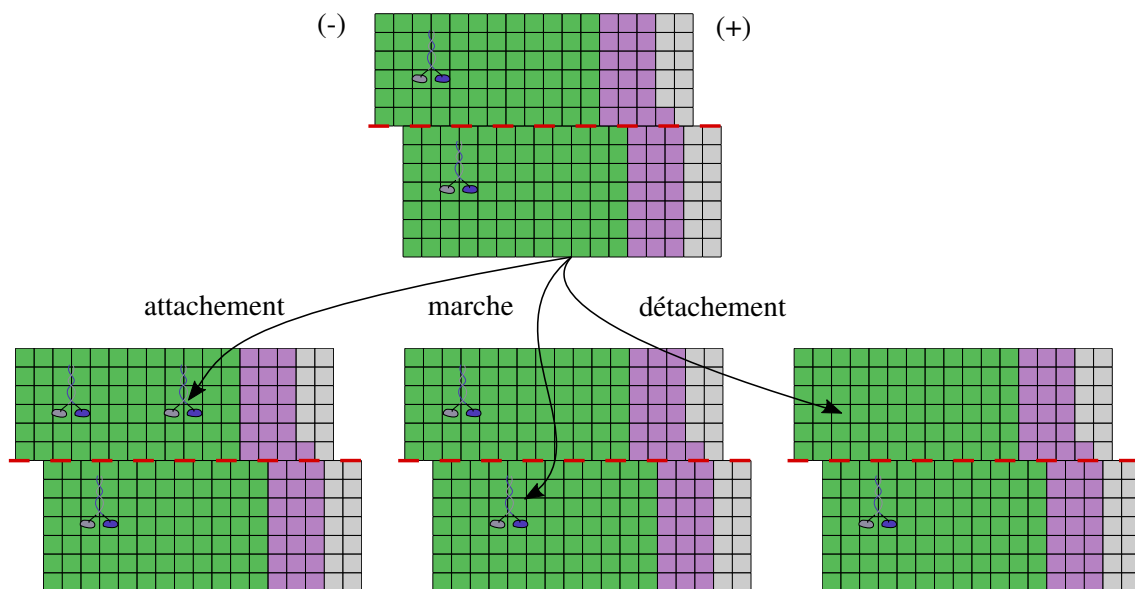


FIGURE 3.3 – Schéma illustrant les trois différentes réactions possibles pour modéliser la dynamique d'un flux de moteurs processifs le long d'un microtubule 13-3. Ici les moteurs processifs s'apparentent à des kinésines-1 de par leur directionnalité vers l'extrémité (+) du MT. Si deux sites adjacents sont vacants, un moteur peut s'attacher (à gauche). Lorsque le site devant un moteur est vacant, un pas peut être effectué (au centre). Tout moteur présent sur le réseau peut se détacher (à droite).



Dès lors, comme illustré sur la Figure 3.3, un flux de moteurs processifs le long d'un réseau peut être modélisé à partir de trois états de sites (absence de moteur, présence de la tête arrière, présence de la tête avant) et de seulement trois réactions soit :

- l'attachement d'un moteur avec une constante de réaction  $k_+$ , autorisée si et seulement si deux sites adjacents sont vacants
- la marche d'un moteur présent sur le réseau avec une constante de réaction  $k_w$  ( $w$  pour *walk*) uniquement si le site devant la tête avant du moteur est vacant
- le détachement d'un moteur avec une probabilité par unité de temps de  $k_-$ .

### 3.2.2 Dynamique caractéristique des moteurs processifs

Pour caractériser les moteurs processifs il faut être capable de relier les trois constantes de réactions  $\{k_+, k_w, k_-\}$  à des quantités moyennes qui décrivent la dynamique de ces moteurs. Ces quantités sont : (i) la vitesse moyenne  $\langle v \rangle$ , (ii) le temps moyen passé sur le réseau  $\langle T \rangle$  pour décrire la dynamique d'un moteur<sup>1</sup>, (iii) la densité moyenne  $\rho_s$  et (iv) le flux moyen de moteurs  $\phi_s$  à l'état stationnaire, qui, quant à eux, décrivent plutôt la dynamique globale des moteurs. La densité de moteurs  $\rho_s$  est définie comme le rapport entre le nombre de moteurs présents sur le réseau et le nombre de sites qui composent le réseau. Ainsi, par définition la densité ne peut être qu'inférieure ou égale à  $1/2$ , car un moteur attaché au réseau occupe deux sites à la fois. Quant au flux  $\phi_s$ , il est défini comme le nombre de moteurs qui passent par dimère et par unité de temps. Toutes ces observables ont été exprimées à l'aide d'un raisonnement en champ moyen par Rank *et al.* [124] :

$$\rho_s = \frac{2k_+}{4k_+k_- + \sqrt{4k_+k_- + k_-^2}} \Leftrightarrow k_+ = \frac{\rho_s(1-\rho_s)}{(1-2\rho_s)^2}k_- \quad (3.13)$$

$$\phi_s = k_w \frac{\rho_s(1-2\rho_s)}{1-\rho_s} \quad (3.14)$$

$$\langle v \rangle = k_w \frac{1-2\rho_s}{1-\rho_s} \quad (3.15)$$

$$\langle T \rangle = k_-^{-1} \quad (3.16)$$

En fixant deux des trois constantes de réaction tout en faisant varier la dernière, nous pouvons étudier l'impact des constantes de réaction sur ces observables afin de nous assurer du bon fonctionnement du modèle Monte Carlo cinétique (voir Figure 3.4). En effet, lorsque nous faisons varier uniquement  $k_w$  nous n'observons aucun changement sur le temps passé sur le réseau  $\langle T \rangle$ . ainsi que sur la densité  $\rho_s$ . À l'inverse, la vitesse moyenne et le flux varient proportionnellement par rapport à  $k_w$  [voir colonne de gauche de la Figure 3.4 et Eqs. (3.14) et (3.15)]. Comme la densité mesurée est très faible ( $\rho_s = 0.01$ ), il y a une équivalence entre  $k_w$  et  $\langle v \rangle$ , lorsque cette dernière est mesurée en pas par unité de temps. D'autre part si  $k_-$  ou  $k_+$  augmente alors toutes les observables varient. Toutefois, nous pouvons remarquer plusieurs points intéressants :

1. Il est commun, lors des expériences avec des moteurs processifs associés au MT, de mesurer la longueur de parcours des moteurs. Or cette mesure est directement reliée au temps passé sur le réseau et à la vitesse du moteur. De plus, comme chaque réaction (réaction de marche et de détachement) est indépendante de l'état antérieur, ces mesures sont distribuées selon une loi exponentielle. Ainsi, pour que la moyenne de ces mesures soit robuste, il faut effectuer la mesure sur un grand nombre de moteurs (de l'ordre de  $10^3$  moteurs).

- Lorsque la constante d'attachement augmente ou que la constante de détachement diminue, la vitesse moyenne diminue. Il y a un effet d'embouteillage.
- Le temps moyen passé sur le réseau pour un moteur est indépendant de  $k_+$ , et inversement proportionnel à la constante  $k_-$  (voir Eq. 3.16).
- Il existe un flux maximal qui est atteint pour une densité  $\rho_s = 1 - \frac{\sqrt{2}}{2} \simeq 0.29$ . Cette valeur peut être obtenue en résolvant  $\frac{d\phi_s}{d\rho_s} = 0$  (voir 3.14).

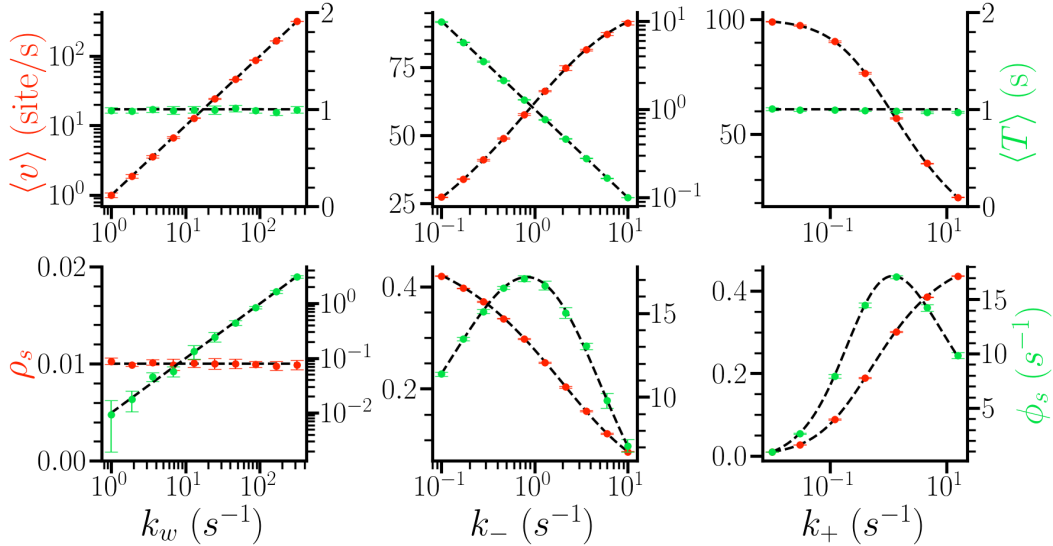


FIGURE 3.4 – Analyse comparée de l'influence de la constante de réaction de marche  $k_w$  (à gauche), de détachement  $k_-$  (au milieu) et d'attachement  $k_+$  (à droite). Lorsque ces constantes de réaction ne sont pas des variables, elles sont fixées respectivement à  $k_w = 100 \text{ s}^{-1}$ ,  $k_- = 1 \text{ s}^{-1}$  et  $k_+ = 0.01 \text{ s}^{-1}$ . La première ligne montre l'influence sur des observables moyennes qui caractérisent les moteurs, à savoir la vitesse  $\langle v \rangle$  (axe de gauche, en rouge) et le temps  $\langle T \rangle$  passé sur le réseau (axe de droite, en vert). La seconde ligne montre l'influence sur deux observables à l'état stationnaire qui caractérisent la dynamique globale des moteurs processifs, à savoir la densité  $\rho_s$  de moteurs présents sur le réseau (axe de gauche, en rouge) et le flux de moteurs par dimère (axe de droite, en vert). Les courbes en pointillés correspondent aux relations en champ moyen [voir Eqs. (3.13)-(3.16)].

Nous concluons que les caractéristiques individuelles d'un moteur sont alors paramétrées par  $k_w$  pour sa vitesse moyenne en absence d'obstacle, et  $k_-$  pour le temps d'accrochement au réseau. Les deux paramètres sont accessibles expérimentalement par microscopie (à faible densité de moteurs). Il est également possible de mesurer expérimentalement, à l'aide de pinces optiques [72] ou de microscopie TIRF<sup>2</sup> [125], la processivité. Cette quantité, notée  $\langle l \rangle$ , mesure le nombre de pas moyen effectués par un moteur lors de son parcours le long du MT. Or, tant que le système est dans la phase de faible densité, nous pouvons exprimer la processivité en fonction de la vitesse et du temps passé sur le réseau

2. la microscopie TIRF (*Total Internal Reflection Fluorescence*) est une technique de microscopie qui couple la fluorescence et le phénomène de réflexion totale interne, ce qui permet d'imager avec une ratio signal sur bruit bien plus élevé que les méthodes traditionnelles de microscopie à fluorescence.

comme :

$$\langle l \rangle = \langle v \rangle \langle T \rangle = \frac{k_w}{k_-} \quad (3.17)$$

Nous pouvons alors entièrement décrire les moteurs à partir des constantes de réaction  $k_w$  et  $k_-$ . Quant à la troisième constante de réaction  $k_+$ , elle n'est pas reliée directement et de manière univoque à une observable. Par conséquent, nous préférons considérer la densité à l'équilibre  $\rho_s$  comme paramètre et nous fixons la constante de réaction d'attachement  $k_+$  en utilisant l'Eq. (3.13).

Une fois que le type de moteur est choisi (en fixant  $k_w$  et  $k_-$ ), la dynamique des moteurs est entièrement dictée par la densité présente sur le réseau. Nous avons une première phase de faible densité (LD pour *low density*) pour laquelle le flux augmente avec la densité jusqu'à un maximum : c'est la phase de flux optimal (MF pour *maximum flux*). Puis, à partir de ce point, lorsque la densité augmente le flux diminue : c'est la phase de haute densité (HD pour *high density*). Ces différents régimes sont illustrés dans la Figure 3.5.

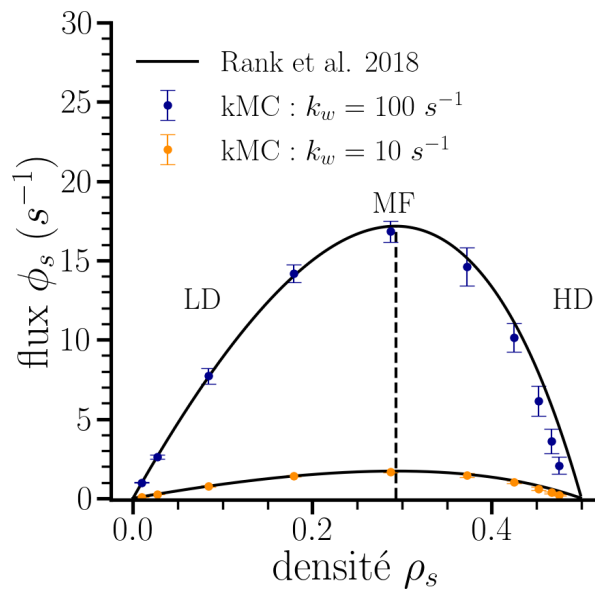


FIGURE 3.5 – Diagramme de phase de la dynamique globale des moteurs processifs (kinésine-1 en bleu, dynéine de levure en orange). Les points ont été obtenus en moyennant  $10^3$  simulations kMC. La courbe théorique est reprise de Rank et al. [124] [voir Eq. (3.14)].

Nous avons ici fait le choix de définir un modèle simple à trois réactions (attachement, marche et détachement) pour simuler la dynamique des moteurs. Bien sûr, cela n'est pas complètement fidèle à la dynamique si complexe de ces moteurs processifs. Par exemple, en faisant l'hypothèse que la marche soit complètement asymétrique (dans une direction seulement sur un seul protofilament), nous négligeons la possibilité qu'un pas puisse se produire dans la direction opposée ou sur le côté. Or, cela a déjà été observé expérimentalement ; en particulier la proportion de pas dans la direction opposée augmente lorsque la charge que tire le moteur augmente [126]. Nous omettons également des effets plus

complexes concernant l'attachement des moteurs. En effet, il semblerait que les moteurs comme la kinésine-1 aient une affinité plus forte lorsqu'il y a plus de moteurs [127] ou bien lorsque le réseau est composé de tubulines-GTP [128]. Enfin, nous remarquons que notre modèle ne considère que des moteurs individuels, alors que dans les expériences *in vitro* des agrégats de moteurs peuvent être présents. Bien sûr, tous ces phénomènes peuvent être implémentés, avec plus ou moins de facilité, avec ce modèle. Cependant, nous préférons débiter l'exploration de l'interaction entre moteurs et microtubule avec des modèles simples, au détriment de l'exactitude.

Au Chapitre 4, nous focalisons notre attention sur uniquement deux types de moteurs processifs : (i) des moteurs similaires à des kinésines-1 [rapide, dirigé vers l'extrémité (+)] et (ii) similaires à des dynéines de levure [moins rapide, dirigé vers l'extrémité (-)]. Nous faisons ce choix pour définir deux types de moteurs avec une même processivité ( $\sim 100$  pas par trajet), mais avec un ordre de grandeur de différence pour la vitesse et le temps passé sur le réseau et de directionnalité opposée (voir Tableau 3.2).

Paramètre	Notation	Valeur	Remarque
Vitesse des moteurs	$k_w$	$10-100 \tau^{-1}$	Comparable aux vitesses types des dynéines de levures (10 dimères/s) ou des kinésines (100 dimères/s) [9, 69, 129, 130]
Constante de détachement des moteurs	$k_-$	$0.1-1 \tau^{-1}$	$k_- = 0.1 \tau^{-1}$ avec $k_w = 10 \tau^{-1}$ et $k_- = 1 \tau^{-1}$ avec $k_w = 100 \tau^{-1}$ donne une processivité de 100 dimères, ce qui est comparable aux expériences sur les dynéines et kinésines [9, 69, 129, 130]
Constante d'attachement des moteurs	$k_+$	$k_+ = f(\rho_s, k_-)$	Valeur adaptée afin d'obtenir une densité à l'état stationnaire $\rho_s$ en utilisant l'Eq. 3.13
Constante de détachement des moteurs aux extrémités	$k_-^E = \theta k_-$	$\theta = 100$	Les moteurs considérés ne traquent pas les extrémités du MT [131]

TABLEAU 3.2 – Paramètres caractérisant les moteurs processifs pour les simulations Monte Carlo cinétiques. Le temps caractéristique est  $\tau = 1$  s.

À présent, voyons comment nous pouvons décrire un couplage entre ces deux modèles présentés. Ce couplage, inédit dans la littérature scientifique, nous permet d'établir les différentes interactions entre un moteur processif et le réseau de tubulines d'un MT. Comme celui-ci repose sur le formalisme des simulations kMC, il se caractérise nécessairement par l'ajout de 3 nouvelles réactions et de par la restriction des conditions d'activation de quelques unes des réactions.

### 3.3 Modèle d'interaction Moteur-Tubuline

Dans les sections précédentes nous avons présenté des modèles simples pour décrire numériquement la dynamique d'un microtubule et des moteurs, et cela indépendamment l'une de l'autre. Il est ici question d'unir ces deux modèles pour obtenir un cadre de travail dans lequel nous pouvons étudier les différents impacts d'un flux de moteurs processifs sur la dynamique globale d'un MT. La résultante de cette union est le modèle dit "Mo-Tub" pour *Motor-Tubulin interaction model*. Comme les mécanismes de cette interaction ne sont pas connus, le modèle repose sur un ensemble d'hypothèses. Nous allons ici expliciter ces hypothèses et leur cadre de validité. Puis au Chapitre 4, nous évaluons les implications qui découlent de cet ensemble d'hypothèses.

#### 3.3.1 Hypothèse sur un effet stabilisant des moteurs

Une première hypothèse est l'impossibilité aux dimères de tubulines de se détacher du réseau lorsqu'un moteur est attaché au-dessus. Cette hypothèse n'a jamais été formulée explicitement. Néanmoins, elle découle du fait que les moteurs processifs que nous décrivons possèdent deux têtes attachées au réseau, une liée fortement au dimère en-dessous (la tête avant) et l'autre faiblement liée (la tête arrière) (voir Figure 1.5). Cette situation est analogue à celle de deux pièces de LEGO® jointes avec une troisième par le dessus, rendant plus difficile le détachement des deux pièces tant que celle du dessus est présente. La manière la plus directe de valider ou invalider une telle hypothèse serait de mesurer le temps de survie d'un MT stabilisé en ses extrémités par de la tubuline-GMPCPP, en présence d'une très forte concentration de kinésines-1 et avec en solution, non pas de l'ATP, mais de l'ANP-PNP (un analogue structurel non-hydrolysable de l'ATP). Dès lors le réseau du MT serait entièrement décoré de moteurs immobiles, ce qui, selon notre hypothèse, devrait augmenter la durée de vie moyenne d'un tel MT. Une expérience similaire a été réalisée par Triclin *et al* [7], où il est question de comparer le temps moyen de survie d'un MT avec une concentration de 1 nM de kinésines-14 (klp2) en présence d'ATP ou d'ANP-PNP. En présence d'ANP-PNP, les moteurs ne peuvent effectuer leur marche et leur affinité avec le réseau est augmentée, ce qui signifie que la constante de détachement diminue. Par conséquent pour une même concentration de kinésines-14, la densité de moteurs accrochés sur le MT est plus grande [voir Eq. (3.13)]. Or dans ces conditions le temps de survie est plus élevé qu'en présence d'ATP et même plus élevé qu'en absence de moteurs (voir Figure 2g de Triclin *et al* [7]). Néanmoins, ce premier mécanisme n'est pas suffisant pour expliquer les récents résultats obtenus lors d'expériences *in vitro* [7, 87, 88]. Il faut donc un second mécanisme pour venir contrebalancer cet effet stabilisateur.

Toutefois que se passe-t-il lorsqu'un moteur arrive à l'extrémité d'un microtubule ou face à un défaut de type trou ? Lorsque le moteur est en amont d'un site en absence de dimère (trou ou extrémité), il n'y a aucune raison *a priori* que la tête arrière ne puisse pas se détacher. Par contre, la tête arrière ne pourra pas s'accrocher au site suivant car le dimère est absent. Le moteur se retrouve alors dans une configuration où une seule tête est attachée au réseau (voir Figure 3.6a). Nous considérons que cette configuration lève l'hypothèse d'impossibilité de détachement des dimères. De plus, nous conjecturons que le détachement du moteur est accéléré d'un facteur  $\theta \ll 1$  ( $k_-^E = \theta k_-$ ), car il semblerait qu'un moteur n'ayant qu'une tête attachée au réseau soit dans une configuration moins

stable qu'un moteur ayant ses deux têtes attachées sur le MT [121, 132]. Cette interaction moteur-défaut s'accorde avec le fait que la processivité des moteurs (longueur moyenne parcourue par trajet) est réduite en présence d'obstacles [133].

### 3.3.2 Hypothèse sur un effet déstabilisant des moteurs

De récentes expériences *in vitro*, en présence de moteurs processifs, ont démontré une dynamique de renouvellement de la tubuline accélérée. Ces résultats ont été interprétés comme étant la conséquence d'une interaction déstabilisante au niveau du dimère de tubuline, dont la marche du moteur serait à l'origine [7, 87, 88]. Ainsi nous définissons une seconde interaction moteur-tubuline de nature déstabilisante. Cette seconde interaction entre les moteurs et les tubulines sera implémentée dans le modèle MoTub comme suit : à chaque pas effectué par un moteur processif, une perturbation localisée dans l'espace et dans le temps se propage autour de celui-ci. La perturbation est considérée comme étant une fraction de l'énergie nécessaire pour effectuer un pas, non utilisée par le moteur [74]. Cette énergie est dissipée (ou transférée) sur un des deux dimères en-dessous du moteur. Le modèle décrit la perturbation comme une contribution supplémentaire, notée  $\Delta G_p$  ( $p$  pour perturbation), dans la différence d'énergie  $\Delta G$  entre l'état en solution et l'état incorporé au sein du réseau pour le dimère de tubuline [cf. Eq. (3.2)].

$$\Delta G = \Delta G_b + \Delta G_e \quad (3.18)$$

$$\Delta G_{\text{excited}} = \Delta G_b + \Delta G_e - \Delta G_p \quad \text{avec} \quad \Delta G_p > 0 \quad (3.19)$$

Ici, nous avons fait le choix de définir  $\Delta G_p > 0$  pour faciliter la notation. Cependant  $\Delta G_p$  joue un rôle de faible pénalité, cela a pour conséquence d'augmenter la probabilité par unité de temps qu'un dimère déstabilisé se détache du réseau. Ainsi, lorsque le moteur marche le long du microtubule, il laisse derrière lui une trainée de dimères déstabilisés ; ces dimères sont alors dans un état dit "excité" (voir Figure 3.6a).

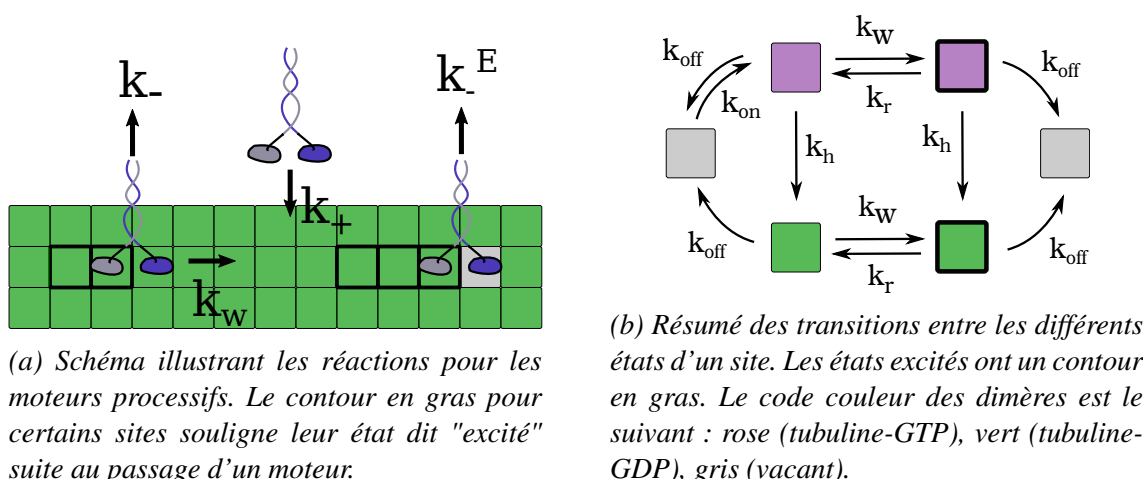


FIGURE 3.6 – Synthèse du modèle MoTub

Cependant un dimère ne peut pas rester indéfiniment dans son état excité, il faut alors ajouter une réaction de relaxation, caractérisée par la constante de réaction  $k_r$ . Cette réaction amènera un dimère excité à retourner dans son état fondamental (non perturbé)

après un temps moyen  $\tau_r = k_r^{-1}$ . De plus, nous considérons le temps moyen de relaxation comme étant une caractéristique propre du microtubule, et par conséquent indépendant du type de moteurs présents le long de la structure. Comme nous ne pouvons pas nous appuyer sur des résultats expérimentaux pour paramétrer la constante de relaxation  $k_r$ , nous fixons  $\tau_r$  à 0.1 s. Ici encore la valeur exacte de ce paramètre est moins essentielle que son ordre de grandeur. Nous avons choisi cet ordre de grandeur afin que l'interaction des moteurs produise des conséquences non-triviales – et donc intéressantes – sur la dynamique du réseau. Cela est uniquement valide lorsque le temps caractéristique de la relaxation est compris entre celui de la marche d'un moteur ( $k_w = 100 \text{ s}^{-1}$  pour une kinésine-1) et celui de détachement de dimère de tubuline ( $k_{\text{off}}^* = 1 \text{ s}^{-1}$ ), d'où l'encadrement suivant :

$$k_w \geq k_r > k_{\text{off}}^*. \quad (3.20)$$

En effet, dans le cas limite où  $k_r \gg k_w$ , alors le dimère de tubuline excité retourne dans son état fondamental avant même que le moteur ait effectué un pas. Dans ce cas, la déstabilisation du moteur est négligeable. À l'inverse, si  $k_{\text{off}}^* \gg k_r$  alors l'état excité des dimères de tubuline persiste suffisamment longtemps pour que l'entière du réseau se retrouve déstabilisé par les moteurs. Le cas le plus intéressant, par conséquent, s'observe lorsque la dynamique de relaxation est suffisamment lente pour qu'elle puisse persister au regard de la dynamique du moteur, mais suffisamment rapide au regard de la dynamique de détachement des dimères de tubuline. Dans ce cas de figure, seule une fraction du réseau est perturbée par le flux des moteurs processifs. L'interaction des moteurs est donc localisée dans l'espace et dans le temps.

### 3.3.3 Localisation de la pénalité induite par les moteurs

Nous venons de voir comment un moteur, lors de sa marche le long du réseau, interagit avec le réseau. L'interaction implémentée dans le modèle MoTub est double et impacte dans des directions opposées. D'une part, la présence des moteurs stabilise le réseau car les dimères sous le moteur ne peuvent pas se détacher. Et d'autre part, la marche des moteurs déstabilise, car les moteurs, en se déplaçant, laissent une trainée de dimères excités dont la probabilité de se détacher du réseau est augmentée.

Néanmoins, il nous reste à préciser où se situe précisément cette déstabilisation, sous la tête avant ? La tête arrière ? Les deux ? Ou bien même sur les dimères voisins ? Ici encore, aucun résultat expérimental ne peut orienter notre choix. En effet, il n'existe pas de consensus scientifique sur l'origine précise de l'énergie nécessaire pour détacher la tête arrière d'un moteur. La seule certitude est que l'ATP joue un rôle essentiel [74,86,121,132]. Mais est-ce le changement de conformation inhérent à l'attachement de la molécule d'ATP au niveau de la tête avant [74] ou l'hydrolyse de l'ATP au niveau de la tête arrière [86] qui produit l'énergie nécessaire pour amorcer le pas ? En outre, nous avons aucune idée sur la distribution spatiale de cette énergie autour du moteur. Toutefois nous distinguons, pour des raisons de simplicité, uniquement deux cas :

1. la pénalité est appliquée au dimère sous la tête avant du moteur
2. la pénalité est appliquée au dimère sous la tête arrière du moteur

Lorsqu'il y a une interaction entre les moteurs et des défauts, les différences entre ces deux hypothèses sont majeures, car la symétrie de translation est, dans ce cas, brisée.

Afin d'observer un effet plus important des moteurs, nous avons choisi d'appliquer la pénalité sur le dimère situé en dessous de la tête avant.

Les paramètres qui caractérisent les interactions d'un moteur avec le réseau des dimères de tubuline sous-jacent sont résumés dans le Tableau 3.3. Nous pouvons synthétiser toutes les interactions d'un moteur avec le réseau d'un microtubule à l'aide du schéma de la Figure 3.6b, mais également à travers les étapes suivantes :

1. un moteur s'attache sur un protofilament et peut se détacher à tout moment
2. à chaque pas le moteur déstabilise les dimères sous la tête avant, et laisse ainsi une trainée de dimères excités
3. à tout moment un dimère excité peut se relaxer dans son état fondamental
4. lorsque le moteur arrive au niveau d'un site sans dimère (trou ou extrémité), il peut effectuer un dernier pas
5. le moteur se retrouve alors avec une seule tête accrochée au réseau et sa constante de détachement est accélérée d'un facteur  $\theta$
6. comme un dimère excité possède une pénalité  $\Delta G_p$  dans son énergie de liaison, le dimère a une plus grande probabilité de se détacher.

Paramètre	Notation	Valeur	Remarque
Pénalité de conformation suite au passage d'un moteur	$\Delta G_p$	$0-4 k_B T$	Paramètre libre du modèle
Temps de relaxation du réseau	$k_r$	$0.1 \tau^{-1}$	$k_{\text{off}}^* \leq k_r \leq k_w$

TABLEAU 3.3 – Paramètres d'interaction entre moteur et dimère de tubuline pour les simulations Monte Carlo cinétique. Le temps caractéristique est  $\tau = 1$  s.



### 3.4 Version effective du modèle MoTub

Nous pouvons d'ores et déjà anticiper une limite technique concernant le modèle MoTub. Lorsque la dynamique des moteurs est rapide devant celle des dimères ( $k_w \gg k_{\text{off}}^*$ ), le facteur de normalisation  $C$  est dominé par le terme lié à la marche des moteurs. Or, les moteurs simulés ont une dynamique de marche au moins dix fois plus rapide que la dynamique de détachement des tubulines-GTP aux extrémités du MT, ce qui donne l'approximation suivante :

$$C = \sum_i n_i k_i \gtrsim n_k k_w = \rho_s N k_w \quad (3.21)$$

où le nombre de moteurs  $n_k$  est le produit de la densité moyenne  $\rho_s$  de moteurs et du nombre  $N$  de sites dans le réseau. De plus, comme le pas de temps moyen est l'inverse du facteur de normalisation  $\delta t \simeq \frac{1}{C}$  [voir l'Eq. (2.5)], nous pouvons obtenir une approximation du temps de calcul  $t_c$  pour simuler  $T$  unités de temps dans ces conditions :

$$t_c = t_{\text{loop}} N_{\text{loop}} \quad (3.22)$$

$$= t_{\text{loop}} \frac{T}{\delta t} \quad (3.23)$$

$$\simeq t_{\text{loop}} \rho_s N k_w T \quad (3.24)$$

Nous remarquons que le temps de simulation est proportionnel au temps  $T$  que nous souhaitons simuler, mais également au nombre  $n_k$  de moteurs présent sur le réseau. Les optimisations présentées au chapitre précédent permettent de réduire drastiquement le temps  $t_{\text{loop}}$  d'exécution d'une boucle. Toutefois, simuler un grand réseau dense en moteur nécessite un long temps de calcul – de l'ordre de la semaine, voir du mois (voir Figure 3.7).

Lorsque nous souhaitons simuler un tel réseau sur une longue période de temps, une autre approche est nécessaire. L'approche que nous présentons ici est dite "effective" car elle nous permet de décrire les conséquences de la présence d'un flux de moteurs en simulant uniquement la dynamique des tubulines – c'est-à-dire sans simuler explicitement la dynamique des moteurs. Ainsi nous retombons sur le modèle présenté dans la section 3.1, mais cette fois-ci avec des constantes de détachement modifiées pour les tubulines, notée  $k_{\text{off, eff}}$ , afin de rendre compte de la contribution des moteurs. En effet, une tubuline présente dans le réseau est empruntée par un flux de moteurs processifs avant que cette dernière ne se détache du réseau. Or, le flux atteint un état stationnaire dans une période de temps bien plus petite (voir Annexe B.1) que le temps caractéristique de détachement. Tant que cette hypothèse reste valide, il est raisonnable de considérer une contribution moyenne des moteurs sur les constantes de détachement [voir Eq. (3.25)]. Les constantes effectives de détachement sont définies comme la somme pondérée de la constante de détachement pour les dimères de tubulines déstabilisée et celle des dimères non-déstabilisée, soit :

$$k_{\text{off, eff}} := [c_e e^{\beta \Delta G_p} + c_g] k_{\text{off}}. \quad (3.25)$$

La probabilité  $c_g$  (resp.  $c_e$ ) que le dimère soit dans un état non-déstabilisé (resp. déstabilisé) joue le rôle de poids dans la somme pondérée. L'indice  $g$  (resp.  $e$ ) fait référence au *ground state* (resp. *excited state*) du dimère. Il suffit donc de mesurer la proportion de dimères excités au sein du réseau en fonction de la densité et du type de moteur. Néanmoins, cette proportion est également dépendante du voisinage du dimère. En effet, si un

des deux voisins longitudinaux est manquant, alors le flux de moteurs est brisé. Ce changement de profil de densité est détaillé dans l'Annexe B.3. Nous distinguons alors trois cas différents :

1. le dimère possède ses deux voisins longitudinaux ( $c_g, c_e$ )
2. le dimère possède un unique voisin longitudinal dans la direction opposée à la marche des moteurs ( $c_g^u, c_e^u$ ),  $u$  pour *upstream* car le dimère est en amont du défaut par rapport à la marche des moteurs
3. le dimère possède un unique voisin longitudinal dans la direction de marche des moteurs ( $c_g^d, c_e^d$ ),  $d$  pour *downstream* car le dimère est en aval du défaut par rapport à la marche des moteurs.

Les valeurs des ces trois couples de valeurs ont été tabulées en fonction du type de moteurs et de plusieurs valeurs de densité  $\rho_s$  et de pénalité  $\Delta G_p$  et utilisées ensuite pour calculer les valeurs de  $k_{\text{off, eff}}$ . Cette variante effective du modèle permet de simuler l'impact des moteurs sur la dynamique du réseau sans simuler chaque pas de chaque moteur.

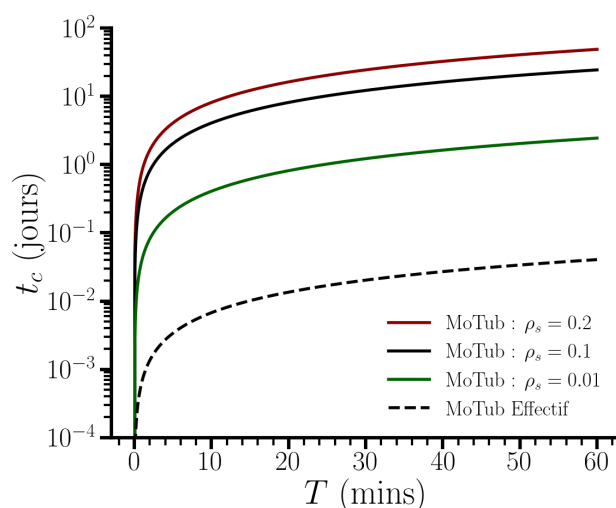


FIGURE 3.7 – Estimation du temps  $t_c$  de calcul (en jours) nécessaire pour simuler un MT 13 – 3 long de  $10\ \mu\text{m}$ . La courbe en pointillés indique le temps de calcul en utilisant le modèle MoTub effectif, alors que les autres courbes le tracent pour quelques valeurs de la densité moyenne  $\rho_s$  de moteurs avec le modèle MoTub. L'axe des ordonnées est en échelle logarithmique.

Comme nous pouvons le constater sur la Figure 3.7 ci-dessus, le modèle MoTub effectif permet de réduire drastiquement le temps de simulation comparée au modèle MoTub complet, car le temps de calcul est équivalent au temps à simuler. La simulation fonctionne alors en temps réel. Le second avantage de ce modèle effectif est que le temps de calcul ne dépend ni du type de moteur, ni du nombre de moteurs présents sur le réseau car aucun moteur n'est explicitement simulé. Cela nécessite tout de même de tabuler en amont suffisamment de valeurs de  $(c_g, c_e)$  et  $(c_g^u, c_e^u)$  pour pouvoir paramétrer les constantes de détachement de dimères,  $k_{\text{off, eff}}$ . Néanmoins ces avantages sont accompagnés d'une limite. Cette approche n'est valide que lorsque le temps pour atteindre l'état stationnaire des moteurs est plus petit que le temps caractéristique des dimères de tubulines. Ceci est le cas lorsque nous sommes en mesure de découpler la dynamique des moteurs avec celle

des dimères. Ainsi, nous avons tenu à vérifier le cadre de validité de cette hypothèse. Toutefois, cette hypothèse est raisonnable pour des moteurs similaires à des kinésines-1 et des dynéines de levure (voir Annexe B.1).

Nous venons décrire en détail les hypothèses et les mécanismes considérés pour étudier l'impact d'une interaction moteur-tubuline sur la dynamique du microtubule. Tout d'abord, nous avons fait appel à un modèle simple composé de 3 réactions (attachement-hydrolyse-détachement) pour modéliser un réseau de tubulines présentant un phénomène d'instabilité. Ce modèle a la particularité de considérer que l'hydrolyse du nucléotide GTP des tubulines-GTP impacte uniquement les liaisons longitudinales entre tubulines. Puis, en reprenant une version simplifiée du modèle de Rank *et al.* [124], nous sommes en mesure de modéliser la dynamique de marche des moteurs processifs à l'aide de 3 réactions propres aux moteurs (attachement-marche-détachement). Enfin, nous avons couplé ces deux dynamiques en définissant de nouvelles réactions et en modifiant certaines conditions d'activations. De par la dissipation d'une partie de l'énergie nécessaire au cycle mécano-chimique des moteurs, le dimère de tubuline en-dessous de la tête avant du moteur se retrouve dans un état dit "excité". Cet état est caractérisé par une énergie de pénalité, notée  $\Delta G_p$  qui augmente la constante de détachement des tubulines. Par conséquent, à voisinage équivalent, une tubuline excitée a une plus grande probabilité de se détacher du réseau qu'une tubuline non excitée. En outre, comme l'état d'excitation est transitoire, chaque tubuline excitée se relaxe dans son état fondamental avec un temps caractéristique  $\tau_r$  (fixée à 0.1 s) afin que seule une fraction du réseau se retrouve perturbée localement par le flux des moteurs. À l'inverse, un dimère de tubulines sous un moteur est dans l'incapacité de se détacher du réseau car nous considérons que la contrainte stérique imposée par la présence du moteur est trop élevée. Cette hypothèse est levée lorsque le moteur ne possède qu'une seule tête attachée au réseau. Ce cas de figure apparaît lorsque le moteur rencontre une extrémité ou un défaut au cours de son trajet. Cette configuration instable pour le moteur l'amène à se détacher plus rapidement.

L'ensemble de ces réactions et hypothèses définit la version du modèle MoTub que nous avons étudié, et dont nous décrivons au Chapitre 4 l'impact des moteurs sur plusieurs processus dynamiques le long du MT. Le modèle MoTub repose sur le formalisme des simulations kMC, ce qui est en fait un cadre de travail idéal pour étudier l'impact des moteurs processifs sur la dynamique du MT. Nous tenons à remarquer que chacune des variations de l'ensemble des hypothèses considérées (localisation de la pénalité, impact de l'hydrolyse du nucléotide GTP ou mécanisme d'interaction des moteurs) amène à une version différente du modèle MoTub pour laquelle l'impact des moteurs peut être qualitativement différent. Ainsi, bien que nous ayons conscience que la version du modèle MoTub ici décrite ne représente qu'un embranchement parmi tant d'autres, nous la considérons comme étant une première tentative pour implémenter fidèlement un mécanisme d'interaction entre les moteurs processifs et le MT. De par sa nature modulaire, le modèle MoTub ouvre donc la voie à l'étude des implications de l'interaction moteur-tubuline.





# 4

## Implications d'une interaction moteur-tubuline

### Sommaire

---

<b>4.1</b>	<b>Création de défauts de type trou</b>	<b>60</b>
<b>4.2</b>	<b>Dynamique de fracture d'un microtubule</b>	<b>66</b>
4.2.1	Impact de la position du défaut sur la fracture	67
4.2.2	Impact des moteurs sur la fracture	75
4.2.3	Temps de survie d'un microtubule	80
<b>4.3</b>	<b>Renouvellement de la tubuline</b>	<b>82</b>
4.3.1	Dynamique de remodelage et réaction d'hydrolyse	82
4.3.2	Impact des moteurs sur la dynamique de remodelage	86

---

Au cours de ces prochaines sections, nous décrivons les différents processus dynamiques présents le long d'un réseau ayant des caractéristiques similaires à celles d'un MT<sup>1</sup>. Pour étudier uniquement des processus dynamiques à l'écart des extrémités du réseau de tubulines, nous considérons comme configuration initiale (à  $t = 0$ ) un réseau long de plusieurs micromètres et entièrement composé de tubulines-GDP, à l'exception de ces deux extrémités. De fait, les bords du réseau sont composés de plusieurs rangées de tubulines-GTP mais dans l'incapacité de réagir (ni détachement, ni hydrolyse du nucléotide GTP). Cette structure particulière pour les extrémités du réseau est comparable à la présence d'une coiffe de dimères de tubuline-GMPCPP (analogue structurel du dimère de tubuline-GTP non-hydrolysable) – souvent employée pour stabiliser *in vitro* les MTs composés de tubulines-GDP pendant plusieurs dizaines de minutes [7]. À partir d'une telle configuration initiale, la dynamique du réseau se déroule uniquement le long du réseau et se décompose en deux processus dynamiques indépendants : la création d'un défaut de type "trou" et sa propagation. Précisément, la propagation du défaut mène soit à une fracture du MT en absence de tubulines-GTP libres (attachement de la tubuline-GTP non autorisé), soit à une dynamique de renouvellement de la tubuline en présence de tubuline-GTP libre en solution (attachement de la tubuline-GTP autorisé). Nous avons étudié chacune de ces trois dynamiques en l'absence de moteurs, puis en présence de moteurs (kinésines-1 et dynéines de levure) afin de décrire qualitativement l'influence de la densité des moteurs à l'état stationnaire, notée  $\rho_s$  et celle de l'intensité de la pénalité induite par le passage d'un moteur, notée  $\Delta G_p$ .

## 4.1 Création de défauts de type trou

Nous avons vu dans le chapitre d'introduction (voir section 1.3) que la présence d'un flux de moteurs processifs diminue la durée de vie d'un MT dont les extrémités sont stabilisées par de la tubuline-GMPCPP [7]. Ici nous définissons la durée de vie d'un MT comme étant la durée moyenne sur laquelle le MT se brise; nous la notons  $\langle \tau_b \rangle$ . Comme nous considérons qu'à l'instant initial ( $t = 0$ ) le réseau ne contient aucun défaut, l'intervalle de temps  $\langle \tau_b \rangle$  est simplement la somme de l'intervalle de temps moyen  $\langle \tau_d \rangle$  sur lequel le premier défaut va se former et de l'intervalle de temps moyen sur lequel la fracture va se propager sur tous les protofilaments, noté  $\langle \tau_f \rangle$ <sup>2</sup> :

$$\langle \tau_b \rangle = \langle \tau_d \rangle + \langle \tau_f \rangle. \quad (4.1)$$

Dans un premier temps, nous décrivons l'influence d'un flux de moteurs sur le temps moyen  $\langle \tau_d \rangle$  de création d'un défaut. Puis au cours de la section 4.2, nous évaluons l'impact des moteurs processifs sur le temps moyen de fracture  $\langle \tau_f \rangle$ .

Tout d'abord, nous remarquons que le choix de la position de la déstabilisation lors de la marche du moteur (sous la tête avant ou arrière) est ici sans importance. Il en est ainsi

---

1. Les paramètres du réseau (énergies d'interaction, anisotropie, temps caractéristique d'hydrolyse) ont été fixés à des valeurs similaires à celles mesurées *in vitro* et/ou considérées dans les modèles *in-silico* (voir Annexe A.2).

2. En d'autres termes cela signifie que nous considérons que la création d'un défaut est un évènement indépendant à la propagation d'un défaut. Bien que la propagation ne puisse pas se faire sans qu'un défaut soit pré-existant, la dynamique de propagation ne dépend pas de la dynamique de création du défaut.

car (i) la marche est complètement asymétrique (toujours dans la même direction) et (ii) la dynamique de marche est plus rapide que celle de relaxation ( $k_w \geq k_r$ ). Ainsi, le moteur en se déplaçant le long d'un protofilament laisse derrière lui une trainée d'environ  $k_w/k_r$  dimères excités.

Pour un réseau intact (sans trou) le temps caractéristique pour créer un trou est donné par

$$\langle \tau_d \rangle = \left[ N k_{\text{off}} (\Delta G_{\text{tot}}^D) \right]^{-1}, \quad (4.2)$$

où  $N$  désigne le nombre des dimères dans le réseau. Cette expression peut être généralisée au cas pour lequel les moteurs sont présents, en considérant leur impact de manière effective [voir Eq. (3.25)], c'est-à-dire :

$$\langle \tau_{d,\text{eff}} \rangle = \left[ N k_{\text{off,eff}} (\Delta G_{\text{tot}}^D) \right]^{-1}. \quad (4.3)$$

Il est raisonnable de considérer l'effet des moteurs de manière effective car la dynamique des moteurs atteint rapidement un état stationnaire (avec un temps caractéristique  $k_-^{-1}$ , où  $k_-$  désigne la constante de détachement de moteurs, voir Annexe B.1). L'intervalle de temps nécessaire pour que les moteurs atteignent un état stationnaire est négligeable comparé au temps moyen de création du défaut  $\tau_d$ .

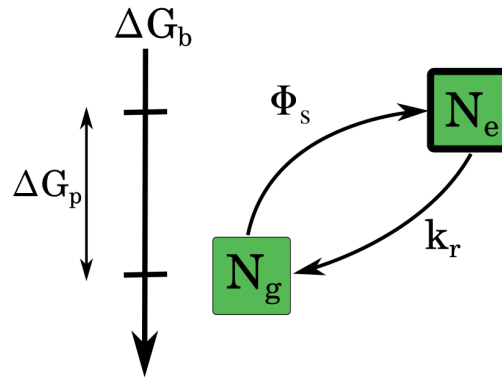


FIGURE 4.1 – Modèle à 2 états pour la déstabilisation d'un dimère (pénalité  $\Delta G_p$  sur l'énergie  $\Delta G_b$  de liaisons des dimères de tubulines) en présence d'un flux  $\phi_s$  de moteurs. La constante de vitesse pour qu'un dimère à l'état fondamental (resp. excité) passe à l'état excité (resp. fondamental) est de  $\phi_s$  (resp.  $k_r$ ). Les fractions de dimères  $c_g$  et  $c_e$  correspondent aux proportions des  $N_g$  et  $N_e$  dimères qui ne sont pas bloqués par la présence d'un moteur.

Il nous faut à présent expliciter l'expression  $k_{\text{off,eff}}$ . Un modèle à deux états est adapté pour définir l'expression de cette constante de réaction effective (voir Figure 4.1 ci-dessus). En effet, les modèles à deux états sont communs lorsque nous souhaitons décrire, à l'état stationnaire, les proportions associées à deux états distincts pour une population donnée [134]. Ici notre population est définie comme l'ensemble des  $N$  dimères-GDP qui composent le réseau. Les deux états distincts correspondent aux deux états, déstabilisé ou non, des dimères non recouverts par un moteur. Nous associons respectivement une probabilité notée  $c_g$  ( $g$  pour *ground state*) et  $c_e$  ( $e$  pour *excited state*) pour ces deux états. Dès



lors, et nous l'avons vu avec l'Eq. (3.25), la constante effective de détachement d'une tubuline au sein du réseau peut être définie comme :

$$k_{\text{off,eff}}(\Delta G_b) := \left( c_g + c_e e^{\beta \Delta G_p} \right) k_{\text{off}}(\Delta G_b). \quad (4.4)$$

Deux méthodes sont envisageables pour estimer  $c_g$  et  $c_e$  : soit (i) nous obtenons les expressions analytiquement à partir d'un modèle de champ moyen (voir Ref. [124]) soit (ii) nous mesurons numériquement ces probabilités pour différentes densités de moteurs  $\rho_s$  et pour chaque type de moteurs. L'avantage de la première méthode est sa simplicité, car elle ne nécessite aucune mesure numérique au préalable. Cependant, et contrairement à la seconde méthode, cette expression repose sur une hypothèse additionnelle qui peut être formulée comme : l'état d'excitation d'un dimère n'est pas corrélé à la présence d'un moteur au-dessus de lui. Pour les moteurs étudiés (kinésines-1 et dynéines de levure), il semble raisonnable de considérer cette hypothèse comme valide malgré un faible écart entre les courbes analytiques (QSS) et celles obtenues numériquement (voir Figure 4.2 et 4.3).

En s'inspirant du travail de Rank *et al.* [124], nous décomposons  $c_e$  (resp.  $c_g$ ) comme étant le produit entre la proportion  $(1 - 2\rho_s)$  de dimères pouvant se détacher et la proportion  $\varepsilon = N_e/N$  (resp.  $1 - \varepsilon = N_g/N$ ) de dimères excités (resp. non excités), ce qui permet d'exprimer  $k_{\text{off,eff}}$  comme :

$$c_e = \varepsilon(1 - 2\rho_s) \quad (4.5)$$

$$c_g = (1 - \varepsilon)(1 - 2\rho_s) \quad (4.6)$$

$$k_{\text{off,eff}}(\Delta G_b) = (1 - 2\rho_s) \left[ (1 - \varepsilon) + \varepsilon e^{\beta \Delta G_p} \right] k_{\text{off}}(\Delta G_b). \quad (4.7)$$

La fraction des dimères excités ( $\varepsilon = N_e/N$ ) peut être estimée à partir du raisonnement suivant. Soit  $N = N_e + N_g$  dimères ( $N$  est constant), dont  $N_e$  sites dans l'état excité par la marche des moteurs et  $N_g$  dimères dans l'état fondamental. Nous considérons que le flux de moteurs  $\phi_s$  correspond à la fréquence pour laquelle tout dimère dans l'état fondamental s'excite [voir Eq. (3.14)]. D'autre part, la fréquence pour laquelle un site excité retourne à l'état fondamental est simplement donnée par la constante de réaction de relaxation  $k_r$ . L'équation différentielle ordinaire suivante décrit le mécanisme d'excitation / désexcitation illustré dans la Figure 4.1 :

$$\frac{dN_e}{dt} = \phi_s(N - N_e) - k_r N_e \quad (4.8)$$

Ainsi, à l'état stationnaire ( $\frac{dN_e}{dt} = 0$ ), la proportion  $\varepsilon$  de sites excités s'exprime comme :

$$\varepsilon = \frac{N_e}{N} = \frac{\phi_s}{\phi_s + k_r} \quad (4.9)$$

La validité de l'expression (notée QSS pour *Quasi Steady State*) de la fraction de dimères excités  $\varepsilon$ , obtenue avec l'Eq. (4.9), peut être évaluée à partir des mesures kMC de  $c_e$  et  $c_g$  en fonction de la densité  $\rho_s$  (voir Figure 4.2).

La proportion de tubulines excitées et pouvant se détacher du réseau ( $c_e$ ) démarre à zéro en absence de moteur. Puis  $c_e$  augmente rapidement lorsque la densité de moteur augmente jusqu'à atteindre un maximum, dont la position dépend du type de moteur ( $\simeq 0.18$

pour les kinésines-1 et  $\simeq 0.25$  pour les dynéines). Nous remarquons également que pour une même densité moyenne la fraction de dimères excités est plus grande en présence de kinésines que de dynéines. Ces deux observations s'expliquent par le fait que  $c_e$  soit dépendant du flux moyen  $\phi_s$  de moteurs. Or, le flux est non-monotone en fonction de la densité à l'état stationnaire (voir Figure 3.5), et est d'autant plus grand que la constante de marche est grande ( $\phi_s \propto k_w$ ). Le comportement non-monotone de la fraction  $c_e$  de dimères excités en fonction de la densité  $\rho_s$  de moteurs est bien décrit avec l'expression QSS (voir Eq. 4.7). Néanmoins, et cela pour les deux types de moteurs, la courbe QSS diverge légèrement des points obtenus numériquement (voir Figure 4.2).

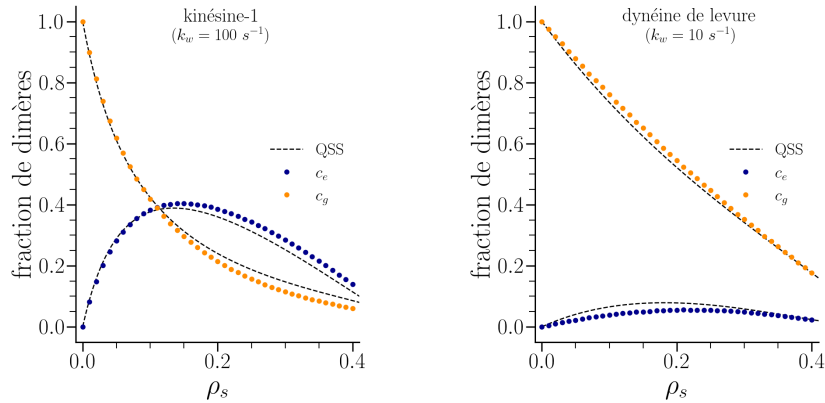


FIGURE 4.2 – Mesures des probabilités (ou proportions des états) qu'un dimère non recouvert par un moteur soit dans l'état excité ( $c_e$  en bleu) ou non excité ( $c_g$  en orange) en fonction de la densité  $\rho_s$  de moteurs à l'état stationnaire et pour deux types de moteurs (à gauche pour les kinésines-1 et à droite pour les dynéines de levure). Chaque point est une moyenne obtenue à partir de  $10^4$  simulations. Les courbes en pointillés (QSS) tracent l'expression dérivée à partir du modèle à 2 états [voir Eqs. (4.5)-(4.9)].

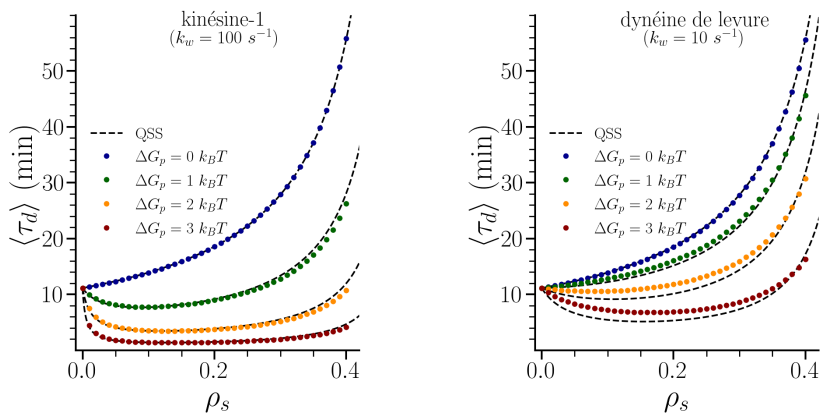


FIGURE 4.3 – Temps moyen  $\langle \tau_d \rangle$  [modèle effectif Eq. (4.4)] de création de défaut en présence d'un flux de moteurs processifs pour un réseau long de  $10 \mu\text{m}$  (à gauche avec des kinésines-1, et des dynéines de levures à droite). La courbe en pointillés correspond à l'expression en quasi-stationnaire (QSS pour Quasi-Steady-State) [voir Eqs. (4.5)-(4.9)].

La contiguïté des courbes théoriques (QSS) et des moyennes numériques (MoTub-effectif) pour la mesure du temps moyen de création de défaut  $\langle \tau_d \rangle$  démontre la justesse du modèle à 2 états pour évaluer la fraction de dimères excités  $\varepsilon$  dans le réseau (voir Figure 4.3). Nous avons fait le choix d'évaluer le temps caractéristique  $\langle \tau_d \rangle$  pour des microtubules d'une longueur de  $10 \mu\text{m}$ , comparable aux longueurs typiques observées expérimentalement par Triclin *et al.* [7]. Nous constatons que pour une pénalité non nulle ( $\Delta G_p \neq 0$ ), les moteurs, en interagissant avec le réseau du MT, impactent le temps moyen de création de défaut  $\langle \tau_d \rangle$  de manière non monotone, à l'instar de la proportion  $c_e$ . Il y a d'abord une phase, pour les faibles valeurs de densité, où  $\langle \tau_d \rangle$  est réduit – l'effet est d'autant plus marqué que la pénalité est forte. Puis après une certaine valeur de densité,  $\langle \tau_d \rangle$  croît de nouveau et peut même être plus grand que le temps moyen en absence de moteur. Par exemple, cela se produit pour les dynéines de levures avec une pénalité  $\Delta G_p \leq 2 k_B T$ . Mais également pour des kinésines-1 lorsque la pénalité est de très faible intensité ( $1 k_B T$ ) et pour une densité  $\rho_s$  supérieure à 0.3.

Néanmoins pour un flux de moteurs similaires à des kinésines-1, et pour une pénalité supérieure à  $2 k_B T$ , le temps de création de défaut restera (pour  $\rho_s < 0.4$ ) bien inférieur au temps moyen en absence de moteurs. Le phénomène de stabilisation du MT [ $\langle \tau_d(\rho_s) \rangle > \langle \tau_d(\rho_s = 0) \rangle$ ] apparaît lorsque l'interaction stabilisante des moteurs, suite à l'hypothèse d'impossibilité de détachement des dimères en présence de moteurs, est dominante face à l'interaction déstabilisation, suite à la marche des moteurs. Ainsi dans le cas limite où la pénalité est nulle ( $\Delta G_p = 0 k_B T$ ), l'impact des moteurs sur le temps de création de défaut devrait être uniquement stabilisant. Or ce résultat est bien corroboré par les données obtenues numériquement (voir Figure 4.3).

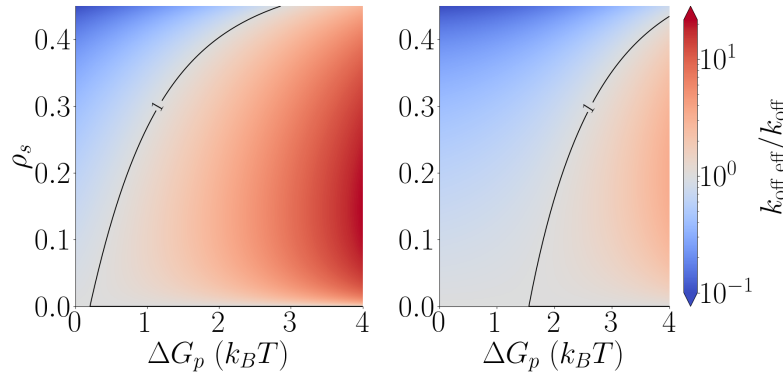


FIGURE 4.4 – Carte thermique illustrant l'impact d'un flux de moteurs processifs sur la création d'un défaut. Lorsque la constante de détachement  $k_{\text{off,eff}}$  est supérieure à  $k_{\text{off}}$  alors l'impact est déstabilisateur (ton vers les rouges) alors que lorsque  $k_{\text{off,eff}} < k_{\text{off}}$  l'effet est stabilisateur (ton vers les bleus). Une isoline à  $k_{\text{off,eff}}/k_{\text{off}} = 1$  est présente pour séparer les deux phases. La constante de détachement effective  $k_{\text{off,eff}}$  est évaluée à partir de l'Eq. (4.4).

Sur la Figure 4.4 ci-dessus, nous distinguons facilement la phase où les moteurs accélèrent la dynamique de création de défaut ( $k_{\text{off,eff}} > k_{\text{off}}$ , en rouge) de celle où les moteurs la ralentissent ( $k_{\text{off,eff}} < k_{\text{off}}$ , en bleu). Dans la première phase les moteurs ont un impact déstabilisant car, en moyenne, un défaut apparaîtra plus rapidement qu'en absence

de moteur, alors que dans la seconde les moteurs ont un impact stabilisant. Enfin, l'impact des kinésines-1 est plus significatif que celui des dynéines de levure. Par exemple nous observons une réduction d'environ 60% pour ( $\rho_s = 0.1, \Delta G_p = 2 k_B T$ ), alors qu'en comparaison pour ces mêmes valeurs, le temps moyen de création de défaut est de seulement 5% en présence de dynéines de levure. L'origine de cette observation provient du fait qu'à densité égale, le flux moyen de moteurs  $\phi_s$  est plus faible pour les dynéines que pour les kinésines car le flux est proportionnel à la constante de marche des moteurs. Par conséquent, pour obtenir, à densité équivalente, un impact des dynéines de levure similaire à celui des kinésines-1 la pénalité induite par la marche des dynéines doit être plus grande que celle induite par celle des kinésines-1.

En absence de moteur, le modèle MoTub permet d'obtenir un ordre de grandeur raisonnable pour le temps moyen de création d'un défaut ( $\langle \tau_d(\rho_s = 0) \rangle = 10$  mins). En effet, cela est cohérent avec l'intervalle de temps mesuré pendant lequel les MTs sont stables *in vitro*, qui est également de l'ordre d'une dizaine de minutes [7]. Nous venons de mettre en lumière une première implication de l'interaction moteur-tubuline : l'impact des moteurs processifs sur le temps de création d'un défaut. Dépendant du type de moteur, de sa densité moyenne et de la pénalité induite lors de sa marche, un flux de moteurs peut soit ralentir la dynamique de création de défauts, soit l'accélérer. De manière générale, pour de faibles densités et pour des pénalités de l'ordre de 1 à 3  $k_b T$ , la production de trous le long du réseau est catalysée par la présence des moteurs. Nous avons dérivé une expression analytique, à l'aide d'un modèle à 2 états, pour décrire l'influence des moteurs sur le temps moyen de création d'un défaut. Cette dernière est en accord avec les mesures numériques obtenues à l'aide du modèle MoTub-effectif. Nous avons alors pu construire un diagramme de phase illustrant les régions où les moteurs ralentissent la production de défauts, ou au contraire l'accélèrent. Cela a également pu mettre en avant qu'à densité et pénalité équivalentes, les dynéines de levure ont un impact moindre comparées aux kinésines-1 – ce qui est dû à une vitesse de marche plus rapide de la part de ces dernières. À présent que nous avons décrit l'influence des moteurs sur la production de défauts le long du réseau d'un MT, nous présentons au cours des deux prochaines sections l'impact des moteurs processifs sur la dynamique d'un défaut au sein du réseau. Dans un premier temps, en absence de tubuline-GTP en solution ( $k_{onc} = 0$ ) afin d'étudier la dynamique de fracture, puis en présence de tubuline-GTP libre ( $k_{onc} \neq 0$ ) ce qui permet de décrire la dynamique de renouvellement de la tubuline le long du MT.

## 4.2 Dynamique de fracture d'un microtubule

Maintenant que nous avons décrit dans quelles conditions un premier défaut apparaît le long du réseau, nous étudions son évolution au cours du temps. Sa dynamique sera avant tout dépendante de la présence ou non de tubuline-GTP en solution. Dans cette section, nous nous focalisons sur le cas en absence de tubuline-GTP libre en solution ( $k_{\text{on}} = 0$ ). Le cas inverse sera étudié au cours de la section 4.3. Pour modéliser la propagation du défaut, nous considérons comme configuration initiale un réseau de longueur  $L$ , composé exclusivement de tubulines-GDP. Cependant nous introduisons un défaut à mi-longueur, et positionné sur le protofilament n° $p$  ( $p \in [1, 13]$  avec une jonction située entre les protofilaments n°1 et 13). Comme  $k_{\text{on}} = 0$ , les seules réactions possibles sont les détachements de tubulines. Par conséquent, une fissure se propage le long de la structure jusqu'à soit (i) atteindre les extrémités du réseau, soit (ii) s'étendre sur tous les protofilaments, sectionnant ainsi le microtubule en deux plus petits microtubules (fracture complète).

Pour étudier la fracture d'un microtubule nous allons définir deux observables telles que :

- le temps  $\tau_f$  que met la fracture à se propager à tous les protofilaments.
- la longueur  $L_f$  sur laquelle la fracture se propage à  $t = \tau_f$

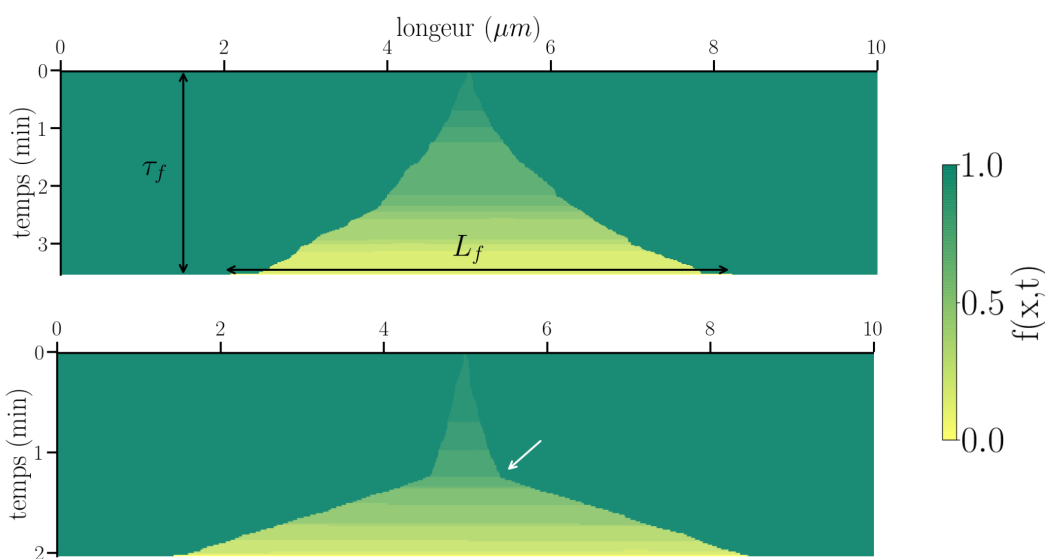


FIGURE 4.5 – Kymographes d'un trou se propageant le long d'un microtubule en absence de moteurs. À  $t = 0$  un défaut est présent au centre du réseau sur le protofilament n°7 pour le kymographe du haut et sur le protofilament n°3 pour celui du bas. La couleur est associée à la proportion  $f(x,t)$  de dimères présents à la position  $x$  à l'instant  $t$  avec  $f(x,t) = \frac{1}{13} \sum_{i=1}^{13} s(x,y=i | t)$  où  $s(x,y | t)$  est l'état du site à la position  $(x,y)$ , qui est égal à 1 si un dimère est présent, et sinon à 0. La flèche blanche indique le passage de la fracture au travers de la jonction du réseau, ce qui fait accélérer la vitesse de propagation longitudinale (voir texte).

Avant d'estimer l'impact des moteurs sur la fracture, il nous faut d'abord estimer ces observables en absence de moteurs. Sur le kymographe du haut de la Figure 4.5, nous illustrons les observables liées à la fracture. Il s'est avéré que la jonction (ou *seam* en anglais)

joue un rôle prépondérant dans la propagation du défaut et nous nous sommes d'abord intéressés à son influence sur la dynamique de fracture (voir Figure 4.5 ci-dessous). De plus, deux raisonnements pour décrire la dynamique moyenne de la fracture ont été dérivés. Le premier est plutôt simple, et apporte une bonne approximation de l'ordre de grandeur des observables de fracture. Le second est plus complexe, et permet ainsi de décrire précisément la dynamique de fracture en prenant en compte la présence d'une jonction au sein du réseau.

### 4.2.1 Impact de la position du défaut sur la fracture

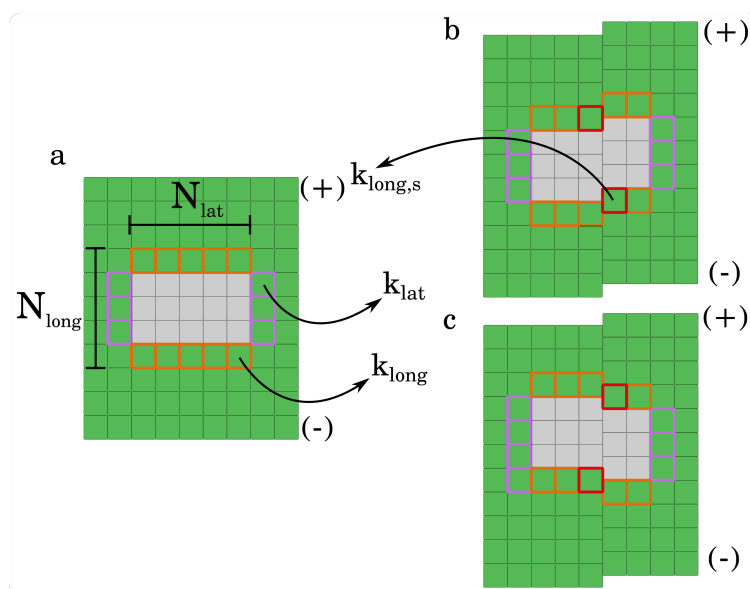


FIGURE 4.6 – Schéma illustrant la structure d'un défaut lorsqu'il se propage à l'écart de la jonction (a) et lorsqu'il se propage au niveau de la jonction du réseau (b,c). Les sites avec un rebord rose participent à la propagation latérale du défaut avec une constante de détachement  $k_{\text{lat}}$ . Quant à ceux avec un rebord orange et rouge, ils participent à la propagation longitudinale de la fracture et ont respectivement un taux de détachement  $k_{\text{long}}$  and  $k_{\text{long},s}$ . En fonction de la structure du front longitudinal, le dimère rouge est situé côté gauche ou droite de la jonction (voir les configurations distinctes en b et c). Les sites avec leur rebord en rouge ne possèdent que  $3/2$  voisins latéraux du fait de la structure de la jonction.

Lorsque le défaut se propage à l'écart de la jonction (au sein du réseau B, à gauche de la Figure 4.6), le défaut adopte, majoritairement, une forme rectangulaire. Les dimères présents au niveau des fronts (+) et (-) possèdent la même constante de détachement, notée  $k_{\text{long}}$  car leur voisinage est le même [2 voisins latéraux et 1 voisin longitudinal, voir Eq. (4.10)]<sup>3</sup>. Les dimères sur les fronts latéraux ont, quant à eux, une seconde constante

3. Lorsqu'un dimère se détache sur une des deux extrémités du défaut, le dimère voisin se retrouve avec une constante de détachement environ 1800 fois plus grande que  $k_{\text{long}}$ , ce qui signifie qu'il se détache sur un intervalle de temps moyen d'environ 1.8ms. Nous considérons donc que ces détachements sont instantanés comparés aux détachements liés aux constantes de détachement  $k_{\text{long}}$ .

de détachement, notée  $k_{\text{lat}}$  [voir Eq. (4.11)], qui est beaucoup plus faible que celle des dimères sur les fronts longitudinaux, car l'anisotropie de la structure du réseau est en faveur de la direction longitudinale ( $k_{\text{long}}/k_{\text{lat}} \simeq 1800$ ).

$$k_{\text{long}} = k_{\text{off}}^* e^{-\beta(\Delta G_{\text{long}} + 2\Delta G_{\text{lat}} - \Delta G^*)} \quad (4.10)$$

$$k_{\text{lat}} = k_{\text{off}}^* e^{-\beta(2\Delta G_{\text{long}} + \Delta G_{\text{lat}} - \Delta G^*)} \quad (4.11)$$

Par conséquent la propagation du défaut dans la direction longitudinale et latérale s'effectue avec une vitesse respective telle que :

$$\frac{dN_{\text{long}}}{dt} = 2N_{\text{lat}}k_{\text{long}} \quad (4.12)$$

$$\frac{dN_{\text{lat}}}{dt} = 2N_{\text{long}}k_{\text{lat}} \quad (4.13)$$

$$N_{\text{long}}(t=0) = N_{\text{lat}}(t=0) = 1 \quad (4.14)$$

À partir des équations (4.12)-(4.13), nous pouvons établir une estimation grossière de l'évolution temporelle de la taille du réseau en partant de la condition initiale Eq. (4.14)

$$N_{\text{long}} = \frac{1}{2} \sqrt{\frac{k_{\text{long}}}{k_{\text{lat}}}} \left[ \left( 1 + \sqrt{\frac{k_{\text{lat}}}{k_{\text{long}}}} \right) e^{\lambda t} - \left( 1 - \sqrt{\frac{k_{\text{lat}}}{k_{\text{long}}}} \right) e^{-\lambda t} \right] \quad (4.15)$$

$$N_{\text{lat}} = \frac{1}{2} \left[ \left( 1 + \sqrt{\frac{k_{\text{lat}}}{k_{\text{long}}}} \right) e^{\lambda t} + \left( 1 - \sqrt{\frac{k_{\text{lat}}}{k_{\text{long}}}} \right) e^{-\lambda t} \right] \quad (4.16)$$

où  $\lambda = 2\sqrt{k_{\text{long}}k_{\text{lat}}}$ . Pour  $\lambda t \ll 1$  Eqs. (4.15) et (4.16) se simplifient en

$$N_{\text{long}} = \frac{1}{2} \sqrt{\frac{k_{\text{long}}}{k_{\text{lat}}}} \left( 1 + \sqrt{\frac{k_{\text{lat}}}{k_{\text{long}}}} \right) e^{\lambda t} \quad (4.17)$$

$$N_{\text{lat}} = \frac{1}{2} \left( 1 + \sqrt{\frac{k_{\text{lat}}}{k_{\text{long}}}} \right) e^{\lambda t}. \quad (4.18)$$

Dès lors, en définissant le temps de fracture comme le temps nécessaire pour que l'étalement latéral soit sur  $N_{\text{lat}} = N_{pf} = 12$  dimères<sup>4</sup>. La longueur de fracture correspond à l'étalement longitudinal à cet instant. Ainsi, nous obtenons un temps de fracture

$$\tau_f = \frac{1}{\lambda} \ln \frac{2(N_{pf} - 1)}{1 + \sqrt{\frac{k_{\text{lat}}}{k_{\text{long}}}}} \approx 3.7 \text{ min} \quad (4.19)$$

et une longueur de fracture

$$L_f = \sqrt{\frac{k_{\text{long}}}{k_{\text{lat}}}} (N_{pf} - 1) \approx 4.1 \mu\text{m} \quad (4.20)$$

---

4. Ici nous négligeons la brisure du dernier protofilament, car le taux détachement final est très grand par rapport au détachement latéral ( $k_{\text{lat},f} = k_{\text{off}}^* e^{-\beta(2\Delta G_{\text{long}} - \Delta G^*)} \gg k_{\text{lat}}$ )

ce qui est une estimation correcte de l'ordre de grandeur des observables mesurées numériquement (voir ligne en pointillés sur la Figure 4.8). Toutefois cette approche simple néglige complètement la présence d'une jonction au sein du réseau. Or le défaut, en s'étalant latéralement au sein du réseau du MT, est amené à traverser cette jonction [voir Figure 4.6 (b,c)]. Dès lors nous établissons une seconde approche, plus fine, pour décrire la dynamique de fracture en considérant l'impact de cette dernière sur la fracture. Aucun consensus n'a été à ce jour atteint sur le fait que la jonction impacte significativement la dynamique du MT. Ici, nous apportons une première réflexion vis-à-vis d'un tel impact sur les observables liées à la fracture.

Dans cette seconde approche, les fronts latéraux sont décrits de la même manière, en ce sens que chaque dimère sur ce front a une constante de détachement de  $k_{\text{lat}}$ . Néanmoins, cela est différent pour les fronts longitudinaux. En effet, en raison de la présence d'une jonction, deux dimères ne partagent pas la même constante de détachement  $k_{\text{long}}$  que les autres dimères du front longitudinal. De ce fait, une autre constante de détachement, notée  $k_{\text{long},s}$  ( $s$  pour *seam*) leur est associée. La constante de réaction  $k_{\text{long},s}$  est celle évaluée pour un voisinage composé d'un voisin longitudinal et de 3/2 voisins latéraux (voir sites avec le contour en rouge sur la Figure 4.6 b,c). Ce demi-voisin manquant amène un facteur d'environ 42 entre  $k_{\text{long}}$  et  $k_{\text{long},s}$ , ce qui signifie que la vitesse du front longitudinal sera dominée par ces deux dimères au niveau de la jonction du réseau. Dit autrement, lorsque le défaut s'étale au travers d'un réseau  $A$ , la vitesse de propagation longitudinale est plus grande que pour un défaut s'étalant au travers d'un réseau  $B$ . Ainsi, dépendant de la position initiale du défaut, le défaut traversera le sous-réseau  $A$  plus ou moins tôt au cours de sa propagation dans le réseau (voir flèche blanche sur le kymographe du bas dans la Figure 4.5).

Afin de décrire plus finement la dynamique de fracture, c'est-à-dire en considérant la présence d'une jonction au sein du réseau, il faut définir un ensemble d'équations maîtresses. Par souci de simplicité, nous faisons ici l'hypothèse que la forme de la fracture est, à tout instant, rectangulaire. Nous considérons que le défaut traverse la jonction lorsque l'étalement latéral du défaut est plus grand que  $k$  dimères, autrement dit, l'agrandissement latéral d'un défaut de taille  $N_{\text{lat}} = k$  à  $N_{\text{lat}} = k + 1$  conduit à l'inclusion de la jonction dans le défaut.

L'équation maîtresse suivante [Eq. (4.21)] décrit la perte successive des dimères dans les deux directions (longitudinale et latérale) pour un défaut rectangulaire n'ayant pas traversé la jonction. Cette propagation du défaut est décrite par l'évolution temporelle de la densité de probabilité  $P(N_{\text{long}}, N_{\text{lat}})$  pour un défaut d'une longueur de  $N_{\text{long}}$  et d'une largeur de  $N_{\text{lat}}$  :

$$\begin{aligned} \partial_t P_k(N_{\text{long}}, N_{\text{lat}}) = & 2k_{\text{long}} N_{\text{lat}} \left[ P(N_{\text{long}} - 1, N_{\text{lat}}) - P(N_{\text{long}}, N_{\text{lat}}) \right] \\ & + 2k_{\text{lat}} N_{\text{long}} \left[ P(N_{\text{long}}, N_{\text{lat}} - 1) - P(N_{\text{long}}, N_{\text{lat}}) \right] \quad (4.21) \\ & \text{pour } N_{\text{lat}} \leq k. \end{aligned}$$

Sinon, lorsque le défaut s'étend au travers de la jonction, l'évolution de la densité de probabilité  $P(N_{\text{long}}, N_{\text{lat}})$  est modifiée de manière à ce que la propagation longitudinale



soit dominée principalement par  $k_{\text{long},s}$  :

$$\begin{aligned} \partial_t P_k(N_{\text{long}}, N_{\text{lat}}) = & \left[ k_{\text{long},s} + \frac{1}{2}(3N_{\text{lat}} - 2)k_{\text{long}} \right] \left[ P(N_{\text{long}} - 1, N_{\text{lat}}) - P(N_{\text{long}}, N_{\text{lat}}) \right] \\ & + 2k_{\text{lat}}N_{\text{long}} \left[ P(N_{\text{long}}, N_{\text{lat}} - 1) - P(N_{\text{long}}, N_{\text{lat}}) \right] \\ & \text{pour } N_{\text{lat}} > k \end{aligned} \quad (4.22)$$

avec

$$k_{\text{long},s} = k_{\text{off}}^* e^{-\beta(\Delta G_{\text{long}} + \frac{3}{2}\Delta G_{\text{lat}} - \Delta G^*)} \quad (4.23)$$

Lorsque la jonction est comprise dans le défaut, la vitesse de propagation longitudinale n'est pas triviale car elle dépend de la structure détaillée du trou. Dans une première approximation, nous avons utilisé comme vitesse longitudinale  $\frac{1}{2}k_{1,s}$ , ce qui revient à considérer que la vitesse longitudinale est entièrement déterminée par le détachement des dimères au niveau de la jonction (dimères rouges dans la Fig. 4.6 b,c). Cependant, cette simple approximation sous-estime la longueur du défaut à la rupture par rapport aux simulations kMC. Dans un modèle plus raffiné, nous considérons l'effet de tous les dimères formant le front longitudinal du défaut avec le raisonnement suivant : pour un front dans la configuration montrée dans la Fig. 4.7 (front supérieur), le front longitudinal avancera avec la vitesse

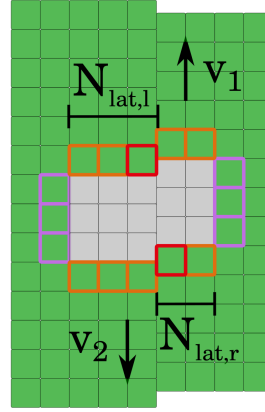


FIGURE 4.7 – Schéma illustrant les vitesses longitudinales d'un défaut lorsque celui-ci a traversé la jonction du réseau. Les vitesses  $v_1$  et  $v_2$  possèdent une symétrie vis-à-vis du nombre de dimères  $N_{\text{long},l}$  ( $N_{\text{long},r}$ ) présents à gauche (à droite) de la jonction [voir Eqs. (4.24) et (4.25)].

$$v_1 = \frac{1}{2}k_{\text{long},s} + \left[ \frac{1}{2}(N_{\text{lat},l} - 1) + N_{\text{lat},r} \right] k_{\text{long}}. \quad (4.24)$$

Ici, nous tenons compte du fait que les dimères qui se détachent à gauche de la jonction font avancer le front d'un monomère. Ensuite, le front prend la configuration de la Fig. 4.6 c (front supérieur). Par contre, les dimères qui se détachent à droite de la jonction font avancer le front d'un dimère et la configuration du front ne change pas.  $N_{\text{lat},l}$  ( $N_{\text{lat},r}$ ) désigne le nombre de dimères à gauche (droite) de la jonction, avec  $N_{\text{lat},l} + N_{\text{lat},r} = N_{\text{lat}}$ . Pour un front dans la configuration montrée dans la Fig. 4.7 (front inférieur), le front avance avec la vitesse

$$v_2 = \frac{1}{2}k_{\text{long},s} + \left[ \frac{1}{2}(N_{\text{lat},r} - 1) + N_{\text{lat},l} \right] k_{\text{long}}. \quad (4.25)$$

Dès lors, à chaque série de détachement au niveau des fronts longitudinaux, la configuration des fronts oscille entre les configurations illustrées sur la Fig. 4.6 b et c. Pour des raisons de simplicité, nous prenons la moyenne arithmétique des deux vitesses longitudinales :

$$v = v_1 + v_2 = k_{\text{long},s} + \frac{1}{2}(3N_{\text{lat}} - 2)k_{\text{long}}. \quad (4.26)$$

L'Eq. (4.26) correspond à la vitesse longitudinale utilisée dans l'Eq. (4.22).

Lorsque le défaut s'étale sur tous les protofilaments sauf le dernier, l'évolution temporelle de la densité de probabilité devient :

$$\begin{aligned} \partial_t P_k(N_{\text{long}}, N_{\text{lat}}) &= 2k_{\text{long}} N_{\text{lat}} \left[ P(N_{\text{long}} - 1, N_{\text{lat}}) - P(N_{\text{long}}, N_{\text{lat}}) \right] \\ &+ N_{\text{long}} \left[ 2k_{\text{lat}} P(N_{\text{long}}, N_{\text{lat}} - 1) - k_{\text{lat},f} P(N_{\text{long}}, N_{\text{lat}}) \right] \end{aligned} \quad (4.27)$$

pour  $N_{\text{lat}} = N_{pf} - 1 = k$

avec une constante de détachement  $k_{\text{lat},f}$  [ $f$  pour final, voir Eq. (4.28)] qui correspond à la constante pour un dimère-GDP ayant uniquement deux voisins longitudinaux, ce qui correspond au voisinage des dimères sur le dernier protofilament intact.

$$k_{\text{lat},f} = k_{\text{off}}^* e^{-\beta(2\Delta G_{\text{long}} - \Delta G^*)} \quad (4.28)$$

L'Eq. (4.27) est uniquement valide lorsque la jonction est atteinte lors du dernier détachement latéral ( $k = 12$ ), sinon l'évolution de la densité de probabilité lors du détachement du dernier protofilament avec un défaut ayant déjà traversé la jonction est décrite par :

$$\begin{aligned} \partial_t P_k(N_{\text{long}}, N_{\text{lat}}) &= \left[ k_{\text{long},s} + \frac{1}{2}(3N_{\text{lat}} - 2)k_{\text{long}} \right] \left[ P(N_{\text{long}} - 1, N_{\text{lat}}) - P(N_{\text{long}}, N_{\text{lat}}) \right] \\ &+ N_{\text{long}} \left[ 2k_{\text{lat}} P(N_{\text{long}}, N_{\text{lat}} - 1) - k_{\text{lat},f} P(N_{\text{long}}, N_{\text{lat}}) \right] \end{aligned}$$

pour  $k < N_{\text{lat}} = N_{pf} - 1$ .

(4.29)

Pour compléter la description de la fracture, il nous faut définir des conditions limites. Celles-ci énoncent trivialement qu'un défaut ayant une largeur (ou une longueur) nulle possède une densité de probabilité nulle [Eqs. (4.30)-(4.31)]. De plus, de manière arbitraire, la densité de probabilité de la configuration initiale du défaut (présent sur un unique site du réseau) est de 1 [Eq. (4.32)].

$$P(N_{\text{long}} = 0, N_{\text{lat}}) = 0 \quad (4.30)$$

$$P(N_{\text{long}}, N_{\text{lat}} = 0) = 0 \quad (4.31)$$

$$P(N_{\text{long}} = 1, N_{\text{lat}} = 1) = 1 \quad (4.32)$$

Toutefois, bien que les équations [Eqs. (4.21)-(4.29)] et les conditions limites [Eqs. (4.30)-(4.32)] décrivent l'évolution temporelle de la densité de probabilité pour un défaut rectangulaire ( $N_{\text{long}} \times N_{\text{lat}}$ ), il faut noter que cette densité de probabilité  $P(N_{\text{long}}, N_{\text{lat}})$  n'est pas normalisée. En considérant ces équations (4.21)-(4.32) à l'état stationnaire ( $\partial_t P(N_{\text{long}}, N_{\text{lat}}) = 0$ ), nous pouvons définir la longueur moyenne  $L(N_{\text{lat}})$  d'un défaut large de  $N_{\text{lat}}$  dimères comme :

$$L_k(N_{\text{lat}}) = \frac{1}{\mathcal{N}_k(N_{\text{lat}})} \sum_{N_{\text{long}}=1}^{\infty} N_{\text{long}} P_k(N_{\text{long}}, N_{\text{lat}}) \quad (4.33)$$

avec le facteur de normalisation  $\mathcal{N}_k(N_{\text{lat}})$  :

$$\mathcal{N}_k(N_{\text{lat}}) = \sum_{N_{\text{long}}=1}^{\infty} P_k(N_{\text{long}}, N_{\text{lat}}). \quad (4.34)$$

Et par conséquent, le temps moyen de transition entre un défaut d'une largeur de  $N_{\text{lat}}$  dimères à  $N_{\text{lat}} + 1$  dimères est défini comme :

$$\tau_k(N_{\text{lat}})^{-1} = \begin{cases} 2k_{\text{lat}}L_k(N_{\text{lat}}) & \text{pour } N_{\text{lat}} < N_{pf} - 1 \\ k_{\text{lat},f}L_k(N_{\text{lat}}) & \text{pour } N_{\text{lat}} = N_{pf} - 1 \end{cases} \quad (4.35)$$

Nous définissons le temps de fracture moyen, noté  $\tau_{f,k}$ , pour un défaut ayant franchi la jonction lors du  $k$ -ème détachement latéral, comme la somme des  $\tau_k(N_{\text{lat}})$  :

$$\tau_{f,k} = \sum_{N_{\text{lat}}=1}^{N_{pf}-1} \tau_k(N_{\text{lat}}). \quad (4.36)$$

Pour trouver la longueur de fracture moyenne, il est important de noter que la densité de probabilité au moment où le dernier protofilament se brise, notée  $P_f(N_1)$ , est donnée par (à un facteur constant près) :

$$P_{f,k}(N_{\text{long}}) \sim N_{\text{long}}P_k(N_{\text{long}}, N_{pf} - 1). \quad (4.37)$$

La longueur de fracture moyenne est donc donnée par

$$L_{f,k} = \frac{\sum_{N_{\text{long}}=1}^{\infty} N_{\text{long}}P_k(N_{\text{long}}, N_{pf})}{\mathcal{N}_k(N_{pf})} \quad (4.38)$$

avec le facteur de normalisation

$$\mathcal{N}_k(N_{pf}) = \sum_{N_{\text{long}}=1}^{\infty} N_{\text{long}}P_k(N_{\text{long}}, N_{pf} - 1). \quad (4.39)$$

Nous venons donc d'exprimer le temps moyen et la longueur moyenne du défaut en fonction de la distance à laquelle la jonction va être traversée. Toutefois, il faut ajouter une dernière étape à notre description pour être en mesure d'exprimer ces observables en fonction de la position initiale du défaut, notée  $n_i$ . Cette position initiale indique sur quel protofilament apparaît le défaut à l'instant  $t = 0$ . Cette position initiale  $n_i$  est donc comprise entre 1 et 13.

À partir d'une position initiale donnée, quelle est la probabilité qu'après  $k$  détachements latéraux la jonction soit traversée ? Répondre à une telle question revient à résoudre un problème combinatoire. Soit un défaut présent initialement sur le protofilament  $n_i$ , lorsque le défaut s'étale dans la direction latérale, cela signifie qu'un dimère-GDP s'est détaché soit du front latéral gauche, soit du front latéral droit. Or la probabilité que cela soit l'un ou l'autre est équivalente, car les constantes de détachement sont égales, il y a donc 1 chance sur 2 que le défaut s'étale vers la gauche (vers les  $n_i$  décroissants) et 1 chance sur 2 vers la droite (vers les  $n_i$  croissants). Ainsi, la probabilité qu'un défaut initialement positionné sur le protofilament  $n_i$  traverse la jonction au  $k$ -ème détachement latéral est proportionnelle à  $\frac{1}{2^k}$ .

Néanmoins il n'y a pas qu'une seule trajectoire possible pour atteindre cette jonction. En effet, elle peut être soit traversée par la gauche ( $13 \rightarrow 1$ ), ou soit par la droite ( $1 \rightarrow 13$ ).

De plus, pour une position initiale donnée, notée  $n_i$ , le nombre de possibilités pour traverser la jonction vers la gauche après  $k$  détachements latéraux peut être calculé à partir d'un problème de permutation avec répétition ( $k \leq n_i$ ) : il y a  $n_i - 1$  détachement vers la gauche et  $k - n_i$  détachement vers la droite, suivi d'un détachement final vers la gauche. Nous pouvons donc associer, pour une position initiale  $n_i$  donnée et un nombre  $k$  de détachements latéraux nécessaire pour traverser la jonction, une probabilité de la traverser vers la gauche notée  $p_{l,k}^{n_i}$  telle que :

$$p_{l,k}^{n_i} = \begin{cases} \binom{k-1}{n_i-1} \frac{1}{2^k} = \frac{(k-1)!}{(n_i-1)!(k-n_i)!} \frac{1}{2^k} & \text{pour } n_i \leq k < N_{pf} - 1 \\ 0 & \text{pour } k < n_i \end{cases}, \quad (4.40)$$

où  $N_{pf} = 13$  désigne le nombre de protofilaments. Avec le même argument nous pouvons associer une probabilité de traverser la jonction vers la droite à la  $k$ -ème étape, notée  $p_{r,k}^{n_i}$  telle que :

$$p_{r,k}^{n_i} = \begin{cases} \binom{k-1}{N_{pf}-n_i} \frac{1}{2^k} = \frac{(k-1)!}{(N_{pf}-n_i)!(k-1-(N_{pf}-n_i))!} \frac{1}{2^k} & \text{pour } N_{pf} - (n_i - 1) \leq k < N_{pf} - 1 \\ 0 & \text{pour } k < N_{pf} - (n_i - 1) \end{cases}. \quad (4.41)$$

Enfin, nous pouvons associer une probabilité de traverser la jonction lors du dernier détachement notée  $p_{N_{pf}-1}^{n_i}$  comme :

$$p_{N_{pf}-1}^{n_i} = 1 - \sum_{k=1}^{N_{pf}-2} (p_{l,k}^{n_i} + p_{r,k}^{n_i}). \quad (4.42)$$

À partir de ces probabilités [cf. Eqs. (4.40)-4.42], nous pouvons estimer le temps moyen de fracture, noté  $\langle \tau_f^{n_i} \rangle$ , pour un défaut positionné initialement sur le protofilament  $n_i$  [voir Eq. (4.43)], ainsi que la longueur de fracture associée, notée  $\langle L_f^{n_i} \rangle$  [voir Eq. (4.44)], à partir d'une moyenne pondérée sur toutes les trajectoires possibles.

$$\langle \tau_f^{n_i} \rangle = \sum_{k=1}^{N_{pf}-2} \tau_{f,k} (p_{l,k}^{n_i} + p_{r,k}^{n_i}) + \tau_{N_{pf}-1,f} p_{N_{pf}-1}^{n_i} \quad (4.43)$$

$$\langle L_f^{n_i} \rangle = \sum_{k=1}^{N_{pf}-2} L_{f,k} (p_{l,k}^{n_i} + p_{r,k}^{n_i}) + L_{N_{pf}-1,f} p_{N_{pf}-1}^{n_i} \quad (4.44)$$

Nous constatons que cette description fine (en vert sur la Figure 4.8) décrit très bien la dynamique de fracture observée avec le modèle kMC. La Figure 4.8 montre que les observables de fracture en fonction de la position initiale  $n_i$  du défaut respectent bien la symétrie du réseau, car le profil des observables est symétrique par rapport au protofilament 7 (celui qui est à l'opposé de la jonction). De plus, nous observons que plus la position initiale du défaut est proche de la jonction plus la longueur de fracture est grande, et par conséquent, plus le temps de fracture est petit. Cela s'explique par le fait que plus le défaut est proche de la jonction, plus le défaut la franchit tôt au cours de la fracture, ce qui aura pour conséquence de grandement augmenter la vitesse de propagation longitudinale du défaut. En effet, celle-ci est dominée par la constante de détachement  $k_{\text{long},s}$  (voir kymographe du bas de la Figure 4.5). De plus, le temps de détachement latéral est inversement proportionnel à la longueur du défaut (cf. Eq. 4.35), en conséquence plus la

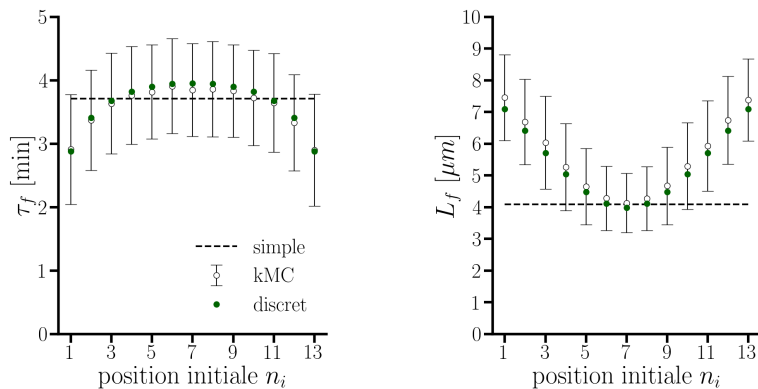


FIGURE 4.8 – Mesures moyennes des observables liées à la fracture en fonction de la position  $n_i$  du défaut initial. À gauche : temps de fracture, à droite : longueur de fracture. Chaque point est une moyenne de 1000 simulations kMC. Les constantes du réseau sont données dans les Tableaux 3.1-3.3.

longueur du défaut est grande et plus le temps de détachement latéral est petit.

En dernier lieu, il nous faut se rappeler que lors de la brisure d'un MT la position initiale du défaut est distribuée uniformément. Par conséquent, le temps de fracture moyen, noté  $\langle \tau_f \rangle$  sur l'ensemble des positions initiales et la longueur moyenne de fracture, notée  $\langle L_f \rangle$ , sont définis simplement comme la moyenne des observables en fonction de la position initiale  $n_i$  [cf. respectivement Eqs. (4.45) et (4.46)].

$$\langle \tau_f \rangle = \frac{1}{N_{pf}} \sum_{n_i=1}^{N_{pf}} \langle \tau_f^{n_i} \rangle \quad (4.45)$$

$$\langle L_f \rangle = \frac{1}{N_{pf}} \sum_{n_i=1}^{N_{pf}} \langle L_f^{n_i} \rangle \quad (4.46)$$

Méthode	$\langle \tau_f \rangle$ (min)	$\langle L_f \rangle$ ( $\mu\text{m}$ )
kMC	$3.6 \pm 0.3$	$5.6 \pm 1.1$
discrète	$3.6 \pm 0.3$	$5.4 \pm 1.1$
simple	3.7	4.1

TABLEAU 4.1 – Mesures des observables liées à la fracture obtenues à partir des différentes méthodes présentes dans la Figure 4.8. Sont présentés les moyennes et les écarts types. Les écarts types pour le modèle discret représentent les écarts types par rapport aux positions initiales.

Le tableau 4.1 synthétise les mesures obtenues pour le temps et la longueur typiques de fracture. Ici encore nous pouvons apprécier la justesse de l'approche discrète pour décrire la dynamique de fracture ; les intervalles de valeurs se chevauchent parfaitement. En ayant évalué qu'un MT se fracture, à partir d'un défaut initial, en  $3.6 \pm 0.3$  min et sur une longueur moyenne de  $5.6 \pm 1.1 \mu\text{m}$ , nous sommes en mesure de décrire l'influence des moteurs processifs sur ces observables.

### 4.2.2 Impact des moteurs sur la fracture

En ayant une estimation moyenne des observables de fracture pour un MT en absence de moteurs (voir Tableau 4.1), nous pouvons à présent nous intéresser l'impact d'un flux de moteurs sur la dynamique de fracture. Et ainsi, décrire sous quelles conditions un flux de moteurs processifs accélère (ou ralentit) la dynamique de fracture. Pour rappel, nous comparons l'impact de deux types de moteurs (kinésines-1 et dynéines de levure) caractérisés par la densité moyenne  $\rho_s$  de moteurs attachés sur le MT et la pénalité  $\Delta G_p$  (en  $k_B T$ ) qu'inflige le moteur à chacun de ces pas au dimère se situant sous la tête avant.

Lorsqu'un flux de moteurs processifs est en présence d'un obstacle, tel un dimère manquant sur le protofilament, alors la densité moyenne de moteurs au voisinage de l'obstacle est modifiée. En particulier, comme les moteurs se déplacent de manière asymétrique (toujours vers l'extrémité (+) pour les kinésines-1 et (-) pour les dynéines de levures), alors la modification de la densité n'est pas symétrique au voisinage du défaut. L'effet en amont du défaut, vis-à-vis de la marche des moteurs, est différent de celui en aval du défaut. De la même manière qu'il a été possible de décrire de manière effective l'impact des moteurs sur la constante de détachement pour des dimères sur un protofilament intact [cf. Eq. (4.4)], nous décrivons ici l'impact des moteurs au voisinage en amont (*upstream*) et en aval (*downstream*) du défaut au travers des couples  $(c_e^u, c_g^u)$  et  $(c_e^d, c_g^d)$ . En mesurant, à l'aide de simulations kMC, la densité moyenne de moteurs en chaque point d'un réseau 1D composé de  $N = 500$  sites, et avec un défaut au site  $x = N/2$ , nous obtenons un profil de densité moyen qui met en évidence l'impact du défaut sur le flux de moteurs (voir Figure 4.9).

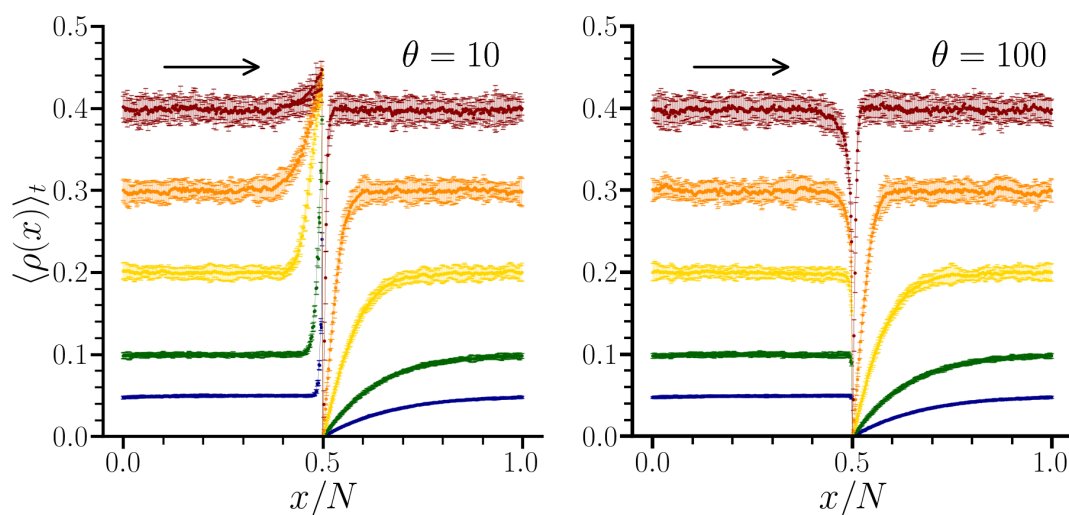


FIGURE 4.9 – Profils de densité pour un flux de moteurs vers les  $x$  croissants le long d'un protofilament avec un défaut à  $x = N/2$  avec  $N = 500$  dimères. À gauche, le paramètre  $\theta$  (voir texte) est fixé à 10 alors qu'à droite il est fixé à 100. Chaque point est une moyenne sur 10 simulations. La flèche noire indique la direction de marche des moteurs processifs.

Nous constatons deux observations : (i) la densité de moteurs en aval du défaut ( $x = N/2 + 1$ ) chute à 0; le flux est brisé, et (ii) la densité de moteurs en amont du défaut ( $x = N/2 - 1$ ) est dépendante du paramètre  $\theta$ . Pour rappel, ce paramètre est le facteur

de proportionalité entre la constante de détachement pour un moteur ayant une seule tête accrochée au réseau et celle pour un moteur ayant les deux têtes accrochées ( $k_-^E = \theta k_-$ ). Lorsque le coefficient  $\theta$  est de l'ordre de 10 un phénomène d'embouteillage est observé en amont de l'obstacle, alors que pour  $\theta = 100$  il y a, *a contrario*, un phénomène de déplétion. Comme nous avons fait le choix de considérer des moteurs qui ne traquent pas les extrémités du MT, cela signifie qu'un flux de moteurs ne forme pas d'embouteillage à l'extrémité d'un protofilament. Or un défaut peut être perçu comme une extrémité locale du protofilament. Par conséquent, pour le reste de notre étude nous fixons le coefficient  $\theta$  à 100.

Il est également possible, à partir de simulations similaires, de mesurer le couple  $(c_e^u, c_g^u)$  correspondant respectivement aux proportions de temps passé dans l'état excité / non excité pour le dimère en amont du défaut dans les conditions où il peut se détacher du réseau – c'est-à-dire en absence de tête avant de moteur. Ces mesures ont été effectuées en fonction de la densité moyenne  $\rho_s$  de moteurs et du types de moteurs (voir Figure 4.10). De plus nous considérons que, du fait que le défaut brise complètement le flux de moteurs, l'impact des moteurs sur le dimère en aval du défaut est négligeable ( $c_e^d = 0, c_g^d = 1$ ).

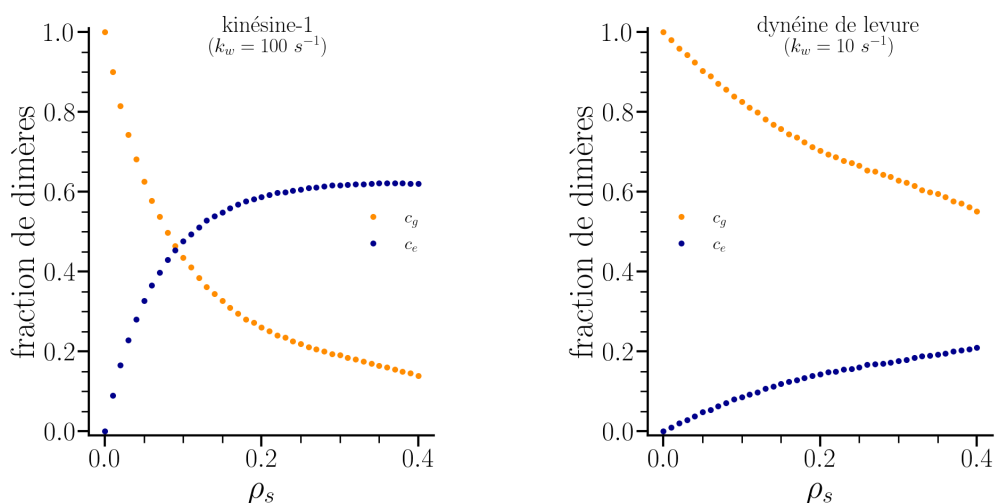


FIGURE 4.10 – Fraction du temps passé dans l'état excité (en bleu) et non excité (en orange) pour le dimère en amont du défaut, et vérifiant les conditions de détachement (absence de tête avant du moteur) pour deux types de moteurs (à gauche kinésines-1 et dynéines de levures à droite).

À travers les simulations kMC nous observons que plus la densité de moteurs augmente, plus le dimère en amont du défaut passe du temps dans l'état excité. L'effet n'est plus non-monotone, contrairement à ce qui avait été constaté en absence de défaut (voir Figure 4.2). Néanmoins ici encore, en présence de kinésines-1, le dimère en amont du défaut passe en moyenne plus de temps dans l'état excité comparé au cas en présence de dynéines de levure à densité équivalente. De plus il existe, pour les kinésines-1, une densité au dessus de laquelle le dimère passe plus de temps, en proportion, dans l'état excité que non excité ( $\rho_s \simeq 0.09$ ) alors que ce n'est pas le cas pour les dynéines de levure.

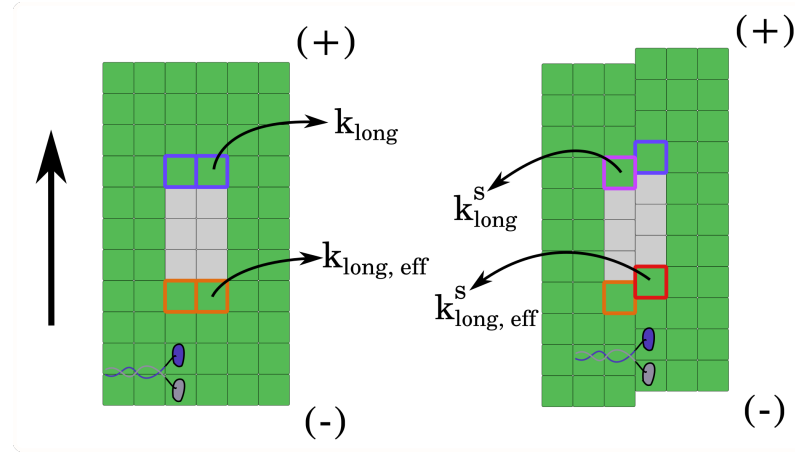


FIGURE 4.11 – Schéma illustrant la structure d'un défaut lorsqu'il se propage à l'écart de la jonction (à gauche) et lorsqu'il se propage au niveau de la jonction du réseau. Les sites avec un rebord violet et rose ne sont pas impactés par le flux de moteurs, alors que les constantes de détachement pour dimères avec le rebord orange et rouge sont modifiées par la présence des moteurs.

À partir de nos mesures kMC de  $(c_e^u, c_g^u)$ , ( $c_e^d \approx 0, c_g^d \approx 1$ ) et en reprenant Eq. (4.4), nous pouvons maintenant étudier l'impact de moteurs sur la brisure du microtubule (voir Fig. 4.11). À cet effet, nous définissons une constante effective de détachement latéral pour tous les dimères adjacents au défaut qui sont exposés à un flux moteur non perturbé

$$k_{\text{lat,eff}} = \left( c_e e^{\beta \Delta G_p} + c_g \right) k_{\text{off}}^* e^{-\beta (\Delta G_{\text{lat}}^D + 2\Delta G_{\text{long}}^D - \Delta G^*)}. \quad (4.47)$$

Pour les dimères immédiatement en amont du défaut, la constante de détachement longitudinal est donné par

$$k_{\text{long,eff}}^u = \left( c_e^u e^{\beta \Delta G_p} + c_g^u \right) k_{\text{off}}^* e^{-\beta (2\Delta G_{\text{lat}}^D + \Delta G_{\text{long}}^D - \Delta G^*)} \quad (4.48)$$

et pour les dimères immédiatement en aval du défaut, la constante de détachement longitudinal n'est pas affecté par les moteurs

$$k_{\text{long,eff}}^d = k_{\text{off}}^* e^{-\beta (2\Delta G_{\text{lat}}^D + \Delta G_{\text{long}}^D - \Delta G^*)}. \quad (4.49)$$

La Figure 4.12 montre des kymographes représentatifs de l'impact de la présence de moteurs processifs avec une pénalité fixée arbitrairement à  $3 k_B T$ . La différence majeure, en présence de moteurs, est l'asymétrie de la fracture par rapport à la position du défaut initial. Cette asymétrie provient du fait que les deux bords de la fracture ne sont pas impactés par les moteurs de la même manière ; seul le bord en amont est stimulé par le flux de moteurs, alors que le bord en aval ne l'est pas du tout. Cela est cohérent avec la brisure du flux de moteurs que nous avons observé sur les profils de densité en présence d'un défaut (cf. Figure 4.9). Nous constatons que le front impacté par les moteurs a une vitesse de propagation plus élevée que celle du front non impacté par les moteurs (en aval), et cela même pour de faibles densités (voir kymographe du bas de la Figure 4.12 où un MT se fracture en présence de kinésines-1 avec une densité moyenne de 0.01). De plus, il semblerait que le temps de fracture soit réduit en présence de moteurs (voir l'agrandissement des échelles de temps pour les kymographes au centre et en bas de la Figure 4.12).



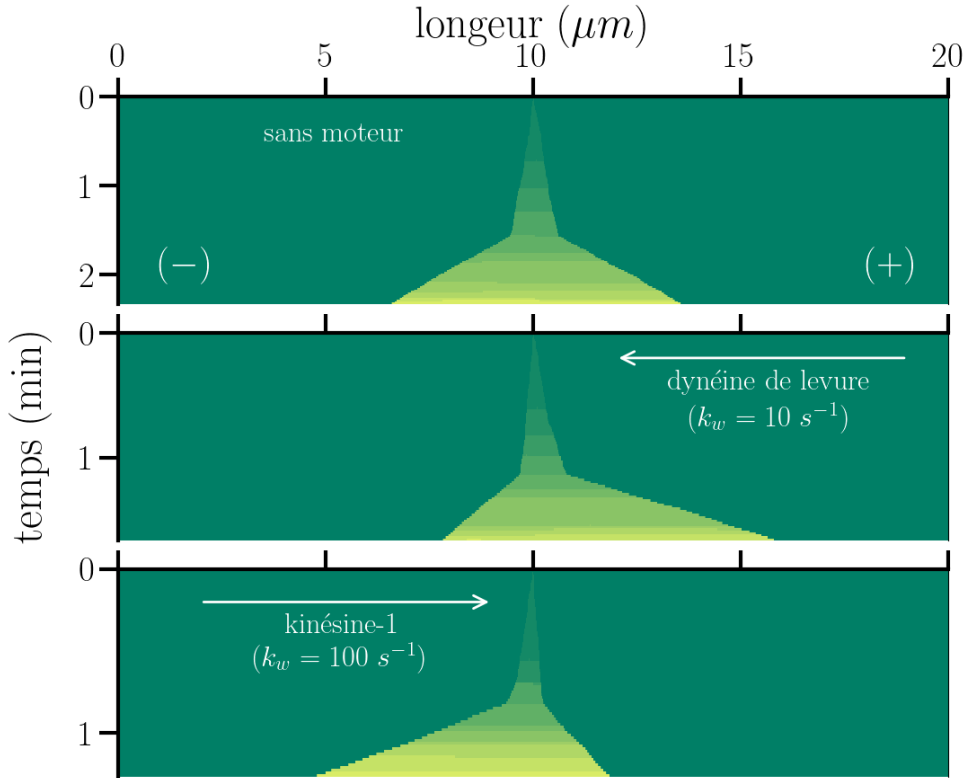


FIGURE 4.12 – Comparaison des kymographes en absence de moteur (en haut), et en présence d'une densité  $\rho_s = 0.1$  de dynéines de levure (au centre) ou d'une densité  $\rho_s = 0.01$  de kinésines-1 (en bas). La pénalité  $\Delta G_p$  a été fixée arbitrairement à  $3 k_B T$ . Le défaut initial est positionné sur le protofilament n°3. Le bord supérieur de chaque kymographe représente le MT à l'instant  $t = 0$ .

La Figure 4.13 montre le temps de fracture et la longueur longitudinale du défaut lors de la fracture pour les moteurs de type kinésine (à gauche) et dynéine (à droite) obtenus par simulation kMC effectif. Nous présentons également les résultats du modèle simple [voir Eqs (4.17) et (4.18)] où les constantes de détachement ont été modifiées pour inclure l'effet de moteurs comme :

$$k_{\text{long}} \rightarrow \frac{1}{2} \left( k_{\text{long,eff}}^u + k_{\text{long,eff}}^d \right) \quad (4.50)$$

$$k_{\text{lat}} \rightarrow k_{\text{lat,eff}} \quad (4.51)$$

avec les constantes  $k_{\text{long,eff}}^u$ ,  $k_{\text{long,eff}}^d$ , et  $k_{\text{lat,eff}}$  définies par les Eqs. (4.47)-(4.49).

Lorsque nous comparons ces estimations numériques aux mesures numériques obtenues le modèle MoTub-effectif, nous constatons que cette description simple décrit de manière satisfaisante le temps de brisure (voir Figure 4.13). Ces deux méthodes s'accordent sur la présence d'un effet non-monotone en fonction de la densité moyenne  $\rho_s$  de moteur. La cause d'un tel comportement est identique à celle expliquée pour le temps moyen  $\langle \tau_d \rangle$  de création de défaut en présence de moteurs processifs : cela provient de la compétition entre l'interaction stabilisatrice et de celle déstabilisatrice des moteurs. En effet, l'impact

des moteurs est entièrement stabilisateur ( $\rho_s \nearrow \Rightarrow \langle \tau_f \rangle \nearrow$ ) lorsque l'interaction déstabilisatrice n'est pas prise en compte ( $\Delta G_p = 0 k_B T$ ). Toutefois, ce caractère non-monotone est négligeable pour la longueur moyenne de fracture  $\langle L_f \rangle$ , qui semble augmenter en fonction de la densité moyenne  $\rho_s$  des moteurs. Cependant, le modèle simple sous-estime la longueur du défaut à la rupture, puisque la présence de la jonction n'a pas été prise en compte. De plus, pour cette observable l'intensité de la pénalité  $\Delta G_p$  n'impacte pas de manière significative les résultats.

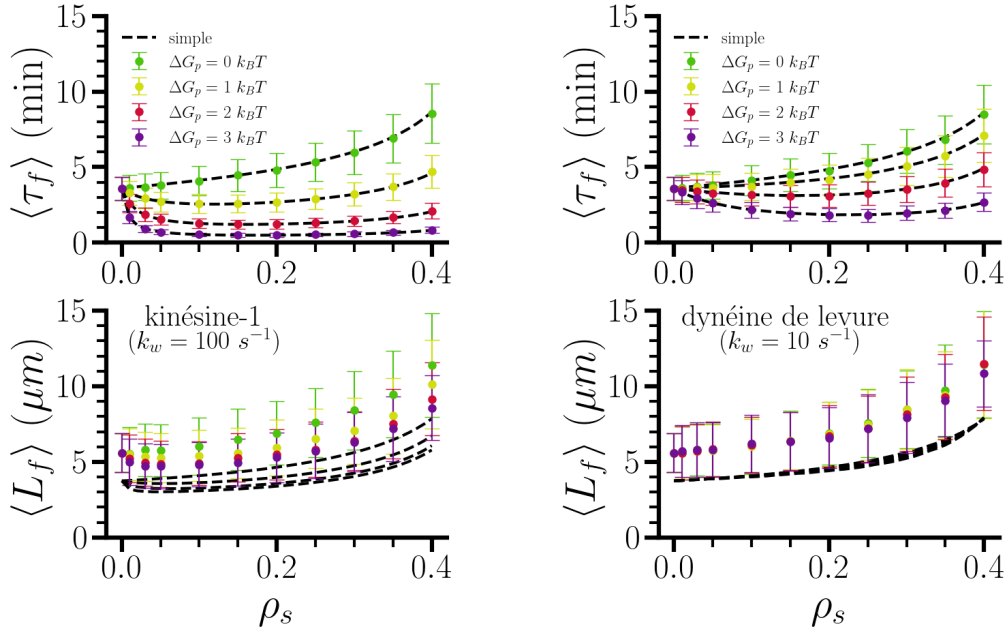


FIGURE 4.13 – Observables moyennes liées à la fracture pour un microtubule de  $20\mu\text{m}$  en présence de moteurs processifs : temps moyen de fracture  $\langle \tau_f \rangle$  (en haut) et longueur moyenne de fracture  $\langle L_f \rangle$  (en bas). Ces quantités sont exprimées pour différentes valeurs de la pénalité  $\Delta G_p$  suite à la marche des moteurs, et pour deux types de moteurs (kinésines-1 à gauche, et dynéines de levure à droite). Chaque mesure est obtenue avec le modèle MoTub-effectif en moyennant  $10^3$  simulations. Pour chaque simulation kMC, la position du défaut initial  $n_i$  est choisie aléatoirement, et le défaut est positionné à mi-longueur du MT. Les courbes en pointillés indiquent les estimations obtenues avec le raisonnement simple [Eqs. (4.12) et (4.13)] en considérant des constantes de détachements effectives [Eqs. (4.47)-(4.49)].

À l'inverse, la pénalité  $\Delta G_p$  impacte considérablement le temps de fracture. À densité égale, le temps de fracture diminue fortement lorsque la pénalité augmente. Nous remarquons ici encore qu'à densité moyenne et pénalité équivalentes, l'impact des kinésines-1 est plus prononcé que celui des dynéines de levures vis-à-vis du temps de fracture ; mais similaire vis-à-vis de la longueur de fracture. Par exemple, le temps moyen de fracture en présence de kinésines-1 avec une densité de 0.01 pour une pénalité de  $3 k_B T$  est de 1.68 minutes alors qu'en présence de dynéines de levures, dans les mêmes conditions, le temps de fracture est de 3.65 minutes. Soit une réduction de  $\simeq 53\%$  pour les premières contre  $\simeq 9\%$  pour le second cas, si l'on compare au temps de fracture moyen en absence de moteur.

### 4.2.3 Temps de survie d'un microtubule

À partir du temps moyen  $\langle \tau_d \rangle$  de création du premier défaut et du temps moyen  $\langle \tau_f \rangle$  de fracture en présence de moteurs, nous pouvons construire une observable qui fasse plus de sens d'un point de vue expérimental, à savoir une courbe de survie pour un MT (voir Figure 3H de Triclin *et al.* [7]). La courbe de survie mesure le pourcentage moyen de MTs non détruits au cours du temps. Nous considérons que la brisure d'un MT se décompose en une première phase au cours de laquelle un premier défaut se forme, d'une durée moyenne  $\langle \tau_d \rangle$ , puis d'une seconde phase pendant laquelle le réseau se fracture, d'une durée moyenne  $\langle \tau_f \rangle$ . Le temps moyen de brisure d'un MT, notée  $\langle \tau_b \rangle$  est donc simplement la somme de la durée de ces deux phases :

$$\langle \tau_b \rangle = \langle \tau_d \rangle + \langle \tau_f \rangle \quad (4.52)$$

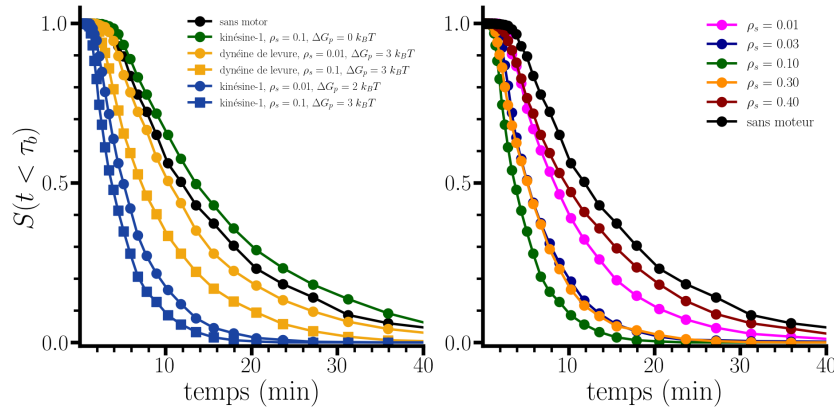


FIGURE 4.14 – Distribution cummulative, appelée courbe de survie  $S(t < \tau_b)$ , des MTs de  $10 \mu\text{m}$  non brisés à l'instant  $t$ . À gauche : plusieurs courbes de survie pour différentes conditions précisées dans la légende. À droite : chaque courbe correspond à la courbe de survie d'un réseau en présence de kinésines-1 pour différentes valeurs de densité moyenne  $\rho_s$  avec une pénalité  $\Delta G_p$  de  $2 k_B T$ .

Pour obtenir une courbe de survie, nous commençons par simuler  $10^3$  réseaux pour lesquels nous mesurons indépendamment  $\tau_d$  et  $\tau_f$ . Puis à partir de la distribution des temps de brisures, nous construisons une distribution cumulative, notée  $S(\tau_b < t)$  qui indique la proportion de MTs qui ne sont pas encore brisés à l'instant  $t$ . Sur la gauche de la Figure 4.14, nous retrouvons le résultat qu'à densité et pénalité équivalentes, l'impact d'un flux de moteurs similaires aux kinésines-1 est beaucoup plus déstabilisant que celui de moteurs similaires aux dynéines de levure (voir les courbes pour  $\rho_s = 0.1$  et  $\Delta G_p = 3 k_B T$ ). Ce résultat pourrait être vérifié expérimentalement en faisant une expérience similaire à celle effectuée par Triclin *et al.* [7] mais pour laquelle la comparaison serait faite entre les courbes de survie des MTs pour de deux moteurs dont les vitesses sont différentes. Dans une telle expérience il faut également s'assurer que les concentrations respectives soient ajustées afin d'obtenir une densité de moteurs équivalente sur le réseau pour les deux types de moteurs. À ce jour aucune publication sur une telle expérience n'a été faite. Le modèle MoTub fait donc comme prédiction qu'à processivité constante, un flux de moteurs rapide accélère d'avantage la dynamique de brisure qu'un flux de moteurs plus lents.

Le modèle MoTub permet également de comparer les courbes de survie obtenues pour un même moteur mais pour différentes densités. Ici encore, nous retrouvons l'effet non-monotone d'un flux de moteurs à mesure que la densité augmente (voir la Figure 4.14 de droite). Par exemple, un flux de kinésines-1 pour une densité moyenne de 0.03 réduira le temps de brisure du réseau autant que pour une densité moyenne de 0.3. De plus, nous observons que la déstabilisation est maximale pour une densité moyenne  $\rho_s$  de 0.1 pour un flux de kinésines-1. Ainsi, le modèle retrouve bien le résultat de Triclin *et al.* (voir Figure 3H de Triclin *et al.* [7]), à savoir une courbe de survie qui diminue plus rapidement que la concentration de dynéines (ou la densité) n'augmente. Compte tenu de l'effet non-monotone observé, ce modèle numérique semble apporter une éventuelle explication pour décrire l'impact d'un flux de kinésines klp-2 sur le temps de survie d'un microtubule (voir Figure 2F de Triclin *et al.* [7]). En effet, pour deux concentrations différentes ( $c = 100 \mu\text{M}$  et  $c = 1 \text{nM}$ ) l'impact des moteurs sur le temps de survie était comparable, alors qu'un effet plus déstabilisateur a été mesuré pour une concentration intermédiaire ( $c = 500 \text{nM}$ ).

Au regard de ces dernières sections, nous venons d'apprendre que le modèle MoTub est en mesure de simuler la dynamique de brisure d'un microtubule stabilisé en ses extrémités et en absence de tubuline-GTP libre en solution. Pour cela, nous avons décomposé cette dynamique en une première étape qui décrit la création d'un premier défaut au sein du réseau, et en une seconde qui détaille le processus de fracture à partir d'un défaut initial. Une première découverte a été de mettre en lumière le rôle prépondérant de la jonction lors de la fracture ; lorsque le défaut traverse cette structure sa propagation longitudinale s'en retrouve accélérée. Ainsi, plus le défaut initial est positionné à proximité de la jonction plus la longueur de fracture est grande, et le temps de fracture petit. De plus, nous avons pu à l'aide d'équations maîtresses décrire fidèlement l'impact de la jonction sur ces deux observables. Cette étude préliminaire nous a permis d'évaluer l'influence d'un flux de moteurs sur le temps de brisure d'un microtubule. Qualitativement, le temps de création de défaut et le temps de fracture sont impactés de manière non-monotone en fonction de la densité de moteurs. Toutefois pour de faibles densités, le flux de moteurs déstabilise fortement le réseau du microtubule. Nous avons vu également qu'à processivité équivalente, la vitesse des moteurs a une influence sur l'intégrité du microtubule. Par exemple, à densité et pénalité équivalentes, la marche des kinésines-1 accélère plus fortement la dynamique de brisure que celle des dynéines de levure. Le modèle MoTub nous permet également de vérifier qu'un tel effet déstabilisant peut être observé pour des pénalités  $\Delta G_p \geq 1 k_B T$  pour les kinésines-1 ( $\Delta G_p > 2 k_B T$  pour les dynéines de levure), ce qui représente moins de 10% de l'énergie libérée lors de l'hydrolyse de l'ATP. Par conséquent, une interaction localisée (en-dessous de la tête avant du moteur) et transitoire ( $\tau_r = 0.1 \text{s}$ ) entre le moteur et le réseau du microtubule semble être un mécanisme crédible pour décrire l'impact déstabilisant des moteurs sur les microtubules stabilisés aux extrémités en absence de tubuline-GTP libre en solution.

### 4.3 Renouvellement de la tubuline

Passons à présent au second cas de figure possible lorsque la configuration initiale est un réseau rempli de dimères-GDP et d'un défaut. À présent l'attachement de tubuline-GTP est autorisé ( $k_{\text{on}c} > 0$ ), ce qui est équivalent aux conditions expérimentales *in vitro* lorsque la concentration de tubuline-GTP libre en solution est non nulle [7], mais également aux conditions physiologiques [8,9].

#### 4.3.1 Dynamique de remodelage et réaction d'hydrolyse

Initialement avec le modèle MoTub, lorsque l'attachement de tubuline est permis le défaut initial se répare avec un temps caractéristique  $(k_{\text{on}c})^{-1}$  soit environ 50 ms pour  $k_{\text{on}c} = 20 \text{ s}^{-1}$ . Or le temps caractéristique de détachement des dimères adjacents (dans la direction longitudinale) au défaut est d'environ  $k_{\text{long}}^{-1} \simeq 1.7 \text{ s}$ . Ainsi dans ces conditions, un défaut au sein du réseau n'est que de très courte durée. Nous décidons alors d'écarter ce cas trivial de réparation en ajoutant au modèle MoTub une hypothèse selon laquelle un dimère de tubuline-GTP ne peut pas incorporer un défaut étalé sur un unique site lorsque celui-ci est entouré de quatre dimères de tubuline-GDP (voir Figure 4.15). Cela revient à faire l'hypothèse de l'existence d'une contrainte stérique suffisamment forte pour les dimères-GTP au sein d'un réseau de tubulines-GDP. Comme nous restreignons la réaction d'attachement, nous devons également restreindre la réaction de détachement afin de respecter l'équilibre des bilans chimiques.

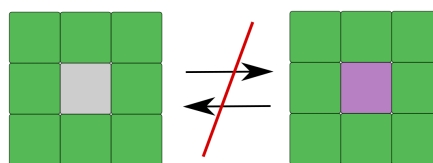


FIGURE 4.15 – Schéma illustrant l'hypothèse d'impossibilité de réparation complète lorsqu'un défaut (site en gris) possède un voisinage uniquement composé de dimères-GDP (sites en vert). Le site en rose représente un dimère de tubuline-GTP.

Dans ce cas de figure, un défaut se propage, de par la forte anisotropie du réseau, longitudinalement sur un second site (étape 1 de la Figure 4.16). Puis un de ces deux sites est incorporé par un dimère-GTP, car dans cette configuration la réaction d'attachement est autorisée (étape 2a ou 2b). Ainsi en présence de tubuline-GTP libre, la dynamique de renouvellement de la tubuline le long d'un MT s'effectue au travers d'une alternance de réactions attachement/détachement qui amène le défaut à s'étaler et à se contracter longitudinalement. Sachant que la constante d'attachement  $k_{\text{on}c} = 20 \text{ s}^{-1}$  est bien plus élevée que la constante  $k_{\text{long}}$  de détachement longitudinal ( $k_{\text{on}c} \gg k_{\text{long}}$ ), nous anticipons que le défaut occupe principalement un unique site. En effet, dans ces conditions, nous avons mesuré que le défaut était 98.5% du temps sur un seul site, contre 1.43% sur 2 sites (les 0.02% restants correspondent à un défaut occupant au moins 3 sites).. Nous décrivons donc la dynamique du défaut comme celle d'un unique dimère manquant, diffusant de manière stochastique le long d'un protofilament.

Bien entendu ce défaut peut également s'étaler dans la direction latérale, mais, comme nous l'avons vu dans la section 4.2.1, la constante de détachement latéral est négligeable

comparée à la constante de détachement longitudinal ( $k_{\text{long}}/k_{\text{lat}} \simeq 1800$ ). Nous nous focalisons ici uniquement sur cette dynamique le long d'un protofilament. Néanmoins, cet aspect est traité au cours de la section 5.1 afin de décrire un potentiel mécanisme de réparation du réseau d'un MT.

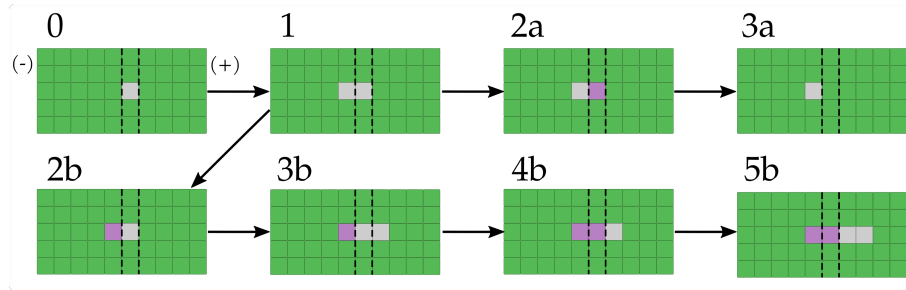


FIGURE 4.16 – Schéma des réactions possibles lors du renouvellement de la tubuline le long d'un MT. Soit (0) un réseau avec un défaut. Le défaut s'étalera sur un dimère adjacent dans la direction longitudinale (1). Avec une constante d'attachement bien plus grande que celle de détachement longitudinal ( $k_{\text{on}} > k_{\text{long}}$ ), un dimère de tubuline-GTP va rapidement s'attacher à l'extrémité (+) du réseau (2a) ou l'extrémité (-) (2b). L'enchaînement de réactions le plus probable pour ces deux cas est ensuite décrit dans le texte. Le code couleur est identique à la Figure 4.15.

Lorsque nous décomposons les enchaînements de réactions possibles lors du renouvellement de la tubuline (voir Figure 4.16), nous remarquons que l'effet stabilisateur entre les tubulines-GTP joue un rôle dans la dynamique du défaut. En effet, bien que l'attachement d'une tubuline-GTP soit équiprobable dans le choix de sa position relative au défaut (étape 2a ou 2b), l'enchaînement de réaction n'est ensuite plus symétrique car la réaction d'hydrolyse ne l'est pas. Pour rappel, un dimère-GTP opère un changement de conformation (dimère-GTP  $\rightarrow$  dimère-GDP) à condition qu'un dimère de tubuline soit présent dans la direction (+). Or cela est le cas pour (2a) mais pas pour (2b). Par conséquent, si la constante  $k_h$  d'hydrolyse est plus grande que celle de détachement longitudinal, alors il est fort probable que le dimère-GTP change de conformation (3a) plus rapidement que le détachement d'un dimère. Par contre, lorsque le dimère-GTP s'attache à l'extrémité (-) du défaut (2b), il y a une chance sur deux que le prochain dimère qui se détache soit celui dans la direction (+) (3b). Dans ce cas de figure, il y a encore une chance sur deux pour que le prochain dimère-GTP incorporant le réseau soit voisin du premier dimère-GTP (4b). Or dans une telle configuration, la constante de détachement longitudinal n'est plus identique entre le front (-) et (+) du défaut, car le front (-) bénéficie d'une interaction stabilisatrice suite à la présence des deux dimères-GTP. Dès lors, le défaut a tendance à se déplacer vers (+) tant que cette interaction stabilisatrice persiste (5b).

La présence fortuite d'une interaction stabilisatrice sur le front (-) du défaut amène, sur une échelle de temps de l'ordre de la dizaine de minutes, à une dérive du défaut vers l'extrémité (+) du réseau (voir graphique du haut sur la Figure 4.17). En reprenant la constante d'hydrolyse fixée dans le Tableau 3.1 ( $k_h = 0.6 \text{ s}^{-1}$ ), nous obtenons que plus de 90% des défauts ont une position relative positive après 30 minutes, alors que nous retombons à 50% lorsque la constante est fixée à  $100 \text{ s}^{-1}$  (voir graphique du bas de la Figure 4.17). Ce qui semble cohérent car dans le cas limite où la réaction d'hydrolyse est instantanée par rapport à la réaction de détachement ( $k_h \gg k_{\text{long}}$ ), la dynamique du défaut

devrait être similaire à une marche aléatoire symétrique.

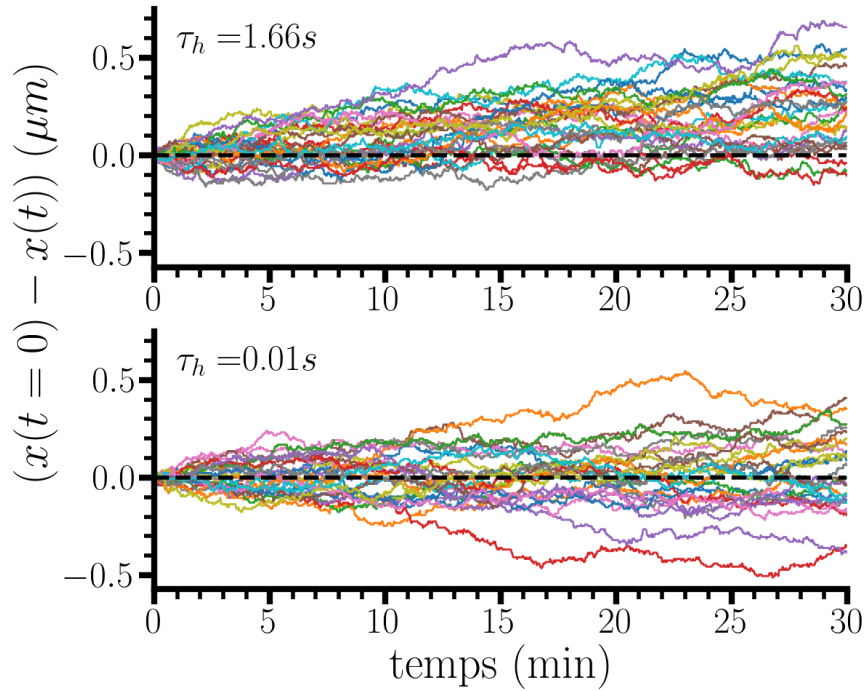


FIGURE 4.17 – Superposition de 30 trajectoires d'un défaut en présence de tubuline-GTP libre ( $k_{onc} = 20 \text{ s}^{-1}$ ) pour une constante d'hydrolyse  $k_h = 0.6 \text{ s}^{-1}$  en haut et de  $k_h = 100 \text{ s}^{-1}$  en bas.

Ainsi, si nous souhaitons décrire plus précisément la dynamique du défaut en présence de tubuline-GTP libre, il nous faut définir des observables pertinentes à l'aide d'une analyse statistique des trajectoires du défaut. Tout d'abord, commençons par le déplacement quadratique moyen (ou MSD pour *Mean Square Displacement*), défini comme la moyenne du carré de la position relative [voir Eq. (4.53)].

$$\langle \Delta x^2 \rangle = \frac{1}{N} \sum_{i=0}^N (x_i(t) - x_i(t=0))^2 \quad (4.53)$$

Avec cette quantité, nous pouvons facilement catégoriser le type de marche aléatoire auquel la dynamique du défaut est analogue. De fait, le déplacement quadratique moyen mesuré avec les simulations kMC peut être ajusté avec une loi de puissance [voir Eq. (4.54)], nous donnant alors une estimation de l'exposant  $\alpha$ , et par conséquent une information sur le type de transport (voir Tableau 4.2).

$$\langle \Delta x^2 \rangle = K_\alpha t^\alpha \quad (4.54)$$

Sur le graphique de gauche de la Figure 4.18, nous constatons que le déplacement quadratique moyen pour les trajectoires du défaut contient deux régimes, un sur une échelle de temps court, qui s'apparente à une simple diffusion ( $\langle \Delta x^2 \rangle \propto t$ ), et un second régime sur une échelle de temps long ( $t > 5 \text{ min}$ ). De plus, la valeur de l'exposant  $\alpha$  varie en fonction du temps caractéristique  $\tau_h$  de la réaction d'hydrolyse (voir le graphique au centre de la Figure 4.18).

Comme attendu, lorsque la réaction d'hydrolyse est si rapide qu'elle en devient négligeable ( $\tau_h \rightarrow 0s$ ), la marche du défaut est bien symétrique même pour les temps longs ( $\alpha \simeq 1$ ). Par contre, lorsque la réaction d'hydrolyse est plus lente, c'est-à-dire avec une vitesse de réaction de l'ordre de celle du détachement longitudinal ( $k_h \sim k_{\text{long}}$ ) alors la marche n'est plus symétrique et l'exposant  $\alpha$  augmente, le déplacement est dit "super-diffusif" (voir Tableau 4.2). En particulier, pour la valeur choisie pour calibrer le modèle MoTub ( $\tau_h = 1.6s$ ), nous obtenons  $\alpha \simeq 1.47$ .

$\alpha$	Type de transport
$0 < \alpha < 1$	sub-diffusion
$\alpha = 1$	diffusion
$\alpha > 1$	super-diffusion
$\alpha = 2$	ballistique

TABLEAU 4.2 – La valeur de la puissance  $\alpha$  dans l'Eq. (4.54) donne une information sur le type de transport de la particule.

Une troisième observable étudiée est la longueur de recouvrement, notée  $L_r(T)$ , qui correspond à la longueur sur laquelle il y a eu un échange de dimères pendant un intervalle de temps T. Une telle observable est proche de la longueur d'incorporation qui est mesurée *in vitro* lorsque la tubuline-GTP libre est marquée par des fluorophores (voir Figure 5f de Triclin *et al.* [7]). Pour obtenir une estimation de  $L_r$  il suffit de sommer la valeur absolue de la position relative minimale et maximale d'une trajectoire. Nous observons une légère augmentation de  $L_r$  lorsque  $\tau_h$  augmente, bien que l'écart-type soit du même ordre de grandeur que la moyenne. En particulier, pour  $\tau_h = 1.6s$  la longueur de recouvrement après 15 minutes en présence de tubulines-GTP est d'environ  $0.25 \pm 0.09 \mu m$  (voir le graphique à droite de la Figure 4.18).

Nous venons définir les observables nécessaires pour décrire la dynamique de renouvellement de la tubuline à partir d'un défaut initial. De plus, nous avons obtenu une estimation de ces quantités en fonction du temps caractéristique de la réaction d'hydrolyse. Ayant effectué cette étape préliminaire, nous sommes à présent en mesure de décrire l'impact d'un flux de moteurs processifs sur cette dynamique.

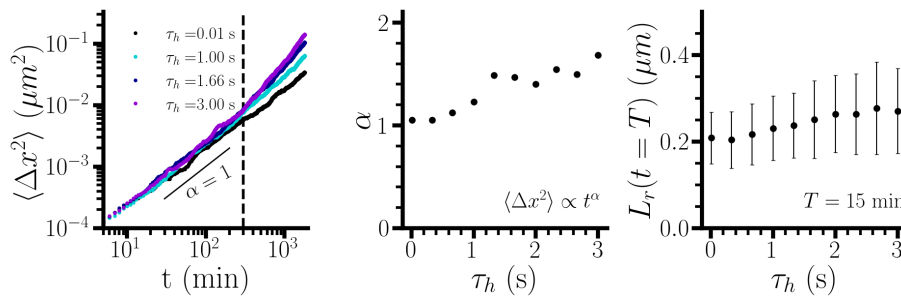


FIGURE 4.18 – Observables liées à la dynamique de renouvellement pour différentes valeurs du temps caractéristique d'hydrolyse  $\tau_h$  : le déplacement quadratique moyen  $\langle \Delta x^2 \rangle$  (à gauche), l'exposant  $\alpha$  (voir Eq. 4.54) et la longueur  $L_c$  de recouvrement (respectivement au centre et à droite). La statistique a été effectuée sur 300 réseaux de  $10 \mu m$  de long avec un défaut initial à la mi-longueur et à l'opposé du seam.



### 4.3.2 Impact des moteurs sur la dynamique de remodelage

À présent, considérons un flux de moteurs processifs avec une densité moyenne  $\rho_s$  présent le long du réseau. À chaque pas, le dimère sous la tête avant s'excite. Cet état d'excitation, persistant pendant  $\tau_r = 0.1 s$  en moyenne, induit une pénalité, notée  $\Delta G_p$ , de quelques  $k_B T$  dans les liaisons avec son voisinage. Seuls les moteurs présents sur le même protofilament que le défaut initial impactent la dynamique de renouvellement de la tubuline. Le modèle MoTub-effectif permet de simuler cette interaction ainsi que cette dynamique sur plusieurs dizaines de minutes. C'est également envisageable de le simuler avec le modèle MoTub complet, mais le temps de simulation serait de plus d'une dizaine de jours par simulation (voir Figure 3.7). Ici encore, nous faisons l'hypothèse que la mise à l'équilibre des états de dimères excités/non excités est rapide par rapport à la dynamique du défaut.

En comparant les kymographes de la dynamique d'un défaut le long d'un réseau (voir Figure 4.19 ci-dessous), nous observons que la présence de moteurs accélère considérablement la propagation du défaut le long du protofilament. De plus, la direction de propagation est opposée à la directionnalité des moteurs considérés ; pour des kinésines-1 qui se déplacent vers l'extrémité (+), le défaut se déplace vers l'extrémité (-) (cf. kymographe au centre de la Figure 4.19), et inversement, en présence de dynéines de levure qui se déplacent vers l'extrémité (-) (cf. kymographe en bas de la Figure 4.19).

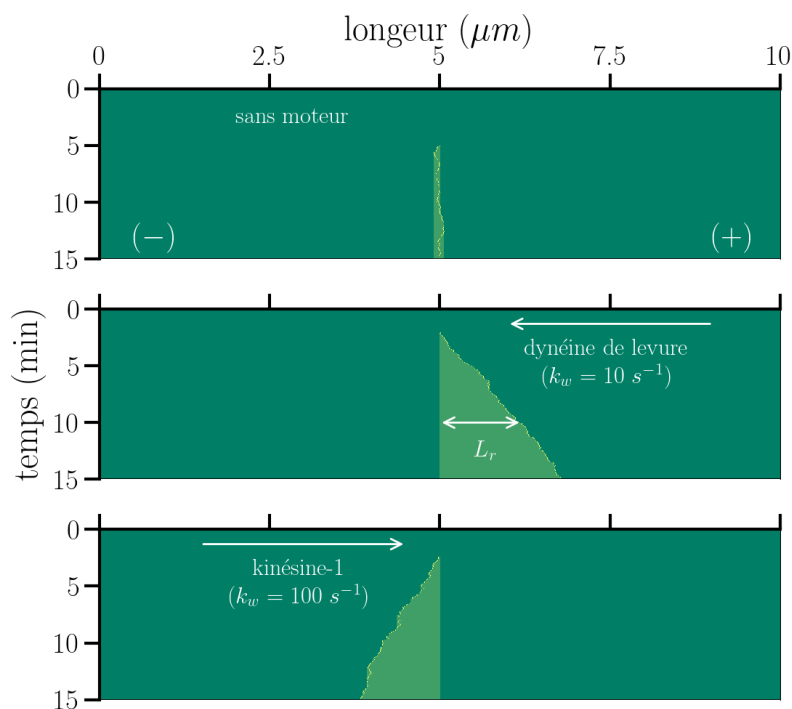


FIGURE 4.19 – Série de kymographes pour illustrer le renouvellement de la tubuline le long d'un MT au cours du temps dans différentes conditions : en absence de moteur (en haut), en présence d'une densité de 0.1 de dynéines de levure (au centre) et d'une densité de 0.01 de kinésines-1 (en bas). La pénalité  $\Delta G_p$  est fixée à  $3 k_B T$ . La ligne jaune est la position du défaut alors que la zone ombrée représente la longueur  $L_r(t)$  de recouvrement au cours du temps.

En effectuant une statistique sur les trajectoires du défaut en présence de moteurs, l'accélération de la propagation longitudinale et la directionnalité de la dynamique du défaut sont d'autant plus évidentes (voir à gauche de la Figure 4.20). Comme pour la création de défaut et la propagation de la fracture, à densité et pénalité équivalentes, un flux de kinésines a un impact plus prononcé sur la dynamique du défaut qu'un flux de dynéines de levure. Par exemple, il faut un facteur dix entre la densité de dynéines de levure et celle de kinésines pour obtenir un déplacement quadratique moyen du même ordre de grandeur (voir courbes en orange pour les dynéines avec  $\rho_s = 0.1$  et en bleu foncé pour les kinésines avec  $\rho_s = 0.01$  sur la Figure 4.20).

La présence des moteurs lors du renouvellement de la tubuline modifie radicalement le type de transport du défaut le long du protofilament. De fait, le transport est à présent balistique ( $\langle \Delta x^2 \rangle \propto t^2$  ou  $\alpha = 2$ ) sur les échelles de temps long et court. Ce n'est plus l'effet stabilisateur de la part des tubulines-GTP qui domine la dynamique du défaut, mais bien la marche des moteurs. Lors de leur déplacement, les moteurs interagissent uniquement avec un des deux fronts du défaut (front  $(-)$  pour les kinésines-1 et  $(+)$  pour les dynéines de levure) augmente ainsi considérablement la constante de détachement longitudinal lorsque la pénalité est non nulle ( $\Delta G_p \neq 0 k_B T$ ). Cette asymétrie dans les constantes de détachement pour les dimères au voisinage du défaut amène majoritairement le dimère en amont du défaut à se détacher plus rapidement que celui en aval du défaut. *A contrario*, lorsque  $\Delta G_p = 0 k_B T$ , la dynamique du défaut est très peu impactée par la présence des moteurs le long du réseau. En effet, les déplacements quadratiques moyens du défaut divergent seulement sur les longues échelles de temps ( $t > 3$  min).

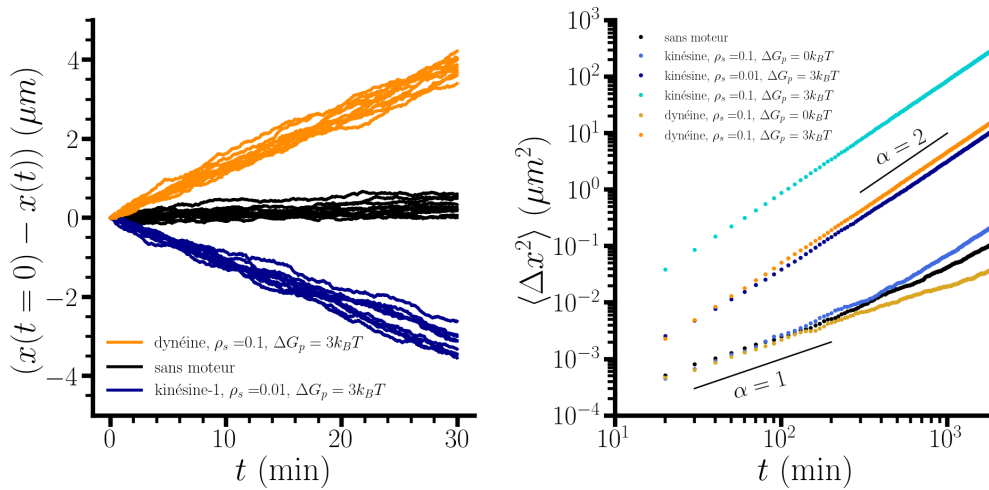


FIGURE 4.20 – Impact d'un flux de moteurs sur la dynamique du défaut lors du renouvellement de la tubuline le long d'un MT.

À gauche : 10 trajectoires du défaut au cours du temps en présence de tubuline-GTP libre ( $k_{\text{on}} = 20 \text{ s}^{-1}$ ) en absence de moteurs (en noir), en présence d'une densité moyenne de 0.01 de kinésines-1 (en bleu) et en présence d'une densité moyenne de 0.1 de dynéines de levure (en orange). La pénalité  $\Delta G_p$  est fixée arbitrairement à  $3 k_B T$ .

À droite : déplacement quadratique moyen  $\langle \Delta x^2 \rangle$  au cours du temps en échelle logarithmique, pour différentes conditions indiquées en légende. Pour chaque condition, la statistique a été effectuée sur 300 trajectoires.

Étudions à présent l'effet des moteurs sur la longueur  $L_r$  de recouvrement, également appelée "longueur d'incorporation" dans la littérature scientifique [7, 9, 87]. Pour rappel, cette longueur est définie comme la distance mesurée sur laquelle il y a eu un échange de tubulines après un certain intervalle de temps  $T$  (voir kymographe du centre sur la Figure 4.19).

Nous avons décidé de mesurer cette longueur après 15 minutes, car cet intervalle de temps est de l'ordre de celui qui est également choisi pour les mesures *in vitro* [7] (voir Figure 4.21). En présence de kinésines-1 et pour  $\Delta G_p \geq 2 k_B T$ , la longueur  $L_r$  augmente rapidement lorsque la densité  $\rho_s$  de moteurs augmente, jusqu'à atteindre un plateau lorsque  $\rho_s > 0.2$ ; il y a un effet de saturation. Lorsque nous augmentons la pénalité  $\Delta G_p$  la hauteur du plateau augmente également. Il est intéressant de noter qu'à chaque  $k_B T$  ajouté à la pénalité, la hauteur augmente brusquement. On passe d'une longueur de recouvrement de  $\simeq 0.5 \mu\text{m}$ , à  $\simeq 3.5 \mu\text{m}$  et enfin à  $\sim 10.5 \mu\text{m}$  pour respectivement 1, 2 et 3  $k_B T$ . Cet effet de saturation est similaire à celui qui est observé pour la proportion  $c_e^u$  de dimères excités en amont du défaut et pouvant se détacher (voir Figure 4.10). L'effet de saturation de la longueur de recouvrement est une opportunité pour mettre à l'épreuve le modèle MoTub. De fait, il est envisageable de mesurer la longueur d'incorporation pour différentes concentrations de kinésines-1 pour attester d'un effet de saturation observable pour les hautes concentrations. Si cela est bien le cas, alors ces mesures peuvent être une manière indirecte pour estimer la pénalité  $\Delta G_p$  des moteurs.

Ici encore, du fait que les dynéines se déplacent moins vite, leur impact collectif sur  $L_r$  est moindre. Toutefois, le comportement en fonction de la densité  $\rho_s$  et de la pénalité  $\Delta G_p$  est similaire à celui observé pour les kinésines-1. Ainsi, selon le modèle MoTub, la longueur d'incorporation est dépendante de la concentration de moteurs; plus la concentration augmente, plus la longueur est grande, et plus l'interaction moteur-tubuline est déstabilisante, plus la longueur d'incorporation est grande.

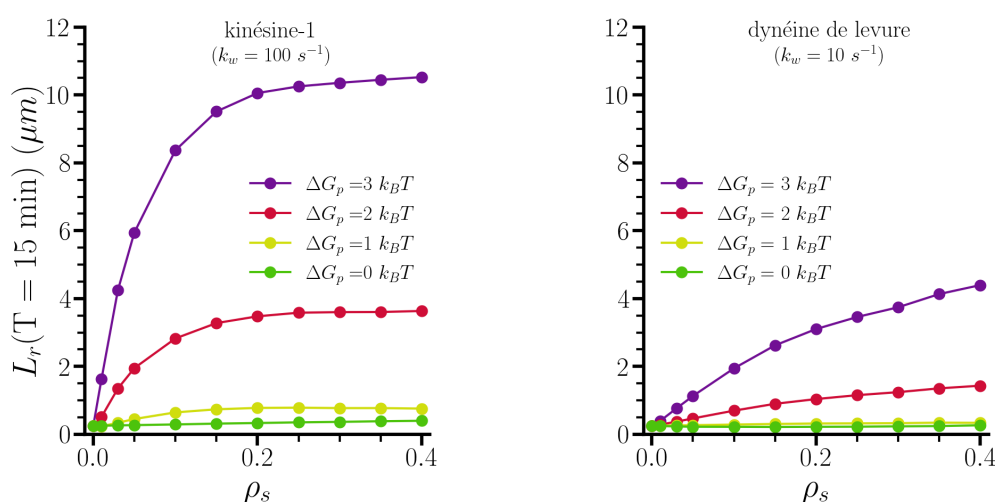


FIGURE 4.21 – Longueur  $L_r$  de recouvrement après 15 minutes en présence de kinésines-1 à gauche (resp. de dynéines de levure à droite) en fonction de la densité moyenne  $\rho_s$  des moteurs présents sur le réseau et pour différentes valeurs de pénalité  $\Delta G_p$ . Chaque point est une moyenne sur 1000 mesures obtenues avec le modèle MoTub-effectif.

Ces mesures *in-silico* sont cohérentes avec les expériences *in vitro* avec des MT stabilisées aux extrémités, en présence de dimères de tubulines-GTP libres, et de moteurs processifs. En effet, ces expériences démontrent une augmentation de la fréquence d'incorporation de tubulines-GTP (avec des tailles typiques de l'ordre de  $1 \mu\text{m}$ ) comparée au cas en absence de moteurs. En particulier, les fréquences spatiales des zones d'incorporation ont été mesurées par deux groupes différents et varient considérablement. Andreu *et al.* [87] ont mesuré des fréquences de  $0.05 \mu\text{m}^{-1}$  et  $0.2 \mu\text{m}^{-1}$  respectivement en l'absence de moteurs et en présence de kinésines ( $5 \text{ nM}$ ) après un intervalle de temps de 15 minutes pendant lequel il y a eu une incorporation de tubuline-GTP. D'autre part, Triclin *et al.* ont mesuré des fréquences d'incorporation des défauts de l'ordre de  $0.015 \mu\text{m}^{-1}$  et  $0.06 \mu\text{m}^{-1}$  respectivement en l'absence de moteurs et en présence de kinésines-1 ( $10 \text{ nM}$ ) après 40 min d'incorporation de tubulines-GTP libre (voir Figure 5g. [7]). Cela correspond à une fréquence d'incorporation d'un facteur 3 à 4 plus faible, pour un temps d'incorporation temps d'environ 2 à 3 fois plus long par rapport à Andreu *et al.* [87]. Bien que la fréquence absolue pour l'incorporation puisse être sensible aux conditions expérimentales, les deux groupes trouvent une augmentation de la fréquence spatiale d'incorporation en présence de moteurs d'un facteur 4, ce qui correspond dans notre modèle à une pénalité des moteurs d'environ  $2 k_B T$  ou légèrement supérieure pour de faibles densités de kinésines présentes sur le MT. Une troisième implication de la présence des moteurs, selon le modèle MoTub, est une accélération de la dynamique de renouvellement de la tubuline-GTP le long du réseau. Ces moteurs, en raison d'une interaction déstabilisante, augmentent la probabilité de détachement des dimères en amont des défauts, et par conséquent, le défaut est transporté dans la direction opposée à la marche des moteurs processifs. Nous avons également constaté qu'en accélérant la dynamique de propagation du défaut au sein du réseau, les moteurs augmentent considérablement la zone d'incorporation de la tubuline-GTP le long du MT. Ainsi selon le modèle MoTub, la présence de moteurs catalyse le remodelage du réseau, à l'instar des expériences analogues *in vitro* [7, 87]

Dans le présent chapitre, nous avons exploré théoriquement les implications d'un hypothétique mécanisme, formulé par Théry *et al.* [45], pour expliquer les observations *in vitro* d'une accélération du remodelage du réseau des microtubules stabilisés aux extrémités. Ce mécanisme repose sur l'hypothèse suivante : la marche des moteurs déstabilise transitoirement ( $\tau_r = 0.1 \text{ s}$ ), localement (en-dessous de la tête avant du moteur) et faiblement ( $\Delta G_p < 4 k_B T$ ) le réseau du MT à l'échelle du dimère. Une telle perturbation a pour impact d'augmenter la probabilité de détachement pour un dimère de tubuline dans l'état excité. Nous avons pu décrire à l'aide d'un modèle à 2 états la proportion de dimères excités présents au sein d'un MT en fonction de la densité moyenne  $\rho_s$  de moteurs et de la pénalité  $\Delta G_p$ . Cela nous a permis de décrire l'influence des moteurs (kinésine-1 et dynéine de levure) sur le temps de création d'un défaut au sein d'un MT. Puis nous avons décrit l'influence des ces moteurs sur le temps et la longueur de fracture d'un microtubule. Le résultat principal, obtenu à l'aide d'une version effective du modèle MoTub, est la réduction considérable du temps de brisure d'un microtubule stabilisé aux extrémités en présence d'une faible densité de moteurs. Par exemple, le temps de brisure  $\tau_b$  est réduit de plus de 60% lorsque le réseau est recouvert de 10% de kinésine-1 ( $\rho_s = 0.05$ ) avec une pénalité de  $\Delta G_p = 2 k_B T$ . Ce résultat est cohérent au regard des mesures similaires effectuées par Triclin *et al.* [7].

Le modèle MoTub-effectif est également en mesure de décrire la dynamique de renou-

vement de la tubuline le long d'un MT. Toutefois, il nous a fallu conjecturer de l'existence d'une contrainte stérique selon laquelle les dimères de tubuline-GTP ne peuvent pas intégrer un réseau de tubulines-GDP lorsque le défaut occupe uniquement un seul site. Cette hypothèse est nécessaire pour obtenir une durée de vie suffisamment longue du défaut afin d'observer une dynamique de propagation le long du réseau. Nos mesures numériques ont mis en évidence un rôle de catalyseur pour les moteurs processifs vis-à-vis de l'incorporation de tubulines-GTP au sein du réseau. À l'aide du modèle MoTub, nous avons pu interpréter cette accélération comme étant la conséquence d'une augmentation de la vitesse de propagation des défauts le long du réseau suite à la perturbation des moteurs en amont du défaut. En particulier, nous avons observé que le transport du défaut passe, en présence de moteurs processifs, d'un mode sub-diffusif à balistique. Ainsi la longueur d'incorporation de tubuline-GTP est considérablement étendue, et cela même pour de faibles densités de kinésines-1. En comparant des moteurs de processivité équivalente (kinésine-1 vs. dynéine de levure), nous avons également mis en lumière l'influence de la vitesse des moteurs processifs sur ces processus dynamiques le long du réseau. De manière générale, à densité et à pénalité équivalentes, l'impact sera d'autant plus déstabilisant pour une vitesse plus élevée. Il serait particulièrement intéressant de réaliser des expériences *in vitro* pour confirmer ou réfuter une telle prédiction.

Ce chapitre marque le début de l'analyse théorique et numérique des implications d'une interaction moteur-tubuline. Ces premiers résultats paraissent encourageant à l'égard des observations *in vitro* récentes. De fait, le modèle MoTub démontre qu'une faible perturbation localisée et transitoire, de la part des moteurs processifs, est en mesure de considérablement accélérer les processus dynamiques présents le long d'un MT. Il est d'autant plus remarquable que cela soit le cas pour de faible densité de moteurs processifs. Pour autant, nous n'avons pu explorer l'ensemble des implications d'une telle interaction moteur-tubuline. La richesse du modèle MoTub réside dans sa simplicité à émuler, à partir de configurations initiales spécifiques, des cas de figure analogues à ceux étudiés *in vitro*. Ainsi il reste de nombreuses déclinaisons de ces configurations initiales à explorer afin d'évaluer l'impact des moteurs processifs sur les processus dynamiques d'un microtubule. Au Chapitre 5, nous explorons sommairement certaines de ces déclinaisons.





# 5

## Perspectives d'exploration du modèle MoTub

### Sommaire

---

<b>5.1</b>	<b>Réparation du microtubule</b>	<b>94</b>
<b>5.2</b>	<b>Compétition fracture/réparation</b>	<b>97</b>
<b>5.3</b>	<b>Impact des défauts sur la dynamique d'un microtubule</b>	<b>100</b>

---



## 5.1 Réparation du microtubule

Au cours de la section 4.3, nous avons décrit une dynamique de renouvellement de la tubuline à partir d'un défaut initial et en présence de tubulines-GTP libres en solution. Cette dynamique s'effectue principalement le long d'un unique protofilament. Cependant le défaut peut également s'étendre dans la direction latérale. Ici nous nous focalisons sur un mécanisme hypothétique de réparation du réseau de tubulines à partir de ce détachement latéral. *In vitro* il est impossible de s'assurer d'une réparation complète d'un défaut le long d'un MT car la résolution spatiale d'un microscope à fluorescence est supérieure à la taille nanométrique d'un dimère de tubuline. Nous faisons donc ici l'hypothèse qu'un défaut de type trou peut, sous certaines conditions, se réparer entièrement.

Évidemment, la dynamique de réparation est fortement dépendante de la condition de fermeture du défaut. Pour rappel, dans la section 4.3 nous avons restreint les conditions d'attachement de tubuline-GTP en interdisant l'attachement lorsque le défaut est entouré de quatre sites contenant des dimères-GDP afin que la durée de vie d'un défaut le long du MT soit suffisamment grande pour obtenir une dynamique similaire à celle observée expérimentalement (voir Figure 4.15). Ici nous ajoutons une hypothèse complémentaire pour permettre un phénomène de réparation. Cette hypothèse peut être formulée comme : tout défaut (de la taille d'un seul dimère) ayant au moins un dimère-GTP comme voisin latéral peut être comblé par l'attachement d'un dimère-GTP.

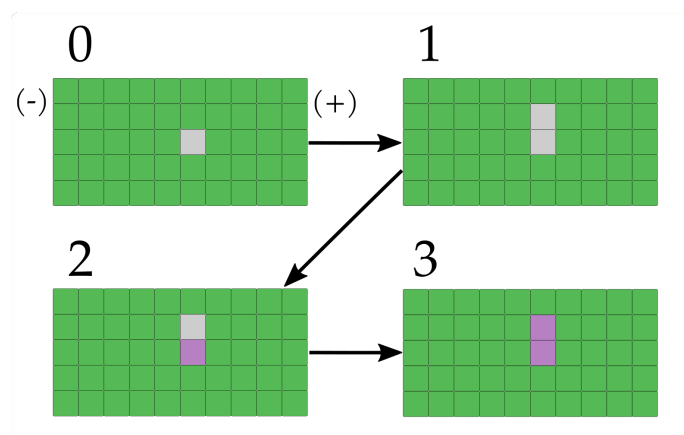


FIGURE 5.1 – Enchaînement de réactions menant à une réparation complète du MT à partir d'un défaut initial.

Ainsi lorsqu'un défaut se crée au sein d'un MT il dérive stochastiquement le long du protofilament sur lequel il s'est formé (étape 0 dans la figure 5.1), puis après un temps caractéristique  $\langle \tau_{\text{lat}} \rangle$  le défaut se propage sur le protofilament voisin (étape 1). De par la condition de fermeture, dans cette configuration le défaut pourra alors se réparer complètement après deux attachements de tubulines-GTP (étape 2 et 3). Comme le temps caractéristique d'attachement est très petit comparé au temps caractéristique de détachement latéral ( $k_{\text{lat}}^{-1} \gg (k_{\text{onc}})^{-1}$ ), nous pouvons alors exprimer le temps de réparation, noté  $\langle \tau_r \rangle$ , comme :

$$\langle \tau_r \rangle = \langle \tau_{\text{lat}} \rangle \simeq \frac{1}{2k_{\text{lat, eff}}} . \quad (5.1)$$

Comme le flux de moteurs n'est pas brisé sur les protofilaments voisins du défaut, la constante  $k_{\text{lat,eff}}$  est définie de manière identique à l'Eq. (4.47). De plus, cette constante peut être approchée analytiquement et de manière analogue à l'Eq. (4.7) avec  $k_{\text{off}} = k_{\text{lat}}$ . De plus, le facteur 2 rend compte du fait que le détachement latéral peut provenir des deux côtés du défaut. La Figure 5.2 montre le temps de réparation  $\langle \tau_r \rangle$  en présence de kinésines (gauche) et de dynéines (droite) pour différentes valeurs de la pénalité  $\Delta G_p$ .

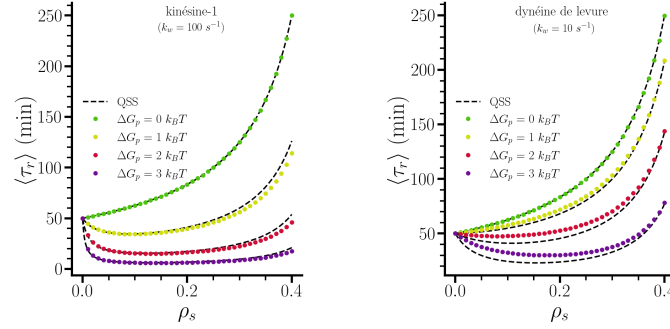


FIGURE 5.2 – Mesure du temps moyen  $\langle \tau_r \rangle$  de réparation pour différentes valeurs de pénalité  $\Delta G_p$  pour les moteurs de type kinésine (gauche) et dynéine (droite) en fonction de la densité des moteurs. Les courbes en pointillés (QSS) correspondent à l'estimation analytique [voir l'Eq.(4.7)].

Tout d'abord, nous remarquons que l'effet des moteurs sur cette observable est qualitativement identique à celui sur le temps moyen de création de défaut  $\langle \tau_d \rangle$  (voir Figure 4.3). Cela s'explique par le fait que la contribution des moteurs dans l'expression  $k_{\text{lat,eff}}$  est identique à celle dans  $k_{\text{off,eff}}$  pour la création de défaut car le flux de moteurs n'est pas brisé.

Néanmoins, lorsque nous évaluons quantitativement le temps moyen de réparation, nous constatons que la réparation d'un défaut met environ 50 minutes en absence de moteurs, alors qu'en présence d'une densité de 0.1 de kinésines-1, le temps de réparation chute d'environ 70% pour une pénalité de  $2 k_B T$  ( $\langle \tau_r(\rho_s = 0.1, \Delta G_p = 2 k_B T) \rangle \simeq 13$  min). La dynamique de réparation est donc, en présence de kinésines-1 et pour une pénalité  $\Delta G_p \geq 1 k_B T$ , majoritairement accélérée. En présence de dynéines de levure, la réparation est accélérée uniquement pour des pénalités plus élevées que pour les kinésines-1 ( $\Delta G_p \geq 3 k_B T$ )

À présent, au sein du modèle MoTub nous avons défini un mécanisme de création de défaut mais aussi de réparation de défaut. Il est donc possible d'estimer le nombre moyen de défauts le long d'un microtubule, noté  $\langle N_d \rangle$ , en fonction du nombre  $N$  de dimères qui composent le MT. La variation au cours du temps du nombre de défauts peut être décrite comme :

$$\frac{dN_d}{dt} = k_{\text{off,eff}}N - k_{\text{lat,eff}}N_d \quad (5.2)$$

où nous avons supposé que  $N \gg N_d$ . Ainsi, avec la condition initiale  $N_d(t = 0) = 0$ , l'évolution temporelle du nombre de défauts est :

$$N_d = \frac{k_{\text{off,eff}}}{k_{\text{lat,eff}}} \left( 1 - e^{-k_{\text{lat,eff}}t} \right) N. \quad (5.3)$$

En supposant que le système soit à l'état stationnaire  $\frac{dN_d}{dt} = 0$  on obtient l'expression suivante :

$$\langle N_d \rangle = \frac{k_{\text{off,eff}}}{k_{\text{lat,eff}}} N = \frac{k_{\text{off}}}{k_{\text{lat}}} N \quad (5.4)$$

L'équation (5.4) nous indique que le nombre moyen de défauts présents le long d'un MT est proportionnel au nombre  $N$  de dimères qui composent le MT. Ensuite nous remarquons que le nombre de défauts moyen (à l'état stationnaire) est indépendant de la présence même des moteurs. Ainsi, le nombre de défauts moyen  $\langle N_d \rangle$  est uniquement dépendant de la longueur du MT. Néanmoins, nous avons vu que la présence de moteurs accélère la dynamique de création et de réparation, ce qui permet d'installer l'état stationnaire plus rapidement avec un temps typique  $(k_{\text{lat,eff}})^{-1}$  (voir Figure 5.2) qu'en absence de moteurs. En intégrant un mécanisme hypothétique de réparation, le modèle MoTub prédit qu'il devrait y avoir en moyenne environ 5 défauts présents au sein du réseau d'un MT long de  $10 \mu\text{m}$ , ce qui donne une fréquence spatiale d'incorporation de l'ordre de  $0.5 \mu\text{m}^{-1}$ .

Pour conclure, nous tenons à rappeler la difficulté d'observer par microscopie à fluorescence ce type de défaut en absence de moteurs. En effet, au cours de la section 4.3 nous avons vu que la longueur d'incorporation pour un défaut en absence de moteur est de  $\simeq 0.25 \mu\text{m}$  après 15 minutes. Or la résolution des microscopes optiques est de l'ordre de quelques centaines de nanomètres. Par conséquent, cette méthode de microscopie n'est pas appropriée pour détecter des défauts avec une dynamique aussi lente. Pour cela, il peut être envisageable d'employer des méthodes de microscopie dont la résolution est l'ordre de quelques dizaines de nanomètres comme la microscopie à force atomique (AFM) [44] ou la cryomicroscopie électronique [135]. Toutefois la complexité dans la préparation des échantillons rend toute statistique difficile à obtenir pour des MTs composés de dimères-GDP. À l'inverse en présence de moteurs, l'observation d'une dynamique de remodelage du réseau est bien plus aisée. La fréquence d'incorporation semble même augmenter en fonction de la concentration de kinésines-1 [8]. Au regard du mécanisme de réparation introduit dans cette section, nous pouvons supposer que les moteurs n'augmentent pas la proportion de défauts au sein du réseau, mais augmentent plutôt la proportion de défauts (ou zones d'incorporation) détectables par microscopie à fluorescence. En déstabilisant un front longitudinal du défaut, les moteurs processifs élargissent fortement ces zones de remodelage du réseau, les rendant ainsi facilement détectables. Enfin nous pouvons facilement concevoir une expérience qui confronterait l'implication d'un tel mécanisme de réparation. Si les moteurs processifs n'impactent pas le nombre moyen de défauts présents au sein d'un réseau d'une longueur donnée alors cela signifie que la fréquence d'incorporation et une longueur d'incorporation moyenne devraient atteindre un plateau à mesure que la concentration de moteurs augmente.

## 5.2 Compétition fracture/réparation

Lorsque nous avons étudié la dynamique de propagation longitudinale d'un défaut dans la section 4.3, nous avons restreint notre description à un défaut étalé sur un unique site et à l'écart de la jonction du réseau. Ici, nous allons décrire une configuration avec un défaut étendu sur deux protofilaments, dans le but de décrire la compétition entre la dynamique de fracture et celle de réparation. Nous avons constaté que sous certaines conditions une dynamique de fracture peut s'amorcer et être dominante vis-à-vis de la dynamique de réparation. Cela est en particulier le cas pour des moteurs rapides comme les kinésines-1 lorsque le défaut se situe au niveau de la jonction.

Pour décrire cette compétition fracture/réparation, considérons la configuration suivante : soit un flux de moteurs processifs dirigé vers l'extrémité (+) sur un réseau composé de tubulines-GDP et d'un trou de 3 sites de longueur et 2 sites de largeur. Comme nous l'avons mentionné lors de la description de la dynamique de fracture (voir Section 4.2.1), lorsque le trou se situe à l'écart de la jonction (voir schéma de gauche de la Figure 5.4) les constantes de détachement sur les fronts longitudinaux du défaut ne seront pas les mêmes que lorsque le défaut est positionné au travers de la jonction (schéma de droite).

À partir de cette configuration, nous allons évaluer *qualitativement* dans quelles conditions la dynamique de fracture est dominante face à la dynamique de réparation. Nous tenons à faire remarquer que notre raisonnement est indépendant de la longueur du défaut et de la directionalité de marche des moteurs. Pour évaluer les conditions où la fracture l'emporte sur la réparation, nous comparons la constante de réaction totale liée au détachement, notée  $k_{\text{long}}^{\text{tot}}$ , à la constante de réaction totale liée à l'attachement, notée  $k_{\text{on}}^{\text{tot}}$ .

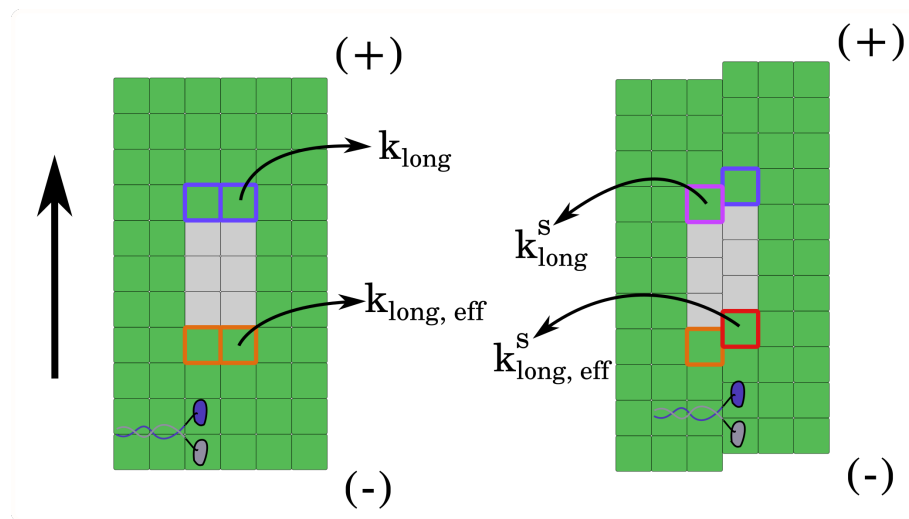


FIGURE 5.3 – À gauche : Schéma d'un tronçon d'un microtubule avec un trou étalé sur deux protofilaments et en présence d'un flux de moteurs processifs dirigé vers l'extrémité (+). Comme le défaut brise le flux de moteur, la constante de détachement longitudinal en amont du défaut n'est pas la même que celle en aval du défaut. À droite : Schéma identique mais avec un défaut situé au niveau de la jonction du microtubule. La flèche noire dirigée vers l'extrémité (+) indique la direction de marche des moteurs.

Nous considérons que la fracture domine la réparation lorsque la propagation longitudinale du défaut est plus probable que la réparation longitudinale, ou dit autrement lorsque  $k_{\text{long}}^{\text{tot}} > k_{\text{on}}^{\text{tot}}$ . Comme il n'existe que 4 sites pour l'attachement de la tubuline-GTP au niveau des fronts longitudinaux (l'attachement d'un dimère à un seul voisin latéral est trop bref pour être ici pris en compte), la constante d'attachement totale est égale à  $4k_{\text{on}}c$ . Nous fixons la concentration de tubuline-GTP libre à  $20 \mu\text{M}$ , ce qui entraîne  $k_{\text{on}}^{\text{tot}} = 80 \text{s}^{-1}$ , indépendamment que le défaut soit au niveau de la jonction ou non. Par contre, la valeur de la constante de détachement totale est dépendante de la position du défaut :

$$k_{\text{long}}^{\text{tot}} = \begin{cases} 2(k_{\text{long}} + k_{\text{long,eff}}) & \text{à l'écart de la jonction} \\ k_{\text{long}} + k_{\text{long,eff}} + k_{\text{long}}^s + k_{\text{long,eff}}^s & \text{à la jonction} \end{cases} \quad (5.5)$$

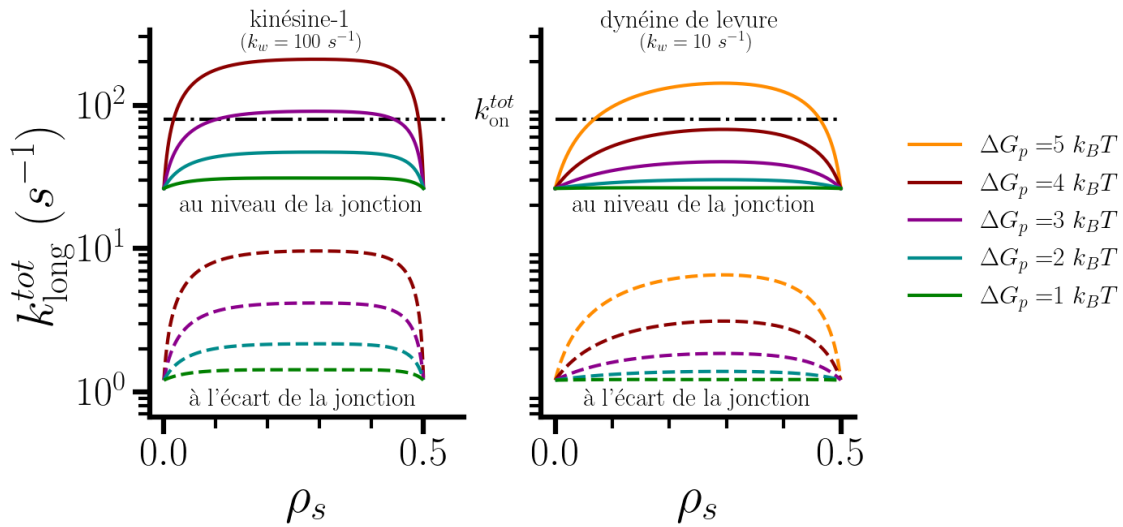


FIGURE 5.4 – Comparaison des constantes de détachement totales  $k_{\text{long}}^{\text{tot}}$  à la constante d'attachement totale  $k_{\text{on}}^{\text{tot}}$  (droite noire en pointillés). Les constantes  $k_{\text{long}}^{\text{tot}}$  sont tracées pour deux types de moteurs, kinésine-1 à gauche et dynéines à droite, et pour différentes valeurs pour la pénalité  $\Delta G_p$ . Les courbes pleines (resp. en pointillés) représentent la constante de détachement totale pour un défaut au niveau de la jonction (resp. à l'écart de la jonction) [voir Eq. (5.5)].

Pour un défaut à l'écart de la jonction, la dynamique de réparation est plus favorable que la fracture ( $k_{\text{long}}^{\text{tot}} < k_{\text{on}}^{\text{tot}}$ ) pour toute densité et pour des valeurs de pénalité inférieures à  $5 k_B T$ , et cela indépendamment du type de moteur (voir courbes en pointillés de la Figure 5.4). Cette observation valide l'hypothèse de travail effectuée pour étudier la dynamique de renouvellement de la tubuline : un défaut présent le long d'un MT et à l'écart de la jonction est similaire à une marche aléatoire symétrique. Cependant, ce n'est pas toujours le cas lorsque le défaut est positionné au niveau de la jonction. Dans cette configuration, et lorsqu'il y a un flux de kinésines avec une pénalité  $\Delta G_p$  égale à  $3 k_B T$ , la dynamique de fracture est du même ordre de grandeur que la dynamique de réparation. La fracture semble plus favorable que la réparation seulement pour des fortes pénalités, supérieures à  $3 k_B T$  pour les kinésines et à  $5 k_B T$  pour les dynéines de levures. Ce raisonnement est corroboré par des mesures obtenues avec le modèle MoTub-effectif. À partir d'un réseau composé de tubulines-GTP et d'un défaut au niveau de la jonction, nous avons mesuré

la proportion de réseau fracturé avec  $k_{\text{on}}c = 20 \text{ s}^{-1}$ . En effet, la proportion, notée  $\sigma_f$ , de réseaux fracturés est non nulle à partir de  $3 k_B T$  en présence d'un flux de kinésines-1 avec une densité moyenne  $\rho_s$  de 0.1 (voir Figure 5.5).

La connaissance des conditions nécessaires pour obtenir une compétition entre fracture et réparation le long d'un microtubule peut être une méthode indirecte pour évaluer la pénalité locale des moteurs. En effet, en cas d'observation *in vitro* d'une telle compétition, en présence de moteurs processifs, cela peut donner une estimation basse de la pénalité  $\Delta G_p$ .

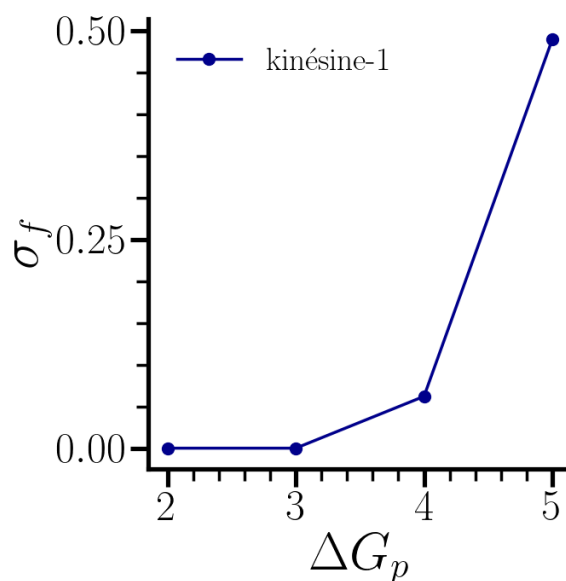


FIGURE 5.5 – Fraction  $\sigma_f$  de réseaux fracturés en fonction de la pénalité de marche  $\Delta G_p$ , en présence de tubulines-GTP libres ( $k_{\text{on}}c = 20 \text{ s}^{-1}$ ) et en présence d'un flux de kinésines-1 avec une densité moyenne de 0.1. Chaque point est une moyenne sur 1000 simulations du modèle MoTub-effectif pour un réseau long de  $10 \mu\text{m}$ .

Suite à l'introduction d'un mécanisme de réparation, le modèle MoTub décrit, en présence de tubuline-GTP libre, une compétition entre la dynamique de fracture et celle de réparation. En particulier, nous avons constaté que la fracture est plus favorable que la réparation dans un cas de figure spécifique : le défaut doit se situer au niveau de la jonction du réseau et l'impact des moteurs doit être suffisamment déstabilisant. Par exemple, en présence de kinésines-1 nous observons que la fracture devient favorable pour des pénalités supérieures à  $3 k_B T$ . Toutefois même si la pénalité est plus faible mais que le défaut se situe au niveau de la jonction nous pouvons observer, par moments, un élargissement longitudinal du défaut avant qu'il ne se referme complètement. Cependant, par manque de temps, nous n'avons pas pu explorer cette dynamique plus en détail. La dynamique de remodelage décrite par le modèle MoTub est riche car elle est dépendante de la configuration initiale. Comme nous venons de le voir, si le défaut se situe au niveau de la jonction (ou non) et en présence de moteurs processifs, cela peut radicalement altérer la dynamique. Il reste donc de nombreux embranchements du modèle à explorer.

### 5.3 Impact des défauts sur la dynamique d'un microtubule

Tout au long de ce document nous avons porté notre analyse sur les phénomènes dynamiques présents le long du MT. Élargir cette description aux phénomènes dynamiques aux extrémités du MT serait donc dans la continuité de ce travail de recherche. L'approfondissement de ces phénomènes peut amener à une meilleure compréhension de l'impact des moteurs sur la fréquence de sauvetage, car il est généralement admis que les îlots de tubulines-GTP présents le long du MT peuvent servir de sites de sauvetage. Une accélération de la dynamique de remodelage du réseau peut-elle entraîner une stabilité accrue des MTs ?

Il a été démontré *in vivo* et *in vitro* que c'est le cas, car une corrélation positive a été mesurée entre la dynamique de remodelage et la fréquence de sauvetage [8, 50]. Et dès lors que la fréquence de sauvetage augmente, la stabilité du microtubule en est renforcée. En particulier, au cours de ces expériences, le renouvellement de la tubuline a été intensifié par la présence des moteurs processifs. Ce résultat nous amène à conjecturer de l'existence d'une interaction destabilisatrice de la part des moteurs processifs, qui, à l'instar des katanines et des spatines [58], serait à l'origine d'un mécanisme indirect pour stabiliser les microtubules. Or, le modèle MoTub donne la possibilité d'explorer qualitativement les implications d'une telle conjecture. Un premier résultat préliminaire vient encourager cette proposition. En effet, à l'aide de ce modèle, nous avons pu observer qu'en absence de moteur la fréquence de sauvetage semble proportionnelle au nombre de trous présents le long du réseau (voir Figure 5.6).

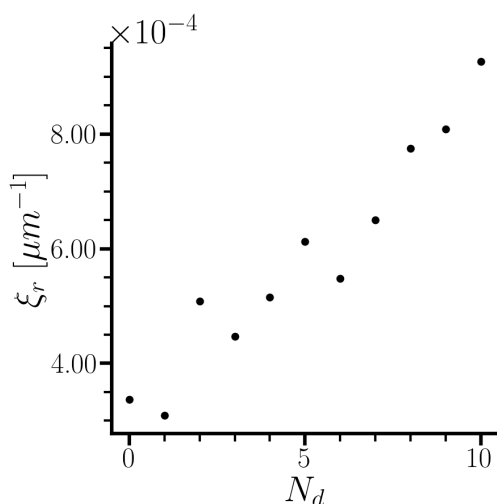


FIGURE 5.6 – Fréquence spatiale de sauvetage  $\xi_r$  en fonction du nombre  $N_d$  de défauts, distribués aléatoirement le long d'un MT de  $10 \mu\text{m}$ . Chaque mesure est une moyenne sur  $10^4$  simulations du modèle MoTub.

Notre interprétation de ce résultat est la suivante : chaque défaut présent au sein du réseau est une zone de renouvellement de la tubuline. De par la présence de dimères de tubuline-GTP à chacune de ces zones de renouvellement, chaque défaut peut être considéré comme

une opportunité pour amorcer un sauvetage lors d'un effondrement rapide du MT. Ainsi plus le nombre de défauts est grand, plus la fréquence de sauvetage augmente.

Bien que cette corrélation soit encourageante il nous faut, pour retrouver les observations empiriques, prendre en considération la présence de moteurs. Cependant lorsque nous souhaitons simuler la dynamique d'effondrement du MT en présence de moteurs processifs, le modèle MoTub-effectif n'est plus valide. Cela s'explique par le fait que la constante de détachement des dimères à l'extrémité du réseau est de l'ordre de celle de la vitesse de marche des moteurs processifs. Or, l'hypothèse de validité du modèle MoTub-effectif repose sur le fait que la dynamique des dimères est très lente face à celle des moteurs. Par conséquent, cela nous amène à devoir simuler dans sa totalité la dynamique des moteurs, ce qui augmente considérablement le coût en terme de temps de calcul. En reprenant l'Eq (3.22) nous estimons qu'en ayant accès à 100 unités de CPU, il nous faudrait  $\sim 6.5$  jours de calcul pour obtenir une statistique satisfaisante (de l'ordre de  $10^4$ ) sur la fréquence de sauvetages en présence des kinésines-1 avec une densité de 0.1 – et cela pour un unique point dans l'espace des paramètres. Une telle statistique n'a pas pu être réalisée au cours de ce doctorat bien l'opération reste parfaitement envisageable à condition que l'on dispose de temps et de puissance de calcul. Il serait tout aussi possible d'étudier à l'aide du modèle MoTub l'impact des moteurs sur la dynamique de croissance des microtubules. Cela permettrait d'obtenir une vue d'ensemble de l'impact des moteurs processifs sur les observables liées à l'instabilité dynamique. Et par conséquent, de s'assurer que ce modèle numérique soit également cohérent à l'égard des mesures analogues obtenues *in vitro* par Andreu-Carbó *et al.* en présence de kinésines-1 [8].





## Conclusion générale

Le présent manuscrit synthétise les travaux de recherche qui ont été menés tout au long de mon doctorat. L'intention principale de ces travaux est d'apporter un nouveau cadre de réflexion théorique et numérique afin de décrire les phénomènes dynamiques le long d'un microtubule en présence de moteurs processifs. La dynamique à l'œuvre à l'écart des extrémités d'un microtubule est un sujet de recherche actif. De récentes publications [7, 9, 45, 58, 87] ont illustré l'existence d'un nouveau mécanisme impactant la stabilité et l'intégrité d'un microtubule. En effet, la présence de moteurs semble accélérer la dynamique d'incorporation de la tubuline le long du réseau, ce qui par conséquent augmente la stabilité globale de la structure. Or ces recherches, réalisées avec une approche expérimentale, apportent des mesures *in vitro* difficiles à comparer entre elles. De fait, les expériences *in vitro* étant réalisées dans différentes conditions expérimentales, il est impossible de comparer quantitativement les résultats entre eux. Nous avons donc besoin d'un nouveau modèle de description, afin d'explorer les répercussions des mécanismes formulés pour rendre compte des observations empiriques. Une telle description doit être en mesure d'évaluer sous quelles conditions un ensemble de mécanismes est valide pour rendre compte d'une observation expérimentale.

Afin de conceptualiser un modèle décrivant l'interaction moteur-tubuline, nous avons exposé au Chapitre 1 les composantes fondamentales du réseau d'un microtubule. La géométrie du réseau considéré est fixée par la symétrie hélicoïdale 13 – 3 suite à la présence d'une jonction au sein des 13 protofilaments du microtubule. Nous avons choisi l'échelle du dimère de tubuline comme l'échelle pertinente à laquelle nous nous plaçons pour décrire les mécanismes sous-jacents à la dynamique d'un microtubule. Nous considérons également deux conformations pour le dimère de tubuline, dont l'une est moins stable que l'autre, suite à l'hydrolyse du nucléotide présent sur le monomère- $\beta$ . Enfin, nous avons estimé que la vitesse moyenne des moteurs processifs, leur processivité et leur directionnalité sont les caractéristiques suffisantes pour décrire la marche de ces moteurs. Les moteurs processifs effectuent leur marche le long d'un unique protofilament et à travers un mécanisme d'alternance de leur tête arrière et avant.

À partir de ces éléments de description, nous avons conçu le modèle MoTub (Moteur-Tubuline) à l'aide du formalisme des simulations Monte Carlo cinétique, détaillé au cours du Chapitre 2. Le modèle a la particularité de coupler deux modèles simples : un premier pour décrire la dynamique de croissance d'un microtubule [51, 107, 136], et un second pour reproduire la dynamique de marche des moteurs processifs [124]. Cette approche permet d'énoncer simplement de nouvelles réactions afin d'évaluer les implications d'hypothétiques mécanismes à l'origine des observations expérimentales.

En particulier nous avons porté notre attention sur un mécanisme d'interaction locale et

transitoire entre les moteurs et les dimères de tubuline. Un moteur en se déplaçant le long d'un protofilament laisse derrière lui une trainée de dimères dit excités qui déstabilise les interactions avec les dimères voisins, augmentant ainsi la probabilité de détachement du dimère excité. Par manque de consensus scientifique, nous avons émis l'hypothèse que ce changement de conformation s'opère sous la tête avant du moteur et ne dure qu'une période de temps de l'ordre du dixième de seconde. Pour simplifier cette description, nous avons décidé d'écarter la présence d'embouteillage de moteurs aux extrémités, même locale suite à la présence d'un défaut. Toutefois nous avons aussi considéré une interaction stabilisante, en empêchant le détachement des dimères de tubuline recouverts par les moteurs. L'exploration du modèle MoTub a été grandement facilitée en formulant une version effective du modèle, c'est-à-dire en factorisant la contribution des moteurs directement dans les constantes de détachement des dimères de tubulines. Cela a permis de décrire l'impact de deux types de moteurs similaires à la kinésine-1 et à la dynéine de levure sur la création de défaut le long du réseau. Puis à partir d'un défaut initial, l'impact sur la dynamique de fracture (en absence de tubulines-GTP en solution) et sur la dynamique de renouvellement de la tubuline (en présence de tubulines-GTP en solution).

Au cours du Chapitre 4, nous avons décrit un effet non-monotone de la part des moteurs sur ces différentes dynamiques. D'une part, l'interaction déstabilisante est dominante pour les faibles densités alors que, d'autre part, pour les fortes densités ( $\rho_s \geq 0.3$ ) les moteurs stabilisent le réseau de par leur simple immobilité suite au faible flux de moteurs. Un effet déstabilisant pour la création de défaut, la fracture ou bien le renouvellement de tubulines signifie que la dynamique de ces phénomènes est accélérée. Il est intéressant de noter que pour des moteurs rapides (100 pas par seconde), comme la kinésine-1, l'accélération est maximale pour une densité moyenne de l'ordre de 0.1 (ce qui correspond à 20% du réseau recouvert par les moteurs). Alors que pour des moteurs plus lent (10 pas par seconde), comme la dynéine de levure, l'effet maximal est atteint pour une densité de l'ordre de 0.2, ce qui pour les deux cas reste en-dessous de la densité qui maximise le flux de moteur. Un tel mécanisme permet ainsi d'observer une accélération des phénomènes dynamiques présents le long du réseau d'un microtubule et cela même pour de faibles densités de moteurs et pour une perturbation de l'ordre de quelques  $k_B T$  ( $< 4 k_B T$ ). Ces résultats donnent donc du crédit à un mécanisme d'interaction localisé et transitoire entre les moteurs processifs et les dimères de tubuline, comme il a été conjecturé dans Théry *et al.* [45].

Cependant, nous n'avons exploré qu'un nombre restreint d'embranchements proposés par le modèle MoTub. De par la simplicité d'implémentation de nouveaux mécanismes, offerte par le formalisme Monte Carlo cinétique, le modèle MoTub se décline aisément en de nombreuses versions, chaque version étant un ensemble explicitement défini d'hypothèses sur les réactions considérées. Comme les microtubules sont des systèmes avec une dynamique complexe et hors-équilibre, le moindre changement dans l'ensemble des hypothèses formulées peut amener à des observations et résultats divergents, à l'instar des conditions expérimentales sur les mesures *in vitro*.

Le modèle MoTub-effectif est uniquement valide lorsque la dynamique des moteurs est suffisamment rapide par rapport à celle des dimères de tubuline. Cela limite donc le cadre d'étude aux phénomènes dynamiques le long du réseau. En effet, lors de l'effondrement d'un microtubule la dynamique du réseau est du même ordre de grandeur que la dyna-

mique de marche d'un moteur. Néanmoins, le modèle MoTub est en mesure de simuler l'influence des moteurs processifs sur les observables liées à l'instabilité dynamique. Malgré une optimisation majeure de l'algorithme Monte Carlo cinétique, la différence d'ordre de grandeur entre la dynamique de marche des moteurs et celle de l'extrémité d'un microtubule est telle que cela obère tout approche statistique. Néanmoins cela reste réalisable à condition de disposer suffisamment de temps et/ou d'unités de CPU. Une alternative préférable serait de réduire le temps d'exécution du script en implémentant cet algorithme kMC dans un langage de programmation plus efficient, comme par exemple en C++. Dans la continuité de ces travaux de recherche, il serait passionnant d'étudier l'impact des moteurs sur des types de défauts autres que des lacunes dans le réseau. En particulier, le modèle MoTub est en mesure d'apporter des éléments de réponses face à des défauts tels qu'un changement du nombre de protofilaments, ou que de la présence de plusieurs jonctions au sein du réseau. Ici encore, bien que l'implémentation de tels défauts à la géométrie du réseau semble facilement réalisable, par manque de temps nous n'avons pas pu explorer ces branches du modèles.

Le modèle MoTub, implémenté en Python, est un puissant outil pour simuler l'évolution temporelle d'un microtubule en considérant un ensemble d'interactions entre un moteur processif et l'unité élémentaire du réseau qu'est le dimère de tubuline [100]. Conceptualisé au cours de ce doctorat, ce modèle apporte un cadre de réflexion théorique et numérique pour décrire l'impact d'un flux de moteurs sur la dynamique d'un microtubule. En particulier, nous avons constaté qu'une destabilisation transitoire et localisée produite par la marche des moteurs accélère la dynamique de remodelage, et cela en présence de moteurs à faible concentration, et infiniment perturbés (énergie typique  $< 4 k_B T$ ). Ce résultat central est encourageant au regard des récentes observations qui attestent également d'un remodelage accru en présence de moteurs processifs *in vitro* [7, 9, 45, 87]. Bien que le modèle MoTub soit simple, l'exploration des nombreux embranchements qu'il offre est fascinante. Le modèle MoTub s'inscrit en tant que solution numérique pour affiner notre compréhension des mécanismes de stabilisation des microtubules. En reprenant les conjectures d'observations empiriques comme hypothèses du modèle, les résultats numériques permettent de mettre en lumière leur implication sur l'ensemble de la dynamique du microtubule. Ceci, en retour, peut motiver la réalisation de nouvelles expériences *in vitro* pour confirmer (ou réfuter) les prédictions du modèle. Tout comme la dynamique des microtubules est à l'interface entre la physique et la biologie, le modèle MoTub est à l'interface entre les approches théoriques et expérimentales.





# Calibrage du modèle MoTub

## Sommaire

---

<b>A.1</b>	<b>Comparaison des modèles d'anisotropie</b>	<b>108</b>
<b>A.2</b>	<b>Calibrage des paramètres du réseau</b>	<b>111</b>
A.2.1	Ajustement de l'énergie totale d'une tubuline-GDP	111
A.2.2	Mesure du temps caractéristique	112
A.2.3	Ajustement de la constante d'hydrolyse et du coefficient de contraste	114

---

Au sein de cette annexe, nous présentons quelques résultats complémentaires afin de décrire la méthodologie employée pour calibrer l'ensemble de paramètres présents au sein du modèle MoTub. Cette méthodologie repose sur l'analyse de l'influence de ces paramètres sur des quantités analogues à des mesures *in-vitro* sur la dynamique des microtubules. En particulier nous abordons les différentes conséquences vis-à-vis du choix du modèle d'anisotropie. Puis, après avoir fixé l'énergie d'interaction totale d'un dimère de tubuline GDP, nous comparons les mesures du temps caractéristique en fonction des modèles d'anisotropie et du coefficient d'anisotropie. Enfin, nous clôturons avec l'ajustement de la constante d'hydrolyse et du coefficient de contraste.

## A.1 Comparaison des modèles d'anisotropie

Dans la section 3.1.3, nous avons remarqué qu'il n'existe pas de consensus scientifique au sujet de l'impact de l'hydrolyse du nucléotide GTP du monomère de tubuline- $\beta$  sur les interactions longitudinales et latérales d'un dimère de tubuline. Toutefois, il est possible de distinguer trois réponses hypothétiques ayant chacune des conséquences sur le coefficient d'isotropie des dimères de tubulines<sup>1</sup> :

1. l'hydrolyse du nucléotide GTP impacte les interactions longitudinales et latérales de manière à ce que l'anisotropie d'un dimère-GTP (entouré de dimères-GTP) soit identique à celle d'un dimère-GDP ( $\gamma_D = \gamma_T$ )
2. l'hydrolyse du nucléotide GTP impacte uniquement les interactions longitudinales. Par conséquent l'anisotropie d'un dimère-GTP (entouré de dimères-GTP) est plus prononcée que celle d'un dimère-GDP ( $\gamma_D > \gamma_T$ , voir Eq. 3.10)
3. l'hydrolyse du nucléotide GTP impacte uniquement les interactions latérales, auquel cas l'anisotropie d'un dimère-GTP (entouré de dimères-GTP) est moins prononcée que celle d'un dimère-GDP ( $\gamma_D < \gamma_T$ , voir Eq. 3.12)

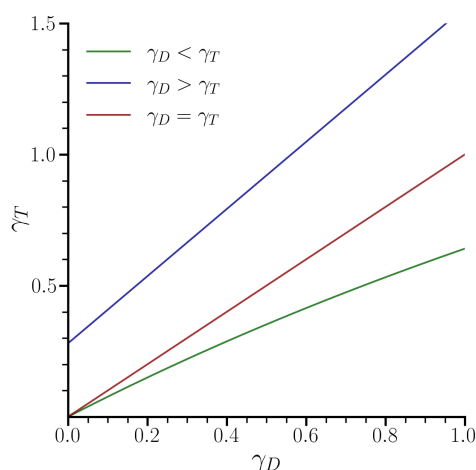


FIGURE A.1 – Coefficient d'isotropie  $\gamma_T$  pour un dimère-GTP (entouré de dimères-GTP) en fonction du coefficient d'isotropie  $\gamma_D$  pour un dimère-GDP. Chaque courbe est associée à un modèle d'anisotropie (voir texte ci-dessus).

1. Pour simplifier la notation, dans cette annexe, nous notons  $\gamma_D$  (resp.  $\gamma_T$ ) le coefficient d'isotropie pour les dimères-GDP (resp. -GTP).

Chacune de ces versions hypothétiques a un impact direct sur l'anisotropie des dimères-GTP et donc sur l'anisotropie à l'extrémité (+) (voir Figure A.1). Si seules les interactions longitudinales sont impactées suite à l'hydrolyse, alors l'anisotropie à l'extrémité (+) sera plus forte que celle présente au sein du réseau. À l'inverse, nous observons le cas opposé lorsque seules les interactions latérales sont impactées par l'hydrolyse.

Depuis plus de 40 ans, les résultats expérimentaux ne s'accordent pas entre eux, toutefois ces dernières années l'hypothèse selon laquelle seules les interactions longitudinales semblent prévaloir [109, 136, 137]. Nous allons ici décrire l'impact de chacune de ces hypothèses sur la dynamique de croissance du réseau avec le modèle MoTub. En particulier, nous avons comparé les observables liées à la croissance et à l'effondrement pour ces trois versions (voir Figure A.2). Nous constatons pour chaque modèle d'anisotropie, un impact du coefficient d'isotropie différent sur la dynamique aux extrémités du MT. Nous pouvons tout de même remarquer que pour les modèles ( $\gamma_D = \gamma_T$ ) et ( $\gamma_D > \gamma_T$ ) l'impact sur les vitesses de croissance et d'effondrement ( $v_g, v_s$ ) et sur la fréquence de catastrophe ( $f_c$ ) sont *qualitativement* est similaire, bien que nous observons un effet inversé sur la fréquence de sauvetage  $f_c$ . Selon le modèle ( $\gamma_D > \gamma_T$ ), plus l'anisotropie est faible ( $\gamma_D$  grand) plus la fréquence de sauvetage est petite, alors que nous l'observons l'inverse pour le modèle ( $\gamma_D = \gamma_T$ ). Nous interprétons cette différence provenant du fait que pour le modèle ( $\gamma_D = \gamma_T$ ) il y a un terme stabilisateur dans les interactions latérales entre les dimères-GTP alors que ce n'est pas le cas pour le modèle ( $\gamma_D > \gamma_T$ ). Or, initier un événement de sauvetage nécessite plusieurs dimères-GTP interagissant entre eux pendant un intervalle de temps suffisamment long pour qu'une coiffe stabilisante de tubulines-GTP se reconstitue à l'extrémité (+). Dès lors la présence d'un terme stabilisateur dans la direction latérale, lorsque deux dimères-GTP s'attachent sur des protofilaments voisins, favorise la reconstitution de la coiffe de tubulines-GTP.

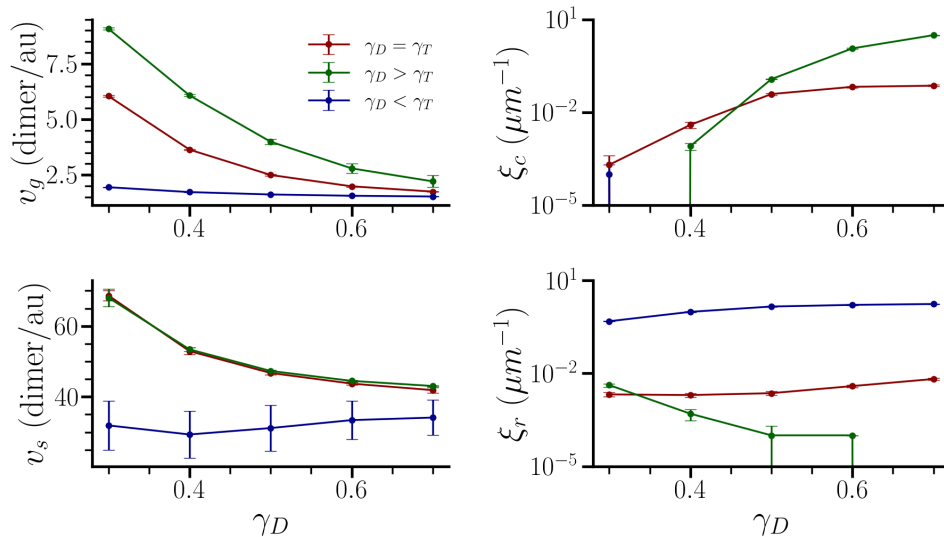


FIGURE A.2 – Dynamique de croissance (ligne du haut) et d'effondrement (ligne du bas) en fonction du coefficient d'isotropie  $\gamma_D$  pour une tubuline-GDP selon les trois modèles anisotropie (voir texte). L'unité au correspond à une unité de temps arbitraire. Lorsque la fréquence de catastrophe chute à 0, cela est représenté par un segment vertical en échelle semi-logarithmique.



Par contre on remarque clairement que le modèle ( $\gamma_D < \gamma_T$ ), contrairement aux deux premiers, n'est pas en mesure de reproduire un phénomène d'instabilité dynamique car la fréquence de catastrophe est nulle, à l'exception de  $\gamma_D = 0.3$ . Toutefois, nous observons que la fréquence de sauvetage est bien plus élevée par rapport aux deux autres versions. Ainsi, le modèle  $\gamma_D < \gamma_T$  permet d'illustrer que tout mécanisme renforçant les interactions latérales des dimères-GTP a un fort impact stabilisant, à l'instar de l'utilisation de la colchicine [138].

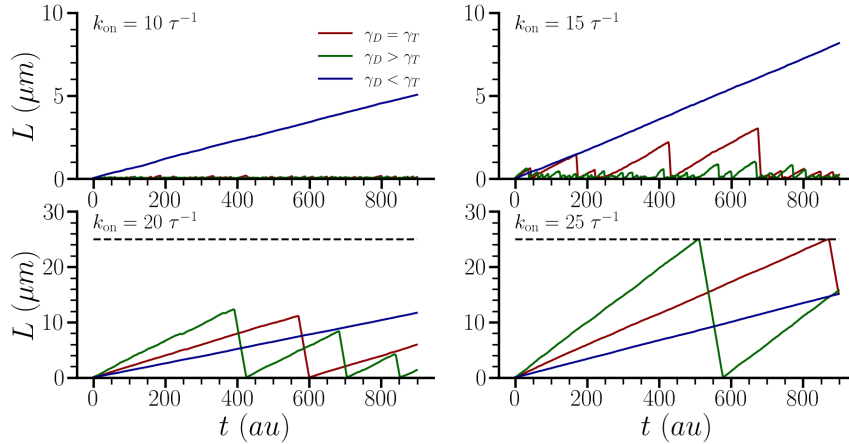


FIGURE A.3 – Longeur moyenne du réseau en fonction du temps (en unité arbitraire) pour différentes valeurs de  $k_{\text{on}}$ . Chaque courbe est associée à un modèle d'anisotropie. La ligne en pointillé délimite la taille maximale du réseau, à savoir  $25 \mu\text{m}$ .

En observant l'évolution temporelle de la taille du réseau pour différentes valeurs de constante d'attachement (voir la Figure A.3), nous pouvons facilement distinguer qu'en plus de l'absence de phénomène d'instabilité, le modèle ( $\gamma_D < \gamma_T$ ) ne présente pas une seconde caractéristique fondamentale : l'existence d'une concentration critique à partir de laquelle la polymérisation du MT s'initie. À contrario, les deux autres modèles présentent un profil de longueur avec ses deux caractéristiques propres à la dynamique d'un MT. Dès lors, nous écartons le modèle  $\gamma_D < \gamma_T$ . Enfin, pour orienter notre choix entre les modèles  $\gamma_D = \gamma_T$  et  $\gamma_D > \gamma_T$ , nous avons évalué le temps caractéristique  $\tau$  pour ces deux modèles d'anisotropie (voir section A.2.2).

## A.2 Calibrage des paramètres du réseau

Nous détaillons ici la méthodologie suivie pour calibrer le réseau de façon à obtenir une dynamique similaire à un MT. Nous présentons également les différentes observables définies pour décrire la dynamique du réseau dans la simulation ainsi que leur relation avec les paramètres du système. Cela permet de calibrer un maximum de paramètres pour que la dynamique du réseau soit du même ordre de grandeur que celle d'un MT *in-vitro*. De plus, à l'aide de l'évaluation du temps caractéristique  $\tau$ , nous présentons les raisons pour lesquelles nous avons considéré le modèle d'anisotropie ( $\gamma_D > \gamma_T$ ) tout au long des Chapitres 4 et 5.

Pour rappel, afin d'obtenir une géométrie similaire à celle d'un MT, le réseau est composé de 13 protofilaments avec une jonction amenant un décalage de un demi-dimère entre le protofilament n°1 et 13. (voir Figure 3.1 b) De plus, nous définissons quatre paramètres du réseau, qui sont :

- l'énergie totale  $\Delta G_{\text{tot}}^D$  de liaison d'un dimère de tubuline-GDP avec ses quatre voisins
- le coefficient d'isotropie  $\gamma_D$  d'un dimère de tubuline-GDP (ratio entre l'énergie d'interaction latérale et longitudinale)
- le coefficient de contraste  $\eta$  entre l'énergie totale d'une tubuline-GTP et celle d'une tubuline-GDP (associé aux interactions longitudinales)
- la constante de réaction  $k_h$  pour l'hydrolyse du GTP

Chacun de ces paramètres est calibré en évaluant son impact sur des quantités analogue à des observables *in-vitro*.

### A.2.1 Ajustement de l'énergie totale d'une tubuline-GDP

Commençons donc par calibrer l'énergie totale  $\Delta G_{\text{tot}}^D$ . Pour cela, nous définissons une première observable qui est le temps moyen  $\langle \tau_d \rangle$  de création d'un défaut au sein du réseau. Pour étudier, avec simplicité, cette observable considérons un cas idéal dans lequel le réseau serait composé de  $N$  tubulines-GDP avec une périodicité longitudinale. Cette configuration idéale est analogue à un MT dont les extrémités sont stabilisées par des dimères de tubulines-GMPCPP [7]. Dans cette situation, et en absence de tubuline-GTP en solution, la seule réaction possible est le détachement de tubuline-GDP possédant tous ces voisins avec une constante de réaction  $k_{\text{off}}(\Delta G_b = \Delta G_{\text{tot}}^D)$  qui s'exprime comme :

$$k_{\text{off}}(\Delta G_b = \Delta G_{\text{tot}}^D) = k_{\text{off}}^* \cdot \exp\left(-\beta \cdot (\Delta G_{\text{tot}}^D - \Delta G_b^*)\right) \quad (\text{A.1})$$

$$\Leftrightarrow k_{\text{off}}(\Delta G_{\text{tot}}^D) = k_{\text{off}}^* \cdot \exp\left(-\beta \cdot \left(1 - \frac{\eta}{2}\right) \cdot \Delta G_{\text{tot}}^D\right) \quad (\text{A.2})$$

Nous pouvons exprimer le temps  $\langle \tau_d \rangle$  de création d'un défaut comme :

$$\langle \tau_d \rangle = \left(N \cdot k_{\text{off}}(\Delta G_{\text{tot}}^D)\right)^{-1} \quad (\text{A.3})$$

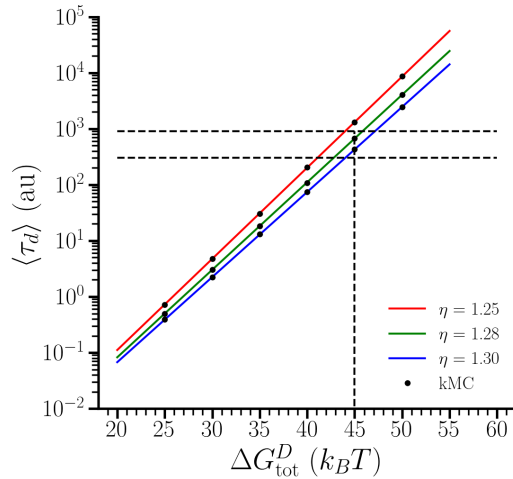


FIGURE A.4 – Temps moyen  $\langle \tau_d \rangle$  pour la création d'un défaut, en unité arbitraire (au), pour un MT de  $10 \mu\text{m}$  de long en fonction de l'énergie totale de liaison d'une tubuline-GDP au sein du réseau, notée  $\Delta G_{\text{tot}}^D$ , pour différentes valeurs du coefficient de contraste  $\eta$ . Les courbes sont obtenues à l'aide de l'équation (A.3). Chaque point est obtenu, à l'aide d'une simulation kMC, en moyennant  $10^4$  évènements de création de trous. Les lignes horizontales en pointillés délimitent un temps de création de l'ordre 100 à 1000 au, ce qui correspondrait à quelques minutes si le temps caractéristique  $\tau$  serait de l'ordre de la seconde.

Comme le montre la Figure A.4, l'énergie  $\Delta G_{\text{tot}}^D$  est un facteur plus déterminant envers le temps moyen de création de défaut, par rapport au coefficient de contraste  $\eta$ . Bien que cette énergie n'est jamais été mesurée expérimentalement, de nombreux modèles numériques l'ont comme paramètre afin de calibrer la dynamique de leur réseau. Cependant l'intervalle de valeurs pour  $\Delta G_{\text{tot}}^D$  peut aller de quelques unités à plusieurs dizaines de  $k_B T$  [137]. Nous décidons donc de reprendre la valeur fixée par un modèle développé par Karin John dans un article récent [51], soit  $\Delta G_{\text{tot}}^D = 45 k_B T$ . De plus, cela permet d'obtenir un temps moyen  $\langle \tau_d \rangle$  de création de défaut de l'ordre de quelques minutes pour un réseau de  $10 \mu\text{m}$  (à condition que  $\tau \sim 1\text{s}$ ), ce qui correspond à l'ordre de grandeur obtenu lors des expériences *in-vitro* [7, 51].

## A.2.2 Mesure du temps caractéristique

Nous allons à présent présenter les différences que le choix du modèle d'anisotropie implique sur la mesure du temps caractéristique. Pour rappel, nous avons vu dans la section 3.1.2 que le temps caractéristique  $\tau$  est défini comme l'inverse de la constante de détachement  $k_{\text{off}}^*$  à l'extrémité (+) pour une tubuline-GTP avec un voisin longitudinal et un latéral, eux aussi tubuline-GTP. Nous souhaitons ici faire une estimation de ce temps  $\tau$ . Pour cela nous avons fait le choix de comparer les mesures des vitesses de croissance  $v_g$  et d'effondrement  $v_s$  à des mesures expérimentales. En effet, par analyse dimensionnelle nous remarquons que  $\tau$  correspond au nombre de secondes par unité de temps arbitraire ( $\text{s/au}$ ). Il est alors possible d'obtenir une estimation de ce temps caractéristique en mesurant le rapport entre une vitesse mesurée *in-vitro* (c'est-à-dire expérimentalement) et celle mesurée *in-silico* (c'est-à-dire avec une simulation kMC). Pour cela, nous nous référons aux mesures effectuées par Schaedel et al. [51], ainsi pour une concentration de

$c = 20 \mu M$  la vitesse de polymérisation est de  $v_p \sim 2 \mu m/min \simeq 4.2 \text{ site}/s$  et dix fois plus grande pour la vitesse de dépolymérisation ( $v_s \sim 20 \mu m/min \simeq 42 \text{ site}/s$ ).

$$\tau := \frac{? v_g^{\text{kMC}}}{v_g^{\text{exp}}} \quad (\text{croissance}) \quad (\text{A.4})$$

$$\tau := \frac{? v_s^{\text{kMC}}}{v_s^{\text{exp}}} \quad (\text{effondrement}) \quad (\text{A.5})$$

Cependant laquelle des deux définitions devons-nous choisir? Comme  $v_g$  et  $v_s$  varient en fonction du coefficient d'anisotropie  $\gamma_D$  et du modèle d'anisotropie choisi, nous définissons notre estimation du temps caractéristique de manière *ad-hoc*. Nous évaluons donc l'influence des deux définition du temps caractéristique dans chaque cas de figure ( $v_g$  vs.  $v_s$  et  $\gamma_D = \gamma_T$  vs  $\gamma_D > \gamma_T$ ).

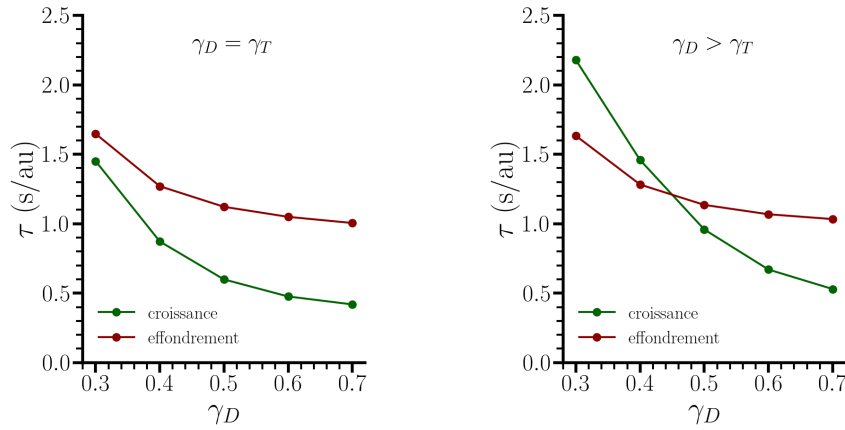


FIGURE A.5 – Mesures du temps caractéristique  $\tau$  en fonction du coefficient  $\gamma_D$  d'anisotropie suivant différentes définitions pour les deux modèles d'anisotropie [voir Eqs. (A.4)-(A.5)].

Idéalement les deux définitions du temps caractéristique à partir de la vitesse de croissance et d'effondrement devraient donner une estimation identique. Or nous constatons, que les deux courbes s'intersectent en  $\gamma_D = 0.3$  pour le modèle d'anisotropie  $\gamma_D = \gamma_T$  et en  $\gamma_D = 0.45$  pour le modèle  $\gamma_D > \gamma_T$  (voir Figure A.5). Toutefois, le coefficient d'anisotropie  $\gamma_D$  influence également la dynamique de fracture. En particulier, la longueur de fracture est d'autant plus grande que l'anisotropie est forte (ou que le coefficient  $\gamma_D$  est petit). À l'aide de simulations kMC, nous avons mesuré que la longueur moyenne de fracture, à partir d'un défaut initial et en absence de tubulines-GTP en solution ( $k_{\text{on}} = 0$ ) est supérieur à  $20 \mu m$  pour  $\gamma_D = 0.3$  alors qu'il est de l'ordre de  $5 \mu m$  pour  $\gamma_D = 0.5$  (voir Figure A.6). Or, l'avantage d'une telle mesure est qu'elle soit indépendante du modèle d'anisotropie (car il n'y a que des tubulines-GDP présente dans le réseau), ce qui nous permet d'isoler l'impact du coefficient d'anisotropie pour les tubulines-GDP uniquement.

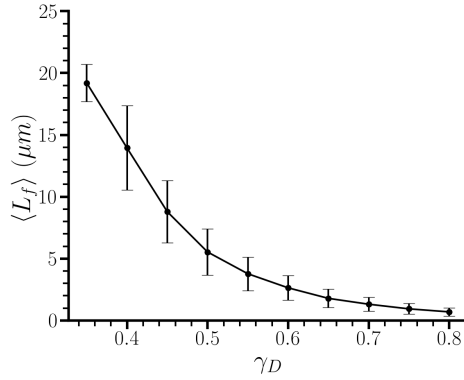


FIGURE A.6 – Mesure de la longueur moyenne de fracture  $\langle L_f \rangle$  en fonction du coefficient d’anisotropie  $\gamma_D$ . Chaque point représente une moyenne sur un ensemble de 1000 simulations kMC avec comme configuration initiale un réseau long de  $20 \mu$  et un défaut positionné à mi-longueur et sur un protofilament au hasard.

Ce résultat nous indique qu’il est préférable, par soucis de cohérence des mesures, de favoriser le second modèle d’anisotropie afin d’avoir de manière simultanée un ordre de grandeur pour les vitesses de croissance et d’effondrement identique aux mesures expérimentales, ainsi qu’une longueur de fracture qui est de l’ordre de quelques micromètres seulement. Par conséquent, nous avons utilisé, tout au long des Chapitres 4 et 5, le modèle d’anisotropie  $\gamma_D > \gamma_T$  avec une valeur du coefficient d’isotropie pour les dimères de tubuline-GDP de 0.5. Le choix de fixer  $\gamma_D$  à 0.5 plutôt qu’à 0.45 afin d’une longueur de fracture plus raisonnable ( $\langle L_f \rangle \sim 5 \mu\text{m}$ ).

### A.2.3 Ajustement de la constante d’hydrolyse et du coefficient de contraste

Pour ajuster au mieux les deux dernières constantes du réseau, que sont la constante de réaction  $k_h$  et le coefficient de contraste  $\eta$ , nous avons étudié leur impact respectif sur la dynamique du réseau.

Comme la constante de réaction d’hydrolyse impacte uniquement la dynamique des tublines-GTP nous considérons son influence sur les observables liées à la fracture ou à la dynamique d’effondrement négligeable, car au sein de ces configurations aucun dimère-GTP n’est présent. Néanmoins, cette constante joue un rôle prépondérant dans l’intégrité de la coiffe de tubuline-GTP. En effet, le réseau ne peut être en phase de croissance uniquement lorsque celui-ci est coiffé de plusieurs rangées de tubulines-GTP à son extrémité (+). La constante  $k_h$  peut être interprétée physiquement comme étant l’inverse du temps moyen sur lequel un dimère-GTP intégré au réseau [avec au moins un voisin dans la direction (+)] va changer de conformation (dimère-GTP  $\rightarrow$  dimère-GDP). Ainsi, plus la constante  $k_h$  est petite plus stable sera la coiffe et moins le réseau sera soumis à des événements de catastrophe. À l’inverse, plus la constante  $k_h$  est élevée, plus l’intégrité de la coiffe de dimère-GTP sera instable, et par conséquent, plus le réseau sera sujet à des événements de catastrophes. Dès lors, nous anticipons que la constante de réaction  $k_h$  a un impact majeur sur la fréquence  $f_c$  de catastrophe et très peu sur la vitesse  $v_g$  de croissance. Comme nous le constatons avec la Figure A.7, ces deux résultats ont bien été corroborés avec des mesures obtenues par simulations kMC.

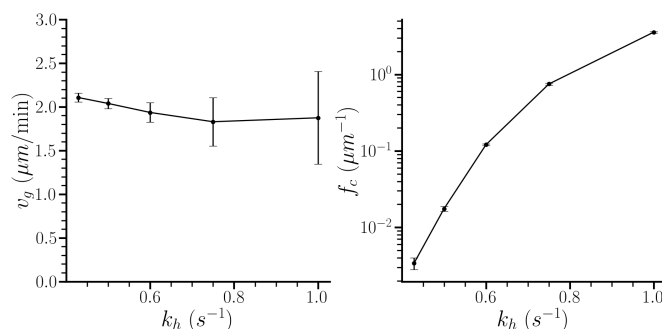


FIGURE A.7 – Observables liées à la croissance d’un réseau en fonction de la constante  $k_h$  d’hydrolyse. À gauche la vitesse  $v_g$  de polymérisation et à droite la fréquence  $f_c$  de catastrophe. Les paramètres du réseau sont  $\{\Delta G_{\text{tot}}^D = 45 k_b T, \gamma_D = 1/2, \eta = 1.28\}$ . Chaque point est obtenu à partir d’une moyenne effectuée sur 1000 simulations Monte Carlo cinétique.

Toutefois, nous avons décidé de ne pas fixer la constante  $k_h$  de manière *ad-hoc*, c’est-à-dire à partir de nos mesures numériques, mais en reprenant une valeur adoptée dans de récents modèles similaires [51, 114], à savoir  $k_h = 3/5 \text{ s}^{-1}$ . Avec une telle valeur, comme l’évènement d’hydrolyse suit une loi exponentielle (voir section 2.1.2) il y aura 50 % des tubulines-GTP complètement intégrées au réseau qui adopteront une conformation de tubuline-GDP après un temps moyen d’environ 1.66 s et 98 % des tubulines-GTP après  $5 \cdot k_h^{-1} \simeq 8.3 \text{ s}$ . De plus, nous anticipons que pour une vitesse de croissance de  $2 \mu\text{m}/\text{min}$  (soit  $\sim 4$  dimères par seconde) la coiffe de tubulines-GTP s’étalera sur une trentaine de tubulines de long ( $v_g \cdot 5k_h^{-1}$ ), de plus la majorité des tubulines-GTP qui composent la coiffe sera présente sur environ les 6 premières rangées sur réseau ( $v_g \cdot k_h^{-1}$  avec la vitesse  $v_g$  exprimée en dimère/s). La Figure A.8 illustre ce calcul d’ordre de grandeur. En fixant  $k_h = 3/5 \text{ s}^{-1}$ , nous observons bel et bien un phénomène d’instabilité dynamique caractéristique des microtubules (voir Figure 3.2).

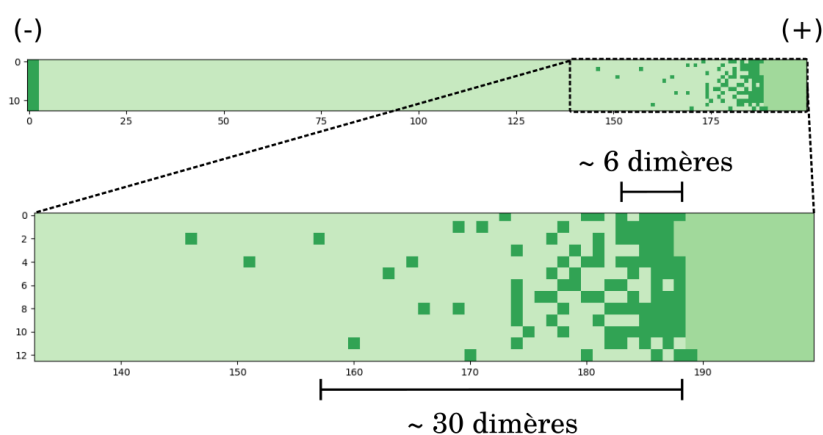


FIGURE A.8 – Illustration de la taille caractéristique d’une coiffe de dimères-GTP avec une constante d’hydrolyse à  $k_h = 3/5 \text{ s}^{-1}$  pour un réseau ayant une vitesse de polymérisation de  $2 \mu\text{m}/\text{min}$ . Lorsque le MT est en phase de croissance, de l’extrémité (-) vers l’extrémité (+), la coiffe de dimères-GTP s’étale sur une longue caractéristique limitée par la constante d’hydrolyse  $k_h$  (voir texte).

Quand au coefficient  $\eta$ , cette constante participe à la définition des énergies de liaison entre les tubulines. Ainsi nous anticipons que l'impact sur la vitesse de polymérisation sera négligeable. En effet, la vitesse de polymérisation peut être décrite comme le résultat d'une compétition entre la constante de détachement  $k_{\text{off}}^*$  d'une tubuline-GTP à l'extrémité et la constante d'attachement  $k_{\text{on}}$  d'un dimère-GTP. Or, la constante d'attachement  $k_{\text{on}}$  est indépendante du coefficient  $\eta$  et la constante  $k_{\text{off}}^*$  est fixée à partir du temps caractéristique  $\tau$ . À l'inverse, nous anticipons un impact considérable sur la vitesse de dépolymérisation, car cette dernière est définie à partir de la constante de détachement  $k_{\text{off}}(\Delta G_b)$ . Or, plus  $\eta$  est grand, plus la différence  $\Delta G_b - \Delta G_b^*$  est petite, et par conséquent, plus la constante de réaction  $k_{\text{off}}(\Delta G_b)$  est grande [voir Eq. (3.3)]. Comme il en est de même pour  $k_{\text{off}}(\Delta G_b = \Delta G_{\text{tot}}^D)$ , cela signifie que le temps moyen de création de défaut devrait être plus petit à mesure que  $\eta$  croît. Ces conjectures sont bien confirmées par les résultats obtenus numériquement (voir Figure A.9 et Figure A.4).

Le coefficient de contraste  $\eta$  n'est autre que le rapport de l'énergie totale d'interaction d'une tubuline-GTP ( $\Delta G_{\text{tot}}^T$ ) et de l'énergie totale d'interaction d'une tubuline-GDP ( $\Delta G_{\text{tot}}^D$ ) [voir Eq. (3.8)], il suffirait de connaître  $\Delta G_{\text{tot}}^T$  pour calibrer cette constante. Néanmoins, ce coefficient ne peut pas être calibré à partir de mesures *in-vitro* car il n'existe pas, à ce jour, de mesures qui fassent consensus pour l'énergie d'interaction d'une tubuline-GTP au sein d'un réseau de tubulines-GTP. Par conséquent, nous avons fixé la valeur à  $\eta = 1.28$  afin que la vitesse de dépolymérisation soit de l'ordre de  $20 \mu\text{m}/\text{min}$ , ce qui correspond à l'ordre de grandeur observé *in-vitro* [3].

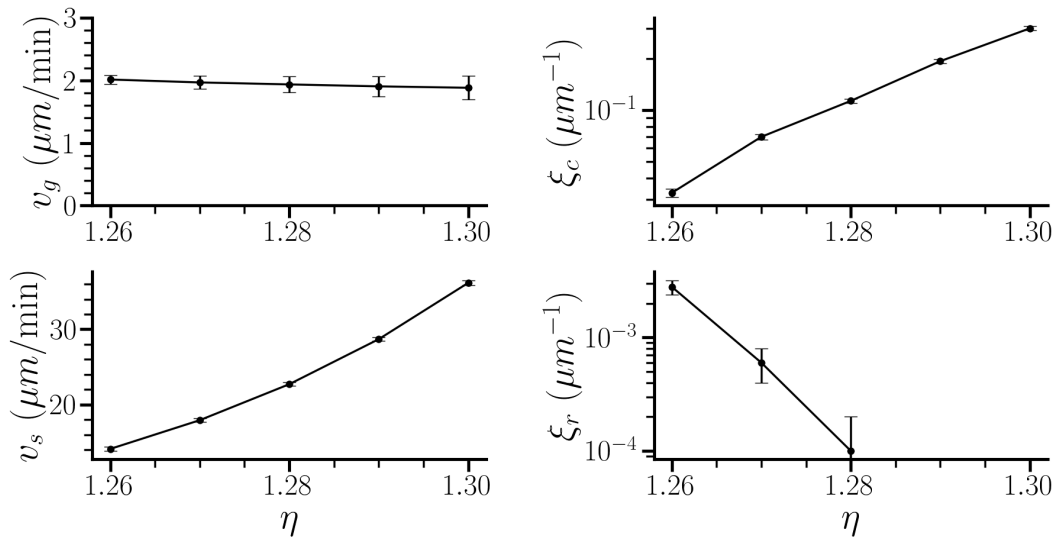


FIGURE A.9 – Observables liées à la croissance d'un réseau en fonction du coefficient de contraste  $\eta$ . La première ligne met en évidence l'influence de ce coefficient sur les observables liées à la croissance (vitesse  $v_g$  de polymérisation, à gauche, et fréquence  $f_c$  de catastrophe, à droite). Quant à la seconde ligne, ce sont les observables liées à l'effondrement (vitesse  $v_s$  de dépolymérisation, à gauche, et fréquence  $f_r$  de sauvetage, à droite). Les paramètres du réseau sont  $\{\Delta G_{\text{tot}}^D = 45 k_B T, \gamma_D = 1/2, k_h = 3/5 \text{ s}^{-1}\}$ . Chaque point est obtenu à partir d'une moyenne sur 1000 simulations Monte Carlo cinétique.

Pour résumer, nous avons calibré le modèle MoTub afin d’obtenir une dynamique du réseau similaire à celle d’un MT *in-vitro*. Pour cela, nous avons décidé que le terme stabilisant les contacts entre tubulines-GTP soit uniquement distribué sur les liaisons longitudinales [voir Eq. (3.9)]. Puis, nous avons ajusté un ensemble de constantes  $\{\Delta G_{\text{tot}}^D = 45k_B T, \gamma_D = 1/2, \eta = 1.28, k_h = 3/5 s^{-1}\}$  pour produire une dynamique de réseau en fonction de  $k_{\text{on}}$  qui s’apparente à une dynamique d’un microtubule en fonction de la concentration de tubuline-GTP (voir Figure 3.2).

Ce choix permet d’obtenir une estimation du temps caractéristique  $\tau$  de 1 s (voir Figure A.5). Ainsi, pour un tel réseau et lorsque nous fixons la constante d’attachement  $k_{\text{on}} = 20 s^{-1}$ , nous obtenons un ensemble de mesures cohérentes avec l’ordre de grandeur observé expérimentalement (voir Tableau A.1). Toutefois, il est important de remarquer de l’impossibilité de comparer quantitativement les fréquences de catastrophe et de sauvetage obtenues numériquement et celles obtenues expérimentalement. De fait la composition de la solution-tampon a un impact majeur sur ces fréquences, or dans le modèle MoTub nous avons complètement négligé ces effets.

Observables	MoTub	<i>In-Vitro / In-Silico</i>
$v_g$ ( $\mu\text{m}/\text{min}$ )	$1.9 \pm 0.1$	$\sim 2$ [3]
$v_s$ ( $\mu\text{m}/\text{min}$ )	$22.7 \pm 0.2$	$\sim 20$ [3]
$f_c$ ( $\mu\text{m}^{-1}$ )	$0.113 \pm 0.003$	$2.6 - 0.2$ [114]
$f_r$ ( $\mu\text{m}^{-1}$ )	$0.00031 \pm 0.00006$	$0.1 - 0.025$ [3, 114]
$\langle \tau_d(L = 10 \mu\text{m}) \rangle$ ( <i>min</i> )	$11.1 \pm 0.1$	?
$\langle \tau_f \rangle$ ( <i>min</i> )	$3.5 \pm 0.8$	?
$\langle L_f \rangle$ ( $\mu\text{m}$ )	$6 \pm 2$	?
$\langle \tau_b(L = 10 \mu\text{m}) \rangle$ $= \langle \tau_d(L = 10 \mu\text{m}) \rangle + \langle \tau_f \rangle$ ( <i>min</i> )	$14.6 \pm 0.9$	$13 \pm 3$ [7]

TABLEAU A.1 – Comparaison des mesures caractérisant la dynamique d’un microtubule entre celles obtenues avec modèle MoTub et celles obtenues expérimentalement (*in-vitro*) ou numériquement (*in-silico*). Ici le modèle MoTub est calibré par l’ensemble de paramètres suivant :  $\{\Delta G_{\text{tot}}^D = 45k_B T, \gamma_D = 1/2, \eta = 1.28, k_h = 3/5 s^{-1}\}$  donnant ainsi un temps caractéristique  $\tau = 1 s$ .





# B

## Description de l'état stationnaire d'un flux de moteurs processifs

### Sommaire

---

<b>B.1</b>	<b>Mise à l'équilibre d'un flux de moteurs . . . . .</b>	<b>120</b>
<b>B.2</b>	<b>Proportions de tubulines non bloquées en absence de défaut . . . . .</b>	<b>121</b>
<b>B.3</b>	<b>Proportions de tubulines non bloquées en présence d'un défaut . . . . .</b>	<b>122</b>

---

Nous présentons dans cette annexe des résultats complémentaires afin de décrire dans quelle limite l'impact d'un flux de moteurs processifs peut être considéré comme effectif vis-à-vis de la dynamique des dimères de tubulines et la méthodologie employée pour décrire le flux de moteurs de manière effective. Pour cela nous traitons deux cas de figures : Le flux de moteurs est selon un réseau 1D périodique soit (i) intact (sans défaut) ou (ii) ayant un défaut qui interrompt le flux.

## B.1 Mise à l'équilibre d'un flux de moteurs

La description effective d'un flux de moteurs repose l'hypothèse suivante : le flux de moteurs atteint un état stationnaire plus rapidement que le temps caractéristique associé à la dynamique des tubulines. Cet état stationnaire est caractérisé par la fluctuation autour d'une valeur moyenne de la densité de moteurs, notée  $\rho_s$ . Nous désignons le temps de mise à l'équilibre  $t_{eq} \simeq (k_-)^{-1}$  et nous définissons le temps caractéristique de la dynamique des tubulines le long du réseau comme le temps de détachement moyen noté  $\langle \tau_d \rangle$ . De plus, ce temps caractéristique des tubulines marque le passage d'un réseau 1D intact à un réseau 1D présentant un obstacle au flux de moteurs de par la présence d'un défaut le long du protofilament. Ainsi, pour que l'hypothèse soit valide il nous faut s'assurer que  $t_{eq} \ll \langle \tau_d \rangle$ . Bien que  $\langle \tau_d \rangle$  soit dépendant de la taille du réseau [voir Eq. (A.3)], nous considérons ici qu'il est de l'ordre de plusieurs minutes lorsque la longueur du réseau est supérieur à  $10 \mu\text{m}$ . Pour les kinésines (dynéines) avec  $k_- = 1 \text{ s}^{-1}$  ( $k_- = 0.1 \text{ s}^{-1}$ ), nous trouvons que  $t_{eq} = 1 \text{ s}$  ( $t_{eq} = 10 \text{ s}$ ). Par conséquent, l'hypothèse  $t_{eq} \ll \langle \tau_d \rangle$  reste valide pour ces deux types de moteurs. Afin de s'assurer qu'en présence d'un défaut, le flux de moteurs ne modifie pas la nature de la dynamique de détachement des dimères nous avons vérifié que la nature de la distribution des temps de détachement pour les dimères adjacents au défaut n'est pas modifiée par la présence de moteurs. Cela signifie que nous devons vérifier que cette distribution suit effectivement une loi exponentielle. Or à l'aide de simulations kMC, nous avons bien obtenu un résultat qui corrobore cette hypothèse (voir Figure B.1).

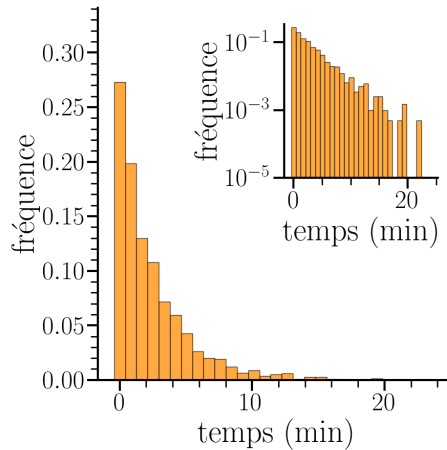


FIGURE B.1 – *Distribution de temps de détachement pour un tubuline en amont d'un défaut en présence d'une densité  $\rho_s = 0.1$  de kinésines-1, avec une pénalité de  $\Delta G_p = 2 k_B T$ . Le graphique inséré est la même distribution mais en échelle semi-log afin de mettre en avant que la distribution des temps de détachements suit une loi exponentielle.*

## B.2 Proportions de tubulines non bloquées en absence de défaut

Au sein de la section 3.4, nous avons fait mention qu'il est possible de définir une version effective du modèle MoTub. Cette version décrit la dynamique des dimères de tubulines en considérant un impact effectif de moteurs. Cela signifie simplement que la constante de détachement  $k_{\text{off,eff}}$  est le produit de la constante de détachement en l'absence de moteurs  $k_{\text{off}}$  et d'un facteur qui dépend des propriétés des moteurs, noté  $\Lambda$ . Nous avons vu avec l'Eq. (3.25) que le facteur  $\Lambda$  se décompose en deux sous-contributions : celle des dimères excités et celle des dimères non-excités qui peuvent sortir du réseau – décrites respectivement par les proportions  $c_e$  et  $c_g$ . Dans la section 4.1 nous démontrons, à l'aide d'un modèle à 2-états, l'évaluation théorique de ces proportions. Ici, l'enjeu est d'obtenir à l'aide de fonctions d'ajustement, les mesures numériques, désignées  $c_e$  et  $c_g$ , qui dépendent du flux de moteurs  $\phi_s$  et de la densité de moteurs  $\rho_s$ . La source d'inspiration pour ces fonctions d'ajustement provient de la cinétique de Michaelis-Menten [139]. Chaque état (excité/non-excité) est définie à partir de la densité  $\rho_s$  et du flux  $\phi_s$  de moteurs à l'état stationnaire et de deux paramètres notés  $A$  et  $B$  comme suit :

$$\begin{cases} c_e = (1 - 2\rho_s) \left[ \frac{A \cdot \phi_s}{A \cdot \phi_s + 1} + B \cdot \rho_s \right] \\ c_g = (1 - 2\rho_s) \left[ 1 - \frac{A \cdot \phi_s}{A \cdot \phi_s + 1} - B \cdot \rho_s \right] \end{cases} \quad (\text{B.1})$$

La mesure numérique des probabilités  $c_e$  et  $c_g$  s'effectue en estimant, pour un site non recouvert par un moteur, le rapport entre le temps passé dans l'état excité (resp. non-excité) et le temps total de simulation [voir Eq. (B.2)].

$$c_e = \lim_{t \rightarrow \infty} \frac{t_e}{t} \quad (\text{B.2})$$

$$c_g = \lim_{t \rightarrow \infty} \frac{t_g}{t} \quad (\text{B.3})$$

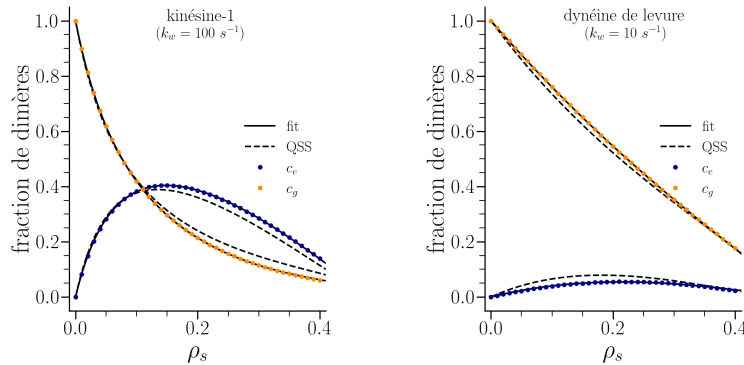


FIGURE B.2 – Mesures des proportions  $c_e$  et  $c_g$  en fonction de la densité moyenne de moteurs  $\rho_s$ . Chaque point est une moyenne obtenue à partir de  $10^4$  simulations. La courbe noire montre les fonctions d'ajustement en absence de défaut (Eq. B.1), et la courbe en pointillés trace l'expression théorique [Eq. (4.9)]. Pour des kinésines-1 (à gauche) les coefficients pour la fonction fit sont ( $A = 0.094$  s,  $B = 0.658$ ). Pour des dynéines de levure (à droite) les coefficients pour la fonction fit sont ( $A = 0.023$  s,  $B = 0.788$ ).

À l'égard de la Figure B.2, nous constatons que les fonctions d'ajustement (Eq. B.1) sont en mesure de trouver des valeurs pour les paramètres  $A$  et  $B$  qui s'accordent avec les mesures numériques des proportions  $c_e$  et  $c_g$ . L'avantage d'une telle méthode est le fait que cela réduit le temps de calcul en amont nécessaire pour réaliser des simulations kMC du modèle MoTub effectif. En effet, si nous souhaitons obtenir la valeur de la contribution  $\Lambda$  pour des moteurs à une densité donnée, il faut effectuer une mesure au préalable pour l'estimer et ainsi l'employer dans la constante de réaction de détachement des moteurs. Et cela pour chaque densité moyenne. À l'inverse, en utilisant la méthode des fonctions d'ajustement, il suffit d'effectuer cette mesure sur un nombre réduit de valeurs de densité moyenne afin d'obtenir une estimation des paramètres  $A$  et  $B$  (propre au type de moteur). Ainsi, par ajustement nous sommes en mesure d'extrapoler avec précision la valeur de la contribution  $\Lambda$  pour toute densité moyenne. Toutefois, la limite d'une telle méthode se situe dans notre incapacité à interpréter le sens physique des paramètres ( $A$  et  $B$ ) associés aux fonctions d'ajustement.

### B.3 Proportions de tubulines non bloquées en présence d'un défaut

Maintenant que nous avons étudié la mise en place de l'état stationnaire pour un flux de moteurs processifs, nous nous focalisons sur l'impact de la présence d'un défaut le long d'un protofilament.

Lorsqu'un défaut est présent le long d'un protofilament, la symétrie de translation du système est brisée, et par conséquent, la densité et le flux deviennent dépendant de la position le long du réseau. Soit un flux de moteurs processifs à l'état stationnaire, et l'apparition d'un défaut, à la position  $x_d$ , imposant une condition limite telle que  $\rho(x_d) = \phi(x_d) = 0$ . Dans ce cas de figure, la mesure d'ensemble de la densité  $\rho(t)$  n'a plus de sens, car il faut mesurer la densité en fonction de la position au sein du réseau. Nous commençons donc par dessiner ce profil de densité. Pour obtenir le profil de densité, il est nécessaire de définir la densité moyenne de moteurs au site  $x$  comme le rapport du temps pendant lequel la tête avant d'un moteur est présente au site  $x$ , notée  $t_{fh}$  (fh pour *front head*) et du temps total  $t$  lorsque celui-ci tend vers l'infini :

$$\langle \rho(x) \rangle_t = \lim_{t \rightarrow \infty} \frac{t_{fh}}{t} \quad (\text{B.4})$$

En effectuant une statistique sur dix profils de densité pour différentes valeurs de densité  $\rho_s$  à l'état stationnaire (avant l'apparition du défaut) nous pouvons distinctement observer l'impact du défaut. À l'aide de la Figure B.3, nous observons une réduction de la densité de moteur pour les sites se situant en aval du défaut ( $x > x_d$ ), car le flux a été rompu. Cela crée donc une zone de déplétion de moteurs, qui est d'autant plus grande que la densité  $\rho_s$  est petite.

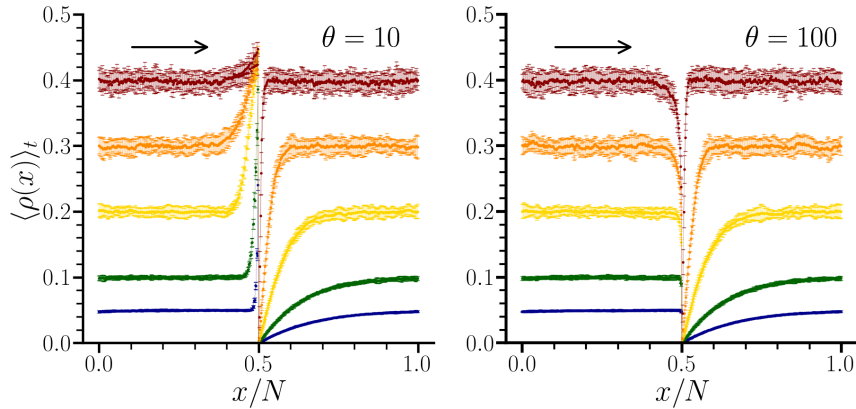


FIGURE B.3 – Profil de densité pour un réseau 1D composé de  $N$  sites avec un défaut positionné à  $x = N/2$ . Chaque courbe est un profil de densité pour différentes valeurs de densité  $\rho_s$  à l'état stationnaire. Le paramètre  $\theta$  est fixé à 10 pour le graphique de gauche et à 100 pour celui de droite. Chaque point est une moyenne sur 10 simulations pour lesquelles la densité a été mesurée sur un intervalle de temps de  $100/k_+$  avec  $k_+$  calculé à partir de l'Eq. (3.13). Comme l'indique la flèche noire, les moteurs se déplacent vers le  $x$  croissant.

Par contre, l'influence du défaut sur la densité de moteurs pour les sites en amont du défaut ( $x < x_d$ ) est dépendante du paramètre  $\theta$  (où  $k_-^E = \theta k_-$  désigne le taux de détachement de moteurs à l'extrémité du protofilament, voir Fig. B.3). Nous observons que lorsque  $\theta$  est suffisamment faible (par exemple pour  $\theta = 10$ ) une zone d'embouteillage est présente en amont du défaut. Celle-ci est d'autant plus grande que la densité  $\rho_s$  est élevée. À l'inverse, lorsque  $\theta$  est suffisamment grand (par exemple pour  $\theta = 100$ ), une zone de déplétion de moteurs est visible en particulier lorsque la densité  $\rho_s$  est élevée (voir courbes avec  $\rho_s > 0.3$  sur le graphique de droite de la Figure B.3). Il est intéressant de noter que notre système, à savoir un réseau périodique 1D avec un flux de moteurs processif et un obstacle à mi-longueur, est analogue à un système TASEP-2 avec une cinétique de Langmuir pour lequel nous fixons le flux de sortie à 0. Ce type de système a été étudié théoriquement par Pierobon et al. [140]. Mais nous n'avons pas su reprendre leurs résultats afin d'obtenir une expression théorique de la densité (et du flux) au site en amont du défaut, ce qui aurait pu permettre de dériver une expression théorique du couple  $c_e$  et  $c_g$  pour le dimère en amont du défaut. Toutefois, nous avons obtenu cette mesure par simple tabulation en fonction du type de moteurs et de la densité moyenne.

Néanmoins tabulation du couple de proportions des dimères dont le détachement est autorisé en amont du défaut peut s'effectuer numériquement. Pour cela, nous avons mesuré numériquement la probabilité de chacun des états pour le dimère en amont du défaut ( $x = x_d - 1$ ) et nous avons défini la probabilité  $c_e^u$  (resp.  $c_g^u$ ) comme la somme des probabilités des états excités (resp. non-excité) en absence de moteur *et* en présence de la tête arrière du moteur. Cette seconde condition provient du fait que dans le modèle Mo-Tub nous considérons que le moteur n'ayant qu'une unique tête attachée au réseau, le dimère sous-jacent est en capacité de se détacher. Or nous retrouvons bien ce cas lorsque le moteur fait face à un défaut (voir Figure 3.6a). Pour chaque mesure, nous effectuons un moyenne temporelle [similaire à l'Eq. (B.4)] avec une condition d'arrêt atteinte lorsque

1000 détachements en amont du défaut sont enregistrés.

Concernant les fonctions d'ajustement pour évaluer  $c_e^u$  et  $c_g^u$ , nous avons remarqué que l'ajustement est plus performant si une distinction est faite en fonction de la valeur de  $\theta$ . En effet comme nous l'avons vu sur la Figure B.3, en amont du défaut le profil de densité est dépendant de la valeur de  $\theta$ . Si la valeur est basse ( $\theta = 10$ ), un embouteillage est présent en amont du défaut, alors qu'une zone de déplétion est visible lorsque  $\theta$  est élevée ( $\theta = 100$ ). Ainsi dans le premier cas ( $\theta = 10$ ), nous utilisons les fonctions d'ajustement suivantes :

$$c_e^u = A \tanh(B\rho_s) + C \tanh(D\rho_s) \quad (\text{B.5})$$

$$c_g^u = 1 - A' \tanh(B'\rho_s) - C' \tanh(D'\rho_s) \quad (\text{B.6})$$

Alors que dans le second ( $\theta = 100$ ), ce sont les fonctions d'ajustement suivantes qui sont employées :

$$c_e^u = [1 - A \tanh(B\rho_s)] \frac{C\rho_s}{D + \rho_s} \quad (\text{B.7})$$

$$c_g^u = [1 - A' \tanh(B'\rho_s)] \left( 1 - \frac{C'\rho_s}{D' + \rho_s} \right) \quad (\text{B.8})$$

La Figure B.4 montre les résultats numériques en comparaison avec les fonctions d'ajustement.

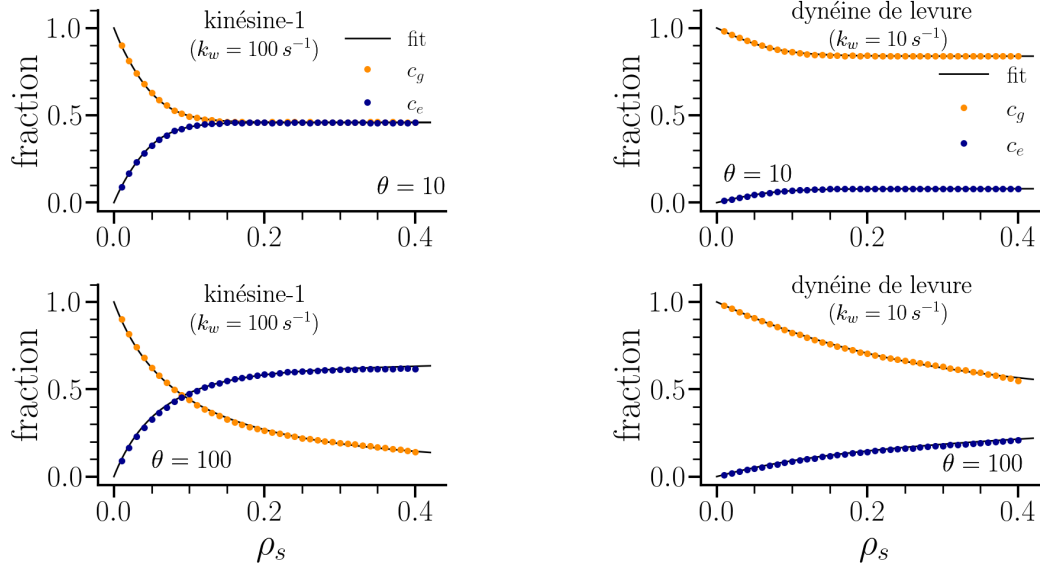


FIGURE B.4 – Fractions des états excités et non-excités pour un dimère en amont du défaut et pouvant se détacher du réseaux. Chaque graphique est associé à un type de moteur (kinésine-1 sur la colonne de gauche et dynéine de levure sur celle de droite) et à une valeur de la constante  $\theta$  ( $\theta = 10$  sur la ligne du haut, et  $\theta = 100$  sur la ligne du bas). La courbe noire correspond à celle obtenue à partir des fonctions d'ajustement correspondante [voir Eq. (B.5)-(B.8)].

Ici encore, les expressions ont été construites *ad hoc* afin que l'ajustement de ces fonctions avec les mesures numériques soit juste. Nous héritons donc de la même limite que pour les

fonctions d'ajustement en absence de défaut, à savoir que nous sommes incapables de dériver théoriquement ces expressions et d'interpréter physiquement les paramètres. Cependant, nous retrouvons également les mêmes avantages ; cette méthode permet d'évaluer la contribution  $\Lambda$  des moteurs pour un dimère en amont d'un défaut à partir d'un ensemble réduit de mesures en fonction de la densité de moteurs  $\rho_s$ , diminuant ainsi considérablement le temps de calcul en amont nécessaire pour effectuer des simulations du modèle MoTub-effectif.





# Bibliographie

- [1] M.-F. Carrier, “Guanosine-5’-triphosphate hydrolysis and tubulin polymerization.” *Molecular and Cellular Biochemistry*, vol. 47, no. 2, pp. 97–113. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1007/bf00234410>
- [2] T. J. Mitchison and M. W. Kirschner, “Dynamic instability of microtubule growth,” *Nature*, vol. 312, no. 5991, pp. 237–242. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1038/312237a0>
- [3] R. A. Walker, E. T. O’Brien, N. K. Pryer, M. F. Soboeiro, W. A. Voter, H. P. Erickson, and E. D. Salmon, “Dynamic Instability of Individual Microtubules Analyzed by Video Light Microscopy : Rate Constants and Transition Frequencies,” *Journal of Cell Biology*, vol. 107, no. 4, pp. 1437–1448. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1083/jcb.107.4.1437>
- [4] J. Howard and A. A. Hyman, “Dynamics and mechanics of the microtubule plus end,” *Nature*, vol. 422, no. 6933, pp. 753–758. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1038/nature01600>
- [5] C. Duellberg, N. I. Cade, D. Holmes, and T. Surrey, “The size of the EB cap determines instantaneous microtubule stability,” *eLife*, vol. 5. [Online]. Available : <https://doi.org/10.7554/elife.13470>
- [6] A. Aher and A. Akhmanova, “Tipping microtubule dynamics, one protofilament at a time.” *Current Opinion in Cell Biology*, vol. 50, pp. 86–93. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2018.02.015>
- [7] S. Triclin, D. Inoue, J. Gaillard, Z. M. Htet, M. E. DeSantis, D. Portran, E. Derivery, C. Aumeier, L. Schaedel, K. John, C. Leterrier, S. L. Reck-Peterson, L. Blanchoin, and M. Théry, “Self-repair protects microtubules from destruction by molecular motors,” *Nature Materials*, vol. 20, no. 6, pp. 883–891. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1038/s41563-020-00905-0>
- [8] Andreu-Carbo, F. S, M.-C. Velluz, K. Kruse, and C. Aumeier, “Motor usage imprints microtubule stability in the shaft,” *bioRxiv*. [Online]. Available : <http://dx.doi.org/10.1101/2021.04.09.439170>
- [9] B. G. Budaitis, S. Badiyan, Y. Yue, T. L. Blasius, D. N. Reinemann, M. J. Lang, M. A. Cianfrocco, and K. J. Verhey, “A kinesin-1 variant reveals motor-induced microtubule damage in cells,” *Current Biology*. [Online]. Available : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960982222005899>
- [10] W. Lecompte and K. John, “Molecular motors enhance microtubule lattice plasticity,” *arXiv*. [Online]. Available : <https://arxiv.org/abs/2209.09161>
- [11] O. Valiron, N. Caudron, and D. Job, “Microtubule dynamics,” *Cellular and Molecular Life Sciences*. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1007/pl00000837>

- [12] K. Roberts, “Cytoplasmic microtubules and their functions,” *Progress in Biophysics & Molecular Biology*, vol. 28, pp. 371–420. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/0079-6107\(74\)90022-4](https://doi.org/10.1016/0079-6107(74)90022-4)
- [13] M. Kurachi, M. Hoshi, and H. Tashiro, “Buckling of a single microtubule by optical trapping forces : Direct measurement of microtubule rigidity.” *Cytoskeleton*, vol. 30, no. 3, pp. 221–228. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1002/cm.970300306>
- [14] F. Pampaloni, G. Lattanzi, A. Jonáš, T. Surrey, E. Frey, and E.-L. Florin, “Elastic properties of grafted microtubules,” *arXiv : Biomolecules*. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1073/pnas.0603931103>
- [15] F. Pampaloni and E.-L. Florin, “Microtubule architecture : Inspiration for novel carbon nanotube-based biomimetic materials,” *Trends in Biotechnology*, vol. 26, no. 6, pp. 302–310. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.03.002>
- [16] T. L. Hawkins, M. Mirigian, M. S. Yasar, and J. L. Ross, “Mechanics of microtubules,” *Journal of Biomechanics*, vol. 43, no. 1, pp. 23–30. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2009.09.005>
- [17] L. Laan, N. Pavin, J. Husson, G. Romet-Lemonne, M. van Duijn, M. P. López, R. D. Vale, F. Jülicher, S. L. Reck-Peterson, and M. Dogterom, “Cortical Dynein Controls Microtubule Dynamics to Generate Pulling Forces that Position Microtubule Asters,” *Cell*, vol. 148, no. 3, pp. 502–514. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.01.007>
- [18] M. R. K. R. P. W. J. L. Bruce Alberts, Alexander Johnson, *Molecular Biology of the Cell*, 5th ed. Garland Science. [Online]. Available : [libgen.li/file.php?md5=d1e5b44160ba912167a0db8ece6816bd](http://libgen.li/file.php?md5=d1e5b44160ba912167a0db8ece6816bd)
- [19] P. Guedes-Dias and E. L. Holzbaur, “Axonal transport : Driving synaptic function,” *Science*, vol. 366, no. 6462. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1126/science.aaw9997>
- [20] A. E. Twelvetrees, “The lifecycle of the neuronal microtubule transport machinery,” *Seminars in Cell & Developmental Biology*, vol. 107, pp. 74–81. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2020.02.008>
- [21] A. A. Hyman, “Preparation of marked microtubules for the assay of the polarity of microtubule-based motors by fluorescence.” *Journal of Cell Science*, vol. 1991, pp. 125–127. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1242/jcs.1991.supplement\\_14.25](https://doi.org/10.1242/jcs.1991.supplement_14.25)
- [22] C. Guyomar, S. Ku, S. Ku, J. Heumann, J. M. Heumann, B. C. G. Guilloux, G. Guilloux, G. N. C. Heichette, C. Heichette, L. Duchesne, M. O. Steinmetz, R. Gibeaux, and D. Chrétien, “Structural heterogeneity of the microtubule lattice,” *bioRxiv*. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1101/2021.07.14.452321>
- [23] H. Larsson, M. Wallin, and A. Edström, “Induction of a sheet polymer of tubulin by Zn<sup>2+</sup>,” *Experimental Cell Research*, vol. 100, no. 1, pp. 104–110. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(76\)90332-3](https://doi.org/10.1016/0014-4827(76)90332-3)
- [24] S. Chaaban and G. J. Brouhard, “A microtubule bestiary : Structural diversity in tubulin polymers,” *Molecular Biology of the Cell*, vol. 28, no. 22, pp. 2924–2931. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1091/mbc.e16-05-0271>

- 
- [25] R. Dallai, B. A. Afzelius, S. Lanzavecchia, P. L. Bellon, and P. L. Bellon, "Native microtubules with a variable number of protofilaments," *Cytoskeleton*, vol. 24, no. 1, pp. 49–53. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1002/cm.970240106>
- [26] S.-C. Ti, G. M. Alushin, and T. M. Kapoor, "Human beta-Tubulin Isoforms Can Regulate Microtubule Protofilament Number and Stability." *Developmental Cell*, vol. 47, no. 2, p. 175. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2018.08.014>
- [27] E. Mandelkow, R. Schultheiss, R. Schultheiss, R. Rapp, M. Müller, E.-M. Mandelkow, E. M. Mandelkow, and E. Mandelkow, "On the surface lattice of microtubules : Helix starts, protofilament number, seam, and handedness." *Journal of Cell Biology*, vol. 102, no. 3, pp. 1067–1073. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1083/jcb.102.3.1067>
- [28] S. Kamimura and R. Kamiya, "High-frequency vibration in flagellar axonemes with amplitudes reflecting the size of tubulin." *Journal of Cell Biology*, vol. 116, no. 6, pp. 1443–1454. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1083/jcb.116.6.1443>
- [29] J. B. Olmsted, J. M. Marcum, K. A. Johnson, C. Allen, C. Allen, and G. G. Borisy, "Microtubule assembly : Some possible regulatory mechanisms." *Journal of Supramolecular Structure*, vol. 2, pp. 429–450. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1002/jss.400020230>
- [30] J. B. Olmsted and G. G. Borisy, "Ionic and nucleotide requirements for microtubule polymerization in vitro." *Biochemistry*, vol. 14, no. 13, pp. 2996–3005. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1021/bi00684a032>
- [31] R. A. B. Keates, "Effects of glycerol on microtubule polymerization kinetics." *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 97, no. 3, pp. 1163–1169. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/0006-291x\(80\)91497-7](https://doi.org/10.1016/0006-291x(80)91497-7)
- [32] J. Howard and A. A. Hyman, "Preparation of marked microtubules for the assay of the polarity of microtubule-based motors by fluorescence microscopy." *Methods in Cell Biology*, vol. 39, pp. 105–113. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/s0091-679x\(08\)60164-8](https://doi.org/10.1016/s0091-679x(08)60164-8)
- [33] D. N. Drechsel and M. W. Kirschner, "The minimum GTP cap required to stabilize microtubules," *Current Biology*, vol. 4, no. 12, pp. 1053–1061. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(00\)00243-8](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(00)00243-8)
- [34] A. A. Hyman, S. Salser, D. N. Drechsel, N. Unwin, and T. J. Mitchison, "Role of GTP hydrolysis in microtubule dynamics : Information from a slowly hydrolyzable analogue, GMPCPP." *Molecular Biology of the Cell*, vol. 3, no. 10, pp. 1155–1167. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1091/mbc.3.10.1155>
- [35] A. Akhmanova and M. O. Steinmetz, "Tracking the ends : A dynamic protein network controls the fate of microtubule tips," *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, vol. 9, no. 4, pp. 309–322. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/10.1038/nrm2369>
- [36] A. J. Zwetsloot, G. Tut, and A. Straube, "Measuring microtubule dynamics," *Essays in Biochemistry*, vol. 62, no. 6, pp. 725–735. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1042/ebc20180035>
- [37] M. Martin and A. Akhmanova, "Coming into Focus : Mechanisms of Microtubule Minus-End Organization," *Trends in Cell Biology*, vol. 28, no. 7, pp. 574–588. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2018.02.011>
-

- [38] T. E. Holy and S. Leibler, “Dynamic instability of microtubules as an efficient way to search in space,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 91, no. 12, pp. 5682–5685. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1073/pnas.91.12.5682>
- [39] T. Horio and T. Murata, “The role of dynamic instability in microtubule organization,” *Frontiers in Plant Science*, vol. 5, pp. 511–511. [Online]. Available : <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00511>
- [40] M. Shokrollahi and K. Mekhail, “Interphase microtubules in nuclear organization and genome maintenance.” *Trends in Cell Biology*, vol. 31, no. 9, pp. 721–731. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2021.03.014>
- [41] W. B. Derry, W. B. Derry, L. Wilson, I. A. Khan, R. F. Ludueña, and M. A. Jordan, “Taxol Differentially Modulates the Dynamics of Microtubules Assembled from Unfractionated and Purified  $\beta$ -Tubulin Isoforms†,” *Biochemistry*, vol. 36, no. 12, pp. 3554–3562. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1021/bi962724m>
- [42] J. Ma, “Mechanism of action of antitumor drugs that interact with microtubules and tubulin.” *Current Medicinal Chemistry - Anti-cancer Agents*, vol. 2, no. 1, pp. 1–17. [Online]. Available : <https://doi.org/10.2174/1568011023354290>
- [43] T. A. Reid, C. Coombes, and M. K. Gardner, “Manipulation and quantification of microtubule lattice integrity,” *Biology Open*, vol. 6, no. 8, pp. 1245–1256. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1242/bio.025320>
- [44] I. A. T. Schaap, P. J. de Pablo, and C. F. Schmidt, “Resolving the molecular structure of microtubules under physiological conditions with scanning force microscopy.” *European Biophysics Journal*, vol. 33, no. 5, pp. 462–467. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1007/s00249-003-0386-8>
- [45] M. Théry and L. Blanchoin, “Microtubule self-repair.” *Current Opinion in Cell Biology*, vol. 68, pp. 144–154. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2020.10.012>
- [46] D. Chrétien, S. D. Fuller, and Stephen D Fuller, “Microtubules switch occasionally into unfavorable configurations during elongation.” *Journal of Molecular Biology*, vol. 298, no. 4, pp. 663–676. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1006/jmbi.2000.3696>
- [47] D. Chrétien, F. Metoz, F. Verde, E. Karsenti, and R. H. Wade, “Lattice defects in microtubules : Protofilament numbers vary within individual microtubules,” *Journal of Cell Biology*, vol. 117, no. 5, pp. 1031–1040. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1083/jcb.117.5.1031>
- [48] M. Katsuki, D. R. Drummond, and R. A. Cross, “Ectopic A-lattice seams destabilize microtubules,” *Nature Communications*, vol. 5, no. 1, pp. 3094–3094. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1038/ncomms4094>
- [49] L. Schaedel, K. John, J. Gaillard, M. V. Nachury, L. Blanchoin, and M. Théry, “Microtubules self-repair in response to mechanical stress.” *Nature Materials*, vol. 14, no. 11, pp. 1156–1163. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1038/nmat4396>
- [50] C. Aumeier, L. Schaedel, J. Gaillard, K. John, L. Blanchoin, and M. Théry, “Self-repair promotes microtubule rescue,” *Nature Cell Biology*, vol. 18, no. 10, pp. 1054–1064. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1038/ncb3406>

- 
- [51] L. Schaedel, S. Triclin, D. Chrétien, A. Abrieu, C. Aumeier, J. Gaillard, L. Blanchoin, M. Théry, and K. John, “Lattice defects induce microtubule self-renewal.” *Nature Physics*, vol. 15, no. 8, pp. 830–838. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1038/s41567-019-0542-4>
- [52] D. Seetapun, B. T. Castle, Alistair J. McIntyre, A. J. McIntyre, P. T. Tran, and D. J. Odde, “Estimating the microtubule GTP cap size in vivo.” *Current Biology*, vol. 22, no. 18, pp. 1681–1687. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.06.068>
- [53] H. Bowne-Anderson, M. Zanic, M. Kauer, and J. Howard, “Microtubule dynamic instability : A new model with coupled GTP hydrolysis and multistep catastrophe,” *BioEssays*, vol. 35, no. 5, pp. 452–461. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1002/bies.201200131>
- [54] J. S. Aparna, R. Padinhateeri, and D. Das, “Signatures of a macroscopic switching transition for a dynamic microtubule.” *Scientific Reports*, vol. 7, no. 1, p. 45747. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1038/srep45747>
- [55] C.-T. Lee and E. M. Terentjev, “Structural effects of cap, crack, and intrinsic curvature on the microtubule catastrophe kinetics.” *Journal of Chemical Physics*, vol. 151, no. 13, p. 135101. [Online]. Available : <https://doi.org/10.17863/cam.43884>
- [56] C. Mf and P. D, “Kinetic analysis of guanosine 5'-triphosphate hydrolysis associated with tubulin polymerization,” *Biochemistry*, vol. 20, no. 7, pp. 1918–1924. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1021/bi00510a030>
- [57] R. Melki, S. Fievez, and M.-F. Carlier, “Continuous monitoring of Pi release following nucleotide hydrolysis in actin or tubulin assembly using 2-amino-6-mercapto-7-methylpurine ribonucleoside and purine-nucleoside phosphorylase as an enzyme-linked assay.” *Biochemistry*, vol. 35, no. 37, pp. 12 038–12 045. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1021/bi961325o>
- [58] A. Vemu, E. Szczesna, E. A. Zehr, Jeffrey O. Spector, J. Spector, N. Grigorieff, A. M. Deaconescu, and A. Roll-Mecak, “Severing enzymes amplify microtubule arrays through lattice GTP-tubulin incorporation.” *Science*, vol. 361, no. 6404. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1126/science.aau1504>
- [59] R. P. Ron Milo, *Cell Biology by the Numbers*. Garland Science. [Online]. Available : [libgen.li/file.php?md5=777dec1fdcf4e6fe5cc6f64c668cbd18](http://libgen.li/file.php?md5=777dec1fdcf4e6fe5cc6f64c668cbd18)
- [60] W. Hua, E. C. Young, M. L. Fleming, and J. Gelles, “Coupling of kinesin steps to ATP hydrolysis,” *Nature*, vol. 388, no. 6640, pp. 390–393. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1038/41118>
- [61] N. Hirokawa, “Kinesin and Dynein Superfamily Proteins and the Mechanism of Organelle Transport,” *Science*, vol. 279, no. 5350, pp. 519–526. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1126/science.279.5350.519>
- [62] H. Miki, Y. Okada, and N. Hirokawa, “Analysis of the kinesin superfamily : Insights into structure and function.” *Trends in Cell Biology*, vol. 15, no. 9, pp. 467–476. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2005.07.006>
- [63] K. J. Verhey, J. C. Cochran, and C. E. Walczak, “The kinesin superfamily,” *Springer*, pp. 1–26. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1007/978-94-017-9732-0\\_1](https://doi.org/10.1007/978-94-017-9732-0_1)
-

- [64] K. Ogawa and H. Mohri, "A dynein motor superfamily." *Cell Structure and Function*, vol. 21, no. 5, pp. 343–349. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1247/csf.21.343>
- [65] K. Svoboda and S. M. Block, "Force and velocity measured for single kinesin molecules," *Cell*, vol. 77, no. 5, pp. 773–784. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(94\)90060-4](https://doi.org/10.1016/0092-8674(94)90060-4)
- [66] M. C. Asplund, J. A. Johnson, and J. E. Patterson, "The 2018 Nobel Prize in Physics : Optical tweezers and chirped pulse amplification," *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 411, no. 20, pp. 5001–5005. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1007/s00216-019-01913-z>
- [67] A. S. Khalil, D. C. Appleyard, A. K. Labno, A. Georges, M. Karplus, A. M. Belcher, W. Hwang, and M. J. Lang, "Kinesin's cover-neck bundle folds forward to generate force," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 105, no. 49, pp. 19 247–19 252. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1073/pnas.0805147105>
- [68] V. Belyy, N. L. Hendel, A. Chien, and A. Yildiz, "Cytoplasmic Dynein Transports Cargos via Load-Sharing between the Heads," *Nature Communications*, vol. 5, no. 1, pp. 5544–5544. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1038/ncomms6544>
- [69] S. L. Reck-Peterson, A. Yildiz, A. P. Carter, A. Gennerich, N. R. Zhang, and R. D. Vale, "Single-Molecule Analysis of Dynein Processivity and Stepping Behavior," *Cell*, vol. 126, no. 2, pp. 335–348. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.05.046>
- [70] S. M. Block, "Kinesin motor mechanics : Binding, stepping, tracking, gating, and limping." *Biophysical Journal*, vol. 92, no. 9, pp. 2986–2995. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1529/biophysj.106.100677>
- [71] A. Yildiz, M. Tomishige, R. D. Vale, and P. R. Selvin, "Kinesin Walks Hand-Over-Hand," *Science*, vol. 303, no. 5658, pp. 676–678. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1126/science.1093753>
- [72] S. M. Block, L. S. Goldstein, and B. J. Schnapp, "Bead movement by single kinesin molecules studied with optical tweezers," *Nature*, vol. 348, no. 6299, pp. 348–352. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1038/348348a0>
- [73] A. Gennerich and R. D. Vale, "Walking the walk : How kinesin and dynein coordinate their steps," *Current Opinion in Cell Biology*, vol. 21, no. 1, pp. 59–67. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2008.12.002>
- [74] J.-Y. Qin, H. Zhang, Y.-Z. Geng, and Q. Ji, "How Kinesin-1 Utilize the Energy of Nucleotide : The Conformational Changes and Mechanochemical Coupling in the Unidirectional Motion of Kinesin-1." *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 21, no. 18, p. 6977. [Online]. Available : <https://doi.org/10.3390/ijms21186977>
- [75] G. Drewes, A. Ebneith, and E.-M. Mandelkow, "MAPs, MARKs and microtubule dynamics." *Trends in Biochemical Sciences*, vol. 23, no. 8, pp. 307–311. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/s0968-0004\(98\)01245-6](https://doi.org/10.1016/s0968-0004(98)01245-6)
- [76] K. M. Bhat and V. Setaluri, "Microtubule-associated proteins as targets in cancer chemotherapy." *Clinical Cancer Research*, vol. 13, no. 10, pp. 2849–2854. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-06-3040>

- 
- [77] Satish Bodakuntla, S. Bodakuntla, A.S. Jijumon, A. Jijumon, C. Villablanca, C. Gonzalez-Billault, and C. Janke, “Microtubule-Associated Proteins : Structuring the Cytoskeleton.” *Trends in Cell Biology*, vol. 29, no. 10, pp. 804–819. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2019.07.004>
- [78] J. S. Tirnauer and B. E. Bierer, “Eb1 Proteins Regulate Microtubule Dynamics, Cell Polarity, and Chromosome Stability,” *Journal of Cell Biology*, vol. 149, no. 4, pp. 761–766. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1083/jcb.149.4.761>
- [79] A. Nehlig, A. Molina, Sylvie Rodrigues-Ferreira, Sylvie Rodrigues-Ferreira, S. Rodrigues-Ferreira, S. Honoré, and C. Nahmias, “Regulation of end-binding protein EB1 in the control of microtubule dynamics,” *Cellular and Molecular Life Sciences*, vol. 74, no. 13, pp. 2381–2393. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1007/s00018-017-2476-2>
- [80] K. T. Vaughan, “TIP maker and TIP marker; EB1 as a master controller of microtubule plus ends,” *Journal of Cell Biology*, vol. 171, no. 2, pp. 197–200. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1083/jcb.200509150>
- [81] A. Akhmanova and M. O. Steinmetz, “Microtubule +TIPs at a glance.” *Journal of Cell Science*, vol. 123, no. 20, pp. 3415–3419. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1242/jcs.062414>
- [82] F. J. McNally and R. D. Vale, “Identification of katanin, an ATPase that severs and disassembles stable microtubules,” *Cell*, vol. 75, no. 3, pp. 419–429. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)90377-3](https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90377-3)
- [83] A. Roll-Mecak and R. D. Vale, “The Drosophila Homologue of the Hereditary Spastic Paraplegia Protein, Spastin, Severs and Disassembles Microtubules,” *Current Biology*, vol. 15, no. 7, pp. 650–655. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.cub.2005.02.029>
- [84] D. J. Sharp and J. L. Ross, “Microtubule-severing enzymes at the cutting edge.” *Journal of Cell Science*, vol. 125, no. 11, pp. 2561–2569. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1242/jcs.101139>
- [85] Debasish Kumar Ghosh, D. K. Ghosh, Debasish Kumar Ghosh, D. Dasgupta, A. Guha, and Abhishek Guha, “Models, Regulations, and Functions of Microtubule Severing by Katanin.” *International Scholarly Research Notices*, vol. 2012, pp. 596289–596289. [Online]. Available : <https://doi.org/10.5402/2012/596289>
- [86] K. Kawaguchi, “Energetics of kinesin-1 stepping mechanism.” *FEBS Letters*, vol. 582, no. 27, pp. 3719–3722. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2008.10.019>
- [87] Mireia Andreu-Carbó, Simon Fernandes, Marie-Claire Velluz, K. Kruse, and C. Aumeier, “Motor usage imprints microtubule stability along the shaft.” *Developmental Cell*. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2021.11.019>
- [88] B. G. Budaitis, S. Badiyan, Y. Yue, T. L. Blasius, D. N. Reinemann, M. J. Lang, M. A. Cianfrocco, and K. J. Verhey, “A kinesin-1 variant reveals motor-induced microtubule damage in cells,” *bioRxiv*. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1101/2021.10.19.464974>
- [89] Margolis, R. L. Margolis, and L. Wilson, “Microtubule treadmills—possible molecular machinery.” *Nature*, vol. 293, no. 5835, pp. 705–711. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1038/293705a0>
-



- [90] O. Yavoruk, “How does the Monte Carlo method work?” [Online]. Available : <https://arxiv.org/abs/1909.13212>
- [91] M. M. Maška, M. M. Maska, and K. Czajka, “Thermodynamics of the two-dimensional Falicov-Kimball model : A classical Monte Carlo study,” *Physical Review B*, vol. 74, no. 3, p. 035109. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1103/physrevb.74.035109>
- [92] M. H. Kalos and P. A. Whitlock, *Monte Carlo Methods*. John Wiley & Sons. [Online]. Available : [libgen.li/file.php?md5=6baccd5b764f677446db7711232db186](http://libgen.li/file.php?md5=6baccd5b764f677446db7711232db186)
- [93] K. Binder, “Applications of Monte Carlo methods to statistical physics,” *Reports on Progress in Physics*, vol. 60, no. 5, pp. 487–559. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1088/0034-4885/60/5/001>
- [94] D. T. Gillespie, “The Monte Carlo method of evaluating integrals.” [Online]. Available : <https://apps.dtic.mil/sti/citations/ADA005891>
- [95] A. B. Bortz, M. H. Kalos, M. H. Kalos, and J. L. Lebowitz, “A new algorithm for Monte Carlo simulation of Ising spin systems,” *Journal of Computational Physics*, vol. 17, no. 1, pp. 10–18. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/0021-9991\(75\)90060-1](https://doi.org/10.1016/0021-9991(75)90060-1)
- [96] D. T. Gillespie, “A General Method for Numerically Simulating the Stochastic Time Evolution of Coupled Chemical Reactions,” *Journal of Computational Physics*, vol. 22, no. 4, pp. 403–434. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/0021-9991\(76\)90041-3](https://doi.org/10.1016/0021-9991(76)90041-3)
- [97] J. J. Lukkien, J. P. L. Segers, P. A. J. Hilbers, R. J. Gelten, and A. P. J. Jansen, “Efficient Monte Carlo methods for the simulation of catalytic surface reactions,” *Physical Review E : Statistical Physics, Plasmas, Fluids, and Related Interdisciplinary Topics*, vol. 58, no. 2, pp. 2598–2610. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.58.2598>
- [98] B. Tidor, T. Hansson, C. Oostenbrink, and W. F. van Gunsteren, “Molecular dynamics simulations.” *Current Biology*, vol. 12, no. 2, pp. 190–196. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(06\)00269-7](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(06)00269-7)
- [99] N. Jiang, M. E. Bailey, J. Burke, J. L. Ross, and R. I. Dima, “Modeling the effects of lattice defects on microtubule breaking and healing.” *Cytoskeleton*, vol. 74, no. 1, pp. 3–17. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1002/cm.21346>
- [100] William Lecompte, “Kinetic Monte Carlo scripts for modelling the microtubule dynamics with motor-tubulin interaction.” [Online]. Available : [https://github.com/WilliamLec/kMC\\_MoTub](https://github.com/WilliamLec/kMC_MoTub)
- [101] M. Kikumoto, Mahito Kikumoto, Mahito Kikumoto, M. Kurachi, V. Tosa, and H. Tashiro, “Flexural Rigidity of Individual Microtubules Measured by a Buckling Force with Optical Traps,” *Biophysical Journal*, vol. 90, no. 5, pp. 1687–1696. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1529/biophysj.104.055483>
- [102] A. D. Bicek, E. Tüzel, A. Demtchouk, M. Uppalapati, W. O. Hancock, D. M. Kroll, and D. J. Odde, “Anterograde Microtubule Transport Drives Microtubule Bending in LLC-PK1 Epithelial Cells,” *Molecular Biology of the Cell*, vol. 20, no. 12, pp. 2943–2953. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1091/mbc.e08-09-0909>
- [103] F. Gittes, E. Meyhofer, S. Baek, and J. Howard, “Directional loading of the kinesin motor molecule as it buckles a microtubule,” *Biophysical Journal*, vol. 70, no. 1, pp. 418–429. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/s0006-3495\(96\)79585-1](https://doi.org/10.1016/s0006-3495(96)79585-1)

- 
- [104] A. M. R. Kabir, D. Inoue, T. Afrin, Tanjina Afrin, H. Mayama, K. Sada, and A. Kakugo, “Buckling of Microtubules on a 2D Elastic Medium,” *Scientific Reports*, vol. 5, no. 1, pp. 17 222–17 222. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1038/srep17222>
- [105] Lars Onsager, “Reciprocal Relations in Irreversible Processes. I.” *Physical Review*. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1103/physrev.37.405>
- [106] V. VanBuren, D. J. Odde, and L. Cassimeris, “Estimates of lateral and longitudinal bond energies within the microtubule lattice.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 99, no. 9, pp. 6035–6040. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1073/pnas.092504999>
- [107] V. VanBuren, L. Cassimeris, and D. J. Odde, “Mechanochemical model of microtubule structure and self-assembly kinetics.” *Biophysical Journal*, vol. 89, no. 5, pp. 2911–2926. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1529/biophysj.105.060913>
- [108] K. H. Downing, K. H. Downing, and E. Nogales, “Crystallographic structure of tubulin : Implications for dynamics and drug binding.” *Cell Structure and Function*, vol. 24, no. 5, pp. 269–275. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1247/csf.24.269>
- [109] G. M. Alushin, G. C. Lander, E. H. Kellogg, R. Zhang, D. Baker, and E. Nogales, “High-Resolution Microtubule Structures Reveal the Structural Transitions in A $\beta$ -Tubulin upon GTP Hydrolysis,” *Cell*, vol. 157, no. 5, pp. 1117–1129. [Online]. Available : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867414004838>
- [110] M. Igaev, M. Igaev, and H. Grubmueller, “Bending-torsional elasticity and energetics of the plus-end microtubule tip,” *bioRxiv*. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1101/2021.08.12.456048>
- [111] D. Sept, N. A. Baker, and J. A. McCammon, “The physical basis of microtubule structure and stability.” *Protein Science*, vol. 12, no. 10, pp. 2257–2261. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1110/ps.03187503>
- [112] M. K. Gardner, B. D. Charlebois, I. M. János, J. Howard, A. J. Hunt, and D. J. Odde, “Rapid Microtubule Self-Assembly Kinetics,” *Cell*, vol. 146, no. 4, pp. 582–592. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.06.053>
- [113] A. T. Ayoub, Michael Staelens, M. Staelens, Alessio Prunotto, A. Prunotto, M. A. Deriu, A. Danani, M. Klobukowski, and J. A. Tuszynski, “Explaining the Microtubule Energy Balance : Contributions Due to Dipole Moments, Charges, van der Waals and Solvation Energy.” *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 18, no. 10, p. 2042. [Online]. Available : <https://doi.org/10.3390/ijms18102042>
- [114] G. Margolin, I. V. Gregoret, T. M. Cickovski, C. Li, W. Shi, M. S. Alber, and H. V. Goodson, “The mechanisms of microtubule catastrophe and rescue : Implications from analysis of a dimer-scale computational model,” *Molecular Biology of the Cell*, vol. 23, no. 4, pp. 642–656. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1091/mbc.e11-08-0688>
- [115] C. E. Coombes, A. Yamamoto, M. R. Kenzie, D. J. Odde, and M. K. Gardner, “Evolving Tip Structures Can Explain Age-Dependent Microtubule Catastrophe,” *Current Biology*, vol. 23, no. 14, pp. 1342–1348. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.05.059>
-

- [116] J. Howard, “Mechanics of motor proteins,” *Springer*, pp. 69–94. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1007/3-540-45701-1\\_2](https://doi.org/10.1007/3-540-45701-1_2)
- [117] H. P. Erickson, “Co-operativity in protein-protein association. The structure and stability of the actin filament.” *Journal of Molecular Biology*, vol. 206, no. 3, pp. 465–474. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(89\)90494-4](https://doi.org/10.1016/0022-2836(89)90494-4)
- [118] R. D. Vale, “The Molecular Motor Toolbox for Intracellular Transport,” *Cell*, vol. 112, no. 4, pp. 467–480. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(03\)00111-9](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(03)00111-9)
- [119] S. E. Rice, A. W. Lin, D. Safer, C. L. Hart, N. Naber, B. Carragher, S. M. Cain, C. Sm, E. Pechatnikova, E. M. Wilson-Kubalek, M. Whittaker, E. Pate, R. Cooke, E. W. Taylor, R. A. Milligan, and R. D. Vale, “A structural change in the kinesin motor protein that drives motility,” *Nature*, vol. 402, no. 6763, pp. 778–784. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1038/45483>
- [120] L. Li, J. Alper, and E. Alexov, “Cytoplasmic dynein binding, run length, and velocity are guided by long-range electrostatic interactions,” *Scientific Reports*, vol. 6, no. 1, pp. 31 523–31 523. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1038/srep31523>
- [121] W. O. Hancock and J. Howard, “Kinesin’s processivity results from mechanical and chemical coordination between the ATP hydrolysis cycles of the two motor domains,” *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 96, no. 23, pp. 13 147–13 152. [Online]. Available : <https://www.pnas.org/content/96/23/13147>
- [122] H. Higuchi and S. A. Endow, “Directionality and processivity of molecular motors.” *Current Opinion in Cell Biology*, vol. 14, no. 1, pp. 50–57. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/s0955-0674\(01\)00293-9](https://doi.org/10.1016/s0955-0674(01)00293-9)
- [123] K. Shibata, M. Miura, Y. Watanabe, K. Saito, A. Nishimura, K. Furuta, and Y. Y. Toyoshima, “A Single Protofilament Is Sufficient to Support Unidirectional Walking of Dynein and Kinesin,” *PLOS ONE*, vol. 7, no. 8. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042990>
- [124] M. Rank and E. Frey, “Crowding and Pausing Strongly Affect Dynamics of Kinesin-1 Motors along Microtubules,” *Biophysical Journal*, vol. 115, no. 6, pp. 1068–1081. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2018.07.017>
- [125] A. Seitz, A. Seitz, and T. Surrey, “Processive movement of single kinesins on crowded microtubules visualized using quantum dots,” *The EMBO Journal*. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600937>
- [126] N. J. Carter and R. A. Cross, “Mechanics of the kinesin step,” *Nature*, vol. 435, no. 7040, pp. 308–312. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1038/nature03528>
- [127] T. Shima, M. Morikawa, J. Kaneshiro, Taketoshi Kambara, T. Kambara, S. Kamimura, T. Yagi, H. Iwamoto, S. Uemura, H. Shigematsu, Hideki Shigematsu, M. Shirouzu, T. Ichimura, T. M. Watanabe, R. Nitta, Y. Okada, and N. Hirokawa, “Kinesin-binding-triggered conformation switching of microtubules contributes to polarized transport,” *Journal of Cell Biology*, vol. 217, no. 12, pp. 4164–4183. [Online]. Available : <https://doi.org/10.2210/pdb5xxx/pdb>
- [128] T. Nakata, S. Niwa, Y. Okada, F. Perez, and N. Hirokawa, “Preferential binding of a kinesin-1 motor to GTP-tubulin-rich microtubules underlies polarized vesicle transport,” *Journal of Cell Biology*, vol. 194, no. 2, pp. 245–255. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1083/jcb.201104034>

- 
- [129] J. O. L. Andreasson, B. Milic, G.-Y. Chen, N. R. Gwydosh, W. O. Hancock, and S. M. Block, “Examining kinesin processivity within a general gating framework,” *eLife*, vol. 4, no. 4, pp. 1–44. [Online]. Available : <https://doi.org/10.7554/elife.07403>
- [130] R. Jha and T. Surrey, “Regulation of processive motion and microtubule localization of cytoplasmic dynein.” *Biochemical Society Transactions*, vol. 43, no. 1, pp. 48–57. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1042/bst20140252>
- [131] M. Gramlich, L. Conway, W. H. Liang, J. A. Labastide, S. J. King, J. Xu, and J. L. Ross, “Single Molecule Investigation of Kinesin-1 Motility Using Engineered Microtubule Defects.” *Scientific Reports*, vol. 7, no. 1, pp. 44 290–44 290. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1038/srep44290>
- [132] B. Milic, J. O. L. Andreasson, W. O. Hancock, and S. M. Block, “Kinesin processivity is gated by phosphate release,” *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 111, no. 39, pp. 14 136–14 140. [Online]. Available : <https://www.pnas.org/content/111/39/14136>
- [133] I. A. Telleys, P. Bieling, and T. Surrey, “Obstacles on the Microtubule Reduce the Processivity of Kinesin-1 in a Minimal In Vitro System and in Cell Extract,” *Biophysical Journal*, vol. 96, no. 8, pp. 3341–3353. [Online]. Available : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006349509004780>
- [134] P. Leff, “THE TWO-STATE MODEL OF RECEPTOR ACTIVATION,” *Trends in Pharmacological Sciences*, vol. 16, no. 3, pp. 89–97. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/s0165-6147\(00\)88989-0](https://doi.org/10.1016/s0165-6147(00)88989-0)
- [135] J. Atherton, M. A. Stouffer, F. Francis, and C. A. Moores, “Microtubule architecture in vitro and in cells revealed by cryo-electron tomography,” *Acta Crystallographica Section D-biological Crystallography*, vol. 74, no. 6, pp. 572–584.
- [136] M. Igaev and H. Grubmüller, “Microtubule instability driven by longitudinal and lateral strain propagation.” *PLOS Computational Biology*, vol. 16, no. 9. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1008132>
- [137] M. Hemmat, B. T. Castle, J. N. Sachs, and D. J. Odde, “Multiscale Computational Modeling of Tubulin-Tubulin Lateral Interaction,” *Biophysical Journal*, vol. 117, no. 7, pp. 1234–1249. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2019.08.011>
- [138] R. B. G. Ravelli, B. Gigant, P. A. Curmi, I. Jourdain, S. Lachkar, A. Sobel, and M. Knossow, “Insight into tubulin regulation from a complex with colchicine and a stathmin-like domain,” *Nature*, vol. 428, no. 6979, pp. 198–202. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1038/nature02393>
- [139] A. Cornish-Bowden, “One hundred years of Michaelis–Menten kinetics,” *Perspectives on Science*, vol. 4, no. 4, pp. 3–9. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.pisc.2014.12.002>
- [140] P. Pierobon, E. Frey, and T. Franosch, “Driven lattice gas of dimers coupled to a bulk reservoir,” *Physical Review E*, vol. 74, no. 3, pp. 031 920–031 920. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1103/physreve.74.031920>
-



# Liste des figures

1.1	Représentation de la structure d'un microtubule, reprise de Guyomar <i>et al.</i> [22], à l'échelle du monomère de tubuline (tubuline- $\alpha$ en cyan et tubuline- $\beta$ en jaune). La jonction (ou <i>seam</i> ) entre deux protofilaments montre un décalage de 3 monomères. Un microtubule 13 – 3 possède deux sous-réseaux : le réseau A au niveau de la jointure, et le réseau B loin de la jointure. . . . .	11
1.2	Schéma tiré de Akhmanova et al. [35], illustrant le phénomène d'instabilité dynamique pour un microtubule. Un microtubule dans sa phase de croissance (1) peut à tout moment passer dans un état métastable (2) ou entrer en phase d'effondrement (3). L'attachement et le détachement de tubulines (4) s'effectuent à ses extrémités. . . . .	13
1.3	Figure tirée de Martin <i>et al.</i> [37] illustrant l'organisation des microtubules durant l'interphase et la mitose. Deux types de microtubules peuvent être distingués, ceux ancrés au centrosome (en rouge) et ceux qui ne le sont pas (en vert). Durant l'interphase (a cellule RPE1), une grande proportion des microtubules non-associés au centrosome se situe au niveau de l'appareil de Golgi pour assurer la polarité de la cellule. Lorsqu'une cellule HeLa (b) entre en mitose, tous les microtubules se ré-organisent, notamment à l'aide du phénomène d'instabilité dynamique, pour former les pôles fuseau nécessaires pour l'alignement des chromosomes avant leur ségrégation. . . . .	14
1.4	Illustration tirée de Théry et al. [45] des différents types de défaut pour un microtubule avec une jointure S3 : lorsqu'un ou plusieurs dimères sont absents le microtubule a un trou le long du réseau, le nombre de protofilaments peut varier le long de la structure, comme le pas de l'hélice créant un demi-trou. . . . .	15

1.5	Illustration tirée de Gennerich et al. [73] de la marche asymétrique pour un moteur apparenté à la superfamille des kinésines (à gauche) et apparenté à la superfamille des dynéines (à droite). L'ajout de l'état des nucléotides pour chaque tête de la kinésine est tirée de Qin et al [74]. Dans l'étape <b>1</b> les moteurs ont une tête avant fortement liée au microtubule (sans nucléotide) et une tête arrière faiblement liée (avec un nucléotide ATP qui vient de s'hydrolyser en ADP+P <sub>i</sub> ). Suite à l'attachement d'une molécule d'ATP au niveau de la tête avant et la diffusion de la molécule de phosphate P <sub>i</sub> , le moteur va subir un changement de conformation. Ce qui amène à <b>2</b> un détachement complet de la tête arrière (suite à la diffusion du phosphate) et un déplacement de la moitié de la distance à parcourir (suite à l'attachement de l'ATP). Enfin après une recherche par diffusion, et une fois que le nucléotide ADP se soit détaché, la tête arrière va <b>3</b> s'attacher de nouveau fortement au réseau. Le moteur se retrouve alors à l'étape <b>1</b> et peut continuer son cycle mécano-chimique pour effectuer sa marche asymétrique. Entre chaque pas le centre de masse du moteur se déplace de 8 nm, ce qui correspond à la taille d'un dimère de tubuline. . . . .	19
1.6	Illustration tirée de Théry <i>et al.</i> [45] d'une hypothétique interaction entre un moteur non-processif (resp. processif) en haut (resp. en bas) et le réseau du microtubule. En déstabilisant le réseau, les moteurs moléculaires catalysent la dynamique de renouvellement de la tubuline. . . . .	20
2.1	Schéma d'un algorithme Monte Carlo cinétique en suivant la méthode à pas variable (VSS). . . . .	29
2.2	Comparaison des temps $t_b$ d'exécution d'une boucle pour différentes implémentations de la méthode VSS appliqué au modèle MoTub. À titre de comparaison, la dépendance en temps pour un algorithme d'une complexité linéaire $\mathcal{O}(N)$ est donnée. . . . .	34
3.1	<b>a</b> Schéma du modèle Attachement-Hydrolyse-Détachement à trois états. Un site peut soit être vacant ( <b>V</b> ), soit contenir un dimère-GTP ( <b>T</b> ) soit un dimère-GDP ( <b>D</b> ). Les flèches représentent le changement d'état après une réaction d'attachement, d'hydrolyse ou de détachement (voir texte). <b>b</b> Représentation d'un réseau 2D similaire à un microtubule composé de 13 protofilaments avec une jonction 13 – 3 entre le protofilament n°1 et 13 (ligne rouge en pointillés) et coiffé de 3 rangés de dimères-GTP. <b>c</b> 3 réactions sont données à titre d'exemple; une réaction d'attachement au bord du réseau (à gauche), une réaction d'hydrolyse pour un dimère-GTP dans la seconde rangée de la coiffe (au centre) et une réaction de détachement pour un dimère-GTP à l'extrémité du réseau (à droite). . . . .	40
3.2	Dynamique de l'extrémité (+) d'un MT en fonction de la concentration de tubuline-GTP libre $c$ indiquée en haut à droite de chaque graphique. La barre grise désigne la limite de la boîte de simulation, qui déclenche un évènement de catastrophe. Les autres paramètres du réseau sont fixés comme précisé dans le Tableau 3.1 . . . . .	44

3.3	Schéma illustrant les trois différentes réactions possibles pour modéliser la dynamique d'un flux de moteurs processifs le long d'un microtubule 13 – 3. Ici les moteurs processifs s'apparentent à des kinésines-1 de par leur directionnalité vers l'extrémité (+) du MT. Si deux sites adjacents sont vacants, un moteur peut s'attacher (à gauche). Lorsque le site devant un moteur est vacant, un pas peut être effectué (au centre). Tout moteur présent sur le réseau peut se détacher (à droite). . . . .	45
3.4	Analyse comparée de l'influence de la constante de réaction de marche $k_w$ (à gauche), de détachement $k_-$ (au milieu) et d'attachement $k_+$ (à droite). Lorsque ces constantes de réaction ne sont pas des variables, elles sont fixées respectivement à $k_w = 100\text{s}^{-1}$ , $k_- = 1\text{s}^{-1}$ et $k_+ = 0.01\text{s}^{-1}$ . La première ligne montre l'influence sur des observables moyennes qui caractérisent les moteurs, à savoir la vitesse $\langle v \rangle$ (axe de gauche, en rouge) et le temps $\langle T \rangle$ passé sur le réseau (axe de droite, en vert). La seconde ligne montre l'influence sur deux observables à l'état stationnaire qui caractérisent la dynamique globale des moteurs processifs, à savoir la densité $\rho_s$ de moteurs présents sur le réseau (axe de gauche, en rouge) et le flux de moteurs par dimère (axe de droite, en vert). Les courbes en pointillés correspondent aux relations en champ moyen [voir Eqs. (3.13)-(3.16)]. . . . .	47
3.5	Diagramme de phase de la dynamique globale des moteurs processifs (kinésine-1 en bleu, dynéine de levure en orange). Les points ont été obtenu en moyennant $10^3$ simulations kMC. La courbe théorique est reprise de Rank <i>et al.</i> [124] [voir Eq. (3.14)]. . . . .	48
3.6	Synthèse du modèle MoTub . . . . .	51
3.7	Estimation du temps $t_c$ de calcul (en jours) nécessaire pour simuler un MT 13 – 3 long de $10\mu\text{m}$ . La courbe en pointillés indique le temps de calcul en utilisant le modèle MoTub effectif, alors que les autres courbes le tracent pour quelques valeurs de la densité moyenne $\rho_s$ de moteurs avec le modèle MoTub. L'axe des ordonnées est en échelle logarithmique. . . . .	55
4.1	Modèle à 2 états pour la déstabilisation d'un dimère (pénalité $\Delta G_p$ sur l'énergie $\Delta G_b$ de liaisons des dimères de tubulines) en présence d'un flux $\phi_s$ de moteurs. La constante de vitesse pour qu'un dimère à l'état fondamental (resp. excité) passe à l'état excité (resp. fondamental) est de $\phi_s$ (resp. $k_r$ ). Les fractions de dimères $c_g$ et $c_e$ correspondent aux proportions des $N_g$ et $N_e$ dimères qui ne sont pas bloqués par la présence d'un moteur. . . . .	61
4.2	Mesures des probabilités (ou proportions des états) qu'un dimère non recouvert par un moteur soit dans l'état excité ( $c_e$ en bleu) ou non excité ( $c_g$ en orange) en fonction de la densité $\rho_s$ de moteurs à l'état stationnaire et pour deux types de moteurs (à gauche pour les kinésines-1 et à droite pour les dynéines de levure). Chaque point est une moyenne obtenue à partir de $10^4$ simulations. Les courbes en pointillés (QSS) tracent l'expression dérivée à partir du modèle à 2 états [voir Eqs. (4.5)-(4.9)]. . . . .	63
4.3	Temps moyen $\langle \tau_d \rangle$ [modèle effectif Eq. (4.4)] de création de défaut en présence d'un flux de moteurs processifs pour un réseau long de $10\mu\text{m}$ (à gauche avec des kinésines-1, et des dynéines de levures à droite). La courbe en pointillés correspond à l'expression en quasi-stationnaire (QSS pour <i>Quasi-Steady-State</i> ) [voir Eqs. (4.5)-(4.9)]. . . . .	63



4.4	Carte thermique illustrant l'impact d'un flux de moteurs processifs sur la création d'un défaut. Lorsque la constante de détachement $k_{\text{off,eff}}$ est supérieure à $k_{\text{off}}$ alors l'impact est déstabilisateur (ton vers les rouges) alors que lorsque $k_{\text{off,eff}} < k_{\text{off}}$ l'effet est stabilisateur (ton vers les bleus). Une isoline à $k_{\text{off,eff}}/k_{\text{off}} = 1$ est présente pour séparer les deux phases. La constante de détachement effective $k_{\text{off,eff}}$ est évaluée à partir de l'Eq. (4.4).	64
4.5	Kymographes d'un trou se propageant le long d'un microtubule en absence de moteurs. À $t = 0$ un défaut est présent au centre du réseau sur le protofilament n°7 pour le kymographe du haut et sur le protofilament n°3 pour celui du bas. La couleur est associée à la proportion $f(x,t)$ de dimères présents à la position $x$ à l'instant $t$ avec $f(x,t) = \frac{1}{13} \sum_{i=1}^{13} s(x,y = i   t)$ où $s(x,y   t)$ est l'état du site à la position $(x,y)$ , qui est égal à 1 si un dimère est présent, et sinon à 0. La flèche blanche indique le passage de la fracture au travers de la jonction du réseau, ce qui fait accélérer la vitesse de propagation longitudinale (voir texte).	66
4.6	Schéma illustrant la structure d'un défaut lorsqu'il se propage à l'écart de la jonction (a) et lorsqu'il se propage au niveau de la jonction du réseau (b,c). Les sites avec un rebord rose participent à la propagation latérale du défaut avec une constante de détachement $k_{\text{lat}}$ . Quant à ceux avec un rebord orange et rouge, ils participent à la propagation longitudinale de la fracture et ont respectivement un taux de détachement $k_{\text{long}}$ and $k_{\text{long,s}}$ . En fonction de la structure du front longitudinal, le dimère rouge est situé côté gauche ou droite de la jonction (voir les configurations distinctes en b et c). Les sites avec leur rebord en rouge ne possèdent que 3/2 voisins latéraux du fait de la structure de la jonction.	67
4.7	Schéma illustrant les vitesses longitudinales d'un défaut lorsque celui-ci a traversé la jonction du réseau. Les vitesses $v_1$ et $v_2$ possèdent une symétrie vis-à-vis du nombre de dimères $N_{\text{long,l}}$ ( $N_{\text{long,r}}$ ) présents à gauche (à droite) de la jonction [voir Eqs. (4.24) et (4.25)].	70
4.8	Mesures moyennes des observables liées à la fracture en fonction de la position $n_i$ du défaut initial. À gauche : temps de fracture, à droite : longueur de fracture. Chaque point est une moyenne de 1000 simulations kMC. Les constantes du réseau sont données dans les Tableaux 3.1-3.3.	74
4.9	Profils de densité pour un flux de moteurs vers les $x$ croissants le long d'un protofilament avec un défaut à $x = N/2$ avec $N = 500$ dimères. À gauche, le paramètre $\theta$ (voir texte) est fixé à 10 alors qu'à droite il est fixé à 100. Chaque point est une moyenne sur 10 simulations. La flèche noire indique la direction de marche des moteurs processifs.	75
4.10	Fraction du temps passé dans l'état excité (en bleu) et non excité (en orange) pour le dimère en amont du défaut, et vérifiant les conditions de détachement (absence de tête avant du moteur) pour deux types de moteurs (à gauche kinésines-1 et dynéines de levures à droite).	76
4.11	Schéma illustrant la structure d'un défaut lorsqu'il se propage à l'écart de la jonction (à gauche) et lorsqu'il se propage au niveau de la jonction du réseau. Les sites avec un rebord violet et rose ne sont pas impactés par le flux de moteurs, alors que les constantes de détachement pour dimères avec le rebord orange et rouge sont modifiées par la présence des moteurs.	77

- 
- 4.12 Comparaison des kymographes en absence de moteur (en haut), et en présence d'une densité  $\rho_s = 0.1$  de dynéines de levure (au centre) ou d'une densité  $\rho_s = 0.01$  de kinésines-1 (en bas). La pénalité  $\Delta G_p$  a été fixée arbitrairement à  $3 k_B T$ . Le défaut initial est positionné sur le protofilament n°3. Le bord supérieur de chaque kymographe représente le MT à l'instant  $t = 0$ . . . . . 78
- 4.13 Observables moyennes liées à la fracture pour un microtubule de  $20 \mu m$  en présence de moteurs processifs : temps moyen de fracture  $\langle \tau_f \rangle$  (en haut) et longueur moyenne de fracture  $\langle L_f \rangle$  (en bas). Ces quantités sont exprimées pour différentes valeurs de la pénalité  $\Delta G_p$  suite à la marche des moteurs, et pour deux types de moteurs (kinésines-1 à gauche, et dynéines de levure à droite). Chaque mesure est obtenue avec le modèle MoTub-effectif en moyennant  $10^3$  simulations. Pour chaque simulation kMC, la position du défaut initial  $n_i$  est choisie aléatoirement, et le défaut est positionné à mi-longueur du MT. Les courbes en pointillés indiquent les estimations obtenues avec le raisonnement simple [Eqs. (4.12) et (4.13)] en considérant des constantes de détachements effectives [Eqs. (4.47)-(4.49)]. . . . . 79
- 4.14 Distribution cummulative, appelée courbe de survie  $S(t < \tau_b)$ , des MTs de  $10 \mu m$  non brisés à l'instant  $t$ . À gauche : plusieurs courbes de survie pour différentes conditions précisées dans la légende. À droite : chaque courbe correspond à la courbe de survie d'un réseau en présence de kinésines-1 pour différentes valeurs de densité moyenne  $\rho_s$  avec une pénalité  $\Delta G_p$  de  $2 k_B T$ . . . . . 80
- 4.15 Schéma illustrant l'hypothèse d'impossibilité de réparation complète lorsqu'un défaut (site en gris) possède un voisinage uniquement composé de dimères-GDP (sites en vert). Le site en rose représente un dimère de tubuline-GTP. . . . . 82
- 4.16 Schéma des réactions possibles lors du renouvellement de la tubuline le long d'un MT. Soit (0) un réseau avec un défaut. Le défaut s'étalera sur un dimère adjacent dans la direction longitudinale (1). Avec une constante d'attachement bien plus grande que celle de détachement longitudinal ( $k_{on} > k_{long}$ ), un dimère de tubuline-GTP va rapidement s'attacher à l'extrémité (+) du réseau (2a) ou l'extrémité (-) (2b). L'enchaînement de réactions le plus probable pour ces deux cas est ensuite décrit dans le texte. Le code couleur est identique à la Figure 4.15. . . . . 83
- 4.17 Superposition de 30 trajectoires d'un défaut en présence de tubuline-GTP libre ( $k_{onc} = 20 s^{-1}$ ) pour une constante d'hydrolyse  $k_h = 0.6 s^{-1}$  en haut et de  $k_h = 100 s^{-1}$  en bas. . . . . 84
- 4.18 Observables liées à la dynamique de renouvellement pour différentes valeurs du temps caractéristique d'hydrolyse  $\tau_h$  : le déplacement quadratique moyen  $\langle \Delta x^2 \rangle$  (à gauche), l'exposant  $\alpha$  (voir Eq. 4.54) et la longueur  $L_c$  de recouvrement (respectivement au centre et à droite). La statistique a été effectuée sur 300 réseaux de  $10 \mu m$  de long avec un défaut initial à la mi-longueur et à l'opposé du seam. . . . . 85
-

4.19	Série de kymographes pour illustrer le renouvellement de la tubuline le long d'un MT au cours du temps dans différentes conditions : en absence de moteur (en haut), en présence d'une densité de 0.1 de dynéines de levure (au centre) et d'une densité de 0.01 de kinésines-1 (en bas). La pénalité $\Delta G_p$ est fixée à $3 k_B T$ . La ligne jaune est la position du défaut alors que la zone ombrée représente la longueur $L_r(t)$ de recouvrement au cours du temps. . . . .	86
4.20	Impact d'un flux de moteurs sur la dynamique du défaut lors du renouvellement de la tubuline le long d'un MT. À gauche : 10 trajectoires du défaut au cours du temps en présence de tubuline-GTP libre ( $k_{on} = 20 s^{-1}$ ) en absence de moteurs (en noir), en présence d'une densité moyenne de 0.01 de kinésines-1 (en bleu) et en présence d'une densité moyenne de 0.1 de dynéines de levure (en orange). La pénalité $\Delta G_p$ est fixée arbitrairement à $3 k_B T$ . À droite : déplacement quadratique moyen $\langle \Delta x^2 \rangle$ au cours du temps en échelle logarithmique, pour différentes conditions indiquées en légende. Pour chaque condition, la statistique a été effectuée sur 300 trajectoires. . . . .	87
4.21	Longueur $L_r$ de recouvrement après 15 minutes en présence de kinésines-1 à gauche (resp. de dynéines de levure à droite) en fonction de la densité moyenne $\rho_s$ des moteurs présents sur le réseau et pour différentes valeurs de pénalité $\Delta G_p$ . Chaque point est une moyenne sur 1000 mesures obtenues avec le modèle MoTub-effectif. . . . .	88
5.1	Enchaînement de réactions menant à une réparation complète du MT à partir d'un défaut initial. . . . .	94
5.2	Mesure du temps moyen $\langle \tau_r \rangle$ de réparation pour différentes valeurs de pénalité $\Delta G_p$ pour les moteur de type kinésine (gauche) et dynéine (droite) en fonction de la densité des moteurs. Les courbes en pointillés (QSS) correspondent à l'estimation analytique [voir l'Eq.(4.7)]. . . . .	95
5.3	À gauche : Schéma d'un tronçon d'un microtubule avec un trou étalé sur deux protofilaments et en présence d'un flux de moteurs processifs dirigé vers l'extrémité (+). Comme le défaut brise le flux de moteur, la constante de détachement longitudinal en amont du défaut n'est pas la même que celle en aval du défaut. À droite : Schéma identique mais avec un défaut situé au niveau de la jonction du microtubule. La flèche noire dirigée vers l'extrémité (+) indique la direction de marche des moteurs. . . . .	97
5.4	Comparaison des constantes de détachement totales $k_{long}^{tot}$ à la constante d'attachement totale $k_{on}^{tot}$ (droite noire en pointillés). Les constantes $k_{long}^{tot}$ sont tracées pour deux types de moteurs, kinésine-1 à gauche et dynéines à droite, et pour différentes valeurs pour la pénalité $\Delta G_p$ . Les courbes pleines (resp. en pointillés) représentent la constante de détachement totale pour un défaut au niveau de la jonction (resp. à l'écart de la jonction) [voir Eq. (5.5)]. . . . .	98
5.5	Fraction $\sigma_f$ de réseaux fracturés en fonction de la pénalité de marche $\Delta G_p$ , en présence de tubulines-GTP libres ( $k_{onc} = 20 s^{-1}$ ) et en présence d'un flux de kinésines-1 avec une densité moyenne de 0.1. Chaque point est une moyenne sur 1000 simulations du modèle MoTub-effectif pour un réseau long de $10 \mu m$ . . . . .	99

---

5.6	Fréquence spatiale de sauvetage $\xi_r$ en fonction du nombre $N_d$ de défauts, distribués aléatoirement le long d'un MT de $10 \mu\text{m}$ . Chaque mesure est une moyenne sur $10^4$ simulations du modèle MoTub. . . . .	100
A.1	Coefficient d'isotropie $\gamma_T$ pour un dimère-GTP (entouré de dimères-GTP) en fonction du coefficient d'isotropie $\gamma_D$ pour un dimère-GDP. Chaque courbe est associée à un modèle d'anisotropie (voir texte ci-dessus). . . .	108
A.2	Dynamique de croissance (ligne du haut) et d'effondrement (ligne du bas) en fonction du coefficient d'isotropie $\gamma_D$ pour une tubuline-GDP selon les trois modèles anisotropie (voir texte). L'unité $au$ correspond à une unité de temps arbitraire. Lorsque la fréquence de catastrophe chute à 0, cela est représenté par un segment vertical en échelle semi-logarithmique. . . .	109
A.3	Longueur moyenne du réseau en fonction du temps (en unité arbitraire) pour différentes valeurs de $k_{\text{on}}$ . Chaque courbe est associée à un modèle d'anisotropie. La ligne en pointillé délimite la taille maximale du réseau, à savoir $25 \mu\text{m}$ . . . . .	110
A.4	Temps moyen $\langle \tau_d \rangle$ pour la création d'un défaut, en unité arbitraire ( $au$ ), pour un MT de $10 \mu\text{m}$ de long en fonction de l'énergie totale de liaison d'une tubuline-GDP au sein du réseau, notée $\Delta G_{\text{tot}}^D$ , pour différentes valeurs du coefficient de contraste $\eta$ . Les courbes sont obtenues à l'aide de l'équation (A.3). Chaque point est obtenu, à l'aide d'une simulation kMC, en moyennant $10^4$ évènements de création de trous. Les lignes horizontales en pointillés délimitent un temps de création de l'ordre 100 à $1000 au$ , ce qui correspondrait à quelques minutes si le temps caractéristique $\tau$ serait de l'ordre de la seconde. . . . .	112
A.5	Mesures du temps caractéristique $\tau$ en fonction du coefficient $\gamma_D$ d'anisotropie suivant différentes définitions pour les deux modèles d'anisotropie [voir Eqs. (A.4)-(A.5)]. . . . .	113
A.6	Mesure de la longueur moyenne de fracture $\langle L_f \rangle$ en fonction du coefficient d'anisotropie $\gamma_D$ . Chaque point représente une moyenne sur un ensemble de 1000 simulations kMC avec comme configuration initiale un réseau long de $20 \mu$ et un défaut positionné à mi-longueur et sur un protofilament au hasard. . . . .	114
A.7	Observables liées à la croissance d'un réseau en fonction de la constante $k_h$ d'hydrolyse. À gauche la vitesse $v_g$ de polymérisation et à droite la fréquence $f_c$ de catastrophe. Les paramètres du réseau sont $\{\Delta G_{\text{tot}}^D = 45 k_b T, \gamma_D = 1/2, \eta = 1.28\}$ . Chaque point est obtenu à partir d'une moyenne effectuée sur 1000 simulations Monte Carlo cinétique. . . . .	115
A.8	Illustration de la taille caractéristique d'une coiffe de dimères-GTP avec une constante d'hydrolyse à $k_h = 3/5 s^{-1}$ pour un réseau ayant une vitesse de polymérisation de $2 \mu\text{m}/\text{min}$ . Lorsque le MT est en phase de croissance, de l'extrémité (-) vers l'extrémité (+), la coiffe de dimères-GTP s'étale sur une longue caractéristique limitée par la constante d'hydrolyse $k_h$ (voir texte). . . . .	115

---

A.9	Observables liées à la croissance d'un réseau en fonction du coefficient de contraste $\eta$ . La première ligne met en évidence l'influence de ce coefficient sur les observables liées à la croissance (vitesse $v_g$ de polymérisation, à gauche, et fréquence $f_c$ de catastrophe, à droite). Quant à la seconde ligne, ce sont les observables liées à l'effondrement (vitesse $v_s$ de dépolymérisation, à gauche, et fréquence $f_r$ de sauvetage, à droite). Les paramètres du réseau sont $\{\Delta G_{\text{tot}}^D = 45 k_B T, \gamma_D = 1/2, k_h = 3/5 \text{ s}^{-1}\}$ . Chaque point est obtenu à partir d'une moyenne sur 1000 simulations Monte Carlo cinétique. . . . .	116
B.1	Distribution de temps de détachement pour un tubuline en amont d'un défaut en présence d'une densité $\rho_s = 0.1$ de kinésines-1, avec une pénalité de $\Delta G_p = 2 k_B T$ . Le graphique inséré est la même distribution mais en échelle semi-log afin de mettre en avant que la distribution des temps de détachements suit une loi exponentielle. . . . .	120
B.2	Mesures des proportions $c_e$ et $c_g$ en fonction de la densité moyenne de moteurs $\rho_s$ . Chaque point est une moyenne obtenue à partir de $10^4$ simulations. La courbe noire montre les fonctions d'ajustement en absence de défaut (Eq. B.1), et la courbe en pointillés trace l'expression théorique [Eq. (4.9)]. Pour des kinésines-1 (à gauche) les coefficients pour la fonction fit sont ( $A = 0.094 \text{ s}, B = 0.658$ ). Pour des dynéines de levure (à droite) les coefficients pour la fonction fit sont ( $A = 0.023 \text{ s}, B = 0.788$ ). . . . .	121
B.3	Profil de densité pour un réseau 1D composé de $N$ sites avec un défaut positionné à $x = N/2$ . Chaque courbe est un profil de densité pour différentes valeurs de densité $\rho_s$ à l'état stationnaire. Le paramètre $\theta$ est fixé à 10 pour le graphique de gauche et à 100 pour celui de droite. Chaque point est une moyenne sur 10 simulations pour lesquelles la densité a été mesuré sur un intervalle de temps de $100/k_+$ avec $k_+$ calculé à partir de l'Eq. (3.13). Comme l'indique la flèche noire, les moteurs se déplacent vers le $x$ croissant. . . . .	123
B.4	Fractions des états excités et non-excités pour un dimère en amont du défaut et pouvant se détacher du réseaux. Chaque graphique est associé à un type de moteur (kinésine-1 sur la colonne de gauche et dynéine de levure sur celle de droite) et à une valeur de la constante $\theta$ ( $\theta = 10$ sur la ligne du haut, et $\theta = 100$ sur la ligne du bas). La courbe noire correspond à celle obtenue à partir des fonctions d'ajustement correspondante [voir Eq. (B.5)-(B.8)]. . . . .	124





# Liste des tableaux

3.1	Paramètres pour les simulations Monte Carlo cinétique. T-T (D-D) indique un contact entre tubulines-GTP (tubulines-GDP), T-D indique un contact entre tubuline-GTP et -GDP. Le temps caractéristique est $\tau = 1$ s. . . . .	43
3.2	Paramètres caractérisant les moteurs processifs pour les simulations Monte Carlo cinétiques. Le temps caractéristique est $\tau = 1$ s. . . . .	49
3.3	Paramètres d'interaction entre moteur et dimère de tubuline pour les simulations Monte Carlo cinétique. Le temps caractéristique est $\tau = 1$ s. . . . .	53
4.1	Mesures des observables liées à la fracture obtenues à partir des différentes méthodes présentes dans la Figure 4.8. Sont présentés les moyennes et les écarts types. Les écarts types pour le modèle discret représentent les écarts types par rapport aux positions initiales. . . . .	74
4.2	La valeur de la puissance $\alpha$ dans l'Eq. (4.54) donne une information sur le type de transport de la particule. . . . .	85
A.1	Comparaison des mesures caractérisant la dynamique d'un microtubule entre celles obtenues avec modèle MoTub et celles obtenues expérimentalement ( <i>in-vitro</i> ) ou numériquement ( <i>in-silico</i> ). Ici le modèle MoTub est calibré par l'ensemble de paramètres suivant : $\{\Delta G_{\text{tot}}^D = 45 k_B T, \gamma_D = 1/2, \eta = 1.28, k_h = 3/5 s^{-1}\}$ donnant ainsi un temps caractéristique $\tau = 1$ s. . . . .	117





## Abstract

Because of their importance for the proper functioning of animal cells, microtubule dynamics has been a field of research for over 40 years. Microtubules are micro-metric and tubular structures subject to a phenomenon called dynamic instability that consists of an alternating phases of slow growth ( $\sim 2 \mu\text{m}/\text{min}$ ) and rapid collapse ( $\sim 20 \mu\text{m}/\text{min}$ ). Thus, the commonly accepted image of a microtubule is that of a helical network in which the tubulin dimers, once attached to the ends and embedded in the network, adopt a less stable conformation due to the irreversible hydrolysis of their GTP nucleotide.

In vivo, microtubule dynamics are not only regulated by tubulin dimers mechanisms. Many proteins, called MAP (Microtubule Associated Protein), which interact with the microtubule lattice, directly impact the stability and integrity of the structure. This stabilisation can occur at the ends, as with the EB1 proteins, or along the entire network, as with the Tau proteins. In 2018, Vemu et al. discovered a new type of interaction between MAPs and the microtubule lattice that can alter the stability of the latter. Indeed, the stability of a microtubule increases in the presence of non-processive motors such as katanin or spastin. The impact of these motors on stability seems to be indirect because the function of these motors is to locally damage the microtubule lattice. However creating defects along the lattice, this stimulates the tubulin turnover, which consequently increases the overall stability of the microtubule. Similar results were also obtained in the presence of processive motors such as kinesin-1 or yeast dynein. Again, the presence of these motors stimulates the dynamics of tubulin turnover. These results point to the need for a new theoretical description of network dynamics, in particular along the microtubule. This description must take into account the interaction of motors with the tubulin lattice, as well as the presence of defects along the microtubule.

During the three years of the PhD, a theoretical and numerical description of the interaction of the processive motors on the microtubule lattice, called the MoTub model, was developed. This model is composed of a set of reactions for tubulin dimers (attachment, detachment, nucleotide hydrolysis) and for processive motors (attachment, walking, detachment) that are widely accepted in the scientific literature. This model is completed with two mechanisms for motor interaction with the tubulin lattice; a stabilising interaction due to the presence of a motor and a destabilising mechanism due to motor walking. These motor-tubulin interactions are transient and spatially localised. The study focused, in particular, on the impact of these interactions on the tubulin network for a microtubule whose ends are considered stable over several tens of minutes. Using an optimised algorithm based on a kinetic Monte Carlo method, a detailed description was provided on the dynamics of the microtubule in three different initial configurations (defect creation, fracture propagation from a defect, and tubulin renewal dynamics). Although the impact of the processive motors is specific to the initial configuration, a destabilising interaction of the order of a few  $kT$  ( $< 10\%$  of the energy released during ATP hydrolysis) is sufficient to obtain results comparable to those observed in vitro. This research work led to the development of a scalable model in order to compare the various assumptions put forward to interpret the in vitro observations.

**Keywords :** Complex system, kinetic Monte Carlo, Kinesin, Microtubule, Dynein, Modelling



## Résumé

Les microtubules sont des structures clés des cellules qui sont indispensables à la division cellulaire, au transport intracellulaire et à la motilité. En raison de leur rôle important dans la division cellulaire, les médicaments contre le cancer ciblent généralement les microtubules. Les microtubules sont de fines structures tubulaires d'un diamètre de 25 nm et d'une longueur pouvant atteindre plusieurs dizaines de  $\mu\text{m}$ . Ils croissent et rétrécissent de par leurs extrémités et sont soumis à un phénomène hors-équilibre appelé instabilité dynamique qui consiste en une alternance de phases de lente croissance ( $\sim 2 \mu\text{m}/\text{min}$ ) et de rapide effondrement ( $\sim 20 \mu\text{m}/\text{min}$ ). Ce comportement résulte de l'hydrolyse irréversible du GTP lors de l'intégration de la tubuline-GTP dans le réseau du microtubule. Depuis trois décennies, un effort substantiel dans la recherche sur les microtubules a été consacré à l'étude de l'instabilité dynamique aux extrémités des microtubules. En revanche, nous ne connaissons que très peu de choses sur les propriétés dynamiques et l'intégrité structurelle le long des microtubules.

In vivo, la dynamique des microtubules n'est pas seulement régulée par les mécanismes des dimères de tubuline. De nombreuses protéines, appelées MAPs (Microtubule Associated Protein), qui interagissent avec le réseau de microtubules, ont un impact direct sur la stabilité et l'intégrité de la structure. Cette stabilisation peut se faire aux extrémités, comme avec les protéines EB1, ou le long de l'ensemble du réseau, comme avec les protéines Tau. En 2018, Vemu et al. ont découvert un nouveau type d'interaction entre les MAPs et le microtubule qui peut altérer la stabilité de ce dernier. En effet, la stabilité d'un microtubule augmente en présence de moteurs non processifs tels que la katanine ou la spastine. L'impact de ces moteurs sur la stabilité semble être indirect car la fonction de ces moteurs est d'endommager localement le réseau de microtubules. Cependant en créant des défauts le long du réseau, ils stimulent le renouvellement de la tubuline, ce qui augmente la stabilité globale du microtubule. Des résultats similaires ont également été obtenus en présence de moteurs processifs tels que la kinésine-1 ou la dynéine de levure. Là encore, la présence de ces moteurs stimule la dynamique du renouvellement de la tubuline. Ces résultats soulignent la nécessité d'une nouvelle description théorique de la dynamique des réseaux, en particulier le long des microtubules. L'interaction des moteurs avec le réseau de tubulines, ainsi que la présence de défauts le long du microtubule, doivent donc être pris en compte au sein d'une nouvelle description théorique des processus dynamiques du microtubule.

Dans le cadre de mon doctorat, j'ai développé une description théorique et numérique de l'interaction des moteurs processifs avec le réseau de microtubule, appelée modèle MoTub. Basé sur une approche cinétique de Monte Carlo, ce modèle est composé d'un ensemble de réactions pour les dimères de tubuline (attachement, détachement, hydrolyse du nucléotide) et pour les moteurs processifs (attachement, marche, détachement) largement acceptées dans la littérature scientifique. Le modèle est complété par une interaction moteur-tubuline : le pas irréversible du moteur le long du microtubule "excite" transitoirement le réseau de tubulines sous-jacent, induisant, pour une courte durée, une conformation légèrement moins stable (dite "excitée"). De par une déstabilisation faible et transitoire du réseau, ce mécanisme favorise la formation de lacunes dynamiques. En l'absence de tubuline-GTP libre, le défaut se propage rapidement, conduisant à une fracture complète du microtubule. En présence de tubulines-GTP libres, la marche des moteurs induit une dérive des défauts dans la direction opposée à la marche des moteurs. Cette dérive est accompagnée par l'incorporation directe et localisée de tubulines-GTP libres le long de la trajectoire du défaut. Ces résultats sont cohérents avec les expériences récentes de la littérature et suggèrent fortement qu'une faible interaction tubuline-moteur est responsable d'un remodelage accru le long des microtubules.

**Mots-clés** : Système complexe, Monte Carlo cinétique, Kinésine, Microtubule, Dynéine, Modélisation

