

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE LA COMMUNAUTE UNIVERSITE GRENOBLE ALPES

Spécialité : **Physique pour les Sciences du Vivant**

Arrêté ministériel : 25 mai 2016

Présentée par

Jordan HERVY

Thèse dirigée par **Timothy ZIMAN**, CNRS et
codirigée par **Dominique J. BICOUT**, TIMC, VetAgro Sup, ILL
préparée au sein du **Laboratoire de Physique et de
Modélisation des Milieux Condensés & de l'Institut Laue
Langevin**
dans l'**École Doctorale Physique**

Modélisation de l'interaction dynamique protéines Tau - microtubules

Thèse soutenue publiquement le **27 novembre 2018**,
devant le jury composé de :

Monsieur Jean-Louis BARRAT

Professeur, Université Grenoble Alpes (Président)

Monsieur Stéphane HONORÉ

Professeur des universités - praticien hospitalier, Aix Marseille Université
(Rapporteur)

Monsieur Martin LENZ

Directeur de Recherche, CNRS / Université Paris-Saclay (Rapporteur)

Madame Florence HUBERT

Professeur, Aix-Marseille Université (Examinatrice)

Madame Virginie STOPPIN-MELLET

Maître de Conférences, Université Grenoble Alpes (Examinatrice)

Monsieur Dominique J. BICOUT

Chercheur, TIMC, VetAgro Sup, ILL (Directeur)



Remerciements

Je tiens à remercier les membres du jury, Stéphane Honoré et Martin Lenz en qualité de rapporteurs, pour leurs commentaires qui ont grandement contribué à améliorer ce manuscrit ; Jean-Louis Barrat en qualité de président, Virginie Stoppin-Mellet et Florence Hubert en qualité d'examinatrices. Merci à tous les membres du jury de m'avoir accordé du temps pour l'évaluation de ce travail et de ma soutenance de thèse.

Je tiens évidemment à remercier mon directeur de thèse, Dominique. Cela fait maintenant 5 ans que tu m'encadres et me transmets ta vision de la science, ton savoir-faire et tes connaissances. J'ai appris tant de choses grâce à toi et je réalise l'immense chance que j'ai eu de travailler à tes côtés. Merci pour ta patience, ta gentillesse, ta disponibilité et ton dévouement à toute épreuve. Un immense merci pour tout ce que tu as fait pour moi durant ces 5 dernières années, je ne l'oublierai jamais !

Je tiens à remercier très chaleureusement Tim. Merci pour ta simplicité, ta gentillesse, ton originalité, ton écoute, tes conseils ... ; je m'arrête là car la liste serait beaucoup trop longue. J'ai adoré tous ces petits moments passés à tes côtés, que ce soit aux déjeuners, aux pauses cafés, dans nos bureaux, au sommet du Charmant Som sous la neige (sans raquettes bien sûr) ou bien sous la pluie en vélo en plein hiver sur la montée du col Nelson Mandela. Un très grand merci pour tout ! J'espère que nos chemins se recroiseront !

Un grand merci à tous les membres du groupe théorie ESRF/ILL avec qui j'ai eu l'immense privilège de travailler ces 5 dernières années. Un immense merci à Patrick, Jacques, Jean-Pierre pour votre bienveillance et toutes les discussions passionnantes que nous avons pu avoir ensemble (allant de l'histoire des sciences à la géopolitique).

Un immense merci à Pablo ! Nous avons commencé et fini la thèse quasiment en même temps. Tant d'aventures inoubliables, tant de cols franchis à vélo avec toi, tant de pauses cafés et tant de discussions sur le vélo. Merci pour ces 3 superbes années !

Je tiens à remercier Nicolàs pour ta gentillesse infinie, tous tes conseils, ton écoute et ton aide dans les moments difficiles. À très bientôt sur Paris pour un week-end avec ta famille !

Je remercie très chaleureusement Marie. Un immense merci pour ton soutien et tes conseils tout au long de ma thèse. Ton aide fut déterminante lors de la préparation de ma soutenance. Tu m'as aidé à prendre confiance en moi et surmonter l'épreuve de la soutenance. Merci infiniment Marie !

Je remercie toutes les personnes avec qui j'ai eu l'immense plaisir de partager mon bureau, Helena, Samuel, Begüm, Sarah, Hender, Murilo, Astrid. Mention spéciale pour Murilo et Romane qui ont récemment rejoint le groupe, merci pour tous les petits moments que nous avons partagés ces dernières semaines. Romane je compte sur toi pour continuer à parler Russe dans le groupe théorie et Murilo je compte sur toi pour le Français ! Bon courage à vous deux pour la suite de votre thèse !

Je tiens à remercier (Prof.) Dr. Andrey pour ces 3 dernières années. Ce fut un honneur pour moi de vivre l'aventure de la thèse avec toi. Tu as été d'un soutien inestimable ! Merci pour ton authenticité, ta gentillesse et ta spontanéité. Merci pour les innumérables petits (souvent très longs) cours de Russe improvisés dans ton bureau (qui au passage a fini par devenir mon bureau secondaire). Un très grand merci à Lucy également pour ta gentillesse et pour avoir secondé Andrey dans mon enseignement du Russe ! Merci à tous les deux et à très bientôt à Grenoble, à San Sebastián, en Russie (ou ailleurs) !

Je tiens à remercier tout particulièrement Elisa. Les mots me manquent pour t'exprimer toute ma gratitude. Tu m'as relevé un nombre incalculable de fois ! Je n'aurais très certainement pas pu finir cette thèse sans toi. Je n'oublierai jamais ce que tu as fait pour moi. Tu es une personne vraiment exceptionnelle et je suis heureux que nos chemins se soient croisés et de t'avoir comme amie. Tu pourras toujours compter sur moi Elisa. Un immense merci pour ton soutien indéfectible au quotidien et pour avoir toujours cru en moi ! J'attends avec impatience le jour où je ferai mon baptême de plongée avec toi !

Je veux également remercier très chaleureusement Bruno (alias Grandpa). Merci pour tous les petits moments de détente et de fun (on ne les compte plus) qui m'ont permis de tenir le coup, de sourire même dans les périodes très difficiles pour moi. Le soutien que tu m'as apporté ces deux dernières années est inestimable ! Je compte sur toi pour continuer d'aller à l'atelier céramique et apprendre à maîtriser le tour. Tu pourras nous enseigner à moi et Andrey comment ça fonctionne quand je reviendrai sur Grenoble !

Je tiens également à remercier Oonagh. Merci pour ta bonne humeur, ton éternel positivisme et pour l'ensemble de tes conseils qui m'ont grandement aidé à surmonter les obstacles et à finir cette thèse en un seul morceau ! Je te souhaite le meilleur pour la fin de ta thèse.

Je tiens à remercier tout particulièrement Marion. Je me souviens qu'en Licence, il y a maintenant plus de 6 ans, on parlait déjà de ce rêve de faire une thèse et de devenir

des scientifiques. Cette petite idée et notre passion pour les sciences ne nous ont jamais quittés et ce même dans les moments de doute. J'ai toujours pu compter sur toi depuis toutes ces années, tu es une amie extraordinaire! Merci infiniment pour ton aide tout au long de ma thèse, pour toutes ces heures passées sur Skype quand j'étais au plus bas, c'est en grande partie grâce à toi que j'ai réussi à remonter la pente. Bientôt ce sera ton heure de gloire et je serai là pour t'aider à franchir les obstacles et fêter ça le jour où tu deviendras Dr!

Je veux également remercier très chaleureusement Sandy. Cela ne fait aucun doute que sans toi, je n'en serais pas là aujourd'hui. Tu as tellement contribué à cette thèse! Tu as toujours été là pour moi, depuis le master en passant par l'audition de l'ED et jusqu'à la fin avec la rédaction de ce manuscrit. Merci pour tout le temps que tu m'as consacré, pour ces innombrables skypes, brunchs et randonnées en montagne. Toute cette aventure n'aurait jamais été possible sans toi. Nous avons partagé tant de moments incroyables ensemble! Merci infiniment pour ton soutien et ces 5 dernières années exceptionnelles à Grenoble. Un très grand merci également à Florian et Anne pour tous les excellents moments (escape game, soirées raclette ou fondue, ...) que nous avons passés tous les 4!

Je tiens à remercier Nicolas! Je suis heureux que l'on se soit retrouvé sur Grenoble il y a un peu plus d'un an maintenant! Merci pour tous les excellents moments que nous avons passés ensemble, que ce soit en montagne (de la Bastille au refuge de la Pra en passant par le Moucherotte), autour d'un verre (ou plus) au Kiltin' (et pas seulement) ou encore à la poterie! Merci infiniment pour toutes nos discussions, ton écoute et ton aide précieuse pendant la phase de rédaction de ce manuscrit ou bien.

Merci Filippo (alias Pippo) et son très cher colocataire Yunès pour les 6 mois les plus déjantés de toute ma thèse! À très bientôt sur Milan (la plus belle ville du monde) pour reformer l'équipe de choc!

Je tiens à remercier très chaleureusement Julien et Kévin. J'ai énormément de chance de vous avoir comme amis et de pouvoir compter sur vous depuis toutes ces années. Vous êtes tous les deux incroyables et chaque sortie à vos côtés devient une aventure inoubliable! J'ai tellement adoré nos escapades en ville, en montagne, en mer et peut être bientôt dans les airs, qui sait? J'attends avec impatience nos prochaines aventures! Merci infiniment à tous les deux!

Je veux également remercier Hugues, Emeline, François et Marin pour tous les week-ends (on ne les compte plus) qui m'ont permis de décompresser et de réaliser qu'il y a une vie en dehors de la thèse! Merci à vous pour votre soutien indéfectible malgré la distance et le temps. Merci également à Flavien pour ton amitié depuis toutes ces années!

Je tiens à remercier tout particulièrement Azalia, Vicky pour ces derniers mois tout

simplement fantastiques à Grenoble! Merci de m'avoir laissé entrer dans votre communauté Russe. Vous êtes géniales toutes les deux. J'ai eu énormément de chance de vous rencontrer et de partager tous ces bons moments avec vous (la soirée fondue où nous avons failli brûler l'appartement d'Azalia restera pour longtemps dans ma mémoire!).

Un immense merci à ma maman que j'aime, pour tous ses encouragements, son soutien inégalable, son aide et amour durant toutes ses années. Merci d'avoir suivi de si près ce travail de thèse et d'avoir toujours cru en moi. Tout ce travail aurait été impossible sans toi. Un énorme merci à ma sœur, mimi que j'aime plus que tout! Tu es tout pour moi et je ne serais rien sans toi. Ta contribution à ce travail de thèse est inestimable; merci de m'avoir toujours soutenu et encouragé en toutes circonstances. Toi aussi, tu vas réaliser ton rêve et tu deviendras une grande psychologue. Je suis tellement fier de toi! Enfin, je tiens à remercier mon papa et les membres de ma famille de m'avoir toujours soutenu et encouragé dans cette aventure un peu folle et si éloignée de leur quotidien. Merci pour tout!

Table des matières

Table des figures	11
Liste des tableaux	15
I Introduction	21
1 Introduction au contexte des tauopathies	23
1.1 Généralités	24
1.2 Perte des fonctions de la protéine Tau	26
1.3 Viabilité des neurones et dynamique des microtubules	26
2 Problématique et objectifs du travail de thèse	31
II Dynamique des microtubules en l'absence de Tau	35
3 Généralités sur les microtubules	39
3.1 Structure des microtubules	40
3.1.1 Assemblage des microtubules	40
3.1.2 L'unité de base des microtubules	40
3.2 Dynamique des microtubules	42
3.2.1 L'instabilité dynamique des microtubules	42
3.2.2 Événements de catastrophe	43
3.2.3 Événements de sauvetage	43
3.2.4 Paramètres de l'instabilité dynamique des microtubules	44
4 Instabilité dynamique des microtubules : Modèle markovien à deux états	47
4.1 Introduction	48
4.2 Description du modèle	49
4.3 Formulation mathématique	49
4.3.1 Équations stochastiques	49
4.3.2 Vitesse moyenne instantanée	50
4.3.3 Existence de deux régimes	51

4.4	Simulations numériques	52
4.5	Limitations du modèle	53
5	Analyse kymographique	55
5.1	Introduction	56
5.2	Analyse d'une trajectoire $L(t)$	58
5.2.1	Identification des phases	58
5.2.2	Fréquence de catastrophe	61
5.2.3	Fréquence de sauvetage	61
5.2.4	Distribution non-exponentielle des temps de croissance et de décroissance	62
5.3	Analyse d'un ensemble de trajectoires	63
5.4	Illustration sur des données expérimentales	64
6	Instabilité dynamique des microtubules : Modèle non-Markovien	67
6.1	Introduction	68
6.2	Modèle de l'instabilité dynamique des microtubules	68
6.2.1	Cas d'un seul protofilament	69
6.2.2	Cas de N_p protofilaments adjacents : Système bidimensionnel	70
6.3	Résultats	74
6.3.1	Cas d'un seul protofilament	74
6.3.2	Cas de N_p protofilaments adjacents : Système bidimensionnel	84
6.3.3	Analyse des données expérimentales	96
6.4	Conclusion	98
III	Décoration d'un microtubule stabilisé par des protéines	
Tau		103
7	Structure et fonctions des protéines Tau	107
7.1	Structure des protéines Tau	108
7.1.1	Expression de Tau et Isoformes	108
7.1.2	Structure de Tau en solution	109
7.2	Fonctions associées aux microtubules des protéines Tau	109
7.2.1	Polymérisation et stabilisation des microtubules	109
7.2.2	Organisation spatiale des microtubules	110
7.2.3	Régulation du transport axonal	111
7.3	Interaction des Tau avec les microtubules	111
7.3.1	Modes d'attachement	111
7.3.2	Paramètres de la réaction Tau - Microtubules	113
8	Décoration d'un microtubule par Tau : Modèle unidimensionnel	115
8.1	Introduction	116

8.2	Construction des règles du modèle	116
8.3	Formulation mathématique	118
8.3.1	Équation d'évolution de la densité de protéines Tau attachées . . .	118
8.3.2	Constante de dissociation et stœchiométrie	118
8.3.3	Probabilité d'insertion	119
8.4	Caractérisation de la décoration du réseau	120
8.4.1	Densité de protéines Tau attachées	120
8.4.2	Distribution des plus proches voisins	126
8.5	Généralisation au cas polydisperse	127
8.5.1	Équations d'évolution des densités de Tau attachées	127
8.5.2	Cas particulier $\sigma_0 = \sigma_1 = \dots = \sigma_m$	128
8.5.3	Distribution des plus proches voisins	128
9	Détermination des paramètres de l'interaction ligand-macromolécule	131
9.1	Introduction	132
9.2	Détermination des paramètres de l'interaction Ligand-Macromolécule . . .	133
9.3	Correction des paramètres provenant de l'équation standard	141
10	Décoration d'un microtubule par Tau : Modèle bidimensionnel	149
IV	Conclusion	175
11	Conclusion générale et perspectives	177
11.1	Instabilité dynamique des microtubules	178
11.1.1	Modèle mésoscopique non-Markovien	178
11.1.2	Détermination des paramètres de l'instabilité dynamique	180
11.2	Décoration par Tau d'un microtubule stabilisé	180
11.2.1	Modèle bidimensionnel de décoration d'un microtubule par des protéines Tau	180
11.2.2	Détermination de la stœchiométrie et de la constante de dissociation pour la réaction Tau-microtubule	181
11.2.3	Pour aller plus loin	181
11.3	Vers un modèle global du système Tau-Microtubule	185
11.3.1	Système Tau-Microtubule : modèle à 3 états	185
11.3.2	Perspectives	189
11.4	Conclusion	191
	Bibliographie	193
A	Annexe du chapitre 6	209
A.1	Méthodes de calcul du déplacement moyen de l'extrémité du microtubule en fonction du temps	209
A.1.1	Méthode 1	209

A.1.2	Méthode 2	209
A.1.3	Méthode 3	210
A.1.4	Méthode 4	210
A.2	Dérivation de la fonction de survie $S_n(t)$	211
B	Annexe du chapitre 8	213
B.1	Dérivation de la probabilité d'insertion $\Phi(\rho, \sigma)$	213
B.1.1	Expression générale	213
B.1.2	Distribution du nombre de sites vides : P_g	213
B.1.3	Probabilité conditionnelle (ff)	214
B.1.4	Calcul de la probabilité d'insertion en fonction de la densité	216
B.2	Dérivation de la probabilité d'insertion dans le cas polydisperse	217
B.2.1	Expression générale	217
B.2.2	Distribution du nombre de sites vides	217
B.2.3	Probabilité conditionnelle (ff)	218
B.2.4	Calcul de la probabilité d'insertion en fonction des densités $\rho_1, \rho_2, \dots,$ ρ_m	219
B.2.5	Calcul de la distribution des plus proches voisins en fonction des densités $\rho_1, \rho_2, \dots, \rho_m$	219
B.3	Dérivation de la densité de protéines Tau attachées en fonction du temps	219
C	Annexe du chapitre 11	221
C.1	Affinité globale de la protéine Tau en fonction du nombre de séquences répétées	221
C.2	Dynamique d'attachement/détachement et de diffusion des protéines Tau à la surface des microtubules	222
C.3	Système Tau-Microtubule : modèle à 3 états	256
D	Valorisation du travail de thèse	257
D.1	Poster - EMBL/EMBO Symposium Microtubules, Heidelberg 2018	258
D.2	Poster - Journées du Réseau France Microtubules, Grenoble 2015	259

Table des figures

1	Plan sommaire du manuscrit de thèse	19
1.1	Dégénérescence neurofibrillaire et plaques amyloïdes	24
1.2	Tauopathies à l'échelle d'un neurone	27
1.3	Relation entre la viabilité des neurones et la dynamique des microtubules au sein de l'axone	27
2.1	Résumé graphique du problème général abordé dans la thèse	33
2.2	Objectif de la partie II de la thèse	37
3.1	Processus d'instabilité dynamique des microtubules	41
3.2	Trajectoire typique d'un microtubule assujetti au processus d'instabilité dynamique	43
3.3	Mécanismes moléculaires impliqués dans le processus d'instabilité dyna- mique des microtubules	44
4.1	Modèle continu à deux états décrivant le processus d'instabilité dynamique des microtubules	49
4.2	Trajectoires de microtubules simulées numériquement dans le cadre du mo- dèle classique à deux états	52
5.1	Séquence d'images obtenue par vidéo-microscopie de fluorescence montrant la dynamique d'un ensemble de microtubules	56
5.2	Analyse d'un kymographe	57
5.3	Analyse de la trajectoire d'un microtubule	60
5.4	Histogrammes des temps et vitesses de croissance et de décroissance obte- nus après analyse kymographique	65
6.1	Représentation bidimensionnelle d'un microtubule	70
6.2	Cas de l'instabilité dynamique d'un seul protofilament	70
6.3	Cas général de l'instabilité dynamique d'un ensemble de N_p protofilaments en interaction	73
6.4	Simulation de trajectoires dans le cadre du modèle du protofilament seul	75
6.5	Distributions des temps et fréquences de croissance dans le cas d'un seul protofilament	76
6.6	Phase de décroissance dans le cadre du modèle du protofilament seul	78

6.7	Diagramme de phase durée de la mémoire - probabilité d'hydrolyse pour un seuil de 1%	80
6.8	Distributions des temps et fréquences de décroissance dans le cas d'un seul protofilament	81
6.9	Longueurs moyennes en fonction du temps et distribution des longueurs à l'équilibre dans le cas d'un seul protofilament.	83
6.10	Trajectoires simulées de la position de l'extrémité d'un ensemble de N_p protofilaments en interaction	84
6.11	Cinétique de la phase de croissance du microtubule	86
6.12	Distributions des temps et fréquences de croissance du microtubule	88
6.13	Probabilité de dissociation en fonction du nombre de protofilaments instables	89
6.14	Distributions des temps et fréquences de décroissance	91
6.15	Diagramme de phase probabilité d'hydrolyse - durée de la mémoire pour un seuil de 1%	93
6.16	Ratio entre la longueur moyenne de croissance et de décroissance pour un ensemble de N_p protofilaments en interaction	95
6.17	Longueur moyenne et distributions des longueurs à l'équilibre d'un ensemble de N_p protofilaments en interaction	95
6.18	Ajustement des données expérimentales pour la fréquence de croissance en fonction du temps	97
6.19	Valeurs possibles pour la probabilité de dissociation en fonction de la probabilité d'hydrolyse à partir de données expérimentales pour la fréquence de croissance en fonction du temps	97
6.20	Objectif de la partie III de la thèse	105
7.1	Structure de la protéine Tau	108
7.2	Modèle de conformation de la protéine Tau en solution	109
7.3	Effet de la protéine Tau sur le processus d'instabilité dynamique des microtubules	110
7.4	Organisation spatiale du réseau microtubulaire par les protéines Tau	111
7.5	Modèle d'attachement des protéines Tau à la surface d'un microtubule	112
8.1	Représentation tridimensionnelle d'un microtubule décoré par des protéines Tau selon le mode longitudinal	117
8.2	Modèle de décoration d'une chaîne unidimensionnelle	117
8.3	Probabilité d'insertion d'une nouvelle protéine Tau sur la chaîne	119
8.4	Densités moyennes de Tau attachées sur la chaîne en fonction du temps	121
8.5	Temps de relaxation du processus de décoration d'une chaîne unidimensionnelle	123
8.6	Densités moyennes de Tau attachées sur la chaîne à l'équilibre	125
8.7	Effets de Taille finie pour une chaîne unidimensionnelle	125
8.8	Distribution des plus proches voisins pour une chaîne unidimensionnelle	126

TABLE DES FIGURES

9.1	Résumé graphique de l'article <i>Determining the binding parameters from co-sedimentation assays</i>	133
11.1	Cinétique modélisant l'attachement séquentiel des protéines Tau sur les microtubules	182
11.2	Schéma illustrant la dynamique d'une protéine Tau sur un microtubule stabilisé	184
11.3	Schéma illustrant la dynamique d'une protéine Tau sur un microtubule stabilisé	185
11.4	Cinétique modélisant l'effet de Tau sur l'instabilité dynamique des microtubules	186
11.5	Représentation schématique des conditions normales et pathologiques dans le cadre des tauopathies.	190
11.6	Perspectives du travail de thèse	191
A.1	Schéma représentant une trajectoire analysée selon la méthode A.1.4 pour le calcul du déplacement moyen d'un microtubule	210
B.1	Convention de lecture du réseau dans le cas de particules couvrant $(1+\sigma) = 3$ sites.	214

Liste des tableaux

1.1	Liste des différentes Tauopathies	25
3.1	Paramètres de l'instabilité dynamique des microtubules	45
5.1	Liste des différentes phases du processus d'instabilité dynamique des microtubules.	58
5.2	Paramètres de l'instabilité dynamique des microtubules pour une concentration de 8 μM de dimères de tubuline, en l'absence et en présence de protéines Tau (100 nM)	64
6.1	Expression des fréquences de croissance et de décroissance en fonction des probabilités p_h et p_d pour un protofilament seul.	79
6.2	Expressions analytiques pour les fréquences de croissance et de décroissance dans le cas d'un seul protofilament ("1 PF") et pour un ensemble de $N_p = 13$ protofilaments en interaction ("13 PFs").	94
6.3	Expressions analytiques pour les 3 courbes ajustées de la Figure 6.18 et les valeurs numériques correspondantes pour $f \equiv f_0 = f_1 = f_2$	96
8.1	Approximations linéaires pour la probabilité d'insertion : $\Phi(\rho, \sigma) \simeq \alpha - \beta\rho$	120
11.1	Estimation des valeurs numériques pour les 5 paramètres du modèle de diffusion d'une protéine Tau dans les conditions physiologiques non pathologiques	183

Résumé

Contexte

La maladie d'Alzheimer, de nombreux syndromes parkinsoniens, certaines démences fronto-temporales telles que la maladie de Pick sont des exemples de maladies neuro-dégénératives appelées « tauopathies » qui sont caractérisées par la présence d'agrégats intracellulaires de protéines Tau dans le cerveau des sujets atteints. La formation de tels agrégats résulterait de l'altération des propriétés et fonctions normales des protéines Tau à réguler et structurer les réseaux de microtubules au sein des axones ; ce qui se traduit par une perte progressive de la masse des microtubules dans les axones, la désorganisation du transport axonal et au final la mort cellulaire. La compréhension des tauopathies passe donc par celle :

- de la dynamique des microtubules qui est régie par les mécanismes de l'instabilité dynamique au cours desquels les microtubules alternent en permanence entre une phase de croissance (polymérisation des GTP-tubulines) et de rétrécissement (dissociation des GDP-tubulines) ;
- et des interactions entre protéines Tau – microtubule qui jouent un rôle important dans la polymérisation, la stabilisation des microtubules et l'organisation spatiale du réseau de microtubules dans l'axone impactant ainsi la fonction de transport des nutriments dans l'axone et donc l'intégrité de l'axone.

Objectif de la thèse

L'objectif de ce travail de thèse est de construire et de consolider les bases qui permettront d'aller vers une modélisation fine de l'interaction des microtubules dynamiques avec une population de protéines Tau. Pour y parvenir, deux problèmes ont été abordés : (i) la dynamique intrinsèque des microtubules, c'est-à-dire en l'absence de protéines Tau et (ii) l'interaction Tau-Microtubule pour des microtubules stabilisés, c'est-à-dire non-dynamiques.

Contenu de la thèse

Afin d'aborder ces problèmes, le travail de cette thèse a été mené selon deux approches :

1. Théorique : développements de modèles mathématiques décrivant les différents processus
2. Simulations numériques : développement de programmes Monte-Carlo (sous Matlab)

Les résultats principaux ont été organisés et structurés en deux grandes parties :

- I) Développement d'un modèle mésoscopique décrivant l'instabilité dynamique des microtubules à l'échelle de la tubuline (unité fondamentale du microtubule). Ce modèle décrit une instabilité dynamique des microtubules non-Markovienne dont les caractéristiques sont comparables aux observations expérimentales.
- II) Développement d'un modèle décrivant la dynamique de décoration d'un microtubule stabilisé (absence d'instabilité dynamique) par une population de protéines Tau. Les caractéristiques de ce modèle sont basées, pour la construction, et comparables aux expériences de co-sédimentation et de microscopie électronique.

Aide à la lecture du manuscrit

Ce manuscrit s'organise selon quatre parties (Figure 1) :

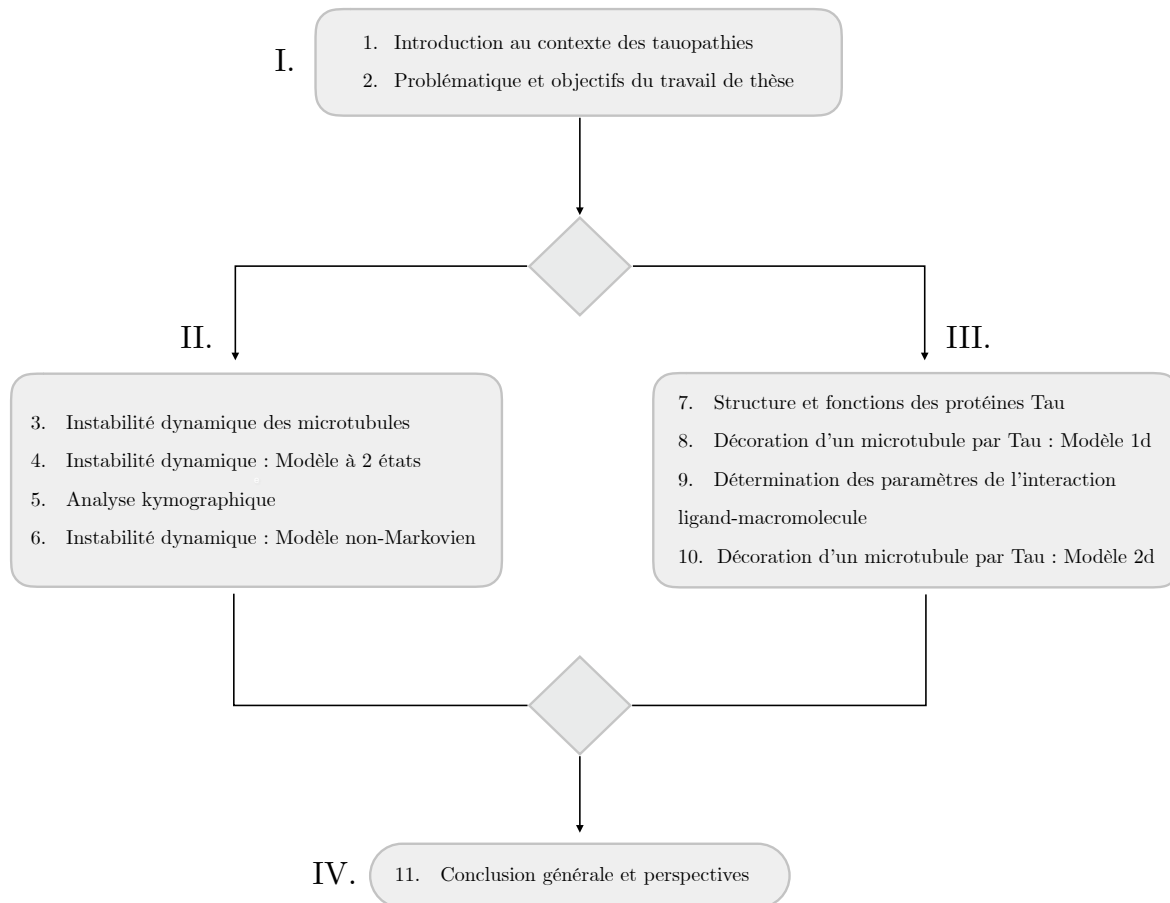


FIGURE 1: Plan sommaire du manuscrit de thèse

- Partie I : Introduction générale découpée en deux chapitres (pages 23-34)
 - Chapitre 1 : Présentation du contexte général des Tauopathies (pages 23-29)
 - Chapitre 2 : Formulation du problème et objectifs du travail de thèse (pages 31-34)
- Partie II : Instabilité dynamique des microtubules, découpée en quatre chapitres (pages 39-102)
 - Chapitre 3 : Présentation du mécanisme d'instabilité dynamique des microtubules (pages 39-46)
 - Chapitre 4 : Présentation du modèle Markovien à deux états de l'instabilité dynamique (pages 47-54)
 - Chapitre 5 : Présentation de la méthode permettant d'extraire les paramètres de l'instabilité dynamique à partir des kymographes (pages 55-66)
 - Chapitre 6 : Développement d'un modèle non-Markovien à l'échelle de la tubuline décrivant l'instabilité dynamique des microtubules (pages 67-102)

- Partie III : Décoration par des protéines Tau d'un microtubule stabilisé, découpée en quatre chapitres (pages 107-174)
 - Chapitre 7 : Présentation de la structure des protéines Tau et de ses fonctions associées aux microtubules (pages 107-114)
 - Chapitre 8 : Développement d'un modèle unidimensionnel de la décoration d'un microtubule par Tau (pages 115-130)
 - Chapitre 9 : Développement de méthodes permettant d'extraire les paramètres d'une interaction de type ligand-macromolécule à partir d'expériences de co-sédimentation (pages 131-148)
 - Chapitre 10 : Développement d'un modèle bidimensionnel de la décoration d'un microtubule par Tau (pages 149-174)
- Partie IV : Conclusion générale et perspectives (pages 177-191)

Pour faciliter et aider à la lecture, un résumé sera effectué à l'issue de chaque chapitre.

Première partie

Introduction

Chapitre 1

Introduction au contexte des tauopathies

L'objectif de ce chapitre introductif est de définir et de présenter le contexte général des pathologies liées à la protéine Tau. Ce chapitre servira de base et motivation à la formulation du problème général de la thèse.

Sommaire

1.1	Généralités	24
1.2	Perte des fonctions de la protéine Tau	26
1.3	Viabilité des neurones et dynamique des microtubules	26

1.1 Généralités

Parmi les maladies neurodégénératives les plus fréquentes, la maladie d'Alzheimer est associée à une perte progressive et irréversible de l'autonomie et des fonctions cognitives (mémoire, langage, raisonnement, apprentissage, résolution de problèmes, prise de décision ...). En France, plus de 900 000 personnes étaient touchées par la maladie d'Alzheimer en 2015, et ce nombre pourrait atteindre 1.3 millions en 2020 [1] ("[Fondation recherche médicale](#)"). La maladie d'Alzheimer représente la 4ème cause de mortalité en France. Au niveau mondial, 46.8 millions de personnes sont atteintes de démence, parmi lesquelles 60 à 70% sont touchées par la maladie d'Alzheimer [2].

La maladie d'Alzheimer fut décrite pour la première fois par le psychiatre et neuropathologiste allemand Aloïs Alzheimer en 1906 qui a identifié deux lésions principales dans le cerveau d'une patiente de 51 ans atteinte de démence : des plaques séniles et des enchevêtrements fibrillaires intra-neuronaux [3, 4]. En 1910, le nom de *maladie d'Alzheimer* fut attribué à cette pathologie [5] mais ce n'est que dans les années 80 que la composition moléculaire de ces deux liaisons fut découverte [5, 6, 7, 8, 9, 10, 11]. La protéine Tau constitue le principal composant des liaisons intra-neurales appelées dégénérescences neurofibrillaires (DNF), que l'on peut voir sur la Figure 1.1a, tandis que la protéine bêta-amyloïde ($A\beta$) est le constituant majeur des plaques séniles (Figure 1.1b). Les DNFs ne sont pas uniquement retrouvées dans la maladie d'Alzheimer mais apparaissent dans une vingtaine de pathologies appelées *Tauopathies* (étymologiquement maladies de Tau).

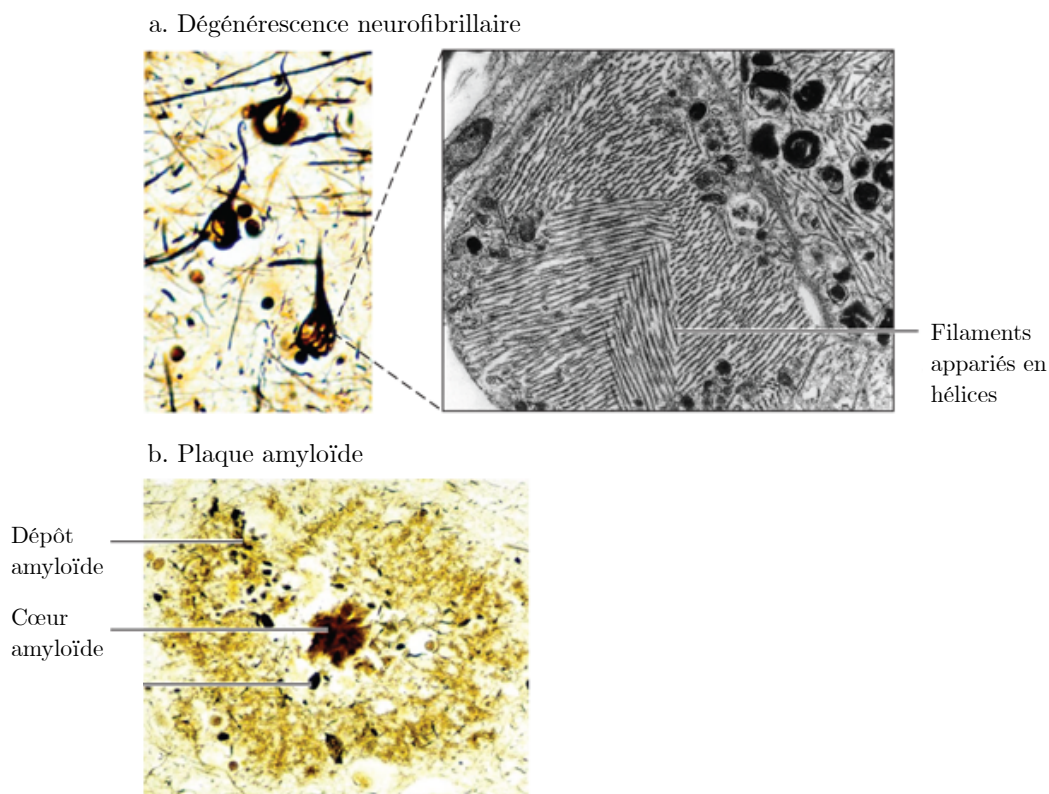


FIGURE 1.1: Dégénérescence neurofibrillaire et plaques amyloïdes dans le cas de la maladie d'Alzheimer. La figure a été adaptée de [12].

<p>Maladie d'Alzheimer</p> <p>Tauopathies avec parkinsonisme prédominant</p> <ul style="list-style-type: none"> • Dégénérescence Corticobasale • Paralyse supra-nucléaire progressive • Démence fronto-temporale avec parkinsonisme lié au chromosome 17 • Complexe démence-parkinsonisme de l'île de Guam • Syndrome Parkinsonien post-encéphalitique • Encéphalite traumatique des pugilistes • Neurodégénérescence associée à la pantothénate kinase • Parkinsonisme de Guadeloupe
<p>Autres Tauopathies</p> <ul style="list-style-type: none"> • Maladie de Pick • Maladie de Niemann-Pick de type C • Trisomie 21 / Syndrome de Down • Démence à grains argyrophiles • Dystrophie myotonique • Syndrome de Gerstmann-Straussler-Scheinker • Panencéphalite sclérosante subaiguë • Démence familiale de type britannique • Démence familiale de type danois • Angiopathie amyloïde de type britannique • Retard mental associé à SLC9A6 • Maladie du motoneurone avec dégénérescences neurofibrillaires non-Guam • Neurodégénérescence avec surcharge cérébrale en fer

TABLE 1.1: Liste des différentes Tauopathies [13, 14].

La liste des différentes Tauopathies est reportée dans le tableau 1.1. Ces pathologies sont associées à des changements anormaux des protéines Tau qui s'aggrègent et forment des DNFs. Les symptômes peuvent varier d'une tauopathie à une autre allant de la modification de la personnalité et du comportement social pour la maladie de Pick à l'incapacité de réaliser des mouvements précis, rapides, et des tremblements pour la dégénérescence corticobasale [14]. Les tauopathies peuvent être classées en fonction du phénotype clinique et des caractéristiques pathologiques (présence exclusive de Tau ou non, présence de dépôts d'amyloïde ou non ...). Une telle classification peut être trouvée dans la revue [14]. La paralyse supranucléaire (PSP), la dégénérescence corticobasale (DCB) et la maladie de Pick sont des pathologies rares avec une incidence de l'ordre de 1 cas pour 100 000 habitants et par an, et présentent la particularité d'être exclusivement associées à une

pathologie des protéines Tau [14]. Ces pathologies sont appelées "tauopathies pures". La maladie d'Alzheimer, la démence pugilistique et le syndrome de Down sont des exemples de tauopathies qui sont également associées à des dépôts de protéines amyloïdes. Il a été montré que dans le cas de la maladie d'Alzheimer, les DNFs apparaissaient avant les plaques amyloïdes [15, 16, 17]. Selon les pathologies considérées, les agrégats se présentent sous différentes formes. Dans le cas de la maladie d'Alzheimer, ces protéines se structurent sous la forme de filaments appariés en hélices (PHF pour *Paired Helical Filaments*) (Figure 1.1a). Dans le cas de la maladie de Pick, ces accumulations forment des corps sphériques appelés corps de Pick tandis que pour la paralysie supranucléaire, elles forment des touffes gliales.

1.2 Perte des fonctions de la protéine Tau

Dans les conditions physiologiques non pathologiques, les protéines Tau assurent des fonctions cruciales au sein des neurones. Elles assurent la stabilité et la bonne organisation spatiale du réseau microtubulaire dans l'axone et coordonnent le transport du matériel biologique vers les synapses, indispensable au bon fonctionnement du neurone. Cette diversité de fonctions biologiques de Tau provient de sa capacité à se lier aux microtubules (Figure 1.2a). Les microtubules sont des filaments extrêmement dynamiques dont la dynamique peut être régulée par des protéines appartenant à la classe des MAPs (*Microtubule Associated Proteins*, en anglais) telles que les Tau ou MAP2. Les processus moléculaires qui ont lieu dans les Tauopathies conduisent à une perte d'affinité des Tau à s'attacher aux microtubules entraînant ainsi la déstabilisation du réseau microtubulaire (Figure 1.2b) et des perturbations du transport des nutriments au sein des axones (transport axonal). Cette déstabilisation est accompagnée d'une relocalisation des Tau vers le compartiment somato-dendritique [18]. Les protéines Tau forment alors des agrégats qui sont séquestrés au sein des dégénérescence neurofibrillaires (Figure 1.2). Ces DNFs pourraient se propager vers d'autres neurones et ainsi participer à la propagation de la pathologie à d'autres régions du cerveau.

1.3 Viabilité des neurones et dynamique des microtubules

La Figure 1.2 représente la dissociation des microtubules dû au détachement des protéines Tau. Cette dissociation du réseau microtubulaire au sein de l'axone rend impossible le transport des nutriments [20] qui sont indispensables au fonctionnement du neurone et conduit donc à la mort cellulaire. D'un autre côté, la situation dans laquelle le réseau microtubulaire est saturé de protéines Tau conduit également à la mort neuronale. En effet, il a été montré que les protéines Tau formaient des obstacles pour les protéines motrices transportant les nutriments [21, 22, 23, 20]. Lorsque les protéines Tau sont présentes en trop grand nombre sur les microtubules, bien que le réseau microtubulaire soit bien or-

1.3 Viabilité des neurones et dynamique des microtubules

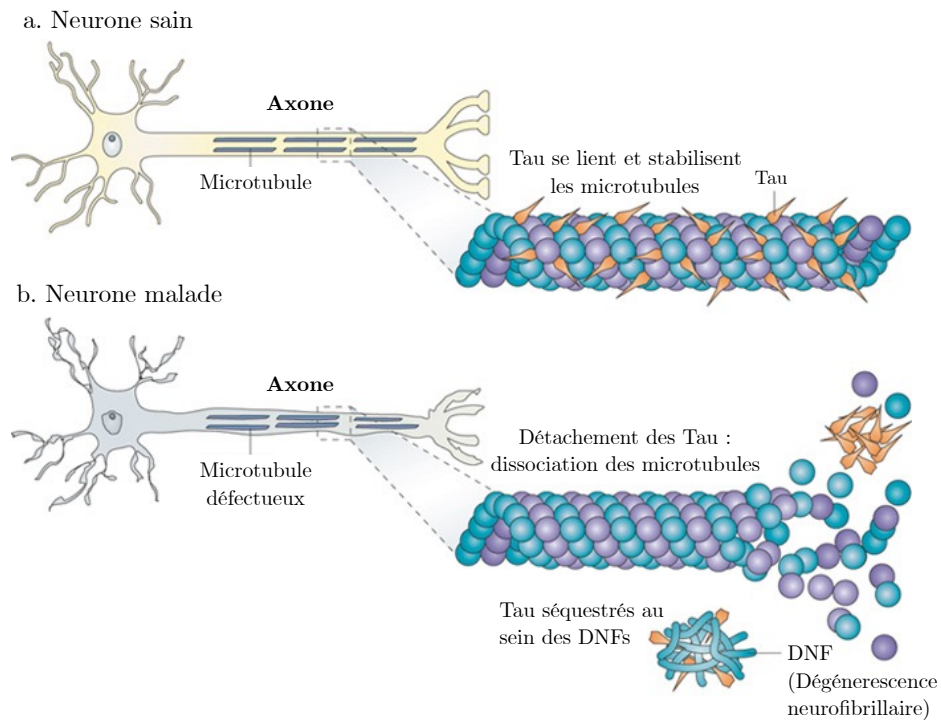


FIGURE 1.2: Comparaison d'un neurone sain avec un neurone malade dans le cadre d'une pathologie liée à la protéine Tau. La figure a été adaptée de [19].

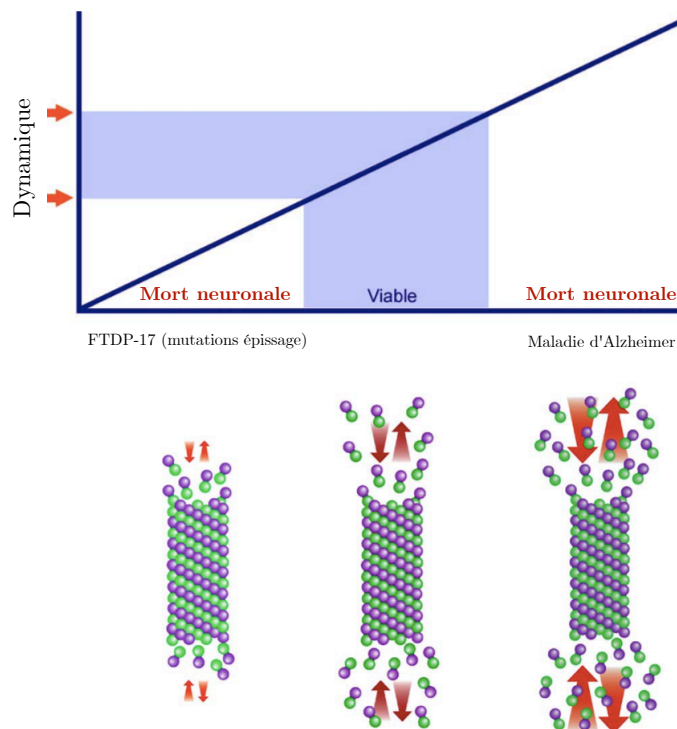


FIGURE 1.3: Relation entre la viabilité des neurones et la dynamique des microtubules au sein de l'axone.

ganisé et stabilisé, des embouteillages apparaissent et le transport du matériel biologique devient alors impossible [20]. Ainsi, il existe une relation étroite entre la viabilité des neurones et la dynamique des microtubules au sein de l'axone. Cet aspect est représenté

schématiquement sur la Figure 1.3 avec l'existence de deux zones pathologiques et d'une zone viable en fonction de la dynamique des microtubules [24, 25]. La zone de gauche qui est associée à des microtubules très peu dynamiques correspond à la démence frontotemporale avec parkinsonisme lié au chromosome 17 tandis que la zone de droite pour des microtubules extrêmement dynamiques correspond au cas de la maladie d'Alzheimer ou bien encore la paralysie supranucléaire [24, 25].

Résumé du chapitre 1 : Introduction : Contexte des tauopathies

1. Les tauopathies regroupent une vingtaine de maladies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer, la dégénérescence corticobasale ou bien encore, la maladie de Pick. Au niveau moléculaire, elles sont caractérisées par la présence d'agrégats de protéines Tau séquestrés au sein de filaments insolubles.
2. Les protéines Tau jouent un rôle très important au sein des neurones : elles assurent la stabilité et l'organisation du réseau microtubulaire et permettent le bon fonctionnement du transport de molécules approvisionnant les synapses. Les fonctions biologiques des protéines Tau sont issues de leurs capacité à se lier aux microtubules. Les conditions pathologiques dans les tauopathies favorisent le détachement des Tau aux microtubules et ainsi conduisent à une perte des fonctions physiologiques, et finalement à la mort neuronale.

Chapitre 2

Problématique et objectifs du travail de thèse

Dans le chapitre précédent, nous avons présenté le contexte général des tauopathies, et nous avons vu que les conditions pathologiques favorisaient une faible propension à l'attachement des protéines Tau aux microtubules et conduisaient à la dégradation puis la perte des fonctions normales assurées par le couple Tau-microtubule, et finalement à la mort neuronale. La compréhension des tauopathies passe donc par celle de :

- de la dynamique des microtubules qui est régie par les mécanismes de l'instabilité dynamique au cours desquels les microtubules alternent en permanence entre une phase de croissance (polymérisation des GTP-tubulines) et de rétrécissement (dissociation des GDP-tubulines) ;
- et des interactions entre protéines Tau – microtubule qui jouent un rôle important dans la polymérisation, la stabilisation des microtubules, l'organisation spatiale du réseau de microtubules dans l'axone, et la coordination du transport axonal.

L'objectif de ce travail est de construire les bases permettant d'aller vers une modélisation détaillée d'un microtubule dynamique en interaction avec une population de protéines Tau. Pour cela, le travail de thèse a été organisé en deux grandes parties (voir Figure 2.1). Une partie qui est consacrée à la dynamique intrinsèque des microtubules (partie II), c'est-à-dire en l'absence de protéines Tau. Cette dynamique est régie par les mécanismes de l'instabilité dynamique au cours desquels les microtubules alternent en permanence entre une phase de croissance et de rétrécissement. La seconde partie est dédiée à la dynamique d'attachement/détachement d'une population de Tau sur un microtubule stable (partie III), c'est-à-dire en l'absence d'instabilité dynamique. La dernière partie sur les perspectives immédiates de ce travail de thèse présente comment combiner les parties II et III vers une modélisation du système Tau-microtubule.

L'objectif de la partie II est de décrire et de caractériser l'instabilité dyna-

mique des microtubules à l'échelle de la tubuline en vue de construire un modèle incluant les interactions avec les protéines Tau. Cette partie comprend quatre chapitres :

- **Dans le premier chapitre de cette partie (chapitre 3)**, nous faisons l'état des connaissances sur la structure des microtubules et des mécanismes de l'instabilité dynamique. Les quatre principaux paramètres caractérisant la dynamique des microtubules sont introduits, et des valeurs typiques mesurées expérimentalement sont données.
- **Dans le chapitre 4**, nous présentons le modèle classique à deux états permettant de capturer les propriétés essentielles de l'instabilité dynamique des microtubules.
- **Dans le chapitre 5**, nous décrivons la méthode d'analyse kymographique permettant de déterminer les paramètres de l'instabilité dynamique des microtubules.
- **Enfin, dans le chapitre 6**, nous développons un nouveau modèle de l'instabilité dynamique à l'échelle de la tubuline. Des simulations numériques et des dérivations analytiques sont présentées, et les résultats pour des quantités mesurables telles que la fréquence de croissance et de décroissance sont comparés avec les résultats expérimentaux de la littérature.

La partie **III** traite de l'interaction entre une population de protéines Tau et un microtubule stabilisé. La réaction d'attachement/détachement des Tau sur les microtubules conduit à une distribution (dynamique) de Tau à la surface du microtubule que l'on appelle *décoration*. **L'objectif de la partie III est de décrire et de caractériser la décoration bidimensionnelle des microtubules par les protéines Tau.** Cette partie comprend quatre chapitres :

- **Dans le premier chapitre de cette partie (chapitre 7)**, nous faisons l'état des connaissances sur la structure des protéines Tau, de leurs fonctions associées aux microtubules, et de leurs modes d'attachement aux microtubules à l'échelle de la tubuline. Les deux paramètres importants caractérisant la réaction Tau-microtubule, c'est-à-dire la stœchiométrie et la constante de dissociation, sont introduits, et des valeurs numériques sont reportées.
- **Dans le chapitre 8**, nous développons un premier modèle de décoration dans lequel le microtubule est vu comme une chaîne unidimensionnelle. Les quantités importantes qui caractérisent la décoration sont la densité de protéines Tau attachées et la distribution spatiale des Tau à la surface du microtubule. Les résultats analytiques et numériques pour ces deux quantités sont présentés et comparés.
- **Dans le chapitre 9**, nous développons une nouvelle méthode permettant de déterminer les paramètres importants pour des interactions de type ligand-macromolécule à partir d'expériences de co-sédimentation à l'équilibre. Une comparaison avec la méthode standard, qui est fréquemment utilisée dans la littérature est présentée. Enfin, les méthodes sont illustrées sur des données expérimentales telles que pour la réaction Tau-microtubule.

- Dans le chapitre 10, nous présentons la généralisation au cas bidimensionnel du modèle présenté dans le chapitre 8. Les quantités qui ont été déterminées dans le cadre du modèle unidimensionnel sont également calculées à la fois de manière numérique et analytique.

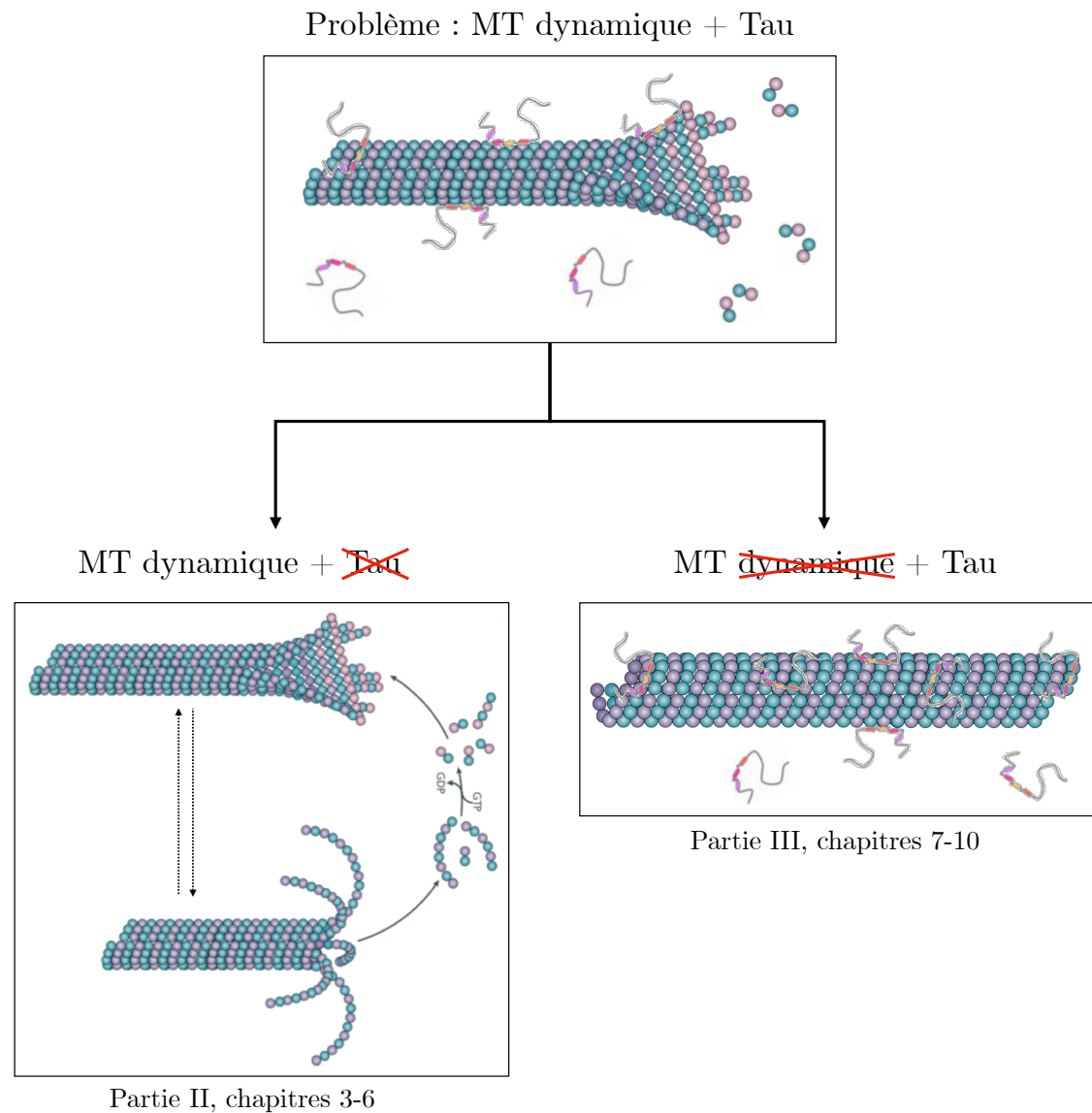


FIGURE 2.1: Résumé graphique des deux problèmes abordés dans le travail de thèse. La figure a été adaptée de [26, 27].

Résumé du chapitre 2 : Problème et objectifs du travail de thèse

1. Objectifs de la thèse : Construire les bases permettant de modéliser le système couplé de l'instabilité dynamique de microtubules en interaction avec la dynamique d'attachement/détachement des protéines Tau sur les microtubules dynamiques.
2. Deux approches utilisées pour répondre aux objectifs :
 - Développer une modélisation de l'instabilité dynamique des microtubules à l'échelle de la tubuline
 - Développer une modélisation de la dynamique de décoration des microtubules par des protéines Tau en l'absence d'instabilité dynamique (microtubules stabilisés).

Deuxième partie

Dynamique des microtubules en l'absence de Tau

Instabilité dynamique des MTs

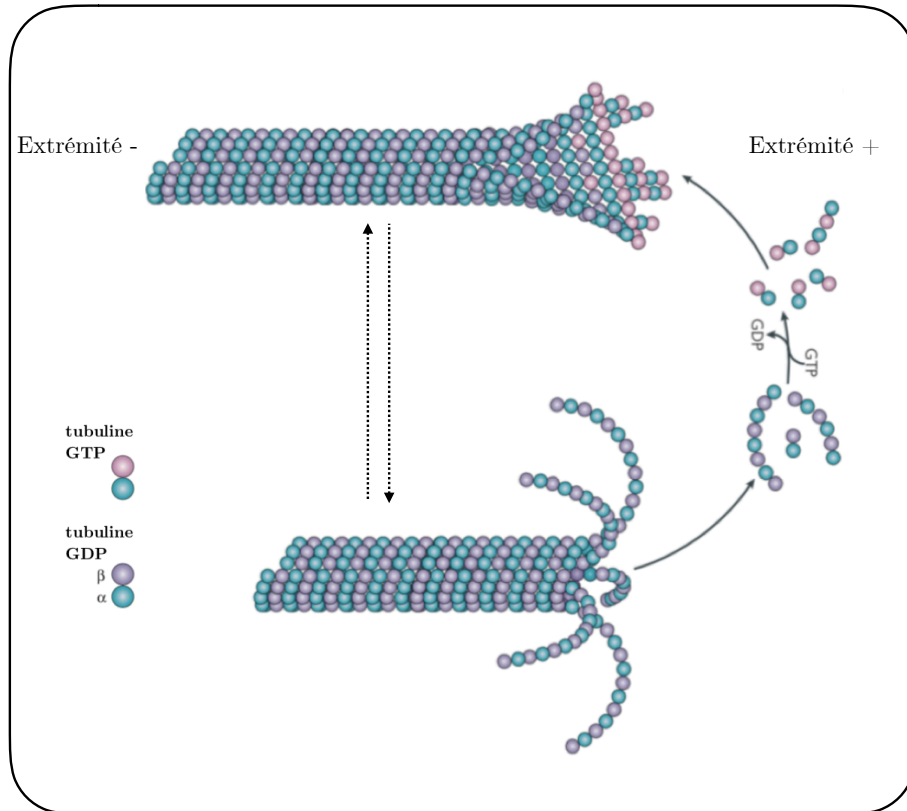


FIGURE 2.2: Objectif de la partie II de la thèse : caractériser l'instabilité dynamique des microtubules. La figure a été adaptée de [26].

Chapitre 3

Généralités sur les microtubules

L'objectif de ce chapitre est de présenter la structure des microtubules et de décrire l'instabilité dynamique des microtubules. Ce chapitre servira de base à la construction du modèle décrivant l'évolution d'un microtubule à l'échelle des tubulines dans le chapitre 6.

Sommaire

3.1	Structure des microtubules	40
3.1.1	Assemblage des microtubules	40
3.1.2	L'unité de base des microtubules	40
3.2	Dynamique des microtubules	42
3.2.1	L'instabilité dynamique des microtubules	42
3.2.2	Événements de catastrophe	43
3.2.3	Événements de sauvetage	43
3.2.4	Paramètres de l'instabilité dynamique des microtubules	44

3.1 Structure des microtubules

3.1.1 Assemblage des microtubules

Les microtubules sont des polymères qui apparaissent sous la forme de cylindres creux de 25 *nm* de diamètre et de longueur pouvant atteindre plusieurs centaines de micromètres. Les microtubules sont formés de dimères de tubuline $\alpha\beta$ de 8 *nm* de longueur qui s'assemblent longitudinalement par interaction non-covalente formant ainsi une chaîne linéaire appelée protofilament (Figure 3.1a). La structure du microtubule résulte de l'interaction latérale entre plusieurs protofilaments. *In vivo*, la majorité des microtubules est composée de 13 protofilaments [28, 29, 30, 31]. La structure la plus stable énergétiquement [31] et donc celle qui est favorisée dans la nature est présentée et détaillée sur la figure 3.1b. Le microtubule possède une structure hélicoïdale qui résulte d'un léger décalage longitudinal de $12/13 \simeq 0.92$ *nm* entre les protofilaments [32, 33, 34]. Ainsi, si l'on suit une hélice de monomères, on se retrouve décalé longitudinalement de 3 monomères après un tour complet du microtubule. Par conséquent, au minimum trois hélices de monomères sont nécessaires afin de maintenir et d'assurer la structure du microtubule. Cette configuration avec 13 protofilaments et un pas d'hélice de 3 monomères est souvent dénotée 13 : 3 dans la littérature. De plus, comme nous pouvons le voir sur la figure 3.1, chaque monomère α lie un α du protofilament adjacent. Cet assemblage est appelé réseau de type B (B-type lattice dans la littérature) [35, 36, 37]. De cet arrangement particulier découle deux propriétés importantes : (i) la polarité du microtubule avec une extrémité (+) exposant les 13 sous-unités β et une extrémité (-) avec les sous unités α [38, 39] et (ii) une discontinuité structurelle à la jointure entre le 1er et le 13ème protofilament où il existe des contacts latéraux de type $\alpha - \beta$ ou $\beta - \alpha$ le long d'une hélice [35, 40] (Figures 3.1b et 3.3a).

3.1.2 L'unité de base des microtubules

Comme illustré sur la figure 3.1, l'unité de base du microtubule est le dimère de tubuline : une protéine formée de deux sous-unités très semblables α et β qui sont liées par des liaisons non covalentes. Ces sous-unités α et β sont des protéines globulaires et ont une masse moléculaire d'environ 55 kDa ($1\text{Da} \simeq 1,66 \times 10^{-27}\text{kg}$). Bien que chaque sous-unité possède un site d'attachement pour le nucléotide GTP (guanosine triphosphate), seul le GTP présent sur la sous-unité β peut être hydrolysé en GDP (guanosine diphosphate) [42, 43, 41]. Ainsi, les dimères de tubuline peuvent exister dans deux états différents : un premier état (que l'on dénotera GTP par la suite) dans lequel les deux sous unités lient le GTP (Figure 3.3b) et un second état dit *hydrolysé* (GDP par la suite) dans lequel la sous unité α lie le GTP et la sous unité β lie le GDP (Figure 3.3c). De plus il a été montré que le processus d'hydrolyse (transition $\text{GTP} \rightarrow \text{GDP}$) des dimères de tubuline avait lieu uniquement après incorporation des tubulines GTP au sein du microtubule et que la transition inverse ($\text{GDP} \rightarrow \text{GTP}$) avait lieu pour des dimères GDP libres (dans le cytoplasme) [44, 41, 43] (Figures 3.1c et 3.3d-g).

3.1 Structure des microtubules

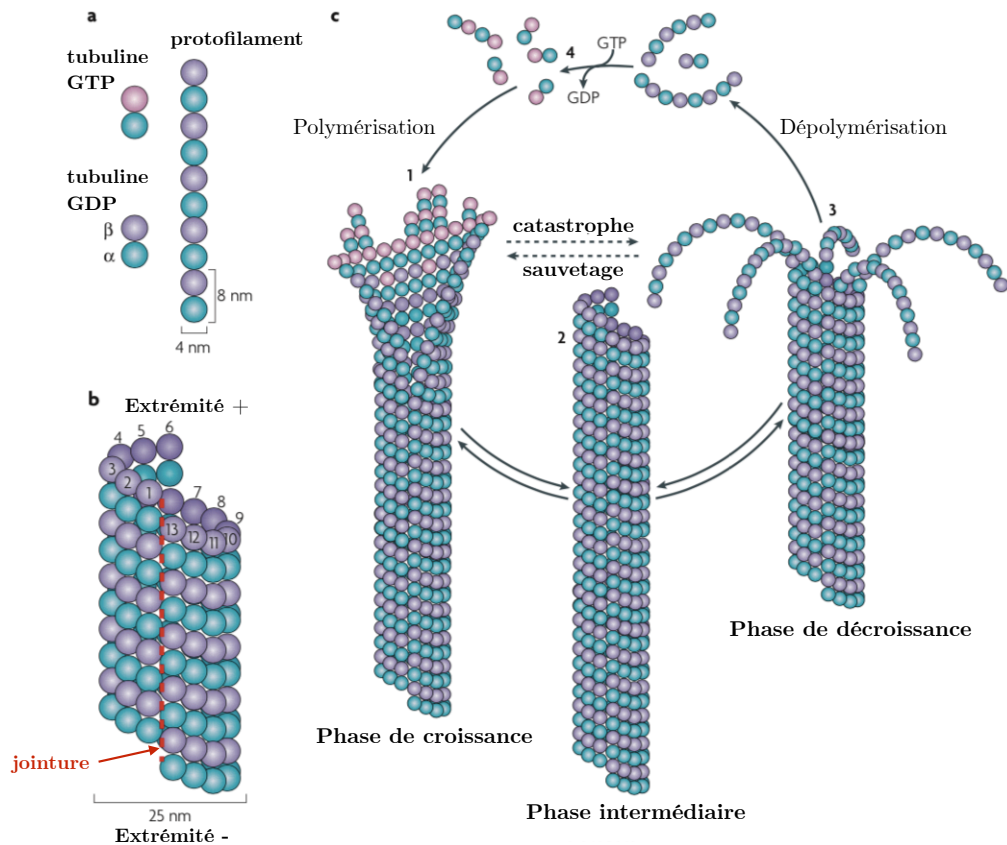


FIGURE 3.1: Schéma représentant le processus d'instabilité dynamique d'un microtubule. (a) L'unité de base du microtubule est le dimère de tubuline $\alpha\beta$ qui peut exister sous deux formes : (i) GTP dans laquelle les deux sous unités lient le GTP et (ii) une forme hydrolysée GDP dans laquelle la sous unité α lie le GTP et la sous unité β lie le GDP. Les dimères s'assemblent longitudinalement pour former une chaîne linéaire appelée protofilament. (b) La structure du microtubule résulte de l'association latérale de plusieurs protofilaments. La configuration la plus stable et donc celle qui est dominante *in vivo* [31] est composée de 13 protofilaments qui sont décalés longitudinalement de $12/13 \approx 0.92$ nm entre eux. Il en résulte une structure hélicoïdale avec un pas d'hélice de 3 monomères. De plus, le long d'une hélice de monomère, les contacts sont de type $\alpha - \alpha$ ou de type $\beta - \beta$ excepté à la jointure entre le 1er et le 13ème protofilament avec des contacts de type $\alpha - \beta$ et $\beta - \alpha$ (réseau de surface de type B). (c) Illustration des transitions aléatoires entre la phase de croissance et de décroissance qui caractérisent l'instabilité dynamique des microtubules. Le passage de la phase de croissance à la phase de décroissance est nommé catastrophe et l'événement inverse est nommé sauvetage si il survient avant la destruction complète du microtubule. La phase de croissance est caractérisée par la polymérisation de dimères de tubuline GTP libres. Une fois incorporées au sein du microtubule, les tubulines GTP peuvent être hydrolysées en GDP. Il a été montré que l'événement de catastrophe des microtubules était contrôlé par le processus d'hydrolyse des tubulines [41]. La phase de décroissance est caractérisée par la perte de dimères de tubuline qui sont alors majoritairement sous la forme GDP. Durant cette phase, les protofilaments à l'extrémité se désolidarisent du microtubule à l'image d'une peau de banane que l'on épluche. Les dimères GDP libérés du microtubule retrouvent leurs formes GTP par un mécanisme d'échange $GDP \rightarrow GTP$ et peuvent à nouveau polymériser un microtubule. La figure est adaptée de [26].

3.2 Dynamique des microtubules

3.2.1 L'instabilité dynamique des microtubules

Le comportement dynamique des microtubules a été observé pour la première fois en 1984 par Mitchison et Kirschner [45, 46]. Ils ont constaté que les microtubules alternaient de manière aléatoire entre deux phases : une phase de croissance relativement lente dans laquelle le microtubule croît par polymérisation (addition) de tubuline GTP libres par l'extrémité et une phase de décroissance rapide dans laquelle le microtubule perd ses dimères (Figure 3.1). Ce phénomène appelé *instabilité dynamique* (*dynamic instability* dans la littérature) est une propriété intrinsèque des microtubules et peut être régulé par un certain nombre de protéines telles que la protéine Tau ou MAP2 qui appartiennent à la classe de protéines des MAPs (Microtubule Associated Proteins) [47, 46]. La transition de la phase de croissance à la phase de décroissance est classiquement appelée catastrophe et l'événement inverse est appelé un sauvetage. Plus précisément, le sauvetage du microtubule correspond à la transition de phase de décroissance à celle de croissance avant la destruction complète du microtubule (Figure 3.2). En plus des phases de croissance et de décroissance, une troisième phase intermédiaire dans laquelle la longueur du microtubule est constante a également été observée [48, 49]. Ces événements sont appelés *pauses* et semblent relativement rares *in vitro*. L'instabilité dynamique est classiquement décrite par 4 paramètres : la vitesse de croissance v_+ , la vitesse de décroissance v_- , la fréquence de catastrophe f_+ et la fréquence de sauvetage f_- . *In vivo*, l'extrémité (+) du microtubule est sujette à l'instabilité dynamique alors que l'extrémité (-) se trouve le plus souvent ancrée au sein du centrosome et est statique tandis que *in vitro*, l'instabilité dynamique survient aux deux extrémités du microtubule bien qu'elle soit largement plus modérée à l'extrémité (-) [50, 51, 52]. Classiquement, les expériences *in vitro* réalisées afin d'étudier l'instabilité dynamique des microtubules permettent de suivre l'évolution temporelle de l'extrémité (+) du microtubule à partir d'une amorce stable par vidéo-microscopie à fluorescence. À partir de ces vidéos, il est possible de construire des images appelées *kymographes* qui représentent l'histoire de l'extrémité (+) et donc d'extraire la longueur du microtubule en fonction du temps (cf. 5.1). Typiquement, les trajectoires ont un aspect de "dents de scie" avec des phases linéaires de croissance relativement lente et de décroissance rapide (Figure 3.2).

L'analyse de ces trajectoires permet de déterminer les 4 paramètres de l'instabilité dynamique des microtubules (voir Chapitre 5). L'instabilité dynamique des microtubules est contrôlé par l'hydrolyse des tubulines GTP en GDP au sein du microtubule [41]. En effet, l'énergie nécessaire à la dynamique des microtubules provient de l'hydrolyse du GTP [53, 54]. De plus, des expériences ont mis en évidence que des microtubules formés de GMPCPP, un analogue non-hydrolysable de la tubuline GTP, ne se dépolymérisaient pas (pas d'événement de catastrophe observés) [55].

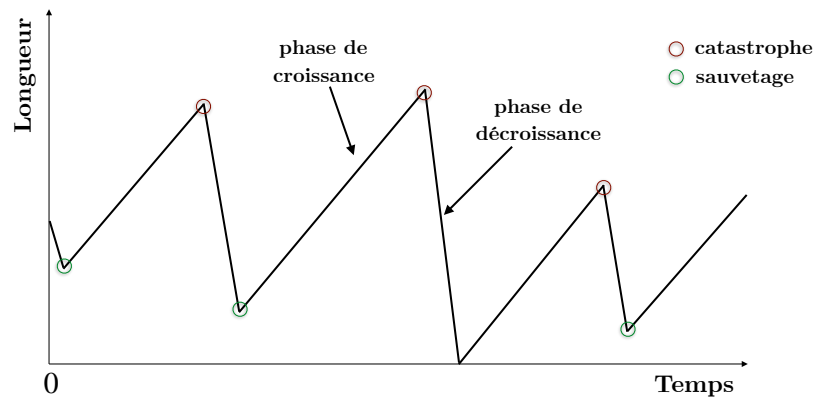


FIGURE 3.2: Trajectoire typique représentant l'histoire de l'extrémité (+) d'un microtubule assujettie au processus d'instabilité dynamique. La longueur du microtubule est tracée en fonction du temps et les événements de catastrophe et de sauvetage sont indiqués respectivement par des cercles de couleur rouge et vert.

3.2.2 Événements de catastrophe

L'hypothèse dominante dans la littérature pour l'événement de catastrophe des microtubules repose sur le fait que l'hydrolyse induirait un changement conformationnel de la tubuline (Figure 3.3b,c). En effet, sous sa forme GTP, la tubuline adopterait une conformation droite alors que sous sa forme hydrolysée, elle adopterait une conformation courbe et plus instable [44, 56, 57]. De plus, des expériences [58, 59] ont montré qu'il existait un délai entre l'ajout de tubulines GTP à l'extrémité et le processus d'hydrolyse en GDP favorisant ainsi la formation d'une gaine composée de GTP à l'extrémité du microtubule nommée coiffe de GTP (Figure 3.3d). La présence de cette coiffe de GTP permettrait de stabiliser l'extrémité du microtubule durant sa phase d'élongation et sa perte serait l'élément déclencheur de la catastrophe du microtubule [46, 60]. En effet, à la suite de la perte de la coiffe de GTP, la conformation courbe des GDP à l'extrémité du microtubule provoquerait la désolidarisation des protofilaments à l'image d'une peau de banane (Figures 3.1c et 3.3e). Des expériences réalisées *in vitro* semblent indiquer que la coiffe de GTP nécessaire à la stabilisation du microtubule pourrait correspondre à une gaine de quelques dimères de largeur seulement (1 à 5 dimères, ce qui correspondrait à 13-65 dimères au total pour un microtubule composé de 13 protofilaments) [61, 62, 63].

3.2.3 Événements de sauvetage

Contrairement à l'événement de catastrophe, le mécanisme impliqué dans l'événement de sauvetage des microtubules reste très peu connu. La première hypothèse est basée sur l'observation expérimentale de dimères GTP à l'intérieur du microtubule lors de la phase de décroissance [64]. La vague de dépolymérisation du microtubule pourrait ainsi être arrêtée par la présence d'un certain nombre de tubulines GTP non-hydrolysées présentes sur son chemin et le microtubule pourrait alors repolymériser par addition de GTP par l'extrémité (Figure 3.3f,g). Cependant, le nombre et la disposition exacte de tubulines GTP

nécessaires afin d'initier un tel événement de sauvetage restent inconnus. Une seconde hypothèse est que l'addition simultanée de dimères de tubulines sur plusieurs protofilaments pourrait stopper la vague de dépolymérisation et donc initier un événement de sauvetage [65].

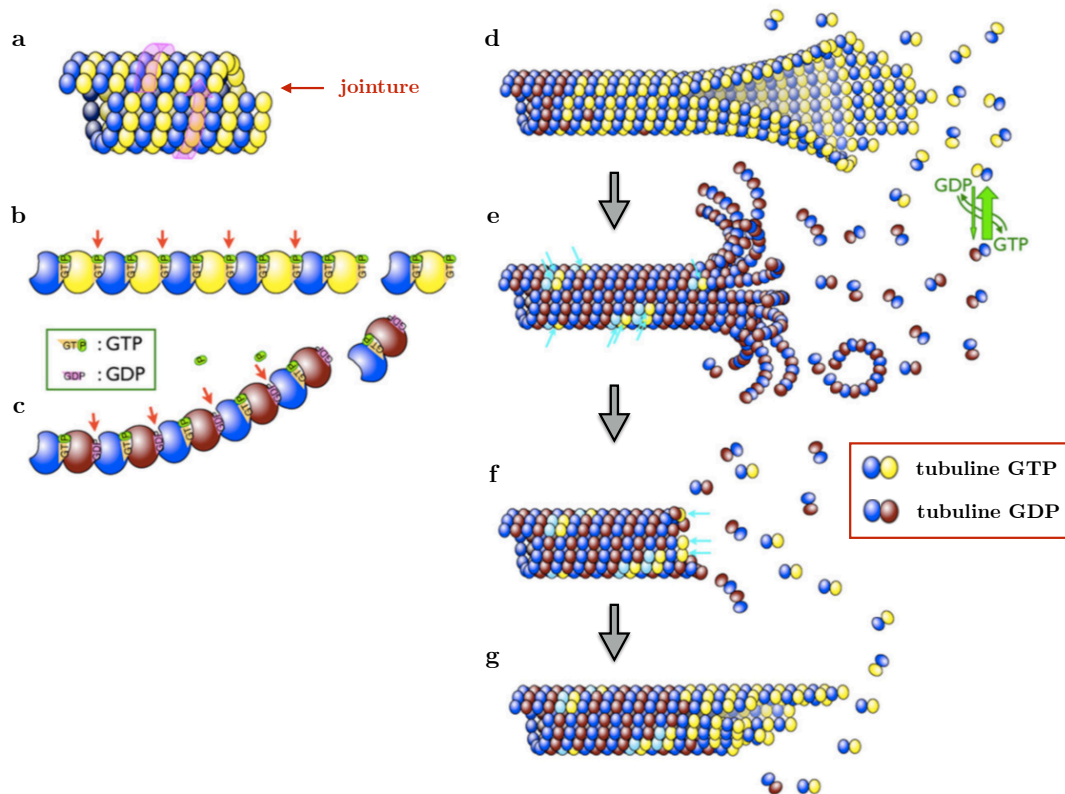


FIGURE 3.3: Mécanismes potentiels impliqués dans l'instabilité dynamique des microtubules. (a) Structure hélicoïdale du microtubule avec 13 protofilaments. (b,c) Le protofilament adopte une conformation droite et stable lorsqu'il est majoritairement composé de tubulines GTP alors qu'il adopte une conformation courbe et instable une fois composé de tubulines GDP [56]. (d) Le délai entre l'addition de tubulines GTP à l'extrémité du microtubule et l'hydrolyse [58, 59] favorise la formation d'une gaine appelée coiffe de GTP qui stabiliserait le microtubule pendant sa phase de croissance. La perte de cette coiffe serait à l'origine de l'événement de catastrophe (e). Les protofilaments alors majoritairement composés de tubulines GDP se courbent et se désolidarisent du microtubule à l'image d'une peau de banane. (f,g) Il a été suggéré que la présence de tubulines GTP non-hydrolysées puisse stopper la vague de dépolymérisation permettant au microtubule de polymériser de nouveaux dimères GTP. La figure est adaptée de [41].

3.2.4 Paramètres de l'instabilité dynamique des microtubules

Dans le tableau 3.1, des valeurs typiques pour les 4 paramètres de l'instabilité dynamique des microtubules pour l'extrémité (+) sont reportés pour une concentration de $10 \mu\text{M}$ de dimères de tubuline à partir d'expériences réalisées *in vitro* [48]. La vitesse de décroissance est entre 13 et 27 fois plus grande que celle de croissance et la fréquence

3.2 Dynamique des microtubules

des événements de sauvetage est 10 fois plus élevée que la fréquence des événements de catastrophe. À partir des valeurs typiques pour v_+ , v_- , f_+ et f_- , il est possible d'estimer le taux d'addition et de dissociation des dimères de tubulines et les temps moyen de croissance et de décroissance. Dans la même étude [48], il a été mis en évidence que la vitesse

Paramètre	Symbole	Valeur typique	Références
Vitesse de polymérisation	v_+	$\simeq 1 - 2 \mu\text{m}/\text{min}$	[48, 66]
Vitesse de dépolymérisation	v_-	$\simeq 27 \mu\text{m}/\text{min}$	[48]
Fréquence de catastrophes	f_+	$\simeq 0.2 \text{ min}^{-1}$	[48]
Fréquence de sauvetages	f_-	$\simeq 2 \text{ min}^{-1}$	[48]
Nombre de dimères par micromètre de microtubule	$\#\text{Tub}/\mu\text{m}$	1625	
Taux d'addition de dimères	k_g	$\simeq 54 \text{ s}^{-1}$	
Taux de dissociation de dimères	k_d	$\simeq 731 \text{ s}^{-1}$	
Temps moyen de croissance	t_+	$\simeq 5 \text{ min}$	
Temps moyen de décroissance	t_-	$\simeq 30 \text{ s}$	

TABLE 3.1: Paramètres de l'instabilité dynamique des microtubules. Les valeurs numériques réportées pour v_+ , v_- , f_+ et f_- proviennent de l'étude de Walker *et al* [48] pour une concentration de $10 \mu\text{M}$ de dimères de tubuline. En sachant qu'un microtubule formé de 13 protofilaments contient 1625 dimères de tubuline par micromètre, il est également possible d'estimer les taux d'addition et de dissociation de dimères de tubuline, k_g et k_d .

de croissance variait linéairement avec la concentration totale de tubuline présente dans la solution [Tub]. De manière générale, la vitesse de croissance peut s'écrire comme :

$$v_+ = k_{\text{att}} [\text{Tub}] - k_d, \quad (3.1)$$

où k_{att} représente le taux d'attachement des dimères de tubulines sur les microtubules. Contrairement à v_+ , la vitesse de décroissance reste pratiquement constante et ce pour les deux extrémités du microtubule. En revanche, la fréquence de catastrophe semble légèrement diminuer lorsque la concentration de tubuline augmente tandis que la fréquence de sauvetage semble constante [48]. De plus, plusieurs expériences ont mis en évidence [67, 68, 66, 69] que l'événement de catastrophe dépendait de l'histoire du microtubule et en particulier du temps que le microtubule a passé dans la phase de croissance. Contrairement aux vitesses v_+ , v_- et à la fréquence de sauvetage f_- qui restent constants au cours du temps, la fréquence de catastrophe f_+ semble croître avant de saturer vers une valeur limite [67, 66]. Cet aspect de mémoire dans le processus d'instabilité dynamique des microtubules à travers le mécanisme de catastrophe fera l'objet du Chapitre 6.

Résumé du chapitre 3 : Instabilité dynamique des microtubules

1. L'unité de base du microtubule est le dimère de tubuline $\alpha\beta$. Les dimères s'assemblent longitudinalement pour former une chaîne linéaire appelée protofilament et le microtubule résulte de l'association latérale de plusieurs protofilaments. L'arrangement prédominant *in vivo* est composé de 13 protofilaments qui sont décalés longitudinalement de $12/13 \simeq 0.92$ nm entre eux, conférant ainsi une structure hélicoïdale au microtubule avec un pas d'hélice de 3 monomères.
2. Le phénomène d'*instabilité dynamique* est une propriété intrinsèque des microtubules et est caractérisé par l'alternance aléatoire entre une lente phase de croissance et une phase de décroissance rapide. La transition entre la phase de croissance et celle de décroissance est appelée catastrophe et l'événement inverse est appelé sauvetage. L'instabilité dynamique des microtubules est classiquement décrite par 4 paramètres : la vitesse de croissance v_+ , la vitesse de décroissance v_- , la fréquence de catastrophes f_+ et la fréquence de sauvetages f_- .
3. La vitesse d'élongation v_+ varie linéairement alors que les trois autres paramètres restent relativement constants en fonction de la concentration totale de tubuline dans la solution.
4. L'instabilité dynamique des microtubules est régie par l'hydrolyse des tubulines GTP en GDP qui a lieu après l'incorporation des dimères GTP au sein du microtubule. Le délai entre l'addition des tubulines et l'hydrolyse favorise la formation d'une région composée de dimères GTP à l'extrémité du microtubule appelée coiffe de GTP. La présence de cette coiffe stabiliserait le microtubule durant sa phase de croissance et sa perte serait à l'origine de la catastrophe du microtubule. En revanche, le mécanisme moléculaire impliqué dans le sauvetage du microtubule est encore mal connu.

Chapitre 4

Instabilité dynamique des microtubules : Modèle markovien à deux états

L'objectif de ce chapitre est de présenter le modèle classique à deux états permettant de capturer les propriétés essentielles de l'instabilité dynamique des microtubules. Ce modèle prédit l'existence de deux régimes dans la dynamique des microtubules et permet d'obtenir des expressions analytiques pour la distribution des temps et de longueur en fonction des 4 paramètres v_+ , v_- , f_+ et f_- qui ont été introduits dans le chapitre 3.

Sommaire

4.1	Introduction	48
4.2	Description du modèle	49
4.3	Formulation mathématique	49
4.3.1	Équations stochastiques	49
4.3.2	Vitesse moyenne instantanée	50
4.3.3	Existence de deux régimes	51
4.4	Simulations numériques	52
4.5	Limitations du modèle	53

4.1 Introduction

Les premières simulations Monte Carlo du processus d'instabilité dynamique des microtubules ont été réalisées par Chen et Hill en 1983 [70] et le premier modèle analytique à deux états de l'instabilité dynamique fut développé par Hill en 1984 [71]. Dans ce modèle, le microtubule pousse à partir d'un site de nucléation et l'extrémité libre du microtubule peut exister dans deux états ou phases : une phase de croissance et une phase de décroissance. L'évolution spatiale de l'extrémité libre est décrite de manière discrète correspondant à l'addition ou la perte d'unités (dimères). À partir de ce modèle, une version continue fut développée et ses propriétés physiques ainsi que ses solutions analytiques ont fait l'objet de plusieurs études approfondies [72, 73, 74]. En parallèle de cette description macroscopique, de nombreux modèles numériques et analytiques dits mésoscopiques ont été développés afin de décrire les mécanismes de l'instabilité dynamique des microtubules en tenant compte des processus internes d'hydrolyse, d'association et de dissociation des dimères. Ces modèles se divisent principalement en deux catégories : les modèles nommés *single protofilament* dans la littérature et les modèles *multiple protofilament* considérant un réseau de 13 protofilaments en interaction. Les différences entre les modèles résident dans la description du mécanisme d'hydrolyse des dimères et la définition de la catastrophe du microtubule. Parmi la catégorie protofilament-unique, il existe trois modèles de base : (i) le modèle d'hydrolyse couplée [75], (ii) d'hydrolyse aléatoire [76] et (iii) d'hydrolyse vectorielle [77]. Dans le modèle (i), seul le dimère au bout du protofilament est dans l'état GTP et son hydrolyse survient immédiatement après l'ajout d'un autre dimère GTP à l'extrémité alors que dans le modèle (ii) d'hydrolyse aléatoire, à chaque instant, chaque dimère GTP au sein du protofilament à la même probabilité d'être hydrolysé ($\text{GTP} \rightarrow \text{GDP}$) qu'il soit à l'extrémité ou au milieu de la chaîne. Le modèle d'hydrolyse vectorielle est caractérisé par deux régions bien distinctes au sein du protofilament : une zone formée exclusivement de dimères hydrolysés GDP et une autre du côté de l'extrémité dynamique qui est formée de dimères GTP. Dans ce modèle, l'hydrolyse se fait à l'interface entre les deux zones. Pour ces trois modèles, la dynamique spatiale de la chaîne se fait par addition ou dissociation de dimères GTP par l'extrémité et la catastrophe survient lorsque le bout du protofilament expose un dimère dans l'état GDP. À partir de ces trois mécanismes de base, d'autres modèles tels que l'hydrolyse aléatoire-couplée ou l'hydrolyse aléatoire-vectorielle ont été développés et étudiés [78, 79]. Les modèles multi-protofilaments sont plus riches mais compte tenu de leur complexité, des expressions analytiques ne peuvent être obtenues que dans certains cas limites et des simulations Monte Carlo doivent alors être effectuées. On pourra consulter l'article [75] pour une revue plus détaillée de ces modèles mésoscopiques et leur pertinence par rapport aux observations expérimentales. Dans ce chapitre, nous allons présenter le modèle à deux états sous sa version continue. Ce modèle permet de capturer les propriétés essentielles de l'instabilité dynamique des microtubules et présente l'avantage d'avoir des solutions analytiques exactes [73, 74].

4.2 Description du modèle

Dans ce modèle, le microtubule est considéré comme un polymère rigide ayant une extrémité statique (ancrée à une surface de nucléation) tandis que l'autre extrémité est libre et est assujettie au processus d'instabilité dynamique (Figure 4.1). L'extrémité libre est soit dans une phase de croissance (" + ") dans laquelle le microtubule croît avec une vitesse moyenne v_+ ou soit dans une phase de décroissance (" - ") où il dépolymérise avec une vitesse moyenne v_- . La transition d'un état vers l'autre se fait de manière stochastique avec la fréquence f_+ pour la transition $+ \rightarrow -$ (événement de catastrophe) et la fréquence f_- pour la transition $- \rightarrow +$ (événement de sauvetage) comme indiqué sur le schéma cinétique (4.1).

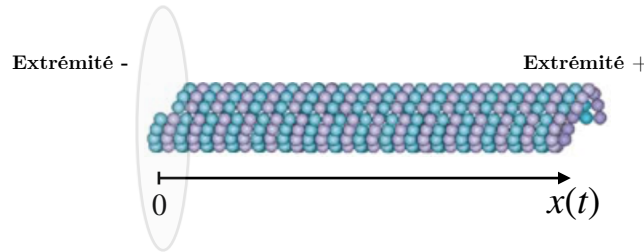


FIGURE 4.1: Modèle continu à deux états de l'instabilité dynamique. Le microtubule est considéré comme un polymère rigide ayant une extrémité statique qui est attachée à une surface plane de nucléation (zone grisée) tandis que l'autre extrémité (ici l'extrémité +) est libre et est sujette au processus d'instabilité dynamique et sa position par rapport à la surface de nucléation est dénotée $x(t)$. L'extrémité libre est soit dans une phase de croissance avec une vitesse moyenne v_+ ou soit dans une phase de décroissance avec une vitesse moyenne v_- . La figure est adaptée de [26].

4.3 Formulation mathématique

4.3.1 Équations stochastiques

On note $x(t)$ la position de l'extrémité libre sujette au processus d'instabilité dynamique (Figure 4.1). On peut alors définir les densités de probabilités $P_+(x, t)$ et $P_-(x, t)$, représentant la probabilité de trouver un microtubule respectivement dans la phase de croissance (" + ") et décroissance (" - ") à la position x au temps t . L'évolution temporelle des densités de probabilités $P_+(x, t)$ et $P_-(x, t)$ est contrôlée par le système dynamique suivant [72, 73, 74] :

$$\begin{cases} \frac{\partial P_+}{\partial t} = -v_+ \frac{\partial P_+}{\partial x} - f_+ P_+ + f_- P_- , \\ \frac{\partial P_-}{\partial t} = v_- \frac{\partial P_-}{\partial x} + f_+ P_+ - f_- P_- . \end{cases} \quad (4.2)$$

La position $x(t)$ de l'extrémité libre du microtubule qui intervient dans l'équation dynamique (4.2) obéit à l'équation d'évolution suivante :

$$\frac{dx}{dt} = v(t) \quad ; \quad v(t) = \begin{cases} +v_+ & \text{probabilité } g_+ , \\ -v_- & \text{probabilité } g_- . \end{cases} \quad (4.3)$$

La vitesse stochastique $v(t)$ peut prendre la valeur $+v_+$ (phase de croissance) avec une probabilité g_+ et la valeur $-v_-$ (phase de décroissance) avec une probabilité g_- avec la condition $g_+ + g_- = 1$. Les changements de vitesses sont décrits par des processus de Poisson de telle manière que les probabilités g_+ et g_- peuvent être décrites par le système cinétique du premier ordre suivant :

$$\frac{d}{dt} \begin{pmatrix} g_+ \\ g_- \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} -f_+ & f_- \\ f_+ & -f_- \end{pmatrix} \begin{pmatrix} g_+ \\ g_- \end{pmatrix} \quad (4.4)$$

Les solutions de l'équation (4.4) sont données par [73] :

$$\begin{cases} g_+(t) = \frac{f_-}{\omega} + \left[g_+(0) - \frac{f_-}{\omega} \right] e^{-\omega t} , \\ g_-(t) = \frac{f_+}{\omega} + \left[g_-(0) - \frac{f_+}{\omega} \right] e^{-\omega t} , \end{cases} \quad ; \quad \omega = f_+ + f_- , \quad (4.5)$$

avec $g_+(0)$ et $g_-(0)$, les deux conditions initiales du système (4.4) et $\omega^{-1} = 1/(f_+ + f_-)$ représente le temps moyen pendant lequel la vitesse $v(t)$ de l'extrémité libre du microtubule garde la même valeur.

4.3.2 Vitesse moyenne instantanée

La vitesse moyenne instantanée $\langle v(t) \rangle$ du microtubule est définie comme suit :

$$\langle v(t) \rangle = v_+ g_+(t) - v_- g_-(t) , \quad (4.6)$$

et son évolution temporelle est décrite par l'équation suivante :

$$\frac{d\langle v(t) \rangle}{dt} = -(f_+ + f_-) \langle v(t) \rangle + v_+ f_- - v_- f_+ . \quad (4.7)$$

En utilisant les solutions pour $g_+(t)$ et $g_-(t)$ données en (4.5) avec (4.6), il est possible de montrer que la fonction de relaxation pour $\langle v(t) \rangle$ est une simple exponentielle contrôlée par ω :

$$\frac{\langle v(t) \rangle - \langle v(\infty) \rangle}{\langle v(0) \rangle - \langle v(\infty) \rangle} = e^{-\omega t} \quad ; \quad \omega = f_+ + f_- . \quad (4.8)$$

4.3 Formulation mathématique

Le comportement exponentiel de la fonction de relaxation pour $\langle v(t) \rangle$ (4.8) est la signature d'un système Markovien. Le paramètre ω^{-1} a donc une double signification, il correspond au temps moyen avant que la vitesse du microtubule $v(t)$ change de signe (et de valeur) via l'équation (4.5) mais également au temps de relaxation de la vitesse moyenne du microtubule via l'équation (4.8). La vitesse moyenne est initialement donnée par $v_+g_+(0) - v_-g_-(0)$ puis varie au cours du temps avant d'atteindre au bout d'un temps $t > \omega^{-1}$ sa valeur d'équilibre $V \equiv \langle v(\infty) \rangle$ donnée par :

$$\langle v(\infty) \rangle \equiv V = \frac{v_+f_- - v_-f_+}{f_+ + f_-}. \quad (4.9)$$

4.3.3 Existence de deux régimes

Le système (4.2) peut être réécrit sous la forme de deux équations des télégraphistes généralisées [73] :

$$\frac{\partial^2 P_i}{\partial t^2} + \omega \frac{\partial P_i}{\partial t} = -(v_+ - v_-) \frac{\partial^2 P_i}{\partial t \partial x} + \omega D \frac{\partial^2 P_i}{\partial x^2} - \omega V \frac{\partial P_i}{\partial x}, \quad i = \pm. \quad (4.10)$$

où $D = v_+v_-/\omega$ représente le coefficient de diffusion effectif du processus. L'équation (4.10) peut être résolue analytiquement et les solutions sont données dans [73]. À partir de ce modèle, on peut distinguer deux régimes pour la dynamique des microtubules selon le signe de V [72, 73, 74] :

- Régime *infini* (*unbounded* dans la littérature) pour $V \geq 0 \implies v_+f_- \geq v_-f_+$. Les événements de catastrophe sont rares et le microtubule croît de manière persistante. Dans ce régime, la longueur moyenne du microtubule varie linéairement avec le temps [72] comme suit :

$$L(t) \simeq V t \quad ; \quad V = \frac{v_+f_- - v_-f_+}{f_+ + f_-}. \quad (4.11)$$

- Régime *fini* (*limited* ou *bounded* dans la littérature) pour $V < 0 \implies v_+f_- < v_-f_+$. Les événements de catastrophe sont fréquents et il existe une distribution de longueur des microtubules à l'équilibre. En éliminant les termes avec des dérivées temporelles dans l'équation (4.10), on obtient l'équation suivante pour la distribution de longueur des microtubules, $P_{\text{eq}}(x) = P_{+, \text{eq}}(x) + P_{-, \text{eq}}(x)$:

$$D \frac{\partial^2 P_{\text{eq}}}{\partial x^2} - V \frac{\partial P_{\text{eq}}}{\partial x} = 0 \quad ; \quad D = \frac{v_+v_-}{\omega}. \quad (4.12)$$

En imposant la condition de normalisation pour $P_{\text{eq}}(x)$ ($\int_0^\infty P_{\text{eq}} dx = 1$) et le fait que la distribution de longueur soit finie ($\lim_{x \rightarrow \infty} P_{\text{eq}}(x) = 0$), on peut montrer que la solution de l'équation (4.12) existe seulement pour le régime *fini* $V < 0$ et est donnée par [73] :

$$P_{\text{eq}}(x) = \frac{1}{\ell} e^{-x/\ell} \quad ; \quad \ell = \frac{v_+v_-}{v_-f_+ - v_+f_-}, \quad (4.13)$$

où ℓ représente la longueur moyenne du microtubule à l'équilibre.

Pour $V = 0 \implies v_-f_+ = v_+f_-$, ℓ diverge. Cette situation correspond à la transition entre les deux régimes de la dynamique des microtubules [72]. Comme nous venons de le

voir, le paramètre V (correspondant à la vitesse moyenne du microtubule à l'équilibre) donné par l'équation (4.9) est le paramètre clé permettant de distinguer les deux régimes *fini* et *infini* de la dynamique des microtubules. De manière équivalente, le paramètre $\epsilon = \langle l_+ \rangle / \langle l_- \rangle$ correspondant au ratio entre la longueur moyenne dans la phase de croissance et la longueur moyenne dans la phase de décroissance peut être utilisé afin de caractériser la transition entre les deux régimes :

$$\epsilon = \frac{\langle l_+ \rangle}{\langle l_- \rangle} = \frac{v_+ f_-}{v_- f_+}. \quad (4.14)$$

Ainsi, pour $\epsilon < 1$, $v_+ f_- < v_- f_-$ (équivalent à $V < 0$), nous sommes dans le régime *fini* alors que pour $\epsilon \geq 1$, $v_+ f_- \geq v_- f_-$ (équivalent à $V \geq 0$), c'est le régime *infini*.

4.4 Simulations numériques

Dans la limite $\omega = f_+ + f_- \gg 1$, l'équation (4.3) décrivant l'évolution de la position de l'extrémité libre du microtubule peut se réécrire comme [73] :

$$\frac{dx}{dt} = V + \xi(t), \quad (4.15)$$

où $\xi(t)$ représente une vitesse stochastique de moyenne nulle et de variance $\langle \xi(t)\xi(t') \rangle = 2D\delta(t-t')$. La dynamique d'un microtubule peut ainsi être simulée numériquement à partir de l'équation (4.15). Sur la Figure 4.2, deux trajectoires obtenues pour $V = 0$ et $D = 1$ sont reportées.

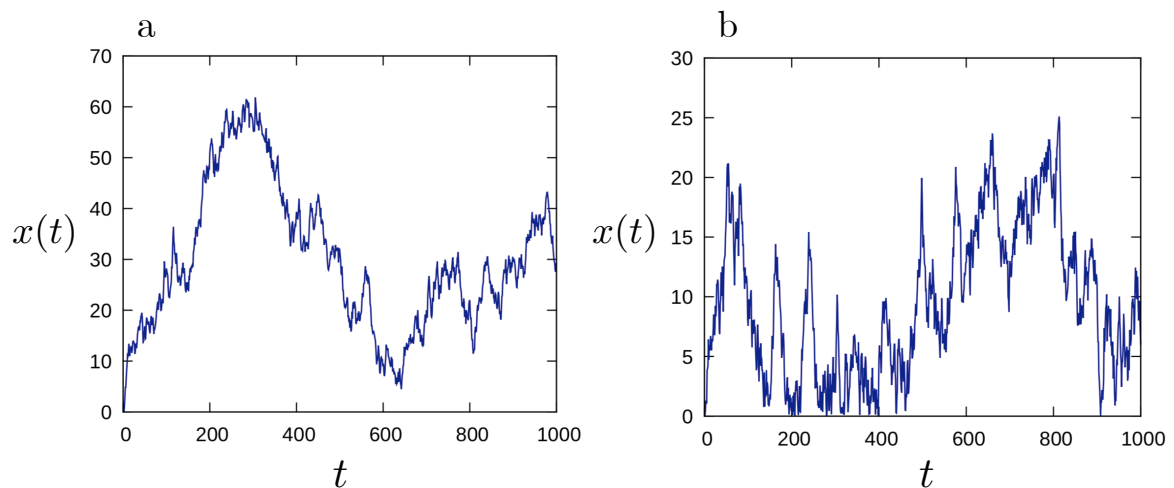


FIGURE 4.2: Trajectoires simulées numériquement représentant l'évolution temporelle de la position de l'extrémité libre d'un microtubule. Les trajectoires ont été générées à partir de l'équation (4.15) pour $V = 0$ et $D = 1$.

4.5 Limitations du modèle

Le modèle à deux états permet de capturer les propriétés essentielles de l'instabilité dynamique des microtubules et d'exprimer des quantités telles que la distribution de longueur des microtubules en fonction des paramètres importants : v_+ , v_- , f_+ et f_- . Cependant, ce modèle ne fournit pas une description microscopique de l'instabilité dynamique et ne permet donc de tenir compte des interactions latérales entre protofilaments. De plus, ce modèle est caractérisé par une fréquence de croissance qui demeure constante au cours du temps. Des expériences ont montré que cette fréquence augmentait au cours du temps avant d'atteindre une certaine valeur critique [67, 66]. Afin de caractériser cette dépendance temporelle, un modèle mésoscopique de l'instabilité dynamique des microtubules sera développé dans le chapitre 6.

Résumé du chapitre 4 : Modèle à deux états de l'instabilité dynamique des microtubules

1. Dans le modèle à deux états, une extrémité du microtubule est statique tandis que l'autre est libre et est sujette au processus d'instabilité dynamique. L'extrémité libre est soit dans une phase de croissance (" + ") dans laquelle le microtubule croît avec une vitesse moyenne v_+ ou dans une phase de décroissance (" - ") où il dépolymérise avec une vitesse moyenne v_- . Le passage d'un état à l'autre se fait de manière stochastique avec la fréquence f_+ pour la transition $- \rightarrow +$ et la fréquence f_- pour la transition $+ \rightarrow -$.
2. Deux régimes dans la dynamique des microtubules peuvent être distingués à l'aide du paramètre $\epsilon = \langle l_+ \rangle / \langle l_- \rangle$ qui s'exprime en fonction des 4 paramètres de l'instabilité dynamique de la manière suivante :

$$\epsilon = \frac{v_+ f_-}{v_- f_+} \quad (4.16)$$

- Régime *fini* pour $\epsilon < 1$ ($v_+ f_- < v_- f_+$). Les événements de catastrophe sont fréquents et il existe une distribution de longueur des microtubules à l'équilibre donnée par $P_{eq}(x) = \ell^{-1} e^{-x/\ell}$ où $\ell = v_+ v_- / (v_- f_+ - v_+ f_-)$ est la longueur moyenne des microtubules.
 - Régime *infini* pour $\epsilon \geq 1$ ($v_+ f_- \geq v_- f_+$). Les événements de catastrophe sont très rares et les microtubules croissent de manière persistante au cours du temps avec une longueur moyenne qui varie linéairement avec le temps et qui est donnée par $L(t) \simeq [(v_+ f_- - v_- f_+) / (f_+ + f_-)] t$.
3. Des trajectoires représentant l'évolution de la position de l'extrémité libre du microtubule en fonction du temps peuvent être générées numériquement à partir de l'équation suivante (dans la limite $\omega = f_- + f_+ \gg 1$) :

$$\frac{dx}{dt} = V + \xi(t) \quad ; \quad V = \frac{v_+ f_- - v_- f_+}{f_+ + f_-} \quad ; \quad \langle \xi(t) \xi(t') \rangle = 2D \delta(t - t') . \quad (4.17)$$

Chapitre 5

Analyse kymographique

L'objectif de ce chapitre est de présenter la méthode d'analyse des kymographes permettant de déterminer les paramètres importants de l'instabilité dynamique des microtubules : v_+ , v_- , f_+ et f_- introduits dans le chapitre 3 et qui correspondent aux paramètres de base du modèle classique à deux états qui a été présenté dans le chapitre 4.

Sommaire

5.1	Introduction	56
5.2	Analyse d'une trajectoire $L(t)$	58
5.2.1	Identification des phases	58
5.2.2	Fréquence de catastrophe	61
5.2.3	Fréquence de sauvetage	61
5.2.4	Distribution non-exponentielle des temps de croissance et de décroissance	62
5.3	Analyse d'un ensemble de trajectoires	63
5.4	Illustration sur des données expérimentales	64

5.1 Introduction

Depuis la mise en évidence du processus d'instabilité dynamique des microtubules en 1984, de très nombreuses études expérimentales ont été réalisées à la fois *in vitro* et *in vivo* afin de caractériser la dynamique intrinsèque des microtubules mais également sa régulation par des protéines telles que les MAPs (Microtubule Associated Proteins). Ces expériences permettent de déterminer les 4 paramètres importants de l'instabilité dynamique des microtubules v_+ , v_- , f_+ , f_- (cf. 3.2) et s'appuient sur des techniques avancées d'imagerie telles que la cryomicroscopie (Cryo-EM) [80], microscopie optique par fluorescence (TIRF) [81], la microscopie à contraste interférentiel (DIC) [82, 83, 84] ou bien encore la microscopie en champ sombre [85]. Sur la Figure 5.1, nous avons reporté une séquence d'images issue d'un film obtenu par microscopie à fluorescence. Ces films permettent de suivre en fonction du temps les trajectoires de plusieurs microtubules dans un plan (x,y) . Chaque microtubule est marqué en vert et pousse à partir d'une amorce stable marquée en rouge.

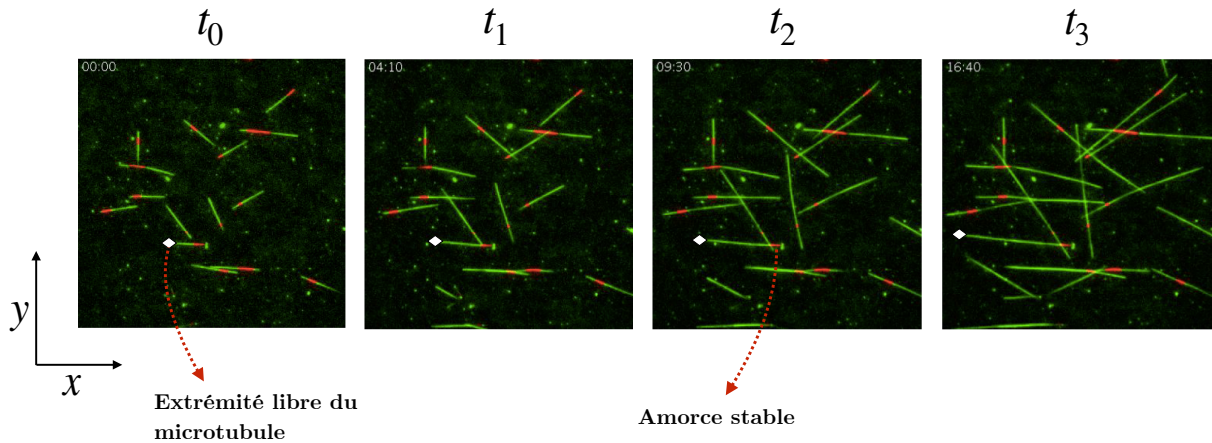


FIGURE 5.1: Observation du processus d'instabilité dynamique des microtubules *in vitro* par vidéo-microscopie optique de fluorescence. La séquence d'images montre la dynamique dans le plan (x, y) de plusieurs microtubules en fonction du temps (ici pour 4 temps discrets avec $t_0 < t_1 < t_2 < t_3$). Les microtubules sont marqués en vert et poussent à partir d'amorces stables (en rouge). La séquence d'image a été obtenue à partir de films fournis par Isabelle Arnal et Virginie Stoppin-Mellet (Université Grenoble Alpes, Grenoble Institut des Neurosciences, équipe "Dynamique et Structure du Cytosquelette" [86]).

À partir de ces vidéos, l'objectif est de suivre individuellement chaque microtubule à travers un graphique $L(t)$ donnant l'évolution temporelle de la longueur d'un microtubule (voir Figure 5.2c par exemple). La méthode d'analyse de ce type de graphique est décrite dans la section 5.2. Pour obtenir de tels graphiques, la première étape consiste à générer un *kymographe* pour chaque microtubule présent dans le champ d'observation (Figure 5.1). Un kymographe correspond à un empilement d'images d'un même microtubule suivi dans le temps et peut être obtenu à l'aide d'un logiciel de traitement et d'analyse d'images. Un exemple de kymographe de microtubule obtenu à partir du logiciel libre *ImageJ* [87] est reporté sur la figure 5.2a. Ainsi comme nous pouvons le voir, un kymographe permet

5.2 Analyse d'une trajectoire $L(t)$

de suivre la position de l'extrémité libre du microtubule (axe des abscisses) le long de sa trajectoire dans le plan (x, y) en fonction du temps (axe des ordonnées). Une fois le kymographe généré, la seconde étape est d'identifier et de tracer sur l'image l'axe correspondant à un microtubule de longueur nulle, c'est à dire l'origine du graphique $L(t)$ (Figure 5.2a). La troisième et dernière étape consiste à récupérer la position de l'extrémité libre du microtubule. Cette étape peut se faire soit manuellement à l'aide de l'outil *line selection* (Figure 5.2b) ou automatiquement à l'aide de la fonction `MicrotubuleTracker` [88] avec le logiciel `ImageJ` [87]. Ainsi à partir d'un film obtenu par vidéo microscopie, il est possible de générer un ensemble de trajectoires $\{L_1(t), L_2(t), \dots, L_m(t)\}$ où m représente le nombre de microtubules présents sur la vidéo initiale. La méthode d'analyse d'une trajectoire puis d'une collection de trajectoires est décrite dans les sections 5.2 et 5.3. Les paramètres v_+, v_-, f_+, f_- issus de l'analyse des trajectoires correspondent à des conditions expérimentales fixées. En renouvelant l'expérience puis l'analyse des trajectoires pour des conditions différentes, il est possible d'étudier la dépendance de ces 4 paramètres en fonction de la température, du pH, de la concentration totale de tubuline dans la solution, la concentration d'une protéine interagissant avec les microtubules telle que Tau ou MAP2, etc [52, 89].

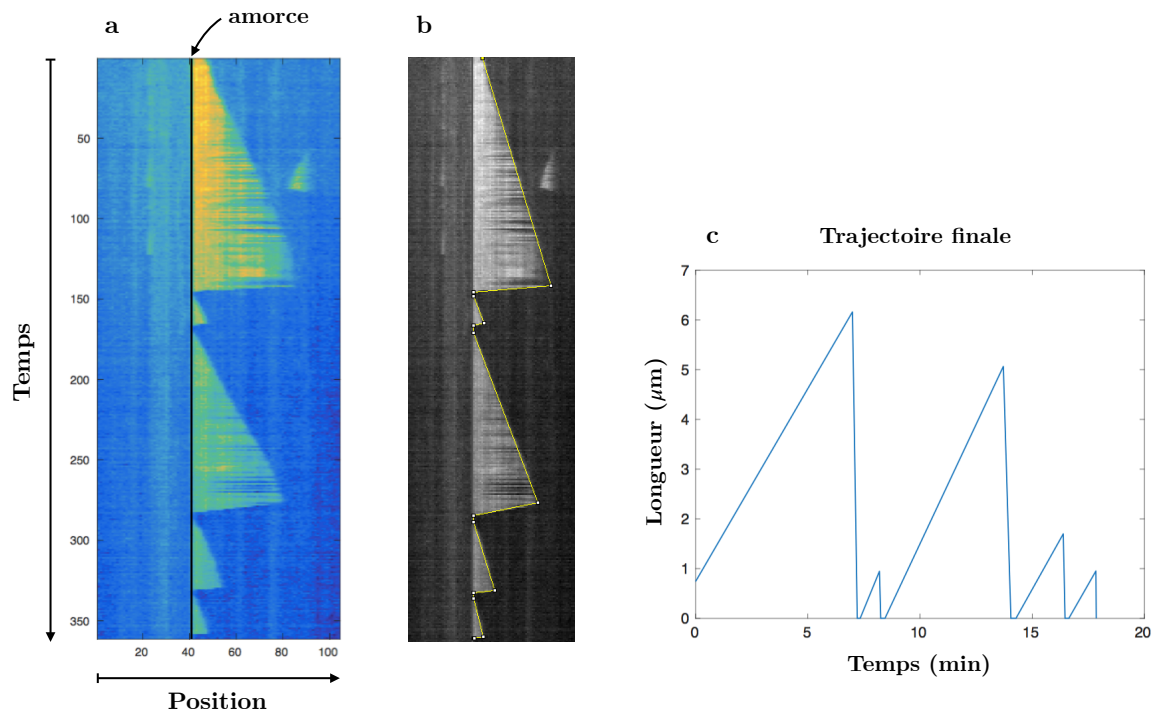


FIGURE 5.2: Extraction de la longueur d'un microtubule en fonction du temps à partir d'un kymographe. (a) Kymographe initial donnant l'évolution de la position de l'extrémité libre du microtubule en fonction du temps à partir d'une amorce stable. (b) Suivi de l'extrémité libre à l'aide de l'outil *line selection* du logiciel `ImageJ` [87]. (c) Trajectoire finale avec la longueur du microtubule (μm) en fonction du temps (min).

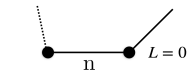
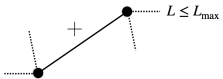

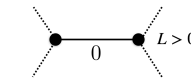
Dénomination	Schéma	Paramètres	Explication
Nucléation		f_n	Phase de nucléation "n" au cours de laquelle la longueur du microtubule est constante et nulle ($L=0$). Cette phase est caractérisée par une fréquence de nucléation f_n (1/temps moyen de nucléation). Cette phase est soit initiale ou précédée par une période de décroissance et est suivie par une période de croissance.
Croissance		v_+, f_+	Phase de croissance "+" caractérisée par une fréquence f_+ (1/temps moyen de croissance) et une vitesse moyenne de croissance v_+ . Elle est précédée soit par une période de pause ou de décroissance et est suivie soit par une période de pause ou de décroissance.
Décroissance		v_-, f_-	Phase de décroissance "-" caractérisée par une fréquence f_- (1/temps moyen de décroissance) et une vitesse moyenne de décroissance v_- . Elle est précédée soit par une période de pause ou de décroissance et est suivie soit par une période de pause ou de croissance. La longueur du microtubule à la fin de cette phase est non nulle ($L>0$).
Pause		f_0	Phase de pause "0" au cours de laquelle la longueur du microtubule est constante et non nulle ($L>0$). Cette phase caractérisée par une fréquence de pause f_0 (1/temps de moyen pause). Elle est précédée soit par une période de croissance ou de décroissance et est suivie soit par une période de croissance ou de décroissance.

TABLE 5.1: Liste des différentes phases du processus d'instabilité dynamique des microtubules.

5.2 Analyse d'une trajectoire $L(t)$

L'objectif de cette section est de décrire la méthode d'analyse d'une trajectoire $L(t)$ donnant l'évolution temporelle de la longueur d'un microtubule. La première étape est de définir et de lister toutes les phases que l'on pourra potentiellement observer sur une trajectoire. L'analyse d'une trajectoire repose sur l'identification de ces phases et permet de déterminer les paramètres importants de la dynamique.

5.2.1 Identification des phases

Une phase est définie entre 2 points de la trajectoire : un point marquant le début de la phase et un pour la fin. Dans le tableau 5.1, nous avons énuméré 4 phases distinctes : (i) une phase de nucléation notée "n", (ii) une phase de croissance "+", (iii) une phase de décroissance "-" et (iv) une phase de pause "0".

- **Phase de nucléation "n"** Pendant toute la phase de nucléation, la longueur du microtubule est constante et nulle, $L(t) = 0$. Cette phase peut être soit initiale (ce qui est le cas pour la 1ère phase de nucléation sur la figure 5.3) ou soit précédée par une période de décroissance (voir par exemple la 2ème phase de nucléation sur la figure 5.3) et elle toujours suivie par une période de croissance. Cette phase est caractérisée par une fréquence

5.2 Analyse d'une trajectoire $L(t)$

f_n définie comme suit :

$$f_n = \frac{n_n}{\sum_{i=1}^{n_n} t_{n,i}}, \quad (5.1)$$

où n_n représente le nombre de phases de nucléation et $\{t_{n,1}, t_{n,2}, \dots, t_{n,n_n}\}$ correspond à l'ensemble des temps de nucléation d'une trajectoire $L(t)$. Ainsi la fréquence de nucléation f_n correspond au nombre de phases de nucléation divisé par le temps total que le microtubule a passé dans la phase de nucléation pour une trajectoire donnée. Sur la trajectoire de la Figure 5.3, on compte 3 phases de nucléation et ainsi la fréquence de nucléation pour cette trajectoire est donnée par $f_n = 3/(t_{n,1} + t_{n,2} + t_{n,3})$.

- **Phase de pause "0"** Pendant une phase de pause, la longueur du microtubule reste constante mais contrairement à la nucléation elle est non nulle, $L(t) = cte > 0$. Comme nous pouvons le voir sur la figure 5.3), cette phase est précédée soit par une période de croissance ou soit de décroissance et est suivie soit par une période de croissance ou de décroissance. De manière analogue à la nucléation, la phase de pause est caractérisée par une fréquence f_0 définie comme

$$f_0 = \frac{n_0}{\sum_{i=1}^{n_0} t_{0,i}}, \quad (5.2)$$

où n_0 représente le nombre de phases de pause ($n_0 = 2$ sur la trajectoire de la Figure 5.3) et $\{t_{0,1}, t_{0,2}, \dots, t_{0,n_0}\}$ correspond à l'ensemble des temps de pause observés sur une trajectoire $L(t)$.

- **Phase de croissance "+"** Pendant la phase de croissance, la longueur du microtubule croît avec une pente constante ($L'(t) = cte$) et positive ($L'(t) > 0$). Cette phase est précédée soit par une période de pause ou soit par une période de décroissance et est suivie soit par une période de pause ou de décroissance. La phase de croissance est caractérisée par deux paramètres : une vitesse de croissance v_+ et une fréquence de croissance f_+ qui sont définis comme suit :

$$v_+ = \frac{1}{n_+} \sum_{i=1}^{n_+} \left(\frac{l_{+,i}}{t_{+,i}} \right), \quad f_+ = \frac{n_+}{\sum_{i=1}^{n_+} t_{+,i}}, \quad (5.3)$$

où n_+ représente le nombre de phases de croissance, $\{l_{+,1}, l_{+,2}, \dots, l_{+,n_+}\}$ correspond aux longueurs de croissance et $\{t_{+,1}, t_{+,2}, \dots, t_{+,n_+}\}$ aux temps de croissance.

- **Phase de décroissance "-"** La phase de décroissance est caractérisée par une pente constante et négative, $L'(t) = cte$ avec $L'(t) < 0$. Elle est précédée soit par une période de pause ou de croissance et est suivie soit par une période de pause ou de croissance. Pour être qualifiée de phase de décroissance, la longueur du microtubule à la fin de la période de décroissance doit être non nulle. Ainsi, comme nous pouvons le voir sur la Figure 5.3, la période de décroissance juste après la 1ère phase de croissance n'est pas considérée comme une phase "-" et son temps n'est pas utilisé pour le calcul de la fréquence de décroissance. La phase "-" est caractérisée par deux paramètres : une vitesse de décroissance v_- et une

fréquence de décroissance f_- qui sont calculés de la manière suivante :

$$v_- = \frac{1}{n_-} \sum_{i=1}^{n_-} \left(\frac{l_{-,i}}{t_{-,i}} \right), \quad f_- = \frac{n_-}{\sum_{i=1}^{n_-} t_{-,i}}, \quad (5.4)$$

où n_- représente le nombre de phases de décroissance, $\{l_{-,1}, l_{-,2}, \dots, l_{-,n_-}\}$ correspond aux longueurs de décroissance et $\{t_{-,1}, t_{-,2}, \dots, t_{-,n_-}\}$ aux temps de décroissance.

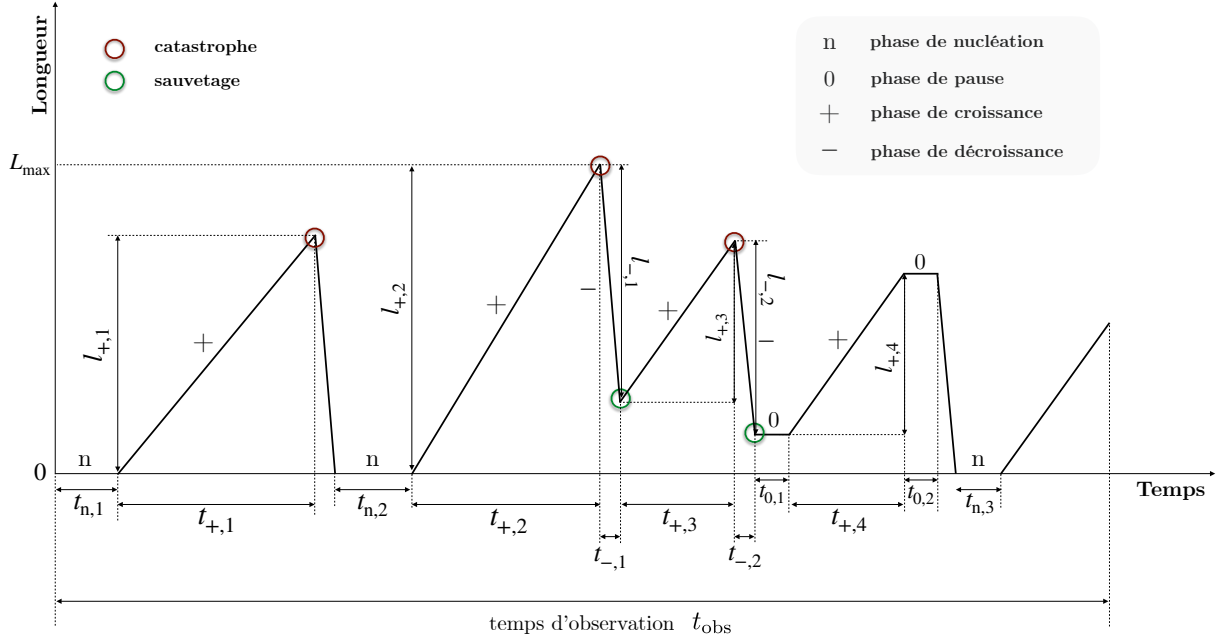


FIGURE 5.3: Analyse d'une trajectoire $L(t)$ donnant l'évolution temporelle de la longueur d'un microtubule. La trajectoire est composée de 3 phases de nucléation "n", de 4 phases de croissance "+", de 2 phases de décroissance et de 2 phases de pause "0". Les événements de catastrophe sont indiqués par des cercles rouges et correspondent à la transition entre une phase de croissance "+" et une période de décroissance. Les événements de sauvetage sont marqués par des cercles verts et correspondent à la transition entre une phase de décroissance "-" et une période de croissance ou de pause. La longueur maximale atteinte par le microtubule pendant la fenêtre d'observation t_{obs} est notée L_{max} . Les temps associés aux phases de nucléation, de pause, de croissance et de décroissance sont respectivement notés t_n , t_0 , t_+ et t_- .

Paramètre ϵ Afin de déterminer dans quel régime de dynamique se trouvent les microtubules observés, le paramètre $\epsilon = \langle l_+ \rangle / \langle l_- \rangle = v_+ + f_- / (v_- f_+)$ introduit dans la section 4.3 du chapitre 4 peut être calculé à partir d'une trajectoire comme suit :

$$\epsilon = \left(\frac{n_-}{n_+} \right)^2 \left\{ \frac{\sum_{i=1}^{n_+} l_{+,i} / t_{+,i}}{\sum_{i=1}^{n_-} l_{-,i} / t_{-,i}} \right\} \left\{ \frac{\sum_{i=1}^{n_+} t_{+,i}}{\sum_{i=1}^{n_-} t_{-,i}} \right\} : . \quad (5.5)$$

5.2.2 Fréquence de catastrophe

La fréquence des événements de catastrophe fait l'objet de nombreuses études dans la littérature. Ci-dessous, nous avons listé les 4 principales méthodes employées pour calculer ce paramètre :

1. La fréquence de catastrophe est obtenue en divisant le nombre de transitions $+ \rightarrow -$ par le temps total d'observation.
2. La fréquence de catastrophe est obtenue en divisant le nombre de transitions $+ \rightarrow -$ par le temps d'observation en considérant uniquement les phases de croissances précédant une décroissance complète.
3. La fréquence de catastrophe est obtenue en divisant le nombre de transitions $+ \rightarrow -$ par le temps total passé dans la phase de croissance.
4. La fréquence de catastrophe est obtenue en divisant le nombre de transitions $+ \rightarrow -$ par le temps total passé dans la phase de croissance en considérant uniquement les phases de croissance qui précèdent une décroissance complète.

De manière générale, les 4 définitions pour la fréquence de catastrophe ne coïncident pas avec celle de la fréquence de croissance en (5.3). Par exemple, en utilisant la 3ème définition pour la fréquence de catastrophe sur la trajectoire de la Figure 5.3, nous avons $f_c = 3/(t_{+,1} + t_{+,2} + t_{+,3})$ alors que la fréquence de croissance est donnée par $f_+ = 4/(t_{+,1} + t_{+,2} + t_{+,3} + t_{+,4}) \neq f_c$. Dans la limite où il n'y a pas d'événements de pause sur les trajectoires, les deux fréquences coïncident.

5.2.3 Fréquence de sauvetage

L'événement de sauvetage est défini comme étant la transition entre une période de décroissance et une période de croissance. De la même manière que pour la fréquence catastrophe, il n'existe pas de définition unique pour la fréquence de sauvetage f_r . Ci-dessous, nous avons listé les 2 principales définitions que nous avons identifiées dans la littérature :

1. La fréquence de sauvetage est obtenue en divisant le nombre de transitions $- \rightarrow +$ par le temps total d'observation en considérant uniquement les transitions qui ont lieu lorsque le microtubule a une longueur non-nulle.
2. La fréquence de sauvetage est obtenue en divisant le nombre de transitions $- \rightarrow +$ par le temps total passé dans la phase de décroissance en considérant uniquement les transitions qui ont lieu lorsque le microtubule a une longueur non-nulle.

Par exemple, en utilisant la 2ème définition pour la fréquence de sauvetage sur la trajectoire de la Figure 5.3, nous obtenons $f_r = 1/t_{-,1}$ alors que la fréquence de décroissance est donnée par $f_- = 2/(t_{-,1} + t_{-,2})$. Dans la limite où il n'y a pas d'événements de pause sur les trajectoires, les deux fréquences coïncident.

5.2.4 Distribution non-exponentielle des temps de croissance et de décroissance

Les définitions des fréquences de catastrophe et de sauvetage qui sont données dans les sous-sections 5.2.2 et 5.2.3 correspondent implicitement au cas où les distributions des temps de croissance et de décroissance sont de types exponentiels. Cependant, plusieurs expériences ont montré que dans certaines conditions, ces distributions des temps (en particulier pour la croissance) pouvaient dévier d'un comportement purement exponentiel [67, 68, 66, 69, 60]. Ce caractère non-exponentiel des distributions des temps conduit à une dépendance temporelle des fréquences [67, 66]. Dans ce qui suit, nous présentons une méthode d'analyse permettant de calculer les fréquences associées aux phases de croissance et de décroissance pour des distributions non-exponentielles.

Analyse de la phase de croissance

Pour une trajectoire donnée, l'ensemble des temps de croissance qui ont été observés est récupéré (Figure 5.3). À partir de cette liste, on calcule l'histogramme des temps de croissance $E_{+,k}(m)$ représentant le nombre d'événements de croissance associés au temps de croissance $t_+ = m$. La survie dans la phase de croissance $S_{+,k}(t)$ est définie à partir de la fonction $E_{+,k}(m)$ comme suit :

$$S_{+,k}(t) = 1 - \frac{1}{N_{+,k}} \sum_{m=0}^t E_{+,k}(m), \quad (5.6)$$

où $N_{+,k} = \sum_{m=0}^{+\infty} E_m$ correspond au nombre total d'événements de croissance pour la trajectoire k . Le temps minimum de croissance que l'on peut observer sur une trajectoire dans ce modèle est égal à 1 (en unité de k_g) et ainsi $E_{+,k}(0) = 0$ de telle manière que $S_{+,k}(t=0) = 1$. À partir de l'équation (5.6), on montre que la survie $S_{+,k}(t+1)$ est liée à $S_{+,k}(t)$ comme suit :

$$S_{+,k}(t+1) = S_{+,k}(t) - \frac{E_{+,k}(t+1)}{N_{+,k}}. \quad (5.7)$$

Ainsi, en connaissant la valeur initiale $S_{+,k}(0) = 1$, on peut calculer $S_{+,k}(t)$ par récurrence en utilisant la relation (5.7). On réitère la procédure pour l'ensemble de N_{conf} trajectoires générées et on calcule la fréquence de croissance f_+ de la manière suivante :

$$f_+ = \frac{\psi_+(t)}{S_+(t)}, \quad (5.8)$$

où $\psi_+(t)$ et $S_+(t)$ représentent respectivement la distribution des temps et la survie de croissance, et sont donnés par :

$$\psi_+(t) = \frac{1}{N_{\text{conf}}} \sum_{k=1}^{N_{\text{conf}}} \psi_{+,k}(t) \equiv \frac{1}{N_{\text{conf}}} \sum_{k=1}^{N_{\text{conf}}} \frac{E_{+,k}(t)}{N_{+,k}} \quad \text{et} \quad S_+(t) = \frac{1}{N_{\text{conf}}} \sum_{k=1}^{N_{\text{conf}}} S_{+,k}(t). \quad (5.9)$$

5.3 Analyse d'un ensemble de trajectoires

Les écarts types $\Delta\psi_+(t)$ et $\Delta S_+(t)$ sur $\psi_+(t)$ et $S_+(t)$ au temps de croissance t sont calculés comme suit :

$$\Delta\psi_+(t) = \sqrt{\frac{1}{N_{\text{conf}} - 1} \sum_{k=1}^{N_{\text{conf}}} (\psi_{+,k}(t) - \psi_+(t))^2} \quad \text{et} \quad \Delta S_+(t) = \sqrt{\frac{1}{N_{\text{conf}} - 1} \sum_{k=1}^{N_{\text{conf}}} (S_{+,k}(t) - S_+(t))^2}. \quad (5.10)$$

L'écart type associé à la fréquence f_+ qui est donnée par l'équation (5.8) est alors déterminé en utilisant la relation suivante :

$$\Delta f_+(t) = \frac{\Delta\psi_+(t)}{S_+(t)} + \frac{\psi_+(t) \Delta S_+(t)}{S_+(t)^2}. \quad (5.11)$$

Analyse de la phase de décroissance

La phase de décroissance peut être analysée en suivant la méthode présentée pour la phase de croissance. L'équation permettant de calculer la fréquence de décroissance est obtenue en remplaçant les indices " + " en " - " dans (5.8) et (5.9).

5.3 Analyse d'un ensemble de trajectoires

Comme nous l'avons vu dans la section 5.1, à partir des films provenant de l'expérience, il est possible d'extraire une collection de trajectoires $\{L_1(t), L_2(t), \dots, L_m(t)\}$. Chaque trajectoire $L_j(t)$ représente la longueur du microtubule "j" en fonction du temps. Pour chaque trajectoire, on applique la méthode d'analyse décrite dans la section 5.2. La fréquence de nucléation pour un ensemble de trajectoires est calculée comme suit :

$$f_n = \frac{\sum_{j=1}^m n_{n,j}}{\sum_{j=1}^m \sum_{i=1}^{n_{n,j}} t_{n,i,j}}, \quad (5.12)$$

où $n_{n,j}$ représente le nombre de phases de nucléation pour la trajectoire $L_j(t)$ et $\{t_{n,1,j}, t_{n,2,j}, \dots, t_{n,n_{n,j}}\}$ correspond aux temps de nucléation de la trajectoire $L_j(t)$. De manière analogue, la fréquence de pause f_0 est calculée de la manière suivante :

$$f_0 = \frac{\sum_{j=1}^m n_{0,j}}{\sum_{j=1}^m \sum_{i=1}^{n_{0,j}} t_{0,i,j}}. \quad (5.13)$$

Les 4 paramètres associés aux phases de croissance et de décroissance sont calculés en utilisant les expressions suivantes :

$$v_+ = \frac{1}{\sum_{j=1}^m n_{+,j}} \sum_{j=1}^m \sum_{i=1}^{n_{+,j}} \left(\frac{l_{+,i,j}}{t_{+,i,j}} \right), \quad f_+ = \frac{\sum_{j=1}^m n_{+,j}}{\sum_{j=1}^m \sum_{i=1}^{n_{+,j}} t_{+,i,j}}, \quad (5.14)$$

et

$$v_- = \frac{1}{\sum_{j=1}^m n_{-,j}} \sum_{j=1}^m \sum_{i=1}^{n_{-,j}} \left(\frac{l_{-,i,j}}{t_{-,i,j}} \right), \quad f_- = \frac{\sum_{j=1}^m n_{-,j}}{\sum_{j=1}^m \sum_{i=1}^{n_{-,j}} t_{-,i,j}}. \quad (5.15)$$

5.4 Illustration sur des données expérimentales

Afin d'illustrer la méthode d'analyse de la section 5.2, nous présentons les résultats obtenus dans le cadre d'une collaboration avec Isabelle Arnal et Virginie Stoppin-Mellet (Université Grenoble Alpes, Grenoble Institut des Neurosciences, équipe "**Dynamique et Structure du Cytosquelette**" [86]). Deux conditions expérimentales ont été considérées : (i) la situation de contrôle avec une concentration totale de $8 \mu\text{M}$ de dimères de tubuline et (ii) la situation avec $8 \mu\text{M}$ de dimères de tubuline en présence d'une concentration de 100 nM de protéines Tau. La première étape consistait à sélectionner les kymographes à utiliser pour l'analyse. Cette sélection a été réalisée en utilisant les 3 critères suivants :

1. Pouvoir discerner l'extrémité "+" du microtubule du bruit ou d'autres événements associés à d'autres microtubules.
2. Pouvoir tracer la ligne d'origine, c'est-à-dire l'axe correspondant à une longueur nulle de microtubule.
3. L'extrémité "+" du microtubule ne dépasse pas la fenêtre spatiale d'observation.

Pour l'expérience de contrôle, c'est-à-dire en l'absence de protéines Tau, en appliquant les critères ci-dessus, nous avons sélectionnés 63 images à partir des 74 kymographes initiaux. Pour l'expérience en présence de protéines Tau, 48 images ont été sélectionnées à partir des 54 initiales. Les résultats pour les principaux paramètres caractérisant l'instabilité dynamique des microtubules sont reportés dans le tableau 5.2. On constate que la vitesse et la fréquence de décroissance sont plus élevées que celles pour la croissance, et ce en l'absence et en présence de protéines Tau.

Paramètre	Symbole	Sans Tau	Avec Tau
Vitesse de croissance	v_+	0.6369 ± 0.0065 $\mu\text{m}/\text{min}$	1.0926 ± 0.029 $\mu\text{m}/\text{min}$
Vitesse de décroissance	v_-	9.9123 ± 0.2334 $\mu\text{m}/\text{min}$	13.09 ± 2.971 $\mu\text{m}/\text{min}$
Fréquence de croissance	f_+	0.1093 ± 0.0203 min^{-1}	0.0383 ± 0.0113 min^{-1}
Fréquence de décroissance	f_-	0.4411 ± 0.1676 min^{-1}	1.068 ± 0.2788 min^{-1}

TABLE 5.2: Paramètres de l'instabilité dynamique des microtubules pour une concentration de $8 \mu\text{M}$ de dimères de tubuline, en l'absence et en présence de protéines Tau (100 nM). Les paramètres ont été obtenus en analysant les kymographes fournis par Isabelle Arnal et Virginie Stoppin-Mellet [86].

Les histogrammes associés aux temps et vitesses de croissance et de décroissance pour l'expérience de contrôle sont également reportés sur la Figure 5.4. Les distributions des temps de croissance et de décroissance semblent présenter un comportement

5.4 Illustration sur des données expérimentales

non-exponentiel (Figure 5.4a,c) tandis que les vitesses de croissance et de décroissance semblent suivre une distribution gaussienne (Figure 5.4b,d).

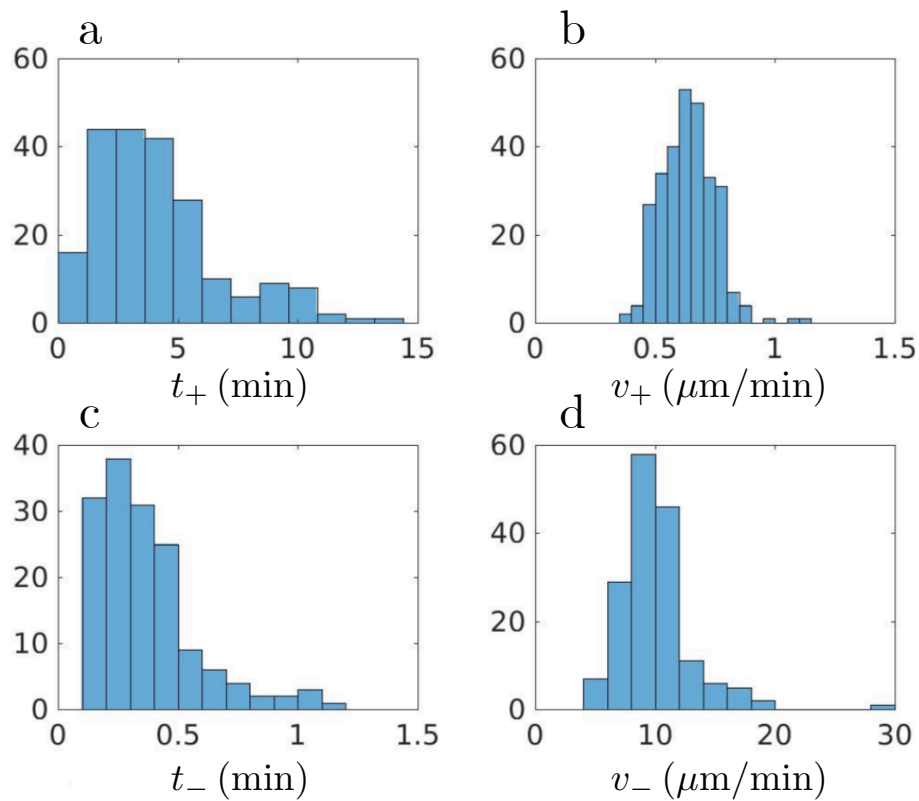


FIGURE 5.4: Histogrammes des temps et vitesses de croissance et de décroissance obtenus après analyse de 63 trajectoires (expérience de contrôle en l'absence de protéines Tau avec une concentration de 8 μM de dimères de tubuline).

Résumé du chapitre 5 : Analyse kymographique

1. Le processus d'instabilité dynamique des microtubules peut être observé et étudié *in vitro* et *in vivo* grâce à des techniques avancées d'imagerie. Ces expériences permettent de générer des kymographes donnant l'évolution temporelle de la position de l'extrémité libre d'un microtubule. La trajectoire d'un microtubule $L(t)$, c'est-à-dire sa longueur en fonction du temps est ensuite extraite à partir de son kymographe.
2. L'analyse d'une trajectoire $L(t)$ se fait par identification de 4 phases distinctes : une phase de nucléation "n" pendant laquelle $L(t) = 0$ et qui est caractérisée par une fréquence f_n , une phase de pause "0" pendant laquelle $L(t) = cte > 0$ et qui est décrite par une fréquence f_0 , une phase de croissance "+" ($L'(t) = cte > 0$) caractérisée par une vitesse moyenne de croissance v_+ et une fréquence apparente f_+ et une phase de décroissance "-" ($L'(t) = cte < 0$) avec une vitesse moyenne de décroissance v_- et une fréquence apparente f_- .
3. La fréquence apparente d'une phase k donnée (par exemple $k = +$ pour la croissance) est définie comme étant le ratio entre le nombre de fois que cette phase a été observée (n_k) et le temps total passé dans cette phase :

$$f_k = \frac{n_k}{\sum_{i=1}^{n_k} t_{k,i}}, \quad k = \{n, 0, +, -\}. \quad (5.16)$$

La vitesse de chaque phase de croissance (ou décroissance), c'est-à-dire le ratio entre la longueur de la phase et le temps passé dans cette phase est calculée. La vitesse moyenne v_+ (ou v_-) est ensuite obtenue en moyennant sur l'ensemble des phases de croissance (ou décroissance) de la trajectoire :

$$v_k = \frac{1}{n_k} \sum_{i=1}^{n_k} \left(\frac{l_{k,i}}{t_{k,i}} \right), \quad k = \pm. \quad (5.17)$$

4. La méthode présentée dans la section 5.2 a été illustrée sur des kymographes provenant d'expériences réalisées au Grenoble Institut des Neurosciences [86], et les résultats pour les 4 paramètres principaux sont présentés dans le tableau 5.2.

Chapitre 6

Instabilité dynamique des microtubules : Modèle non-Markovien

L'objectif de ce chapitre est de développer un modèle mésoscopique décrivant l'instabilité dynamique des microtubules à l'échelle de la tubuline (i) - qui servira de base à l'incorporation d'une population de protéines Tau interagissant avec le microtubule et (ii) - qui soit compatible avec les observations expérimentales sur la dépendance temporelle des fréquences de croissance et de décroissance.

Sommaire

6.1	Introduction	68
6.2	Modèle de l'instabilité dynamique des microtubules	68
6.2.1	Cas d'un seul protofilament	69
6.2.2	Cas de N_p protofilaments adjacents : Système bidimensionnel	70
6.3	Résultats	74
6.3.1	Cas d'un seul protofilament	74
6.3.2	Cas de N_p protofilaments adjacents : Système bidimensionnel	84
6.3.3	Analyse des données expérimentales	96
6.4	Conclusion	98

6.1 Introduction

Le modèle à deux états de l'instabilité dynamique présenté dans le chapitre 4 est caractérisé par une distribution exponentielle des temps de croissance et de longueur des microtubules. Cependant, plusieurs expériences *in vitro* et *in vivo* ont mis en évidence que ces deux distributions ne suivaient pas une distribution purement exponentielle [67, 68, 66, 69, 60]. Les résultats provenant d'expériences réalisées au Grenoble Institut des neurosciences [86] présentés sur la Figure 5.4 semblent indiquer un caractère non-exponentiel à la fois pour la distribution des temps de croissance et de décroissance. Gardner *et al* [66] ont calculé la fréquence de catastrophe à partir de la distribution des temps de croissance obtenue par analyse kymographique (cette méthode est décrite dans le chapitre 5) et ont montré qu'elle variait au cours du temps. Plus précisément, les résultats indiquent que la fréquence augmente avec le temps passé dans la phase de croissance avant de saturer vers une valeur limite. Ainsi, la probabilité qu'un événement de catastrophe survienne n'est pas la même à chaque pas de temps mais dépend de l'histoire du microtubule [90]. Ce type de processus est dit non-Markovien. Cet effet de mémoire serait la signature de l'existence d'un certain nombre d'états ou d'événements intermédiaires (*multistep process* dans la littérature) caractérisant la phase de croissance [66, 90]. La nature exacte de ces événements précédant la catastrophe n'est toujours pas bien établie [90]. Il a été suggéré qu'un nombre minimum de protofilaments exposant un dimère hydrolysé GDP et donc instables (voir chapitre 3) soit requis afin d'initier l'avalanche du microtubule [66]. Plusieurs modèles ont été développés afin de comprendre les mécanismes à l'origine de cette mémoire [91, 92] mais également afin d'investiguer ses effets sur les propriétés dynamiques des microtubules [90, 93]. L'objectif de ce chapitre est de développer un modèle non-Markovien décrivant de manière stochastique l'instabilité dynamique d'un microtubule à l'échelle de la tubuline. La construction du modèle reposera sur des observations expérimentales et les propriétés physiques et mathématiques du modèle seront étudiées. En particulier, les phases de croissance et de décroissance seront caractérisées et des expressions analytiques pour les 4 principaux paramètres de l'instabilité dynamique, v_+ , v_- , f_+ et f_- seront dérivées en fonction des paramètres microscopiques du modèle. La suite du chapitre est organisé de la manière suivante : le modèle général est présenté dans la section 6.2, les résultats sont présentés dans la section 6.3 et une synthèse du chapitre est effectuée dans la section 6.4.

6.2 Modèle de l'instabilité dynamique des microtubules

Le microtubule est considéré comme un système bidimensionnel ("pseudo-périodique") formé d'un ensemble de N_p protofilaments adjacents qui sont constitués de dimères de tubuline (Figure 6.1). Chaque dimère existe soit dans un état GTP ou dans un état GDP que l'on notera respectivement T et D dans la suite de ce chapitre. La dynamique du

6.2 Modèle de l'instabilité dynamique des microtubules

microtubule se fait à partir d'une extrémité stable et est régié par les processus d'hydrolyse et de dissociation des dimères de tubuline.

- La vitesse de croissance du microtubule peut s'écrire comme :

$$v_+ = (k_{\text{att}} [\text{Tub}] - k_d) a = k_g a, \quad (6.1)$$

où $[\text{Tub}]$ est la concentration totale de tubulines, k_{att} représente le taux d'attachement par unité de concentration de dimères, et k_d correspond au taux de dissociation des dimères. Le taux d'addition des tubulines sur le microtubule k_g peut alors s'écrire comme $k_g = v_+/a$ où a est la longueur d'un dimère. La vitesse de décroissance est définie de sorte que le ratio des vitesses de décroissance et de croissance soit donné par $v_-/v_+ = r$, une constante qui devrait dépendre des caractéristiques structurelles du microtubule.

- L'hydrolyse et la dissociation des tubulines sont traités comme des processus de Poisson de telle sorte que la probabilité d'hydrolyse p_h qu'un site T devienne D et la probabilité de dissociation p_d qu'un site D à l'extrémité du microtubule se dissocie, pendant un pas de temps δt , peuvent ainsi s'écrire comme :

$$p_h = 1 - e^{-k_h \delta t}, \quad p_d = 1 - e^{-k_d \delta t}, \quad (6.2)$$

où $k_h(s^{-1})$ et $k_d(s^{-1})$ représentent les taux d'hydrolyse et de dissociation. On suppose que le k_d qui intervient dans l'équation (6.2) est le même que celui dans l'équation (6.1). Dans toute la suite de ce chapitre, le pas de temps δt est choisi par rapport au temps caractéristique de croissance du microtubule, c'est-à-dire l'inverse du taux d'addition des dimères avec $\delta t = k_g^{-1}$.

6.2.1 Cas d'un seul protofilament

Pour commencer, on considère un seul protofilament composé d'un certain nombre de sites, c'est-à-dire, de dimères de tubuline. Pour une configuration donnée, le passage du pas de temps t au pas de temps $t+1$ se fait selon les règles illustrées sur la Figure 6.2. Les sites précédents (c'est-à-dire tous les sites excepté celui à l'extrémité droite du protofilament) qui sont dans l'état T ont une probabilité p_h de devenir D et les sites précédents dans l'état D restent inchangés (pas de transition $D \rightarrow T$ au sein du protofilament). Comme indiqué sur la Figure 6.2, pour la mise à jour du site à l'extrémité du protofilament, il y a 2 cas de figure possibles selon son état (T ou D) :

1. Protofilament exposant un site T

- $T \rightarrow \times$ avec probabilité $p_h p_d$.
- $T \rightarrow TT$ (site initial reste T avec ajout d'un site T à l'extrémité) avec probabilité $1 - p_h$.
- $T \rightarrow DT$ (site initial devient D avec ajout d'un site T à l'extrémité) avec probabilité $p_h (1 - p_d)$.

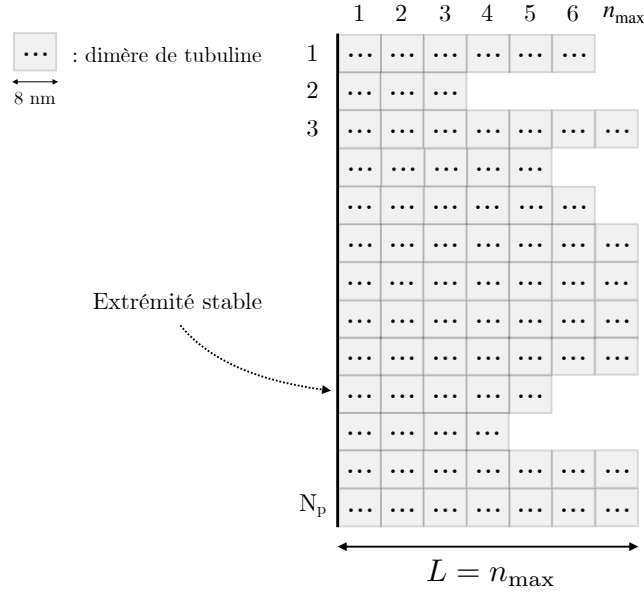


FIGURE 6.1: Représentation bi-dimensionnelle du microtubule avec N_p protofilaments adjacents composés de dimères de tubuline de longueur a . La longueur du microtubule est définie par rapport au protofilament le plus long, c'est-à-dire celui ou ceux ayant n_{\max} dimères sur le schéma.

2. Protofilament exposant un site D

- $D \rightarrow \times$ avec probabilité p_d .
- $D \rightarrow DT$ (site initial reste D avec ajout d'un site T à l'extrémité) avec probabilité $1 - p_d$.

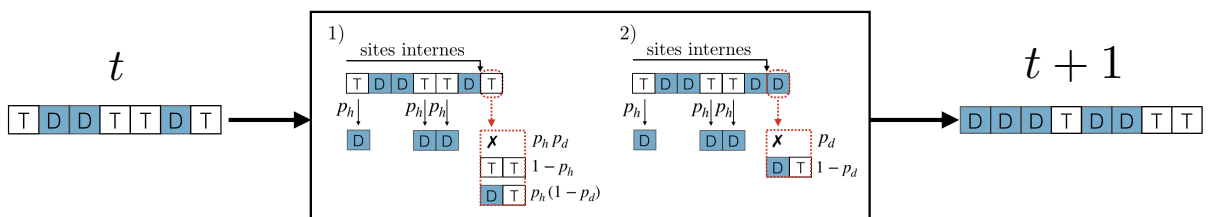


FIGURE 6.2: Représentation schématique des règles d'évolution d'un seul protofilament. Les explications détaillées sont données dans le texte.

6.2.2 Cas de N_p protofilaments adjacents : Système bidimensionnel

Dans le cas général d'un ensemble de N_p protofilaments en interaction, le passage du pas de temps t au pas de temps $t + 1$ dépend de l'état dans lequel se trouve le microtubule à l'instant t selon les règles illustrées sur la Figure 6.3.

- **Microtubule dans le stade de croissance " + " à l'instant t** : L'évolution du réseau s'effectue en deux étapes : une étape à l'échelle du protofilament dite *Intra-protofilament* suivie d'une étape sur l'ensemble des protofilaments *Inter-protofilament*. Pour la 1ère étape, on suit les règles suivantes pour chacun des N_p protofilaments : les sites internes (c'est-à-dire tous les sites excepté celui à l'extrémité droite du protofilament) qui sont dans l'état T (GTP) ont une probabilité p_h de devenir D (GDP). Les sites internes dans l'état D restent inchangés. Pour l'unité à l'extrémité du protofilament, il y a 3 cas de figure possibles selon son état :

1. Protofilament exposant un site T
 - $T \rightarrow D^*$ avec probabilité $p_h p_d$
 - $T \rightarrow TT$ (site initial reste T avec ajout d'un site T à l'extrémité) avec probabilité $1 - p_h$
 - $T \rightarrow DT$ (site initial devient D avec ajout d'un site T à l'extrémité) avec probabilité $p_h (1 - p_d)$
2. Protofilament exposant un site D
 - $D \rightarrow D^*$ avec probabilité p_d
 - $D \rightarrow DT$ (site initial reste D avec ajout d'un site T à l'extrémité) avec probabilité $1 - p_d$
3. Protofilament exposant un site D^*
 - $D^* \rightarrow D^*$ avec probabilité 1

À partir de la configuration résultante de la 1ère étape, on compte le nombre de protofilaments exposant une unité instable D^* . Si ce nombre est supérieur ou égal à n_* , le microtubule sera dans le stade de décroissance " - " au pas de temps $t + 1$, sinon il restera dans le stade " + ". Dans les deux cas, la configuration au pas de temps $t + 1$ correspond à celle obtenue à l'issue de l'étape *Inter-protofilament*. Comme nous pouvons le voir sur la Figure 6.3, la longueur du microtubule a augmenté d'une unité entre le pas de temps t et $t + 1$.

- **Microtubule dans le stade de décroissance " - " à l'instant t** : L'évolution du réseau se fait en deux étapes : une étape à l'échelle du protofilament dite *Intra-protofilament* suivie d'une étape sur l'ensemble des protofilaments *Inter-protofilament*. Pour la 1ère étape, on applique les règles suivantes pour chacun des N_p protofilaments : les sites internes qui sont dans l'état T ont une probabilité p_h de devenir D tandis que les sites internes dans l'état D restent inchangés. Pour l'unité à l'extrémité, il a 3 cas de figure possibles selon son état :

1. Protofilament exposant un site T
 - $T \rightarrow \times$ avec probabilité $p_h p_d$ (dissociation du site T)
 - $T \rightarrow TT$ (site initial reste T avec ajout d'un site T à l'extrémité) avec probabilité $1 - p_h$
 - $T \rightarrow DT$ (site initial devient D avec ajout d'un site T à l'extrémité) avec probabilité $p_h (1 - p_d)$

2. Protofilament exposant un site D
 - $D \rightarrow \times$ avec probabilité p_d (dissociation du site D)
 - $D \rightarrow DT$ (site initial reste D avec ajout d'un site T à l'extrémité) avec probabilité $1 - p_d$
3. Protofilament exposant un site D^*
 - $D^* \rightarrow D^*$ avec probabilité 1

À l'issue de la 1ère étape, on compte le nombre de protofilaments exposant une unité D . Si ce nombre est égal à 0, le microtubule sera dans le stade de croissance " + " au pas de temps $t + 1$ et sinon, le microtubule restera dans le stade de décroissance " - " et les unités se trouvant à l'intérieur de la zone de r unités de longueur qui est hachurée en rouge sur la Figure 6.3 seront dissociées. Dans le dernier cas, la longueur du microtubule a diminuée de r unités au pas de temps $t + 1$. Pour un microtubule sortant de l'étape *Inter-protofilaments* dans le stade " + ", la configuration au pas de temps $t + 1$ correspond à celle obtenue à l'issue de l'étape *Inter-protofilament*. Dans ce cas, la longueur du microtubule a augmenté d'une unité entre le pas de temps t et $t + 1$.

Signification physique

- **Phases de croissance et de décroissance** Dans ce modèle, le stade du microtubule est déterminé par la configuration à l'extrémité du réseau. Il existe 3 états possibles pour un site à l'extrémité d'un protofilament : T , D et D^* . L'existence de l'état D^* dit instable provient des interactions entre les N_p protofilaments au sein du réseau. Ainsi, l'événement qui aboutissait à la dissociation d'une unité D à l'extrémité d'un protofilament seul conduit désormais à un état instable D^* . La dissociation des unités au sein du microtubule se fait de manière coordonnée entre les N_p protofilaments formant le réseau. La croissance s'effectue par addition d'une unité T à l'extrémité des protofilaments non-instables ce qui se traduit par une vitesse de croissance donnée par $v_+ = a k_g$. Ainsi, dans cette phase, les états possibles pour un site à l'extrémité d'un protofilament sont : T et D^* . Le modèle est construit sur l'hypothèse que lorsque le microtubule atteint un stade où au moins n_* protofilaments exposent une unité instable D^* , la structure du réseau est destabilisée et le microtubule entre dans la phase de décroissance. Il est important de préciser que cette condition n'impose rien sur la position des protofilaments instables au sein du réseau. Ainsi dans ce modèle, la catastrophe survient lorsqu'au moins n_* protofilaments sont instables et ce quelque soit leurs positions, qu'ils soient adjacents ou non. Odde *et al* [67] et plus récemment Gardner *et al* [66] ont reporté une valeur de $n_* \sim 3$ suggérant que la présence de 3 protofilaments instables serait suffisante à la destabilisation du réseau. Nous verrons dans la section 6.3 comment il est possible d'estimer la valeur de n_* à partir des données expérimentales. Dans la phase de décroissance, la dissociation des unités s'effectue par l'extrémité dynamique et conduit à une diminution de la longueur du microtubule de r unités à chaque pas de temps de sorte que le ratio entre les vitesses de décroissance et de croissance soit égal à $v_-/v_+ = r$. Au cours de cette phase, les 3 états T , D et D^* sont possibles pour le site à l'extrémité d'un protofilament. On fait l'hypothèse que la transition vers la phase de croissance s'effectue lorsque la configuration à l'extrémité du

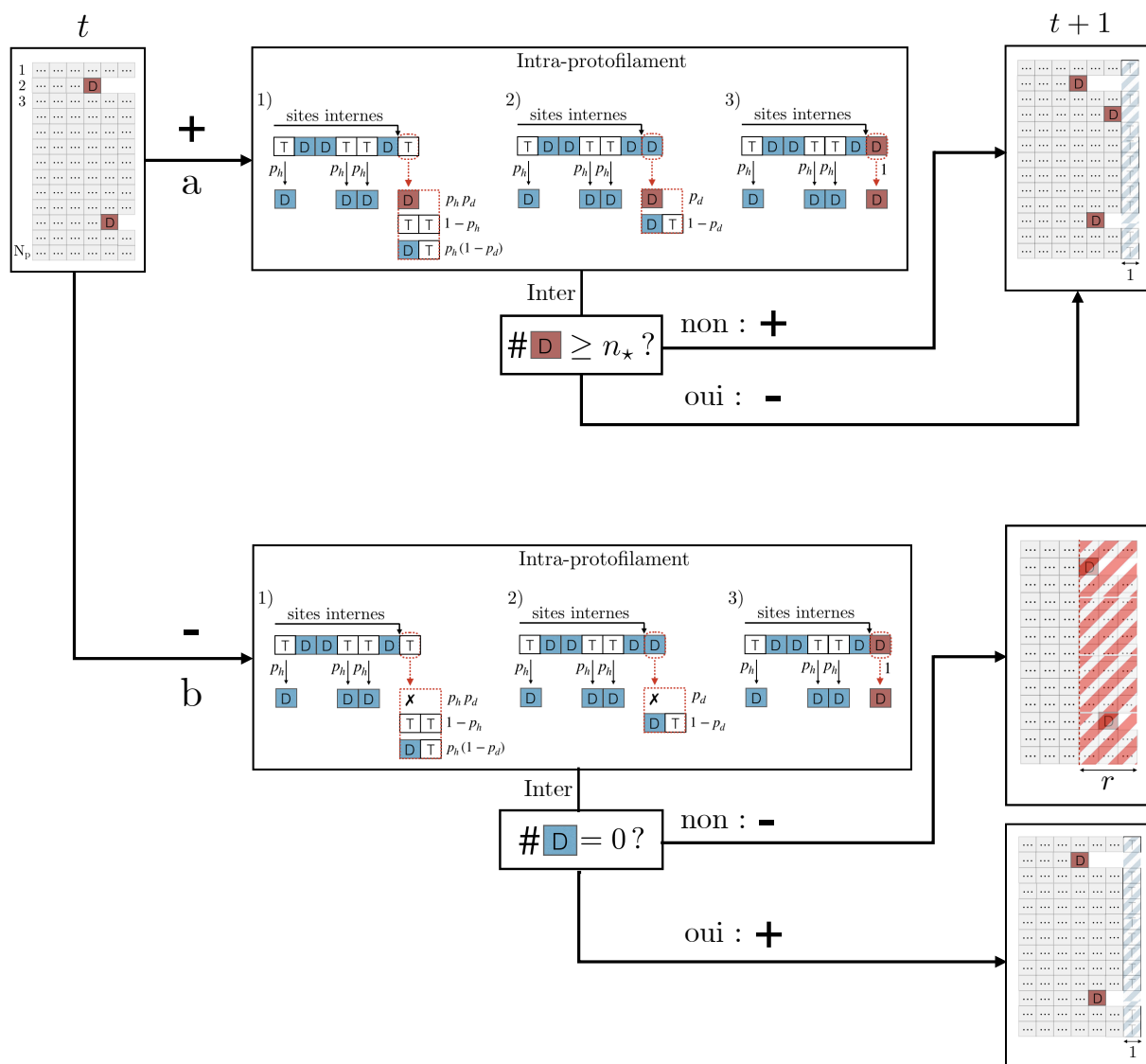


FIGURE 6.3: Représentation schématique des règles d'évolution d'un ensemble de N_p protofilaments en interaction. Pour une configuration donnée, le passage du pas de temps t au pas de temps $t + 1$ dépend de l'état dans lequel se trouve le microtubule à l'instant t . Pour un microtubule dans la phase de croissance " + ", la mise à jour du réseau se fait en suivant le chemin (a). Pour un microtubule dans la phase de décroissance " - " au pas de temps t , on effectue les étapes le long du chemin (b). Les règles d'évolution du microtubule pour les deux chemins sont détaillées dans le texte.

réseau est exclusivement composée d'unités T où D^* comme pour la phase de croissance. Cet événement correspond au sauvetage du microtubule et est probabiliste par nature dans ce modèle. En effet, selon les règles illustrées sur la Figure 6.3b, les événements aboutissant à la disparition des unités D à l'extrémité du réseau sont contrôlés par les probabilités p_h et p_d . La probabilité de sauvetage du microtubule dans ce modèle sera dérivée en fonction de ces probabilités dans la section 6.3.2.

- **Processus d'hydrolyse et de dissociation** À chaque pas de temps, l'état des dimères est régi par les processus d'hydrolyse et de dissociation qui ont lieu au sein de chaque protofilament de manière indépendante. Dans ce modèle, on suppose que chaque dimère dans l'état T a la même probabilité p_h d'être hydrolysé quelque soit sa position au sein

du protofilament et de l'état des sites voisins. D'autres processus tels que l'hydrolyse vectorielle, ou aléatoire couplée ont été proposés dans la littérature afin de décrire le mécanisme d'hydrolyse [75] mais pour des raisons de simplicité, nous avons opté pour le processus dit d'hydrolyse aléatoire. On fait l'hypothèse que lorsque le microtubule est dans la phase de décroissance, les N_p protofilaments sont fragilisés et que chaque protofilament évolue comme si il était seul en suivant les règles présentées en 6.2.1. Lorsque le microtubule est dans la phase de croissance, compte tenu des interactions entre protofilaments, le processus de dissociation n'aboutit pas directement à la perte des unités D mais conduit à une transformation en unités instables D^* .

6.3 Résultats

6.3.1 Cas d'un seul protofilament

Trajectoires de la position de l'extrémité du protofilament

En appliquant les règles présentées en 6.2.1, nous avons simulé la dynamique d'un seul protofilament. Les trajectoires de la position de l'extrémité du protofilament obtenues pour $p_h = 1$ avec $p_d = 1/3, 1/2$ et $2/3$ sont reportées sur la Figure 6.4. On constate qu'en variant la probabilité de dissociation p_d (avec la probabilité p_h qui est fixée), le protofilament passe d'un régime fini où les transitions entre les phases de croissance et de décroissance sont fréquentes à un régime dans lequel le protofilament croît de manière persistante. Nous avons vu dans le chapitre 4 que la transition entre ces deux régimes est contrôlée par le ratio entre la longueur moyenne de croissance et de décroissance donné par $\epsilon = \langle l_+ \rangle / \langle l_- \rangle$. Dans la suite de cette section, les phases de croissance et de décroissance d'un protofilament seul seront analysées et le paramètre ϵ sera exprimé en fonction des probabilités p_h et p_d . Les 4 jeux de paramètres suivants pour les probabilités d'hydrolyse et de dissociation seront considérés : (A) $p_h = 0.2$ avec $p_d = 0.8$, (B) $p_h = 0.4$ avec $p_d = 0.8$, (C) $p_h = p_d = 0.8$ et (D) $p_h = 0.8$ avec $p_d = 0.5$. La motivation du choix de ces paramètres est explicitée dans la sous-section *Fréquence de décroissance*.

Fréquence de croissance

Dans la phase de croissance, le protofilament expose toujours une unité T et à chaque pas de temps, il a une probabilité donnée par $1 - p_h + p_h(1 - p_d) \equiv 1 - p_h p_d$ de rester dans cette phase et une probabilité $p_h p_d$ d'en sortir. La fonction de survie du protofilament dans la phase de croissance s'écrit alors comme :

$$S_+(t) = (1 - p_h p_d)^t, \tag{6.3}$$

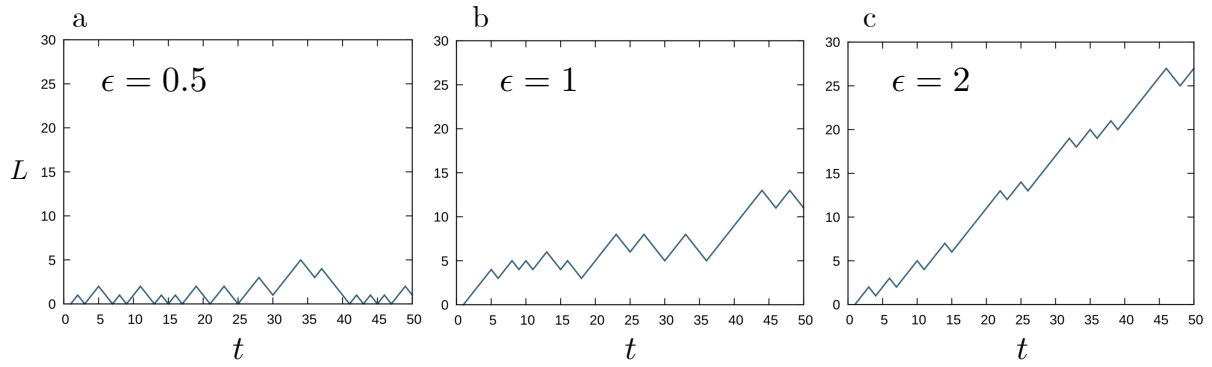


FIGURE 6.4: Trajectoires simulées de la position de l'extrémité d'un seul protofilament. Les trajectoires ont été générées suivant les règles présentées en 6.2.1 pour une probabilité d'hydrolyse $p_h = 1$ et avec $p_d = 2/3$ (a), $p_d = 1/2$ (b) et $p_d = 1/3$ pour (c). Les configurations (a,b,c) correspondent respectivement à $\epsilon = \langle l_+ \rangle / \langle l_- \rangle$ en (6.18) de 0.5, 1 et 2.

avec la condition initiale $S_+(0) = 1$. De manière générale, la distribution des temps de croissance $\psi_+(t)$ est reliée à la survie $S_+(t)$ par la relation suivante :

$$\psi_+(t) = -\frac{dS_+}{dt}. \quad (6.4)$$

Cette relation se traduit par $\psi_+(t) = S_+(t) - S_+(t+1)$ en temps discret et avec (6.3), on obtient :

$$\psi_+(t) = p_h p_d (1 - p_h p_d)^t. \quad (6.5)$$

La fréquence de croissance est alors obtenue en utilisant la relation $f_+ = \psi_+(t)/S_+(t)$ et utilisant les expressions (6.3) et (6.5), on obtient :

$$f_+ \equiv \frac{\psi_+(t)}{S_+(t)} = p_h p_d. \quad (6.6)$$

On constate que dans ce modèle, f_+ ne varie pas au cours du temps et est contrôlée par le produit des probabilités $p_h \times p_d$. Ainsi pour $p_d = 0$ par exemple, f_+ est nulle et le temps moyen que le protofilament passe dans la phase de croissance ($1/f_+$) tend vers l'infini et ce quelque soit la valeur de p_h . Le résultat est le même pour le cas particulier $p_h = 0$. Sur la Figure 6.5, nous avons comparé les résultats théoriques et ceux provenant de la simulation numérique de la dynamique d'un protofilament pour la distribution des temps de croissance, Ψ_+ et la fréquence de croissance f_+ . On constate qu'il y a un excellent accord entre les deux approches validant ainsi les expressions (6.5) et (6.6).

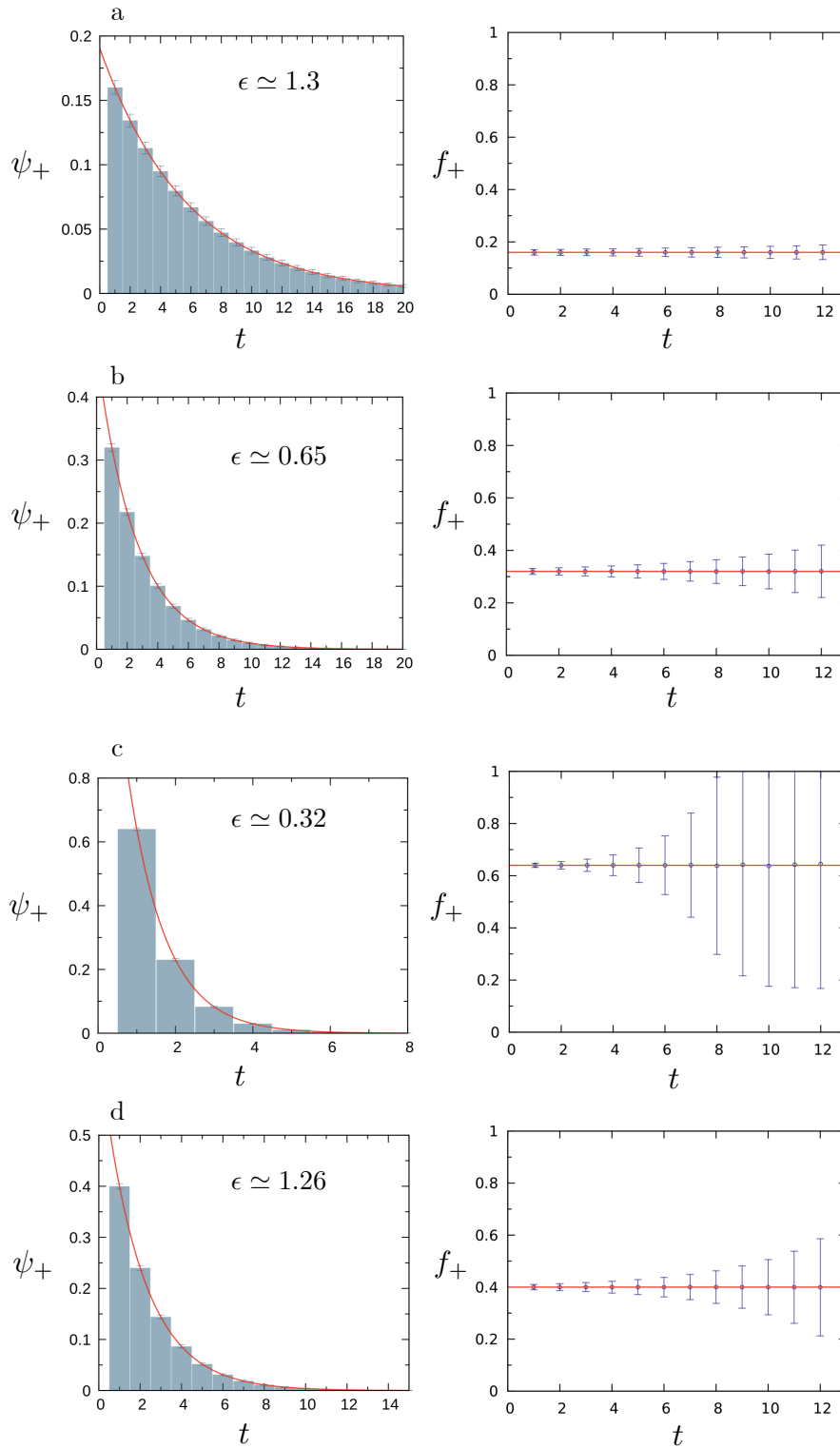


FIGURE 6.5: Caractérisation de la phase de croissance d'un seul protofilament. Les distributions et les fréquences sont tracées en fonction du temps passé dans la phase de croissance et ont été obtenues sur un ensemble de $N_{\text{conf}} = 5 \times 10^4$ trajectoires de 10^4 pas de temps pour $p_h = 0.2$ et $p_d = 0.8$ (a), $p_h = 0.4$ et $p_d = 0.8$ (b), $p_h = p_d = 0.8$ (c) et p_h et $p_d = 0.5$ (d). Les points avec les barres d'erreurs (écarts types) en bleu correspondent aux résultats des simulations numériques et les lignes continues en rouge correspondent aux expressions analytiques (6.5) et (6.6).

Fréquence de décroissance

Contrairement à la phase de croissance, la décroissance peut se faire à partir d'un protofilament exposant une unité T (avec probabilité $p_h p_d$) ou une unité D (avec probabilité p_d). Dans ce cas, la fonction de survie du protofilament dans la phase de décroissance $S_-(t)$ s'écrit comme :

$$S_-(t) = \prod_{i=1}^t \omega_i, \quad (6.7)$$

où ω_i représente la probabilité que le protofilament soit dans la phase de décroissance au temps $t_- = i$. Compte tenu du fait que dans ce modèle, il existe deux possibilités pour le protofilament de perdre une unité, ω_i s'exprime de la manière suivante :

$$\omega_i = p_d P_i(D) + p_h p_d P_i(T), \quad (6.8)$$

où $P_i(D)$ et $P_i(T)$ représentent les probabilités que le protofilament expose respectivement une unité D et T , au temps $t_- = i$. À chaque pas de temps, le site à l'extrémité du protofilament est soit dans l'état T ou dans l'état D et ainsi on a $P_i(T) + P_i(D) = 1$ et la probabilité ω_i est donc donnée par :

$$\omega_i = p_d [1 - (1 - p_h) P_i(T)], \quad (6.9)$$

et $S_-(t)$ s'écrit comme suit :

$$S_-(t) = p_d^t \prod_{i=1}^t [1 - (1 - p_h) P_i(T)] \quad (6.10)$$

La probabilité $P_i(T)$ qui intervient dans l'équation (6.10) pour $S_-(t)$ dépend de l'histoire du protofilament. De manière générale, cette probabilité peut s'écrire comme :

$$P_t(T) = (1 - p_h)^{t+t_p}, \quad (6.11)$$

où t_p représente le temps de préparation ou encore $(t + t_p)$ représente l'âge de l'unité T qui se trouve être à l'extrémité du protofilament au temps de décroissance t . Dans la suite, on fait l'hypothèse que lors de la décroissance, les sites encore dans l'état T au sein du protofilament sont issus de la phase de croissance précédente. Une représentation schématique de la phase de décroissance dans cette hypothèse est présentée sur la Figure 6.6. À partir de ce schéma, on montre que $t_p = t$ et ainsi la probabilité $P_i(T)$ est donnée par :

$$P_i(T) = (1 - p_h)^{2i}, \quad (6.12)$$

et la survie $S_-(t)$ s'écrit donc comme :

$$S_-(t) = p_d^t \prod_{i=1}^t [1 - (1 - p_h)^{2i+1}]. \quad (6.13)$$

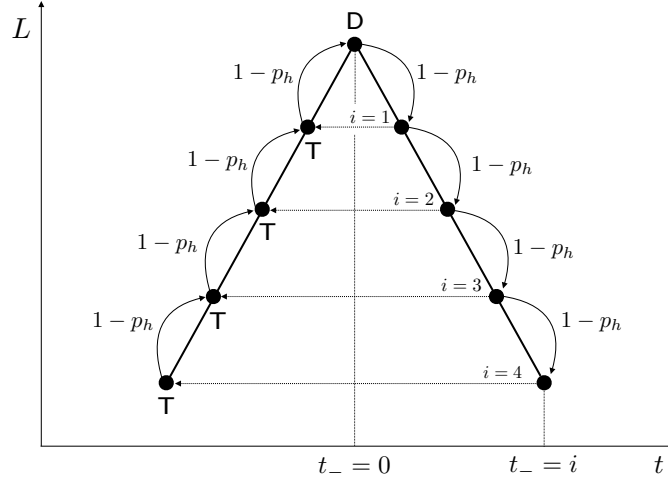


FIGURE 6.6: Représentation schématique de la phase de décroissance d'un seul protofilament. La phase de décroissance commence à partir d'une configuration dans laquelle le protofilament expose une unité D au temps $t_- = 0$. Au cours de la décroissance, le protofilament a une probabilité ω_i donnée par l'Eq (6.9) de rester dans cette phase au temps $t_- = i$. Dans l'hypothèse où les sites qui sont encore dans l'état T proviennent de la phase de croissance précédente, la probabilité de trouver un site T exposé au temps $t_- = i$ est alors donnée par $P_i(T) = (1 - p_h)^{2i}$.

À partir de l'équation (6.13), on obtient l'expression suivante pour la distribution des temps de décroissance $\psi_-(t)$:

$$\psi_-(t) \equiv S_-(t) - S_-(t+1) = p_d^t \left[1 - p_d (1 - (1 - p_h)^{2t+3}) \right] \prod_{i=1}^t \left[1 - (1 - p_h)^{2i+1} \right], \quad (6.14)$$

et la fréquence de décroissance est alors donnée par :

$$f_- \equiv \frac{\psi_-(t)}{S_-(t)} = 1 - p_d (1 - (1 - p_h)^{2t+3}). \quad (6.15)$$

On remarque que compte tenu de l'histoire du protofilament, f_- dépend du temps passé dans la phase de décroissance et tend vers la valeur $f_- = 1 - p_d$ aux temps longs. Dans la limite $p_h = 1$, la fréquence demeure constante et est également donnée par $f_- = 1 - p_d$. À partir de l'équation (6.15), on peut étudier de manière systématique dans quelles conditions la dépendance temporelle de la fréquence de décroissance devient négligeable. Par exemple pour un seuil $s = 1\%$, on peut écrire la relation suivante :

$$(1 - p_h)^{2t+3} = s. \quad (6.16)$$

Ainsi, le temps au bout duquel la fréquence de décroissance devient constante (à $s = 1\%$ près) est donné par :

$$t = \frac{1}{2} \left[\frac{\log(s)}{\log(1 - p_h)} - 3 \right]. \quad (6.17)$$

L'expression (6.17) est tracée en fonction de la probabilité d'hydrolyse sur la Figure 6.7 en ligne continue rouge. Cette ligne permet de délimiter dans un diagramme de phase durée de

6.3 Résultats

la mémoire - probabilité d'hydrolyse, la région avec mémoire c'est-à-dire, où la fréquence de décroissance dépend du temps passé dans la phase de décroissance. On constate que pour $p_h \geq 0.6$, la fréquence de décroissance demeure constante avec $f_- = 1 - p_d$. Afin de confirmer ces résultats, sur la Figure 6.8, nous avons tracé la fréquence de décroissance donnée par l'équation (6.15) et celle obtenue à partir de la simulation numérique de la dynamique d'un protofilament seul. Nous avons considéré 4 jeux de paramètres pour les probabilités d'hydrolyse et de dissociation : (A) $p_h = 0.2$ avec $p_d = 0.8$, (B) $p_h = 0.4$ avec $p_d = 0.8$, (C) $p_h = p_d = 0.8$ et (D) $p_h = 0.8$ avec $p_d = 0.5$. Ces 4 configurations sont représentées sur le diagramme de phase de la Figure 6.7. On peut voir sur la Figure 6.8b,c que pour les configurations (C) et (D) qui sont situées dans la région sans mémoire sur la Figure 6.7, la fréquence de décroissance est bien constante tandis que pour les configurations (A) et (B), la fréquence de décroissance diminue au cours du temps avant de devenir constante.

Paramètre ϵ pour un protofilament

Les expressions des principaux paramètres caractérisant l'instabilité dynamique dans le cadre du modèle du protofilament unique sont reportées dans le Tableau 6.1. À partir de ces expressions, on montre que le paramètre $\epsilon = v_+ f_- / (v_- f_+)$ est donné par :

$$\epsilon = \frac{1 - p_d [1 - (1 - p_h)^{2t+3}]}{p_h p_d}. \quad (6.18)$$

Sur la figure 6.7, nous avons tracé ϵ en fonction de la probabilité d'hydrolyse pour $p_d = 0.5$ et $p_d = 0.8$. On constate que pour une probabilité de dissociation donnée, le paramètre ϵ diminue au fur et à mesure que p_h augmente.

Paramètre	Symbole	Expression
Fréquence de croissance	f_+	$p_h p_d$
Fréquence de décroissance	f_-	$1 - p_d [1 - (1 - p_h)^{2t+3}] \xrightarrow[t \gg 1]{} 1 - p_d$

TABLE 6.1: Expression des fréquences de croissance et de décroissance en fonction des probabilités p_h et p_d pour un protofilament seul.

Déplacements moyens et distributions des longueurs à l'équilibre

Le déplacement moyen de l'extrémité du microtubule a été calculé en suivant la "méthode 1" décrite en Annexe A.1 et les résultats obtenus pour $N_{\text{conf}} = 10^4$ trajectoires sont reportés sur la Figure 6.9. Comme nous l'avons vu dans le chapitre 4, il est possible de distinguer deux régimes en fonction de la valeur de ϵ . Pour $\epsilon < 1$, les événements de transition entre la phase de croissance et de décroissance sont fréquents et il existe une distribution de longueur à l'équilibre (Figure 6.9b,c) tandis que pour $\epsilon \geq 1$, il n'y a pas

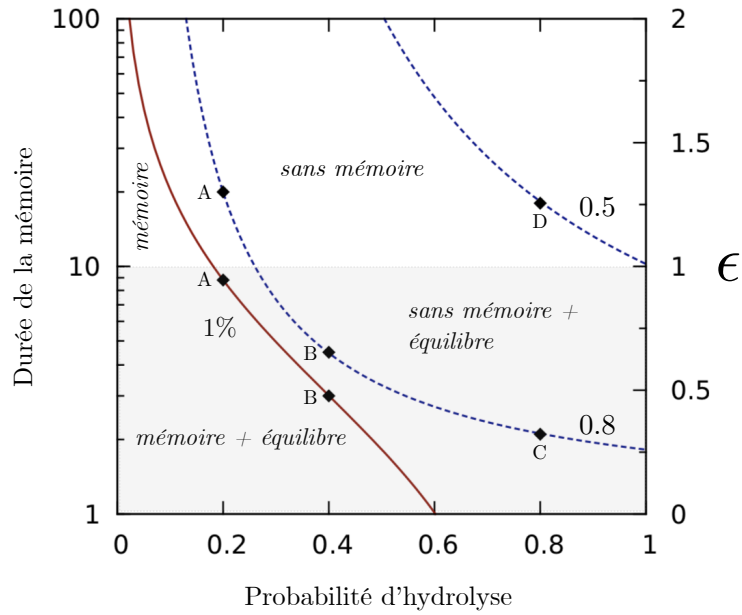


FIGURE 6.7: Diagramme de phase durée de la mémoire - probabilité d'hydrolyse pour un seuil de 1% pour la décroissance d'un seul protofilament. La ligne continue rouge correspond à l'équation (6.17) qui est tracée en fonction de p_h et les lignes pointillées en bleu représentent le paramètre ϵ donné par l'équation (6.18) qui est tracé en fonction de p_h pour $p_d = 0.5$ et $p_d = 0.8$.

d'équilibre et la longueur moyenne varie linéairement avec le temps (Figure 6.9a,d). Ces deux régimes sont indiqués sur le diagramme de phase de la Figure 6.7.

Effets de bords sur la fréquence de décroissance

Pour les configurations (B) et (C) indiquées sur la Figure 6.7, le paramètre ϵ est respectivement de $\simeq 0.65$ et $\simeq 0.32$ tandis que pour les configurations (A) et (D), $\epsilon > 1$. On constate sur la Figure 6.8a,d que pour les configurations (A) et (D), il y a un très bon accord entre l'expression analytique (6.15) (lignes continues en rouge) et la fréquence de décroissance obtenue numériquement (points en bleu). En revanche, pour les configurations (B) et (C) qui correspondent à $\epsilon < 1$, il y a un écart entre les résultats numériques et théoriques. Ces écarts sont dus à des effets de bords dans les simulations numériques. En effet, pour $\epsilon < 1$, les événements de décroissance aboutissant à une longueur nulle sont très fréquents et cela affecte la distribution des temps de décroissance ne touchant pas l'origine, $L = 0$. Afin de s'affranchir de ces effets de bords, il est possible de simuler la dynamique du protofilament avec la condition qu'initialement, la longueur du protofilament est non nulle. Les résultats numériques obtenus avec la condition initiale $L(0) = 10^4 \times a$ sont représentés sur la Figure 6.8b,c avec des points en noir. On constate que ces nouveaux résultats s'accordent parfaitement avec l'expression analytique (6.15). Ainsi la fréquence de décroissance donnée par (6.15) correspond à la fréquence intrinsèque du système, c'est-à-dire en l'absence d'effets de bords tandis que celle représentée avec des points en bleu sur la Figure 6.8b,c correspond à la fréquence apparente. Cette

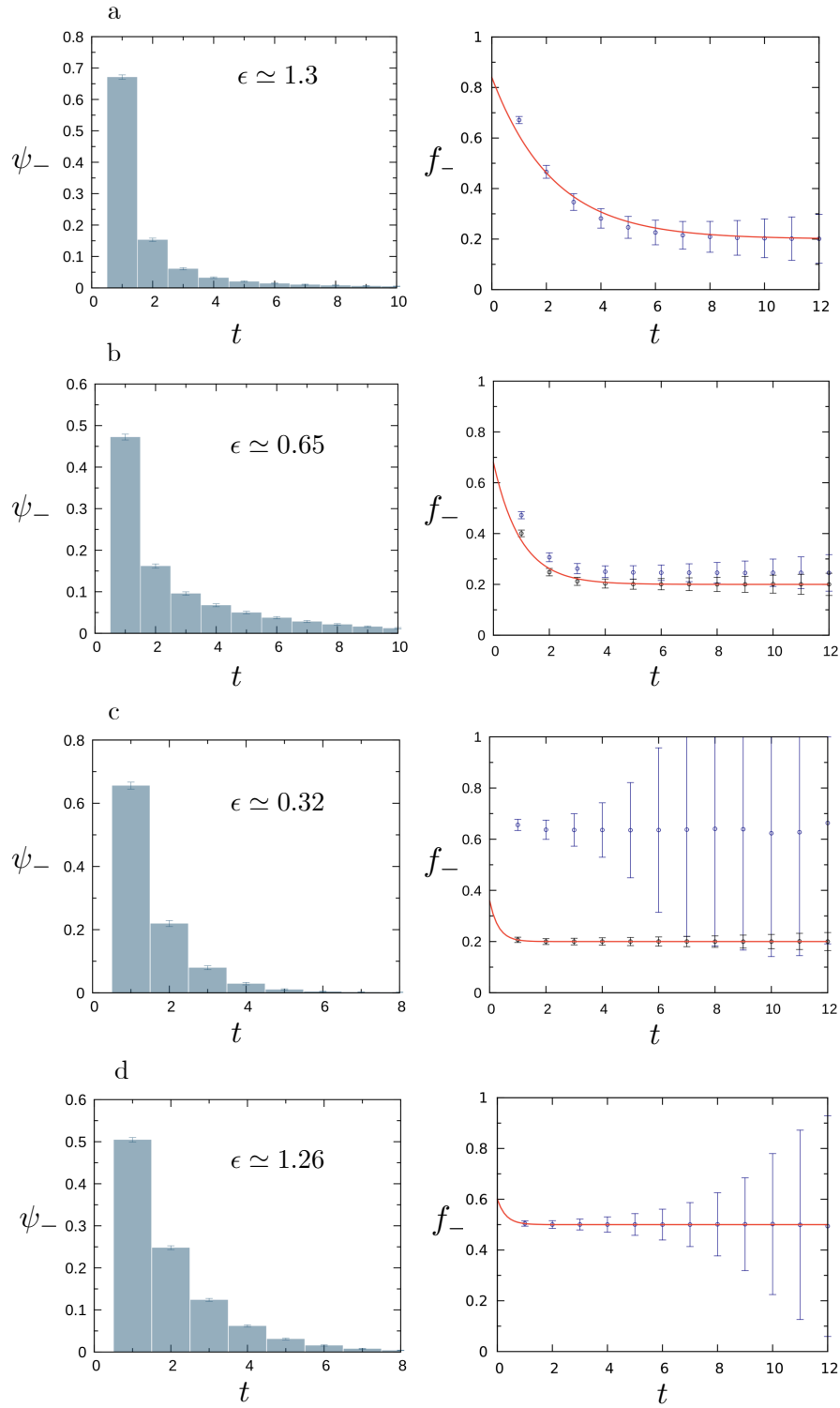


FIGURE 6.8: Caractérisation de la phase de décroissance d'un seul protofilament. Les distributions et les fréquences sont tracées en fonction du temps passé dans la phase de décroissance et ont été obtenues sur un ensemble de $N_{\text{conf}} = 5 \times 10^4$ trajectoires de 10^4 pas de temps pour $p_h = 0.2$ et $p_d = 0.8$ (a), $p_h = 0.4$ et $p_d = 0.8$ (b), $p_h = p_d = 0.8$ (c) et $p_h = 0.8$ et $p_d = 0.5$ (d). Les points avec les barres d'erreurs en bleu correspondent aux résultats des simulations numériques et les lignes continues en rouge correspondent aux expressions analytiques.

distinction est particulièrement pertinente expérimentalement dans le cadre des analyses kymographiques. En effet, les fréquences qui sont mesurées expérimentalement sont des fréquences apparentes. Dans la limite $p_h \geq 0.6$, $f_- = 1 - p_d$ et le paramètre ϵ est simplement donné par $\epsilon = 1 - p_d/(p_h p_d)$. Ainsi, dans cette limite, le cas d'un protofilament seul serait l'équivalent mésoscopique du modèle classique à deux états présenté dans le chapitre 4 où les fréquences de croissance et de décroissance sont constantes.

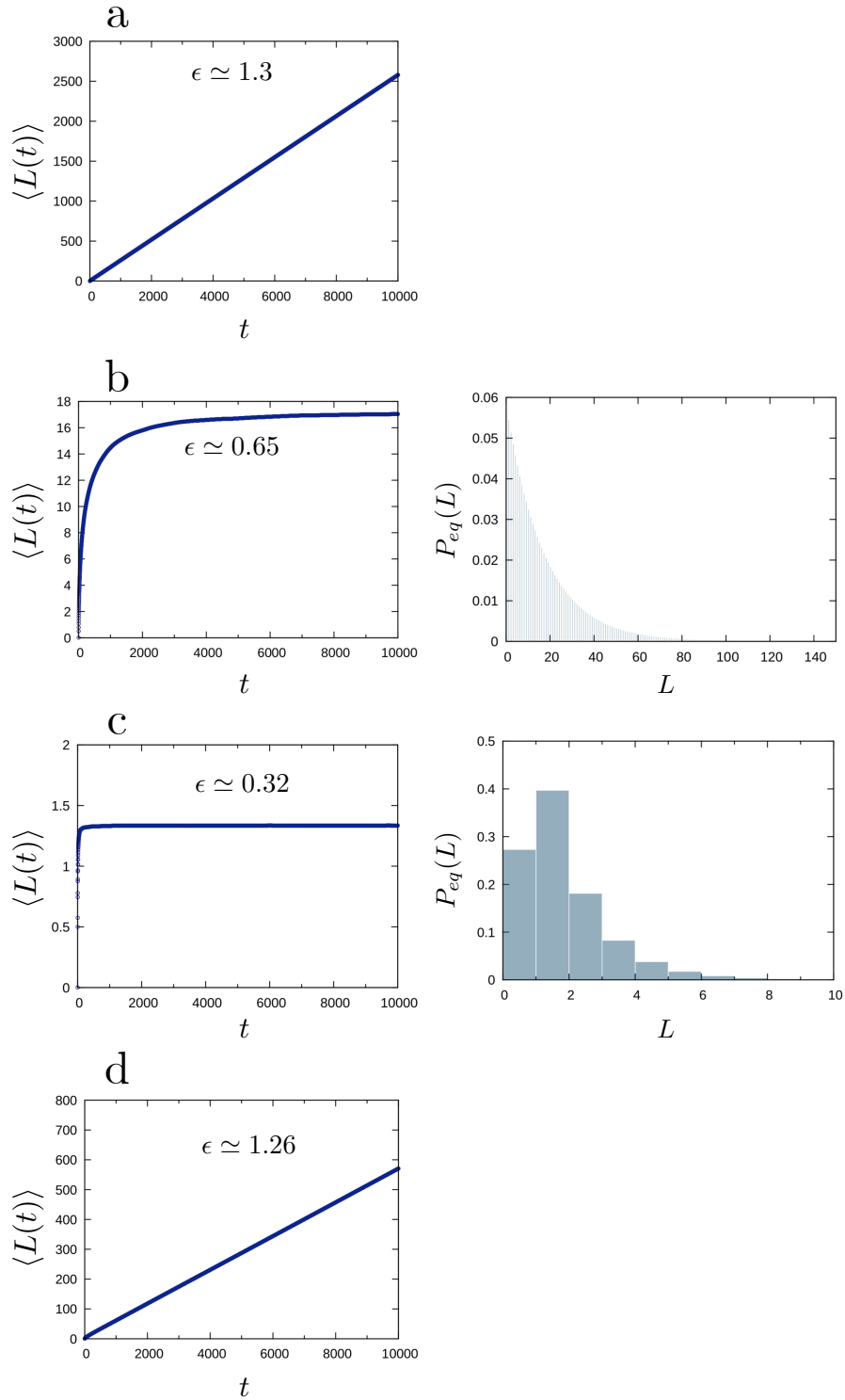


FIGURE 6.9: Longueurs moyennes en fonction du temps et distribution des longueurs à l'équilibre dans le cas d'un seul protofilament. Les résultats ont été obtenus à partir de $N_{conf} = 10^4$ trajectoires de 10^4 pas de temps avec $p_h = 0.2$ et $p_d = 0.8$ (a), $p_h = 0.4$ et $p_d = 0.8$ (b), $p_h = p_d = 0.8$ (c) et $p_h = 0.8$ et $p_d = 0.5$ (d).

6.3.2 Cas de N_p protofilaments adjacents : Système bidimensionnel

Trajectoires de la position de l'extrémité du microtubule

Afin de simuler le processus d'instabilité dynamique d'un microtubule selon les règles présentées en 6.2.2, il est nécessaire de définir une condition initiale et une condition aux bords. Dans la suite, nous avons choisi de travailler avec les conditions suivantes :

1. Initialement, le microtubule a une longueur nulle.
2. Si au pas de temps t , le microtubule a une longueur nulle, alors au pas de temps $t + 1$, le microtubule rentre dans le stade de croissance " + " avec une configuration de N_p protofilaments identiques composés d'une seule unité T .

Sur la Figure 6.10, nous avons reporté 3 trajectoires de la position de l'extrémité du microtubule obtenues pour $p_h = 0.75$ et $p_d = 0.01$, un ratio $r = v_-/v_+ = 13.5$ (ce ratio correspond aux valeurs typiques pour v_- et v_+ reportés dans le tableau 3.1) avec $n_\star = 1, 2$ et 3. On constate que pour un jeu de paramètre (p_h, p_d) donné, le temps moyen passé dans la phase de croissance (et par extension la longueur de croissance) augmente avec n_\star . En effet, le nombre de protofilaments instables nécessaire au déclenchement de la catastrophe augmente et cet événement de transition requiert donc plus de temps. En revanche, le temps et la longueur de décroissance semblent relativement insensibles à l'augmentation de n_\star . Ainsi, dans ces conditions, l'augmentation de n_\star semble conduire à une dynamique de plus en plus persistante pour le microtubule.

Dans la suite de cette section, les phases de croissance et de décroissance d'un ensemble de N_p protofilaments seront analysées et le paramètre ϵ sera exprimé en fonction des paramètres microscopiques p_h, p_d et n_\star .

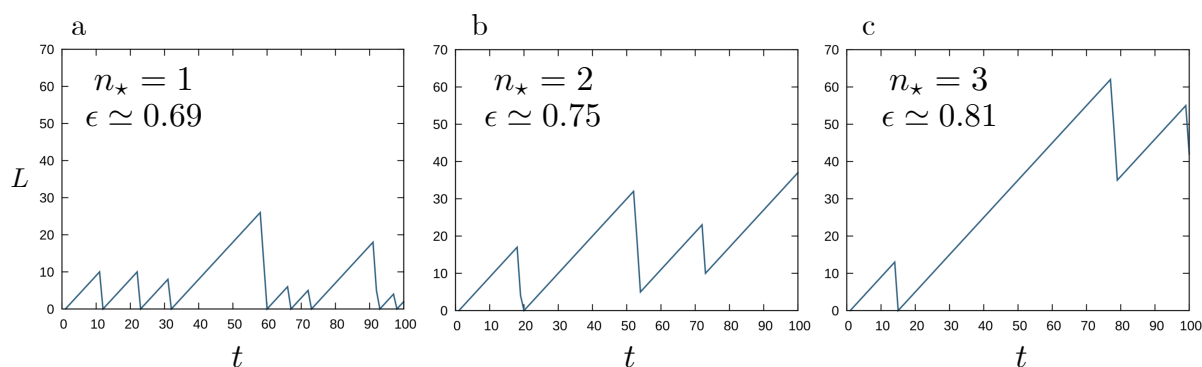


FIGURE 6.10: Trajectoires simulées de la position de l'extrémité du microtubule à partir des règles présentées en 6.2.2. La longueur du microtubule (en unité de dimères) est tracée en fonction du temps. Les trajectoires ont été générées pour $p_h = 0.75$, $p_d = 0.01$, $v_-/v_+ = 13$ avec $n_\star = 1$ (a), $n_\star = 2$ (b) et $n_\star = 3$ pour (c). Les configurations (a,b,c) correspondent respectivement à un ratio $\epsilon = \langle l_+ \rangle / \langle l_- \rangle$ en (6.41) de $\simeq 0.69$, $\simeq 0.75$ et $\simeq 0.81$.

Fréquence de croissance

Le modèle mésoscopique présenté en 6.2 considère que le microtubule croît par addition d'unités T sur les protofilaments non-instables tant qu'il n'a pas atteint le stade où au moins n_\star des N_p protofilaments exposent une unité instable D^\star . Ainsi, il est possible de représenter la phase de croissance par une chaîne de transitions de n_\star états intermédiaires : $0 \rightarrow 1 \rightarrow 2 \dots \rightarrow n_{\star-1}$ (voir Fig. 6.11). Les états "0", "1", "2", ..., " $n_\star - 1$ " représentent un microtubule contenant respectivement 0, 1, 2, ..., $n_\star - 1$ protofilaments instables. Le microtubule commence sa phase de croissance dans le stade "0" et la termine dans le stade " $n_\star - 1$ ". Les stades "1", "2", ..., " $n_\star - 1$ " correspondent à des configurations où 1, 2, ..., $n_\star - 1$ protofilaments exposent une unité instable D^\star et où $(N_p - 1)$, $(N_p - 2)$, ..., $(N_p - [n_\star - 1])$ protofilaments ont la même longueur et exposent une unité T . Après être passé successivement par les n_\star états intermédiaires, le microtubule peut atteindre un état dans lequel au moins n_\star protofilaments exposent une unité instable D^\star . Cette transition marque la fin de la phase de croissance. Selon les règles présentées dans la section 6.3, l'événement de sauvetage (transition "−" → "+") survient lorsque le microtubule n'expose plus d'unités D . À cet instant, le microtubule peut donc exposer que des unités T et D^\star . Ainsi, de manière générale les chemins "−" → " n " avec $n \in [0, n_\star - 1]$ sont possibles. Dans la suite, nous faisons l'hypothèse que lors du processus de décroissance, toutes les unités instables sont dissociées de telle manière qu'au moment du sauvetage, le microtubule expose uniquement que des unités T . Ainsi, à l'issue de l'événement de sauvetage, le microtubule se trouve dans l'état "0", c'est-à-dire sans unités instables. Cette hypothèse se traduit sur la Figure 6.11 par l'absence des chemins "−" → "1", "−" → "2", ..., "−" → " $n_\star - 1$ ". Par anticipation des résultats, cette hypothèse est confortée par les simulations numériques lorsque $r > 1$ (nombre d'unités dissociées par pas de temps lors de la phase de décroissance). Lorsque la décroissance aboutit à la dissociation complète du microtubule, au pas de temps suivant, la nucléation conduit à un réseau composé de N_p protofilaments avec une seule unité T . Ainsi, lorsque la phase de décroissance s'arrête via un événement de sauvetage ou via un événement de nucléation, le microtubule commence sa phase de croissance dans le stade "0" de la Figure 6.11. Dans la cinétique représentée sur la Figure 6.11, nous avons fait l'approximation que la conversion d'unité D en unité instable D^\star ne se produit pas de manière simultanée sur plusieurs protofilaments. Ainsi, on néglige les événements où 2 protofilaments ou plus deviennent instables dans le même pas de temps. Les fréquences $f_0, f_1, \dots, f_{n_\star}$ représentent respectivement les fréquences des transitions "0" → "1", "1" → "2", ..., " $n_\star - 1$ " → \times . Les expressions pour ces fréquences en fonction des paramètres microscopiques p_h et p_d sont dérivées dans la sous-section suivante.

On définit une fonction de survie pour chacun des $(n_\star + 1)$ états de la phase de croissance. Le système d'équations qui traduit le schéma cinétique de la Figure 6.11 est

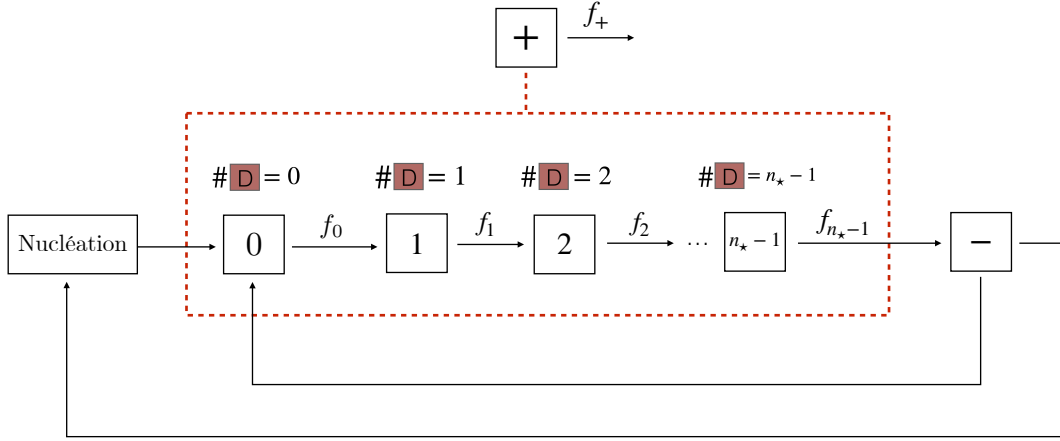


FIGURE 6.11: Représentation schématique de la cinétique de la phase de croissance. L'état de croissance " + " est subdivisé en n_* états intermédiaires : "0", "1", "2", ..., " $n_* - 1$ " correspondant respectivement aux situations où 0, 1, 2, ..., $n_* - 1$ protofilaments exposent une unité instable D^* . Le microtubule commence sa phase de croissance dans l'état "0" et l'état " $n_* - 1$ " correspond au dernier état dans lequel le microtubule peut croître.

donné par :

$$\begin{cases} \frac{dS_0}{dt} = -f_0 S_0, \\ \frac{dS_n}{dt} = +f_{n-1} S_{n-1} - f_n S_n, \quad n \in [1, n_* - 1], \end{cases} \quad (6.19)$$

avec les conditions initiales $S_0(t=0) = 1$ et $S_n(t=0) = 0 \forall n \in [1, n_* - 1]$. De manière générale, la fréquence de croissance f_+ est donnée par :

$$f_+ = -\frac{1}{S_+} \frac{dS_+}{dt} \quad \text{avec} \quad S_+(t) = \sum_{n=0}^{n_*-1} S_n(t). \quad (6.20)$$

Le système (6.19) apparaît également dans le contexte d'une chaîne de désintégration radioactive et a été résolu par Bateman en 1910 [94] en transformant les équations dans l'espace de Laplace. La dérivation est présentée en Annexe A.2 et la solution pour la survie $S_n(t)$ est donnée par :

$$S_n(t) = \prod_{i=0}^{n-1} f_i \sum_{i=0}^n \frac{e^{-f_i t}}{\prod_{\substack{j=0 \\ j \neq i}}^n (f_j - f_i)}, \quad n \in [0, n_* - 1]. \quad (6.21)$$

La fonction de survie du microtubule dans la phase de croissance $S_+(t)$ est alors donnée par :

$$S_+(t) = \sum_{n=0}^{n_*-1} \left(\prod_{i=0}^{n-1} f_i \sum_{i=0}^n \frac{e^{-f_i t}}{\prod_{\substack{j=0 \\ j \neq i}}^n (f_j - f_i)} \right). \quad (6.22)$$

En utilisant l'Eq (6.22) dans l'Eq (6.20), on obtient l'expression suivante pour la fréquence

6.3 Résultats

$f_+(t)$ en fonction du temps :

$$f_+(t) = \frac{\sum_{n=0}^{n_\star-1} \left(\prod_{i=0}^{n-1} f_i \sum_{i=0}^n \frac{f_i e^{-f_i t}}{\prod_{j=0, j \neq i}^n (f_j - f_i)} \right)}{\sum_{n=0}^{n_\star-1} \left(\prod_{i=0}^{n-1} f_i \sum_{i=0}^n \frac{e^{-f_i t}}{\prod_{j=0, j \neq i}^n (f_j - f_i)} \right)}. \quad (6.23)$$

Les expressions de f_+ pour $n_\star = 1, 2$ et 3 sont données par :

$$f_+(t) = \begin{cases} f_0 & n_\star = 1 \quad (6.24a) \\ \frac{f_0 f_1 [e^{-f_0 t} - e^{-f_1 t}]}{f_1 e^{-f_0 t} - f_0 e^{-f_1 t}} & n_\star = 2 \quad (6.24b) \\ \frac{f_0 f_1 f_2 [(f_2 - f_1) e^{-f_0 t} + (f_0 - f_2) e^{-f_1 t} + (f_1 - f_0) e^{-f_2 t}]}{f_1 f_2 (f_2 - f_1) e^{-f_0 t} + f_0 f_2 (f_0 - f_2) e^{-f_1 t} + f_0 f_1 (f_1 - f_0) e^{-f_2 t}} & n_\star = 3 \quad (6.24c) \end{cases}$$

Pour $n_\star = 1$, la fréquence de croissance est constante et est donnée par $f_+ = f_0$ tandis que pour $n_\star > 1$, c'est une fonction croissante au cours du temps. Les limites pour $t \rightarrow 0$ et $t \rightarrow +\infty$ de $f_+(t)$ sont données par :

$$\left\{ \begin{array}{l} \lim_{t \rightarrow 0} f_+(t) = 0, \end{array} \right. \quad (6.25a)$$

$$\left\{ \begin{array}{l} \lim_{t \rightarrow +\infty} f_+(t) = \min(f_0, f_1, \dots, f_n) \quad , \quad n = n_\star - 1. \end{array} \right. \quad (6.25b)$$

La fréquence de croissance sature vers la plus petite fréquence de l'ensemble $\{f_0, f_1, f_2, \dots, f_{n_\star-1}\}$. Par anticipation des résultats, en utilisant l'expression (6.27) pour les fréquences f_n en fonction des probabilités p_h et p_d , on peut montrer que $f_{n_\star-1}$ est la plus petite fréquence et ainsi la limite de l'équation (6.25b) est donnée par :

$$\lim_{t \rightarrow +\infty} f_+(t) = 1 - (1 - p_h p_d)^{N_p - (n_\star - 1)}. \quad (6.26)$$

Les résultats provenant des simulations numériques (points avec les barres d'erreurs en bleu) de la dynamique d'un ensemble de N_p protofilaments en interaction sont comparés avec l'expression analytique (lignes continues rouges) en (6.23) sur la Figure 6.14. On constate que les résultats analytiques et numériques sont en très bon accord, validant ainsi notre approche analytique basée sur la cinétique de la phase de croissance représentée sur la Figure 6.11.

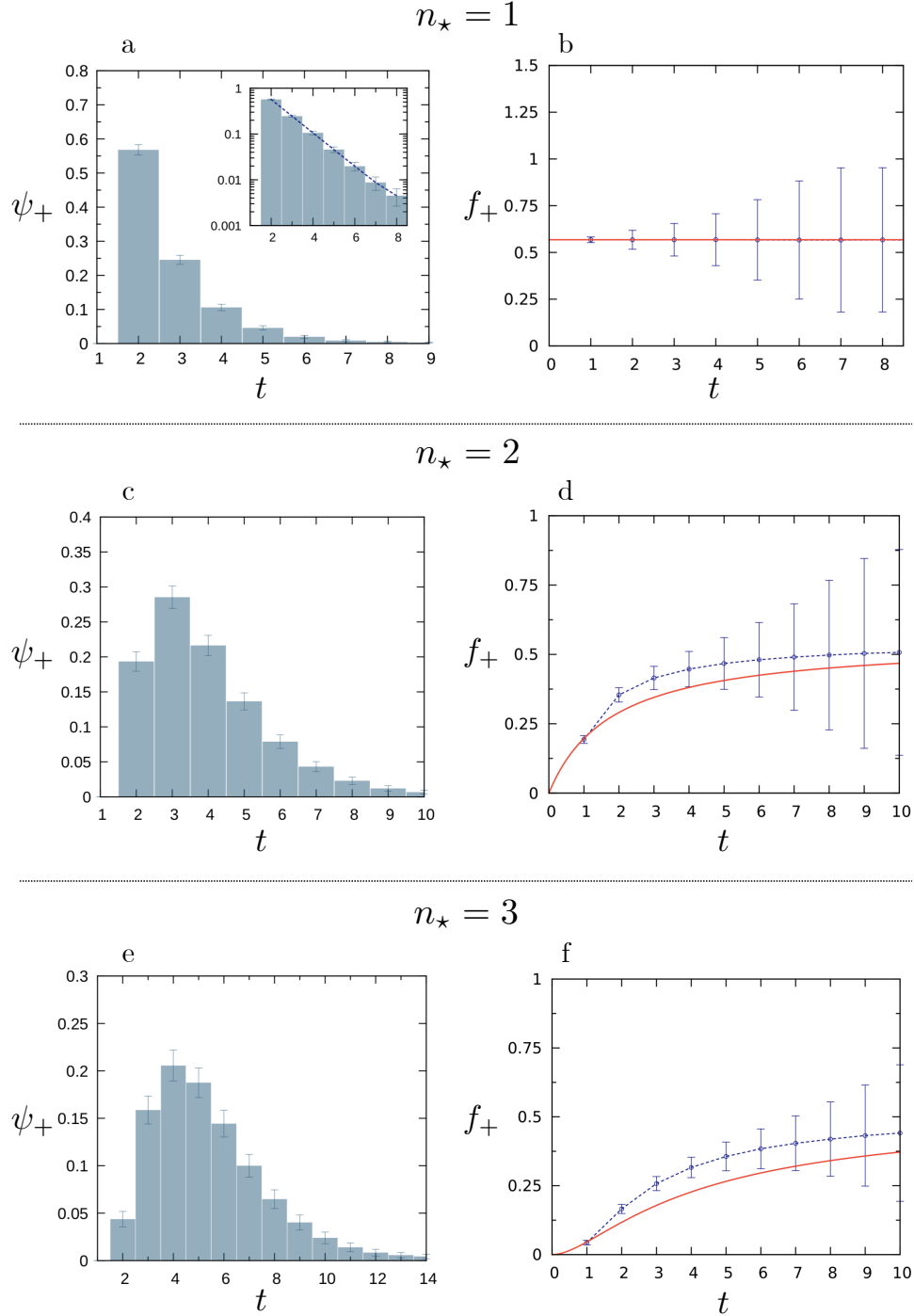


FIGURE 6.12: Caractérisation de la phase de croissance d'un ensemble de $N_p = 13$ protofilaments en interaction. Les distributions et les fréquences ont été obtenues sur un ensemble de $N_{\text{conf}} = 10^5$ trajectoires de 10^3 pas de temps pour $p_h = p_d = 0.25$ avec $n_{\star} = 1$ (a,b), 2 (c,d) et 3 (e,f). Les points avec les barres d'erreurs en bleu pour les fréquences de croissance (b,d,f) proviennent des simulations numériques et les lignes continues en rouge correspondent aux expressions analytiques (6.24a), (6.24b) et (6.24c) où $f_0 = 1 - (1 - 0.25^2)^{13} \simeq 0.56$, $f_1 = 1 - (1 - 0.25^2)^{12} \simeq 0.53$ et $f_2 = 1 - (1 - 0.25^2)^{11} \simeq 0.5$.

Expressions des f_n en fonction des paramètres p_h , p_d et n_\star

Les fréquences f_n indiquées sur la Figure 6.11 (avec $n \in [0, n_\star - 1]$) représentent la probabilité par unité de temps qu'au moins un protofilament devienne instable à partir d'une configuration où n protofilaments exposent une unité instable D^\star et $N_p - n$ exposent une unité T . Comme on peut le voir sur la Figure 6.3, les unités T à l'extrémité d'un protofilament ont une probabilité $1 - p_h + p_h(1 - p_d) = 1 - p_h p_d$ de ne pas devenir D^\star et on peut donc écrire les fréquences f_n comme suit :

$$f_n = 1 - (1 - p_h p_d)^{N_p - n}, \quad n \in [0, n_\star - 1]. \quad (6.27)$$

L'expression (6.27) peut être généralisée au cas où la probabilité de dissociation est fonction de n , le nombre de protofilaments exposant une unité instable D^\star avec $p_d \equiv p_d(n)$. Dans le cas où les fréquences de transition entre les n_\star états internes de la phase de croissance sont identiques, c'est-à-dire $f_0 = f_1 = \dots = f_{n_\star - 1} \equiv f$, on peut écrire :

$$1 - (1 - p_h p_d(0))^{N_p} = 1 - (1 - p_h p_d(n))^{N_p - n}. \quad (6.28)$$

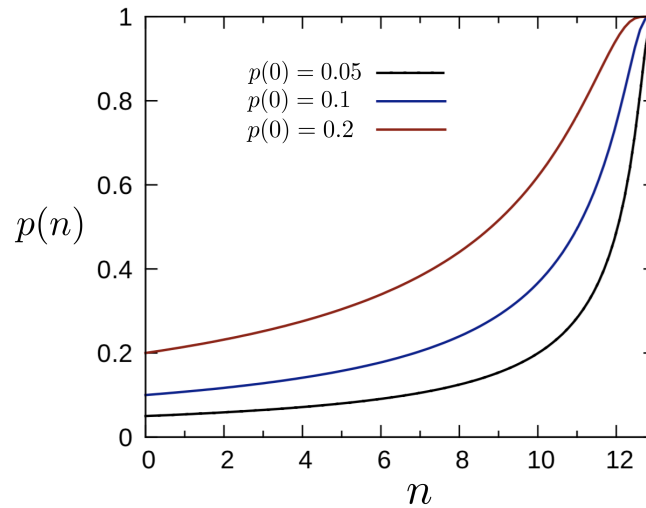


FIGURE 6.13: $p(n) \equiv p_h p_d(n)$ en fonction de n , le nombre de protofilaments instables dans le cas particulier où les fréquences de transition sont identiques, c'est-à-dire $f_0 = f_1 = \dots = f_{n_\star - 1} \equiv f$ et avec $N_p = 13$ protofilaments. Les 3 courbes en noir, bleu et rouge correspondent respectivement à une valeur initiale $p(0) \equiv p_h p_d(0)$ de 0.05, 0.1 et 0.2.

À partir de l'équation (6.28), il est possible d'exprimer le produit de la probabilité d'hydrolyse et de dissociation $p(n) \equiv p_h p_d(n)$ comme suit :

$$p(n) \equiv p_h p_d(n) = \left(1 - [1 - p_h p_d(0)]^{N_p / (N_p - n)}\right). \quad (6.29)$$

Sur la Figure 6.13, nous avons tracé la fonction $p(n)$ donnée par l'Eq (6.29) pour 3 valeurs initiales différentes : $p(n=0) = 0.05, 0.1$ et 0.2 . On constate que la probabilité de dissociation $p_d(n)$ croît au fur et à mesure que n augmente et ce quelque soit la valeur initiale $p(0) \neq 1$. Ainsi, à l'image d'une avalanche, la situation où les paramètres

cinétiques sont égaux conduit à un mécanisme de dissociation accélérée ($p''(n) > 0$) en fonction du nombre de protofilaments exposant une unité instable D^* . La situation où les fréquences $f_0, f_1, \dots, f_{n^*-1}$ sont identiques correspond à une distribution Gamma des temps de croissance. Un tel formalisme mathématique a été utilisé par Gardner *et al* [66] afin d'ajuster les résultats expérimentaux pour la fréquence de croissance en fonction du temps.

Fréquence de décroissance

Le raisonnement pour exprimer la survie du microtubule dans la phase de décroissance est similaire à celui développé dans la sous-section 6.3.1 pour le cas d'un seul protofilament. De manière générale, $S_-(t)$ peut s'écrire comme :

$$S_-(t) = \prod_{i=1}^t \omega_i, \quad (6.30)$$

où ω_i représente maintenant la probabilité que le microtubule soit dans la phase de décroissance au temps $t_- = i$. Le microtubule reste dans la phase de décroissance tant qu'il n'est pas sauvé et donc on a $\omega_i = 1 - p_{r,i}$ où $p_{r,i}$ représente la probabilité qu'un événement de sauvetage survienne au temps $t_- = i$. Selon les règles présentées en 6.2.2, le sauvetage survient lorsque le microtubule n'expose plus d'unités D . La probabilité q_i qu'une unité T se fixe à l'extrémité d'un protofilament non instable au temps de décroissance $t_- = i$ est donnée par :

$$q_i = P_i(D) [1 - p_d] + P_i(T) [1 - p_h p_d], \quad (6.31)$$

où $P_i(D)$ et $P_i(T)$ représentent la probabilité qu'un protofilament non instable expose respectivement une unité D et T au temps $t_- = i$. Le site à l'extrémité d'un protofilament non instable est soit dans l'état T ou D et on a donc $P_i(T) + P_i(D) = 1, \forall t_- = i$. La probabilité q_i s'écrit alors comme :

$$q_i = 1 - p_d + P_i(T) p_d (1 - p_h). \quad (6.32)$$

Dans la phase de décroissance, les N_p sont considérés comme indépendants et donc la probabilité de sauvetage est donnée par :

$$p_{r,i} = q_i^{N_p - n_i(D^*)} = [1 - p_d + P_i(T) p_d (1 - p_h)]^{N_p - n_i(D^*)}, \quad (6.33)$$

où $n_i(D^*)$ représente le nombre de protofilaments instables, c'est-à-dire exposant une unité instable D^* au temps $t_- = i$. Ainsi, la probabilité ω_i qui intervient dans l'équation (6.30) s'écrit :

$$\omega_i = 1 - [1 - p_d + P_i(T) p_d (1 - p_h)]^{N_p - n_i(D^*)}. \quad (6.34)$$

La distribution des temps de décroissance $\psi_-(t) = S_-(t) - S_-(t+1)$ s'exprime comme

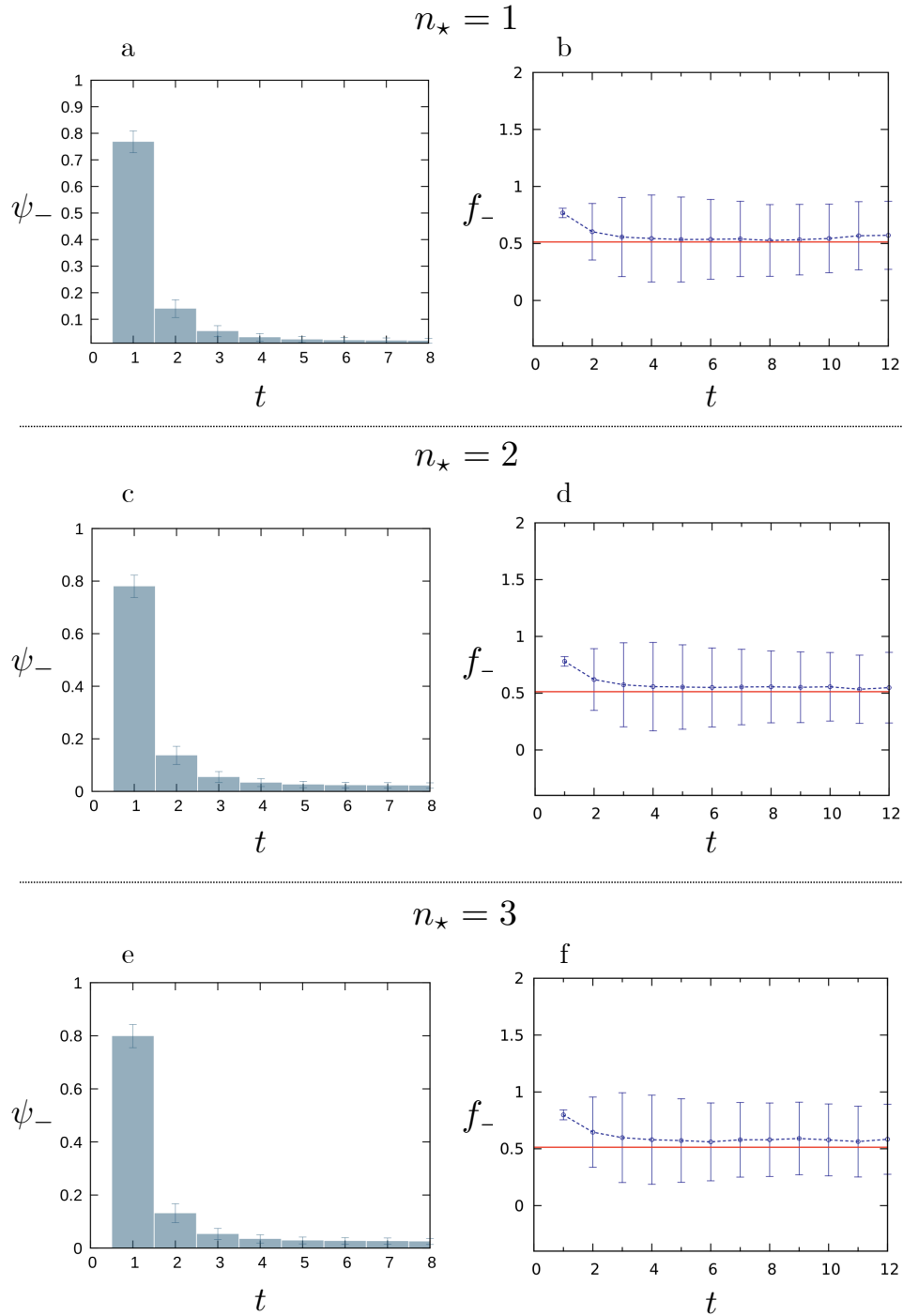


FIGURE 6.14: Caractérisation de la phase de décroissance d'un ensemble de $N_p = 13$ protofilaments en interaction. Les distributions et les fréquences ont été obtenues sur un ensemble de $N_{\text{conf}} = 10^5$ trajectoires de 10^3 pas de temps pour $p_h = p_d = 0.05$ avec $n_{\star} = 1$ (a,b), 2 (c,d) et 3 (e,f). Les points avec les barres d'erreurs en bleu pour les fréquences de décroissance (b,d,f) proviennent des simulations numériques et les lignes continues en rouge correspondent à la valeur $f_- = (1 - p_d)^{13} \simeq 0.51$.

suit :

$$\psi_-(t) = (1 - \omega_{t+1}) \prod_{i=1}^t \omega_i, \quad (6.35)$$

et la fréquence de décroissance f_- est donnée par :

$$f_- = 1 - \omega_{t+1} = [1 - p_d + P_{t+1}(T) p_d (1 - p_h)]^{N_p - n_{t+1}(D^*)}. \quad (6.36)$$

De manière générale, f_- est une fonction qui dépend du temps passé dans la phase de décroissance. Comme on peut le constater à travers l'équation (6.36), la dépendance temporelle vient à la fois du terme $P_{t+1}(T)$ et $n_{t+1}(D^*)$ qui dépendent de l'histoire du microtubule. Afin d'exprimer f_- en fonction de p_h et p_d , on fait l'hypothèse qu'une fois entré dans la phase de décroissance, le microtubule n'expose plus d'unités instables D^* et donc $n_i(D^*) = 0, \forall t_- = i$. Cette condition correspond aux situations où le nombre d'unités qui se dissocient par unité de temps, r est supérieur ou égal au nombre d'unités ajoutées lors de la croissance entre le moment où un premier protofilament devient instable et celui où la condition de catastrophe est satisfaite. En s'inspirant du raisonnement développé dans la sous-section 6.3.1 pour le cas d'un seul protofilament (voir Figure 6.6), on peut écrire la probabilité $P_i(T)$ comme suit :

$$P_i(T) = (1 - p_h)^{(1+r)i}. \quad (6.37)$$

Tout comme l'équation (6.12) pour le cas d'un seul protofilament, l'expression (6.37) repose sur l'hypothèse que lors de la décroissance, les sites encore dans l'état T à l'extrémité du microtubule sont issus de la phase de croissance précédente. Finalement, avec ces deux approximations, la fréquence de décroissance est donnée par :

$$f_- = \left[1 - p_d \left(1 - (1 - p_h)^{(1+r)t+2+r} \right) \right]^{N_p}. \quad (6.38)$$

Tout comme pour le cas d'un seul protofilament, la fréquence de décroissance en (6.38) est une fonction décroissante du temps passé dans la phase de décroissance avant d'atteindre la valeur asymptotique $(1 - p_d)^{N_p}$ (pour $N_p = 1$, on retrouve la valeur pour un protofilament seul). À partir de (6.38), on peut montrer que le temps au bout duquel la fréquence de décroissance devient constante (à $s = 1\%$ près) est donné par :

$$t = \frac{1}{1+r} \left[\frac{\log(s)}{\log(1-p_h)} - (2+r) \right]. \quad (6.39)$$

L'expression (6.39) permet de délimiter dans un diagramme de phase probabilité d'hydrolyse - durée de la mémoire, la région avec mémoire c'est-à-dire, où f_- est fonction du temps passé dans le stade de décroissance. Sur la Figure 6.15, l'équation (6.39) est tracée en ligne continue pour les cas $r = 1$ (en rouge) et $r = 13$ en bleu. Le cas $r = 1$ correspond au cas d'un seul protofilament dans lequel $v_+ = v_-$. Pour le cas d'un seul protofilament, f_- demeure constante pour $p_h \geq 0.6$ tandis que pour ensemble de N_p protofilaments en interaction ($r = 13$), la fréquence de décroissance demeure constante pour $p_h \geq 0.15$ avec $f_- = (1 - p_d)^{N_p}$. La probabilité d'hydrolyse à partir de laquelle la fréquence f_- est

6.3 Résultats

constante (à $s = 1\%$ près) est notée $p_{h,c}$ et s'exprime en fonction du ratio r comme suit :

$$p_{h,c} = 1 - s^{1/(3+2r)} . \quad (6.40)$$

L'équation (6.40) est tracée en fonction de r sur la Figure 6.15 et on constate que $p_{h,c}$ diminue au fur et à mesure que le ratio r augmente. Ainsi, la gamme de valeurs de p_h pour lesquelles le système est caractérisé par une dépendance temporelle à travers la fréquence de décroissance est d'autant plus restreinte que le ratio r est élevé. Les résultats numériques pour la fréquence de décroissance sont reportés sur la Figure 6.14 pour $n_\star = 1, 2$ et 3 avec $p_h = p_d = 0.05$. Comme attendu, dans ces conditions, f_- décroît au cours du temps avant d'atteindre la valeur $(1 - p_d)^{N_p}$.

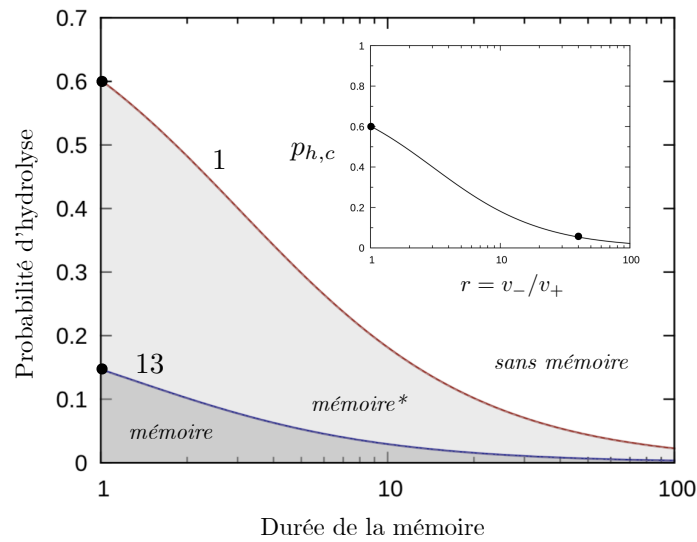


FIGURE 6.15: Diagramme de phase probabilité d'hydrolyse - durée de la mémoire pour un seuil de 1% pour la décroissance d'un ensemble de N_p protofilaments en interaction. Les lignes continues délimitent la région où la fréquence de décroissance dépend du temps passé dans le stade de décroissance pour les cas $r = v_-/v_+ = 1$ (rouge) et $r = 13$ (bleu). La figure interne représente la probabilité critique $p_{h,c}$ donnée par l'équation (6.40) à partir de laquelle la fréquence de décroissance est constante (à $s = 1\%$ près) en fonction du ratio r .

Paramètre ϵ pour un ensemble de N_p protofilaments

Les expressions des fréquences caractérisant l'instabilité dynamique d'un ensemble de N_p protofilaments en interaction sont reportés dans le Tableau 6.2. Pour $n_\star = 1$ et $N_p = 1$, la fréquence de croissance est donnée par $f_+ = p_h p_d$ et on retrouve donc la même expression que pour le cas d'un protofilament seul. La fréquence de décroissance donnée par (6.38) n'est pas fonction de n_\star mais dépend en revanche du ratio des vitesses $r = v_-/v_+$. Dans le cas $r = 1$ et $N_p = 1$, on retrouve l'expression (6.15) pour un protofilament seul. À partir de ces expressions, on montre que le paramètre $\epsilon = v_+ f_- / (v_- f_+)$ asymptotique,

c'est-à-dire dans la limite $t \gg 1$ est donné par :

$$\epsilon = \frac{1}{r} \left[\frac{(1 - p_d)^{N_p}}{1 - (1 - p_h p_d)^{N_p - (n_\star - 1)}} \right]. \quad (6.41)$$

Sur la Figure 6.16, nous avons représenté ϵ en (6.41) en fonction de n_\star pour 3 jeux de paramètres (p_h, p_d) . On constate que quelque soit les probabilités p_h et p_d que l'on choisit, ϵ augmente en fonction de n_\star . Selon les valeurs de p_h et p_d , il existe une valeur de n_\star de telle sorte que ϵ soit supérieur ou égal à 1 (courbes continues en bleu et en rouge sur la Figure 6.16). À partir des valeurs typiques de v_+ , v_- , f_+ et f_- qui sont reportées dans le tableau 3.1, le paramètre $\epsilon = v_+ f_- / (v_- f_+)$ peut être estimé et on trouve $\epsilon \simeq 0.74$. Par anticipation des résultats, l'ajustement de (6.23) sur les données expérimentales suggère une valeur de n_\star de l'ordre de 3. En combinant ces deux informations sur la Figure 6.16, on constate que les probabilités p_h et p_d (en supposant que $p_h = p_d$) doivent être comprises entre 0.06 et 0.08.

Modèle	Croissance	Décroissance
1 PF	$p_h p_d$	$1 - p_d (1 - (1 - p_h)^{2t+3})$
13 PFs	$\left\{ \begin{array}{l} f_0 \quad ; \quad n_\star = 1 \\ \frac{f_0 f_1 [e^{-f_0 t} - e^{-f_1 t}]}{f_1 e^{-f_0 t} - f_0 e^{-f_1 t}} \quad ; \quad n_\star = 2 \\ \frac{f_0 f_1 f_2 [(f_2 - f_1) e^{-f_0 t} + (f_0 - f_2) e^{-f_1 t} + (f_1 - f_0) e^{-f_2 t}]}{f_1 f_2 (f_2 - f_1) e^{-f_0 t} + f_0 f_2 (f_0 - f_2) e^{-f_1 t} + f_0 f_1 (f_1 - f_0) e^{-f_2 t}} \quad ; \quad n_\star = 3 \end{array} \right.$	$[1 - p_d (1 - (1 - p_h)^{(1+r)t+2+r})]^{N_p}$
	$f_n = 1 - (1 - p_h p_d(n))^{N_p - n}, \quad n \in [0, n_\star - 1]$	

TABLE 6.2: Expressions analytiques pour les fréquences de croissance et de décroissance dans le cas d'un seul protofilament ("1 PF") et pour un ensemble de $N_p = 13$ protofilaments en interaction ("13 PFs").

Déplacements moyens et distributions des longueurs à l'équilibre

Le déplacement moyen de l'extrémité du microtubule a été calculé à partir d'un ensemble de $N_{\text{conf}} = 10^4$ trajectoires (voir Annexe A.1) et les résultats obtenus sont reportés sur la Figure 6.17a pour $n_\star = 1$ et $n_\star = 3$. Tout comme dans le cas d'un seul protofilament, deux régimes peuvent être distingués dans la dynamique du microtubule en fonction de la valeur du ratio ϵ donné par l'équation (6.41) :

- Pour $\epsilon < 1$, la longueur moyenne ($\langle\langle L(t) \rangle\rangle$) du microtubule augmente au cours du temps avant d'atteindre un plateau. La fonction de relaxation de la longueur moyenne a un comportement non-exponentiel (Figure 6.17b). Dans ce régime, il existe une distribution des longueurs à l'équilibre qui est représentée sur la Figure 6.17c,d pour $n_\star = 1$ et $n_\star = 3$.

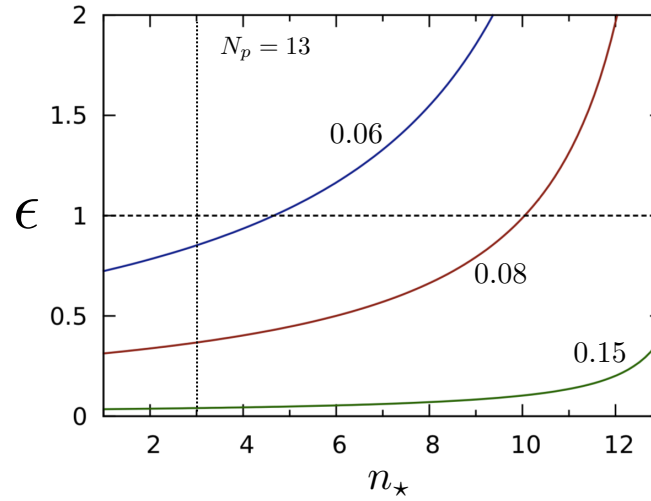


FIGURE 6.16: Paramètre ϵ donné par (6.41) en fonction de n_\star pour un ensemble de N_p protofilaments en interaction avec $p_h = p_d = 0.06$ (bleu), 0.08 (rouge) et 0.15 (vert).

- Pour $\epsilon \geq 1$, le microtubule a un comportement persistant et sa longueur moyenne augmente linéairement en fonction du temps. Dans ce régime, il n'y a pas de distribution des longueurs à l'équilibre.

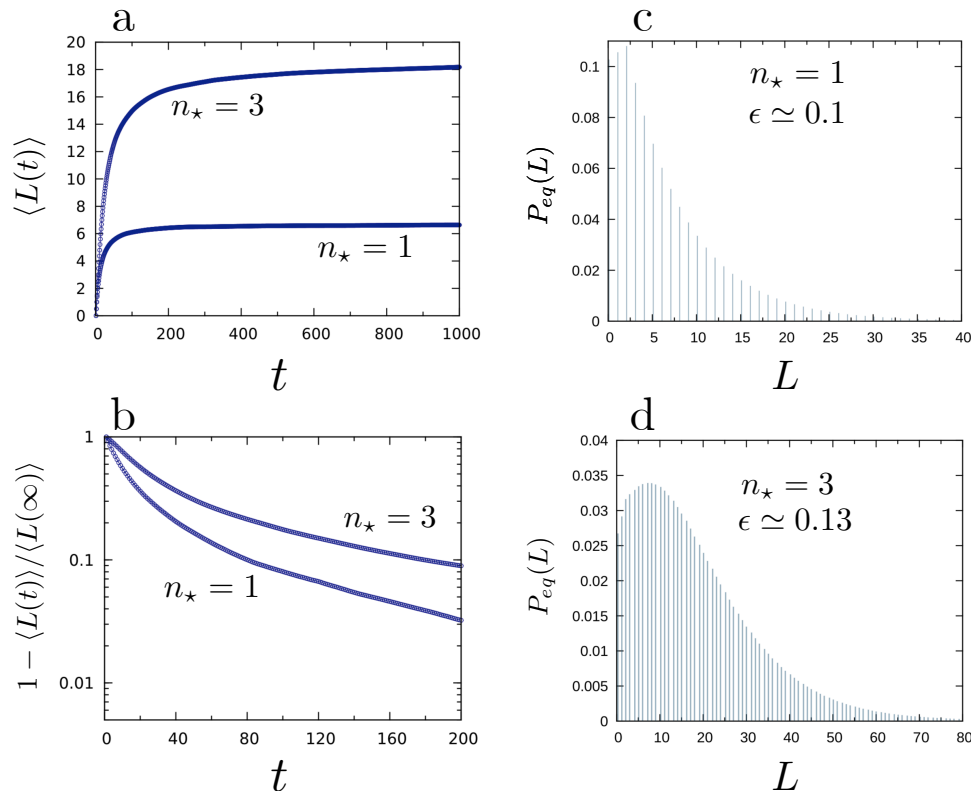


FIGURE 6.17: Longueurs moyennes et fonction de relaxation $(1 - \langle L(t) \rangle / \langle L(\infty) \rangle)$ en fonction du temps (**a**, **b**) et distributions des longueurs à l'équilibre (**c**, **d**) d'un ensemble de N_p protofilaments en interaction pour $n_\star = 1$ et $n_\star = 3$ avec $p_h = p_d = 0.11$. Les résultats ont été obtenus à partir de $N_{\text{conf}} = 10^4$ trajectoires de 1000 pas de temps avec $r \equiv v_- / v_+ = 13$.

6.3.3 Analyse des données expérimentales

Sur la Figure 6.18, nous avons reporté les résultats de Gardner *et al* [66] pour la fréquence de croissance en fonction du temps. Les valeurs numériques et les barres d'erreurs ont été récupérées à l'aide du logiciel **GraphClick** [95]. Dans ces expériences *in vitro*, les auteurs n'ont pas observé d'événements de sauvetage, c'est-à-dire que chaque phase de décroissance aboutissait à la dissociation complète du microtubule. Ainsi, par rapport à la représentation schématique de la phase de croissance sur la Figure 6.11, cette condition expérimentale correspond au chemin allant de l'état " – " à l'état "Nucléation". Les expressions (6.24a), (6.24b) et (6.24c) pour $n_\star = 1, 2$ et 3 , respectivement ont été ajustées sur les données de Gardner *et al* [66]. L'ajustement des courbes a été réalisé à l'aide de la fonction `lsqcurvefit` sous MATLAB. Les 3 courbes issues de l'ajustement sont tracées sur la Figure 6.18. Le cas $n_\star = 1$ en ligne pointillée noire correspond à une fréquence constante $f_+ = f_0 = 0.0031 \text{ s}^{-1}$, le cas $n_\star = 2$ en ligne pointillée rouge donne deux fréquences identiques $f_0 = f_1 = 0.0057 \text{ s}^{-1}$ et le cas $n_\star = 3$ en ligne continue bleu donne trois fréquences identiques $f_0 = f_1 = f_2 = 0.008 \text{ s}^{-1}$. Cette situation a été discutée dans la section 6.3.2 et correspond à une distribution Gamma des temps de croissance. Les expressions analytiques pour $f_+(t)$ dans ces conditions sont reportées dans le Tableau 6.3. Sur la Figure 6.18, on constate que la courbe ajustée correspondant à $n_\star = 3$ est celle qui s'accorde le mieux avec les données expérimentales parmi les 3 courbes. On peut alors déterminer la valeur numérique des produits $p_h p_d(0)$, $p_h p_d(1)$ et $p_h p_d(2)$ à partir de $f = 0.008 \text{ s}^{-1}$ obtenue pour $n_\star = 3$ en utilisant l'expression $p_h p_d(n) = 1 - (1 - f k_g^{-1})^{1/(N_p - n)}$. Le taux d'addition de GTP k_g peut être calculé à partir de la vitesse de croissance de $\simeq 15 \text{ nm/s}$ reportée en [66] ce qui donne $k_g \simeq 0.015 \text{ } \mu\text{m/s} \times 1625 \simeq 24 \text{ s}^{-1}$. On obtient alors $p_h p_d(0) \simeq 2.5 \times 10^{-5}$, $p_h p_d(1) \simeq 2.7 \times 10^{-5}$ et $p_h p_d(2) \simeq 3 \times 10^{-5}$. D'un point de vue expérimental, la dépendance temporelle de la fréquence de décroissance n'a pas été reportée jusqu'à présent. En utilisant les résultats présentés dans la sous-section 6.3.2 pour la fréquence de décroissance, les valeurs possibles pour la probabilité d'hydrolyse sont alors comprises entre $p_h = 0.15$ et $p_h = 1$. En utilisant les résultats issus de l'ajustement pour $n_\star = 3$, nous avons tracé sur la Figure 6.19, les valeurs possibles de la probabilité de dissociation en fonction de la probabilité d'hydrolyse. On constate que les probabilités de dissociation $p_d(0)$, $p_d(1)$, $p_d(3)$ pour respectivement, 0, 1 et 2 protofilaments instables ont des valeurs très proches qui sont comprises entre $\simeq 3 \times 10^{-5}$ et $\simeq 2 \times 10^{-4}$.

n_\star	Fréquence de croissance $f_+(t)$	$f \text{ [s}^{-1}\text{]}$
1	f	0.0031
2	$f^2 t / [1 + f t]$	0.0057
3	$f^3 t^2 / [f t (f t + 2) + 2]$	0.008

TABLE 6.3: Expressions analytiques pour les 3 courbes ajustées de la Figure 6.18 et les valeurs numériques correspondantes pour $f \equiv f_0 = f_1 = f_2$.

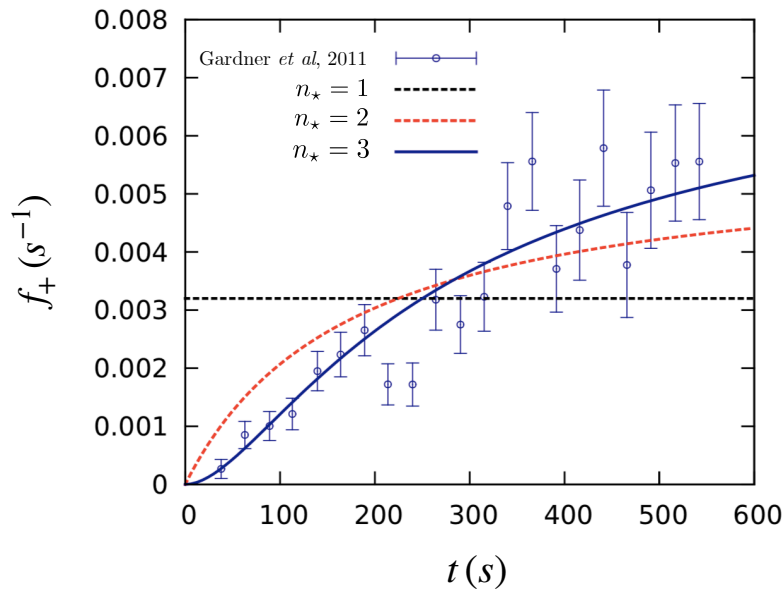


FIGURE 6.18: Fréquence de croissance des microtubules en fonction du temps. Les points avec les barres d'erreurs correspondent aux résultats des expériences de Gardner *et al* [66]. Les 3 courbes sont issues de l'ajustement des équations (6.24a) (en noir), (6.24b) (en rouge) et (6.24c) (en bleu) sur les points expérimentaux. Les valeurs numériques des paramètres ajustés sont reportés dans le Tableau 6.3.

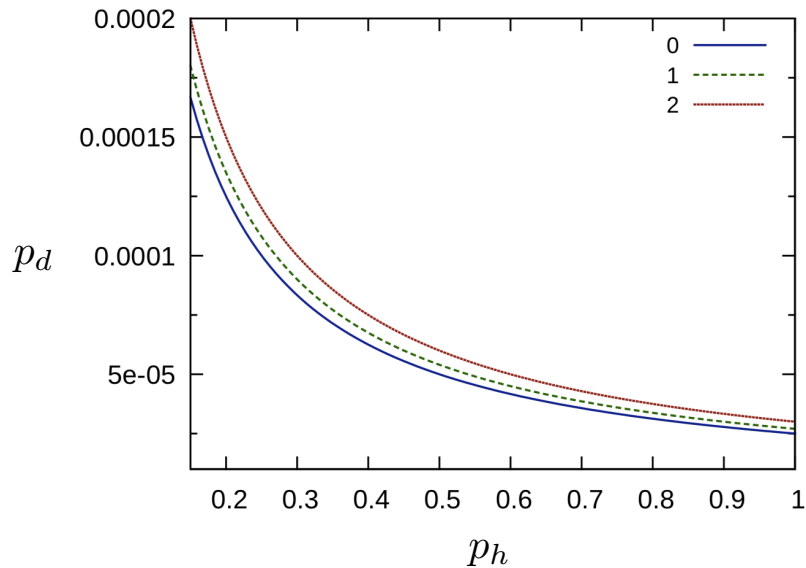


FIGURE 6.19: Valeurs possibles de la probabilité de dissociation en fonction de la probabilité d'hydrolyse. Les valeurs ont été obtenues à partir des résultats de l'ajustement de (6.24c) pour $n_* = 3$ et avec la condition que la fréquence de décroissance demeure constante (implique que $p_h \geq 0.15$). La courbe continue en bleu correspond à $p_d(0)$, la ligne pointillée verte, $p_d(1)$ et celle en rouge représente $p_d(2)$.

6.4 Conclusion

Le modèle mésoscopique décrivant la dynamique d'instabilité d'un ensemble de N_p protofilaments en interaction présenté en 6.2 est contrôlé par 3 paramètres : les probabilités d'hydrolyse et de dissociation p_h et p_d et n_\star qui traduit la stabilité du microtubule. Pour $n_\star \geq 2$, le modèle est caractérisé par une distribution non-exponentielle des temps de croissance avec une fréquence de croissance qui augmente au cours du temps passé dans le stade " + " avant de saturer vers une valeur plateau donnée par $1 - (1 - p_h p_d)^{N_p - (n_\star - 1)}$. Pour $p_h < p_{h,c}$ où la probabilité critique $p_{h,c}$ est donnée par l'équation (6.40), le système est caractérisé par une distribution non-exponentielle des temps de décroissance avec une fréquence de décroissance qui décroît au cours du temps passé dans le stade " - " avant d'atteindre la valeur $(1 - p_d)^{N_p}$. L'équivalent du système d'équations (4.4) pour des fréquences dépendantes du temps peut s'écrire comme :

$$\begin{cases} \frac{dg_+}{dt} = - \int_0^t \kappa_+(t-t') g_+(t') dt' + \int_0^t \kappa_-(t-t') g_-(t') dt' , \\ \frac{dg_-}{dt} = + \int_0^t \kappa_+(t-t') g_+(t') dt' - \int_0^t \kappa_-(t-t') g_-(t') dt' , \end{cases} \quad (6.42)$$

où les noyaux (kernel) $\kappa_\pm(t)$ sont des fonctions mémoire reliées à $f_\pm(t)$. À partir de (6.42), on peut écrire l'équation suivante pour la vitesse moyenne instantanée $\langle v(t) \rangle = v_+ g_+(t) - v_- g_-(t)$:

$$\frac{d\langle v(t) \rangle}{dt} = - \int_0^t dt' [\kappa_+(t-t') + \kappa_-(t-t')] v(t') + \int_0^t dt' [v_+ \kappa_-(t') - v_- \kappa_+(t')] . \quad (6.43)$$

La fonction de relaxation de la vitesse $\langle v(t) \rangle$, solution de l'équation (6.43) a un comportement non-exponentiel qui est la signature d'un système non-Markovien. Le modèle que nous avons développé dans ce chapitre correspond à une description non-Markovienne de l'instabilité dynamique des microtubules. De manière générale, dans l'espace de Laplace, les fonctions mémoire $\kappa_\pm(t)$ sont données par :

$$\bar{\kappa}_\pm(\sigma) = \frac{\sigma \bar{\Psi}_\pm(\sigma)}{1 - \bar{\Psi}_\pm(\sigma)} , \quad (6.44)$$

avec $\bar{\Psi}_\pm(\sigma)$, la transformée de Laplace de $\Psi_\pm(t)$, la distribution des temps de séjour dans les phases \pm qui s'écrit comme :

$$\Psi_\pm(t) = f_\pm(t) S_\pm(t) = - \frac{dS_\pm}{dt} . \quad (6.45)$$

Dans le cas particulier où les fréquences de croissance et de décroissance sont constantes, on a :

$$f_\pm(t) \equiv f_\pm \Rightarrow \Psi_\pm(t) = f_\pm e^{-f_\pm t} , \quad (6.46)$$

6.4 Conclusion

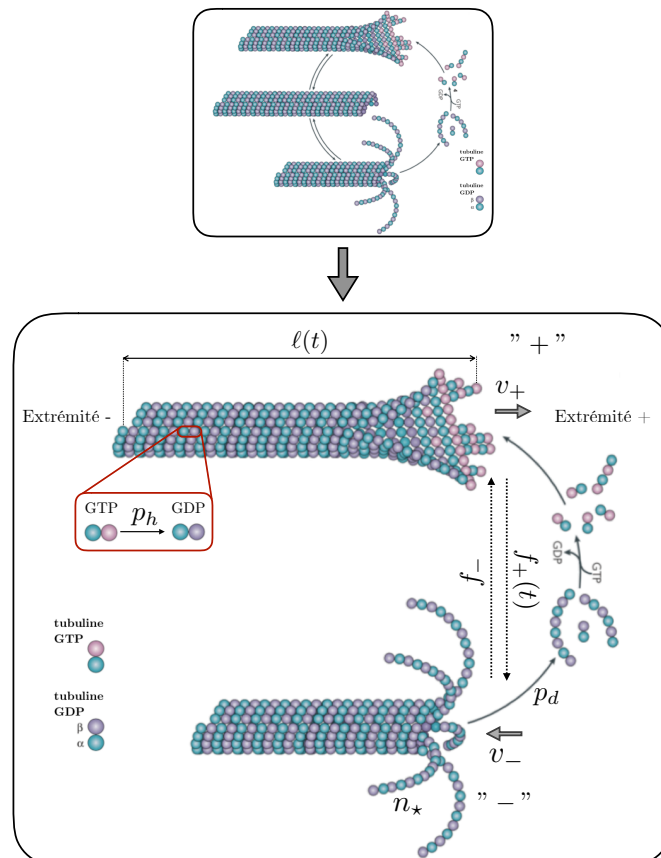
et ainsi on a $\kappa_{\pm}(t) = f_{\pm}\delta(t)$ et on retrouve le système (4.4) du modèle Markovien à deux états.

Pour aller plus loin, il serait intéressant de comparer les résultats du modèle mésoscopique développé dans ce chapitre avec les modèles déjà existants de l'instabilité dynamique des microtubules qui tiennent compte de la dépendance temporelle associée à la fréquence de croissance [91, 92, 93].

Résumé du chapitre 6 : Instabilité dynamique : Modèle non-Markovien

1. L'objectif de ce chapitre était de construire un modèle de l'instabilité dynamique des microtubules à l'échelle de la tubuline dont les caractéristiques sont compatibles avec les récentes observations expérimentales sur la dépendance temporelle de la fréquence de croissance et qui servira de base à la construction d'un modèle couplant le processus d'instabilité dynamique d'un microtubule en interaction avec une population de Tau.
2. Le modèle que nous avons développé considère le microtubule comme un système bidimensionnel ("pseudo-périodique") formé d'un ensemble de N_p protofilaments adjacents en interaction. La dynamique du microtubule est contrôlée par 3 paramètres : la probabilité d'hydrolyse p_h décrivant l'hydrolyse des dimères GTP en GDP, la probabilité de dissociation p_d décrivant le mécanisme de dissociation des unités GDP à l'extrémité du microtubule et n_* qui tient compte des interactions entre protofilaments au sein du réseau.
3. Des expressions analytiques pour les fréquences caractérisant l'instabilité dynamique des microtubules ont été dérivées et sont reportées dans le Tableau 6.2. Pour $n_* = 1$, la fréquence de croissance est constante avec $f_+ = 1 - (1 - p_h p_d)^{N_p}$ et pour $p_h \geq p_{h,c}$ la fréquence de décroissance est constante avec $f_- = (1 - p_d)^{N_p}$. Pour $n_* \geq 2$, la fréquence f_+ et pour $p_h < p_{h,c}$, la fréquence f_- , deviennent des fonctions du temps passé dans respectivement la phase de croissance et de décroissance. En particulier, la fréquence de croissance qui a été intensivement étudiée expérimentalement augmente au cours du temps avant de saturer vers un plateau dont la valeur est donnée par $1 - (1 - p_h p_d)^{N_p - (n_* - 1)}$.
4. L'expression analytique pour $f_+(t)$ a été ajustée sur les données expérimentales de Gardner *et al* [66] et la situation où $n_* = 3$ avec $f_0 = f_1 = f_2 = 0.008 \text{ s}^{-1}$ est celle qui s'accorde le mieux avec les données. Le cas où les fréquences $f_0, f_1, \dots, f_{n_*-1}$ sont égales correspond à une distribution Gamma des temps de croissance. Ces résultats suggèrent un mécanisme de dissociation accélérée des dimères de tubulines où la probabilité de dissociation dépend du nombre de protofilaments instables.

Instabilité dynamique des MTs



Troisième partie

Décoration d'un microtubule stabilisé par des protéines Tau

Décoration d'un microtubule stable par Tau

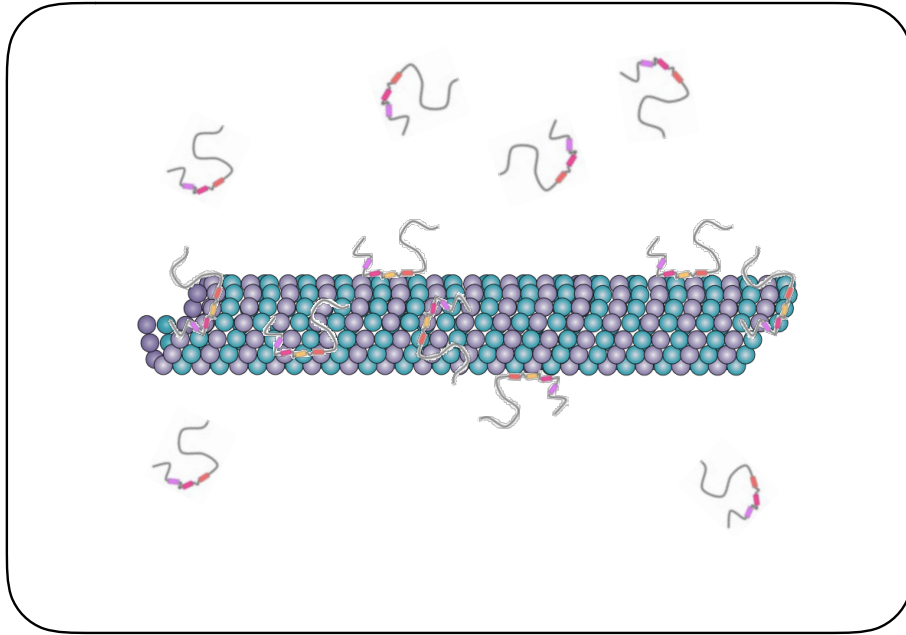


FIGURE 6.20: Objectif de la partie III de la thèse : caractériser la décoration d'un microtubule stable par une population de protéines Tau. La figure a été adaptée de [26, 27].

Chapitre 7

Structure et fonctions des protéines

Tau

L'objectif de ce chapitre est de présenter et de décrire la structure des protéines Tau, ses fonctions associées aux microtubules et ses modes d'interaction avec les microtubules à l'échelle des dimères de tubuline. Ce chapitre servira de base à la construction des modèles unidimensionnels et bi-dimensionnels décrivant la dynamique d'attachement et de détachement d'une population de Tau sur un microtubule stabilisé respectivement dans les chapitres 8 et 10.

Sommaire

7.1	Structure des protéines Tau	108
7.1.1	Expression de Tau et Isoformes	108
7.1.2	Structure de Tau en solution	109
7.2	Fonctions associées aux microtubules des protéines Tau	109
7.2.1	Polymérisation et stabilisation des microtubules	109
7.2.2	Organisation spatiale des microtubules	110
7.2.3	Régulation du transport axonal	111
7.3	Interaction des Tau avec les microtubules	111
7.3.1	Modes d'attachement	111
7.3.2	Paramètres de la réaction Tau - Microtubules	113

7.1 Structure des protéines Tau

7.1.1 Expression de Tau et Isoformes

Les protéines Tau (*tubulin associated unit*) appartiennent à la famille des MAP (*Microtubule Associated Proteins*) et sont codées par un gène unique situé sur le chromosome 17. La protéine Tau est exprimée principalement dans les axones [96] mais elle est également présente dans les astrocytes, les oligodendrocytes [97, 98] et dans certains tissus tels que le coeur et les muscles [99]. Il existe 6 différentes variantes de la protéine Tau appelées isoformes allant de 352 à 441 résidus d'acides aminés (Figure 7.1a) d'un poids moléculaire variant de 45 à 62 kDa [100, 101]. Les isoformes se distinguent par leurs séquences d'acides aminés mais peuvent toutes être subdivisées en 4 parties principales [102] : (i) une partie N-terminale, (ii) une partie riche en proline, (iii) une partie composée de 3 ou 4 motifs répétés et (iv) une partie C-terminale.

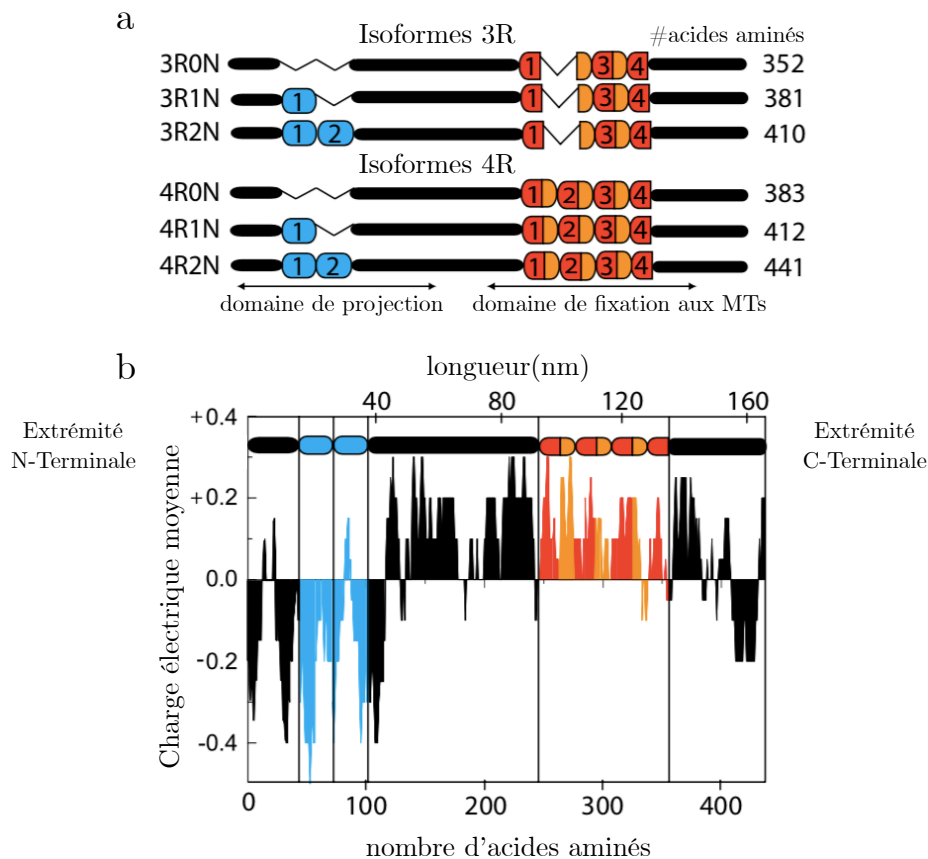


FIGURE 7.1: (a) Représentation schématique de la structure des 6 isoformes de la protéine Tau. (b) Charge électrique moyenne en fonction de la position le long de la protéine Tau (4R2N). La figure a été adaptée de [103].

Comme on peut le constater sur la Figure 7.1b, la protéine Tau peut être vue comme un dipôle [96, 103, 104, 105] avec un domaine chargé positivement qui comprend le domaine riche en proline, les motifs répétés et une partie de l'extrémité C-terminale et qui correspond à la zone de fixation aux microtubules et un domaine chargé négativement appelé domaine de projection. Le domaine de projection de Tau s'orienterait perpendicu-

lairement à la surface du microtubule comme on peut le voir sur la Figure 7.5 et serait impliqué dans l'organisation spatiale des microtubules en contrôlant la distance entre deux microtubules adjacents [106].

7.1.2 Structure de Tau en solution

De par l'existence de deux domaines de charges opposées, Tau est une protéine extrêmement dynamique en solution et appartient à la famille des protéines intrinsèquement désordonnées. Des expériences de diffusion des rayons X aux petits angles (SAXS) ont montré que le rayon de gyration de Tau était de l'ordre de $R_g \simeq 5 - 7$ nm [107, 108, 109] allant de $R_g = 6.8 \pm 0.2$ nm à 293 K à $R_g = 5.9 \pm 0.3$ nm à 318 K [108, 109]. Des études par transfert d'énergie de fluorescence par résonance (FRET) et par résonance magnétique nucléaire ont également été réalisées afin d'investiguer la dynamique de Tau en solution. Les résultats de [110, 111] indiquent que Tau en solution pourrait exister sous une conformation dans laquelle les extrémités de la protéine sont quasiment connectées (23 Å) formant ainsi une structure en trombone (Figure 7.2).

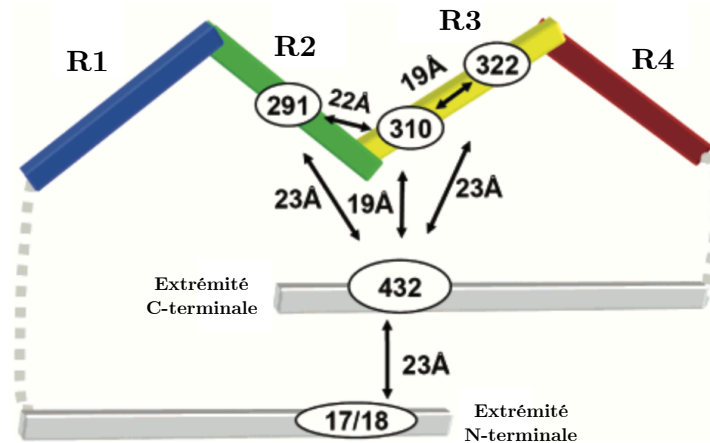


FIGURE 7.2: Modèle de conformation de la protéine Tau en solution dans lequel Tau adopte une structure en trombone où les extrémités N et C-terminale sont distantes de 23 Å. La figure a été adaptée de [110].

7.2 Fonctions associées aux microtubules des protéines Tau

7.2.1 Polymérisation et stabilisation des microtubules

De nombreuses études ont montré que la présence de Tau affectait le processus d'instabilité dynamique des microtubules et ce même pour des concentrations de Tau très faibles

[112, 113, 114, 25]. Plus précisément, les protéines Tau ont pour effet d'augmenter la vitesse d'élongation et la fréquence des événements de sauvetage et de diminuer la vitesse de dépolymérisation et la fréquence des événements de catastrophe. Par exemple, pour une concentration totale de tubuline de $3\ \mu\text{M}$ en présence de Tau à une concentration de $0.5\ \mu\text{M}$, la vitesse de polymérisation augmente d'un facteur $\simeq 2.5$, diminue la vitesse de dépolymérisation d'un facteur $\simeq 2$ [112]. Pour une concentration $13\ \mu\text{M}$ de tubuline, la fréquence de sauvetage augmente d'un facteur $\simeq 2$ avec $0.3\ \mu\text{M}$ de Tau [114]. Pour $3\ \mu\text{M}$ de tubuline, la fréquence de catastrophe diminue d'un facteur $\simeq 30$ avec une concentration de Tau de $0.3\ \mu\text{M}$ [112]. Sur la Figure 7.3, des trajectoires montrant l'évolution de la longueur de 5 microtubules en fonction du temps ont été reportées. On constate que les protéines Tau ont pour effet de stabiliser la dynamique des microtubules. De plus, il a été montré que Tau favorise la polymérisation des tubulines et ainsi augmente la masse de microtubules présents dans la solution [114, 115].

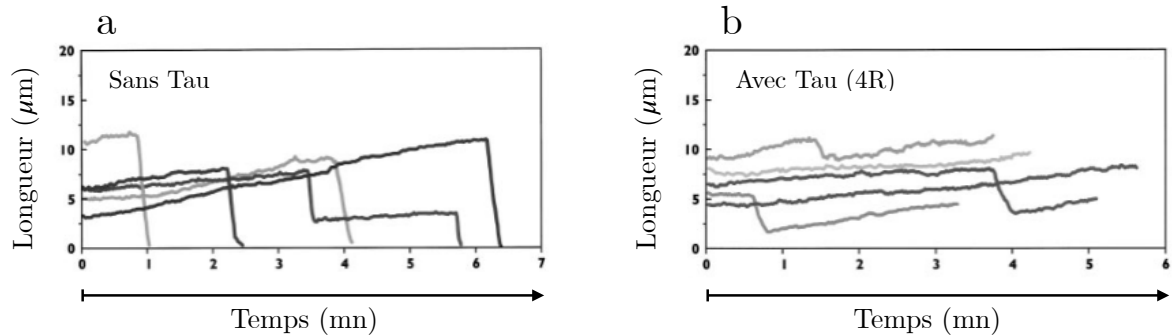


FIGURE 7.3: Longeur de 5 microtubules suivis au cours du temps en l'absence de (a) et en présence de protéines Tau (isoforme 4R) (b). Les données proviennent de [25] et ont été obtenues pour une concentration de Tau de $0.74\ \mu\text{M}$ avec $12\ \mu\text{M}$ de tubuline.

7.2.2 Organisation spatiale des microtubules

De nombreuses expériences ont montré que Tau participe directement à l'organisation spatiale des microtubules en formant des ponts entre les microtubules [116, 106, 117, 118]. Ces ponts ont pu être observés *in vitro* par microscopie électronique (Figure 7.4a) et la distance moyenne séparant deux microtubules en présence de Tau était de $26.4 \pm 9.5\ \text{nm}$ pour les microtubules au sein de l'axone [116, 106] (voir la Figure 7.4b). Ces résultats suggèrent que le domaine de projection des protéines Tau est impliqué dans l'organisation spatiale des microtubules en faisceaux et détermine la distance entre microtubules. Cependant, le rôle du domaine de projection dans le pontage des microtubules est controversé puisque des distances inter-microtubules plus petites que la longueur de ce domaine ont été reportées dans la littérature [119, 120].

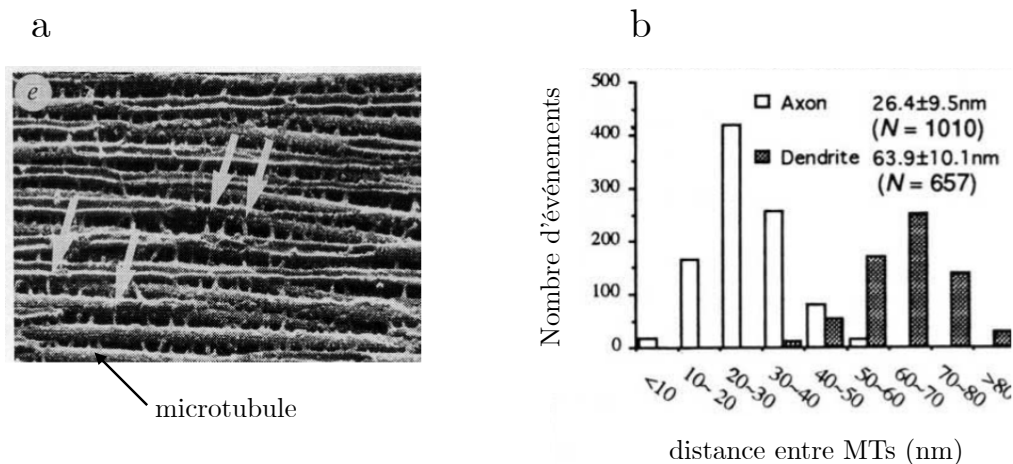


FIGURE 7.4: . Organisation spatiale d'un ensemble de microtubules par les protéines Tau. (a) Image obtenue par microscopie électronique d'un réseau de microtubules organisé par les protéines Tau. Les flèches indiquent la position des protéines Tau formant des ponts entre les microtubules. (b) Histogramme des distances inter-microtubules en présence de Tau avec une valeur moyenne donnée par 26.4 ± 9.5 nm. Les figures (a,b) ont été adaptées de [106].

7.2.3 Régulation du transport axonal

Le transport axonal correspond à l'acheminement des organelles du corps cellulaire aux synapses via les kinésines (transport antérograde) ou bien des synapses au corps cellulaire via les dynéines (transport rétrograde). Ce processus est indispensable au maintien et au fonctionnement de l'axone. Plusieurs études ont mis en évidence que les protéines Tau jouaient un rôle important dans la régulation de ce processus de transport. Plus précisément, il a été montré que Tau agissait sur le déplacement des kinésines en réduisant leurs vitesses [21, 22, 23]. De plus les protéines Tau pourraient également inverser la direction des dynéines et favoriser ainsi le transport du corps cellulaire aux synapses. Une récente étude a mis en évidence que la saturation et la suppression des protéines Tau dans l'axone conduisait à une augmentation des temps de pause des protéines motrices et une diminution de la longueur moyenne parcourue par les vésicules le long des microtubules [20] confortant ainsi les résultats précédents. Ces deux situations correspondent aux régions pathologiques représentées sur la Figure 1.3 et sont associées à différents types de Tauopathies.

7.3 Interaction des Tau avec les microtubules

7.3.1 Modes d'attachement

De nombreuses études ont été réalisées pour identifier la localisation des sites d'attachement des Tau sur le microtubule. Des comparaisons entre des images de microtubules

sans et avec Tau obtenues par microscopie électronique suggèrent que l'attachement des protéines Tau s'effectuerait à la surface externe des microtubules [121, 122, 123]. Ces résultats sont confortés par une étude réalisée par microscope à force atomique [124]. Un autre site d'attachement pour Tau situé sur la surface interne des microtubules proche du site d'attachement du Taxol sur le monomère β a été reporté en 2003 [125] mais n'a pas été confirmé depuis. Il a été suggéré que ces divergences pourraient venir de différences dans les protocoles expérimentaux utilisés et en particulier si l'ajout de Tau se fait pendant ou après la phase de polymérisation [126]. Cependant, une étude publiée en 2018 montre à l'aide d'une technique de microscopie électronique à haute résolution que l'attachement des Tau se fait à la surface externe des microtubules et ce quelque soit la manière dont les Tau sont ajoutées dans la solution [123]. De plus, il a été montré que Tau n'appartenait pas à la famille des protéines TIPs (*Tracking Proteins*) qui interagissent préférentiellement avec l'extrémité des microtubules mais au contraire que les Tau pouvait se fixer partout le long du microtubule [127]. La manière dont les protéines Tau interagissent avec les microtubules à l'échelle des dimères est une question ouverte. Cependant, le mode longitudinal, c'est-à-dire le long des protofilaments [122, 127, 123, 128] et le mode latéral, entre protofilaments adjacents [124, 121, 129], ont été fréquemment suggérés. Ces deux modes d'attachement sont représentés sur la Figure 7.5 pour l'isoforme de Tau possédant 4 séquences répétées. Ainsi, selon cette image, chaque séquence répétée se fixerait sur un monomère α ou β et donc au final chaque protéine Tau couvrirait 4 monomères. Ce modèle d'interaction à l'échelle des monomères a été proposé pour la première fois par Butner et Kirschner en 1991 [130]. Il a été montré à partir d'expériences de cosédimentation que la réaction d'attachement et de détachement des Tau sur le microtubule se faisait de manière non-coopérative [130, 89].

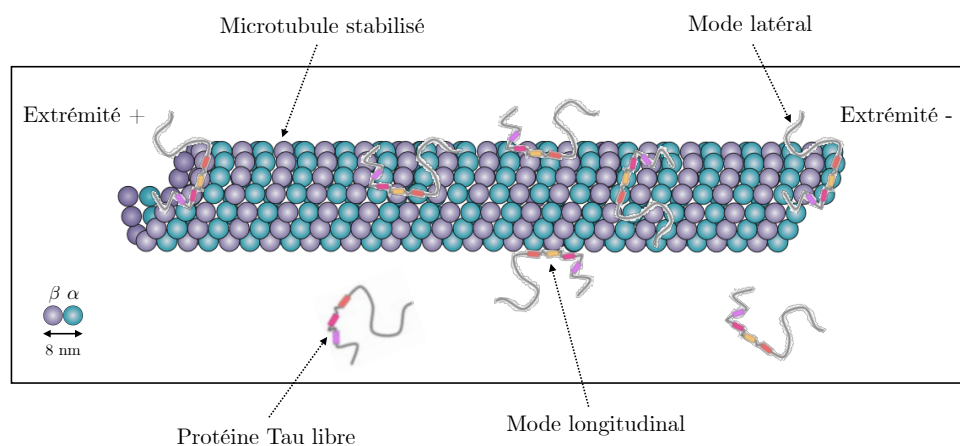


FIGURE 7.5: Représentation schématique d'un modèle théorique d'interaction de Tau à la surface d'un microtubule à l'échelle des dimères de tubulines $\alpha\beta$. La figure a été adaptée de [26, 27].

7.3.2 Paramètres de la réaction Tau - Microtubules

La réaction Tau-microtubule est classiquement caractérisée par deux paramètres : la stœchiométrie correspondant au nombre de Tau par dimère de tubuline $\alpha\beta$ et la constante de dissociation liée à l'affinité des Tau pour le microtubule [100]. Ces paramètres peuvent être obtenus par expériences de co-sédimentation [89], de titration calorimétrique isotherme (*Isothermal Titration Calorimetry*) [131] et de transfert d'énergie par résonance de type Förster (*Fluorescence Resonance Energy Transfer*) [126, 132].

Stœchiométrie n

La majorité des valeurs reportées est compatible avec une stœchiométrie $n = 1/2$: $n = 0.4$ [116, 133, 134], $n = 0.412$ [135] ; $n = 0.46$ [89] et $n = 0.52$ [122]. La valeur $1/2$ est compatible avec le modèle illustré sur la Figure 7.5 dans lequel chaque séquence répétée du domaine de fixation de Tau se lie à un monomère couvrant ainsi 4 monomères, c'est-à-dire 2 dimères $\alpha\beta$. Gustke *et al* [89] ont montré que la stœchiométrie était la même pour les 6 isoformes de Tau (Figure 7.1). Cependant, d'autres auteurs ont reporté des stœchiométries qui n'étaient pas compatibles avec le modèle illustré sur la Figure 7.5 : $n = 0.3$ [126], $n = 0.2$ [136].

Constante de dissociation K_d

Les valeurs reportées pour K_d varient sur plus de deux ordres de grandeurs de $\simeq 0.01 \mu\text{M}$ à $1 \mu\text{M}$ [126, 130, 89, 135, 136, 137, 138, 131, 132]. Il a été suggéré que cette variation entre les différentes valeurs mesurées pourrait venir du protocole expérimental utilisé [136]. Les expériences ayant pour but de déterminer une constante de dissociation peuvent être réalisées soit en fixant la concentration de microtubules et en variant progressivement la concentration de protéines Tau ou inversement. Ainsi, la disparité des valeurs numériques pour la constante de dissociation pourrait venir de différences entre ces deux approches expérimentales. La détermination des 2 paramètres de la réaction Tau-microtubule dans ces deux approches est discutée plus en détail dans le chapitre 9.

Résumé du chapitre 7 : Structure et fonctions des protéines Tau

1. Tau est une protéine principalement neuronale qui peut être vue comme un dipôle électrique avec un domaine de fixation aux microtubules qui serait impliqué dans la régulation de l'instabilité dynamique et un domaine de projection qui serait impliqué dans l'organisation spatiale du réseau microtubulaire au sein de l'axone en assurant le pontage entre les microtubules.
2. Les protéines Tau sont des protéines intrinsèquement désordonnées et peuvent exister dans de multiples conformations en solution. La conformation précise de Tau sur les microtubules est controversée. Cependant, de nombreuses études reportent un attachement des Tau à la surface externe des microtubules et avec deux modes d'interaction : un mode longitudinal, c'est-à-dire le long des protofilaments et un mode latéral entre protofilaments.
3. La réaction d'attachement et de détachement des Tau sur le microtubule est classiquement caractérisée par deux paramètres : n , la stœchiométrie correspondant au nombre de Tau par dimère de tubuline $\alpha\beta$ et K_d , la constante de dissociation liée à l'affinité de Tau pour le microtubule. Les valeurs reportées dans la littérature donnent une stœchiométrie $n \approx 1/2$ correspond à la situation où chaque Tau couvre 2 dimères $\alpha\beta$ et une constante de dissociation variant sur plus de deux ordres de grandeurs avec $K_d \simeq 0.01 - 1 \mu\text{M}$.

Chapitre 8

Décoration d'un microtubule par Tau : Modèle unidimensionnel

L'objectif de ce chapitre est de développer un modèle décrivant la dynamique d'attachement/détachement d'une population de protéines Tau sur un microtubule vu comme étant un réseau unidimensionnel composé d'un certain nombre de sites d'attachement pour les protéines Tau. Ce modèle servira de base à la construction d'un modèle décrivant la décoration dynamique de Tau à la surface d'un microtubule stabilisé qui est présenté dans le chapitre 10.

Sommaire

8.1	Introduction	116
8.2	Construction des règles du modèle	116
8.3	Formulation mathématique	118
8.3.1	Équation d'évolution de la densité de protéines Tau attachées	118
8.3.2	Constante de dissociation et stoechiométrie	118
8.3.3	Probabilité d'insertion	119
8.4	Caractérisation de la décoration du réseau	120
8.4.1	Densité de protéines Tau attachées	120
8.4.2	Distribution des plus proches voisins	126
8.5	Généralisation au cas polydisperse	127
8.5.1	Équations d'évolution des densités de Tau attachées	127
8.5.2	Cas particulier $\sigma_0 = \sigma_1 = \dots = \sigma_m$	128
8.5.3	Distribution des plus proches voisins	128

8.1 Introduction

Les protéines Tau couvrent un large spectre de fonctions biologiques en lien avec les microtubules. En particulier, elles favorisent la polymérisation de microtubules [139, 140], régulent le processus d'instabilité dynamique des microtubules [112, 141], participent à l'organisation spatiale du réseau de microtubules au sein de l'axone [142] et sont impliquées dans la régulation du transport axonal [21]. Dans un certain nombre de maladies neurodégénératives appelées *Tauopathies*, les propriétés physico-chimiques des protéines Tau sont modifiées [143, 144]. Dans ces conditions, les fonctions normales de Tau sont altérées ce qui se traduit par une perte progressive de la masse des microtubules dans les axones, la désorganisation du transport axonal et finalement la mort cellulaire. Pour comprendre comment les protéines Tau assurent l'ensemble des fonctions mentionnées ci-dessus, il est primordial d'investiguer la manière dont les protéines Tau interagissent avec les microtubules. L'objectif de ce chapitre est de caractériser la manière dont un microtubule stabilisé peut être décoré par une population de Tau en termes des quantités observables suivantes :

1. La densité de protéines Tau attachées sur le microtubule
2. La distribution spatiale des Tau à la surface du microtubule

Dans le but de dériver des expressions analytiques pour ces deux observables en fonction des paramètres clés de la réaction Tau-MT, nous avons développé un modèle décrivant la cinétique d'attachement et de détachement des protéines Tau sur un microtubule stabilisé. La construction du modèle est présentée dans la section 8.2 et sa formulation mathématique est présentée en 8.3. Les solutions analytiques et numériques pour la densité et la distribution spatiale des Tau sur le MT sont présentées et discutées dans la section 8.4.

8.2 Construction des règles du modèle

Au moins deux modes d'attachement pour les protéines Tau sur le microtubule ont été proposés dans la littérature : (i) un mode longitudinal, c'est-à-dire le long des protofilaments et un mode latéral entre plusieurs protofilaments. Dans ce chapitre, pour des raisons de simplicité et de pédagogie, nous nous restreignons à la situation où les protéines interagissent exclusivement le long des protofilaments. Dans ce cas, du point de vue de l'attachement des Tau, les protofilaments peuvent être considérés comme indépendants et on peut donc réduire le système à un problème unidimensionnel (Figure 8.1).

La situation où les deux modes d'attachement coexistent requiert un modèle de décoration bidimensionnel. Ce modèle est présenté dans le chapitre 10. On considère un réseau unidimensionnel homogène constitué de N sites identiques et indépendants sur lesquels des particules (protéines Tau) s'attachent et couvrent $(1 + \sigma)$ sites consécutifs empêchant l'attachement d'autres particules. Comme on peut le voir sur la Figure 8.1, chaque site correspond à un dimère de tubuline et a une extension spatiale de 8 nm. On considère donc que le chevauchement de deux ou plus Tau n'est pas possible et ainsi

8.2 Construction des règles du modèle

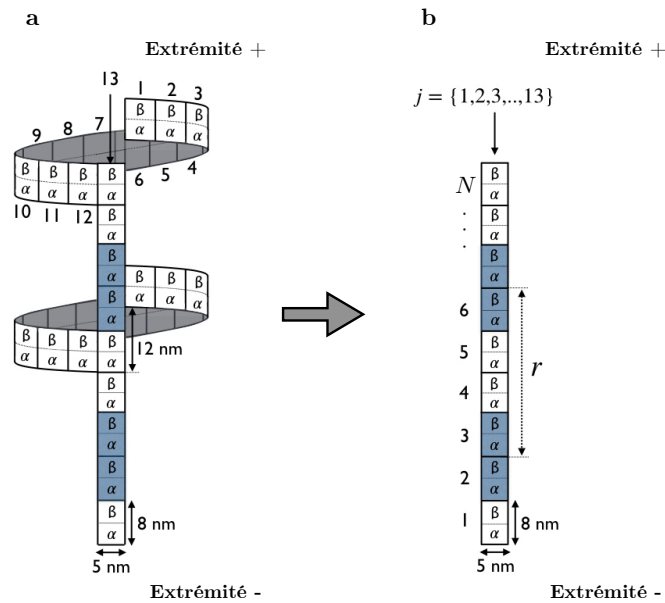


FIGURE 8.1: (a) Représentation schématique d'un microtubule décoré par des protéines Tau selon le mode longitudinal avec une stœchiométrie Tau-tubuline $n = 1/2$. Une fois sur le microtubule, Tau (en bleu) occupe $n^{-1} = (1 + \sigma) = 2$ dimères de tubuline le long d'un protofilament. (b) Du point de vue de l'attachement des Tau, les 13 protofilaments peuvent être considérés comme indépendants et le problème peut donc être ramené à l'étude de la décoration d'un protofilament.

$(1 + \sigma)$ sites consécutifs vides correspondent à une possibilité d'attachement pour Tau. La cinétique d'attachement des particules sur le réseau est décrite dans le cadre du problème *Car-parking problem* (CPP) dans lequel un ensemble de M particules s'attachent et se détachent de manière réversible avec respectivement un taux k_{on} et k_{off} (Figure 8.2).

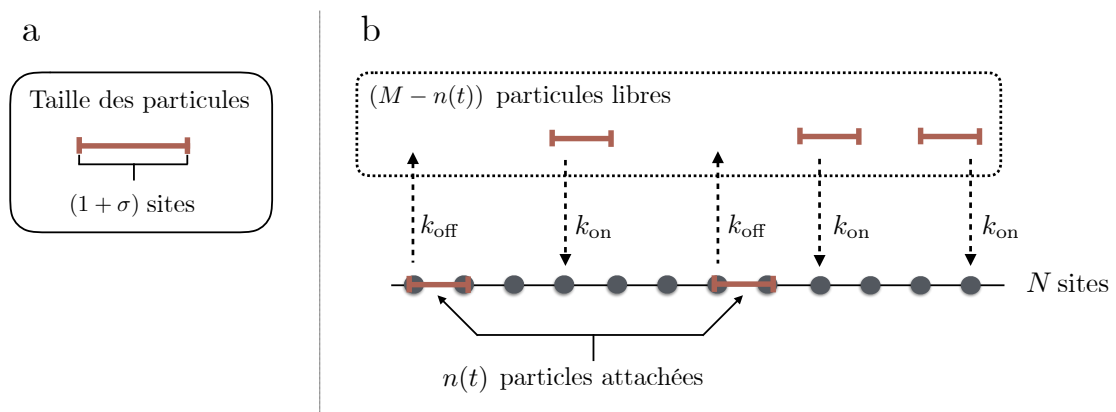


FIGURE 8.2: Représentation schématique de la cinétique d'attachement/détachement d'une population de M particules (Tau) sur un réseau unidimensionnel constitué de N sites d'attachement avec un taux k_{on} et k_{off} . Une fois attachée sur le réseau, chaque particule couvre $(1 + \sigma)$ sites consécutifs en empêchant l'attachement d'autres particules sur ces sites.

8.3 Formulation mathématique

8.3.1 Équation d'évolution de la densité de protéines Tau attachées

La cinétique de la réaction d'attachement/détachement représentée sur la Figure 8.2 se traduit par l'équation d'évolution suivante pour le nombre moyen de protéines Tau attachées sur le réseau :

$$\frac{dn}{dt} = k_{\text{on}} (M - n) \Phi(n, \sigma) - k_{\text{off}} n, \quad (8.1)$$

où $\Phi(n, \sigma)$ représente la probabilité d'insertion d'une nouvelle particule (Tau) occupant $(1 + \sigma)$ sites sur le réseau sur lequel se trouve déjà $n(t)$ Tau au temps t . L'équation (8.1) décrit la variation du nombre de Tau attachées. Le 1er terme à droite de l'Eq (8.1) représente l'augmentation de $n(t)$ par ajout de nouvelles particules qui ne sont pas déjà attachées sur la chaîne tandis que le second terme décrit la réduction de $n(t)$ par détachement de particules se trouvant sur la chaîne. On introduit la densité de particules attachées $\rho(t) = n(t)/N$ et en divisant l'équation (8.1) par N , on obtient l'équation suivante pour $\rho(t)$:

$$\frac{d\rho}{dt} = k_{\text{on}} (x - \rho) \Phi(\rho, \sigma) - k_{\text{off}} \rho. \quad (8.2)$$

Dans la suite, nous allons travailler avec le temps adimensionnel $t \rightarrow k_{\text{on}} t$. En divisant (8.2) par k_{on} , on obtient l'équation adimensionnelle suivante pour $\rho(t)$:

$$\frac{d\rho}{dt} = (x - \rho) \Phi(\rho, \sigma) - \frac{\rho}{k_{\text{eq}}}, \quad (8.3)$$

où $k_{\text{eq}} = k_{\text{on}}/k_{\text{off}}$ est la constante d'équilibre de la réaction d'attachement/détachement de Tau sur le réseau. À l'équilibre, $d\rho/dt = 0$ et l'équation (8.3) devient :

$$\rho = k_{\text{eq}} (x - \rho) \Phi(\rho, \sigma). \quad (8.4)$$

8.3.2 Constante de dissociation et stœchiométrie

Expérimentalement, la réaction d'attachement/détachement de Tau sur un microtubule est caractérisée par deux paramètres : la constante de dissociation K_d liée à l'affinité de Tau sur le MT et la stœchiométrie n liée à la taille de la protéine Tau sur le MT. K_d est reliée à la constante d'équilibre k_{eq} et à la concentration totale de microtubules polymérisés $[N]$ comme suit :

$$K_d = \frac{[N]}{k_{\text{eq}}} \equiv [N] \left(\frac{k_{\text{off}}}{k_{\text{on}}} \right). \quad (8.5)$$

Ainsi, les situations pour lesquelles la valeur de K_d est petite correspondent au cas où l'affinité de Tau pour le microtubule est importante ($k_{\text{eq}} \gg [N]$) tandis que le cas $K_d \gg 1$

8.3 Formulation mathématique

traduit une faible affinité de Tau pour le MT ($k_{\text{eq}} \ll [N]$). La stœchiométrie n correspond au nombre de protéines Tau par site d'attachement et est donc donnée par

$$n = \frac{1}{1 + \sigma}. \quad (8.6)$$

8.3.3 Probabilité d'insertion

La probabilité d'insertion joue un rôle central dans les cinétiques d'attachement et de détachement de ligands sur une macromolécule (protéines Tau sur un microtubule stabilisé dans ce contexte). Cette probabilité dépend de la densité de protéines Tau attachées ρ et doit tenir compte des règles d'attachement des Tau sur le réseau qui sont présentées dans la section 8.2. Une expression analytique pour $\Phi(\rho, \sigma)$ a été dérivée en 1974 par McGhee et von-Hippel [145] dans le cas d'une chaîne infinie. La dérivation est présentée en annexe B et en l'absence de coopérativité entre les particules, la solution est donnée par :

$$\Phi(\rho, \sigma) = \frac{[1 - (1 + \sigma)\rho]^{1+\sigma}}{(1 - \rho\sigma)^\sigma}. \quad (8.7)$$

Pour un réseau vide, c'est-à-dire sans aucune particule attachée, la probabilité d'insertion est donnée par $\Phi(\rho = 0, \sigma) = 1$ tandis qu'à saturation, la probabilité est donnée par $\Phi(\rho_s, \sigma) = 0$ où $\rho_s = n = 1/(1 + \sigma)$ correspond à la densité maximale de Tau sur le réseau. La probabilité d'insertion est tracée en fonction de ρ/n sur la Figure 8.3 pour $n = 1$ ($\sigma = 0$), $n = 0.5$ ($\sigma = 1$) et $n = 0.1$ ($\sigma = 9$). Elle est linéaire et est donnée par $\Phi(\rho) = 1 - \rho$ pour une stœchiométrie $n = 1$ tandis que pour $n < 1$, la probabilité est linéaire pour des faibles densités (régime dit dilué) puis dévie de la linéarité et atteint la valeur de saturation avec une pente nulle.

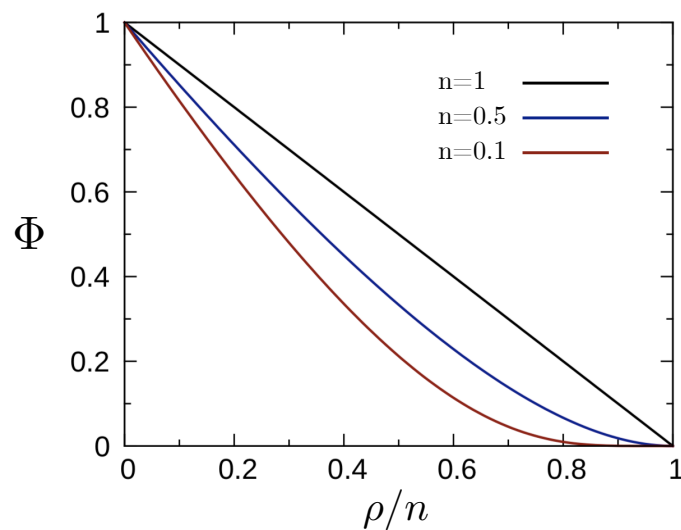


FIGURE 8.3: Probabilité d'insertion Φ donnée par l'équation (8.7) tracée en fonction de $\rho/n = (1 + \sigma)\rho$ pour $n = 1$ ($\sigma = 0$), 0.5 ($\sigma = 1$) et 0.1 ($\sigma = 9$).

8.4 Caractérisation de la décoration du réseau

Dans cette section, des expressions analytiques pour la densité de Tau présents sur la chaîne et la distribution des plus proches voisins sont dérivées en fonction des paramètres du modèle : k_{on} , k_{off} , σ et x .

8.4.1 Densité de protéines Tau attachées

Évolution temporelle

Dans le cas où la probabilité d'insertion $\Phi(\rho, \sigma)$ est linéaire en fonction de la densité ρ , l'équation d'évolution (8.3) est facilement résoluble. Cependant, $\Phi(\rho, \sigma)$ devient non-linéaire pour des particules de taille $\sigma \geq 1$, c'est-à-dire pour $n \leq 1/2$ (Figure 8.3). Des approximations linéaires pour la probabilité d'insertion ont été développées dans la littérature afin de dériver des expressions analytiques simples et pratiques à utiliser pour ajuster les données expérimentales. La probabilité d'insertion linéarisée s'écrit de la manière suivante :

$$\Phi(\rho, \sigma) \simeq \alpha - \beta\rho, \quad (8.8)$$

où les coefficients α et β sont fonction de la taille des particules, σ et dépendent de l'approximation considérée. L'approximation la plus courante correspond à $\alpha = 1/(1 + \sigma)$ et $\beta = 1$. Deux autres approximations dites de *faibles densités* et *hautes densités* ont également été développées comme alternatives à la première approximation [146] et les expressions pour α et β sont reportées dans le Tableau 8.1. L'utilisation de ces 3 approximations afin d'ajuster les données provenant des expériences de saturation et d'extraire les paramètres importants de la cinétique tels que la stœchiométrie, n et la constante de dissociation, K_d fera l'objet du chapitre 9.

Approximation	α	β	Ref.
Standard	$1/(1 + \sigma)$	1	[147]
Faibles densités ($\rho_\star = 0$)	1	$1 + 2\sigma$	[146]
Hautes densités ($\rho_\star = n/2$)	$2 \left(\frac{1 + \sigma}{2 + \sigma} \right)^{1+\sigma}$	$(2 + 3\sigma) \left(\frac{1 + \sigma}{2 + \sigma} \right)^{1+\sigma}$	[146]

TABLE 8.1: Approximations linéaires pour la probabilité d'insertion : $\Phi(\rho, \sigma) \simeq \alpha - \beta\rho$.

En utilisant l'expression linéarisée (8.8) pour $\Phi(\rho, \sigma)$, l'équation (8.3) devient :

$$\frac{d\rho}{dt} = (\rho - \lambda_1)(\rho - \lambda_2), \quad (8.9)$$

où λ_1 et λ_2 correspondent aux 2 solutions de l'équation quadratique $\beta\rho^2 - \rho(\alpha + k_{\text{eq}}^{-1} + \beta x) +$

8.4 Caractérisation de la décoration du réseau

$\alpha x = 0$ qui sont données par :

$$\lambda_{1,2} = \frac{1}{2\beta} \left[(\alpha + k_{\text{eq}}^{-1} + \beta x) \pm \sqrt{(\alpha + k_{\text{eq}}^{-1} + \beta x)^2 - 4\alpha\beta x} \right]. \quad (8.10)$$

La solution de l'équation (8.9) avec la condition initiale $\rho(t=0) = 0$ est donnée par (voir annexe B.2 pour la dérivation) :

$$\rho(t) = \frac{\lambda_1 \lambda_2 [1 - e^{(\lambda_1 - \lambda_2)t}]}{\lambda_2 - \lambda_1 e^{(\lambda_1 - \lambda_2)t}}. \quad (8.11)$$

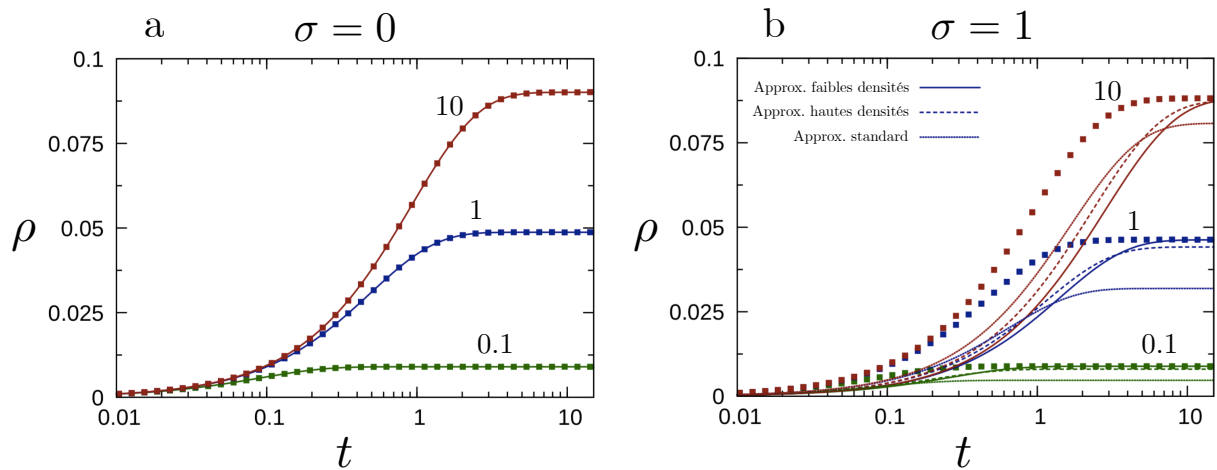


FIGURE 8.4: Densité de protéines Tau attachées en fonction du temps avec $k_{\text{eq}} = 0.1$ (en vert), 1 (en rouge), 10 (en bleu) et $x = 0.1$ pour $\sigma = 0$ (a) et $\sigma = 1$ (b). Les points correspondent à la résolution numérique de l'équation (8.3) à l'aide de la fonction *ode45* sous MATLAB. Les lignes correspondent à l'équation (8.11) où les coefficients α et β sont donnés dans le Tableau 8.1. Les lignes continues, pointillées et quasi-continues correspondent respectivement à l'approximation des faibles densités, des hautes densités et l'approximation standard.

Dans le cas $\sigma = 0$, les 3 approximations reportées dans le Tableau 8.1 donnent $\alpha = \beta = 1$ ce qui correspond à une probabilité d'insertion donnée par $\Phi(\rho) = 1 - \rho$ qui coïncide exactement avec l'expression exacte (8.7). Ainsi, l'expression (8.11) pour la densité moyenne en fonction du temps est exacte pour le cas particulier $\sigma = 0$. Pour les cas $\sigma > 0$, l'équation (8.3) avec $\Phi(\rho, \sigma)$ donnée par (8.7) peut être résolue numériquement à l'aide des méthodes de Runge-Kutta [148]. Les résultats numériques obtenus à l'aide de la fonction *ode45* sous MATLAB [149] sont comparés avec l'expression analytique (8.11) sur la Figure 8.4. On constate que pour $\sigma = 0$ (Figure 8.4a), les résultats venant numériques et théoriques coïncident parfaitement tandis qu'un écart non-négligeable existe pour $\sigma = 1$ (Figure 8.4b). L'approximation des faibles densités est celle qui épouse le mieux les points provenant de la résolution numérique pour la configuration considérée ici et en particulier, elle donne la bonne limite aux temps longs. De manière générale, la densité moyenne augmente au cours du temps avant d'atteindre une valeur plateau. Cette valeur limite correspond à la densité moyenne à l'équilibre et dépend des paramètres de

la cinétique k_{eq} et x de la manière suivante :

$$\rho = \lim_{t \rightarrow \infty} \rho(t) = \min(\lambda_1, \lambda_2) = \lambda_2 \quad (8.12)$$

$$= \frac{1}{2\beta} \left[(\alpha + k_{\text{eq}}^{-1} + \beta x) - \sqrt{(\alpha + k_{\text{eq}}^{-1} + \beta x)^2 - 4\alpha\beta x} \right]. \quad (8.13)$$

Équilibre de la réaction

Comme nous le verrons dans le chapitre 9, les paramètres caractérisant la réaction d'attachement et de détachement des Tau sur le microtubule peuvent être obtenus à partir d'expériences de co-sédimentation qui sont réalisées à l'équilibre. Ainsi il est intéressant de calculer le temps de relaxation, c'est-à-dire le temps nécessaire au système pour atteindre l'équilibre. Ce temps peut également être vu comme le temps au bout duquel la mémoire de la configuration initiale est perdue. De manière générale, le temps de relaxation τ est calculé comme suit :

$$\tau = \int_0^{\infty} R(t) dt, \quad (8.14)$$

où $R(t)$ est la fonction de relaxation définie comme :

$$R(t) = \frac{\rho(\infty) - \rho(t)}{\rho(\infty) - \rho(0)}. \quad (8.15)$$

Dans le cas général, ce temps de relaxation peut être calculé par intégration numérique à partir des valeurs pour la densité $\rho(t)$ obtenues par la méthode de Runge-Kutta. Les résultats sont présentés sur la Figure 8.5 en fonction de la constante d'équilibre k_{eq} pour $\sigma = 0$, $\sigma = 1$ et $\sigma = 3$ et $x = 0.1$, 1 et 10 . De manière générale, on constate que le temps de relaxation augmente au fur et à mesure que k_{eq} augmente et donc que le taux de remplissage du microtubule $\rho/\rho_s \equiv \rho_n$ augmente. De plus, pour des petites valeurs de k_{eq} , le temps de relaxation τ est indépendant de la taille des particules σ . Lorsque k_{eq} augmente, τ est plus élevé pour les petites particules puis la situation s'inverse pour des constantes d'équilibre très grandes ($k_{\text{eq}} \simeq 100$ pour la Figure 8.5c). Une expression analytique approchée peut être obtenue pour τ à partir de la l'approximation (8.11) pour la densité moyenne $\rho(t)$. Avec (8.11) et la condition initiale $\rho(0) = 0$, on montre que la fonction de relaxation du système $R(t)$ est donnée par :

$$R(t) = 1 - \frac{\lambda_1 [1 - e^{(\lambda_1 - \lambda_2)t}]}{\lambda_2 - \lambda_1 e^{(\lambda_1 - \lambda_2)t}}, \quad (8.16)$$

et ainsi τ s'écrit comme :

$$\tau = \frac{1}{\lambda_2} \ln \left(\frac{\lambda_1}{\lambda_1 - \lambda_2} \right) \quad (8.17)$$

Pour $x \ll 1$, on montre que le temps de relaxation est simplement donné par $\tau = \beta/(\alpha + k_{\text{eq}}^{-1})$.

Comme nous l'avons vu précédemment, l'expression (8.13) est exacte dans le cas $\sigma = 0$ ($n = 1$) mais devient une approximation dans le cas $\sigma \geq 1$ ($n \leq 1/2$) car elle basée sur

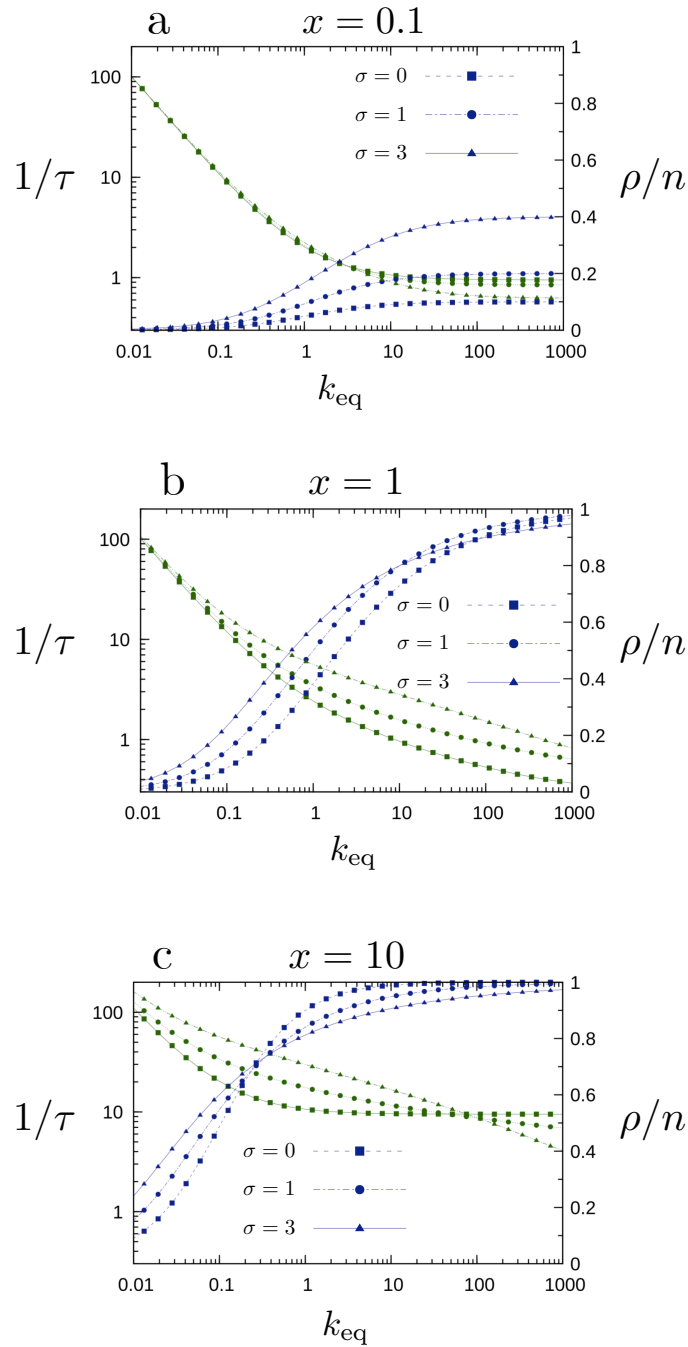


FIGURE 8.5: Vitesse de remplissage, $1/\tau$ (axe des ordonnées de gauche) et taux de remplissage à l'équilibre, $\rho/n = (1 + \sigma)\rho$ (axe des ordonnées de droite) en fonction de la constante d'équilibre k_{eq} pour des particules de taille $\sigma = 0, 1$ et 3 avec $x = 0.1$ (a), $x = 1$ (b) et $x = 10$ (c). Le temps de relaxation τ a été obtenu par intégration numérique de (8.14) où la densité $\rho(t)$ provient de la résolution numérique de (8.3) à l'aide de la fonction *ode45* sous MATLAB et la densité à l'équilibre $\rho \equiv \rho(\infty)$ est obtenue en résolvant numériquement l'équation (8.4) à l'aide de la fonction *fsolve* sous MATLAB.

la linéarisation de $\Phi(\rho, \sigma)$ donnée par l'équation (8.8). En particulier, la limite $x \ll 1$ de (8.13) donne α/β qui est égale à $2/(2 + 3\sigma)$ dans le régime haute densité qui est le plus adapté dans cette limite. Ainsi dans cette limite, l'approximation (8.13) dévie de $\simeq 33\%$ par rapport à la vraie valeur de saturation du système qui est par définition égale

à $\rho = 1/(1 + \sigma)$. Cependant, pour des situations dans lesquelles le système reste à moins de 66% de la saturation, l'approximation (8.13) demeure relativement bonne et peut donc être utilisée. Dans le cas général ($\sigma > 0$), la densité à l'équilibre est solution de l'équation suivante :

$$\rho = k_{\text{eq}} (x - \rho) \left(\frac{[1 - (1 + \sigma)\rho]^{1+\sigma}}{(1 - \rho\sigma)^\sigma} \right). \quad (8.18)$$

L'équation (8.18) peut être résolue numériquement à l'aide de la fonction *fsolve* sous MATLAB. Une autre manière de déterminer la densité à l'équilibre est de simuler la dynamique de décoration d'une chaîne linéaire constituée de N sites par une population de M protéines Tau. À chaque pas de temps, on détermine $n(t)$, le nombre de Tau présents sur la chaîne. Au bout d'un certain temps t_{eq} , le processus atteint un état d'équilibre dans lequel $n(t)$ devient constant, c'est-à-dire que $|n(t+1) - n(t)| \ll 1$. On calcule ensuite n_{eq} comme étant la moyenne des valeurs de $n(t)$ obtenues entre ce temps t_{eq} et le temps final de simulation du processus t_f . On simule le processus N_{conf} fois et la densité moyenne à l'équilibre est calculée comme suit

$$\rho = \frac{1}{N_{\text{conf}}} \sum_{i=1}^{N_{\text{conf}}} n_{\text{eq},i}. \quad (8.19)$$

Sur la Figure 8.6, les résultats pour la densité à l'équilibre dans le cas $\sigma = 1$ ($n = 1/2$) avec $k_{\text{eq}} = 0.1, 1$ et 10 obtenus par résolution numérique de l'équation (8.18) sont comparés avec ceux obtenus par simulation Monte Carlo avec $N_{\text{conf}} = 10^4$ configurations et on constate qu'ils se superposent parfaitement. Pour une constante d'équilibre donnée, la densité tend vers la bonne valeur de saturation $\rho = n = 1/2$ pour $x \gg 1$ ($M \gg N$) contrairement à celle donnée de l'approximation (8.13).

Saturation du microtubule et effet de taille finie

La probabilité d'insertion $\Phi(\rho, \sigma)$ donnée par (8.7) a été dérivée par McGhee et von Hippel [145] dans la limite $N \rightarrow +\infty$ (voir Annexe B). Ainsi, la condition $\Phi(\rho_s, \sigma) = 0$ donne la densité de saturation du microtubule $\rho_s = 1/(1 + \sigma)$ dans la limite d'une chaîne infinie. Dans le cas où N est un nombre fini, la densité dépend du nombre de N . Chaque particule couvre $(1 + \sigma)$ sites et ainsi, le nombre maximal de particules que peut accueillir le microtubule est donnée par $[N/(1 + \sigma)]$ où $[x]$ représente la fonction partie entière de x . La densité de saturation est alors donnée par :

$$\rho_s = \frac{1}{N} \left[\frac{N}{1 + \sigma} \right] \xrightarrow{N \rightarrow +\infty} \frac{1}{1 + \sigma} \quad (8.20)$$

La densité de saturation du réseau peut également être déterminée à partir des simulations Monte-Carlo pour un jeu de paramètres $k_{\text{eq}} \gg 1$ et $x \gg 1$. Les résultats provenant de la simulation sont comparés avec l'expression (8.20) sur la Figure 8.7 en fonction de N . On constate que les résultats numériques et théoriques sont en excellent accord et on a bien $\rho_s = 0$ pour $N < 1 + \sigma$ et $\rho_s = 1/(1 + \sigma)$ pour $N \gg 1$. Pour $N = 50$ sites et $\sigma = 2$, la

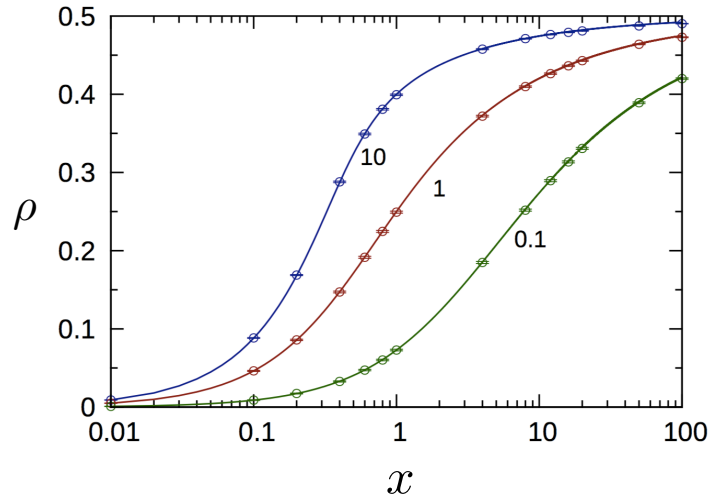


FIGURE 8.6: Densité de Tau attachées à l'équilibre en fonction du ratio $x = M/N$ pour $\sigma = 1$ avec $k_{\text{eq}} = 0.1$ (en vert), 1 (en rouge) et 10 (en bleu). Les lignes courbes continues correspondent aux solutions numériques de l'équation (8.18) obtenues à l'aide de la fonction *fsolve* sous MATLAB. Les points proviennent de la simulation Monte Carlo de la décoration d'une chaîne linéaire constituée de $N = 100$ sites avec $N_{\text{conf}} = 10^4$ configurations pour la statistique.

densité de saturation est égale à $\rho_s = 0.32$ soit un écart de 4% par rapport à la valeur $\rho_s = 1/3$ pour une chaîne infinie. Cet écart devient de plus en plus petit au fur et à mesure que N augmente et pour $N = 100$ sites, l'écart est de seulement 1%.

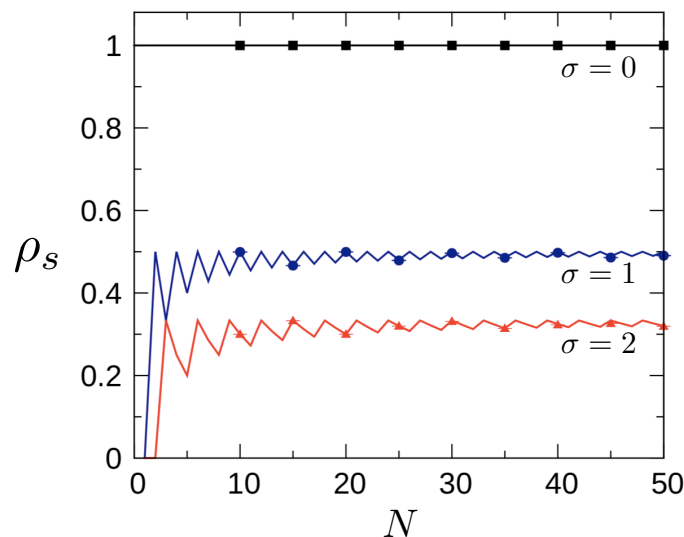


FIGURE 8.7: Densité maximale (saturation) en fonction de N , le nombre de sites constituant le réseau unidimensionnel pour des particules de taille $\sigma = 0$, $\sigma = 1$ et $\sigma = 2$. Les points correspondent aux résultats provenant de la simulation Monte-Carlo et les lignes continues correspondent à l'expression (8.20).

8.4.2 Distribution des plus proches voisins

La distribution moyenne des plus proches voisins est dérivée en Annexe B.1 et s'exprime en fonction de la densité comme suit :

$$P(r) = \frac{\rho}{1 - \rho\sigma} \left(\frac{1 - (1 + \sigma)\rho}{1 - \rho\sigma} \right)^{r-(1+\sigma)}, \quad (\sigma, r) \in \mathbb{N}, \quad (8.21)$$

où r représente la distance centre à centre entre 2 Tau plus proches voisins (Figure 8.1b). La distance moyenne séparant 2 Tau plus proches voisins est calculée à partir de l'équation (8.21) comme suit :

$$\langle r \rangle = \sum_{r=0}^{+\infty} r P(r) = \frac{1}{\rho}. \quad (8.22)$$

La distribution $P(r)$ en (8.21) est exponentielle pour $\rho < n$ et à saturation, c'est-à-dire lorsque $\rho = n = 1/(1 + \sigma)$, la distribution est une delta centrée en $r = 1 + \sigma$: $P(r) = \delta_{r-(1+\sigma)}$. Sur la Figure 8.8, l'approche vers la situation de saturation est représentée à travers $P(r)$ pour des particules de taille $\sigma = 1$ ($n = 1/2$) avec 4 différentes densités : $\rho = 0.2$, $\rho = 0.4$, $\rho = 0.45$ et $\rho = 0.5$.

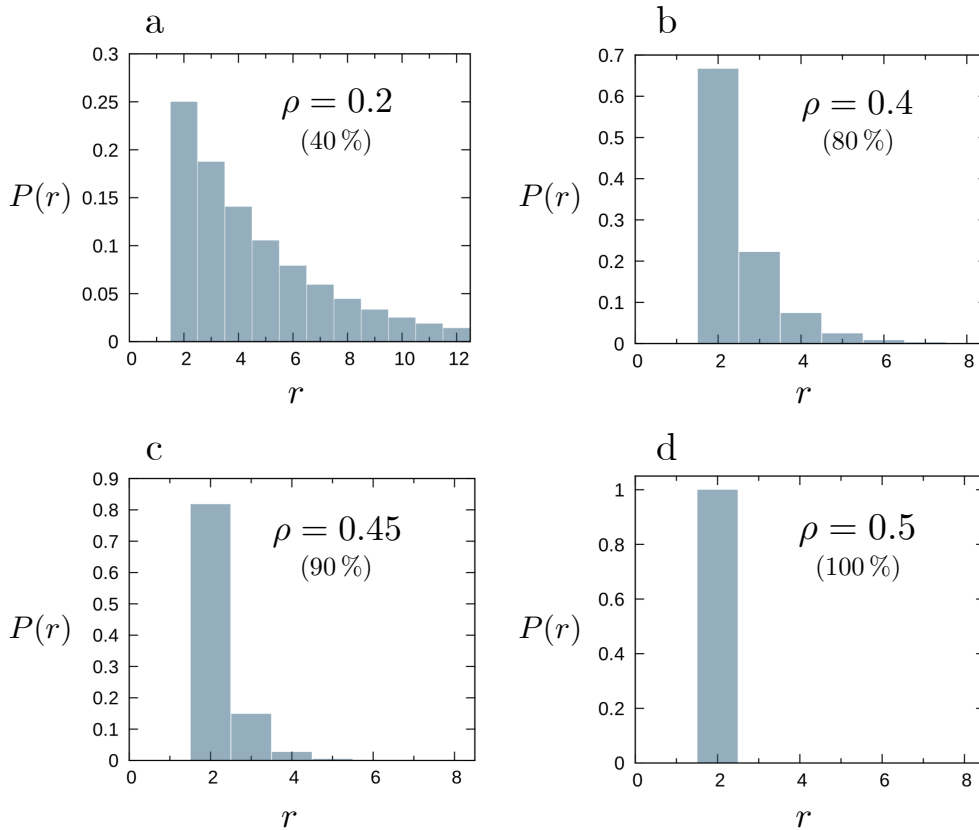


FIGURE 8.8: Distribution des plus proches voisins $P(r)$ donnée par l'équation (8.21) pour un réseau décoré par des particules de taille $\sigma = 1$ ($n = 1/2$) à la densité $\rho = 0.2$ (a), 0.4 (b), 0.45 (c) et 0.5 (d).

8.5 Généralisation au cas polydisperse

8.5.1 Équations d'évolution des densités de Tau attachées

Le modèle présenté dans la section 8.2 peut être généralisé au cas polydisperse dans lequel il existe plusieurs types de protéines qui suivent une réaction d'attachement et de détachement sur un même réseau unidimensionnel composé de N sites d'attachement. On suppose qu'il existe m types de protéines Tau différentes qui sont en compétition. Dans ce cas, le nombre moyen de particules attachées de type i , n_i est décrit par le système suivant :

$$\frac{dn_i}{dt} = k_{\text{on},i} \left(M - \sum_{i=1}^m n_i \right) \Phi_i(n_1, n_2, \dots, n_m) - k_{\text{off},i} n_i, \quad i \in [1, m], \quad (8.23)$$

où $k_{\text{on},i}$ et $k_{\text{off},i}$ sont les taux d'attachement et de détachement associés aux particules de type i , M représente le nombre total de particules et $\Phi_i(n_1, n_2, \dots, n_m)$ représente la probabilité d'insertion d'une particule de type i sur un réseau sur lequel se trouve déjà n_1, n_2, \dots, n_m particules respectivement de type 1, 2, ..., m . En divisant l'équation (8.23) par N , le nombre total de sites d'attachement, on obtient :

$$\frac{d\rho_i}{dt} = k_{\text{on},i} (x - \rho) \Phi_i(\rho_1, \rho_2, \dots, \rho_m) - k_{\text{off},i} \rho_i, \quad i \in [1, m], \quad (8.24)$$

où ρ_i représente la densité de particules attachées de type i , $\rho = \sum_{j=1}^m \rho_j$ correspond à la densité totale de particules attachées et $x = M/N$ correspond au ratio entre le nombre total de particules et le nombre total de sites composant le réseau. L'expression pour la probabilité d'insertion $\Phi(\rho_1, \rho_2, \dots, \rho_m)$ est dérivée en Annexe B.1 et est donnée par :

$$\Phi_i(\rho_1, \rho_2, \dots, \rho_m) = \frac{(1 - \sum_{j=1}^m (1 + \sigma_j) \rho_j)^{1+\sigma_i}}{(1 - \sum_{j=1}^m \sigma_j \rho_j)^{\sigma_i}}. \quad (8.25)$$

La condition $\Phi_i(\rho_1, \rho_2, \dots, \rho_m) = 0$ dans l'équation (8.25) donne la relation suivante pour les densités à saturation :

$$1 - \sum_{j=1}^m (1 + \sigma_j) \rho_j = 0. \quad (8.26)$$

Ainsi, la saturation du système dans le cas polydisperse n'est pas caractérisée par un unique jeu de densités $\rho_1, \rho_2, \dots, \rho_m$. À l'équilibre, $d\rho_i/dt = 0$ et le système (8.24) devient :

$$\rho_i = k_{\text{eq},i} (x - \rho) \Phi_i(\rho_1, \rho_2, \dots, \rho_m), \quad i \in [1, m], \quad (8.27)$$

où $k_{\text{eq},i}$ est la constante d'équilibre des particules de type i .

8.5.2 Cas particulier $\sigma_0 = \sigma_1 = \dots = \sigma_m$

Dans le cas particulier où les particules ont toutes une stœchiométrie $n = 1$, c'est-à-dire pour $\sigma_1 = \sigma_2 = \dots = \sigma_m = 0$, la probabilité d'insertion donnée par (8.25) devient :

$$\Phi_i(\rho_i, \rho_1, \rho_2, \dots, \rho_m) = 1 - \sum_{j=1}^m \rho_j \equiv 1 - \rho. \quad (8.28)$$

Dans ce cas particulier, l'équation (8.27) sommée sur tous les types de particules se réduit à l'équation suivante pour la densité totale ρ :

$$\rho = k_{\text{eq}} (x - \rho) (1 - \rho) \quad \text{avec} \quad k_{\text{eq}} = \sum_{i=1}^m k_{\text{eq},i}. \quad (8.29)$$

La solution de (8.29) est donnée par :

$$\rho = \frac{1}{2} \left[(1 + k_{\text{eq}}^{-1} + x) - \sqrt{(1 + k_{\text{eq}}^{-1} + x)^2 - 4x} \right] \quad (8.30)$$

Connaissant la densité totale ρ , dans ce cas particulier, il est possible de déterminer la densité de particules attachées de type i comme suit :

$$\rho_i = \left(\frac{k_{\text{eq},i}}{k_{\text{eq}}} \right) \rho = \frac{1}{2} \left(\frac{k_{\text{eq},i}}{k_{\text{eq}}} \right) \left[(1 + k_{\text{eq}}^{-1} + x) - \sqrt{(1 + k_{\text{eq}}^{-1} + x)^2 - 4x} \right], \quad i \in [1, m]. \quad (8.31)$$

Dans le cas où les particules n'ont pas toutes une stœchiométrie $n = 1$, le système (8.27) doit être résolu numériquement.

8.5.3 Distribution des plus proches voisins

Dans le cas polydisperse, la distribution des plus proches voisins est donnée par :

$$P(r) = \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^m z_i z_j P_{i,j}(r), \quad (8.32)$$

où z_i et z_j représentent les fractions de Tau respectivement de type i et de type j présents sur le réseau et sont données par :

$$z_i = \frac{\rho_i}{\sum_{k=1}^m \rho_k} \quad \text{et} \quad z_j = \frac{\rho_j}{\sum_{k=1}^m \rho_k}, \quad (8.33)$$

et $P_{i,j}(r)$ représente la distribution des plus proches voisins entre un Tau de type i et un Tau de type j . La distribution partielle $P_{i,j}(r)$ est dérivée en Annexe B.2.3 et s'exprime comme suit :

$$P_{i,j}(r) = \frac{\rho}{1 - \sum_k \sigma_k \rho_k} \left(\frac{1 - \sum_k (1 + \sigma_k) \rho_k}{1 - \sum_k \sigma_k \rho_k} \right)^{r-r_{i,j}}, \quad \rho = \sum_{k=1}^m \rho_k, \quad (8.34)$$

8.5 Généralisation au cas polydisperse

où $r_{i,j} = 1 + (\sigma_i + \sigma_j)/2$ représente la plus petite distance centre à centre entre une particule de type i et une particule de type j . La distance moyenne séparant 2 Tau est donnée par :

$$\langle r \rangle = \frac{1 - \sum_{k=1}^m (1 + \sigma_k) \rho_k}{\rho} + \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^m z_i z_j r_{i,j}. \quad (8.35)$$

Résumé du chapitre 8 : Décoration d'un microtubule par Tau : Modèle unidimensionnel

1. L'objectif de ce chapitre était de caractériser la décoration d'un microtubule stabilisé par une population de protéines Tau en termes de : (i) densité moyenne de Tau présents sur le microtubule et (ii) distribution spatiale à la surface du microtubule.
2. Dans ce modèle, on suppose que les protéines Tau s'attachent exclusivement à la surface du microtubule de manière longitudinale. Une fois sur le microtubule, chaque protéine Tau couvre $(1 + \sigma)$ sites consécutifs le long d'un protofilament et ainsi du point de vue de l'attachement des Tau, les protofilaments peuvent être considérés comme indépendants et on peut réduire le système à un problème unidimensionnel. On considère donc le problème de décoration d'une chaîne linéaire constituée de N sites d'attachement par une population de M protéines Tau. La cinétique est contrôlée par les taux k_{on} et k_{off} respectivement pour l'attachement et le détachement.
3. La densité moyenne de Tau présents sur le microtubule à l'équilibre et la distribution des plus proches voisins qui caractérisent la décoration du microtubule sont fonction de la stoechiométrie des Tau $n = 1/(1 + \sigma)$, de la constante de dissociation $K_d = [N] k_{\text{eq}} = [N] \times (k_{\text{on}}/k_{\text{off}})$ et du ratio $x = [M]/[N]$ où $[M]$ et $[N]$ représentent respectivement la concentration totale de protéines Tau et de microtubules polymérisés dans la solution.
4. À l'équilibre, la densité moyenne de Tau présents sur le microtubule est solution de l'équation :

$$\rho = k_{\text{eq}} (x - \rho) \left(\frac{[1 - (1 + \sigma)\rho]^{1+\sigma}}{(1 - \rho\sigma)^\sigma} \right), \quad (8.36)$$

et la distribution moyenne des plus proches voisins est de type exponentiel et s'exprime en fonction de la densité comme suit :

$$P(r) = \frac{\rho}{1 - \rho\sigma} \left(\frac{1 - (1 + \sigma)\rho}{1 - \rho\sigma} \right)^{r-(1+\sigma)}, \quad (8.37)$$

Chapitre 9

Détermination des paramètres de l'interaction ligand-macromolécule

L'objectif de ce chapitre est de présenter la méthode standard et de développer de nouvelles méthodes basées sur les résultats du chapitre 8 permettant d'extraire les paramètres caractérisant des interactions de type ligand-macromolécule comme par exemple l'interaction Tau-microtubule à partir des données d'expériences de co-sédimentation à l'équilibre. Les paramètres en question sont la stœchiométrie n qui est liée au nombre de sites d'attachement sur la macromolécule occupés par le ligand et la constante de dissociation K_d qui est liée à l'affinité du ligand pour la macromolécule.

Sommaire

9.1	Introduction	132
9.2	Détermination des paramètres de l'interaction Ligand-Macromolécule	133
9.3	Correction des paramètres provenant de l'équation standard	141

9.1 Introduction

Les interactions de type ligand-macromolécule jouent un rôle essentiel dans la régulation, la modulation et la transmission de signaux de nombreux processus biologiques [150, 151, 152]. Par exemple, dans le contexte des neurones, la protéine Tau et MAP2 sont des ligands qui peuvent tous les deux se lier aux microtubules et aux filaments d'actine [81] jouent un rôle important dans l'organisation spatiale du réseau de microtubules et des filaments d'actine au sein de l'axone et des dendrites [28] et sont également impliqués dans la régulation du transport axonal [21, 23, 22]. Dans les systèmes vivants, les ligands se lient généralement de manière réversible au récepteur via des liaisons ioniques, liaisons hydrogènes ou bien des forces van der Waals [151]. Ce type de réaction est classiquement caractérisé par au moins deux paramètres : (i) la constante de dissociation K_d liée à l'affinité du ligand pour la macromolécule et (ii) la stœchiométrie n qui correspond au nombre de ligands par site d'attachement sur la macromolécule. Pour une macromolécule constituée de M sites équivalents pour le ligand L , la constante de dissociation pour une réaction bi-moléculaire réversible est donnée par $K_d = ([M_{\text{free}}][L_{\text{free}}])/[L_{\text{bound}}]$ [153, 154] où $[M_{\text{free}}]$ représente la concentration de sites libres et $[L_{\text{free}}]$ et $[L_{\text{bound}}]$ représentent respectivement la concentration de ligands libres et attachés.

Il existe plusieurs type d'expériences permettant de déterminer les paramètres n et K_d tels que les expériences de calorimétrie isotherme (*Isothermal Titration Calorimetry*) [131], ou de co-sédimentation à l'équilibre [89]. Ces expériences sont réalisées soit en gardant constante la concentration de macromolécules $[M_{\text{tot}}]$ et en variant progressivement la concentration totale de ligands $[L_{\text{tot}}]$ (LvMc) ou bien soit en fixant la concentration de ligands $[L_{\text{tot}}]$ et en variant la concentration totale de macromolécules $[M_{\text{tot}}]$ (LcMv) [154, 155]. Dans chacun des cas, la concentration de ligands attachés sur la macromolécule $[L_{\text{bound}}]$ est mesurée en fonction de la concentration de l'espèce qui varie, c'est-à-dire le ligand dans l'approche LvMc et la macromolécule dans l'approche LcMv. Dans l'approche LvMc, la concentration de macromolécules étant constante, la quantité adimensionnelle digne d'intérêt est $\rho = [L_{\text{bound}}]/[M_{\text{tot}}]$ représentant la densité de ligands attachés sur la macromolécule tandis que dans l'approche LcMv, la quantité $\theta = [L_{\text{bound}}]/[L_{\text{tot}}]$ représentant la fraction de ligands qui sont attachés parmi tous les ligands est calculée. Les équations utilisées dans la littérature pour ajuster les données de co-sédimentation à l'équilibre dans les deux approches sont données par :

$$\left\{ \begin{array}{l} \rho = \frac{n [L_{\text{free}}]}{K_d + [L_{\text{free}}]} \quad \text{Approche LvMc} , \\ \theta = \frac{[M_{\text{free}}]}{K_d + [M_{\text{free}}]} \quad \text{Approche LcMv} . \end{array} \right. \quad (9.1) \quad (9.2)$$

On constate que seule l'équation (9.1) pour la densité ρ dans l'approche LvMc dépend explicitement des deux paramètres n et K_d . De plus, les expressions pour ρ et θ sont fonction des concentrations de ligands libres et de macromolécules libres dans respectivement les approches LvMc et LcMv, qui ne sont pas fixées à l'avance mais au contraire évoluent

9.2 Détermination des paramètres de l'interaction Ligand-Macromolécule

au cours de l'expérience. L'objectif principal de ce chapitre est de dériver des expressions pour ρ et θ en fonction des paramètres n et K_d , de $[M_{\text{tot}}]$ pour l'approche LvMc et de $[L_{\text{tot}}]$ pour l'approche LcMv. Le reste du chapitre est organisé comme suit : dans la section 8.2, des équations implicites exactes pour ρ et θ sont dérivées en fonction de n et K_d et des concentrations constantes de la réaction pour l'approche LvMc et LcMv. Dans la section 8.3, l'approche LvMc sera étudiée plus en détail et une méthode alternative permettant de corriger les paramètres n et K_d issus de l'équation standard (9.1) sera présentée.

9.2 Détermination des paramètres de l'interaction Ligand-Macromolécule

Résumé

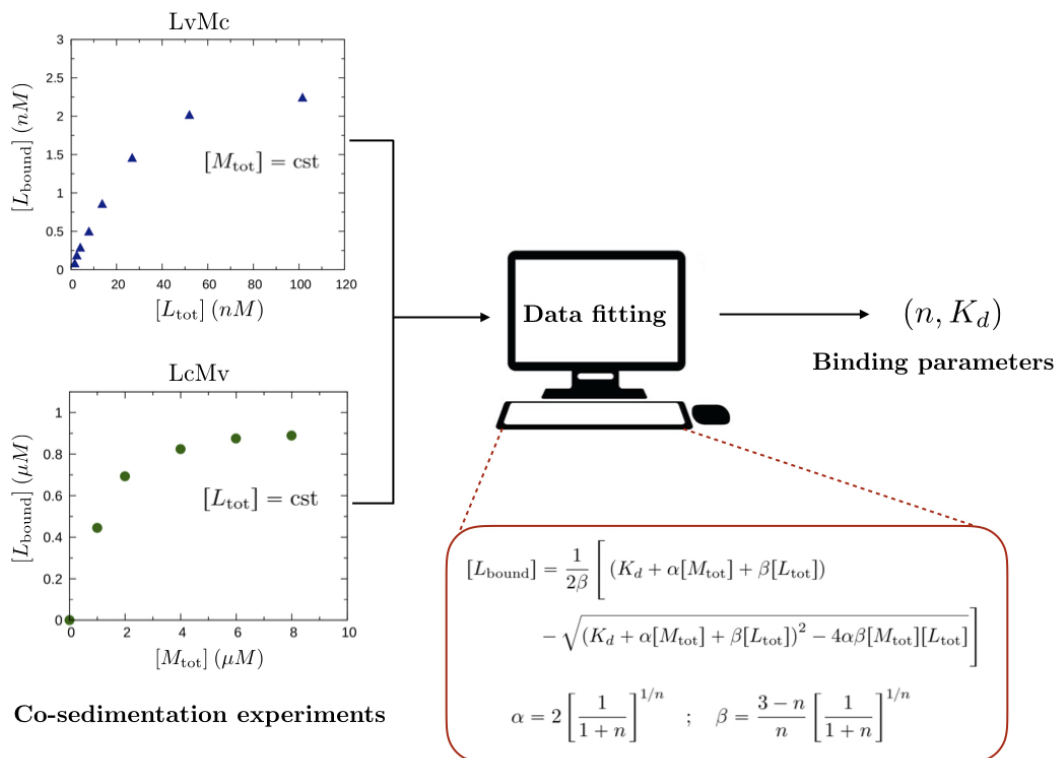


FIGURE 9.1: Résumé graphique de l'article *Determining the binding parameters from co-sedimentation assays*.

La stoechiométrie n et la constante de dissociation K_d sont les deux paramètres clés caractérisant les interactions de type ligand-macromolécule. Le but de cette étude était de dériver des expressions analytiques simples qui puissent être utilisées afin de déterminer n et K_d à partir de données provenant d'expériences de co-sédimentation à l'équilibre. Deux approches expérimentales sont possibles, la première consiste à varier progressivement la concentration totale de ligands en gardant constante la concentration de macromolécules (LvMc) et la seconde consiste à fixer la concentration de ligands en variant la concentration de macromolécules (LcMv). Dans la première approche, la quantité mesurée est

la densité ρ de ligands attachés sur la macromolécule tandis que dans la seconde, la quantité d'intérêt est la fraction θ de ligands qui sont attachés parmi tous les ligands. Des expressions analytiques pour ρ et θ ont été dérivées en fonction des paramètres n et K_d , de la concentration totale de macromolécules pour l'approche LvMc et de la concentration totale de ligands pour l'approche LcMv. Les résultats théoriques ont ensuite été comparés avec les résultats provenant des simulations Monte-Carlo des expériences de co-sédimentation. Nous avons montré que l'équation standard qui est fréquemment utilisée dans la littérature s'avère être une mauvaise approximation pour des stœchiométries différentes de 1 et nous avons développé des approximations pour ρ et θ qui reproduisent mieux les résultats des simulations. Pour des besoins d'illustration, ces approximations ont ensuite été utilisées sur des résultats de co-sédimentation pour la réaction entre les protéines Tau et un microtubule stabilisé (en l'absence d'instabilité dynamique) et pour la réaction entre le dihydroroténone ($C_{23}H_{24}O_6$) et le NADH déshydrogénase. L'article joint ci-dessous a été soumis à *Journal of Molecular Biology* (JMB_2018_517) sous le titre *Determining the binding parameters from co-sedimentation assays*.

Determining the binding parameters from co-sedimentation assays

Jordan Hervy^{a,b}, Dominique J. Bicout^{a,c,*}

^a*Institut Laue-Langevin, 71 Avenue des Martyrs, 38042 Grenoble, France*

^b*Laboratory of Physics and Modelling of Condensed Matter, Grenoble Alpes University, CNRS, Grenoble, France*

^c*EPSP, TIMC Laboratory, UMR CNRS 5525 Grenoble Alpes University, VetAgro Sup, France*

Abstract

The stoichiometry n and the dissociation constant K_d are key binding parameters characterizing the ligand-macromolecule interactions and equilibria. Equilibrium co-sedimentation experiments are performed in varying the concentration of one of the reactant while keeping constant that of the other reactant. The measured quantity is the density ρ (fraction θ) of bound ligands when the ligand concentration is varying (kept constant) while that of macromolecules is kept constant (varying). We have derived general expressions for ρ and θ and subsequently showed that they are in perfect agreement with simulations of binding reactions. Approximations have been developed to derive mathematical simple analytical expressions for ρ and θ that can be used to fit the experimental data and thus extract, n and K_d . The method usefulness is illustrated and demonstrated by fitting the data from the literature using the derived formulas to determine the binding parameters.

Keywords: protein-ligand-binding equilibria, binding stoichiometry, dissociation constant

1. Introduction

Binding of ligands to macromolecules is central to many functional and regulatory biological processes such as signal transmission, intracellular transport, cytoskeletal organization and dynamics [1, 2, 3]. When studying ligand-macromolecule interactions and equilibria, the key parameters characterizing the binding reaction are: the binding stoichiometry n of the reactants, i.e., the number of ligands per macromolecule binding site, and the dissociation constant, K_d where $1/K_d$ quantifies the ligand-macromolecule affinity. In this paper, we advocate that both n and K_d for ligands reversibly binding on a macromolecule with multiple binding sites for the ligand can be determined from equilibrium co-sedimentation assays.

Indeed, for a macromolecule consisting of equivalent noninteracting sites for a ligand, the dissociation constant for the reversible bimolecular binding reaction [4, 5] is given by,

$$K_d = \frac{[M_{\text{free}}][L_{\text{free}}]}{[L_{\text{bound}}]}, \quad (1)$$

where $[M_{\text{free}}]$ is the total concentration of free ligand binding sites over all macromolecules and, $[L_{\text{free}}]$ and $[L_{\text{bound}}]$ are the concentration of free and bound ligands, respectively, with $[L_{\text{tot}}] = [L_{\text{free}}] + [L_{\text{bound}}]$, the total ligand concentration. In equilibrium co-sedimentation experiments one determines the reaction progress (here, $[L_{\text{bound}}]$) as a function of the concentration of one of the reactant ($[M_{\text{free}}]$)

or $[L_{\text{free}}]$). The task consists of running the binding experiment by varying the total concentration of one of the reactant while keeping constant the total concentration of the other reactant (see Ref.[5, 6] for more details related to the experimental methods). In this context, the choice of which reactant is varied or kept constant leads to two alternatives: the "ligand constant and macromolecule varying" approach (thereafter referred as, LcMv) and the "ligand varying and macromolecule constant" one (thereafter referred as, LvMc).

In the LcMv approach, where the aim is to minimize ligand-ligand interactions, the binding experiments are performed by varying the total concentration of ligand sites $[M_{\text{tot}}]$ (macromolecule) in the sample while keeping constant the total ligand concentration $[L_{\text{tot}}]$ (usually chosen smaller than $[M_{\text{tot}}]$). In such experiments, the measured quantity of interest is the fraction, $\theta = [L_{\text{bound}}]/[L_{\text{tot}}]$, of bound ligands expressed as a function of the varying reactant $[M_{\text{free}}]$. Using the expression of K_d above allows to write θ as a function of $[M_{\text{free}}]$ as,

$$\theta = \frac{[M_{\text{free}}]}{K_d + [M_{\text{free}}]}, \quad (2)$$

i.e., θ only depends on $[M_{\text{free}}]$ and K_d but does not explicitly depend on n . When $[M_{\text{free}}]$ can be directly measured or known by other means, Eq.(2) represents the saturable binding that can be used to fit the experimental data and determine solely K_d as was done, for example, in Ref.[7]. The saturation $\theta \rightarrow 1$ occurs in the high $[M_{\text{free}}]$ limit and $\theta = 1/2$ at $[M_{\text{free}}] = K_d$, i.e., K_d is the concentration of free macromolecules at which on average 50% ligands are

*Corresponding author

Email address: bicout@ill.fr (Dominique J. Bicout)

bound (or free).

In the alternative LvMc approach, the binding experiments are performed by varying the total ligand concentration $[L_{\text{tot}}]$ in the sample while keeping constant the total concentration of ligand binding sites $[M_{\text{tot}}]$ (macromolecule). In this case, the quantity of interest is the macromolecule coverage, $\rho = [L_{\text{bound}}]/[M_{\text{tot}}]$, or density of bound ligands. Reversing the K_d gives ρ as,

$$\rho = \left(\frac{[L_{\text{free}}]}{K_d} \right) \times \left(\frac{[M_{\text{free}}]}{[M_{\text{tot}}]} \right), \quad (3)$$

where, although still not explicitly depending on n , ρ depends not only on varying reactant $[L_{\text{free}}]$ and K_d but also on $[M_{\text{free}}]$ and $[M_{\text{tot}}]$. To obtain an expression of ρ that is equivalent to that of θ in Eq.(2) requires writing $[M_{\text{free}}]$ as a function of ρ . Anticipating the results outlined below, $[M_{\text{free}}]$ can be approximated as in Eq.(15) such that Eq.(3) can be rewritten as,

$$\rho = \frac{n[L_{\text{free}}]}{K_d + [L_{\text{free}}]}. \quad (4)$$

Now, ρ only depends on the varying reactant $[L_{\text{free}}]$ and K_d and, in addition, it explicitly depends on n . Likewise, Eq.(4) represents the standard binding equation that can be used to fit the experimental data and determine both n and K_d like in saturation experiments [8, 9]. The saturation $\rho \rightarrow n$ occurs in the high $[L_{\text{free}}]$ limit and $\rho = n/2$ at $[L_{\text{free}}] = K_d$, i.e., K_d is the concentration of free ligands at which on average 50% of binding sites (on macromolecules) are occupied by (or free of) ligands.

Both θ and ρ rely on free reactant concentrations $[M_{\text{free}}]$ and $[L_{\text{free}}]$, respectively, which can not be defined and controlled *a priori* and whose measurement may turn to be challenging and approximate. In this work, our aim is (i) - to derive general expressions for θ and ρ as a function of the total concentrations $[M_{\text{tot}}]$ and $[L_{\text{tot}}]$ (which can be defined without ambiguity), and of n and K_d , and (ii) - to develop approximations for θ and ρ that can be used for fitting experimental data and determining the binding parameters.

The remaining of the paper is organized as follows. The general expressions for θ and ρ as functions of quantities of interest are derived in Section 2. Section 3 is devoted to simulations of binding experiments and comparison of simulations with expressions derived in Section 2. In Section 4, approximate analytical expressions for θ and ρ are developed, and the usefulness of the derived formulas to fitting the data is illustrated in Section 5. Finally, the results are summarized in Section 6.

2. General expressions

Clearly, θ and ρ carry two related and complementary information on the same quantity of interest that is $[L_{\text{bound}}]$ accessible from the two approaches of co-sedimentation experiments: θ provides the proportion of all ligands that

are bound on macromolecules while ρ informs on how macromolecules are covered by bound ligands. By definition of θ and ρ , we have:

$$\frac{\theta}{\rho} = \frac{[M_{\text{tot}}]}{[L_{\text{tot}}]} = z, \quad (5)$$

where z can be considered and used as the progression variable in both LcMv to LcMv approaches. Inspection of Eqs.(2) and (3) indicates that to get rid of $[M_{\text{free}}]$ and derive a general expression for $[L_{\text{bound}}]$ as a function of $[M_{\text{tot}}]$ and $[L_{\text{tot}}]$, one has to work out an expression relating $[M_{\text{free}}]$ with $[L_{\text{bound}}]$. Following Ref.[10], $[M_{\text{free}}]$ can formally be expressed as,

$$[M_{\text{free}}] = [M_{\text{tot}}] \times \Phi(\rho|n), \quad (6)$$

where $\Phi(\rho|n)$ is defined as the probability for inserting an additional ligand, with stoichiometry of n , onto a macromolecule already covered with a distribution of ligands at density ρ . $\Phi(\rho|n)$ depends on the system under consideration and satisfies, by construction, the criteria: $\Phi(\rho = 0|n) = 1$ for an empty macromolecule (i.e., $[L_{\text{bound}}] = 0$) and $\Phi(\rho = n|n) = 0$ at the saturation density $\rho = n$ (i.e., all the macromolecule binding sites are occupied by ligands).

Using Eq.(6) back into Eq.(1) and solving for $[L_{\text{bound}}]$ leads to,

$$[L_{\text{bound}}] = \frac{[L_{\text{tot}}][M_{\text{tot}}]\Phi}{K_d + [M_{\text{tot}}]\Phi}; \quad \Phi \equiv \Phi(\rho|n), \quad (7)$$

that, for θ and ρ , reads as,

$$\begin{cases} \theta = zq_{\text{eq}}\Phi / [1 + zq_{\text{eq}}\Phi] & ; \quad \text{LcMv} \\ \rho = k_{\text{eq}}\Phi / [z(1 + k_{\text{eq}}\Phi)] & ; \quad \text{LvMc} \end{cases} \quad (8)$$

where we have defined the dimensionless equilibrium constants $k_{\text{eq}} = [M_{\text{tot}}]/K_d$ and $q_{\text{eq}} = [L_{\text{tot}}]/K_d$ for LvMc and LcMv approaches, respectively, and such that $k_{\text{eq}} = zq_{\text{eq}}$. As a check, $[L_{\text{bound}}] = 0$ for $[M_{\text{tot}}] = 0$ or $[L_{\text{tot}}] = 0$ (i.e., $\theta(z = 0) = 0$ and $\rho(z \rightarrow \infty) = 0$), $[L_{\text{bound}}] = [L_{\text{tot}}]$ in the $[M_{\text{tot}}] \rightarrow \infty$ limit (i.e., $\theta(z \rightarrow \infty) = 1$), and the saturation $[L_{\text{bound}}] = n[M_{\text{tot}}]$ in the opposite $[L_{\text{tot}}] \rightarrow \infty$ (i.e., $\rho(z \rightarrow 0) = n$).

Eq.(7) shows that $[L_{\text{bound}}]$, and therefore θ and ρ , is only function of $[L_{\text{tot}}]$, $[M_{\text{tot}}]$, n and K_d . To specify $\Phi(\rho|n)$, we consider the system of large ligands binding on macromolecules where a macromolecule is treated as a homogeneous one-dimensional lattice of identical and independent binding sites of zero size, and a ligand molecule of size σ (positive integer) is assumed to bind to the lattice covering $1 + \sigma$ consecutive lattice sites (i.e., make inaccessible to another ligand); partial, overlapping nor stacked binding are not allowed [10]. By definition, the stoichiometry, i.e., the number of ligand per binding site, for this system is given by, $n = 1/(1 + \sigma)$. For such a system, the expression of $\Phi(\rho|n)$ was derived by McGhee and von Hippel [11] as,

$$\Phi(\rho|n) = \frac{[1 - \rho/n]^{1/n}}{[1 + (1 - 1/n)\rho]^{-1+1/n}}. \quad (9)$$

This function satisfies the aforementioned criteria and, $\Phi(\rho|n = 1) = 1 - \rho$.

In summary, as desired, Eqs.(7) and (8), with $\Phi(\rho|n)$ given in Eq.(9), provides the (implicit) general expressions for $[L_{\text{bound}}]$, θ and ρ as a function of $z = [M_{\text{tot}}]/[L_{\text{tot}}]$ and n and K_d . To go further, we will compare the output of Eqs.(7) and (8), with simulations of binding reactions.

3. Simulations of Co-sedimentation experiments

To simulate numerical binding experiments, we consider a system of L non-interacting ligands in total, each of size σ , interacting with a one-dimensional macromolecule consisting of M consecutive binding sites (of size zero each). With the rate $k_{\text{on}}M_f$ (with M_f denoting the number of free binding sites), each single free ligand may attach onto the macromolecule by covering $\sigma + 1$ consecutive binding sites, and a bound ligand may detach with the rate k_{off} leaving unoccupied $\sigma + 1$ consecutive binding sites. The dynamics of the reversible binding reaction as described by the time evolution of bound ligands L_b is given by the kinetic equation,

$$\frac{dL_b}{dt} = -k_{\text{off}}L_b + k_{\text{on}}M_f \times (L - L_b) . \quad (10)$$

At the equilibrium, $dL_b/dt = 0$, one recovers Eq.(1),

$$\frac{k_{\text{off}}}{k_{\text{on}}} = \frac{M_f \times (L - L_b)}{L_b} = K_d . \quad (11)$$

In simulations, the binding dynamics consists of running several long trajectories according to Eq.(10) and computing the ensemble average of the number of bound ligands $\langle L_b \rangle$. For each trajectory, i , at each (unitless) time t , the system consists of $L_{b,i}(t)$ bound ligands (i.e., $(\sigma + 1)L_{b,i}(t)$ binding sites occupied on the macromolecule) and $L - L_{b,i}(t)$ free ligands. Each trajectory starts at $t = 0$ with $L_{b,i}(0) = 0$. At each time step (in unit of Δt), the updated number $L_{b,i}(t + 1)$ of bound ligands at time $t + 1$ is generated according to the attachment-detachment process of ligands as:

$$L_{b,i}(t + 1) = NL + RL , \quad (12)$$

where NL is the number of newly attached ligands and RL the number of ligands remaining attached. NL and RL are obtained as follows:

- *attachment process*:

- each of the $L - L_{b,i}(t)$ free ligands can potentially attach onto the macromolecule (consisting of $M_f(t)$ free binding sites) with the probability, $p_{\text{on}} = 1 - \exp\{-k_{\text{on}}M_f\Delta t\}$, such that the total number of candidate ligands susceptible to attaching on the macromolecule is, NL_1

- next, given that the macromolecule is already covered by a distribution of $L_{b,i}(t)$ ligands, the probability $p_{\text{att},i}(t|\sigma)$ for a candidate ligand, among NL_1 , to attach on the macromolecule is obtained from an uniform distribution of $\sigma + 1$ free consecutive binding sites out of the total M sites. Therefore, the total number of ligands NL effectively binding onto the macromolecule is given by the binomial distribution of NL_1 with success probability $p_{\text{att},i}(t|\sigma)$.

- *detachment process*: each of the $L_{b,i}(t)$ ligands detaches from the macromolecule with the probability, $p_{\text{off}} = 1 - \exp\{-k_{\text{off}}\Delta t\}$, such that the number of ligands remaining attached at the end of the process is, RL

The mean number of bound ligands $\langle L_b \rangle$ is then obtained by averaging over the time and a large number N of trajectories as,

$$\langle L_b \rangle = \frac{1}{(t_{\text{max}} - t_{\text{min}})N} \sum_{i=1}^N \sum_{t=t_{\text{min}}}^{t_{\text{max}}} L_{b,i}(t) , \quad (13)$$

where t_{min} is the preparation time and t_{max} the trajectory time length such that $0 \ll t_{\text{min}} \ll t_{\text{max}}$.

For all simulations reported in this paper, we used, $\Delta t = 10^{-2} \times \min[k_{\text{on}}^{-1}, k_{\text{off}}^{-1}]$, $t_{\text{min}} = 10^2$, $t_{\text{max}} - t_{\text{min}} = 10^4$ and a total of $N = 10^5$ trajectories was used to perform the averages. For system sizes, we used, $10 \leq L \leq 10^3$ and $M = 10^2$ for LvMc configuration and $L = 10^2$ and $10 \leq M \leq 10^3$ for LcMv such that, $0.1 \leq z = M/L \leq 10$ in all simulations.

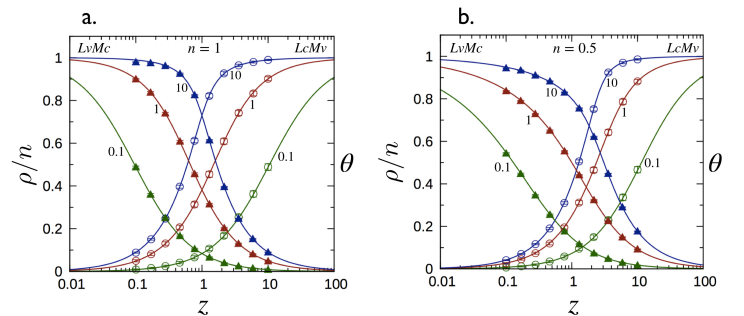


Figure 1: Density, $\rho(z)$, and fraction, $\theta(z)$, of bound ligands as a function of the reduced concentration, z , for two stoichiometries $n = 1$ (panel a) and $n = 0.5$ (panel b). Point data (open circles and filled triangles for LcMv and LvMc, respectively) correspond to simulation results and solid lines through the data to numerical solutions of Eq.(8) with $\Phi(\rho|n)$ given in Eq.(9). Quoted numbers are values of k_{eq} and q_{eq} for LvMc and LcMv assays, respectively.

The results of simulations along with comparison with numerical solutions of Eq.(8) (using the function *fsolve* in MATLAB R2015b) are shown in Fig. 1. As can be seen, expressions for $\theta(z)$ and $\rho(z)$ from Eq.(8) are in perfect agreement with simulations, thus validating the theoretical results. From now on, Eq.(8) will be considered as

Table 1: Approximate expressions for $[L_{\text{bound}}]$, $\rho(z)$ and $\theta(z)$, with: $z = [M_{\text{tot}}]/[L_{\text{tot}}]$, $k_{\text{eq}} = [M_{\text{tot}}]/K_{\text{d}}$ and $q_{\text{eq}} = [L_{\text{tot}}]/K_{\text{d}}$.

$\begin{cases} [L_{\text{bound}}] = \frac{A - \sqrt{A^2 - 4\alpha\beta[L_{\text{tot}}][M_{\text{tot}}]}}{2\beta} \\ A = \alpha[M_{\text{tot}}] + \beta[L_{\text{tot}}] + K_{\text{d}} \end{cases}$		
LvMc: $\rho(z) =$	$\frac{\left(\alpha + \frac{\beta}{z} + \frac{1}{k_{\text{eq}}}\right) - \sqrt{\left(\alpha + \frac{\beta}{z} + \frac{1}{k_{\text{eq}}}\right)^2 - \frac{4\alpha\beta}{z}}}{2\beta}$	
LcMv: $\theta(z) =$	$\frac{\left(\alpha z + \beta + \frac{1}{q_{\text{eq}}}\right) - \sqrt{\left(\alpha z + \beta + \frac{1}{q_{\text{eq}}}\right)^2 - 4\alpha\beta z}}{2\beta}$	
Approximation	$\alpha(n)$	$\beta(n)$
standard binding	n	1
low density	1	$(2/n) - 1$
high density	$2 \left[\frac{1}{n+1} \right]^{1/n}$	$\left[\frac{3-n}{n} \right] \left[\frac{1}{n+1} \right]^{1/n}$

the reference from which further approximations can be developed.

4. Approximate expressions for $\theta(z)$ and $\rho(z)$

In general, as Φ is a non-linear function of ρ , the resulting equations for $[L_{\text{bound}}]$, $\theta(z)$ and $\rho(z)$ as given in Eqs.(7) and 8 are not straightforward to use for fitting data. To work out a more handleable and amenable approximate expressions, the insertion probability Φ can be linearized with respect to ρ as follows,

$$\Phi(\rho|n) \simeq \alpha(n) - \beta(n) \rho, \quad (14)$$

where α and β will be specified below. Using Eq.(14) back into Eq.(7) and solving for $[L_{\text{bound}}]$ leads to the general analytical expressions in Table 1. As can be seen, $[L_{\text{bound}}]$, and therefore θ and ρ , only requires measuring the total concentrations of reactants (one of which is kept constant while the other one is varying) to fit the data and determine n and K_{d} .

Now, to specify $\alpha(n)$ and $\beta(n)$ in Eq.(14), three linear approximations for Φ have been considered:

- *standard binding*: When a binding ligand (of size σ) covers $1 + \sigma$ consecutive binding sites (with neither overlapping nor stacking), the highest concentration of ligands that can bind on the macromolecule is then of, $[M_{\text{tot}}]/(1 + \sigma) = n[M_{\text{tot}}]$, that corresponds to the saturation. Therefore, the concentration of free binding sites, $[M_{\text{free}}]$, can be obtained in a first approximation as,

$$[M_{\text{free}}] = n[M_{\text{tot}}] - [L_{\text{bound}}]. \quad (15)$$

The corresponding probability reads as, $\Phi(\rho|n) = [M_{\text{free}}]/[M_{\text{tot}}] = n - \rho$, and correctly reproduces the limit, $\Phi(\rho = n|n) = 0$, but underestimates the zero density value, $\Phi(\rho = 0|n) < 1$ for $n < 1$ (see Fig. 2).

- *low density regime*: Following the approach in [10], the first order in Taylor expansion of Φ in Eq.(9) around $\rho = 0$ writes as, $\Phi(\rho|n) \simeq 1 - [(2/n) - 1] \times \rho$, such that Eq.(6) can be approximated as,

$$[M_{\text{free}}] = [M_{\text{tot}}] - [(2/n) - 1] \times [L_{\text{bound}}]. \quad (16)$$

- *high density regime*: Similarly [10], the first order in Taylor expansion of Φ in Eq.(9) around $\rho = n/2$ writes as in Eq.(14) and leads to the approximation,

$$[M_{\text{free}}] = \alpha(n)[M_{\text{tot}}] - \beta(n)[L_{\text{bound}}], \quad (17)$$

with $\alpha(n)$ and $\beta(n)$ given in Table 1.

As displayed in Fig. 2, both the low and high density approximations appears to be a fairly good approximations of $\Phi(\rho|n)$ in some ranges whereas the standard binding approximation is expected to work only for n close to one and for $n \leq 1$ close to saturation.

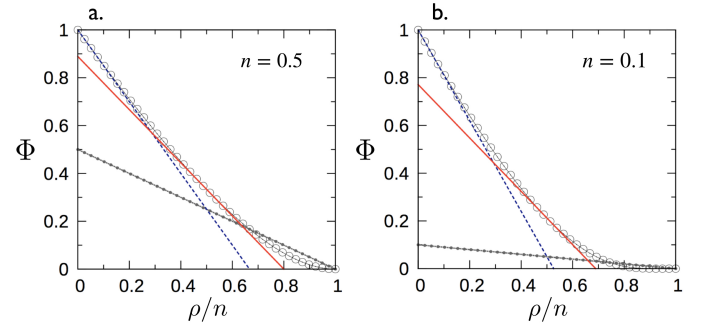


Figure 2: Insertion probability, $\Phi(\rho|n)$ in Eq.(9), (open circles) as a function of ρ/n for two stoichiometries $n = 0.5$ (panel a) and $n = 0.1$ (panel b). The dash-dotted (black), dashed (blue) and solid (red) lines correspond to linear approximations of $\Phi(\rho|n)$ (related to Eqs.(15), (16) and (17)) for standard binding, in low and high density regimes, respectively, with corresponding α and β given in Table 1.

As α and β (see Table 1) are both functions of n , the quadratic relations for $\rho(z)$ and $\theta(z)$ in Table 1 are functions of two independent unknowns n and K_{d} (via k_{eq} and q_{eq} , respectively). The $\rho(z)$ and $\theta(z)$ as functions of z are exactly identical for all the three approximations but with different values of n and K_{d} . The three approximations becomes exact and are identical with $\alpha = \beta = 1$ for $n = 1$. Differences between the three approximations appear when comparing them for $n < 1$ and with using the same parameters. Ultimately, the comparison between exact $\theta(z)$ and $\rho(z)$ (from Eqs.(8) and (9)) and the approximations with the same parameters as displayed in Fig. 3 clearly shows that:

- For $\theta(z)$: the high density approximation $\theta_{\text{hd}}(z)$ [solid (red) lines in Fig. 3b, d and f] is a very good approximation to the exact $\theta(z)$ in the all range of z and

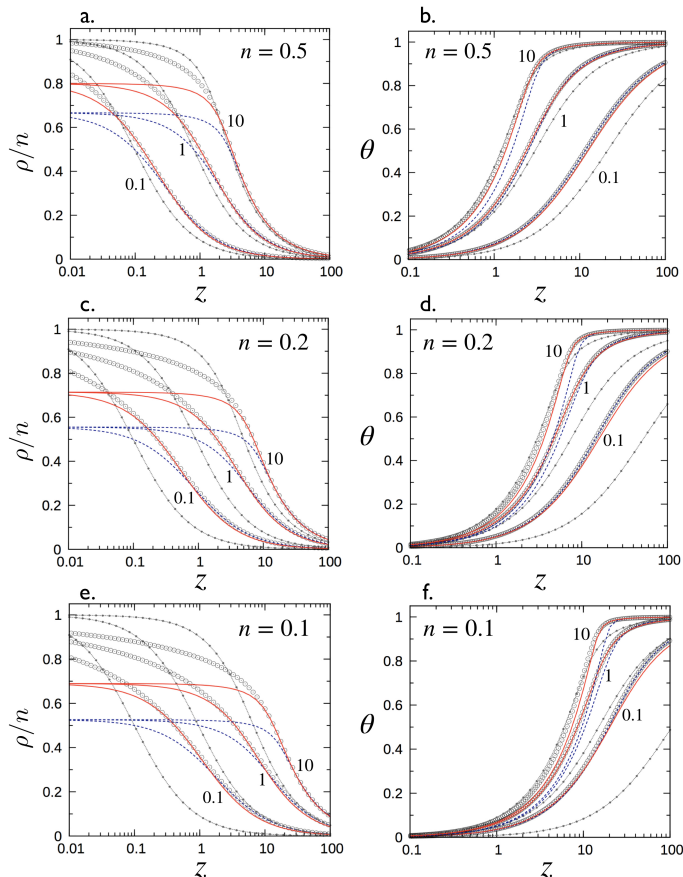


Figure 3: Densities, $\rho(z)$ (left panels), and fractions, $\theta(z)$ (right panels), of bound ligands as a function of the reduced concentration, z , for three stoichiometries $n = 0.5$ (panel **a** and **b**), $n = 0.2$ (panel **c** and **d**) and $n = 0.1$ (panel **e** and **f**). Point data (open circles) correspond to numerical solutions of Eq.(8) with $\Phi(\rho/n)$ given in Eq.(9). The dashed (blue), solid (red) and dash-dotted (black) lines correspond expressions in Table 1 in low density regime, high density regime and standard binding, respectively, with α and β given in Table 1. Quoted numbers are values of k_{eq} and q_{eq} for $\rho(z)$ (LvMc) and $\theta(z)$ (LcMv), respectively.

binding parameters. Low and high density approximations are similar for high n and deviate as n decreases while the standard binding appears to be a poor approximation.

(ii) - For $\rho(z)$: likewise, the high density approximation $\rho_{\text{hd}}(z)$ [solid (red) lines in Fig. 3a, c and e] is the best approximation describing the exact $\rho(z)$. In contrast to $\theta_{\text{hd}}(z)$, $\rho_{\text{hd}}(z)$ well describes $\rho(z)$ up to 70% of the saturation $\rho = n$ (see [10]). Similarly, the low density approximation fit the exact $\rho(z)$ as well only up to about 50% of the saturation (see [10]) while the standard binding approximation only works for $n = 1$.

As the high density approximation $\theta_{\text{hd}}(z)$ and $\rho_{\text{hd}}(z)$ outperforms the two other approximations to describing the exact $\theta(z)$ and $\rho(z)$, respectively, therefore, we suggest using $\theta_{\text{hd}}(z)$ and $\rho_{\text{hd}}(z)$ for fitting the data.

Nonetheless, as $\rho_{\text{hd}}(z)$ only works up to 70% of the saturation, the procedure to use $\rho_{\text{hd}}(z)$ for fitting the data is as follows:

Table 2: Estimations of the stoichiometry n and the dissociation constant K_d (with 95% confidence intervals in brackets) corresponding to best fits to the experimental data in [7, 12] using the function *lsqcurvefit* in MATLAB R2015b with ρ_{hd} and θ_{hd} given in Table 1 in the high density approximation. "rep" refers to reported values and "new" to the result of this work.

Ref.	n		K_d (nM)	
	rep	new	rep	new
[12] ^a	0.51	0.57 [0.52, 0.64]	29	59.2 [46, 72.4]
[7] ^b	1	1 [0.47, 1]	650	647.6 [71.2, 1224]
[7] ^c	1	0.91 [0.88, 0.94]	92	56.3 [42.6, 70]

a,b,c Experimental data were retrieved from Fig. 4 (for a) ($[L_{\text{bound}}]$ vs $[L_{\text{free}}]$) in [12], from Fig. 2d (for b) and Fig. 2e (for c) (θ vs $[M_{\text{free}}]$) in [7] using GraphClick [13].

^a Figure 4: The y -values (in pmol/mg) are converted in nM by multiplying by 0.03 g/L [= protein masse(3 μ g)/solution volume(100 μ L)]. Experiments were run with a constant $[M_{\text{tot}}] = 6.5$ nM of Musca complex I and varying total dihydrorotenone (ligand) concentrations calculated as, $[L_{\text{tot}}] = [L_{\text{free}}] + [L_{\text{bound}}]$. The ρ and z are calculated as, $\rho = [L_{\text{bound}}]/[M_{\text{tot}}]$ and $z = [M_{\text{tot}}]/[L_{\text{tot}}]$.

^{b,c} Figures 2d and 2e: Experiments were run with a constant $[L_{\text{tot}}] = 1$ μ M of Tau proteins and varying total microtubule concentrations recalculated by reversing the employed procedure as, $[M_{\text{tot}}] = [M_{\text{free}}] + [L_{\text{bound}}] = [M_{\text{free}}] + \theta[L_{\text{tot}}]$.

- (1) - start with the initial data set D_0 comprising all data points,
- (2) - fit the data subset D_m ($m = 0, 1, \dots$) using $\rho_{\text{hd}}(z)$ and determine the parameters n_m and $K_{d,m}$,
- (3) - check whether the upmost ρ value in D_m is smaller by 70% to the current saturation, $\rho_{\text{max}}(\in D_m) < 0.7 \times n_m$. If that is the case, then the desired parameters are, $n = n_m$ and $K_d = K_{d,m}$, and stop. Otherwise, remove the upmost data point from D_m to update the subset, $D_{m+1} = D_m \setminus \max[D_m]$, and proceed back to step (2).

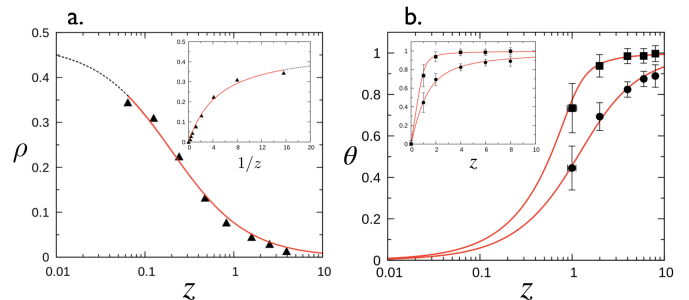


Figure 4: **panel a**. Density, ρ , of bound dihydrorotenone as a function of the reduced total concentration, z , of NADH:ubiquinone oxidoreductase (complex I). Data are from Fig. 4 (filled triangles) in Ref.[12]. **panel b**. Fraction, θ , of bound tau as a function of the reduced total concentration, z , of microtubules. Data with error bars are from Fig. 2d (filled circles) and from Fig. 2e (filled squares) in Ref.[7]. The upmost densities are $\rho_{\circ} = \theta(z = 1) = 0.45$ for circles and $\rho_{\square} = \theta(z = 1) = 0.73$ for squares. **Insets** show ρ and θ in different scales. Red lines through the data correspond to best fits to data using $\theta_{\text{hd}}(z)$ and $\rho_{\text{hd}}(z)$ in Table 1.

5. Illustrative applications

To illustrate and demonstrate the usefulness of the derived formula $\theta_{\text{hd}}(z)$ and $\rho_{\text{hd}}(z)$ in Table 1, we have considered the two co-sedimentation alternatives:

LvMc: We used the data from [12] that dealt with the binding of the dihydrorotenone ($C_{23}H_{24}O_6$) (the ligand) to NADH:ubiquinone oxidoreductase (complex I) (the macromolecule). The plot of ρ as a function of z in Fig. 4a shows the data points from [12] along with the best fit to the data using $\rho_{\text{hd}}(z)$ (and following the procedure described above) as represented by the solid (red) line through the data. The binding parameters corresponding to best fit to the data are reported in Table 2. As can be seen, $\rho_{\text{hd}}(z)$ fits very well the experimental data.

Comparison of the determined binding parameters with that reported in [12] shows that the n are quite close whereas the K_d significantly differs. This is because the reported n and K_d in [12] were determined within the standard binding approximation framework (use of Scatchard plot). Indeed, using the standard binding approximation of $\rho(z)$ in Table 1 to fit the data gives the dashed (black) line (superimposing with the solid line but with different parameters) through the data in Fig. 4a with parameters (with 95% confidence intervals in brackets), $n = 0.47 [0.41, 0.54]$ and $K_d = 30.72 [20.74, 40.7] \text{ nM}$, very close to values reported in [12] (see Table 2). Next, using the correction procedure described in [10] leads to values given in column "new" in Table 2.

LcMv: We considered the data from [7] that dealt with the binding reaction between tau proteins (ligands) and microtubules (macromolecules). The plot of θ as a function of z in Fig. 4b shows the data points from [7] along with the best fits to the data using $\theta_{\text{hd}}(z)$ as represented by solid (red) lines through the data. The binding parameters corresponding to best fits to the data are reported in Table 2. This exercise demonstrates that $\theta_{\text{hd}}(z)$ fits very well the experimental data and that there is no need to set n a priori, as did in [7], to exploit LcMv data. The K_d as determined is close to that reported in [7] for $n \sim 1$ and significantly differs when n gets smaller.

6. Summary

As a main result given in Eqs.(7) and (8), we have derived general expressions for L_{bound} , ρ and θ as functions of z , the ratio of total concentrations of macromolecules $[M_{\text{tot}}]$ and ligands $[L_{\text{tot}}]$ (which can be measured without ambiguity), the stoichiometry n and the dissociation constant K_d . Subsequently, we have showed that for systems of large and noninteracting ligands with latticelike macromolecules (characterized by the insertion probability in Eq.(9)) those expressions for ρ and θ are in perfect agreement with simulations. In addition, Table 1 provides mathematical simple analytical expressions for $[L_{\text{bound}}]$, and therefore, ρ and θ , that can be used to fit the experimental data and determine n and K_d . Using data retrieved

from the literature, we have demonstrated that the ρ and θ approximations fit very well the data and allow extracting values of n and K_d .

Finally, the approach outlined above can be extended to more complex systems involving cooperativity, heterogeneous or multiple class of ligands with different insertion probabilities. The challenge will be to work out mathematical simple expressions for the concentration of bound ligands as functions of reliable measured quantities.

Acknowledgement

JH is a PhD student supported by a grant from the Ministry of Education and Research of France through the Ecole Doctorale de Physique de Grenoble (ED n°47) of Grenoble Alpes University.

Author Contributions

JH and DJB equally contributed to the work.

References

- [1] R. B. Maccioni and V. Cambiazo. Role of microtubule-associated proteins in the control of microtubule assembly. *Physiological Reviews*, 75(4):835–864, 1995.
- [2] Pierre Bongrand. Ligand-receptor interactions. *Reports on Progress in Physics*, 62(6):921, 1999.
- [3] Michael F Dunn. Protein-ligand interactions: General description. *eLS*, 2010.
- [4] P.H. Bligh. Ligand binding a primer. *Biochemical Education*, 16(4):186 – 195, 1988.
- [5] Thomas D Pollard. A guide to simple and informative binding assays. *Molecular biology of the cell*, 21(23):4061–4067, 2010.
- [6] Emily O. Alberico, Aranda R. Duan, and Holly V. Goodson. Chapter 6 - measuring taumicrotubule affinity through cosedimentation assays. In Stuart C. Feinstein and Nichole E. LaPointe, editors, *Methods in Tau Cell Biology*, volume 141 of *Methods in Cell Biology*, pages 115 – 134. Academic Press, 2017.
- [7] Aranda R. Duan, Erin M. Jonasson, Emily O. Alberico, Chunlei Li, Jared P. Scripture, Rachel A. Miller, Mark S. Alber, and Holly V. Goodson. Interactions between tau and different conformations of tubulin: Implications for tau function and mechanism. *Journal of Molecular Biology*, 429(9):1424 – 1438, 2017.
- [8] Irving M Klotz. Numbers of receptor sites from scatchard graphs: facts and fantasies. *Science*, 217(4566):1247–1249, 1982.
- [9] Harvey J Motulsky and Richard R Neubig. Analyzing binding data. *Current Protocols in Neuroscience*, pages 7–5, 2010.
- [10] Jordan Hervy and Dominique J. Bicout. Correcting binding parameters for interacting ligand-lattice systems. *Phys. Rev. E*, 96:012417, Jul 2017.
- [11] James D McGhee and Peter H von Hippel. Theoretical aspects of dna-protein interactions: co-operative and non-co-operative binding of large ligands to a one-dimensional homogeneous lattice. *Journal of molecular biology*, 86(2):469–489, 1974.
- [12] Jürgen G. Okun, Peter Lümmer, and Ulrich Brandt. Three classes of inhibitors share a common binding domain in mitochondrial complex I (NADH:Ubiquinone oxidoreductase). *Journal of Biological Chemistry*, 1999.
- [13] Graphclick. <http://www.arizona-software.ch/graphclick/>. Accessed: 2018-08-18.

9.3 Correction des paramètres provenant de l'équation standard

Résumé de l'article *Correcting binding parameters for interacting ligand-lattice systems* [146]

L'objet de cette étude est la détermination de la stœchiométrie n et la constante de dissociation K_d à partir d'expériences de co-sédimentation réalisées suivant l'approche LvMc. Nous avons montré dans l'étude *Determining the binding parameters from co-sedimentation assays* que l'équation standard utilisée pour ajuster les données de saturation et extraire n et K_d était une mauvaise approximation pour des situations où $n < 1$. L'objectif de cette étude était de fournir une méthode simple permettant de corriger directement les valeurs des paramètres n et K_d obtenus à partir de l'équation standard (9.1) et ce sans avoir à refaire un nouvel ajustement des données. Nous avons dérivé des expressions analytiques pour les paramètres corrigés en fonction des paramètres apparents issus de l'équation standard. Les résultats montrent que l'analyse standard sous-estime la stœchiométrie et surestime l'affinité des ligands pour la macromolécule et que l'écart est d'autant plus grand que la stœchiométrie est petite.

Correcting binding parameters for interacting ligand-lattice systems

Jordan Hervy^{1,2} and Dominique J. Bicutout^{1,3,*}

¹Institut Laue-Langevin, 71 Avenue des Martyrs, 38042 Grenoble, France

²Laboratory of Physics and Modelling of Condensed Matter (UMR 5493), Grenoble Alpes University, CNRS, 38042 Grenoble, France

³EPSP, TIMC Laboratory, UMR CNRS 5525 Grenoble Alpes University, VetAgro Sup, France

(Received 20 March 2017; published 31 July 2017)

Binding of ligands to macromolecules is central to many functional and regulatory biological processes. Key parameters characterizing ligand-macromolecule interactions are the stoichiometry, inducing the number of ligands per macromolecule binding site, and the dissociation constant, quantifying the ligand-binding site affinity. Both these parameters can be obtained from analyses of classical saturation experiments using the standard binding equation that offers the great advantage of mathematical simplicity but becomes an approximation for situations of interest when a ligand binds and covers more than one single binding site on the macromolecule. Using the framework of car-parking problem with latticelike macromolecules where each ligand can cover simultaneously several consecutive binding sites, we showed that employing the standard analysis leads to underestimation of binding parameters, i.e., ligands appear larger than they actually are and their affinity is also greater than it is. Therefore, we have derived expressions allowing to determine the ligand size and true binding parameters (stoichiometry and dissociation constant) as a function of apparent binding parameters retrieved from standard saturation experiments.

DOI: [10.1103/PhysRevE.96.012417](https://doi.org/10.1103/PhysRevE.96.012417)

I. INTRODUCTION

Ligand-macromolecule interactions play a crucial role in many functional and regulatory biological processes such as signal transmission, intracellular transport, cytoskeletal organization, and dynamics [1–3]. Key parameters in the study of macromolecule-ligand interactions and equilibria are the binding stoichiometry n of the reactants, i.e., the number of ligands per macromolecule binding site, and the dissociation constant K_d . For a macromolecule M consisting of several equivalent and noninteracting sites for the ligand L , the dissociation constant is given by $K_d = [M_{\text{free}}] \times [L_{\text{free}}]/[L_{\text{bound}}]$, where $[M_{\text{free}}]$ is the total concentration of free ligand binding sites over all macromolecules and $[L_{\text{free}}]$ and $[L_{\text{bound}}]$ are the concentration of free and bound ligands, respectively. When n ligands can bind on and cover one and only *one single binding site* on the macromolecule, the concentration of free ligand binding sites can thus be obtained as

$$[M_{\text{free}}] = n[M] - [L_{\text{bound}}], \quad (1)$$

where $[M]$ is the total concentration of ligand sites over all macromolecules. To work with dimensionless quantities we define $\rho = [L_{\text{bound}}]/[M]$ as the fraction (density) of bound ligands and $x = ([L_{\text{bound}}] + [L_{\text{free}}])/[M]$ as the ratio of the ligand concentration to that of the binding sites on the macromolecules. Now, using Eq. (1) into K_d and solving for $[L_{\text{bound}}]$ (i.e., ρ) leads to the standard binding equation [4–6]

$$[L_{\text{bound}}] = \frac{n[M][L_{\text{free}}]}{K_d + [L_{\text{free}}]} \implies \rho = \frac{n(x - \rho)}{1/k_{\text{eq}} + (x - \rho)}, \quad (2)$$

where $k_{\text{eq}} = [M]/K_d$ is the equilibrium constant. Equation (2) is used in saturation experiments where ρ versus $(x - \rho)$ (i.e., $[L_{\text{bound}}]$ versus $[L_{\text{free}}]$) is plotted at constant total concentration $[M]$ of ligand-binding sites [4,7]. The curve saturates at

$\rho_s = n$, yielding the stoichiometry n , and 50% of saturation is reached when $(x - \rho) = 1/k_{\text{eq}}$ (i.e., $[L_{\text{free}}] = K_d$) yielding K_d . An alternative and equivalent way of estimating binding parameters is to use the Scatchard plot representing the ratio $[L_{\text{bound}}]/[L_{\text{free}}] = \rho/(x - \rho)$ as a function of ρ (i.e., $[L_{\text{bound}}]$) [4,5,8–10]. In such a graph, Eq. (2) transforms to

$$\frac{\rho}{(x - \rho)} = k_{\text{eq}}(n - \rho). \quad (3)$$

The plot is a linear decreasing function of ρ with a slope k_{eq} , an ordinate intercept of nk_{eq} and an abscissa intercept of n , yielding n and k_{eq} (and therefore K_d). Both Eqs. (2) and (3) provide a very simple and therefore convenient way to obtaining estimates of binding parameters n and K_d from saturation experiments.

In this paper, we are interested in biological problems of large and noninteracting ligands with latticelike macromolecules where a binding ligand can cover *several consecutive binding sites*. In this case, the Scatchard plot is no longer linear. Usually, the deviation from linearity of the Scatchard plot is indicative of conditions including large ligands, multiple class of ligands, binding site heterogeneity, or ligand-ligand interaction or cooperativity, or combinations of those [11–13]. Here, we will deal with the case where the curvature of the Scatchard plot arises solely as a consequence of large ligands covering several binding sites. As developed by McGhee and von Hippel [11], the systems of large ligands with latticelike macromolecules exhibit more complex statistical features that lead to breakdown of Eq. (1). The reason being that, in the case of large ligands, the concentration of free ligand binding sites depends not only on that of ligands already bound but also on the distribution of bound ligands on the lattice. Distributions of bound ligands lead to frustrations and gaps between ligands preventing binding of other ligands. As a consequence, Eq. (1) is no longer linear and can just be considered as an approximation as is, therefore, Eqs. (2) and (3). Notwithstanding the foregoing but owing to their

*bicutout@ill.fr

incredible simple forms, Eqs. (2) and (3) were and are still very widely used to analyzing saturation experiments and extracting *apparent* binding parameters n_{app} and $K_{\text{d,app}}$, i.e., in replacing n and K_{d} (or k_{eq}) in Eqs. (2) and (3) by n_{app} and $K_{\text{d,app}}$ (or $k_{\text{eq,app}}$) as [6,14–19]

$$\frac{\rho}{(x - \rho)} = k_{\text{eq,app}}(n_{\text{app}} - \rho). \quad (4)$$

Our aim in this paper is to provide means for obtaining *true* binding parameters n and K_{d} from *apparent* n_{app} and $K_{\text{d,app}}$ as extracted from saturation experiments. And, as dealing with large ligands introduces in the problem an additional parameter that is the ligand size σ (relative to the binding site size), therefore, the task here is to derive relationships between n and K_{d} versus n_{app} and $K_{\text{d,app}}$ as a function of σ . As we will see below, σ appears as the organization parameter.

II. FORMULATIONS AND RESULTS

A. General expressions

To tackle the problem of large ligands binding on macromolecules, we consider that a macromolecule as a homogeneous one-dimensional lattice of identical and independent binding sites of zero size and a ligand molecule of size σ (positive integer) is assumed to bind to the lattice and to cover $1 + \sigma$ consecutive lattice sites (i.e., make inaccessible to another ligand); partial, overlapping nor stacked binding are not allowed. Accordingly, a free ligand binding site consists of any $1 + \sigma$ consecutive free lattice sites. It thus follows for the problem as defined that the stoichiometry, i.e., the number of ligand per binding site, is given by definition by

$$n = \frac{1}{1 + \sigma}, \quad (5)$$

providing hence a one-to-one relation between the stoichiometry n and the ligand size σ .

The kinetics of binding reaction can be described as the car-parking problem (CPP) where ligands reversibly bind to and detach from the lattice with rates k_{on} and k_{off} , respectively. Within the framework of the CPP, the dynamics of bound ligands ρ is described by the equation

$$\frac{d\rho}{dt} = k_{\text{on}}(x - \rho)\Phi - k_{\text{off}}\rho, \quad (6)$$

where $\Phi \equiv \Phi(\rho, \sigma)$ is the probability for inserting an additional ligand of size σ on the lattice already covered with a distribution of identical ligands at density ρ . The first term in right hand side of Eq. (6) represents the increasing of ρ by incorporating new ligands on the lattice while the second one stands for the decreasing of ρ due to the detachment of ligands. At the equilibrium, $d\rho/dt = 0$, the density is given by

$$\frac{\rho}{(x - \rho)} = k_{\text{eq}}\Phi, \quad (7)$$

where $k_{\text{eq}} = k_{\text{on}}/k_{\text{off}}$ is the equilibrium constant. Note that the insertion probability of a ligand on the lattice is $\Phi(\rho = 0, \sigma) = 1$ for an empty lattice while it is $\Phi(\rho = \rho_s, \sigma) = 0$ at the saturation density ρ_s . This insertion probability plays a very important role in the binding reaction and especially on how the system reaches the saturation [20]. Interestingly,

Eq. (7) is the generalization of the Scatchard equation where Eq. (3) is a particular case. Equation (7) underlines that the behavior of the Scatchard plot as a function of ρ is directly related to and profiled by the insertion probability, $\Phi(\rho, \sigma)$ that is linear, $\Phi(\rho, \sigma = 0) = 1 - \rho$, for zero sized ligands and deviates from linearity for large ligands.

Now, assuming that $\Phi(\rho, \sigma)$ is known, comparing Eq. (7) with Eq. (4) clearly indicates that $\Phi(\rho, \sigma)$ must be linearized as a function of ρ to relate true with apparent binding parameters. The Taylor expansion at first order around a density ρ_* (to be specified later) for the insertion probability reads as

$$\Phi_{\text{lin}}(\rho, \sigma) \simeq \Phi(\rho_*, \sigma) + \Phi'(\rho_*, \sigma)(\rho - \rho_*) + O(\rho - \rho_*)^2, \quad (8)$$

where $\Phi' \equiv \partial\Phi/\partial\rho$. Next, using Eq. (8) back into Eq. (7) and equating the result with Eq. (4) yields general relations for binding parameters as

$$\begin{aligned} n_{\text{app}} &= \rho_*(\sigma) - \frac{\Phi(\rho_*, \sigma)}{\Phi'(\rho_*, \sigma)}, \\ \kappa &= \frac{k_{\text{eq}}}{k_{\text{eq,app}}} = \frac{K_{\text{d,app}}}{K_{\text{d}}} = -\frac{1}{\Phi'(\rho_*, \sigma)}. \end{aligned} \quad (9)$$

These expressions remain valid within $0 \leq \rho \leq n_{\text{app}}$ [with n_{app} a function of $\rho_*(\sigma)$] to ensure the non-negativity of Φ in the linear approximation. Now, to go further in deriving expressions relating true and apparent binding parameters, two things need to be specified: the expression of Φ and the set of ρ_* around which Φ is linearized.

B. Case of large and noninteracting ligands

Several methods have been developed to derive mathematical expressions of Φ for CPP or large ligands including the combinatorial, recurrence equations and the transfer matrix method, to cite a few (see [21] for a review of these techniques). Likewise, Φ can as well be computed using Monte Carlo simulations of the binding process. In what follows, we will use the expression of Φ as derived (in the limit of infinite lattice and noncooperative ligands) by McGhee and von Hippel [11]:

$$\Phi(\rho, \sigma) = \frac{[1 - (1 + \sigma)\rho]^{1+\sigma}}{(1 - \rho\sigma)^\sigma}. \quad (10)$$

The saturation density ρ_s is obtained by solving $\Phi(\rho = \rho_s, \sigma) = 0$ to give $\rho_s = 1/(1 + \sigma) = n$.

1. Determination of ρ_*

To determine the ρ_* , we consider the plot of $\Phi(\rho, \sigma = 10)$ as a function of ρ/ρ_s in Fig. 1 (red line). As can be seen, Φ linearly decreases with ρ at low density, deviates from linearity at higher density and cancels with zero slope [i.e., $\Phi'(\rho = \rho_s, \sigma) = 0$] at $\rho = \rho_s$. Either linearizing Φ over the entire range of ρ using for instance a least-squares linear regression does not lead to a satisfactory result as shown in Fig. 1 (dashed black line with crosses) or choosing $\rho_* = \rho_s$ is also excluded since $\Phi'(\rho = \rho_s, \sigma) = 0$. However, inspection of Fig. 1 (red line) shows that $\Phi(\rho, \sigma)$ can be linearized at $\rho_* = 0$, at low density, and at $\rho_* = \rho_s/2$, at high density; the latter $\rho_* = \rho_s/2$ is determined via minimizing the area between Φ and Φ_{lin} in Eq. (8) (Appendix A). In what follows, we will thus use the

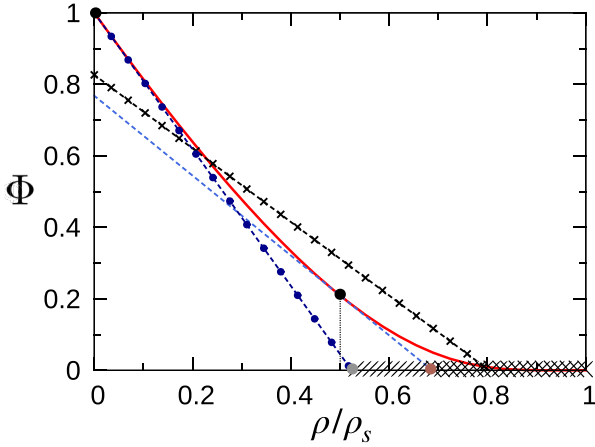


FIG. 1. Insertion probability $\Phi(\rho, \sigma)$ in Eq. (10), as a function of ρ/ρ_s for $\sigma = 10$ (red solid line). The dashed black line with crosses corresponds to the least-square linear regression of $\Phi(\rho, \sigma = 10)$, the dashed-dotted and dashed blue lines to the linear approximation of $\Phi(\rho, \sigma = 10)$ in Eq. (8) at $\rho_* = 0$ and $\rho_* = \rho_s/2$, respectively. Shaded zones on the horizontal axis represent zones for $\rho > n_{\text{app}}$ where the linear approximation is no longer valid.

two values $\rho_* = 0$ and $\rho_s/2$ for the low and high density linear approximations, respectively, for Φ .

2. Apparent binding parameters versus σ

Using $\rho_* = 0$, for low density, and $\rho_* = \rho_s/2$, for high density, back into Eq. (9) with Φ in Eq. (10), we obtain expressions of n_{app} versus σ as

$$n_{\text{app}} = \begin{cases} \frac{1}{1+2\sigma} & \text{for } \rho_* = 0, \\ \frac{2}{2+3\sigma} & \text{for } \rho_* = \rho_s/2 \end{cases} \quad (11)$$

and

$$\kappa = \frac{K_{\text{d,app}}}{K_{\text{d}}} = \begin{cases} \frac{1}{1+2\sigma} & \text{for } \rho_* = 0, \\ \frac{1}{2+3\sigma} \left\{ \frac{2+\sigma}{1+\sigma} \right\}^{1+\sigma} & \text{for } \rho_* = \rho_s/2. \end{cases} \quad (12)$$

When σ is known *a priori*, Eqs. (11) and (12) allow computing apparent binding parameters that would be assessed within both linear approximations. Interestingly, it is worthwhile to notice that for $\sigma \geq 1$ we have $n_{\text{app}} \leq n$ [comparing Eqs. (5) and (11)] and $\kappa \leq 1$ (i.e., $K_{\text{d,app}} \leq K_{\text{d}}$).

3. Validity domains of the linear approximations

To ensure the non-negativity of the insertion probability, the validity domain of Φ_{lin} around $\rho_* = 0$ and $\rho_* = \rho_s/2$ is $0 \leq \rho \leq n_{\text{app}}$. Accordingly, and using n_{app} given in Eq. (11), the upper limit of the validity domain of Φ_{lin} is given by (as shown by the shaded zones on the horizontal axis in Fig. 1)

$$\frac{\rho}{\rho_s} \leq \begin{cases} \frac{1+\sigma}{1+2\sigma} \xrightarrow{\sigma \rightarrow \infty} \frac{1}{2} & \text{for } \rho_* = 0, \\ \frac{2+2\sigma}{2+3\sigma} \xrightarrow{\sigma \rightarrow \infty} \frac{2}{3} & \text{for } \rho_* = \rho_s/2. \end{cases} \quad (13)$$

For the case of $\sigma = 10$ as illustrated in Fig. 1, the upper limit in low density regime is 52.38% of the saturation value and 68.75% for high density regime. The rationale is as follows: use the low density linear approximation at $\rho_* = 0$ when dealing

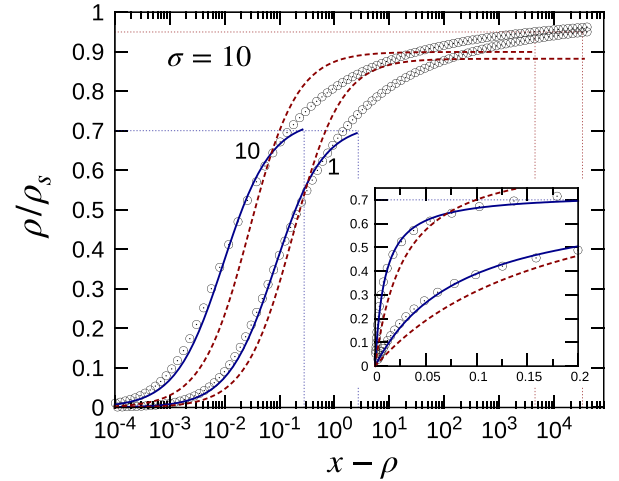


FIG. 2. Saturation curves: ρ/ρ_s as a function of $(x - \rho)$. Point data (circles) represent numerical solutions ρ of the nonlinear equation (7) with Φ in Eq. (10) for $\sigma = 10$ and $k_{\text{eq}} = 1$ and 10. Solid blue lines and dashed red lines correspond to best fits of data up to $\rho/\rho_s = 70\%$ and 95% , respectively, using Eq. (B1) (originating from the linear approximation of Φ as a function of ρ).

with data comprised in $0 \leq \rho/\rho_s \leq 0.5$ and high density linear approximation at $\rho_* = \rho_s/2$ for data comprised in $0 \leq \rho/\rho_s \leq 0.7$.

The ranges in Eq. (13) have to be regarded as upper limits of validity (the highest limit being $\rho/\rho_s = 2/3 \approx 70\%$) for using standard binding Eq. (2) or (3) for fitting experimental data. This is illustrated in Fig. 2 showing the best fits (linear approximations) up to 70% (blue lines) and 95% (dashed red lines) of saturation of the exact ρ (point data) nonlinear solution of Eq. (7) with Φ in Eq. (10) (see Appendix B). Clearly, blue lines [describing ρ within validity ranges in Eq. (13)] are better fits to data than red ones. Fits are even better up to 50% for low density linear approximation. This suggests and indicates that in most experiments the upper values of ρ/ρ_s should be $\leq 70\%$, even smaller, that explains why the linear approximation solution, given in Eq. (B1), does fit well the data.

4. True binding parameters versus n_{app}

Finally, when dealing with experiments in which σ is not known *a priori*, like in most of cases, but where n_{app} and $K_{\text{d,app}}$ have been obtained by fitting the data with Eq. (B1) [or Eq. (4)] within the low or high density linear approximation, the ligand size σ (positive integer) as a function of n_{app} can be determined by inverting Eq. (11) and inserting the result into Eqs. (5) and (12) to yield expressions for true binding parameters n and K_{d} (as $K_{\text{d}} = K_{\text{d,app}}/\kappa$), as a function of the n_{app} . The resulting expressions are given in Table I.

C. Illustrative application

Figure 3 shows the comparison between n_{app} and κ obtained from best fits using Eq. (B1) (linear approximation of Φ) to exact numerical nonlinear solution of Eq. (7) (Appendix B) and Eqs. (11) (blue line) and (12) (red line) in the high density linear approximation. This demonstrates how

TABLE I. Expressions of the ligand size σ , the stoichiometry n , and the dissociation constant K_d (as $K_d = K_{d,app}/\kappa$) as a function of apparent binding parameters n_{app} and $K_{d,app}$.

Linear approximation	$\sigma(n_{app})^a$	$n(n_{app})$	$\kappa(n_{app})$	Validity interval for ρ^b
Low density ($\rho_* = 0$)	$\left\lfloor \frac{1 - n_{app}}{2n_{app}} \right\rfloor$	$\frac{1}{1 + \sigma(n_{app})}$	$\frac{1}{1 + 2\sigma(n_{app})}$	$\frac{\rho}{\rho_{s,low}} \in [0, 0.5]$
High density ($\rho_* = \rho_s/2$)	$\left\lfloor \frac{2(1 - n_{app})}{3n_{app}} \right\rfloor$	$\frac{1}{1 + \sigma(n_{app})}$	$\frac{1}{2 + 3\sigma(n_{app})} \left\{ \frac{2 + \sigma(n_{app})}{1 + \sigma(n_{app})} \right\}^{1 + \sigma(n_{app})}$	$\begin{cases} \frac{\rho}{\rho_{s,low}} > 0.5 \\ \frac{\rho}{\rho_{s,high}} \in [0, 0.7] \end{cases}$

^a $\lfloor y \rfloor =$ nearest integer of y (e.g., $\lfloor 0.25 \rfloor = 0$, $\lfloor 1.47 \rfloor = 1$, $\lfloor 1.5 \rfloor = 2$).

^bSaturation density: $\rho_{s,j} = 1/(1 + \sigma_j)$ for $j =$ “low,” “high” density.

analytical Eqs. (11) and (12) are in very good agreement with numerical results and, therefore, in relating apparent binding parameters with the intrinsic ligand size.

Figure 3 can also be regarded as an abacus synthetically paralleling the relations in Table I. Such an abacus allows the graphical determination of σ and κ starting from n_{app} . This work is as follows. Suppose, as illustrated in Fig. 3, that the analysis of experimental data has provided $n_{app} = \frac{1}{8}$ and $K_{d,app} = 1 \mu\text{M}$ and that the aim is to determine the true stoichiometry n and dissociation constant K_d . To this end, we use the curve of $1/n_{app}$ versus σ in Fig. 3 (vertical solid segments in the staircase with the right vertical axis) and follows the arrows to determine the corresponding closest integer value for σ on the horizontal axis. For $n_{app} = \frac{1}{8}$, we find $\sigma(n_{app}) = 5$ (as one would obtain using the equation in Table I for high density approximation). The intersection of the vertical line with arrows $\sigma = 5$ and the red dashed line gives

κ on the left vertical axis. For $\sigma = 5$ we find $\kappa = 0.15$ (as one would obtain using the equation in Table I for high density approximation). As a result, we find that the true binding parameters are instead $n = \frac{1}{6}$ and $K_d = K_{d,app}/\kappa \approx 6.7 \mu\text{M}$. Note that $n > n_{app}$ and $K_d > K_{d,app}$.

For illustration with real data, the determination of true binding parameters as described above was applied to several experimental situations retrieved from the literature and the results are reported in Table II. According to equations in Table I, there are two possible values for n and K_d depending whether the low or high density linear approximation has been employed. For example, for $n_{app} = 0.28$ and $K_{d,app} = 16.2 \mu\text{M}$ reported in [6], we find $n = \frac{1}{2}$ and $K_d = 48.6 \mu\text{M}$ and $n = \frac{1}{3}$ and $K_d = 54.68 \mu\text{M}$, for low and high density linear approximations, respectively. The appropriate approximation to use is the one for which ρ values range within the validity intervals in Table I of the corresponding approximation. Otherwise the fitting of data needs to be redone within the validity intervals in Table I for ρ in order to use expressions in Table I for determining binding parameters.

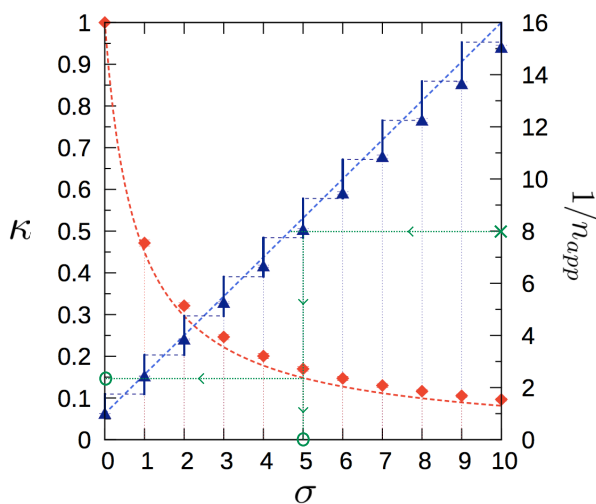


FIG. 3. Stem plot of the ratio $\kappa = K_{d,app}/K_d$ (red diamonds and dashed line) and $1/n_{app}$ (blue triangles and dashed line) as a function of σ . Point data (with 95% confidence intervals) represent best fits using Eq. (B1) to numerical nonlinear solution of Eq. (7) (Appendix B), dashed blue (light gray) and red lines following the data correspond to Eqs. (11) and (12), respectively. The staircase with solid vertical segments corresponds to σ as a function of n_{app} as given in Table I. Determination of σ and κ starting from $n_{app} = \frac{1}{8}$ (detailed explanations in the text).

TABLE II. Illustration of estimations of the stoichiometry n and the dissociation constant K_d from experimental data in [6,14,16]. “app” refers to apparent parameters extracted from experiments and “low” and “high” correspond to true parameters estimated within the low and high density linear approximations in Table I.

Ref.	n			K_d (μM)		
	app	low	high	app	low	high
[6] ^a	0.46	1/2	1/2	1.1	3.3	2.44
[6] ^b	0.28	1/2	1/3	16.2	48.6	54.68
[14] ^c	0.507	1	1/2	0.029	0.029	0.064
[16] ^d	0.209	1/3	1/4	0.089	0.445	0.62

^aTable I: binding of the isoform “HT40” to microtubule.

^bTable I: binding of the construct “K2” to microtubule.

^cFigure 4: binding of the dihydrorotenone to Musca complex I at 6.5 nM. $n_{app} = 0.507$ is obtained by dividing the reported binding capacity of $3.3 \mu\text{M}$ [=110 pmol/mg \times protein mass ($3 \mu\text{g}$)/solution volume ($100 \mu\text{l}$)] by 6.5 nM.

^dTable I: binding of the mutant tau “R406W” to taxol-stabilized microtubule at $3 \mu\text{M}$. $n_{app} = 0.209$ is obtained by dividing the reported binding capacity of $0.628 \mu\text{M}$ by $3 \mu\text{M}$.

III. CONCLUDING REMARKS

Our motivations in developing this work were (i) the great interest devoted to the binding of large ligands to one-dimensional latticelike macromolecules that is central to many areas of molecular biology and (ii) the related mathematical simplicity of *approximate* binding equations [Eqs. (2) and (3)] largely used for analyzing saturation experiments and extracting important *apparent* binding parameters. Our aim was then to take advantage of that simplicity and derive expressions of *true* binding parameters from *apparent* ones.

To this end, we have considered a system of monodisperse and noncooperative of large ligands reversibly binding to a lattice macromolecule that can be described within the framework of car-parking problem (CPP). The key function in the CPP is the probability Φ of inserting new ligands on a macromolecule already filled with other ligands at a density ρ . For large ligands of size σ , Φ is a nonlinear function of both ρ and σ . Next, we have used for Φ the expression derived by Mcghee and von Hippel [11] and have developed linear approximations of Φ to recover the mathematical simplicity of binding equations [Eqs. (2) and (3)].

As a main result summarized in Table I, we have derived expressions of the ligand size and the true binding parameters, the stoichiometry n , and dissociation constant K_d , as a function of apparent binding parameters, n_{app} and $K_{d,\text{app}}$, as obtained from analyses of experimental data using Eqs. (2) and (3). As a consequence, we found and showed that using the standard analysis for large ligands leads to underestimation of binding parameters, i.e., $n_{\text{app}} \leq n$ and $K_{d,\text{app}} \leq K_d$, ligands appear larger than they actually are and their affinity is also greater than it is.

The approach outlined above can be extended to problems involving different insertion probability like for systems with heterogeneous or multiple class of ligands, cooperative or interacting ligands, binding site heterogeneity, higher dimensional lattices, or more complex lattice geometries, or combinations of those [11–13,20,22–24].

ACKNOWLEDGMENTS

J.H. is supported by a grant from the Ministry of Education and Research of France through the Ecole Doctorale de Physique de Grenoble (ED No. 47) of Grenoble Alpes University.

APPENDIX A: LINEARIZATION OF Φ : HIGH DENSITY REGIME

The value of ρ_* in Eq. (8) can be determined by minimizing the area \mathcal{A} between Φ and Φ_{lin} :

$$\mathcal{A} = \int_0^{\rho_s} d\rho |\Phi(\rho) - \Phi_{\text{lin}}(\rho, \rho_*)|. \quad (\text{A1})$$

Assuming that $\Phi(\rho)$ is a convex function, i.e., $\Phi(\rho) \geq \Phi_{\text{lin}}(\rho, \rho_*)$ for all ρ_* in the interval $[0, \rho_s]$ then the minimization equation for \mathcal{A} reads as

$$\frac{d\mathcal{A}}{d\rho_*} = \frac{d}{d\rho_*} \int_0^{\rho_s} d\rho [\Phi(\rho) - \Phi_{\text{lin}}(\rho, \rho_*)] = 0. \quad (\text{A2})$$

After integration, the first term depends on ρ_s and not of ρ_* , thus the minimization gives

$$\frac{d\mathcal{A}}{d\rho_*} = -\frac{d}{d\rho_*} \int_0^{\rho_s} d\rho \Phi_{\text{lin}}(\rho, \rho_*) = 0. \quad (\text{A3})$$

Therefore, minimizing \mathcal{A} reduces to minimizing the area under Φ_{lin} . Finally, using Eq. (8), we obtain the two following conditions for ρ_* :

$$\begin{aligned} \frac{d}{d\rho_*} \int_0^{\rho_s} d\rho \Phi_{\text{lin}}(\rho, \rho_*) = 0 &\Rightarrow \rho_* = \frac{\rho_s}{2}, \\ \frac{d^2}{d\rho_*^2} \int_0^{\rho_s} d\rho \Phi_{\text{lin}}(\rho, \rho_*) < 0 &\Rightarrow \rho_s \Phi''(\rho_*) > 0. \end{aligned} \quad (\text{A4})$$

As $\Phi'' > 0$ within the entire interval $[0, \rho_s]$ since Φ is a convex function and $\rho_s > 0$, therefore, the condition $\rho_s \Phi''(\rho_*) > 0$ is satisfied and $\rho_* = \rho_s/2$ minimizes \mathcal{A} .

APPENDIX B: NUMERICAL SOLUTIONS

For given σ and k_{eq} with Φ in Eq. (10), the nonlinear equation (7) is solved for ρ using the function *fsolve* in MATLAB for several logarithmically spaced values of x . The numerical result ρ is next fitted with the solution of Eq. (2) [originating from a linear approximation of Φ as a function of ρ in Eq. (7)] with apparent binding parameters, that is,

$$\begin{aligned} \rho = \frac{1}{2}[(n_{\text{app}} + 1/k_{\text{eq,app}} + x) \\ - \sqrt{(n_{\text{app}} + 1/k_{\text{eq,app}} + x)^2 - 4n_{\text{app}}x}]. \end{aligned} \quad (\text{B1})$$

Fits of numerical solutions using Eq. (B1) were performed using the function *lsqcurvefit* in MATLAB up to values of x corresponding to 70% (corresponding to the upper limit in the high density linear approximation) and 95% of the saturation $\rho_s = 1/(1 + \sigma)$. This procedure returns the best fit ρ_{fit} to numerical data and the binding parameters n_{app} and $k_{\text{eq,app}}$ (and thus, $\kappa = k_{\text{eq}}/k_{\text{eq,app}}$) with associated 95% confidence intervals obtained from the function *nlparci*. The resulting n_{app} and κ were found to be independent of k_{eq} for all σ .

- [1] R. B. Maccioni and V. Cambiazo, *Physiol. Rev.* **75**, 835 (1995).
 [2] P. Bongrand, *Rep. Prog. Phys.* **62**, 921 (1999).
 [3] M. F. Dunn, *Encyclopedia of life sciences* (2010).

- [4] H. J. Motulsky and R. R. Neubig, *Curr. Protoc. Neurosci.* **52**, 7.5.1 (2010).
 [5] F. Franks, *Characterization of Proteins* (Humana Press, Totowa, N.J., 1988).

- [6] N. Gustke, B. Trinczek, J. Biernat, E.-M. Mandelkow, and E. Mandelkow, *Biochemistry* **33**, 9511 (1994).
- [7] I. M. Klotz, *Science* **217**, 1247 (1982).
- [8] G. Scatchard, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **51**, 660 (1949).
- [9] H. E. Rosenthal, *Anal. Biochem.* **20**, 525 (1967).
- [10] J. B. Pedersen and W. E. Lindup, *Biochem. Pharmacol.* **47**, 179 (1994).
- [11] J. D. McGhee and P. H. von Hippel, *J. Mol. Biol.* **86**, 469 (1974).
- [12] A. Velázquez-Campoy, *Anal. Biochem.* **348**, 94 (2006).
- [13] K. Zierler, *Trends Biochem. Sci.* **14**, 314 (1989).
- [14] J. G. Okun, P. Lümmlen, and U. Brandt, *J. Biol. Chem.* **274**, 2625 (1999).
- [15] A. R. Duan and H. V. Goodson, *Mol. Biol. Cell* **23**, 4796 (2012).
- [16] M. Hong, V. Zhukareva, V. Vogelsberg-Ragaglia, Z. Wszolek, L. Reed, B. I. Miller, D. H. Geschwind, T. D. Bird, D. McKeel, A. Goate *et al.*, *Science* **282**, 1914 (1998).
- [17] X. Jiang, D. Fischer, X. Chen, S. D. McKenna, H. Liu, V. Sriraman, N. Y. Henry, A. Goutopoulos, S. Arkininstall, and X. He, *J. Biol. Chem.* **289**, 14273 (2014).
- [18] S. Xiao, Q.-F. Chen, and M.-L. Chye, *Plant Physiol. Biochem.* **47**, 926 (2009).
- [19] K. J. Crossley, D. W. Walker, P. M. Beart, and J. J. Hirst, *Neuropharmacology* **39**, 1514 (2000).
- [20] W. S. Hlavacek, R. G. Posner, and A. S. Perelson, *Biophys. J.* **76**, 3031 (1999).
- [21] V. B. Teif and K. Rippe, *J. Phys.: Condens. Matter* **22**, 414105 (2010).
- [22] E. Di Cera and Y. Kong, *Biophys. Chem.* **61**, 107 (1996).
- [23] S. Bobrovnik, *J. Biochem. Biophys. Methods* **52**, 135 (2002).
- [24] J. Jensen, *Biochim. Biophys. Acta: (BBA)-Biomembranes* **1110**, 81 (1992).

Résumé du chapitre 9 : Détermination des paramètres de l'interaction ligand-macromolécule

1. L'objectif de ce chapitre était de présenter et de développer des méthodes permettant d'extraire à partir d'expériences de co-sédimentation à l'équilibre les paramètres importants caractérisant les interactions de type ligand-macromolécule qui sont la stœchiométrie n et la constante de dissociation K_d .
2. Les expériences de co-sédimentation peuvent être réalisées suivant deux approches différentes : une approche dans laquelle la concentration de ligands $[L_{\text{tot}}]$ varie progressivement et la concentration totale de macromolécules $[M_{\text{tot}}]$ est maintenue constante (LvMc) et une approche où la concentration de ligands $[L_{\text{tot}}]$ demeure constante tandis que la concentration totale de macromolécules $[M_{\text{tot}}]$ varie progressivement (LcMv). Dans les deux approches, la concentration de ligands attachés sur la macromolécule $[L_{\text{bound}}]$ est mesurée.
3. Une équation implicite pour $[L_{\text{bound}}]$ a été dérivée en fonction des paramètres n et K_d , de $[M_{\text{tot}}]$ et de $[L_{\text{tot}}]$. À partir de cette équation, une approximation qui peut être facilement utilisée comme courbe d'ajustement sur les données expérimentales a été développée. Nous avons montré que l'équation standard qui est fréquemment utilisée dans la littérature est une mauvaise approximation lorsque la stœchiométrie de la réaction est différente de 1. La meilleure approximation pour $[L_{\text{bound}}]$ est donnée par :

$$[L_{\text{bound}}] = \frac{1}{2\beta} \left[(K_d + \alpha[M_{\text{tot}}] + \beta[L_{\text{tot}}]) \right. \quad (9.3)$$

$$\left. - \sqrt{(K_d + \alpha[M_{\text{tot}}] + \beta[L_{\text{tot}}])^2 - 4\alpha\beta[M_{\text{tot}}][L_{\text{tot}}]} \right], \quad (9.4)$$

où les coefficients α et β sont uniquement fonction de la stœchiométrie n et sont donnés par :

$$\alpha = 2 \left[\frac{1}{1+n} \right]^{1/n} \quad \text{et} \quad \beta = \frac{3-n}{n} \left[\frac{1}{1+n} \right]^{1/n}. \quad (9.5)$$

4. Une méthode permettant de corriger directement les paramètres n et K_d venant de l'ajustement des données avec l'équation standard a également été développée. Nous avons montré que l'analyse standard sous-estime la stœchiométrie et surestime l'affinité des ligands pour la macromolécule et que l'écart est d'autant plus grand que la stœchiométrie est petite.

Chapitre 10

Décoration d'un microtubule par Tau : Modèle bidimensionnel

L'objectif de ce chapitre est de caractériser la distribution des protéines Tau présents à la surface d'un microtubule stabilisé, c'est-à-dire en l'absence d'instabilité dynamique. Cette distribution dynamique sera caractérisée en termes de (i) densité moyenne de Tau présents sur le microtubule et (ii) de distribution spatiale des Tau à la surface du microtubule.

Résumé

Le but de cette étude était de caractériser la manière dont une population de protéines Tau peut décorer la surface d'un microtubule. Cet objectif est principalement motivé par la diversité et l'importance des fonctions biologiques résultantes de l'interaction Tau-microtubule et constitue un premier pas vers la compréhension de la manière dont Tau assure ses fonctions. Une recherche bibliographique a été menée afin de dresser un portrait plausible de l'interaction des Tau sur un microtubule stabilisé à l'échelle des tubulines et un modèle mathématique a été développé en se basant sur ces informations. L'interaction Tau-microtubule est décrite comme un processus d'attachement et de détachement dans lequel chaque protéine Tau peut s'attacher soit suivant le mode longitudinal avec une constante d'équilibre $k_{\text{eq,p}}$ ou soit suivant le mode latéral avec une constante d'équilibre $k_{\text{eq,h}}$ sous réserve de places disponibles. On suppose qu'une fois dans le mode longitudinal, une protéine Tau couvre $(1 + \sigma_p)$ sites consécutifs (dimères de tubuline $\alpha\beta$) le long d'un protofilament et qu'une fois dans le mode latéral, elle couvre $(1 + \sigma_h)$ sites consécutifs dans la direction latérale. Le processus de décoration des Tau est contrôlé par 5 paramètres : σ_p et σ_h pour la taille des Tau respectivement dans le mode longitudinal et latéral, $k_{\text{eq,p}}$ et $k_{\text{eq,h}}$, les constantes d'équilibre des deux modes et x qui correspond au ratio entre le nombre total de protéines Tau dans la solution et le nombre total de sites constituant le microtubule. Ce processus conduit à une décoration dynamique de la surface du microtubule que nous avons caractérisé en termes de (i) densité moyenne de protéines Tau attachées longitudinalement (le long des protofilaments) ρ_p , (ii) densité moyenne de protéines Tau attachées latéralement (entre protofilaments) ρ_h et (iii) distribution des plus proches voisins à la surface du microtubule en fonction des densités ρ_p et ρ_h . Nous avons dérivé des expressions analytiques pour les densités ρ_p et ρ_h en fonction des paramètres du problème et $P_{\perp}(r)$, $P_{\parallel}(r)$, les distributions des plus proches voisins respectivement le long de la direction latérale et longitudinale. Nous avons montré que les résultats pour les densités ρ_p et ρ_h peuvent s'organiser dans un espace des phases dans lequel ρ_h est tracée en fonction de ρ_p . Les trajectoires dans un tel espace sont paramétrisées par le ratio entre les deux constantes d'équilibre $\kappa = k_{\text{eq,p}}/k_{\text{eq,h}}$ et chaque point de cet espace représente une unique décoration du microtubule. Les distributions $P_{\perp}(r)$, $P_{\parallel}(r)$ sont fonction des densités ρ_p et ρ_h et sont non-exponentielles de manière générale et deviennent de type exponentiel dans le cas où seul un des deux modes d'attachement existe, c'est-à-dire dans la limite $\kappa \rightarrow 0$ où $\kappa \rightarrow +\infty$. Le processus de décoration a également été simulé numériquement et les résultats sont en très bon accord avec les expressions analytiques.

Ce travail a été présenté en 2018 au Symposium de l'EMBL/EMBO sur les Microtubules à Heidelberg. Le poster est disponible en Annexe [D.2](#).

Dynamical decoration of a microtubule by tau-proteins

Jordan Hervy^{1,2} and Dominique J. Bicut^{1,3,*}

¹*Institut Laue-Langevin, 71 Avenue des Martyrs, 38042 Grenoble, France*

²*Laboratory of Physics and Modelling of Condensed Matter,
Grenoble Alpes University, CNRS, Grenoble, France*

³*EPSP, TIMC Laboratory, UMR CNRS 5525 Grenoble Alpes University, VetAgro Sup, France*

(Dated: November 8, 2018)

Tau proteins play a fundamental role in neuronal cells especially in the regulation of axonal transport, communication between the cell body and neuronal processes and in maintaining the architecture and integrity of axons. Emergence of abnormalities in tau (e.g. aberrant phosphorylation) was found to be correlated with appearance and development of neurodegenerative diseases commonly referred as *tauopathies*. It is therefore of paramount importance to understand how do tau proteins interact with microtubules to ensure and modulate the stability and assembly of axonal arrays of microtubules. Based on a research from published papers, we have described the interaction tau-microtubule as an adsorption-desorption process in which tau can bind to the microtubule via two distinct modes: (i) a longitudinal mode (along a protofilament) and (ii) a lateral mode (across adjacent protofilaments). This process yields to a dynamical distribution of tau on the microtubule wall referred to as *microtubule decoration* that we have characterized in terms of two observable quantities: microtubule coverage and spatial distribution of tau.

Microtubules are one of the three types of filamentous polymers that constitute the cellular cytoskeleton. A key feature of microtubules is their dynamic nature [1, 2]. This dynamical behaviour, referred to as *dynamic instability*, is exquisitely regulated and is crucial to many cellular activities including cell division, intracellular transport and the establishment and maintenance of cell shape and polarity [3]. Tau (Tubulin Associated Unit) is an important microtubule-regulating protein that is predominantly expressed in axons [4]. This neuronal protein has been reported to cover a large range of fundamental microtubule-related functions. In particular, tau promotes tubulin assembly [5, 6], stabilizes (i.e, regulates) the dynamic instability of microtubules [7, 8], spatially organizes microtubules in a parallel network in axons [9] and can control the axonal transport in regulating the walk of kinesins and dyneins along microtubules [10]. Overall, tau significantly contributes to the stabilization of neuronal microtubules, although the mechanisms underlying these biological functions are still not well understood. Furthermore, appearance of dysfunctions in the couple tau-microtubule has been correlated with numerous neurodegenerative diseases commonly referred as *tauopathies* including Alzheimers, Huntington's and Pick's diseases [11–13]. This group of neurodegenerative diseases is characterized by an accumulation of abnormal tau protein in the human brain [14]. Both gain of toxicity and loss of normal function of tau-proteins are thought to contribute to the development of *tauopathies* [3, 15].

Because of its important implication in neurodegenerative disorders, tau has been the focus of much study, with a recent emphasis on tau-based therapeutic strategies [16, 17]. To understand how tau ensure the essential normal functions, it is of paramount importance to determine how it interacts with microtubules. In the present study, we are interested in the binding reaction between a population of tau-proteins and a stabilized-microtubule. As illustrated in Fig. 1, this reaction yields a dynamical distribution of tau on the microtubule surface, which we will refer to as *microtubule decoration*. The main objective of this paper is to characterize the way in which a stabilized-microtubule can be decorated by an ensemble of tau-proteins in terms of:

- (i) the mean number of bound-tau.
- (ii) the spatial distribution of tau on the microtubule surface.

To address the way in which these two important observable quantities evolve as a function of key parameters controlling the binding reaction, we develop a general model, based on an investigation from published papers. In order to gain a reasonable picture of the interaction tau-microtubule that will serve as a basis for our model, we have followed two axes. The first is related to the structure of the microtubule lattice with the aim to properly define the playground where tau undergoes the binding reaction. Our second line of interest was the specific interaction between tau and a stabilized-microtubule which includes (i) the location of binding sites for the tau-proteins (ii) tau's binding geometry and (iii) the stoichiometry of reaction. For each of these two points, we have assembled a database from published papers (see supplementary information) with the main results summarised below.

*Electronic address: bicout@ill.fr

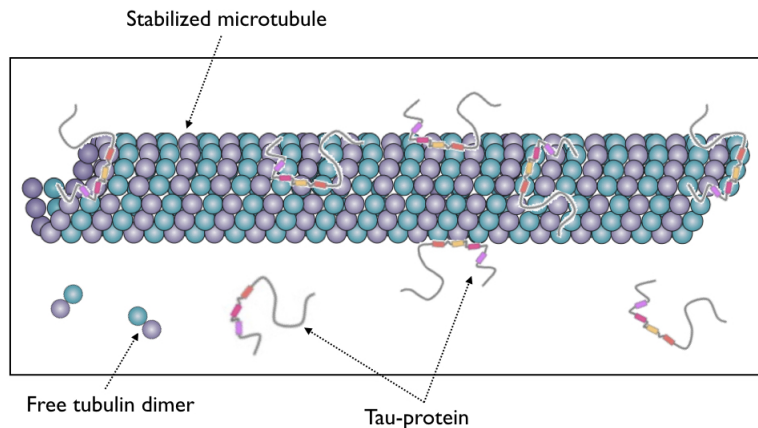


FIG. 1: Cartoon showing a population of tau that may bind and unbind with a stabilized microtubule. The aim of this paper is to characterize the way in which the tau molecules decorate a microtubule. Sketches for the microtubule, free tubulin dimers and tau-proteins have been adapted from [18] and [19].

I. BIBLIOGRAPHIC RESEARCH

Structure of the microtubule lattice

Microtubules are composed of 8 nm long $\alpha\beta$ -tubulin dimers which are aligned end-to-end to form linear protofilaments [20]. Most of the microtubules assembled *in vitro* and *in vivo* are composed of $p = 13$ protofilaments [21] with a longitudinal shift of $12/13 \approx 0.92 nm$ between protofilaments, generating a left-handed three-start helix [22–24]. As shown in Fig. 2a,b, the distance separating two protofilaments is about 5 nm [22]. At the microscopic level, $\alpha\beta$ -tubulin heterodimers are packed in a B-type lattice, which has been found to be the most favorable configuration [25]. In this lattice, interactions between protofilaments involve homologous subunits ($\alpha - \alpha$ and $\beta - \beta$) except at the seam (i.e., between the first and the last protofilament), where a discontinuity exists due to the pitch of three tubulin monomers. The main consequence of this particular packing is that the microtubule is a polar structure with an extremity called ”+ end” exhibiting a β monomer, while the other, ”- end” exhibits an α monomer. In the present study we assumed that the microtubule curvature due to its helicoidal geometry does not affect the binding of tau molecules and that the 13 protofilaments consisting the microtubule are identical. We therefore took the flattened representation shown in Fig. 2b as an appropriate simplification for the process of attachment of the tau proteins.

Interaction tau-microtubule

Comparisons between tau decorated and control microtubules using cryo-electron microscopy revealed binding of tau proteins at the outer microtubule surface [26–28]. This was also supported by atomic force microscopy [29] while a study in 2003 reported a possible binding site at the inner microtubule surface close to the taxol-binding site on β -tubulin [30]. Later on, Makrides *et al* [31] suggested that these discrepancies may come from differences in the experimental protocol when adding tau proteins into the solution with either an addition to pre-stabilized MTs or to polymerizing tubulin. However, a recent high resolution cryo-EM study has shown that in both experimental conditions, tau was always binding at the outer MT surface [28]. On the other hand, it has been shown that binding of tau is not end-specific and can occur along the length of microtubules [32]. The question of the mode of binding and the geometry of tau when bound to the MT surface is still very controversial. A certain number of studies [27, 28, 32, 33] have suggested that tau would rather adopt an ordered structure along protofilament ridges when bound to the microtubule. In contrast, structures of bound tau crossing adjacent protofilaments were observed by [29]. Finally, a combination of high-resolution metal-shadowing and cryo-EM has revealed the existence of longitudinal and lateral bound-tau on the same MT [26]. This observation is consistent with a recent study showing that tau promotes the formation of tubulin rings alone and stacks of tubulin rings [34]. In the absence of any further information, we will consider the general case with two binding modes for the tau-proteins: (i) a longitudinal one, in which binding occurs along a given protofilament and (ii) a lateral one, in which binding across adjacent protofilaments. Regarding the binding reaction, cosedimentation data in [35, 36] suggest that tau proteins bind to the microtubule in a non-cooperative way. On the other hand, most of the reported values are close and compatible with a stoichiometry of 0.5 ; $\nu = 0.4$ [37–39], $\nu = 0.412$ [40], $\nu = 0.46$ [36] and $\nu = 0.52$ [27]. Furthermore, if we consider the microtubule as an homogeneous one dimensional lattice, the abovementioned stoichiometries can be corrected using the method developed in [41] which leads to the unique value $\nu = 0.5$ corresponding to one tau for two $\alpha\beta$ -tubulin

dimers. Based on these information, we will consider that each bound tau can either cover two dimers along a protofilament or either across two protofilaments at the outer microtubule surface. We can propose as an synthesis of the published results, the schematic picture as shown in Fig. 2. This picture will be used as a starting point to define the binding rules in a model describing the way in which a stabilized-microtubule is dynamically decorated by a population of tau proteins.

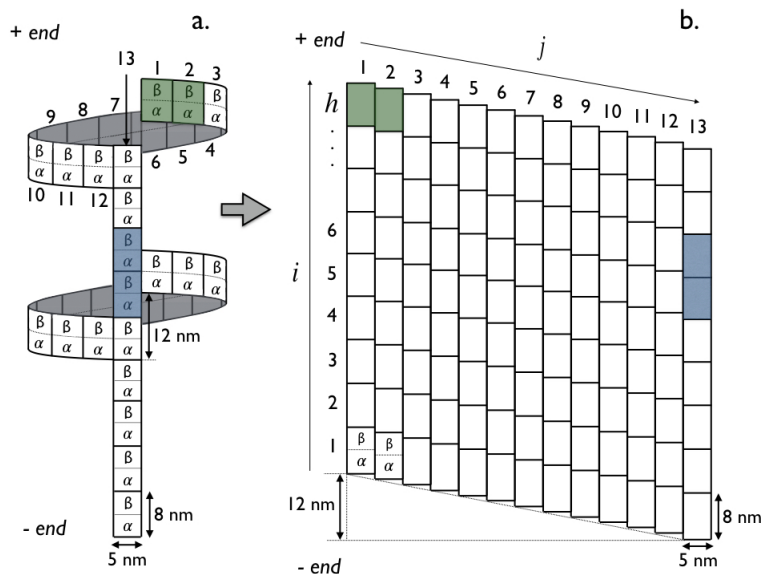


FIG. 2: Sketch representing the way in which tau may interact with a stabilized microtubule (see main text for detailed explanations). (a) Three-dimensional representation of the microtubule lattice consisting of $p = 13$ protofilaments with two bound-tau: one in mode "p" (shown in blue) and one in mode "h" (shown in green). (b) By doing the approximation that the helicoidal geometry of the microtubule does not affect the binding process, the microtubule can be considered as a two-dimensional lattice. The lattice is consisting of $N = h \times p$ lattice sites (i.e., tubulin dimers) where h is the number of $\alpha\beta$ -tubulin dimers along the protofilament axis i .

II. GENERAL DECORATION MODEL

In order to provide a formalism that is as general as possible, we consider that a bound-tau in mode "p" covers $(1 + \sigma_p)$ consecutive sites along the protofilament axis i and its projection along the helicoidal axis j covers $(1 + \gamma_p^h)$ consecutive sites. Equivalently, a bound-tau in mode "h" is assumed to cover $(1 + \sigma_h)$ sites along the helicoidal axis j and its projection along the protofilament axis i to cover $(1 + \gamma_h^p)$ consecutive sites. The attachment of tau can only occur on free lattice sites; neither partial, nor overlapping, nor stacked bindings are allowed. To avoid situations in which a bound-tau along a protofilament could overlap, and thus block binding of an another tau on the adjacent protofilament, we introduce a constraint on the size of a tau in mode "p" viewed from the transversal direction such as that $\gamma_p^h < 1$. Using similar considerations for a bound-tau in mode "h", we have a second condition given by $\gamma_h^p < 1$. Furthermore, we consider that the lateral binding of a tau (mode "h") at the seam (i.e., between protofilament $j = 1$ and $j = 13$) is not allowed. These binding rules are illustrated and summarized in Fig. 3 for a microtubule lattice consisting of $N = 9 \times 13$ sites. In this model, the adsorption of tau is therefore a saturable process; accumulation on the microtubule surface is not possible. A stoichiometry matrix can thus be defined as

$$\nu \equiv \begin{pmatrix} \nu_{pp} & \nu_{ph} \\ \nu_{hp} & \nu_{hh} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \frac{1}{1 + \sigma_p} & \frac{1}{1 + \gamma_p^h} \\ \frac{1}{1 + \gamma_h^p} & \frac{1}{1 + \sigma_h} \end{pmatrix}, \quad (1)$$

where σ_p and σ_h are integer numbers and γ_h^p and γ_p^h are positive reals with the constraints $\gamma_h^p < 1$ and $\gamma_p^h < 1$. The matrix element ν_{ph} corresponds to the apparent stoichiometry of a tau in mode p as viewed from the direction corresponding to the mode h (i.e., the transversal microtubule direction). According to these definitions, the case of interest of this paper, as shown in Fig. 2, corresponds to $\sigma_p = \sigma_h = 1$ and $\gamma_h^p = \gamma_p^h = 0$. This leads to the following stoichiometry matrix

$$\nu = \begin{pmatrix} 1/2 & 1 \\ 1 & 1/2 \end{pmatrix}. \quad (2)$$

Let us denote by ρ_p and ρ_h , the densities (coverage) of bound-tau in mode "p" and "h", respectively. The

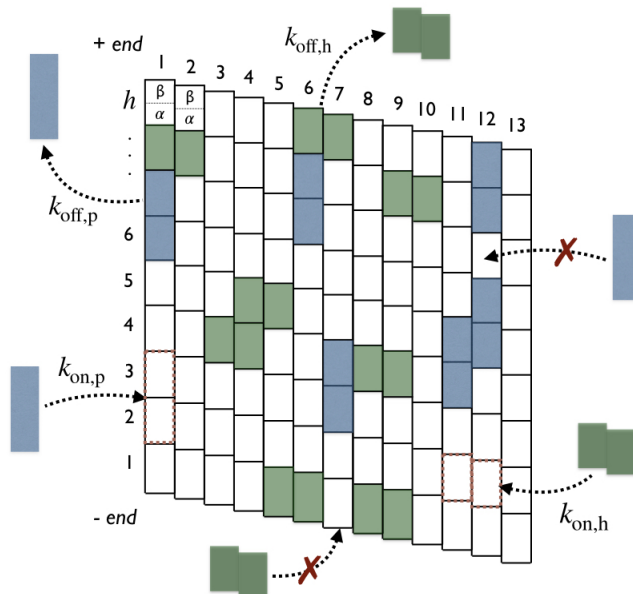


FIG. 3: Illustration of the binding rules with a microtubule lattice consisting of $N = 9 \times 13$ sites. Attachment and detachment of tau-proteins (in blue for a bound tau in mode "p" and in green for the mode "h") are represented by incoming and outgoing arrows with their respective rates: $k_{\text{on},p}$, $k_{\text{off},p}$ for the mode "p" and $k_{\text{on},h}$ and $k_{\text{off},h}$ for the mode "h". Situations in which the attachment of tau does not respect the binding rules are indicated with red crosses.

problem addressed in this paper is to characterize the decoration of a microtubule by tau. To this end, we will focus on the two following observables:

- (i) $\rho = \rho_p + \rho_h$: the total microtubule coverage by tau
- (ii) $P_{k=\{\parallel, \perp\}}(r)$: the averaged distribution for the longitudinal ($k = \parallel$) and lateral ($k = \perp$) spacing between the bound tau proteins at the microtubule surface.

The kinetics of binding reaction is described as the "car-parking problem" (CPP) where tau-molecules reversibly bind to and detach from the microtubule lattice consisting of $N = h \times p$ binding sites with an effective on-rate $k_{\text{on},p} = k'_{\text{on},p} \times \theta$ and an off-rate $k_{\text{off},p}$ for the protofilament mode "p" and with an effective on-rate $k_{\text{on},h} = k'_{\text{on},h} \times (1 - \theta)$ and an off-rate $k_{\text{off},h}$ for the helicoidal (i.e., lateral) mode "h". θ is the probability for a tau-molecule of choosing to bind in mode "p" and $k'_{\text{on},p}$, $k'_{\text{on},h}$ are the intrinsic on-rates for the mode "p" and "h", respectively. The dynamics of ρ_p and ρ_h is then described by the following mean field coupled differential system:

$$\begin{cases} \frac{d\rho_p}{dt} = k_{\text{on},p} (x - \rho_p - \rho_h) \Phi_p(\rho_p, \rho_h) - k_{\text{off},p} \rho_p, \\ \frac{d\rho_h}{dt} = k_{\text{on},h} (x - \rho_p - \rho_h) \Phi_h(\rho_p, \rho_h) - k_{\text{off},h} \rho_h, \end{cases} \quad (3)$$

where x is the *tau:tubulin* ratio (i.e., the ratio between the total number of tau-proteins in solution and the number of lattice sites, $N = h \times p$). The two terms $\Phi_p(\rho_p, \rho_h)$ and $\Phi_h(\rho_p, \rho_h)$ represent the probabilities for inserting an additional tau in mode "p" and mode "h", respectively, on the microtubule lattice already covered with a distribution of tau at densities ρ_p and ρ_h . Note that the insertion probabilities are $\Phi_p(\rho_p = 0, \rho_h = 0) = \Phi_h(\rho_p = 0, \rho_h = 0) = 1$ for an empty microtubule lattice while they are $\Phi_p(\rho_p = \rho_{p,s}, \rho_h = \rho_{h,s}) = \Phi_h(\rho_p = \rho_{p,s}, \rho_h = \rho_{h,s}) = 0$ at saturation densities $\rho_{p,s}$ and $\rho_{h,s}$. The first term in right side of Eq. (3) represents the increasing of ρ_p in incorporating new tau-proteins of type "p" on the lattice while the second one stands for the decreasing of ρ_p due to the detachment of tau-proteins in this mode. The second line of Eq. (3) corresponds to the dynamics of ρ_h and is obtained in a similar way. The complete list of the 7 key parameters controlling the process of decoration is reported in I. In the present study, we consider the equilibrium state where $d\rho_p/dt = d\rho_h/dt = 0$. In this case, the densities ρ_p and ρ_h and therefore the total coverage $\rho = \rho_p + \rho_h$

	Symbol	Definition
Key parameters	σ_p	Size of tau in mode "p"
	σ_h	Size of tau in mode "h"
	$k_{\text{on},p}$	Effective on-rate for the mode "p"
	$k_{\text{off},p}$	Off-rate for the mode "p"
	$k_{\text{on},h}$	Effective on-rate for the mode "h"
	$k_{\text{off},h}$	Off-rate for the mode "h"
	x	tau:tubulin ratio
Observables	ρ_p	Microtubule-coverage by tau in mode "p"
	ρ_h	Microtubule-coverage by tau in mode "h"
	$P_k(r)$	Nearest neighbour distribution along the direction $k = \{\parallel, \perp\}$
	$\langle r_k(r) \rangle$	Mean distance separating two bound-tau along the direction $k = \{\parallel, \perp\}$
	S	Order parameter

TABLE I: The dynamical process of microtubule decoration by tau is controlled by 7 key parameters. At the equilibrium, the decoration is controlled by 5 key parameters: σ_p , σ_h , x and the two equilibrium constants $k_{\text{eq},p} = k_{\text{on},p}/k_{\text{off},p}$ and $k_{\text{eq},h} = k_{\text{on},h}/k_{\text{off},h}$. The main observable quantities are (i) the total microtubule coverage $\rho = \rho_p + \rho_h$ and (ii) the nearest neighbour distribution $P_k(r)$. From these two observables, secondary quantities such as the mean distance separating two bound-tau $\langle r_k(r) \rangle$ and the order parameter S can be derived.

can be obtained by solving the equations:

$$\begin{cases} \frac{\rho_p}{(x - \rho_p - \rho_h)} = k_{\text{eq},p} \Phi_p(\rho_p, \rho_h), \\ \frac{\rho_h}{(x - \rho_p - \rho_h)} = k_{\text{eq},h} \Phi_h(\rho_p, \rho_h), \end{cases} \quad (4)$$

where $k_{\text{eq},p} = k_{\text{on},p}/k_{\text{off},p}$ and $k_{\text{eq},h} = k_{\text{on},h}/k_{\text{off},h}$ are the equilibrium constants related to the longitudinal and the lateral binding modes, respectively. To go further in the study of the spatial structure of the two-dimensional lattice, the nearest neighbor probability distribution will also be computed. The geometry of the microtubule as shown in Fig. 1 naturally brings us to look at $P_{k=\{\parallel, \perp\}}(r)$, the spatial distribution of attached tau proteins along (i) the protofilament direction ($k = \perp$) and (ii) along the helix direction ($k = \parallel$). As illustrated in Fig. 5b for the longitudinal direction (i.e., $k = \perp$), r corresponds to the unitless center-to-center distance separating two nearest neighbors bound-tau. Accordingly, $P_k(r)$ can be expressed as follows

$$P_{k=\{\parallel, \perp\}}(r) = \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^2 z_{k,i} z_{k,j} P_{k,ij}(r), \quad \text{with } \{1 \equiv p; 2 \equiv h\} \quad \text{and} \quad k = \{\parallel, \perp\}, \quad (5)$$

where $P_{k,ij}(r)$ is the partial nearest neighbour distribution (i.e., between a bound tau in mode " $i = h, p$ " and one in mode " $j = h, p$ ") and $z_{k,p}$ and $z_{k,h}$ are the partial fractions of attached tau in mode "p" and "h" as viewed along the direction $k = \{\perp, \parallel\}$, respectively and are given by

$$z_{k,p} = \frac{\rho_{k,p}}{\rho_{k,p} + \rho_{k,h}} \quad \text{and} \quad z_{k,h} = 1 - z_{k,p}. \quad (6)$$

$\rho_{k,p}$ and $\rho_{k,h}$ are the directional densities i.e., the average density of tau in a given mode when looking along the direction $k = \{\perp, \parallel\}$, see Fig. 8 for illustration. Regarding the structure of Eq. (5), the task here is to derive an expression for the partial distributions $P_{k,ij}(r)$ and to express the directional densities $\rho_{k,p}$ and $\rho_{k,h}$ as a function of ρ_p and ρ_h . To complete the picture, we introduce an order parameter S varying between -1 and $+1$ defined as

$$S = (1 + \sigma_p)\rho_p - (1 + \sigma_h)\rho_h. \quad (7)$$

As we shall see later, the value of this parameter gives an information about the way in which the tau-proteins are spatially ordered on the microtubule lattice. We will now discuss results for the observable quantities listed in Tab. I as a function of the key parameters controlling the dynamical process of decoration.

III. RESULTS

The key functions in the dynamical microtubule decoration process are the probabilities Φ_p and Φ_h of inserting new tau-molecules in mode "p" and "h", respectively, on the microtubule already filled with other tau at densities

(ρ_p, ρ_h) . These probabilities have to take into account the binding rules defined in Sec. II and illustrated in Fig. 3. One can show (see Sec. V for the derivation) that for noncooperative tau-proteins, Φ_p and Φ_h are given by:

$$\begin{cases} \Phi_p = \frac{[1 - (1 + \sigma_p)\rho_p - (1 + \gamma_h^p)(1 + \sigma_h)\rho_h]^{1+\sigma_p}}{(1 - \sigma_p\rho_p - \gamma_h^p(1 + \sigma_h)\rho_h)^{\sigma_p}}, \\ \Phi_h = \frac{[1 - (1 + \sigma_h)\rho_h - (1 + \gamma_p^h)(1 + \sigma_p)\rho_p]^{1+\sigma_h}}{(1 - \sigma_h\rho_h - \gamma_p^h(1 + \sigma_p)\rho_p)^{\sigma_h}}. \end{cases} \quad (8)$$

The coupled system in Eq. (4) is now fully characterized and the two main quantities representing the microtubule decoration by tau can be derived. As dealing with two binding modes in the general decoration model introduces two densities: ρ_p and ρ_h , it is natural to investigate the evolution of one population as a function of the other one. Such a plot gives the phase space of the system and as we will see below, it appears as a very convenient way to organize the results for the coverage and the spatial distribution.

Phase space of the microtubule-decoration by tau

Using Eqs. (8) and (4), we first express the ratio ρ_p/ρ_h as

$$\frac{\rho_p}{\rho_h} = \kappa \frac{(1 - \sigma_h\rho_h)^{\sigma_h}}{(1 - \sigma_p\rho_p)^{\sigma_p}} \left\{ \frac{[1 - (1 + \sigma_p)\rho_p - (1 + \gamma_h^p)(1 + \sigma_h)\rho_h]^{1+\sigma_p}}{[1 - (1 + \sigma_h)\rho_h - (1 + \gamma_p^h)(1 + \sigma_p)\rho_p]^{1+\sigma_h}} \right\}, \quad (9)$$

where $\kappa = k_{\text{eq,p}}/k_{\text{eq,h}}$ is defined as the ratio between the two equilibrium constants. In the limit $\gamma_p^h = \gamma_h^p = 0$ (i.e., every bound-tau in a given binding mode only cover binding sites along the direction of the mode, see Fig. 2 for illustration), the term inside the curly brackets in Eq. (9) is equals to 1 and the ratio ρ_p/ρ_h simply becomes

$$\frac{\rho_p}{\rho_h} = \kappa \frac{(1 - \sigma_h\rho_h)^{\sigma_h}}{(1 - \sigma_p\rho_p)^{\sigma_p}}. \quad (10)$$

Numerical or analytical, if possible, resolution of Eq. (10) allows us to determine the phase space of the system i.e., the density evolution of one mode versus the other. Without loss of generality, in the following we will consider the evolution of ρ_h as a function of ρ_p . The phase space corresponding to physical densities is constrained by the two conditions on the insertion probabilities: $\Phi_p \geq 0$ and $\Phi_h \geq 0$ which lead to the following inequality (in the limit $\gamma_p^h = \gamma_h^p = 0$)

$$1 - (1 + \sigma_p)\rho_p - (1 + \sigma_h)\rho_h \geq 0 \quad \Rightarrow \quad \rho_h \leq \frac{1 - (1 + \sigma_p)\rho_p}{1 + \sigma_h}. \quad (11)$$

As shown in Fig. 4, solutions of the coupled system in Eq. (4) can be represented in a phase space in which all the points lie in the triangle sector defined by the two axes $\rho_h = 0$ and $\rho_p = 0$ and the saturation line $\rho_{h,s}(\rho_{p,s})$ given by

$$\rho_{h,s}(\rho_{p,s}) = \frac{1 - (1 + \sigma_p)\rho_{p,s}}{1 + \sigma_h}. \quad (12)$$

Note that trajectories $\rho_h(\rho_p)$ in a such phase space only depend on κ and terminate on the saturation line, yielding the values of ρ_p and ρ_h at the saturation limit (i.e., when the microtubule lattice is completely filled by the tau-proteins). The symmetric case, $\sigma_p = \sigma_h$, shows some interesting features. Indeed, one can show from Eq. (10) that in this symmetric case the trajectory is linear and is given by $\rho_p = \rho_h$ for $\kappa = 1$. As we can see in Fig. 4b, this is not the case for trajectories corresponding to a ratio $\kappa \neq 1$. Interestingly, the curve $\rho_h(\rho_p, \kappa)$ for a given $\kappa > 1$ is the mirror image of that for $1/\kappa$. This property is illustrated in Fig. 4b) for two trajectories: one corresponding to the ratio $\kappa = 2$ and the other for $\kappa = 10$. Therefore, the knowledge of trajectories which are below the line $\rho_h = \rho_p$ is enough to reconstitute the entire phase space of the system. One can show from Eq. (10) that this property only applies for systems in which $\sigma_p = \sigma_h$ (i.e., when particles are of the same size) and is expressed by the following relation

$$\rho_h(\rho_p, \kappa) = \rho_p(\rho_h, 1/\kappa). \quad (13)$$

An example of phase space corresponding to an asymmetric case in which $\sigma_p \neq \sigma_h$, is shown in Fig. 4a) and one can clearly see that the properties mentioned before are no longer valid. The two phase spaces illustrated in Fig. 4 correspond to $\sigma_p = 2$ and $\sigma_h = 0$ for the asymmetric case and $\sigma_p = \sigma_h = 1$ for the symmetric case and

have been derived analytically by solving Eq. (10). For these specific cases, the trajectories $\rho_h(\rho_p, \kappa)$ are given by the following equations

$$\left\{ \begin{array}{ll} \rho_h(\rho_p, \kappa) = \frac{\rho_p(1 - \sigma_p \rho_p)^{\sigma_p}}{\kappa} & \text{for } \sigma_h = 0, \quad \text{see Fig. 4a for illustration,} \\ \rho_h(\rho_p, \kappa) = \frac{1}{2} \left[1 - \sqrt{1 - \frac{4\rho_p(1 - \rho_p)}{\kappa}} \right] & \text{for } \sigma_p = \sigma_h = 1 \quad \text{see Fig. 4b for illustration.} \end{array} \right. \quad (14)$$

We now study in greater details the phase space shown in Fig. 4b) corresponding to the case of interest $\sigma_p = \sigma_h = 1$ illustrated in Figs. 2 and 3. As we have seen before, the evolution of ρ_h as a function of ρ_p only depends on κ . However, the position along a given trajectory depends on the key parameters of the reaction: the *tau:tubulin ratio*, x and the effective equilibrium constant $k_{\text{eq}} = k_{\text{eq,p}} + k_{\text{eq,h}}$. As an illustration of this point, we can see in Fig. 4 that the two points *A* and *B* obtained for identical equilibrium constants ($k_{\text{eq,p}} = k_{\text{eq,h}} = 1.5$ in this example), but with distinct values of x ($x = 0.15$ and $x = 10$, respectively), are both on the same trajectory $\rho_h(\rho_p, \kappa = 1) = \rho_p$ but not at the same position. This reflects the fact that for a set of equilibrium constants ($k_{\text{eq,p}}, k_{\text{eq,h}}$), points which are solution of Eq. (4) belong to the trajectory $\rho_h(\rho_p, \kappa)$ in Eq. (14) and will get closer and closer to the saturation line by increasing the value of the *tau:tubulin ratio*. Intersection between a given trajectory $\rho_h(\rho_p, \kappa)$ and the saturation line given by $\rho_{h,s} = 1/2 - \rho_{p,s}$ (obtained by taking the limit $\sigma_p = \sigma_h = 1$ in Eq. (12)) leads to the following coordinates $(\rho_{p,s}, \rho_{h,s})$ at the saturation limit

$$\rho_{p,s}(\kappa) = \frac{1 - \sqrt{1 - \kappa(1 - \kappa)}}{2(1 - \kappa)}, \quad \rho_{h,s}(\kappa) = \frac{\sqrt{1 - \kappa(1 - \kappa)} - \kappa}{2(1 - \kappa)}. \quad (15)$$

Some points corresponding to the saturation limit of the microtubule lattice are shown in Fig. 4 for various values of κ . It is interesting that even if $\rho_{p,s}$ and $\rho_{h,s}$ are function of κ , the total coverage is independent of κ and is given by $\rho_s = \rho_{p,s} + \rho_{h,s} = 1/2$. This property is a consequence of Eq. (12) for the saturation line which appears to be an approximation when the microtubule is saturated of tau in mode "h". Indeed, since at the seam attachment of tau in mode "h" is not allowed, the largest value for the density of helicoidal bound-tau is $\rho_h = 6/13 \approx 0.46$ instead of $1/2$. This corrected value correspond to the physical saturation limit in which exactly 6 tau in mode "h" are bound (i.e., 12 lattice sites are occupied) per helix. The corrected saturation line is shown in Fig. 4b) in dashed line and is given by (in the limit $h \gg 1$)

$$\rho_{h,s}(\rho_{p,s}) = \begin{cases} \frac{6}{13} & \text{for } 0 \leq \rho_{p,s} < \frac{1}{26}, \\ \frac{1}{2} - \rho_{p,s} & \text{for } 1/26 \leq \rho_{p,s} \leq \frac{1}{2}. \end{cases} \quad (16)$$

As we can see in Fig. 4, the saturation line in Eq (12) is exact for $1/26 \leq \rho_{p,s} \leq 1/2$ but becomes an approximation for $\rho_{p,s} < 1/26$ yielding a maximum relative error of about 4%. For simplicity, in the rest of this paper we will use the Eq. (12) as an approximation.

Diluted regime

We will now consider the diluted regime, which appears to be particularly relevant in the context of axons [42]. In such a regime, the microtubule coverage is low i.e., $\rho_p \ll 1$ and $\rho_h \ll 1$ and then the insertion probabilities in Eq. (8) can be linearized leading to

$$\left\{ \begin{array}{l} \Phi_p \approx 1 - (1 + 2\sigma_p) \rho_p - (1 + \sigma_h) (1 + \sigma_p + \gamma_h^p) \rho_h + O(\rho_p \rho_h), \\ \Phi_h \approx 1 - (1 + 2\sigma_h) \rho_h - (1 + \sigma_p) (1 + \sigma_h + \gamma_p^h) \rho_p + O(\rho_p \rho_h). \end{array} \right. \quad (17)$$

By using Eqs. (4) and (17), we get the following quadratic coupled equations for ρ_p and ρ_h , in the diluted regime

$$\left\{ \begin{array}{l} \rho_p = k_{\text{eq,p}} (x - \rho_p - \rho_h) \{1 - (1 + 2\sigma_p) \rho_p - (1 + \sigma_h) (1 + \sigma_p + \gamma_h^p) \rho_h\}, \\ \rho_h = k_{\text{eq,h}} (x - \rho_p - \rho_h) \{1 - (1 + 2\sigma_h) \rho_h - (1 + \sigma_p) (1 + \sigma_h + \gamma_p^h) \rho_p\}. \end{array} \right. \quad (18)$$

This system can be solved analytically, by linearizing the trajectories $\rho_h(\rho_p)$ in the phase space shown in Fig. 4. At first order, Eq. (10) simply becomes

$$\rho_h \simeq \frac{\rho_p}{\kappa} + O(\rho_p^2), \quad (19)$$

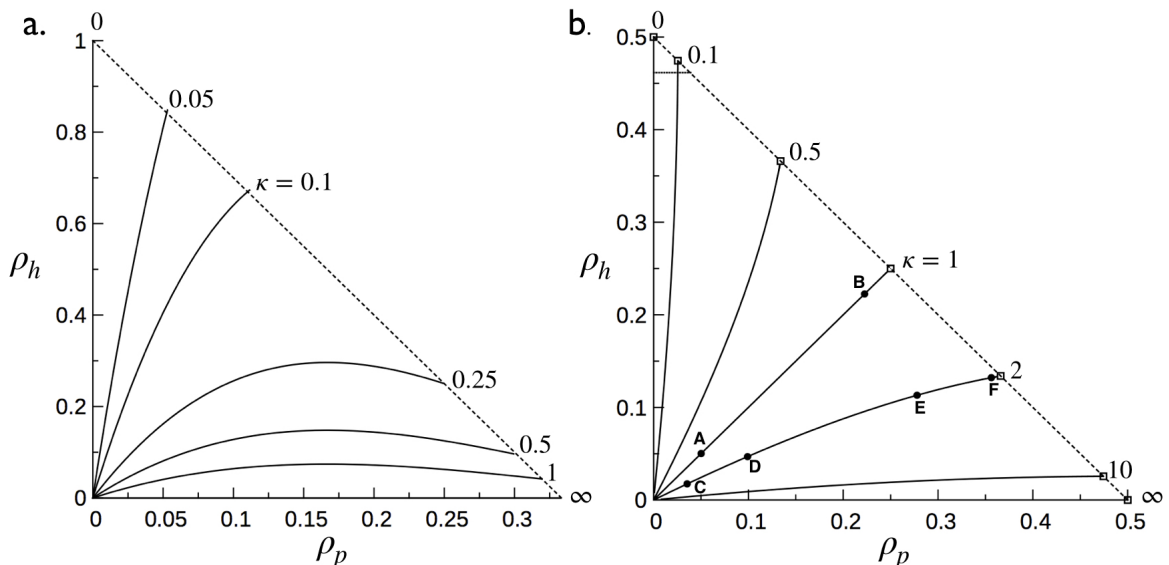


FIG. 4: Phase space of the microtubule-decoration process by tau: ρ_h is plotted as a function of ρ_p for several values of κ . (a) Example of an asymmetric case with $\sigma_p \neq \sigma_h$ ($\sigma_p = 2$ and $\sigma_h = 0$) in which trajectories are given by Eq. (14) and are plotted for $\kappa = 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1$. Dashed line corresponds to the saturation line obtained by taking the limit $\sigma_p = 2$ and $\sigma_h = 0$ in Eq. (12). (b) Case of interest of this paper with $\sigma_p = \sigma_h = 1$ (see Figs. 2 and 3 for illustration). Trajectories for $\kappa = 0.1, 0.5, 1, 2, 10$ are shown in solid line. The dashed line corresponds to the saturation line obtained by taking the limit $\sigma_p = \sigma_h = 1$ in Eq. (12). Intersection between solid lines and the dashed line are represented with square points and give the points (ρ_p, ρ_h) at saturation (i.e., microtubule lattice completely filled). Points A and B on the line $\kappa = 1$ correspond to $x = 0.15$ and $x = 10$, respectively, with an effective equilibrium constant $k_{\text{eq}} = k_{\text{eq,p}} + k_{\text{eq,h}} = 3$. Points C and D on the line $\kappa = 2$ correspond to $x = 0.15$ with an effective equilibrium constant $k_{\text{eq}} = 0.66$ and $k_{\text{eq}} = 66$, respectively. Points E and F on the line $\kappa = 2$ correspond to $x = 10$ with an effective equilibrium constant $k_{\text{eq}} = 0.66$ and $k_{\text{eq}} = 66$.

and therefore solutions of Eq. (18) are given by

$$\begin{cases} \rho_p = \frac{1}{2} \left\{ \frac{\kappa}{1+\kappa} \left(x + \frac{1}{\beta_p k_{\text{eq,p}}} \right) + \frac{1}{\beta_p} - \sqrt{\left(\frac{\kappa}{1+\kappa} \left(x + \frac{1}{\beta_p k_{\text{eq,p}}} \right) + \frac{1}{\beta_p} \right)^2 - \frac{4x\kappa}{\beta_p(1+\kappa)}} \right\}, \\ \rho_h = \frac{1}{2} \left\{ \frac{1}{1+\kappa} \left(x + \frac{1}{\beta_h k_{\text{eq,h}}} \right) + \frac{1}{\beta_h} - \sqrt{\left(\frac{1}{1+\kappa} \left(x + \frac{1}{\beta_h k_{\text{eq,h}}} \right) + \frac{1}{\beta_h} \right)^2 - \frac{4x}{\beta_h(1+\kappa)}} \right\}, \end{cases} \quad (20)$$

where the coefficients β_p and β_h are given by

$$\beta_p = 1 + 2\sigma_p + \frac{1}{\kappa} (1 + \sigma_p + \gamma_h^p) (1 + \sigma_h) \quad \text{and} \quad \beta_h = 1 + 2\sigma_h + \kappa (1 + \sigma_p) (1 + \sigma_h + \gamma_p^h). \quad (21)$$

The total coverage is then obtained by using $\rho = \rho_p + \rho_h$. For very low *tau:tubulin* ratio i.e., $x \ll 1$, one can show that ρ is linear as a function of x and is simply given by

$$\begin{cases} \rho_p \approx x \left(\frac{k_{\text{eq,p}}}{1 + k_{\text{eq,p}} + k_{\text{eq,h}}} \right) \\ \rho_h \approx x \left(\frac{k_{\text{eq,h}}}{1 + k_{\text{eq,p}} + k_{\text{eq,h}}} \right) \end{cases} \Rightarrow \rho \equiv \rho_p + \rho_h \approx x \left(\frac{k_{\text{eff}}}{1 + k_{\text{eff}}} \right), \quad (22)$$

where k_{eff} is the effective equilibrium constant of the binding reaction defined as:

$$k_{\text{eff}} = k_{\text{eq,p}} + k_{\text{eq,h}} \equiv \left(1 + \frac{1}{\kappa} \right) k_{\text{eq,p}}. \quad (23)$$

It is interesting that for $x \ll 1$, the coverage does not depend on the stoichiometries of the binding reaction and therefore, a linear fit of experimental data (for example, data from cosedimentation assays) in this regime would allow us in principle to determine k_{eff} . As we can see in Eq. (20), beyond the limit $x \ll 1$, ρ becomes non-linear and now depends on the stoichiometries. However, from an experimental point of view, the use of Eq. (20) as a function to fit saturation data in a plot $\rho(x)$ would not allow us to determine the all set of parameters (i.e., the two equilibrium constants $k_{\text{eq,p}}$ and $k_{\text{eq,h}}$ and the parameters σ_p , σ_h , γ_h^p and γ_p^h). As we will see below, to fully characterize the reaction, we need to take into account the spatial structure of the microtubule decoration.

Structure of the microtubule-decoration by tau

From an experimental point of view, because of the microtubule curvature, we are limited to a few number of protofilaments ($\sim 4-5$) which makes the calculation of the lateral distribution $P_{\perp}(r)$ difficult. For this reason, we will focus on the longitudinal distribution $P_{\parallel}(r)$ which can be investigated more easily from experimental data [37]. In our model, $P_{\parallel}(r)$ in Eq. (5) is expressed as a sum of partial distributions $P_{\parallel,ij}(r)$ corresponding to the nearest neighbour distribution between a bound-tau in mode "i" and another in mode "j" where $i = h, p$ and $j = h, p$ as well. The partial distribution is given by (see V for the derivation)

$$P_{\parallel,ij}(r) = \begin{cases} \frac{\rho_p + (1 + \sigma_h) \rho_h}{1 - \sigma_p \rho_p - \gamma_h^p (1 + \sigma_h) \rho_h} \left(\frac{1 - (1 + \sigma_p) \rho_p - (1 + \gamma_h^p) (1 + \sigma_h) \rho_h}{1 - \sigma_p \rho_p - \gamma_h^p (1 + \sigma_h) \rho_h} \right)^{r - r_{\parallel,ij}} & r = g + r_{\parallel,ij}, \quad g \in \mathbb{N}, \\ 0 & \text{otherwise,} \end{cases} \quad (24)$$

where the matrix element $r_{\parallel,ij}$ corresponds to the minimum physical center-to-center distance between two neighbors tau along the protofilament. For example, $r_{\parallel,ph} = r_{\parallel,hp} = [(1 + \sigma_p) + (1 + \gamma_h^p)]/2$ since that in the protofilament direction, a tau in mode "p" covers $(1 + \sigma_p)$ sites while the other in mode "h" covers $(1 + \gamma_h^p)$ sites. Using similar arguments, one can show that the 2×2 matrix \mathbf{r}_{\parallel} containing the matrix elements $r_{\parallel,ij}$ is given by

$$\mathbf{r}_{\parallel} \equiv \begin{pmatrix} r_{\parallel,pp} & r_{\parallel,ph} \\ r_{\parallel,hp} & r_{\parallel,hh} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \nu_{pp}^{-1} & \left(\frac{\nu_{pp}^{-1} + \nu_{hp}^{-1}}{2} \right) \\ \left(\frac{\nu_{pp}^{-1} + \nu_{hp}^{-1}}{2} \right) & \nu_{hp}^{-1} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} (1 + \sigma_p) & \left(1 + \frac{\gamma_h^p + \sigma_p}{2} \right) \\ \left(1 + \frac{\gamma_h^p + \sigma_p}{2} \right) & (1 + \gamma_h^p) \end{pmatrix}. \quad (25)$$

Using Eq. (24), one can show (see Sec. V) that the mean distance separating two bound-tau along the microtubule direction is given by

$$\langle r_{\parallel} \rangle = \frac{1 - (1 + \sigma_p) \rho_p - (1 + \gamma_h^p) (1 + \sigma_h) \rho_h}{\rho_p + (1 + \sigma_h)} + \frac{(1 + \sigma_p) \rho_p + (1 + \gamma_h^p) \rho_h + \rho_p \rho_h (2 + \gamma_h^p + \sigma_p)}{(\rho_p + \rho_h)^2}. \quad (26)$$

We will now discuss these results for three specific cases: (i) the limit of single binding mode ($\kappa \rightarrow 0$ and $\kappa = +\infty$), (ii) the limit of identical equilibrium constants ($\kappa = 1$) and (iii) the case $\kappa = 2$, as an illustration of the microtubule decoration for two distinct values of equilibrium constant ($\kappa \neq 1$). For each case, configurations corresponding to a low ($x = 0.15$) and high tau:tubulin ratio ($x = 10$) will be discussed and illustrated with corresponding snapshots of a microtubule decorated with tau molecules.

A. Limiting cases $\kappa \rightarrow 0$ and $\kappa \rightarrow +\infty$: single binding mode

1. Limiting case $\kappa \rightarrow +\infty$: single protofilament binding mode

The limiting case $\kappa \rightarrow +\infty$ corresponds to $k_{\text{eq},h} = 0$, which means that there is only one possible binding mode for the tau-proteins: the protofilament mode "p"; see Fig. 5 for illustration. In this limit, solutions of Eq. (4) represented in the phase space shown in Fig. 4b lie on the x-axis corresponding to $\rho_h = 0$. It thus follows that the total coverage $\rho \equiv \rho_p$ can vary between 0 and $\rho_s = 1/(1 + \sigma_p) \equiv \nu_{pp}$ at saturation, depending on the value of $k_{\text{eq},p}$ and x . The limit $\kappa \rightarrow +\infty$ of Eq. (22) leads to the following expression for the microtubule coverage under the diluted regime limit

$$\rho = \frac{1}{2} \left[\left(\frac{1 + k_{\text{eq},p}^{-1}}{1 + 2\sigma_p} + x \right) - \sqrt{\left(\frac{1 + k_{\text{eq},p}^{-1}}{1 + 2\sigma_p} + x \right)^2 - \frac{4x}{1 + 2\sigma_p}} \right]. \quad (27)$$

The evolution of ρ beyond this regime (i.e., $x \ll 1$) is obtained by solving Eq. (4) numerically in the limit $\kappa \rightarrow +\infty$ (see V for details). Numerical results for ρ as a function of x for a few values of $k_{\text{eq},p}$ are shown in Fig. 6a. One can see that for very low values of x , ρ increases in a linear way, as predicted in Eq. (22) with $\rho \approx x [k_{\text{eq},p}/(1 + k_{\text{eq},p})]$ in the limit $\kappa \rightarrow +\infty$. Beyond this regime, we can see in Fig. 6a that ρ deviates from linearity and reaches the saturation point $\rho_s \equiv \nu_{pp} = 0.5$ logarithmically. In addition, Monte Carlo simulations of the binding process were performed for a typical microtubule of $\approx 5 \mu\text{m}$ long (corresponding to $N = 13 \times 615 \approx 8000$ lattice sites). Results are shown in point data in Fig. 6a for some logarithmically spaced values of x and three values of $k_{\text{eq},p} = 0.1, 1$ and 10 . Each point corresponds to the coverage at the equilibrium state for a given x and $k_{\text{eq},p}$ and has been obtained by making an average over 10^5 configurations. As we can see in Fig. 6a, results for ρ obtained from Monte Carlo simulations and from the numerical resolution of Eq.

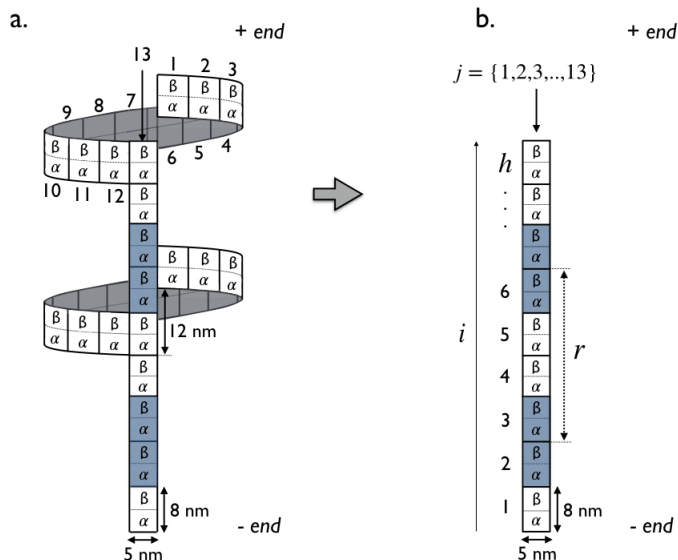


FIG. 5: Sketch depicting the limit case $\kappa \rightarrow +\infty$ corresponding to the single protofilament binding mode limit. The situation shown in (a,b) illustrates the case of interest $\sigma_p = \sigma_h = 1$ and $\gamma_p^h = \gamma_h^p = 0$. (a) Three-dimensional representation of the microtubule lattice consisting of $p = 13$ protofilaments with two bound-tau represented in blue. (b) In this limit case, one can decouple the microtubule lattice and consider one single protofilament consisting of h lattice sites (i.e., tubulin dimers). The spatial extension of a lattice site corresponds to the $\alpha\beta$ -tubulin dimer length of 8 nm . The unitless center-to-center distance between two nearest neighbors bound-tau is denoted by r and is equal to $r = 4$ in this example (equivalent to 32 nm in real unit).

(4) (solid lines) are in very good agreement. The nearest neighbour distribution $P_{\parallel}(r)$ and its first moment are obtained by using Eqs. (5), (24) and (26) in the limit $\kappa \rightarrow +\infty$ leading to

$$P_{\parallel}(r) = \begin{cases} \frac{\rho}{1 - \sigma_p \rho} \left(\frac{1 - (1 + \sigma_p) \rho}{1 - \sigma_p \rho} \right)^{r - (1 + \sigma_p)} & r = g + (1 + \sigma_p), \quad g \in \mathbb{N}, \\ 0 & \text{otherwise.} \end{cases} \quad \Rightarrow \quad \langle r_{\parallel} \rangle = \frac{1}{\rho}. \quad (28)$$

According to Eq. (28), the most likely longitudinal spacing between the tau-proteins is $r_{\parallel} = (1 + \sigma_p)$ corresponding to 16 nm for the case of interest illustrated in Fig. 5. The mean longitudinal spacing is simply the reciprocal of the coverage and can vary between 16 nm (in a tau-saturated microtubule with $\rho \equiv \rho_s = 1/2$) and $4 \times h \text{ nm}$ (corresponding to the lowest physical coverage with two bound-tau along the same protofilament leading to $\rho = 2/h$) giving $2.5 \mu\text{m}$ for a microtubule $5 \mu\text{m}$ long. In order to illustrate results for the structure of the microtubule-decoration by tau in Eq. (28), we will consider two specific configurations corresponding to a low ($x = 0.15$) and high *tau:tubulin ratio* ($x = 10$) with the same equilibrium constant $k_{\text{eq,p}} = 3$. These two configurations are indicated with small filled circles in Fig. 6 and correspond to a coverage $\rho \approx 0.1$ and $\rho \approx 0.45$, respectively. For these two cases, snapshots corresponding to a zoom in 13×20 lattice sites of a microtubule decorated by tau and the corresponding longitudinal spacing distribution $P_{\parallel}(r)$ are shown Fig. 6b-e. The low coverage configuration illustrated in Fig. 6b, corresponds to an order parameter $S \approx 0.2$ with no apparent spatial organization. The corresponding distribution in Fig. 6c, shows an exponential decay with a maximum probability $\approx 10\%$ of finding a longitudinal spacing of 16 nm . On the other hand, for the high coverage configuration shown in Fig. 6d, the order parameter is given by $S \approx 0.9$ and a spatial order seems to emerge in the protofilament direction. The corresponding distribution in Fig. 6e shows a sharp exponential decay with a maximum probability $\approx 85\%$ for events corresponding to a longitudinal spacing of 16 nm . At the saturation limit, $\rho = 1/2$ and $S = 1$; all the tau-proteins are perfectly aligned along the protofilament with a nearest neighbour distribution given by a Dirac delta function centered on $r = (1 + \sigma_p) = 2$ (16 nm in real units). The value of S allows us to estimate the spatial order of the microtubule decoration by the tau molecules. By analogy with crystal liquids, situations close to saturation illustrated in Fig. 6e can be identified with a smectic-like phase while configurations shown in Fig. 6b would correspond to a nematic-like phase.

2. Limit case $\kappa \rightarrow 0$: single lateral binding mode

This limit case corresponds to $k_{\text{eq,p}} = 0$ i.e., all the tau-proteins bind to the microtubule lattice according to the lateral mode "h". This case is very similar to the limit $\kappa \rightarrow +\infty$. The coverage can now vary between 0 and $\rho_s = 1/(1 + \sigma_h)$ depending on $k_{\text{eq,h}}$ and x (ρ lie on the y-axis corresponding to $\rho_p = 0$ in the phase space shown in Fig. 4b). The limit $\kappa \rightarrow 0$ of Eq. (22) gives the same expression as the one obtained in the limit case $\kappa \rightarrow +\infty$ by replacing the subscript "p" by "h" in Eq. (27) leading to

$$\rho = \frac{1}{2} \left[\left(\frac{1 + k_{\text{eq,h}}^{-1}}{1 + 2\sigma_h} + x \right) - \sqrt{\left(\frac{1 + k_{\text{eq,h}}^{-1}}{1 + 2\sigma_h} + x \right)^2 - \frac{4x}{1 + 2\sigma_h}} \right]. \quad (29)$$

It thus follows that the evolution of ρ as a function of the key parameters is the same in the two limiting cases $\kappa \rightarrow +\infty$ and $\kappa \rightarrow 0$ corresponding to the single binding mode limit. It is therefore not possible to distinguish these two limits with the microtubule coverage as unique information. However, note that the distribution $P_{\parallel}(r)$ is not the same as in Eq. (28). Indeed, the limit $\kappa \rightarrow 0$ of Eqs. (5), (24) and (26) gives

$$P_{\parallel}(r) = \begin{cases} \frac{(1 + \sigma_h) \rho}{1 - \gamma_h^p (1 + \sigma_h) \rho} \left(\frac{1 - (1 + \gamma_h^p) (1 + \sigma_h) \rho}{1 - \gamma_h^p (1 + \sigma_h) \rho} \right)^{r - (1 + \gamma_h^p)} & r = g + (1 + \gamma_h^p), g \in \mathbb{N}, \\ 0 & \text{otherwise.} \end{cases} \Rightarrow \langle r_{\parallel} \rangle = \frac{1}{(1 + \sigma_h) \rho}. \quad (30)$$

The most likely longitudinal spacing between the tau-proteins is now given by $r_{\parallel} = (1 + \gamma_h^p)$ corresponding to 8 nm for the case of interest $\gamma_h^p = 0$ and $\sigma_h = \sigma_p = 1$. The mean value of $P_{\parallel}(r)$ is reduced by a factor $(1 + \sigma_h) = 2$ compared to Eq. (28) in the limit $\kappa \rightarrow +\infty$. Therefore, $\langle r_{\parallel} \rangle$ now vary between 8 nm (at saturation) and $2h \text{ nm}$ (minimum physical value) giving $1.25 \mu\text{m}$ for a microtubule of $5 \mu\text{m}$ long. In the same way as for the limit case $\kappa \rightarrow +\infty$, in Fig. 6f-i, we have characterized two configurations for a low $\rho \approx 0.1$ and high coverage ($\rho \approx 0.45$). The order parameter S given by Eq. (7) plays the same role as in the limit $\kappa \rightarrow +\infty$ but is now negative with $S \approx -0.2$ in Fig. 6f and $S \approx -0.9$ in Fig. 6i. The corresponding distributions are very similar to those obtained in the limit $\kappa \rightarrow +\infty$ but $P_{\parallel}(r)$ in Fig. 6g shows a two-fold increase for the maximum probability with $\approx 20\%$ of finding a close packing longitudinal spacing between two tau-proteins (8 nm in this limit) compared to $\approx 10\%$ in the limit $\kappa \rightarrow +\infty$. For both configurations, distributions obtained from Monte Carlo simulations and from Eq. (30) are in very good agreement.

B. Limit case $\kappa = 1$

In this limit, the two binding modes have identical equilibrium constants i.e., $k_{\text{eq,p}} = k_{\text{eq,h}}$ which leads to configurations with the same densities of longitudinal and lateral bound tau as can be seen in the snapshots of Fig. 6j and m. These two configurations (points *A* and *B* corresponding to an effective equilibrium constant $k_{\text{eff}} = 3$ with $x = 0.15$ and 10 , respectively) belong to the linear trajectory $\rho_h = \rho_p$ in the phase space in Fig. 4b and they both have an order parameter $S \approx 0$ which suggests that there is no apparent spatial organization. The position of a point representing a given configuration along the linear trajectory in Fig. 4b depends on two parameters: (i) the effective equilibrium constant $k_{\text{eff}} = k_{\text{eq,p}} + k_{\text{eq,h}}$ and (ii) the *tau:tubulin* ratio x . Numerical results for the total coverage ρ as a function of x for three values of $k_{\text{eff}} = 0.1, 1$ and 10 are shown for the case of interest $\sigma_p = \sigma_h = 1$ in dashed lines in Fig. 6a. Results are very similar to those obtained in the limit cases $\kappa \rightarrow +\infty$ and $\kappa \rightarrow 0$. As predicted in Eq. (22), for $x \ll 1$, the coverage is linear as a function of x and its evolution is the same as for the single binding mode limit (shown in solid lines). Beyond this regime ρ , shown as a dashed line, slightly deviates from the solid line and then comes closer again when approaching the saturation limit. Therefore, even if the coverage obtained in the single binding mode limit and for identical equilibrium constants (i.e., $\kappa = 1$) are not, strictly speaking, the same, it is very difficult to distinguish these two situations. However, inspection of Fig. 6j-m shows that the presence of two binding modes for tau has a strong impact on the longitudinal spacing distributions. Indeed, as we can see in Fig. 6k,l, $P_{\parallel}(r)$ in Eq. (5) is no longer a single exponential distribution but becomes a sum of exponential decays $P_{\parallel,ij}(r)$ given by Eq. (24). The difference in shape with the single binding mode limit is particularly noticeable for configurations which are close to the saturation limit, as shown in Fig. 6l.

C. Case $\kappa \neq 1$

We will now investigate situations in which one of the two modes is favored. As shown in the phase space in Fig. 4, the case $\sigma_p = \sigma_h = 1$ presents a mirror symmetry, such that the knowledge of ρ_p and ρ_h on a given trajectory $\kappa \neq 1$ allows us to obtain densities for the case $1/\kappa$. In this section, we will illustrate the decoration

of a microtubule for the case $\kappa = 2$. Results for the coverage as a function of x are shown in Fig. 7a,b, for $k_{\text{eff}} = 0.66$ and 66 . For $x \ll 1$, the density of each mode is linear as a function of x with $\rho_p \approx x[k_{\text{eq,p}}/(1+k_{\text{eq,p}})]$ for the longitudinal mode and $\rho_h \approx x[k_{\text{eq,h}}/(1+k_{\text{eq,h}})]$ for the lateral one. Beyond this regime, densities ρ_p and ρ_h reach logarithmically their saturation values given by $\rho_{p,s} = [\sqrt{3} - 1]/2 \approx 0.36$ and $\rho_{h,s} = 1 - \sqrt{3}/2 \approx 0.13$ respectively, as predicted in Eq. (15). As we can see in Fig. 7a,b, for all x and k_{eff} , we have $\rho_p > \rho_h$ which means that the longitudinal mode is well favored in this limit ($\kappa = 2$). To illustrate the structure of the decoration in this case, we have chosen 4 configurations (see black point circles in Fig. 7a,b). For each of them, typical snapshots of microtubule and longitudinal spacing distributions are shown in Fig. 7c-j. The shape of the distributions corresponding to a low *tau:tubulin* ratio ($x = 0.15$) in Fig. 7d,h are very similar to that of Fig. 6 corresponding to the case $k_{\text{eq,p}} = k_{\text{eq,h}}$ (i.e., $\kappa = 1$) with an multi-exponential decay, while distributions in Fig. 7 for $x = 10$, but exhibit some significant differences. Indeed, the main peak in Fig. 7e,i is now centered on $r = 1.5$ which corresponds to mixed close packing events i.e., between longitudinal (in blue) and lateral (in green) bound-tau proteins. In addition, the amplitude of the peak centered on $r = 2$, which corresponds to events with two consecutively bound-tau in the mode "p" along a given protofilament is now higher than that centered on $r = 1$ for lateral close packing events (between two tau in the mode "h"). This difference comes from the fact that in such configurations, there are more blue than green particles, as illustrated in Fig. 7f,j. This is because in this case ($\kappa = 2$), the longitudinal mode "p" is favored compared the lateral one. We stress that such differences between the cases $\kappa = 1$ and $\kappa \neq 1$ can be seen because (i) we are working with a spatial resolution of a monomer corresponding to 4 nm and that (ii) we are able to identify and distinguish the two binding modes. Consequently, an averaged distribution for the longitudinal spacing of tau proteins computed with a larger spatial resolution (e.g. 8 nm) may not be enough to determine the value of κ .

IV. DISCUSSION

Our main motivation in developing this work was the paramount importance of interactions between tau proteins and microtubules in axons. In addition, the tau molecules play a crucial role in numerous neurodegenerative diseases referred to as *tauopathies*. Our objective was to study and describe the way in which a stabilized-microtubule can be decorated by a population of tau in terms of the density of attached tau molecules and spatial distributions. Based on published experimental results, we developed a model in which the tau proteins can bind to the microtubule lattice either along a protofilament on two $\alpha\beta$ -tubulin dimers (referred as mode "p") or either laterally on two adjacent dimers (referred as mode "h") as shown in Fig. 3. In this framework, we have derived the phase space of the system describing the way in which the density of one population evolves as a function of the other. As shown in Fig. 4b, trajectories in such phase space are parametrized by $\kappa = k_{\text{eq,p}}/k_{\text{eq,h}}$ i.e., the ratio between the equilibrium constant of the mode "p" and the mode "h". Each point in this phase diagram corresponds to a given distribution of attached tau on the microtubule wall which is characterized by the two densities ρ_p and ρ_h and by an averaged distribution for the longitudinal spacing of tau proteins, $P_{\perp}(r)$. A microtubule decorated by only one population would exhibit a single exponential decay for $P_{\perp}(r)$ (see Fig. 6c,d,g and h) while in presence of the two binding modes, it would exhibit a multi-exponential behaviour (see Fig. 6k,l and Fig. 7d,e,h,i). From an experimental point of view, this model could be used as a theoretical framework to interpret and analyze binding data from cosedimentation assays and histograms for the longitudinal spacing of tau using quick-frozen, deep-etched suspension of microtubules as in [37], for example.

A natural extension of this work would be to investigate the biological functions related to each binding mode considered in this model. Indeed, taking into account that the binding domain of tau is composed of three or four repeats [43] which are able to bind independently to a monomer α or β [35] and based on our model, we can speculate that tau would adopt a mostly elongated form when bound along a protofilament and a more squashed form when bound across protofilaments. Therefore, by invoking arguments on the conformation adopted by tau, the longitudinal and lateral form may have distinct biological functions as recently suggested by [34]. To pursue this direction, it would be interesting to generalize our model to include a dynamical lattice in order to study the effect of tau on the microtubule dynamic instability. In the same spirit, the effect of an heterogeneous microtubule lattice with GTP and GDP states could also be investigated.

V. METHODS

Estimation of binding parameters: k_{eff} and x

In axons, the total concentration of tau, noted as $[\text{Tau}]$, was found to be $\sim 1\%$ and 20% of the total concentration of tubulin dimers (free and polymerized) [44]. In addition, more than 80% of the tubulin in the squid giant axon was found to be in the free form (i.e., not polymerized) [45]. In this specific case, the total concentration of tubulin is 5 times greater than the polymerized one i.e., $[\text{Tub}_{\text{tot}}] = 5[\text{Tub}_{\text{poly}}]$. In the following, we choose to work with axons where the ratio $[\text{Tub}_{\text{tot}}]/[\text{Tub}_{\text{poly}}]$ can vary between 5 and 50. In such conditions,

we find that the *tau:tubulin ratio* defined as $x = [\text{Tau}]/[\text{MT}_{\text{poly}}]$ vary between ~ 0.1 and ~ 10 . The effective equilibrium constant can be estimated using the relation $k_{\text{eff}} = [\text{Tub}_{\text{poly}}]/K_d \equiv [\text{Tau}]/(x \times K_d)$ where K_d is the dissociation constant. Reported K_d values vary by more than two orders of magnitude from $\sim 0.01 \mu\text{M}$ to $\sim 1 \mu\text{M}$ [31, 35, 36, 40, 42, 46, 46–50]. Therefore, with a typical concentration of $\sim 1 - 2 \mu\text{M}$ for tau in axons [51, 52] and with the estimated ranges for x and K_d , we end up with a k_{eff} varying between ~ 0.1 and $\sim 10^3$.

General decoration model: mathematical aspects

Expressions for the nearest neighbour distributions $P_{k=\parallel,\perp}(r)$ and insertion probabilities $\Phi_{p,h}$ have been derived by extending the approach based on the gap distribution developed by McGhee and von Hippel [53] for an homogeneous infinite one-dimensional lattice. In what follows, assumptions underlying the method and derivation of $P_{k=\parallel,\perp}(r)$ and $\Phi_{p,h}$ will be presented.

Main approximation

The main idea to make the calculation tractable is to replace the two-dimensional microtubule lattice shown in Fig. 8 by two coupled linear lattices: one protofilament and one helix. The underlying approximation is to consider in each direction, linear lattices as statistically independent. If you look at a given protofilament "j", some tau will appear to cover $(1 + \sigma_p)$ sites while others corresponding to bound-tau in mode "h" will appear to cover $(1 + \gamma_h^p) = 1$ site in the situation illustrated in Fig. 8. We denote by $\rho_{\parallel,p}$ and $\rho_{\parallel,h}$ the directional densities for the direction $k = \parallel$ i.e., the average densities of tau in mode "p" and "h", respectively, as viewed from the protofilament direction. Under this approximation, $\rho_{\parallel,p}$ and $\rho_{\parallel,h}$ can be expressed as a function of the microtubule coverages ρ_p and ρ_h as follows:

$$\rho_{\parallel,p} = \rho_p \quad \text{and} \quad \rho_{\parallel,h} = (1 + \sigma_h) \rho_h . \quad (31)$$

Applying the same procedure for the second linear lattice, one can show that $\rho_{\perp,p}$ and $\rho_{\perp,h}$ are given by:

$$\rho_{\perp,h} = \rho_h \quad \text{and} \quad \rho_{\perp,p} = (1 + \sigma_p) \rho_p . \quad (32)$$

In what follows, we will derive expressions for the gap distribution, nearest neighbour distribution and insertion probability along these two linear lattices shown in Fig. 8.

Gap distribution

The gap distribution $f_{k=\parallel,\perp}(g)$ is defined as the probability of finding a gap consisting of g consecutive free lattice sites along a given direction k . As a consequence of the approximation shown in Fig. 8, we have to consider two gap distributions: $f_{\parallel}(g)$ for the protofilament linear lattice and $f_{\perp}(g)$ for the helicoidal linear lattice shown in Fig. 8 in red and blue, respectively. McGhee and von Hippel [53] have shown that $f_k(g) \propto u_k^g$ where u_k is the conditional probability that a lattice site selected at random along the direction $k = \parallel, \perp$ is free and that its adjacent site (the one to its immediate right for $k = \parallel$ and to its immediate left for $k = \perp$) is free as well. Using the condition of normalization, $f_k(g)$ can be expressed in general terms as follows

$$\sum_{g=0}^{g_{m,k}} f_k(g) = 1 \quad \Rightarrow \quad f_k(g) = \left(\frac{1 - u_k}{1 - u_k^{g_{m,k}+1}} \right) u_k^g , \quad (33)$$

where $g_{m,k}$ is the maximum physical gap length between two bound-tau along the direction $k = \{\parallel, \perp\}$ given by

$$g_{m,k} = \begin{cases} h [1 - (1 + \sigma_p) \rho_p - (1 + \sigma_h) (1 + \gamma_h^p) \rho_h] & \text{for } k = \parallel , \\ p [1 - (1 + \sigma_h) \rho_h - (1 + \sigma_p) (1 + \gamma_p^h) \rho_p] & \text{for } k = \perp . \end{cases} \quad (34)$$

The conditional probability u_k can be expressed as the ratio between $\#(\text{free sites})_k - 1$, the number of free sites and $\#(\text{free sites})_k + \#(\text{tau})_k - 1$, the total number of objects consisting the linear lattice along the direction $k = \{\parallel, \perp\}$ leading to

$$u_k = \frac{\#(\text{free sites})_k - 1}{\#(\text{free sites})_k + \#(\text{tau})_k - 1} . \quad (35)$$

The conditional probability u_k is not defined for the site at the extreme right end of the lattice justifying the term -1 in Eq. (35). Dividing u_k in Eq. (35) by ℓ_k , the number of lattice sites along the direction $k = \parallel, \perp$ leads to

$$u_k = \frac{\rho_{\text{free},k} - 1/\ell_k}{\rho_k + \rho_{\text{free},k} - 1/\ell_k} \quad \text{with} \quad \ell_k = \begin{cases} h & \text{for } k = \parallel \\ p & \text{for } k = \perp \end{cases}, \quad (36)$$

where $\rho_{\text{free},k}$ and ρ_k are the densities of free lattice sites and of bound-tau, respectively, as viewed from the direction $k = \parallel, \perp$ and are given by

$$\rho_{\text{free},k} = \begin{cases} 1 - (1 + \sigma_p) \rho_p^p - (1 + \gamma_h^p) \rho_h^p \equiv 1 - (1 + \sigma_p) \rho_p - (1 + \gamma_h^p) (1 + \sigma_h) \rho_h & \text{for } k = \parallel, \\ 1 - (1 + \sigma_h) \rho_h^h - (1 + \gamma_p^h) \rho_p^h \equiv 1 - (1 + \sigma_h) \rho_h - (1 + \gamma_p^h) (1 + \sigma_p) \rho_p & \text{for } k = \perp, \end{cases} \quad (37)$$

and

$$\rho_k = \begin{cases} \rho_{\parallel,p} + \rho_{\parallel,h} \equiv \rho_p + (1 + \sigma_h) \rho_h & \text{for } k = \parallel, \\ \rho_{\perp,p} + \rho_{\perp,h} \equiv \rho_h + (1 + \sigma_p) \rho_p & \text{for } k = \perp. \end{cases} \quad (38)$$

Using Eqs. (37) and (38) in Eq. (36), we finally have

$$u_k = \begin{cases} \frac{1 - (1 + \sigma_p) \rho_p - (1 + \gamma_h^p) (1 + \sigma_h) \rho_h - 1/h}{1 - \sigma_p \rho_p - \gamma_h^p (1 + \sigma_h) \rho_h - 1/h} & \text{for } k = \parallel, \\ \frac{1 - (1 + \sigma_h) \rho_h - (1 + \gamma_p^h) (1 + \sigma_p) \rho_p - 1/p}{1 - \sigma_h \rho_h - \gamma_p^h (1 + \sigma_p) \rho_p - 1/p} & \text{for } k = \perp. \end{cases} \quad (39)$$

Therefore, in the limit $h \gg 1$ and $p \gg 1$, the gap distribution reads

$$f_k(g) \Big|_{\lim_{h,p \gg 1}} = (1 - u_k) u_k^g = \begin{cases} \frac{\rho_p + (1 + \sigma_h) \rho_h}{1 - \sigma_p \rho_p - \gamma_h^p (1 + \sigma_h) \rho_h} \left(\frac{1 - (1 + \sigma_p) \rho_p - (1 + \gamma_h^p) (1 + \sigma_h) \rho_h}{1 - \sigma_p \rho_p - \gamma_h^p (1 + \sigma_h) \rho_h} \right)^g & \text{for } k = \parallel, \\ \frac{\rho_h + (1 + \sigma_p) \rho_p}{1 - \sigma_h \rho_h - \gamma_p^h (1 + \sigma_p) \rho_p} \left(\frac{1 - (1 + \sigma_h) \rho_h - (1 + \gamma_p^h) (1 + \sigma_p) \rho_p}{1 - \sigma_h \rho_h - \gamma_p^h (1 + \sigma_p) \rho_p} \right)^g & \text{for } k = \perp. \end{cases} \quad (40)$$

Nearest neighbour distribution and its first moment

The partial nearest neighbour distribution between tau-molecules along the direction $k = \parallel, \perp$ is expressed as a function of the gap distribution as follows

$$P_{k,ij}(r) = \sum_g \delta_{g-(r-r_{k,ij})} f_k(g) \Big|_{\lim_{h,p \gg 1}} = \begin{cases} (1 - u_k) u_k^{r-r_{k,ij}} & \text{for } r = g + r_{k,ij}, \quad g \in \mathbb{N}, \\ 0 & \text{otherwise.} \end{cases}, \quad (41)$$

where the matrix elements $r_{k,ij}$ correspond to the close packing center-to-center distance between a bound-tau in mode "i" and a bound-tau in mode "j" as viewed from the direction k . $r_{k,ij}$ are given by Eq. (25) for the protofilament direction ($k = \parallel$) and for the transversal direction ($k = \perp$), they are given by

$$\mathbf{r}_{\perp} = \begin{pmatrix} r_{\perp,pp} & r_{\perp,ph} \\ r_{\perp,hp} & r_{\perp,hh} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \nu_{ph}^{-1} & \left(\frac{\nu_{hh}^{-1} + \nu_{ph}^{-1}}{2} \right) \\ \left(\frac{\nu_{hh}^{-1} + \nu_{ph}^{-1}}{2} \right) & \nu_{hh}^{-1} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} (1 + \gamma_p^h) & \left(1 + \frac{\gamma_p^h + \sigma_h}{2} \right) \\ \left(1 + \frac{\gamma_p^h + \sigma_h}{2} \right) & (1 + \sigma_h) \end{pmatrix}. \quad (42)$$

Using Eqs. (40) and (41) for $k = \parallel$, we get the expression for $P_{\parallel,ij}(r)$ in Eq. (24) while for $k = \perp$, we have

$$P_{\perp,ij}(r) \Big|_{\lim_{h,p \gg 1}} = \begin{cases} \frac{\rho_h + (1 + \sigma_p) \rho_p}{1 - \sigma_h \rho_h - \gamma_p^h (1 + \sigma_p) \rho_p} \left(\frac{1 - (1 + \sigma_h) \rho_h - (1 + \gamma_p^h) (1 + \sigma_p) \rho_p}{1 - \sigma_h \rho_h - \gamma_p^h (1 + \sigma_p) \rho_p} \right)^{r-r_{\perp,ij}} & r = g + r_{\perp,ij}, \quad g \in \mathbb{N}, \\ 0 & \text{otherwise.} \end{cases} \quad (43)$$

In the limit $h, p \gg 1$, the mean distance separating two tau-molecules along a direction $k = \parallel, \perp$ is obtained using Eqs. (5) and (41) leading to

$$\langle r_k \rangle = \sum_{r=0}^{+\infty} r P_k(r) \quad (44)$$

$$= \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^2 z_i z_j \sum_{r=0}^{+\infty} r P_{k,ij}(r) \quad (45)$$

$$= \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^2 z_i z_j \left\{ \frac{1 - u_k}{u_k^{r_{k,ij}}} \sum_{r=r_{k,ij}}^{+\infty} r u_k^r \right\} \quad (46)$$

$$= \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^2 z_i z_j \left\{ \frac{u_k}{1 - u_k} + r_{k,ij} \right\} \quad (47)$$

$$= \frac{u_k}{1 - u_k} + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^2 z_i z_j r_{k,ij} \quad (48)$$

Finally, using the limit $h \gg 1$ and $p \gg 1$ in Eq. (39) leads to

$$\langle r_k \rangle = \begin{cases} \frac{1 - (1 + \sigma_p) \rho_p - (1 + \gamma_h^p) (1 + \sigma_h) \rho_h}{\rho_p + (1 + \sigma_h)} + \frac{(1 + \sigma_p) \rho_p^2 + (1 + \gamma_h^p) \rho_h^2 + \rho_p \rho_h (2 + \gamma_h^p + \sigma_p)}{(\rho_p + \rho_h)^2}, & k = \parallel, \\ \frac{1 - (1 + \sigma_h) \rho_h - (1 + \gamma_p^h) (1 + \sigma_p) \rho_p}{\rho_h + (1 + \sigma_p) \rho_p} + \frac{(1 + \gamma_p^h) \rho_p^2 + (1 + \sigma_h) \rho_h^2 + \rho_p \rho_h (2 + \gamma_p^h + \sigma_h)}{(\rho_p + \rho_h)^2}, & k = \perp. \end{cases} \quad (49)$$

Insertion probabilities

The insertion probabilities Φ_p and Φ_h can be formally written as $\Phi_k = n_{\text{add},k}/N$ where $n_{\text{add},k}$ is the average number of distinct ways for adding a tau along the direction $k = \parallel, \perp$ ($k = \parallel$ corresponds to the binding mode "p" while $k = \perp$ is for the mode "h") on the microtubule lattice and can be expressed as

$$n_{\text{add},k} = n_{\text{gap},k} \times \delta_k. \quad (50)$$

$n_{\text{gap},k}$ is the total number of gaps along the direction $k = \parallel, \perp$ and δ_k is the average number of distinct ways for inserting a tau per gap. Following the approach in [53], the latter can be written as a function of the gap distribution $f_k(g)$ as follows

$$\delta_k = \sum_{g=1+\sigma_k}^{g_{m,k}} (g - \sigma_k) f_k(g) \quad (51)$$

$$= f_k(1 + \sigma_k) + 2f_k(2 + \sigma_k) + \dots + (g_{m,k} - \sigma_k) f_k(g_{m,k}), \quad (52)$$

where σ_k is given by

$$\sigma_k = \begin{cases} \sigma_p & \text{for } k = \parallel, \\ \sigma_h & \text{for } k = \perp. \end{cases} \quad (53)$$

Eq. (52) reflects the fact that for a gap consisting of $(1 + \sigma_p)$ sites along a protofilament ($k = \parallel$) for example, there is only one possibility to add a tau in the gap while there are two in a gap of length $(2 + \sigma_p)$ and so on until the maximum physical gap length $g_{m,\parallel}$. In the limit of infinite lattice (i.e., $N \rightarrow \infty$), Φ_k simply becomes

$$\Phi_k = \rho_k \sum_{g=1+\sigma_k}^{+\infty} (g - \sigma_k) f_k(g) \quad (54)$$

$$= \rho_k (1 - u_k) \sum_{g=1+\sigma_k}^{+\infty} (g - \sigma_k) u_k^g \quad (55)$$

$$= \rho_k \left(\frac{u_k^{1+\sigma_k}}{1 - u_k} \right), \quad (56)$$

where $\rho_k = \rho_{k,p} + \rho_{k,h}$ and is given by Eq. (38) under the approximation described in V. The insertion probabilities Φ_p and Φ_h in Eq. (8) have been obtained by using Eq. (39) in the limit $h \gg 1$ and $p \gg 1$. A graphical representation of Φ_p and Φ_h for the case of interest $\sigma_p = \sigma_h = 1$ and $\gamma_h^p = \gamma_p^h = 0$ is shown in Fig. 9.

Numerical resolution

The coupled system governing the evolution of densities ρ_p and ρ_h for the two populations of tau-molecules is obtained by using Eqs. (4) and (8) which lead to

$$\begin{cases} \frac{\rho_p}{(x - \rho_p - \rho_h)} = k_{\text{eq,p}} \left[\frac{[1 - (1 + \sigma_p)\rho_p - (1 + \gamma_h^p)(1 + \sigma_h)\rho_h]^{1+\sigma_p}}{(1 - \sigma_p\rho_p - \gamma_h^p(1 + \sigma_h)\rho_h)^{\sigma_p}} \right], \\ \frac{\rho_h}{(x - \rho_p - \rho_h)} = k_{\text{eq,h}} \left[\frac{[1 - (1 + \sigma_h)\rho_h - (1 + \gamma_p^h)(1 + \sigma_p)\rho_p]^{1+\sigma_h}}{(1 - \sigma_h\rho_h - \gamma_p^h(1 + \sigma_p)\rho_p)^{\sigma_h}} \right]. \end{cases} \quad (57)$$

For a given set of parameters σ_p , σ_h , $k_{\text{eq,p}}$ and $k_{\text{eq,h}}$, Eq. (57) is solved for ρ_p and ρ_h using the function *fsolve* in MATLAB for several logarithmically spaced values of x . As shown in Fig. 10, each term in Eq. (57) corresponds to surfaces in the space (ρ_p, ρ_h) and their intersections leads to a unique point solution of Eq. (57). Numerical results for the case of interest $\sigma_p = \sigma_h = 1$ and $\gamma_h^p = \gamma_p^h = 0$ are discussed in Sec. III.

References

-
- [1] T Mitchison and M Kirschner. Dynamic instability of microtubule growth. *Nature*, 312(5991):237–42, 1984.
 - [2] Arshad Desai and Timothy J. Mitchison. Microtubule Polymerization Dynamics. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 13(1):83–117, 1997.
 - [3] Antonio Tito Fojo. *The role of microtubules in cell biology, neurobiology, and oncology*. Springer Science & Business Media, 2009.
 - [4] L I Binder, A Frankfurter, and L I Rebhun. The distribution of tau in the mammalian central nervous system. *The Journal of Cell Biology*, 101(4):1371–1378, 1985.
 - [5] M. D. Weingarten, a. H. Lockwood, S. Y. Hwo, and M. W. Kirschner. A protein factor essential for microtubule assembly. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 72(5):1858–62, 1975.
 - [6] Don W. Cleveland, Shu-Ying Hwo, and Marc W. Kirschner. Physical and chemical properties of purified tau factor and the role of tau in microtubule assembly. *Journal of Molecular Biology*, 116(2):227 – 247, 1977.
 - [7] David N Drechsel, AA Hyman, Melanie H Cobb, and MW Kirschner. Modulation of the dynamic instability of tubulin assembly by the microtubule-associated protein tau. *Molecular biology of the cell*, 3(10):1141–1154, 1992.
 - [8] Janis M Bunker, Leslie Wilson, Mary Ann Jordan, and Stuart C Feinstein. Modulation of microtubule dynamics by tau in living cells: implications for development and neurodegeneration. *Molecular biology of the cell*, 15(6):2720–2728, 2004.
 - [9] Alix Méphon-Gaspard, Mirela Boca, Catherine Pioche-Durieu, Bénédicte Desforges, Andrea Burgo, Loic Hamon, Olivier Piétrement, and David Pastré. Role of tau in the spatial organization of axonal microtubules: keeping parallel microtubules evenly distributed despite macromolecular crowding. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 73(19):3745–3760, Oct 2016.
 - [10] Ram Dixit, Jennifer L. Ross, Yale E. Goldman, and Erika L. F. Holzbaur. Differential regulation of dynein and kinesin motor proteins by tau. *Science*, 319(5866):1086–1089, 2008.
 - [11] K S Kosik, C L Joachim, and D J Selkoe. Microtubule-associated protein tau (tau) is a major antigenic component of paired helical filaments in alzheimer disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 83(11):4044–4048, 1986.
 - [12] Dennis J Selkoe. The molecular pathology of alzheimer’s disease. *Neuron*, 6(4):487–498, 1991.
 - [13] Maud Gratuze, Giulia Cisbani, Francesca Cicchetti, and Emmanuel Planel. Is huntington’s disease a tauopathy? *Brain*, 139(4):1014–1025, 2016.
 - [14] Khalid Iqbal, Fei Liu, C-X Gong, and Inge Grundke-Iqbal. Tau in alzheimer disease and related tauopathies. *Current Alzheimer Research*, 7(8):656–664, 2010.
 - [15] Tania F. Gendron and Leonard Petrucelli. The role of tau in neurodegeneration. *Molecular Neurodegeneration*, 4(1):13, Mar 2009.
 - [16] Ioannis Sotiropoulos, Marie-Christine Galas, Joana M. Silva, Efthimios Skoulakis, Susanne Wegmann, Mahmoud Bukar Maina, David Blum, Carmen Laura Sayas, Eva-Maria Mandelkow, Eckhard Mandelkow, Maria Grazia Spillantini, Nuno Sousa, Jesus Avila, Miguel Medina, Amrit Mudher, and Luc Buee. Atypical, non-standard functions of the microtubule associated tau protein. *Acta Neuropathologica Communications*, 5(1):91, Nov 2017.
 - [17] Amrit Mudher, Jean-Pierre Brion, Jesus Avila, Miguel Medina, and Luc Buée. EuroTau: towing scientists to tau without tautology. *Acta Neuropathologica Communications*, 5(1):90, 2017.

- [18] Anna Akhmanova and Michel O Steinmetz. Tracking the ends: a dynamic protein network controls the fate of microtubule tips. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 9(4):309–322, 2008.
- [19] M. C. Choi, U. Raviv, H. P. Miller, M. R. Gaylord, E. Kiris, D. Ventimiglia, D. J. Needleman, M. W. Kim, L. Wilson, S. C. Feinstein, and C. R. Safinya. Human microtubule-associated-protein tau regulates the number of protofilaments in microtubules: A synchrotron X-ray scattering study. *Biophysical Journal*, 97(2):519–527, 2009.
- [20] Eckhard Mandelkow and Eva-Maria Mandelkow. Microtubule structure. *Current Opinion in Structural Biology*, 4(2):171–179, 1994.
- [21] Lewis G. Tilney, Joseph Bryan, Doris J. Bush, Keigi Fujiwara, Mark S. Mooseker, Douglas B. Murphy, and Daniel H. Snyder. Microtubules: Evidence for 13 protofilaments. *The Journal of Cell Biology*, 59(2):267–275, 1973.
- [22] Denis Chrétien and Stephen D Fuller. Microtubules switch occasionally into unfavorable configurations during elongation. *Journal of molecular biology*, 298(4):663–676, 2000.
- [23] Denis Chrtien and Richard H. Wade. New data on the microtubule surface lattice. *Biology of the Cell*, 71(1):161 – 174, 1991.
- [24] A A Hyman, D Chrétien, I Arnal, and R H Wade. Structural changes accompanying gtp hydrolysis in microtubules: information from a slowly hydrolyzable analogue guanylyl-(alpha,beta)-methylene-diphosphonate. *The Journal of Cell Biology*, 128(1):117–125, 1995.
- [25] David Sept, Nathan A. Baker, and J. Andrew McCammon. The physical basis of microtubule structure and stability. *Protein Science*, 12(10):2257–2261, 2003.
- [26] Rachel a. Santarella, Georgios Skiniotis, Kenneth N. Goldie, Peter Tittmann, Heinz Gross, Eva Maria Mandelkow, Eva Maria Mandelkow, and Andreas Hoenger. Surface-decoration of microtubules by human tau. *Journal of Molecular Biology*, 339(3):539–553, 2004.
- [27] Jawdat Al-Bassam, Rachel S. Ozer, Daniel Safer, Shelley Halpain, and Ronald a. Milligan. MAP2 and tau bind longitudinally along the outer ridges of microtubule protofilaments. *Journal of Cell Biology*, 157(7):1187–1196, 2002.
- [28] Elizabeth H. Kellogg, Nisreen M. A. Hejab, Simon Poepsel, Kenneth H. Downing, Frank DiMaio, and Eva Nogales. Near-atomic model of microtubule-tau interactions. *Science*, 1780(May):eaat1780, 2018.
- [29] Victoria Makrides, Ting E. Shen, Rajinder Bhatia, Bettye L. Smith, Julian Thimm, Ratneshwar Lal, and Stuart C. Feinstein. Microtubule-dependent oligomerization of tau: Implications for physiological tau function and tauopathies. *Journal of Biological Chemistry*, 278(35):33298–33304, 2003.
- [30] Santwana Kar, Juan Fan, Michael J Smith, Michel Goedert, and Linda A Amos. Repeat motifs of tau bind to the insides of microtubules in the absence of taxol. 22(1), 2003.
- [31] Victoria Makrides, Michelle R Massie, Stuart C Feinstein, and John Lew. Evidence for two distinct binding sites for tau on microtubules. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(17):6746–51, 2004.
- [32] Iwan A T Schaap and Christoph F Schmidt. Tau protein binding forms a 1 nm thick layer along protofilaments without affecting the radial elasticity of microtubules. 158:282–292, 2007.
- [33] H Kadavath, R V Hafele, J Biernat, S Kumar, K Tepper, H Urlaub, E Mandelkow, and M Zweckstetter. Tau stabilizes microtubules by binding at the interface between tubulin heterodimers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(24):7501–7506, 2015.
- [34] Aranda R. Duan, Erin M. Jonasson, Emily O. Alberico, Chunlei Li, Jared P. Scripture, Rachel A. Miller, Mark S. Alber, and Holly V. Goodson. Interactions between tau and different conformations of tubulin: Implications for tau function and mechanism. *Journal of Molecular Biology*, 429(9):1424 – 1438, 2017.
- [35] K A Butner and M W Kirschner. Tau protein binds to microtubules through a flexible array of distributed weak sites. *The Journal of Cell Biology*, 115(3):717–730, 1991.
- [36] N Gustke, B Trinczek, J Biernat, E M Mandelkow, and E Mandelkow. Domains of Tau-Protein and Interactions with Microtubules. *Biochemistry*, 33(32):9511–9522, 1994.
- [37] Yoko Shiomura Nobutaka Hirokawa and Shigeo Okabe Department. Tau Proteins: The Molecular Structure and Mode of Binding on Microtubules. 107(October), 1988.
- [38] Don W. Cleveland, Shu Ying Hwo, and Marc W. Kirschner. Purification of tau, a microtubule-associated protein that induces assembly of microtubules from purified tubulin. *Journal of Molecular Biology*, 116(2):207–225, 1977.
- [39] R B Maccioni, C I Rivas, and J C Vera. Differential interaction of synthetic peptides from the carboxyl-terminal regulatory domain of tubulin with microtubule-associated proteins. *The EMBO journal*, 7(7):1957–63, 1988.
- [40] Ming Hong, Victoria Zhukareva, Vanessa Vogelsberg-Ragaglia, Zbigniew Wszolek, Lee Reed, Bruce I. Miller, Dan H. Geschwind, Thomas D. Bird, Daniel McKeel, Alison Goate, John C. Morris, Kirk C. Wilhelmsen, Gerard D. Schellenberg, John Q. Trojanowski, and Virginia M.-Y. Lee. Mutation-specific functional impairments in distinct tau isoforms of hereditary ftdp-17. *Science*, 282(5395):1914–1917, 1998.
- [41] Jordan Hervy and Dominique J. Bicoût. Correcting binding parameters for interacting ligand-lattice systems. *Phys. Rev. E*, 96:012417, Jul 2017.
- [42] Eva Maria Mandelkow and Eckhard Mandelkow. Biochemistry and cell biology of Tau protein in neurofibrillary degeneration. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 3(10):1–25, 2011.
- [43] Gloria Lee, Rachael L. Neve, and Kenneth S. Kosik. The microtubule binding domain of tau protein. *Neuron*, 2(6):1615–1624, 1989.
- [44] David G Drubin, Stuart C Feinstein, Eric M Shooter, and Marc W Kirschner. Nerve growth factor-induced neurite outgrowth in pc12 cells involves the coordinate induction of microtubule assembly and assembly-promoting factors. *The Journal of cell biology*, 101(5):1799–1807, 1985.
- [45] J R Morris and R J Lasek. Monomer-polymer equilibria in the axon: direct measurement of tubulin and actin as polymer and monomer in axoplasm. *The Journal of Cell Biology*, 98(6):2064–2076, 1984.
- [46] M. Ackmann, H. Wiech, and E. Mandelkow. Nonsaturable binding indicates clustering of Tau on the microtubule surface in a paired helical filament-like conformation. *Journal of Biological Chemistry*, 275(39):30335–30343, 2000.
- [47] Caroline Fauquant, Virginie Redeker, Isabelle Landrieu, Jean Michel Wieruszkeski, Dries Verdegem, Olivier

- Laprévôte, Guy Lippens, Benoît Gigant, and Marcel Knossow. Systematic identification of tubulin-interacting fragments of the microtubule-associated protein Tau leads to a highly efficient promoter of microtubule assembly. *Journal of Biological Chemistry*, 286(38):33358–33368, 2011.
- [48] Alain Sillen, Pascale Barbier, Isabelle Landrieu, Sylvie Lefebvre, Jean-michel Wieruszeski, Arnaud Leroy, Vincent Peyrot, and Guy Lippens. NMR Investigation of the Interaction between the Neuronal Protein Tau. pages 3055–3064, 2007.
- [49] Philipp O. Tsvetkov, Alexander a. Makarov, Soazig Malesinski, Vincent Peyrot, and Francois Devred. New insights into tau-microtubules interaction revealed by isothermal titration calorimetry. *Biochimie*, 94(3):916–919, 2012.
- [50] Isabelle L. Di Mao, Pascale Barbier, Diane Allegro, Cdric Brault, and Vincent Peyrot. Quantitative analysis of tau-microtubule interaction using fret. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(8):14697–14714, 2014.
- [51] T. Chris Gamblin, Robert W. Berry, and Lester I. Binder. Modeling tau polymerization in vitro: A review and synthesis. *Biochemistry*, 42(51):15009–15017, 2003. PMID: 14690409.
- [52] Matthew R. Reynolds, Robert W. Berry, and Lester I. Binder. Site-specific nitration differentially influences assembly in vitro. *Biochemistry*, 44(42):13997–14009, 2005. PMID: 16229489.
- [53] James D McGhee and Peter H von Hippel. Theoretical aspects of dna-protein interactions: co-operative and non-co-operative binding of large ligands to a one-dimensional homogeneous lattice. *Journal of molecular biology*, 86(2):469–489, 1974.

Acknowledgments

J.H is a PhD student supported by a grant from the Ministry of Education and Research of France through the Ecole Doctorale de Physique de Grenoble (ED n°47) of Grenoble Alpes University.

Author Contributions

J.H and D.B contributed equally to this work.

Additional Information

Supplementary information accompanies this paper at:

Competing Interests: The authors declare that they have no competing interests.

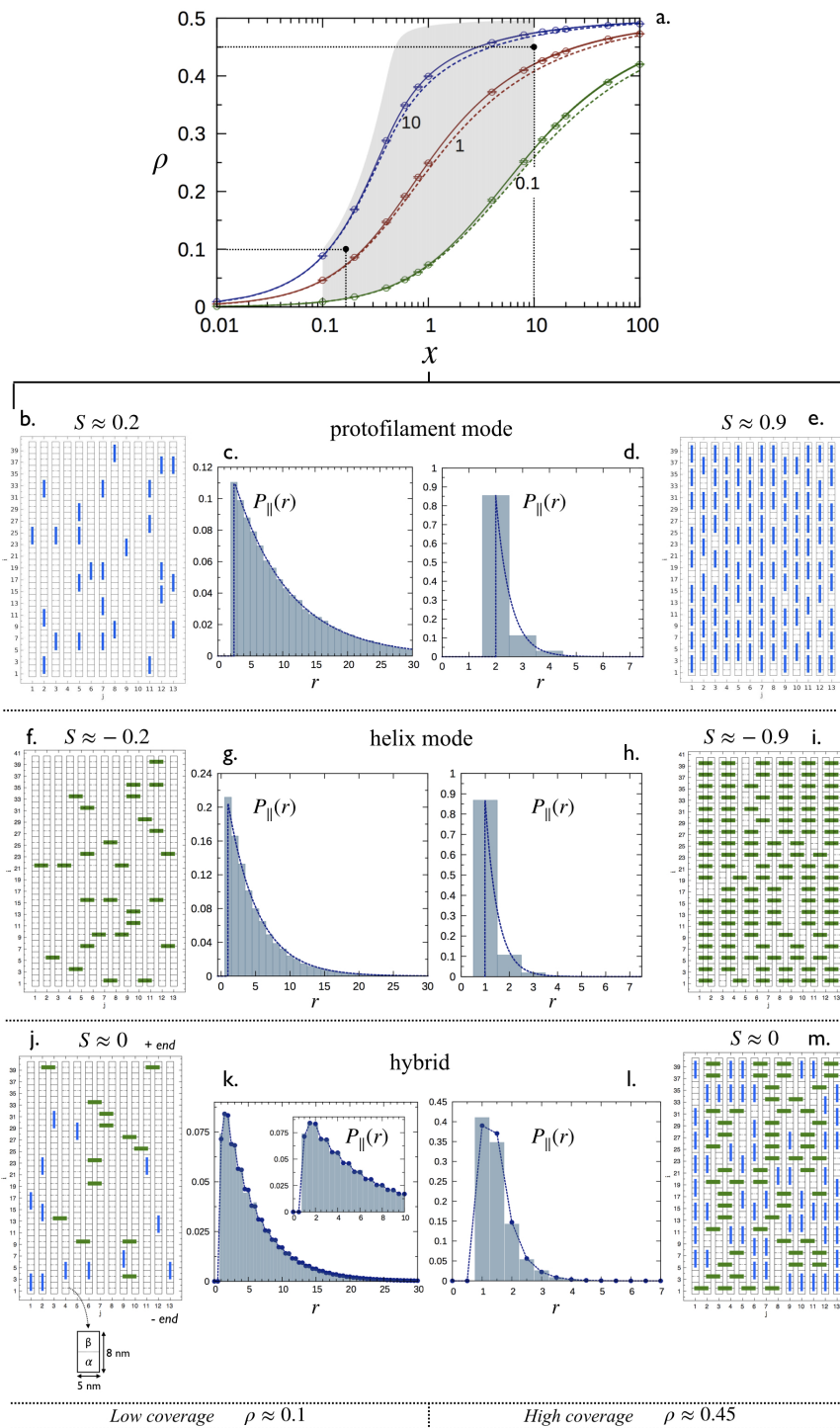


FIG. 6: Decoration of a microtubule by a population of tau proteins. (a) Saturation curves: total coverage ρ at equilibrium state as a function of x . Point data (circles) represent results from Monte Carlo simulations of the binding process in the limit case $\kappa \rightarrow +\infty$ (single protofilament binding mode) with $k_{\text{eq,p}} = 0.1, 1$ and 10 . Solid lines correspond to numerical solutions ρ of Eq. (4) in the limit case $\kappa \rightarrow +\infty$ while dashed lines correspond to numerical resolution of (4) in the limit case $\kappa = 1$ (see Sec. V). The grayed zone gives the domain of coverage consistent with the axonal conditions. The zone has been obtained using the two ranges $0.1 \leq x \leq 10$ and $0.1 \leq k_{\text{eff}} \leq 10^3$ (see V for the estimation of these ranges from the literature). The two points correspond to $\rho \approx 0.1$ and $\rho \approx 0.45$ obtained for $x = 0.15$ and 10 , respectively, with an effective equilibrium rate $k_{\text{eff}} = k_{\text{eq,p}} + k_{\text{eq,h}} = 3$. (b-m) Snapshots of microtubule decorated by tau and their corresponding distributions $P_{\parallel}(r)$. (b-e) Limiting case $\kappa \rightarrow +\infty$: single protofilament binding mode. (f-i) Limiting case $\kappa \rightarrow 0$: single lateral binding mode. (j-m) Limit case $\kappa = 1$. For each limit, the microtubule-decoration is characterized for low $\rho \approx 0.1$, and high coverages, $\rho \approx 0.45$. Histograms for the nearest neighbour distributions in (c,d,g,h,k,l) have been calculated from Monte Carlo simulations with $N = 13 \times 615 \approx 8000$ microtubule lattice sites (i.e., corresponding to a microtubule of $\approx 5 \mu\text{m}$ long). Dashed lines in (c,d,g,h,k,l) correspond to theoretical distributions obtained using Eq. (28) for the protofilament mode (i.e., $\kappa \rightarrow \infty$) in (c,d), Eq. (30) for the helix mode (i.e., $\kappa \rightarrow 0$) in (g,h) and Eqs. (24) and (5) for the hybrid case in (k,l).

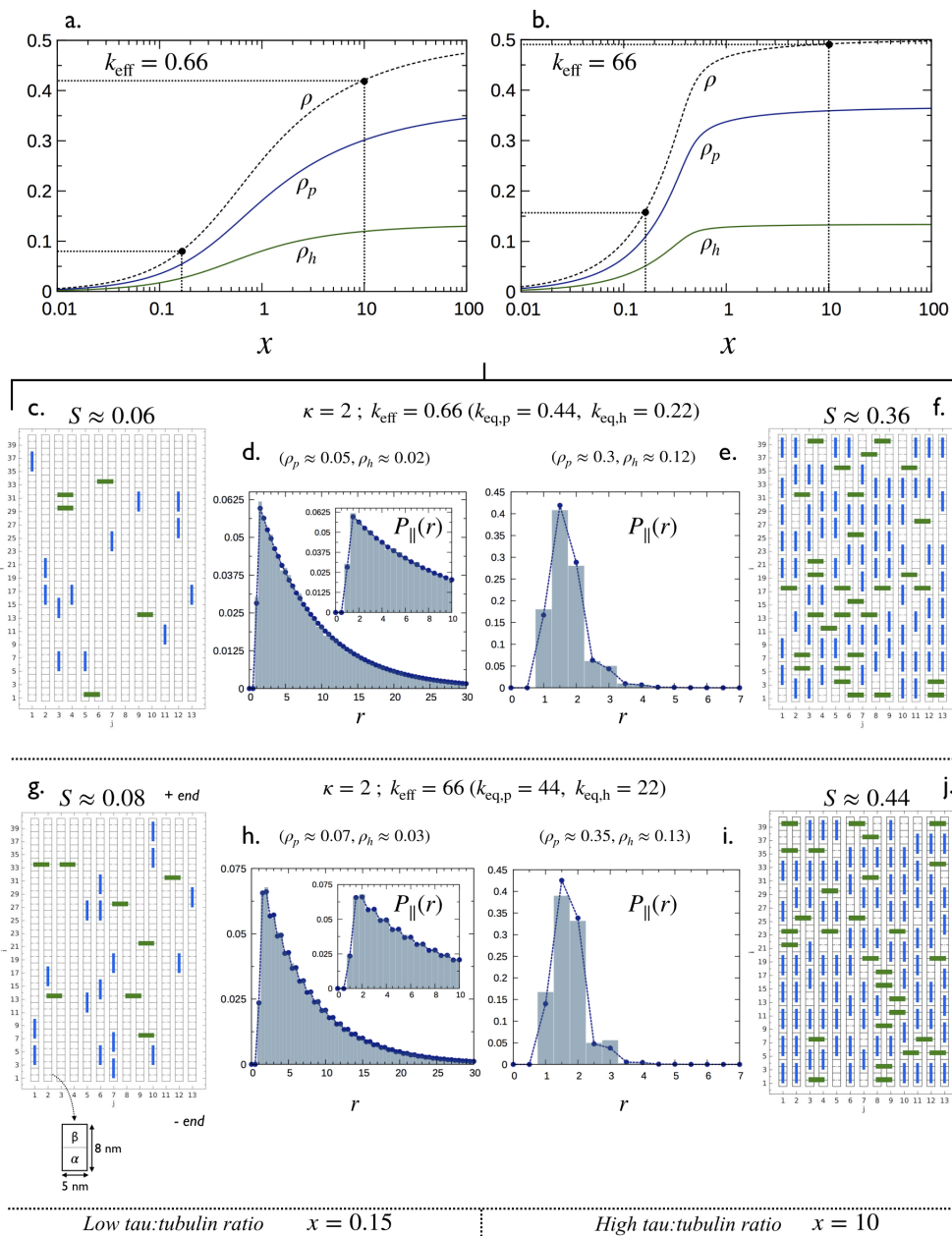


FIG. 7: Decoration of a microtubule by tau for the case $\kappa = 2$ (i.e., $k_{\text{eq,p}} = 2k_{\text{eq,h}}$) and $\sigma_p = \sigma_h = 1$. (a,b) Densities ρ_p , ρ_h and the total coverage $\rho = \rho_p + \rho_h$ as a function of the τ :tubulin ratio, x for an effective equilibrium constant $k_{\text{eff}} = 0.66$ and 66 , respectively. Solid lines correspond to numerical resolution of Eq. (4). In both cases, results corresponding to $x = 0.15$ and $x = 10$ are highlighted in black point circles. This leads to 4 configurations for which typical snapshots and averaged longitudinal spacing distributions, $P_{\parallel}(r)$ are shown in (c-j). Histograms in (d,e,h,i) have been calculated from Monte Carlo simulations with $N = 13 \times 615 \approx 8000$ microtubule lattice sites (i.e., corresponding to a microtubule of $\approx 5 \mu\text{m}$ long) while dashed lines with blue points have been obtained using Eqs. (24) and (5).

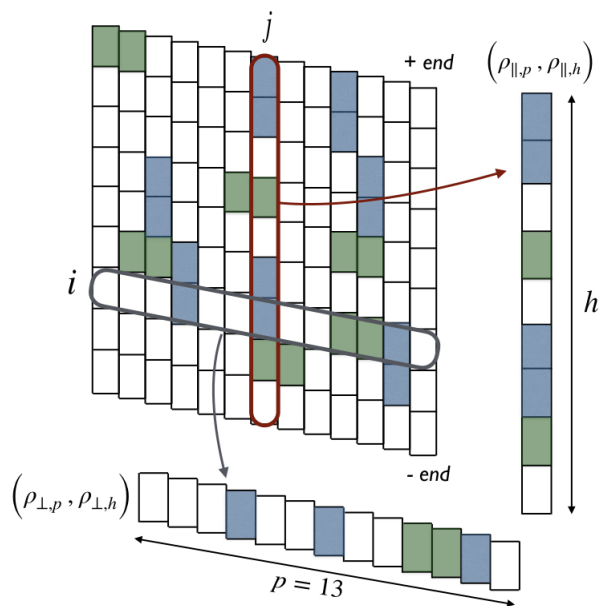


FIG. 8: Cartoon illustrating the approximation which consists of replacing the two-dimensional lattice by two linear-lattices: (i) an helix i consisting of $p = 13$ sites with particles covering $(1 + \sigma_h)$ sites as shown in green (density $\rho_{\perp,h}$) and pseudo-particles in blue covering $(1 + \gamma_p^h) = 1$ site (density $\rho_{\perp,p}$) and (ii) a protofilament j consisting of h sites with particles covering $(1 + \sigma_p)$ sites in blue (density $\rho_{\parallel,p}$) and pseudo-particles in green covering $(1 + \gamma_h^p = 1)$ site (density $\rho_{\parallel,h}$).

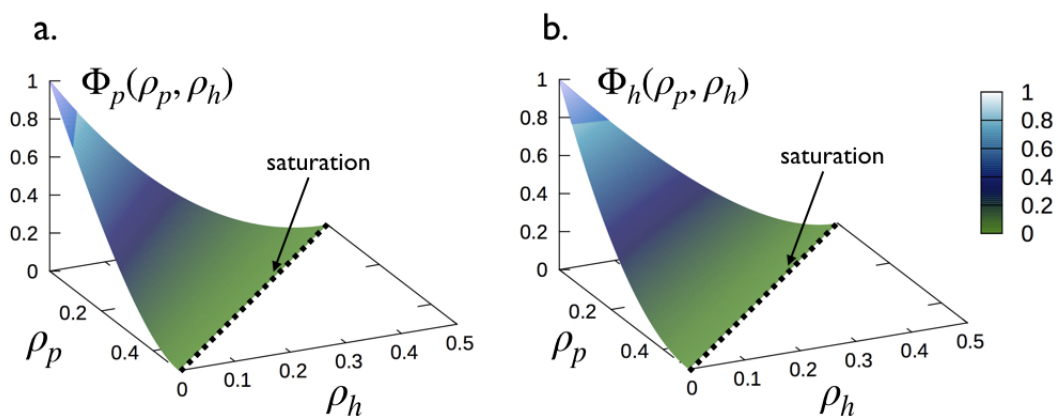


FIG. 9: Surface plots of Φ_p and Φ_h in Eq. (8) as a function of ρ_p and ρ_h for the case of interest $\sigma_p = \sigma_h = 1$ and $\gamma_h^p = \gamma_p^h = 0$. The dashed line corresponds to the saturation line given by Eq. (12).

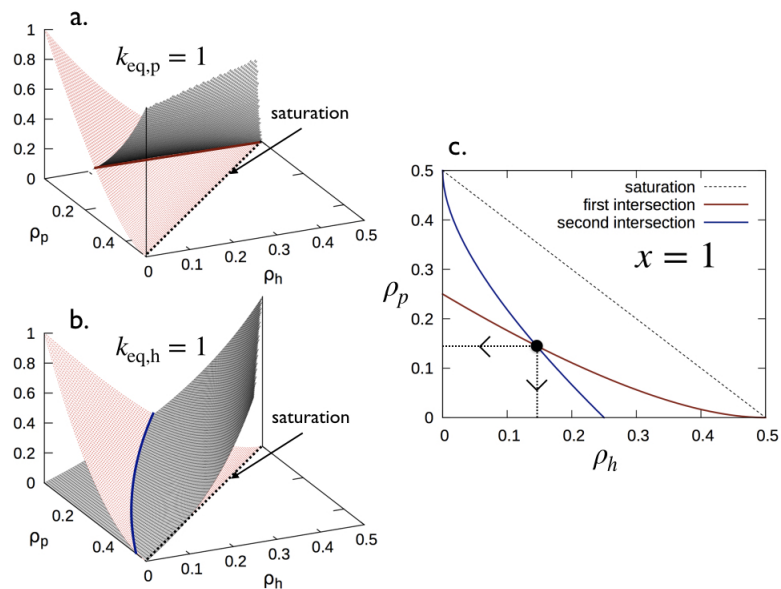


FIG. 10: Graphical representation of the resolution of Eq. (57) for ρ_p and ρ_h for the case of interest $\sigma_p = \sigma_h = 1$ and $\gamma_h^p = \gamma_p^h = 0$ with $x = 1$ and $k_{eq,p} = k_{eq,h} = 1$. (a,b) Surface plots corresponding to the first and second line of Eq. (57). Dashed lines represent the saturation line given by Eq. (12). (c) Intersection between the two lines which come from (a,b) giving an unique point solution of Eq. (57).

1. L'objectif de ce chapitre était de généraliser le modèle unidimensionnel du chapitre 8 au cas où le mode longitudinal et latéral des protéines Tau coexistent et de caractériser la décoration du microtubule en termes de (i) densité moyenne de Tau attachés sur le microtubule dans le mode longitudinal (c'est-à-dire le long d'un protofilament) ρ_p , (ii) dans le mode latéral (c'est-à-dire entre protofilaments) ρ_h et (iii) de distribution des plus proches voisins à la surface du microtubule.
2. À l'équilibre, le modèle est contrôlé par 5 paramètres : σ_p, σ_h , la taille des protéines Tau attachées suivant respectivement le mode longitudinal et latéral, $k_{\text{eq,p}}, k_{\text{eq,h}}$ la constante d'équilibre du mode longitudinal et latéral, et x , le ratio entre le nombre total de Tau dans la solution et le nombre total de sites (dimères de tubulines $\alpha\beta$) constituant le microtubule.
3. Les densités moyennes ρ_p, ρ_h sont solutions du système couplé suivant :

$$\begin{cases} \frac{\rho_p}{x - \rho_p - \rho_h} = k_{\text{eq,p}} \Phi_p(\rho_p, \rho_h) , \\ \frac{\rho_h}{x - \rho_p - \rho_h} = k_{\text{eq,h}} \Phi_h(\rho_p, \rho_h) , \end{cases} \quad (10.1)$$

où $\Phi_p(\rho_p, \rho_h)$ et $\Phi_h(\rho_p, \rho_h)$ représentent les probabilités d'insertion d'une nouvelle protéine Tau suivant respectivement le mode longitudinal et latéral, sur un microtubule déjà décoré par une distribution de Tau aux densités ρ_p et ρ_h et sont données par :

$$\begin{cases} \Phi_p(\rho_p, \rho_h) = \frac{[1 - (1 + \sigma_p)\rho_p - (1 + \sigma_h)\rho_h]^{1+\sigma_p}}{(1 - \sigma_p\rho_p)^{\sigma_p}} , \\ \Phi_h(\rho_p, \rho_h) = \frac{[1 - (1 + \sigma_p)\rho_p - (1 + \sigma_h)\rho_h]^{1+\sigma_h}}{(1 - \sigma_h\rho_h)^{\sigma_h}} . \end{cases} \quad (10.2)$$

Les solutions du système (10.1) peuvent être représentées dans un espace des phases où la densité ρ_h est tracée en fonction de ρ_p et qui est paramétré par le ratio des deux constantes d'équilibre $\kappa = k_{\text{eq,p}}/k_{\text{eq,h}}$.

4. La distribution des plus proches voisins le long d'un protofilament s'exprime en fonction des densités ρ_p et ρ_h comme suit :

$$P_{\parallel}(r) = \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^2 z_i z_j P_{\parallel,i,j}(r) \quad \text{avec} \quad \{1 \equiv p; 2 \equiv h\} , \quad (10.3)$$

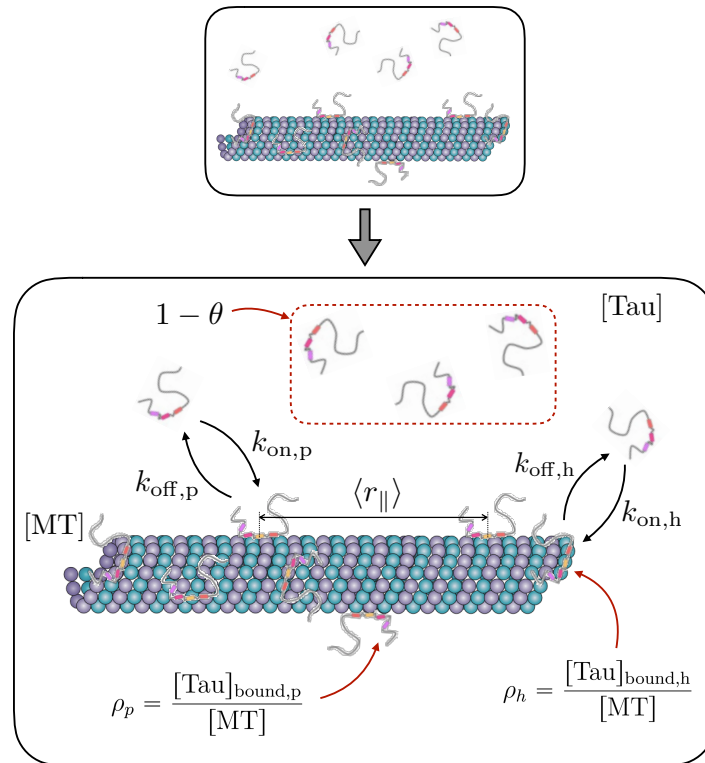
où z_p et z_h sont les fractions de protéines Tau attachées respectivement dans le mode longitudinal et latéral et sont données par :

$$z_p = \frac{\rho_p}{\rho_p + (1 + \sigma_h)\rho_h} \quad \text{et} \quad z_h = \frac{(1 + \sigma_h)\rho_h}{\rho_p + (1 + \sigma_h)\rho_h} , \quad (10.4)$$

et $P_{\parallel,i,j}(r)$ représente la distribution des plus proches voisins entre une protéine de type $i = \{p, h\}$ et une protéine de type $j = \{p, h\}$ le long d'un protofilament. De manière générale, c'est-à-dire en présence des deux modes d'attachement, la distribution des plus proches voisins le long d'une direction donnée est non-exponentielle. La distribution tend vers une exponentielle dans la limite où un des deux modes est favorisé, c'est-à-dire pour $k_{\text{eq,p}} \gg k_{\text{eq,h}}$ ou $k_{\text{eq,h}} \gg k_{\text{eq,p}}$.

Résumé du chapitre 10 : Décoration d'un microtubule par Tau : Modèle bidimensionnel (suite)

Décoration d'un microtubule stable par Tau



Quatrième partie

Conclusion

Chapitre 11

Conclusion générale et perspectives

L'objectif de ce travail était de construire les bases permettant d'aller vers une modélisation du système couplé de l'instabilité dynamique des microtubules en interaction avec la dynamique d'attachement/détachement des protéines Tau sur les microtubules dynamiques. Pour ce faire, nous avons : (i) développé une nouvelle modélisation de l'instabilité dynamique des microtubules à l'échelle de la tubuline dont les comportements sont comparables avec des observations expérimentales récentes, et (ii) élaboré un modèle caractérisant la dynamique de décoration des microtubules par les protéines Tau en l'absence d'instabilité dynamique, c'est-à-dire pour des microtubules stabilisés.

Sommaire

11.1 Instabilité dynamique des microtubules	178
11.1.1 Modèle mésoscopique non-Markovien	178
11.1.2 Détermination des paramètres de l'instabilité dynamique	180
11.2 Décoration par Tau d'un microtubule stabilisé	180
11.2.1 Modèle bidimensionnel de décoration d'un microtubule par des protéines Tau	180
11.2.2 Détermination de la stœchiométrie et de la constante de dissociation pour la réaction Tau-microtubule	181
11.2.3 Pour aller plus loin	181
11.3 Vers un modèle global du système Tau-Microtubule	185
11.3.1 Système Tau-Microtubule : modèle à 3 états	185
11.3.2 Perspectives	189
11.4 Conclusion	191

Ce travail a permis de développer une modélisation fine de l'instabilité dynamique des microtubules qui soit fidèle aux observations expérimentales (chapitre 6). La dynamique a été décrite à l'échelle de la tubuline afin de faciliter l'incorporation d'une population de protéines Tau en interaction avec les microtubules dynamiques. La seconde étape de ce travail était de décrire et caractériser la manière dont une population de protéines Tau peut décorer, c'est-à-dire s'attacher et remplir la surface d'un microtubule stabilisé (chapitre 10). Cette situation a été intensivement étudiée expérimentalement en utilisant des molécules telles que le Paclitaxel ($C_{47}H_{51}NO_{14}$) plus connu sous le nom de Taxol ou bien le GMPCPP ($C_{11}H_{18}N_5O_{13}P_3$) pour stabiliser le microtubule et observer sa décoration par les protéines Tau. Dans ce qui suit, nous allons revenir sur le travail réalisé et évoquer les points qui nous semblent pertinents à développer en perspective. Cette partie s'articule en trois sections, une première sur l'instabilité dynamique des microtubules, une seconde sur la dynamique de décoration des microtubules par Tau et enfin une troisième section présentant les perspectives d'un modèle d'instabilité dynamique en présence de protéines Tau.

11.1 Instabilité dynamique des microtubules

Le modèle classique à deux états décrivant le processus d'instabilité des microtubules est un modèle macroscopique dans lequel l'extrémité libre du microtubule est soit dans une phase de croissance ou dans une phase de décroissance (chapitre 4). Ce modèle capture les propriétés essentielles de l'instabilité dynamique et présente l'avantage d'avoir des solutions analytiques exactes. Cependant, ce modèle ne permet pas d'inclure de manière simple l'interaction d'une population de protéines Tau avec les microtubules. Pour y parvenir, nous avons développé un modèle mésoscopique décrivant l'instabilité dynamique à l'échelle de la tubuline qui s'avère être non-Markovien et dont les caractéristiques sont compatibles avec les observations expérimentales (chapitre 6).

11.1.1 Modèle mésoscopique non-Markovien

Le modèle que nous avons développé décrit la dynamique d'un microtubule représenté comme un ensemble de N_p protofilaments en interaction. Cette dynamique est contrôlée par 2 paramètres internes : la probabilité d'hydrolyse p_h , décrivant le processus d'hydrolyse des dimères de tubuline GTP en GDP au sein du microtubule, et la probabilité de dissociation p_d , décrivant le mécanisme de dissociation des dimères de tubuline GDP à l'extrémité du microtubule. Ce modèle est basé sur l'hypothèse selon laquelle l'événement de catastrophe du microtubule, c'est-à-dire la transition de la phase de croissance à celle de décroissance, survient lorsqu'au moins n_* protofilaments se trouvent dans un état dit instable. Des expressions analytiques ont été dérivées pour les 4 paramètres (en fait 2 paramètres, les vitesses demeurant inchangées) caractérisant l'instabilité dynamique : v_+ , v_- , f_+ et f_- , qui sont les vitesses et fréquences de croissance et de décroissance. Les expressions analytiques des fréquences sont en très bon accord avec les résultats provenant

11.1 Instabilité dynamique des microtubules

de la simulation Monte-Carlo du processus et nous avons montré que pour $n_\star > 1$, f_+ est une fonction du temps que le microtubule a passé dans la phase de croissance. Plus précisément, f_+ augmente au cours du temps avant d'atteindre un plateau dont la valeur dépend des paramètres du modèle. Ce comportement pour la fréquence de croissance a été reporté expérimentalement par Odde *et al* [67] en 1995 et plus récemment par Gardner *et al* [66] en 2011. Afin d'estimer les valeurs numériques des paramètres du modèle, nous avons réalisé un ajustement des données de Gardner *et al* [66] en utilisant l'expression mathématique que nous avons dérivée pour f_+ . Les résultats de l'ajustement des données suggèrent un mécanisme de dissociation accélérée des tubulines, c'est-à-dire une probabilité de dissociation qui augmente au fur et à mesure que le nombre de protofilaments instables augmente avant d'atteindre l'état où $n_\star = 3$ protofilaments sont instables et entraînent la catastrophe du microtubule.

Les perspectives de ce travail seraient de :

- Tenir compte de manière plus explicite des interactions entre les protofilaments dans les probabilités p_h et p_d . En d'autres termes, ces probabilités deviendraient donc fonction du nombre de protofilaments instables n , et n_\star ne serait plus un paramètre du problème mais résulterait d'un seuil d'interactions à partir duquel les probabilités atteindraient une valeur critique. De plus, les interactions entre protofilaments sont décrites comme des interactions de longue portée, c'est-à-dire que la position des protofilaments instables ne joue pas de rôle dans la déstabilisation du microtubule. Une perspective de ce travail serait d'ajouter une information sur la position relative des protofilaments au sein du microtubule dans les interactions entre protofilaments.
- Mieux caractériser la phase de décroissance du microtubule et en particulier les effets de bords qui surviennent pour $\epsilon < 1$. Nous avons vu dans le chapitre 6 que pour $\epsilon < 1$, la fréquence de décroissance calculée sur de telles trajectoires était en réalité une fréquence apparente. L'objectif de ce travail serait de pouvoir exprimer la fréquence intrinsèque du système en fonction de la fréquence de décroissance apparente. La méthode développée pour alors être utilisée sur des données expérimentales dont la grande majorité correspondent à un paramètre $\epsilon < 1$.
- Exprimer le ratio des vitesses de décroissance et de croissance $v_-/v_+ = r$ en fonction des probabilités p_h et p_d .

11.1.2 Détermination des paramètres de l'instabilité dynamique

Dans le chapitre 5, nous avons présenté une méthode d'analyse permettant de déterminer les paramètres caractérisant l'instabilité dynamique des microtubules à partir de kymographes. Cette méthode suppose implicitement que les distributions des temps de croissance et de décroissance ont un comportement de type exponentiel. De nombreuses expériences *in vitro* et *in vivo* ont mis en évidence que la distribution des temps de croissance n'était pas décrite par une décroissance purement exponentielle [67, 68, 66, 69, 60]. Les résultats de l'analyse des kymographes provenant d'expériences réalisées comme par exemple au Grenoble Institut des neurosciences [86] présentés sur la Figure 5.4 semblent indiquer un caractère non-exponentiel à la fois pour la distribution des temps de croissance et de décroissance. Une perspective serait d'adapter la méthode d'analyse kymographique pour des distributions quelconques afin de caractériser et d'analyser les bonnes dépendances temporelles pour les fréquences de croissance et de décroissance, en présence et en absence de Tau.

11.2 Décoration par Tau d'un microtubule stabilisé

De nombreuses expériences *in vitro* ont été réalisées afin de caractériser la manière dont une population de protéines Tau interagit avec un microtubule stabilisé. En se basant sur les résultats de ces expériences, nous avons développé un modèle décrivant la manière dont une population de Tau peut décorer la surface d'un microtubule.

11.2.1 Modèle bidimensionnel de décoration d'un microtubule par des protéines Tau

Le modèle que nous avons développé décrit la dynamique de décoration d'une population de Tau à la surface d'un microtubule stabilisé. Le modèle est construit sur l'hypothèse selon laquelle Tau peut s'attacher à la surface du microtubule soit suivant un mode longitudinal, c'est-à-dire le long d'un protofilament ou un mode latéral, c'est-à-dire entre protofilaments adjacents. Le modèle décrit le processus d'attachement selon ces deux modes et de détachement d'une population de Tau à la surface du microtubule. Le modèle est caractérisé par 5 paramètres principaux : la stœchiométrie du mode longitudinal, $\nu_p = 1/(1 + \sigma_p)$ et du mode latéral, $\nu_h = 1/(1 + \sigma_h)$, les constantes d'équilibre $k_{\text{eq,p}}$, $k_{\text{eq,h}}$ pour le mode longitudinal et latéral, et x le ratio entre la concentration totale de protéines Tau dans la solution et la concentration totale de microtubules polymérisés. Deux quantités importantes accessibles expérimentalement ont été calculées à la fois analytiquement et numériquement : la densité totale de protéines Tau attachées sur le microtubule à l'équilibre et la distribution des plus proches voisins.

Le modèle de décoration que nous avons développé dans le chapitre 10 est construit sur un réseau homogène dans lequel les sites d'attachements (dimères de tubuline) sont identiques et équiprobables. Le modèle de l'instabilité dynamique du chapitre 6 considère deux types de dimères de tubuline : GTP et GDP. Une perspective du modèle de décoration des Tau serait de le généraliser au cas d'un réseau hétérogène avec une distribution des sites GTP et GDP. Une telle généralisation ne se justifie que si les interactions Tau-tubuline GTP et Tau-tubuline GDP sont différentes (i.e., paramètres de réactions différents).

11.2.2 Détermination de la stœchiométrie et de la constante de dissociation pour la réaction Tau-microtubule

Le système Tau-microtubule est vu comme une interaction de type ligand (protéine Tau) - macromolécule (microtubule). Ce type de réaction est classiquement caractérisé par deux paramètres qui sont la stœchiométrie, c'est-à-dire le nombre de sites d'attachement sur la macromolécule occupés par un ligand, et la constante d'équilibre qui quantifie l'affinité du ligand pour la macromolécule. Dans le chapitre 9, nous avons développé une méthode générale permettant de déterminer ces deux paramètres à partir d'expériences de co-sédimentation à l'équilibre. La méthode repose sur un formalisme mathématique dans lequel la macromolécule est considérée comme étant une chaîne unidimensionnelle homogène sur laquelle une population de ligands identiques s'attachent. Cependant, les observations expérimentales pour le système Tau-microtubule semblent indiquer la co-existence de deux populations de protéines Tau à la surface du microtubule : des Tau attachées longitudinalement, c'est-à-dire le long d'un protofilament, et des Tau attachées latéralement, c'est-à-dire entre plusieurs protofilaments.

Une perspective de ce travail serait d'améliorer la méthode développée dans le chapitre 9 au système Tau-microtubule, et ce dans le but d'extraire les stœchiométries ν_p et ν_h pour le mode longitudinal et latéral, et les constantes de dissociation associées $K_{d,p}$ et $K_{d,h}$.

11.2.3 Pour aller plus loin

Affinité des protéines Tau en fonction des séquences répétées

Nous avons vu dans le chapitre 7 que le domaine de liaison sur les microtubules des protéines Tau était constitué d'un domaine formé de 3 ou 4 séquences répétées selon l'isoforme de Tau (3R ou 4R). Des expériences ont mis en évidence que chacune de ces séquences pouvait s'attacher de manière indépendante aux microtubules [130]. De plus, il a été montré que l'affinité des Tau aux microtubules augmentait avec le nombre de séquences impliquées [130, 89]. Il est possible de prendre en compte cet aspect et d'exprimer l'affinité

globale de Tau en fonction du nombre de séquences répétées qui sont attachées sur le microtubule. La cinétique à 5 états que l'on considère est représentée sur la Figure 11.1.

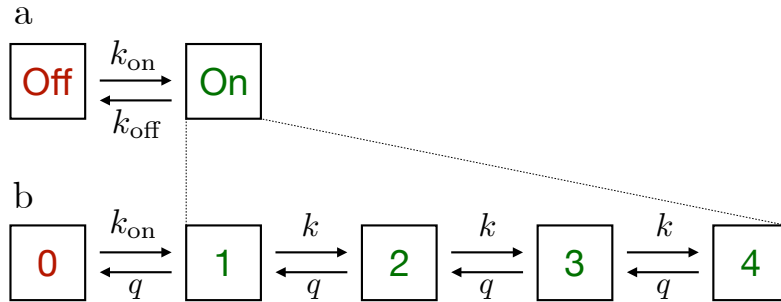


FIGURE 11.1: Cinétique simple modélisant l'attachement séquentiel sur un microtubule d'une protéine Tau possédant 4 séquences répétées.

La protéine Tau libre, c'est-à-dire non liée au microtubule est dans l'état "0", puis avec un taux de transition donné par k_{on} , elle se lie au microtubule avec une seule de ses séquences répétées. Une fois dans le stade "1", elle peut soit transiter vers l'état "0" et se détacher avec le taux q ou transiter vers l'état "2" avec un taux k dans lequel la protéine Tau est liée au microtubule avec 2 de ses séquences répétées, et ainsi de suite pour les états "3" et "4". À partir de cette cinétique on peut calculer k_{off} , le taux de détachement de la protéine Tau en fonction des taux k et q , et du nombre de séquences répétées impliquées, n . On montre (voir Annexe C.1) que k_{off} est donné par :

$$k_{\text{off}} = \frac{k - q}{\left(\frac{k}{q}\right)^n - 1}. \quad (11.1)$$

Ainsi, on constate que k_{off} diminue lorsque le nombre de séquences impliquées augmente, et par conséquent l'affinité globale ($\propto k_{\text{off}}^{-1}$) de la protéine Tau augmente. On peut ainsi comparer l'affinité de la protéine Tau 4R par rapport à la 3R :

$$\frac{k_{\text{off}}(3)}{k_{\text{off}}(4)} \simeq \begin{cases} 1.001 & ; \quad k/q = 0.1 \\ 1.33 & ; \quad k/q = 1 \\ 10 & ; \quad k/q = 10 \end{cases} \quad (11.2)$$

L'affinité de l'isoforme 4R est toujours plus grande que celle de l'isoforme 3R. Dans certaines Tauopathies, seules les isoformes possédant un domaine avec 4 (paralysie supranucléaire, dégénérescence corticobasale) ou 3 (maladie de Pick) séquences répétées s'agrègent. Ainsi, dans ce contexte, la distinction entre les protéines Tau 4R et 3R est pertinente. La prise en compte de deux populations de protéines Tau (3R et 4R) serait ainsi une extension intéressante du modèle développé dans le chapitre 10.

Diffusion des protéines Tau à la surface des microtubules

Des expériences de microscopie à fluorescence de 2012 ont mis en évidence pour la première fois un processus de diffusion des protéines Tau le long des microtubules [156]. Des expériences réalisées en 2014 par un autre groupe de recherche montrent également un processus de diffusion, et ce pour les deux isoformes de Tau (3R et 4R) [157]. Ces résultats semblent indiquer que les protéines Tau peuvent passer d'un stade libre à un stade confiné sur le microtubule, et inversement. Comme on peut le voir sur la Figure 11.2, une protéine Tau confinée sur le microtubule peut alterner entre une phase où elle diffuse le long du microtubule et une phase où elle est attachée, c'est-à-dire immobilisée à la surface du microtubule. La dynamique globale d'une protéine Tau en interaction avec un microtubule peut être décrite comme un processus au cours duquel le Tau libre (état "off") peut passer dans le stade confiné (état "on") sur le microtubule sur lequel il se déplace selon un processus de diffusion unidimensionnel, suivi soit d'attachement sur le microtubule ou d'un détachement dans l'état "off" (Figure 11.2). Un tel modèle est caractérisé par 5 paramètres qui peuvent être extraits (Tableau 11.1) d'expériences réalisées dans [156, 157]. Ces paramètres sont : le taux de confinement k_{on} sur le microtubule du Tau libre, le coefficient de diffusion D de la diffusion unidimensionnelle du Tau confiné sur le microtubule, le taux d'attachement sur le microtubule k_b du Tau confiné en diffusion le long du microtubule, le taux de détachement k_c du Tau, et la taux de libération k_f de la protéine Tau confinée (Figure 11.2).

Paramètre	Symbole	Valeur	Ref
Coefficient de diffusion	D	0.336 ± 0.062 $\mu\text{m}^2/\text{s}$	[156]
Taux de libération	k_f	0.158 ± 0.119 s^{-1}	
Taux d'attachement	k_b	$4.75 \cdot 10^{-3} \pm 3.56 \cdot 10^{-3}$ s^{-1}	
Taux de détachement	k_c	$4.75 \cdot 10^{-3} \pm 3.56 \cdot 10^{-3}$ s^{-1}	
Taux de confinement	k_{on}	0.039 ± 0.03 s^{-1}	

TABLE 11.1: Estimation des valeurs numériques pour les 5 paramètres du modèle de diffusion d'une protéine Tau dans les conditions physiologiques non pathologiques (voir Annexe C.2 pour plus de détails).

Les principales caractéristiques de l'interaction Tau-Microtubule avec un processus de diffusion sont : la distribution stationnaire et les déplacements moyens des Tau le long du microtubule, la probabilité et le temps de séjour des Tau sur le microtubule. Ces quantités peuvent être calculées analytiquement et sont présentées en détail en Annexe C.2. En particulier, on peut montrer que dans le cas d'une protéine Tau initialement

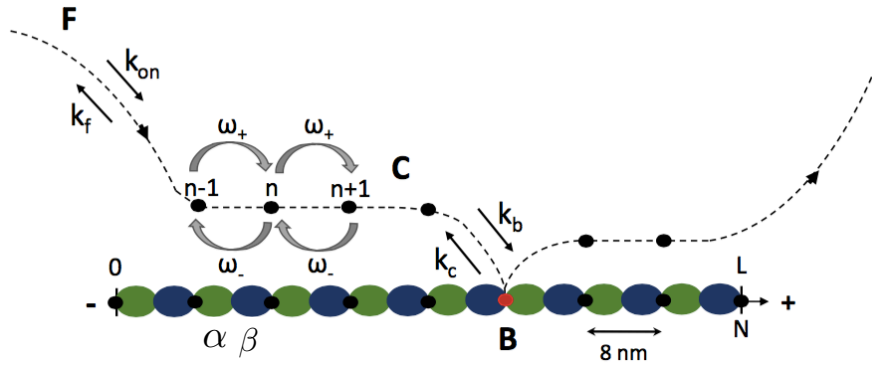


FIGURE 11.2: Schéma illustrant la dynamique d'une protéine Tau sur un microtubule stabilisé.

confinée sur le microtubule, son temps de séjour sur le microtubule est donné par :

$$t_s = \frac{1}{k_f} \left(1 + \frac{k_b}{k_c} \right) Q(u, z_0) ; \quad \begin{cases} Q(u, z_0) = 1 - \frac{2z}{sh(z)} \left[\frac{ch(u) - ch(z)}{u^2 - z^2} \right], \\ z = \sqrt{u^2 + z_0^2} ; \quad z_0 = \frac{L}{\ell} ; \quad u = \frac{VL}{2D}, \end{cases} \quad (11.3)$$

où L représente la longueur du microtubule, V correspond à la vitesse de dérive de la protéine Tau le long du microtubule et $\ell = \sqrt{D/k_f}$ correspond à la longueur caractéristique de diffusion du Tau sur le microtubule. Dans la limite $z_0 \ll 1$, c'est-à-dire pour $L \ll \ell$, une seule protéine Tau suffit pour parcourir l'ensemble du microtubule et le temps de séjour tend vers 0 tandis que pour $z_0 \gg 1$, c'est-à-dire pour $L \gg \ell$, la protéine Tau ne balaie qu'une infime partie du microtubule et le temps de séjour tend vers $k_f^{-1} (1 + k_b/k_c)$. Dans la limite des petits temps, le déplacement carré moyen associé varie linéairement au cours du temps et est donné par $\langle \Delta x^2(t) \rangle = 2Dt$. La distribution stationnaire de la protéine Tau le long du microtubule est représentée sur la Figure 11.3 pour $z_0 = 1$ et $z_0 = 10$. On constate que la distribution est symétrique autour de $x/L = 0.5$, c'est-à-dire le centre du microtubule seulement lorsque $u = VL/2D = 0$. Autrement dit, la position privilégiée de la protéine Tau le long du microtubule correspond au centre pour une vitesse de dérive nulle tandis qu'elle s'écarte du centre pour $V \neq 0$. Ce travail a été présenté en 2015 lors des Journées du Réseau France Microtubules à Grenoble. Le poster est disponible en Annexe D.2.

Si la diffusion des protéines Tau à la surface des microtubules se trouve être confirmée par d'autres expériences indépendantes, il faudrait alors inclure le processus de diffusion des Tau dans le modèle de décoration présenté dans le chapitre 10.

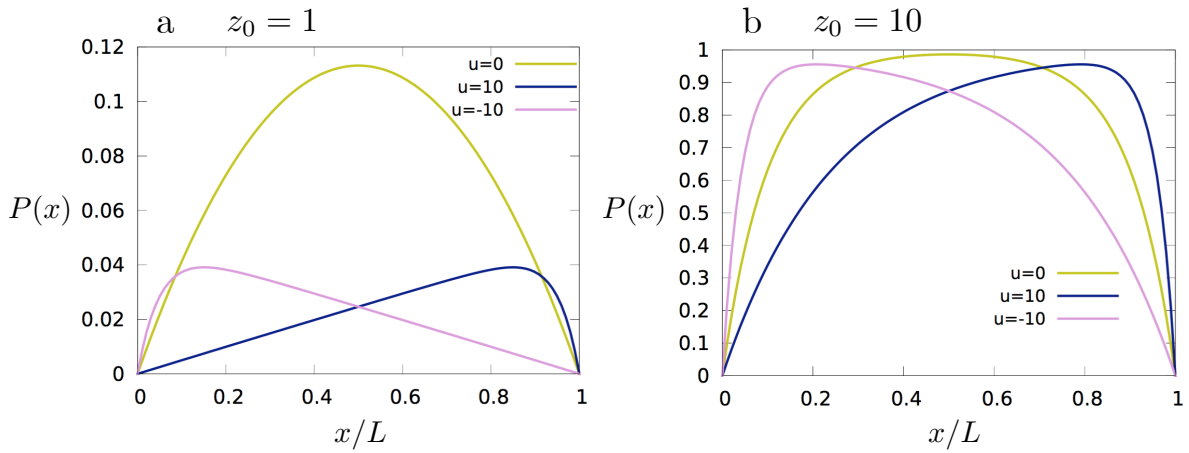


FIGURE 11.3: Distribution stationnaire d'une protéine Tau le long d'un microtubule pour $z_0 = 1$ (a) et $z_0 = 10$ (b).

11.3 Vers un modèle global du système Tau-Microtubule

L'instabilité dynamique des microtubules et la dynamique d'attachement et de détachement des Tau sur le microtubule sont des processus qui se déroulent à des échelles spatiales et temporelles différentes. La difficulté majeure d'un modèle couplant les deux processus est de parvenir à accommoder ces échelles spatiales et temporelles. Dans ce qui suit, nous allons essayer de donner un aperçu de la complexité et des difficultés associées à la construction d'un tel modèle. En guise d'illustration, un premier modèle simplifié permettant d'estimer l'effet de Tau sur les paramètres de l'instabilité dynamique des microtubules est présenté.

11.3.1 Système Tau-Microtubule : modèle à 3 états

Afin de se faire une première idée de l'impact de Tau sur la dynamique des microtubules, on considère la limite où les temps caractéristiques d'attachement/détachement de Tau sur le microtubule sont très rapides par rapport aux temps caractéristiques de la dynamique du microtubule. Ainsi, à chaque pas de temps de la dynamique d'instabilité du microtubule, le processus de décoration est supposé se mettre à l'équilibre. Dans l'image du modèle mésoscopique que nous avons développé dans le chapitre 6, l'extrémité libre du microtubule existe soit dans une phase de croissance " + " ou de décroissance " - ". À partir de cette image, on peut construire une cinétique simple dans laquelle Tau conduit à un 3ème état correspondant à une phase de croissance induite par la présence de Tau à l'extrémité du microtubule. La cinétique entre ces 3 états : croissance " +, 0 " et décroissance " - " en l'absence de Tau et croissance en présence de Tau " +, 1 " est représentée schématiquement sur la Figure 11.4.

Le taux k_{on} représente la fréquence de la transition de l'état de décroissance " - " à celui de croissance en présence de Tau " +, 1 ", et la fréquence de la transition de l'état de croissance en l'absence de Tau " +, 0 " à celui en présence de Tau " +, 1 ". La réaction des Tau avec les microtubules étant supposée atteindre rapidement l'équilibre,

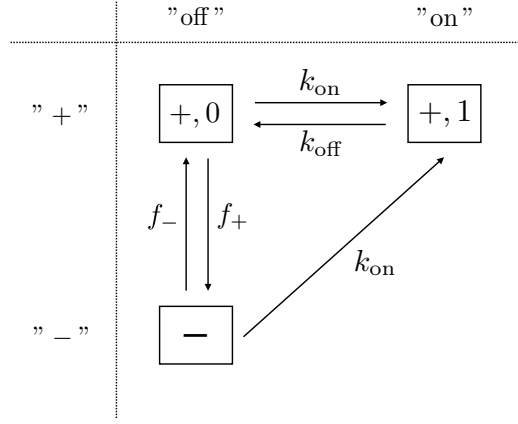


FIGURE 11.4: Cinétique simple modélisant l'effet de Tau sur la dynamique des MTs.

on peut décomposer le taux d'attachement comme $k_{\text{on}} = k'_{\text{on}} [\text{Sites}]_{\text{libre}}$ où k'_{on} représente le taux d'attachement intrinsèque introduit dans le chapitre 8, et $[\text{Sites}]_{\text{libre}}$ correspond à la concentration de sites d'attachement libres sur les microtubules. Les microtubules étant dynamiques, $[\text{Sites}]_{\text{libre}}$ est une quantité qui varie au cours du temps, et cette dépendance temporelle va se répercuter sur le taux k_{on} . On note $x(t)$, la position de l'extrémité libre du microtubule sujette au processus d'instabilité dynamique, et $P_{+,0}(x, t)$, $P_{+,1}(x, t)$ et $P_-(x, t)$ les densités de probabilités représentant la probabilité de trouver un microtubule dans respectivement l'état " +, 0", " +, 1" et " - ", à la position x au temps t . De manière générale pour un taux k_{on} dépendant de x , la cinétique représentée sur la Figure 11.4 se traduit par le système d'équations suivant :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial P_{+,0}}{\partial t} = -v_{+,0} \frac{\partial P_{+,0}}{\partial x} - f_+ P_{+,0} - \iint dt' dx' \kappa(x, t|x', t') P_{+,0}(x', t') + k_{\text{off}} P_{+,1} + f_- P_- , \\ \frac{\partial P_{+,1}}{\partial t} = -v_{+,1} \frac{\partial P_{+,1}}{\partial x} + \iint dt' dx' \kappa(x, t|x', t') P_{+,0}(x', t') - k_{\text{off}} P_{+,1} + \iint dt' dx' \kappa(x, t|x', t') P_-(x', t') , \\ \frac{\partial P_-}{\partial t} = v_- \frac{\partial P_-}{\partial x} + f_+ P_{+,0} - f_- P_- - \iint dt' dx' \kappa(x, t|x', t') P_-(x', t') , \end{array} \right. \quad (11.4)$$

où $\kappa(x, t|x', t')$ est une fonction qui prend en compte le fait que les protéines Tau ayant un impact sur l'instabilité dynamique se situent à proximité de l'extrémité du microtubule. Le système (11.4) présuppose que la vitesse de décroissance des microtubules n'est pas affectée par la présence des protéines Tau. Pour des raisons de simplicité, on fait l'approximation que le taux d'attachement peut être considéré comme constant de telle manière que la fonction $\kappa(x, t|x', t')$ peut s'écrire comme :

$$\mathcal{K}(x, t|x', t') = k_{\text{on}} \delta(x - x') \delta(t - t') . \quad (11.5)$$

Dans ce cas, le système (11.4) devient :

$$\begin{cases} \frac{\partial P_{+,0}}{\partial t} = -v_{+,0} \frac{\partial P_{+,0}}{\partial x} - (f_+ + k_{\text{on}}) P_{+,0} + k_{\text{off}} P_{+,1} + f_- P_- , \\ \frac{\partial P_{+,1}}{\partial t} = -v_{+,1} \frac{\partial P_{+,1}}{\partial x} + k_{\text{on}} P_{+,0} - k_{\text{off}} P_{+,1} + k_{\text{on}} P_- , \\ \frac{\partial P_-}{\partial t} = v_- \frac{\partial P_-}{\partial x} + f_+ P_{+,0} - (f_- + k_{\text{on}}) P_- . \end{cases} \quad (11.6)$$

Le système (11.6) représente l'extension du système (4.2) pour un modèle à 3 états. Ce système peut être résolu de manière analytique et les caractéristiques telles que les distributions de longueur et des temps de vie des microtubules peuvent être dérivées.

Effet de Tau sur l'instabilité dynamique

À partir du modèle du système d'équations (11.6), on peut estimer l'effet de Tau sur la dynamique des microtubules en calculant le paramètre ϵ , c'est-à-dire le ratio entre la longueur moyenne de croissance et celle de décroissance associée à une telle cinétique comme suit (on suppose que les vitesses de croissance et de décroissance ne sont pas affectées par la présence des protéines Tau) :

$$\epsilon = \frac{v_+ \tau_+}{v_- \tau_-} , \quad (11.7)$$

où τ_+ et τ_- représentent respectivement le temps moyen qu'un microtubule passe dans la phase de croissance, c'est-à-dire soit dans l'état "+,0" ou "+,1" et dans la phase de décroissance "-". Pour ce faire, on calcule :

- **Phase de croissance** : On suppose que le microtubule est initialement dans la phase de croissance en l'absence de Tau "+,0" et on s'intéresse au temps moyen qu'il va rester dans la phase de croissance, c'est-à-dire rester dans l'état "+,0" ou "+,1". À partir de la cinétique de la Figure 11.4, on peut écrire le système d'équations suivant pour $P_{+,0}(t)$ et $P_{+,1}(t)$, les probabilités que le microtubule se trouve respectivement dans l'état "+,0", "+,1" :

$$\begin{cases} \frac{dP_{+,0}}{dt} = -(k_{\text{on}} + f_+) P_{+,0} + k_{\text{off}} P_{+,1} , \\ \frac{dP_{+,1}}{dt} = -k_{\text{off}} P_{+,1} + k_{\text{on}} P_{+,0} , \end{cases} \quad (11.8)$$

où k_{on} et k_{off} représentent les taux d'attachement et de détachement des protéines Tau sur le microtubule et f_+ correspond à la fréquence de croissance du microtubule. Le temps moyen de croissance τ_+ s'écrit de manière générale comme :

$$\tau_+ = \int_0^{+\infty} (P_{+,0}(t) + P_{+,1}(t)) dt . \quad (11.9)$$

On peut montrer (voir Annexe C.3) que τ_+ est donné par :

$$\tau_+ = \frac{1}{f_+ (1 - p_{\text{on}})}, \quad (11.10)$$

où $p_{\text{on}} = k_{\text{on}}/(k_{\text{on}} + k_{\text{off}})$. La présence de Tau dans cette cinétique se traduit par une augmentation du temps de croissance.

- **Phase de décroissance** : On suppose que le microtubule est initialement dans la phase de décroissance " – " et on s'intéresse au temps moyen qu'il va rester dans cette phase. À partir de la cinétique de la Figure 11.4, on peut écrire l'équation suivante pour $P_-(t)$, la probabilité que le microtubule soit dans le stade " – " à l'instant t :

$$\frac{dP_-(t)}{dt} = -(f_- + k_{\text{on}})P_-(t), \quad (11.11)$$

où f_- représente la fréquence de décroissance du microtubule et k_{on} correspond au taux d'attachement des Tau sur le microtubule. La solution de l'équation (11.11) avec la condition initiale $P_-(0) = 1$ est donnée par $P_-(t) = e^{-(f_- + k_{\text{on}})t}$ et ainsi le temps moyen passé dans la phase de décroissance s'écrit comme :

$$\tau_- = \frac{1}{f_- + k_{\text{on}}}. \quad (11.12)$$

On constate que la présence de Tau se traduit par une diminution du temps moyen passé dans la phase de décroissance.

En utilisant les expressions (11.10) et (11.12) dans (11.13), on obtient :

$$\epsilon = \frac{v_+ \tau_+}{v_- \tau_-} = \left(1 + \frac{k_{\text{on}}}{f_-}\right) \frac{\epsilon_0}{1 - p_{\text{on}}}, \quad (11.13)$$

où $\epsilon_0 = (v_+ f_-)/(v_- f_+)$ correspond au ratio tel que défini dans le chapitre 4 pour l'instabilité dynamique en l'absence de Tau, et qui est donné par l'équation (6.41) et représenté sur la Figure 6.16 dans le cadre du modèle mésoscopique développé dans le chapitre 6. À partir de l'équation (11.13), on remarque que $\epsilon \geq \epsilon_0$. La transition entre le régime *fini* et *infini* a lieu pour $\epsilon = 1$. À partir de l'équation (11.13), on peut montrer que cette transition s'effectue pour $p_{\text{on}} = p_{\text{on,c}}$ qui est donnée par :

$$p_{\text{on,c}} = 1 - \left(1 + \frac{k_{\text{on,c}}}{f_-}\right) \epsilon_0. \quad (11.14)$$

Ainsi à partir de ce modèle simplifié, on constate que la présence de Tau va affecter la dynamique des microtubules en augmentant le paramètre ϵ et donc augmenter la longueur moyenne des microtubules et ainsi les stabiliser, c'est-à-dire réduire l'occurrence des événements de catastrophes. Ce modèle à 3 états fournit ainsi une base permettant de comprendre l'impact de Tau sur l'instabilité dynamique des microtubules.

Lien avec les Tauopathies

Dans le chapitre 1 d'introduction, nous avons vu que la mort neuronale était directement liée à une diminution voire une perte totale d'efficacité dans le transport des nutriments indispensable au maintien et bon fonctionnement des neurones. Cette dégradation du transport axonal peut se produire pour deux raisons différentes : (i) les microtubules sont trop dynamiques en raison d'une absence de protéines Tau et le réseau microtubulaire supportant le transport se déstabilise, et (ii) les microtubules sont trop stables en raison d'une présence abondante des protéines Tau qui forment des obstacles et gênent le transport des nutriments le long des microtubules [158]. Ces deux limites correspondent à des conditions pathologiques différentes que nous avons représenté schématiquement sur la Figure 11.5. Sur cette figure, l'efficacité du transport (courbe continue) est représentée en fonction du ratio ϵ . Ce ratio caractérise la stabilité des microtubules, avec des microtubules peu stables pour $\epsilon < 1$, c'est-à-dire avec des transitions fréquentes entre les phases de croissance et de décroissance, et des microtubules très stables pour $\epsilon > 1$, c'est-à-dire avec des transitions rares. Comme nous pouvons le voir sur la Figure 11.5, il est possible de définir une valeur critique pour ϵ au voisinage de laquelle le taux de remplissage des microtubules par Tau et le taux de dynamicité (1/stabilité) des microtubules sont du même ordre de grandeur. Autour de cette valeur (zone grisée), l'efficacité du transport axonal est optimale. L'espace (degré d'efficacité en fonction de ϵ) peut alors être subdivisé en 3 zones : une zone viable entourée de 2 zones pathologiques. Il est important de souligner que les pathologies ne sont pas de mêmes types suivant la région de la Figure 11.5 que l'on considère. Par exemple, la maladie d'Alzheimer ou bien encore la paralysie supranucléaire se situeraient dans la région de gauche avec $\epsilon \ll \epsilon_c$ [158] tandis que la démence frontotemporale avec parkinsonisme lié au chromosome 17 se situerait dans la région de droite pour $\epsilon \gg \epsilon_c$ [24].

11.3.2 Perspectives

La cinétique illustrée sur la Figure 11.4 représente une première approche dans la modélisation du système couplé Tau-microtubule dynamique. Ce modèle correspond à la limite où le temps du processus d'attachement et de détachement est rapide par rapport au temps caractéristique de l'instabilité dynamique et où les paramètres k_{on} , k_{off} , f_+ , f_- , v_+ et v_- ne dépendent ni de temps, ni de la longueur du microtubule. Le processus général à modéliser est illustré sur la Figure 11.6. Cette figure illustre toute la complexité du couplage de la dynamique des microtubules avec celle des protéines Tau. La difficulté d'unifier ces deux dynamiques intervient à deux niveaux :

- Au niveau de la diversité et du nombre de paramètres intervenant dans le processus. Compte tenu de la dynamique interne des dimères composant le microtubule, qui peuvent passer d'un état GTP à un état GDP dit hydrolysé, le nombre de paramètres décrivant l'attachement/détachement des Tau est multiplié par deux, passant de quatre (deux paramètres pour l'attachement et le détachement pour le mode longitudinal et latéral) à huit. De plus, contrairement au modèle développé

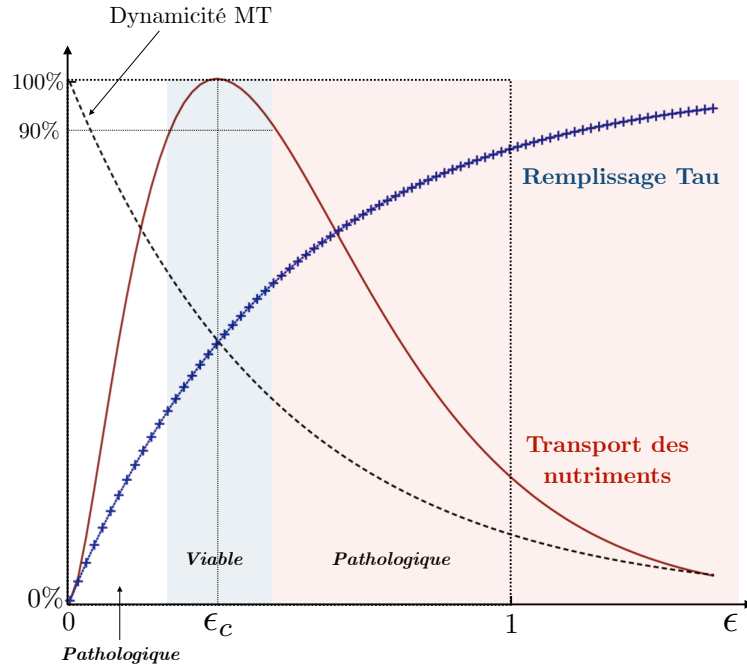


FIGURE 11.5: Définition et représentation schématique des conditions normales et pathologiques à partir de la fonction traduisant l'efficacité (en %) du transport des nutriments au sein des neurones. La zone correspond à une efficacité du transport comprise entre 90% et 100% et représente les conditions normales tandis les zones à l'extérieur représentent les conditions pathologiques.

dans le chapitre 10, la longueur du microtubule et donc le nombre de sites d'attachement pour les protéines Tau varie au cours du temps. Dans ces conditions, les quatre taux d'attachement $k_{\text{on,p}}^{GTP}$, $k_{\text{on,h}}^{GTP}$, $k_{\text{on,p}}^{GDP}$ et $k_{\text{on,h}}^{GDP}$ deviennent alors des fonctions de la longueur du microtubule, qui elle-même dépend du temps. Comme nous l'avons vu dans le chapitre 6, la description non-Markovienne de l'instabilité dynamique des microtubules résulte en une dépendance temporelle pour les fréquences de croissance et de décroissance qui peut se répercuter sur les vitesses de croissance et de décroissance. Ainsi, la description du système couplé requiert au minimum 12 paramètres, dont la plupart varient au cours du temps.

- Au niveau du nouveau formalisme mathématique à développer permettant d'accommoder les deux échelles spatio-temporelles associées à la dynamique des microtubules et à la dynamique d'attachement/détachement des protéines Tau. Les modèles de l'instabilité dynamique tels que ceux présentés dans les chapitres 4 et 6 décrivent l'évolution temporelle de la longueur des microtubules alors que les modèles de décoration des chapitres 8 et 10 décrivent l'évolution temporelle de la densité de protéines Tau sur le microtubule. Le modèle couplé devra être construit de manière à : (i) pouvoir suivre l'évolution de ces deux observables simultanément, et (ii) retrouver respectivement les modèles des chapitres 6 et 10 dans les limites $\rho = 0$ (pas de protéines Tau) et $\dot{L} = 0$ (microtubule stabilisé).

11.4 Conclusion

Ce travail a permis de construire les bases permettant d'aller vers une modélisation fine du système couplé de l'instabilité dynamique des microtubules en interaction avec la dynamique d'attachement/détachement des protéines Tau sur les microtubules. Ce travail constitue ainsi un premier pas vers une compréhension plus quantitative des fonctions des protéines Tau qui émergent de leurs interactions avec les microtubules dynamiques, et de la manière dont elles sont régulées. À plus long terme, ce travail pourrait être utilisé afin de modéliser la dynamique et l'organisation spatiale du réseau microtubulaire au sein des axones, et ainsi d'étudier ses conditions de formation et de stabilité. La perspective ultime étant de modéliser la fonction et les mécanismes de transport des nutriments au sein de l'axone dans le contexte des Tauopathies.

Instabilité dynamique des MTs en présence de Tau

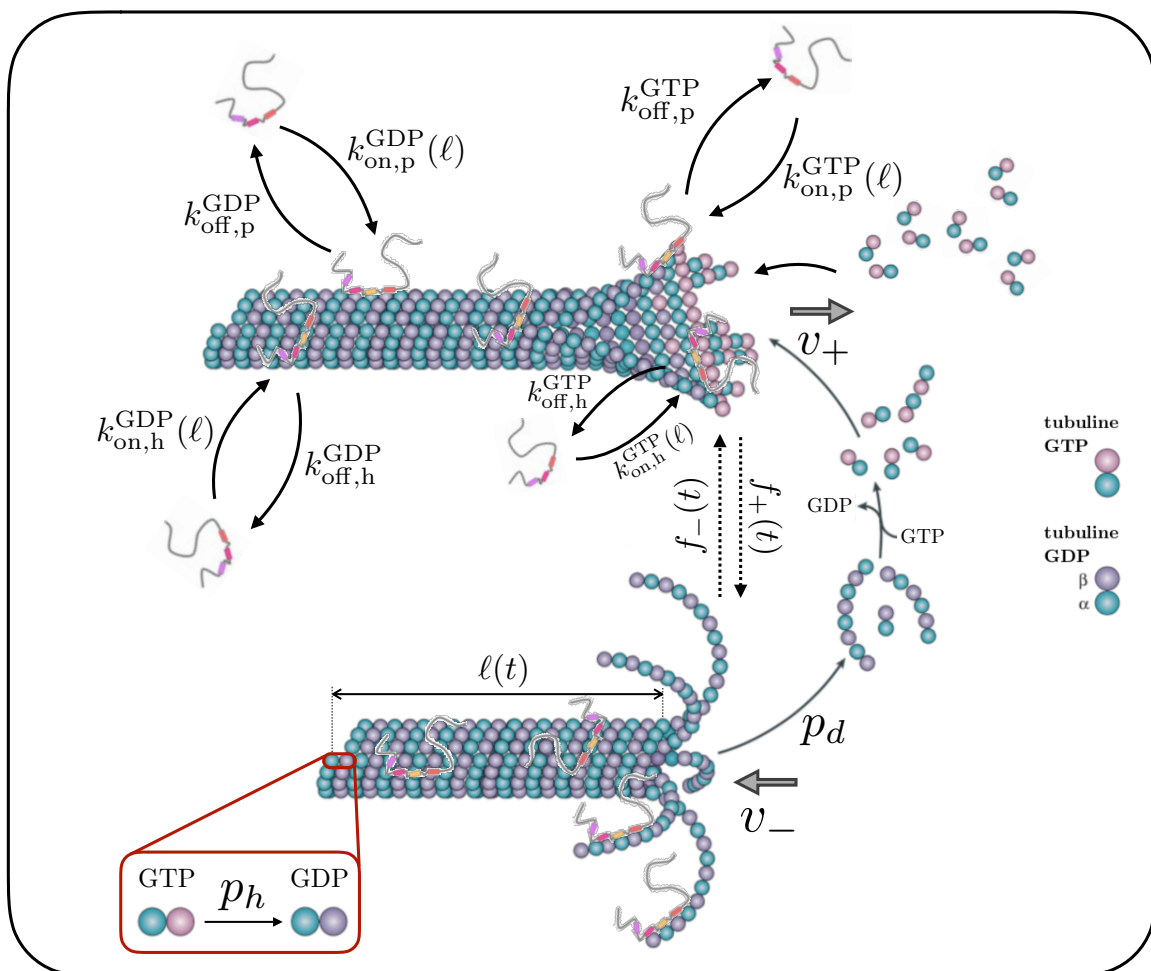


FIGURE 11.6: Perspectives du travail de thèse : développement d'une modélisation du système protéines Tau-Microtubule. La figure a été adaptée de [26, 27].

Bibliographie

- [1] Fondation pour la recherche médicale. <https://www.frm.org/recherches-maladies-neurologiques/maladie-d-alzheimer/alzheimer-en-chiffres>, 1947-2018.
- [2] Alzheimer's Disease International. World alzheimer report 2016—improving healthcare for people living with dementia. *Coverage, quality and costs now and in the future [Internet]*, 2016.
- [3] Alois Alzheimer. Ueber eine eigenartige Erkrankung der hirnrinde. *Allgemeine Zeitschrift für Psychiatrie und Psychisch-gerichtliche Medizin*, 1907.
- [4] Rainulf A Stelzma, H Norman Schnitzlein, and F Reed Murlagh. An English Translation of Alzheimer's 1907 Paper. *Clinical Anatomy*, 8 :429–431, 1995.
- [5] Mark W. Bondi, Emily C. Edmonds, and David P. Salmon. Alzheimer's disease : Past, present, and future. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 23(9-10) :818–831, 2017.
- [6] Passareiro H BrionJP, J Nunez, and J Flament-Durand. Mise en evidence immunologique de la proteine tau au niveau des lesions de degenerescence neurofibril-laire de la maladie d'alzheimer. *Arch Biol (Bruxelles)*, 95 :229–235, 1985.
- [7] Inge Grundke-Iqbal, Khalid Iqbal, Maureen Quinlan, Yunn-Chyn Tung, Masooma S Zaidi, and Henryk M Wisniewski. Microtubule-associated protein tau. a component of alzheimer paired helical filaments. *Journal of Biological Chemistry*, 261(13) :6084–6089, 1986.
- [8] Yasuo IHARA, Nobuyuki NUKINA, Reiko MIURA, and Midori OGAWARA. Phosphorylated tau protein is integrated into paired helical filaments in alzheimer's disease. *The Journal of Biochemistry*, 99(6) :1807–1810, 1986.
- [9] J G Wood, S S Mirra, N J Pollock, and L I Binder. Neurofibrillary tangles of alzheimer disease share antigenic determinants with the axonal microtubule-associated protein tau (tau). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 83(11) :4040–4043, 1986.
- [10] A. Delacourte and A. Defossez. Alzheimer's disease : Tau proteins, the promoting factors of microtubule assembly, are major components of paired helical filaments. *Journal of the Neurological Sciences*, 76(2) :173 – 186, 1986.
- [11] M Goedert, C M Wischik, R A Crowther, J E Walker, and A Klug. Cloning and sequencing of the cdna encoding a core protein of the paired helical filament of alz-

- heimer disease : identification as the microtubule-associated protein tau. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 85(11) :4051–4055, 1988.
- [12] Eric R Kandel, James H Schwartz, Thomas M Jessell, Department of Biochemistry, Molecular Biophysics Thomas Jessell, Steven Siegelbaum, and AJ Hudspeth. *Principles of neural science*, volume 4. McGraw-hill New York, 2000.
- [13] Vincent Huin. *Epigenomic of the gene MAPT in tauopathies*. Theses, Université du Droit et de la Santé - Lille II, December 2016.
- [14] Fabienne Ory Magne and C Brefel Courbon. Tauopathies. *Neurologie. com*, 2(9) :241–244, 2010.
- [15] Paulina V. Arriagada, John H. Growdon, E. Tessa Hedley-Whyte, and Bradley T. Hyman. Neurofibrillary tangles but not senile plaques parallel duration and severity of alzheimer’s disease. *Neurology*, 42(3) :631–631, 1992.
- [16] A. Delacourte, J.P. David, N. Sergeant, L. Buée, A. Wattez, P. Vermersch, F. Ghzali, C. Fallet-Bianco, F. Pasquier, F. Lebert, H. Petit, and C. Di Menza. The biochemical pathway of neurofibrillary degeneration in aging and alzheimer’s disease. *Neurology*, 52(6) :1158–1158, 1999.
- [17] Heiko Braak and Kelly Del Tredici. Alzheimer’s disease : intraneuronal alterations precede insoluble amyloid formation. *Neurobiology of Aging*, 25(6) :713 – 718, 2004.
- [18] J Götz, Alphonse Probst, Maria Grazia Spillantini, T Schäfer, Ross Jakes, K Bürki, and Michel Goedert. Somatodendritic localization and hyperphosphorylation of tau protein in transgenic mice expressing the longest human brain tau isoform. *The EMBO journal*, 14(7) :1304–1313, 1995.
- [19] Kurt R Brunden, John Q Trojanowski, and Virginia M-Y Lee. Advances in tau-focused drug discovery for alzheimer’s disease and related tauopathies. *Nature reviews Drug discovery*, 8(10) :783, 2009.
- [20] Yasmina Talmat-Amar, Yoan Arribat, and Marie-Laure Parmentier. Vesicular axonal transport is modified in vivo by tau deletion or overexpression in drosophila. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(3), 2018.
- [21] Ram Dixit, Jennifer L Ross, Yale E Goldman, and Erika LF Holzbaur. Differential regulation of dynein and kinesin motor proteins by tau. *Science*, 319(5866) :1086–1089, 2008.
- [22] Arne Seitz, Hiroaki Kojima, Kazuhiro Oiwa, Eva-Maria Mandelkow, Young-Hwa Song, and Eckhard Mandelkow. Single-molecule investigation of the interference between kinesin, tau and map2c. *The EMBO Journal*, 21(18) :4896–4905, 2002.
- [23] Michael Vershinin, Brian C. Carter, David S. Razafsky, Stephen J. King, and Steven P. Gross. Multiple-motor based transport and its regulation by tau. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(1) :87–92, 2007.
- [24] Stuart C. Feinstein and Leslie Wilson. Inability of tau to properly regulate neuronal microtubule dynamics : a loss-of-function mechanism by which tau might mediate

- neuronal cell death. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1739(2) :268 – 279, 2005. The Biology and Pathobiology of Tau.
- [25] Dulal Panda, Jonathan C Samuel, Michelle Massie, Stuart C Feinstein, and Leslie Wilson. Differential regulation of microtubule dynamics by three- and four-repeat tau : implications for the onset of neurodegenerative disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(16) :9548–53, 2003.
- [26] Anna Akhmanova and Michel O. Steinmetz. Tracking the ends : a dynamic protein network controls the fate of microtubule tips. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9(4) :309–322, 2008.
- [27] M. C. Choi, U. Raviv, H. P. Miller, M. R. Gaylord, E. Kiris, D. Ventimiglia, D. J. Needleman, M. W. Kim, L. Wilson, S. C. Feinstein, and C. R. Safinya. Human microtubule-associated-protein tau regulates the number of protofilaments in microtubules : A synchrotron X-ray scattering study. *Biophysical Journal*, 97(2) :519–527, 2009.
- [28] Cecilia Conde and Alfredo Cáceres. Microtubule assembly, organization and dynamics in axons and dendrites. *Nature reviews. Neuroscience*, 10(5) :319–332, 2009.
- [29] E. M. Mandelkow, R. Schultheiss, R. Rapp, and M. Müller. On the surface lattice of microtubules : Helix starts, protofilament number, seam, and handedness. *Journal of Cell Biology*, 102(3) :1067–1073, 1986.
- [30] Eckhard Mandelkow and Eva-Maria Mandelkow. Microtubule structure. *Current Opinion in Structural Biology*, 4(2) :171–179, 1994.
- [31] David Sept, Nathan a Baker, and J Andrew McCammon. The physical basis of microtubule structure and stability. *Protein science : a publication of the Protein Society*, 12(10) :2257–2261, 2003.
- [32] Denis Chrétien and Richard H. Wade. New data on the microtubule surface lattice. *Biology of the cell / under the auspices of the European Cell Biology Organization*, 71(1-2) :161–174, 1991.
- [33] D Chrétien and S D Fuller. Microtubules switch occasionally into unfavorable configurations during elongation. *Journal of molecular biology*, 298 :663–676, 2000.
- [34] A. A. Hyman, D. Chretien, I. Arnal, and R. H. Wade. Structural changes accompanying GTP hydrolysis in microtubules : Information from a slowly hydrolyzable analogue guanylyl-(α,β)-methylene- diphosphonate. *Journal of Cell Biology*, 128(1-2) :117–125, 1995.
- [35] Masahide Kikkawa, Takashi Ishikawa, Takao Nakata, Takeyuki Wakabayashi, and Nobutaka Hirokawa. Direct visualization of the microtubule lattice seam both in vitro and in vivo. *Journal of Cell Biology*, 127(6 II) :1965–1971, 1994.
- [36] YH Song and E Mandelkow. Recombinant kinesin motor domain binds to 1B-tubulin and decorates microtubules with a B surface lattice. *Biochemistry*, 90(March 1993) :1671–1675, 1993.

- [37] Y. H. Song and E. Mandelkow. The anatomy of flagellar microtubules : Polarity, seam, junctions, and lattice. *Journal of Cell Biology*, 128(1-2) :81–94, 1995.
- [38] Keiko Hirose, Juan Fan, and Linda A. Amos. Re-examination of the Polarity of Microtubules and Sheets Decorated with Kinesin Motor Domain. *Journal of Molecular Biology*, 251(3) :329–333, 1995.
- [39] Juan Fan, Andrew D. Griffiths, Andrew Lockhart, Robert A. Cross, and Linda A. Amos. Microtubule minus ends can be labelled with a phage display antibody specific to alpha-tubulin. *Journal of Molecular Biology*, 259(3) :325–330, 1996.
- [40] Frédéric Metoz, Isabelle Arnal, and Richard H. Wade. Tomography without Tilt : Three-Dimensional Imaging of Microtubule/Motor Complexes. *Journal of Structural Biology*, 118(2) :159–168, mar 1997.
- [41] Tetsuya Horio and Takashi Murata. The role of dynamic instability in microtubule organization. *Frontiers in Plant Science*, 5(October) :1–10, 2014.
- [42] E Nogales, S G Wolf, and K H Downing. Structure of the alpha beta tubulin dimer by electron crystallography. *Nature*, 391 :199–203, 1998.
- [43] Eva Nogales, Kenneth H Downing, Linda A Amos, and Jan Löwe. Tubulin and ftsz form a distinct family of gtpases. *Nature Structural and Molecular Biology*, 5(6) :451, 1998.
- [44] R. Melki, M. F. Carlier, D. Pantaloni, and S. N. Timasheff. Cold Depolymerization of Microtubules to Double Rings : Geometric Stabilization of Assemblies. *Biochemistry*, 28(23) :9143–9152, 1989.
- [45] Tim Mitchison and Marc Kirschner. Microtubule assembly nucleated by isolated centrosomes. *Nature*, 312(5991) :232–237, 1984.
- [46] T Mitchison and M Kirschner. Dynamic instability of microtubule growth. *Nature*, 312(5991) :237–42, 1984.
- [47] Jesus Avlla, Jorge Dominguez, and Javier Diaz-nido. Regulation of microtubule dynamics by microtubule- associated protein expression and phosphorylation during neuronal development. *International Journal of Developmental Biology*, 38(1) :13–25, 1994.
- [48] R. a. Walker, E. T. O’Brien, N. K. Pryer, M. F. Soboeiro, W. a. Voter, H. P. Erickson, and E. D. Salmon. Dynamic instability of individual microtubules analyzed by video light microscopy : rate constants and transition frequencies. *Journal of Cell Biology*, 107(4) :1437–1448, 1988.
- [49] N M Rusan, C J Fagerstrom, A M Yvon, and P Wadsworth. Cell cycle-dependent changes in microtubule dynamics in living cells expressing green fluorescent protein-alpha tubulin. *Molecular biology of the cell*, 12(4) :971–80, 2001.
- [50] K. Summers and M. W. Kirschner. Characteristics of the polar assembly and disassembly of microtubules observed in vitro by darkfield light microscopy. *Journal of Cell Biology*, 83(1) :205–217, 1979.

- [51] Lawrence G Bergen and Gary G Borisy. Electron Microscope Analysis of Seeded Assembly. *Journal of Cell Biology*, 84(1) :141–150, 2013.
- [52] RA Walker, ET O’Brien, NK Pryer, MF Soboeiro, WA Voter, HP Erickson, and ED Salmon. Dynamic instability of individual microtubules analyzed by video light microscopy : rate constants and transition frequencies. *The Journal of cell biology*, 107(4) :1437–1448, 1988.
- [53] M.-F. Carlier and D Pantaloni. Kinetic analysis of GTP hydrolysis associated with tubulin polymerization. *Biochem*, 20(1973) :1918–1924, 1981.
- [54] T David-Pfeuty, H P Erickson, and D Pantaloni. Guanosinetriphosphatase activity of tubulin associated with microtubule assembly. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 74(12) :5372–5376, 1977.
- [55] C.-T. Chen and S. J. Doxsey. An MBoC Favorite : Role of GTP hydrolysis in microtubule dynamics : information from a slowly hydrolyzable analogue, GMPCPP. *Molecular Biology of the Cell*, 23(19) :3775–3775, 2012.
- [56] Hong Wei Wang and Eva Nogales. Nucleotide-dependent bending flexibility of tubulin regulates microtubule assembly. *Nature*, 435(7044) :911–915, 2005.
- [57] Eva Nogales and Hong Wei Wang. Structural mechanisms underlying nucleotide-dependent self-assembly of tubulin and its relatives. *Current Opinion in Structural Biology*, 16(2) :221–229, 2006.
- [58] E T O’Brien, W a Voter, and H P Erickson. GTP hydrolysis during microtubule assembly. *Biochemistry*, 26(13) :4148–4156, 1987.
- [59] Ronald Melki, Stéphane Fievez, and Marie France Carlier. Continuous monitoring of P(i) release following nucleotide hydrolysis in actin or tubulin assembly using 2-amino-6-mercapto-7-methylpurine ribonucleoside and purine-nucleoside phosphorylase as an enzyme-linked assay. *Biochemistry*, 35(37) :12038–12045, 1996.
- [60] R. A. Walker, N. K. Pryer, and E. D. Salmon. Dilution of individual microtubules observed in real time in vitro : Evidence that cap size is small and independent of elongation rate. *Journal of Cell Biology*, 114(1) :73–81, 1991.
- [61] M. Caplow and J. Shanks. Evidence that a single monolayer tubulin-GTP cap is both necessary and sufficient to stabilize microtubules. *Molecular Biology of the Cell*, 7(4) :663–675, 1996.
- [62] David N. Drechsel and Marc W. Kirschner. The minimum GTP cap required to stabilize microtubules. *Current Biology*, 4(12) :1053–1061, 1994.
- [63] Henry T. Schek, Melissa K. Gardner, Jun Cheng, David J. Odde, and Alan J. Hunt. Microtubule Assembly Dynamics at the Nanoscale. *Current Biology*, 17(17) :1445–1455, 2007.
- [64] Ariane Dimitrov, Mélanie Quesnoit, Sandrine Moutel, Isabelle Cantaloube, Christian Poüs, and Franck Perez. Detection of GTP-tubulin conformation in vivo reveals a role for GTP remnants in microtubule rescues. *Science*, 322(5906) :1353–1356, 2008.

- [65] Peter M Bayley, MARIA J Schilstra, and Stephen R Martin. Microtubule dynamic instability : numerical simulation of microtubule transition properties using a lateral cap model. *Journal of cell science*, 95(1) :33–48, 1990.
- [66] Melissa K. Gardner, Marija Zanic, Christopher Gell, Volker Bormuth, and Jonathon Howard. Depolymerizing kinesins Kip3 and MCAK shape cellular microtubule architecture by differential control of catastrophe. *Cell*, 147(5) :1092–1103, 2011.
- [67] D. J. Odde, L. Cassimeris, and H. M. Buettner. Kinetics of microtubule catastrophe assessed by probabilistic analysis. *Biophysical Journal*, 69(3) :796–802, 1995.
- [68] David J. Odde, Helen M. Buettner, and Lynne Cassimeris. Spectral Analysis of Microtubule Assembly Dynamics. *AICChE Journal*, 42(5) :1434–1442, 1996.
- [69] Tatiana Stepanova, Ihor Smal, Jeffrey Van Haren, Umut Akinci, Zhe Liu, Marja Miedema, Ronald Limpens, Marco Van Ham, Michael Van Der Reijden, Raymond Poot, Frank Grosveld, Mieke Mommaas, Erik Meijering, and Niels Galjart. History-dependent catastrophes regulate axonal microtubule behavior. *Current Biology*, 20(11) :1023–1028, 2010.
- [70] Y Chen and T L Hill. Use of Monte Carlo calculations in the study of microtubule subunit kinetics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 80(24) :7520–7523, 1983.
- [71] T. L. Hill. Introductory analysis of the GTP-cap phase-change kinetics at the end of a microtubule. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 81(21) :6728–6732, 1984.
- [72] Marileen Dogterom and Stanislas Leibler. Physical aspects of the growth and regulation of microtubule structures. *Physical review letters*, 70(9) :1347, 1993.
- [73] D J Bicout. Green’s functions and first passage time distributions for dynamic instability of microtubules. *Physical Review E*, 56(6) :6656–6667, 1997.
- [74] D. Bicout and R. Rubin. Classification of microtubule histories. *Physical Review E*, 59(1) :913–920, 1999.
- [75] Hugo Bowne-Anderson, Marija Zanic, Monika Kauer, and Jonathon Howard. Microtubule dynamic instability : A new model with coupled GTP hydrolysis and multistep catastrophe. *BioEssays*, 35(5) :452–461, 2013.
- [76] Ranjith Padinhateeri, Anatoly B. Kolomeisky, and David Lacoste. Random hydrolysis controls the dynamic instability of microtubules. *Biophysical Journal*, 102(6) :1274–1283, 2012.
- [77] Padinhateeri Ranjith, David Lacoste, Kirone Mallick, and Jean François Joanny. Nonequilibrium self-assembly of a filament coupled to ATP/GTP hydrolysis. *Biophysical Journal*, 96(6) :2146–2159, 2009.
- [78] Gennady Margolin, Ivan V Gregoretti, Holly V Goodson, and Mark S Alber. Analysis of a mesoscopic stochastic model of microtubule dynamic instability. *Physical Review E*, 74(4) :041920, 2006.

- [79] Henrik Flyvbjerg, Timothy Holy, and Stanislas Leibler. Microtubule dynamics : Caps, catastrophes, and coupled hydrolysis. *Physical Review E*, 54(5) :5538–5560, 1996.
- [80] E. M. Mandelkow. Microtubule dynamics and microtubule caps : a time-resolved cryo- electron microscopy study. *The Journal of Cell Biology*, 114(5) :977–991, 1991.
- [81] Auréliane Elie, Elea Prezel, Christophe Guérin, Eric Denarier, Sacnicte Ramirez-Rios, Laurence Serre, Annie Andrieux, Anne Fourest-Lieuvin, Laurent Blanchoin, and Isabelle Arnal. Tau co-organizes dynamic microtubule and actin networks. *Scientific Reports*, 5 :1–10, 2015.
- [82] Ihor Smal, Ilya Grigoriev, Anna Akhmanova, Wiro J Niessen, and Erik Meijering. Microtubule dynamics analysis using kymographs and variable-rate particle filters. *IEEE Transactions on Image Processing*, 19(7) :1861–1876, 2010.
- [83] L. Cassimeris, N. K. Pryer, and E. D. Salmon. Real-time observations of microtubule dynamic instability in living cells. *Journal of Cell Biology*, 107(6 I) :2223–2231, 1988.
- [84] Mythili Yenjerla, Manu Lopus, and Leslie Wilson. Chapter 11 - analysis of dynamic instability of steady-state microtubules in vitro by video-enhanced differential interference contrast microscopy with an appendix by emin oroudjev. In Leslie Wilson and John J. Correia, editors, *Microtubules, in vitro*, volume 95 of *Methods in Cell Biology*, pages 189 – 206. Academic Press, 2010.
- [85] H. Hotani and T. Horio. Dynamics of microtubules visualized by darkfield microscopy : treadmilling and dynamic instability. *Cell motility and the cytoskeleton*, 10(1-2) :229–236, 1988.
- [86] Virginie Stoppin-Mellet Isabelle Arnal. Grenoble institut des neurosciences, équipe dynamique et structure dy cytosquelette. https://neurosciences.univ-grenoble-alpes.fr/fr/recherche/equipes-de-recherche/equipe-dynamique-et-structure-du-cytosquelette--637936.htm?RH=NEUROFR_ANNU.
- [87] W.S Rasband. Logiciel imagej. <https://imagej.nih.gov/ij/>, 1997-2018.
- [88] Stephan Preibisch Varun Kapoor. Microtubule tracker. <https://imagej.net/MicrotubuleTracker>, 2017.
- [89] N. Gustke, B. Trinczek, J. Biernat, E.-M. Mandelkow, and E. Mandelkow. Domains of tau Protein and Interactions with Microtubules. *Biochemistry*, 33(32) :9511–9522, 1994.
- [90] Melissa K. Gardner, Marija Zanic, and Jonathon Howard. Microtubule catastrophe and rescue. *Current Opinion in Cell Biology*, 25(1) :1–9, 2013.
- [91] V. Jemseena and Manoj Gopalakrishnan. Microtubule catastrophe from protofilament dynamics. *Physical Review E - Statistical, Nonlinear, and Soft Matter Physics*, 88(3) :1–15, 2013.
- [92] Ayuna Barlukova, Stéphane Honoré, and Florence Hubert. Mathematical modeling of the microtubule dynamic instability : a new approach of gtp-tubulin hydrolysis. In

- Jean Clairambault and Vitaly Volpert, editors, *Workshop on Multiscale and Hybrid Modelling in Cell and Cell Population Biology*, volume 5, Paris, 2015. ITM Web of Conferences, ITM Web of Conferences.
- [93] Ayuna Barlukova, Gérard Henry, Stéphane Honoré, Florence Hubert, and Diana White. In silico modeling microtubule dynamic instability with new mathematical concept of gtp-hydrolysis and aging. *M2AN*, 2017.
- [94] Harry Bateman. Solution of a system of differential equations. *Proceedings of the Cambridge Philosophical Society, Mathematical and Physical Sciences*, 1910.
- [95] Logiciel graphclick. <http://www.arizona-software.ch/graphclick/fr/>, 1989-2010.
- [96] Nicolas Sergeant, Alexis Bretteville, Malika Hamdane, Marie-Laure Caillet-Boudin, Pierre Grognet, Stephanie Bombois, David Blum, André Delacourte, Florence Pasquier, Eugene Vanmechelen, et al. Biochemistry of tau in alzheimer’s disease and related neurological disorders. *Expert review of proteomics*, 5(2) :207–224, 2008.
- [97] Reinhold Müller, Michael Heinrich, Susanne Heck, Dietmar Blohm, and Christiane Richter-Landsberg. Expression of microtubule-associated proteins map2 and tau in cultured rat brain oligodendrocytes. *Cell and tissue research*, 288(2) :239–249, 1997.
- [98] Patrizia LoPresti, Sara Szuchet, Sozos Ch Papasozomenos, Raymond P Zinkowski, and Lester I Binder. Functional implications for the microtubule-associated protein tau : localization in oligodendrocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(22) :10369–10373, 1995.
- [99] Yongjun Gu, Fumitaka Oyama, and Yasuo Ihara. τ is widely expressed in rat tissues. *Journal of neurochemistry*, 67(3) :1235–1244, 1996.
- [100] Eva Maria Mandelkow and Eckhard Mandelkow. Biochemistry and cell biology of Tau protein in neurofibrillary degeneration. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 3(10) :1–25, 2011.
- [101] Christine Tranchant. Protéines tau et maladies neurologiques. 1997.
- [102] M Goedert, M C Spillantini, D Rutherford, and R A Crowther. Multiple Isoforms of Human Microtubule-Associated Protein Tau : Sequences and localization in Neurofibrillary Tangles of Alzheimer’s Disease. *Neuron*, 3(Table 1) :519–526, 1989.
- [103] K. J. Rosenberg, J. L. Ross, H. E. Feinstein, S. C. Feinstein, and J. Israelachvili. Complementary dimerization of microtubule-associated tau protein : Implications for microtubule bundling and tau-mediated pathogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2008.
- [104] Peter J. Chung, Myung Chul Choi, Herbert P. Miller, H. Eric Feinstein, Uri Raviv, Youli Li, Leslie Wilson, Stuart C. Feinstein, and Cyrus R. Safinya. Direct force measurements reveal that protein Tau confers short-range attractions and isoform-dependent steric stabilization to microtubules. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(47) :E6416–E6425, 2015.

- [105] Gloria Lee, Rachael L. Neve, and Kenneth S. Kosik. The microtubule binding domain of tau protein. *Neuron*, 2(6) :1615–1624, 1989.
- [106] J Chen, Y Kanai, NJ Cowan, and N Hirokawa. Projection domains of map2 and tau determine spacings between microtubules in dendrites and axons. *Nature*, 360(6405) :674, 1992.
- [107] Efstratios Mylonas, Antje Hascher, Pau Bernadó, Martin Blackledge, Eckhard Mandelkow, and Dmitri I. Svergun. Domain conformation of tau protein studied by solution small-angle x-ray scattering. *Biochemistry*, 47(39) :10345–10353, 2008. PMID : 18771286.
- [108] Antonio Bianconi, Gabriele Ciasca, Alexander Tenenbaum, Anna Battisti, and Gaetano Campi. Temperature and solvent dependence of the dynamical landscape of tau protein conformations. *Journal of Biological Physics*, 38(1) :169–179, 2012.
- [109] Gabriele Ciasca, Gaetano Campi, Anna Battisti, Giuseppina Rea, Marina Rodio, Massimiliano Papi, Petra Pernot, Alexander Tenenbaum, and Antonio Bianconi. Continuous thermal collapse of the intrinsically disordered protein tau is driven by its entropic flexible domain. *Langmuir*, 28(37) :13405–13410, 2012.
- [110] Sadasivam Jegannathan, Martin Von Bergen, Henrik Brutlach, Heinz Jürgen Steinhoff, and Eckhard Mandelkow. Global hairpin folding of tau in solution. *Biochemistry*, 45(7) :2283–2293, 2006.
- [111] Marco D Mukrasch, Stefan Bibow, Jegannath Korukottu, Sadasivam Jegannathan, Jacek Biernat, Christian Griesinger, Eckhard Mandelkow, and Markus Zweckstetter. Structural polymorphism of 441-residue tau at single residue resolution. *PLoS biology*, 7(2) :e1000034, 2009.
- [112] D. N. Drechsel, A. A. Hyman, M. H. Cobb, and M. W. Kirschner. Modulation of the dynamic instability of tubulin assembly by the microtubule-associated protein tau. *Molecular Biology of the Cell*, 3(10) :1141–1154, 1992.
- [113] Bernhard Trinczek, Jacek Biernat, Karlheinz Baumann, Eva-Maria Mandelkow, and Eckhard Mandelkow. Domains of tau protein, differential phosphorylation, and dynamic instability of microtubules. *Molecular biology of the cell*, 6(12) :1887–1902, 1995.
- [114] Dulal Panda, Bruce L. Goode, Stuart C. Feinstein, and Leslie Wilson. Kinetic stabilization of microtubule dynamics at steady state by tau and microtubule-binding domains of tau. *Biochemistry*, 34(35) :11117–11127, 1995. PMID : 7669769.
- [115] Mathew M.S. Lo, Ann W. Fieles, Tyrrell E. Norris, Pauline G. Dargis, Claudia B. Caputo, Clay W Scott, Virginia M.-Y. Lee, and Michel Goedert. Human tau isoforms confer distinct morphological and functional properties to stably transfected fibroblasts. *Molecular Brain Research*, 20(3) :209 – 220, 1993.
- [116] Nobutaka Hirokawa, Yoko Shiomura, and Shigeo Okabe. Tau proteins : the molecular structure and mode of binding on microtubules. *The Journal of cell biology*, 107(4) :1449–1459, 1988.

- [117] Y Kanai, R Takemura, T Oshima, H Mori, Y Ihara, M Yanagisawa, T Masaki, and N Hirokawa. Expression of multiple tau isoforms and microtubule bundle formation in fibroblasts transfected with a single tau cDNA. *The Journal of Cell Biology*, 109(3) :1173–1184, 1989.
- [118] U Preuss, J Biernat, E M Mandelkow, and E Mandelkow. The 'jaws' model of tau-microtubule interaction examined in CHO cells. *Journal of cell science*, 1997.
- [119] Kourosch Shahpasand, Isao Uemura, Taro Saito, Tsunaki Asano, Kenji Hata, Keitaro Shibata, Yoko Toyoshima, Masato Hasegawa, and Shin-ichi Hisanaga. Regulation of mitochondrial transport and inter-microtubule spacing by tau phosphorylation at the sites hyperphosphorylated in Alzheimer's disease. *Journal of Neuroscience*, 32(7) :2430–2441, 2012.
- [120] J Knops, KS Kosik, G Lee, JD Pardee, L Cohen-Gould, and L McConlogue. Overexpression of tau in a nonneuronal cell induces long cellular processes. *The Journal of Cell Biology*, 114(4) :725–733, 1991.
- [121] Rachel A. Santarella, Georgios Skiniotis, Kenneth N. Goldie, Peter Tittmann, Heinz Gross, Eva Maria Mandelkow, E. Mandelkow, and Andreas Hoenger. Surface-decoration of microtubules by human tau. *Journal of Molecular Biology*, 339(3) :539–553, 2004.
- [122] Jawdat Al-Bassam, Rachel S. Ozer, Daniel Safer, Shelley Halpain, and Ronald A. Milligan. MAP2 and tau bind longitudinally along the outer ridges of microtubule protofilaments. *Journal of Cell Biology*, 157(7) :1187–1196, 2002.
- [123] Elizabeth H. Kellogg, Nisreen M. A. Hejab, Simon Poepsel, Kenneth H. Downing, Frank DiMaio, and Eva Nogales. Near-atomic model of microtubule-tau interactions. *Science*, 1780(May) :eaat1780, 2018.
- [124] Victoria Makrides, Ting E. Shen, Rajinder Bhatia, Bettye L. Smith, Julian Thimm, Ratneshwar Lal, and Stuart C. Feinstein. Microtubule-dependent oligomerization of tau : Implications for physiological tau function and tauopathies. *Journal of Biological Chemistry*, 278(35) :33298–33304, 2003.
- [125] Santwana Kar, Juan Fan, Michael J. Smith, Michel Goedert, and Linda A. Amos. Repeat motifs of tau bind to the insides of microtubules in the absence of taxol. *EMBO Journal*, 22(1) :70–77, 2003.
- [126] V. Makrides, M. R. Massie, S. C. Feinstein, and J. Lew. Evidence for two distinct binding sites for tau on microtubules. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(17) :6746–6751, 2004.
- [127] Iwan A T Schaap, Bernd Hoffmann, Carolina Carrasco, Rudolf Merkel, and Christoph F. Schmidt. Tau protein binding forms a 1 nm thick layer along protofilaments without affecting the radial elasticity of microtubules. *Journal of Structural Biology*, 158(3) :282–292, 2007.
- [128] Harindranath Kadavath, Romina V. Hofele, Jacek Biernat, Satish Kumar, Katharina Tepper, Henning Urlaub, Eckhard Mandelkow, and Markus Zweckstetter. Tau

- stabilizes microtubules by binding at the interface between tubulin heterodimers. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(24) :7501–7506, 2015.
- [129] Aranda R. Duan, Erin M. Jonasson, Emily O. Alberico, Chunlei Li, Jared P. Scripture, Rachel A. Miller, Mark S. Alber, and Holly V. Goodson. Interactions between Tau and Different Conformations of Tubulin : Implications for Tau Function and Mechanism. *Journal of Molecular Biology*, 429(9) :1424–1438, 2017.
- [130] K A Butner and M W Kirschner. Tau protein binds to microtubules through a flexible array of distributed weak sites. *The Journal of Cell Biology*, 115(3) :717–730, 1991.
- [131] Philipp O Tsvetkov, Alexander A Makarov, Soazig Malesinski, Vincent Peyrot, and Francois Devred. New insights into tau–microtubules interaction revealed by isothermal titration calorimetry. *Biochimie*, 94(3) :916–919, 2012.
- [132] Isabelle L. Di Maïo, Pascale Barbier, Diane Allegro, Cédric Brault, and Vincent Peyrot. Quantitative analysis of tau-microtubule interaction using FRET. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(8) :14697–14714, 2014.
- [133] Don W. Cleveland, Shu Ying Hwo, and Marc W. Kirschner. Purification of tau, a microtubule-associated protein that induces assembly of microtubules from purified tubulin. *Journal of Molecular Biology*, 116(2) :207–225, 1977.
- [134] R B Maccioni, C I Rivas, and J C Vera. Differential interaction of synthetic peptides from the carboxyl-terminal regulatory domain of tubulin with microtubule-associated proteins. *The EMBO journal*, 7(7) :1957–63, 1988.
- [135] Ming Hong, Victoria Zhukareva, Vanessa Vogelsberg-Ragaglia, Zbigniew Wszolek, Lee Reed, Bruce I Miller, Dan H Geschwind, Thomas D Bird, Daniel McKeel, Alison Goate, et al. Mutation-specific functional impairments in distinct tau isoforms of hereditary ftdp-17. *Science*, 282(5395) :1914–1917, 1998.
- [136] Michael Ackmann, Hans Wiech, and Eckhard Mandelkow. Nonsaturable binding indicates clustering of tau on the microtubule surface in a paired helical filament-like conformation. *Journal of Biological Chemistry*, 275(39) :30335–30343, 2000.
- [137] Caroline Fauquant, Virginie Redeker, Isabelle Landrieu, Jean-Michel Wieruszkeski, Dries Verdegem, Olivier Lapr evote, Guy Lippens, Benoît Gigant, and Marcel Knosow. Systematic identification of tubulin interacting fragments of the microtubule-associated protein tau leads to a highly efficient promoter of microtubule assembly. *Journal of Biological Chemistry*, pages jbc–M111, 2011.
- [138] Alain Sillen, Pascale Barbier, Isabelle Landrieu, Sylvie Lefebvre, Jean-Michel Wieruszkeski, Arnaud Leroy, Vincent Peyrot, and Guy Lippens. Nmr investigation of the interaction between the neuronal protein tau and the microtubules. *Biochemistry*, 46(11) :3055–3064, 2007.
- [139] M. D. Weingarten, A. H. Lockwood, S. Y. Hwo, and M. W. Kirschner. A protein factor essential for microtubule assembly. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 72(5) :1858–1862, 1975.

- [140] Don W. Cleveland, Shu Ying Hwo, and Marc W. Kirschner. Physical and chemical properties of purified tau factor and the role of tau in microtubule assembly. *Journal of Molecular Biology*, 116(2) :227–247, 1977.
- [141] Janis M Bunker, Leslie Wilson, Mary Ann Jordan, and Stuart C Feinstein. Modulation of microtubule dynamics by tau in living cells : implications for development and neurodegeneration. *Molecular biology of the cell*, 15(6) :2720–2728, 2004.
- [142] Alix Méphon-Gaspard, Mirela Boca, Catherine Pioche-Durieu, Bénédicte Desforges, Andrea Burgo, Loic Hamon, Olivier Piétrement, and David Pastré. Role of tau in the spatial organization of axonal microtubules : keeping parallel microtubules evenly distributed despite macromolecular crowding. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 73(19) :3745–3760, 2016.
- [143] KENNETH S KoSIK, Catharine L Joachim, and Dennis J Selkoe. Microtubule-associated protein tau (tau) is a major antigenic component of paired helical filaments in alzheimer disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 83(11) :4044–4048, 1986.
- [144] Dennis J Selkoe. The molecular pathology of alzheimer’s disease. *Neuron*, 6(4) :487–498, 1991.
- [145] James D. McGhee and Peter H. von Hippel. Theoretical aspects of DNA-protein interactions : Co-operative and non-co-operative binding of large ligands to a one-dimensional homogeneous lattice. *Journal of Molecular Biology*, 86(2) :469–489, 1974.
- [146] Jordan Hervy and Dominique J Bicout. Correcting binding parameters for interacting ligand-lattice systems. *Physical Review E*, 96(1) :012417, 2017.
- [147] Felix Franks. *Characterization of Proteins*. Humana Press Inc., Totowa, NJ, United States, 1988.
- [148] Carl Runge. Über die numerische auflösung von differentialgleichungen. *Mathematische Annalen*, 46(2) :167–178, 1895.
- [149] Lawrence F. Shampine and Mark W. Reichelt. The MATLAB ODE Suite. *SIAM Journal on Scientific Computing*, 1997.
- [150] R. B. Maccioni and V. Cambiazo. Role of microtubule-associated proteins in the control of microtubule assembly. *Physiological Reviews*, 75(4) :835–864, 1995. PMID : 7480164.
- [151] Pierre Bongrand. Ligand-receptor interactions. *Reports on Progress in Physics*, 62(6) :921, 1999.
- [152] Michael F Dunn. Protein–ligand interactions : general description. *eLS*, 2001.
- [153] P.H. Bligh. Ligand binding — a primer. *Biochemical Education*, 16(4) :186 – 195, 1988.
- [154] Thomas D. Pollard and Douglas Kellogg. A guide to simple and informative binding assays. *Molecular Biology of the Cell*, 21(23) :4061–4067, 2010. PMID : 21115850.

- [155] Emily O. Alberico, Aranda R. Duan, and Holly V. Goodson. Chapter 6 - measuring tau–microtubule affinity through cosedimentation assays. In Stuart C. Feinstein and Nichole E. LaPointe, editors, *Methods in Tau Cell Biology*, volume 141 of *Methods in Cell Biology*, pages 115 – 134. Academic Press, 2017.
- [156] Maike H. Hinrichs, Avesta Jalal, Bernhard Brenner, Eckhard Mandelkow, Satish Kumar, and Tim Scholz. Tau protein diffuses along the microtubule lattice. *Journal of Biological Chemistry*, 287(46) :38559–38568, 2012.
- [157] Derrick P. Mcvicker, Gregory J. Hoepflich, Andrew R. Thompson, and Christopher L. Berger. Tau interconverts between diffusive and stable populations on the microtubule surface in an isoform and lattice specific manner. *Cytoskeleton*, 71(3) :184–194, 2014.
- [158] Jyoti Dubey, Neena Ratnakaran, and Sandhya Koushika. Neurodegeneration and microtubule dynamics : death by a thousand cuts. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 9 :343, 2015.

Annexes

Annexe A

Annexe du chapitre 6

A.1 Méthodes de calcul du déplacement moyen de l'extrémité du microtubule en fonction du temps

Nous listons ici 4 méthodes différentes permettant de calculer la longueur moyenne d'un microtubule en fonction du temps à partir d'un ensemble de trajectoires. Les résultats présentés sur les Figures 6.9 et 6.17 ont été obtenus avec la méthode 1 décrite en A.1.1.

A.1.1 Méthode 1

Dans cette méthode, le déplacement moyen est calculé à partir d'un ensemble de N_{conf} trajectoires comme suit :

$$\langle L(t) \rangle = \frac{1}{N_{\text{conf}}} \times \sum_{j=1}^{N_{\text{conf}}} \frac{1}{t} \sum_{t=1}^t L_j(t), \quad (\text{A.1})$$

où $L_j(t) \geq 0$ représente la longueur du microtubule de la trajectoire $j \in [1, N_{\text{conf}}]$ au temps t . Cette méthode correspond à la manière standard de calculer la valeur moyenne d'une fonction donnée.

A.1.2 Méthode 2

Dans cette méthode, le déplacement moyen est calculé à partir d'un ensemble de N_{conf} trajectoires comme suit :

$$\langle L(t) \rangle = \frac{1}{N_{\text{conf}}} \sum_{j=1}^{N_{\text{conf}}} L_j(t), \quad (\text{A.2})$$

où $L_j(t) \geq 0$ représente la longueur du microtubule de la trajectoire $j \in [1, N_{\text{conf}}]$ au temps t .

A.1.3 Méthode 3

Cette méthode est très similaire à la "méthode 2" en A.1.2. Le déplacement moyen est également calculé en utilisant la relation A.2 mais la différence réside dans le fait que le moyenne est effectuée sur les microtubules existants c'est-à-dire avec la condition $L_j(t) > 0$.

A.1.4 Méthode 4

Enfin, le déplacement moyen peut être calculé en moyennant sur N_{MT} (voir Figure A.1), le nombre total de microtubules distincts observés sur les N_{conf} trajectoires. La durée de vie τ_v d'un microtubule correspond au temps écoulé entre une phase de nucléation à $t = t_i$ et une phase de décroissance aboutissant à une longueur nulle à $t = t_f$ avec $\tau_v = t_f - t_i$ (Figure A.1). Ainsi, dans cette méthode, la longueur moyenne est calculée en fonction du temps écoulé avant la mort du microtubule comme suit :

$$\langle L(t) \rangle = \frac{1}{N_{\text{MT}}} \sum_{k=1}^{N_{\text{MT}}} L_k(t), \quad (\text{A.3})$$

où $L_k(t)$ représente la longueur du k -ième microtubule au temps t .

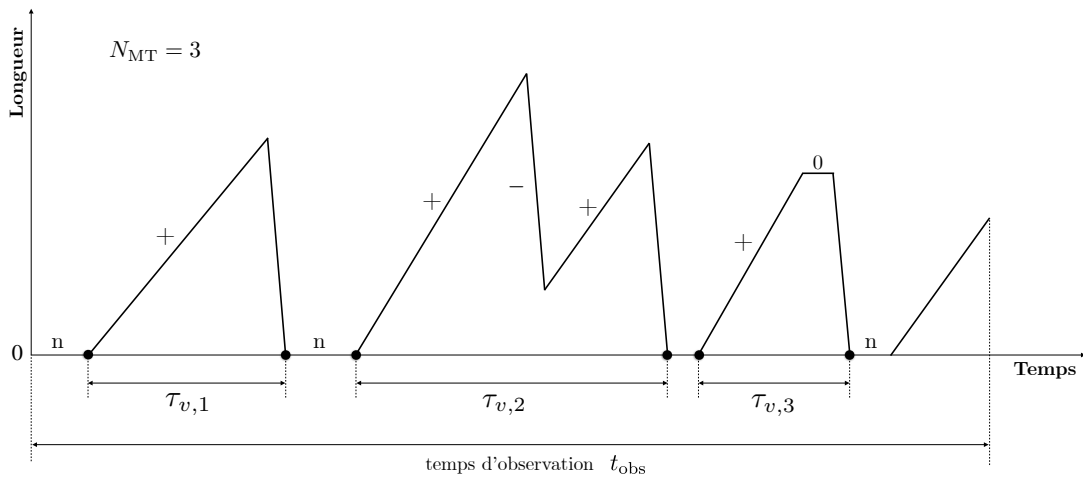


FIGURE A.1: Schéma représentant une trajectoire analysée selon la méthode A.1.4 pour le calcul de la longueur moyenne en fonction du temps. Cette trajectoire montre l'évolution de $N_{\text{MT}} = 3$ microtubules et leurs temps de vies sont respectivement $\tau_{v,1}$, $\tau_{v,2}$ et $\tau_{v,3}$.

A.2 Dérivation de la fonction de survie $S_n(t)$

On introduit la transformée de Laplace de la survie $S_n(t)$ donnée par $\overline{S}_n(\sigma) = \int_0^{+\infty} e^{-\sigma t} S_n(t) dt$. Dans l'espace de Laplace, le système (6.19) devient :

$$\left\{ \begin{array}{l} \sigma \overline{S}_0 - 1 = -f_0 \overline{S}_0, \\ \sigma \overline{S}_1 = +f_0 \overline{S}_0 - f_1 \overline{S}_1, \\ \sigma \overline{S}_2 = +f_1 \overline{S}_1 - f_2 \overline{S}_2, \\ \vdots \\ \sigma \overline{S}_n = +f_{n-1} \overline{S}_{n-1} - f_n \overline{S}_n, \quad n = n_* - 1 \end{array} \right. \quad (\text{A.4})$$

À partir du système (A.4), il est possible d'exprimer \overline{S}_n en fonction de la survie \overline{S}_0 comme suit :

$$\overline{S}_0 = \frac{1}{\sigma + f_0} \quad (\text{A.5})$$

$$\overline{S}_1 = \frac{f_0 \overline{S}_0}{\sigma + f_1} = \frac{f_0}{(\sigma + f_0)(\sigma + f_1)} \quad (\text{A.6})$$

$$\overline{S}_2 = \frac{f_1 \overline{S}_1}{\sigma + f_2} = \frac{f_1 f_0}{(\sigma + f_2)(\sigma + f_1)(\sigma + f_0)} \quad (\text{A.7})$$

⋮

$$\overline{S}_n = \frac{f_{n-1} \overline{S}_{n-1}}{\sigma + f_n} = \frac{1}{\sigma + f_n} \left[\prod_{i=0}^{n-1} \frac{f_i}{\sigma + f_i} \right] \quad (\text{A.8})$$

On peut réécrire la survie \overline{S}_n sous la forme suivante :

$$\overline{S}_n = \frac{f_0 f_1 \dots f_{n-1}}{(\sigma + f_0)(\sigma + f_1) \dots (\sigma + f_n)} \quad (\text{A.9})$$

$$= f_0 f_1 \dots f_{n-1} \left[\frac{1}{(f_1 - f_0) \dots (f_n - f_0)} \left(\frac{1}{\sigma + f_0} \right) + \frac{1}{(f_0 - f_1) \dots (f_n - f_1)} \left(\frac{1}{\sigma + f_1} \right) + \dots \right] \quad (\text{A.10})$$

$$+ \frac{1}{(f_0 - f_n) \dots (f_{n-1} - f_n)} \left(\frac{1}{\sigma + f_n} \right) \Big] \\ = \prod_{i=0}^{n-1} f_i \sum_{i=0}^n \frac{1}{\prod_{\substack{j=0 \\ j \neq i}}^n (f_j - f_i)} \left(\frac{1}{\sigma + f_i} \right). \quad (\text{A.11})$$

$S_n(t)$ est alors obtenue en calculant la transformée de Laplace inverse de (A.11) :

$$S_n(t) = \mathcal{L}^{-1}(\overline{S_n}(\sigma)) \quad (\text{A.12})$$

$$= \prod_{i=0}^{n-1} f_i \sum_{i=0}^n \frac{1}{\prod_{\substack{j=0 \\ j \neq i}}^n (f_j - f_i)} \left[\mathcal{L}^{-1} \left(\frac{1}{\sigma + f_i} \right) \right] \quad (\text{A.13})$$

$$= \prod_{i=0}^{n-1} f_i \sum_{i=0}^n \left[\frac{e^{-f_i t}}{\prod_{\substack{j=0 \\ j \neq i}}^n (f_j - f_i)} \right]. \quad (\text{A.14})$$

On retrouve bien l'expression (6.22) pour la fonction de survie $S_n(t)$.

Annexe B

Annexe du chapitre 8

B.1 Dérivation de la probabilité d'insertion $\Phi(\rho, \sigma)$

B.1.1 Expression générale

Nous présentons ici la dérivation de la probabilité d'insertion $\Phi(\rho, \sigma)$ présentée par McGhee et von-Hippel en 1974 [145]. De manière générale, $\Phi(\rho, \sigma)$ peut s'écrire sous la forme suivante :

$$\Phi = \frac{N_{\text{config}}}{N}, \quad (\text{B.1})$$

où N_{config} représente le nombre total de possibilités d'attachement d'une nouvelle particule sur un réseau déjà rempli par une distribution de particules à la densité ρ . Ce nombre peut s'exprimer comme suit :

$$N_{\text{config}} = (n + 1) \times \delta, \quad (\text{B.2})$$

où δ est le nombre moyen de configurations d'attachement dans un intervalle entre 2 particules attachées, n est le nombre total de particules attachées sur le réseau et ainsi $(n + 1)$ correspond au nombre total d'intervalles entre 2 particules. δ est reliée à P_g , la distribution du nombre de sites vides à l'intérieur d'un intervalle de la manière suivante :

$$\delta = \sum_{g=1+\sigma}^{g_{\text{max}}} (g - \sigma) P_g \quad (\text{B.3})$$

$$= P_{1+\sigma} + 2P_{2+\sigma} + 3P_{3+\sigma} + \dots + (g_{\text{max}} - \sigma) P_{g_{\text{max}}}, \quad (\text{B.4})$$

où g_{max} représente l'intervalle le plus grand au sein du réseau.

B.1.2 Distribution du nombre de sites vides : P_g

Afin de dériver la distribution P_g , une convention de lecture du réseau doit être adoptée. La convention que nous choisissons est représentée sur la Figure B.1 et correspond à lire l'état des sites de la gauche vers la droite. Chaque site peut être soit libre (f) ou soit faire partie d'un site occupé par une particule ($b_1, b_2, \dots, b_{1+\sigma}$) et est associé à une pro-

babilité conditionnelle du type (xy) qui représente la probabilité que le site en question soit dans l'état $x = \{f, b_1, b_2, \dots, b_{1+\sigma}\}$ donné et que le voisin immédiat sur sa droite soit dans l'état $y = \{f, b_1, b_2, \dots, b_{1+\sigma}\}$. Ainsi avec cette convention, la probabilité de trouver un intervalle de g sites vides entre 2 particules attachées s'écrit comme :

$$P_g = (b_{1+\sigma}f) (ff)^{g-1} (fb_1), \quad (\text{B.5})$$

où (ff) représente la probabilité qu'ayant sélectionné un premier site libre, son voisin de droite soit également vide, (fb_1) correspond à la probabilité qu'ayant sélectionné un premier site libre, son voisin de droite corresponde au premier site occupé d'une particule et $(b_{1+\sigma}f)$ représente la probabilité qu'ayant sélectionné le dernier site occupé d'une particule, que son site voisin de droite soit libre. La condition de normalisation pour P_g permet

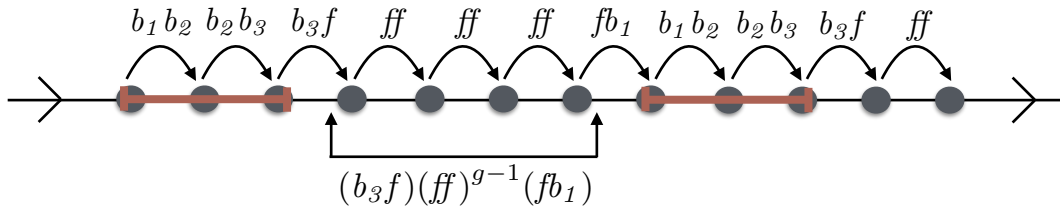


FIGURE B.1: Convention de lecture du réseau dans le cas de particules couvrant $(1+\sigma) = 3$ sites.

d'écrire la relation suivante :

$$\sum_{g=0}^{+\infty} P_g = 1 \quad \Rightarrow \quad (b_{1+\sigma}f) (fb_1) = (1 - (ff)) (ff), \quad (\text{B.6})$$

et ainsi en utilisant l'expression (B.5), on obtient :

$$P_g = (1 - (ff)) (ff)^g. \quad (\text{B.7})$$

B.1.3 Probabilité conditionnelle (ff)

Considérons une configuration avec n particules attachées sur le réseau. Chaque particule occupe $(1 + \sigma)$ sites et ainsi le nombre total de sites occupés est donné par $n(1 + \sigma)$. Ainsi, la probabilité de trouver un site occupé est donnée par $\rho(1 + \sigma)$ avec $\rho = n/N$. Un site donné est soit occupé ou soit vide et donc la probabilité qu'un site choisi de manière aléatoire est donnée par $1 - \rho(1 + \sigma)$. De plus, le site qui se trouve sur la droite du premier site qui a été sélectionné aléatoirement a également une probabilité donnée par $1 - \rho(1 + \sigma)$ d'être inoccupé. Dans cette manière de choisir 2 sites, il existe seulement deux manières d'aboutir à un second site qui soit libre :

1. En ayant choisi un 1er site qui soit vide avec une probabilité $1 - \rho(1 + \sigma)$

2. En ayant choisi un 1^{er} site dans l'état $b_{1+\sigma}$ correspondant au bord droit d'une particule attachée avec la probabilité ρ (il existe un bord droit par particule et ainsi la probabilité qu'un site sélectionné aléatoirement soit dans l'état $b_{1+\sigma}$ est donnée par $\rho = n/N$).

La probabilité que le second site soit vide est indépendante de la méthode de sélection et donc on peut écrire la relation suivante :

$$1 - (1 + \sigma) \rho = (1 - (1 + \sigma) \rho) (ff) + \rho (b_{1+\sigma}f). \quad (\text{B.8})$$

Afin d'exprimer la probabilité conditionnelle (ff) , nous devons écrire une relation entre (ff) et $(b_{1+\sigma}f)$. Pour cela, on utilise le fait que si le 1^{er} site choisi aléatoirement est dans l'état f , le site voisin de droite est soit dans l'état f ou soit dans l'état b_1 correspondant au bord gauche d'une particule et ainsi on peut écrire :

$$(ff) + (fb_1) = 1. \quad (\text{B.9})$$

En utilisant les équations (B.6) et (B.9), on montre que :

$$(b_{1+\sigma}f) = (ff). \quad (\text{B.10})$$

Finalement, en utilisant la relation (B.10) dans (B.8), on aboutit à l'expression suivante pour la probabilité conditionnelle (ff) en fonction de la densité ρ et de σ :

$$(ff) = \frac{1 - (1 + \sigma) \rho}{1 - \rho \sigma}, \quad (\text{B.11})$$

et la distribution P_g est alors donnée par :

$$P_g = \frac{\rho}{1 - \rho \sigma} \left(\frac{1 - (1 + \sigma) \rho}{1 - \rho \sigma} \right)^g. \quad (\text{B.12})$$

La distribution des plus proches voisins $P(r)$ est obtenue à partir de (B.12) à l'aide d'un changement de variable. Comme on peut le voir sur la Figure 8.1, la distance r correspond à la distance centre à centre entre 2 Tau plus proches voisins. Elle s'écrit en fonction de g , le nombre de sites vides entre les 2 particules comme suit : $r = (1 + \sigma)/2 + g + (1 + \sigma)/2 = g + (1 + \sigma)$. Ainsi, l'expression (8.21) est obtenue en utilisant $g = r - (1 + \sigma)$ dans l'équation (B.12).

B.1.4 Calcul de la probabilité d'insertion en fonction de la densité

En utilisant l'expression (B.12) pour P_g , on peut calculer δ à l'aide de l'équation (B.4) :

$$\delta = (1 - (ff)) \sum_{g=1+\sigma}^{g_{\max}} (g - \sigma) (ff)^g, \quad (\text{B.13})$$

$$= (1 - (ff)) \left\{ \sum_{g=1+\sigma}^{g_{\max}} g (ff)^g - \sigma \sum_{g=1+\sigma}^{g_{\max}} (ff)^g \right\}. \quad (\text{B.14})$$

Le second terme à l'intérieur des crochets est donné par :

$$\sum_{g=1+\sigma}^{g_{\max}} (ff)^g = \sum_{g=0}^{g_{\max}} (ff)^g - \sum_{g=0}^{\sigma} (ff)^g, \quad (\text{B.15})$$

$$= \frac{1}{1 - (ff)} \{ (ff)^{g_{\max}+1} - (ff)^{\sigma+1} \}. \quad (\text{B.16})$$

Dans la limite $N \rightarrow \infty$, nous obtenons :

$$\sum_{g=1+\sigma}^{\infty} (ff)^g = \frac{(ff)^{\sigma+1}}{1 - (ff)}. \quad (\text{B.17})$$

Afin de calculer le 1er terme à l'intérieur des crochets de l'équation (B.14), on calcule la dérivée par rapport à (ff) de (B.17) :

$$\frac{d}{d(ff)} \left\{ \sum_{g=1+\sigma}^{g_{\max}} (ff)^g \right\} = \sum_{g=1+\sigma}^{g_{\max}} \left\{ \frac{d}{d(ff)} (ff)^g \right\}, \quad (\text{B.18})$$

$$= \frac{1}{(ff)} \sum_{g=1+\sigma}^{g_{\max}} g (ff)^g. \quad (\text{B.19})$$

On aboutit alors à la relation suivante :

$$\sum_{g=1+\sigma}^{g_{\max}} g (ff)^g = (ff) \frac{d}{d(ff)} \left\{ \sum_{g=1+\sigma}^{g_{\max}} (ff)^g \right\}, \quad (\text{B.20})$$

et en utilisant le résultat en (B.17) pour le 2nd terme on obtient :

$$\frac{d}{d(ff)} \left\{ \frac{(ff)^{1+\sigma}}{1 - (ff)} \right\} = \frac{(1 + \sigma) (1 - (ff)) (ff)^{\sigma} + (ff)^{1+\sigma}}{(1 - (ff))^2}. \quad (\text{B.21})$$

Finalement le terme entre crochets en (B.14) est donné par :

$$\sum_{g=1+\sigma}^{\infty} (g - \sigma) (ff)^g = \frac{(ff)^{1+\sigma}}{(1 - (ff))^2}, \quad (\text{B.22})$$

B.2 Dérivation de la probabilité d'insertion dans le cas polydisperse

et ainsi en utilisant la relation (B.11), on montre que δ s'écrit comme suit :

$$\delta = \frac{(ff)^{1+\sigma}}{(1 - (ff))}, \quad (\text{B.23})$$

$$= \frac{1}{\rho} \times \frac{(1 - (1 + \sigma)\rho)^{1+\sigma}}{(1 - \rho\sigma)^\sigma}. \quad (\text{B.24})$$

En utilisant (B.1) et (B.27), on montre que la probabilité d'insertion est donnée par $\Phi = (\rho + 1/N) \times \delta$. Ainsi, dans la limite $N \rightarrow +\infty$ et en utilisant l'expression (B.24), on aboutit à :

$$\Phi(\rho, \sigma) = \frac{(1 - (1 + \sigma)\rho)^{1+\sigma}}{(1 - \rho\sigma)^\sigma}. \quad (\text{B.25})$$

B.2 Dérivation de la probabilité d'insertion dans le cas polydisperse

B.2.1 Expression générale

Pour un système polydisperse, la probabilité d'insertion d'une particule de type i s'écrit comme :

$$\Phi = \frac{N_{\text{config},i}}{N}, \quad (\text{B.26})$$

où $N_{\text{config},i}$ représente le nombre total de possibilités d'attachement d'une nouvelle particule de type i sur le réseau. Ce nombre peut s'exprimer comme suit :

$$N_{\text{config}} = (n + 1) \times \delta, \quad (\text{B.27})$$

où $(n + 1)$ représente le nombre total d'intervalles entre 2 particules et δ_i correspond au nombre moyen de configuration d'attachement d'une particule de type i à l'intérieur d'un intervalle et est donné par :

$$\delta_i = \sum_{g=1+\sigma_i}^{g_{\text{max}}} (g - \sigma_i) P_g. \quad (\text{B.28})$$

Dans la limite $N \rightarrow +\infty$, la probabilité d'insertion s'écrit comme :

$$\Phi_i = \rho \delta_i, \quad (\text{B.29})$$

où $\rho = \sum_{i=1}^m \rho_i$ correspond à la densité totale de particules sur le réseau.

B.2.2 Distribution du nombre de sites vides

Le raisonnement développé en B.1.2 peut également être utilisé dans le cas polydisperse et on peut montrer que la distribution P_g s'écrit comme :

$$P_g = (1 - (ff)) (ff)^g, \quad (\text{B.30})$$

où (ff) représente la probabilité conditionnelle qu'un site sélectionné de manière aléatoire soit inoccupé et que son voisin immédiat soit également inoccupé. La distribution partielle des plus proches voisins $P_{i,j}(r)$ est obtenue à partir de (B.30) à l'aide d'un changement de variable.

La distance r entre 2 plus proches voisins s'écrit en fonction de g , le nombre de sites vides comme suit : $r = g + r_{i,j}$ où $r_{i,j} = 1 + (\sigma_i + \sigma_j)/2$ représente la plus petite distance entre une particule de type i et une particule de type j . Ainsi, la distribution partielle des plus proches voisins $P_{i,j}(r)$ est obtenue à partir de (B.30) à l'aide du changement de variable $g = r - r_{i,j}$:

$$P_{i,j}(r) = (1 - (ff)) (ff)^{r-r_{i,j}}, \quad r_{i,j} = 1 + \frac{(\sigma_i + \sigma_j)}{2}. \quad (\text{B.31})$$

La distance moyenne séparant 2 Tau $\langle r \rangle$ est calculée à partir de (B.31) comme suit :

$$\langle r \rangle = \sum_{r=0}^{+\infty} r P(r) \quad (\text{B.32})$$

$$= \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^m z_i z_j \sum_{r=0}^{+\infty} r P_{i,j}(r) \quad (\text{B.33})$$

$$= \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^m z_i z_j \left\{ \frac{1 - (ff)}{(ff)^{r_{i,j}}} \sum_{r=0}^{+\infty} r (ff)^r \right\} \quad (\text{B.34})$$

$$= \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^m z_i z_j \left\{ \frac{(ff)}{(1 - ff)} + r_{i,j} \right\} \quad (\text{B.35})$$

$$= \frac{(ff)}{(1 - ff)} + \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^m z_i z_j r_{i,j}. \quad (\text{B.36})$$

B.2.3 Probabilité conditionnelle (ff)

La probabilité qu'un site sélectionné de manière aléatoire soit inoccupé est donnée par $1 - \sum_i (1 + \sigma_i) \rho_i$. Dans le cas polydisperse, la relation (B.8) devient :

$$1 - \sum_i (1 + \sigma_i) \rho_i = (1 - \sum_i (1 + \sigma_i) \rho_i) (ff) + \sum_i \rho_i (b_{1+\sigma f}). \quad (\text{B.37})$$

La relation $(b_{1+\sigma f}) = (ff)$ est toujours vérifiée dans le cas polydisperse et ainsi on peut écrire (ff) comme suit :

$$(ff) = \frac{1 - \sum_i (1 + \sigma_i) \rho_i}{1 - \sum_i \sigma_i \rho_i}. \quad (\text{B.38})$$

B.2.4 Calcul de la probabilité d'insertion en fonction des densités $\rho_1, \rho_2, \dots, \rho_m$

Le terme δ_i est calculé en utilisant l'équation (B.23) et on obtient :

$$\delta_i = \frac{(\overline{ff})^{1+\sigma_i}}{1 - (\overline{ff})}, \quad (\text{B.39})$$

$$= \frac{1}{\rho} \times \frac{(1 - \sum_i (1 + \sigma_i) \rho_i)^{1+\sigma_i}}{(1 - \sum_i \sigma_i \rho_i)^{\sigma_i}}, \quad (\text{B.40})$$

et donc avec l'équation (B.29), on obtient l'expression suivante pour la probabilité d'insertion :

$$\Phi_i(\rho_1, \rho_2, \dots, \rho_m, \sigma_1, \sigma_2, \dots, \sigma_m) = \frac{(1 - \sum_i (1 + \sigma_i) \rho_i)^{1+\sigma_i}}{(1 - \sum_i \sigma_i \rho_i)^{\sigma_i}}. \quad (\text{B.41})$$

B.2.5 Calcul de la distribution des plus proches voisins en fonction des densités $\rho_1, \rho_2, \dots, \rho_m$

En utilisant l'expression (B.38) pour la probabilité conditionnelle (\overline{ff}) dans l'équation (B.31), on obtient l'expression suivante pour $P_{i,j}(r)$:

$$P_{i,j}(r) = \frac{\rho}{1 - \sum_k \sigma_k \rho_k} \left(\frac{1 - \sum_k (1 + \sigma_k) \rho_k}{1 - \sum_k \sigma_k \rho_k} \right)^{r-r_{i,j}}, \quad \rho = \sum_{k=1}^m \rho_k, \quad (\text{B.42})$$

et la distance moyenne $\langle r \rangle$ est donnée par :

$$\langle r \rangle = \frac{1 - \sum_{k=1}^m (1 + \sigma_k) \rho_k}{\rho} + \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^m z_i z_j r_{i,j}. \quad (\text{B.43})$$

B.3 Dérivation de la densité de protéines Tau attachées en fonction du temps

L'équation (8.9) peut s'écrire sous la forme suivante :

$$\frac{d\rho}{(\rho - \lambda_1)(\rho - \lambda_2)} = dt, \quad (\text{B.44})$$

où le 1er terme peut se décomposer comme suit :

$$\frac{d\rho}{(\rho - \lambda_1)(\rho - \lambda_2)} = \frac{d\rho}{\lambda_1 - \lambda_2} \left[\frac{1}{\rho - \lambda_1} - \frac{1}{\rho - \lambda_2} \right]. \quad (\text{B.45})$$

Ainsi, l'équation (B.44) devient :

$$d\rho \left[\frac{1}{\rho - \lambda_1} - \frac{1}{\rho - \lambda_2} \right] = (\lambda_1 - \lambda_2) dt. \quad (\text{B.46})$$

On intègre l'équation (B.46) et on obtient :

$$\ln \left(\frac{\rho - \lambda_1}{\rho - \lambda_2} \right) = (\lambda_1 - \lambda_2) t + K, \quad (\text{B.47})$$

où $K \in \mathbb{R}$ est une constante à déterminer. En prenant l'exponentielle de l'équation (B.47), on a :

$$\left(\frac{\rho - \lambda_1}{\rho - \lambda_2} \right) = e^{(\lambda_1 - \lambda_2)t} e^K. \quad (\text{B.48})$$

En utilisant la condition initiale $\rho(t = 0) = 0$, on obtient :

$$\left(\frac{\rho - \lambda_1}{\rho - \lambda_2} \right) = \frac{\lambda_1}{\lambda_2} e^{(\lambda_1 - \lambda_2)t}, \quad (\text{B.49})$$

et finalement la solution pour $\rho(t)$ est donnée par :

$$\rho(t) = \frac{\lambda_1 \lambda_2 [1 - e^{(\lambda_1 - \lambda_2)t}]}{\lambda_2 - \lambda_1 e^{(\lambda_1 - \lambda_2)t}}. \quad (\text{B.50})$$

Annexe C

Annexe du chapitre 11

C.1 Affinité globale de la protéine Tau en fonction du nombre de séquences répétées

La cinétique représentée sur la Figure 11.1b se traduit par le système du 1er ordre suivant :

$$\begin{cases} \dot{P}_0 = -k_{\text{on}}P_0 + qP_1, \\ \dot{P}_i = +k_{\text{on}}P_{i-1} + qP_{i+1} - (k + q)P_i \quad ; \quad 1 \leq i \leq n-1, \\ \dot{P}_n = -qP_n + kP_{n-1}, \end{cases} \quad (\text{C.1})$$

où P_n représente la probabilité que la protéine Tau soit dans l'état $n = \{0, 1, 2, 3, 4\}$ à l'instant t . À l'équilibre, nous avons $\dot{P}_0 = \dot{P}_i = \dot{P}_n = 0$ et la probabilité P_n peut s'écrire en fonction de P_0 comme suit :

$$P_n = \left(\frac{k}{q}\right)^{n-1} \left(\frac{k_{\text{on}}}{q}\right) P_0 \quad , \quad n \geq 1. \quad (\text{C.2})$$

En utilisant la condition de normalisation,

$$\sum_{n=0}^n P_n = 1, \quad (\text{C.3})$$

on arrive à l'expression suivante pour la probabilité que Tau soit dans l'état "0" :

$$P_0 = \left[1 + \sum_{n=0}^n \left(\frac{k}{q}\right)^{n-1} \left(\frac{k_{\text{on}}}{q}\right) \right]^{-1}. \quad (\text{C.4})$$

La cinétique représentée sur la Figure 11.1a se traduit par l'équation suivante pour P_0 :

$$\dot{P}_0 = -k_{\text{on}}P_0 + k_{\text{off}}(1 - P_0), \quad (\text{C.5})$$

et à l'équilibre, on obtient une seconde expression pour P_0 :

$$P_0 = \frac{1}{1 + \frac{k_{\text{on}}}{k_{\text{off}}}} . \quad (\text{C.6})$$

L'expression (11.1) pour k_{off} est finalement obtenue en utilisant les équations (C.4) et (C.6).

C.2 Dynamique d'attachement/détachement et de diffusion des protéines Tau à la surface des microtubules

Dynamique d'attachement/détachement et de diffusion des protéines Tau à la surface des microtubules

Jordan Hervy* and Dominique J.Bicout†

Institut Max Von Laue - Paul Langevin, Theory Group
38042 Grenoble

Résumé

Les Tauopathies telles que la maladie d'Alzheimer ou bien certains syndromes parkinsoniens sont des pathologies toutes associées à un dysfonctionnement des protéines Tau à correctement réguler le réseau des microtubules (MTs) dans les axones. Comprendre comment et de quelle manière les Tau affectent la dynamique des microtubules représentent donc un enjeu majeur dans la compréhension des Tauopathies. Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à l'interaction dynamique entre une protéine Tau et un microtubule en absence de dynamique. Partant des observations expérimentales, nous avons construit un modèle décrivant l'interaction Tau - MT comme un processus dynamique "on - off" au cours duquel le Tau libre (état "off") peut être confiné (état "on") sur le MT sur lequel il se déplace selon un processus de diffusion unidimensionnel, suivi soit d'attachement sur le MT ou d'un détachement dans l'état "off". Un tel modèle est caractérisé par 5 paramètres qui peuvent être extraits des expériences : la constante de vitesse de confinement k_{on} sur le MT du Tau libre, le coefficient de diffusion D de la diffusion unidimensionnelle du Tau confiné sur le MT, la constante de vitesse d'attachement k_b du Tau confiné en diffusion le long du MT, la constante de vitesse de détachement k_c du Tau, et la constante de vitesse d'échappement ou de libération k_f du Tau. Nous avons ainsi dérivé les expressions analytiques des principales caractéristiques de l'interaction Tau - MT, à savoir : la distribution stationnaire et les déplacements moyens du Tau le long du MT, la probabilité et le temps de séjour de Tau sur le MT.

Abstract

Tauopathies such as Alzheimer's disease or Parkinson syndromes are examples of disorders associated with a dysfunction of tau proteins to properly regulate the network of microtubules (MTs) in axons. Understanding how and in what way Tau protein affect the microtubule dynamics represent therefore a major challenge in understanding Tauopathies. In this work, we were interested in the dynamical interaction between Tau protein and microtubule in the absence of dynamic. Based on the experimental observations, we constructed a model describing the interaction Tau - MT as a dynamical process "on - off" in which the free Tau ("off") may be confined ("on") on the MT which it moves along a one-dimensional diffusion process and then followed by either an attachment on the MT or a detachment in the "off" state. This model is characterized by 5 parameters that can be extracted from experiments : k_{on} the confinement rate on the MT for a free Tau, D the diffusion coefficient of the one-dimensional diffusion for a Tau confined on the MT, k_b the attachment rate for a Tau confined along the MT, k_c the detachment rate of Tau bound on the MT, and k_f the escape rate of a Tau protein. We have derived the analytical expressions of the main features of the Tau interaction - MT, namely the stationary distribution and the means displacements of Tau along the MT, probability and dwell time of Tau on the microtubule.

*hervy@ill.fr

†bicout@ill.fr

1 Introduction

La maladie d'Alzheimer, de nombreux syndromes parkinsoniens comme la dégénérescence cortico-basale (DCB) ou la paralysie supranucléaire progressive (PSP), certaines démences fronto-temporales (DFT) telles que la maladie de Pick et la maladie de Steinert sont des exemples de maladies neurodégénératives appelées Tauopathies [3, 4]. Ces pathologies sont toutes associées à la présence d'agrégats intracellulaires de protéines Tau dans le cerveau des patients. Les protéines Tau, phosphoprotéines principalement produites dans les neurones et en majorité dans les axones [5, 6, 7] appartiennent à la famille des MAP (microtubule-associated proteins) qui jouent un rôle crucial dans la régulation et la stabilisation du réseau de microtubules dans les neurones [8, 9, 10]. La formation des agrégats de protéines Tau dans les Tauopathies résulte de l'hyperphosphorylation des protéines Tau dans les axones. Cette hyperphosphorylation conduit à une diminution de l'affinité des protéines Tau avec les microtubules entraînant ainsi une mauvaise régulation du réseau de microtubules. Ce dysfonctionnement se traduit ensuite par une perte progressive de la masse de microtubule et donc par un transport intra-neuronal qui n'est plus assuré conduisant finalement à la mort du neurone [11].

Les microtubules sont des fibres creuses formées de 13 protofilaments constitués de dimères de tubuline (α et β) agencés en forme hélicoïdale [12]. La dynamique des microtubules est caractérisée par le mécanisme d'instabilité dynamique décrit pour la première fois en 1984 par Mitchison et Kirschner [13]. En effet, les microtubules sont des structures très instables et dynamiques, ils se polymérisent (élongation du MT par ajout/attachement de dimères de tubuline dans l'état GTP) et dépolymérisent (rétrécissement du MT par détachement de dimères de tubuline dans l'état GDP) en permanence. En l'absence de protéines telles que les Tau (présents dans les axones) ou les MAP2 (présents dans les dendrites), les microtubules sont soumis au mécanisme d'instabilité dynamique. Dans les axones, les microtubules peuvent atteindre des tailles de plusieurs centaines de micromètres [14]. Ils jouent un rôle très important dans le transport intra-neuronal, servant de rails pour acheminer les nutriments et neurotransmetteurs depuis leurs lieux de synthèse, le noyau, jusqu'aux extrémités de l'axone et synapses. Ces différents mécanismes de transport sont indispensables au bon fonctionnement du neurone.

Il a été mis en évidence expérimentalement que les Tau stabilisent la dynamique d'instabilité des microtubules [8, 9, 10]. En s'attachant à la surface des MTs, les protéines Tau bloquent la polymérisation et dépolymérisation des microtubules. C'est ainsi que dans les axones, la présence des Tau rend possible le transport des nutriments le long des MTs. L'axone est constitué d'un ensemble de microtubules organisés en réseau. Les protéines Tau stabilisent non seulement les microtubules de manière individuelle mais organisent/structurent également le réseau de MTs permettant ainsi aux vésicules/nutriments de circuler correctement d'un bout à l'autre de l'axone et donc du neurone. Il existe cependant une plage optimale pour la dynamique des MTs au sein de l'axone : à faible concentration de Tau (peu de Tau par MT), les microtubules ne sont pas suffisamment régulés alors qu'à haute concentration de Tau, les microtubules sont trop stabilisés (dynamiques complètement figées) ; dans ces deux cas limites, le transport intra - neuronal est mal voire pas du tout assuré ce qui conduit à la mort neuronale [11]. Ainsi, comprendre comment et de quelle manière les Tau affectent la dynamique des microtubules représente un enjeu majeur dans le contexte général des Tauopathies.

Dans ce travail, nous nous focalisons sur la caractérisation de l'interaction Tau - MT. De nombreuses expériences [1, 14, 15, 16] ont mis en évidence le caractère dynamique et de diffusion de l'interaction Tau - MT. Interaction diffusive car le Tau est soumis à un processus de diffusion le long du microtubule et dynamique car le Tau peut également s'attacher/s'immobiliser à la

surface du microtubule puis s'en détacher et ainsi de suite [17, 18, 19]. Notre objectif est de modéliser cette interaction diffusive et dynamique des Tau sur les microtubules.

Le document est organisé de la manière suivante : dans la Section 2, nous utilisons les différentes observations expérimentales pour formuler la base du modèle d'interaction Tau - MT que nous traduirons ensuite en termes mathématiques. Dans la Section 3, les principales caractéristiques de l'interaction Tau - microtubule sont calculées à partir de ce modèle, à savoir : la distribution stationnaire et les déplacements moyens du Tau le long du MT, la probabilité et le temps de séjour de Tau sur le MT. Dans la Section 4, nous utilisons les résultats expérimentaux issus des Refs.[14, 15, 22] pour extraire les valeurs numériques des paramètres du modèle. Enfin, les principaux résultats de ce modèle sont discutés dans le contexte général des Tauopathies dans la Section 5. Les détails des calculs sont rapportés dans les annexes en Section 6.

2 Modèle d'interaction Tau - Microtubule

2.1 Description du modèle

Pour construire le modèle de l'interaction entre une protéine Tau et un microtubule, nous nous sommes appuyés sur les expériences de McVicker *et al.*, (2014) [1], de Hinrichs *et al.*, (2012) [15] et de Konzack *et al.* (2007) [16]. Dans ces expériences, des trajectoires de protéines Tau ont pu être observées au microscope TIRF (total internal reflection fluorescence microscopy) dans Refs. [1, 15] et au microscope FRAP (fluorescence recovery after photobleaching) dans Ref. [16]. Il a été mis en évidence que lorsque les Tau étaient suffisamment proches d'un microtubule, ils pouvaient se déplacer le long du microtubule selon un processus de diffusion unidimensionnel ; lors de cette diffusion, les Tau pouvaient soit s'immobiliser sur le MT pendant un certain temps soit s'échapper du MT et diffuser dans le cytosol dans les 3 directions spatiales [14]. Du point de vue de l'interaction Tau - MT, il apparaît donc que le Tau puisse se déplacer le long du microtubule, puis venir de temps en temps s'attacher à la surface du microtubule [17, 18, 19] avant de rediffuser le long du MT. La première étape de la construction du modèle est de considérer 3 états dans lesquels le Tau peut se trouver :

- **État libre "F"** (Free) : Le Tau n'interagit pas avec le MT, il diffuse librement dans la solution (cytosol)
- **État confiné "C"** (Confined) : Le Tau interagit avec le MT et se trouve confiné à la surface du MT le long d'un protofilament. Dans cet état, les mouvements du Tau le long du protofilament peuvent être décrits par un processus de diffusion unidimensionnel.
- **État attaché "B"** (Bound) : En plus d'être confiné, le Tau peut se lier solidement aux tubulines du MT devenant ainsi attaché et immobile à la surface du MT

L'interaction dynamique Tau - MT peut donc être décrite par un système à 3 états avec des transitions entre ces états. Le Tau peut transiter d'un état à l'autre : les 4 transitions possibles sont chacune caractérisées par une constante de vitesse. Nous avons donc 4 paramètres associés à la cinétique de transition entre les 3 états "F", "C" et "B". Le 5ème et dernier paramètre du modèle est le coefficient de diffusion D caractérisant la diffusion unidimensionnelle du Tau dans l'état confiné "C". La dynamique du Tau sur le MT peut également se comprendre en terme de potentiel d'interaction Tau - MT que nous avons schématisé sur la figure 1(c). Lorsque le

Tau est loin du MT, il n'interagit pas avec le MT, le potentiel d'interaction est donc nul (état libre "F"). Le Tau peut ensuite se rapprocher du MT et arriver dans la zone de confinement. Ce confinement correspond à la phase de diffusion du Tau le long du MT (état "C"). Une fois dans cette zone, le Tau peut soit s'éloigner du MT et finir par s'échapper, soit franchir la barrière de potentiel et venir s'immobiliser sur le MT (état "B"). Sur la figure 1(d), nous avons également schématisé le comportement typique d'un Tau sur le MT. Le Tau libre entre dans la zone de confinement représentée par le cylindre en pointillé, il diffuse ensuite le long du microtubule puis vient s'attacher à la surface de celui-ci, il reste statique un certain temps avant de recommencer à diffuser puis éventuellement s'échapper du MT.

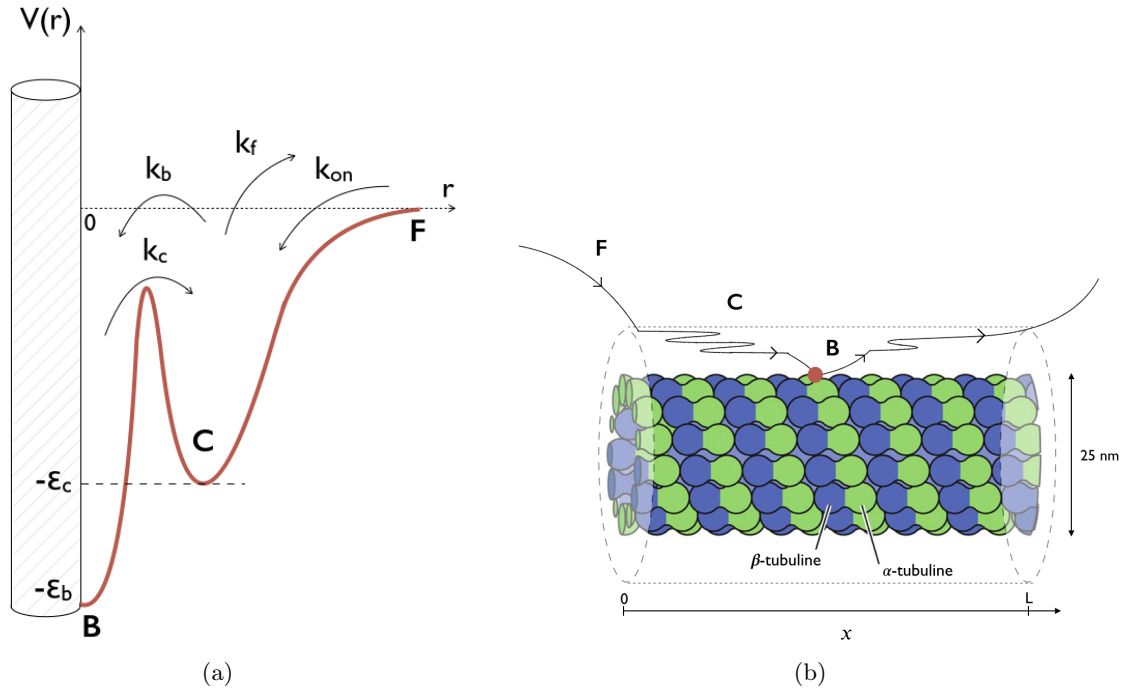


FIGURE 1 : (c) Schéma du Potentiel d'interaction $V(r)$ d'une protéine Tau avec un microtubule avec r la distance de la protéine au microtubule. (d) Schéma illustrant la dynamique d'un Tau sur le microtubule.

2.2 Formulation mathématique

Dans ce modèle, nous négligeons la structure hélicoïdale du microtubule en 13 protofilaments et on considère la protéine Tau comme une particule ponctuelle. On suppose que les protofilaments sont indépendants entre eux, c'est à dire que l'on peut restreindre le MT à un unique protofilament. De plus, on ne prend pas en compte le mécanisme d'instabilité dynamique : le protofilament est dépourvu de dynamique et est de longueur L qui reste fixe avec le temps. Expérimentalement cette situation où la dynamique du microtubule est figée peut être obtenue par ajout d'une molécule (Taxol) dans la solution, c'est le cas par exemple dans les expériences de Hinrichs [15]. En ce qui concerne les Tau, on considère que nous avons une solution suffisamment diluée de telle manière que l'on peut négliger les interactions entre protéines Tau sur le MT. Les protéines Tau peuvent ainsi être étudiées de manière indépendante. De plus, il a été montré récemment [2] que les protéines Tau se lient aux microtubules uniquement entre les dimères de tubuline. Pour un protofilament donné, nous avons donc N sites d'attachement possibles pour le Tau sur le protofilament de longueur $L = Na$ avec $a = 8$ nm, la taille d'un dimère.

Considérons donc l'interaction d'un seul Tau avec un MT (protofilament) de longueur L

(Figure 2a). Notons par $F(t)$, $C(t)$ et $B(t)$, les probabilités respectives de trouver le Tau dans l'état "F", "C" et "B" à l'instant t . Dans ce modèle, le Tau ne peut occuper qu'un état à la fois et la conservation des probabilités impose la condition suivante :

$$F(t) + C(t) + B(t) = 1 \quad ; \quad \forall t \quad (1)$$

Nous définissons également les densités de probabilités $P_c(n, t|n_0)$ et $P_b(n, t|n_0)$ que le Tau soit respectivement dans l'état "C" et "B" au n ème site d'attachement du MT, à l'instant t sachant que le Tau était initialement au site n_0 sur le MT à l'instant 0. Les probabilités $C(t)$ et $B(t)$ s'obtiennent en moyennant sur les positions initiales n_0 et en sommant sur les sites d'attachements n les densités de probabilité $P_c(n, t|n_0)$ et $P_b(n, t|n_0)$ comme suit :

$$\begin{cases} C(t) = \frac{1}{N} \sum_{n_0=0}^N \sum_{n=0}^N P_c(n, t|n_0) \\ B(t) = \frac{1}{N} \sum_{n_0=0}^N \sum_{n=0}^N P_b(n, t|n_0) \end{cases} \quad (2)$$

Le tau peut ensuite transiter entre les états "F", "C" et "B". La cinétique de transition entre ces 3 états est donnée sur la figure 2(b). Le passage entre les différents états est régulé par 4 constantes de vitesses : k_{on} , k_f , k_b et k_c ; k_{on} est la constante de vitesse de confinement sur le MT, k_b la constante de vitesse d'attachement sur le MT, k_c la constante de vitesse de détachement du Tau sur le MT, et k_f la constante de vitesse de d'échappement k_f du Tau. Nous traduisons

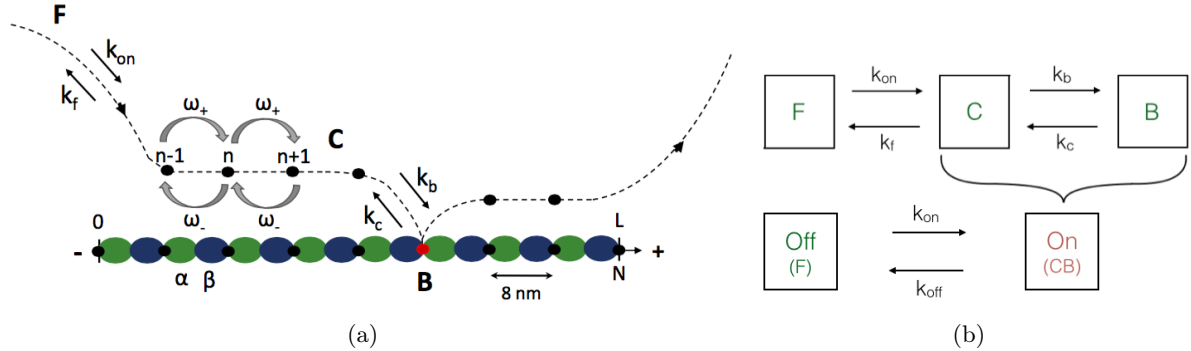


FIGURE 2 : (a) Protofilament de longueur L constitué N sites d'attachement possibles entre 2 dimères pour une protéine Tau. Le Tau est soit en diffusion libre (état F), soit confiné le long du protofilament (état C) ou soit directement attaché sur un site (état B). Le Tau peut transiter entre ces 3 états avec les constantes de vitesse k_{on} , k_f , k_b et k_c . ω_+ et ω_- représentent les probabilités par unité de temps qu'un Tau passe au prochain site d'attachement vers l'extrémité + ou - respectivement du protofilament. (b) Sur la partie supérieure : Cinétique entre les 3 états de Tau avec les 4 constantes de vitesses de transition entre chaque état : k_{on} , k_f , k_b et k_c . Sur la partie inférieure : Cinétique pour les 2 états effectifs "on" et "off" : pour un Tau dans l'état "on", on considère qu'il est sur le MT, c'est à dire soit dans l'état "C" ou "B" ; l'état "off" correspond au même état libre "F". La cinétique effective "on-off" est caractérisée par 2 constantes de vitesses : k_{on} pour l'attachement sur le MT et k_{off} pour le détachement.

la cinétique à 3 états par un système de 3 équations aux différences finies couplées pour la probabilité $F(t)$ et les densités de probabilité $P_c(n, t|n_0)$ et $P_b(n, t|n_0)$. En incluant l'équation de diffusion à une dimension pour le Tau dans l'état "C", le système d'équations du modèle s'écrit :

$$\left\{ \begin{array}{l}
\frac{dF(t)}{dt} = -k_{on}(n) F(t) + k_f \sum_{n=0}^N P_c(n, t|n_0) + \omega_- P_c(0, t|n_0) + \omega_+ P_c(N, t|n_0) \quad ; \quad 0 \leq n \leq N \\
\frac{\partial P_c(n, t|n_0)}{\partial t} = -[\omega_+ + \omega_-] P_c(n, t|n_0) + \omega_+ P_c(n-1, t|n_0) + \omega_- P_c(n+1, t|n_0) - [k_f + k_b(n)] P_c(n, t|n_0) \\
\quad + k_{on}(n) g(n) F(t) + k_c(n) P_b(n, t|n_0) \quad ; \quad 1 \leq n \leq N-1 \\
\frac{\partial P_c(0, t|n_0)}{\partial t} = -[\omega_+ + \omega_-] P_c(0, t|n_0) + \omega_- P_c(1, t|n_0) - [k_f + k_b(0)] P_c(0, t|n_0) \\
\quad + k_{on}(0) g(0) F(t) + k_c(0) P_b(0, t|n_0) \quad ; \quad n = 0 \\
\frac{\partial P_c(N, t|n_0)}{\partial t} = -[\omega_+ + \omega_-] P_c(N, t|n_0) + \omega_+ P_c(N-1, t|n_0) - [k_f + k_b(N)] P_c(N, t|n_0) \\
\quad + k_{on}(N) g(N) F(t) + k_c(N) P_b(N, t|n_0) \quad ; \quad n = N \\
\frac{\partial P_b(n, t|n_0)}{\partial t} = k_b(n) P_c(n, t|n_0) - k_c(n) P_b(n, t|n_0) \quad ; \quad 0 \leq n \leq N
\end{array} \right. \quad (3)$$

où le terme $\omega_- P_c(0, t|n_0) + \omega_+ P_c(N, t|n_0)$ représente le flux total de Tau sortant aux extrémités du MT par le premier site $n = 0$ et le dernier $n = N$. ω_+ et ω_- représentent les probabilités que le Tau passe au site d'attachement suivant dans la direction $+$ et $-$ respectivement. Le terme $g(n)$ correspond à la densité de probabilité qu'un Tau libre commence son confinement sur le MT au site n .

Nous considérons maintenant la limite continue de ce système avec x la position de la protéine Tau le long du microtubule. Dans ce cas, le système (3) se traduit par :

$$\left\{ \begin{array}{l}
\frac{dF(t)}{dt} = -k_{on} F(t) + k_f \int_0^L dx P_c(x, t|x_0) + J(x=L, t) - J(x=0, t) \\
\frac{\partial P_c(x, t|x_0)}{\partial t} = D \frac{\partial^2 P_c(x, t|x_0)}{\partial x^2} - V \frac{\partial P_c(x, t|x_0)}{\partial x} - [k_f + k_b] P_c(x, t|x_0) + k_{on} g(x) F(t) + k_c P_b(x, t|x_0) \\
\frac{\partial P_b(x, t|x_0)}{\partial t} = k_b P_c(x, t|x_0) - k_c P_b(x, t|x_0) \quad ; \quad 0 \leq x \leq L
\end{array} \right. \quad (4)$$

Avec D le coefficient de diffusion donné par :

$$D = \left(\frac{\omega_+ + \omega_-}{2} \right) a^2 \quad (5)$$

et V , la vitesse de dérive :

$$V = (\omega_+ - \omega_-) a \quad (6)$$

Le terme $J(x=L, t) - J(x=0, t)$ représente le flux total de Tau sortant aux extrémités du MT en $x=0$ et $x=L$ avec $J(x, t)$ donné par :

$$J(x, t|x_0) = -D \frac{\partial P_c(x, t|x_0)}{\partial x} + V P_c(x, t|x_0) \quad (7)$$

Le terme $g(x)$ est l'équivalent continu de $g(n)$ et correspond à la densité de probabilité qu'un Tau libre commence son confinement sur le MT à la position x et tel que :

$$\int_0^L g(x) dx = 1 \quad (8)$$

En absence d'indications contraires, nous supposons dans la suite que cette densité est uniforme, c'est à dire que le Tau peut commencer son confinement sur n'importe quelle position x le long du MT, i.e.,

$$g(x) = \frac{1}{L} \quad (9)$$

Au système d'équations 4 sont associées les conditions initiales générales suivantes :

$$\begin{cases} F(t = 0) = a \\ P_c(x, t = 0|x_0) = b \delta(x - x_0) \\ P_b(x, t = 0|x_0) = (1 - a - b) \delta(x - x_0) \end{cases} \quad (10)$$

En plus des conditions initiales, nous considérons que le Tau dans l'état confiné et atteignant les extrémités du MT s'en échappe. Cela se traduit par des conditions aux bords absorbantes uniquement pour $P_c(x, t|x_0)$:

$$P_c(x, t|x_0) = 0 \quad \text{en} \quad x = 0 \quad \text{et} \quad x = L \quad (11)$$

Dans le cas continu, les équations (2) deviennent simplement :

$$\begin{cases} C(t) = \frac{1}{L} \int_0^L dx_0 \int_0^L dx P_c(x, t|x_0) \\ B(t) = \frac{1}{L} \int_0^L dx_0 \int_0^L dx P_b(x, t|x_0) \end{cases} \quad (12)$$

3 Caractéristiques de l'interaction Tau - microtubule

3.1 Distribution des protéines Tau à l'équilibre

Dans cette partie, on s'intéresse aux caractéristiques de l'interaction Tau - MT à l'équilibre : $P_{eq}(x)$ la distribution du Tau le long du MT et les déplacements moyens $\langle x \rangle_{eq}$, $\langle x^2 \rangle_{eq}$ du Tau sur le MT. Ce faisant, nous dériverons aussi l'expression de la constante de vitesse de détachement k_{off} .

3.1.1 Probabilités $P_{eq}(x)$ et F_{eq}

L'équilibre est caractérisé par :

$$\frac{dF_{eq}(t)}{dt} = \frac{\partial P_{c,eq}}{\partial t} = \frac{\partial P_{b,eq}}{\partial t} = 0 \quad (13)$$

Il n'y a donc plus de dépendance temporelle ni de dépendance sur la position initiale x_0 . En

effet, les conditions (10) pour x_0 portent sur le temps. Ainsi, F_{eq} est désormais une constante et les densités $P_{c,eq}$, $P_{b,eq}$ ne dépendent plus que de la position x le long du MT. Le système d'équations (4) se met alors sous la forme suivante :

$$\begin{cases} -k_{on} F_{eq} + k_f \int_0^L P_{c,eq}(x) dx + J(L) - J(0) = 0 \\ D \frac{d^2 P_{c,eq}(x)}{dx^2} - V \frac{dP_{c,eq}(x)}{dx} - [k_f + k_b] P_{c,eq}(x) + \frac{k_{on} F_{eq}}{L} + k_c P_{b,eq}(x) = 0 \\ k_b P_{c,eq}(x) - k_c P_{b,eq}(x) = 0 \end{cases} \quad (14)$$

En sommant les 2 dernières équations du système (14), on obtient une équation pour $P_{c,eq}(x)$:

$$D \frac{d^2 P_{c,eq}(x)}{dx^2} - V \frac{dP_{c,eq}(x)}{dx} - k_f P_{c,eq}(x) + \frac{k_{on} F_{eq}}{L} = 0 \quad (15)$$

La solution générale de (15) se met sous la forme suivante :

$$P_{c,eq}(x) = P_{c,eq}(x)_h + K \quad (16)$$

Avec $P_{c,eq}(x)_h$, la solution homogène qui satisfait :

$$D \frac{d^2 P_{c,eq}(x)_h}{dx^2} - V \frac{dP_{c,eq}(x)_h}{dx} - k_f P_{c,eq}(x)_h = 0 \quad (17)$$

K est une constante que l'on détermine en injectant (16) dans (15) :

$$K = \frac{k_{on} F_{eq}}{k_f L} \quad (18)$$

On cherche $P_{c,eq}(x)_h$ sous la forme exponentielle $\propto e^{\lambda x}$. Avec (17), on obtient :

$$D \lambda^2 - V \lambda - k_f = 0 \quad (19)$$

L'équation (19) admet 2 solutions λ_1 et λ_2 données par :

$$\begin{cases} \lambda_1 = \frac{V + \sqrt{V^2 + 4k_f D}}{2D} = \frac{u + z}{L} \\ \lambda_2 = \frac{V - \sqrt{V^2 + 4k_f D}}{2D} = \frac{u - z}{L} \end{cases} \quad (20)$$

Avec u et z donnés par :

$$\begin{cases} u = \frac{V L}{2D} \\ z = \sqrt{u^2 + z_0^2} \quad ; \quad z_0 = \sqrt{\frac{k_f}{D}} L \end{cases} \quad (21)$$

$P_{c,eq}(x)$ est donc donnée par :

$$P_{c,eq}(x) = a_1 e^{\lambda_1 x} + b_1 e^{\lambda_2 x} + \frac{k_{on} F_{eq}}{k_f L} \quad (22)$$

Nous utilisons maintenant les conditions aux bords (11) et nous obtenons :

$$\begin{cases} a_1 + b_1 + \frac{k_{on}}{k_f} \frac{F_{eq}}{L} = 0 \\ a_1 e^{\lambda_1 L} + b_1 e^{\lambda_2 L} + \frac{k_{on}}{k_f} \frac{F_{eq}}{L} = 0 \end{cases} \quad (23)$$

En résolvant le système précédent, on trouve que a_1 est donné par :

$$a_1 = \frac{k_{on}}{k_f} \frac{F_{eq}}{L} \left[\frac{e^{-z} - e^{-u}}{2 \operatorname{sh}(z)} \right] \quad (24)$$

Finalement, en posant $x' = x/L$ nous avons :

$$P_{c,eq}(x', u, z) = \frac{k_{on}}{k_f} \frac{F_{eq}}{L} \left[\frac{e^{-z} - e^{-u}}{\operatorname{sh}(z)} \right] \operatorname{sh}(z x') e^{u x'} + \frac{k_{on}}{k_f} \frac{F_{eq}}{L} \left[1 - e^{(u-z)x'} \right] \quad (25)$$

La distribution est paramétrée par u et z_0 . On peut réécrire $P_{c,eq}(x', u, z_0)$ sous la forme suivante :

$$P_{c,eq}(x', u, z_0) = \frac{k_{on}}{k_f} \frac{F_{eq}}{L} \left[\frac{\operatorname{sh}(z) - e^{-u(1-x')} \operatorname{sh}(z x') - e^{u x'} \operatorname{sh}(z(1-x'))}{\operatorname{sh}(z)} \right] ; \quad z = \sqrt{u^2 + z_0^2} \quad (26)$$

D'après (14), $P_{c,eq}(x', u, z_0)$ et $P_{b,eq}(x', u, z_0)$ sont liées par :

$$k_b P_{c,eq}(x', u, z_0) = k_c P_{b,eq}(x', u, z_0) \quad (27)$$

La distribution stationnaire $P_{eq}(x', u, z_0)$ du Tau le long du MT est donnée par $P_{eq}(x, u, z'_0) = P_{c,eq}(x', u, z_0) + P_{b,eq}(x', u, z_0)$. Nous avons donc :

$$P_{eq}(x', u, z_0) = \frac{k_{on}}{k_f} \frac{F_{eq}}{L} \left(1 + \frac{k_b}{k_c} \right) \left[\frac{\operatorname{sh}(z) - e^{-u(1-x')} \operatorname{sh}(z x') - e^{u x'} \operatorname{sh}(z(1-x'))}{\operatorname{sh}(z)} \right] ; \quad z = \sqrt{u^2 + z_0^2} \quad (28)$$

Pour $u = 0$, c'est à dire sans dérive ($V = 0$), nous avons :

$$P_{c,eq}(x', 0, z_0) = \frac{k_{on}}{k_f} \frac{F_{eq}}{L} \left[\frac{\operatorname{sh}(z_0) - \operatorname{sh}(z_0 x') - \operatorname{sh}(z_0(1-x'))}{\operatorname{sh}(z_0)} \right] ; \quad z_0 = \sqrt{\frac{k_f}{D}} L \quad (29)$$

Nous avons $P_{eq}(x', 0, z_0) = P_{eq}(1 - x', 0, z_0)$: la diffusion de la protéine Tau est symétrique le long du microtubule. Dans le cas général $u \neq 0$ (28), la relation $P_{eq}(x', u, z_0) = P_{eq}(1 - x', u, z_0)$ n'est plus vérifiée : la diffusion n'est plus symétrique. En revanche, la distribution stationnaire respecte bien la relation $P_{eq}(x', u, z_0) = P_{eq}(1 - x', -u, z_0)$.

La probabilité F_{eq} intervient dans l'expression de $P_{eq}(x', u, z_0)$, pour la déterminer on utilise la condition (1) qui se traduit à l'équilibre par, $F_{eq} + C_{eq} + B_{eq} = 1$. En se servant de (12), nous obtenons :

$$\begin{cases} C_{eq} = \int_0^L dx P_{c,eq}(x, u, z_0) = L \int_0^1 dx' P_{c,eq}(x', u, z_0) \\ B_{eq} = \int_0^L dx P_{b,eq}(x, u, z_0) = L \int_0^1 dx' P_{b,eq}(x', u, z_0) \end{cases} \Rightarrow C_{eq} + B_{eq} = L \int_0^1 dx' P_{eq}(x', u, z_0) \quad (30)$$

Après intégration de (28), on aboutit finalement à :

$$C_{eq} + B_{eq} = \frac{k_{on}}{k_f} F_{eq} \left(1 + \frac{k_b}{k_c} \right) Q(u, z_0) \quad (31)$$

où $Q(u, z_0)$ est définie par :

$$Q(u, z_0) = \int_0^1 dx' \left\{ \frac{sh(z) - e^{-u(1-x')} sh(zx') - e^{ux'} sh(z(1-x'))}{sh(z)} \right\} \quad (32)$$

$$= 1 - \frac{2z}{sh(z)} \left[\frac{ch(u) - ch(z)}{u^2 - z^2} \right] ; \quad z = \sqrt{u^2 + z_0^2} ; \quad z_0 = \sqrt{\frac{k_f}{D}} L ; \quad u = \frac{VL}{2D} \quad (33)$$

On montre que $Q(u, z_0) = Q(-u, z_0)$. Dans le cas particulier $u = 0$, nous avons :

$$Q(0, z_0) = 1 + \frac{2(1 - ch(z_0))}{z_0 sh(z_0)} ; \quad z_0 = \sqrt{\frac{k_f}{D}} L \quad (34)$$

Sur la figure 3, nous avons représenté la fonction $Q(u, z_0)$ qui interviendra régulièrement dans les expressions pour les caractéristiques de l'interaction Tau - MT. Pour $z_0 \rightarrow \infty$, on a $Q(u, z_0) \rightarrow 1$ et pour $z_0 \rightarrow 0$, nous avons $Q(u, z_0) \rightarrow 0$.

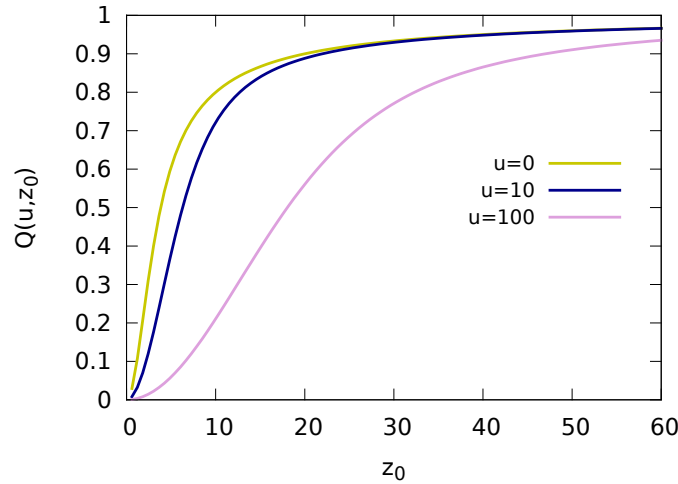


FIGURE 3 : Fonction $Q(u, z_0)$ donnée par (33)

En utilisant finalement (31) et $F_{eq} + C_{eq} + B_{eq} = 1$, on obtient la probabilité F_{eq} :

$$F_{eq} = \frac{1}{1 + \frac{k_{on}}{k_f} \left(1 + \frac{k_b}{k_c} \right) Q(u, z_0)} \quad (35)$$

En utilisant le fait que $C_{eq} + B_{eq} = 1 - F_{eq}$ dans l'Eq.(31), nous obtenons la distribution stationnaire $P_{eq}(x', u, z_0)$:

$$P_{eq}(x', u, z_0) = \frac{(1 - F_{eq})}{Q(u, z_0) L} \left[\frac{sh(z) - e^{-u(1-x')} sh(zx') - e^{ux'} sh(z(1-x'))}{sh(z)} \right] ; \quad z = \sqrt{u^2 + z_0^2} ; \quad 0 \leq x' \leq 1 \quad (36)$$

Sur la figure 6, nous avons représenté la distribution stationnaire $P_{eq}(x', u, z_0)$ pour $z_0 = 1$ et $z_0 = 10$ avec $u = -10, 0$ et 10 .

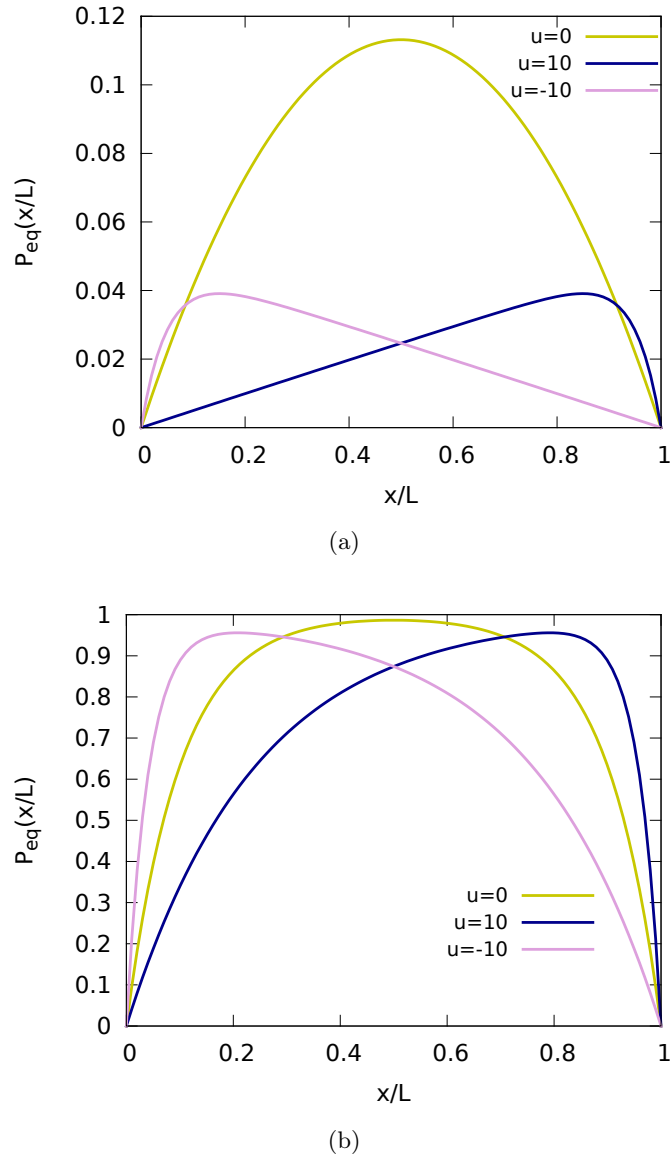


FIGURE 4 : Distribution stationnaire $P_{eq}(x')$ pour $z_0 = 1$ (a) et $z_0 = 10$ (b) avec $u = -10, 0$ et 10 .

3.1.2 Dérivation de k_{off}

Nous pouvons également voir l'interaction Tau - MT comme un processus dynamique "on - off". Lorsque le Tau est dans l'état "on", on considère qu'il est sur le MT c'est à dire soit dans l'état "C" ou soit dans l'état "B". L'état "off" correspond toujours à l'état libre "F", c'est à dire lorsque le Tau n'est pas sur le MT. Sur la figure 2(b), en dessous de la cinétique à 3 états, nous avons schématisé la cinétique entre les 2 états "on" et "off" qui est caractérisée par 2 paramètres : la constante de vitesse d'attachement k_{on} du Tau sur le MT et la constante de vitesse effective de détachement k_{off} . Dans un tel système effectif à deux états, "on-off" (voir figure 2(b)), on peut

montrer que F_{eq} est donnée par :

$$F_{eq} = \frac{1}{1 + \frac{k_{on}}{k_{off}}} \quad (37)$$

En utilisant l'expression de F_{eq} dans l'Eq.(35) pour le système à 3 états, on en déduit l'expression de la constante de vitesse effective de détachement k_{off} ,

$$k_{off} = \frac{k_f}{\left(1 + \frac{k_b}{k_c}\right) Q(u, z_0)} \quad (38)$$

3.1.3 Déplacements moyens

Pour calculer le déplacement moyen à l'équilibre $\langle x \rangle_{eq}$ d'un Tau sur le MT, on part de l'expression (36) pour $P_{eq}(x', u, z_0)$ et avec toujours le même changement de variable $x' \rightarrow x/L$, nous obtenons :

$$\langle x \rangle_{eq} = \int_0^L x P_{eq}(x, u, z_0) dx = L^2 \int_0^1 x' P_{eq}(x', u, z_0) dx' \quad (39)$$

En utilisant l'expression (36) pour $P_{eq}(x', u, z_0)$, nous obtenons :

$$\langle x \rangle_{eq} = L^2 \int_0^1 x' P_{eq}(x', u, z_0) dx' \quad (40)$$

$$= \frac{L(1 - F_{eq})}{Q(u, z_0) sh(z)} \int_0^1 dx' \left\{ x' sh(z) - x' e^{-u(1-x')} sh(z x') - x' e^{u x'} sh(z(1-x')) \right\} \quad (41)$$

$$= \frac{L(1 - F_{eq})}{Q(u, z_0)} \left[\frac{1}{2(u^2 - z^2)} [(u - z)u^2 + 2uz^2(1 - u) + z^4 - 2z(z^2 + (4 - u)) coth(z)] + \frac{e^{-u}}{2 sh(z)(u^2 - z^2)} [4uz + 2ze^{2u} [z^2 + (2 - u)u]] \right]$$

Pour $u = 0$, le déplacement moyen est simplement donné par :

$$\langle x \rangle_{eq} = \frac{L(1 - F_{eq})}{2} \quad (42)$$

Pour le déplacement carré moyen $\langle x^2 \rangle_{eq}$, on a :

$$\langle x^2 \rangle_{eq} = \int_0^L x^2 P_{eq}(x, u, z_0) dx = L^3 \int_0^1 x'^2 P_{eq}(x', u, z_0) dx' \quad (43)$$

Avec (36), nous avons :

$$\langle x^2 \rangle_{eq} = L^3 \int_0^1 x' P_{eq}(x', u, z_0) dx' \quad (44)$$

$$= \frac{L^2 (1 - F_{eq})}{Q(u, z_0) sh(z)} \int_0^1 dx' \left\{ x'^2 sh(z) - x'^2 e^{-u(1-x')} sh(zx') - x'^2 e^{ux'} sh(z(1-x')) \right\} \quad (45)$$

$$= \frac{L(1 - F_{eq})}{Q(u, z_0)} \left[\frac{1}{3} - \frac{2z(3u^2 + z^2)e^{-u}}{(u^2 - z^2)^3 sh(z)} + \frac{2(u^3 + 3uz^2 + z(3u^2 + z^2) coth(z))}{(u^2 - z^2)^3} + \frac{2uz^2(u^2 - 3) - u^3(2 + (u - 2)u) - (2 + u)z^4 + z(u^2(6 + u(u - 4)) - 2z^2(u(u - 2) - 1) + z^4) coth(z)}{(u^2 - z^2)^3} + \frac{e^u z(u^2(6 + u(u - 4)) - 2z^2(u(u - 2) + z^4))}{(u^2 - z^2)^3 sh(z)} \right]$$

3.2 Dynamique d'une protéine Tau sur le MT

On s'intéresse maintenant à la dynamique d'un Tau sur le microtubule. Pour cela nous allons calculer la probabilité de séjour $S(t)$ qu'un Tau initialement sur le MT (état "on") y soit encore à l'instant t . À partir de $S(t)$, on déterminera ensuite le temps de séjour t_s du Tau sur le microtubule. Et enfin, on s'intéressera au déplacement carré moyen $\overline{\Delta^2}$ le long du MT.

3.2.1 Probabilité de séjour $S(t)$

On considère un Tau initialement sur le MT à la position x_0 avec la probabilité c_0 d'être dans l'état "C" et la probabilité $1 - c_0$ d'être dans l'état "B". Nous sommes donc dans la situation suivante :



Avec les conditions initiales pour $P_c(x, t|x_0)$ et $P_b(x, t|x_0)$ qui sont données par :

$$\begin{cases} P_c(x, t = 0|x_0) = c_0 \delta(x - x_0) \\ P_b(x, t = 0|x_0) = (1 - c_0) \delta(x - x_0) \end{cases} \quad (47)$$

La probabilité de séjour $S(t)$ est donnée par la relation,

$$S(t) = C(t) + B(t) = g_{in}(x_0) \int_0^L dx_0 \int_0^L dx P(x, t|x_0) \quad (48)$$

Avec :

$$P(x, t|x_0) = P_c(x, t|x_0) + P_b(x, t|x_0) \quad (49)$$

et

$$g_{in}(x_0) = \frac{2u e^{2ux_0/L}}{L(e^{2u} - 1)} \quad ; \quad u = \frac{VL}{2D} \quad (50)$$

tel que :

$$\int_0^L dx_0 g_{in}(x_0) = 1 \quad (51)$$

On considère ici la dynamique du Tau sur le MT, nous avons donc $k_{on} = 0$. Dans ce cas, le système (3) se met sous la forme suivante :

$$\begin{cases} \frac{\partial P_c(x, t|x_0)}{\partial t} = D \frac{\partial^2 P_c(x, t|x_0)}{\partial x^2} - V \frac{\partial P_c(x, t|x_0)}{\partial x} - [k_f + k_b] P_c(x, t|x_0) + k_c P_b(x, t|x_0) \\ \frac{\partial P_b(x, t|x_0)}{\partial t} = -k_c P_b(x, t|x_0) + k_b P_c(x, t|x_0) \end{cases} \quad (52)$$

On introduit $g(x, t|x_0)$ et $h(x, t|x_0)$:

$$\begin{cases} P_c(x, t|x_0) = e^{\alpha x} g(x, t|x_0) \\ P_b(x, t|x_0) = e^{\alpha x} h(x, t|x_0) \end{cases} \quad (53)$$

Avec α une constante qui reste à déterminer. On injecte maintenant (53) dans (52) et nous obtenons le système suivant :

$$\begin{cases} \frac{\partial g(x, t|x_0)}{\partial t} = (D \alpha^2 - V \alpha) g(x, t|x_0) + (2 D \alpha - V) \frac{\partial g(x, t|x_0)}{\partial x} + D \frac{\partial^2 g(x, t|x_0)}{\partial x^2} \\ \quad - [k_f + k_b] g(x, t|x_0) + k_c h(x, t|x_0) \\ \frac{\partial h(x, t|x_0)}{\partial t} = -k_c h(x, t|x_0) + k_b g(x, t|x_0) \end{cases} \quad (54)$$

On choisit α de manière à s'affranchir du terme en dérivée première selon x . Ainsi nous avons :

$$2 D \alpha - V = 0 \quad \Rightarrow \quad \alpha = \frac{V}{2 D} = \frac{u}{L} \quad (55)$$

Le système pour $g(x, t|x_0)$ et $h(x, t|x_0)$ devient donc :

$$\begin{cases} \frac{\partial g(x, t|x_0)}{\partial t} = -D \alpha^2 g(x, t|x_0) + D \frac{\partial^2 g(x, t|x_0)}{\partial x^2} - [k_f + k_b] g(x, t|x_0) + k_c h(x, t|x_0) \quad ; \quad \alpha = \frac{V}{2 D} \\ \frac{\partial h(x, t|x_0)}{\partial t} = -k_c h(x, t|x_0) + k_b g(x, t|x_0) \end{cases} \quad (56)$$

On cherche maintenant $g(x, t|x_0)$ et $h(x, t|x_0)$ sous la forme suivante :

$$\begin{cases} g(x, t|x_0) = \sum_{n=1}^{\infty} A_n(t|x_0) \Phi_n(x) \\ h(x, t|x_0) = \sum_{n=1}^{\infty} B_n(t|x_0) \Phi_n(x) \end{cases} \quad (57)$$

Où les fonctions $\Phi_n(x)$ vérifient :

$$D \frac{d^2 \Phi_n(x)}{dx^2} - D \alpha^2 \Phi_n(x) = \kappa \Phi_n(x) \quad (58)$$

On cherche $\Phi_n(x)$ sous forme exponentielle $e^{r x}$. On obtient l'équation caractéristique suivante :

$$D r^2 = (\kappa + D \alpha^2) \quad (59)$$

dont la solution est donnée par :

$$r = \pm r' \quad ; \quad r' = \sqrt{\frac{\kappa + D \alpha^2}{D}} \quad (60)$$

Nous avons donc :

$$\Phi_n(x) = A e^{r'x} + B e^{-r'x} \quad (61)$$

Les conditions aux bords $\Phi_n(x=L) = \Phi_n(x=0) = 0$ donnent :

$$\begin{cases} A + B = 0 \\ A e^{r'L} + B e^{-r'L} = 0 \end{cases} \Rightarrow \begin{cases} A = -B \\ A (e^{r'L} - e^{-r'L}) = 0 \end{cases} \quad (62)$$

La seconde équation donne :

$$A (e^{r'L} - e^{-r'L}) = 2A \operatorname{sh}(r'L) = 0 \Rightarrow \operatorname{sh}(r'L) = 0 \Rightarrow r'L = i n \pi \text{ avec } n \in \mathbb{N} \quad (63)$$

Nous pouvons ainsi déterminer κ :

$$\frac{-n^2 \pi^2}{L^2} = \frac{\kappa + D \alpha^2}{D} \Rightarrow \kappa_n = - \left(\frac{V^2}{4D} + D k_n^2 \right) ; \quad k_n = \frac{n \pi}{L} \text{ avec } n \in \mathbb{N} \quad (64)$$

et $\Phi_n(x)$:

$$\Phi_n(x) = 2A \operatorname{sh}(i k_n x) = 2i A \sin(k_n x) \quad (65)$$

On définit Λ et u comme :

$$\begin{cases} \Lambda = 2i A \\ u = \frac{V L}{2D} \end{cases} \quad (66)$$

Ainsi avec le changement de variable $x' = x/L$, nous avons $\Phi_n(x', u)$ qui est donnée par :

$$\Phi_n(x', u) = \Lambda \sin(n \pi x') \quad (67)$$

On détermine Λ à l'aide de la condition de normalisation :

$$\Lambda^2 \int_0^L \Phi_n(x, u)^2 dx = \Lambda^2 L \int_0^1 \Phi_n(x', u)^2 dx' = 1 \quad (68)$$

Nous obtenons :

$$\Lambda = \sqrt{\frac{2}{L}} \quad (69)$$

$\Phi_n(x', u)$ est maintenant complètement déterminée :

$$\Phi_n(x', u) = \sqrt{2} L e^{u x'} \sin(n \pi x') \quad (70)$$

Les conditions (47) se traduisent par :

$$\begin{cases} A_n(t|x_0) = c_0 e^{-u x'_0} \Phi_n(x_0) \\ B_n(t|x_0) = (1 - c_0) e^{-u x'_0} \Phi_n(x_0) \end{cases} ; \quad x'_0 = x_0/L \quad (71)$$

En injectant (57) dans (52) et en utilisant (58), on arrive au système matriciel suivant :

$$\frac{d}{dt} \begin{pmatrix} A_n(t|x_0) \\ B_n(t|x_0) \end{pmatrix} = M \begin{pmatrix} A_n(t|x_0) \\ B_n(t|x_0) \end{pmatrix} \text{ avec } M = \begin{pmatrix} -(k_f + k_b - \kappa_n) & k_c \\ k_b & -k_c \end{pmatrix} \quad (72)$$

La solution générale de (72) s'écrit :

$$\begin{pmatrix} A_n(t|x_0) \\ B_n(t|x_0) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} a_1 \\ b_1 \end{pmatrix} e^{\lambda_1 t} + \begin{pmatrix} a_2 \\ b_2 \end{pmatrix} e^{\lambda_2 t} \quad (73)$$

λ_1 et λ_2 sont les valeurs propres de la matrice M et sont données par :

$$\begin{cases} \lambda_{1,n} = \frac{-(\omega - \kappa_n) + \Omega_n}{2} \\ \lambda_{2,n} = \frac{-(\omega - \kappa_n) - \Omega_n}{2} \end{cases} ; \quad \begin{cases} \Omega_n = \sqrt{(\omega - \kappa_n)^2 - 4k_c (k_f - \kappa_n)} \\ \omega = k_f + k_b + k_c \end{cases} \quad (74)$$

Pour déterminer les coefficients a_1 , a_2 , b_1 et b_2 . On utilise (73) en $t = 0$ et avec les conditions (71), on obtient :

$$\begin{cases} a_1 + a_2 = c_0 e^{-u x'_0} \Phi_n(x_0) \\ b_1 + b_2 = (1 - c_0) e^{-u x'_0} \Phi_n(x_0) \end{cases} \quad (75)$$

Il nous faut 2 relations supplémentaires pour pouvoir résoudre le système. On prend le système (72) en $t = 0$ pour obtenir 2 conditions sur les dérivées de $A_n(t|x_0)$ et $B_n(t|x_0)$. Puis en dérivant (73), on obtient :

$$\begin{cases} \lambda_{1,n} a_1 + \lambda_{2,n} a_2 = [k_c(1 - c_0) - (k_f + k_b - \kappa_n) c_0] e^{-u x'_0} \Phi_n(x_0) \\ \lambda_{1,n} b_1 + \lambda_{2,n} b_2 = [k_b c_0 - k_c(1 - c_0)] e^{-u x'_0} \Phi_n(x_0) \end{cases} \quad (76)$$

Les coefficients a_1 et a_2 sont alors donnés par :

$$\begin{cases} a_1 = \alpha_{1,n} e^{-u x'_0} \Phi_n(x_0) \\ a_2 = \alpha_{2,n} e^{-u x'_0} \Phi_n(x_0) \end{cases} ; \quad \begin{cases} \alpha_{1,n} = \frac{1}{\Omega_n} \left[k_c - \frac{c_0}{2} (\omega - \kappa_n - \Omega_n) \right] \\ \alpha_{2,n} = \frac{1}{\Omega_n} \left[k_b c_0 + \frac{(1 - c_0)}{2} (\Omega_n - \kappa_n + k_f + k_b - k_c) \right] \end{cases} \quad (77)$$

$A_n(t|x_0)$ et $B_n(t|x_0)$ alors sont donnés par :

$$\begin{cases} A_n(t|x_0) = \Phi_n(x_0) e^{-u x'_0} [\alpha_{1,n} e^{\lambda_{1,n} t} + (c_0 - \alpha_{1,n}) e^{\lambda_{2,n} t}] \\ B_n(t|x_0) = \Phi_n(x_0) e^{-u x'_0} [\alpha_{2,n} e^{\lambda_{1,n} t} + ((1 - c_0) - \alpha_{2,n}) e^{\lambda_{2,n} t}] \end{cases} \quad (78)$$

Et donc finalement, avec $x' = x/L$ et $x'_0 = x_0/L$, nous avons pour $g(x', t|x_0)$ et $h(x', t|x_0)$:

$$\begin{cases} g(x', t|x_0) = \frac{2}{L} \sum_{n=1}^{\infty} e^{-u x'_0} \sin(n \pi x'_0) \sin(n \pi x') [\alpha_{1,n} e^{\lambda_{1,n} t} + (c_0 - \alpha_{1,n}) e^{\lambda_{2,n} t}] \\ h(x', t|x_0) = \frac{2}{L} \sum_{n=1}^{\infty} e^{-u x'_0} \sin(n \pi x'_0) \sin(n \pi x') [\alpha_{2,n} e^{\lambda_{1,n} t} + ((1 - c_0) - \alpha_{2,n}) e^{\lambda_{2,n} t}] \end{cases} \quad (79)$$

Ainsi nous obtenons les expressions pour les densités $P_c(x', t|x_0)$ et $P_b(x', t|x_0)$:

$$\begin{cases} P_c(x', t|x_0) = \frac{2}{L} \sum_{n=1}^{\infty} e^{u(x'-x_0')} \sin(n\pi x_0') \sin(n\pi x') [\alpha_{1,n} e^{\lambda_{1,n} t} + (c_0 - \alpha_{1,n}) e^{\lambda_{2,n} t}] \\ P_b(x', t|x_0) = \frac{2}{L} \sum_{n=1}^{\infty} e^{u(x'-x_0')} \sin(n\pi x_0') \sin(n\pi x') [\alpha_{2,n} e^{\lambda_{1,n} t} + ((1 - c_0) - \alpha_{2,n}) e^{\lambda_{2,n} t}] \end{cases} \quad (80)$$

Pour calculer la probabilité $S(t)$, nous partons de la relation (48) et avec (80), on montre que :

$$P_b(x', t|x_0) + P_c(x', t|x_0) = \frac{2}{L} \sum_{n=1}^{\infty} e^{u(x'-x_0')} \sin(n\pi x_0') \sin(n\pi x') g_n(t) \quad (81)$$

Où nous avons défini $g_n(t)$, la fonction contenant toute la dépendance temporelle, comme :

$$g_n(t) = (\alpha_{1,n} + \alpha_{2,n}) (e^{\lambda_{1,n} t} - e^{\lambda_{2,n} t}) + e^{\lambda_{2,n} t} \quad (82)$$

Et donc la probabilité de séjour s'écrit :

$$S(t) = 2L g_{in}(x_0) \sum_{n=1}^{\infty} g_n(t) \int_0^1 dx_0' e^{-ux_0'} \sin(n\pi x_0') \int_0^1 dx' e^{ux'} \sin(n\pi x') \quad (83)$$

$$= \frac{4u}{e^{2u} - 1} \sum_{n=1}^{\infty} g_n(t) \int_0^1 dx_0' e^{ux_0'} \sin(n\pi x_0') \int_0^1 dx' e^{ux'} \sin(n\pi x') \quad (84)$$

Nous avons :

$$\int_0^1 dx' e^{ux'} \sin(n\pi x') = -\frac{n\pi}{u} \int_0^1 dx' e^{ux'} \cos(n\pi x') \quad (85)$$

$$= -\frac{n\pi}{u} \left[\frac{e^u (-1)^n - 1}{u} + \frac{n\pi}{u} \int_0^1 dx' e^{ux'} \sin(n\pi x') \right] \quad (86)$$

Et donc, on a :

$$\left(1 + \frac{n\pi^2}{u}\right) \int_0^1 dx' e^{ux'} \sin(n\pi x') = \frac{n\pi}{u^2} (1 - e^u (-1)^n) \quad (87)$$

Et finalement, l'intégrale est donnée par :

$$\int_0^1 dx_0' e^{ux_0'} \sin(n\pi x_0') = \int_0^1 dx' e^{ux'} \sin(n\pi x') = \frac{n}{\pi} \left[\frac{1 - e^u (-1)^n}{n^2 + (u/\pi)^2} \right] \quad (88)$$

Nous avons donc pour la probabilité de séjour $S(t, u)$:

$$S(t) = \frac{4u}{\pi^2 (e^{2u} - 1)} \sum_{n=1}^{\infty} g_n(t) \frac{n^2 (1 - e^u (-1)^n)^2}{(n^2 + (u/\pi)^2)^2} \quad (89)$$

Pour $u = 0$, nous avons :

$$S(t, 0) = \frac{4}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} g_n(t) \frac{(1 - (-1)^n)}{n^2} \quad (90)$$

Initialement, le Tau est sur le MT, nous devons donc avoir $S(t = 0, u) = 1 \quad \forall u$:

$$S(t = 0, u) = \frac{4u}{\pi^2 (e^{2u} - 1)} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{n^2 (1 - e^u (-1)^n)^2}{(n^2 + (u/\pi)^2)^2} \quad (91)$$

$$= (1 + e^{2u}) \sum_{n=1}^{\infty} \frac{n^2}{(n^2 + a^2)^2} - 2e^u \sum_{n=1}^{\infty} \frac{n^2 (-1)^n}{(n^2 + a^2)^2} \quad ; \quad a = u/\pi \quad (92)$$

On utilise :

$$\sum_{n=1}^{\infty} \frac{n^2}{(n^2 + a^2)^2} = \frac{\pi}{4a} \left(\frac{ch(a\pi)}{sh(a\pi)} - \frac{a\pi}{sh(a\pi)^2} \right) \quad (93)$$

et

$$\sum_{n=1}^{\infty} \frac{n^2 (-1)^n}{(n^2 + a^2)^2} = \frac{\pi}{4a sh(a\pi)} \left(1 - a\pi \frac{ch(a\pi)}{sh(a\pi)} \right) \quad (94)$$

Ainsi, nous avons :

$$S(t=0, u) = \frac{4u}{\pi^2 (e^{2u} - 1)} \times \frac{\pi^2}{4u} \left[(1 + e^{2u}) \left\{ \frac{ch(u) sh(u) - u}{sh(u)^2} \right\} - 2e^u \left\{ \frac{sh(u) - u ch(u)}{sh(u)^2} \right\} \right] \quad (95)$$

$$= \frac{1}{(e^{2u} - 1) sh(u)^2} \left[(1 + e^u) ch(u) sh(u) - 2e^u sh(u) + u \{ 2e^u ch(u) - (1 + e^{2u}) \} \right] \quad (96)$$

$$= \frac{1}{(e^{2u} - 1) sh(u)^2} \left[(1 + e^u) ch(u) sh(u) - 2e^u sh(u) \right] \quad (97)$$

$$= \frac{1}{(e^{2u} - 1)} \left[(1 + e^{2u}) ch(u) - 2e^u \right] \quad (98)$$

$$= \frac{1}{(e^{2u} - 1)} \times (e^{2u} - 1) \quad (99)$$

$$= 1 \quad (100)$$

3.2.2 Temps de séjour sur le microtubule

Le temps de séjour t_s représente le temps moyen qu'une protéine Tau passe sur le microtubule et s'obtient en intégrant $S(t)$:

$$t_s = \int_0^{\infty} S(t) dt = \frac{4u}{\pi^2 (e^{2u} - 1)} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{n^2 (1 - e^u (-1)^n)^2}{(n^2 + a^2)^2} \int_0^{\infty} g_n(t) dt \quad (101)$$

Les valeurs propres $\lambda_{1,n}$ et $\lambda_{2,n}$ étant toujours négatives, nous avons :

$$t_s = -\frac{4u}{\pi^2 (e^{2u} - 1)} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{n^2 (1 - e^u (-1)^n)^2}{(n^2 + a^2)^2} \left[\frac{(\alpha_{1,n} + \alpha_{2,n})(\lambda_{2,n} - \lambda_{1,n}) + \lambda_{1,n}}{\lambda_{1,n} \lambda_{2,n}} \right] \quad (102)$$

Or

$$\begin{cases} (\alpha_{1,n} + \alpha_{2,n}) = \frac{1}{\Omega_n} \left[\frac{1}{2} (\omega - \kappa_n + \Omega_n) - c_0 (k_f - \kappa_n) \right] \\ (\lambda_{2,n} - \lambda_{1,n}) = -\Omega_n = -\sqrt{(\omega - \kappa_n)^2 - 4k_c (k_f - \kappa_n)} \\ \lambda_{1,n} \lambda_{2,n} = k_c (k_f - \kappa_n) \end{cases} \quad (103)$$

Le terme entre crochets s'écrit donc :

$$\frac{(\alpha_{1,n} + \alpha_{2,n})(\lambda_{2,n} - \lambda_{1,n}) + \lambda_{1,n}}{\lambda_{1,n} \lambda_{2,n}} = \frac{1}{k_c (k_f - \kappa_n)} \left[-\frac{\omega - \kappa_n}{2} - \frac{\Omega_n}{2} + c_0 (k_f - \kappa_n) - \frac{\omega - \kappa_n}{2} + \frac{\Omega_n}{2} \right] \quad (104)$$

$$= \frac{c_0 (k_f - \kappa_n) - (\omega - \kappa_n)}{k_c (k_f - \kappa_n)} \quad (105)$$

$$= \frac{1}{k_c} \left[c_0 - 1 - \frac{k_b + k_c}{(k_f - \kappa_n)} \right] \quad (106)$$

Nous avons donc :

$$t_s = \frac{4u}{\pi^2 (e^{2u} - 1)} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{n^2 (1 - e^u (-1)^n)^2}{(n^2 + a^2)^2} \left\{ 1 - c_0 + \frac{k_b + k_c}{k_f - \kappa_n} \right\} ; \quad a = u/\pi \quad (107)$$

$$= \frac{4u(1 - c_0)}{\pi^2 (e^{2u} - 1)} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{n^2 (1 - e^u (-1)^n)^2}{(n^2 + a^2)^2} + \frac{4u}{\pi^2 (e^{2u} - 1)} \left(1 + \frac{k_b}{k_c} \right) \sum_{n=1}^{\infty} \frac{n^2 (1 - e^u (-1)^n)^2}{(n^2 + a^2)^2 (k_f - \kappa_n)} \quad (108)$$

$$= \frac{1 - c_0}{k_c} + \frac{4uL^2}{D\pi^4 (e^{2u} - 1)} \left(1 + \frac{k_b}{k_c} \right) \sum_{n=1}^{\infty} \frac{n^2}{(n^2 + a^2)^2} \left\{ \frac{(1 - e^u (-1)^n)^2}{n^2 + b^2} \right\} \quad (109)$$

Avec

$$b = \frac{\sqrt{u^2 + z_0^2}}{\pi} ; \quad z_0 = \sqrt{\frac{k_f}{D}} L \quad (110)$$

On a :

$$\sum_{n=1}^{\infty} \frac{n^2}{(n^2 + a^2)^2} \left\{ \frac{(1 - e^u (-1)^n)^2}{n^2 + b^2} \right\} = (1 + e^{2u}) \sum_{n=1}^{\infty} \frac{n^2}{(n^2 + a^2)^2 (n^2 + b^2)} - 2e^u \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^n n^2}{(n^2 + a^2)^2 (n^2 + b^2)} \quad (111)$$

Les séries sont données par :

$$\sum_{n=1}^{\infty} \frac{n^2}{(n^2 + a^2)^2 (n^2 + b^2)} = \frac{\pi^4}{4u z_0^4} \left[(2u^2 + z_0^2) \frac{ch(u)}{sh(u)} - 2u \sqrt{u^2 + z_0^2} \frac{ch(\sqrt{u^2 + z_0^2})}{sh(\sqrt{u^2 + z_0^2})} \right] - \frac{\pi^4}{4z_0^2 sh(u)^2} \quad (112)$$

et

$$\sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^n n^2}{(n^2 + a^2)^2 (n^2 + b^2)} = \frac{\pi^4}{4u z_0^4} \left[\frac{2u^2 + z_0^2}{sh(u)} - \frac{2u \sqrt{u^2 + z_0^2}}{sh(\sqrt{u^2 + z_0^2})} \right] - \frac{\pi^4}{16z_0^2} \left(\frac{1}{sh(u/2)^2} + \frac{1}{ch(u/2)^2} \right) \quad (113)$$

Nous trouvons finalement :

$$t_s = \frac{1 - c_0}{k_c} + \frac{1}{k_f z_0^2} \left(1 + \frac{k_b}{k_c} \right) \left[(2u^2 + z_0^2) + \frac{2u \sqrt{u^2 + z_0^2}}{(e^{2u} - 1)} \left\{ \frac{2e^u - (1 + e^{2u}) ch(\sqrt{u^2 + z_0^2})}{sh(\sqrt{u^2 + z_0^2})} \right\} \right] \quad (114)$$

Préparation uniforme On peut également refaire le calcul de $S(t)$ et t_s mais avec une préparation $g_{in}(x_0)$ uniforme, c'est à dire $g_{in}(x_0) = 1$. $S(t)$ est alors donnée par :

$$S(t) = 2 \sum_{n=1}^{\infty} g_n(t) \int_0^1 dx'_0 e^{-u x'_0} \sin(n \pi x'_0), \int_0^1 dx'_0 e^{u x'_0} \sin(n \pi x'_0) \quad (115)$$

$$= \frac{4}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} g_n(t) \frac{n^2 (1 - (-1)^n \operatorname{ch}(u))}{(n^2 + a^2)^2} \quad ; \quad a = u/\pi \quad (116)$$

et le temps de séjour donne :

$$t_s = \frac{1 - c_0}{k_c} + \frac{1}{k_f} \left(1 + \frac{k_b}{k_c} \right) Q(u, z_0) \quad (117)$$

Avec $Q(u, z_0)$ qui est donnée par :

$$Q(u, z_0) = 1 - \frac{2z}{sh(z)} \left[\frac{ch(u) - ch(z)}{u^2 - z^2} \right] \quad ; \quad z = \sqrt{u^2 + z_0^2} \quad ; \quad z_0 = \sqrt{\frac{k_f}{D}} L \quad ; \quad u = \frac{V L}{2D} \quad (118)$$

3.2.3 Déplacements moyens

Dans cette section, nous allons calculer le déplacement moyen et carré moyen du Tau sur le microtubule. Pour des raisons de simplicité, nous nous plaçons dans la limite où la vitesse de dérive est nulle, $V = 0$. Ce choix se justifie par rapport aux résultats expérimentaux de Hinrichs *et al*, (2012) [15] qui montrent que le déplacement carré moyen varie linéairement au cours du temps, ce qui est indicatif d'une vitesse de dérive nulle des protéines Tau. On commence par le déplacement moyen $\langle \Delta x(t) \rangle$ du Tau sur le microtubule. Pour calculer cette moyenne, nous partons de $P(x, t|x_0)$, la densité de probabilité que le Tau soit sur le MT (dans l'état "on").

$$\langle \Delta x(t) \rangle = \langle (x - x_0) \rangle_t = \frac{1}{L} \int_0^L dx_0 \int_0^L dx (x - x_0) (P_c(x, t|x_0) + P_b(x, t|x_0)) \quad (119)$$

En utilisant (81) puis en intégrant selon x puis x_0 , on trouve que $\langle \Delta x(t) \rangle = 0$ (Annexe A.1). Nous avons donc $\langle x \rangle = x_0$, c'est à dire que le long du MT, le Tau se déplace essentiellement autour de sa position initiale x_0 .

De la même manière, pour le déplacement carré moyen $\langle \Delta x^2(t) \rangle$, on a :

$$\langle \Delta x^2(t) \rangle = \langle (x - x_0)^2 \rangle_t = \frac{1}{L} \int_0^L dx_0 \int_0^L dx (x - x_0)^2 (P_c(x, t|x_0) + P_b(x, t|x_0)) \quad (120)$$

On montre que $\langle \Delta x^2(t) \rangle$ est donné par (Annexe A.2) :

$$\langle \Delta x^2(t) \rangle = -4 L^2 \sum_{n=1}^{\infty} g_n(t) \left\{ \frac{(-1)^n}{\pi^2 n^2} + \frac{4 (1 - (-1)^n)}{\pi^4 n^4} \right\} \quad (121)$$

Comme nous avons imposé $x(t=0) = x_0$, le déplacement carré moyen doit être initialement nul. On peut le vérifier en prenant la relation (121) en $t = 0$:

$$\langle \Delta x^2(t=0) \rangle = 4 L^2 \sum_{n=1}^{\infty} \left\{ \frac{(-1)^n}{\pi^2 n^2} + \frac{4 (1 - (-1)^n)}{\pi^4 n^4} \right\} = 0 \quad (122)$$

Pour les petits temps, on a pour $\langle \Delta x^2(t) \rangle$ (Annexe A.2) :

$$\lim_{t \ll 1} \langle \Delta x^2(t) \rangle = \begin{cases} 2 c_0 D t & ; c_0 \neq 0 \\ k_c D t^2 & ; c_0 = 0 \end{cases} \quad (123)$$

Ainsi, pour un Tau initialement en diffusion le long du microtubule ($c_0 = 1$), son déplacement carré moyen est donné par $2 D t$, caractéristique d'une diffusion libre à une dimension. En revanche, pour un Tau initialement attaché sur le MT ($c_0 = 0$), le déplacement carré n'est plus linéaire et est donné par $k_c D t^2$.

4 Observations expérimentales : Détermination des paramètres du modèle

Dans cette section, nous présentons trois expériences sur lesquelles nous nous appuyons pour déterminer dans les conditions physiologiques (voir table 1) les valeurs numériques pour les 5 paramètres de notre modèle : D , k_{on} , k_f , k_b et k_c . Les valeurs obtenues sont reportées dans le tableau 2.

4.1 Mesure des caractéristiques de diffusion des Tau

4.1.1 Description de l'expérience

Les principales caractéristiques de diffusion des protéines Tau le long d'un MT immobile (stabilisés à l'aide du taxol) ont été mesurées *in vitro* dans l'expérience de Hinrichs *et al* [15] en 2012. Au total, 6 différentes conditions expérimentales ont été réalisées et pour chacune d'entre elles le coefficient de diffusion et le temps moyen de diffusion du Tau sur le MT ont pu être mesurés. Dans la suite, nous utiliserons les résultats expérimentaux obtenus dans les conditions physiologiques afin de se rapprocher au mieux du comportement du Tau au sein des neurones. Ces conditions correspondent à un pH de 6.8 et à une concentration d'acetate de potassium de 100 mM (voir table 1). Dans ces conditions physiologiques, 12 trajectoires de Tau le long des MTs ont pu être observées et étudiées à l'aide d'un microscope TIRF (microscope de fluorescence par réflexion totale interne). Sur la figure 6, on peut voir une trajectoire typique d'un Tau (en vert fluorescent) en fonction du temps le long du MT. Les trajectoires pour lesquelles le Tau diffusait puis finissait par s'immobiliser sur le MT ont été exclues de l'analyse des caractéristiques de diffusion. Ainsi, seules les trajectoires où le Tau diffusait le long du MT avant de s'en échapper (état "C" \rightarrow "F") ont été analysées.

Pour chacune des 12 trajectoires, les temps de diffusion ont été relevés, c'est à dire les temps où le Tau considéré restait en mouvement le long du MT avant de soit : s'échapper et partir de la zone d'attraction du MT ou soit venir s'attacher à une certaine position sur le MT. Finalement, à partir de cet ensemble de temps de diffusion, les auteurs de [15] ont pu tracer la distribution des temps de diffusion que l'on peut voir sur la figure 6(a). La distribution obtenue a été ajustée avec une distribution exponentielle et le temps moyen de diffusion $\langle t_d \rangle$ a ainsi pu être calculé. Le temps moyen de diffusion obtenu est $\langle t_d \rangle = 6.31 \pm 4.74$ s.

À partir de ces trajectoires, le déplacement carré moyen $\langle \Delta x^2(t) \rangle$ a également pu être mesuré en fonction du temps. Pour cela, les fenêtres temporelles pour lesquelles les protéines étaient en mouvement le long du MT ont été isolées. Sur la figure 6, la fenêtre de diffusion pour une

Grandeur	Valeur
pH	6.8
Concentration d'acetate de potassium [mM]	100
Concentration typique de Tau libres [μM]	1
Longueur typique d'un microtubule [μm]	100

TABLE 1 : Résumé des conditions physiologiques au sein des axones. Données issues des Refs.[20, 21, 14]

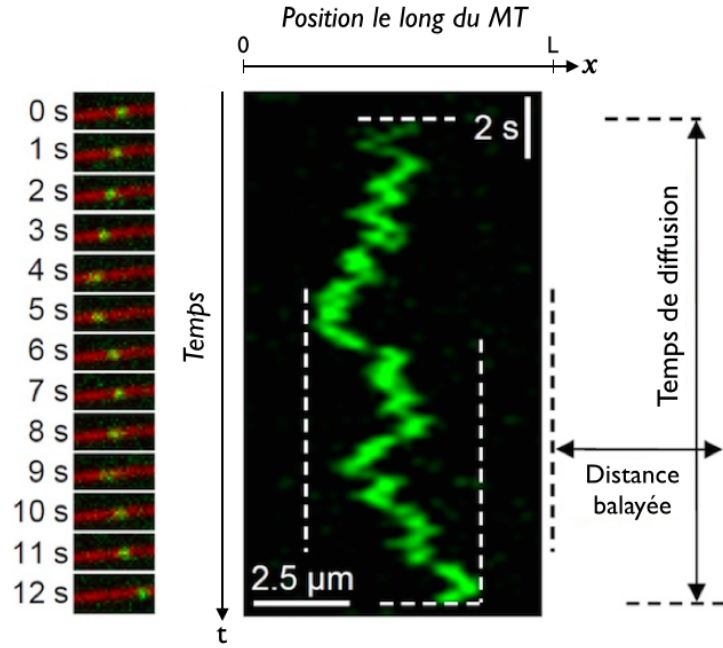


FIGURE 5 : Exemple de trajectoire en fonction du temps d'un Tau le long d'un MT fixe. L'axe vertical représente l'axe temporel (du haut vers le bas) et l'axe horizontal représente la position x du Tau le long du MT. Les lignes horizontales en pointillé représentent le début et la fin de la phase de diffusion du Tau. La différence des temps entre ces 2 lignes horizontales correspond au temps de diffusion du Tau pour cette trajectoire. Les lignes verticales en pointillé représentent les positions extrêmes atteintes par le Tau pendant sa phase de diffusion sur le MT. La différence de position entre ces 2 lignes verticales donne la distance balayée par le Tau sur le MT pour cette trajectoire.

trajectoire est délimitée par 2 lignes horizontales en pointillé. Pour chacune de ces fenêtres de diffusion, le déplacement carré $\Delta x^2(t)$ du Tau a été déterminé puis $\langle \Delta x^2(t) \rangle$ a ensuite été obtenu en moyennant simplement sur tous les $\Delta x^2(t)$ dans le même intervalle temporel. Le déplacement carré moyen obtenu est donné sur la figure 6(b), on constate qu'il varie linéairement avec le temps. Ce comportement linéaire est caractéristique d'une diffusion libre, c'est à dire sans direction de propagation privilégiée sur le MT. Au contraire, dans le cas de la diffusion des protéines motrices kinésines le long du MT, le déplacement carré moyen est quadratique en fonction du temps, ce qui reflète le fait que ces protéines motrices ont un sens privilégié de déplacement le long des MTs.

Pour déterminer le coefficient de diffusion D , le déplacement carré moyen $\langle \Delta x^2(t) \rangle$ expéri-

mental est ajusté avec $\langle \Delta x^2(t) \rangle = 2 D t$; caractéristique d'une diffusion libre unidimensionnelle. Le coefficient de diffusion obtenu est $D = 0.336 \pm 0.062 \mu\text{m}^2/\text{s}$. La distance moyenne balayée par le Tau sur le MT, $\ell = \sqrt{D/k_f}$ est de $1.45 \pm 1.36 \mu\text{m}$.

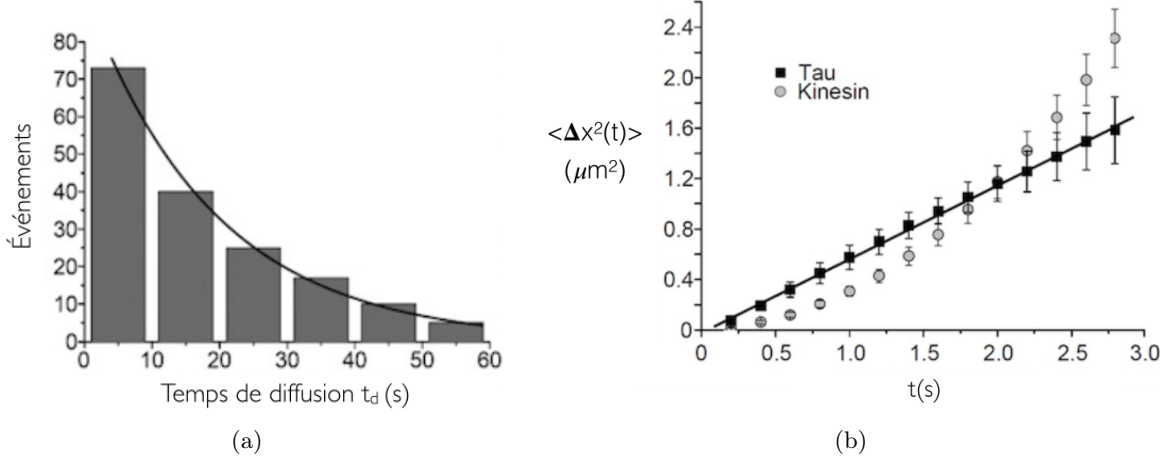


FIGURE 6 : (a) Distribution expérimentale des temps de séjour d'un Tau sur MT fixe. (b) Déplacement carré moyen $\langle \Delta x^2(t) \rangle$ en fonction du temps pour les protéines Tau (carrés) et pour les protéines motrices kinésines (ronds) le long d'un MT fixe. Figures issues de Ref.[15].

4.1.2 Extraction du paramètre k_f

Dans cette expérience [15], les Tau étudiés sont initialement en diffusion le long du MT (correspond au cas $c_0 = 1$ dans notre modèle) puis finissent par s'échapper du MT. On peut résumer ces conditions expérimentales par la cinétique suivante pour le Tau :



Nous avons vu dans la section 3.2.3 que dans la limite des petits temps avec $c_0 = 1$, nous retrouvons bien le déplacement carré moyen d'une diffusion libre unidimensionnelle ($\langle \Delta x^2(t) \rangle = 2 D t$). Le coefficient de diffusion D dans notre modèle est donc le même que celui mesuré expérimentalement ($0.336 \pm 0.062 \mu\text{m}^2/\text{s}$).

À partir de la cinétique (124), on montre que pour la probabilité $C(t)$ qu'un Tau soit encore dans l'état "C" à l'instant t nous avons pour $C(0) = 1$:

$$\frac{dC(t)}{dt} = -k_f C(t) \quad \Rightarrow \quad C(t) = e^{-k_f t} \quad (125)$$

Avec l'expression pour $C(t)$, on trouve bien la distribution des temps de diffusion $f(t)$ sous forme exponentielle :

$$f(t) = -\frac{dC(t)}{dt} = k_f e^{-k_f t} \quad (126)$$

Ainsi, le temps moyen de diffusion $\langle t_d \rangle$ est donné par :

$$\langle t_d \rangle = \int_0^{\infty} dt f(t) = \frac{1}{k_f} \quad (127)$$

À partir de $\langle t_d \rangle$ mesuré expérimentalement [15], on peut ainsi calculer la valeur numérique pour le paramètre k_f du modèle dans les conditions physiologiques.

4.2 Mesure du nombre de transitions mobile \Leftrightarrow stationnaire des Tau

4.2.1 Description de l'expérience

Dans l'article [15], une autre expérience portant sur les transitions des Tau a également été reportée. Plus précisément, sur certaines trajectoires de Tau, le passage entre la phase de diffusion (état "C") et la phase stationnaire (état "B") a pu être observé. Sur la figure 7, on peut voir 2 exemples de trajectoires de Tau effectuant de telles transitions. Sur le premier exemple, on discerne un Tau initialement en diffusion le long du MT qui effectue une première transition ($C \rightarrow B$) en venant s'attacher sur le MT. Il reste immobile sur le MT quelques secondes (se traduit par une ligne verticale sur la trajectoire car sa position sur le MT ne varie pas) avant d'effectuer une seconde transition ($B \rightarrow C$) qui le ramène dans sa phase de diffusion avant d'atteindre une des extrémités du MT et de s'échapper. Sur le second exemple, on discerne également un Tau qui est initialement en phase de diffusion puis qui s'attache sur le MT ($C \rightarrow B$) et reste dessus sur pratiquement toute la durée d'observation (60 secondes) et finit par rediffuser le long du MT ($B \rightarrow C$) avant de s'en échapper par une des extrémités.

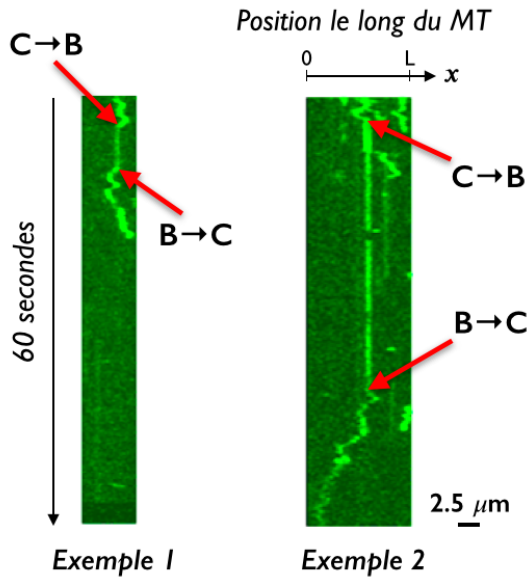


FIGURE 7 : Deux exemples de trajectoires de Tau le long d'un MT observées sur une fenêtre temporelle de 60 secondes sur lesquelles on voit des transitions entre la phase de diffusion et la phase stationnaire du Tau. Figure issue du "Supplemental Data" de Ref.[15].

Plus précisément, dans cette expérience, les trajectoires de $N = 1287$ Tau ont été étudiées et les transitions $B \rightarrow C$ et $C \rightarrow B$ effectuées par les Tau ont été comptabilisées sur un temps d'observation de 60 secondes. Au total, sur les 1287 Tau, 18 transitions $B \rightarrow C$ et 20 transitions $C \rightarrow B$ ont été observées.

4.2.2 Extraction des paramètres k_b et k_c

La proportion de Tau mobiles (état "C") par rapport aux Tau statiques (état "B") a pu également être calculée dans cette expérience. Dans les conditions physiologiques, la valeur rapportée dans [15] est de $51,8 \pm 3,1\%$. Dans la suite on fera l'approximation que cette proportion est de 50% , c'est à dire qu'il y a autant de Tau dans l'état "C" que dans l'état "B". En terme de probabilité, on a donc $C(t) = B(t)$. Les transitions vers l'état libre "F" n'ont pas été comptabilisées dans cette expérience, nous pouvons donc nous restreindre à la cinétique entre les 2 états "B" et "C" :



En seconde approximation, on suppose que le système (128) est à l'équilibre. Dans ce cas, on a :

$$C_{eq} = \frac{k_c}{k_b + k_c} \quad \text{et} \quad B_{eq} = 1 - C_{eq} = \frac{k_b}{k_b + k_c} \quad (129)$$

Ainsi, l'égalité $C_{eq} = B_{eq}$ se traduit par $k_b = k_c \equiv k$. Les constantes de vitesse d'attachement et de détachement sont égales, on peut donc traiter ensemble les transitions $B \rightarrow C$ et $C \rightarrow B$. En sachant qu'au total, 38 transitions ont été observées sur les 1287 Tau étudiés, la probabilité de pas faire de transition est donc $1 - 38/1287$. En supposant que les probabilités de transitions suivent un processus de Poisson, la probabilité de ne pas faire une transition est donnée par e^{-kt} . Où nous prenons t comme étant le temps moyen de diffusion $\langle t_d \rangle$ [23]. On aboutit donc à la relation suivante :

$$1 - \frac{38}{1287} = e^{-k\langle t_d \rangle} \quad (130)$$

Connaissant la valeur numérique pour le temps moyen de diffusion $\langle t_d \rangle$ (voir section 4.2.1), k_b et k_c peuvent alors être calculés à l'aide de :

$$k_b = k_c = -\frac{1}{\langle t_d \rangle} \ln \left(1 - \frac{38}{1287} \right) \quad (131)$$

En sachant que $k_b = k_c$, et en considérant un Tau initialement en train de diffuser le long du MT $c_0 = 1$, son temps de séjour sur le microtubule est alors donné par $2 \langle t_d \rangle Q(z)$.

Pour estimer le temps de séjour t_s , on se place dans la limite d'un MT de longueur infinie, nous avons donc $z \rightarrow \infty$ et $\lim_{z \rightarrow \infty} Q(z) = 1$. Ainsi dans cette limite, le temps de séjour du Tau sur le MT équivaut au double du temps de diffusion soit $t_s = 12.62 \pm 9.48 s$.

4.3 Mesure de la proportion de Tau attachés versus Tau libres

4.3.1 Description de l'expérience

Dans l'expérience de Barghorn *et al* [22] réalisée en 2000, la concentration de Tau attachés (état "on") a été mesurée en fonction de la concentration de Tau libres (état "off"). Expérimentalement, on augmente peu à peu la quantité de protéines Tau libres dans la solution et on regarde combien de Tau sont sur les MTs fixes (stabilisés avec du taxol). La concentration de protéines Tau libres étudiée varie de 0 à $1 \mu M$. Sur la figure 8, nous avons reporté la courbe de concentration obtenue. L'expérience a été réalisée pour différentes protéines Tau (mutations génétiques) mais celle qui

Paramètre	Valeur numérique
D [$\mu m^2/s$]	0.336 ± 0.062 Hinrichs (2012)
k_f [s^{-1}]	0.158 ± 0.119
k_b [s^{-1}]	$4.75 \cdot 10^{-3} \pm 3.56 \cdot 10^{-3}$
k_c [s^{-1}]	$4.75 \cdot 10^{-3} \pm 3.56 \cdot 10^{-3}$
k_{on} [s^{-1}]	0.039 ± 0.03

TABLE 2 : Valeurs numériques pour les 5 paramètres du modèle dans les conditions physiologiques.

nous intéresse ici est la protéine Tau "wt" (Wild Type) présente dans le cerveau. On constate que lorsque la concentration de Tau libres augmente, la concentration de Tau attachés croît également puis semble saturer. Ce résultat est assez intuitif puisqu'en augmentant le nombre de Tau dans la solution, en sachant que les MTs sont des structures de tailles finies, on arrive à un moment où il n'y a plus suffisamment de place pour accueillir les nouveaux Tau sur le MT.

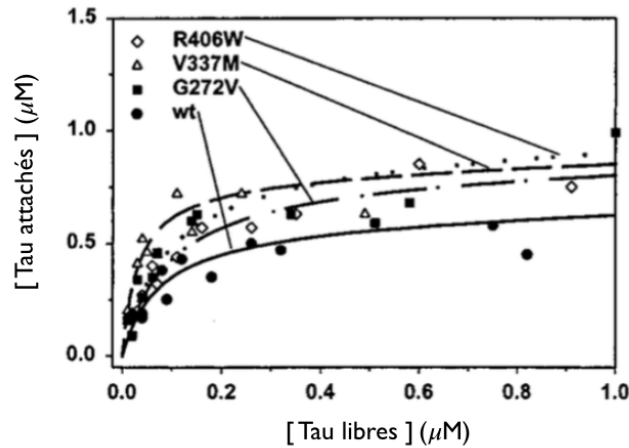


FIGURE 8 : Concentration de Tau attachés sur le MT en fonction de la concentration de Tau libres dans une plage de concentration de 0 à $1 \mu M$. Figure issue de Ref.[22].

4.3.2 Extraction du paramètre k_{on}

Le ratio des concentrations $[\text{Tau attachés}]/[\text{Tau libres}]$ est équivalent au ratio R du Nombre de Tau attachés versus Nombre de Tau libres. L'article [14] nous fournit la concentration typique de Tau libres au sein des axones de l'ordre de $1 \mu M$. Avec cette donnée et en utilisant la courbe expérimentale (8), on trouve pour le ratio $R \approx 0.5$. De plus en faisant l'approximation que l'équilibre pour ce système "on-off" est atteint, le ratio R peut également s'écrire sous la forme suivante :

$$R = \frac{\#Tau\ attachées}{\#Tau\ libres} = \frac{1 - F_{eq}}{F_{eq}} = \frac{k_{on}}{k_{off}} = \frac{k_{on}}{k_f} \left(1 + \frac{k_b}{k_c} \right) Q(z) \quad (132)$$

avec F_{eq} , la probabilité que le Tau soit dans l'état "off". En se plaçant dans la limite d'un MT

de longueur infinie, et en sachant que $k_b = k_c$, on a k_{on} qui est donné par $k_{on} = R k_f / 2$. Avec $R \approx 0.5$, on trouve finalement $k_{on} \approx k_f / 4$. Ayant déterminé k_f dans la section 4.1.2, nous pouvons donc estimer la valeur numérique pour la constante de vitesse d'attachement k_{on} dans les conditions physiologiques.

5 Conclusion

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à décrire et caractériser l'interaction dynamique entre une protéine Tau et un microtubule. Partant des observations expérimentales de McVicker *et al.*, (2014) [1], de Hinrichs *et al.*, (2012) [15] et de Konzack *et al.* (2007) [16], nous avons construit un modèle décrivant l'interaction Tau - MT comme un processus dynamique "on - off" au cours duquel le Tau libre (état "off") peut être confiné (état "on") sur le MT sur lequel il se déplace selon un processus de diffusion unidimensionnel, suivi soit d'attachement sur le MT ou d'un détachement dans l'état "off". Ce modèle est caractérisé par 5 paramètres : le coefficient de diffusion D pour la diffusion du Tau le long du MT et 4 constantes de vitesses caractérisant les vitesses de transitions entre les trois états possibles du Tau. Nous avons ensuite dérivé les solutions analytiques des principales caractéristiques de l'interaction d'un Tau sur un microtubule à savoir la distribution stationnaire, les déplacements moyens du Tau le long du MT, la probabilité et le temps de séjour de Tau sur le MT exprimés en fonction de ces 5 paramètres.

En nous basant sur les expériences de Hinrichs *et al.* [15] et de Barghorn *et al.* [22], nous avons pu déterminer les valeurs numériques des 5 paramètres du modèle dans les conditions physiologiques (voir Table 2). À partir de ces données, nous avons trouvé qu'un Tau restait en moyenne $1/k_f(1 + k_b/k_c) = 13$ secondes sur le MT et qu'il pouvait parcourir environ $\ell = 1.5 \mu m$ le long d'un protofilament du MT, soit l'équivalent de 187 dimères de tubulines de $8 nm$ de longueur. Ainsi, pour un microtubule de longueur typique de $100 \mu m$, nous trouvons qu'environ 67 protéines Tau peuvent diffuser de manière indépendante sur le même microtubule. Pour les constantes de vitesse d'attachement et de détachement k_b et k_c , nous avons vu qu'elles étaient égales et de l'ordre de $5 \cdot 10^{-3} s^{-1}$. Ce qui est très petit comparé au paramètre d'échappement k_f qui est d'environ $0.2 s^{-1}$. Ainsi dans les conditions physiologiques, il semblerait que l'interaction Tau - MT soit majoritairement diffusive c'est à dire que lorsque la protéine est sur le MT, elle est principalement dans la phase de diffusion et ne s'immobilise que très rarement sur le MT. Cependant, lorsqu'un Tau s'attache sur le MT, il y reste longtemps par rapport au temps de diffusion de $6.5 s$. En effet, dans ce cas le temps caractéristique que le Tau reste sur le MT est donné par $1/k_c$ et nous trouvons qu'il est d'environ 3 minutes. Les MTs étant des structures extrêmement dynamiques et instables, la Ref.[10] rapporte un temps de vie de l'ordre de 2 minutes pour un MT en l'absence de Tau. Lorsque les protéines Tau sont attachées sur le MT, elles bloquent la dépolymérisation du MT et le stabilisent. On peut en déduire qu'un Tau s'attachant sur le MT stabiliserait celui-ci pendant au moins 3 minutes, et augmenterait ainsi le temps de vie du MT d'au moins de 1 minute. Dans les axones, plusieurs Tau peuvent s'attacher au même MT conduisant ainsi à une plus grande stabilisation du MT.

Dans le modèle que nous avons présenté dans ce rapport, nous nous sommes placés dans le régime dilué en ne considérant la dynamique d'un seul Tau sur le microtubule. Une perspective immédiate de ce travail serait d'étendre ce modèle à un ensemble de protéines Tau sur le MT. C'est à dire modéliser l'interaction entre les Tau puis faire des simulations numériques du processus.

Références

- [1] D McVicker, G Hoeplich *et al*, *Tau interconverts between diffusive and stable populations on the microtubule surface in an isoform and lattice specific manner*, Cytoskeleton (2014) ; 71(3) : 184-194
- [2] H Kadavath, R.V Hofele *et al*, *Tau stabilizes microtubules by binding at the interface between tubulin heterodimers*, PNAS (2015) ; 112 : 7501-7506
- [3] S Dujardin, L Troquier, M Colin, L Buée, *Les Tauopathies, des agrégats dans les neurones*, Pour la Science (2013) ; 428
- [4] R Brandt, M Hundelt, N Shahani, *Tau alteration and neuronal degeneration in Tauopathies : mechanisms and models*, Biochimica et Biophysica Acta (2005) ; 1739 : 331-354
- [5] LI Binder, A Frankfurter, LI Rebhun, *The distribution of Tau in the mammalian central nervous system*, J. Cell Biol (1985) ; 101(4) : 1371-1378
- [6] D.G. Drubin, M.W. Kirschner, *Tau protein function in living cells*, J. Cell Biol (1986) ; 103 : 2739-2746
- [7] KS Kosik, E.A. Finch, *MAP2 and Tau segregate into dendritic and axonal domains after the elaboration of morphologically distinct neurites : an immunocytochemical study of cultured rat cerebrum*, J Neurosci (1986) ; 7(10) : 3142-3153
- [8] D.W. Cleveland, S.Y Who, M.W. Kirschner, *Physical and chemical properties of purified Tau factor and the role of Tau in microtubule assembly*, J. Mol. Biol (1977) ; 116 : 227-247
- [9] D.G. Drubin, M.W. Kirschner, *Tau protein function in living cells*, J. Cell Biol (1986) ; 103 : 2739-2746
- [10] D.N. Drechsel, A.A. Hyman, M.H. Cobb, M.W. Kirschner, *Modulation of the Dynamic Instability of Tubulin Assembly by the Microtubule-Associated Protein Tau*, Molecular Biology of the Cell (1992) ; 3 : 1141-1154
- [11] C Ballatore, V Lee, J.Q. Trojanowski, *Tau-mediated neurodegeneration in Alzheimer's disease and related disorders*, Nature Reviews Neuroscience (2007) ; 8 : 663-672
- [12] C Conde, A Caceres, *Microtubule assembly, organization and dynamics in axons and dendrites*, Nature Reviews Neuroscience (2009) ; 10 : 319-332
- [13] T Mitchison, M Kirschner, *Dynamic instability of microtubule growth*, Nature (1984) ; 312 : 237-242
- [14] S Konzack, E Thies, A Marx, E.M. Mandelkow, E Mandelkow, *Swimming against the tide : mobility of the microtubule-associated protein Tau in neurons*, J. Neurosci (2009) ; 27 : 9916-9927
- [15] M.H. Hinrichs, A Jalal, B Brenner *et al*, *Tau Protein Diffuses along the Microtubule Lattice*, JBC (2012) ; 287 : 38559-38568
- [16] T Scholz, E Mandelkow, *Transport and Diffusion of Tau protein in neurons*, Cellular and Molecular Life Sciences (2012) ; 71 : 3139-3150
- [17] J Al-Bassam, R.S. Ozer *et al*, *MAP2 and Tau bind longitudinally along the outer ridges of microtubule protofilaments*, J. Cell. Biol (2002) ; 157 : 1187-1196

- [18] I.A. Schaap, B. Hoffmann *et al*, *Tau protein binding forms a 1 nm thick layer along proto-filaments without affecting the radial elasticity of microtubules*, J. Struct. Biol (2007) ; 158 : 282-292
- [19] A Genie Gnezda, *Transgenic Mice Expressing MAPT Mutations as Experimental Models of Frontotemporal Dementia and Parkinsonism Linked to Chromosome 17*, ProQuest (2006)
- [20] R.F. Burton, *The composition of animal cells : solutes contributing to osmotic pressure and charge balance*, Comp. Biochem. Physiol. B (1983) ; 76 : 663-671
- [21] K.S. Thorn, Ubersax J.A, Vale R.D, *Engineering the processive run length of the kinesin motor*, J. Cell Biol (2000) ; 151 : 1093-1100
- [22] S. Barghorn, Q. Zheng-Fischhöfer, *Structure, Microtubule Interactions, and Paired Helical Filament Aggregation by Tau Mutants of Frontotemporal Dementias*, Biochemistry (2000) ; 39 : 11714-11721
- [23] Communication personnelle par mail avec Tim Scholz coauteur de Ref.[15] nous spécifiant que dans cet article, le calcul des constantes de vitesses de transitions avait été effectué en prenant comme référence le temps moyen de diffusion.
- [24] Gradshteyn, Ryzhik's, *Table of Integrals, Series, and Products*

Appendices

A Déplacements moyens

A.1 Calcul de $\langle \Delta x(t) \rangle$

$$\langle \Delta x(t) \rangle = \frac{2}{L^2} \sum_{n=1}^{\infty} g_n(t) \int_0^L dx_0 \sin(k_n x_0) \int_0^L dx (x - x_0) \sin(k_n x) \quad (133)$$

$$= \frac{2}{L^2} \sum_{n=1}^{\infty} g_n(t) \int_0^L dx_0 \sin(k_n x_0) \left[\int_0^L x \sin(k_n x) dx - x_0 \int_0^L \sin(k_n x) dx \right] \quad (134)$$

$$= \frac{2}{L^2} \sum_{n=1}^{\infty} g_n(t) \int_0^L dx_0 \sin(k_n x_0) \left[-\frac{L^2 (-1)^n}{\pi n} - \frac{x_0 L (1 - (-1)^n)}{\pi n} \right] \quad (135)$$

$$= \frac{2}{\pi L} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{g_n(t)}{n} \int_0^L dx_0 \sin(k_n x_0) \{x_0 ((-1)^n - 1) - L (-1)^n\} \quad (136)$$

$$= \frac{2}{\pi L} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{g_n(t)}{n} \left[(-1)^n - 1 \int_0^L x_0 \sin(k_n x_0) dx_0 - L (-1)^n \int_0^L \sin(k_n x_0) dx_0 \right] \quad (137)$$

$$= \frac{2}{\pi L} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{g_n(t)}{n} \left[-\frac{L^2 (1 - (-1)^n)}{n \pi} + \frac{L^2 (1 - (-1)^n)}{n \pi} \right] \quad (138)$$

$$= 0 \quad (139)$$

A.2 Calcul de $\langle \Delta x^2(t) \rangle$

$$\langle \Delta x^2(t) \rangle = \left\langle (x - x_0)^2 \right\rangle_t = \frac{1}{L} \int_0^L dx_0 \int_0^L dx (x - x_0)^2 (P_c(x, t|x_0) + P_b(x, t|x_0)) \quad (140)$$

$$= \frac{2}{L^2} \sum_{n=1}^{\infty} g_n(t) \int_0^L dx_0 \sin(k_n x_0) \int_0^L dx (x - x_0)^2 \sin(k_n x) \quad (141)$$

$$= \frac{2}{L^2} \sum_{n=1}^{\infty} g_n(t) \int_0^L dx_0 \sin(k_n x_0) \left[\int_0^L x^2 \sin(k_n x) dx + x_0^2 \int_0^L \sin(k_n x) dx - 2x_0 \int_0^L x \sin(k_n x) dx \right] \quad (142)$$

$$= \frac{2}{L^2} \sum_{n=1}^{\infty} g_n(t) \int_0^L dx_0 \sin(k_n x_0) \left[-\frac{L^3 (-1)^n}{n \pi} - \frac{2L^3 (1 - (-1)^n)}{n^3 \pi^3} + \frac{x_0^2 L (1 - (-1)^n)}{n \pi} + \frac{2x_0 L^2 (-1)^n}{n \pi} \right] \quad (143)$$

$$= \frac{2}{\pi L} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{g_n(t)}{n} \int_0^L dx_0 \sin(k_n x_0) \left[-L^2 (-1)^n - \frac{2L^2 (1 - (-1)^n)}{n^2 \pi^2} + x_0^2 (1 - (-1)^n) + 2x_0 L (-1)^n \right] \quad (144)$$

$$= \frac{2}{\pi L} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{g_n(t)}{n} \left\{ \left[-L^2 (-1)^n - \frac{2L^2 (1 - (-1)^n)}{n^2 \pi^2} \right] \int_0^L \sin(k_n x_0) dx_0 + \right. \\ \left. (1 - (-1)^n) \int_0^L x_0^2 \sin(k_n x_0) dx_0 + 2L (-1)^n \int_0^L x_0 \sin(k_n x_0) dx_0 \right\} \quad (145)$$

$$= \frac{2}{\pi L} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{g_n(t)}{n} \left\{ \left[-L^2 (-1)^n - \frac{2L^2 (1 - (-1)^n)}{n^2 \pi^2} \right] \frac{L (1 - (-1)^n)}{n \pi} + \right. \\ \left. (1 - (-1)^n) \left[-\frac{2L^3 (1 - (-1)^n)}{n^3 \pi^3} - \frac{L^3 (-1)^n}{n \pi} \right] \right\} \quad (146)$$

$$= \frac{2}{\pi L} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{g_n(t)}{n} \left\{ \frac{L^3 (1 - (-1)^n)}{n \pi} - \frac{4L^3 (1 - (-1)^n)}{n^3 \pi^3} - \frac{4L^3 (1 - (-1)^n)}{n^3 \pi^3} + \frac{L^3 (1 - (-1)^n)}{n \pi} - \frac{2L^3}{n \pi} \right\} \quad (147)$$

$$= \frac{2}{\pi L} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{g_n(t)}{n} \left\{ -\frac{2L^3 (-1)^n}{n \pi} - \frac{8L^3 (1 - (-1)^n)}{n^3 \pi^3} \right\} \quad (148)$$

$$= -4L^2 \sum_{n=1}^{\infty} g_n(t) \left\{ \frac{(-1)^n}{\pi^2 n^2} + \frac{4(1 - (-1)^n)}{\pi^4 n^4} \right\} \quad (149)$$

Pour calculer $\langle \Delta x^2(t) \rangle$ pour les petits temps, nous commençons par faire le développement limité de $g_n(t)$ au 1er ordre :

$$g_n(t) = (\alpha_{1,n} + \alpha_{2,n}) \left(e^{\lambda_{1,n} t} - e^{\lambda_{2,n} t} \right) + e^{\lambda_{2,n} t} \quad (150)$$

$$\stackrel{DL}{=} (\alpha_{1,n} + \alpha_{2,n}) [(\lambda_{1,n} - \lambda_{2,n}) t + 1 + \lambda_{2,n} t] \quad (151)$$

$$= 1 + t \{ \lambda_{2,n} + (\alpha_{1,n} + \alpha_{2,n}) (\lambda_{1,n} - \lambda_{2,n}) \} \quad (152)$$

Or

$$\begin{cases} (\alpha_{1,n} + \alpha_{2,n}) = \frac{1}{\Omega_n} \left[\frac{1}{2} (\omega + D k_n^2 + \Omega_n) - c_0 (D k_n^2 + k_f) \right] \\ (\lambda_{1,n} - \lambda_{2,n}) = \Omega_n = \sqrt{(\omega + D k_n^2)^2 - 4 k_c (D k_n^2 + k_f)} \end{cases} \quad (153)$$

Le terme entre accolades s'écrit donc :

$$\lambda_{2,n} + (\alpha_{1,n} + \alpha_{2,n}) (\lambda_{1,n} - \lambda_{2,n}) = -\frac{1}{2} (\omega + D k_n^2 + \Omega_n) + \frac{1}{2} (\omega + D k_n^2 + \Omega_n) - c_0 (D k_n^2 + k_f) \quad (154)$$

$$= -c_0 (D k_n^2 + k_f) \quad (155)$$

Ainsi, pour le DL au 1er ordre de $g_n(t)$, on obtient :

$$g_n(t) \stackrel{DL}{=} 1 - c_0 t (D k_n^2 + k_f) \quad (156)$$

Nous avons alors :

$$\lim_{t \ll 1} \langle \Delta x^2(t) \rangle = -4 L^2 \sum_{n=1}^{\infty} (1 - c_0 t (D k_n^2 + k_f)) \left\{ \frac{(-1)^n}{\pi^2 n^2} + \frac{4 (1 - (-1)^n)}{\pi^4 n^4} \right\} \quad (157)$$

$$= 4 L^2 c_0 D t \left[\sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^n k_n^2}{\pi^2 n^2} + 4 \sum_{n=1}^{\infty} \frac{k_n^2 (1 - (-1)^n)}{\pi^4 n^4} \right] \quad (158)$$

$$= 4 L^2 c_0 D t \left[\frac{1}{L^2} \sum_{n=1}^{\infty} (-1)^n + \frac{4}{\pi^2 L^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(1 - (-1)^n)}{n^2} \right] \quad (159)$$

$$= 4 L^2 c_0 D t \left[-\frac{1}{2 L^2} + \frac{4}{\pi^2 L^2} \times \frac{\pi^2}{4} \right] \quad (160)$$

$$= 4 L^2 c_0 D t \left[-\frac{1}{2 L^2} + \frac{1}{L^2} \right] \quad (161)$$

$$= 2 c_0 D t \quad (162)$$

En poussant le développement limité de $g_n(t)$ au 2nd ordre, nous obtenons :

$$\lim_{t \ll 1} \langle \Delta x^2(t) \rangle = \begin{cases} 2 c_0 D t & ; \quad c_0 \neq 0 \\ k_c D t^2 & ; \quad c_0 = 0 \end{cases} \quad (163)$$

C.3 Système Tau-Microtubule : modèle à 3 états

Le système (11.8) avec les conditions initiales $P_{+,0}(0) = 1$ et $P_{+,1}(0) = 0$ se réécrit en espace de Laplace de la manière suivante :

$$\begin{bmatrix} (\omega + f_+ + k_{\text{on}}) & -k_{\text{off}} \\ -k_{\text{on}} & (\omega + k_{\text{off}}) \end{bmatrix} \begin{bmatrix} P_{+,0} \\ P_{+,1} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 \\ 0 \end{bmatrix}, \quad (\text{C.7})$$

avec $P_{+,0}(\omega) = \int_0^{+\infty} e^{-\omega t} P_{+,0}(t) dt$ et $P_{+,1}(\omega) = \int_0^{+\infty} e^{-\omega t} P_{+,1}(t) dt$. La solution générale de (C.7) est donnée par :

$$\begin{bmatrix} P_{+,0} \\ P_{+,1} \end{bmatrix} = \frac{1}{(\omega + f_+ + k_{\text{on}})(\omega + k_{\text{off}}) - k_{\text{on}}k_{\text{off}}} \begin{bmatrix} (\omega + k_{\text{off}}) & k_{\text{off}} \\ k_{\text{on}} & (\omega + f_+ + k_{\text{on}}) \end{bmatrix} \begin{bmatrix} 1 \\ 0 \end{bmatrix}. \quad (\text{C.8})$$

La probabilité que le microtubule soit dans la phase de croissance, $P_+(\omega) = P_{+,0}(\omega) + P_{+,1}(\omega)$ s'écrit alors comme :

$$P_+(\omega) = \frac{\omega + k_{\text{on}} + k_{\text{off}}}{(\omega + f_+ + k_{\text{on}})(\omega + k_{\text{off}}) - k_{\text{on}}k_{\text{off}}} \quad (\text{C.9})$$

Le temps moyen passé dans la phase de croissance $\tau_+ = P_+(\omega = 0)$ est alors donné par :

$$\tau_+ = P_+(\omega = 0) = \frac{1}{f_+(1 - p_{\text{on}})} \quad ; \quad p_{\text{on}} = \frac{k_{\text{on}}}{k_{\text{on}} + k_{\text{off}}}. \quad (\text{C.10})$$

Annexe D

Valorisation du travail de thèse

- COMMUNICATIONS ORALES

1. **Institut Laue Langevin (Séminaire)**, Modeling the dynamic of attachment/detachment and diffusion of Tau-proteins at the microtubule surface, Grenoble, France, Mars 2016
2. **Laboratoire de Physique et de Modélisation des Milieux Condensés (Séminaire)**, Microtubule decoration by Tau-proteins as a car parking problem, Grenoble, France, Mai 2017
3. **French Microtubule Network (Conférence)**, Dynamical decoration of Microtubules by Tau-proteins, INRA, Versailles, France, Juillet 2017
4. **Laboratoire de Physique et de Modélisation des Milieux Condensés (Séminaire)**, History-dependence of microtubule catastrophes, Grenoble, France, Mai 2018

- COMMUNICATIONS AFFICHÉES

1. **French Microtubule Network (Conférence)**, Modeling the dynamic of attachment/detachment and diffusion of Tau-proteins at the microtubule surface, GIN, Grenoble, France, Juillet 2015
2. **Statphys 26 (Conférence)**, From binding stoichiometry to the parking lot problem, Lyon, France, Juillet 2016
3. **Symposium Microtubules (Conférence)**, Dynamical decoration of a microtubule by Tau-proteins, EMBO/EMBL, Heidelberg, Allemagne, Mai 2018

- SÉMINAIRES INTERNES : NOTmeetings

1. Theory of ligand-receptor reaction, ILL, Grenoble, France, Janvier 2017
2. Maths behind the car parking problem, ILL, Grenoble, France, Avril 2017
3. Phase space of a binding reaction on a bidimensional lattice, ILL, Grenoble, France, Janvier 2018

D.1 Poster - EMBL/EMBO Symposium Microtubules, Heidelberg 2018



Jordan Hervy* and Dominique J. Bicut†
Institut Laue-Langevin, 71 Avenue des Martyrs, 38042 Grenoble, France
 *hervy@ill.fr †bicout@ill.fr



Dynamical decoration of a microtubule by Tau-proteins

EMBO|EMBL Symposium Microtubules, Heidelberg 2018

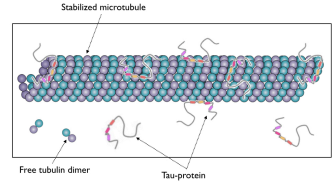
Introduction

Tau-proteins play an important role in axons especially in regulating and maintaining the architecture of the axonal array of microtubules (MTs). In some neurodegenerative diseases like tauopathies (e.g. Alzheimer disease), the normal properties of Tau are altered which leads to deterioration of the axonal array of MTs and, thus, axonal dysfunction. Under non-pathological conditions, Tau by binding onto microtubule surface perform at least the functions of: (i) *promoting tubulin assembly into MTs*, (ii) *stabilizing the dynamic instability of MTs* and (iii) *spatially organizing the axonal array of MTs*. Therefore, it is of paramount importance to understand how do Tau-proteins interact with microtubules to ensure the above mentioned functions.

Objective:

Characterize this interaction as a dynamical decoration of microtubules by tau-proteins in terms of:

1. Density of bound tau
2. Spatial distribution of tau on the microtubule surface

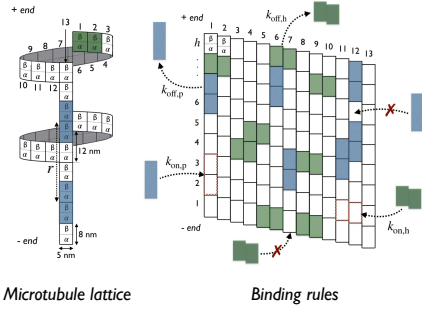


Model

A population of **M** tau undergoes a binding reaction with a *stabilized* microtubule consisting of **N=13h** binding sites.

Binding rules:

- Two binding modes: **longitudinal & lateral**
- *Attachement of tau can only occur on free lattice sites*
- *No lateral binding at the seam (between the first and the last PF)*



Quantities to calculate:

1. Total density of bound-tau: $\rho = \rho_h + \rho_p$
 $\rho_p = \# \text{ longitudinal} / N$
 $\rho_h = \# \text{ lateral} / N$
2. Nearest neighbor distribution along the **longitudinal** and **lateral** direction

key parameters:

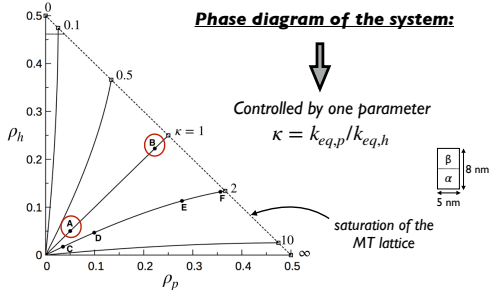
- **2 on-rates:** $k_{on,p}$ and $k_{on,h}$ and **2 off rates:** $k_{off,p}$ and $k_{off,h}$
- $x = M/N$ ratio of the number of Tau versus the number of sites

Results

At the equilibrium:

$$\begin{cases} \frac{\rho_p}{(x - \rho_p - \rho_h)} = k_{eq,p} \Phi_p(\rho_p, \rho_h), \\ \frac{\rho_h}{(x - \rho_p - \rho_h)} = k_{eq,h} \Phi_h(\rho_p, \rho_h), \end{cases}$$

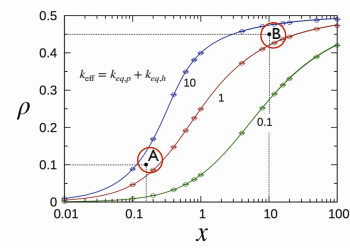
- $\Phi_p(\rho_p, \rho_h)$ and $\Phi_h(\rho_p, \rho_h)$: probabilities of inserting an additional Tau in the **longitudinal mode** / **lateral mode** at density (ρ_p, ρ_h)
- Equilibrium rates: $k_{eq,p} = \frac{k_{on,p}}{k_{off,p}}$ and $k_{eq,h} = \frac{k_{on,h}}{k_{off,h}}$



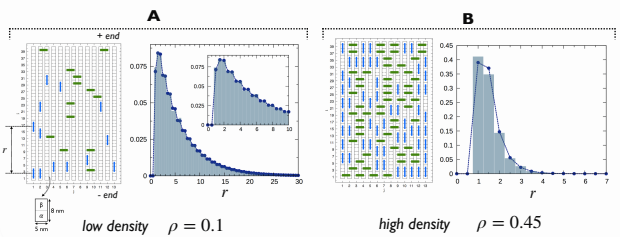
Results for identical equilibrium constants $k_{eq,p} = k_{eq,h}$ ($\kappa = 1$)

1. Total density

$$\rho_p = \rho_h \Rightarrow \rho = 2\rho_p = 2\rho_h$$



2. Longitudinal nearest neighbor distribution



D.2 Poster - Journées du Réseau France Microtubules, Grenoble 2015

Modeling the interaction Tau protein - Microtubule



*hervy@ill.fr
†bicout@ill.fr

Jordan Hervy* and Dominique J.Bicout†
Institut Max Von Laue - Paul Langevin, Theory Group
38042 Grenoble



Introduction

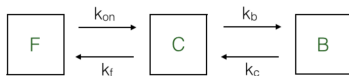
Tauopathies such as Alzheimer's disease or Parkinson syndromes are examples of disorders associated with a dysfunction of tau proteins to properly regulate the network of microtubules (MTs) in axons. Understanding how and by which means Tau proteins affect the microtubule dynamics represent therefore a major challenge in understanding Tauopathies. In this work, we were interested in the dynamic interaction between a Tau protein and a non-dynamic microtubule. Based on the experimental observations, we constructed a model describing the interaction Tau - MT as a dynamical process "on - off" in which the free Tau ("off") may be confined ("on") on the MT which it moves along a one-dimensional diffusion process and then followed by either an attachment on the MT or a detachment in the "off" state. This model is characterized by 5 parameters that can be extracted from experiments : k_{on} , the confinement rate on the MT for a free Tau, D the diffusion coefficient of the one-dimensional diffusion for a Tau confined on the MT, k_b the attachment rate for a Tau confined along the MT, k_c the detachment rate of Tau bound on the MT, and k_f the escape rate of Tau protein. We have derived the analytical expressions of the main characteristics of the Tau - MT interaction.

Model

3 States for Tau protein:

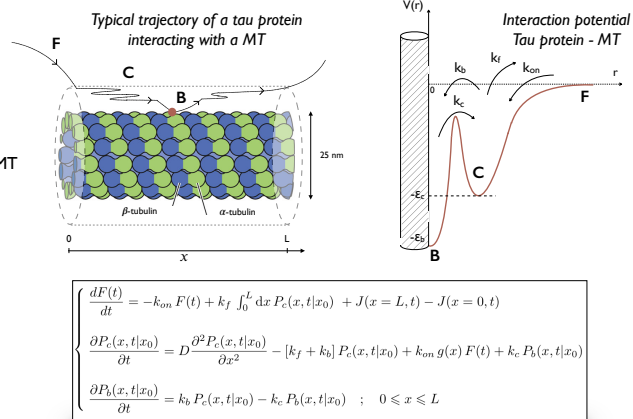
- **F (Free):** Tau protein doesn't interact with the MT
- **C (Confined):** Tau protein is confined to the surface and diffused along the MT
- **B (Bound):** Tau protein is bound (attached and static) on MT

Transition kinetics:



Model with 5 parameters:

- 1 Diffusion coefficient (D)
- 4 transition rates (k_{on} , k_b , k_c and k_f)



Analytical solutions

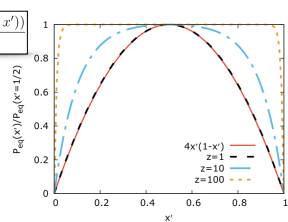
Stationary distribution of Tau along the MT:

$$\frac{P_{eq}(x')}{P_{eq}(x'=1/2)} = \frac{sh(z) - sh(zx') - sh(z(1-x'))}{sh(z) - 2sh(z/2)}$$

- Rescaling $x \rightarrow x' = x/L$

- Parameterized by $z = \frac{L}{\ell}$

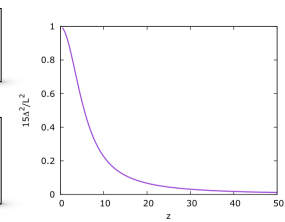
- Characteristic length of diffusion $\ell = \sqrt{\frac{D}{k_f}}$



Mean squared displacement of Tau protein:

$$\Delta^2 = 4L^2 z^2 \frac{F(z)}{Q(z)} = \begin{cases} \frac{L^2}{15} & \text{for } z \ll 1 \\ 0 & \text{for } z \rightarrow \infty \end{cases}$$

$$\begin{cases} F(z) = \frac{1}{2z^4} + \frac{1}{2z^3 sh(z)} + \frac{2}{z^5} \left(\frac{1 - ch(z)}{sh(z)} \right) \\ Q(z) = 1 + \frac{2(1 - ch(z))}{z sh(z)} \end{cases}$$



Determination of parameters

Using experiments by Hinrichs et al (2012) and Barghorn et al (2000) with the developed model, we derived values for the 5 parameters under normal physiological conditions.

D [$\mu\text{m}^2/\text{s}$]	0.336 ± 0.062
k_f [s^{-1}]	0.158 ± 0.119
k_b [s^{-1}]	$4.75 \cdot 10^{-3} \pm 3.56 \cdot 10^{-3}$
k_c [s^{-1}]	$4.75 \cdot 10^{-3} \pm 3.56 \cdot 10^{-3}$
k_{on} [s^{-1}]	0.039 ± 0.03

Table 1: values for the 5 parameters under normal physiological conditions

Conclusion

From Table 1 and analytical solutions of the model, we obtain:

- Tau protein diffuses about **6.5 seconds** and scans $\ell = \sqrt{\frac{D}{k_f}} = 1.5 \mu\text{m}$ along the microtubule.
- Tau protein may remain bound and static for about $1/k_c$: **3 minutes**.

Forthcoming work:

Combine this model with the dynamic instability of MTs

Résumé

La maladie d'Alzheimer, de nombreux syndromes parkinsoniens, certaines démences fronto-temporales telles que la maladie de Pick sont des exemples de maladies neurodégénératives appelées « tauopathies » qui sont caractérisées par la présence d'agrégats intracellulaires de protéines Tau dans le cerveau des sujets atteints. La formation de tels agrégats résulterait de l'altération des propriétés et fonctions normales des protéines Tau à réguler et structurer les réseaux de microtubules au sein des axones ; ce qui se traduit par une perte progressive de la masse des microtubules dans les axones, la désorganisation du transport axonal et au final la mort cellulaire. La compréhension des tauopathies passe donc, mais pas seulement, par celle :

- de la dynamique des microtubules qui est régie par les mécanismes de l'instabilité dynamique au cours desquels les microtubules alternent en permanence entre une phase de croissance (polymérisation des GTP-tubulines) et de rétrécissement (dissociation des GDP-tubulines) ;
- et des interactions entre protéines Tau – microtubule qui jouent un rôle important dans la polymérisation, la stabilisation des microtubules et l'organisation spatiale du réseau de microtubules dans l'axone pouvant ainsi impacter la fonction de transport des nutriments dans l'axone et donc l'intégrité de l'axone.

L'objectif de ce travail de thèse a été de construire et de consolider les bases qui permettraient d'aller vers une modélisation "fine" de l'interaction des microtubules dynamiques en présence d'une population de protéines Tau. Pour ce faire, deux aspects limites du problème ont été abordés : (i) la dynamique intrinsèque des microtubules en l'absence de protéines Tau et (ii) l'interaction Tau-Microtubule pour des microtubules stabilisés, c'est-à-dire non-dynamiques. Ensuite, en guise de perspectives, une ébauche est faite sur comment combiner (i) et (ii) pour avoir la dynamique complète.

Abstract

Alzheimer's disease, some frontotemporal dementias such as the Pick's disease are examples of neurodegenerative diseases called "tauopathies" which are characterized by the presence of intracellular aggregates of Tau-proteins in the brain of patients. The formation of such aggregates would result from the loss of the normal functions of the Tau-proteins to properly organize the network of microtubules within the axon ; which leads to a progressive loss of the mass of microtubules in axons, disruption of axonal transport and ultimately the cell death. The understanding of tauopathies therefore goes through but not only, that of

- the dynamic of microtubules that is governed by the mechanisms of the dynamic instability during which microtubules alternate continuously between a growth phase (polymerization of GTP-tubulins) and a shrinkage phase (dissociation of GDP-tubulins) ;
- and the interaction Tau proteins - microtubules which plays an important role in the polymerization, stabilization and spatial organization of microtubules within the axonal network therefore could impact the function of transport of nutrients along the axon and thus the integrity of the axon.

The objective of this thesis work was to build and consolidate the framework that would allow to go towards a "fine" modeling of the interaction of dynamic microtubules in the presence of a population of Tau-proteins. To do this, two limiting aspects of the problem were considered : (i) the intrinsic dynamic of microtubules in absence of Tau-proteins and (ii) the interaction between Tau-proteins and a stabilized-microtubules i.e., in absence of dynamic instability. Then, as perspectives, a sketch is made on how to combine (i) and (ii) in order to have the complete dynamics.