

# Simulations en Biologie

## Bilan et Perspectives

Laurent Le Guillou<sup>1</sup>

<sup>1</sup>LPNHE - Université Pierre et Marie Curie (Paris 6)

Biennale LPNHE — Fréjus — 12-14 sept. 2007

# Exposé

- 1 Problématique : stochasticité et différenciation**
- 2 Stochasticité et formation des structures
- 3 Stochasticité à l'échelle du gène
- 4 Différenciation chez l'embryon de souris
- 5 Liens et Collaborations
- 6 Conclusions et Perspectives

# Exposé

- 1 Problématique : stochasticité et différenciation**
- 2 Stochasticité et formation des structures**
- 3 Stochasticité à l'échelle du gène
- 4 Différenciation chez l'embryon de souris
- 5 Liens et Collaborations
- 6 Conclusions et Perspectives

# Exposé

- 1 Problématique : stochasticité et différenciation**
- 2 Stochasticité et formation des structures**
- 3 Stochasticité à l'échelle du gène**
- 4 Différenciation chez l'embryon de souris
- 5 Liens et Collaborations
- 6 Conclusions et Perspectives

# Exposé

- 1 **Problématique : stochasticité et différenciation**
- 2 **Stochasticité et formation des structures**
- 3 **Stochasticité à l'échelle du gène**
- 4 **Différenciation chez l'embryon de souris**
- 5 Liens et Collaborations
- 6 Conclusions et Perspectives

# Exposé

- 1 **Problématique : stochasticité et différenciation**
- 2 **Stochasticité et formation des structures**
- 3 **Stochasticité à l'échelle du gène**
- 4 **Différenciation chez l'embryon de souris**
- 5 **Liens et Collaborations**
- 6 **Conclusions et Perspectives**

# Exposé

- 1 **Problématique : stochasticité et différenciation**
- 2 **Stochasticité et formation des structures**
- 3 **Stochasticité à l'échelle du gène**
- 4 **Différenciation chez l'embryon de souris**
- 5 **Liens et Collaborations**
- 6 **Conclusions et Perspectives**

# LPNHE / Groupe *SimBioPhys*

- **Modèles physiques et Simulations pour la Biologie**
- **Groupe Interface Phys./Bio. : *SimBioPhys* :**
  - Bertrand Laforge (MdC – P. & M. Curie) Atlas / SimBioPhys
  - Laurent Le Guillou (MdC – P. & M. Curie)
  - Jérôme Glisse (doctorant, 3<sup>ème</sup> année)

# Exposé

- 1 Problématique : stochasticité et différenciation**
- 2 Stochasticité et formation des structures
- 3 Stochasticité à l'échelle du gène
- 4 Différenciation chez l'embryon de souris
- 5 Liens et Collaborations
- 6 Conclusions et Perspectives

# Problématique : stochasticité et différenciation

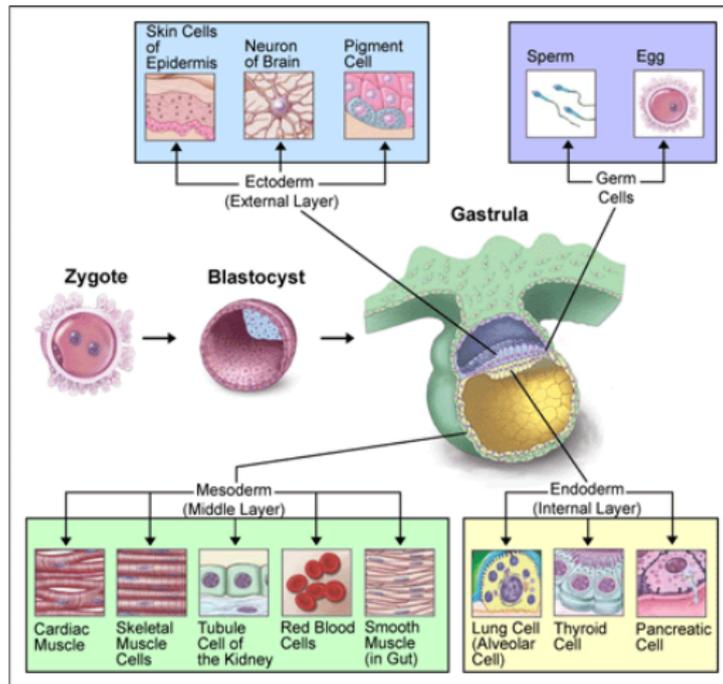
Vision dominante en Biologie : déterminisme

**ADN = “programme génétique”**

Nombreux succès, mais limitations :

- Pb : **Expression stochastique des gènes**  
opposé au déterminisme (“programme” génétique)  
**Bruit ? ou Phénomène essentiel ?**
- Pb : **Différenciation cellulaire** :  
cellules **identiques** mais **destins différents**  
“Brisures de symétrie” : mécanismes incompris.  
Explications insuffisantes (gradients morphogènes)  
voire “ésotériques” (“info. de position”)

# Différenciation cellulaire



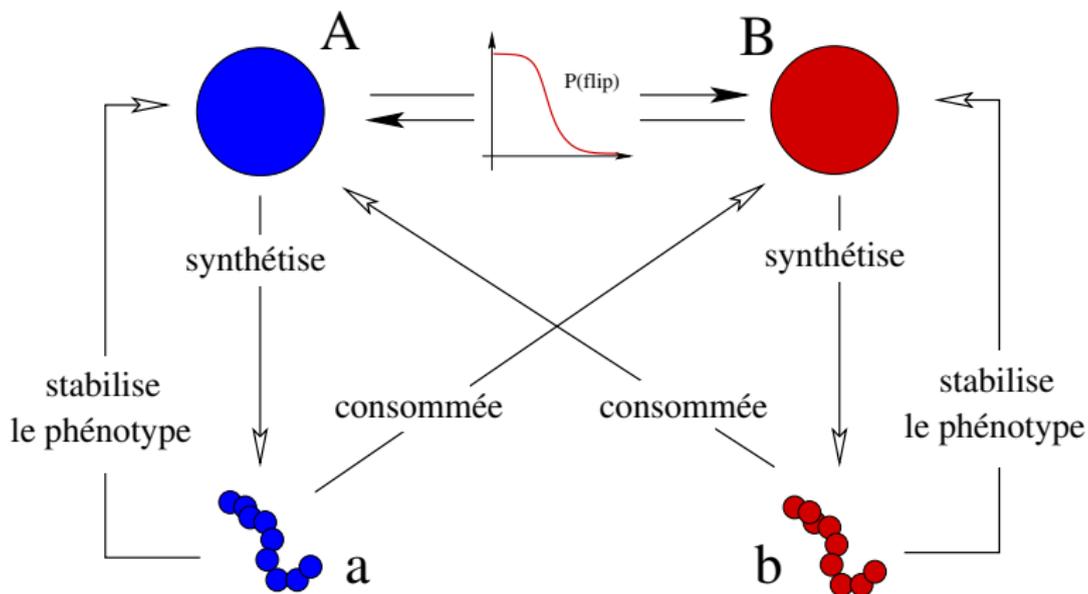
# Stochasticité et Différenciation Cellulaire

- Element clef dans l'organisation d'un organisme pluricellulaire : embryogenèse, apparition de structures
- Hypothèse de J-J. Kupiec (1981) :  
Modèle **darwinien** de **Hasard-Sélection** expliquer
  - Kupiec, J.J., (1998) Médecine/Science 14 :115-121.
  - Kupiec, J.J., (2004) Syllepse, Paris, pp 237-236.
  - Laforge, B. (2007) Rev. Matière Première.
- Comportements collectifs, rétroactions, syst. non-linéaires.
- **Simulation permet de valider/infirmes les hypothèses des modèles envisagés et dégager leurs propriétés.**

# Exposé

- 1 Problématique : stochasticité et différenciation
- 2 Stochasticité et formation des structures**
- 3 Stochasticité à l'échelle du gène
- 4 Différenciation chez l'embryon de souris
- 5 Liens et Collaborations
- 6 Conclusions et Perspectives

# Automate cellulaire stochastique



# Objectifs et démarche de ces simulations

## ● Objectifs

- Identifier les **propriétés du modèle**
- **Effet de la stochasticité** (néfaste, neutre, bénéfique)
- **Modèle de différenciation** : événements **aléatoires** puis **sélection** des phénotypes résultants : est-ce plausible ?

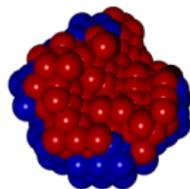
## ● Démarche

- **Automatiser la détection de structures** (problème mathématique complexe : long travail de J. Glisse)
- **Vérification de la robustesse du modèle** (JG)
- **Large explorations de l'espace des paramètres** (JG)

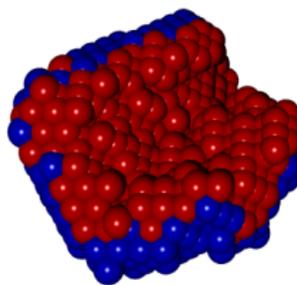
# Croissance spontanée d'une bicouche (2D/3D)



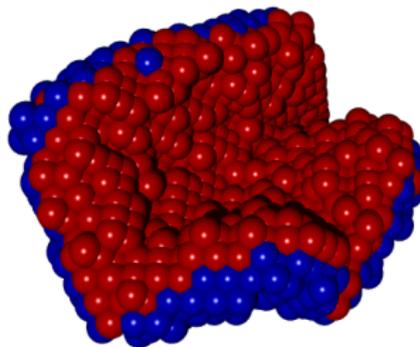
# Croissance spontanée d'une bicouche (2D/3D)



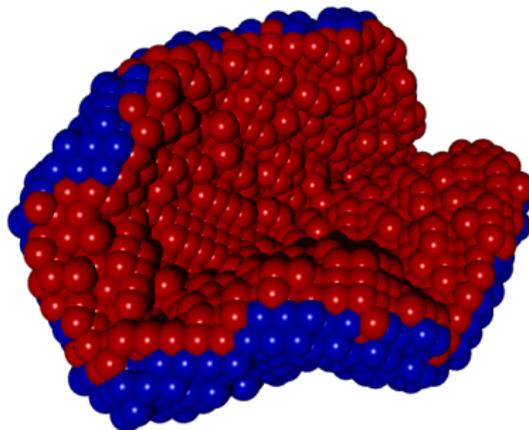
# Croissance spontanée d'une bicouche (2D/3D)



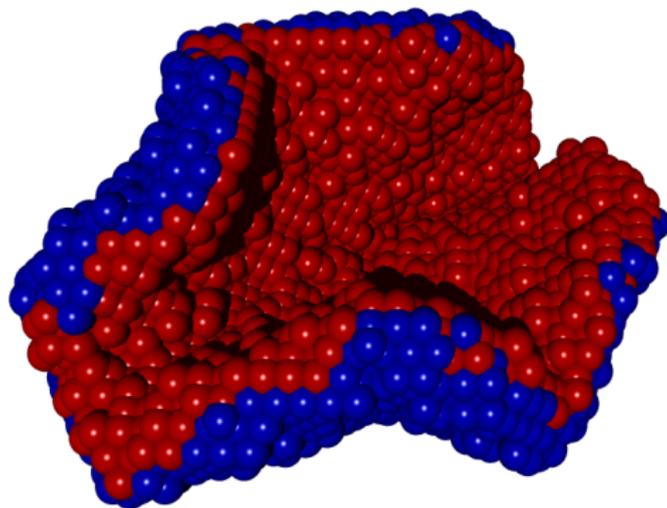
# Croissance spontanée d'une bicouche (2D/3D)



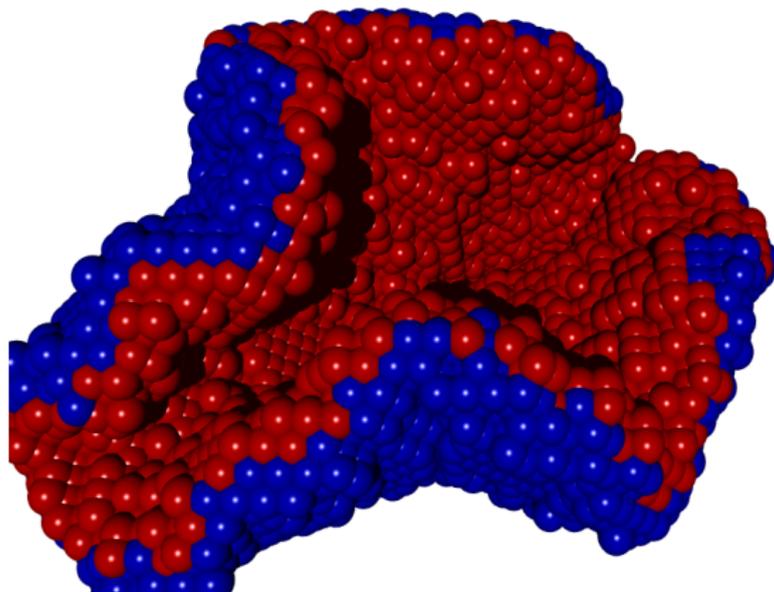
# Croissance spontanée d'une bicouche (2D/3D)



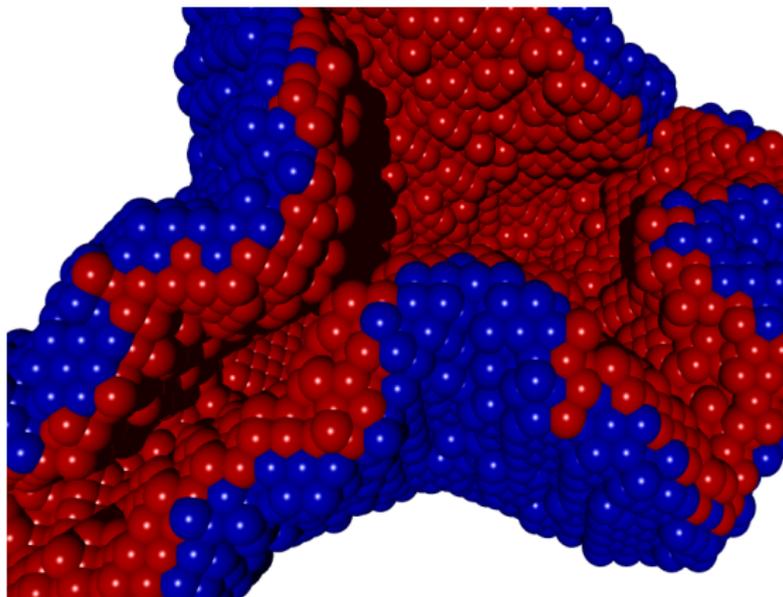
# Croissance spontanée d'une bicouche (2D/3D)



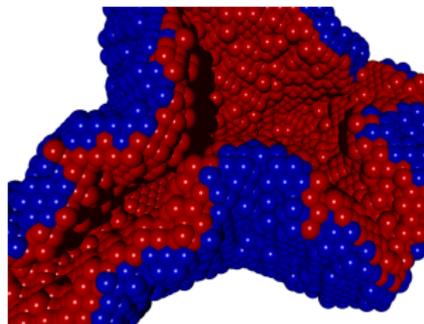
# Croissance spontanée d'une bicouche (2D/3D)



# Croissance spontanée d'une bicouche (2D/3D)



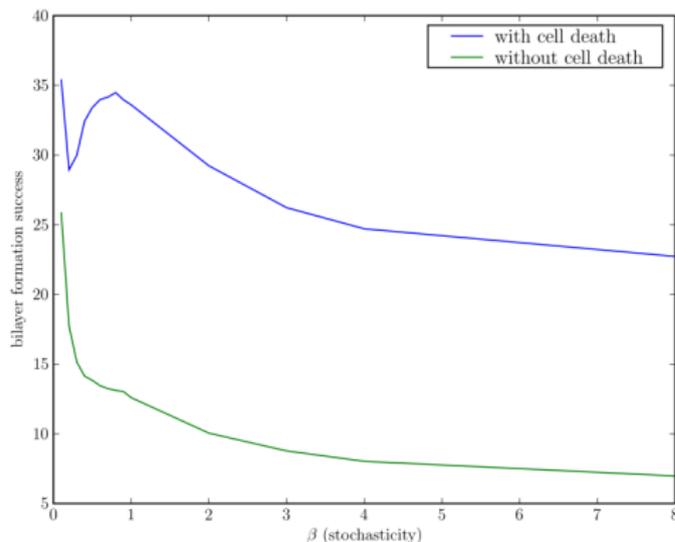
# Croissance spontanée d'une bicouche (2D/3D)



**Modèle aléatoire donnant des structures stables**  
**Arrêt de croissance latérale**

**Laforge *et al.* (2005) *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 89(1) :93-120.**

# Influence de la stochasticité et apoptose

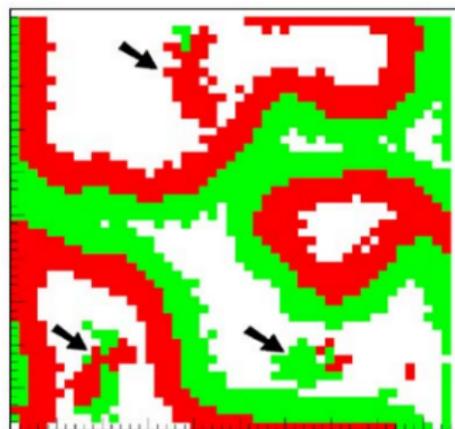
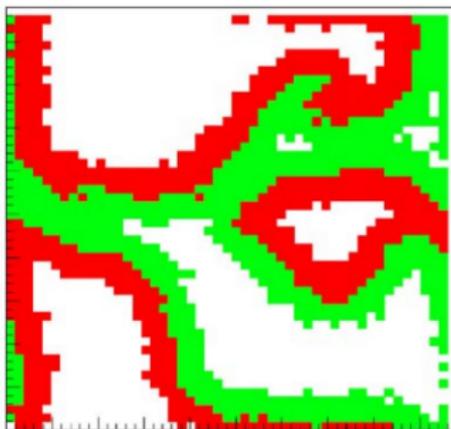


**Stochasticité et apoptose** favorisent la formation de structures.

**Résultat conceptuel :**  
Différenciation/sélection :  
permet de former des  
**structures complexes.**

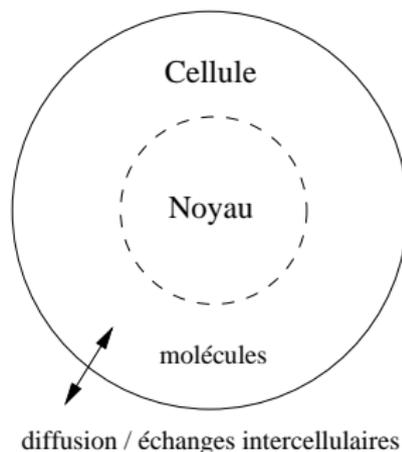
# Robustesse des structures formées

- Résistent à de faibles changements des paramètres.



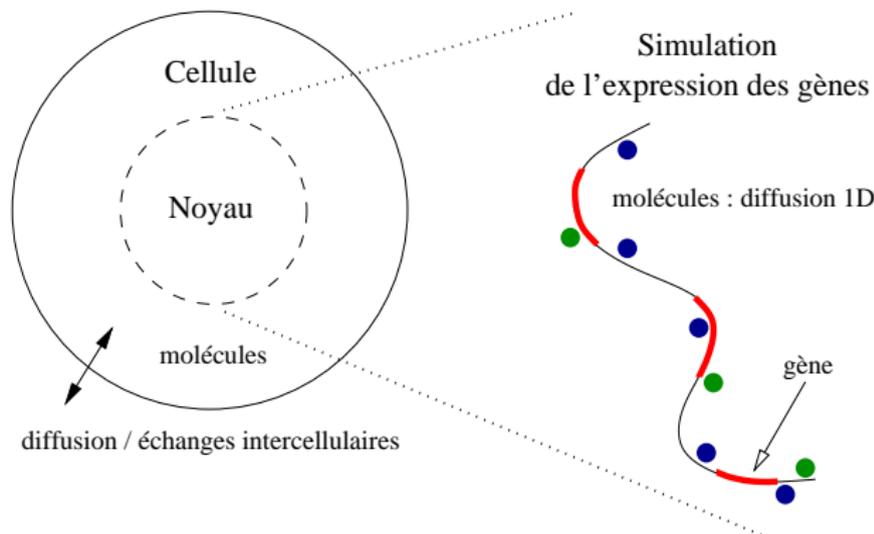
- Reprises de croissance :
  - “évoque”le **cancer**...

# Simulations multi-échelles



- Objectif : **Modéliser la stochasticité dans la cellule**  
(transcription)

# Simulations multi-échelles

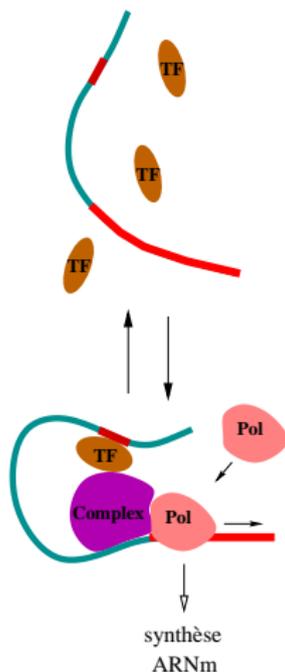


- Objectif : **Modéliser la stochasticité dans la cellule** (transcription)

# Exposé

- 1 Problématique : stochasticité et différenciation
- 2 Stochasticité et formation des structures
- 3 Stochasticité à l'échelle du gène**
- 4 Différenciation chez l'embryon de souris
- 5 Liens et Collaborations
- 6 Conclusions et Perspectives

# Stochasticité de l'expression d'un gène unique



- **dynamique d'activation d'un gène unique**  
Petite étude semi-analytique / simulations
- Modèle simple à deux états ( $p_i$  transitions)  
Minoru S. H. Ko, "A Stochastic Model for Gene Induction" (1991) *J. theor. Biol.* **153**, 181–194.
- Reprise, et modification conséquente des conclusions de Ko :  
relation entre stabilité des liaisons TF-ADN et stabilité niveau d'expression des gènes.
- Publication  
(Journal biologie théorique ?)

# Exposé

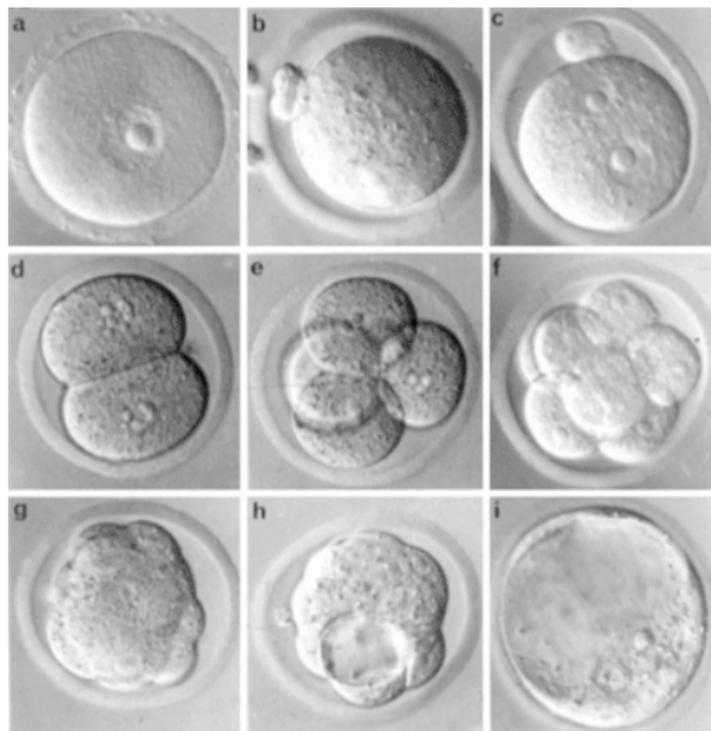
- 1 Problématique : stochasticité et différenciation
- 2 Stochasticité et formation des structures
- 3 Stochasticité à l'échelle du gène
- 4 Différenciation chez l'embryon de souris**
- 5 Liens et Collaborations
- 6 Conclusions et Perspectives

# Différenciation pendant l'embryogénèse

## ● Modélisation de l'embryon de mammifère

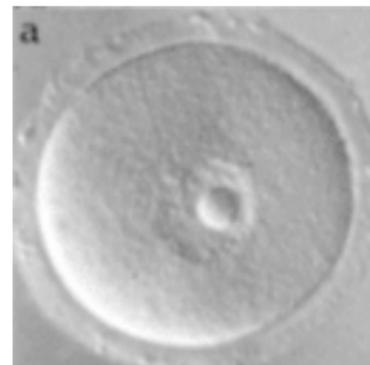
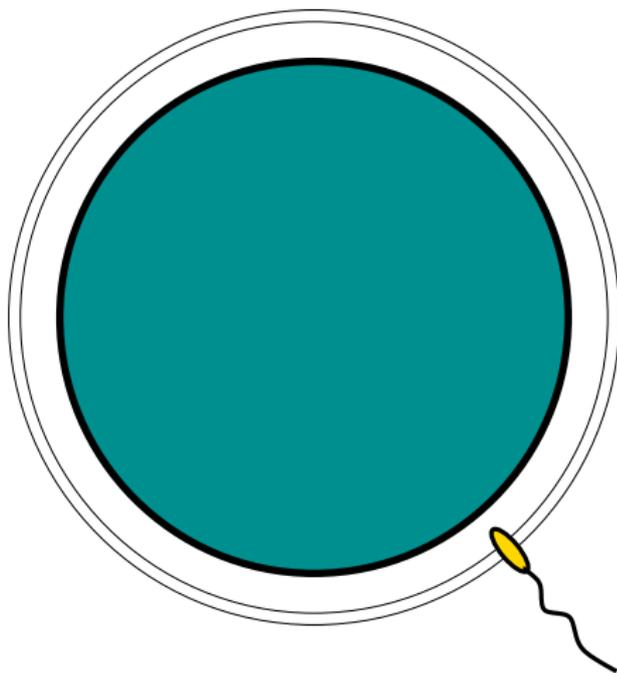
- Motivation : compréhension de la structure (et de la dynamique) de l'embryon avant implantation (premières divisions : stades 1 à 64 cellules).
- Rétro-actions entre configurations géométriques et différenciations.
- Modèle "mécanique" simple des cellules et de l'embryon.
- **Collaboration : Laboratoire de Biologie du Développement (UMR-7622) : équipe Bernard Maro, Sophie Louvet-Vallée, Nicolas Dard.**
- Contacts janv. 2007. Travail exploratoire mars-sept 2007.

# Premières divisions de l'embryon (*Mus musculus*)



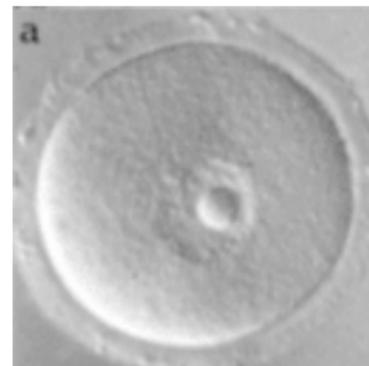
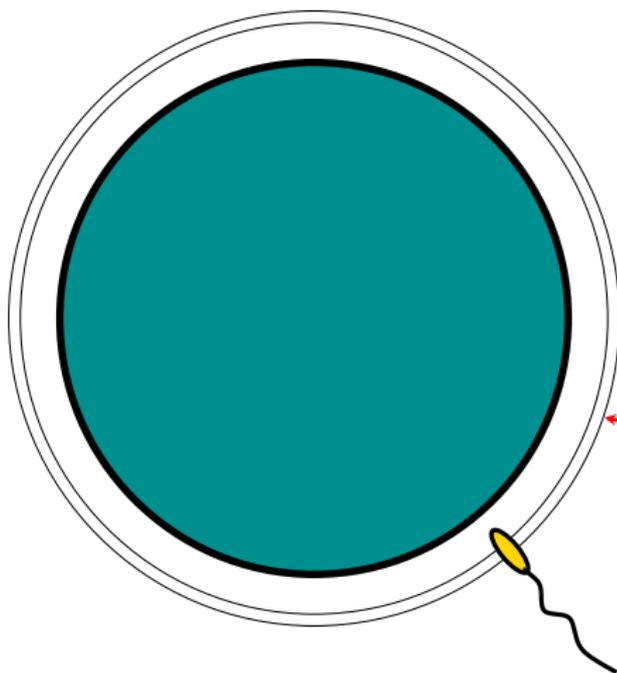
# Premières divisions de l'embryon (*Mus musculus*)

0h



# Stade 1 cellule

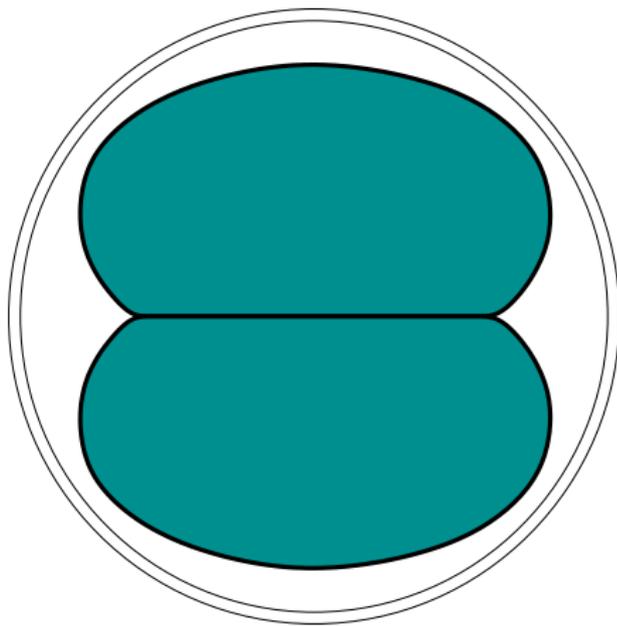
0h



zone pellucide

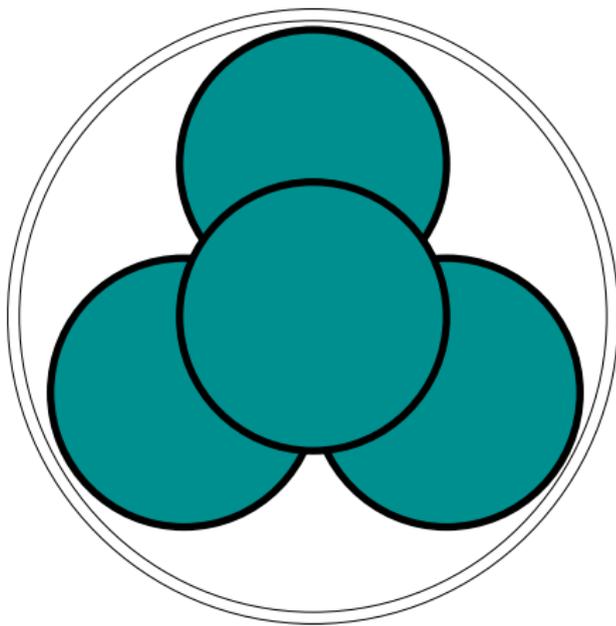
# Stade 2 cellules

24 h



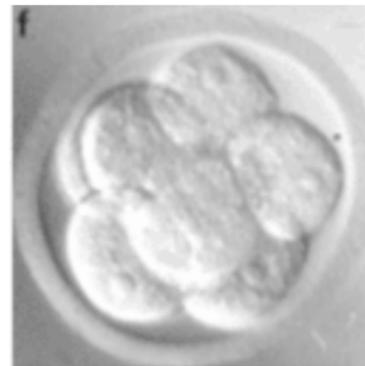
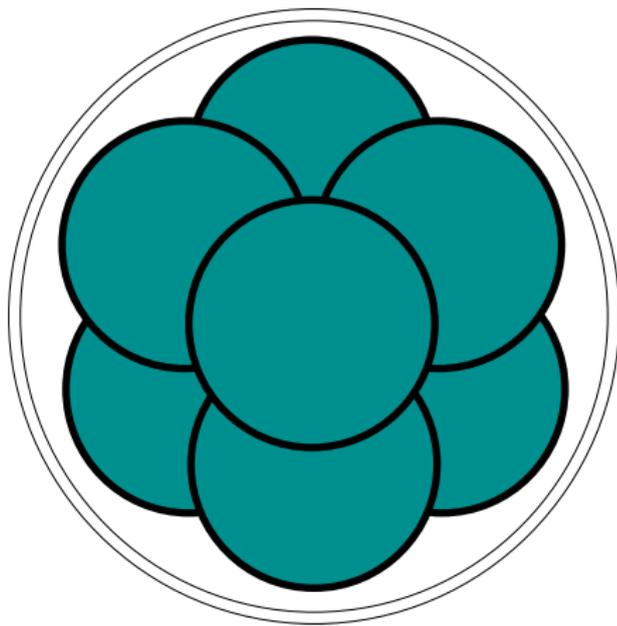
# Stade 4 cellules

36 h



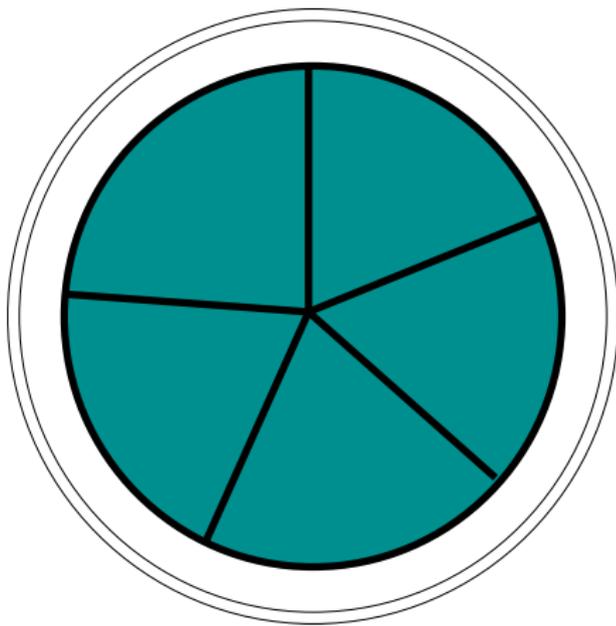
# Stade 8 cellules

48 h



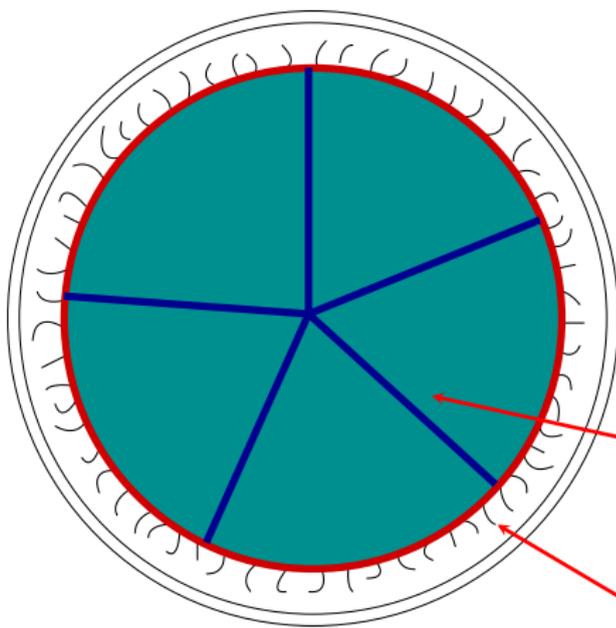
# Stade 8 cellules : compaction

60 h



# Stade 8 cellules : compaction

60 h

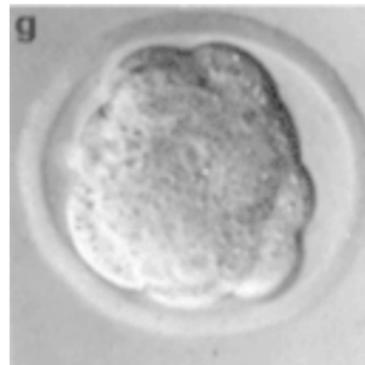
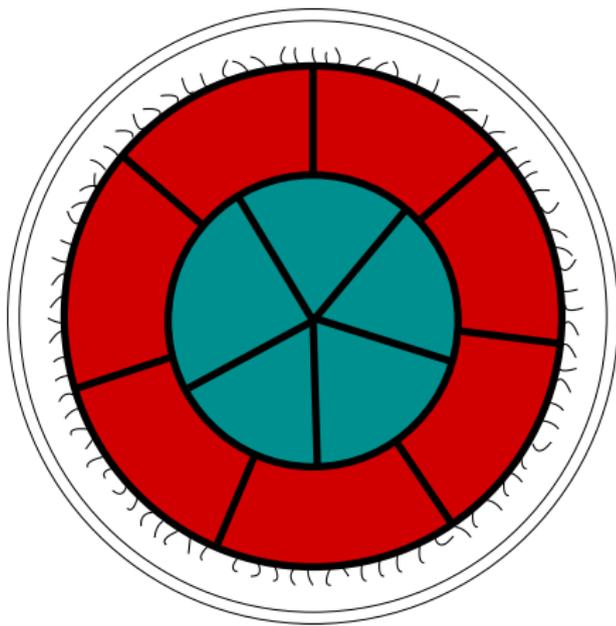


adhésion

vilosités

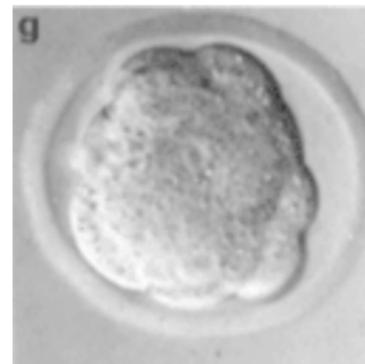
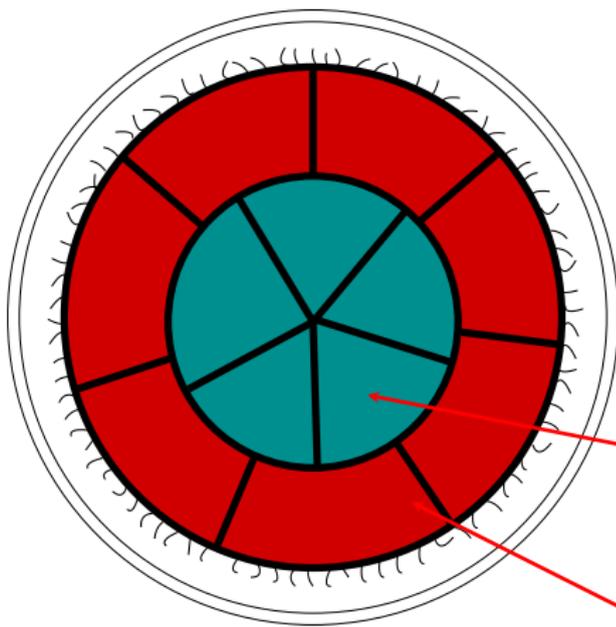
# Stade 16 cellules

72 h



# Stade 16 cellules : première différenciation

72h

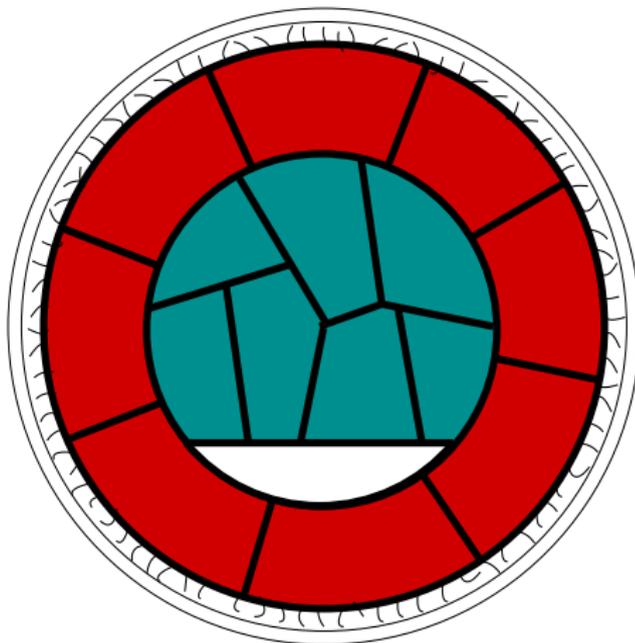


“masse interne”

trophoblaste

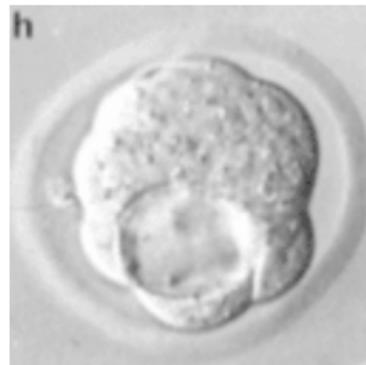
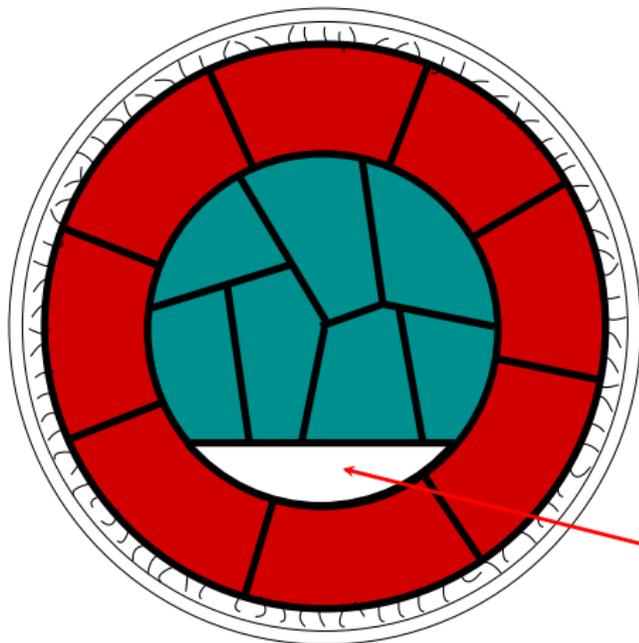
# Stade 32 cellules

84 h



# Stade 32 cellules : cavitation (*blastula*)

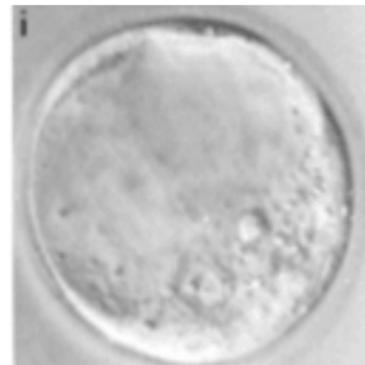
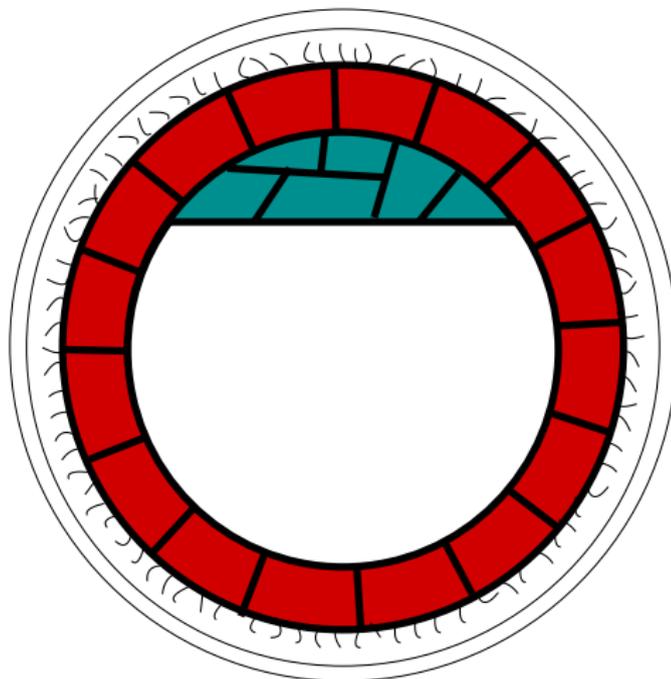
84 h



cavité du blastocyte

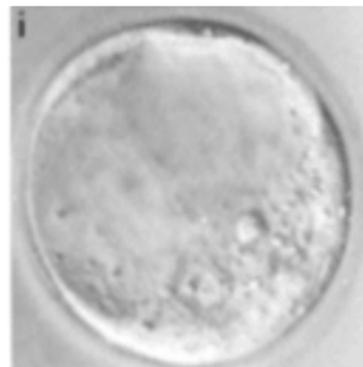
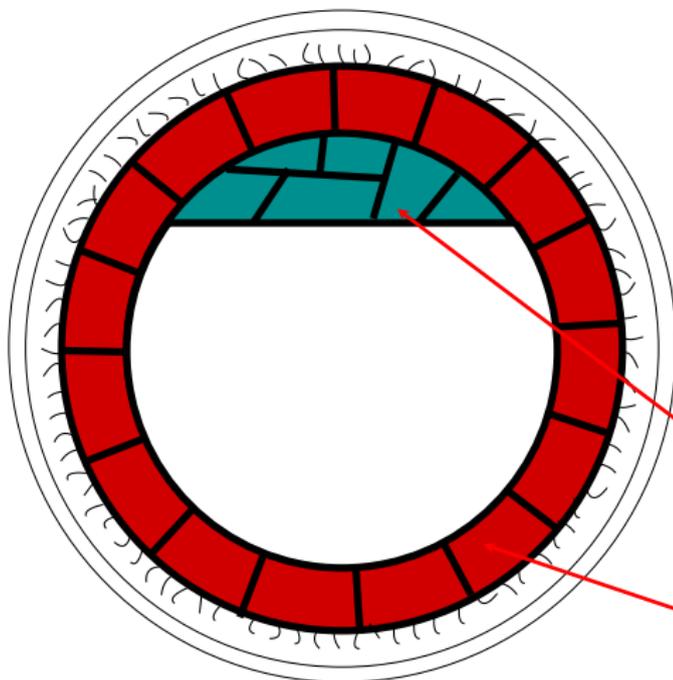
# Stade 64 cellules : cavitation (*blastula*)

96 h



# Stade 64 cellules : cavitation (*blastula*)

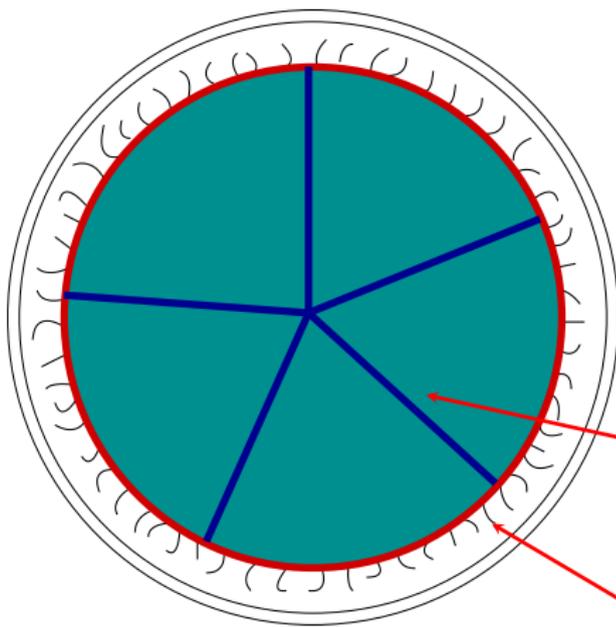
96 h



futur embryon

futur placenta

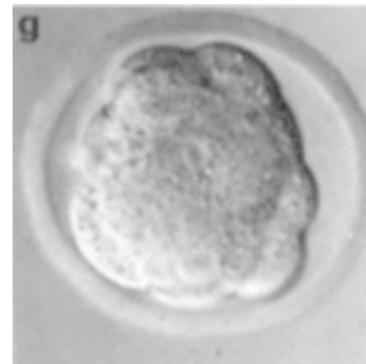
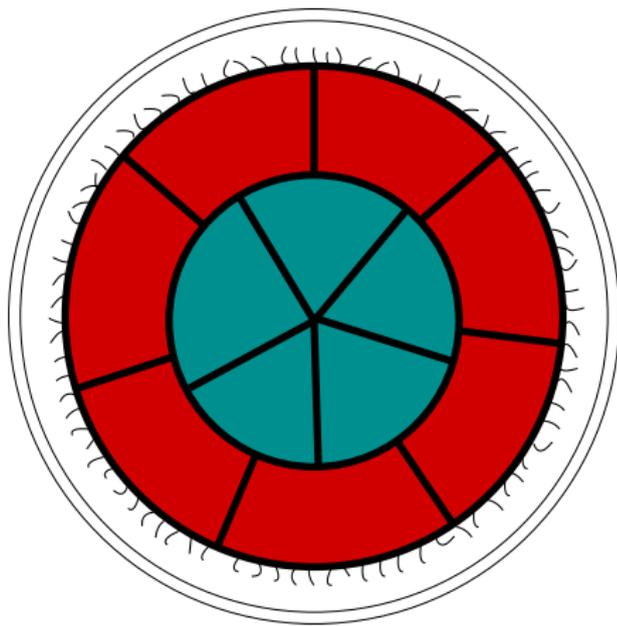
# Différenciation au stade 8/16 cellules



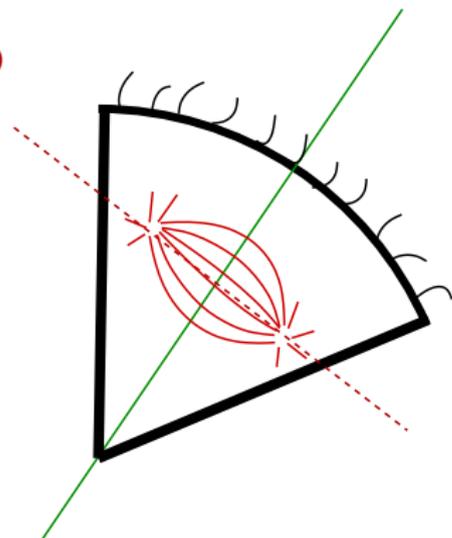
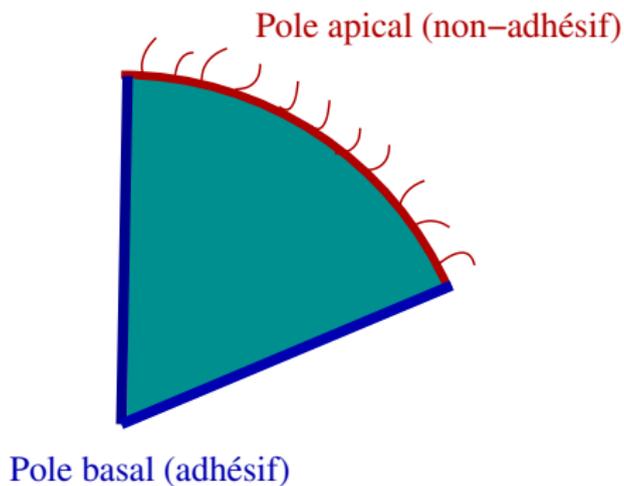
adhésion

vilosités

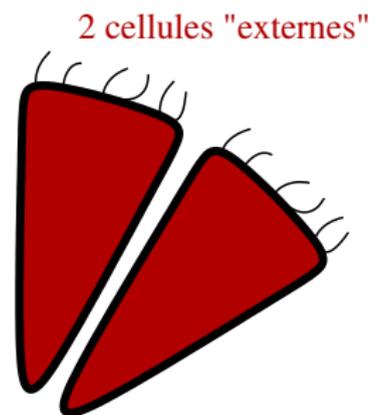
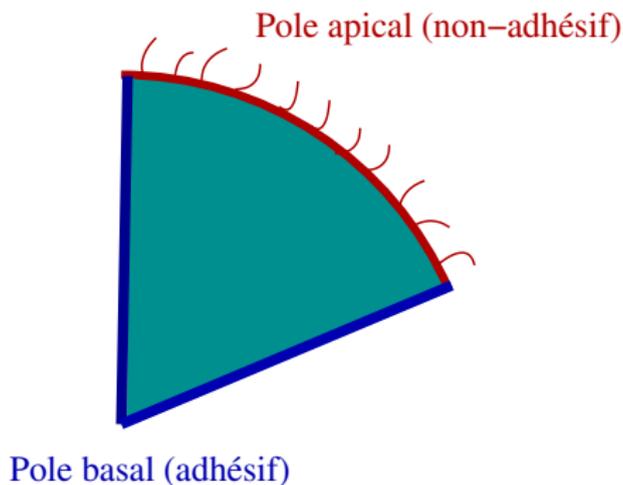
# Différenciation au stade 8/16 cellules



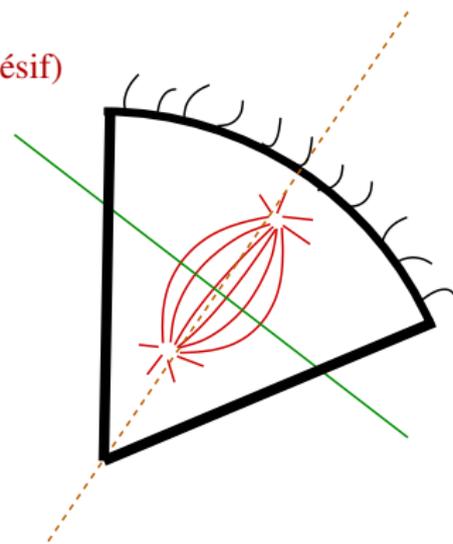
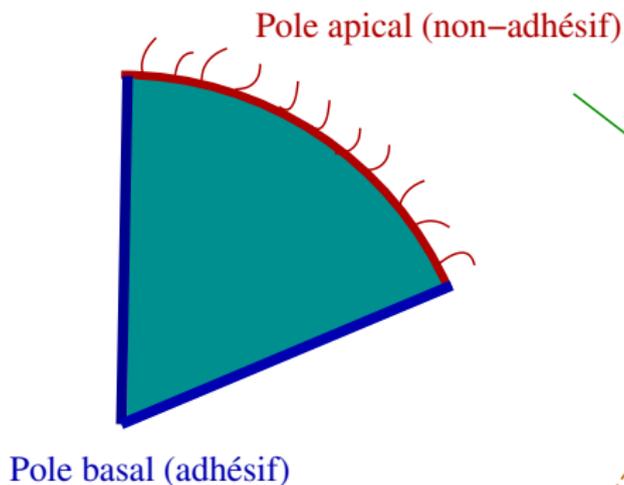
# Stade 8/16 : divisions symétriques



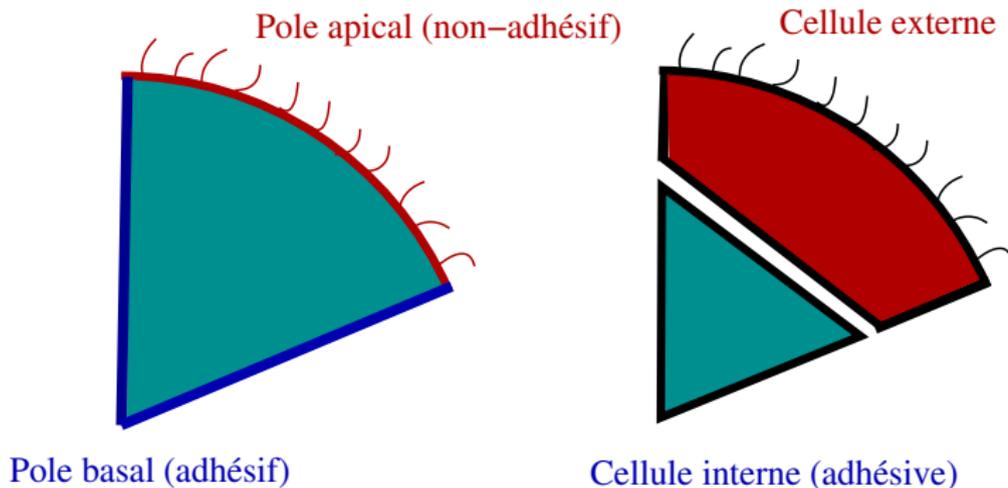
## Stade 8/16 : divisions symétriques



## Stade 8/16 : divisions asymétriques



## Stade 8/16 : divisions asymétriques



# Film

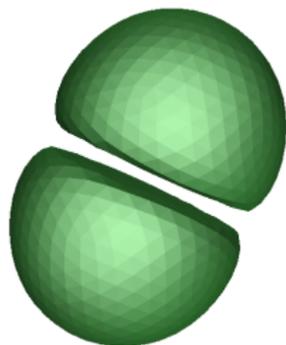
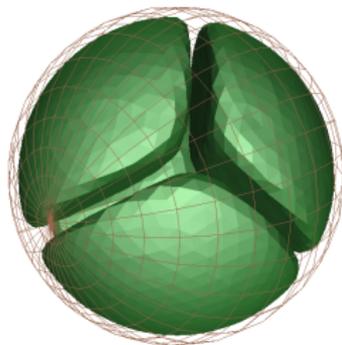
[Film Kurotaki 1]

# Vers un modèle “mécanique” de l’embryon

- **Stade 8/16 cellules** : première différenciation.  
Le destin des cellules dépend fortement de leur localisation dans l’embryon (interne/externe).
  - Cellules internes : **masse interne** (totalement adhésives)
  - Cellules externes : **trophoblaste** (partiellement adhésives)
- Déplacements et **Réorganisation** à chaque division.
- Importance des propriétés d’**adhésion** (membranes).

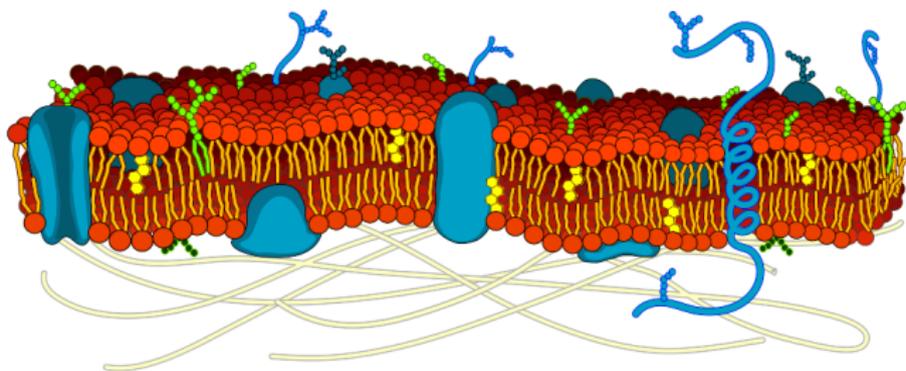
## Intérêt d’un modèle “mécanique” de l’embryon

# Modélisation de l'embryon : méthode et outils



- **Modèle mécanique** de chaque cellule
- **Discrétisation de la membrane**  
(Approche de type “éléments finis”)
- **Simulation dynamique** par pas  $dt$
- **Outils :**
  - C++ (from scratch)
  - Structures math. (polyhèdres) : CGAL
  - Scripts de contrôle (Boost.Python)
  - Visualisation 3D (geomview)

# Modèle : Théorie des membranes cellulaires



Nombreux modèles proposés :  $E = \iint (f_c + \mu) dA + p \iiint dV$

$$f_c = \frac{k_c}{2} (2H + c_0)^2 + \bar{k}K \quad k_c, \bar{k} \simeq 10^{-19} \text{ J} \gg k_B T$$

**Approches variationnelles coûteuses en CPU.**

# Plutôt : construction d'un modèle effectif

- **Modèles étudiés** pour la membrane :
  - Réseaux de masses-ressorts
  - Membranes “liquides” (davantage de plasticité)
  - Nuages de points (+ forces de cohésions)
- **Forces internes et interactions entre cellules** :
  - Pression interne (pression **osmotique**)
  - **Cohésion** de la membrane (lipides + cortex)  
Tension superficielle, élasticité
  - Exigence : membrane aisément **déformable**.
  - **Répulsion** à courte distance (ad hoc)
  - Attraction localisée modulable : **adhésion**

# Premiers “résultats”

- Modélisations différentes des membranes
- Modèles simples fonctionnels
- Cohésion des cellules, pas d'interpénétration
- Adhésion entre cellules (instabilités)
- Zone pellucide (coquille protectrice)
- Modèles de division cellulaire (mitose)

→ Films

# Comment “Calibrer” le modèle

- **Propriétés connues des bicouches de lipides :**
  - Composition en lipides, densité, élasticité
  - tension superficielle  $\mu$ , courbure  $c_0$ ,  $k_c$
  - Concentrations et pression osmotique intra-cellulaire.
- **Résultats expérimentaux sur l'embryon :**
  - **Configurations géométriques** adoptées *in vivo*  
Imagerie, Dynamique (films), données microscopie confocale
  - **Statistiques** sur des embryons (normaux et modifiés)
- Si nécessaire, ajustement des paramètres effectifs

# Objectif de la collaboration sur l'embryon

- **Rendre compte des premiers stades de l'embryon**
  - Avec un modèle **mécanique** : contraintes, déplacements, axe des divisions, intensité de l'adhésion
  - Minimum d'hypothèses "biologiques"  
(économie en "signaux", cascades, concepts ésotériques)
- **Intégrer la différenciation cellulaire**
  - Production et diffusion de protéines clefs
  - différenciation, stabilisation des (2,3) types cellulaires  
(couplages/rétroactions simples : expérience des bicouches)
- **Interactions (dans les 2 sens) avec l'expérience**
- **Vers des expériences *in silico* ?** Collègues enthousiastes

# Exposé

- 1 Problématique : stochasticité et différenciation
- 2 Stochasticité et formation des structures
- 3 Stochasticité à l'échelle du gène
- 4 Différenciation chez l'embryon de souris
- 5 Liens et Collaborations**
- 6 Conclusions et Perspectives

# Collaborations & Liens

- **Formations de structures : “Bicouches”** :  
J-J. Kupiec (Centre Cavallès). Codirection thèse J. Glisse.  
Status : collaboration finissante (fin thèse, article).
- **Embryon de Souris** : B. Maro, S. Louvet-Vallée, N. Dard  
Lab. de Biologie du Développement (UMR-7622 P6)  
Status : collaboration depuis mars 2007, Echanges riches.
- **Myoblastes** : A. Paldi, D. Stockholm (Généthon, Evry)  
Status : contacts réguliers (jan 2007). À concrétiser.
- **Groupe SMA-Bio** : modélisation multiagents en biologie.  
Participation, coordination (B.L).

# Exposé

- 1 Problématique : stochasticité et différenciation
- 2 Stochasticité et formation des structures
- 3 Stochasticité à l'échelle du gène
- 4 Différenciation chez l'embryon de souris
- 5 Liens et Collaborations
- 6 Conclusions et Perspectives**

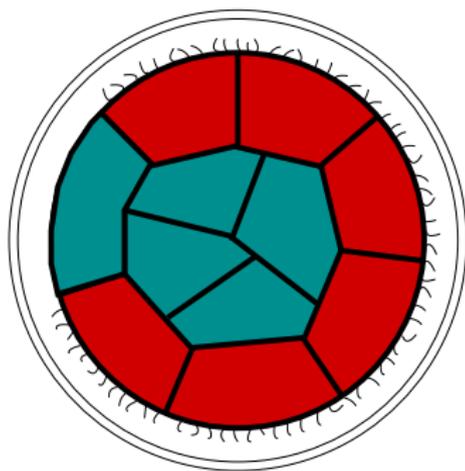
# Perspectives

- 1 **Bicouches** : thèse J .Glisse (2008) et 2nd article.
- 2 Modèle **multi-échelle** : poursuite, **article** (modèle Ko).
- 3 Modèle **Embryon Souris** (UMR-7622) : développements
  - Confrontation **données expérimentales**  
(imagerie confoc., prop. mécaniques membranes, mitose)
  - Objectif : **scénario “physique” du développement**  
avec **hypothèses biologiques minimales**
  - moyen terme : **publications conjointes.**
- 4 Comportement **myoblastes** (Généthon).

# “Mutants” partiels/complets sans aPKC $\lambda$

- **Suppression de l'aPKC $\lambda$**  (atypical protein kinase C  $\lambda$ )
- Molécule liée aux propriétés adhésives.
- Injection d'un répresseur :
  - Dans l'oeuf
  - Au stade 2-cellules (dans une des deux)
- Organisation et géométrie sont affectées.

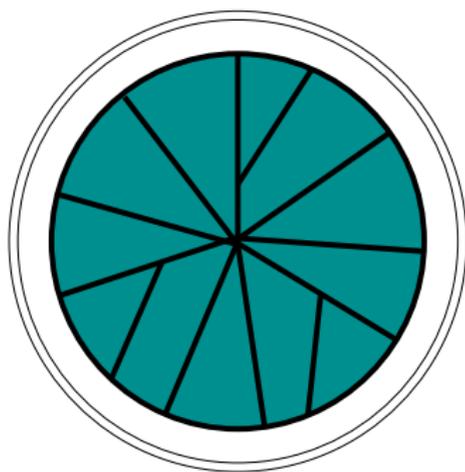
# “Mutants” sans aPKC $\lambda$ dans 50% des cellules



Absence de aPKC $\lambda$  dans 1/2 des cellules

**Les cellules sans aPKC $\lambda$  tendent à devenir internes**

# “Mutants” sans aPKC $\lambda$



Absence de aPKC $\lambda$  dans  
toutes des cellules

**Les cellules présentent  
toutes une face externe !!!**

0 ou 1 cellule intérieure :  
configurations très différentes.

# Rôle de aPKC $\lambda$

- **Hypothèse : absence de aPKC $\lambda$  donne des cellules uniformément adhésives sur toute leur surface.**
  - Au contact avec des cellules normales, les cellules sans aPKC $\lambda$  tendent à être internes ;
  - Si aucune cellule n'exprime aPKC $\lambda$ , la physique peut-elle expliquer les configurations obtenues (0 ou 1 cellule intérieure) ?
- **Intérêt pour la simulation !**
  - Construire un modèle physique simple
  - Essayer de rendre compte et prédire l'organisation de l'embryon en fonction des propriétés d'adhésion.

# Modélisation physique de l'embryon

- **Rôle clef de la membrane**

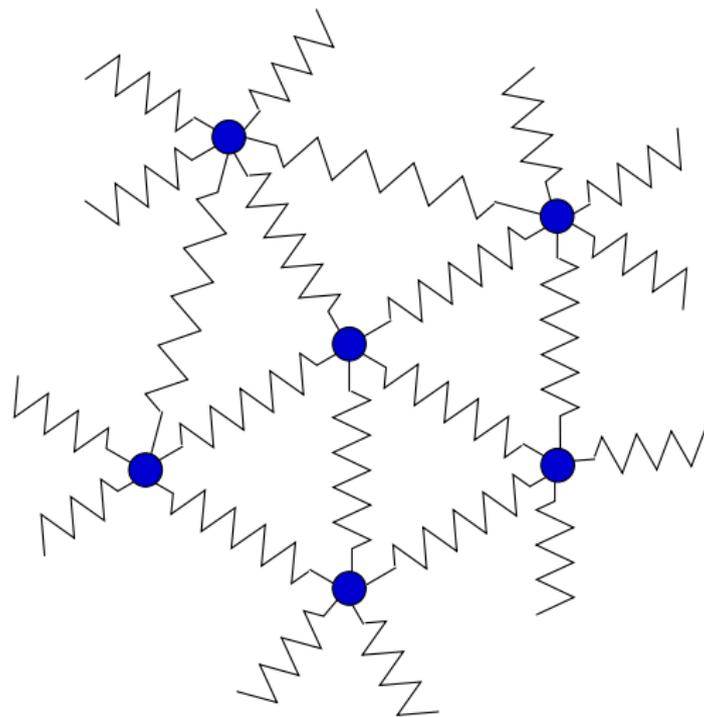
- Description mécaniquement des cellules comme des enveloppes aux propriétés simples.
- Simplification outrancière : intérieur décrit par un terme de pression (pression osmotique, cytosquelette, etc.)

- **Modèle mécanique de membrane**

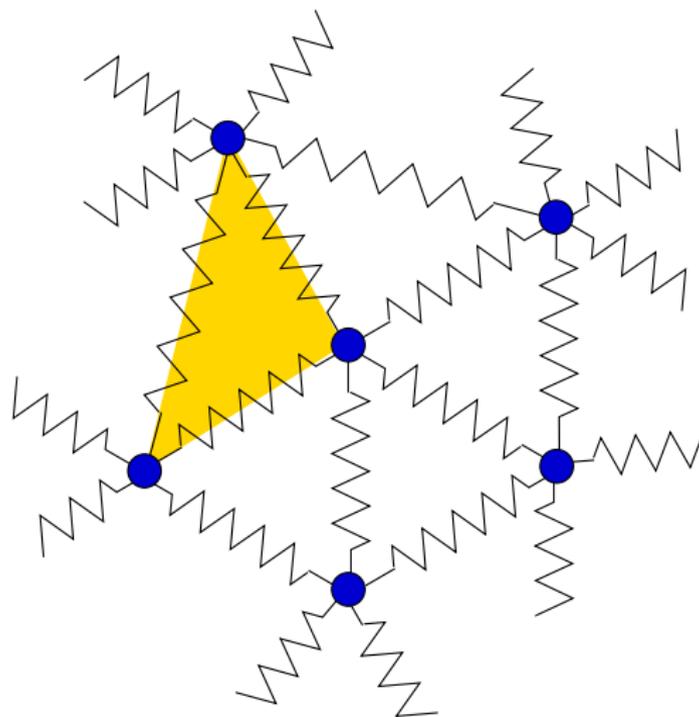
Elasticité, rigidité, etc.

- Discrétisation. Intégration type “éléments finis”.
- Travail réalisé avec M. Anoufa et V. Sylva stagiaires M1 Physique P. & M. Curie (Paris 6).

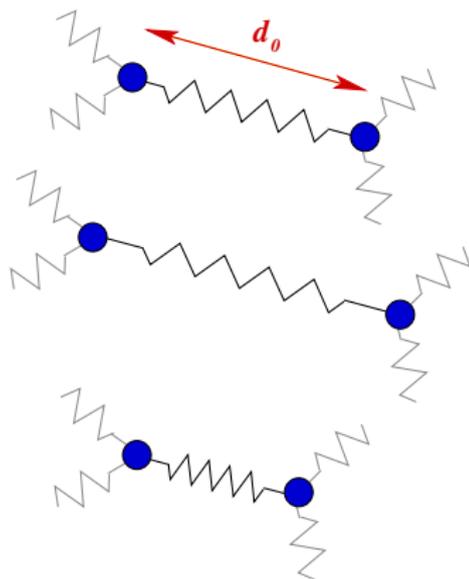
# Cohésion/Elasticité : 1<sup>er</sup> modèle : ressorts



# Cohésion/Elasticité : 1<sup>er</sup> modèle : ressorts



# Elasticité : 1<sup>er</sup> modèle : masses-ressorts

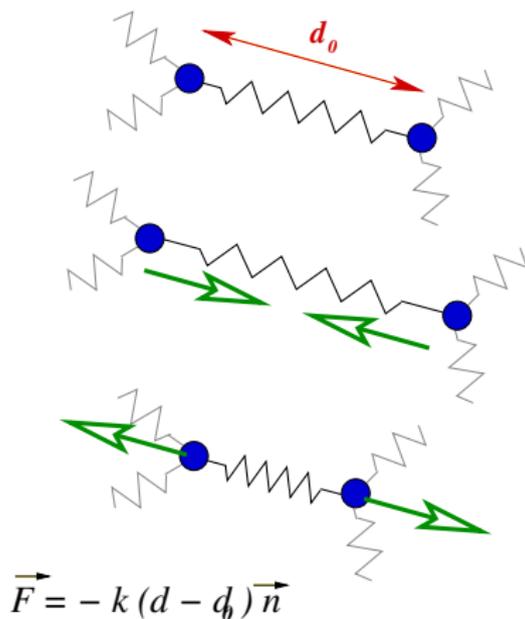


- Modèle de ressorts
- Tension

$$\vec{F} = -k(d - d_0)\vec{n}$$

- Trop rigide : membrane insuffisamment déformable

# Elasticité : 1<sup>er</sup> modèle : masses-ressorts

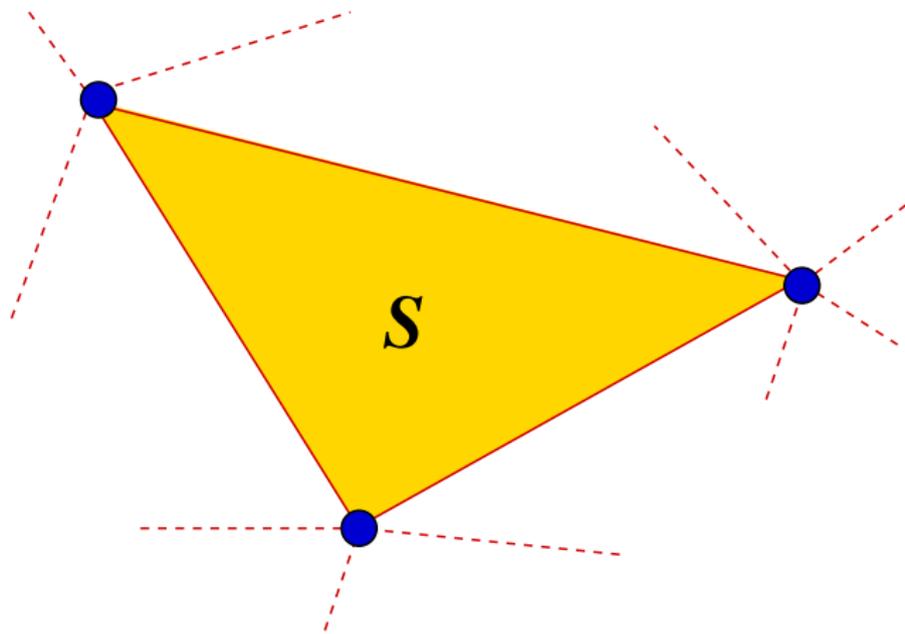


- Modèle de ressorts
- Tension

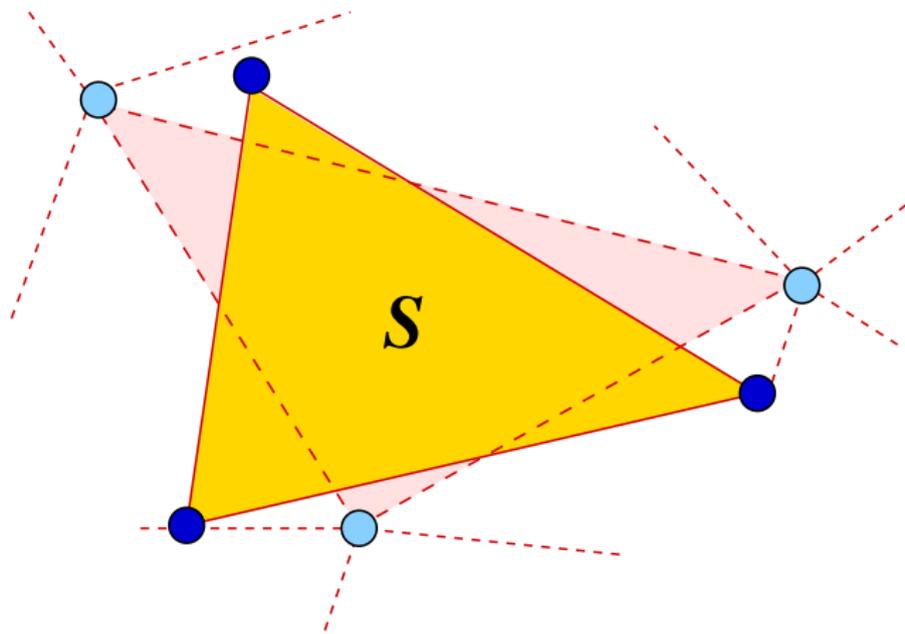
$$\vec{F} = -k(d - d_0)\vec{n}$$

- Trop rigide : membrane insuffisamment déformable

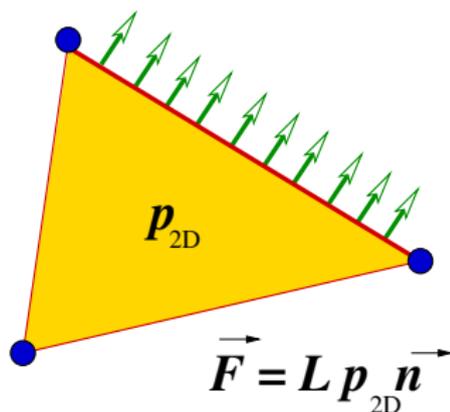
# Modèle de la membrane : membrane "liquide" 2D



# Modèle de la membrane : membrane "liquide" 2D



# Modèle de la membrane : membrane “liquide” 2D

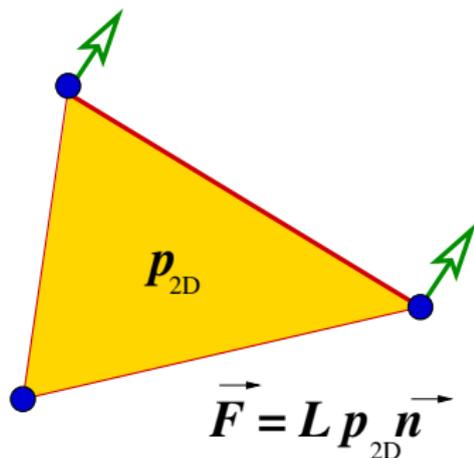


- Liquide 2D

$$p_{2D} = -\frac{1}{\chi} \log \left( \frac{S_0}{S} \right)$$

- Intégration sur l'arête
- Répartition sur les deux sommets
- **Membrane aisément déformable**

# Modèle de la membrane : membrane “liquide” 2D

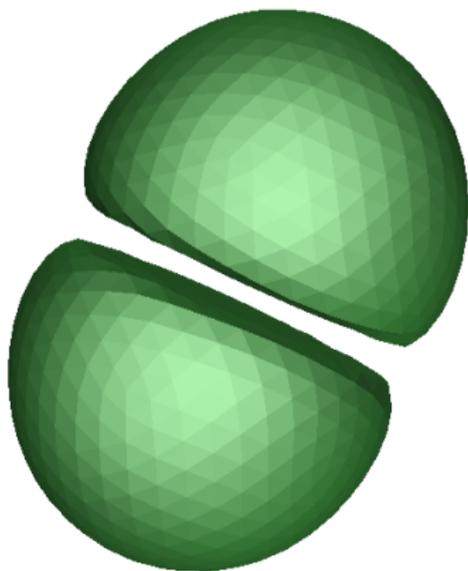


- Liquide 2D

$$p_{2D} = -\frac{1}{\chi} \log \left( \frac{S_0}{S} \right)$$

- Intégration sur l'arête
- Répartition sur les deux sommets
- **Membrane aisément déformable**

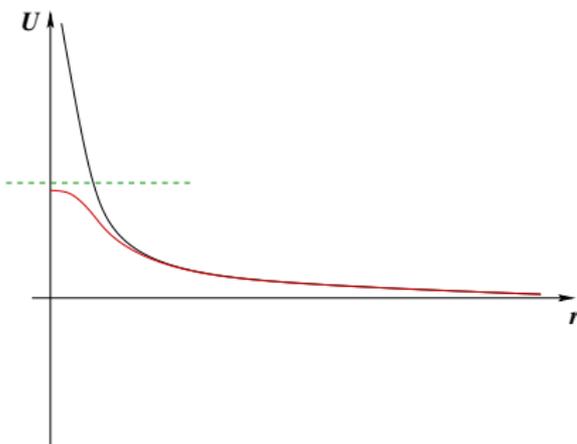
# Interpénétration des membranes



- Objets géométriques :  
Interpénétration des objets
- Force répulsive à très  
courte distance (échelle de  
discrétisation)
- Ecrêtage pour  $r \rightarrow 0$   
(éviter les divergences)

Film 1-c-plan

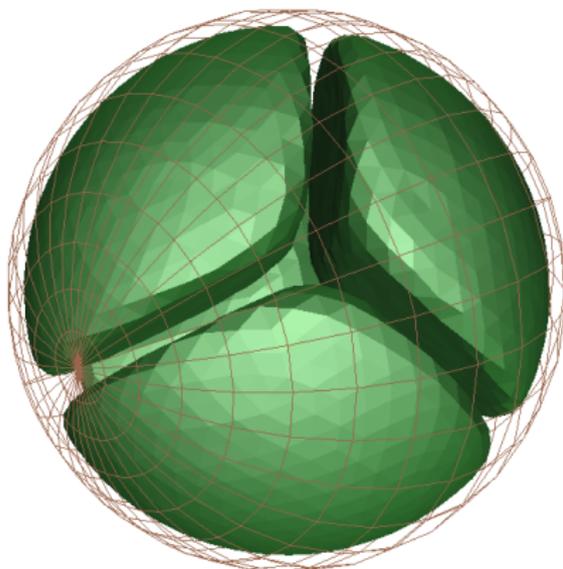
# Interpénétration des membranes



- Objets géométriques :  
Interpénétration des objets
- Force répulsive à très  
courte distance (échelle de  
discrétisation)
- Ecrêtage pour  $r \rightarrow 0$   
(éviter les divergences)

Film 1-c-plan

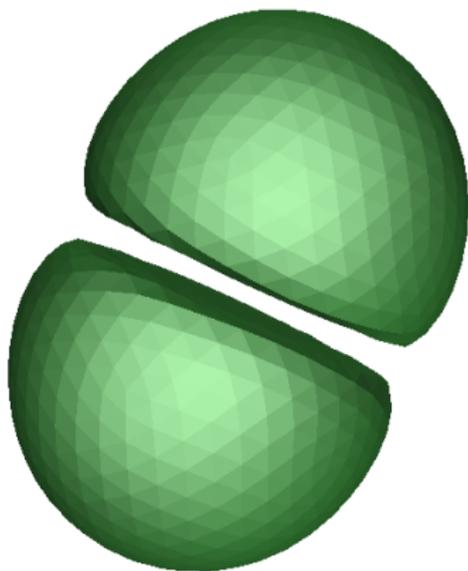
# Zone pellucide



- Zone pellucide sphérique/ellipsoïdale : Force répulsive à courte portée
- À raffiner :
  - la zone pellucide se déforme ;
  - grand axe corrélé avec l'axe E-Ab (Kurotaki, Science 2007)

Film 2-c, 4-c

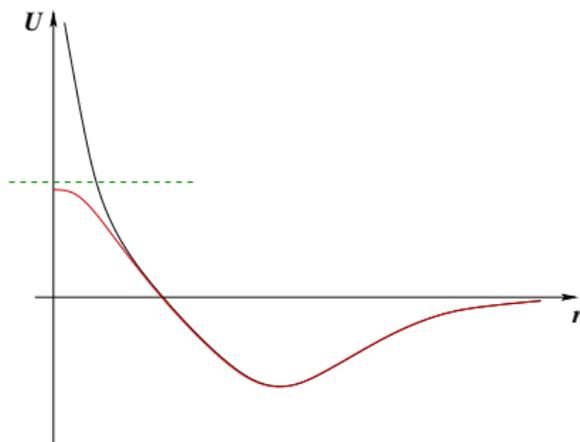
# Adhésion entre membranes



- Adhésion spécifique (protéines)
- Force adhésive localisée
- Combinaison cohérente avec répulsion

Films adh-1-c-p adh-2-c

# Adhésion entre membranes



- Adhésion spécifique (protéines)
- Force adhésive localisée
- Combinaison cohérente avec répulsion

Films adh-1-c-p adh-2-c

# Modélisation de la mitose

- Problème difficile
- Premières divisions à volume constant

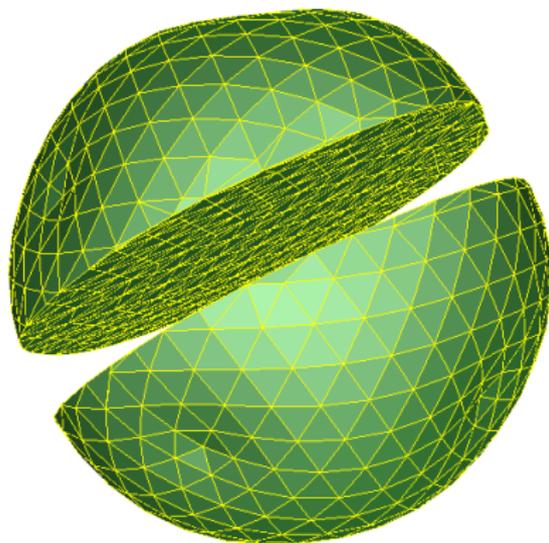
- chaque division :

$$S_{n+1} = 2^{-2/3} S_n$$

$$\sum S_{n+1} = 2^{1/3} \sum S_n$$

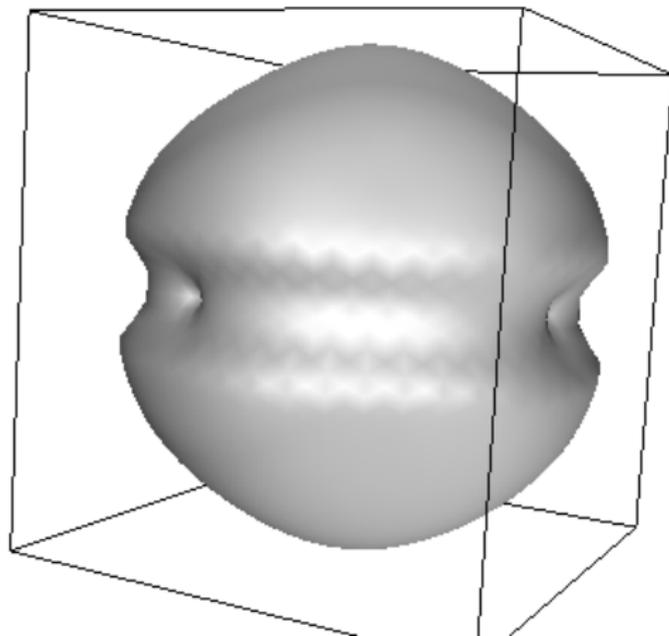
- Synthèse de bicouche lipidique
- Problèmes géométriques : topologie modifiée.
- Conservation des propriétés dynamiques (relaxation après séparation : énergie cinétique libérée)

# Mitose par découpe

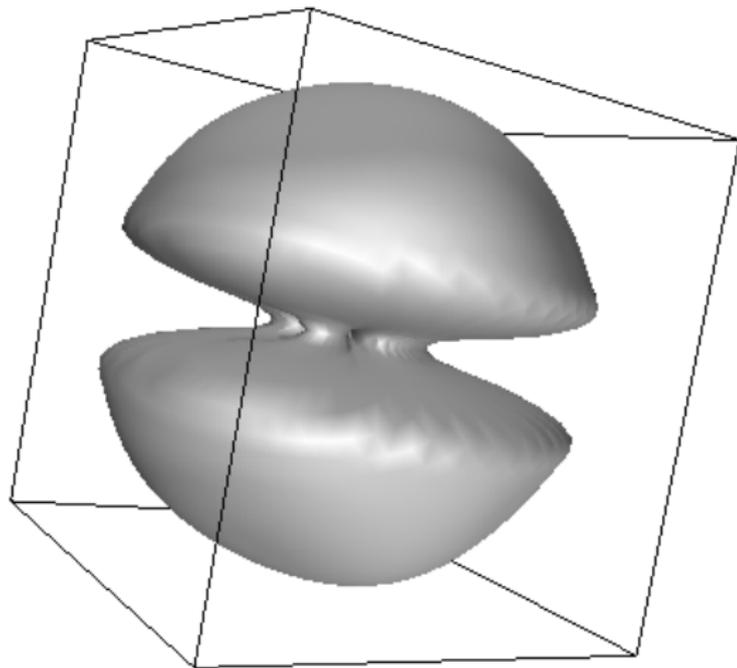


- Simple découpe géométrique
- Complétion de la membrane (quantité ? dynamique ?)
- Découpe de la triangulation
- Instabilités (singularité)
- Insatisfaisant.

# Mitose par strangulation



# Mitose par strangulation



# Etat - Limites du modèle

- Elements développés - modèle complet au stade 8/16 en cours de construction.
- Limites liées à la discrétisation :
  - Distances (potentiels) typiques  $>$  triangulation
  - Grille plus fine : Coût en temps de calcul
- Membrane “liquide” :
  - Triangles étirés (rigidité artificielle)
  - Algorithme stable de redécoupage régulier. (en cours - Delaunay)
  - Redécoupage : conserv. masse et quantité de mouvement. Eviter couplage avec la dynamique.