

Profil des candidats :

Master de Biologie ou Biologie des Systèmes

Candidatures en ligne :

sur le site de l'école doctorale CBS2 <http://ecole-doctorale-cbs2.igh.cnrs.fr/>
avant le 30 avril 2015.

Une approche de biologie des systèmes du contrôle de l'entrée et de la sortie mitotiques chez les eucaryotes.

A systems biology approach to the control of mitotic entry and exit in the eukaryotic cell cycle.

Projet de thèse en français

Chez les eucaryotes, l'avancement dans le cycle cellulaire est orchestré en tant que séquence bien ordonnée d'événements moléculaires. C'est un fait bien établi que pendant la mitose, le complexe cycline B-Cdk1 s'active de manière auto-catalytique et contrôle par phosphorylation des nombreuses protéines impliquées dans la régulation des événements mitotiques. L'équipe de Thiery Lorca et Anna Castro, au laboratoire CRBM (Centre de Recherche de Biochimie Macromoléculaire), a récemment montré que non plus de l'activation cyclique des complexes cycline-kinase, la régulation de l'activité de la phosphatase PP2A est essentielle pour la mitose [4,5]. L'inhibition mutuelle entre la kinase Greatwall (Gwl) et la phosphatase PP2A fournit une boucle de régulation doublement négative qui pourrait agir comme module « minuteur » basculant l'activité de PP2A vers des niveaux bas à l'entrée dans la mitose et vers des niveaux hauts à la sortie de la mitose. Néanmoins, les détails des interactions entre PP2A et Gwl, ainsi que entre ces deux régulateurs et le complexe cycline B-Cdk1 sont insuffisamment connus. De plus, quelques autres phosphatases telles que PP1, PP2AB56, FCP1, pourraient également jouer un rôle dans la régulation de l'entrée, de la progression et de la sortie mitotiques. Connaître ces interactions dans leur ensemble pourrait s'avérer crucial pour des applications en cancérologie.

Dans la première partie du projet nous utiliserons une combinaison d'approches expérimentales et de modélisation pour élucider le rôle des interactions entre kinases et phosphatases dans le contrôle de la mitose. Les modifications post-traductionnelles induites par des régulateurs clés seront identifiées et caractérisées chez le *Xenopus* et dans des cellules humaines en culture. Les données expérimentales seront utilisées pour construire des modèles mathématiques, du type réseaux de régulation, de la mitose. Quelques modèles du contrôle mitotique existent dans la littérature [3], mais ces modèles ne sont pas suffisamment complets ou sont bâtis sur des hypothèses qui ne sont pas encore complètement validées expérimentalement. Nos modèles intégreront Gwl, PP2A et autres phosphatases, ainsi que leurs cibles. La comparaison entre la dynamique prédite par nos modèles et celle observée expérimentalement permettra l'identification des paramètres des modèles ou la correction éventuelle des hypothèses de modélisation [1,2].

Dans la deuxième partie du projet nous étendrons notre étude à un ensemble plus vaste d'interactions, incluant des cibles détectées dans des lignées cellulaires cancéreuses par l'analyse protéomique quantitative du type SILAC. Les modèles à plus grande échelle générés par cette étude seront utilisés pour comprendre la relation entre la signalisation et le cycle cellulaire.

L'étudiant sera co-encadré par le Pr. O. Radulescu de DIMNP, pour l'analyse de données et la construction des modèles mathématiques et par les Drs. T. Lorca et A. Castro de CRBM pour la partie biologique et expérimentale de ce projet.

Projet de thèse en anglais:

In eukaryotes, the advancement through the cell cycle is made possible by an orderly sequence of tightly orchestrated molecular events. It is now well established that during mitosis the auto-catalytic build-up of cyclin B-Cdk1 complex controls by phosphorylation numerous proteins involved in the mitotic events. The group of Thierry Lorca and Anna Castro from the CRBM (Centre de Recherche de Biochimie Macromoléculaire) have recently demonstrated that beyond cyclic activation/inactivation of the cyclin B-Cdk1 complex, regulation of the PP2A phosphatase is essential for ensuring proper mitosis [4,5]. The mutual inhibition between the Greatwall (Gwl) kinase and the PP2A phosphatase represents a double-negative feed-back loop potentially acting as a timer module involved in switching PP2A activity down at mitosis entry and up at mitosis exit.

However, little is known on the details of the interactions between PP2A and Gwl as well as of their interactions with the cyclinB-Cdk1 complex. Furthermore, several other phosphatases such as PP1, PP2AB56, FCP1 could play an important role in the regulation of mitotic entry, exit and progression. Having the full picture of mitotic regulations is important for applications, for instance in cancer research.

In the first part of this project we will elucidate the role of kinase/phosphatase interactions in the mitotic control by combining experimental and modeling approaches. Using *Xenopus* egg extracts and human cells in culture the post-translational modifications ensuring the functioning of this regulatory module will be identified and characterized. The results of the experiments will be used for building mathematical models of the cell cycle regulations. Although some mathematical models already exist for the mitotic control [3], the wiring details used in these models are not complete or have limited experimental support. We will use two classes of models: like in [3] model based on biochemical kinetics and ordinary differential equations and hybrid piecewise-smooth models [1,2]. The first type of models are suitable when only a few regulators are studied, whereas the second class of models is suitable for larger scale studies. In both cases, the identified targets of Gwl, PP2A and other phosphatases will be integrated in a wiring diagram that will be parametrized and used for dynamical modeling. The comparison between the experimentally observed and model predicted dynamics of phosphorylation and dephosphorylation events will be used to identify model parameters [2].

In the second part of the project we will extend the mutual interactions between Gwl, PP2A and other phosphatases to a much larger set including phosphorylation/dephosphorylation targets detected by SILAC quantitative

phosphoproteomics on human cancer cell lines. The generated models will be used to understand the coupling between signaling and cell cycle.

The PhD student will be co-directed by Pr O. Radulescu at DIMNP, University of Montpellier 2, for data analysis and cell cycle mathematical modelling and by Drs. T. Lorca and A. Castro at the CRBM for the biological and experimental aspects of this thesis.

Principales publications 5 MAXI

1. V.Noel, S.Vakulenko, O.Radulescu. A hybrid mammalian cell cycle model. *Electronic Proceedings in Theoretical Computer Science* (2013) 125: 68-83.
2. V. Noel, S. Vakulenko, O. Radulescu. Algorithm for identification of piecewise smooth hybrid systems: application to eukaryotic cell cycle regulation. *Algorithms in Bioinformatics. Lecture Notes in Computer Science* (2011) 6833: 225. 236.
3. C.Tuck, T.Zhang, T.Potapova, M.Malumbres and B.Novak. Robust mitotic entry is ensured by a latching switch. *Biology Open* (2013) 2: 924-931.
4. Vigneron, S., Brioude, E., Burgess, A., Labbe, J.C., Lorca, T and Castro, A. Greatwall maintains mitosis through regulation of PP2A. (2009) *EMBO J* 28 : 2786-2793.

Gharbi-Ayachi A., Labbé JC., Burgess A., Vigneron S., Strub JM., Brioude E., Van-Dorselaer A., Castro A and Lorca T. The Greatwall substrate Arpp19 controls mitosis by inhibiting PP2A. (2010) *Science* 17:1673-7.