

## étude théorique de la transduction mécano-chimique dans l'adhérence cellulaire

Olivier Ali

#### ▶ To cite this version:

Olivier Ali. étude théorique de la transduction mécano-chimique dans l'adhérence cellulaire. Biophysique [physics.bio-ph]. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2010. Français. NNT: . tel-00554766

#### HAL Id: tel-00554766 https://theses.hal.science/tel-00554766

Submitted on 11 Jan 2011

**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

Présentée par

#### **Olivier ALI**

Pour obtenir le titre de

Docteur de l'université de Grenoble

Discipline: Physique

Spécialité: Physique pour les Sciences du Vivant

### ÉTUDE THÉORIQUE DE LA TRANSDUCTION MÉCANO-CHIMIQUE DANS L'ADHÉRENCE CELLULAIRE

Date de soutenance : **08 juillet 2010** 

#### Composition du jury:

Pr Marc BLOCK, examinateur
Pr Franz BRUCKERT, président du jury
Pr Bertrand FOURCADE, directeur de thèse
Pr Jean-François JOANNY, examinateur
Pr Vladimir LORMAN, rapporteur
Dr Pierre NASSOY, rapporteur

Thèse préparée au sein de l'équipe Dysad I Institut Albert Bonniot - Centre de Recherche Inserm / UJF U823

#### Remerciements

La grande majorité de ce travail de thèse a été réalisé au sein de l'équipe Dysad de l'institut Albert Bonniot, il est donc normal qu'à l'heure des remerciements, mes pensées aillent en premier lieu à tous les membres qui la composent. Si ce n'est évidemment pas la première ni la dernière thèse que cette équipe de biologistes porte à maturité ; je me plais néanmoins à croire que la mienne gardera une place privilégiée : celle de la première thèse de physique réalisée et soutenue en son sein.

Je tiens donc à remercier chaleureusement, en premier lieu, Corinne Albigès-Rizo, directrice de l'équipe, pour nous avoir accueillis, Bertrand Fourcade et moi-même et pour avoir relevé le défit que représentait cette collaboration.

Mener à bien un projet scientifique à l'interface entre deux disciplines nécessite une réelle volonté d'ouverture de la part des partis en présence. Cette ouverture d'esprit est la marque des membres de l'équipe Dysad ; grâce à eux, j'ai appris énormément. J'espère que l'échange fut réciproque. Pour leur ouverture d'esprit donc, leur expertise et les trésors de patience dont ils ont su faire preuve à mon égare, je remercie chaleureusement Marc Block, Emmanuelle Planus, Éva Faurobert, Anne-Pascale Bouin, Anne-Sophie Ribba et Daniel Bouvard. Évidemment L'interaction scientifique et amicale s'est également faite avec les autres thésards que j'ai pu croiser dans l'équipe ; merci donc à Nicolas, Cédric, Myriam, Sandrine, Molly et Christos pour leur aide et leur gentillesse. Mes pensées vont également aux techniciens, ingénieurs, assistants et secrétaires de l'équipe avec qui j'ai finalement peu interagit d'un point de vue scientifique mais dont la bonne-humeur, la constance et la gentillesse ont contribué significativement à mon épanouissement dans l'équipe. Merci beaucoup à Charlotte, Jacqueline, Christiane, Geneviève, Sandra et Lionel. J'adresse également une chaleureuse pensée à Claire Rome, Anastassia Karageorgis , Delphine Larrieu et Romualde Binet pour leur amitié et les goûtés partagés!

Si la majeure partie de ma thèse s'est déroulée au sein de l'équipe Dysad, je n'oublie pas les premiers mois passés au CEA, dans l'équipe SPRAM, sous la direction de Jean-Pierre Travers. Bien qu'éloigné géographiquement et scientifiquement, Jean-Pierre a su garder un oeil sur moi et s'enquérir régulièrement de mes avancées.

Finalement, je réserve le dernier paragraphe à trois personnes particulières qui ont chacune joué un rôle capital à mes yeux. La première de ces personnes est évidemment mon directeur de thèse, Bertrand Fourcade, sans qui cette aventure n'aurait pas eu lieu. De

par notre statut "de réfugiés scientifiques" dans un institut de biologie, nos interactions scientifiques ont été, je pense, plus riches et nombreuses que dans la majorité des relations "thésard-directeur"; ne pouvant me tourner vers d'autres physiciens, il m'a souvent aidé et conseillé autant sur des concepts capitaux que sur des broutilles techniques ou mes "choix stratégiques"; pour ce surplus d'attention que j'ai nécessité je le remercie une première fois. Mais les qualités de Bertrand ne se limitent pas au domaine scientifique; sa patience, son empathie et son expérience des relations humaines en font un directeur prévenant, attentif et mesuré; qualités rares dans le monde du travail. Pour ces qualités humaines donc, je lui décerne une deuxième salve de remerciements. Pour conclure, j'aimerai remercier deux collègues devenus des amis : Olivier Destain et Martial Balland. Olivier a intégré l'équipe Dysad pendant ma thèse en tant que chargé de recherche, Martial est lui physicien expérimentateur en biophysique au laboratoire de spectrométrie physique de l'UJF. De part nos constantes interactions, ils ont, chacun dans leur champ respectif, contribué fortement à ma modeste culture biologique et expérimentale et fait de moi un "scientifique hybride", physicien fortement sensibilisé à la biologie. Étant mes aînés de quelques années, ils m'ont également fait profiter de leurs expériences professionnelles et personnelles dans le monde de la recherche, me permettant de mieux en appréhender les tenants et les aboutissants.

### **Table des matières**

Intro	duction : de l'adhérence à l'adhésion	<b>p.1</b>
1.	Importance biologique de l'adhérence cellulaire	p.4
2.	Existence de sites adhésifs dédiés	p.8
3⋅	Un acteur incontournable : l'intégrine	p.27
4.	Problématique et objectifs de la thèse	p.40
Chapi	tre 1 : signalisation mécano-induite	d'une
C	cellule en adhésion	p.43
1.	Préliminaires : efforts mécaniques au bord de la zor	ne adhé-
sive		p.46
2.	Modélisation d'une voie de signalisation mécano	-dépen-
dant	re	p.51
Chapi	tre 2 : Étude du bord cellulaire	p.71
1.	Contrainte d'étirement homogène	p.74
2.	Géométrie courbée	p.81
3.	Prise en compte d'une deuxième dimension d'espace	p.93
4.	Calcul analytique de la solution stationnaire	p.102
Chapi	tre 3 : Prise en compte de la diffusion d	les in-
t	égrines dans la membrane plasmique	p.111
1.	Mise en place d'un nouveau jeu d'équations	p.114
2.	Comportement numérique du système	p.122
3.	Calcul analytique des solutions stationnaires	p.139
Concl	usion générale	p.155
1.	Discussion	p.157
2.	Perspectives	p.159
Anne	xe	p.163
Bibliographie		

## INTRODUCTION: DE L'ADHÉRENCE À L'ADHÉSION

I.	Importance biologique de l'adhérence cellulaire4		
	I.I.	Un exemple de fonction biologique régulée par l'adhérence : La migration cellulaire5	
	I.2.	De la mécanique à la thermodynamique6	
2.	Exister	ace de sites adhésifs dédiés8	
	2.I.	L'adhésion, phénomène biologique discret8	
	2.2.	Schéma général d'une structure adhésive cellule-Mec10	
	2.3.	Régulation des sites adhésifs par le cytosquelette d'actine.14	
	2.4.	Les structures adhésives sont des entités dynamiques19	
	2.5.	Importance des échelles de temps21	
	2.6.	Rôle des phosphorylations enzymatiques23	
	2.7.	Approximation « granuleuse » de la catalyse24	
3.	Un acto	eur incontournable : l'intégrine27	
	3.I.	La grande famille des intégrines27	
	3.2.	L'activation allostérique : pierre angulaire de la mécanotransduction30	
	3.3.	La queue cytosolique de l'intégrine : un « hub » signalétique34	
	3.4.	La taline, un partenaire privilégié36	
	3.5.	Activation de la taline et boucle d'amplification37	
4.	Problé	matique et objectifs de la thèse40	

La cellule constitue un module vital autonome. Qu'elle soit autosuffisante, à l'instar d'une amibe, ou qu'elle participe à une dynamique collective, comme dans le cas de tissus pluricellulaires, une caractéristique demeure : sa capacité à interagir — à échanger — avec son environnement, ce dernier fusse-t-il composé de matière inerte ou d'autres cellules. Thermodynamiquement, la cellule est donc un système ouvert aux flux de matière, d'énergie et d'information. C'est aussi un système hors équilibre car ces échanges varient continuellement. Cette capacité de régulation suggère l'existence de chaînes d'effecteurs et de capteurs organisés en boucles de rétro-contrôle.

Tout comme les cinq modalités sensorielles humaines nécessitant des organes sensitifs spécifiques, la diversité des stimuli présents dans l'environnement cellulaire requiert un large panel de capteurs moléculaires dédiés. Parmi tous ces stimuli, ce sont les stimuli mécaniques qui ont focalisé notre attention puisque le cadre biologique de ce travail de thèse est celui de l'adhésion cellulaire.

Durant cette introduction nous présenterons cette propriété biologique majeure. Dans un premier temps, nous évoquerons son importance dans le « destin » cellulaire, nous décrirons ensuite dans ses grandes lignes le ballet biochimique qu'elle suppose et nous finirons par présenter les acteurs principaux de ce ballet. Cette présentation nous permettra d'une part, de situer les limites biologiques de notre travail et d'autre part, d'introduire les outils physiques conceptuels qui le sous-tendent.

# 1. Importance biologique de l'adhérence cellulaire

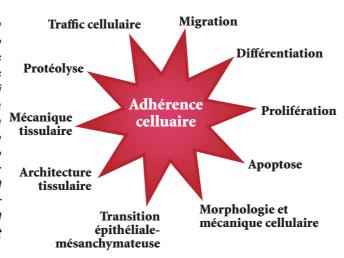
Individuelle ou intégrée à un organisme, la cellule est souvent en contact avec un substrat solide appelé matrice extra-cellulaire (Mec), formé de protéines et de protéoglycanes tels que le collagène, la fibronectine ou encore la laminine. Par adhérence cellulaire on désigne alors le contact physique prolongé entre la membrane plasmique<sup>1</sup> et cette Mec. Les interactions envisageables sont multiples : interactions électrostatiques non spécifiques, répulsion entropique et surtout interactions spécifiques entre ligands extracellulaires et récepteurs transmembranaires (Sackmann et Bruinsma Course 7 Physics of bio-molecules and cells, Les Houches session LXXV 2001). Par la suite, ce sont ces interactions ligands-récepteurs qui nous intéresseront.

L'importance de ces interactions entre cellules et matrice est restée longtemps méconnue. Il faut attendre 1980 et les premières observations de déformations sur gels de silicone (Harris, Wild et al. 1980) pour se rendre compte de l'action mécanique effective des cellules sur un substrat solide. Trente ans après les « premiers pas » de cellules sur gels déformables, l'implication de l'adhérence cellulaire dans la régulation de fonctions biologiques, telles que la différentiation, la migration ou encore l'apoptose (**Fig.1**), n'est plus à démontrer.

Afin d'appréhender la richesse du phénomène, évoquons rapidement une fonction biologique fondamentale où l'adhérence joue un rôle prépondérant : la migration cellulaire.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Bicouche phospholipidique d'une dizaine de nanomètres d'épaisseur dans laquelle diffusent en permanence des centaines d'espèces chimiques différentes régissant les entrées et sorties d'informations, d'énergie et de matière.

Fig.1 | L'adhérence cellulaire régule de nombreuses fonctions biologiques. Ces fonctions peuvent aussi bien correspondre à régulation Mécanique homéostasique normale qu' à une pathologie cancéreuse. (source : d'après Statistical Mechanics of Cellulair Systems a n d Processes, Zaman et al. )



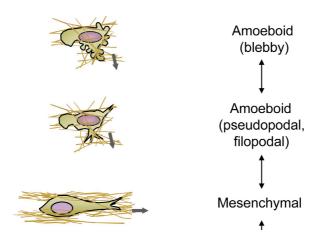
## 1.1. Un exemple de fonction biologique régulée par l'adhérence : La migration cellulaire

La migration cellulaire est une fonction biologique fondamentale car impliquée dans un grand nombre de processus, autant physiologiques (embryogénèse, réponse immunitaire ou encore cicatrisation) que pathologiques (cancer, arthrose, ostéoporose) (Lauffenburger and Horwitz 1996).

On distingue deux grandes classes de migration à l'échelle de la cellule unique : les migrations amiboïde et mésanchymateuse (**Fig. 2**). Les processus biochimiques mis en jeu diffèrent de l'une à l'autre mais nous pouvons dégager un principe directeur commun : pour un système, quel qu'il soit, la capacité à se déplacer requiert l'intégration et la coordination spatio-temporelle de nombreuses fonctions élémentaires. Citons les principales : la polarisation, c'est-à-dire la capacité à s'orienter par rapport à son environnement ; la motricité, capacité à se mettre en mouvement et finalement la transmission, la capacité à transmettre la force motrice générée à l'environnement. Dans cette perspective systémique, l'adhérence prend alors tout son sens : elle joue à la fois le rôle de capteur délivrant une information de position entre la cellule et son substrat ; et le rôle d'effecteur, couplant le moteur (système acto-myosine par exemple) au milieu extérieur (Vogel and Sheetz 2006).

Il se dégage de cette perspective quelques idées phares :

- L'adhérence joue un rôle interfacial bidirectionnel : à la fois capteur dans la chaîne de commande et effecteur dans la chaîne d'action.
- Nécessairement en interaction avec d'autres modules physico-chimiques de la cellule, elle prend part à la signalisation biochimique intracellulaire.
- L'avancée cellulaire nécessitant tour à tour sa mise en place puis sa destruction, l'adhérence est forcément un processus hautement dynamique et régulé.



**Fig.2 I** Les différents types de migrations celluaires individuelles. (source : Friedl & Wolf J. Cell Biol. 2010 )

L'idée d'un système complexe se comportant globalement de façon cohérente suggère d'aborder le problème de l'adhésion cellulaire à l'aide des outils de physique statistique et de thermodynamique.

#### 1.2. De la mécanique à la thermodynamique

Les premiers modèles théoriques sur l'adhérence cellulaire sont dus à Bell et al. en 78 et 84 pour l'adhérence cellule-cellule (Bell 1978; Bell, Dembo et al. 1984) et Torney et al. en 86 pour l'adhérence cellule-substrat (Torney, Dembo et al. 1986). L'idée générale derrière leur travaux est de décrire la cellule adhérente comme un système à l'équilibre thermodynamique.

L'adhésion décrite par la théorie de Bell repose sur des interactions spécifiques entre des récepteurs membranaires et des ligands présents soit dans la membrane de la cellule partenaire soit dans le substrat considéré (**Fig.3**). Le but de la modélisation est de calculer la valeur d'équilibre du nombre de liens adhésifs  $(n_b)$  engagés, de l'aire de contact (A) et de la distance d'équilibre entre la cellule et son substrat (l). Le mode opératoire est la minimisation de l'énergie libre du système par rapport aux variables d'état. Un résultat majeur est l'expression de la loi d'action de masse de l'équilibre adhésif modulée par l'étirement des liens adhésifs et le calcul de la densité de ces liens adhésifs, connu sous le nom de «loi de Bell» (**Eq.1**). Dans cette équation,  $n_b$  et  $n_{tot}$  représentent respectivement les densités de liens en adhésion et totale, K et  $K_0$  les lois d'action de masse de l'équilibre adhésif soumis à contrainte et sans contrainte, f la force appliquée aux liens adhésifs, l leur longueur caractéristique de déformation et  $k_BT$  l'énergie thermique du milieu.

$$n_b = \frac{n_{tot}}{\left(1 + K_e^{-1}\right)} \quad K_e = K_{e0} \cdot e^{-f \cdot l/k_B T}$$
 (1)

La limitation principale de ce modèle est l'hypothèse faite sur le temps caractéristique de retour à l'équilibre, supposé très court devant ceux de la régulation biochimique. Cette modélisation a été réutilisée par la suite notamment dans l'interprétation d'expériences d'adhésion sous flux hydrodynamique par Hammer et al (Hammer and Apte 1992) et par Chang et al en 2000 (Chang, Tees et al. 2000). Permettant de quantifier l'effet d'une force mécanique sur un équilibre adhésif, cette loi jouera un rôle de premier plan dans notre modélisation de l'adhérence cellulaire.

Comprendre l'adhérence celluaire — c'est-à-dire le mécanisme physique s'opposant au glissement de la cellule sur son substrat—, c'est étudier l'adhésion — C'est-à-dire les structures biochimiques qui la sous-tendent ainsi que les mécanismes moléculaires qui les régissent —. Dans la deuxième partie de cette introduction nous allons présenter ces mécanismes et structures.

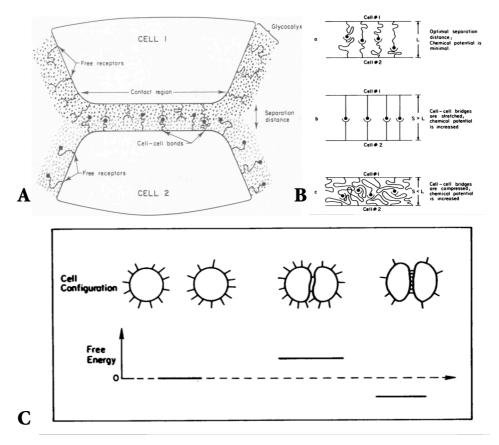


Fig.3 I Schéma de principe du modèle théorique d'adhésion cellule-cellule par G. Bell. A: Dans la zone de contact, l'interaction attractive entre les deux cellules et assurée par des interactions spécifiques récepteur-ligand. B: Les liens ainsi formés ont une longueur statistique optimale, leur potentiel chimique dépend de leur étirement par rapport à cette longueur optimale. C: Schéma de principe des différentes étapes adhésives. Au premier contact, l'énergie libre des deux cellules est augmentée, il faut qu'un nombre substantiel de liens de forment pour diminuer cette énergie libre. (source: Bell et al. Biophys. J. 1984) cellulaire régule de nombreuses fonctions biologiques. Ces fonctions peuvent aussi bien correspondre à une régulation homéostasique normale qu' à une pathologie cancéreuse. (source: d'après Statistical Mechanics of Cellulair Systems and Processes, Zaman et al.)

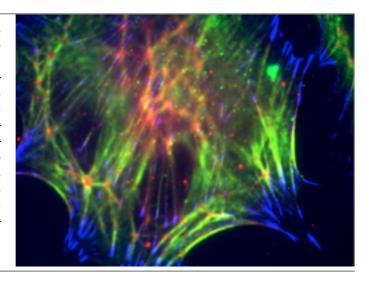
#### 2. Existence de sites adhésifs dédiés

#### 2.1. L'adhésion, phénomène biologique discret

Comme mentionné par Harris dans son article historique (Harris, Wild et al. 1980), l'adhérence d'une cellule sur un substrat n'est pas uniforme mais localisée sur des zones limitées de la surface basale : les sites adhésifs. Ces structures membranaires ont été découvertes une dizaine d'années plus tôt en microscopie

électronique (Abercrombie Exp. Cell Res. 1971). En ces points, le continuum physique formé entre l'extérieur et l'intérieur permet l'équilibre mécanique entre forces de contact issues du milieu extracellulaire et celles générées par la cellule (**Fig.4**). Ces sites adhésifs apparaissent donc comme les «mains de la cellule», capables de palper le substrat (au sens modalité sensoriel du terme) et de s'y agripper : elles sont à la fois mécano-senseurs et mécano-effecteurs.

Fig.4 I Photographie d'une cellule Mef au microscope confocal. La paxilline, marqueur des adhésions focales apparaît en bleu. La phosphomyosine est marquée en vert et fait apparaître le réseau actif de fibres de stress reliant les différents sites adhésifs. L'actine est marquée en rouge. (source: E. Planus)



La distribution hétérogène de l'adhésion cellulaire est importante car elle va localiser les équilibres mécaniques entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule, ce qui, en retour, va conditionner son comportement. Les expériences de Théry et Bornens illustrent ce principe : en faisant adhérer des cellules sur des micro-patrons adhésifs (une manière simple d'imposer une distribution spatiale spécifique des sites adhésifs), ils ont mis en évidence l'influence de cette distribution sur l'organisation du fuseau mitotique des cellules en interphase et en mitose (Théry, Racine et al. 2005; Théry and Bornens 2006; Théry, Racine et al. 2006).

Comme d'accoutumé en biologie, la réalité est plurielle ; et quand on parle de sites d'adhésion, on englobe généralement deux grands types d'organisations structurales : les adhésions focales et les podosomes (**Fig.5 & 6**) (Block, Badowski et al. 2008; Albiges-Rizo, Destaing et al. 2009). Les premières sont observées principalement chez des cellules cultivées sur substrats solides en deux dimensions.

Leur existence dans un contexte physiologique a longtemps été mis en doute. *In vivo*, il semblerait qu'elles soient présentes au niveau des jonctions « tendons-muscle ». Notons également l'existence de structures similaires plus courantes chez les cellules évoluant dans un milieu tridimensionnel : les adhésions fibrillaires (Yamada, Pankov et al. 2003). Les podosomes sont, quand à eux, observés plus facilement *in vivo*. On les retrouve au niveau des ostéoclastes, cellules responsables du remodelage de la matrice osseuse, des macrophages et des cellules dendritiques.

Quelles soient des adhésions focales, fibrillaires ou des podosomes ces structures sont complexes : à maturité, le nombre d'espèces chimiques différentes impliquées dépasse la centaine (Fig. 7) et leur taille est de l'ordre du micromètre (Adams 2001; Zaidel-Bar, Itzkovitz et al. 2007).

#### 2.2. Schéma général d'une structure adhésive cellule-Mec

Chacune de ces architectures moléculaires possède des spécificités structurales et fonctionnelles mais, comme le suggèrent les figures 5 et 6, des similarités d'ensemble demeurent :

- Toutes ces structures adhésives reposent sur une famille de récepteurs transmembranaires à même de se lier à la Mec : l'intégrine. C'est un des acteurs centraux du phénomène d'adhésion qui fera l'objet d'un paragraphe spécifique.
- → Interagissant avec ce récepteur, on trouve deux types de protéines :
  - Les protéines structurales (taline, vinculine, paxilline, α-actinine...) reliant physiquement l'intégrine au cytosquelette d'actine par le biais d'interactions ligand-récepteur spécifiques.
  - Les protéines de signalisation et de régulation (Src, FAK, ILK), servant à orchestrer la dynamique générale de l'ensemble. Ce sont principalement de petites GTPases dites de la famille Rho<sup>2</sup> (Geiger and Bershadsky 2001), des kinases ou des phosphatases.

10 | adhérence & adhésion | introduction

-

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Petites (~21kDa) protéines G (hydrolysant le GTP) dont la conformation est dépendante de sa liaison au GTP.

Les structures adhésives matures sont reliées entre elles par un réseau spécifique d'actine<sup>3</sup> ; soit sous forme de fibres de stress<sup>4</sup>, dans le cas des adhésions focales, soit sous forme de nuages<sup>5</sup> d'actine pour les podosomes organisés en rosette<sup>6</sup>. Ces réseau de contraintes ainsi formé participe au maintien de l'édifice cellulaire. Par analogie avec les dômes géodésiques en architecture, on parle de réseau de tenségrité<sup>7</sup> (Ingber 2003; Ingber 2003). Cette connexion avec le cytosquelette d'actine est une notion importante : en reliant les structures adhésives à un réseau de polymères capable de générer des forces mécaniques on rend la cellule à même d'agir physiquement sur son environnement.

L'organisation des structures adhésives, où chaque élément joue un rôle spécifique, est rigoureuse ; elle nécessite donc une dynamique de mise en place parfaitement orchestrée. De plus, l'interaction entre le cytosquelette et les sites adhésifs assure que ces derniers sont sujets aux forces mécaniques produites par la polymérisation de l'actine et l'activité des myosines II. Ces forces ont-elles une influence sur leur dynamique de formation ?

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> Polymère protéique ubiquitaire fortement conservé chez les eucaryotes de 5,5nm de diamètre. La régulation de sa polymérisation et son interaction avec des moteurs moléculaires sont à la base de la réponse mécanique des cellules.

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup> Filaments d'actine polymérisée orientés de façon antiparallèle et reliés entre eux par des moteurs moléculaires (myosine II). Structures capables de générer des force de contraction.

<sup>&</sup>lt;sup>5</sup> Réseau d'actine polymérisée reliant les podosomes entre eux.

<sup>&</sup>lt;sup>6</sup> Organisation collective de podosomes en forme d'anneau. Ce sont des structures dynamiques pouvant se dilater, se contracter ou encore fusionner entre elles.

<sup>&</sup>lt;sup>7</sup> Capacité d'une structure à se stabiliser mécaniquement par le jeu de forces de tension et de compression équilibrées, on parle alors d'état d'auto-équilibre stable (ou du moins stationnaire dans le cas de la cellule). Cette notion fût initialement inventé par l'architecte Richard B. Fuller en 1949.

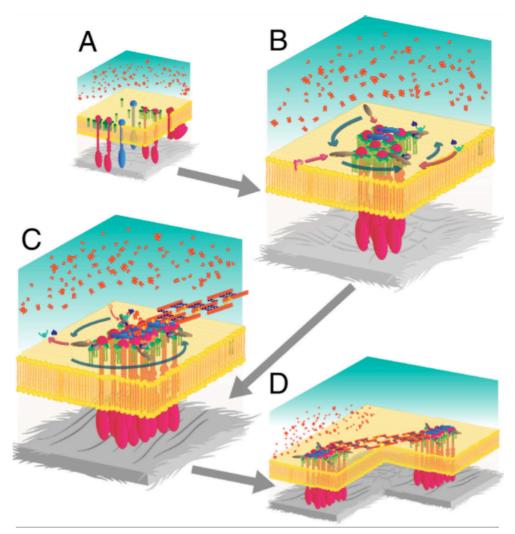


Fig.5 | Schéma de principe de formation d'une adhésion focale. A : Première étape, les intégrines et/ou d'autres récepteurs non identifiés se lient à la Mec conduisant au regroupement de récepteurs dans les zones riches en PI(4,5)P<sub>2</sub>. B : Les sites adhésifs naissant à la périphérie cellulaire voient le recrutement séquentiel des complexes Arp2/3 et WASP grâce à FAK (les flèches bleus indiquent l'évolution temporelle de la structure). C : L'autophosphorylation de FAK déstabilise ensuite le complexe Arp2/3-WASP-FAK ; la taline est recrutée permettant le lien entre le site adhésif et le cytosquelette ce qui permet l'application de force via l'acto-myosine sur le site adhésif. D : Des connections peuvent être alors opérées entre les adhésions focales à l'avant et à l'arrière de la cellule. (source : Albigès-Rizo et al. J Cell Biol. 2009)

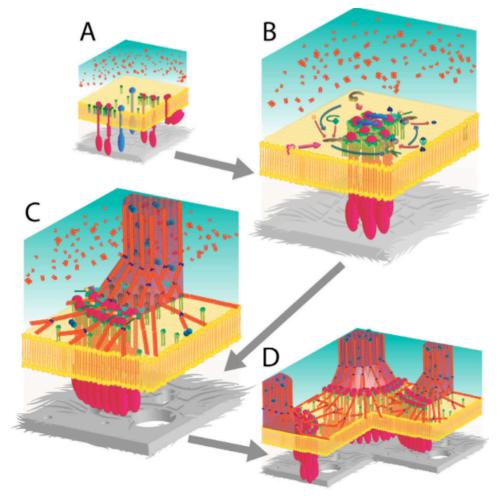
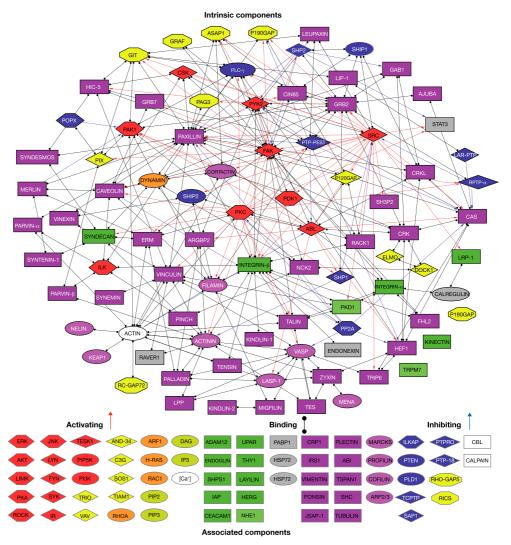


Fig.6 I Schéma de principe de formation d'un podosome. A : première étape identiques à celle du cas "adhésion focale", les intégrines et/ou d'autres récepteurs non identifiés se lient à la Mec conduisant au regroupement de récepteurs dans les zones riches en PI(4,5)P<sub>2</sub>. B : le recrutement de Src conduit à la phosphorylation de plusieurs protéines d'importance, notamment la cortactine, WASP, FAK et des régulateurs de petites GTPases. Le taux de polymérisation soutenu du cortex d'actine est du à la forte activation d'Arp2/3 et à la synergie entre la cortactine et les protéines de la famille WASP. C : la protéine mDia1 restructure le réseau d'actine en colonne à partir du réseau branché initialement formé par N-WASP, Arp2/3 et la cortactine. D : Dans le cas d'une organisation en rosette, les podosomes sont mécaniquement liés via un réseau horizontal d'actine parallèle au substrat que l'on appelle nuage d'actine. (source : Albigès-Rizo et al. J Cell Biol. 2009)



**Fig.7 l** Adhésome (carte d'interactions) des intégrines au sein des adhésions focales. Les composants des adhésions focales ont été classés en 17 groupes selon leur activité biologique connue. (source : Zaidel-Bar et al. Nat. Cell Biol. 2007)

### 2.3. Régulation des sites adhésifs par le cytosquelette d'actine

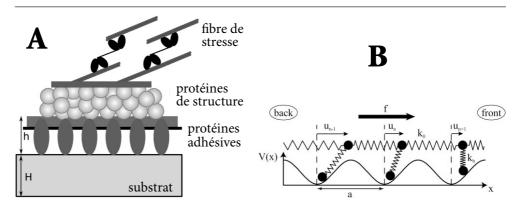
Au stade mature, les sites adhésifs interagissent avec le cytosquelette d'actine. Ce dernier, couplé à des moteurs moléculaires tels que la myosine II, est capable de produire du travail sous forme mécanique. Expérimentalement, beaucoup d'observations suggèrent un lien entre l'activité de polymérisation du cytosquelette et la dynamique des sites adhésifs (du Roure, Saez et al. 2005; Bershadsky, Kozlov et al. 2006), (Puklin-Faucher and Sheetz 2009), (Giannone and Sheetz 2006), (Giannone, Dubin-Thaler et al. 2007).

Comment peut-on théoriquement expliquer ce couplage ? Quels mécanismes physiques sont à l'oeuvre?

La modélisation faite des adhésions focales consiste généralement en un empilement de différentes couches que l'on traite comme des milieux continus. On retient une couche basale de protéines adhésives au-dessus de laquelle se trouve une couche de protéines structurales servant à faire le lien mécanique avec le cytosquelette d'actine, dernière couche mécano-active considérée. Les schémas présentés à la figure (Fig.8) explicitent cette vision commune de l'édifice adhésif. Les modèles développés étudient la dynamique de la couche médiane soumise aux efforts du cytosquelette et interagissant avec le substrat via la couche adhésive. Notons dans cette optique le modèle thermodynamique développé par Shemesh et al. (Shemesh, Geiger et al. 2005) dans lequel les « blocs » constituant la couche médiane s'assemblent pour minimiser leur potentiel chimique, ce dernier étant diminué par une force de traction d'origine cytosquelettique. L'équilibre mécanique de l'ensemble est alors assuré par la balance entre cette force de traction et l'adhésion au substrat. Les points d'application de ces deux forces étant discrets, s'en suit une discussion sur les différents régimes possibles en fonction de paramètres mécaniques introduits dans le modèle. Bien que très sommaire d'un point de vue biologique, ce modèle a le mérite d'une part, de capturer l'essence du problème : la transduction mécano-chimique qui se passe entre la cytosquelette et le substrat et d'autre part, la complexité des comportements possibles d'un système statistique simple.

Citons également un modèle développé par Buinsma (Bruinsma 2005) où l'activation des protéines adhésives est couplée cette fois-ci à une plaque visco-élastique, elle-même reliée à une fibre de stress. Dans ce modèle, l'importance de la rigidité du substrat est mise en avant pour expliquer l'évolution de l'adhésion focale (dissociation ou non du cytosquelette). Une fois de plus, l'emphase est mise sur le caractère continue de l'assemblage moléculaire et le rôle central joué

par le cytosquelette, dont le couplage avec les moteurs moléculaires fournit l'énergie nécessaire à la croissance de la structure.



**Fig.8 l A** : Schéma de principe d'une adhésion focale. On retrouve les trois composant de base des modèles biophysique "classiques" décrivant ces structures. **B** : Schéma mécanique de la même structure. (source : Nicolas et al. Biophys. J. 2008 )

D'autres modèles théoriques de régulation des adhésions focales méritent d'être cités : ceux développés par Besser, Nicolas et Safran (Nicolas, Geiger et al. 2004; Besser and Safran 2006; Nicolas and Safran 2006; Nicolas, Besser et al. 2008). On retrouve ici la construction stratifiée de l'adhésion focale (Fig.8). Les milieux continus sont également le cadre général de l'équilibre mécanique et la réponse cellulaire est induite par les efforts « cytosquelettiques ». mais cette fois-ci la description est plus fine : les efforts induits par le cytosquelette servent à activer les protéines de la couche structurale et les protéines adhésives, c'est-à-dire modifier leur potentiel chimique. C'est cette différence de potentiel chimique entre leur état agrégé au sein de la couche intermédiaire et leur état de repos dans le cytoplasme qui va induire le regroupement des protéines en structures adhésives, comme l'explicite l'équation (Eq.2) tirée de (Nicolas, Besser et al. 2008). Ici,  $\mu_{bulk}$  et  $\mu_{ads}$  représentent respectivement le potentiel chimique des protéines structurales dans le cytoplasme et dans la plaque,  $\phi$  la concentration de ces protéines au sein de la plaque et  $C_1$  une constante faisant intervenir le coefficient de diffusion des protéines considérées, leur concentration dans le cytoplasme, l'énergie d'agitation thermique et la distance moyenne entre deux protéines adsorbées dans la plaque d'adhérence.

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = C_1 \left( \mu_{bulk} - \mu_{ads} \right) \tag{2}$$

Quand ce potentiel est plus petit que celui ressenti dans le cytoplasme, les protéines de la couche intermédiaire vont spontanément s'agréger formant ainsi les sites adhésifs. Le potentiel chimique des protéines adsorbées se déduit de leur énergie libre. L'enjeu du modèle est alors de quantifier cette énergie libre. Pour se faire, un Hamiltonien décrivant les interactions au sein de plaque est proposé :

$$H = \varepsilon_0 \sum_{i} \phi_i^2 - \varepsilon_B \sum_{i} \phi_i \left\langle s_i \right\rangle + \frac{J}{2} \sum_{i,j} \phi_i \left( 1 - \phi_j \right) \quad (3)$$

Le premier terme de cet Hamiltonien correspond à une interaction répulsive entre protéines due aux déformations élastiques du substrat et s'avère caduque dans le cas d'un substrat rigide, le coefficient  $\varepsilon_{\theta}$  tendant alors vers zéro. Le deuxième terme correspond au couplage entre protéines structurales et intégrines de la couche adhésives, la variables s décrivant l'activation de ces dernières (s=1 correspondant à l'état activé et  $s=\theta$  à l'état non-activé). Le dernier terme, de type Ising, est phénoménologique. Il correspond à une interaction attractive à courte portée entre protéines structurales voisines.

Comme l'activation des intégrines influence l'état des protéines structurales via le deuxième terme de l'équation (**Eq.3**), une caractérisation de leur comportement est nécessaire. Cela est réalisé en proposant un Hamiltonien régissant leur interactions et présenté en équation (**Eq.6**).

$$H_{\text{int}} = \sum_{i} \left[ \Delta G s_i + \tau u_i' s_i - d f_{a,i} s_i \right]$$
 (4)

Dans cet Hamiltonien, le premier terme correspond à l'énergie nécessaire pour qu'une intégrine passe d'un état non-activé à un état activé et fait explicitement référence à la notion d'allostéricité que nous aborderons plus loin. Le deuxième traduit les efforts de déformation de la couche structurale. Le troisième terme regroupe les effets du cytosquelette puisqu'il correspond au travail des forces actives du complexe actomyosine. Du Hamiltonien (**Eq.4**) on déduit la valeur moyenne  $\langle s \rangle$  de la densité d'intégrines activées. Ce qui permet de tirer du Hamiltonien proposé en (**Eq.3**) l'énergie libre des protéines formant la couche structurale :

$$F = \int \frac{dx}{a} \left[ -\varepsilon_b \left\langle s \left( \phi = 1, x \right) \right\rangle \psi - \frac{1}{2} \varepsilon \psi^2 + \frac{1}{4} c \psi^4 + \frac{1}{2} B \left( \frac{\partial \psi}{\partial x} \right)^2 \right]$$
 (5)

Où  $\Psi = \Phi - \frac{1}{2}$ . Le potentiel chimique  $\mu_{ads}$  se déduit par dérivée fonctionnelle de l'énergie libre (**Eq.5**) et l'équation (**Eq.2**) donne alors :

$$\frac{\partial \psi}{\partial t} \simeq \frac{C_1}{\beta} \left( \beta \Delta \mu_0^{rigid}(f) - \beta \sigma(f) \frac{\partial \psi}{\partial x} + \varepsilon(f) \psi - c \psi^3 + B \vec{\nabla}^2 \psi \right)$$
(6)

Cette équation, dont le membre de droite dépend explicitement des forces générées par le cytosquelette, décrit la dynamique des adhésions focales. Notamment leur croissance/décroissance et leur dérive éventuelle. Les résultats principaux sont exposés à la figure (**Fig.9**). En fonction de la valeur avec laquelle le cytosquelette tire sur les structures adhésives, celles-ci vont adopter des comportements différents.

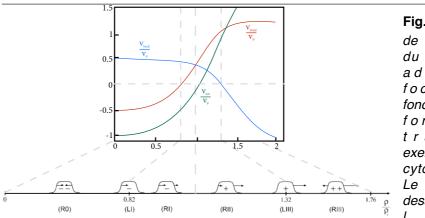


Fig.9 I Vitesse de croissance du bord des a d h é s i o n s focales en fonctions de la force de traction exercée par le cytosquelette. Le graphe cidessus montre

représentation graphiques des fonctions obtenues analytiquement : en bleu la vitesse du bord de gauche sur les représentations schématiques du dessous. En rouge celle du bord de droite. En vert la vitesse de dérive de l'adhésion dans son ensemble. La figure du dessous est une représentation schématique des différents domaines définis par les courbes de vitesses théoriques du dessus. Le signe négatif signifie que le site, instable, est voué à disparaître ; le signe positif qu'il est en expansion. (source : d'après Besser et al. Biophys. J. 2006)

Cette modélisation proposée par Safran, Nicolas et Besser témoigne de comportements observés expérimentalement — en particulier le glissement des adhésions focales à l'arrière des cellules en migration — et incorpore, à la fois, des notions de physique statistique, de mécanique des milieux continus et de biochimie. Outre son terme principale (le troisième de l'équation (Eq.3)) introduit de manière phénoménologique, se pose la question de la limite de ce modèle : Les structures adhésives sont-elles toujours solidaires du cortex d'actine ? Intrinsèquement, ce modèle véhicule l'idée que le cytosquelette est responsable de la dynamique de l'adhésion mais peut-on avoir des mécanismes adhésifs seuls, décorrélés de toute polymérisation ? Finalement que sait-on des différentes étapes de maturation des sites adhésifs ?

### 2.4. Les structures adhésives sont des entités dynamiques

Structures adhésives les plus étudiées, les adhésions focales et leur maturation constituent un exemple de choix pour illustrer la dynamique générale de telles architectures cellulaires, cf. (**Fig.5&9**). On distingue plusieurs étapes au cours de ce processus :

- tout commence par la mise en place d'un complexe focal, petit CAAI<sup>8</sup> ponctuel se formant au niveau du bord du lamellipodium <sup>9</sup> d'une cellule adhérente.
- ces complexes regroupent principalement des intégrines activées et de la taline, une protéine dont l'interaction avec l'intégrine induit l'activation de cette dernière. L'activation de ces deux premiers acteurs est fortement dépendante d'un phospholipide membranaire : PI(4,5)P<sub>2</sub>. On nomme ces complexes des adhérences précoces et leur temps de vie caractéristique est de l'ordre de la minute.
- → production de PI(4,5)P₂ et activation conjointe des GTPases régulatrices. S'en suit un recrutement séquentiel d'autres protéines structurales (paxilline et vinculine principalement) et l'activation de la polymérisation branchée du cortex d'actine, via Arp2/3.

<sup>8</sup> Complexe adhésif acto-intégrine

<sup>&</sup>lt;sup>9</sup> Réseau d'actine branché extrêmement dynamique polymérisant au niveau du front d'avancé des cellules très mobile.

- portés par le flot rétrograde d'actine ainsi stimulé, les complexes focaux dérivent jusqu'à la frontière entre lamellipodium et lamellum<sup>10</sup>, où la différence de flux d'actine les stoppe.
- → parallèlement à cette lente dérive centripète, le recrutement et l'autophosphorylation de FAK et Src vont, d'une part en initiant la voie Rho, stimuler la réorganisation du cortex d'actine et d'autre part initier une boucle d'amplification du recrutement des intégrines (Critchley 2004).
- une fois en bout de lamellipode la plupart des complexes focaux disparaissent. Toutes fois, certains persistent et se transforment en adhérences focales. Cette transition nécessite l'activité d'un acteur clef : la myosine-II<sup>11</sup> qui, conjuguée aux câbles d'actine antiparallèles polymérisés entre deux « proto-adhérences focales », va permettre la production de forces de traction.
- → sous l'action de ces forces mécaniques, les adhésions focales s'allongent et maturent.
- divers mécanismes de désassemblage existent, nous n'entrerons pas dans les détails. D'une façon générale, les adhésions focales se désassemblent soit par déstabilisation des intégrines (via la calpaïne 2 par exemple), soit par déstabilisation de l'échafaudage moléculaire (via FAK et les microtubules<sup>12</sup>) (Kaverina, Krylyshkina et al. 2002).

Les structures adhésives évoluent au cours du temps, il en va de même de leur triple fonction de mécano-sensibilité, mécano-transduction et mécano-réponse. En effet, des études expérimentales (Riveline, Zamir et al. 2001; Jiang, Giannone et al. 2003) ont montré qu'à chaque étape de maturation correspondait un régime de forces mécaniques supportables. À l'état d'adhérences précoces (intégrine +taline), les structures ne peuvent résister à une force supérieure à 2pN. Puis, si la rigidité du substrat le permet, le recrutement de nouvelles protéines telles que la vinculine va aider la structure à supporter des forces de l'ordre de 5nN (Galbraith, Yamada et al.

<sup>&</sup>lt;sup>10</sup> Réseau d'actine plus rigide et moins dynamique que le lamellipodium sur lequel ce dernier s'appuie pour polymériser et faire avancer le bord cellulaire.

<sup>&</sup>lt;sup>11</sup> Membre principal de la famille des myosines. Ce sont des moteurs moléculaires interagissant avec l'actine. Composés de deux chaînes lourdes et légères, leur activité ATPasique leur permet d'assurer un rôle de transduction chimicomécanique.

<sup>&</sup>lt;sup>12</sup> Les microtubules forment un autre réseau de polymères au sein de la cellule. Ils sont formés de tubuline et sont plus rigides que les structures formées d'actine. On les retrouve impliqués notamment dans l'organisation du fuseau mitotique lors de la division cellulaire.

2002; Giannone, Jiang et al. 2003). Finalement, au stade d'adhésion focale mature, les forces supportables par la structure atteignent quelques dizaines de nanonewtons et son alors proportionnelle à la surface de l'adhésion focale (Schwartz et al. 2002, Gallant et al. 2005).

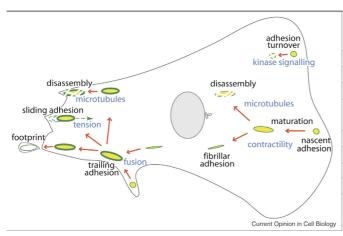


Fig.10 I Dynamique des adhésions focales. Les adhésions précoces, arrivées à la limite lamelipodium/lamellum vont soit se désassembler soit se développer en adhésions focales sous l'effet de forces contractiles. A leur tour, ces adhésions focales vont soit se désassembler sous l'action des microtubules, soit devenir

des adhésions fibrilaires. A l'arrière de la cellule, des sites adhésifs se forment et maturent. La contractilité du cytosquelette les fait glisser sur le substrat pendant la rétraction de l'uropode. Ces sites vont soit se désassembler soit rester accrochés au substrat et former des empreintes membranaires résiduelles. (source : Broussard et al. Curr. Op. Cell Biol. 2008)

La dynamique des structures adhésives repose sur le ballet de différents acteurs moléculaires régulant les diverses étapes d'assemblage et de désassemblage ainsi que les capacités fonctionnelles de la structure en question. C'est finalement la synchronisation spatio-temporelle de chaque étape et la dynamique simultanée du cytosquelette d'actine qui va conférer à la cellule son caractère adhésif et son comportement mécanique.

#### 2.5. Importance des échelles de temps

La synchronisation et la hiérarchisation spatio-temporelle des différents processus sont capitales. Dans les paragraphes précédents, nous avons parlé de réactions chimiques, d'équilibres mécaniques, de recrutements et d'activations de protéines.

Reposant sur des principes physico-chimiques différents, tous ces phénomènes déroulent à des temps caractéristiques différents

(**Tab.1**). À l'échelle d'une cellule, c'est-à-dire la dizaine de microns, la transmission de contraintes mécaniques est instantanée. Cependant, cette transmission instantanée nécessite un support matériel : des fibres d'actine par exemple. On ne saurait transmettre une force d'un bout à l'autre de la cellule sans avoir au préalable tendu un « câble » reliant ses deux bouts. Avec une vitesse de polymérisation de quelques dizaines de nanomètres par seconde et un diamètre cellulaire de quelques dizaines de microns, on estime le temps de mise en place d'un réseau de tenségrité globale autour de la dizaine de minutes. Autre phénomène important : la diffusion. La cellule étant un milieu fortement visqueux et hétérogène, les temps caractéristiques de diffusion peuvent varier beaucoup. À titre indicatif on estime, grâce aux valeurs données dans le tableau (Tab. 1), le temps nécessaire à une protéine pour diffuser dans la membrane de l'ordre de la dizaine de secondes. De même, dans le cytoplasme, ce temps tombe à quelques secondes ou dizaines de secondes.

Mécanisme	Valeur caractéristique	Référence
Vitesse de polymérisation de l'actine	10 <sup>-1</sup> -10 <sup>-2</sup> μm.s <sup>-1</sup>	(Pantaloni, Le Clainche et al. 2001)
Coefficient de diffusion dans le cytoplasme	0,1-1 μm².s <sup>-1</sup>	$D=kBT/(6\pi\eta a)$
Coeffficient de diffusion dans la membrane	1-10² μm².s <sup>-1</sup>	(Ramadurai, Holt et al. 2009) Webb et al. Biochem Soc. Symp. 1981
Propagation des contraintes mécaniques	10 <sup>8</sup> -10 <sup>9</sup> μm.s <sup>-1</sup>	Vitesse du son

**Tab.1** I Ordres de grandeurs de quelques coefficients biochimiques influençant la hiérarchisation spatio-temporelle des événements.

Autre mécanisme de régulation temporel : le contrôle cinétique d'un grand nombre de réactions biochimiques. De fait, une réaction thermodynamiquement favorisée ne peut pas avoir lieu spontanément si son énergie d'activation est trop haute, elle est bloquée cinétiquement. Pour diminuer cette barrière d'activation, un moyen est de coupler cette réaction à une autre, exergonique. L'énergie ainsi produite permet aux réactifs de la première de franchir la barrière d'activation.

#### 2.6. Rôle des phosphorylations enzymatiques

Au paragraphe 2.2 nous avons séparé les protéines constituant les systèmes adhésifs en deux grandes catégories : les protéines structurales et les protéines de signalisation/régulation. Une différence fondamentale que l'on peut faire entre ces deux types de protéines est finalement la transformation d'énergie libre : Les protéines de signalisation sont généralement des kinases, des phosphatases ou des GTPases de la famille Rho<sup>13</sup>. Elles servent à catalyser et/ou initier des réactions chimiques spécifiques.

Ces mécanismes ont deux intérêts : d'une part, ils permettent de faciliter une réaction chimique en abaissant son énergie d'activation. Ce faisant, elles déplacent un équilibre chimique au profit des réactifs ou des produits, initiant ainsi une dynamique moléculaire particulière. D'autre part, en catalysant la formation d'échafaudages moléculaires complexes, ils participent à la réduction de l'entropie localement et donc participe au traitement de l'information cellulaire.

De par cet aspect néguentropique, la mise en place de structures hautement organisées telles que les adhésions focales est une réaction endergonique. Pour avoir lieu elle doit être couplée à une réaction plus fortement exergonique : l'hydrolyse de l'ATP et/ou du GTP. Le groupement phosphorate ainsi produit va se lier à une molécule d'intérêt, c'est pourquoi l'on parle souvent de phosphorylation enzymatique. La phosphorylation de WASP par

<sup>&</sup>lt;sup>13</sup> Mise en évidence comme régulateurs clef de l'adhérence par Ridley et Hall (Hall Science 1998)

FAK<sup>14</sup> ou celles de la paxilline et de la cortactine par Src sont des exemples de ce type de mécanisme.

La création de liaisons entre molécules a un coût énergétique. Quelques dizaines de  $k_BT^{15}$  pour les liaisons ioniques ou covalentes, quelques  $k_BT$  pour les liaisons hydrogènes et celles de Van Der Waals. Entropiquement, la création d'une liaison induit aussi un coût : en diminuant les degrés de liberté relatifs de deux particules, leur entropie se voit diminuée aussi de quelques  $k_BT$ . L'ordre de grandeur de ces énergies est important : un ordre de grandeur audessus du bruit thermique est un écart suffisamment grand pour s'assurer que la réaction n'aura pas lieu spontanément trop souvent et également suffisamment faible pour être combler par une réaction de d'hydrolyse de l'ATP qui dégage une vingtaine de  $k_BT$ .

#### 2.7. Approximation « granuleuse » de la catalyse

Comme évoqué au paragraphe précédent, le principe de catalyse est fondamental pour réguler la dynamique des structures adhésives. Par la suite, une réaction catalytique particulière nous intéressera : le cycle d'activation de la taline (**Fig.17**). Mais avant de l'aborder en détails, développons un modèle théorique de la catalyse enzymatique : le mécanisme de Michaelis-Menten. C'est un mécanisme général décrivant la production d'un produit P à partir d'un substrat S, catalysée par une enzyme E, cf. (**Eq.7**) où les  $k_i$  représentent les constantes cinétiques des réactions.

<sup>&</sup>lt;sup>14</sup> Focal Adhesion Kinase. C'est une protéine kinase non récepteur ; enzyme transférant un groupement phosphate de l'ATP à une protéine spécifique, très présente dans les adhésions focales.

<sup>&</sup>lt;sup>15</sup> K<sub>b</sub> représente la constante de Boltzmann et T la température absolue prise, sauf cas exceptionnel contraire aux environs de 300 Kelvin.

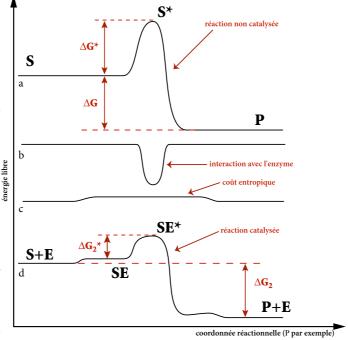
<sup>1</sup>  $k_BT$  (soit  $4.10^{-20}$  J ou encore 40 pN. $\mu$ m, unité plus parlante à l'échelle cellulaire) s'avère donc être l'unité étalon idéale pour l'étude des phénomènes biologiques puisque ce quanta représente le bruit thermique constamment accessible. On étalonne alors toute énergie mise en jeu par cette valeur de référence.

 $<sup>^{16}</sup>$  Selon la loi de Boltzmann la probabilité de trouver un système dans un état d'énergie de 10  $k_BT$  sera de l'ordre de  $e^{\text{-}10}$  soit environ 4,5.10 $^{\text{-}5}$ .

$$S + E \xrightarrow{k_1 \atop k_{-1}} SE \xrightarrow{k_2} P + E \tag{7}$$

Dans une réaction catalytique telle que (**Eq.7**), l'enzyme, inchangée entre l'état initial et final, ne modifie pas la variation d'énergie libre globale de la réaction. La figure (**Fig.11**) explique l'action enzymatique : en abaissant la barrière de potentiel séparant les états S et P. L'enzyme augmente la probabilité de passage de l'un à l'autre, cette dernière étant donnée par la loi de Boltzmann.

Fig.11 I Schéma de principe d'un paysage énergétique correspondant à une réaction chimique simple impliquant une molécule de substrat seule et une seule enzyme, les trois courbes du dessus (a), g (b) et (c) correspondent à trois contributions différentes ; la courbe (d) représente le paysage énergétique total incluant ces trois contributions. (a) : Pour passer de l'état de substrat à celui de produit, le système doit dépasser un potentiel



d'activation  $\Delta G^*$ . (b) l'interaction avec l'enzyme induit une réduction de l'énergie libre du système due principalement à la déformation du complexe activée. (c) La création d'une liaison entre le substrat et l'enzyme diminue légèrement l'entropie du système. (d) Somme des trois contributions précédentes, on voit bien que la variation nette d'énergie libre n'a pas changé  $\Delta G_2 = \Delta G$  mais que la barrière d'activation a été bien rabaissée  $\Delta G_2^* < \Delta G^*$ . (source : d'après Biological Physics par Philip Nelson).

Le résultat principal du modèle de Michaelis-Menten est l'expression du taux de production de produit v en fonction de la concentration de substrat  $c_S$  et de la concentration totale d'enzyme  $c_E$ :

$$v = v_m \frac{c_s}{K_M + c_s}$$
  $v_m = k_2 c_E$   $K_M = \frac{\left(k_{-1} + k_2\right)}{k_1}$  (8)

Un point important pour parvenir à ce résultat : le complexe activé est immédiatement dans son état stationnaire, ce qui conduit à l'expression de sa concentration qui nous sera utile ultérieurement :

$$c_{SE} = c_E \frac{c_s}{K_M + c_s} \tag{9}$$

L'état stationnaire du complexe activé est observé expérimentalement, ce qui indique que l'équilibre  $S + E \xrightarrow[k_{-1}]{k_{-1}} SE$  est

beaucoup plus rapide que la réaction  $SE \xrightarrow{k_2} P + E$ . Cela renforce l'idée de hiérarchisation temporelle des événements biochimiques. Toutes les réactions chimiques ne se produisant pas à la même vitesse et suivant l'échelle de temps considérée, certaines peuvent être négligées. En l'occurrence, dans le cas d'une réaction catalytique de type Michaelis-Menten, le détail de la réaction telle qu'elle est exposée en (**Eq.7**) importe peu, on peut la remplacer par une description plus synthétique de type :

$$S \xrightarrow{v} P \tag{10}$$

Avec v le taux de production donné en (**Eq.8**). Ce passage d'une description rigoureuse des mécanismes réactionnels (**Eq.7**) à une description plus globale (**Eq.10**) s'appelle le «coarse graining», son principe général étant d'éliminer des équations les variables évoluant le plus rapidement. C'est une technique importante pour la simplification des voies de signalisation biochimiques (Borisov, Markevich et al. 2005; Sinitsyn, Hengartner et al. 2009) et nous y aurons recours par la suite.

Au travers de cette deuxième partie, nous avons vu que les structures adhésives étaient des entités complexes et dynamiques. A ce titre, nous avons montré qu'il était légitime et efficace de les étudier à l'aide des outils de la physique statistique. Toute bonne étude statistique d'un ensemble d'éléments s'appuie sur une description simple et pertinente de l'élément de base en question pris

de manière individuelle. Nous allons donc présenter la famille de protéines fondamentale des mécanismes d'adhésion dans la troisième et dernière partie de l'introduction : les intégrines.

# 3. Un acteur incontournable : l'intégrine

#### 3.1. La grande famille des intégrines

Les intégrines constituent une des cinq familles principales de molécules adhérentes. La seule qui assure spécifiquement les interactions cellule-matrice<sup>17</sup>. Leur découverte date des années 1980 (Hynes 1987) et leur nom dérive de leur fonction : intégrer les signaux venant d'une part de la cellule et d'autre part de la Mec. Ce sont des protéines extrêmement conservées d'un point de vue phylogénique puisqu'on les retrouve chez tous les métazoaires<sup>18</sup> ; ce qui suggère le caractère fondamental de leur fonction cellulaire.

Cette liaison avec la Mec et la signalisation qui en découle placent les intégrines au centre de processus physiologiques clefs. La migration cellulaire a déjà été évoquée mais la liste est longue : du développement embryonnaire à la réponse immunitaire. Inversement, la dérégulation de leur comportement est à l'origine de certaines pathologies, notamment les métastases cancéreuses (Hynes 1992). Dans les cellules cancéreuses, une forme particulière d'apoptose induite par perte d'adhérence (l'anoïkis) est inhibée ; il en résulte une survie des cellules cancéreuses détachées qui deviennent alors des métastases.

Structurellement, les intégrines sont des récepteurs transmembranaires hétérodimériques composés de deux sous-unités<sup>19</sup>  $\alpha$  et  $\beta$  liées entre elles de façon non covalente. Leurs poids

<sup>&</sup>lt;sup>17</sup> Les immunoglobulines, sélectines et cadhérines sont impliquées dans les jonctions cellules-cellules. La cinquième famille, regroupant les protéines de type ADAM (A Disintegrin And Metaloprotease), est impliquée dans les mécanismes de fusion, de dégradation matricielle notamment.

<sup>&</sup>lt;sup>18</sup> Organismes pluricellulaires

<sup>&</sup>lt;sup>19</sup> Ce sont deux glycoprotéines

moléculaires respectifs sont d'environ 120 kDa et 90 kDa. Chaque sous-unité peut se diviser en trois parties principales :

- → Un grand domaine extracellulaire d'environ 1000 acides aminés.
- → Un domaine transmembranaire d'une vingtaine d'acides aminées.
- → Une courte queue cytosolique longue d'une cinquantaine d'acide aminés.

Elles sont produites et assemblées dans le réticulum endoplasmique et suivent la voie de sécrétion classique. Bien que l'on compte 18 chaînes α et 8 chaînes β différentes chez les mammifères, seulement 24 combinaisons sont exprimées (**Fig.12**). La diversité de la famille se voie augmentée par l'existence de quelques variantes issues d'épissages alternatifs<sup>20</sup> et de modifications post-traductionnelles<sup>21</sup>. La majorité des intégrines se retrouve dans plusieurs types cellulaires et chaque type cellulaire exprime généralement plusieurs intégrines différentes.

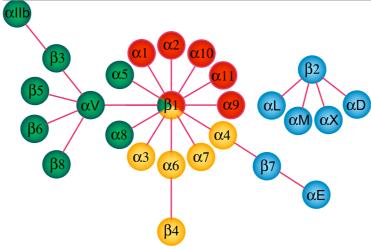


Fig.12 I La famille des intégrines, décomposable en trois sous familles. Les intégrines à chaînes β1 et αν sont exprimées ubiquitairement. Parmi celles-ci celles en rouge se lient au collagène, celles en verre au motif RGD (Arginine-Glycine-Acide Aspartique) et celles

en jaune à la laminine. Les intégrines  $\beta 2$  sont spécifiques des leucocytes, tout comme les  $\beta 7$  et sont représentées en bleu. (source : D'après Stephan The Scientist. 2005)

Les homologies structurales au sein de la «famille intégrine» suggèrent qu'une grande partie des fonctions assurées par une

<sup>&</sup>lt;sup>20</sup> Etape préliminaire et nécessaire à la traduction de l'ARNm. Elle correspond à la délétion des introns et exons non codants, à l'addition d'une coiffe méthylée en 5' et d'une queue poly-A en 3'.

<sup>&</sup>lt;sup>21</sup> Modification enzymatique d'une protéine après sa synthèse. Elle consiste généralement en :l'addition d'un groupement fonctionnel (méthylation...) et/ou l'addition d'un groupement peptidique (ubiquitination...) et/ou le changement d'un acide aminé et/ou des changements structuraux (pont di-sulfure...).

intégrine spécifique ne sont pas affectées si cette dernière est incapacitée. Cette redondance contribue alors à la robustesse des fonctions biologiques associées. Cependant, un nombre grandissant de travaux, de la réalisation de mutants n'exprimant pas un type spécifique d'intégrine à des travaux plus fondamentaux sur la maturation des adhésions focales, tend à mettre en avant l'exclusivité fonctionnelle de certaines intégrines. La comparaison des rôles fonctionnels de  $\alpha_5\beta_1$  et  $\alpha_V\beta_3$  dans la maturation des adhésions focales par Roca-Cusachs et al.(Roca-Cusachs, Gauthier et al. 2009) en est un parfait exemple : en utilisant des billes recouvertes de fibronectine et une pince magnétique, Roca-Cusachs et al. arrivent à la conclusion que les intégrines  $\alpha_5\beta_1$  sont responsables de la transmission des efforts mécaniques mais ne sont pas impliquées dans le recrutement de structures connectant le cytosquelette d'actine. Inversement,  $\alpha_{V}\beta_{J}$ s'avère responsable du recrutement de la taline mais n'intervient pas dans la transmission de contraintes mécaniques. Cette étude expérimentale soulève une question intéressante : comment de légères différences structurales à l'échelle de la protéine conduisentelles à des fonctionnalités collectives différentes?

Le caractère spécifique des liaisons que les intégrines sont à même de contracter avec certaines protéines de la Mec s'explique par la présence de motifs de reconnaissance particulier sur ces ligands, notamment le motif RGD<sup>22</sup> présent dans beaucoup de protéines de la Mec comme la fibronectine, le collagène ou encore la vitronectine. Techniquement, les groupements acides aspartiques présents dans les motifs RGD vont réaliser des complexes ternaires<sup>23</sup> avec les parties N-terminales des sous-unités  $\alpha$  et  $\beta$ . Ces interactions ligand-récepteur entre les sous-unités et les protéines de la Mec sont modulables non seulement par la présence de cations divalents<sup>24</sup>

<sup>22</sup> Le tripeptide Arginine Glycine Aspartate découvert initialement dans la fibronectin (Pytela et al 1985) s'avère être à l'origine du caractère adhésif de plein d'autres protéines de la Mec.

<sup>&</sup>lt;sup>23</sup> Un complexe ternaire est un complexe ligand-récepteur stéréospécifique. L'adjectif ternaire faisant référence à la structure 3D des macromolécules biologiques obtenue par interactions de Van Der Waals.

<sup>&</sup>lt;sup>24</sup>: Mg<sup>2+</sup> et Mn<sup>2+</sup> stimulent ces interactions alors que Ca<sup>2+</sup> les inhibe.

mais également par les changements conformationnels que l'hétérodimère va subir.

En effet, la structure quaternaire des intégrines leur permet d'exister dans deux états conformationnels stables<sup>25</sup> (Fig.13) : une conformation dite inactive où la la protéine se présente repliée sur elle-même et une conformation active dans laquelle elle se trouve dépliée. Bien que ne contenant pas toutes exactement les même domaines, toutes les intégrines présentent cette particularité de posséder plusieurs conformations stables géométriquement différentes. Dans sa configuration inactive, le domaine d'interaction présent sur la tête globulaire de la protéine est masqué, rendant l'interaction avec le ligand difficile. A l'inverse, pleinement dépliée dans sa configuration activée, l'interaction adhésive est favorisée. Deux modèles s'affrontent alors (Xiong, Stehle et al. 2003; Luo, Carman et al. 2007) : le modèle «switchblade» supposant que l'extension de la partie extracellulaire précède l'adhésion de l'intégrine et le modèle « deadbolt » suggérant que l'extention de l'intégrine est due à son adhésion. Ces deux modèles correspondent finalement respectivement à la signalisation « inside-out » et « outside-in ». D'une façon générale, contrôler l'équilibre adhésif des intégrines équivaut à contrôler le changement conformationnel entre ces deux états stables. On appelle ce type de mécanisme une activation allostérique<sup>26</sup>.

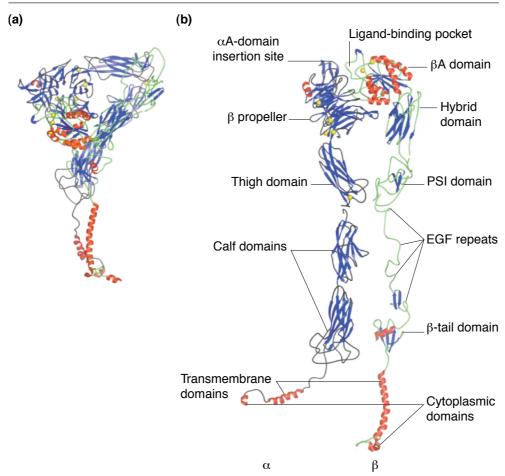
### 3.2.L'activation allostérique : pierre angulaire de la mécano-transduction

La plupart des intégrines présentes dans la membrane cytoplasmique d'une cellule en suspension se trouvent, constitutivement, dans un état inactif. Il a été montré que le passage

<sup>&</sup>lt;sup>25</sup> à ces deux conformations différentes, certaines études structurales suggèrent d'ajouter une troisième intermédiaires (Springer Opin. Struct. Biol. 2002 / Mould et Humphries Curr. Opin. Cell Biol. 2004 / Adair, Xiong et al. J. Cell Biol. 2005).

<sup>&</sup>lt;sup>26</sup> La théorie des transitions allostériques a été proposé en 1963 par Monod, Changeux et Jacob pour expliciter la régulation de l'affinité d'un récepteur pour son ligand par une tierce entité chimique interagissant sur un site distinct et éloigné du site de liaison du ligand.

à un état activé pouvait être induit de façon bidirectionnelle (Hynes 2002; Puklin-Faucher and Sheetz 2009). La théorie allostérique, proposée par Monod et al. dans les années soixante (MONOD, CHANGEUX et al. 1963; MONOD, WYMAN et al. 1965), explicite ce rôle de transducteur mécano-chimique bidirectionnel de l'intégrine.



**Fig.13 I** Structure d'une intégrine (la partie extracellulaire se situe au dessus). (a) forme repliée inactive. On notera que dans cette forme les domaines cytoplasmiques et les hélices transmembranaires des deux sous-unités sont très proches. (b) forme dépliée active. (Source : adapté de Humphries, McEwan et al. Trends Biochem. Sci. 2003).

On peut associer chacun de ces types d'activations allostériques à un mécanisme de régulation : l'interaction allostérique homotropique<sup>27</sup>, entre la Mec et l'intégrine et l'étirement mécanique qui en résulte induisent un changement de conformation de cette dernière. Ce dépliement de la protéine dévoile des sites d'interactions

Introduction | adhérence & adhésion | 31

<sup>&</sup>lt;sup>27</sup> Par définition, une activation homotropique est induite par le ligand et est nécessairement positive (coopérative).

criptiques présents sur sa partie C-terminale, permettant ainsi une interaction avec un ou plusieurs partenaire(s) cytoplasmique(s) particulier(s) et donc l'activation d'une ou plusieurs voie(s) de signalisation. On appelle ce mécanisme une signalisation "outside-in". Inversement, l'interaction hétérotropique<sup>28</sup> entre une espère intracellulaire et la partie C-terminale de l'intégrine, en favorisant (ou défavorisant) la conformation active, va moduler l'interaction ligand-récepteur et donc contrôler l'adhésion de la cellule à son substrat. C'est une signalisation "inside-out".

À l'instar de l'adhésion cellulaire et de la régulation des adhésions focales, la théorie allostérique utilise les outils de physique statistique pour expliquer un mécanisme biochimique fondamental.

Le principe est de considérer un récepteur transmembranaire possédant deux conformations différentes (S et R), liant un ligand extracellulaire. Le passage d'une conformation à l'autre coûte de l'énergie et une des deux conformations a plus d'affinité pour le ligand que l'autre. En notant  $J_S$  et  $J_R$  les énergies d'interactions entre le récepteur et son ligand dans les deux états conformationnels possibles et en supposant l'état R favorisé (le gain énergétique par rapport à l'état S vaut :  $\varepsilon$ - $\eta\langle r\rangle$ , on notera que ce gain dépend de l'état conformationnel des plus proches voisins du récepteur considéré), on obtient les valeurs moyennes  $\langle r\rangle$  et  $\langle y\rangle$  respectivement de la fraction de récepteur dans l'état R et de la fraction de récepteur liant le ligand, représentées par les équations (**Eq.11 & 12**).  $\lambda$  représente l'affinité absolue (ie sans aucune considération allostérique) pour le ligand et est proportionnelle à la concentration en ligand.

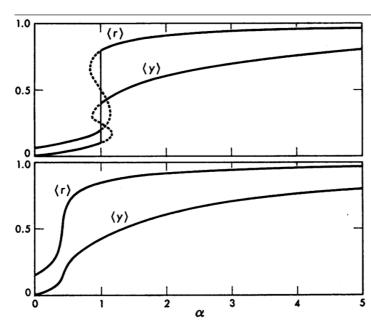
$$\langle r \rangle = \frac{(1 + \lambda e^{\beta J_R}) \cdot e^{-\beta(\varepsilon - \eta < r >)}}{\left( (1 + \lambda e^{\beta J_S}) + (1 + \lambda e^{\beta J_R}) \cdot e^{-\beta(\varepsilon - \eta < r >)} \right)}$$
(11)

<sup>&</sup>lt;sup>28</sup> Une activation hétérotropique est induite par une molécule autre que le ligand est peut être positive ou négative (antagoniste).

$$\langle y \rangle = \frac{\lambda \left( e^{\beta J_S} + e^{\beta J_R} \cdot e^{-\beta(\varepsilon - \eta < r >)} \right)}{\left( (1 + \lambda e^{\beta J_S}) + (1 + \lambda e^{\beta J_R}) \cdot e^{-\beta(\varepsilon - \eta < r >)} \right)}$$
(12)

Deux caractéristiques du mécanisme d'allostéricité découlent des formules (**Eq.11 & 12**) :

- L'énergie d'isomérisation  $\varepsilon$ - $\eta\langle r\rangle$ , dépendant de l'état des voisins du récepteur considéré, va induire des comportement collectifs. Ce terme énergétique, obtenu par approximation de champ moyen sur les interactions entre récepteurs voisins, conduit à un modèle de type Ising décrivant, suivant la valeur des paramètres, une transition de phase d'ordre 1 ou une réponse graduelle comme le montre la figure (**Fig.14**).
- La figure (**Fig.14**) illustre une deuxième caractéristique : le degré d'interaction avec le ligand, en fonction de la concentration de ce dernier dans le substrat, évolue de la même manière que le rapport des deux conformations, toujours en fonction de la concentration en ligand, ce qui suggère l'interdépendance des deux phénomènes et le caractère bidirectionnel de la signalisation associée. Cela explicite également le lien entre structure et fonction d'une protéine, fondamental pour notre modèle.



**Fig.14** I Fonctions  $\langle r \rangle$ et  $\langle y \rangle$ , (Eq.11 & 12), en fonction de la densité de ligand. En fonction des paramètres biochimiques deux types de réponses sont possibles: une réponse graduelles (courbe du bas) et une réponse souscritique en "tout ou rien" (courbe du haut) correspondant à une transition de phase d'ordre 1. La différence entre les deux cas réside dans

les coefficients  $\varepsilon$  et  $\eta$  régissant le gain énergétiques entre les deux états R et S considérés. (source : D'après (Changeux, Thiéry et al. 1967)

On voit donc que l'allostéricité permet de relier un changement conformationnel à une caractéristique fonctionnelle de la protéine en question. Dans cette optique, Cantor et al. ont montré que l'activation allostérique d'un récepteur transmembranaire est couplée à un changement de pression surfacique dans la membrane (Cantor 1999), on parle cette fois-ci de mécanisme allostérique indirect, qu'on retrouve dans les modèles de Safran et al.

Cette capacité d'activation allostérique justifie le rôle charnière joué par l'intégrine en terme de signalisation ; cependant, ne possédant aucune activité enzymatique intrinsèque, elle s'avère incapable de transmettre elle-même l'information aux autres acteurs cellulaires. Il lui faut nécessairement recruter des intermédiaires au niveau de sa queue cytoplasmique. Bien qu'extrêmement limitée en taille, cette dernière revêt donc une importance fonctionnelle capitale.

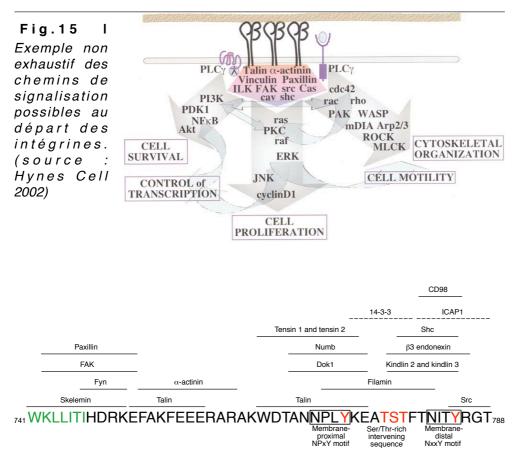
### 3.3. La queue cytosolique de l'intégrine : un « hub » signalétique

Dans son état de basse affinité, l'intégrine présente un pont salin<sup>29</sup> entre les domaines cytosoliques de ses deux sous-unités. Ce pont induit une contrainte structurale dans le domaine extracellulaire qui stabilise le dimère dans sa forme repliée inactive (**Fig.13**). Ce pont salin n'est pas la seule interaction existant entre les deux sous-unités mais sa position stratégique fait de sa régulation un moyen privilégié d'activation de l'intégrine : en interagissant avec un ou plusieurs motif(s) intracellulaire(s), une protéine donnée va le renforcer ou le fragiliser, ce qui en retour stabilise ou déstabilise l'état inactif.

A titre d'exemple, l'adhésome proposé par Zaidel-Bar (**Fig.7**) explicite également la multiplicité des interactions possibles au niveau de la queue cytosolique. Le figure (**Fig.15**) évoque le rôle central joué par ces interactions entre la queue de l'intégrine et ses partenaires cytoplasmiques. La figure (**Fig.16**) explicite une notion charnière de cette régulation : la compétition entre ces différentes protéines régulatrices. En effet, la taille modeste du fragment

 $<sup>^{29}</sup>$  Interaction électrostatique attractive entre le motif GFKR sur  $\alpha$  et HDR sur  $\beta$ 

intracellulaire induit des recouvrements entre les domaines d'interactions des différents partenaires, mettant ces derniers en compétition.



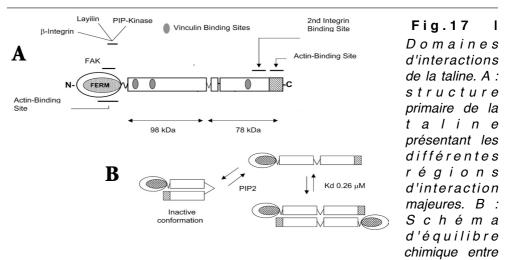
**Fig.16 I** Partie C-terminale cytosolique de la sous-unité  $\beta$ 3. Les protéines en pointillés intéragissent avec d'autre intégrines que  $\beta$ 3. En vert sont indiqués les acides aminés qui sont dans la membrane sans la forme inactive de la protéine. (source : Legate et al. J. Cell Scien. 2009)

Dans une grande majorité des cas, ces interactions intégrinepartenaire vont simplement déplacer l'équilibre entre les deux états conformationnels. Une seule protéine est connue à ce jour pour induire totalement le changement conformationnel nécessaire à l'activation des intégrines : la taline .

#### 3.4. La taline, un partenaire privilégié

La taline est une protéine structurale de 270 kDa<sup>30</sup> qui assure un rôle charnière entre les intégrines et le cytosquelette d'actine (Critchley 2004). Elle se compose d'une tête globulaire de 50 kDa au niveau de sa partie N-terminale suivie d'une queue flexible (**Fig.17**). Différents sites d'interaction avec divers molécules d'intérêt (notamment actine, vinculine, FAK...) sont présents sur toute sa longueur. Parmi ces sites, plusieurs spécifiques des intégrines<sup>31</sup> ont été répertoriés. Notons également la présence de sites de dimérisation, permettant à deux molécules, interagissant avec deux intégrines différentes, de s'interconnecter têtes-bêches, induisant ainsi une interaction attractive à courte portée entre deux intégrines.

La taline est une protéine activable : dans son état inactif, elle se présente dans une forme cytosolique. Le repliement de sa queue met en contact ses domaines N- et C-terminaux. Son domaine FERM $^{32}$ , présent sur sa tête globulaire, est alors masqué ce qui inhibe l'interaction avec la sous-unité  $\beta$  de l'intégrine.



les différentes conformation possibles. (source : d'après Critchley Biochem. Soc. Trans. 2004)

<sup>30 (</sup>environ 2500 acides aminés et 60 nm de long)

<sup>&</sup>lt;sup>31</sup> Un site présent dans le domaine FERM de la tête globulaire et un autre le long de la queue

 $<sup>^{32}</sup>$  Une partie de ce domaine est semblable à un domaine PTB (phosphotyrosine binding domaine) et interagit avec le motif membranaire proximal NPxY de la sous-unité  $\beta$ .

Des deux mécanismes connus pouvant induire le dépliement de la taline, un nous intéresse en particulier<sup>33</sup> : L'interaction entre la taline et le polyphosphoinositide  $PI(4,5)P_2$  présent dans la membrane.

### 3.5. Activation de la taline et boucle d'amplification

Afin d'activer l'intégrine, il convient d'activer la taline. Cette activation dépendant elle-même des intégrines, une boucle de rétrocontrôle se profile (Moser, Legate et al. 2009). Explicitons ce mécanisme, présenté sur la figure (**Fig.18**):

La taline se trouve initialement sous forme cytosolique inactive; tout comme la protéine kinase<sup>34</sup> PIPKIy. Une voie de signalisation, induite par les intégrines et impliquant les kinase FAK et Src, stimule la formation d'un complexe entre la taline et PIPKIy. La PIP-kinase ainsi activée va permettre la translocation du complexe au niveau de la membrane plasmique. Une fois à la membrane, une deuxième activation de PIPKIy par Src lui permet de phosphoryler son substrat : PI(4)P, un phospholipide de type phosphoinositide présent dans la couche cytosolique de la membrane. PI(4,5)P<sub>2</sub> ainsi formé permet le dépliement de la taline et son interaction avec le domaine NPxY de la sous-unité  $\beta^{35}$  (Martel, Racaud-Sultan et al. 2001). Cependant, d'après certaines études structurales (Wegener et Campbell Mol. Membr. Biol. 2008)(Anthis, Haling et al. 2009), cette interaction ne serait pas suffisante pour briser le pond salin et séparer les deux chaînes de l'intégrine. Une deuxième liaison entre taline et intégrine est nécessaire pour déstabiliser complètement le pond salin et permettre l'activation "inside-out" de l'intégrine.

<sup>&</sup>lt;sup>33</sup> Le deuxième mécanisme correspond au clivage de la queue de la taline par la calpaïne.

<sup>&</sup>lt;sup>34</sup> Une protéine kinase hydrolyse l'ATP et utilise le groupement phosphate produit pour phosphoryler une protéine. C'est le type de modification post-traductionnelle prépondérante dans les mécanismes de signalisation.

<sup>&</sup>lt;sup>35</sup> A ce stade une autre hypothèse plausible est l'activation directe de la taline cytosolique par le PI(4,5)P<sub>2</sub> formé initialement, ce qui amplifierait encore d'avantage la boucle d'activation

La régulation du cycle de la taline est une étape cruciale et encore sujette à débats. Deux découvertes récentes en sont la preuve (Moser, Legate et al. 2009) : d'une part la mise en évidence d'une voie de signalisation basée sur la GTPases Rap1 conduisant à la formation de complexes ternaires Rap1-RIAM-taline pouvant réguler le recrutement de cette dernière au voisinage des intégrines (Han, Lim et al. 2006; Watanabe, Bodin et al. 2008); et d'autre part la régulation de l'activation des intégrines par les protéines de la famille connues pour être des constituants des Kindlines<sup>36</sup>, protéines essentiels structures adhésives et interagissant avec les mêmes motifs NPxY — présents sur la partie C-terminale des intégrines — que la taline. Quoi qu'il en soit, retenons que la régulation de la taline et/ou d'une protéine partenaire est un mécanisme complexe nécessitant plusieurs étapes d'activation/régulation. Plus que l'identité du partenaire clef régulant l'activation des intégrines, c'est le mécanisme par lequel celui-ci fonctionne qu'il convient de connaitre.

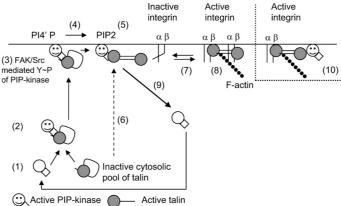


Fig. 18 I Boucle d'amplification intégrine-talin-actine. (1) La PiP kinase et la taline sont constitutivement sous formes inactives et cytosoliques. (2) La formation du complexe activé PiP kinase - taline est stimulée par une voie de signalisation impliquant Src et/ou FAK et initiée par les

intégrines. Le complexe activé ainsi crée va venir se localiser à la membrane plasmique. (3) La deuxième phosphorylation de la PiP kinase induit la production de  $Pi(4,5)P_2$ . (4) La production locale de  $Pi(4,5)P_2$  active la taline (5) au niveau de la membrane ce qui expose son domaine d'interaction avec les intégrines et son domaine de dimérisation. (6)  $Pi(4,5)P_2$  pourrait aussi activer directement la taline présente dans le cytoplasme. (7) Un fois activée, la taline interagit avec la sous-unité  $\beta$  de l'intégrine, rompant de fait le pont salin avec la sous-unité  $\alpha$ . (8) Ceci a pour effet de déplacer l'équilibre chimique entre les deux conformations de l'intégrine au profit de la forme activée et d'induire également la liaison avec le cytosquelette d'actine. (9) L'interaction taline-intégrine libère la PiP kinase qui retourne à sa forme cytosolique inactive. (10) Comme la taline forme des dimères, il se peut que la PiP kinase reste au niveau des adhésions focales. (source : d'après (Critchley 2004))

38 | adhérence & adhésion | introduction

-

<sup>&</sup>lt;sup>36</sup> Famille de protéines contenant des domaines FERM impliquées dans le syndrome de Kindler, une maladie de peau

Introduction	I adhérence 8	& adhésion I <b>3</b>	- 9

### 4. Problématique et objectifs de la thèse

Les systèmes complexes propres à la biologie moléculaire sont des sujets d'investigation privilégiés pour la physique statistique hors équilibre. En particulier la dynamique des systèmes adhérents qui a déjà été l'objet de descriptions théoriques. Ces descriptions sont restreintes au comportement des adhésions focales matures, dont la durée caractéristique est la dizaine de minutes et où beaucoup d'acteurs moléculaires différents interviennent, notamment le cortex d'actine. Qu'en est-il des temps courts et des étapes précoces de formation de ces structures ?

À l'origine de cette formation des systèmes adhérents, beaucoup s'accordent à voir le regroupement d'intégrines et de quelques partenaires cytosoliques spécifiques, tels que la taline (Nicolas, Besser et al. 2008; Zhang, Jiang et al. 2008; Albiges-Rizo, Destaing et al. 2009). La théorie de Bell montre qu'il est possible de quantifier l'effet d'une contrainte mécanique sur la loi d'action de masse de protéines adhésives. De plus, l'allostéricité explicite, dans le cas général, le couplage entre le changement de conformation et l'activation fonctionnelle d'un récepteur transmembranaire. Une description quantitative du comportement des intégrines isolées semble alors envisageable.

L'objectif global de cette thèse est de proposer un modèle de transduction mécano-chimique bidirectionnelle — de l'intérieur de la cellule vers l'extérieur et inversement — en se basant sur le caractère allostérique de l'interaction entre les intégrines et un partenaire cytoplasmique activable. Pour ce faire, nous découperons notre travail en trois parties :

Dans le premier chapitre de cette thèse, nous nous intéresserons à une partie de la cellule où les phénomènes adhésifs jouent un rôle crucial : le bord de la surface basale en contact avec le substrat. Nous proposerons alors une modélisation des interactions entre les intégrines, le substrat et une espèce cytosolique semblable à la taline. Cette modélisation repose sur le calcul du potentiel

chimique de l'espèce partenaire et sur la mise en équation de son cycle d'activation. De cette étude nous déduirons une équation régissant la dynamique du partenaire.

Le second chapitre verra la résolution numérique et analytique de l'équation proposée au précédent, toujours dans le cas du bord de la zone adhésive. Le résultat principal de ce chapitre sera alors la localisation de la forme activée de l'espèce partenaire au bord de la zone adhésive, précisément où les efforts mécaniques subis par les intégrines sont maximaux.

Dans le troisième et dernier chapitre, nous permettrons aux intégrines de diffuser dans la membrane. Nous verrons alors comment, grâce à la médiation effectué par le partenaire cytosolique entre les intégrines, ces dernières se regroupent dans les zones de fortes contraintes. Nous étudierons le cas particulier d'un contrainte localisée et verrons comment la réponse du système {intégrines +partenaire} peut être modulée en fonction de l'intensité des efforts mécaniques et chimiques ressentis.



### CHAPITRE 1: SIGNALISATION MÉCANO-INDUITE D'UNE CELLULE EN ADHÉRENCE

I.	Préliminaire : efforts mécaniques au bord de la zone adhésive46		
	I.I.	Modélisation mécanique du bord de la zone de contact46	
	I.2.	Épaisseur de la zone mécaniquement stimulée47	
	1.3.	Profil de la cellule approché50	
2.	_	sation d'une voie de signalisation mécano-dépen- 51	
	2.1.	Modélisation du partenaire cytosolique des intégrines51	
	2.I.I.	Les étapes du cycle d'activation cytosolique des intégrines52	
	2.1.2.	Hiérarchisation et des étapes précédentes56	
	2.1.3.	Définition d'une échelle d'étude mésoscopique57	
	2.1.4.	Calcul du potentiel chimique du système58	
	2.1.5.	Équation d'évolution de la concentration d'activateur63	
	2.2.	Comportement adhésif des intégrines65	
	2.2.I.	Hypothèses concernant l'adhésion des intégrines65	
	2.2.2.	Calcul du nombre d'intégrines liées66	
	2.3.	Équation d'évolution de l'activateur69	

Une cellule en adhésion n'est jamais au repos, des structures actiniques spécifiques telles que les filopodes, les lamellipodes ou encore les replis membranaires (**Fig.1**), sont stimulées au bord de la zone adhésive (Chhabra and Higgs 2007). Ces structures hautement dynamiques permettent à la cellule de sonder son environnement et éventuellement de s'y mouvoir (Pollard and Borisy 2003). La polymérisation stimulée, à l'origine de ces structures, a préférentiellement lieu au niveau du bord cellulaire et à son origine, on retrouve les sites adhésifs et leur constituant canonique : les intégrines (Pantaloni, Le Clainche et al. 2001; Le Clainche and Carlier 2008).

L'axe central ce chapitre ne concerne pas explicitement la polymérisation d'actine mais une problématique connexe : la stimulation de cette dernière au niveau du bord de la zone adhésive. Quels mécanismes physico-chimiques peuvent être à l'origine de cette localisation ?

Dans un premier paragraphe, nous expliciterons, en nous appuyant sur les travaux de thèse de François Chamaraux, pourquoi le bord de la zone adhésive est une zone spécifique d'un point de vue mécanique. Le deuxième paragraphe sera centré sur les notions de champ activateur diffusant et d'allostéricité, nous y développerons la modélisation d'une voie de signalisation biochimique dépendante de l'adhésion de protéines transmembranaires.

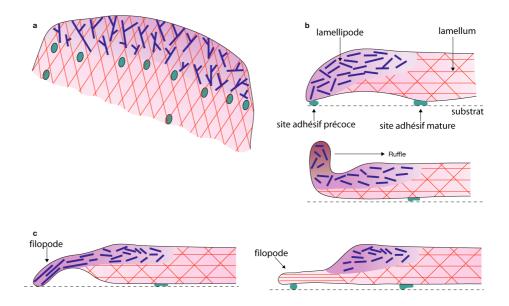


Fig.1 I Schéma des principales structures actiniques polymérisant au niveau du bord cellulaire : (a) vue du dessus du lamellipode et du lamellum. Les filaments d'actine branchés formant le lamellipode (en bleu) polymérisent grâce au complexe Arp2/3. Ces filaments s'assemblent au niveau du front d'avancée de la cellule et se désorganisent au niveau des premiers sites adhésifs matures (en vert). Les filaments d'actine formant le lamellum (en rouge) ne dépendent pas du complexe Arp2/3. (b) Vue de côté du lamellipode et du lamellum. Les forces générées par les Myosines II produisent un flot rétrograde d'actine dans le lamellipode. Si l'adhésion précoce lâche, ce flot rétrograde induit une rétraction du lamellipode que l'on nomme « ruffle ». (c) Formation de filopodes à partir du lamellipode ou du lamellum. (Source : (Chhabra and Higgs 2007))

## 1. Préliminaire : efforts mécaniques au bord de la zone adhésive

### 1.1. Modélisation mécanique du bord de la zone de contact

La modélisation mécanique la plus simple d'une cellule adhérente sur un substrat est celle présentée à la figure (**Fig.2**). On considère le système formé de la membrane plasmique, de l'actine corticale adjacente et de toutes les espèces chimiques que l'on peut trouver dans la membrane et dans son voisinage immédiat. Considérons le bord de la zone adhésive à l'équilibre mécanique. On définit, comme explicité sur la figure (**Fig.2**), deux zones : une où les protéines adhésives constituent un lien mécanique entre le substrat et le cytosquelette rigidifié. Une autre en amont, où ces même protéines n'interagissent pas avec le substrat et où le cytosquelette est beau-

coup moins rigide et détaché de la membrane. On les dénomme respectivement zone 1 et 2. Cette description repose sur le travail de François Chamaraux (Chamaraux, Ali et al. 2008) ; dans le paragraphe qui suit, nous allons rapidement rappeler un des résultats de ce travail qui nous sera utile par la suite : l'estimation du profil d'un bord cellulaire en adhésion.

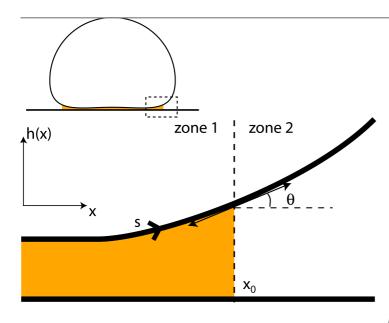


Fig.2 I Schéma du bord de la zone adhésive. La courbe h(x) représente le profil moyen du bord cellulaire, c'est-à-dire du système formé de la membrane plasmique et du cortex d'actine à son voisinage immédiat. Dans la zone 1 les intégrines adhèrent au substrat, dans la zone 2 non. L'abscisse du bord de la zone adhésive (ie

zone 1) est noté  $x_0$ .  $\Theta$  représente l'ange entre la tangente à la membrane et le substrat.

De façon intuitive, plus les protéines adhésives de la zone 1 seront proches de la frontière d'abscisse  $x=x_0$ , plus elle seront étirées. En s'éloignant de cette position dans la direction des x décroissants, cet étirement va diminuer jusqu'à une valeur d'équilibre que l'on prendra comme référence. Il va donc exister, en périphérie de la zone adhésive, une « ceinture » dans laquelle les protéines adhésives seront mécaniquement sollicitées. Estimons l'épaisseur de cette zone.

### 1.2. Épaisseur de la zone mécaniquement stimulée

Calculons le profil d'équilibre du système. Étant par hypothèse à l'équilibre, on peut attribuer à ce dernier une énergie mécanique ;

dans sa configuration d'équilibre, cette énergie sera alors minimale. En fonction de la zone considérée, on écrit alors :

$$F_i = \frac{1}{2} \int \left\{ \kappa_i \left( \frac{d^2 h}{dx^2} \right)^2 - \sigma_i \left( \frac{dh}{dx} \right)^2 + k n_{b0} h^2(x) \cdot H(x_0 - x) \right\} dx \quad (1)$$

Où  $i \in \{1,2\}$  est fonction de la zone considérée et  $H(x_0-x)$  est la fonction de Heaviside valant 1 pour  $x < x_0$  et 0 sinon. Les coefficients  $\kappa_i$  et  $\sigma_i$  correspondent respectivement au module de courbure et à la tension de surface de la zone considérée. Puisque, à priori, la composition du système est différente entre les deux zones ces coefficients sont susceptibles de varier de l'une à l'autre (**Tab.1**). x représente l'abscisse le long du substrat et h(x) le profil de la membrane (on fera l'hypothèse de petites déformation afin d'assimiler l'abscisse x et l'abscisse curviligne le long de la membrane). Le dernier terme de (**Eq.1**) correspond à l'énergie de déformation des protéines adhésives modélisées comme des ressorts de rigidité k et de densité  $n_{b0}$ , supposée constante et homogène pour l'instant. Logiquement ce terme s'annule dans la zone 2.

La minimisation de (**Eq.1**) par rapport à la fonction profil h(x) conduit à l'équation d'Euler suivante :

$$\frac{\delta F_i}{\delta h} = \frac{\partial F_i}{\partial h} - \frac{\partial}{\partial x} \left[ \frac{\partial F_i}{\partial \nabla h} \right] + \frac{\partial^2}{\partial x^2} \left[ \frac{\partial F_i}{\partial \Delta h} \right] \quad (2)$$

Il vient pour la zone 1:

$$\kappa_1 \cdot \frac{d^4 h}{dr^4} - \sigma_1 \cdot \frac{d^2 h}{dr^2} + k \cdot n_{b0} \cdot h = 0$$
 (3)

La tension de surface  $\sigma_1$  est proportionnelle à la force tangente subie par le système {membrane+cytosquelette} avant déformation ;

à ce titre, elle est supposée négligeable par rapport aux autres contribution de (**Eq.3**).  $\sigma_1 \approx \theta$  conduit alors à des solutions de la forme :

$$h(x) = \left\{ A \sin \left[ \frac{(x - x_0)}{\lambda_1} \right] + B \cos \left[ \frac{(x - x_0)}{\lambda_1} \right] \right\} \cdot \exp \left[ \frac{(x - x_0)}{\lambda_1} \right]$$
(4)

Où A et B sont des constantes d'intégration dépendant des conditions de raccordement en  $x=x_0$ , elles sont déterminées par raccordement du profil h(x) et de sa dérivée avec les solutions calculées pour la zone 2. On obtient alors un profil de bord cellulaire tel que présenté à la figure (**Fig.3**).

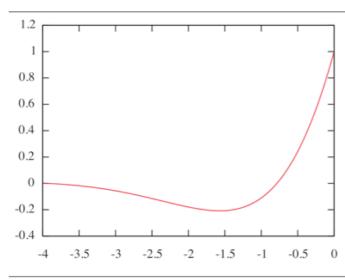


Fig.3 I Graphique du profil h(x) en fonction de la variable réduite  $(x-x_0)/\lambda_1$  telle que donnée par la fonction (Eq.4) avec A=B=1. Par définition, seule la zone 1 est représentée ici puisque l'auteur de la figure a choisi arbitrairement  $x \ \theta=0$  (Source : (Chamaraux, Ali et al. 2008))

Ce que nous retenons de la formule (**Eq.4**) et de la courbe (**Fig.3**), dans le cadre de cette thèse, c'est la variation exponentiel du profil cellulaire au voisinage de la bordure adhésive. La longueur  $\lambda_I$ , correspondant à la distance « d'écrantage » des contraintes mécaniques perpendiculaires au substrat subies par les protéines adhésives, s'avère un paramètre important à prendre en compte dans notre réflexion. Cette distance s'exprime en fonction des paramètres mécaniques du modèle :

$$\lambda_1 = \sqrt[4]{\kappa_1 / k n_{b0}} \tag{5}$$

En prenant comme valeurs numériques  $\kappa_1 \sim 10^3 \, pN \cdot nm$  (Simson, Wallraff et al. 1998) et  $kn_{b0} \sim 10^{-1} \, pN \cdot nm^{-1}$  (cours Bertrand...), on obtient une estimation de cette longueur caractéristique :  $\lambda_1 \sim 10^2 \, \mu m$ . On se rend donc compte que la partie de la zone adhésive sous contrainte mécanique est une fine bande périphérique en comparaison à la taille caractéristique d'une cellule ( $\sim 10 \, \mu m$ ). Dans cette zone, sous l'effet de l'étirement, les intégrines vont voir leur état activé favorisé et par conséquent leur interaction avec des partenaires cytosoliques amplifiée.

### 1.3. Profil de la cellule approché

D'après la formule (**Eq.4**) la variation de profil tend exponentiellement vers zéro pour les x négatifs. De plus, la zone 2, de par son caractère non-adhésif, ne relève pas un intérêt majeur. Pour ces deux raisons, nous choisissons de focaliser notre attention sur la partie de la membrane proche de la dernière intégrine liée ; c'est-à-dire pour  $|x-x_0| \approx \lambda_1$ . Dans ce régime, la contribution prédominante aux variations de profil telles que proposées par la formule (**Eq.4**) est donnée par le terme exponentiel. Dans ce qui suit et dans un soucis de simplicité, nous utiliserons un profil approché de la forme :

$$h(x) = h_0 \exp\left[\left(x - x_0\right) / \lambda_1\right] \tag{6}$$

Où  $h_\theta$  correspond à l'ordre de grandeur de la taille d'une intégrine étirée soit une vingtaine de nanomètres.

À l'issue de ce paragraphe, une notion intuitive est explicitée : celle de ceinture adhésive. En effet, étant donnée la forme globale d'une cellule adhérente, il semble logique que les protéines adhésives soient plus étirées au bord de la zone de contact qu'en son centre. Une rapide étude des efforts mécaniques nous a permis d'estimer l'épaisseur de cette zone « mécaniquement active ».

Au regard des propriétés allostériques des intégrines évoquées en introduction, l'idée globale sous-tendant notre modèle se profile : les intégrines étant étirées dans la ceinture adhésive, c'est dans cette zone que leur domaine cytoplasmique sera le plus exposé et donc le plus à même d'interagir avec des partenaires intracellulaires. Le chapitre suivant va préciser ce que nous entendons par « partenaires intracellulaires ».

# 2. Modélisation d'une voie de signalisation mécano-dépendante

Une voie de signalisation mécano-dépendante fait intervenir, à minima, deux acteurs : un récepteur transmembranaire mécano-sensible et un messager cytosolique. Caractérisons les comportements de chacun.

## 2.1. Modélisation du partenaire cytosolique des intégrines

L'activation des intégrines peut se faire via l'interaction spécifique de sa partie C-terminale avec une molécule diffusant à proximité de la membrane plasmique. Comme évoqué en introduction, une candidate potentielle pour cette fonction est la taline. Notons, cependant, comme le suggère La figure (**Fig.15**) de l'introduction, qu'elle n'est pas la seule envisageable. De récentes études ont montré l'importance d'autres protéines, notamment les kindlines<sup>1</sup>, pour l'activation des intégrines (Shi, Ma et al. 2007; Harburger, Bouaouina et al. 2009).

Néanmoins, la taline reste, non seulement, un partenaire privilégié de l'intégrine, mais également l'un des mieux connus. C'est pourquoi l'idée de ce paragraphe est de distiller le cycle d'activation « inside-out » des intégrines auquel elles participent ((**Fig.18**) de l'in-

 $<sup>^1</sup>$  Famille composée de trois membres (kindline-1, -2 et -3) impliquée dans l'ancrage du cytosquelette d'actine à la membrane plasmique. Ces protéines contiennent un domaine FERM interagissant avec les domaines cytoplasmiques des intégrines  $\beta1$ ,  $\beta2$  et  $\beta3$ .

tro) et d'en extraire l'essence physique nécessaire et suffisante au mécanisme. Conscients du caractère réducteur de notre démarche, nous utiliserons, par la suite, le terme générique « d'activateur » plutôt que le nom « taline » pour évoquer la (ou les) espèce(s) cytosolique(s) interagissant avec l'intégrine.

### 2.1.1. Les étapes du cycle d'activation cytosolique des intégrines

Considérons le cycle biochimique présenté à la figure (**Fig.4**), qui se veut une simplification du mécanisme d'activation présenté au paragraphe 3.6 de l'introduction. Nous découpons ce cycle en trois étapes fondamentales :

#### Première étape : recrutement de l'activateur à la membrane

Cette étape correspond au passage des états (1) à (2) sur la figure (**Fig.4**). La première hypothèse est de considérer le cytoplasme comme un réservoir d'activateur sous sa forme inactive, que l'on note  $\phi_c$ . On associe à cet état basal de l'activateur un potentiel chimique constant et homogène  $\mu_c$ . Le passage de cet état basal à un état membranaire se fait via une activation, c'est-à-dire un apport d'énergie. Concrètement, dans le cas de la taline, cette activation correspond à la formation d'un complexe PiP-kinase-taline sous l'action d'une voie de signalisation dépendante de Src et/ou de Fak (deux protéines kinases liées au cycle de l'intégrine). En complexant avec la taline, la PiP-kinase s'active et vient se localiser à la membrane plasmique. On note ce complexe  $\phi_m$  et son potentiel chimique  $\mu_m$ .

$$\phi_c \xrightarrow{\delta_1} \phi_m \tag{7}$$

La forme membranaire de l'activateur est plus haute en énergie que sa forme cytosolique. On peut écrire :  $\mu_m \ge \mu_c$ . Thermodynamiquement c'est la réaction inverse de la réaction (**Eq.7**) qui est favorisée. L'écriture d'une réaction totale dans le sens « cytoplasme  $\rightarrow$ 

membrane » comme présentée en (**Eq.7**) sous-entend donc un couplage de cette réaction avec une autre plus fortement exergonique ; c'est pourquoi dernière le coefficient cinétique  $\delta_1$  se cache nécessairement une voie de signalisation « consommatrice d'ATP ».

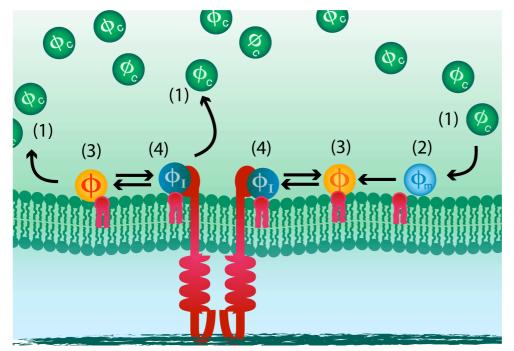


Fig.4 I Schéma du cycle d'activation des intégrines "inside-out" proposé : (1) initialement dans sa forme inactive, l'activateur se trouve dans le cytoplasme. (2) Au voisinage de la membrane, il interagit avec un acteur membranaire (phospholipide ou protéine transmembranaire). Ce qui a pour effet de le localiser à la membrane et de le placer dans un premier état activé, c'est-à-dire à même d'interagir avec les intégrines. (3) Dans son état membranaire activé, l'activateur est alors libre de diffuser le long de la membrane et (4) de se lier à la partie C-terminale de l'intégrine ce qui constitue sa deuxième activation. (5) Dans cet état doublement activé s'établit un équilibre dynamique entre ses formes complexées (avec l'intégrine) et libres. (6) L'état doublement activé a un temps de vie limité au bout duquel l'activateur retourne finalement dans sont état inactif cytosolique.

#### Deuxième étape : dépliement de la taline

En se localisant à la membrane, la PiP-kinase accède à son substrat : Pi(4)P, quelle va alors phosphoryler en Pi(4,5)P2. Cette étape va alors déstabiliser le complexe PiP-Kinase-taline et permettre à la taline de se déplier, c'est une deuxième étape d'activation. Une fois Pi(4,5)P2 produit et la taline dépliée, la PiP-kinase retourne dans le cytoplasme et la taline se lie au Pi(4,5)P2 formé, lui permettant ainsi de rester localisée à la membrane, ce mécanisme correspond au pas-

sage des états (2) à (3) sur la figure (Fig.4) et à la réaction (**Eq.8**). On note cette forme  $\phi$  —c'est elle spécifiquement que l'on appellera « activateur » par la suite — et son potentiel chimique  $\mu_{\phi}$ . De part le retour au cytoplasme de la PiP-kinase, cette phase est irréversible et comme le dépliement de la taline nécessite la phosphorylation de Pi(4)P, on suppose  $\mu_{\phi} \geq \mu_{m}$ .

$$\phi_m \xrightarrow{\delta 2} \phi \tag{8}$$

#### Troisième étape : interaction activateur-intégrine

Cette étape correspond au passage des états (3) à (4) sur la figure (**Fig.4**). En diffusant dans la membrane, l'activateur, sous sa forme membranaire ouverte  $\phi$ , va entrer en interaction avec la queue cytoplasmique des intégrines et former un complexe noté  $\phi_I$  selon l'équilibre :

$$\phi + I \xrightarrow{k_{+2}} \phi_I \tag{9}$$

L'activateur se retrouve alors complexé à l'intégrine, on note cet état  $\phi_I$ . Un équilibre dynamique s'instaure alors entre l'état activé lié à l'intégrine et l'état activé non-lié à l'intégrine ; ceci constitue notre hypothèse principale. L'état  $\phi$ , non-lié à l'intégrine, est primordial. Il permet, via une diffusion localisée, l'interaction de l'activateur avec une autre intégrine voisine, facilitant l'activation de cette dernière si elle ne l'est pas encore. On voit apparaître ici une caractéristique fondamentale de notre modèle : L'état « activé  $\phi$  », en diffusant de proche en proche, agit comme une interaction à courte portée favorisant l'état activé/déplié des intégrines. Cette équilibre chimique est caractérisé par les constantes cinétiques  $k_{\pm 2}$ .

Pour que l'équilibre (**Eq.9**) soit dynamique, les deux états  $\phi$  et  $\phi_I$  doivent avoir des potentiels chimiques voisins. On associera donc à (**Eq.9**) une variation de potentiel chimique telle que :

$$\frac{\left[\mu_{\phi I} - \left(\mu_{\phi} + \mu_{I}\right)\right]}{\left[\mu_{\phi I} + \left(\mu_{\phi} + \mu_{I}\right)\right]} \ll 1$$
(10)

Où  $\mu_{\phi I}$  et  $\mu_I$  correspondent respectivement aux potentiels chimiques du complexe intégrines-activateur et intégrine « toute seule ».

#### Quatrième étape : désorption de l'activateur

Cette étape correspond aux passagse des états (3 & 4) à (1) sur la figure (**Fig.4**). Étant dans un état excité ( $\mu_{\phi} \geq \mu_c$ ), l'activateur ne reste qu'un temps limité dans sa forme activée  $\phi$ . Tôt ou tard, il va se détacher de la membrane pour retourner à sa forme inactive cytosolique. De même pour l'état  $\phi_I$ , tôt ou tard la taline va se désactiver et retourner dans son état cytoplasmique. Les réactions correspondantes sont les suivantes :

$$\phi \xrightarrow{\delta_3} \phi_c \tag{11}$$

$$\phi_I \xrightarrow{\delta_3'} \phi_c + I \tag{12}$$

Les équations (**Eq.7**, **8**, **9**, **11** & **12**) constituent le cycle biochimique de l'activateur que nous allons étudier, dont une réprésentation qualitative est proposée à la figure (**Fig.5**). Sous cette forme, le système formé de ces quatre équations chimiques n'est pas exploitable, il convient dans un premier temps de hiérarchiser ces étapes les unes par rapport aux autres.

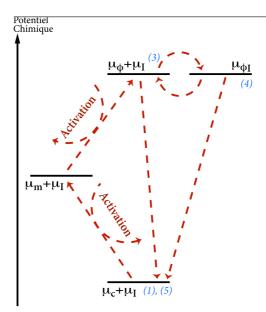


Fig.5 I Schéma de principe du cycle énergétique du système {intégrines+activateur}. Les chiffres en bleu correspondent aux étapes du cycle de l'activateur tel que proposé à la figure (Fig.4) . Les trois paliers principaux correspondent aux trois étapes décrites dans le texte. Les deux flèches en arcs de cercle représentent les deux activations du système : par Src ou Fak une première fois puis par phosphorylation de Pi(4)P ensuite. Notons que les potentiels chimiques des états (3) et (4) ne sont pas rigoureusement identiques mais que leur différence est négligeable au regard des autres variations.

#### 2.1.2. Hiérarchisation et des étapes précédentes

Une manière de ré-écrire les équations (Eq.7,8,9, 11 & 12) est la suivante :

$$\phi_c \xrightarrow{\delta_1 \delta_2} \phi \tag{13}$$

$$\phi + I \xrightarrow{k_{+2}} \phi_I \xrightarrow{\delta_3'} \phi_c + I \tag{14}$$

$$\phi \xrightarrow{\delta_3} \phi_c \tag{15}$$

L'équation (**Eq.13**) correspond au passage du palier le plus bas au palier le plus haut sur la figure (**Fig.5**). L'équation (**Eq.14**) correspond au cycle du complexe taline-intégrine  $\phi_I$ , ce cycle est en tous points comparable à un cycle de Michaelis-Menten dans lequel l'intégrine jouerait le rôle d'enzyme et l'activateur  $\phi$  de substrat. Finalement l'équation (**Eq.15**) correspond au retour de  $\phi$  au palier le plus bas du diagramme de la figure (**Fig.5**).

Simplifier ce système d'équations chimiques revient à identifier les variables rapides et les lentes. Cette distinction ne dépend pas uniquement des taux de réactions mais également de la variation de concentration relative des l'espèces considérées. Dans cette optique, la forme cytosolique de l'activateur —  $\phi_c$  — joue le rôle de tampon, il semble logique de négliger ses variations potentielles et donc de supposer, d'une part, que les équations (**Eq.13 & 14**) s'équilibrent et d'autre part, que la transformation de  $\phi_I$  en  $\phi_c$  est beaucoup plus lente que l'équilibre la précédant. L'étape cinétiquement déterminante dans ce cycle correspond donc à l'équilibre dynamique entre les états (3) et (4). On en déduit donc :

$$\frac{\partial \phi_I}{\partial t} \approx 0 \tag{16}$$

soit:

$$\phi_I \approx \phi \frac{n_b}{n_b + K} \tag{17}$$

Où  $n_b$  représente la densité d'intégrines liées et K une constante de type Michaelis :  $K=\left(\delta_3'+k_{-2}\right)\!/k_2$  .

Nous allons donc porter un intérêt particulier à la variation de concentration de l'activateur dans sa forme  $\phi$ , grandeur extensive qui jouera le rôle de paramètre d'ordre pour le système {activateur+intégrines}. On écrira donc :

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} \propto \mu_{\phi_I} - \mu_{\phi - I} \equiv -\Delta \mu_{\phi} \tag{18}$$

C'est l'estimation de cette différence de potentiel entre la phase « libre » et la phase « complexée à l'intégrine » qui va permettre d'estimer la dynamique de l'activateur. Mais avant de préciser sa forme, il convient de définir l'échelle à laquelle notre description va se placer.

#### 2.1.3. Définition d'une échelle d'étude mésoscopique

Une réflexion sur l'échelle spatiale de la description s'impose. En effet, une étude statistique du mécanisme de catalyse, très proche conceptuellement d'un problème d'adsorption, incite à appréhender le phénomène de façon discrète (Guo and Levine 1999) : une protéine interagissant avec un hétérodimère à la fois, puis d'en déduire les valeurs moyennes pour les observables d'intérêt. D'un point de vue biochimique, bien que des études de catalyses au niveau de la molécule unique existent (Kou, Cherayil et al. 2005; English, Min et al. 2006), c'est une approche directement moyennée, basée sur la notion de concentration, qui est traditionnellement employée. Ce deuxième formalisme découle du premier via l'approximation de « coarse graining » c'est-à-dire un « moyennage » spatial sur une échelle intermédiaire entre la taille caractéristique des entités considérées et celle du système dans sont ensemble.

L'encombrement latéral caractéristique des intégrines étant de quelques nanomètres (Hynes 2002) et la taille de la zone étudiée de quelques centaines de nanomètres, nous nous placeront par la suite dans le cadre de cette approximation de « coarse graining », ce que nous avons naturellement fait en présentant l'équation (Eq.17). C'est-à-dire que l'on définira les grandeurs d'intérêt comme des champs fonctions des variables d'espace et de temps :

$$\phi(\vec{r},t) = \int d\vec{r'} \cdot \delta_{\phi}(\vec{r'},t) \cdot K(\vec{r} - \vec{r'})$$
 (19)

$$n_{b}\left(\overrightarrow{r},t\right) = \int \overrightarrow{dr'} \cdot \delta_{n_{b}}\left(\overrightarrow{r'},t\right) \cdot K\left(\overrightarrow{r}-\overrightarrow{r'}\right) \tag{20}$$

 $\phi$  et  $n_b$  représentent respectivement les champs de concentration en activateur et en intégrines adhérentes le long de la membrane plasmique et sont, à ce stade, supposés indépendants. La fonction K correspond à la fenêtre le « moyennage » utilisée. Estimons maintenant les différents potentiels chimiques.

#### 2.1.4. Calcul du potentiel chimique du système

La première étape est de définir l'énergie libre de ce système, à partir de laquelle nous déduirons  $\mu_{\phi-I}$ . Cette énergie libre doit témoigner de quatre contributions principales :

→ l'énergie mécanique de structure des intégrines.

- → l'interaction entre la partie cytosolique de l'intégrine liée et l'activateur.
- → la capacité de l'activateur à se replier sur lui-même pour se retrouver dans son état cytosolique inactif.
- → Une finalement, le caractère diffusif de l'activateur.

On définit, à partir de ces considérations énergétiques et des champs proposés en (**Eq.19 & 20**), le Hamiltonien mésoscopique suivant :

$$H\left[\phi\right] \propto \frac{1}{2} \left\{ \mu_{n_b 0} n_b + \mu_{\phi 0} \phi - \mu_{\phi I} \phi_I + 2 H_{conf}(h) + b \phi^2 + D_{\phi} \left(\nabla \phi\right)^2 \right\} \eqno(21)$$

Les trois premiers termes représentent les potentiels chimiques intrinsèques respectivement des intégrines liées au substrat, de l'activateur dans sa forme « doublement activée libre » (  $\mu_{\phi 0}$ ,  $\mu_{nb}$ ,  $\mu_{\phi I} > 0$  ) et du complexe activateur-intégrines ( $\phi_I$  représente sa concentration). Ensemble ils traduisent le couplage attractif entre la partie cytoplasmique des intégrines et l'activateur.

Le quatrième terme nécessite quelques explications : il correspond à l'énergie stockée par les différentes conformations des intégrines. Comme évoqué au cours de l'introduction, l'adhésion des intégrines induit un réarrangement conformationnel, ces dernières passant d'un état replié à un état déplié. Ce réarrangement s'accompagne forcément d'une variation d'énergie mécanique. Pour rendre compte de ce mécanisme, nous supposons que l'énergie mécanique emmagasinée par la structure de l'intégrine dépend de l'étirement subi et peut être modélisée par un polynôme d'ordre 4, comme le montre la figure (**Fig.6**). La forme de ce polynôme va alors dépendre de la conformation choisie : pour les intégrines libres, en conformation repliée, nous allons supposer  $H_{conf-u}(h) \propto h^4$ , signifiant ainsi que la valeur de l'étirement le plus stable est la valeur nulle. Le « fond plat » de cette courbe (Fig.6) permet au système de fluctuer autour de cette valeur nulle ; concrètement cela permet aux intégrines de se déplier partiellement pour adhérer. Pour les intégrines liées et dépliées, cet valeur d'étirement stable est forcément différente de zéro, la forme du polynôme que l'on propose est alors :  $H_{conf-b}(h) \propto h^4 - kh^2$  avec k > 0 (cf. tableau des valeurs caractéristi-

ques en annexe). Au final, en prenant le compte les densités locales d'intégrines liées et non-liées, il vient :

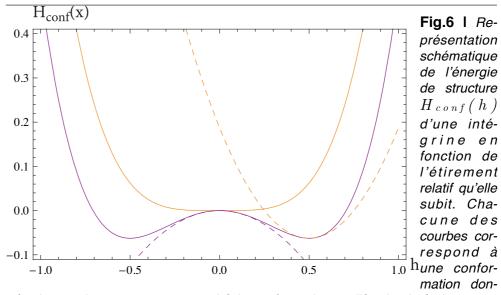
$$H_{conf}\left[h\right] \propto n_b \left(h^4 - \frac{k}{2}h^2\right) + n_u h^4 \tag{22}$$

$$\Leftrightarrow H_{conf}\left[h\right] \propto -n_b \, \frac{k}{2} h^2 + n_0 h^4 \tag{23}$$

Dans la limite des petites déformations, on approchera  $H_{conf}(h)$  par son terme d'ordre le plus bas en h:

$$H_{conf}\left[h\right] \sim -n_b \, \frac{k}{2} h^2 \tag{24}$$

Cette contribution est alors remarquable : elle est de type Hookéenne mais avec un module élastique négatif, traduisant la capacité de l'intégrine à se déplier spontanément. Cette énergie élastique est multipliée par la densité d'intégrines liées qui, contrairement au calcul de mécanique du premier paragraphe, n'est plus considérée comme constante et homogène à priori.



née. La courbe orange correspond à la conformation repliée des intégrines nonliées, dans ce cas, la valeur d'étirement la plus stable est la valeur nulle. La courbe violette correspond à la conformation dépliée des intégrines liées, dans le cas, on note que l'état stable présente un étirement non nul. Les courbes en tirets représentent les fonctions  $h \longrightarrow -1/2kh^2$  (violette) et  $h \longrightarrow k(h-h_0)^2$  (orange), approximations respectives de la courbe violette en 0 et en  $h_0$  ( $h_0^2 = k/4$ ).

Le cinquième terme de (**Eq.21**) correspond à une interaction entre deux domaines disjoints sur l'activateur. Directement inspirée par le comportement de la taline, ce terme traduit la capacité de cette dernière à s'inactiver — c'est-à-dire à retourner dans son état cytoplasmique  $\phi_c$  — en se repliant sur elle-même. La molécule formée retournant à son état basal dans le cytoplasme, ce terme peut être vu comme un terme de « fuite » ou encore de désexcitation de l'état . Il traduit la réaction chimique suivante :

$$\phi \xrightarrow{\delta_3'} \phi_c \tag{25}$$

Finalement, le sixième traduit le caractère diffusif de  $\phi$  le long de la membrane, c'est le terme symétrique de plus bas degré faisant intervenir la dérivée première de la concentration  $\phi$ , représentation classique du phénomène de diffusion (cf. tableau des valeurs caractéristiques en annexe pour une estimation du coefficient de diffusion).

Avant d'effectuer le calcul de l'énergie libre à partir de la formule (**Eq.21**), il convient d'exprimer  $\phi_I$ , la densité de complexe intégrine-activateur, en fonction de  $\phi$ . La formule (**Eq.17**), injectée dans (**Eq.21**) donne alors :

$$H\!\left[\phi\right] \propto \frac{1}{2}\!\left\{\mu_{n_{\!b}0}n_{\!b} + \mu_{\phi0}\phi - \mu_{\phi I}\phi\frac{n_{\!b}}{n_{\!b}+K} - n_{\!b}kh^2 + b\phi^2 + D_{\!\phi}\left(\nabla\phi\right)^2\right\} \quad (26)$$

À partir du Hamiltonien (**Eq.26**) on peut définir la fonction de partition mésoscopique du système et en déduire son énergie libre :

$$Z = \int D[\phi] e^{-\beta H[\phi]} \tag{27}$$

$$F = -\frac{1}{\beta} \ln(Z) \tag{28}$$

Afin de calculer explicitement cette énergie libre, il convient de se placer dans le cadre de l'approximation de col. Cette approximation assure que dans le calcul de la fonction de partition, la contribution principale est celle de la densité « extrémisant » le Hamiltonien, un développement limité autour de cette densité moyenne  $\phi_\theta$  permet d'écrire :

$$Z \simeq e^{-\beta H \left[\phi_0\right]} \cdot \sqrt{\frac{2\pi}{\beta \Delta_{\phi} H \Big|_{\phi_0}}}$$
 (29)

$$F \simeq H \left[ \phi_0 \right] - \frac{1}{2\beta} \ln \left( \frac{2\pi}{\beta \Delta_\phi H \Big|_{\phi_0}} \right) \tag{30}$$

$$F \underset{\beta \gg 1}{\simeq} H \left[ \phi_0 \right] \tag{31}$$

Par la suite, pour ne pas alour dir inutilement les notations, nous noterons  $\phi$  le profil d'équilibre et non plus  $\phi_{\theta}$ . Nous considérerons donc l'énergie libre approchée suivante :

$$F \underset{\beta \gg 1}{\underset{1}{\sim}} \frac{1}{2} \left\{ \mu_{n_b 0} n_b + \mu_{\phi 0} \phi - \mu_{\phi I} \phi \frac{n_b}{n_b + K} - n_b k h^2 + b \phi^2 + D_{\phi} \left( \nabla \phi \right)^2 \right\}$$
(32)

À ce stade, nous allons faire l'hypothèse simplificatrice suivante :  $K \ll n_b$  cela nous permet de simplifier (**Eq.32**) :

$$F \underset{\beta \gg 1}{\underset{1}{\sim}} \frac{1}{2} \left\{ \mu_{n_b 0} n_b + \Delta \mu_{\phi 0 - I} \phi - n_b k h^2 + b \phi^2 + D_\phi \left( \nabla \phi \right)^2 \right\}$$
 (33)

Avec:

$$\Delta\mu_{\phi 0-I} \equiv \left(\mu_{\phi 0} - \mu_{\phi I}\right) \tag{34}$$

On en tire le potentiel chimique de l'activateur :

$$\Delta\mu_{\phi} = \frac{\delta F}{\delta \phi} = \frac{\partial F}{\partial \phi} - \nabla \left[ \frac{\partial F}{\partial \nabla \phi} \right] \tag{35}$$

$$\Delta\mu_{\phi} = -D_{\phi}\Delta\phi + \Delta\mu_{\phi 0-I} + b\phi - \frac{1}{2} \left\{ kh^2 - \mu_{n_b 0} \right\} \frac{\partial n_b}{\partial \phi} \quad (36)$$

Soit, en re-définissant les variables  $\phi$  et h par :

$$\begin{cases} \tilde{\phi} = \phi - \frac{\Delta \mu_{\phi 0 - I}}{b} \\ \tilde{h} = \sqrt{h - \frac{\mu_{n_b 0}}{k}} \end{cases}$$
 (37)

Il vient la forme suivante pour le potentiel chimique (**Eq.36**) :

$$\Delta\mu_{\phi} = -D_{\phi}\Delta\tilde{\phi} + b\tilde{\phi} - \frac{1}{2}k\tilde{h}^2 \frac{\partial n_b}{\partial\tilde{\phi}}$$
 (38)

### 2.1.5. Équation d'évolution de la concentration d'activateur

De l'équation (**Eq.18**) et de la formule (**Eq.38**), donnant  $\Delta \mu_{\phi}$ , on tire l'équation d'évolution de notre paramètre  $\phi$ :

$$\frac{\partial \tilde{\phi}}{\partial t} = D_{\phi} \Delta \tilde{\phi} - b\tilde{\phi} + \frac{1}{2} k\tilde{h}^2 \frac{\partial n_b}{\partial \tilde{\phi}}$$
 (39)

La dynamique de l'activateur dans son état « doublement activé » est régie par trois termes principaux : un terme diffusif ; un terme de relaxation, correspondant à son retour dans un état stable et un terme d'interaction avec les intégrines qui dépend explicitement de l'état mécanique de ces dernières, la mécano-transduction «outside-in» intervient à ce niveau.

Ces différents mécanismes, bien que connus, restent difficilement quantifiables et la valeur numérique des coefficients associés est au mieux approximative. C'est pourquoi, il peut être utile de réécrire l'équation (**Eq.39**) en faisant ressortir des grandeurs physiques plus explicites :

$$\tau_{\phi} = \frac{1}{h} \tag{40}$$

$$\lambda_{\phi} = \sqrt{\frac{D_{\phi}}{h}} \tag{41}$$

 $au_{\phi}$  correspond à la durée de vie moyenne de l'état doublement excité avant que l'activateur ne repasse dans un état plus stable (cf. tableau des valeurs caractéristiques en annexe) et  $\lambda_{\phi}$  correspond à la distance caractéristique sur laquelle se met en place l'équilibre entre sa diffusion le long de la membrane et sa désexcitation . Si les solutions de l'équation (**Eq.39**) convergent vers un régime stationnaire,  $\tau_{\phi}$  est la durée caractéristique de la phase transitoire et  $\lambda_{\phi}$  l'épaisseur de la frontière entre les zones de concentrations différentes. En multipliant l'équation (**Eq.39**) par 1/b il vient :

$$\tau_{\phi} \frac{\partial \tilde{\phi}}{\partial t} = \lambda_{\phi}^{2} \Delta \tilde{\phi} - \tilde{\phi} + \frac{k}{2b} \tilde{h}^{2} \frac{\partial n_{b}}{\partial \tilde{\phi}}$$
 (42)

$$\Leftrightarrow \frac{\partial \tilde{\phi}}{\partial \tilde{t}} = \tilde{\Delta} \tilde{\phi} - \tilde{\phi} + \frac{k}{2b} \tilde{h}^2 \frac{\partial n_b}{\partial \tilde{\phi}}$$
 (43)

Où  $\tilde{t}=t/\tau_{\phi}$  et  $\tilde{x}=x/\lambda_{\phi}$  sont, respectivement, des variables temporelles et spatiales adimensionnées spécifiques à la dynamique de notre système.

L'équation (**Eq.43**) constitue une des bases de ce travail de cette thèse. C'est une équation aux dérivées partielles d'ordre 2. Ce type d'équation, appelée « équation de réaction-diffusion », est très répandu en biologie théorique (Murray Mathematical Biology Springer). Le membre de droite fait intervenir deux types d'opérateurs : un opérateur différentiel, le « terme de diffusion » et un non-différentiel, la « fonction source ». La forme mathématique de cette dernière est importante puisqu'elle va conditionner le comportement du système. L'originalité de notre équation est sa dépendance en h(x), qui laisse supposer que les efforts mécaniques ressentis par les intégrines adhérentes vont influencer le comportement de  $\phi$ .

### 2.2. Comportement adhésif des intégrines

Comme la densité d'intégrines liant leur substrat intervient de façon explicite dans l'équation d'évolution de l'activateur (**Eq.42**), il convient de se pencher sur ce mécanisme adhésif. L'équilibre chimique considéré est le suivant :

$$n_u \xrightarrow[k_{off}]{k_{off}} n_b \tag{44}$$

Où  $n_u$  et  $n_b$  représentent respectivement les densités d'intégrines non-adhérentes et adhérentes le long de la membrane plasmique. On notera  $n_{tot} = n_b + n_u$  la densité totale d'intégrines présentes dans la membrane au niveau de la zone considérée.

### 2.2.1. Hypothèses concernant l'adhésion des intégrines

La première hypothèse à faire concerne le temps caractéristique nécessaire à une intégrine pour adhérer. Par rapport aux autres mécanismes physico-chimiques auquel le système {intégrines+activateur} est soumis, nous supposerons ce celui-ci est extrêmement rapide, de manière à considérer la réaction (**Eq.44**) toujours à l'équilibre. Cette approximation entre dans le cadre du « coarse graining » évoqué précédemment. Elle est fondamentale car elle va permettre de relier explicitement deux grandeurs supposées initialement indépendantes  $n_b$  et  $\phi$ .

$$\frac{\partial n_b}{\partial t} = \frac{\partial n_u}{\partial t} = 0 \tag{45}$$

En plus de l'approximation de stationnarité, nous allons négliger, du moins pour l'instant, la capacité des intégrines non-liées à diffuser dans la membrane. Au final, négliger la diffusion et supposer l'équilibre adhésif instantané revient à considérer le système (**Eq.44**)

à l'équilibre thermodynamique. Le système est alors décrit par la loi d'action de masse suivante :

$$\frac{n_b}{n_u} = \frac{k_{on}}{k_{off}} \equiv K_e \tag{46}$$

La dernière hypothèse que nous allons faire concerne  $n_{tot}$  la densité totale d'intégrines le long de la membrane : nous allons supposer cette densité homogène et constante. C'est à dire :

$$n_b(\vec{r}) + n_u(\vec{r}) = n_{tot}(\vec{r}) = n_0 = Cste$$
 (47)

Ces trois hypothèses (équilibre adhésif instantanée, diffusion des intégrines négligée et densité totale d'intégrines homogène et constante) vont nous permettre d'estimer la densité d'intégrines liées.

#### 2.2.2. Calcul du nombre d'intégrines liées

Les relations (**Eq.47**) et (**Eq.48**) nous permettent d'écrire :

$$\begin{cases} n_u = \frac{n_0}{1 + K_e} \\ n_b = \frac{n_0}{1 + K_e^{-1}} \end{cases}$$
 (48)

Comme évoqué au paragraphe 1.2 de l'introduction, les travaux de Bell et Torney ont montré que l'équilibre thermodynamique des protéines adhésives d'une cellule est modulé par les efforts mécaniques qu'elles subissent ((**Eq.1**) de l'introduction). Techniquement, la loi de Bell corrige, dans le cas d'une protéine unique, la variation d'enhalpie libre correspondant à la réaction d'adhésion (qui s'apparente alors à une variation de potentiel chimique) par le travail des efforts mécaniques subits dans l'état lié.

Dans le cas des intégrines, leur affinité pour le substrat va dépendre d'une part des effort mécanique d'étirement qu'elles subissent, mais également de la présence ou non de leur partenaire cytosolique dans son état  $\phi_I$ . On propose donc le Hamiltonien suivant pour expliciter l'adhésion d'une intégrine :

$$H_i \propto \left\{ H_0 - \mu_{b0} \cdot b_i + H_{conf-b}(h) \cdot b_i - \left( A' \cdot b_i + A'' \cdot \left( 1 - b_i \right) \right) \cdot f_i \right\} \eqno(49)$$

L'index i fait référence à l'intégrine considérée, la variable  $b_i$  vaut 1 si l'intégrine est adhérente et 0 sinon. La variable  $f_i$  vaut 1 si l'intégrine est liée à l'activateur et 0 sinon. L'hypothèse  $A' \gg A''$  assure que dans son état déplié, les sites criptiques étant plus accessibles, l'interaction est plus facile avec le partenaire cytosolique. Par la suite, on négligera donc le terme en A'' par rapport à celui en A' (cf. tableau des valeurs caractéristiques en annexe). La contribution  $H_{conf-b}(h)$  fait référence à l'énergie de structure quand l'intégrine est adhérente. Nous faisons alors l'hypothèse suivante : dans le cas adhérent, l'étirement h subit par la protéine vérifie :

$$h = h_0 + \delta h \tag{50}$$

Avec  $h_0 = \sqrt{k/4}$  longueur d'équilibre de la conformation dépliée, (**Fig.6**). Dans ce cas, on fera l'approximation harmonique suivante au voisinage de  $h_\theta$ :

$$H_{conf-h}(h) \approx k(\delta h)^2$$
 (51)

Injecter (Eq.52) dans le Hamiltonien (Eq.49) donne :

$$H_i \propto \left\{ H_0 + \left( k(\delta h)^2 - \mu_{b0} \right) \cdot b_i - A' \cdot b_i \cdot f_i \right\} \tag{52}$$

D'où la fonction de partition :

$$z = e^{-\beta H_0} \left( 1 + e^{\beta \left(\mu_{b0} - k\delta h^2 + A' \cdot \left\langle f_i \right\rangle \right)} \right) \tag{53}$$

Où  $\langle f_i \rangle$  représente la valeur moyenne d'occupation de l'intégrine i par une molécule d'activateur. Les probabilités moyennes de l'intégrine i a être respectivement libre et adhérente sont donc :

$$\langle u \rangle = z^{-1} \cdot e^{-\beta H_0} = \frac{1}{1 + e^{\beta \left(\mu_{b0} - k\delta h^2 + A' \cdot \langle f_i \rangle\right)}}$$
 (54)

$$\langle b \rangle = z^{-1} \cdot e^{-\beta \left( H_0 - \mu_{b0} + 2k\delta h^2 - A' \cdot \langle f_i \rangle \right)} = \frac{1}{1 + e^{-\beta \left( \mu_{b0} - k\delta h^2 + A' \cdot \langle f_i \rangle \right)}} \quad (54)$$

En passant à des grandeurs moyennées localement, il vient alors:

$$\begin{cases}
\frac{n_u}{n_0} = \frac{1}{1 + e^{\beta(\mu_{b0} - k\delta h^2 + A' \cdot \phi_I)}} \\
\frac{n_b}{n_0} = \frac{1}{1 + e^{-\beta(\mu_{b0} - k\delta h^2 + A' \cdot \phi_I)}}
\end{cases} (56)$$

$$\frac{n_b}{n_0} = \frac{1}{1 + e^{-\beta(\mu_{b0} - k\delta h^2 + A' \cdot \phi_I)}}$$
 (57)

On déduit de la comparaison avec les formules (Eq.48) la constante d'équilibre de la réaction d'adhésion :

$$K_e(\phi, h) = K_{e0} e^{-\beta \left(kh^2 - A\phi\right)} \tag{58}$$

Avec h l'étirement par rapport à la longueur d'équilibre  $h_0$ ,  $A=A'\!\!\left/K\right|$  (cf. Eq.17) et  $K_{e0}=e^{\beta\mu_{b0}}$  la loi d'action de masse « brute» d'adhésion des intégrines, c'est-à-dire sans partenaire cytoplasmique ou contrainte mécanique. La formule (Eq.58) met en lumière la fonction de transduction mécano-chimique jouée par les intégrines. Les efforts mécaniques d'étirement ont tendance à diminuer la densité d'intégrines liées et à contrario, l'interaction avec l'espèce cytosolique  $\phi$  tend à augmenter cette densité. L'équilibre adhésif va alors favoriser les interactions entre l'activateur et les intégrines là où les efforts mécaniques fragilisent l'adhésion.

D'une sous-famille d'intégrines à l'autre, les coefficients A,  $K_{e\theta}$  ou encore k sont susceptibles de varier. Cette variation peut vraisemblablement induire une réponse différentielle à une contrainte mécanique identique en fonction de la sous-famille considérée. Cette particularité suggère la spécificité fonctionnelle de chaque sous-famille.

## 2.3. Équation d'évolution de l'activateur

La modélisation du comportement de l'activateur nous à conduit à l'équation (**Eq.43**), dont l'une des implications est la dépendance de cette dynamique vis-à-vis de la répartition des intégrines liées. Parallèlement, l'équilibre adhésif des intégrines permet, moyennant quelques hypothèses, d'estimer la répartition des intégrines adhérentes en fonction de deux paramètres : la concentration en activateur et le stress mécanique qu'elles subissent (**Eq.58**). En combinant ces deux approches nous arrivons à l'équation suivante :

$$\frac{\partial \tilde{\phi}}{\partial \tilde{t}} = \tilde{\Delta} \tilde{\phi} - \tilde{\phi} + \Gamma \tilde{h}^2 \frac{e^{-\beta \left(A\tilde{\phi} - k\tilde{h}^2 + \mu_b\right)}}{\left(1 + e^{-\beta \left(A\tilde{\phi} - k\tilde{h}^2 + \mu_b\right)}\right)^2}$$
(59)

Avec:

$$\Gamma = \beta k n_0 A / 2b \tag{60}$$

L'équation (**Eq.60**) entre dans la catégorie des équations dites de « réaction-diffusion ». On la notera volontiers par la suite de la manière suivante :

$$\frac{\partial \tilde{\phi}}{\partial \tilde{t}} = \tilde{\Delta}\tilde{\phi} + f_{\tilde{h}(x)}(\tilde{\phi})$$
 (61)

Où la fonction source est définie ainsi:

$$f_{\tilde{h}(x)}(\tilde{\phi}) = -\tilde{\phi} + \Gamma h^2 \frac{e^{-\beta \left(A\tilde{\phi} - k\tilde{h}^2 + \mu_b\right)}}{\left(1 + e^{-\beta \left(A\tilde{\phi} - k\tilde{h}^2 + \mu_b\right)}\right)^2}$$
(62)

De part leur lien avec la théorie de Ginzburg-Landau, l'utilisation de telles équations dans l'étude des systèmes complexes est fréquente. C'est notamment le cas en biologie où l'on retrouve ce genre de modélisation à toutes les échelles : de la dynamique des adhésions focales (Besser and Safran 2006) à celle des populations virales ou même animales (Murray Mathematical Biology Vol.I).

Le comportement des solutions de ces équations de réactiondiffusion dépend grandement de la forme de la fonction source en question, les plus intéressantes possédant une fonction source nonlinéaire. Dans le prochain chapitre, nous nous proposons d'étudier en détails le comportement de ces solutions.

# CHAPITRE 2: ÉTUDE DU BORD CELLULAIRE

I.	Contra	inte d'étirement homogène74
	I.I.	Présentation générale de la fonction source75
	1.2.	Originalité de la fonction source77
2.	Géomé	trie courbée81
	2.1.	Résolution numérique de l'équation de réaction-diffusion.8
	2.I.I.	Évolutions temporelles du système82
	2.1.2.	Modification de l'équilibre adhésif82
	2.1.3.	Caractérisation de l'état stationnaire89
	2.2.	L'approximation en « marches d'escalier »
	2.2.I.	Principe de l'approximation8
	2.2.2.	Validation
	2.2.3.	Calcul de la vitesse de propagation90
	2.2.4.	Étude de la partie dorsale de la distribution stationnaire92
3.	Prise en	n compte d'une deuxième dimension d'espace93
	3.1.	Paramétrisation du problème en deux dimensions93
	3.2.	Conséquences de cette paramétrisation97
	3.3.	Influence de la courbure de la ligne de contact97
	3.4.	Prise en compte de la vitesse d'avancée de la membrane.100
4.	Calcul	d'analytique de la solution stationnaire102
	4.I.	Simplification de la fonction source102
	4.2.	Définition de l'intervalle Ω102
	4.3.	Résolution du système (Eq.36)
	4.3.I.	Sur l'intervalle109
	4.3.2.	Sur l'intervalle
	4.4.	Remarques sur le calcul analytique108

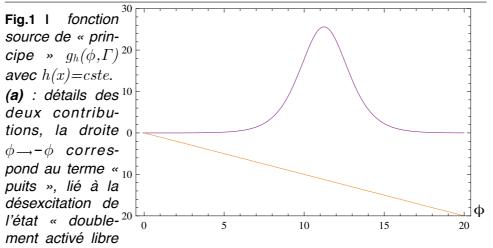
Au chapitre précédent, nous avons exposé les hypothèses et calculs à la base de notre modèle. Ce modèle permet de rendre compte de la dynamique d'une espèce biochimique, partenaire allostérique des intégrines, impliquée dans une voie de signalisation mécano-sensible, en fonction de la contrainte exercée sur les intégrines en question. Le résultat principale du premier chapitre est l'équation d'évolution de cette espèce. On la redonne ci-dessous, en omettant les tildes sur les variables adimensionnées pour des raisons de clarté d'écriture :

$$\begin{cases} \frac{\partial \phi}{\partial t} = \Delta \phi + f_{h(x)}(\phi) \\ f_{h(x)}(\phi) = -\phi + \Gamma h^2 \frac{e^{-\beta(A\phi - kh^2 + \mu_b)}}{\left(1 + e^{-\beta(A\phi - kh^2 + \mu_b)}\right)^2} \end{cases}$$
(1)

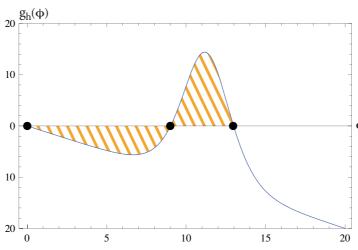
Dans ce deuxième chapitre, nous allons étudier le comportement des solutions de l'équation (**Eq.1**) dans différents cas. Dans un premier temps, nous considérerons une contrainte d'étirement homogène, h(x) = cste, afin d'établir le comportement de base du système. Puis, nous généraliserons ces résultats en considérant un profil h(x) inhomogène, avec à l'esprit le cas du bord de la zone adhésive. Ayant travaillé jusque-là avec une seule dimension d'espace, nous verrons comment, dans une troisième section, l'équation (**Eq.1**) est modifiée si l'on en considère deux. Finalement, dans une quatrième partie, nous proposerons un calcul analytique de ces solutions afin d'en tirer l'influence de chaque paramètre sur la dynamique du système.

# 1. Contrainte d'étirement homogène

La fonction source  $f_h(\phi)$  proposée à la fin du chapitre précédent et réécrite en (**Eq.1**) est indexée par la distribution des contraintes d'étirement h dans la zone adhérente. D'une manière générale pour les systèmes réacto-diffusifs, les caractéristiques de la fonction considérée conditionnent le comportement des solutions de l'équation associée. Avant d'examiner les solutions de (**Eq.1**), explicitons la fonction source utilisée et son influence sur le comportement du système dans le cas d'une contrainte homogène.



» de l'activateur. La courbe voilette correspond au terme « source » faisant référence à l'interaction entre l'activateur et les intégrines liées :  $\phi \to \Gamma h^2 \, e^{-\phi + h^2 - 1} / \left(1 + e^{-\phi + h^2 - 1}\right)^2$  où  $\Gamma$  est ici fixé, constant et arbitraire.



(b): Graphe de la fonction source totale  $g_h(\phi,\Gamma)$  pour la même valeur arbitraire de  $\Gamma$  que pour la sous-figure (a). Trois caractéristiques de ce graphes sont importantes pour la suite : le nombre de racines (trois en l'occurrence pour les valeurs de pa-

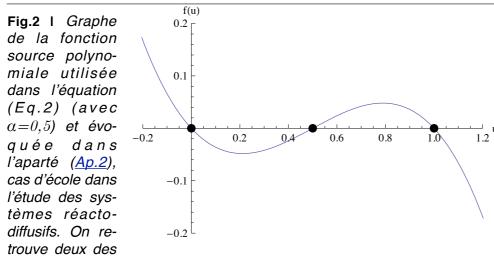
ramètres choisies), la valeur de la dérivée au niveau des racines et la valeur de l'intégrale de la fonction entre des deux racines extrêmes, correspondant à l'aire hachurée sous la courbe.

#### 1.1. Présentation générale de la fonction source

La fonction source  $f_h(\phi)$  comporte deux composantes, comme le montre le graphe de la fonction  $g_h(\phi,\Gamma)$  — sa version simplifiée où les coefficients  $A, k, \mu_\theta$  et  $\beta$  sont pris égaux à un — présentée à la figure (**Fig.1**).

La figure (**Fig.1** (**b**)) explicite le caractère hautement non-linéaire de cette fonction, dont la forme générale s'approche de celle des polynômes d'ordre trois (**Fig.2**) fréquemment rencontrés dans les équations de réaction-diffusion classiques (**Eq.2**) (Besser and Safran 2006), (Murray Mathematical Biology). L'analyse qualitative des solutions qu'elle génère pourra donc être calquée sur celle des solutions issues de ces fonctions polynomiales types. L'aparté (**Ap.1**) en rappelle brièvement les principales caractéristiques.

$$\frac{\partial u}{\partial t} = \frac{\partial^2 u}{\partial x^2} - u \cdot (\alpha - u) \cdot (1 - u) \tag{2}$$



caractéristiques fondamentales présentes sur le graphe de notre fonction source originale (<u>Fig.6-(b)</u>) : le nombre de racines, ainsi que le signe de la dérivée au niveau de ces racines.

# Aparté (Ap.1) : Quelques résultats intéressants concernant les solutions de l'équation de réaction-diffusion (Eq.61) :

Les solutions générales de l'équation (Eq.2), qui nous intéressent, correspondent à des fronts d'onde propagatifs. Le changement de variable z=x-ct (  $c\geq 0$  étant la vitesse de propagation du front en question) permet de transformer l'équation (Eq.61) :

$$u"+c \cdot u'-u \cdot (\alpha - u) \cdot (1-u) = 0 \tag{A_2.1}$$

Où le prime dénote la dérivation de la fonction considérée par rapport à la variable z. On se retrouve alors avec une équation différentielle ordinaire non-linéaire. Rappelons deux résultats qui nous seront utiles par la suite, pour une étude plus exhaustive des solutions de (Eq.A<sub>2</sub>.1) cf. (Ref. Murray) :

- Le premier résultat concerne la représentation des solutions de (Eq.A<sub>2</sub>.1) dans l'espace des phases {u,v} (avec v = u¹). Les états stationnaires correspondent aux points de coordonnées {0,0}, {α,0} et {1,0}, c'est-à-dire aux racines de la fonction source, la première et la troisième racines (celles où la dérivée de la fonction source est négative) correspondent à des états stables, la deuxième (dérivée de la fonction source positive) à un état instable. Les solutions de (Eq.A<sub>2</sub>.1) correspondant à des fronts d'ondes propagatifs, sont figurées dans l'espace des phases par des courbes reliant les racines stables, comme le montre la figure (Fig.8).
- Le deuxième résultat à mentionner concerne la vitesse de propagation du front d'onde : c . En multipliant par u l'équation (A<sub>2</sub>.1) et en l'intégrant entre  $z \to \pm \infty$  il vient alors :

$$\int u \, \text{"} \cdot u \, \text{'} \, dz + c \, \cdot \int \left( u \, \text{'} \right)^2 \, dz = \int u \, \cdot \left( \alpha - u \right) \cdot \left( 1 - u \right) u \, \text{'} \, dz \tag{$A_2.3$}$$

En supposant le système dans des états stationnaires  $u_i,u_j$  en  $\pm\infty$  , le premier terme du membre de gauche s'annule et on arrive à la relation suivante :

$$c = \int_{u_i}^{u_j} u \cdot (\alpha - u) \cdot (1 - u) du / \int (u')^2 dz$$
 (A<sub>2</sub>.4)

Où, l'on a effectué un changement de variable dans l'intégrale du membre de droite (ce qui sous-entend que la fonction u reste monotone entre  $\pm \infty$ , donc que l'on considère un seul front d'onde, ou de manière équivalente un seul arc sur la figure Fig.3). On arrive donc à une relation, graphiquement intéressante puisqu'elle relie la valeur de la vitesse de propagation du front d'onde à l'aire contenue sous la courbe représentant la fonction source entre les points stables considérés. Si la complexité du terme au dénominateur empêche bien souvent le calcul explicite de cette vitesse, cette relation est tout de même un moyen rapide de s'assurer de son signe.

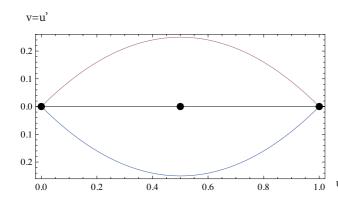
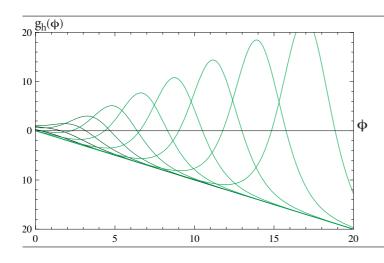


Fig.3 I Exemple de représentation de solution de (Eq.2) (avec  $\alpha = 0.5$ , cf. (Fig.7)) dans l'espace des phases  $\{u,v\}$ . Chacune des courbes reliant les points  $\{0,0\}$  et  $\{1,0\}$  représente un front d'onde se propageant udans deux directions opposées reliant les deux états stables du système.

### 1.2. Originalité de la fonction source

En faisant varier l'index h de la fonction  $g_h(\phi,\Gamma)$  entre  $\theta$  et une valeur positive arbitrairement grande, on obtient une famille de fonctions dont la représentation graphique est le faisceau de courbes présenté à la figure (**Fig.4**).



**Fig.4 I** Faisceau de courbes  $g_h(\phi,\Gamma)$  pour h variant de  $\theta$  à une valeur strictement positive arbitraire.

Faire varier h induit alors des variations des caractéristiques de la fonction sources. Comme évoqué dans l'aparté (**Ap.1**), ces caractéristiques, notamment la position de ses racines et l'aire sous sa courbe, régulent la dynamique de  $\phi$ . À chaque valeur de h va donc correspondre un front d'onde spécifique caractérisé par un état stable  $\phi_{\beta}$  et une vitesse de propagation c uniques. En effet, si la fonction source  $f_h(\phi)$  considérée possède trois racines distinctes, l'aparté

(**Ap.1**) nous assure qu'il existe une vitesse de propagation associée donnée par la relation :

$$c = \int_{\phi_1}^{\phi_3} f_h(\phi) d\phi / \int (\phi')^2 dz$$
 (3)

Où  $\phi_1$  et  $\phi_3$  ( $\phi_3 > \phi_1$ ) représentent les deux racines stables de la fonction  $f_h(\phi)$ . Il vient alors :

$$c = \int_{\phi_1}^{\phi_3} \left\{ -\phi + \Gamma h^2 \frac{e^{-\beta \left(A\phi - kh^2 + \mu_b\right)}}{\left(1 + e^{-\beta \left(A\phi - kh^2 + \mu_b\right)}\right)^2} \right\} d\phi / \int \left(\phi'\right)^2 dz \quad (4)$$

Le dénominateur du membre de droite de (**Eq.4**) et la dépendance en h des racines placent le calcul complet de la vitesse hors de portée. Cependant, le caractère continu de  $f_h(\phi)$  assure la convergence de son intégrale sur un intervalle fermé ; nous pouvons donc estimer numériquement le numérateur du membre de droite de (**Eq.4**) et ainsi avoir une idée de l'influence de h sur la vitesse de propagation, notamment pour quelle valeur de l'index cette dernière s'annule.

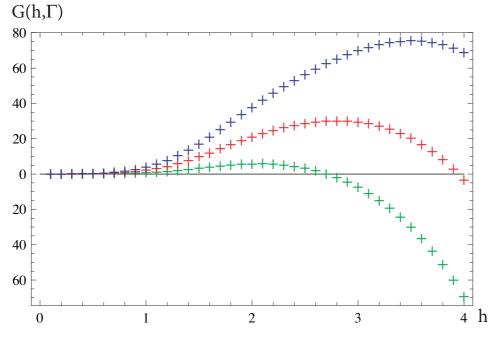
Pour des raisons de simplification, nous avons calculer numériquement l'intégrale  $G(h,\Gamma)$  de la fonction modèle  $g_h(\phi,\Gamma)$  (**Eq.5**) entre ces deux racines extrêmes pour différentes valeur de l'index h et pour trois valeurs différentes du paramètre  $\Gamma$ .

$$G(h,\Gamma) = \int_{\phi_1}^{\phi_3} g_h(\phi,\Gamma) d\phi \tag{5}$$

Les résultats de ces calculs sont présentés figure (**Fig.5**). On y distingue trois zones différentes : une zone pour les faibles étirements sur laquelle  $G(h,\Gamma)$  est quasiment nulle, une deuxième zone qui voit croître  $G(h,\Gamma)$  jusqu'à une valeur maximale puis décroître jusqu'à zéro et finalement une troisième zone sur laquelle  $G(h,\Gamma)$  est négative. Le signe de la vitesse de propagation (**Eq.3**) étant donné

par  $G(h,\Gamma)$  nous pouvons déduire de la figure (**Fig.5**) qu'il existe un intervalle d'étirements (on notera respectivement  $h_m$  et  $h_M$  ses bornes inférieure et supérieure) sur lequel la phase  $\phi_{\beta}$  va envahir la phase  $\phi_{\beta}$  à la vitesse c. Pour des étirements plus faibles, la vitesse quasi nulle assure que le système évolue spontanément et de façon homogène vers l'état  $\phi_{\beta}$ . Pour les étirement plus grands, la vitesse de propagation devenant négative, c'est la phase  $\phi_{\beta}$  qui va envahir la  $\phi_{\beta}$ . Dans ce cas,  $\phi_{\beta}$  étant égale à zéro, le système converge vers la solution nulle. Ces trois comportements possibles sont illustrés à la figure (**Fig.6**) qui présente les solutions de l'équation (**Eq.1**) obtenues numériquement.

**Fig.5 I** Faisceau de courbes  $G(h,\Gamma)$  en fonction de h pour trois valeurs du paramètre  $\Gamma$ . La courbe verte correspond à  $\Gamma = 5$ , la rouge à  $\Gamma = 10$  et la bleue à  $\Gamma = 15$ . La variation de  $\Gamma$  modifie principalement la valeur maximale atteinte par la vitesse c et les valeurs limites  $h_m$  et  $h_M$  des différents intervalles.



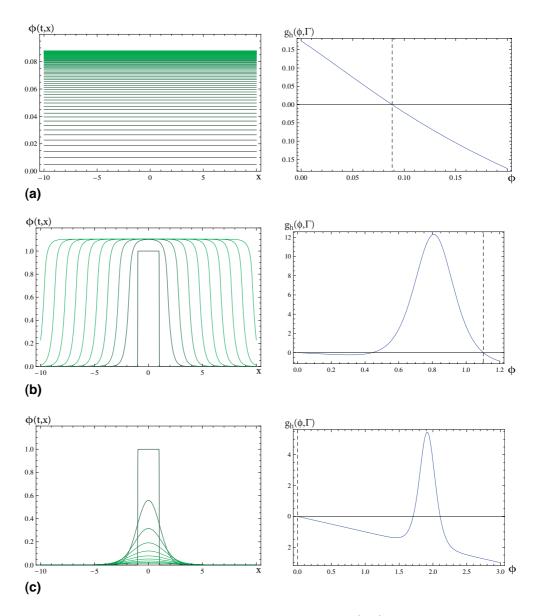


Fig.6 I Comportement des solutions numériques  $\phi(t,x)$  de l'équation (Eq.1) dans le cas d'un profil d'étirement homogène. Les trois cas correspondent à trois valeurs de h différentes. (a) :  $h < h_m$ , (b) :  $h_m < h < h_M$  et (b) :  $h_M < h$ . Les faisceaux de courbes à gauche représentent  $\phi(t,x)$  pour différentes valeurs de t, l'évolution temporelle se fait de la courbe la plus sombre vers la plus verte. Les courbes de droite représentent la fonction source  $f_h(\phi)$  pour chacune des valeurs de l'étirement considéré. La ligne en tirets symbolise alors la valeur  $\phi^\infty(x)$  atteinte au final par les solution de (Eq.1). Sur les faisceaux de courbes (b) et (c), la courbe en créneau représente la condition initiale utilisée. Le faisceau (a) présente une condition initiale nulle car, comme le montre le graphe de la fonction source correspondante, la valeur  $\phi=0$  est intrinsèquement instable dans ce cas, le système évolue alors spontanément vers une solution non-nulle.

Pour résumer, comme le montrent les graphes de la figure (**Fig.6**), si l'on considère une contrainte homogène, le système va adopter un comportement spécifique en fonction de la valeur de cette

contrainte h. Les valeurs limites  $h_m$  et  $h_M$  séparant les comportements possibles vont dépendre du nombre de racines de la fonction source et de la valeur de son intégrale entre ces racines, celles-ci étant conditionnées par le paramètre  $\Gamma$ .

Les étirements subis par les intégrines dans une cellule en adhésion n'ayant, à priori, aucune raison d'être homogènes, se pose maintenant la question du comportement des solutions de (**Eq.1**) dans le cas d'un index h fonction de la variable d'espace.

# 2. Géométrie courbée

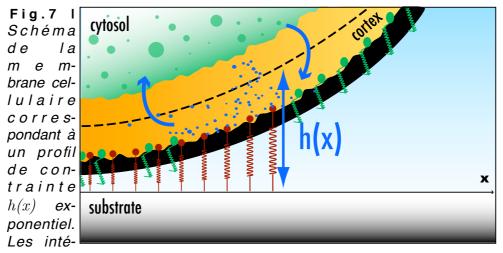
Nous venons de voir que des valeurs différentes de l'étirement h conduisaient à des dynamiques différentes pour le champ  $\phi$ . Le bord cellulaire, comme la première section du chapitre précédent l'explicite, présente une variation exponentiel de l'étirement h. À priori, les résultats obtenus pour  $h{=}cste$  ne sont pas applicables.

### 2.1. Résolution numérique de l'équation de réaction-diffusion

Étant donnée le caractère fortement non-linéaire de l'équation (**Eq.1**), l'estimation numérique de ses solutions nous a été d'une aide précieuse.

Dans le cas d'un profil h(x) non constant (**Fig.**7), des solutions stationnaires de l'équation (**Eq.**1) peuvent être obtenues par perturbation de la condition initiale  $\phi(t=0,x)=cste$ . La figure (**Fig.8**) montre un exemple de courbes obtenues.

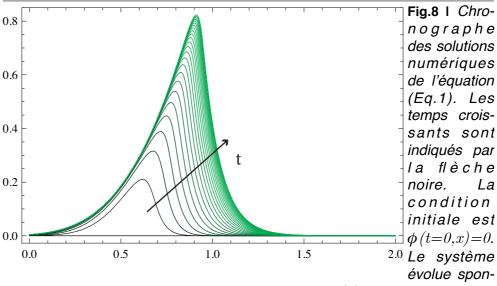
Chapitre 2 | bord cellulaire | 81



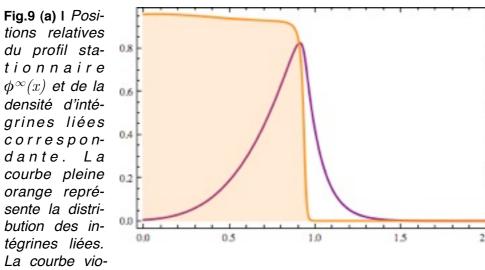
grines sont représentées par des ressorts (rouges quand elles sont liées et activées, verts dans le cas contraire). La courbe noire épaisse figure la membrane plasmique et la zone jaune adjacente le cytosquelette d'actine. L'activateur dans sa forme  $\phi$  est représenté par le nuage de points bleus.

#### 2.1.1. Évolutions temporelles du système

Comme le montre le faisceau de courbes de la figure (**Fig.8**), Le champ activateur évolue spontanément vers une distribution d'équilibre :  $\phi^{\infty}(x)$  fortement piquée. Si l'on compare la position de cette distribution à celle du bord de la ceinture adhésive (**Fig.9**), on se rend compte que le pic de  $\phi^{\infty}(x)$  localise rigoureusement avec le bord de la ceinture adhésive.



tanément vers un profil limite que l'on nommera  $\phi^{\infty}(x)$ .



lette, la distribution de l'activateur. Le maximum de densité de l'activateur colocalise parfaitement avec la frontière entre la zone où les intégrines adhèrent et celle où elles n'adhèrent pas.

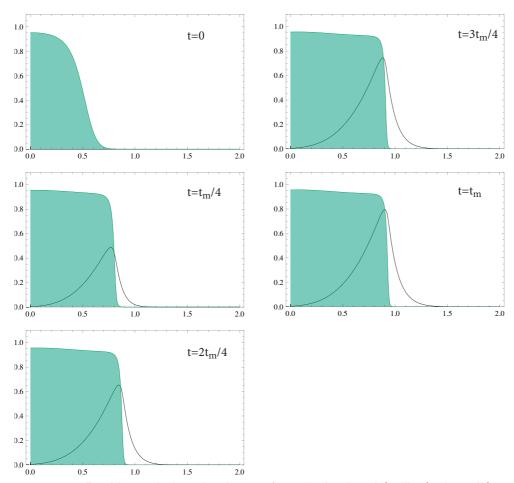


Fig.9 (b) I Position relative du champ  $\phi$  et de la densité d'intégrines liées tout au long du régime transitoire.  $t_m$  correspond au temps maximal pour lequel on résout numériquement l'équation (Eq.1).

Le chronographe de la figure (Fig.9 (b)) assure que cette colocalisation entre le maximum de la distribution en activateur et le bord de la zone adhésive n'est pas exclusive à la distribution stationnaire  $\phi^{\infty}(x)$ . Cela provient de l'hypothèse faite sur l'équilibre adhésif. En effet, celui-ci étant supposé instantané — devant les autres mécanismes en jeu — il en résulte qu'en chaque instant t la relation (**Eq.4**) est valable.

$$n_b(t,x) = \frac{n_0}{1 + (K_e(\phi,h))^{-1}} \tag{6}$$

Avec :  $K_e(\phi,h)=K_{e0}e^{-\beta\left(kh^2-A\phi\right)}$  . La disponibilité d'intégrines non-liées — cf. hypothèse faite sur l'homogénéité de la densité totale d'intégrine  $n_\theta$  — et l'instantanéité de l'équilibre adhésif assurent une adaptation immédiate de la zone adhésive aux variations du champs  $\phi$ . Une première caractéristique de notre système apparaît alors : le pic d'activateur colocalise à tout instant avec le bord de la zone adhésive. On transcrit ainsi chimiquement, à l'intérieur de la cellule, une information physique extracellulaire. La fonctionnalité de cette « transduction instantanée » est immédiate : si l'activateur est à la base d'une voie de signalisation initiant la polymérisation d'actine, sa distribution localisée au bord de la zone adhésive permet de restreindre cette dernière précisément là où elle sera le plus efficace.

#### 2.1.2.Modification de l'équilibre adhésif

Les graphes présentés figures (**Fig.9**) sont tracés dans le cas particulier  $K_e(\phi=0,h=0)\gg 1$ . Si l'on considère une réaction d'adhésion moins efficace (i.e.  $K_e(\phi=0,h=0)\sim 1$ ), on observe une augmentation très nette de la densité d'intégrines liées au niveau du bord cellulaire (**Fig.10**). L'adhésion est donc favorisée là où les contraintes mécaniques sont les plus fortes. Ce comportement original est du à l'action du partenaire cytoplasmique qui stimule d'adhésion des intégrines : il interagit d'autant mieux avec ces dernières qu'elles sont étirées, favorisant ainsi l'adhésion au niveau des zones de contrainte.

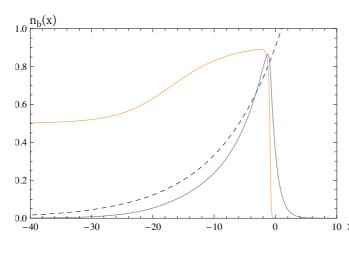


Fig.10 I Densité stationnaire d'intégrines liées (courbe orange)  $n_b^\infty(x)$  calculée à partir de la formule (Eq.6) et de la solution stationnaire  $\phi^\infty(x)$  de l'équation (Eq.1), dans le cas d'une constante d'équilibre  $K_{e0}{\sim}1$ . La courbe voilette reprépointillés h(x).

#### 2.1.3. Caractérisation de l'état stationnaire

Comme le montrent les figures (**Fig.8 & 9**), le profil stationnaire de l'activateur est très piqué, nous le divisons en deux zones distinctes : une partie dorsale (côté gauche sur les figures (**Fig.8 & 9**)), localisée dans la zone adhésive ; et un « pied diffusif », situé à droite du maximum, localisé sur la partie libre et non-adhésive de la membrane. Elles seront dénommées respectivement zone 1 & 2, coïncidant ainsi avec la description mécanique faite en début de chapitre 1. L'asymétrie de la courbe sur ces deux zones sous-entend des comportements asymptotiques différents.

Au niveau de la zone 2, les intégrines n'étant pas adhérentes, la fonction source se limite au terme de désexcitation. En régime permanent, l'équation différentielle régissant cette partie de la courbe s'écrit alors pour  $\tilde{x} \in \left[\tilde{x}_0, +\infty\right]$ , avec  $\tilde{x} = x/\lambda_{\phi}$  et  $\tilde{x}_0$  l'abscisse frontière entre les deux zones en question :

$$\phi" - \phi = 0 \tag{7}$$

Les solutions admissibles de (Eq.7) devant être bornées on en tire que le « pied diffusif » varie comme :

$$\phi(x) \propto e^{-\frac{x}{\lambda_{\phi}}} \tag{8}$$

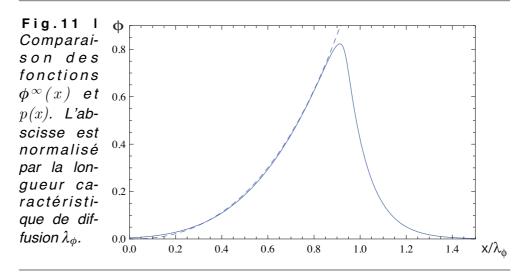
Avec 
$$\lambda_\phi=\sqrt{D/b}$$
 ou encore  $\lambda_\phi=\sqrt{D\cdot au_\phi}$  où  $au_\phi$  correspond au

temps de vie moyen de l'état doublement activé  $\phi$ . La taille caractéristique de cette zone dépend donc fortement de la capacité de l'activateur à diffuser. Cette capacité à diffuser en amont de la zone adhésive est importante car ainsi l'activateur, en interagissant avec leur partie cytosolique, incite les intégrines à passer en conformation dépliée et donc favorise l'adhésion. De plus, s'il stimule également la polymérisation du cytosquelette, cette diffusion en amont de la zone adhésive va permettre de rigidifier la membrane ; le couple résultant induira le rapprochement de la membrane et du substrat permettant ainsi à des intégrines jusqu'ici libres d'adhérer.

L'analyse de la zone 1 est plus subtile. Une interpolation numérique de la courbe sur la zone adhésive nous assure que le profil stationnaire est très bien approché dans cette zone par des fonctions de la forme :

$$p(x) = (1 - \varepsilon_1) \frac{k}{A} (h(x))^2 + \varepsilon_2 \tag{9}$$

Où les  $\varepsilon_i$  sont des variables d'ajustement tendant vers  $\theta$ . À ce stade, cette approximation fonctionnelle apparaît comme un ajustement sans fondement mais elle sera justifiée par la suite (cf. section 4). La figure (**Fig.11**) compare la fonction p(x) au dos de la fonction  $\phi^{\infty}(x)$  et explicite la bonne concordance entre p(x) et  $\phi^{\infty}(x)$ .



Une question demeure : comment l'inhomogénéité de la contrainte h(x) permet-elle au système de faire converger un front d'onde propagatif vers un régime stationnaire stable ?

#### 2.2. L'approximation en « marches d'escalier »

#### 2.2.1. Principe de l'approximation

Dans le cas d'une contrainte h(x) homogène vérifiant :  $h \in [h_m, h_M]$  , l'équation de réaction-diffusion associée donne naissance à des fronts d'onde propagatifs. L'épaisseur caractéristique de ces fronts d'onde est la distance sur laquelle s'effectue l'intégration de la variable z dans le calcul de la vitesse de propagation (cf. **Eq.A1.3** de l'aparté (**Ap.1**)). Comme explicité lors de la description du « pied diffusif » de la distribution, la valeur caractéristique de cette épaisseur est  $\lambda_\phi = \sqrt{D_\phi/b}$  , distance caractéristique utilisée pour renormaliser l'équation de réaction-diffusion au chapitre précédent. On en déduit

l'équation de réaction-diffusion au chapitre précédent. On en déduit que si la distance caractéristique sur laquelle varie le champ d'étirement h(x) est plus grande que  $\lambda_{\phi}$ , localement le champ pourra être considéré comme constant et les résultats établis précédemment seront alors transposables.

Concrètement cela revient à approcher le profil h(x) exponentiel par un escalier dont les marches ont une longueur  $\lambda_{\phi}$ . La formule retenue pour le profil d'étirement au bord de la zone adhésive est la suivant :

$$h(x) = h_0 \exp\left[\left(x - x_0\right) / \lambda_1\right] \tag{10}$$

Avec:

$$\lambda_1 = \sqrt[4]{\kappa_1/kn_{b0}} \tag{11}$$

L'équation (**Eq.1**) étant posée en variables adimensionnées, il convient de ré-écrire le profil (**Eq.10**) à l'aide de ces même variables :

$$h(\tilde{x}) = h_0 \exp[\varepsilon(\tilde{x} - \tilde{x}_0)] \tag{12}$$

Avec  $\varepsilon = \lambda_{\phi}/\lambda_1$  qu'il convient d'estimer.

On sait (Cf. Chapitre 1) que  $\lambda_1 \approx 0,1~\mu m$ . D'après le tableau (**Tab.1**) de l'introduction, l'activateur évoluant au voisinage de la membrane dans une zone riche en actine, nous estimons  $D_\phi$  autour de 0,1  $\mu m^2.s^{-1}$ . L'estimation de la fréquence de désexcitation b de l'état activé est plus délicate, on supposera  $b \approx 10^3~s^{-1}$ ; ce qui nous donne une épaisseur caractéristique de front d'onde de l'ordre de  $\lambda_\phi$   $\approx 10^{-2}~\mu m$ . On arrive donc à une valeur du rapport  $\lambda_\phi/\lambda_1 \sim 0,1 \ll 1$  ce qui nous permettra d'utiliser une « approximation en marches d'escalier » du profil h(x), cf. (**Fig.12**).

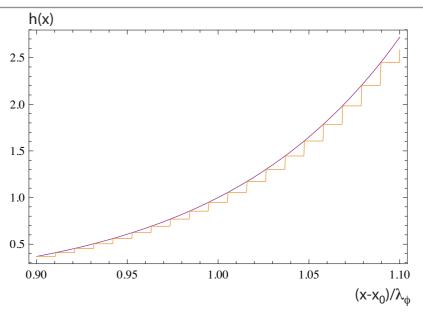
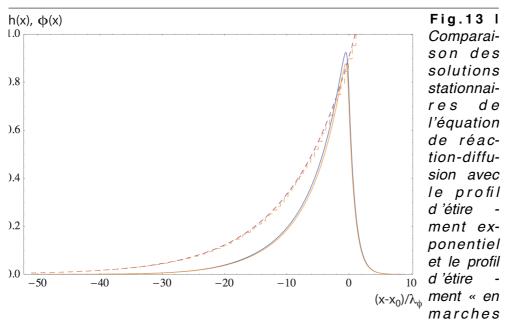


Fig.12 I Comparaison du profil d'étirement h(x) exponentiel et de son approximation « en marches d'escalier ». La largeur de la figure correspond à deux fois la longueur caractéristique  $\lambda_I$ , liée aux propriétés mécaniques de la membrane et du cytosquelette proche. La largeur des marches correspond à la longueur caractéristique tirée de l'équation de réaction-diffusion  $\lambda_{\phi}$ .

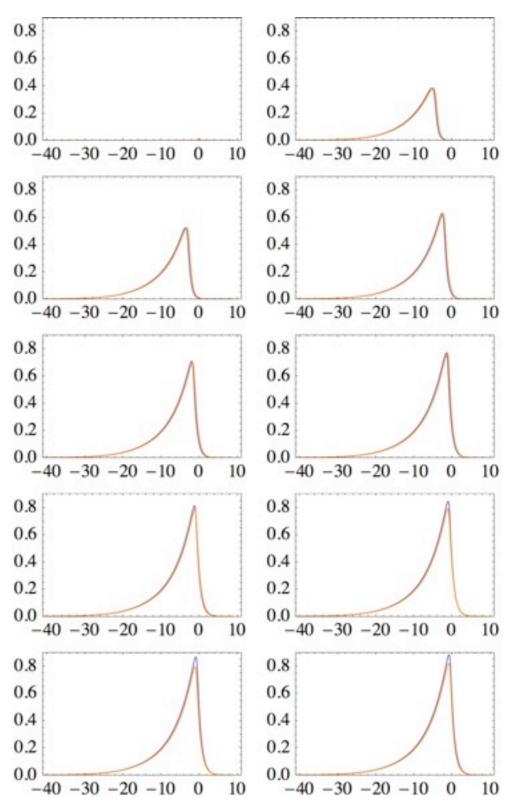
#### 2.2.2. Validation

Dans le cadre de cette approximation, la première chose à vérifier est la correspondance entre les solutions stationnaires de l'équation de réaction-diffusion obtenues avec le profil exponentiel usuel et le profil approché, c'est ce que l'on fait à la figure (Fig.13).

La figure (Fig.13) permet de constater que l'approximation « en marches d'escalier » conduit bien à une solution comparable à celle obtenue avec le profil d'étirement exponentiel. Les maxima des deux solutions ne sont pas tout-à-fait égaux mais leur parties dorsales coı̈ncident bien et c'est finalement ce qui nous intéresse le plus. Une autre vérification à opérer concerne leur dynamiques respectives : la comparaison des deux profils au cours de leur phases transitoires (**Fig.14**) montre qu'ils évoluent à la même vitesse. L'approximation « en marches d'escalier » conduit donc au même comportement dynamique que le profil exponentiel, les outils théoriques d'analyse des équations de réaction-diffusion « classiques » sont alors localement utilisable pour l'étude du profil « en marches d'escalier ».



d'escalier ». Dans cet exemple, la valeur d'origine des abscisses  $x_0$  est prise égale à 1 contrairement à la figure (Fig.8) où elle est prise égale à 0.



**Fig.14** I Comparaison pendant leur régimes transitoires des solutions de l'équation de réaction-diffusion avec le profil d'étirement exponentiel et le profil d'étirement « en marches d'escalier ».

#### 2.2.3. Calcul de la vitesse de propagation

Les outils théoriques présentés à la première section de ce chapitre étant utilisables, une estimation de l'évolution de la vitesse de propagation du front d'onde est envisageable. Le principe étant de calculer numériquement l'intégrale de la fonction source pour chaque marche du profil approché.

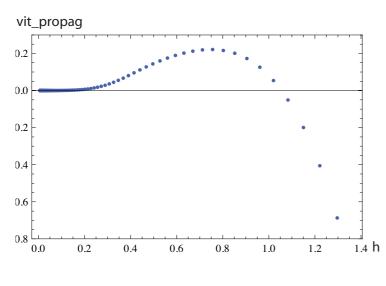
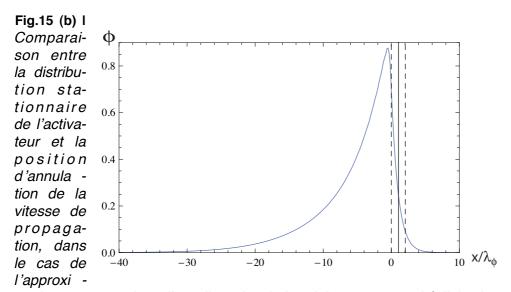


Fig.15 (a) I Calcul numérique de la vitesse de propagation du front d'onde solution de l'équation (Eq.1) en fonction de la valeur du palier d'étirement. Le passage d'une vitesse positive à négative se fait logiquement entre deux paliers

(notés P+ et P- respectivement), c'est à cette position que le front doit s'arrêter.



mation « en marches d'escalier». La droite pleine correspond à l'abscisse entre les palier P+ et P-. Les deux droites discontinues représente la largeur de ces paliers qui vaut 1 dans le système de variables adimensionnées choisi.

Comme le montrent les graphes (**Fig.15 (a) &( b)**), si l'on estime numériquement l'étirement pour lequel la vitesse s'annule et que l'on repère sur le profil en escalier sa position, on se rend compte

que celle-ci coïncide, avec une précision de l'ordre de  $\pm \lambda_{\phi}$  avec le front de la distribution stationnaire solution de l'équation (**Eq.1**). En modulant la fonction source par un index variable, en l'occurrence l'étirement subi par les intégrines, on obtient donc convergence des solutions de (**Eq.1**) vers un profil stationnaire simplement par annulation de la vitesse de propagation. Cette annulation s'effectuant avec changement de signe (**Fig.15** (a)), le profil stationnaire correspondant s'avère stable.

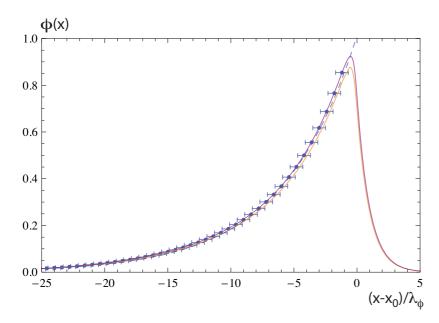
De la première section de ce chapitre, traitant d'une contrainte homogène, nous avons tiré deux résultats :

- → la vitesse de propagation d'un front d'onde peut être estimée grâce à l'intégrale de la fonction source,
- le front d'onde en question relie deux points stables de l'espace des phases correspondant aux racines extrémales de la fonction source.

Nous venons de voir que le premier de ces résultats était transposable à une fonction source inhomogène dans le cadre de l'approximation « en marches d'escalier ». Peut-on également transposer le deuxième ?

#### 2.2.4.Étude de la partie dorsale de la distribution stationnaire

La figure (**Fig.16**) compare les deux profils stationnaires solutions de l'équation de réaction-diffusion — dans le cas approché et non-approché —, la fonction d'interpolation dorsale p(x) présentée au paragraphe 2.1.2, et les racines  $\phi_\beta$  de la fonction source au différents paliers considérés. On note alors que, sur la zone 1 adhérente, pour une valeur donnée de l'abscisse x, toutes ces grandeurs coïncident. Une interprétation simple du comportement du champ activateur s'impose : localement, sa dynamique est en tous points similaire à celle qu'il aurait dans le cas homogène. C'est-à-dire la propagation d'un front d'onde, à une vitesse donnée par l'intégrale de la fonction source, reliant deux états stables correspondant aux racines extrémales de cette même fonction. L'originalité ici étant que la valeur de cette troisième racine, indexée par la fonction h(x), est fonction de la position.



**Fig.16 I** Comparaison entre la partie dorsale du profil stationnaire, calculé dans le cadre de l'approximation « en marches d'escalier » (orange) et sans approximation (violet) et la troisième racine de la fonction source calculée pour chaque palier correspondant. La courbe en tirets correspond à la fonction d'interpolation p(x) (cf. § 2.1.2).

La fonctionnalité du système {intégrines + champ activateur} apparaît : en régime stationnaire, les propriétés allostériques des intégrines transforment une cartographie de contraintes en cartographie de concentration.

Parler de « cartographie » de la zone de contact paraît prématuré puisque tous les calculs effectués jusqu'ici ne font intervenir qu'une seule dimension d'espace. La prochaine section généralise les résultats précédents au cas bidimensionnel.

# 3. Prise en compte d'une deuxième dimension d'espace

## 3.1. Paramétrisation du problème en deux dimensions

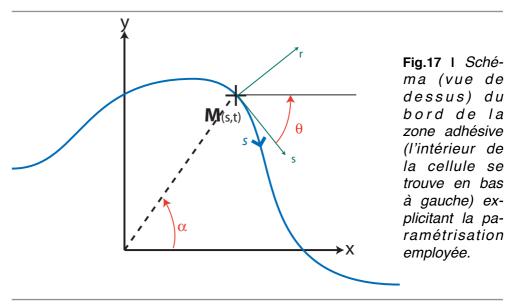
Prendre en compte une deuxième variable d'espace ne modifie pas les fondements du système mais introduit des termes différentiels nouveaux, liés à la topologie de la surface. Pour faire ressortir ces termes, nous allons nous placer au voisinage du bord de la ceinture adhésive (nous appellerons ligne de contact cette frontière entre la zone adhésive et la zone libre) et utiliser un système de coordonnées locales  $\{r,s\}$  où r est la coordonnée normale à la ligne de contact au point considéré et s l'abscisse curviligne le long de cette ligne, cf. (**Fig.17**) pour la paramétrisation. Les points formant la ligne de contact sont définis par le vecteur position suivant :

$$\overrightarrow{M}(s,t) = \left\{ X, Y \right\} \tag{13}$$

Dans la base:

$$\begin{cases}
\hat{s} = \cos(\theta)\hat{x} + \sin(\theta)\hat{y} \\
\hat{r} = -\sin(\theta)\hat{x} + \cos(\theta)\hat{y}
\end{cases} (14)$$

Où  $\theta$  désigne l'angle entre le vecteur  $s\,$  et l'axe des abscisses.



 $\left\{M(s,t), \hat{s}, \hat{r}\right\}$  forme alors une base orthonormée directe locale.

Dans cette base, tous point sur la tangente à la ligne de contact peut être paramétré de sorte que, par rapport au référentiel liée au substrat, on ait :

$$\vec{x} = \overrightarrow{OM}(s,t) + r \cdot \hat{r} \tag{15}$$

Soit encore:

$$\begin{cases} x = X(s,t) - r\sin(\theta(s,t)) \\ \hat{r} = Y(s,t) + r\cos(\theta(s,t)) \end{cases}$$
 (16)

Ré-écrire le Laplacien dans la base locale  $\left\{M(s,t), \hat{s}, \hat{r}\right\}$  conduit

à l'expression:

$$\Delta = \frac{\partial^2}{\partial r^2} + \kappa G \frac{\partial^2}{\partial r^2} + G \frac{\partial G}{\partial s} \frac{\partial}{\partial s} + G^2 \frac{\partial^2}{\partial s^2}$$
 (17)

Où  $\kappa$  et G représentent respectivement la courbure de la ligne de contact et la métrique au point M considéré. On les définit de la sorte :

$$\begin{cases} \kappa(M) = \frac{\left|R^2 + 2R'^2 - RR''\right|}{\left(R^2 + R'^2\right)^{\frac{3}{2}}} \\ G(M) = (1 + r\kappa)^{-1} \end{cases}$$
 (18)

Le prime dénotant la dérivation par rapport à la variable angulaire  $\alpha^1$ , cf. (Fig.17).

Comme nous venons de définir un nouveau jeu de variables, il convient de reprendre l'équation de réaction diffusion dans sa forme dimensionnée (cf. (**Eq.39**) chapitre 1) afin de mettre en évidence une hiérarchisation éventuelle des différents termes et de leur contributions. Il vient alors :

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = D_{\phi} \Delta \phi - b\phi + \frac{1}{2} kh^2 \frac{\partial n_b}{\partial \phi}$$
 (19)

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = D_{\phi} \left\{ \frac{\partial^2 \phi}{\partial r^2} + \kappa G \frac{\partial^2 \phi}{\partial r^2} + G \frac{\partial G}{\partial s} \frac{\partial \phi}{\partial s} + G^2 \frac{\partial^2 \phi}{\partial s^2} \right\} - b\phi + \frac{1}{2} kh^2 \frac{\partial n_b}{\partial \phi} \quad (20)$$

En divisant par b les deux membres de l'équation (**Eq.22**), il vient :

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> On choisit cette définition de la courbe car elle est plus simple à calculer....

$$\tau_{\phi} \frac{\partial \phi}{\partial t} = \lambda_{\phi}^{2} \left\{ \frac{\partial^{2} \phi}{\partial r^{2}} + \kappa G \frac{\partial^{2} \phi}{\partial r^{2}} + G \frac{\partial G}{\partial s} \frac{\partial \phi}{\partial s} + G^{2} \frac{\partial^{2} \phi}{\partial s^{2}} \right\} + f_{h}(\phi) \quad (21)$$

Soit en utilisant les même variables a dimensionnées que précédemment et une courbure a dimensionnée  $\tilde{\kappa}=\lambda_\phi\cdot\kappa$  :

$$\frac{\partial \phi}{\partial \tilde{t}} = \frac{\partial^2 \phi}{\partial \tilde{r}^2} + \frac{\tilde{\kappa}}{1 + \tilde{r} \cdot \tilde{\kappa}} \cdot \frac{\partial^2 \phi}{\partial \tilde{r}} + \lambda_{\phi}^2 \cdot \left\{ G \frac{\partial G}{\partial s} \frac{\partial \phi}{\partial s} + G^2 \frac{\partial^2 \phi}{\partial s^2} \right\} + f_h(\phi) \quad (22)$$

Par soucis de simplification, une hypothèse importante est faite à ce stade :  $R_0 \equiv \min(R(\alpha)) \gg \lambda_1, \lambda_\phi$ . Concrètement, cela revient à considérer uniquement des cellules dans un stade d'étalement avancé dans lequel l'ordre de grandeur de la surface basale est de l'ordre de la dizaine de microns soit un ordre de grandeur plus grand que l'épaisseur de la zone mécaniquement active à son bord et deux ordres de grandeur plus grand que la taille caractéristique du « pied diffusif ». Mathématiquement, cela revient à faire les approximations :  $\tilde{\kappa} \ll 1$  et  $G \approx 1$ . L'équation (**Eq.22**) devient alors :

$$\frac{\partial \phi}{\partial \tilde{t}} = \frac{\partial^2 \phi}{\partial \tilde{r}^2} + \tilde{\kappa} \cdot \frac{\partial^2 \phi}{\partial \tilde{r}} + \lambda_{\phi}^2 \cdot \frac{\partial^2 \phi}{\partial s^2} + f_h(\phi) \quad (23)$$

Reste à normaliser l'abscisse curviligne s pour obtenir une version complètement adimensionnée de (**Eq.23**). Pour ce faire, étant donnée que s décrit le périmètre de la zone adhésive,  $R_{\theta}$  apparaît comme la grandeur de référence qui s'impose. On écrit alors :

$$\frac{\partial \phi}{\partial \tilde{t}} = \frac{\partial^2 \phi}{\partial \tilde{r}^2} + \tilde{\kappa} \cdot \frac{\partial^2 \phi}{\partial \tilde{r}} + \varepsilon^2 \cdot \frac{\partial^2 \phi}{\partial \tilde{s}^2} + f_h(\phi) \tag{24}$$

Où  $\tilde{s}=s/R_0$  et  $\varepsilon=\lambda_\phi/R_0$ . Par simplification d'écriture nous omettrons les tildes sur les variables adimensionnées par la suite :

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = \frac{\partial^2 \phi}{\partial r^2} + \kappa \cdot \frac{\partial \phi}{\partial r} + \varepsilon^2 \cdot \frac{\partial^2 \phi}{\partial s^2} + f_h(\phi) \tag{25}$$

#### 3.2. Conséquences de cette paramétrisation

Suivant la dimension radiale (variable r), la dynamique de l'activateur prend place sur une distance caractéristique de quelques  $\lambda_{\phi}$ . Suivant la direction tangente (abscisse curviligne s), puisque la fonction h ne dépend pas de s, la propagation du front d'onde n'est pas limité : ce dernier est libre de se propager tout autour de la cellule, dont le périmètre P vérifie  $P \sim R_0 \gg \lambda_{\phi}$  . La vitesse de propagation étant, sinon la même, du moins comparable dans les deux directions,  $\phi$  atteindra son profil stationnaire  $\phi^{\infty}(x)$  dans la direction normale bien avant que sa composante tangentielle n'ait parcouru une distance significative le long de la ligne de contact. Ceci explicite la présence du rapport infinitésimal  $\varepsilon^2$  devant la dérivée seconde suivant s. En conséquence, la dérivée seconde par rapport à s peut être négligée.

La deuxième conséquence du « passage en deux dimensions » est l'apparition d'un terme en gradient modulé par la courbure dans le membre de droite de (**Eq.25**). En fonction de la position  $\overrightarrow{OM}$  considérée le long de la ligne de contact, ce terme va varier et donc moduler la réponse du système.

#### 3.3. Influence de la courbure de la ligne de contact

Le coefficient infinitésimal d'ordre 2 devant la dérivée seconde suivant l'abscisse curviligne dans (**Eq.25**) nous autorise à négliger ce terme par rapport aux autres si l'on se place à une échelle temporelle de l'ordre de  $\tau_{\phi}$ ; il vient alors :

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = \frac{\partial^2 \phi}{\partial r^2} + \kappa \cdot \frac{\partial \phi}{\partial r} + f_h(\phi) \tag{26}$$

Finalement, la seule différence induite par la deuxième dimension d'espace , que l'on retiendra dans le cadre de cette thèse, est l'apparition d'un terme en gradient, modulé par la courbure de la ligne de contact.

Les profils stationnaires solutions de (**Eq.26**), pour des valeurs de courbure relative allant de -1 à 1, sont présentés (**Fig.18**). L'influence du terme de courbure y est clair : il déplace la position d'arrêt du front diffusif ; ce faisant, il modifie également la valeur du pic de concentration atteint et donc la position du bord de la zone adhésive. Rapport à la courbure nulle prise comme référence, le code couleur de la figure (**Fig.17**) nous montre qu'une courbure négative, correspondant à une avancée de la membrane, induira une diminution du pic d'activation et, à l'inverse, une courbure positive, correspondant à un retrait de membrane, induira une augmentation du pic, comme le montre la figure (**Fig.18**).

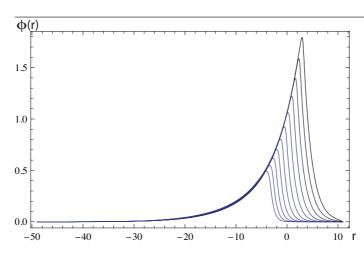
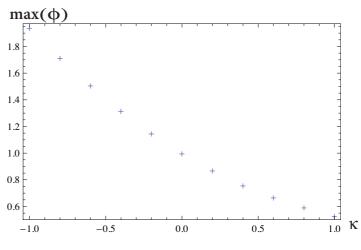


Fig.18 I Exemple de profils stationnaires  $\phi^{\infty}(x)$  solution de l'équation (Eq.30) pour différentes valeur de courbure relative variant de -1 (courbe en noir) à +1 (courbe en bleu).

Fig.19 I Maximum de la distribution stationnaines  $\phi^{\infty}(x)$  solution de l'équation (Eq.30) en fonction de la courbure relative. La valeur de ces maxima est relative puisque divisée par celle du maximum obtenu avec une courbure nulle.



Ce mécanisme de régulation dépend de la vitesse de propagation du front d'onde : nous avons montré à la section précédente, que le profil stationnaire  $\phi^{\infty}(x)$  était atteint lorsque cette vitesse s'annulait, l'ajout du terme de courbure va modifier son calcul et donc la position d'arrêt du front d'onde.

En effet, en se plaçant dans le repère lié au front et en régime permanent, il vient la relation :

$$\int \phi \, "\phi' dz + \left(c + \kappa\right) \cdot \int \left(\phi'\right)^2 dz = \int_{\phi_1}^{\phi_3} f_h(\phi) \, d\phi \quad (27)$$

Où z=r-ct décrit le front d'onde dans son référentiel et les primes dénotent des dérivées par rapport à cette variables. En effectuant le même calcul que dans l'aparté (**Ap.1**), on arrive cette fois à :

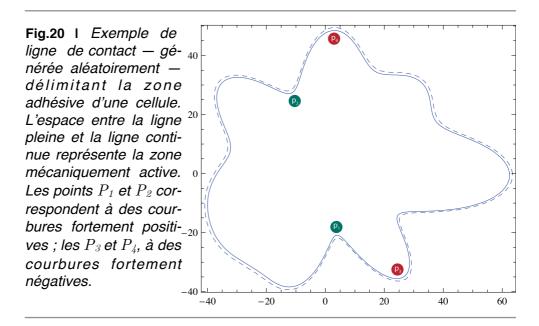
$$c(h(x)) = c_0(h(x)) - \kappa \tag{28}$$

Avec:

$$c_0(h(x)) = \int_{\phi_1}^{\phi_3} f_h(\phi) d\phi / \int (\phi')^2 dz$$
 (29)

 $c_{\theta}$  étant la vitesse de propagation dans le cas d'une ligne de contact à courbure nulle. La formule (**Eq.29**) dresse un lien simple entre vitesse de propagation et courbure. Si cette dernière est positive, à une position et un profil d'étirement donnés, la vitesse de propagation sera plus faible et donc s'annulera avant que le front n'atteigne la position  $x_{max}$  pour laquelle  $c_{\theta}$  s'annule. Inversement pour le cas d'une courbure négative, le front ira, cette fois-ci, plus loin que  $x_{max}$ .

Une boucle de rétro-contrôle apparaît alors : imaginons une cellule en interaction avec un substrat via une zone adhésive comme celle présentée à la figure (**Fig.20**). D'après les calculs précédents nous savons que quantitativement, en chaque point de cette ligne, l'activateur va être modulé par la courbure de cette dernière. Si l'activateur, comme on le suppose, est à la base d'une voie d'activation de la polymérisation d'actine ; on en déduit que l'activation de cette dernière va dépendre de la courbure. Qualitativement, les points tels que  $P_1$  et  $P_2$  verront une polymérisation plus intensive que d'autres tels que  $P_3$  et  $P_4$ . Si maintenant l'étalement cellulaire est, d'une quelconque manière, dépendant de cette polymérisation, on en déduit que la ligne de contact va évoluer de manière à homogénéiser sa courbure.



# 3.4. Prise en compte de la vitesse d'avancée de la membrane

La fin du paragraphe précédent évoque la vitesse d'avancée de la ligne de contact. Si comme supposé, l'activateur influence la polymérisation d'actine, une variation de cette dernière au voisinage de la ligne de contact pourrait induire une variation de la vitesse d'étalement de la cellule. Jusqu'ici, nous avons implicitement considéré un profil d'étirement h indépendant du temps, si la membrane de la cellule est en mouvement, cela n'est plus vrai.

Si l'on considère une membrane en translation rectiligne uniforme, suivant la direction radiale, à la vitesse V, l'équation (**Eq.26**) devient :

$$\frac{d\phi}{dt} = \frac{\partial^2 \phi}{\partial r^2} + \kappa \cdot \frac{\partial \phi}{\partial r} + f_h(\phi) \tag{30}$$

Où la dérivée partielle par rapport à la variable temporelle est remplacée par une dérivée totale, faisant intervenir des termes particulaire et convectif. On la ré-écrit de la sorte :

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} - V \cdot \frac{\partial \phi}{\partial r} = \frac{\partial^2 \phi}{\partial r^2} + \kappa \cdot \frac{\partial \phi}{\partial r} + f_h(\phi) \quad (31)$$

Le terme convectif du à la vitesse d'entraı̂nement V- deuxième terme du membre de gauche - a la même forme que le terme de courbure précédemment étudié :

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = \frac{\partial^2 \phi}{\partial r^2} + \left(\kappa + V\right) \cdot \frac{\partial \phi}{\partial r} + f_h(\phi) \quad (32)$$

On en déduit donc que le mécanisme de rétro-contrôle évoqué au chapitre précédent à propos de la courbure est également à l'oeuvre en ce qui concerne la vitesse d'avancée de la membrane. Cela signifie que la polymérisation sera d'autant plus stimulée, au point considéré, que la vitesse d'avancée de la ligne de contact sera faible. Le point important ici est que ce rétrocontrôle de la vitesse sur l'activation ne nécessite aucune hypothèse préalable sur l'origine de la vitesse d'avancée (hormis son uniformité).

Pour conclure cette section, une remarque s'impose : utiliser l'approximation « en marches d'escalier », non seulement ne modifie pas notablement le comportement du système, mais s'avère également utile pour le comprendre plus finement. Dans la prochaine section nous présenterons une nouvelle approximation qui nous permettra d'effectuer un calcul analytique approché des solutions stationnaires de (**Eq.26**).

### 4. Calcul analytique de la solution stationnaire

La complexité des équations de réaction-diffusion rend le calcul analytique des solutions souvent impossible. Comme l'ont montré les deux premières sections de ce chapitre, une approximation astucieuse permet souvent d'aboutir à un résultat approché pertinent. Dans cette section nous allons voir comment, en simplifiant la forme de la fonction source, on trouve une forme analytique de la distribution stationnaire  $\phi^{\infty}(x)$  solution de l'équation (**Eq.26**), c'est-à-dire une solution de l'équation différentielle ordinaire suivante :

$$\frac{\partial^2 \phi}{\partial x^2} + \kappa \cdot \frac{\partial \phi}{\partial x} + f_h(\phi) = 0 \tag{33}$$

Le but de cette démarche est d'obtenir une forme analytique reliant le profil stationnaire  $\phi^{\infty}(x)$  aux différents coefficients biochimiques du modèle afin d'en examiner les grandes tendances.

### 4.1. Simplification de la fonction source

Les solutions de (**Eq.26**) dépendent fortement de deux paramètres de  $f_h(\phi)$  principalement : sa troisième racine  $\phi_\beta$  et l'aire sous sa courbe représentative, cf. (**Fig.1**). L'idée est donc de substituer à  $f_h(\phi)$  une fonction présentant ces deux caractéristiques mais avec une forme plus simple. Dans cette optique, nous considérerons la fonction suivante :

$$\tilde{f}_h(\phi) = \begin{cases}
-\phi & \forall x \in \bar{\Omega} \\
-\phi + \frac{\Gamma}{4}h^2 & \forall x \in \Omega
\end{cases}$$
(34)

Où  $\Omega$  est un intervalle définit par la relation :

$$x \in \Omega \Leftrightarrow \left| \beta \left( A\phi(t, x) - kh^2(x) + \mu_0 \right) \right| \ge 2 \quad (35)$$

Cette condition a été choisie afin que l'intégrale de la fonction source approchée soit la même que celle de la « vraie » fonction source. Cela nous permet également d'avoir une racine  $\tilde{\phi}_3$  (troisième racine de  $\tilde{f}_h$ ) très proche de la véritable  $\phi_3$ . Pour une valeur donnée de x on obtient alors le graphe visible sur la figure (**Fig.21**).

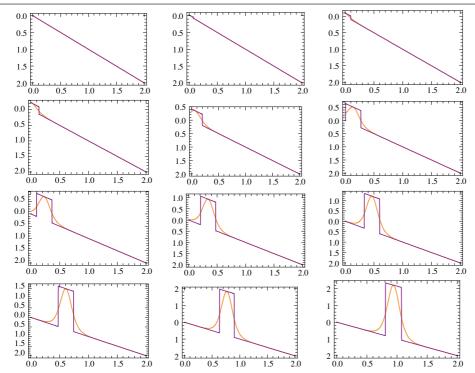


Fig.21 I Comparaison entre la fonction  $f_h(\phi)$  et son approximation « en créneau »  $\tilde{f}_h(\phi)$  pour différentes valeurs de h.

Grâce à cette fonction source approchée on transforme l'équation (**Eq.33**) de la manière suivante :

$$\begin{cases}
\phi'' + \kappa \cdot \phi' - \phi = 0 & \forall x \in \overline{\Omega} \\
\phi'' + \kappa \cdot \phi' - \phi + \frac{\Gamma}{4}h^2 = 0 & \forall x \in \Omega
\end{cases}$$
(36)

Où le prime dénote la dérivée par rapport à la variable a dimensionnée  $\boldsymbol{x}$ .

### 4.2. Définition de l'intervalle $\Omega$

Avant de résoudre les deux équations proposées en (**Eq.36**), intéressons-nous à la condition (**Eq.35**) afin de savoir quel genre d'intervalle  $\Omega$  elle définit. Pour ce faire, nous allons tracer la fonction  $E(x) \equiv \beta \Big( A \phi^\infty(x) - k h^2(x) + \mu_0 \Big) \ \ \text{avec} \ \phi^\infty(x) \ \ \text{la solution sta-}$ 

tionnaire de (**Eq.26**) — prise pour une courbure nulle — obtenue numériquement, le résultat est présenté au travers des figures (**Fig.22**).

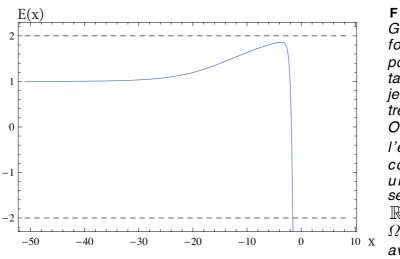
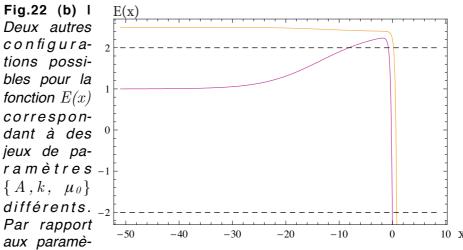


Fig.22 (a) I Graphe de la fonction E(x) pour une certaine valeur du jeu de paramètres  $\{A,k,\ \mu_{\theta}\}$ . On voit que l'ensemble  $\Omega$  correspond à un intervalle semi-ouvert sur  $\mathbb{R}$  de type  $\Omega=]-\infty,x$   $\Omega$ ] avec  $x_{\Omega}$  l'ab-

scisse du point d'intersection entre la courbe bleue et la ligne d'ordonnée -2.



tres utilisés pour la sous-figure a, la courbe orange correspond à un  $\mu_{\theta}$  plus grand et la courbe violette à un A plus grand.

En fonction de la valeur des paramètres utilisés  $\{A,k, \mu_{\theta}\}$  on constate que différents cas de figure se présentent. Pour des raisons de simplification, nous n'aborderons ici que le cas le plus simple, décrit par la figure (**Fig.20(a)**), celui où  $\Omega$  ne correspond qu'à un intervalle unique.

### 4.3. Résolution du système (Eq.36)

### 4.3.1. Sur l'intervalle $\bar{\Omega}$

La première ligne du système (**Eq.37**) décrit le « pied diffusif » de la distribution stationnaire. Il vient alors sur  $\bar{\Omega}$ :

$$\forall x \in \bar{\Omega} \quad \tilde{\phi}_{\bar{\Omega}}(x) = \phi_{\bar{\Omega}_1} \cdot \exp[\alpha_1 x] + \phi_{\bar{\Omega}_2} \cdot \exp[\alpha_2 x] \tag{37}$$

Avec:

$$\begin{cases} \alpha_1 = -\frac{\kappa}{2} \left( 1 - \sqrt{1 + \left( \frac{2}{\kappa} \right)^2} \right) \\ \alpha_2 = -\frac{\kappa}{2} \left( 1 + \sqrt{1 + \left( \frac{2}{\kappa} \right)^2} \right) \end{cases}$$
(38)

Et  $\left\{\phi_{\overline{\Omega}1},\phi_{\overline{\Omega}2}\right\}$  deux constantes d'intégration réelles. Or  $\widetilde{\phi}_{\Omega}$  doit être bornée sur  $\overline{\Omega}=\left[x_{\Omega},+\infty\right[$  ce qui implique  $\phi_{\overline{\Omega}1}=0$  et donc :

$$\forall x \in \bar{\Omega} \quad \tilde{\phi}_{\bar{\Omega}}(x) = \phi_{\bar{\Omega}2} \cdot \exp[\alpha_2 x] \tag{39}$$

### 4.3.2. Sur l'intervalle $\Omega$

Sur  $\Omega$ , les solutions peuvent s'écrire de la manière suivante :

$$\tilde{\phi}_{\Omega} = \phi_{\Omega 1} \cdot \exp[\alpha_1 x] + \varphi(x) \tag{40}$$

Le premier terme du membre de droite correspond à la solution de l'équation homogène bornée sur  $\Omega$ ; le deuxième, à une solution particulière. Cette dernière est supposée de la forme suivante :

$$\varphi(x) = \varphi_0 \cdot \frac{h^2(x)}{h_{00}^2} = \varphi_0 \cdot \exp[\alpha x] \tag{41}$$

Avec  $\alpha=2\lambda_{\phi}/\lambda_{1}$  et  $h_{00}=h_{0}e^{-\alpha x_{0}}$  (cf. Formule du profil h(x) (**Eq.14**)). Le coefficient  $\varphi_{\theta}$  se calcule en injectant (**Eq.40**) dans la deuxième ligne de l'équation (**Eq.37**); il vient alors :

$$\varphi_0 \left( 4\alpha^2 + 2\alpha\kappa - 1 \right) = -\frac{\Gamma h_{00}^2}{4} \tag{42}$$

$$\Leftrightarrow \quad \varphi_0 = \frac{\varphi_{00}}{\kappa_0 - \kappa} \tag{43}$$

Avec 
$$\varphi_{00}=\left(\Gamma h_{00}^2\right)\!\!/\!\!\left(8\alpha\right)$$
 et  $\kappa_0=\left(1-4\alpha^2\right)\!\!/\!\!2\alpha$  .

Le calcul des constantes d'intégration  $\phi_{\overline{\Omega}2}$  et  $\phi_{\Omega1}$  se déduit des conditions de raccordement des deux fonctions  $\tilde{\phi}_{\overline{\Omega}}$  et  $\tilde{\phi}_{\Omega}$  et de leur dérivées en  $x_{\Omega}$ , borne commune aux deux intervalles  $\Omega$  et  $\overline{\Omega}$ :

$$\begin{cases} \phi_{\Omega 1} \cdot \exp[\alpha_1 x_{\Omega}] + \varphi_0 \cdot \exp[\alpha x_{\Omega}] = \phi_{\overline{\Omega} 2} \cdot \exp[\alpha_2 x_{\Omega}] \\ \alpha_1 \phi_{\Omega 1} \cdot \exp[\alpha_1 x_{\Omega}] + \alpha \varphi_0 \cdot \exp[\alpha x_{\Omega}] = \alpha_2 \phi_{\overline{\Omega} 2} \cdot \exp[\alpha_2 x_{\Omega}] \end{cases}$$
(44)

D'où:

$$\begin{cases} \phi_{\Omega 1} = \frac{\alpha_2 - \alpha}{\alpha_1 - \alpha_2} \cdot \varphi_0 \exp[(\alpha - \alpha_1) x_{\Omega}] \\ \phi_{\overline{\Omega} 2} = \frac{\alpha_1 - \alpha}{\alpha_1 - \alpha_2} \cdot \varphi_0 \exp[(\alpha - \alpha_2) x_{\Omega}] \end{cases}$$
(45)

Reste maintenant le calcul de la borne commune  $x_{\Omega}$  que l'on obtient grâce à la condition de raccordement (**Eq.35**) qui définit les deux intervalles :

$$\beta \left( A\phi(x_{\Omega}) - kh^2(x_{\Omega}) + \mu_0 \right) = -2 \tag{46}$$

$$\Leftrightarrow \left(A\varphi_0 \frac{\alpha_1 - \alpha}{\alpha_1 - \alpha_2} - kh_{00}^2\right) \exp[\alpha x_{\Omega}] = -\left(2/\beta + \mu_0\right) \quad (47)$$

$$\Leftrightarrow x_{\Omega} = \frac{1}{\alpha} \ln \left[ \frac{\left(2/\beta + \mu_{0}\right)}{\left(A\varphi_{0}\frac{\alpha - \alpha_{1}}{\alpha_{1} - \alpha_{2}} + kh_{00}^{2}\right)} \right]$$
(48)

Au final, la solution analytique de l'équation approchée s'écrit :

$$\phi^{\infty}(x) = \varphi_0 \cdot \begin{cases} \frac{\alpha_2 - \alpha}{\alpha_1 - \alpha_2} \cdot e^{\alpha x_{\Omega}} \exp[\alpha_1 (x - x_{\Omega})] + \exp[\alpha \cdot x] & x \leq x_{\Omega} \\ \frac{\alpha_1 - \alpha}{\alpha_1 - \alpha_2} \cdot e^{\alpha x_{\Omega}} \exp[\alpha_2 (x - x_{\Omega})] & x \geq x_{\Omega} \end{cases}$$
(49)

Une comparaison entre les solutions analytiques de l'équation approchée (**Eq.36**) et les solutions numériques de l'équation (**Eq.26**) non-approchée est maintenant possible.

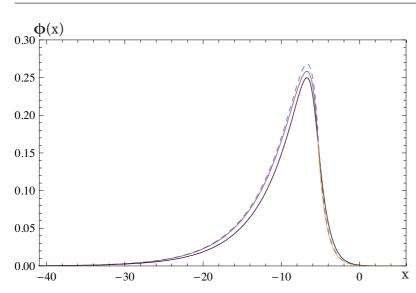


Fig. 21 Comparaison entre les solutions analytiques de l'équation approchée (Eq.37)(courbes violette/orange) et les solutions numériques de l'équation non-approchée (Eq.34)

(en noir) et approchée (tirets). La partie orange représente la solution sur  $\bar{\Omega}$ , la partie violette, la solution sur  $\Omega$ .

La figure (**Fig.21**) montre que l'approximation fonctionne bien. Un point important est mis en lumière : le comportement du système est principalement conditionné par la troisième racine et l'air sous la courbe de la fonction source ; la forme précise de cette dernière importe peu.

### 4.4. Remarques sur le calcul analytique

La formule (**Eq.49**) montre que la réponse stationnaire de l'activateur  $\phi^{\infty}(x)$  est proportionnelle à un facteur —  $\varphi_{\theta}$  — dépendant de la courbure au point considéré, des paramètres biochimiques du système et des caractéristique de la contrainte appliquée. Pour expliciter cette dépendance on peut ré-écrire  $\varphi_{\theta}$  de la sorte :

$$\varphi_0 = \frac{1}{4} \beta \frac{kh_0^2}{2} n_0 \cdot \frac{A}{b} \cdot \frac{1 - 4\alpha^2}{4\alpha^2} \cdot \frac{1}{1 - \kappa/\kappa_0}$$
 (50)

La première remarque à faire concerne  $\kappa_{\theta}$ , racine du dénominateur de l'expression (**Eq.50**). Comme explicité un peu plus haut,  $\kappa_{\theta}$  est fonction du rapport  $\alpha = \lambda_{\phi}/\lambda_{1} \ll 1$ .  $\kappa_{\theta}$  vérifie donc l'inégalité  $\kappa_{\theta}$  » 1 ce qui assure que l'expression (**Eq.50**) ne diverge pas et reste positive puisque, par hypothèse, la courbure adimensionnée  $\kappa$  est bornée entre -1 et 1. Si maintenant, par simplicité on suppose  $\kappa = 0$ , de la relation (**Eq.50**), il ne reste que le préfacteur du membre de droite :

$$\varphi_0 = \frac{1}{4} \beta \frac{kh_0^2}{2} n_0 \cdot \frac{A}{b} \cdot \left( \frac{\lambda_1^2}{4\lambda_\phi^2} - 1 \right) \tag{51}$$

La forme de ce préfacteur est instructive : Le premier terme du membre de droite de (**Eq.51**) assure que le signal de mécano-transduction — en d'autres terme l'amplitude de la densité d'activateur — est directement proportionnelle au rapport entre l'énergie d'étirement des intégrines au niveau du bord de la ceinture adhésive et

l'énergie thermique  $k_BT$ . Ce terme résume les caractéristiques mécaniques du mécanisme de transduction.

Le deuxième terme du membre de droite -A/b — fait également référence à l'allostéricité :  $A\phi$  représente l'énergie d'interaction entre une intégrine et le champ activateur  $\phi$ . Le terme  $b\phi^2$  correspond au terme désexcitation de l'état  $\phi$  (cf. Premier chapitre). Le rapport A/b correspond donc à la densité d'activateur égalisant ces deux contributions. Plus le couplage entre intégrine et champ activateur sera fort (ie. A grand), plus le signal sera puissant. À l'inverse plus la désexcitation de  $\phi$  sera rapide (ie. b grand), moins le signal sera efficace. Ce terme correspond donc aux caractéristiques biochimique du mécanisme de transduction.

Finalement le troisième terme du membre de droite de (**Eq.51**) fait intervenir les caractéristiques du profil d'étirement utilisé. C'est une sorte de facteur géométrique.

Ce deuxième chapitre a permis d'étudier le comportement numérique des solutions de l'équation de réaction-diffusion mise en place précédemment. Nous avons vu que pour un étirement homogène compris dans une certaine gamme, ces solutions se comportent comme des fronts d'onde propagatifs dont la vitesse est modulée par cet étirement. Dans le cas d'un étirement inhomogène, à l'instar de ce qui se passe au bord de la zone adhésive, nous avons montré qu'un parallèle peut être localement effectué avec le cas homogène. Il permet d'expliquer les profils stationnaires obtenus. L'ajout d'une deuxième dimension d'espace a montré que ces profils stationnaires étaient dépendant de la courbure de la ligne de contact et éventuellement de la vitesse d'avancée de la membrane, permettant de moduler la réponse à l'étirement des intégrines en fonction de ces facteurs. Finalement, une approximation de la fonction source, nous a permis d'approcher les profils calculés numériquement par des fonctions analytiques permettant de visualiser l'action de chaque variable biochimique sur la distribution stationnaire d'activateur au niveau de la zone adhésive.

Une des hypothèses de base sur lesquelles se base les résultats de ce chapitre est l'homogénéité et la stationnarité de la distribution des intégrines. Cependant, lorsque détachées du substrat, ces dernières sont à même de diffuser dans la membrane plasmique. Le chapitre suivant montera comment cette capacité enrichit le comportement du système.

# CHAPITRE 3: PRISE EN COMPTE DE LA DIFFUSION DES INTÉGRINES DANS LA MEMBRANE PLASMIQUE

I.I. I.2.	Nouveau comportement adhésif des intégrines114
I.2.	
	Hiérarchisation temporelle des différents mécanismes115
I.2.I.	Équations aux temps courts117
I.2.2.	Équation aux temps intermédiaires118
1.2.3.	Équations aux temps longs120
Compo	ortement numérique du système122
2.I.	Étude du système (Eq.20) dans le cas d'une contrainte homogène
2.1.1.	Cas d'une contrainte faible124
2.1.2.	Cas d'une contrainte intermédiaire125
2.1.3.	Cas d'une contrainte forte126
2.2.	Au niveau du bord cellulaire128
2.3.	Définition d'un nouveau profil d'étirement130
2.3.1.	Pertinence de ce nouveau profil130
2.3.2.	Réponse du système à l'étirement gaussien131
2.3.3.	Transition entre les deux types de solutions133
2.3.4.	Étude de la réponse en coordonnées polaires138
Calcul	analytique des solutions stationnaires140
3.1.	Nouvelle équation d'évolution de l'activateur141
3.2.	Validation de l'équation (Eq.27)142
3.3.	Calcul analytique des solutions stationnaires de (Eq.27)143
3.3.1.	Définition de l'intervalle $\Omega$
3.3.2.	Solutions générales de (Eq.31)146
3.3.3.	Solution particulière de (Eq.31) sur $\Omega$ 146
3.3.4.	Cas d'une forte contrainte
3.4.	Remarques sur le calcul analytique152
	1.2.2. 1.2.3. Compo 2.I.  2.I.I. 2.I.2. 2.1.3. 2.2. 2.3. 2.3.1. 2.3.2. 2.3.4. Calcul 3.I. 3.2. 3.3. 3.3.1. 3.3.2. 3.3.3. 3.3.4.

Le comportement de l'activateur présenté au chapitre précédent dépend principalement des caractéristiques de la fonction source utilisée. Comme exposé au chapitre 1, cette fonction source repose sur un jeu d'hypothèses et d'approximations. Notamment l'homogénéité de la densité totale d'intégrines et l'instantanéité de leur interactions avec le substrat (cf. Paragraphe 2.2.1 du chapitre 1). Nous allons ici remettre en question ces deux approximations et voir comment cela conduit à deux résultats principaux : la formation spontanée de regroupements ponctuels d'intégrines adhérentes sous contrainte homogène et la formation d'anneaux adhésifs autour d'une contrainte localisée.

# 1. Mise en place d'un nouveau jeu d'équations

Le but de cette première section est de mettre en place le système d'équations que nous étudierons par la suite. L'accent est mis sur les différentes échelles de temps caractéristiques propres à chaque phénomène biochimique considéré.

# 1.1. Nouveau comportement adhésif des intégrines

Nous allons reprendre les notations exposées au paragraphe 2.2 du premier chapitre et considérer la réaction d'adhésion des intégrines :

$$n_u \xleftarrow{k_{on}} n_b \tag{1}$$

 $\boldsymbol{n_u}$  et  $\boldsymbol{n_b}$  représentent toujours respectivement les densités d'in-

tégrines libres et liées au substrat et l'on pose  $n_{tot}(x) = n_u(x) + n_b(x)$  ,

la densité totale d'intégrines dans la membrane au point considéré. Les intégrines étant libres de diffuser le long de la membrane, de se lier et/ou de se détacher du substrat, nous pouvons écrire les équations d'évolutions suivantes :

$$\begin{cases} \frac{\partial n_u}{\partial t} = D_u \Delta n_u - k_{on} n_u + k_{off} n_b \\ \frac{\partial n_b}{\partial t} = D_b \Delta n_b - k_{off} n_b + k_{on} n_u \end{cases}$$
 (2)

Une fois liées au substrat, les intégrines sont évidemment très peu mobiles, nous allons donc négliger le terme diffusif dans l'équation de la deuxième ligne du système (**Eq.2**). Par ailleurs, aucune approximation concernant la dynamique de l'activateur  $\phi$  n'ayant été remise en question, son équation d'évolution (**Eq.39**) du chapitre 1

reste valide. Le système {intégrines+ activateur} est maintenant décrit par le jeu d'équations suivant :

$$\begin{cases} \partial_t \phi = D_\phi \Delta \phi - b\phi + \frac{1}{2}kh^2 \frac{\partial n_b}{\partial \phi} \\ \partial_t n_b = -k_{off} n_b + k_{on} n_u \\ \partial_t n_u = D_u \Delta n_u - k_{on} n_u + k_{off} n_b \end{cases}$$
 (3)

La mise en évidence de temps et de longueurs caractéristiques propres à chaque espèce et mécanisme va nous permettre de simplifier ce système.

## 1.2. Hiérarchisation temporelle des différents mécanismes

Deux constantes caractéristiques de la dynamique de l'activateur on déjà été proposées et vont nous être utile ici :  $\tau_{\phi}=1/b$  et  $\lambda_{\phi}=\sqrt{D_{\phi}/b}$  respectivement le temps caractéristique de désexcitation de l'état  $\phi$  et la taille caractéristique du « pied diffusif » de  $\phi$  . La dynamique d'adhésion n'étant plus supposée instantanée, la prise en compte d'un temps caractéristique la décrivant semble logique. Ainsi, on définit  $\tau_{b}=1/k_{off}$  , temps caractéristique pendant lequel les intégrines restent liées au substrat. Définissant un temps caractéristique pour les intégrines, on en déduit immédiatement une distance caractéristique sur laquelle ces dernières vont pouvoir diffuser pendant ce temps  $\tau_{b}:\lambda_{n}=\sqrt{D_{u}/k_{off}}$  (cf. tableau des valeurs caractéristiques en annexe). Injectant ces quatre grandeurs dans le système (Eq.3), il vient :

$$\begin{cases} \tau_{\phi} \partial_{t} \phi = \lambda_{\phi}^{2} \Delta \phi - \phi + \frac{1}{2} \frac{k}{b} h^{2} \frac{\partial n_{b}}{\partial \phi} \\ \tau_{b} \partial_{t} n_{b} = -n_{b} + K_{e} n_{u} \\ \tau_{b} \partial_{t} n_{u} = \lambda_{b}^{2} \Delta n_{u} - K_{e} n_{u} + n_{b} \end{cases}$$

$$(4)$$

Où 
$$K_e = k_{on}/k_{off}$$
.

La mise en évidence de constantes temporelles et spatiales caractéristiques permet « d'adimensionner » les équations ; avec plusieurs jeux de constantes, on voit apparaître plusieurs échelles caractéristiques qu'il convient de hiérarchiser. Pour ce faire, nous allons faire les deux hypothèses suivantes :

- $\blacksquare$  Bien que prise en compte désormais, la dynamique d'adhésion des intégrines reste plus rapide que la dynamique de l'activateur ; à ce titre, on supposera  $\tau_b \sim \varepsilon \tau_\phi$  avec  $\varepsilon \ll 1$  .
- De même, de par leur taille et leur géométrie, il semble logique de supposer la diffusion des intégrines moins rapide que celle de l'activateur ; on écrira donc :  $D_u \sim \varepsilon D_\phi$ .

Le parti pris que nous nous fixons pour la suite est de considérer une unique échelle spatiale et d'y distinguer les différents phénomènes grâce à leurs échelles de temps différentes. À ce titre nous définirons donc la variable spatiale adimensionnée, de la même manière qu'au chapitre précédent, c'est-à-dire :  $x \sim x/\lambda_\phi$  . Concernant la variable temporelle, nous distinguerons trois cas :

- les temps courts, c'est-à-dire de l'ordre de  $\tau_b$  , à cette échelle on s'attend à ce que le phénomène principal soit l'adhésion des intégrines.
- Les temps intermédiaires, de l'ordre de  $\tau_\phi$  , autour desquels le phénomènes principale sera la dynamique de l'activateur  $\phi$  .

Et finalement les temps longs de l'ordre de grandeur de  $\tau_n=\lambda_\phi^2\Big/D_u\,,\, \text{c'est à dire le temps nécessaire aux intégrines}$ 

pour diffuser sur des distance comparables à la taille caractéristique de la distribution en activateur.

On pose les trois variables temporelles réduites suivantes :  $\overline{t}=t/\tau_b$ ,  $\tilde{t}=t/\tau_\phi$  et  $\dot{t}=t/\tau_n$ . Grâce à ces trois variables adi-

mensionnées, on va alors définir trois formes différentes du système (**Eq.4**) décrivant trois étapes différentes du mécanisme.

### 1.2.1. Équations aux temps courts

Les temps courts correspondent aux temps de l'ordre  $\tau_b$  . Quand on renormalise la variable temporel par ce temps caractéristique de l'adhésion, le système (**Eq.4**) devient :

$$\begin{cases} \frac{\tau_{\phi}}{\tau_{b}} \partial_{\bar{t}} \phi = \tilde{\Delta} \phi - \phi + \frac{1}{2} \frac{k}{b} h^{2} \frac{\partial n_{b}}{\partial \phi} \\ \partial_{\bar{t}} n_{b} = -n_{b} + K_{e} n_{u} \end{cases}$$

$$(5)$$

$$\partial_{\bar{t}} n_{u} = \left(\frac{\lambda_{n}}{\lambda_{\phi}}\right)^{2} \tilde{\Delta} n_{u} - K_{e} n_{u} + n_{b}$$

Or,  $\tau_b^{}\sim\varepsilon\tau_\phi^{}$  et  $\lambda_n^{}\sim\varepsilon\lambda_\phi^{}$  d'où :

$$\begin{cases} \partial_{\overline{t}}\phi = \varepsilon \left( \tilde{\Delta}\phi - \phi + \frac{1}{2} \frac{k}{b} h^2 \frac{\partial n_b}{\partial \phi} \right) \\ \partial_{\overline{t}} n_b = -n_b + K_e n_u \\ \partial_{\overline{t}} n_u = \varepsilon^2 \tilde{\Delta} n_u - K_e n_u + n_b \end{cases}$$

$$(6)$$

D'où, en négligeant les termes en  $\varepsilon$ :

$$\begin{cases} \partial_{\overline{t}}\phi \simeq 0 \\ \partial_{\overline{t}}n_b = -n_b + K_e n_u \\ \partial_{\overline{t}}n_u \simeq -K_e n_u + n_b \end{cases}$$
 (7)

On constate donc que pour les temps courts, à l'échelle de l'adhésion des intégrines sur leur substrat, la densité d'activateur peut être supposée constante et la diffusion des intégrines non-liées négligeable. De plus, la somme des deux dernières lignes de (Eq.7) assure qu'à cette échelle de temps, la densité totale d'intégrines est constante :

$$\partial_{\overline{t}} n_{tot} \simeq \partial_{\overline{t}} n_b + \partial_{\overline{t}} n_u \simeq 0 \tag{8}$$

On en déduit donc rapidement l'évolution temporelle aux temps courts des différentes densités d'intégrines :

$$\begin{cases}
 n_b\left(\overline{t},x\right) = \frac{n_{tot}(x)}{1+K_e} \left(1 + \frac{\left(1 - K_e\right)}{2} \cdot e^{-\left(1 + K_e\right) \cdot \overline{t}}\right) \\
 n_u\left(\overline{t},x\right) = \frac{n_{tot}(x)}{1+K_e} \left(1 - \frac{\left(1 - K_e\right)}{2} \cdot e^{-\left(1 + K_e\right) \cdot \overline{t}}\right)
\end{cases} \tag{9}$$

Il est à noter que dans l'expression (**Eq.9**)  $K_e$  est supposée constant car, ne dépendant que de  $\phi$  et de h, ne varie pas sur l'échelle de temps définie par  $\tau_b$  en première approximation.

### 1.2.2. Équation aux temps intermédiaires

Si maintenant on se place à des valeurs de t de l'ordre de  $\tau_{\phi}$  , le système (Eq.4) devient :

$$\begin{cases} \partial_{\tilde{t}}\phi = \tilde{\Delta}\phi - \phi + \frac{k}{2b}h^2\frac{\partial n_b}{\partial\phi} \\ \frac{\tau_b}{\tau_\phi}\partial_{\tilde{t}}n_b = -n_b + K_e n_u \end{cases} \tag{10}$$
 
$$\begin{cases} \frac{\tau_b}{\tau_\phi}\partial_{\tilde{t}}n_u = \left(\frac{\lambda_b}{\lambda_\phi}\right)^2 \tilde{\Delta}n_u - K_e n_u + n_b \end{cases}$$

Soit encore:

$$\begin{cases} \partial_{\tilde{t}}\phi = \tilde{\Delta}\phi - \phi + \frac{k}{2b}h^2\frac{\partial n_b}{\partial\phi} \\ \varepsilon\partial_{\tilde{t}}n_b = -n_b + K_e n_u \\ \varepsilon\partial_{\tilde{t}}n_u = \varepsilon^2\tilde{\Delta}n_u - K_e n_u + n_b \end{cases}$$

$$(11)$$

Qui devient, en négligeant les termes en  $\varepsilon$ :

$$\begin{cases} \partial_{\tilde{t}}\phi = \tilde{\Delta}\phi - \phi + \frac{k}{2b}h^2\frac{\partial n_b}{\partial\phi} \\ n_b \simeq K_e n_u \end{cases} \tag{12}$$

Ajoutons la loi de conservation locale des intégrines, encore valable puisque la diffusion est toujours négligée à ce niveau, et on obtient :

$$\begin{cases} \partial_{\tilde{t}}\phi = \tilde{\Delta}\phi - \phi + \frac{k}{2b}h^2\frac{\partial n_b}{\partial\phi} \\ n_b = \frac{K_e}{1 + K_e}n_{tot} \\ \partial_{\tilde{t}}n_{tot} = 0 \end{cases} \tag{13}$$

Notons que la dernière ligne s'obtient en sommant les deuxièmes et troisièmes lignes de du système (**Eq.11**). La formule de la constante d'équilibre (**Eq.58**), établie au premier chapitre étant tou-

jours valable, cela nous ramène au système étudié au chapitre précédent :

$$\partial_{\tilde{t}}\phi = \tilde{\Delta}\phi - \phi + \beta \frac{kAn_{tot}}{2b}h^2 \frac{K_e^{-1}}{\left(1 + K_e^{-1}\right)^2}$$
 (14)

### 1.2.3. Équations aux temps longs

La relation  $\tau_n = \lambda_\phi^2 / D_u = (D_\phi / D_u) \cdot \tau_\phi = \tau_\phi / \varepsilon = \tau_b / \varepsilon^2$ 

$$\begin{cases} \varepsilon \partial_{i} \phi = \tilde{\Delta} \phi - \phi + \frac{1}{2} \frac{k}{b} h^{2} \frac{\partial n_{b}}{\partial \phi} \\ \varepsilon^{2} \partial_{i} n_{b} = -n_{b} + K_{e} n_{u} \\ \varepsilon^{2} \partial_{i} n_{u} = \varepsilon^{2} \tilde{\Delta} n_{u} - K_{e} n_{u} + n_{b} \end{cases}$$

$$(15)$$

Soit:

assure aux temps longs:

$$\begin{cases} \tilde{\Delta}\phi - \phi + \frac{kh^2}{2b} \frac{\partial n_b}{\partial \phi} \simeq 0 \\ n_b \simeq K_e n_u \\ \partial_i n_{tot} \simeq \tilde{\Delta} n_u \end{cases}$$
 (16)

La troisième ligne étant obtenue par sommation des deux dernières du système (**Eq.15**). À cette échelle temporelle, on se retrouve avec un activateur s'adaptant automatiquement aux variations de  $n_b$ , un phénomène d'adhésion à l'équilibre et une équation d'évolution pour la densité totale d'intégrines que l'on peut ré-écrire sous la forme :

$$\partial_i n_{tot} = \tilde{\Delta} \left[ \frac{n_{tot}}{1 + K_e} \right] \tag{17}$$

Pour résumer : les temps courts sont gouvernés par l'adhésion des intégrines, somme toute classique ; les temps intermédiaires correspondent au cadre de l'étude du chapitre précédent et finalement les temps longs voient la densité totale d'intégrines évoluer via l'équation (**Eq.17**), nouvelle équation d'intérêt. Une écriture équivalente à celle proposée en (**Eq.16**) mais peut être plus parlante est la suivante :

$$\partial_i n_{tot} = \frac{1}{1 + K_e} \tilde{\Delta} \left[ n_{tot} \right] - 2 \frac{\tilde{\nabla} K_e}{\left( 1 + K_e \right)^2} \tilde{\nabla} n_{tot} + \frac{2 \left( \tilde{\nabla} K_e \right)^2 - \left( 1 + K_e \right) \tilde{\Delta} K_e}{\left( 1 + K_e \right)^3} n_{tot} \quad (18)$$

Cette façon de l'écrire est peu commode mais elle a le mérite de faire apparaître des termes facilement interprétables :

- le premier terme du membre de droite correspond à un terme diffusif classique ; à ceci près que,  $K_e$  dépendant à priori de la position, le coefficient de diffusion est inhomogène. Il reste positif mais, variant d'une zone à l'autre, on en déduit que certaines zones verront les intégrines diffuser rapidement là où  $K_e$  sera petit et d'autre agiront comme « des pièges à intégrines », ralentissant leur diffusion la où  $K_e$  sera grand .
- Le deuxième terme est un terme convectif. Qui rappelle les termes liés à la courbure et à la vitesse d'avancée de la membrane étudiés au chapitre précédent. On voit que ce terme sera positif si est seulement si les deux gradients sont de signes opposés, un raisonnement rapide nous incite à penser que ce genre de mécanisme va conduire les intégrines a se déplacer vers les régions au  $K_{\rho}$  élevé.
- Finalement, le troisième terme est un terme de croissance peu explicite à ce stade.

On voit apparaître un comportement non trivial pour la densité d'intégrines  $n_{tot}$ . La prise en compte de la diffusion des intégrines, conduit à considérer le système suivant, couplant la dynamique de l'activateur à celle des intégrines :

$$\begin{cases} \partial_{\tilde{t}}\phi = \tilde{\Delta}\phi - \phi + \beta \frac{kAn_{tot}}{2b}h^2 \frac{K_e^{-1}}{\left(1 + K_e^{-1}\right)^2} \\ \partial_{\tilde{t}}n_{tot} = \tilde{\Delta} \left[\frac{n_{tot}}{1 + K_e}\right] \end{cases}$$

$$(19)$$

Dans la prochaine section, nous allons étudier le comportement numérique des solutions de ce système puis, grâce à la séparation des échelles de temps caractéristiques nous en chercherons des solutions analytiques.

### 2. Comportement numérique du système

Le système, sous sa forme (**Eq.19**), fait intervenir deux variables temporelles adimensionnées, ce qui n'est pas pratique pour une résolution numérique. Nous allons donc ré-écrire la deuxième ligne de (**Eq.19**) avec comme variable temporelle adimensionnée  $\tilde{t}=t/\tau_{\phi}$  soit  $\tilde{t}=t/\tau_{\phi}/\tau_{\phi}=t/\varepsilon$ . Il vient alors :

$$\begin{cases} \partial_{\tilde{t}}\phi = \tilde{\Delta}\phi - \phi + \beta \frac{kAn_{tot}}{2b}h^2 \frac{K_e^{-1}}{\left(1 + K_e^{-1}\right)^2} \\ \partial_{\tilde{t}}n_{tot} = \varepsilon \tilde{\Delta} \left[\frac{n_{tot}}{1 + K_e}\right] \end{cases}$$
(20)

Nous nous retrouvons avec la même équation de réaction diffusion que précédemment mais avec une fonction source, qui cette fois admet deux variables : la densité d'activateur  $\phi(t,x)$  mais également la densité d'intégrines  $n_{tot}(t,x)$ :

$$f_h\left(\phi, n_{tot}\right) = -\phi + n_{tot} \cdot \beta \frac{kA}{2b} h^2 \frac{e^{-\beta\left(A\phi - kh^2 + \mu_0\right)}}{\left(1 + e^{-\beta\left(A\phi - kh^2 + \mu_0\right)}\right)^2} \tag{21}$$

Le comportement de ce système dépend du profil d'étirement h(x), plusieurs cas sont alors possibles.

# 2.1. Étude du système (Eq.20) dans le cas d'une contrainte homogène

La première étude numérique consiste à considérer une distribution initiale homogène d'intégrines ( $n_{tot}(t=0,x)=n_{tot}^0$ ), de se donner une perturbation initiale de la densité d'activateur et de voir comment réagit le système pour différentes valeur de la contrainte h(x). Plusieurs comportements sont possibles en fonction de la valeur de cette contrainte.

Dans le cas d'un étirement homogène, l'équation (**Eq.18**) prend tout son intérêt puisque les variations spatiales de la constante d'équilibre  $K_e(\phi(t,x),h(x))$  s'avèrent proportionnelles à celles du champs  $\phi(t,x)$ . Le champs  $\phi(t,x)$  évoluant plus rapidement que  $n_{tot}(t,x)$ , s'il atteint une distribution d'équilibre, les variations spatiales de cette dernière permettront d'évaluer les différents termes de (**Eq.18**).

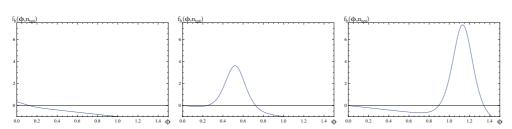


Fig.1 I Graphe de la fonction source  $f_h(\phi,n^0_{tot})$  pour trois différentes valeurs positives de la contrainte h(x); de gauche à droite : h(x)=0,2, h(x)=0,7 et h(x)=1 (valeurs relatives indicatives). On se place dans le cas d'une distribution initial d'intégrines homogène :  $n^0_{tot}=1$ .

### 2.1.1. Cas d'une contrainte faible

Puisque l'on part d'une distribution initiale homogène d'intégrines et que leur évolution temporelle est sensiblement plus lente que celle de l'activateur, il peut s'avérer utile de regarder la forme de la fonction source à l'instant t=0, c'est à dire pour une densité d'intégrine homogène  $n_{tot}^0$ . À ce titre, et comme le montre le graphe de gauche de la figure (Fig.1), pour des contraintes suffisamment faibles, la fonction source  $f_h(\phi, n_{tot}^0)$  ne possède qu'une seule racine  $\phi_1$ , strictement positive. Dans ce cas,  $\phi(t,x)$  évolue de façon spontanée vers la fonction constante  $\phi_{\lim 1}(x)=\phi_1$  . La dynamique de  $n_{tot}(t,x)\,$  se déduit de la distribution de l'activateur : la perturbation initiale en  $\phi(t,x)$  induit une perturbation initiale en  $n_{tot}(t,x)$ . Une fois la distribution limite homogène  $\phi_{\lim 1}(x) = \phi_1$  atteinte, la constante d'équilibre  $K_{e}(\phi_{\lim 1}(t,x),h)$  se retrouve également homogène, annulant les deuxième et troisième termes de l'équation (Eq.18).  $n_{tot}(t,x)$  n'est alors soumis qu'à un simple phénomène de diffusion et relaxe également vers un état stable homogène de la forme  $n_{tot}^{\lim 1} = \alpha (1 + K_e(\phi_1, h))$ , où  $\alpha$  représente une constante d'intégration déterminée par les conditions aux limites. Un chronographe de ces deux évolutions est présenté figure (Fig.2).

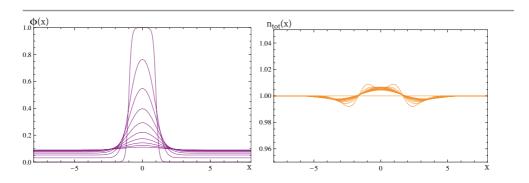


Fig.2 I Chronographes respectifs des fonctions  $\phi(t,x)$  et  $n^0_{tot}(t,x)$  dans le cas d'un étirement homogène et faible, c'est-à-dire correspondant à la fonction source du premier graphe de la figure (Fig.1). L'échelle de temps de la figure de gauche est dix fois plus petite que celle de la figure de droite. Dans les deux cas, l'évolution se fait vers la fonction homogène. La convergence de  $n^0_{tot}(t,x)$  vers 1 n'est pas parfaite à cause de perturbations instable engendrées par les conditions aux limites.

### 2.1.2. Cas d'une contrainte intermédiaire

Dans le cas d'une contrainte dite intermédiaire, la fonction source présente, aux premiers instants d'évolution du système, trois racines distinctes, comme le montre le deuxième graphe de la figure (Fig.1). La propagation d'un front d'onde est alors possible, cf. (Fig.3). On notera que la perturbation initiale de  $\phi(t,x)$  induit toujours des petites perturbations de  $n_{tot}(t,x)$ , Celles induites par le front de  $\phi(t,x)$  se propagent avec lui et celles induites au centre de la figure s'atténuent petit à petit. Une fois les bornes de l'intervalle de calcul atteintes, les fronts d'ondes se trouvent bloqués ce qui produit la divergence des perturbations de  $n_{tot}(t,x)$  correspondantes (non montré sur la figure (Fig.3)).

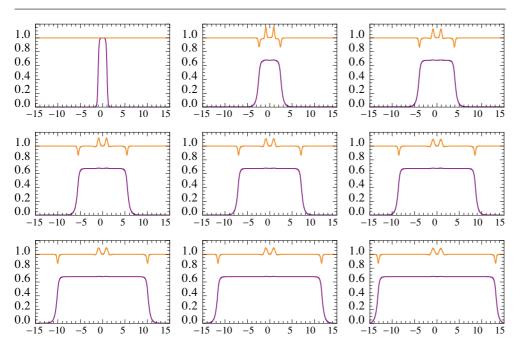


Fig.3 I Chronographes simultanés des fonctions  $\phi(t,x)$  et  $n^0_{tot}(t,x)$  dans le cas d'un étirement homogène intermédiaire, c'est-à-dire correspondant à la fonction source du deuxième graphe de la figure (Fig.1). On voit ici deux fronts d'onde d'activateur se propager à partir de la perturbation initiale. Le détail intéressant est la localisation de déplétions en intégrines colocalisées avec le front et se propageant à la même vitesse.

Étant donnée l'aire sous le graphe de la fonction source (graphe du milieu sur la figure (**Fig.1**)), la vitesse de propagation du front est très élevée. En augmentant la contrainte, on s'attend à la voir diminuer.

### 2.1.3. Cas d'une contrainte forte

Comme suggéré au paragraphe précédent, en augmentant la contrainte, la vitesse de propagation du front d'onde diminue. Lorsque celli-ci devient négative la perturbation initiale en  $\phi$  s'affaisse sur elle-même est le système retourne à l'état stable canonique  $\left\{\phi=0,n_{tot}=n_{tot}^0\right\}.$ 

Toute fois, un cas particulier mérite quelques explications : lorsque la vitesse de propagation du front tend vers zéro. Comme le montre la figure (**Fig.4 (a)**), le système adopte alors un comportement singulier que l'on divise en deux temps.

Dans un premier temps, la densité d'activateur va converger rapidement vers une distribution stationnaire inhomogène correspondant, en quelque sorte, à deux fronts d'onde opposés se propageant infiniment lentement. En parallèle on observe une croissance rapide de  $n_{tot}(t,x)$ , fortement localisée au niveau du maximum de  $\phi(t,x)$ . Ce comportement s'explique en considérant les différents termes de l'équations (**Eq.18**).

En effet, l'étirement h étant homogène, le gradient et le Laplacien de la constante d'équilibre  $K_e(\phi(t,x),h)$  sont proportionnels à ceux de  $\phi(t,x)$ . Le troisième terme du membre de droite va alors faire croître  $n_{tot}(t,x)$  là où le gradient de  $\phi(t,x)$  est élevé (en valeur absolue) et où son Laplacien est négatif, c'est-à-dire précisément au voisinage du maximum de  $\phi(t,x)$ . Cette augmentation locale de  $n_{tot}(t,x)$  est alors contre-balancée par la diffusion, initiée par le premier terme du membre de gauche de (**Eq.18**); ce faisant, les gradients des deux espèces  $\phi(t,x)$  et  $n_{tot}(t,x)$  se trouvent colocalisés,

induisant un terme puits puissant (deuxième terme du membre de droite de (**Eq.18**)). Ce dernier va donc empêcher  $n_{tot}(t,x)$  de diffuser loin du maximum de  $\phi(t,x)$ . On se retrouve alors dans une configuration où une zone présentant un terme source fort (au niveau du maximum de  $\phi(t,x)$ ) se retrouve entourée d'une zone présentant un terme puis fort (là où les gradients des deux espèces se recoupent) : on a donc une activation auto-entretenue confinée. Le « point » d'intégrines ainsi formé continue de croître, comme le suggère le faisceau de courbes oranges de la figure (**Fig.4**).

Dans un deuxième temps, cette croissance extrême de la densité d'intégrines va modifier la fonction source et permettre aux fronts d'onde initialement immobiles de se propager, s'en suit une phase d'expansion où  $\phi(t,x)$  se propage de part et d'autre du pic initial, suivit par une augmentation de la densité d'intégrines (**Fig.4 (b)**).

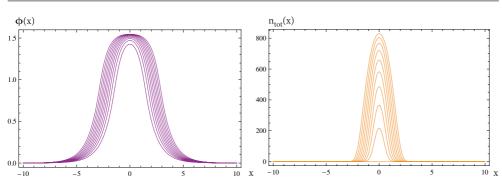
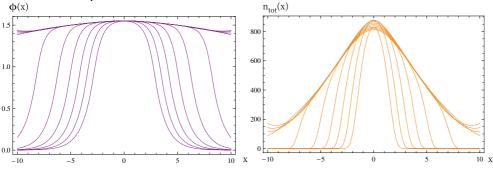


Fig.4 I Chronographes respectifs des fonctions  $\phi(t,x)$  (courbes violettes) et  $n_{tot}(t,x)$  (courbes oranges) dans le cas d'une contrainte annulant (quasimment) la vitesse de propagation du front d'onde. (a) Les deux graphes du haut correspondent à la première phase décrite dans le texte et (b) les deux du bas à la seconde phase au cours de laquelle la propagation des fronts d'onde peut avoir lieu.



Notons que la croissance extrême de la densité d'intégrines pourrait être simplement limitée par l'injonction d'un terme stabilisant (c'est-à-dire avec un coefficient négatif) d'ordre supérieur en  $n_{tot}(t,x)$  dans le Hamiltonien décrivant le système (cf. Chapitre 1). Un tel terme pourrait traduire alors la gène stérique entre intégrines. Dans ce cas, la deuxième phase ne serait pas atteinte et le système convergerait vers un état stationnaire formé de distributions en  $\phi(t,x)$  et en  $n_{tot}(t,x)$  fortement piquées.

### 2.2. Au niveau du bord cellulaire

Le fait de relâcher une contrainte dans le système, comme nous l'a montré le paragraphe précédent, permet d'obtenir des comportements complexes même avec une distribution homogène de l'étirement. Nous allons maintenant voir comment cela va permettre de renforcer l'adhésion au niveau du bord cellulaire.

Considérons à nouveau un profil d'étirement exponentiel de type :

$$h(x) = h_0 \exp\left[\left(x - x_0\right) / \lambda_1\right] \tag{22}$$

Utiliser ce profil dans le système (**Eq.20**), conduit, non seulement à une localisation de l'activateur au bord de la zone adhésive, mais également, comme le montre la figure (**Fig.5**), à une augmentation de la densité d'intégrines au niveau du bord cellulaire. La réduction de l'écartement entre courbes successives d'un même faisceau, sur la figure (**Fig.5**), suggère que chacune des densités correspondantes converge vers un profil limite stationnaire. Cette réduction n'étant pas aussi rapide pour le faisceau vert que pour le rouge, nous en déduisons que la dynamique des intégrines est plus lente que celle de l'activateur, ce qui est effectivement le cas d'après les hypothèses faites à la première section.

Au vu de la figure (**Fig.5**) et de la distribution totale d'intégrines  $n_{tot}(t,x)$  qu'elle présente, une question s'impose : les intégrines recrutées au bord de la zone adhésive adhèrent-elles ? La figure (**Fig.6**), présentant les profils stationnaires comparée des intégrines libres et adhérentes, permet d'y répondre par l'affirmative. En effet, la grande majorité des intégrines recrutées vos adhérer, la densité d'intégrines libres restant peu ou prou homogène et constante.

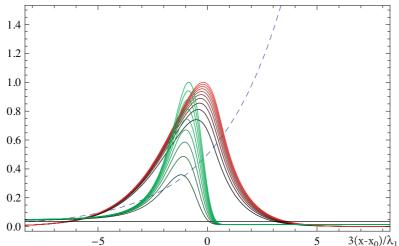
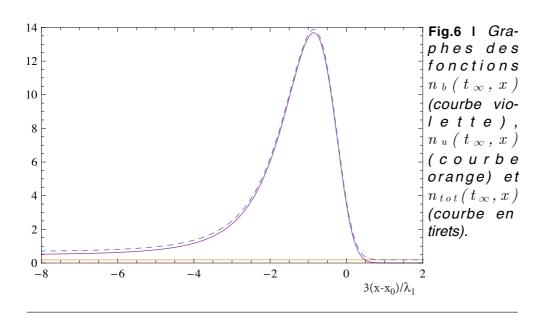


Fig.5 I Faisceaux de courbes représentant l'évolution temporelle des fonctions  $\phi(t,x)$  (en rouge) et  $n_{tot}(t,x)$  (en noir) . Chaque faisceau a été renormalisé par le maximum de sa courbe limite. La courbe en tirets représente le profil exponentiel utilisé.



De ce paragraphe, nous en déduisons que sous l'effet de contraintes mécaniques inhomogènes, les intégrines vont se concentrer là où l'étirement ressenti est maximal. Dans le prochain paragraphe, nous allons étudier la réponse du système à une autre distribution inhomogène des étirements particulière : la distribution gaussienne.

### 2.3. Définition d'un nouveau profil d'étirement

La distribution des contraintes d'étirement que nous allons maintenant considérer est la suivante<sup>1</sup>:

$$h(x) = h_0 \exp\left[-\left(\frac{x - x_0}{w_0}\right)^2\right] \tag{23}$$

### 2.3.1. Pertinence de ce nouveau profil

L'intérêt de ce profil est d'une part mathématique : son caractère symétrique par rapport à l'abscisse  $x_0$  simplifiera les calculs analytiques, et son caractère  $C^{\infty}$  facilitera les évaluations numériques. D'un point de vue biologique, la symétrie du profil exponentiel évoque une contrainte localisée appliquée sur une zone homogène. Typiquement cela évoque l'effet d'une rugosité du substrat (**Fig.7**) ou celle d'une structure actinique polymérisant dans la cellule et s'appuyant sur la membrane.

 $<sup>^{1}</sup>$  Notons que toutes les grandeurs dans l'exponentielles sont adimensionnées, exprimées en unités de  $\lambda_{\varPhi}$  .

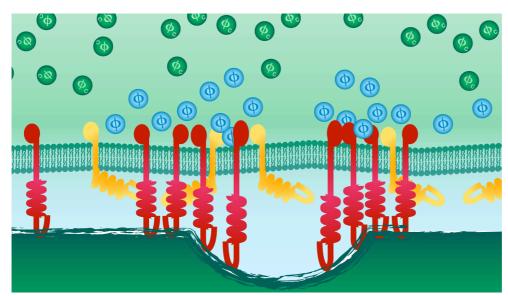


Fig.7 I Schéma de principe illustrant la contrainte de type gaussienne. Dans ce cas précis on pense à une rugosité du substrat.

### 2.3.2. Réponse du système à l'étirement gaussien

Avec une contrainte de type (**Eq.23**), le système converge vers un état stationnaire où l'activateur et la densité d'intégrines atteignent des distributions stables, respectivement  $\phi^{\infty}(x)$  et  $n_{tot}^{\infty}(x)$ . Une caractéristique inattendue apparaît : en fonction des valeurs du préfacteur  $h_{\theta}$  la densité d'activateur — et celle d'intégrine à sa suite — ne convergent pas vers le même type de fonctions stationnaires  $\phi^{\infty}(x)$  et  $n_{tot}^{\infty}(x)$ . Les figures (**Fig.8 (a) & (b)**) illustrent cette différence de comportement.

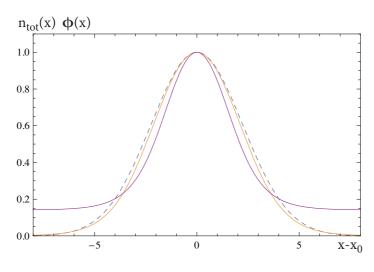
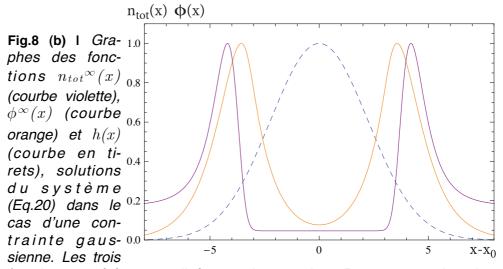


Fig.8 (a) I Graphes des fonctions  $n_{tot}^{\infty}(x)$  (courbe violette),  $\phi^{\infty}(x)$  (courbe orange), solutions du système (Eq.20) dans le cas d'une contrainte h(x) gaussienne (courbe en tirets). Les trois fonctions ont été renormalisées par leur maxima. Dans ce cas la valeur

numérique du préfacteur  $h_0$  se trouve sous la valeur seuil  $h_{0m}$ .



fonctions ont été renormalisées par leur maxima. Dans ce cas la valeur numérique du préfacteur  $h_0$  se trouve au dessus de la valeur seuil  $h_{0m}$ .

En effet, en faisant varier la valeur du préfacteur  $h_{\theta}$ , on voit qu'il existe une valeur seuil  $h_{\theta m}$  en dessous de laquelle les distributions  $\phi^{\infty}(x)$  et  $n_{tot}^{\infty}(x)$  ne présentent qu'un seul maximum, placé en  $x_{max}=\theta$  (**Fig.8 (a)**); et pour les valeurs du préfacteur supérieures à  $h_{\theta m}$ , les maxima s'éloignent de la position  $x_{max}=\theta$  (**Fig.8 (b)**). La figure (**Fig.9**) expose cette variation de la position du (des) maximum (maxima) de  $\phi^{\infty}(x)$  (et  $n_{tot}^{\infty}(x)$ ) en fonction du préfacteur  $h_{\theta}$ .

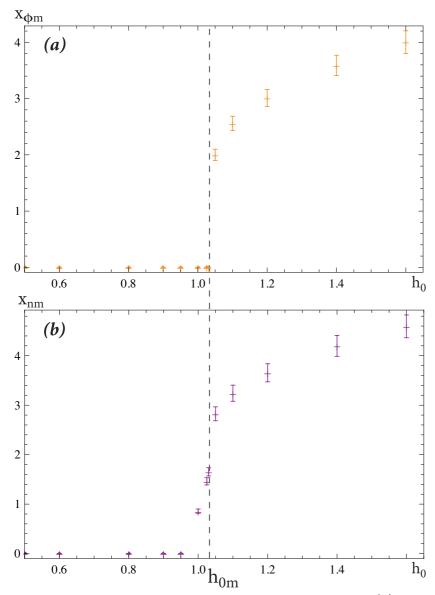


Fig.9 I Position  $x_{\phi m}$  et  $x_{nm}$  des maxima respectifs de  $\phi^{\infty}(x)$  (fig.(a)) et  $n_{tot}^{\infty}(x)$  (fig.(b)) en fonction du préfacteur  $h_0$ . Les barres d'erreur figurent une précision de 5%.

### 2.3.3.Transition entre les deux types de solutions

L'existence d'un étirement limite  $h_{\partial m}$  au dessus duquel les intégrines passent d'une forme centrée sur la contrainte à un anneau mérite quelques explications. Intuitivement, on imagine que l'élongation d'une intégrine sous contrainte est limitée et qu'il existe un étirement maximal au dessus duquel celle-ci décroche. Mais comment cela est-il traduit dans nos équations ?

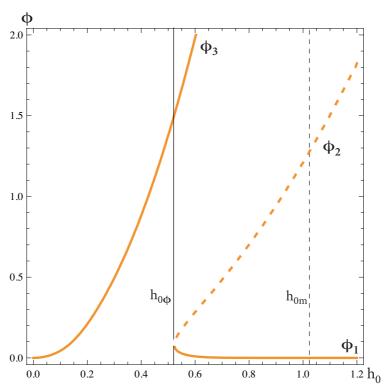
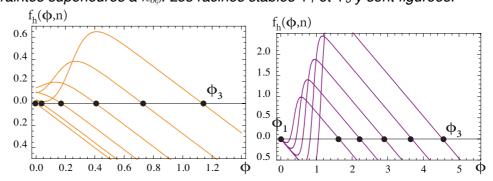


Fig.10 I (a) Cidessus : racines de la fonction source en fonction du préfacteur  $h_0$ . Les courbes oranges continues correspondent aux racines stables (celles où la dérivée de fonction source est négative) et celle en tirets oranges à la dérivée instable. La droite noire continue figure l'abscisse  $1.2~\mathrm{h}_0~h_{0\phi}$  et celle en tiret la valeur  $h_{\partial m}$ 

de la transition observée à la figure (Fig.8). (b) Ci-dessous : faisceau de courbes représentant la fonction source en fonction de la densité en activateur pour différentes valeurs de la contrainte h. Le faisceau de gauche correspond à des contraintes inférieures à  $h_{\theta\phi}$  et celui de droite à des contraintes supérieures à  $h_{\theta\phi}$ . Les racines stables  $\Phi_1$  et  $\Phi_3$  y sont figurées.



La figure (**Fig.10**) illustre un début de réponse : si l'on considère les racines de la fonction source en fonction de la valeur maximale de l'étirement<sup>2</sup>, on voit qu'il existe une valeur  $h_{\theta\phi}$  en dessous de laquelle la fonction source n'admet qu'une seule racine ( $\phi_3$ ) et au dessus de laquelle elle en admet trois ( $\phi_1$ ,  $\phi_2$  et  $\phi_3$ ). Il est alors ten-

 $<sup>^2</sup>$  Qui, étant donnée la forme gaussienne de ce dernier, correspond à la valeur du préfacteur  $h_\theta$ 

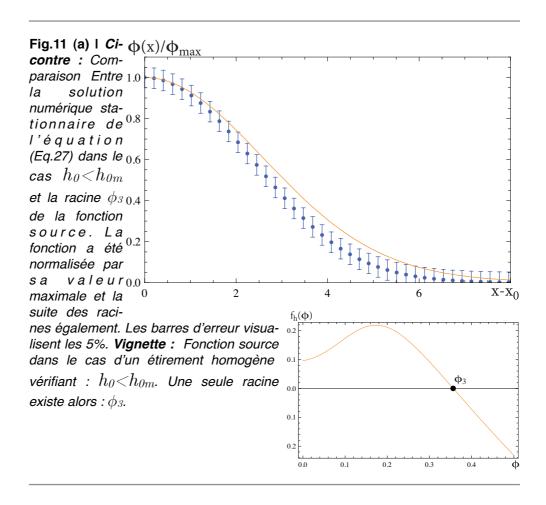
dant d'associer le changement de comportement des solutions du système (**Eq.20**) à l'apparition de nouvelles racines pour la fonction source.

Cependant, comme le montrent les droites d'abscisses  $h_{\partial m}$  et  $h_{\partial \phi}$  de la figure (**Fig.10 (a)**), les deux seuils ne coïncident pas,  $h_{\partial \phi}$  étant toujours inférieur à  $h_{\partial m}$ . L'explication est à chercher ailleurs : pour des étirements supérieurs à  $h_{\partial \phi}$ , l'existence de trois racines assure que des fronts d'ondes propagatifs peuvent être solution du système réacto-diffusif, leur vitesse de propagation dépendant alors de l'intégrale de la fonction source entre ses racines  $\phi_1$  et  $\phi_3$ . Si, à l'instar du chapitre précédent, on calcule cette intégrale ( $F(\phi,h)$ ) entre  $\phi_3$  et  $\phi_1 = 0$ , on se rend compte qu'elle devient négative — signifiant que le front arrête de se propager — pour une valeur de contrainte h comprise entre  $h_{\partial \phi}$  et  $h_{\partial m}$ .

On en déduit que le profil limite à deux maxima résulte d'un « blocage cinétique » des fronts d'onde émis à partir des « pieds » de la gaussienne, là où l'état  $\phi = \theta$  est intrinsèquement instable, cf. vignette (**Fig.11**). Un schéma général de réponse à un étirement gaussien pourrait se découper en trois étapes comme suit :

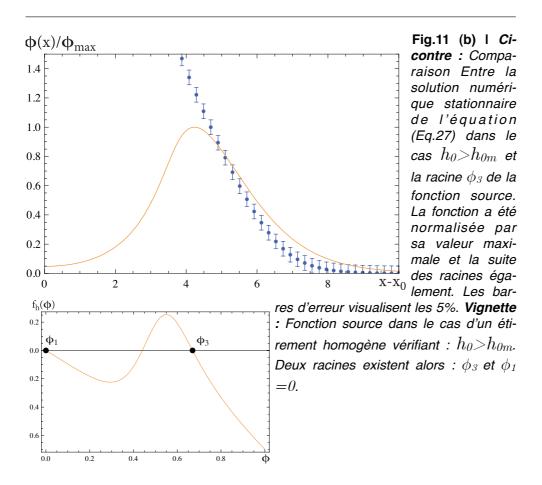
- Là où l'étirement est faible (i.e  $h(x) < h_{\theta\phi}$ ) sur les bords de la gaussienne —, la solution  $\phi_1 = \theta$  n'existe pas. Spontanément  $\phi(t,x)$  croît jusqu'à atteindre la valeur locale de  $\phi_3$ .
- Là où l'étirement devient un plus grand (i.e  $h_{\theta\phi} < h(x) < h_{\theta m}$ ), la racine stable  $\phi_1 = \theta$  apparaît. Alors se met en place un front d'onde reliant  $\phi_3$  à  $\phi_1 = \theta$ . Ce front se propage avec une vitesse modulée par l'étirement.
- Si l'étirement n'atteint pas la valeur seuil  $h_{\partial m}$ , le front d'onde se propage jusqu'en x=0 et l'on obtient une distribution maximale en zéro. Si l'étirement atteint  $h_{\partial m}$ , le front va voir sa vitesse s'annuler

et donc ne va pas pouvoir se propager jusqu'en x=0. Formant ainsi deux pics symétriques.



Une remarque reste à faire : comme le montre la figure (**Fig.9**), d'un point de vue mathématique, la racine  $\phi_{\beta}$  reste solution stationnaire stable du système (**Eq.20**) même pour des valeur de l'étirement h(x) supérieures au seuil  $h_{\partial m}$ . La distribution stationnaire correspondante, maximale en zéro, n'est cependant jamais observée dans nos évaluations numériques. Cela s'explique par la conditions initiales prises sur l'activateur : nous le supposons toujours initialement homogène et nul (i.e  $\phi(t=\theta,x)=\theta$ ). Le choix de cette condition initiale particulière se justifie par sa simplicité mais également par son « bon sens ». D'un point de vue biologique, étant donnée la nature limitée de l'étirement encaissable par les intégrines, même si la solution maximale en zéro est mathématiquement possible, le pas-

sage d'une solution à l'autre au delà du seuil  $h_{\theta m}$  semble beaucoup plus logique et pertinent.



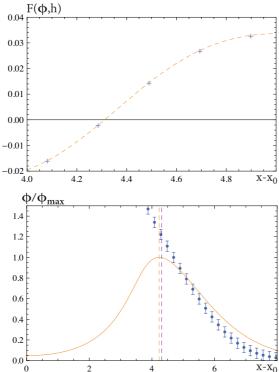


Fig.12 I ci-contre : Intégrale de la fonction source  $F(\phi,h)$  dans le cas  $h_0 > h_{0m}$ . Pour un profil de contrainte et le solution numérique donnés, on regarde à quelle position cette intégrale s'annule, cela nous permet d'estimer la position à laquelle la vitesse de propagation du front d'onde s'annule également.

Le graphe du dessous reprend la figure Fig.18 mais l'agrémente de deux lignes en tirets. L'orange représente la position de son maximum, la violette la position à laquelle la vitesse de propagation s'annule. On retrouve une bonne corrélation entre les deux.

## 2.3.4. Étude de la réponse en coordonnées polaires

Avant de conclure l'étude numérique du système (**Eq.20**), une dernière vérification reste à opérer : l'influence de la courbure de la déformation sur  $\phi(t,x)$  et  $n_{tot}(t,x)$ .

Au paragraphe 3.3 du chapitre précédent nous avons vu que lorsque le rayon de courbure du profil d'étirement était comparable à la longueur caractéristique  $\lambda_{\phi}$ , il pouvait influencer position et valeur du maximum de  $\phi^{\infty}(x)$ . Dans le cas d'un profil d'étirement gaussien, symétrique par rotation, il semble judicieux de prendre un tel terme en compte, notamment si la largeur relative  $w_{\theta}$  est de l'ordre de l'unité. En coordonnées cylindriques, le système (**Eq.20**) devient alors :

$$\begin{cases} \partial_{\tilde{t}}\phi = \frac{\partial^{2}\phi}{\partial\tilde{r}^{2}} + \frac{1}{\tilde{r}}\frac{\partial\phi}{\partial\tilde{r}} - \phi + \beta \frac{kAn_{tot}}{2b}h^{2} \frac{K_{e}^{-1}}{\left(1 + K_{e}^{-1}\right)^{2}} \\ \partial_{\tilde{t}}n_{tot} = \varepsilon \left[\frac{\partial^{2}}{\partial\tilde{r}^{2}} + \frac{1}{\tilde{r}}\frac{\partial}{\partial\tilde{r}}\right] \left[\frac{n_{tot}}{1 + K_{e}}\right] \end{cases}$$
(24)

Afin d'appréhender cette effet de courbure, nous avons comparé les solutions du système (**Eq.20**) à celles données par le système (**Eq.24**), les résultats sont exposés figure (**Fig.13**).

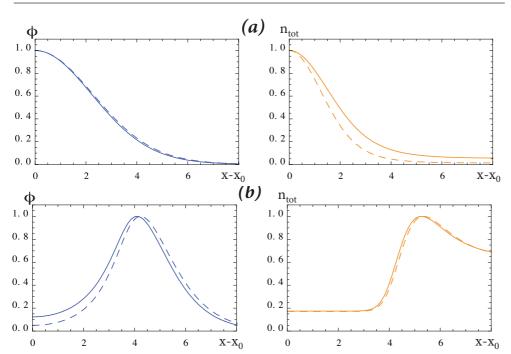


Fig.13 I Comparaison des solutions stationnaires  $\phi^\infty(x)$  et  $n^\infty_{tot}(x)$  avec et sans prise en compte de l'effet de courbure. (a) : l'étirement maximal vérifie  $h_0 < h_{0m}$ ; (b) : l'étirement maximal vérifie  $h_0 > h_{0m}$ . Les courbes violettes représentent la densité d'activateur  $\phi^\infty(x)$ , les oranges la densité totale d'intégrines  $n^\infty_{tot}(x)$ . Les courbes plaines et en tirets correspondent respectivement aux solutions du système (Eq.24), prenant en compte la courbure et aux solution du système (Eq.20), ne prenant pas en compte la courbure. N.B. : toutes les courbes ont été normalisées par leur valeurs maximales afin de mettre en valeur les différences de profil.

Au vu de la figures (**Fig.13**), l'influence de la courbure sur la forme générale des solutions est négligeable. Si l'on observe les profils de l'activateur  $\phi^{\infty}(x)$  dans le cas  $h_{\theta} > h_{\theta m}$  (colonne de gauche, vignette du bas), on se rend compte que l'influence de la courbure se localise principalement dans la zone  $|x-x_0| < w_0$  (ici,  $w_{\theta} = 2$ ). La

densité en activateur s'y trouve légèrement augmentée par la prise en compte de la courbure. Concernant la distribution stationnaire des intégrines  $n_{tot}^{\infty}(x)$ , aucun cas de figure n'est vraiment discriminant.

Au travers de cette section, nous avons vu comment la prise en compte de la diffusion des intégrines dans la membrane plasmique pouvait modifier la dynamique de notre système. Un résultat, en particulier, attire notre attention : soumise à un étirement, les intégrines, grâce au champs diffusif  $\phi$ , vont se regrouper au niveau de la zone sollicitée mécaniquement. Si l'étirement n'est pas trop important, le maximum de ce regroupement coı̈ncidera avec le maximum de l'étirement ; si, par contre, l'étirement atteint une valeur trop importante, les intégrines vont se concentrer à sa périphérie. Formant, dans le cas d'une contrainte de révolution symétrique, un anneau adhésif.

Dans la prochaine section, nous proposons une étude analytique de notre système afin de comprendre d'où proviennent les caractéristiques et le comportement si particulier de notre système.

# 3. Calcul analytique des solutions stationnaires

Seule une étude de la dynamique du système aux temps longs (ie. De l'ordre de grandeur de  $\tau_n$ ) permet d'observer une évolution de la densité totale  $n_{tot}$ . Cependant, malgré la simplicité de son formalisme, l'équation (**Eq.17**) ne nous permet pas une résolution analytique directe. Sa version stationnaire, plus simple, autorise quelques calculs néanmoins :

$$\tilde{\Delta} \left[ \frac{n_{tot}}{1 + K_e} \right] = 0 \tag{25}$$

nous conduit à des solutions de la forme :

$$n_{tot}^{\infty}\left(\tilde{x}\right) = \left(j_{00} \cdot \tilde{x} + n_{00}\right) \left(1 + K_e\left(\phi(x), h(x)\right)\right) \tag{26}$$

mine respectivement en fonction des conditions aux limites sur la densité de courant  $\tilde{\nabla} n_{tot}^{\infty}\left(\tilde{x}\right)$  et la densité  $n_{tot}^{\infty}(x)$ . Nous reviendrons sur cet aspect du problème plus tard ; pour l'heure, admettons que le coefficient  $j_{\theta\theta}$  soit nul. Obtenant alors une équation exprimant  $n_{tot}^{\infty}(x)$  en fonction de  $\phi(x)$  et de h(x), nous pouvons revenir aux temps intermédiaires — pour lesquels  $n_{tot}(t,x)$  peut être supposé constant — et obtenir une équation d'évolution de l'activateur autonome.

où  $j_{\theta\theta}$  et  $n_{\theta\theta}$  sont des constantes d'intégration que l'on déter-

# 3.1. Nouvelle équation d'évolution de l'activateur

À partir de la densité totale d'intégrines explicitée en (**Eq.26**), il vient alors aux temps intermédiaires :

$$\partial_{\tilde{t}}\phi = \tilde{\Delta}\phi - \phi + \beta \frac{kAn_{00}}{2b} \frac{h^2(x)}{\left(1 + e^{-\beta(A\phi(x) - kh^2(x) + \mu_0)}\right)}$$
(27)

On définit donc une nouvelle fonction source :

$$f_h(\phi) = -\phi + \Gamma \frac{h^2(x)}{\left(1 + e^{-\beta(A\phi(x) - kh^2(x) + \mu_0)}\right)}$$
 (28)

Avec  $\Gamma=\beta kAn_{00}/2b$ . Sa courbe représentative est présentée à la figure (**Fig.14**) pour différentes valeurs de h(x)=Cste. À l'instar de cette utilisée au chapitre précédent, cette fonction source est fortement non-linéaire. Le nombre et la position des racines dépendent également de la contrainte h(x). Cependant, à la différence de la première, celle-ci voit sa troisième racine partir très rapidement vers l'infini.

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> On notera pour plus tard :  $n_{\theta\theta}=n_{\theta}/(1+K_{e\theta})$  où  $K_{e\theta}=K_{e}(\theta,\theta)$ 

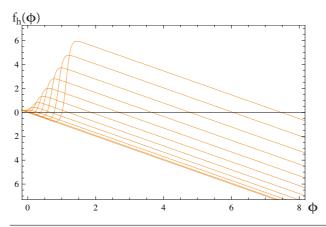
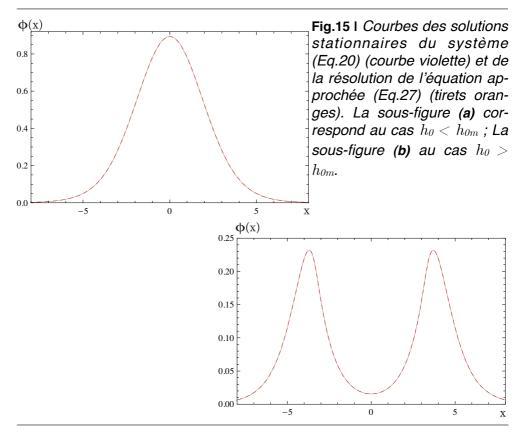


Fig.14 I Faisceau de courbes représentatives de la nouvelle fonction source  $f_h(\phi)$  pour différentes valeurs positives de la contrainte h(x), supposée constante.

Dans un premier temps, afin de s'assurer de la pertinence de l'approximation, il convient de comparer le comportement des solutions du système (**Eq.20**), obtenues numériquement, aux solutions de l'équation approchée (**Eq.27**).

# 3.2. Validation de l'équation (Eq.27)

La figure (**Fig.15**) compare les solutions stationnaires du système (**Eq.20**) et de l'équation (**Eq.27**).



Les résultats des deux méthodes concordent parfaitement. Cette équivalence entre les deux types de solutions n'est cependant valable qu'en régime stationnaire. En effet, remplacer le système (**Eq.20**) par l'équation (**Eq.27**) sous-entend que les intégrines sont à l'équilibre.

# 3.3. Calcul analytique des solutions stationnaires de (Eq.27)

Le principe de ce calcul analytique est le même que celui présenté en quatrième section du chapitre précédent. L'approximation qui le sous-tend est également la même : la non-linéarité présente dans la fonction source est forte mais très localisée. Pour s'en affranchir, on va remplacer la fonction source non-linéaire continue  $f_h(\phi)$ (**Eq.28**), par une fonction linéaire continue par morceau définie par :

$$\tilde{f}_h(\phi) = \begin{cases}
-\phi & \forall x \in \overline{\Omega} \\
-\phi + \alpha e^{-2(x/w_0)^2} & \forall x \in \Omega
\end{cases}$$
(29)

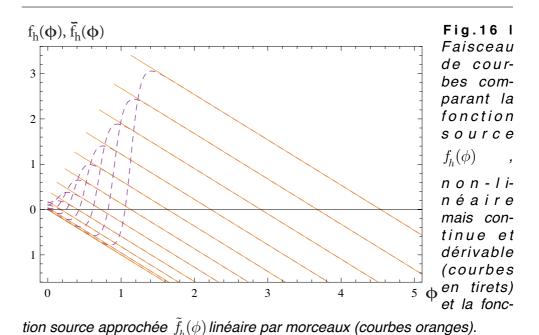
Où  $\alpha = \Gamma h_0^2$  et  $\Omega$  est un intervalle défini par la relation :

$$x \in \Omega \Leftrightarrow \phi(x) > \frac{kh^2(x) - \mu_0}{A}$$
 (30)

On se propose donc de résoudre l'équation différentielle ordinaire suivante :

$$\tilde{\Delta}\phi + \tilde{f}_h(\phi) = 0 \tag{31}$$

Si l'on compare les graphes des deux fonctions (**Fig.16**), on se rend compte que la fonction approchée, linéaire par morceaux, coïncide parfaitement avec la fonction source réelle au voisinage des racines stables —  $\phi_1$  et  $\phi_3$  — de cette dernière. Les solutions analytiques devraient donc être en bon accord avec les solutions numériques.



L'influence de la courbure, comme explicité plus tôt, n'est pas primordiale. Nous choisissons donc de ne pas tenir compte du terme de courbure dans l'équation que l'on va résoudre, afin de simplifier autant que faire se peut le calcul. L'équation (**Eq.31**) à résoudre devient :

$$\begin{cases}
\frac{\partial^2 \phi}{\partial x^2} - \phi + \alpha e^{-2(x/w_0)^2} = 0 & \forall x \in \Omega \\
\frac{\partial^2 \phi}{\partial x^2} - \phi = 0 & \forall x \in \overline{\Omega}
\end{cases}$$
(32)

#### 3.3.1. Définition de l'intervalle $\Omega$

 $\Omega$  est l'intervalle sur lequel la densité d'activateur vérifie la condition (**Eq.30**). Considérons la réponse à un étirement h(x) gaussien. Si l'on se place en  $\pm \infty$  l'étirement h(x) et la réponse  $\phi(x)$ 

tendent vers zéro,  $\mu_{\theta}$  ne pouvant être que strictement positif, la condition (**Eq.30**) est donc intrinsèquement remplie :

$$\lim_{x \to \pm \infty} \left[ \phi(x) \right] > \frac{k \lim_{x \to \pm \infty} \left[ h^2(x) \right] - \mu_0}{A}$$
 (33)

 $\pm\infty$  sont donc des bornes de  $\Omega$ . Par ailleurs, étant donnée la symétrie du problème,  $\Omega$  est forcément symétrique par rapport à zéro, l'alternative est donc la suivante : soit  $\Omega=\mathbb{R}$ , soit  $\Omega=\bigcup_{i=1,N} \left[x_i,x_{i+1}\right]$  avec  $x_{1,N}\equiv\pm\infty$  et  $x_{i\neq 1,N}$  les racines de la

fonction 
$$E(x)$$
 définie par :  $E(x) = A\phi(x) - kh^2(x) + \mu_0$  .

À ce stade, impossible de déterminer ces racines analytiquement; néanmoins, d'un point de vue graphique, vérifier la condition (**Eq.30**) revient à savoir si, à l'abscisse x considéré,  $\phi(x)$  se trouve à droite ou à gauche de  $\phi_2$ , la deuxième racine de  $\tilde{f}_h(\phi)$ . Or, en régime stationnaire, nous avons vu que localement  $\phi^{\infty}(x)$  correspondait soit à  $\phi_3$ , soit à  $\phi_1$  (=0) ( **Fig.10**). Si le préfacteur de l'étirement vérifie  $h_0 < h_{0m}$ ,  $\phi(x)$  tend vers  $\phi_3$  pour tout x et  $\Omega$  correspond de facto à l'ensemble des réels. Inversement, si le préfacteur  $h_0$  vérifie  $h_0 > h_{0m}$ ,  $\phi^{\infty}(x)$  correspond alors à  $\phi_3$  sur l'intervalle  $]-\infty$ ,  $-x_0]$  U  $[x_0$ ,  $+\infty$  [ et à  $\phi_1$  sur le complémentaire.

On a donc:

$$\Omega = \left] -\infty; -x_0 \right] \cup \left[ x_0; +\infty \right[$$

$$\bar{\Omega} = \left] -x_0; x_0 \right[$$
(32)

Avec :  $x_0$  racine de l'équation  $h(x)=h_{0m}$ .

#### 3.3.2. Solutions générales de (Eq.31)

Les solutions générales de l'équation sans second membre sur  $\Omega$  s'écrivent :

$$\phi_g(x) = \phi_{g1}e^x + \phi_{g2}e^{-x} \tag{34}$$

Étant donnée la symétrie de la contrainte et des conditions aux limites, il semble judicieux de se concentrer sur les solutions paires, on pose alors :  $\phi_{g1}=\phi_{g2}\equiv\phi_{g0}\big/2$ , ce qui conduit à :

$$\phi_q(x) = \phi_{q0} \cosh(x) \tag{35}$$

Notons, au passage que ces solutions particulières de l'équation sans second membre sur  $\Omega$  correspondent également aux solutions de l'équation sur  $\overline{\Omega}$ , nous n'aurons donc pas besoin de les recalculer.

#### 3.3.3. Solution particulière de (Eq.31) sur $\Omega$

Nous allons chercher une solution particulière de l'équation totale sur  $\Omega$  sous la forme suivante :

$$\phi_p(x) = \phi_{p1}(x) \cdot e^x + \phi_{p2}(x) \cdot e^{-x}$$
(36)

Forme, somme toute classique, issue de la méthode dite de variation de la constante ; à ceci près que l'on impose la condition :

$$\phi'_{p1}(x) \cdot e^x + \phi'_{p2}(x) \cdot e^{-x} = 0 \tag{37}$$

Injecter (**Eq.36**) dans la première ligne de (**Eq.32**) en tenant compte de la condition (**Eq.37**) conduit à :

$$\phi'_{p1}(x) \cdot e^x - \phi'_{p2}(x) \cdot e^{-x} = -\alpha e^{-2(x/w_0)^2}$$
 (38)

Somme et différence de (Eq.37) et (Eq.38) donnent :

$$\begin{cases}
\phi'_{p1}(x) = -\frac{\alpha}{2}e^{\left(w'_0/2\right)^2} \cdot e^{-\left(\frac{x+x_p}{w'_0}\right)^2} \\
\phi'_{p2}(x) = \frac{\alpha}{2}e^{\left(w'_0/2\right)^2} \cdot e^{-\left(\frac{x-x_p}{w'_0}\right)^2}
\end{cases} (39)$$

Où  $\,x_p^{}\,=\left(w_0^{}\big/\sqrt{2}\,\right)^2\!{\rm et}\,\,w_0^\prime\,=\,w_0^{}\big/\sqrt{2}$  . Par intégration, il vient :

$$\begin{cases} \phi_{p1}(x) = -\phi_{p0} \cdot \left[ erf\left(\frac{x + x_p}{w_0'}\right) - C_1 \right] \\ \phi_{p2}(x) = \phi_{p0} \cdot \left[ erf\left(\frac{x - x_p}{w_0'}\right) - C_2 \right] \end{cases}$$

$$(40)$$

Avec  $\phi_{p0}=rac{\alpha\sqrt{\pi}}{2}\cdotrac{w_0'}{2}e^{\left[rac{x_p}{w_0'}
ight]^2}$  et la fonction erreur erf(x) défi-

nie par 
$$:erf(x)=\frac{2}{\sqrt{\pi}}\cdot\int\limits_0^x e^{-t^2}dt$$
 .  $\left\{C_1,C_2\right\}$  sont des constantes

d'intégration, déterminées par les conditions aux limites sur la fonction totale  $\phi_{tot}\left(x\right)=\phi_{g}\left(x\right)+\phi_{p}\left(x\right)$ .

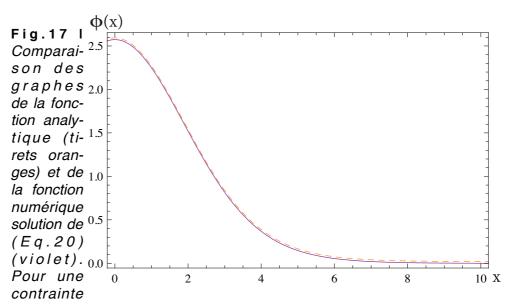
#### Cas d'une faible contrainte

Dans le cas d'une contrainte inférieure au seuil  $h_{\theta m}$ , les seules limites de l'intervalle  $\Omega$  sont  $\pm \infty$ ; pour que la solution totale  $\phi_{tot}(x)$  y converge, les constantes d'intégration doivent vérifier :  $\left\{\phi_{g0},C_1,C_2\right\}=\left\{0,1,-1\right\} \text{ o u } \left\{\phi_{g0},C_1,C_2\right\}=\left\{2\phi_{p0},0,0\right\} \ . \ \ \text{Il}$ 

vient alors la forme suivante pour la solution totale sur  $\Omega$ :

$$\phi_{tot}\left(x\right) = \phi_{p0} \cdot \left\{ \left[1 - erf\left(\frac{x + x_p}{w_0'}\right)\right] \cdot e^x + \left[1 + erf\left(\frac{x - x_p}{w_0'}\right)\right] \cdot e^{-x} \right\}$$
(41)

Si l'on compare le graphe de la fonction (**Eq.40**) à celui de la solutions numériques stationnaire de l'équation (**Eq.27**), on se rend compte que leur concordance est très bonne (**Fig.17**). Cela signifie que l'approximation « dent de requin », c'est-à-dire le remplacement de la fonction continue et dérivable mais fortement non-linéaire par une fonction linéaire par morceau, fonctionne très bien.



maximale  $h_0 < h_{0m}$ . La courbe orange à été très légèrement décalée car elle se confondait totalement avec la violette.

#### 3.3.4. Cas d'une forte contrainte

Dans le cas d'une contrainte supérieure au seuil  $h_{\partial m}$ ,  $\Omega=\left]-\infty,-x_0\right]\cup\left[x_0,+\infty\right[.$  La condition de passage entre  $\Omega$  et

 $\bar{\Omega}$  s'écrit alors :

$$\phi(x_0) = \frac{kh^2(x_0) - \mu_0}{A} \tag{42}$$

Sur  $\bar{\Omega}$  il vient rapidement :

$$\phi_{\overline{\Omega}}(x) = \phi_{\overline{\Omega}0} \cosh(x) \tag{43}$$

Sur  $\Omega^+ = \left[ \, x_0, +\infty \right[ \, {\rm il \, vient, \, d'après \, les \, calculs \, précédents \, :}$ 

$$\phi_{\Omega^{+}}\left(x\right) = \phi_{\Omega^{+}g}\left(x\right) + \phi_{\Omega^{+}p}\left(x\right) \tag{44}$$

Avec:

$$\phi_{\Omega^{+}g}(x) = \phi_{\Omega^{+}g0}e^{-x}$$

$$\phi_{\Omega^{+}p}(x) = \phi_{\Omega^{+}p1}(x) \cdot e^{x} + \phi_{\Omega^{+}p2}(x) \cdot e^{-x}$$

$$\phi_{\Omega^{+}p1}(x) = -\phi_{p0} \cdot \left[ erf\left(\frac{x+x_{p}}{w'_{0}}\right) - C_{1} \right]$$

$$\phi_{\Omega^{+}p2}(x) = \phi_{p0} \cdot \left[ erf\left(\frac{x-x_{p}}{w'_{0}}\right) - C_{2} \right]$$

$$(45)$$

Cette fois-ci, le caractère borné de  $\phi_{\Omega^+}\left(x\right) \ \ \mbox{en } +\infty$  donne :

 $C_1=1$  . Les conditions de raccordement de la fonction et de sa dérivée première en  $x_\theta$  assurent à leur tour :

$$\begin{cases} \phi_{\bar{\Omega}0} \cosh\left(x_{0}\right) = \phi_{\Omega^{+}g0} e^{-x_{0}} + \phi_{\Omega^{+}p1}(x_{0}) \cdot e^{x_{0}} + \phi_{\Omega^{+}p2}(x_{0}) \cdot e^{-x_{0}} \\ \phi_{\bar{\Omega}0} \sinh\left(x_{0}\right) = -\phi_{\Omega^{+}g0} e^{-x_{0}} + \phi_{\Omega^{+}p1}(x_{0}) \cdot e^{x_{0}} - \phi_{\Omega^{+}p2}(x_{0}) \cdot e^{-x_{0}} \end{cases}$$

$$(46)$$

La somme et la différence des deux lignes de (**Eq.46**) conduisent à :

$$\begin{cases} \phi_{\bar{\Omega}0} = 2\phi_{\Omega^{+}p1}(x_{0}) = 2\phi_{p0} \cdot \left[1 - erf\left(\frac{x_{0} + x_{p}}{w'_{0}}\right)\right] \\ \phi_{\bar{\Omega}0} = 2\left\{\phi_{\Omega^{+}g0} + \phi_{\Omega^{+}p2}(x_{0})\right\} \end{cases}$$
(47)

$$\Leftrightarrow \left\{ \begin{array}{c} \phi_{\overline{\Omega}0} = 2\phi_{p0} \cdot \left[1 - erf\left(\frac{x_0 + x_p}{w_0'}\right)\right] \\ \phi_{p0} \cdot \left[1 - erf\left(\frac{x_0 + x_p}{w_0'}\right)\right] = \left\{\phi_{\Omega^+ g0} + \phi_{p0} \cdot \left[erf\left(\frac{x_0 - x_p}{w_0'}\right) - C_2\right]\right\} \end{array} \right. \tag{48}$$

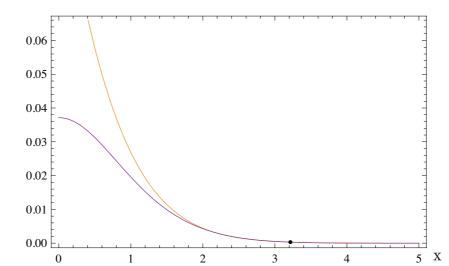
La condition (**Eq.42**) définissant  $x_{\theta}$  permet d'écrire le système de trois équations suivant :

$$\begin{cases} \phi_{\overline{\Omega}0} = \frac{kh_0 e^{-\left(\frac{x_0}{w_0}\right)^2} - \mu_0}{A\cosh(x_0)} \\ \phi_{\overline{\Omega}0} = 2\phi_{p0} \cdot \left[1 - erf\left(\frac{x_0 + x_p}{w_0'}\right)\right] \\ \frac{\phi_{\Omega^+ g0}}{\phi_{p0}} - C_2 = 1 - erf\left(\frac{x_0 + x_p}{w_0'}\right) - erf\left(\frac{x_0 - x_p}{w_0'}\right) \end{cases}$$
(49)

La combinaison des premières et deuxièmes lignes de (**Eq.49**) donne une relation permettant le calcul, au moins numérique, de  $x_{\theta}$ :

$$\frac{kh_0 e^{-\left(\frac{x_0}{w_0}\right)^2} - \mu_0}{2A\phi_{p_0}\cosh(x_0)} = \left[1 - erf\left(\frac{x_0 + x_p}{w_0'}\right)\right]$$
 (50)

Graphiquement,  $x_{\theta}$  correspond à l'abscisse du point d'intersection entre les deux courbes présentées à la figure (**Fig.18**).



**Fig.18 I** Graphes respectifs des membres de gauche (courbe violette) et de droite (courbe orange) de la relation (Eq.50). L'abscisse de leur point d'intersection (repéré par un point noir) correspond à  $x_0$ , borne inférieure de l'intervalle  $\Omega^+$ .

Armé de la valeur de  $x_0$  solution de (**Eq.50**), on se retrouve avec le système :

$$\begin{cases} \phi_{\overline{\Omega}0} = 2\phi_{p0} \cdot \left[1 - erf\left(\frac{x_0 + x_p}{w_0'}\right)\right] \\ \frac{\phi_{\Omega^+g0}}{\phi_{p0}} - C_2 = 1 - erf\left(\frac{x_0 + x_p}{w_0'}\right) - erf\left(\frac{x_0 - x_p}{w_0'}\right) \end{cases}$$
(51)

 $\mbox{(\bf Eq.51)} \mbox{ présente deux équations pour trois inconnues } (\phi_{\Omega^+g0}, \phi_{\overline\Omega 0} \mbox{ et } C_2 \mbox{), il convient donc d'ajouter une contrainte pour le résoudre. Par soucis de simplification, on impose la condition : <math display="block">\phi_{\Omega^+g0} = 0 \mbox{ . Ce qui conduit au résultat suivant :}$ 

$$\phi_{tot}(x) = \begin{cases} \phi_{\Omega^- p1}(x) \cdot e^x + \phi_{\Omega^- p2}(x) \cdot e^{-x} & \forall x \in ]-\infty; -x_0] \\ \phi_{\bar{\Omega}0} \cosh(x) & \forall x \in [-x_0; x_0] \\ \phi_{\Omega^+ p1}(x) \cdot e^x + \phi_{\Omega^+ p2}(x) \cdot e^{-x} & \forall x \in [x_0; +\infty[$$
 (52)

Avec:

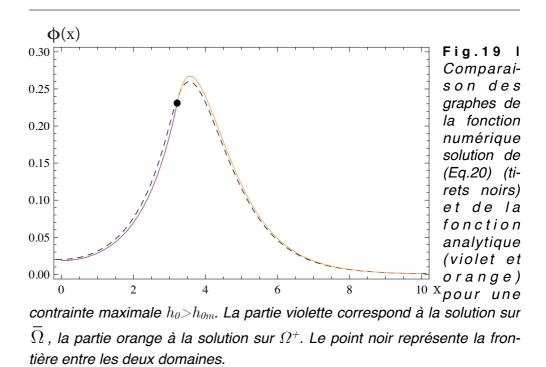
$$\begin{cases} \phi_{\overline{\Omega}0} = \left(kh_0^2 e^{-(x_0/w_0)^2} - \mu_0\right) / A \cosh(x_0) \\ \phi_{\Omega^- p1}(x) = \phi_{p0} \cdot \left\{ C_1 - erf\left[\left(x + x_p\right) / w_0'\right] \right\} \\ \phi_{\Omega^- p2}(x) = \phi_{p0} \cdot \left\{ 1 + erf\left[\left(x - x_p\right) / w_0'\right] \right\} \\ \phi_{\Omega^+ p1}(x) = \phi_{p0} \cdot \left\{ 1 - erf\left[\left(x + x_p\right) / w_0'\right] \right\} \\ \phi_{\Omega^+ p2}(x) = \phi_{p0} \cdot \left\{ erf\left[\left(x - x_p\right) / w_0'\right] - C_2 \right\} \end{cases}$$
(53)

Et:

$$\phi_{p0} = \frac{\alpha\sqrt{\pi}}{2} \cdot \frac{w_0'}{2} e^{\left(\frac{x_p}{w_0'}\right)^2} 
C_1 = 1 - erf\left[\left(x_0 + x_p\right)/w_0'\right] - erf\left[\left(x_0 - x_p\right)/w_0'\right] 
C_2 = erf\left[\left(x_0 + x_p\right)/w_0'\right] + erf\left[\left(x_0 - x_p\right)/w_0'\right] - 1$$
(54)

La figure (**Fig.19**) compare alors son graphe sur  $\mathbb{R}^+$  au graphe de la solution numérique de (**Eq.27**). On voit que la concordance est

très bonne et donc que l'approximation « dent de requin » fonctionne correctement.



# 3.4. Remarques sur le calcul analytique

Les relations (**Eq.52-54**) décrivent le profil stationnaire de l'activateur en réponse à l'étirement gaussien. Un préfacteur modulant ce profil apparaît :

$$\phi_{p0} \sim \beta \frac{kh_0^2}{2} \cdot \frac{n_0}{1 + K_{e0}} \cdot \frac{A}{b} \cdot w_0 e^{w_0^2}$$
 (55)

Il apparaît similaire au préfacteur proposé en fin de chapitre 2, obtenu sans prendre en compte la diffusion des intégrines. On retrouve d'ailleurs la même structure, à savoir un terme « mécanique », un terme « biochimique» et un « facteur géométrique ».

La modification due à la prise en compte de la diffusion est inattendue : au lieu de faire intervenir la densité totale d'intégrines à l'infinie (ie.  $n_{\theta}$ ) la formule (**Eq.55**) fait intervenir la densité d'intégrines liées (ie.  $n_{\theta}/(1+K_{e\theta})$ ). Le « facteur géométrique » compare la taille caractéristique de la sollicitation à la taille caractéristique du front propagatif puisque dans la formule (**Eq.23**) l'étirement gaussien est directement écrit avec une variable adimensionnée par  $\lambda_{\phi}$ . À l'instar du « facteur géométrique » proposé dans la relation (**Eq.51**) à la fin du chapitre précédent, celui-ci est également strictement croissant. Plus la sollicitation mécanique sera étendue, plus la réponse sera importante. Notons cependant que la forme de ce facteur-ci évolue de beaucoup plus fortement en fonction du rapport des grandeurs caractéristiques  $w_{\theta}$ . Que dans le cas précédent du bord cellulaire.

Dans ce troisième chapitre nous avons étendu notre modèle aux temps longs — par rapport au temps caractéristique de la dynamique de l'activateur  $\phi$  — en incluant un degré de liberté supplémentaire au système : la diffusion latérale des intégrines dans la membrane plasmique.

Si l'on considère alors le bord de la zone adhésive, cette liberté supplémentaire du système permet le renforcement de la ceinture adhésive dans la zone où les efforts d'étirement sont maximum. En se basant sur les travaux de Bell et al., cette particularité est à priori contre-intuitive : plus l'étirement subi par les protéines adhésives est important plus ces dernières auront tendance à se détacher. C'est l'interaction allostérique entre les intégrines et l'activateur qui va assurer le renforcement : en dévoilant les sites d'interaction initialement cachés, l'étirement des intégrines favorise leur interaction avec l'activateur, interaction qui, en retour, favorise plus fortement l'adhésion que l'étirement ne la défavorise.

En considérant une distribution d'étirement localisée — rappelant la distribution produite par des micro-patrons ou des billes adhésives — nous avons mis en évidence une modulation du comportement des intégrines en fonction de l'intensité de l'étirement et de la taille caractéristique de la zone sollicitée. Finalement, moyennant une approximation sur la fonction source, nous proposons une relation analytique entre les propriétés biochimiques du système et l'efficacité de la transduction mécanochimique qu'il réalise.

# CONCLUSION GÉNÉRALE

I.	Discussion		157
	I.I.	Intérêt du modèle	157
	I.2.	Corroborations expérimentales	159
	1.3.	Limitations du modèle	159
2.	Perspectives		159
	2.I.	Expérimentales	159
	2.2.	Théoriques	161

1. Discussion

Le modèle que nous avons mis en place s'inscrit dans le contexte de la transduction mécano-chimique bidirectionnelle. Il fait intervenir deux acteurs biochimiques : les intégrines et un partenaire cytoplasmique de ces dernières dont les caractéristiques correspondent en tous points à celles de la taline (**Fig.4**, **Ch.1**).

En s'appuyant sur les caractéristiques physico-chimiques principales de ces deux acteurs, le modèle décrit leur comportement, dynamique et stationnaire, en réponse à différentes conditions adhésives et diffusives (**Eq.61**, **Ch.1** & **Eq.19**, **Ch.3**).

#### 1.1. Intérêt du modèle

Contrairement aux modèles décrivant la dynamiques des adhésions focales développés précédemment (Besser and Safran 2006; Nicolas and Safran 2006; Nicolas, Besser et al. 2008) le notre ne présuppose pas la formation de fibre de stress et la nécessité d'une force mécanique intracellulaire agissant sur l'édifice adhésif. Affranchi de cette contrainte, notre modèle permet de décrire la dynamique précoce des sites adhésifs, c'est-à-dire les mécanismes prenant place durant les premières dizaines de secondes suivant le contact cellulesubstrat. D'un point de vue biologique, la dynamique des structures adhésives naissantes est encore mal connue à ces échelles de temps courts ; principalement à cause des difficultés expérimentales que leur observation suppose. Pratiquement, notre modèle se distingue donc en ceci qu'il explique moins la dynamique d'objets biologiques observés à grande échelle qu'il n'en propose une décrivant les étapes précoces — encore mal connues — du développement des sites adhésifs.

Ainsi, il montre qu'un nombre restreint d'acteurs est suffisant pour initier le regroupement des intégrines dans les régions de fortes sollicitations mécaniques, comme le bord de la zone adhésive (**Fig.5**, **Ch.3**) ou encore des zones de contraintes localisée (**Fig.7**, **Ch.3**). Le

modèle montre également comment cette réponse peut être modulée en fonction de l'intensité de l'étirement en question (**Fig.8, Ch.3**).

Un paradoxe est ainsi levé : alors que l'étirement subi par les intégrines tend à les faire décrocher et à s'éloigner de ces zones, c'est l'interaction avec l'activateur, favorisée par cet étirement, qui va dicter leur dynamique. Ce comportement est rendu possible par la mise en relation de trois phénomènes biochimiques bien connus : la modulation de l'adhésion par les efforts d'étirements (Bell 1978; Torney, Dembo et al. 1986), l'allostéricité des protéines adhésives (MONOD, CHANGEUX et al. 1963; Changeux, Thiéry et al. 1967) et la double activation catalytique (Michaelis-Menten 1913) du partenaire cytoplasmique de ces dernières.

Le fait que l'action des contraintes extérieures et que celle de l'activateur se traduisent les deux par des variations de potentiel chimique explicite le caractère bidirectionnel de la transduction jouée par les intégrines. Un équilibre s'établit entre les deux, l'un n'étant pas conséquence ou cause de l'autre.

La mise en place d'approximations permettant une résolution analytique (**Eq.49**, **50**, **Ch.2** & **Eq.54**, **55 Ch.3**) des équations stationnaires a montré — en donnant des résultats comparables à ceux obtenus numériquement — que le modèle était robuste ; les caractéristiques principales de la dynamique dépendant finalement peu de la forme précise des différentes contributions.

Une autre originalité de notre modèle est la gamme de contraintes qu'il explore. Alors que les modèles de croissance de plaques adhésives reposent sur les efforts développés par les fibres de stress sur les adhésions focales (de l'ordre du micronewton par micron² (Geiger, Bershadsky et al. 2001)); le notre nécessite uniquement des contraintes d'étirement à l'échelle de l'intégrine unique c'est-à-dire de l'ordre du piconewton ou de la dizaine de piconewton (Jiang, Giannone et al. 2003; Coombs, Dembo et al. 2004; Evans and Calderwood 2007).

Finalement, le modèle développé ici n'a rien de spécifique le restreignant au seul couple {intégrines+taline} mais pourrait se voir adapter facilement à d'autres systèmes transductifs cellulaires (récepteurs à l'EGF, cadhérine...).

## 1.2. Corroborations expérimentales

Le résultat principal de notre modélisation est le recrutement des intégrines au niveau des zones sollicités mécaniquement. Comme explicité au chapitre 3, cela conduit au renforcement de la ceinture adhésive sur une largeur d'une centaine de nanomètres au bord de la zone adhésive (Giannone, Jiang et al. 2003). Ce renforcement a été mis en évidence expérimentalement . Dans le cas d'un contrainte localisée, nous avons vu qu'en fonction de la valeur de la contrainte, cela pouvait conduire à la formation d'un anneau d'adhésion entourant la zone contrainte. Ce genre d'anneaux adhésifs est observé expérimentalement lors des expériences où des billes recouvertes de matrice sont liées aux intégrines et tirées par pinces optiques.

#### 1.3. Limitations du modèle

La première limitation dont souffre notre modèle correspond au « flou artistique » entourant les valeurs numériques des différents paramètres biochimiques.

La deuxième limitation correspond à l'absence de terme de saturation en intégrines. Typiquement un terme traduisant la gêne stérique que les intégrines doivent logiquement ressentir au dessus d'une certaine concentration. Ce terme est d'autant plus important qu'il facilitera la transition d'une réponse à un maximum à une réponse à deux maxima dans le cas d'une contrainte localisée.

#### 2.

# Perspectives...

## 2.1. ... Expérimentales

Bien que s'appuyant sur une foule d'observations *in vivo*, aucun projet expérimental n'a été, à ce jour, pensé pour tester la validité de notre démarche spécifiquement. Si les expériences citées précédemment apportent une corrélation qualitative à la dynamique décrite par le modèle, le manque de précision sur les valeurs numériques des coefficients utilisés rend peu plausible une validation quantitative. Cependant, une grandeur caractéristique du modèle pourrait être recherchée expérimentalement : la longueur caractéristique  $\lambda_{\phi}$ . Comme explicité au chapitre 3, dans le cas d'une sollicitation localisée (gaussienne ou autre), un étirement suffisamment fort conduit à la formation d'une « couronne » adhésive autour de la zone de sollicitation. Cette couronne n'est alors visible que si la taille caractéristique de la zone est grande devant  $\lambda_{\phi}$ . En utilisant des micro-patrons adhésifs de tailles variables et en visualisant des protéines spécifiques des sites adhésifs précoces nous pourrions distinguer la transition entre un cluster unique de protéines et la formation de deux clusters distincts¹.

Étant donné le caractère réductionniste de notre modèle, les systèmes biomimétiques semblent adaptés à son étude. Un contexte expérimental en particulier s'y prêterait bien : les GUVs² fonctionnalisées. Il a déjà été montré que fonctionnaliser des GUVs avec des intégrines  $\alpha_{IIb}\beta_{\beta}$  permettait de les faire adhérer sur des surfaces recouverte de motifs RGD (Streicher, Nassoy et al. 2009). Il serait intéressant de réaliser ce genre d'expériences en introduisant des molécules d'activateur dans les GUVs. Différents comportements seraient attendus en fonction de l'état d'activation des molécules introduites : des molécules constitutivement inactives n'induiraient aucun changement de comportement par rapport aux expériences déjà effectuées ; à l'inverse, on pourrait s'attendre à ce que des molécules constitutivement actives stimulent préférentiellement l'adhésion au niveau du bord de la surface adhésive, modifiant ainsi la disposition stationnaire des intégrines.

Une troisième approche expérimentale envisageable, cette fois sur des cellules vivantes, serait d'étudier la répartition différentielle

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Idée issue de conversations informelles avec M. Block au sujet d'observations expérimentales non publiées.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Giant Unilamellar Vesicles

de deux types d'intégrines différentes soumises à une même contrainte. Un moyen de procédé serait d'utiliser des micro-patrons adhésifs — afin de définir exactement comment la cellule adhère — et des intégrines marquées à l'aide de fluorophores différents. Pour une même distribution de contrainte, notre modèle prédit des comportements différents suivant les valeurs des paramètres physico-chimiques des intégrines considérées. En visualisant la répartition des intégrines sur ces patrons adhésifs nous pourrions la comparer avec celle prédite par le modèle.

#### 2.2. ... Théoriques

Ce travail de thèse peut être vu comme la mise en place d'un « noyau » devant être étoffé et précisé. On peut penser à deux axes principaux reliés tout deux aux activités expérimentales de l'équipe : la prise en compte de deux types d'intégrines différentes et la compétition entre deux activateurs différents.

Comme le suggère l'expérience (Roca-Cusachs, Gauthier et al. 2009) à chaque type d'intégrines correspondrait une fonction biologique particulière. Cette spécificité reposerait sur des caractéristiques biochimiques propres à chaque sous-famille d'intégrines. Prendre en compte deux types d'intégrines différentes dans le modèle reviendrait à considérer plusieurs jeux de paramètres  $(A, k, \text{ et } \mu_{\theta})$ .

D'un autre côté, considéré deux activateurs différents semble pertinent de part la pléthore de site d'interactions présents sur la partie cytosolique des intégrines. Ainsi La prise en compte d'un inibiteur de l'activation des intégrines, en compétition avec l'activateur déjà présent pourrait modéliser la compétition entre la taline et I-cap 1 par exemple.

Un autre axe du modèle à explorer serait la propagation de bouffée d'activateur le long du bord de la zone adhésive. En effet, à contrainte constante, nous avons vu que le modèle pouvait donner naissance à des fronts d'onde propagatifs. Le long du bord de la zone adhésive, une ligne « iso-contrainte » pourrait voir la propagation de fronts d'onde. Expérimentalement, ce genre de fronts à déjà été observé (Döbereiner, Dubin-Thaler et al. 2004; Giannone, Dubin-Thaler et al. 2004), il serait intéressant de se pencher dessus.

Finalement, une description plus précise des contraintes subies par les intégrines, notamment la prise en compte de leur fluctuations, serait également envisageable. Cela correspondrait cette fois-ci à une description plus fine du substrat, de sa topologie et de ses interactions avec la cellule. Une étude stochastique du modèle pourrait permettre de décrire la dynamique de petits groupes d'intégrines au sein de rassemblements plus grands.

# Annexe : tableau de valeurs caractéristiques



Symbole	Signification	Valeur	Réf.
k	Constante de rigidité effective caractérisant le lien intégrines-substrat	$0,3 \ nN \cdot m^{-1}$	Taubenberger et al. (2007)
$ au_{\phi} = b^{-1}$	Durée de vie moyenne de l'état doublement activé des intégrines	80 – 100 s	Lele et al. (2008) Himmel et al. (2009)
$D_\phi$	Constante de diffusion de du champ activateur (taline) φ	$0.1 - 2 \ \mu m^2 \cdot s^{-1}$	Golebiewska et al. (2008)
$D_{u}$	Constante de diffusion latérale des intégrines libres dans la membrane	$10^{-3} - 10^{-2} \ \mu m^2 \cdot s^{-1}$	Duband et al. (1988)
$n_0^{}$	Densité moyenne d'intégrines le long de la membrane	$300 - 700 \ \mu m^{-2}$	Wiseman et al. (2004)
$h_0^{}$	Taille caractéristique du domaine extracelluaire des intégrines	10 – 20 <i>nN</i>	Tagaki et al. (2001) Shatti et al (2010)
k_2	Taux de dissociation du complexe activateur - intégrine	$10^{-3} \ s^{-1}$	Yan et al. (2001)
A'	Énergie d'interaction entre le champ activateur (taline) et la tête cytosolique de la taline, estimée à partir des constantes de dissociations de l'activateur dans sa forme activée et non-activée.	$k_B T \cdot \ln\left(\frac{K_{d,l}}{K_{d,a}}\right)$ $\approx 2.5 k_B T$	Calderwood et al. (2002)



Bibliographie

Adams, J. C. (2001). "Cell-matrix contact structures." <u>Cell Mol Life Sci</u> **58**(3): 371-392.

Albiges-Rizo, C., O. Destaing, et al. (2009). "Actin machinery and mechanosensitivity in invadopodia, podosomes and focal adhesions." <u>Journal of Cell Science</u> **122**(Pt 17): 3037-3049.

Anthis, N. J., J. R. Haling, et al. (2009). Beta integrin tyrosine phosphorylation is a conserved mechanism for regulating talin-induced integrin activation. <u>J Biol Chem</u>. **284:** 36700-36710.

Bell, G. (1978). "Models for the specific adhesion of cells to cells." Science **200**(4342): 618.

Bell, G., M. Dembo, et al. (1984). Cell adhesion. Competition between nonspecific repulsion and specific bonding. <u>Biophysical Journal</u>. **45:** 1051-1064.

Bershadsky, A., M. Kozlov, et al. (2006). "Adhesion-mediated mechanosensitivity: a time to experiment, and a time to theorize." Current Opinion in Cell Biology **18**(5): 472-481.

Besser, A. and S. A. Safran (2006). "Force-induced adsorption and anisotropic growth of focal adhesions." <u>Biophysical Journal</u> **90**(10): 3469-3484.

Block, M. R., C. Badowski, et al. (2008). "Podosome-type adhesions and focal adhesions, so alike yet so different." <u>Eur J Cell Biol</u> **87**(8-9): 491-506.

Borisov, N. M., N. I. Markevich, et al. (2005). "Signaling through receptors and scaffolds: independent interactions reduce combinatorial complexity." <u>Biophysical Journal</u> **89**(2): 951-966.

Bruinsma, R. (2005). "Theory of Force Regulation by Nascent Adhesion Sites." <u>Biophysical Journal</u> **89**(1): 87-94.

Calderwood, D. A., Yan, B., de Pereda, J. M., Alvarez, B. G., Fujioka, Y., Liddington, R. C. and Ginsberg, M. H. (2002). <u>J. Biol. Chem.</u> 277: 21749-58.

Cantor, R. (1999). "Solute modulation of conformational equilibria in intrinsic membrane proteins: apparent "Cooperativity" without binding." Biophysical Journal 77(5): 2643-2647.

Chang, K. C., D. F. Tees, et al. (2000). "The state diagram for cell adhesion under flow: leukocyte rolling and firm adhesion." Proc Natl Acad Sci USA 97(21): 11262-11267.

Changeux, J.-P., J. Thiéry, et al. (1967). "ON THE COOPERATIVITY OF BIOLOGICAL MEMBRANES." Proc Natl Acad Sci USA 57(2): 335-341.

Chamaraux, F., O. Ali, et al. (2008). "Physical model for membrane protrusions during spreading." Physical biology 5(3): 036009.

Chhabra, E. S. and H. N. Higgs (2007). "The many faces of actin: matching assembly factors with cellular structures." Nature cell biology **9**(10): 1110-1121.

Coombs, D., M. Dembo, et al. (2004). "Equilibrium thermodynamics of cell-cell adhesion mediated by multiple ligandreceptor pairs." Biophysical Journal 86(3): 1408-1423.

Critchley, D. R. (2004). "Cytoskeletal proteins talin and vinculin in integrin-mediated adhesion." <u>Biochem Soc Trans</u> **32**(Pt 5): 831-836.

Döbereiner, H.-G., B. Dubin-Thaler, et al. (2004). "Dynamic phase transitions in cell spreading." Phys. Rev. Lett. 93(10): 108105.

Duband, J. L., Nuckolis, G. H., Ishihara, A., Hasegawa, T., Yamada, K. M., Thiery, J. P. and Jacobson, K. (1988). J Cell Biol **107**: 2390-2395.

Du Roure, O., A. Saez, et al. (2005). "Force mapping in epithelial cell migration." Proc Natl Acad Sci USA 102(7): 1385-1396.

English, B. P., W. Min, et al. (2006). "Ever-fluctuating single enzyme molecules: Michaelis-Menten equation revisited." Nat Chem Biol 2(2): 87-94.

Evans, E. A. and D. A. Calderwood (2007). "Forces and Bond Dynamics in Cell Adhesion." <u>Science</u> **316**(5828): 1148-1153.

Bibliographie I 169

Galbraith, C. G., K. M. Yamada, et al. (2002). "The relationship between force and focal complex development." <u>The Journal of Cell Biology</u> **159**(4): 695-705.

Geiger, B. and A. Bershadsky (2001). "Assembly and mechanosensory function of focal contacts." <u>Current Opinion in Cell Biology</u> **13**(5): 584-592.

Giannone, G., B. Dubin-Thaler, et al. (2007). "Lamellipodial actin mechanically links myosin activity with adhesion-site formation." <u>Cell</u> **128**(3): 561-575.

Giannone, G., G. Jiang, et al. (2003). "Talin1 is critical for force-dependent reinforcement of initial integrin-cytoskeleton bonds but not tyrosine kinase activation." The Journal of Cell Biology 163(2): 409-419.

Giannone, G., B. Dubin-Thaler, et al. (2004). "Periodic lamellipodial contractions correlate with rearward actin waves." <u>Cell</u> **116**(3): 431-443.

Giannone, G. and M. P. Sheetz (2006). "Substrate rigidity and force define form through tyrosine phosphatase and kinase pathways." <u>Trends in Cell Biology</u> **16**(4): 213-223.

Golebiewska, U., Nyako, M., Woturski, W., Zaitseva, I. and McLaughlin, S. (2008). Mol Biol Cell 19: 1663-1669.

Guo, C. and H. Levine (1999). "A thermodynamic model for receptor clustering." <u>Biophysical Journal</u> 77(5): 2358-2365.

Hammer, D. A. and S. M. Apte (1992). "Simulation of cell rolling and adhesion on surfaces in shear flow: general results and analysis of selectin-mediated neutrophil adhesion." <u>Biophysical Journal</u> **63**(1): 35-57.

Han, J., C. J. Lim, et al. (2006). "Reconstructing and deconstructing agonist-induced activation of integrin alphaIIbbeta3." Curr Biol **16**(18): 1796-1806.

Harburger, D. S., M. Bouaouina, et al. (2009). "Kindlin-1 and -2 directly bind the C-terminal region of beta integrin cytoplasmic tails and exert integrin-specific activation effects." <u>J Biol Chem</u> **284**(17): 11485-11497.

- Harris, A. K., P. Wild, et al. (1980). Silicone rubber substrata: a new wrinkle in the study of cell locomotion. Science. 208: 177-179.
- Harris, A. K., P. Wild, et al. (1980). "Silicone rubber substrata: a new wrinkle in the study of cell locomotion." Science 208(4440): 177-179.
- Himmel, M., Ritter A., Rothemund, S., Pauling, B. V., Rottner, K., Gingras, A. R. and Ziegler, W. H. (2009). J. Biol. Chem. 284: 13832-42.
- Hynes, R. O. (1987). "Integrins: a family of cell surface receptors." Cell 48(4): 549-554.
- Hynes, R. O. (1992). "Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion." Cell **69**(1): 11-25.
- Hynes, R. O. (2002). "Integrins: bidirectional, allosteric signaling machines." <u>Cell</u> **110**(6): 673-687.
- Ingber, D. E. (2003). "Tensegrity I. Cell structure and hierarchical systems biology." Journal of Cell Science 116(Pt 7): 1157-1173.
- Ingber, D. E. (2003). "Tensegrity II. How structural networks influence cellular information processing networks." <u>Journal of Cell</u> Science **116**(Pt 8): 1397-1408.
- Jiang, G., G. Giannone, et al. (2003). "Two-piconewton slip bond between fibronectin and the cytoskeleton depends on talin." Nature **424**(6946): 334-337.
- Kaverina, I., O. Krylyshkina, et al. (2002). "Regulation of substrate adhesion dynamics during cell motility." International Journal of Biochemistry and Cell Biology 34(7): 746-761.
- Kou, S. C., B. J. Cherayil, et al. (2005). "Single-molecule Michaelis-Menten equations." J Phys Chem B 109(41): 19068-19081.
- Lauffenburger, D. A. and A. F. Horwitz (1996). "Cell migration: a physically integrated molecular process." Cell **84**(3): 359-369.
- Le Clainche, C. and M.-F. Carlier (2008). "Regulation of Actin Assembly Associated With Protrusion and Adhesion in Cell Migration." Physiological Reviews 88(2): 489-513.

Bibliographie I 171

Lele, T. P., Thodeti, C. K., Pendse, J. and Ingber, D. E. (2008). Biochem. Biophys. Res. Commun **369**: 929-934.

Luo, B.-H., C. V. Carman, et al. (2007). "Structural basis of integrin regulation and signaling." <u>Annu Rev Immunol</u> **25**: 619-647.

Martel, V., C. Racaud-Sultan, et al. (2001). "Conformation, localization, and integrin binding of talin depend on its interaction with phosphoinositides." J Biol Chem **276**(24): 21217-21227.

MONOD, J., J. P. CHANGEUX, et al. (1963). "Allosteric proteins and cellular control systems." <u>Journal of Molecular Biology</u> **6**: 306-329.

MONOD, J., J. WYMAN, et al. (1965). "ON THE NATURE OF ALLOSTERIC TRANSITIONS: A PLAUSIBLE MODEL." <u>J Mol Biol</u> **12**: 88-118.

Moser, M., K. R. Legate, et al. (2009). "The Tail of Integrins, Talin, and Kindlins." Science **324**(5929): 895-899.

Nicolas, A., A. Besser, et al. (2008). "Dynamics of cellular focal adhesions on deformable substrates: consequences for cell force microscopy." <u>Biophysical Journal</u> **95**(2): 527-539.

Nicolas, A., B. Geiger, et al. (2004). "Cell mechanosensitivity controls the anisotropy of focal adhesions." <u>Proc Natl Acad Sci USA</u> **101**(34): 12520-12525.

Nicolas, A. and S. A. Safran (2006). "Limitation of cell adhesion by the elasticity of the extracellular matrix." <u>Biophysical Journal</u> **91**(1): 61-73.

Pantaloni, D., C. Le Clainche, et al. (2001). "Mechanism of actin-based motility." Science **292**(5521): 1502-1506.

Pollard, T. D. and G. G. Borisy (2003). "Cellular motility driven by assembly and disassembly of actin filaments." <u>Cell</u> **112**(4): 453-465.

Puklin-Faucher, E. and M. P. Sheetz (2009). "The mechanical integrin cycle." <u>Journal of Cell Science</u> **122**(Pt 2): 179-186.

Ramadurai, S., A. Holt, et al. (2009). "Lateral diffusion of membrane proteins." J Am Chem Soc **131**(35): 12650-12656.

Riveline, D., E. Zamir, et al. (2001). "Focal contacts as mechanosensors: externally applied local mechanical force induces growth of focal contacts by an mDia1-dependent and ROCK-independent mechanism." The Journal of Cell Biology **153**(6): 1175-1186.

Roca-Cusachs, P., N. C. Gauthier, et al. (2009). "Clustering of alpha(5)beta(1) integrins determines adhesion strength whereas alpha(v)beta(3) and talin enable mechanotransduction." <u>Proc Natl Acad Sci USA</u> **106**(38): 16245-16250.

Shemesh, T., B. Geiger, et al. (2005). "Focal adhesions as mechanosensors: a physical mechanism." <u>Proc Natl Acad Sci USA</u> **102**(35): 12383-12388.

Shi, X., Y.-Q. Ma, et al. (2007). "The MIG-2/integrin interaction strengthens cell-matrix adhesion and modulates cell motility." <u>J Biol Chem</u> **282**(28): 20455-20466.

Sinitsyn, N. A., N. Hengartner, et al. (2009). "Adiabatic coarse-graining and simulations of stochastic biochemical networks." <u>Proc Natl Acad Sci USA</u> **106**(26): 10546-10551.

Simson, R., E. Wallraff, et al. (1998). "Membrane bending modulus and adhesion energy of wild-type and mutant cells of Dictyostelium lacking talin or cortexillins." <u>Biophysical Journal</u> **74**(1): 514-522.

Streicher, P., P. Nassoy, et al. (2009). "Integrin reconstituted in GUVs: A biomimetic system to study initial steps of cell spreading." <u>Biochim Biophys Acta</u> **1788**(10): 2291-2300.

Tagaki, J., Erickson, H. P. and Springer, T. A. (2001). <u>Nat Struct Biol</u> **8**:412-416.

Taubenberger, A., Cisneros, D. A., Friedrichs, J., Puech, P.-H., Muller, D. J. and Franz, C. M. (2007). Mol Biol Cell **18**:1634-1644.

Torney, D. C., M. Dembo, et al. (1986). "Thermodynamics of cell adhesion. II. Freely mobile repellers." <u>Biophysical Journal</u> **49**(2): 501-507.

Théry, M. and M. Bornens (2006). "Cell shape and cell division." <u>Current opinion in cell biology</u> **18**(6): 648-657.

Bibliographie I 173

Théry, M., V. Racine, et al. (2005). "The extracellular matrix guides the orientation of the cell division axis." <u>Nature cell biology</u> 7(10): 947-953.

Théry, M., V. Racine, et al. (2006). "Anisotropy of cell adhesive microenvironment governs cell internal organization and orientation of polarity." <u>Proc Natl Acad Sci USA</u> **103**(52): 19771-19776.

Torney, D. C., M. Dembo, et al. (1986). "Thermodynamics of cell adhesion. II. Freely mobile repellers." <u>Biophysical Journal</u> **49**(2): 501-507.

Vogel, V. and M. Sheetz (2006). "Local force and geometry sensing regulate cell functions." Nat Rev Mol Cell Biol 7(4): 265-275.

Watanabe, N., L. Bodin, et al. (2008). "Mechanisms and consequences of agonist-induced talin recruitment to platelet integrin alphaIIbbeta3." <u>The Journal of Cell Biology</u> **181**(7): 1211-1222.

Wiseman, P. W., Brown, C. M., Webb, D. J., Hebert, B., Johnson, N. L., Squier, J. A., Ellisman, M. H. and Horwitz, A. F. (2004). <u>J Cell Sci</u> 117: 5221-5234.

Xiong, J.-P., T. Stehle, et al. (2003). "New insights into the structural basis of integrin activation." <u>Blood</u> **102**(4): 1155-1159.

Yamada, K. M., R. Pankov, et al. (2003). "Dimensions and dynamics in integrin function." <u>Braz J Med Biol Res</u> **36**(8): 959-966.

Yan, B., Calderwood, D. A., Yaspan, B. and Ginsberg, M. H. (2001). <u>Biophysical Journal</u> **92**: 2964-2974.

Zaidel-Bar, R., S. Itzkovitz, et al. (2007). "Functional atlas of the integrin adhesome." <u>Nature cell biology</u> **9**(8): 858-867.

Zhang, X., G. Jiang, et al. (2008). "Talin depletion reveals independence of initial cell spreading from integrin activation and traction." Nature cell biology **10**(9): 1062-1068.

# Résumé

Les systèmes complexes propres à la biologie moléculaire sont des sujets d'investigations privilégiés pour la physique statistique hors équilibre. En particulier la dynamique des systèmes d'adhérents qui a déjà été l'objet de description théorique. Ces descriptions sont restreintes au comportement des plaques d'adhérence focales matures, dont la durée caractéristique est la dizaine de minutes et où beaucoup d'acteurs moléculaires différents interviennent, notamment le cortex d'actine. Cependant, la question des mécanismes moléculaires précoces, précédant la mise en place de ces structures, reste entière et ouverte.

L'objectif de cette thèse est de proposer un modèle de transduction mécano-chimique bidirectionnelle — de l'intérieur de la cellule vers l'extérieur et inversement — en se basant sur le caractère allostérique de l'interaction entre les intégrines (sensibles aux propriétés des matrices extracellulalires) et un partenaire cytoplasmique activable, la taline. Ce travail se divise en trois parties : i) une modélisation du bord cellulaire qui repose sur le calcul du potentiel chimique du partenaire activable et de son cycle d'activation, ii) la résolution numérique et analytique des équations précédemment définies et iii) une évolution du précédent modèle où les intégrines sont laissés libres de diffuser et qui vont dans ce cas là se regrouper dans les zones de fortes contraintes.

# **Abstract**

Complex systems observed in molecular biology are subject of major interest for statistical physic out of equilibrium. This is the case in particular of the focal adhesions which has been the center of theoretical investigation. The descriptions of this system have been limited to the understanding of mature focal adhesions that have a life-span superior to ten minutes. However, the understanding of what happen at the early stage remains fully open.

The goal of this PhD is to propose a model of bidirectional mecano-chemical transduction process, from the Inside to the outside and reciprocally, based on the allosteric character of the interaction between integrins (sensing the extracellular matrix) and an activable cytoplasmic Partner, talin. This work is divided in three parts: i) a modelisation of the cell border based on the calculation of the chemical potential of the activable Partner and on its cycle of activation, ii) the numerical and analytical resolution of the equations proposed before and iii) an update of the previous model where the integrins have been allowed to diffuse and present in this case the ability to cluster in high constraints regions.