

# Initialisée par Mos, activée par MPF la cascade MAPK dans les ovocytes de *Xénope*

Christophe Russo & Ralf Blossey

Institut de Recherche Interdisciplinaire, Université des Sciences et des Technologies de Lille (USTL)  
USR3078 CNRS, 50 Avenue Halley, F-59658 Villeneuve d'Ascq, France  
ralf.blossey@iri.univ-lille1.fr

**Résumé.** La cascade MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase) est une voie de signalisation paradigmatique qui joue un rôle essentiel dans plusieurs événements cellulaires. Dans les ovocytes de *Xénope* la cascade est initialisée par l'oncoprotéine Mos. Après son activation, la cascade est stabilisée par MAPK via une boucle de rétroaction. Le niveau de concentration de Mos n'est pas seulement contrôlé par MAPK. Une molécule essentielle impliquée dans la régulation de la cascade est le complexe MPF. Nous avons développé un modèle détaillé de la dynamique non-linéaire du réseau Mos-MPF-MAPK qui tient compte des trois états de phosphorylation de Mos. Ce modèle nous permet de déterminer l'évolution de Mos sous contrôle de MPF. Notre modèle ouvre une nouvelle voie à la compréhension quantitative de l'interdépendance de Mos et de MPF dans les ovocytes de *Xénope*.

**Abstract.** The MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase) cascade is a paradigmatic signaling cascade which plays a crucial role in many aspects of cellular events. The main initiator of the cascade in *Xenopus* oocytes is the oncoprotein Mos. After activation of the cascade, Mos activity is stabilized by MAPK via a feedback loop. Mos concentration levels are, however, not controlled by MAPK alone. We present a detailed ODE-model for the Mos-MPF-MAPK network which takes into account the three different phosphorylation states of Mos and, as a consequence, allows us to determine the time evolution of Mos under control of MPF. Our work opens a path towards a more complete and biologically realistic quantitative understanding of the dynamic interdependence of Mos and MPF in *Xenopus* oocytes.

## 1 Introduction

La cascade MAPK est une voie de signalisation qui apparaît comme un 'module' récurrent dans la signalisation des cellules des eukaryotes [1,2]. Sa fonction est le transfert d'un signal arrivé au récepteur membranaire à l'intérieur de la cellule, par exemple au noyau pour y initialiser l'expression de gènes. Les propriétés dynamiques de ce module ont été pendant les dernières années un sujet favorisé à la fois par des biologistes cellulaires et des biologistes computationnels.

Une propriété essentielle de la cascade est sa capacité de *robustesse* : elle n'est pas déclenchée s'il n'y a pas de signal suffisamment fort qui est arrivé au récepteur (où, plus généralement, au point d'entrée de la cascade, car celle-ci peut être excitée par des interventions extérieures comme l'injection d'une hormone). Une autre est sa *réactivité* : une fois déclenchée, elle permet un transfert rapide du signal. Cette capacité est fortement liée à la structure du réseau dans lequel le module est inséré : des mécanismes de rétro-action y jouent un rôle primordial [3,4].

La cascade MAPK est considérée comme composée de trois niveaux moléculaires qui consistent de la molécule Mos, qui sera représentée par la lettre  $X$  dans le suivant (avec  $[X]$  comme sa concentration), la molécule MEK ( $Y$ ) et la molécule MAPK ( $Z$ ). Chaque niveau de MEK et de MAPK est, lui-même, composé de trois états qui correspondent au niveau de la phosphorylation de la molécule. Nous considérons donc que, pour l'exemple de la molécule MAPK,  $z$ , il y a les états  $Z_{1,2,3}$  ; de même pour MEK,  $Y$ . Les états de phosphorylation de la molécule Mos n'ont, jusqu'ici, pas été représentés d'une manière complète.

Le modèle mathématique le plus simple de la cascade est le suivant, proposé par Angeli et al. [2]. Il a été obtenu en considérant que les réactions de phosphorylation et de déphosphorylation qui existent entre les différents états des molécules MEK,  $Y$ , et MAPK,  $Z$ , sont suffisamment rapides pour être

considérées d'être en équilibre. De cette manière, la concentration de l'état double-fois phosphorylé de MAPK,  $Z_3$ , devient une fonction sigmoïdale de la concentration de Mos,  $X$ . Donc Angeli et al écrivent pour la dynamique de Mos tout simplement

$$\dot{X} = [Z_3([X])] - \gamma[X] \quad (1)$$

où  $\gamma$  est une constante de dégradation de Mos (il n'y a pas de dégradation de MEK et de MAPK). Nous avons récemment publié une dérivation analytique de la fonction  $[Z_3([X])]$  pour le cas d'une cinétique Michaelis-Menten [6]. L'action de la fonction  $[Z_3([X])]$  sur  $x$  constitue la boucle de rétro-action : le produit de la cascade, MAPK, active Mos.

## 2 Le modèle et l'analyse des bifurcations

Or, comme déjà indiqué, ce modèle est trop simpliste : il néglige le fait que les états de Mos possible sont en aussi trois : on distingue plutôt trois états de phosphorylation  $X$ , comme pour MEK et MAPK : un état de Mos inactif et instable (voir : dégradable),  $X_s$ , un état stable, mais inactif, et un état  $X_{as}$ , dans lequel la molécule Mos est stable est active. On arrive donc au modèle complet suivant :

$$\left\{ \begin{array}{l} \dot{X} = k_1 - (k_2[X] + k_7[X]) \\ \dot{X}_a = (k_2[X] + k_5[P_x][X_{as}]) - ([X_a](k_3[MPF] + k_4[Z_3]) + k_6[X_a]) \\ \dot{X}_{as} = [X_a](k_3[MPF] + k_4[Z_3]) - k_5[P_x][X_{as}] \\ \dot{Y}_1 = k_{11}[Y_2][P_y] - k_8[Y_1]([X_a] + [X_{as}]) \\ \dot{Y}_2 = (k_8[Y_1]([X_a] + [X_{as}]) + k_{10}[Y_3][P_y]) - (k_{11}[Y_2][P_y] + k_9[Y_2]([X_a] + [X_{as}])) \\ \dot{Y}_3 = k_9[Y_2]([X_a] + [X_{as}]) - k_{10}[Y_3][P_y] \\ \dot{Z}_1 = k_{15}[Z_2][P_z] - k_{12}[Z_1][Y_3] \\ \dot{Z}_2 = (k_{12}[Z_1][Y_3] - k_{15}[Z_2][P_z]) - (k_{13}[Z_2][Y_3] - k_{14}[Z_3][P_z]) \\ \dot{Z}_3 = k_{13}[Z_2][Y_3] - k_{14}[Z_3][P_z] \end{array} \right. \quad (2)$$

Dans ce modèle, toutes les réactions entre les états de phosphorylation pour Mos, MEK et MAPK sont représentées. Pour les deux dernières, il y a en plus deux conditions de conservation de concentrations :

$$[Y_1] + [Y_2] + [Y_3] = [Y_T] \quad (3)$$

et

$$[Z_1] + [Z_2] + [Z_3] = [Z_T]. \quad (4)$$

En plus, nous avons introduit la concentration de MPF dans le modèle. Le MPF est un complexe de protéines qui contrôle le cycle cellulaire. Notre intérêt final dans le développement du modèle est de comprendre le couplage entre la voie MAPK et le cycle cellulaire. Les constantes cinétiques du modèle ont été déterminées par des mesures expérimentales sauf pour le triplet de Mos, pour lequel ces valeurs n'ont pas encore été déterminées [7,8].

Dans une première étape nous avons considéré le MPF comme un paramètre variable, sans considération de son évolution propre dans le temps. Un résultat représentatif de notre étude exhaustive [7,8] est montré Fig. 2 en fonction des deux paramètres  $k_3$  et  $k_4$  qui concernent le couplage de MPF et de MAPK deux-fois phosphorylée. On observe trois régimes en fonction de la boucle de rétroaction ( $k_4$ ) : (I) la monostabilité, (II) la bistabilité réversible dans la zone incluse par les deux courbes rouges et vertes, (III) la bistabilité irréversible. Ces notions ont été discuté par Giudi et Goldbeter [5] : l'irréversibilité dans ce sens est indicatif d'un transition entre deux états pour laquelle il existe juste 'une voie unique', avec la réaction

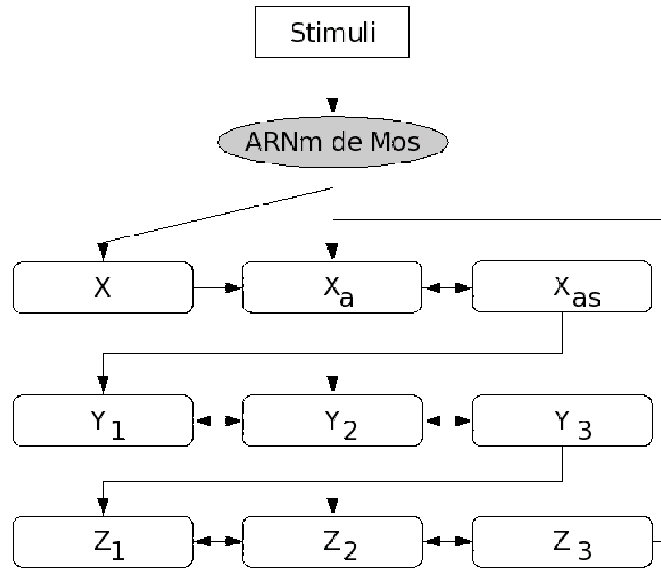


Fig. 1. La topologie du réseau.

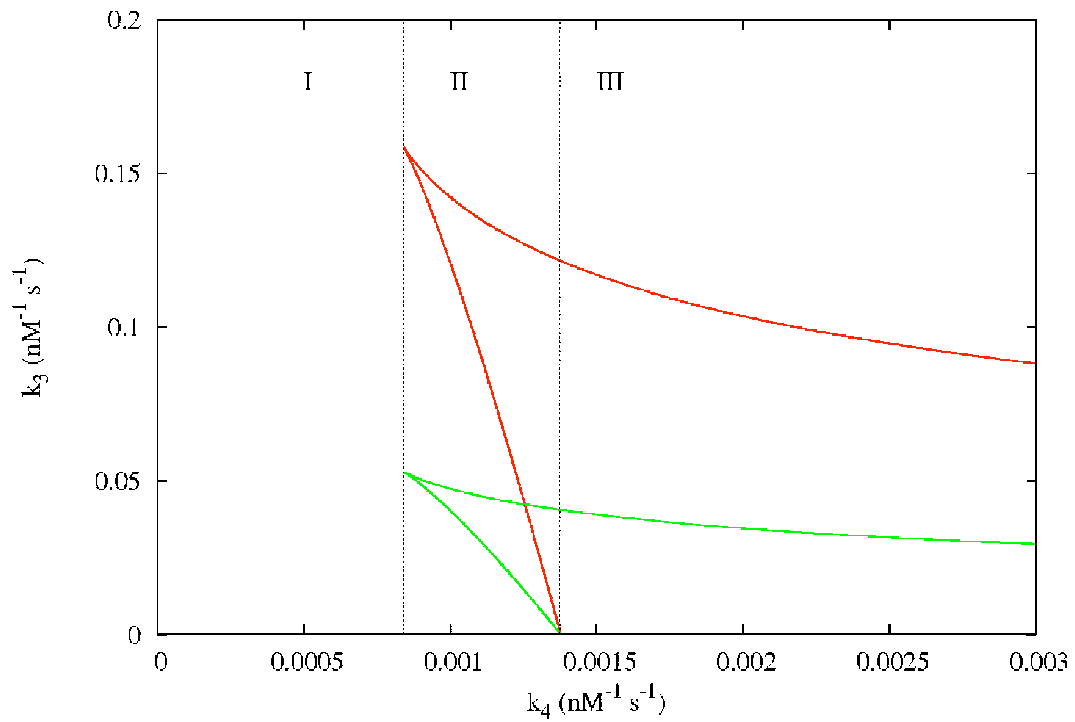


Fig. 2. Résultat d'analyse de bifurcations du modèle. Voir la discussion dans le texte.

inverse bloquée. Ceci est visible sur la figure car, en effet, une branche de la zone de bistabilité n'est plus accessible.

Par contre, on voit que le MPF, s'il n'a pas de dynamique propre, n'est qu'un simple paramètre multiplicatif  $k_3$ . Donc, en changeant sa valeur, la taille de zone de bistabilité change. Surtout, l'influence de MPF ne peut jamais rendre le système bistable inférieur à un certain seuil pour la boucle de rétroaction.

### 3 Discussion

En réalité, le MPF varie dans temps. Cela implique que le système est obligé de traverser un diagramme de bifurcations qui lui-même varie dans le temps. Dans notre étude [7] nous avons étudié la dynamique de Mos induite par le MPF de manière expérimentale. Pour comparer le comportement observé de Mos nous avons choisi des profils de MPF fittés aux expériences, avec un accord assez satisfaisant. Mais, finalement, cette approche nous ne permet pas encore de résoudre des comportements de Mos et de MPF observés dans tous les détails. Nous sommes maintenant en train de coupler notre modèle, que nous considérons comme validé, à des modèles existants sur la dynamique de MPF. Nous espérons que ce travail nous permettra d'obtenir un premier modèle 'complet' qui couple la dynamique de la cascade, son module d'initiation par la protéine Mos, et le MPF - donc, le couplage de la voie de signalisation de MAPK au cycle cellulaire.

### Références

1. C. Y. HUANG & J. E. FERRELL JR, Ultrasensitivity in the mitogen-activated protein kinase cascade, *Proceedings of the National Academy of Science (USA)*, **93**, 10078-10083 (1996).
2. D. ANGELI, J.E. FERRELL JR & E.D. SONTAG, Detection of multistability, bifurcations, and hysteresis in a large class of biological positive-feedback systems, *Proceedings of the National Academy of Science (USA)*, **101**, 1822-1827 (2004).
3. J. E. FERRELL JR & E. M. MACHLEDER, The biochemical basis of an all-or-none cell fate switch in *Xenopus* oocytes, *Science*, **280**, 895-898 (1998).
4. W. XIONG & J.E. FERRELL JR, A positive-feedback-based bistable 'memory module' that governs a cell-fate decision, *Nature*, **426**, 460-465 (2003).
5. G. M. GIUDI & A. GOLDBETER, Bistability without hysteresis in chemical reaction systems : A theoretical analysis of irreversible transitions between multiple steady states, *Journal of Physical Chemistry*, **101**, 9367-9376 (1997).
6. C. RUSSO, C. GIURANIUC, R. BLOSSEY & J.F. BODART, On the equilibria of the MAPK cascade : cooperativity, modularity and bistability, *Physica A*, **388**, 5070-5080 (2009).
7. C. RUSSO, R. BEAUJOIS, J. F. BODART & R. BLOSSEY, Kicked by Mos and tuned by MPF — the initiation of the MAPK cascade in *Xenopus* oocytes, *HFSP Journal*, **3**, 428-440 (2009)
8. C. RUSSO, Dynamique et modularité de la voie Mitogen Activated Protein Kinase dans les ovocytes de *Xénope* : modélisation et approches expérimentales, Thèse de Doctorat Université des Sciences et des Technologies de Lille (2009)