

Modélisation théorique de la physiologie cellulaire

Contexte

Les cellules sont des structures éminemment dynamiques qui échangent en permanence des informations en interne et avec leur environnement. De nombreux processus comme la transduction des signaux, le mouvement des organites, le transport de l'ARN, la division, la réparation de l'ADN et un événement comme une infection virale, mettent en jeu des particules (ion, protéine, molécule) qui se déplacent selon un mouvement stochastique. Si l'on a progressé dans la description précise de ces divers processus, en revanche, il reste beaucoup à apprendre sur leur dynamique spatio-temporelle dans un environnement cellulaire confiné. Pour aborder ces questions, il est indispensable de recourir à la modélisation mathématique et physique qui fournit les outils d'une « mise en équations » du fonctionnement de la cellule.

C'est ce défi que tente de relever l'équipe animée par David Holcman. Les travaux de cette équipe pluridisciplinaire s'inscrivent pleinement dans le champ émergent de la modélisation des systèmes biologiques. L'objectif majeur est de développer des modèles mathématiques fondés sur les lois de la physique pour rendre compte des propriétés de la cellule à l'échelle de la molécule. L'équipe s'appuie sur la physique statistique, les équations aux dérivées partielles, les systèmes dynamiques, les processus stochastiques et les simulations numériques. Chaque projet de recherche établit une étroite collaboration entre des théoriciens et des expérimentateurs de telle sorte que les hypothèses et les résultats quantitatifs puissent être validés sur le plan expérimental selon un processus itératif.

Résultats marquants

Dans un travail pionnier, cette équipe a développé le cadre théorique qui permet de calculer le temps moyen que met une particule brownienne diffusant dans un espace confiné pour atteindre une petite ouverture pour s'échapper. Le problème dit « d'échappée belle » (*narrow escape problem*) défini par cette théorie est récurrent en biologie cellulaire. Il représente en effet le temps que met une particule pour atteindre sa cible (récepteur, pore nucléaire...).

Dans un premier temps, l'équipe a appliqué cette théorie à la modélisation de microdomaines, des zones limitées de la cellule dans lesquelles un nombre restreint de molécules effectuent une fonction spécifique. Les synapses, les endosomes ou encore les épines dendritiques sont des exemples de microdomaines. Les épines, des protubérances situées sur les dendrites, constituent un modèle privilégié pour l'étude de la transmission et de la plasticité synaptiques. L'équipe a modélisé la dynamique des ions calcium dans les épines et leur diffusion à partir de la densité post-synaptique, la zone où sont concentrés les récepteurs des neurotransmetteurs. En appliquant leur théorie, ces chercheurs ont établi, pour la première fois, la loi de diffusion calcique dans les épines et ont quantifié le rôle de la géométrie des épines dans la régulation de la diffusion.

Il a été découvert récemment que les cellules gliales, en particulier les astrocytes, sont organisées en réseaux et communiquent par le biais de jonctions communicantes dites jonctions gap. Ces réseaux ont-ils une influence sur l'activité des neurones ? A l'aide de modèles mathématiques, l'équipe étudie à présent l'impact de ces jonctions et du réseau astrocytaire sur la régulation de la transmission synaptique.

Plus récemment, dans une toute autre direction, ces chercheurs ont appliqué leur théorie à la modélisation du trafic intracellulaire de l'ADN dans le cytosol dans le but de mieux comprendre une infection virale. Le calcul de la probabilité, pour un virus, de parvenir jusqu'à un pore et du temps moyen de premier passage constitue typiquement un problème « d'échappée belle ». L'objectif est de construire des modèles stochastiques à l'échelle moléculaire

rendant compte de la trajectoire du virus, de son entrée par endocytose puis son déplacement dans le cytoplasme, milieu très encombré à haut risque, jusqu'à un pore nucléaire. Après avoir mis au point le modèle de l'étape cytoplasmique libre du virus, l'équipe travaille sur le temps moyen de l'échappée de l'endosome. D'autres travaux en cours concernent l'organisation du noyau avec l'étude de l'agrégation des télomères et la réparation des cassures double brin. L'équipe collabore avec de nombreux chercheurs français et étrangers, comme par exemple : T. Galli (Paris VII), A. Taddei (Inst. Curie), Z. Schuss (Tel Aviv Uni.), D. Choquet (Inst. Magendi), A. Triller (ENS), N. Rouach (College de France), A. Prochiantz (College de France), E. Korkotian M. Segal (Weizmann Institute).

Theoretical Modeling of Cellular Physiology

My group focuses on modeling cellular biology, which is an emerging field and we have specifically focused our interest on the physiology of microstructure and molecular trafficking. Until recently, we worked on modeling microdomains such as dendritic spines, the outer segment of photoreceptors, and synapses. We currently study cytoplasmic trafficking, where we analyze the motion of particles (ions, molecules, proteins, nucleic acids) in microdomains in order to identify the function of cellular microdomains, based on elementary chemical reactions.

In the past, we developed a theory and numerical simulations to compute explicitly the time a Brownian particle spends inside a microdomain before escape (narrow escape problem) and we now apply these techniques to estimate the motion of a DNA molecule inside confined environments.

The main goal of the group is to model the properties of cellular and physiological behaviour, to extract **principles** underlying cellular function, to analyse, both numerically and analytically, the derived equations, and to propose corresponding testable experiments. Our approaches are **physical modeling, mathematical analysis, and computer simulations**. The originality of the group relies on the idea that each project involves collaboration with an

experimental group so that hypotheses and quantitative results can be experimentally validated in an iterative process.

Our research is divided in three general themes:

1-Theory of Diffusion and chemical reactions, simulations. Application of the narrow escape theory. We have developed a framework to study the mean time for a Brownian particle to hit a small aperture (**narrow escape theory**). This problem is generic in cellular biology, biochemistry and biophysics because it measures the rate of chemical reactions at a single unit level. It is also the bottle neck of many simulations. We apply this theory to estimate the time for a transcription factor to find its target in the nucleus or the time for a DNA to form a loop of a given length.

2-Modeling Cellular Trafficking, Gene delivery, viral infection. We recently initiated a quantitative approach to virology, based on developing new tools to estimate the efficacy of cellular infection. This research relies on the statistical physics for a single particle. This approach was possible because of our achievement on narrow escape theory. Our goal is now to study viral infection in a single cell and to be able to quantify the different steps leading ultimately to viral DNA delivery in the nucleus (Fig. 1). We have already studied the cytoplasmic trafficking and we are currently working on modeling the endosomal step. We will also study the nucleus organization (telomere clustering) and the mechanism underlying the double strand DNA break repair (ongoing project with the group of A. Taddei and G. Almouznie (Curie), and X. Darzacq (ENS)).

3-Biophysics of neurons, synaptic transmission, dendritic spines, outer-segment of photoreceptor and neuro-glia interactions. Since 2001, one of the main goal of our research is to develop a theory of chemical reactions in microdomains, such as dendritic spines (Fig. 3) which are local protrusion, located on the dendrites of neurons. This microdomain is quite generic and presents many advantages: it is central in many experiments because it is the crucial location for synaptic transmission and plasticity, a process underlying learning and memory. My group was involved in modeling calcium in spines (Fig. 3), studying the role of twitching, diffusion and electrical activity, and finally receptor trafficking at the post-synaptic density, a region apposed to the pre-

synaptic neuron. We recently (in Biess et al., PRE 2007), obtained an analysis of diffusion in dendritic spines. We have obtained for the first time the law of diffusion in spine, which was possible by using the small hole theory. Our research on the subject combines theory, simulations and experiments. Another interesting microdomain is the outersegment of rod and cone photoreceptors, which host the early steps of phototransduction. We are currently moving toward a unified model of these steps, by taking into account the cascade of chemical reactions occurring in the complex geometrical organization of the outersegment (*Fig. 2*). Finally, our last recent development concerns neuron-glia interactions at synapses (*Fig. 4*), where we found that glial cells can send thin protrusions that can severely diminish synaptic transmission, a behavior that can be at the origin of several neuronal disorders.

D. Holcman

CV 1998 : PhD Mathématiques, Paris VI. 1999-2000 : Post Doc : Pise, Italie,
2000-2002: Post Doc: Weizmann Institute and Tel Aviv University, Israel. 2002: Appointed Senior Scientist (Weizmann Institute, Israel) 2002-2004: Visiting UCSF, Sloan Fellow, USA. 2004-2009 Senior Scientist at Weizmann Insitute. 2005: Visiting Professor at Ecole Normale. 2005-present : Directeur de Recherche CNRS, Chef d'équipe IBENS and 2009 Adjunct Professor, Tel Aviv University.

Selected publications

Z. Schuss, A. Singer, D. Holcman, Narrow Escape: Theory and Applications to Cellular Microdomains, *Proc. Nat. Acad. Sci.* (2007); 104(41):16098-103.

Reingruber D. Holcman, The Gated Narrow Escape Time for Molecular Signaling, *Phys. Rev. Letter* (2009) 103, 148102.

T. Lagache E. Dauty D. Holcman, Physical principles and models describing intracellular virus particle dynamics, *Current Opinion in Microbiology*, (2009) 12(4):439 - 45 (2009).

D. Holcman, Modeling viral and DNA trafficking in the cytoplasm of a cell *J. of Statistical Physics.* (2007) 127, 3, 471-494.

Giaume C, Koulakoff A, Roux L, Holcman D, Rouach N. Astroglial networks: a step further in neuroglial and gliovascular interactions. *Nat Rev Neurosci.* (2010); 11(2):87-99.

Figures



Figure 1: Several trajectories of tagged Adeno-associated viruses during the infection process. These trajectories describe various stages of AAV infection, e.g. diffusion in solution (1 and 2), touching at the cell membrane (2), penetration of the cell membrane (3), diffusion in the cytoplasm (3 and 4), penetration of the nuclear envelope (4), and diffusion in the nucleoplasm (G. Seisengerger et al. *Science* 294, 1929, 2001.)

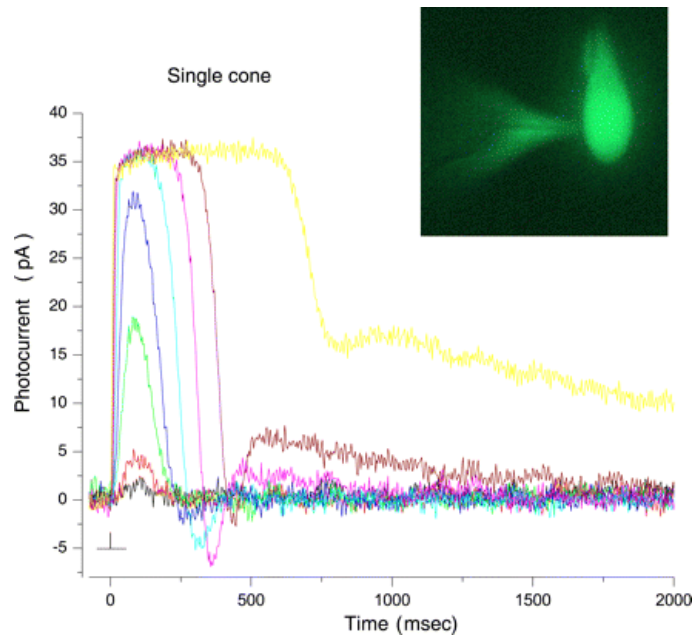


Figure 2: Photocurrents measured in a dark-adapted single cone isolated from striped bass retina. Peak photocurrent amplitude increases with light intensity up to a saturating amplitude. Current reflects the electrogenic activity of a K^+ -dependent, Na^+/Ca^{2+} exchanger, which causes changes in intracellular free Ca^{2+} , as measured with a fluorescent dye (*D. Holcman J. Korenbrot, J Gen Physiol. 2005;125(6):641-60.*)

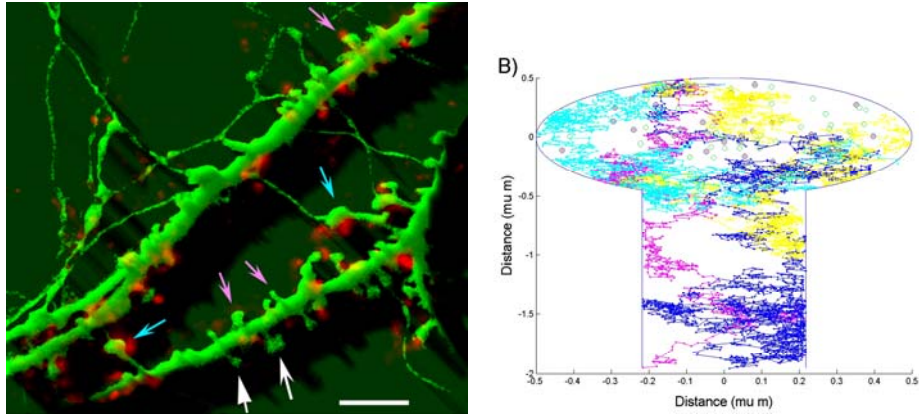


Figure 3: Dendritic spines are micro protrusions where excitatory neuron transmission occurs. On the left: simulation of calcium trajectories inside a dendritic spine (D. Holcman, E. Korkotian, M. Segal. 2005. Dendritic spines: models and experiments, *Cell Calcium* 2005;37(5):467-75)

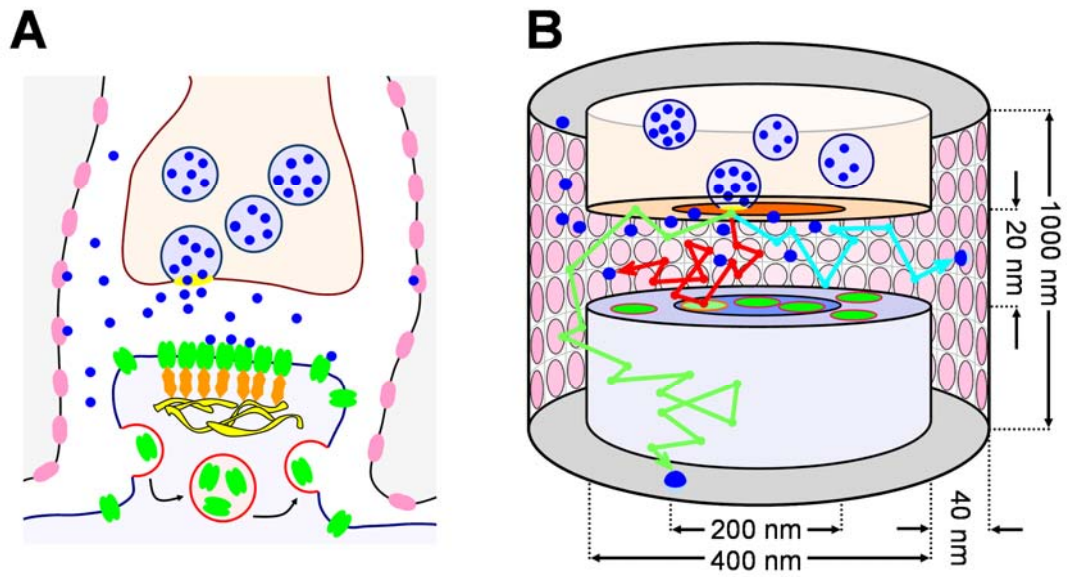


Figure 4: Modeling molecular diffusion in the synaptic cleft and receptor trafficking (D. Fresche D. Holcman, *Biophys J.*, 96, Issue 3, 269a-269a (2009).)