

Application de la relativité d'échelle chez l'amibe *Dictyostelium discoideum*

Relativité d'échelle en biologie.

Eric Eveno^{*}, Charles Auffray^{*}, Laurent Nottale^{*,**}

** Génomique Fonctionnelle et Biologie Systémique pour la Santé, CNRS Institut des Sciences Biologiques - 7, rue Guy Moquet, BP8, 94801 Villejuif, France. Tel : 01 49 58 34 97; e-mail : eeveno@vjf.cnrs.fr, charles.auffray@vjf.cnrs.fr*

*** Laboratoire Univers et Théories - Observatoire de Paris-Meudon, CNRS Institut des Sciences de l'Univers et Université Paris Diderot - 5, place Jules Janssen, 92190 Meudon, France. Tel : 01 45 07 74 03 ;e-mail : laurent.nottale@obspm.fr*

RÉSUMÉ L'amibe *Dictyostelium discoideum* est un organisme modèle qui présente de nombreux aspects pouvant être soumis à une description relative d'échelle : changement de niveau d'organisation lors du passage de l'état unicellulaire à l'état pluricellulaire; mouvement collectif des cellules lors de la morphogenèse, interactions avec l'environnement, etc. Nous proposons d'utiliser les concepts et les outils mathématiques de la théorie de la relativité d'échelle afin d'améliorer les modèles décrivant le développement et l'auto-organisation de *Dictyostelium*. Nous commencerons par une tentative d'extension d'un modèle qui rend compte de manière incomplète de l'agrégation cellulaire, avant d'aborder les autres étapes de la morphogenèse. Notre approche vise à intégrer dans un cadre commun les modèles existants, qui sont fondés sur des principes différents, afin de surmonter leurs limites. Les prédictions qui seront dérivées des modèles étendus seront ensuite validées expérimentalement dans des conditions normales et perturbées, soit en agissant sur l'environnement cellulaire, soit en utilisant des mutants affectant des réseaux biologiques spécifiques. L'imagerie à haute résolution spatiale et temporelle sera utilisée pour tester la validité de la modélisation relative d'échelle.

ABSTRACT The amoeba *Dictyostelium discoideum* is a model organism with many aspects that can be subjected to a scale relative description: changing organization level during the transition from the unicellular to the multicellular state, movement of collective cells during morphogenesis, interactions with the environment, etc. We propose to use the concepts and mathematical tools of scale relativity theory to improve models describing the development and self-organization of *Dictyostelium*. We will begin by extending a model that reflects cell aggregation incompletely, before tackling the other stages of morphogenesis. Our approach aims at integrating within a common framework existing models, which are based on different principles, in order to overcome their limitations. The predictions derived from extended models will then be validated experimentally in normal and disturbed conditions, either by acting on the cellular environment or by using mutants that affect specific biological networks. Imaging at high spatial and temporal resolution will be used to test the validity of the scale relative model.

MOTS-CLÉS : biologie des systèmes, relativité d'échelle, modélisation, chimiotactisme, *Dictyostelium*, AMPc

KEYWORDS: systems biology, scale relativity, modeling, chemotactism, *Dictyostelium*, c AMP

1.Introduction

Le développement rapide au cours du siècle passé d'une variété de méthodes et de puissants outils d'analyse ont permis de mieux comprendre la nature et les relations entre les éléments constitutifs des systèmes biologiques. Toutefois, il est clair que malgré les importantes avancées de ces dernières décennies, l'accumulation des connaissances s'est révélée nécessaire mais insuffisante pour appréhender la complexité des systèmes biologiques (Aebersold *et al.* 2009, Auffray *et al.* 2003). Nous considérons que ceci est dû à l'absence d'une théorie générale fondatrice, manque qui pourrait être comblé par la théorie de la relativité d'échelle qui semble être très bien adaptée pour fournir un cadre conceptuel pour l'intégration multi-échelle en biologie(Nottale 1993).

La théorie de la relativité d'échelle est une extension des théories de la relativité par l'application du principe de la relativité, non seulement aux transformations de position et de mouvement, mais également aux transformations d'échelle. Dans ce cadre étendu, la longueur d'une courbe fractale est dépendante de la résolution et augmente de façon significative lorsque la résolution utilisée tend vers zéro. Ce résultat fondamental (Mandelbrot 1982), étendu en relativité d'échelle à l'espace puis à l'espace-temps, produit de nouveaux outils géométriques pour une description physique généralisée (Auffray *et al.* 2008, Nottale *et al.* 2008).

Dans cet article, nous nous intéressons à la modélisation du passage à la multicellularité de *Dictyostelium discoideum*. *Dictyostelium* est un organisme modèle pour la recherche biologique, qui présente des avantages uniques pour l'étude de nombreux processus biologiques fondamentaux (Goldbeter *et al.* 1977, Gross 1994). En effet, *Dictyostelium* démontre un niveau de complexité plus grand que les levures et permet d'étudier des réseaux qui sont plus difficiles à aborder chez des plantes ou des animaux encore plus complexes (Williams *et al.* 2006). Le récent séquençage du génome de *Dictyostelium* et la dérivation du répertoire complet de ses protéines offrent une nouvelle perspective pour la biologie cellulaire et l'étude du développement multicellulaire (Eichinger *et al.* 2005).

Tous les processus biologiques importants sont étudiés chez *Dictyostelium*, y compris le chimiotactisme (Janetopoulos *et al.* 2008), la polarité cellulaire (Williams *et al.* 2003), ou certains aspects du développement comme l'auto-organisation (Sawai *et al.* 2005). Cependant, l'originalité de *Dictyostelium* est qu'il présente un cycle de développement et de morphogenèse qui passe d'un organisme unicellulaire à un organisme multicellulaire en fonction des conditions de son environnement. *Dictyostelium* se comporte individuellement lorsque l'environnement est suffisamment riche en éléments nutritifs ; quand l'environnement nutritif s'appauvrit, les cellules se rassemblent et forment un organisme multicellulaire dans

3 Relativité d'échelle en biologie

lequel les cellules sont déterminées et se différencient en des types de cellules dotées de fonctions distinctes.

Le passage de l'état unicellulaire à pluricellulaire (agrégation de *Dictyostelium*) est actuellement lié à l'adénosine monophosphate cyclique (AMPc) en tant que molécule signal. Une cellule, "fondatrice de la colonie", se met à sécréter de l'AMPc en réponse au stress. D'autres cellules détectent ce signal et réagissent en se déplaçant vers les fortes concentrations d'AMPc, tout en produisant de l'AMPc pour amplifier le signal. L'effet de cette amplification est la production d'une vague d'AMPc (Muller et al. 1998, Steinbock et al. 1993). L'analyse des interactions moléculaires, cellule-cellule et des ondes d'AMPc est l'objet d'une recherche active depuis plus de 30 ans, fondée sur la création de modèles mathématiques (Dormann et al. 2001, Dormann et al. 2006, Goldbeter et al. 1988, Tomlin et al. 2007).

De nombreux modèles récents tentent d'expliquer les phénomènes observés par la sensibilité des cellules au gradient d'AMPc. Ces modèles considèrent que les cellules sont sensibles aux signaux extra-cellulaires et produisent en réponse des signaux asymétriques amplifiés. Le modèle connu sous le nom de rétroaction positive (positive feedback) est fondé sur l'amplification sélective de la molécule signal à une extrémité de la cellule afin d'améliorer la réponse cellulaire (Gilman *et al.* 2002, Weiner *et al.* 2002). D'autres modèles considèrent une action positive sur l'avant de la cellule combinée avec une action négative sur l'arrière de la cellule (Postma *et al.* 2001, Postma *et al.* 2004). Ces modèles sont compatibles avec une amplification rétroactive positive considérable. Toutefois, ils ne permettent pas d'expliquer l'évolution rapide de la direction des cellules, puisqu'ils sont relativement indépendants de la perception initiale du signal. Quoi qu'il en soit, différentes variantes de ces modèles ont été utilisées pour expliquer la sensibilité des cellules et la polarisation spontanée (Narang 2006, Subramanian *et al.* 2004).

D'autres modèles sont fondés sur l'interaction entre un activateur et un inhibiteur de contrôle dans l'espace (Levchenko *et al.* 2002, Levine *et al.* 2006, Rappel *et al.* 2002). Dans ces modèles de « Local Excitation and Global Inhibition (LEGI) », les propriétés d'adaptation chimiotactique du système peuvent être modélisées en termes d'une excitation combinée avec un ralentissement rapide de l'inhibition (Janetopoulos *et al.* 2004, Levine *et al.* 1996, Parent *et al.* 1999). C'est la différence entre ces deux processus qui contrôle la réponse cellulaire, de telle manière que l'état d'équilibre des niveaux d'excitation et d'inhibition est lié à des récepteurs communs, bien que les cinétiques soient différentes. L'activateur se lie à la membrane, à un taux proportionnel au degré de l'activation des récepteurs. Ainsi, l'activateur est plus lié à l'avant qu'à l'arrière de la cellule par rapport à la source du chimio-attractant et l'inhibiteur répond à l'activité du récepteur. L'activité de l'inhibiteur est donc proportionnelle à la concentration moyenne de l'attractant dans la cellule. Généralement, l'inhibiteur est supposé être une protéine à diffusion rapide ou de petites molécules, situées soit sur la membrane, soit dans le cytoplasme. La cellule détermine son avant et son arrière en comparant la concentration de

l'activateur sur la membrane par rapport à la concentration de l'inhibiteur. À l'avant, la concentration de l'activateur est supérieure à l'inhibiteur, et *vice versa* à l'arrière.

La popularité du modèle LEGI est qu'il repose sur un mécanisme simple pour expliquer comment une cellule peut distinguer l'avant et l'arrière à partir d'un signal commun. Ce modèle prédit la réponse temporelle et spatiale de la cellule aux stimuli. Ainsi, le modèle LEGI est capable de simuler la plupart des réponses observées à une stimulation uniforme de Dictyostelium, y compris l'abondance des protéines du cytosquelette et l'activation des voies de signalisation. Mais ce modèle montre des limites, avec des différences inexplicables entre simulation et expérimentation en ce qui concerne les intensités de polarisation de la cellule et les processus qui surviennent lors d'une stimulation non uniforme. Il faut également noter que la protéine responsable de l'inhibition reste hypothétique, n'ayant pas encore été identifiée expérimentalement. Enfin, un modèle qualitatif qui ne nécessite pas d'inhibition globale a été proposée pour la polarisation des neutrophiles (Onsum *et al.* 2007, Rickert *et al.* 2000). Il implique un antagonisme réciproque entre l'état de « frontness » et « backness » des cellules.

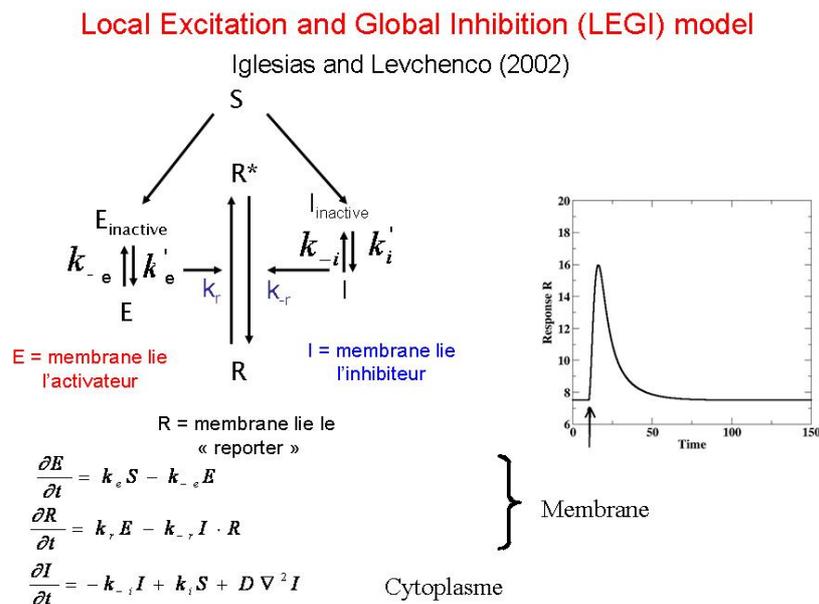


Fig 1. L'élément de réponse peut se trouver dans l'un des deux états: actif (R^*), ou inactif (R). Les transitions entre ces deux états sont catalysées par l'excitateur (E) et l'inactivateur, dont le niveau est réglé par le signal S . A droite, exemple de prévision de l'adaptation du système décrit par l'augmentation de S au temps $t=10$ indiqué par la flèche.

2. Perspective et Discussion

Comme l'indique H. Levine dans son article de 2006: « les modèles actuels, toutefois, ne peuvent pas encore offrir une explication complète des données expérimentales » (Levine *et al.* 2006). Dans une tentative de dépasser ces limitations, nous proposons donc d'étudier l'effet du chimiotactisme et la transition vers la multicellularité chez Dictyostelium avec les concepts et les outils de la théorie de la relativité d'échelle par deux approches différentes. ADDINADDIN

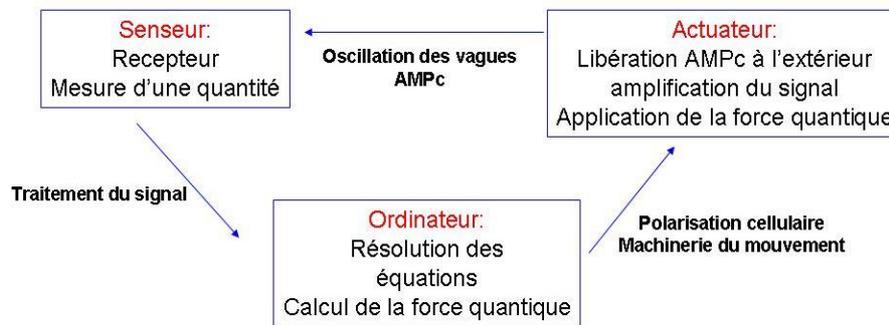


Fig 2. Proposition de modèle de relativité d'échelle

- **Le senseur** : mesurer à l'aide des récepteurs de la membrane externe une quantité qui joue le rôle de la densité. Cette quantité peut être une densité de matière (concentration d'AMPc), ou une force liée au champ oscillatoire des vagues d'AMPc pendant un intervalle de temps.
- **L'ordinateur** : calculer à partir de ces mesures le potentiel quantique et la force quantique pour chaque intervalle de temps.
- **L'actuateur** : appliquer la nouvelle valeur du potentiel ou de la force quantique au système pour chaque intervalle de temps. L'application continue de cette boucle permettrait donc de simuler la présence d'un potentiel quantique, de sorte que le système deviendrait descriptible par une équation de type Schrödinger.

La première voie d'approche est basée sur la réécriture et l'extension du modèle LEGI (Fig. 1) avec les outils de la relativité d'échelle. Si on observe les équations utilisées par Iglesias and Levchenko (Levchenko *et al.* 2002), on remarque qu'elles ont une forme proche d'équations de la diffusion.

La réécriture du modèle LEGI avec les outils de la relativité d'échelle devra faire apparaître de nouveaux termes dans les équations, introduisant explicitement la

6 Premières Rencontres d'Avignon (2007-2009) autour de la Relativité d'Echelle
Sous la direction de L. Nottale et Ph. Martin

résolution spatiale ou temporelle sous forme de variables d'échelle. Ces nouveaux termes variables permettront peut être d'expliquer le fait que le modèle LEGI représente bien les données expérimentales de la dynamique de la réponse à un stimulus, mais ne représente pas l'amplitude observée du potentiel de polarisation. La prise en compte de l'échelle de résolution dans les équations permettra peut-être de corriger cette différence.

La deuxième voie d'approche, à l'inverse de la première, ne part pas directement d'un modèle pré-existant, mais découle des principes premiers de la relativité d'échelle qui implique l'existence d'un dédoublement des vitesses. La résolution de ces équations dans un modèle de boucle de rétro-action (Nottale *et al.* 2008) (Fig. 2) pourrait fournir un modèle étendu pour la prédiction de l'agrégation cellulaire au cours du cycle de développement de Dictyostelium.

Dans un premier temps, ce modèle de l'agrégation cellulaire chez Dictyostelium visera à expliquer le passage de la forme amibe unicellulaire à la forme multicellulaire spiralée plate. Par analogie avec des problèmes similaires en physique (caractère ondulatoire du champ électromagnétique qui transporte l'interaction coulombienne), on pourra utiliser la concentration d'AMPc extérieur oscillante comme un champ de force oscillant ayant pour centre la première cellule. L'augmentation de la force de ce champ serait liée au nombre de cellules qui atteignent le centre en fonction du temps, permettant d'identifier éventuellement un potentiel quantique lié à la densité des cellules. Dans un deuxième temps, la prise en compte de ce potentiel quantique pourrait expliquer le passage de la forme multicellulaire plate à la forme multicellulaire de type limace. Si les prédictions du modèle s'avèrent représentatives des données expérimentales, elles seront validées expérimentalement dans des conditions normale et/ou perturbée à l'aide de l'imagerie spatiale et temporelle à haute résolution, afin de tester et faire évoluer le modèle, puis de l'étendre à la transition vers les formes tige et plante de Dictyostelium.

3. Références

- Aebersold, R., Auffray, C. *et al.* (2009) "Report on EU-USA workshop: how systems biology can advance cancer research (27 October 2008)". *Mol Oncol*, 3, 9-17.
- Auffray, C., Imbeaud, S., Roux-Rouquie, M. and Hood, L. (2003) "From functional genomics to systems biology: concepts and practices". *C R Biol*, 326, 879-92.
- Auffray, C. and Nottale, L. (2008) "Scale relativity theory and integrative systems biology: 1. Founding principles and scale laws". *Prog Biophys Mol Biol*, 97, 79-114.
- Dormann, D., Kim, J. Y., Devreotes, P. N. and Weijer, C. J. (2001) "cAMP receptor affinity controls wave dynamics, geometry and morphogenesis in Dictyostelium". *J Cell Sci*, 114, 2513-23.
- Dormann, D. and Weijer, C. J. (2006) "Imaging of cell migration". *EMBO J*, 25, 3480-93.
- Eichinger, L., Pachebat, J. A. *et al.* (2005) "The genome of the social amoeba Dictyostelium discoideum". *Nature*, 435, 43-57.

- Gilman, A. G., Simon, M. *et al.* (2002) "Overview of the Alliance for Cellular Signaling". *Nature*, 420, 703-6.
- Goldbeter, A. and Segel, L. A. (1977) "Unified mechanism for relay and oscillation of cyclic AMP in Dictyostelium discoideum". *Proc Natl Acad Sci U S A*, 74, 1543-7.
- Goldbeter, A., Decroly, O. *et al.* (1988) "Finding complex oscillatory phenomena in biochemical systems. An empirical approach". *Biophys Chem*, 29, 211-7.
- Gross, J. D. (1994) "Developmental decisions in Dictyostelium discoideum". *Microbiol Rev*, 58, 330-51.
- Janetopoulos, C., Ma, L., Devreotes, P. N. and Iglesias, P. A. (2004) "Chemoattractant-induced phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate accumulation is spatially amplified and adapts, independent of the actin cytoskeleton". *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101, 8951-6.
- Janetopoulos, C. and Firtel, R. A. (2008) "Directional sensing during chemotaxis". *FEBS Lett*, 582, 2075-85.
- Levchenko, A. and Iglesias, P. A. (2002) "Models of eukaryotic gradient sensing: application to chemotaxis of amoebae and neutrophils". *Biophys J*, 82, 50-63.
- Levine, H., Aranson, I., Tsimring, L. and Truong, T. V. (1996) "Positive genetic feedback governs cAMP spiral wave formation in Dictyostelium". *Proc Natl Acad Sci U S A*, 93, 6382-6.
- Levine, H., Kessler, D. A. and Rappel, W. J. (2006) "Directional sensing in eukaryotic chemotaxis: a balanced inactivation model". *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103, 9761-6.
- Muller, S. C., Mair, T. and Steinbock, O. (1998) "Traveling waves in yeast extract and in cultures of Dictyostelium discoideum". *Biophys Chem*, 72, 37-47.
- Narang, A. (2006) "Spontaneous polarization in eukaryotic gradient sensing: a mathematical model based on mutual inhibition of frontness and backness pathways". *J Theor Biol*, 240, 538-53.
- Nottale, L. 1993. "*fractal space-time and microphysics; towards a theory of scale relativity*". World scientific.
- Nottale, L. and Auffray, C. (2008) "Scale relativity theory and integrative systems biology: 2. Macroscopic quantum-type mechanics". *Prog Biophys Mol Biol*, 97, 115-57.
- Onsum, M. and Rao, C. V. (2007) "A mathematical model for neutrophil gradient sensing and polarization". *PLoS Comput Biol*, 3, e36.
- Parent, C. A. and Devreotes, P. N. (1999) "A cell's sense of direction". *Science*, 284, 765-70.
- Postma, M. and Van Haastert, P. J. (2001) "A diffusion-translocation model for gradient sensing by chemotactic cells". *Biophys J*, 81, 1314-23.
- Postma, M., Roelofs, J. *et al.* (2004) "Sensitization of Dictyostelium chemotaxis by phosphoinositide-3-kinase-mediated self-organizing signalling patches". *J Cell Sci*, 117, 2925-35.
- Rappel, W. J., Thomas, P. J., Levine, H. and Loomis, W. F. (2002) "Establishing direction during chemotaxis in eukaryotic cells". *Biophys J*, 83, 1361-7.
- Rickert, P., Weiner, O. D. *et al.* (2000) "Leukocytes navigate by compass: roles of PI3Kgamma and its lipid products". *Trends Cell Biol*, 10, 466-73.
- Sawai, S., Thomason, P. A. and Cox, E. C. (2005) "An autoregulatory circuit for long-range self-organization in Dictyostelium cell populations". *Nature*, 433, 323-6.
- Steinbock, O., Siegert, F., Muller, S. C. and Weijer, C. J. (1993) "Three-dimensional waves of excitation during Dictyostelium morphogenesis". *Proc Natl Acad Sci U S A*, 90, 7332-5.
- Subramanian, K. K. and Narang, A. (2004) "A mechanistic model for eukaryotic gradient sensing: spontaneous and induced phosphoinositide polarization". *J Theor Biol*, 231, 49-67.
- Tomlin, C. J. and Axelrod, J. D. (2007) "Biology by numbers: mathematical modelling in developmental biology". *Nat Rev Genet*, 8, 331-40.
- Weiner, O. D., Neilsen, P. O. *et al.* (2002) "A PtdInsP(3)- and Rho GTPase-mediated positive feedback loop regulates neutrophil polarity". *Nat Cell Biol*, 4, 509-13.

8 Premières Rencontres d'Avignon (2007-2009) autour de la Relativité d'Echelle
Sous la direction de L. Nottale et Ph. Martin

Williams, H. P. and Harwood, A. J. (2003) "Cell polarity and Dictyostelium development".
Curr Opin Microbiol, 6, 621-7.

Williams, R. S., Boeckeler, K.*et al.* (2006) "Towards a molecular understanding of human
diseases using Dictyostelium discoideum". *Trends Mol Med*, 12, 415-24.