

Projet de direction de thèse **Université de Rennes 1/ Ecole Doctorale Matisse et VAS**

Sujet : Modélisation et méthodes d'assimilation de données pour l'analyse des mécanismes de division cellulaire et du trafic vésiculaire

Acronyme: **AssiBioImage**

Discipline : **Assimilation de données, Modélisation, Statistiques, Traitement du Signal et de l'Image, Biologie cellulaire, Vidéo-microscopie de fluorescence**

Établissement d'inscription : **Université de Rennes 1**

Unités de recherche:

- **Centre Inria Rennes - Bretagne Atlantique** (Resp. Bertrand Braunchweig)
- **Institut de Génétique et de Développement de Rennes (IGDR)** (Resp. Claude Prigent)

Direction de thèse :

NOM et prénom du directeur 1 : **KERVANN Charles**

Adresse électronique : charles.kervrann@inria.fr

Habilitation à diriger des recherches : **Université de Rennes 1 (juin 2010)**

Fonction et lieu d'exercice : **Directeur de Recherche Inria**

Equipe-Projet Inria SERPICO

<http://serpico.rennes.inria.fr/>

Centre Inria Rennes - Bretagne Atlantique

NOM et prénom du co-directeur 2a : **LE CUNFF Yann**

Adresse électronique : yann.lecunff@univ-rennes1.fr

Habilitation à diriger des recherches : **non (co-directeur 2b)**

Fonction et lieu d'exercice : **Maitre de conférence UR1**

Equipe CeDRE

[http://igdr.univ-rennes1.fr/equipes/](http://igdr.univ-rennes1.fr/equipes/recherche_equipe.php?domaine=&equipe=46)

[recherche_equipe.php?domaine=&equipe=46](http://igdr.univ-rennes1.fr/equipes/recherche_equipe.php?domaine=&equipe=46)

Institut de Génétique et de Développement de Rennes (IGDR)

NOM et prénom du co-directeur 2b : **PECREAUX Jacques**

Adresse électronique : jacques.pecreaux@univ-rennes1.fr

Habilitation à diriger des recherches : **Université de Rennes (avril 2012)**

Fonction et lieu d'exercice : **Chargé de Recherche CNRS**

Equipe CeDRE

[http://igdr.univ-rennes1.fr/equipes/](http://igdr.univ-rennes1.fr/equipes/recherche_equipe.php?domaine=&equipe=46)

[recherche_equipe.php?domaine=&equipe=46](http://igdr.univ-rennes1.fr/equipes/recherche_equipe.php?domaine=&equipe=46)

Institut de Génétique et de Développement de Rennes (IGDR)

1 Contexte et pertinence du projet

Résumé des objectifs visés:

1. Elaboration de méthodes d'assimilation de données d'imagerie cellulaire quantitative et de simulations pour comprendre, modéliser et prédire la dynamique du cytosquelette et des moteurs moléculaires lors de la division et du trafic intracellulaire, à l'échelle d'une cellule unique.
2. Analyse des mécanismes de la division cellulaire et d'exocytose. Comprendre les processus régulateurs de la dynamique du cytosquelette et moteurs moléculaires associés, pour préparer les études détaillées permettant d'identifier les nouvelles cibles thérapeutiques de lutte contre le cancer.

Contexte et état de l'art:

Comprendre les mécanismes impliqués dans la dynamique du fuseau mitotique et des vésicules de transport (microtubules, moteurs moléculaires, filaments d'actine, filaments intermédiaires) à l'échelle d'une cellule est aujourd'hui essentiel en recherche biologique et médicale. Une approche pertinente est de décrire ces mécanismes par des modèles biophysiques conjointement aux échelles moléculaire et cellulaire, et d'estimer les paramètres de ces modèles qui coïncident au mieux avec les observations disponibles. Les informations sur ces modèles doivent ensuite pouvoir être interprétées par des biologistes pour élaborer des expériences comparatives et améliorer l'état des connaissances sur les systèmes biologiques étudiés. Afin de comprendre et prédire les interactions moléculaires à l'échelle d'une cellule unique, nous proposons dans ce projet de thèse de recourir aux méthodes d'« *assimilation de données* » qui visent à coupler et synchroniser les simulations numériques incluant des modèles (basés sur les mécanismes déjà connus et donc inévitablement lacunaires) avec les mesures disponibles, bien souvent hétérogènes. L'assimilation de données permet de prendre en compte des mesures spatiales et temporelles très variées (y compris des images), irrégulièrement réparties dans l'espace et le temps. Une connaissance, même partielle, *a priori* sur les états du système dynamique étudié sont essentielles pour guider la prise en compte des informations. Sur le plan méthodologique, on distingue deux grandes catégories d'approche en assimilation de données : les techniques de contrôle optimal¹ et les approches bayésiennes^{2,3}. Dans la formulation bayésienne que nous souhaitons employer, les algorithmes sous-jacents (e.g. filtres de Kalman d'ensemble²²) sont capables de traiter des systèmes comportant un très grand nombre de variables. Ces techniques de filtrage stochastique permettent ainsi de faire coïncider au mieux les prédictions et les mesures expérimentales. Ils sont également attractifs sur le plan computationnel en raison de leur caractère causal. Nous pensons que les grands principes de l'assimilation de données, bien connus en géoscience, permettront également de décrire des systèmes complexes⁴ en biologie cellulaire.

Dans notre contexte en biologie cellulaire, nous envisageons d'identifier pour chacune des deux études – division cellulaire et trafic vésiculaire – les deux composants nécessaires à l'assimilation de données : i) un modèle dynamique stochastique pour calculer des prédictions à chaque pas de temps ; ii) une procédure d'estimation adaptée au modèle biophysique et aux mesures issues des images acquises en vidéo-microscopie. Une difficulté sera de mettre en relation les représentations détaillées des modèles dynamiques biophysiques avec une représentation plus intégrée à l'échelle d'une division cellulaire ou d'un trafic. En d'autres termes, nous devons établir les relations entre les différentes échelles spatiale et temporelle des mécanismes d'intérêt. Compte-tenu de l'ampleur du sujet et de la complexité biologique, nous avons choisi d'étudier deux modèles biologiques, étudiés depuis longtemps par les deux équipes partenaires :

- 1) **Analyse de la dynamique des microtubules et des moteurs moléculaires et leurs régulateurs qui génèrent des forces au cours de la division cellulaire (équipe CeDRE) :** La division cellulaire est un mécanisme robuste (typiquement 1 erreur sur 100 000 divisions) et résistant à des perturbations internes (e.g. instabilités chromosomiques)

et externes (e.g. modification de la forme, changement de température). L'équipe CeDRE a déjà mis en évidence l'existence de deux familles fonctionnelles de microtubules dont la distribution est spatialement hétérogène. Une approche par systèmes multi-agents a déjà permis de mettre en correspondance des simulations et des observations en imagerie cellulaire, incluant la régulation dynamique des forces responsables de l'élongation du fuseau mitotique, de son déplacement vers le côté postérieur et de ses oscillations en anaphase^{8,18}, la distribution corticale des générateurs de ces forces⁹, ainsi qu'une modélisation à l'échelle cellulaire des forces de centrage, dominantes au cours de la métaphase¹⁰.

- 2) **Analyse du trafic vésiculaire, des moteurs moléculaires et des flux d'actine dans les dernières étapes de l'exocytose proche de la membrane plasmique (équipe SERPICO) :** sous l'action de moteurs moléculaires, le déplacement des vésicules de transport le long des microtubules et câbles d'actine jusqu'à leur lieu de destination de fusion⁵ à la membrane plasmique nécessite un dialogue permanent entre différentes molécules au sein de plateformes moléculaires^{6,7}. L'équipe SERPICO a déjà établi des modélisations temporelles pour décrire la dynamique conjointe des protéines Rab (e.g. Rab11) et des molécules cargo (e.g. TfR, Langerine). **Etudier ces mécanismes est un enjeu essentiel en biologie.** L'approche par modélisation et assimilation de données est une voie prometteuse pour la compréhension des mécanismes et pour permettre d'aller vers une cellule virtuelle qui aura de nombreux bénéfices en recherche fondamentale pour une prospective et appliqué (cribles thérapeutiques *in silico*). Notons que sur ces deux thématiques, les équipes SERPICO et CeDRE ont recours à l'imagerie de fluorescence et à la vidéo-microscopie, à différentes résolutions spatiale et temporelle pour confronter les modélisations.

Méthodologie et objectifs:

De nouvelles approches mathématiques sont nécessaires pour manipuler/gérer la complexité et l'incertitude (le bruit) inhérente aux systèmes biologiques, notamment pour décrire les interactions entre les différents acteurs impliqués soit dans la division cellulaire, soit dans les voies de transport d'endocytose et d'exocytose. Un des défis de ce projet de thèse sera de modéliser la coordination spatiale et temporelle des acteurs moléculaires observée en imagerie quantitative.

Pour décrire la dynamique des protéines moteurs et des extrémités des microtubules, on considérera l'équation stochastique^{11,12} suivante en dimension 2 (équation de Langevin) :

$$dX_t = b(X)dt + \sqrt{2D(X)}dW_t$$

où $X(t)$ représente la position d'une particule (e.g. moteur moléculaire, extrémité d'un microtubule) à l'instant t , $b(X)$ est la dérive appliquée à la particule au point X , $D(X)$ est la diffusion au point X et W est un mouvement brownien dans le plan 2D. Ce modèle est très général et peut être ensuite spécialisé selon les conditions (e.g. diffusion homogène spatialement). Dans notre cas, nous considérerons des versions simplifiées de cette équation tout en introduisant des variables cachées qui prennent en compte les changements de régimes (mouvement brownien versus mouvement dirigé) et les interactions spatiales et temporelles des particules en mouvement. Le projet de thèse sera organisé en 3 étapes, détaillées ci-dessous:

- Etape 1 : Analyse et simulations de modèles de mouvement individuel et des interactions hiérarchiques avec la dynamique globale du cytosquelette. Représentation par modèles graphiques pour établir les relations mécaniques et biochimiques entre les partenaires jouant un rôle dans la dynamique globale du cytosquelette et du trafic.
- Etape 2 : Estimation des variables d'intérêt à l'aide de techniques d'assimilation de données dans un cadre Bayésien et de filtrage particulaire. L'objectif sera d'estimer la dérive et la

diffusion ainsi que les variables latentes hiérarchiques qui décrivent les interactions et les changements de régime.

- Etape 3 : Expérimentations et évaluation des méthodes d'estimation sur des données artificielles et réelles correspondant à des acquisitions de séries temporelles d'images en vidéo-microscopie de fluorescence sur cellule unique¹³.

Ce projet nécessite un investissement important de la part de statisticiens, de biophysiciens, d'expérimentalistes, de biologistes et de microscopistes. Les résultats en biologie cellulaire seront probablement guidés par cette approche pluridisciplinaire qui nécessite des compétences autant dans le domaine du numérique et de mathématiques appliquées qu'en biologie et biophysique. Cette démarche méthodologique, conçue pour répondre à deux problématiques biologiques précises, pourra être adoptée plus largement pour étudier d'autres systèmes biologiques aux caractéristiques similaires.

Etape 1: Modèles stochastiques pour le transport et la division cellulaire Afin de comprendre l'architecture dynamique des voies d'endocytose et d'exocytose, nous nous intéresserons aux mouvements des vésicules, de leur point de départ au niveau des endosomes jusqu'à leur destination au niveau de la membrane plasmique. Ce mouvement est supposé dirigé et brownien par intermittence, en interaction avec la dynamique du cytosquelette (microtubules et flux d'actine). Trois phases du transport vésiculaire seront étudiées: 1) triage et biogenèse des vésicules ; 2) mouvement dirigé et transport sur microtubules ; 3) adressage et fusion à la membrane. La plupart des acteurs moléculaires et interactions au cours du trafic sont connus et bien localisés dans la cellule^{15,16}. Nous étudions ces comportements en fonction de la forme de la cellule (e.g. micro-patrons^{20,23}). Des variables latentes binaires hiérarchiques (modèles graphiques) seront positionnées sur les modèles de dynamique continue^{11,12} et spatiale pour traduire l'action ou l'inhibition des acteurs du complexe moléculaire qui participent à l'activité de transport et de fusion à la membrane. Ces variables permettront ainsi d'effectuer des transitions entre mouvements brownien et dirigé, de prendre en compte les interactions spatiales entre les particules suivies et les connexions avec les microtubules et les filaments d'actine à différentes échelles spatiales et temporelles.

Pour étudier la division cellulaire, une approche expérimentale a déjà été mise au point pour estimer la distribution des temps de résidence au cortex ou la fluctuation de position des pôles du fuseau mitotique autour d'une position moyenne, qui est un état de quasi-équilibre cinétique. Une modélisation stochastique plus générale sera mise à l'étude pour décrire le mouvement des moteurs moléculaires et des microtubules et les forces mécaniques au niveau du cortex. L'extraordinaire complexité de la division appelle à se focaliser pour ce premier projet. Nous proposons de modéliser le positionnement du fuseau mitotique au cours de la mitose en incluant 3 sous-systèmes :

- 1) les générateurs de forces corticaux, localisé au cortex par l'extrémité en croissance des microfilaments microtubules, ancré via un nombre limité de site spécialisé distribués de manière inhomogène en réponse à la polarité cellulaire et capable de tirer sur les microtubules organisée de manière astrale autour des pôles du fuseau mitotique (force centrifuge)^{8, 25} ;
- 2) les microtubules astraux dont la croissance contribue aussi, en poussant contre le cortex de la cellule, à une force centripète, de centrage ; la dynamique de polymérisation/dépolymérisation est dépendante des forces exercées. Ces filaments peuvent aussi subir une instabilité de flambage, altérant leur dynamique et les forces exercées¹⁰.
- 3) Le fuseau mitotique sera le troisième composant pour lequel nous n'avons pas encore de modèle moléculaire clair (il en existe de nombreux dans la littérature, par ex. ¹⁷) ; toutefois, un « équivalent mécanique » à l'échelle cellulaire a été obtenu par analyse spectrale des fluctuations de longueur. La grande complexité d'un système ne comprenant que ces trois composants et les nombreuses interactions rendent d'ores et déjà une telle simulation de grand intérêt.

Etape 2: Assimilation de données en imagerie cellulaire et estimation Il parait bien difficile de rassembler l'ensemble des connaissances à différentes échelles au sein d'une cellule virtuelle^{17,18} pour les corrélérer aux données expérimentales et aux phénotypes observés (vitesses et orientations de déplacements des vésicules et des extrémités des microtubules, ...). Les principes généraux de l'assimilation de données apparaissent comme les plus adaptés pour estimer les paramètres des modèles sous-jacents. Dans notre approche, les mesures et les descripteurs extraits des séries temporelles d'images de microscopie seront les observations du système dynamique, lui-même comportant quelques dizaines de paramètres à estimer. Nous privilégierons les méthodes par filtrage particulaire, bien maîtrisée en statistiques, pour approcher la distribution a posteriori des paramètres (échantillonnage de Monte-Carlo). Dans notre situation, les observations sont irrégulièrement distribuées en espace et en temps et le système dynamique est non linéaire, mêlant variables continues et discrètes. Un objectif important de la thèse sera donc de démontrer le bien fondé de cette démarche originale en biologie cellulaire.

Etape 3: Validation des modèles et expérimentations

- 1) **Division cellulaire** : Une approche par microscopie confocale à une cadence temporelle très élevée est envisagée pour observer la dynamique des microtubules ou d'autres acteurs moléculaires (le moteur dynéine par exemple) ; combiné à des algorithmes de débruitage et des analyses statistiques détaillées, cela a permis de caractériser en détail la dynamique des microtubules au cortex ou encore de la dynéine. La validation se fera aussi au travers des fluctuations de position des centrosomes (pôles du fuseau mitotique d'où émanent les microtubules) par la microscopie de fluorescence à champ large à haute vitesse (33 im/s) combinée au suivi de particules et à l'analyse du spectre de fluctuation déjà existante.
- 2) **Trafic intracellulaire** : Afin de visualiser et quantifier des événements rapides localisés proche de la membrane plasmique de cellules vivantes adhérentes, nous recourons aux techniques de microscopie TIRF. Néanmoins, il est tout aussi important de retracer la trajectoire et l'historique et la coordination des acteurs moléculaires ou d'une vésicule qui précède un événement d'exocytose. La microscopie TIRF multi-angle 3D permet d'observer cette trajectographie avec une résolution axiale de 50 nm sur 1µm de profondeur¹⁹ et avec une cadence temporelle de 35-40 images/seconde. L'observation simultanée des fonctions cellulaires telles que l'exocytose et le remodelage membranaire ainsi que la dynamique de l'actine corticale devient donc possible.

Des algorithmes de débruitage d'images²⁴, de détection de vésicules²¹ et de microtubules et d'estimation de mouvement²⁰ sont nécessaires pour élaborer des descripteurs lisibles pour nos modèles. Dans ce contexte, nous avons déjà acquis une certaine expérience pour estimer le trafic intra-cellulaire¹⁴, la détection de particules¹⁵ et la simulation de dynamiques de microtubules¹⁶. Les techniques d'assimilation de données seront mises en œuvre pour fusionner les descripteurs spatio-temporels ainsi calculés. Cette étape nécessitera un grand nombre d'expérimentations pouvant remettre en question les modèles étudiés au cours la première étape et les méthodes d'estimation conçues au cours de la deuxième étape. Au final, une interaction importante entre modélisation-estimation-analyse biologique sera incontournable dans ce projet. L'ensemble des étapes du projet sera révisé en fonction des résultats de modélisation/simulation, des données acquises et de l'expertise des résultats.

References

- 1 Le Dimet, F.X. and Talagrand O. (1986) *Tellus*, 38A : 97-110
- 2 Evensen, G. (1994) *J. Geophys. Res.* 99(C5)(10) 143-162
- 3 Gordon, N. et al. (1993) *IEE Proceedings-F*, 140(2) : 107-113
- 4 Blum, J. et al. (2009) *Comput Methods Atmos Ocean* (14):385-441
- 5 Klann, M. et al. (2012) *PLoS One*. 7(1): e29645
- 6 Uzan-Gafsou, S. et al. (2007) *Mol.Biol.Cell*. 18:3169-3178
- 7 Gidon, A. et al. (2012) *Traffic*. 13 (6):815-833
- 8 Pecreaux, J. et al. (2006) *Curr Biol* 16:2111-2122

- 9 Redemann, S. et al. (2010). PLoS ONE 5.
- 10 Pécreaux, J. et al. S. (under revision). Biophysical Journal
- 11 Lagache, T. et al., (2009), Physical Rev. E, 79:011921
- 12 Bressloff, P.C. and Newby, J.N. (2013). Rev. Mod. Phys., 85:135-196
- 13 Vignaud, T. et al. (2012) J. Cell. Sci. 125:2134-2140
- 14 Boulanger, J. et al. (2009) Medical Image Analysis 13(1): 132-142
- 15 Boulanger, J. et al., (2010) PLoS One 5 (10) Article Number: e13190
- 16 Allain, P. and Kervrann, C. (2014) In Proc. NMCIP'14.
- 17 Wollman, R. (2008) Mol Syst Biol 4:195.
- 18 Kozłowski, C. et al. (2007) Cell 129:499-510
- 19 Boulanger, C. et al. (2014), PNAS (USA) (accepted)
- 20 Pinot, M et al. (2012) PNAS (USA) 109 (29): 11705-11710
- 21 Basset, A. et al. (2014) In Proc. ISBI'1
- 22 Beyou, S. et al. (2013) Tellus A, 65(18803)
- 23 Uteng, M. et al. (2008) J Cell Biol. 182:715-726.
- 24 Boulanger, J. et al. (2010) IEEE Trans Medical Imaging 29(2): 442-454
- 25 Riches, S. et al. (2013) JCB **201(5): 653-662**

2 Interdisciplinarité and collaborations entre les deux équipes partenaires

Les équipes SERPICO et CeDRE ont déjà collaboré ces deux dernières années, notamment pour adapter les méthodes de débruitage, de détection et de suivi de spots fluorescences dans des séquences d'imagerie confocale comportant un bruit très important. Sur cette thématique, un projet a été financé dans le cadre de l'Action Incitative du RTR SISCom Bretagne en 2013. Deux étudiants (M. Zhang, 4ème année INSA Rouen, 2013; G. Dieffenbach, Master 2 BioInformatique, Orsay, 2014) ont été recrutés par les équipes CeDRE et SERPICO. Un nouvel étudiant sera recruté pendant 4 mois à partir de juin 2015, en cohérence avec le projet de thèse.

Par ailleurs, l'équipe SERPICO collabore depuis de nombreuses années avec l'équipe de biologie STED (J. Salamero), UMR 144 CNRS Institut Curie. L'objectif de cette collaboration étroite est de concevoir des approches d'imagerie quantitative et des méthodes computationnelles pour analyser le trafic vésiculaire, les événements d'exocytose et les complexes moléculaires impliqués^{7,15}. Ces travaux s'appuient sur des dispositifs d'imagerie TIRF 2D et 3D de la plateforme PICT-IBiSA (<http://pict-ibisa.curie.fr/>).

Le projet de thèse s'inscrit donc dans le cadre d'une collaboration interdisciplinaire déjà bien avancée et permettra d'élaborer des approches génériques qui pourront être déclinées dans d'autres contextes biologiques à l'échelle cellulaire.

Charles Kervrann (29 articles de journaux, 65 articles de conférences internationales avec comité de lecture, h=23, voir <http://www.irisa.fr/vista/Publis/Auteur/Charles.Kervrann.english.html> et <http://serpico.rennes.inria.fr/doku.php?id=publications:index>) est directeur de recherche Inria et responsable de l'équipe-projet Inria SERPICO (<http://serpico.rennes.inria.fr>), qui comprend deux directeurs de recherche Inria, un maître de conférence en délégation, 4 doctorants et deux ingénieurs de recherche. Charles Kervrann a obtenu un doctorat en « Traitement du Signal et Télécommunications » de l'Université de Rennes 1 en 1995. Il a été recruté comme Chargé de Recherche INRA (Mathématiques Appliquées et Informatique) en 1997 (Jouy-en-Josas (78), France). Il a obtenu son Habilitation à diriger des recherches en juin 2010 (Université de Rennes 1). En 2010, il a été promu au rang de directeur de recherche Inria (Centre Inria Rennes – Bretagne Atlantique). Charles Kervrann a participé à l'encadrement de 8 doctorants depuis 2006. Il est membre du comité IEEE BISP "Biomedical Image and Signal Processing" et membre du bureau du GdR CNRS MIV « Microcopie et Imagerie du Vivant » (<http://gdr-miv.fr/>). Ses activités de recherche portent les méthodes statistiques pour la restauration en imagerie et microscopie, la modélisation spatio-temporelle des architectures moléculaires, la simulation du transport

intracellulaire et de certaines voies de transport (e.g. protéines Rabs) à différentes échelles spatiales et temporelles.

Publications: voir aussi ^{7,14,15,16,19,20}

1. Gidon A., Bardin, S., Boulanger, J., Waharte, F., Cinquin, B., Heliot, L., de la Salle, H., Hanau, D., **Kervrann, C.**, Goud, B., **Salamero, J.** (2012) Rab11A/Myosin Vb/Rab11-FIP2 complex frames two late recycling steps of langerin from ERC to plasma membrane. *Traffic*, 13 (6): 815–833.
2. Boulanger, J., **Kervrann, C.**, Bouthemy, P., Elbau, P., Sibarita, J.-B., **Salamero, J.** (2010) Patch-based nonlocal functional for denoising fluorescence microscopy image sequences. *IEEE Trans. Medical Imaging*, 29(2): 442–454
3. Carlton, P.M., Boulanger, J., **Kervrann, C.**, Sibarita, J.-B., **Salamero, J.**, et al., Sedat, J.W. (2010) Fast live simultaneous multi-wavelength four-dimensional optical microscopy. *PNAS*, (USA) 107(37): 16016–16022. [Research Highlight: “seeing more with less”, in *Nature Methods*, 7(10):782, 2010
4. Boulanger, J., Gidon, A., **Kervrann, C.**, **Salamero, J.** (2010) A patch-based method for repetitive and transient event detection in fluorescence imaging. *PLoS ONE*, 5(10) Article Number: e13190

Jacques Pécréaux (IGDR, UMR 6290 CNRS Univ. Rennes 1) est chargé de recherché de première classe CNRS et responsable de l'équipe ATIP+ CeDRE, qui étudie les mécanismes de la division cellulaire avec un accent particulier sur les aspects de dynamique et de robustesse en lien avec la mécanique des microfilaments, des moteurs moléculaires et de leur régulateurs. L'approche interdisciplinaire de l'équipe inclus (1) des expériences en biologie moléculaire et cellulaire utilisant le système modèle embryon unicellulaire de nématode *Caenorhabditis elegans* – un modèle classique et bien établi de division ; (2) le développement de techniques de quantification avancées en physique expérimentale, basées sur la microscopie optique et l'analyse d'image et du signal développé dans l'équipe et au travers de collaborations ; (3) la modélisation (en biophysique cellulaire) des forces et plus largement des aspects mécaniques de la division cellulaire depuis l'échelle moléculaire jusqu'au phénotype cellulaire. L'équipe CeDRE est interdisciplinaire, comprenant un mathématicien (Yann Le Cunff, MCU UR1), une physicienne (CR2 CNRS), trois biologiste (Chercheur CDD, IE CNRS, AI UR1), et un étudiant en thèse (mécanique et calcul scientifique, ED SDLM).

Publications pertinentes pour le projet:

1. **Pecreux, J.**, Redemann, S., Alayan, Z., Mercat, B., Pastezeur, S., Garzon-Coral, C., Hyman, A.A., and Howard, J., (2006) Spindle oscillations during asymmetric cell division require a threshold number of active cortical force generators. *Curr Biol* 16: 2111-2122
2. Redemann, S., **Pecreux, J.**, Goehring, N.W., Khairy, K., Stelzer, E.H., Hyman, A.A., and Howard, J., et al. (2010) Membrane invaginations reveal cortical sites that pull on mitotic spindles in one-cell *C. elegans* embryos. *PLoS ONE* 5.
3. Riche, S., Zouak, M., Argoul, F., Arneodo, A., **Pécréaux, J.** and Delattre, M. (2013) Evolutionary comparisons reveal a positional switch for spindle pole oscillations in *Caenorhabditis* embryos. *J. Cell Biol* 201:653-662.
4. **Pecreux, J.**, Redemann, S., Alayan, Z., Mercat, B., Pastezeur, S., Garzon-Coral, C., Hyman, A.A., and Howard, J. (under revision). High positional stability of the one-cell *C. elegans* mitotic spindle during metaphase accords with centering by a microtubule-pushing mechanism. *Biophysical J.*

3 Attractivité : soutien aux enseignants-chercheurs en mobilité entrante et arrivés l'Université de Rennes 1 au cours des deux dernières années

Description des activités de Y. Le Cunff (Maitre de Conférences, Université de Rennes 1) et implication dans le projet de thèse: statistiques, modélisation, co-superviseur de la thèse. Y. Le Cunff (IGDR, UMR 6290, CNRS , Université de Rennes 1) est maître de conférences en biostatistiques à l'Université de Rennes 1, au sein de l'UFR Sciences de la Vie et de l'Environnement, depuis Septembre 2013. Ses activités de recherche se focalisent sur (1) l'émergence de processus collectifs en biologie, ce qui est en adéquation avec la partie modélisation du projet proposé ici, et (2) l'optimisation et l'inférence statistique de paramètres en modélisation, ce qui correspond à la partie assimilation de données présentée ci-avant.

Publications pertinentes pour le projet:

1. **Le Cunff, Y.**, and Pakdaman, K. (2012). Phenotype-genotype relation in Wagner's canalization model. *Journal of theoretical biology* 314, 69-83.
2. **Le Cunff, Y.**, Baudisch, A., and Pakdaman, K. (2013). How evolving heterogeneity distributions of resource allocation strategies shape mortality patterns. *PLoS computational biology* 9, e1002825.
3. **Le Cunff, Y.**, Baudisch, A., and Pakdaman, K. (2014). Evolution of aging: individual life history trade-offs and population heterogeneity account for mortality patterns across species. *Journal of evolutionary biology* 27, 1706-1720.
4. **Le Cunff, Y.**, and Pakdaman, K. (2014). Reproduction cost reduces demographic stochasticity and enhances inter-individual compatibility. *Journal of theoretical biology* 360, 263-270.

4 International : soutien à une coopération internationale naissante

Collaboration avec Gaudenz DANUSER, Professor of Cell Biology, UT Southwestern Medical Center, Dallas, USA

Depuis quelques mois, l'équipe SERPICO a initié une collaboration (non financée) avec le "Danuser lab", une équipe de recherche en pointe dans le domaine de l'imagerie cellulaire quantitative et la signalisation mécano-chimique impliquée en morphogenèse et les voies oncogéniques. Dans cette collaboration, les deux équipes s'intéressent aux signaux de transduction qui contrôlent les processus de migration cellulaire, ainsi qu'à la dynamique du cytosquelette: i/ les filaments d'actine: promoteurs des mécanismes de protrusion, d'adhésion et de rétraction; ii/ les microtubules: support à la signalisation et la polarisation; iii/ les filaments intermédiaires: organisation des microtubules (Ridley, 2003)(Chung et al., 2013). Pour approfondir les connaissances sur les interactions et la signalisation, les deux équipes envisagent de partager des savoir-faire pour caractériser les interactions entre les microtubules et les réseaux de filaments intermédiaires en recourant aux techniques de microscopie 3D par feuilles lumière (« Bessel beam light-sheet microscopy » (Planchon et al., 2011)). Conformément au projet de thèse, il est question de définir aussi des descripteurs spatio-temporels 3D (courbure et rigidité locales (Ding and Danuser, 2014)) pour représenter ces réseaux et leurs déformations. Des métriques adaptées sont en cours d'étude pour comparer ces descripteurs. L'étude porte essentiellement sur des cellules épithéliales du cancer du poumon modifiées oncogéniquement (Sato et al., 2013). Les acquisitions d'images seront adaptées aux modes de représentation retenus. Notons que l'équipe SERPICO et CeDRE ont déjà recours aux méthodes computationnelles du "Danuser lab". La collaboration avec cette équipe américaine, qui porte aussi sur la dynamique du cytosquelette, donnera lieu à des échanges qui seront bénéfiques pour le projet de thèse. Des séjours pour le doctorant sont parfaitement envisageables.

- Chung, B.-M., Rotty, J.D., and Coulombe, P.A. (2013). Networking galore: intermediate filaments and cell migration. *Curr. Opin. Cell Biol.* 25, 600–612.
- Ding, L., and Danuser, G. (2014). Structure-guided hysteresis thresholding by iterative graph matching applied to the image construction of dense filamentous networks. To be submitted.
- Planchon, T.A., Gao, L., Milkie, D.E., Davidson, M.W., Galbraith, J.A., Galbraith, C.G., and Betzig, E. (2011). Rapid three-dimensional isotropic imaging of living cells using Bessel beam plane illumination. *Nat. Methods* 8, 417–423.
- Ridley, A.J. (2003). Cell Migration: Integrating Signals from Front to Back. *Science* 302, 1704–1709.
- Sato, M., Larsen, J.E., Lee, W., Sun, H., Shames, D.S., Dalvi, M.P., Ramirez, R.D., Tang, H., DiMaio, J.M., Gao, B., et al. (2013). Human lung epithelial cells progressed to malignancy through specific oncogenic manipulations. *Mol. Cancer Res. MCR* 11, 638–650.

Collaboration avec François Nédélec, Research Group Leader, EMBL, Heidelberg, Allemagne

François Nédélec a établi un environnement de simulation (cytosim) de la dynamique des microtubules et des acteurs associés. Cet environnement modulaire permet des simulations agent centrées et stochastiques de la mitose (voir par exemple ¹⁸), et est bien établie dans le domaine. Nous avons récemment commencé à travailler sur cet environnement, en lien avec François Nédélec, afin de simuler aussi les sous-systèmes mentionnés ci-dessus et lors de ce projet nous nous poserons la question de l'utilisation de cette simulation en lien avec l'assimilation de données proposées ici.