

# Instabilités secondaires et structures cellulaires de canaux ioniques

M. Leonetti<sup>1</sup>, M. Georgelin<sup>1</sup>, M. Jaeger<sup>2</sup> & F. Homblé<sup>3</sup>

<sup>1</sup> IRPHE, Aix-Marseille Université, CNRS, Technopôle de Château-Gombert, BP 146, 13384 Marseille Cedex 13 France

<sup>2</sup> MSNM-GP, Aix-Marseille Université, Technopôle de Château-Gombert, BP, Marseille Cedex France

<sup>3</sup> Structure et Fonction des Membranes Biologiques, Centre de Biologie Structurale et Bioinformatique Campus Plaine (CP206/2), B-1050 Bruxelles, Belgique

leonetti@irphe.univ-mrs.fr

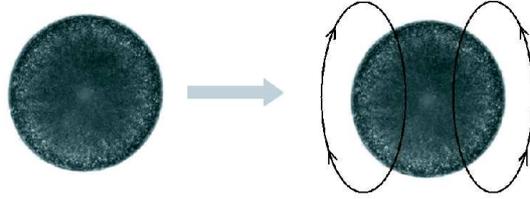
**Résumé.** De nombreuses cellules ou organismes sont traversés par des circulations ioniques stationnaires. En particulier, leur émergence autour des algues verte Chara corallina et brune Fucus est le résultat d'une auto-organisation. Dans la famille des fucoides, la structure est une circulation dipolaire (Figure 1) d'ions calcium et potassium qui brise la symétrie sphérique initiale. La structure est labile et se réoriente si un gradient est appliqué qu'il soit d'origine électrique, chimique, lumineux ou bien encore hydrodynamique. Un mécanisme proposé dans la littérature tire son origine dans le couplage entre le courant produit par les protéines membranaires et leurs mobilités électrophorétiques. Ce modèle a été étudié essentiellement à une dimension par la théorie du câble. Nous avons développé un modèle adapté en géométrie circulaire ou bien sphérique. L'étude numérique et analytique a mis en évidence plusieurs instabilités secondaires : un mode de type  $2\lambda \rightarrow \lambda$ , l'autre type Eckhaus, une brisure de parité et une oscillation globale. Notre étude a plus porté sur l'instabilité de dérive que nous avons caractérisée. Dans le cas sous-critique, cette instabilité pourrait permettre de transférer de l'information le long de cellules ou d'organismes.

**Abstract.** Numerous stationary ionic circulations exist around biological cells such as alga, roots, fungi... Particularly, their emergence in the freshwater algae Chara corallina and the marine brown algae Fucus result from self-organization. In fucoids, the structure is a dipolar circulation (Figure 1) of calcium and potassium ions that breaks the initial spherical symmetry. The structure is also labile and reorients in any cue (electrical, chemical, hydrodynamical and ). One mechanism proposed in the literature is based on a coupling between the current through membrane channels and their electrophoretic mobility. This model has been studied in one dimension using the limited cable theory. We have developed a more suitable model and applied it to a circular geometry. The numerical and analytical studies of the stability of the primary structure in such a confined geometry has provided four secondary instabilities : a  $2\lambda \rightarrow \lambda$  mode, an Eckhaus-like, an instability by parity breaking and a global oscillation of the channels's density. This paper is focused on the drift instability which is characterized. In the sub-critical case, this instability provides a mean to transfer some information along cells or organisms.

## 1 Introduction

De nombreuses cellules ou organismes sont traversés par des circulations ioniques stationnaires. Elles jouent un rôle important dans divers phénomènes tels que la polarisation, l'acquisition de nutriments, la croissance, la morphogenèse et quelques fois, en motilité. S'il est parfois difficile de découpler ces courants macroscopiques d'inhomogénéités intracellulaires ou de processus complexes de croissance cellulaire (couplage forme-courants), il existe au moins deux "prototypes" relativement bien caractérisés dans la littérature : l'algue marine brune Fucus ou Pelvetia (Fig. 1) et l'algue verte d'eau douce Chara corallina. Le fucus est un organisme modèle du développement embryonnaire des plantes. Durant les premières, la circulation dipolaire d'ions (Fig. 1) reste labile et se réoriente en présence d'un gradient externe dont l'origine peut être très variée : chimique, lumière, hydrodynamique ou bien encore champ électrique... En revanche, en absence de gradients appliqués, le site d'entrée du sperme fixe l'axe de la brisure de symétrie. Le système s'auto-organise donc en fonction des perturbations de son environnement après avoir été

activé par l'entrée du sperme. Une première hypothèse est que la polymérisation locale de l'actine résulte de l'entrée de calcium [1,2].



**Fig.1.** Fucus. Elles ont été récoltées sur les côtes bretonnes et flamandes. Initialement, l'oeuf est à symétrie sphérique. Les organelles sont uniformément distribués et aucune asymétrie n'a été détectée. Trente minutes après la fertilisation, la brisure de symétrie est patente par l'observation de deux phénomènes : l'apparition d'une circulation dipolaire d'ions calcium et potassium (droite) et un site de polymérisation de l'actine qui coïncide avec l'influx maximal de calcium.

## 2 Modèle de l'instabilité d'auto-agrégation de protéines membranaires

Dans ce modèle, nous reprenons deux hypothèses classiques de la théorie du câble :

a) Les concentrations ioniques ne sont pas affectées par les flux transmembranaires. Cette hypothèse permet de linéariser le flux du au champ électrique local et finalement, de ne considérer que la loi d'Ohm dans les volumes intracellulaire et extracellulaire. Dans le modèle le plus simple, la dynamique du système ne dépend que du potentiel électrique de membrane  $V$  :

$$V = (\phi_i - \phi_e)_{memb} \quad (1)$$

où  $\phi$  est le potentiel électrostatique (origine à l'infini).  $i, e$  désignent les compartiments intracellulaire et extracellulaire et  $memb$  que la valeur est prise sur la membrane.

b) Le courant qui traverse la membrane  $I_m$  via les pompes, canaux et co-transporteurs donne lieu à une variation du courant capacitif  $C_m \partial V / \partial t$  et à la génération éventuelle d'un courant Ohmique macroscopique dans les volumes extracellulaire et intracellulaire  $\sigma_{i,e} \nabla \phi_{i,e}$ . La bicouche lipidique joue le rôle de capacité dans le système.

En réalité, le courant capacitif n'est que le résultat d'une variation de la charge diffuse (couche de Debye) de part et d'autre de la membrane. L'expansion spatiale normale à la membrane de la densité de charges ioniques est fournie par la longueur de Debye de l'ordre de quelques nanomètres qui est bien inférieure à la taille cellulaire. Ainsi, dans le volume, à l'extérieur de ces couches, il est légitime de considérer valide l'hypothèse d'électroneutralité. Le potentiel électrostatique satisfait alors l'équation de Laplace :

$$\Delta \phi_{i,e} = 0 \quad (2)$$

Les conditions limites associées se déduisent de la condition de continuité du courant électrique et de la condition de champ nul à l'infini :

$$(\nabla \phi_e)_\infty = \mathbf{0} \quad (3)$$

$$I_m = \pm \sigma_{i,e} (\mathbf{n} \cdot \nabla \phi_{i,e})_{memb} + C_m \frac{\partial V}{\partial t}_{memb} \quad (4)$$

où  $\mathbf{n}$  est le vecteur unitaire normal à la surface membranaire tourné vers l'extérieur.  $\sigma_{i,e}$  désigne la conductivité du milieu.  $+$  ( $-$ ) pour la condition intérieure (extérieure). Il y a donc continuité du courant macroscopique :  $\sigma_i (\nabla \phi_i)_{memb} = \sigma_e (\nabla \phi_e)_{memb}$ . La physique du problème étudié est donc dans le choix du

courant transmembranaire  $I_m$ . Rappelons que le cas d'ions diffusant de manière différente est beaucoup plus complexe et nécessite un modèle plus approprié.

Deux instabilités sont susceptibles d'expliquer la formation de courants ioniques transcellulaires dans le zygote (oeuf fécondé) du Fucus. Ici, nous présentons les résultats obtenus dans le cas de l'instabilité d'auto-agrégation de protéines membranaires, la plus simple mathématiquement à étudier analytiquement. Ce modèle a été initialement suggéré par deux biologistes Jaffe et Nuccitelli [3]. Ils indiquent que les flux dipolaires calciques dans le Fucus doivent résulter de la migration électrophorétique de canaux calciques le long de la membrane sous l'action du champ électrique présent. Les auteurs n'expliquent donc pas pourquoi cette circulation existe. Larter et Ortoleva ont les premiers décrits cette instabilité [4]. Toutefois, le modèle utilisé (électrodifusif) et donc les résultats quantitatifs souffrent de quelques inconsistances. Zimmermann et Fromherz ont très correctement décrit le processus en utilisant le modèle du câble et donc nécessairement dans une géométrie unidimensionnelle [5]. Ici, les résultats sont étendus à  $2D$  et les instabilités secondaires sont étudiés afin d'émettre des pistes pour expliquer la très grande labilité de la circulation dans le Fucus. Le courant transmembranaire  $I_m$  est du à la présence d'un courant de pompes immobiles et de canaux mobiles de densité  $n$  dont l'activité varie linéairement avec le potentiel de membrane.

$$I_m = I_p + GV + \Lambda n(V - E) \quad (5)$$

où  $I_p$  est le courant de pompe et  $G$  la conductance de l'ensemble des protéines immobiles (elle prend aussi en compte les fuites).  $\Lambda$  est la conductance d'un canal mobile tandis que  $E$  est la force électromotrice caractérisant l'ion transféré par ce type de canaux (ici, le calcium). Dans le cadre de ce modèle qui correspond à celui de Fromherz-Zimmerman hormis la géométrie, les canaux sont mobiles sous l'action d'un champ électrique :

$$\frac{\partial n}{\partial t} = D_p \nabla_s^2 n + \frac{eD_p}{k_B T} \nabla_s \cdot [n(z_{pi} \nabla_s \phi_i + z_{pe} \nabla_s \phi_e)] - \frac{n - \bar{n}}{\tau} \quad (6)$$

où  $D_p$  est le coefficient de diffusion latérale de la protéine membranaire considérée,  $z_{pi,pe}$  ses valences interne et externe et  $\nabla_s$  l'opérateur le long de la surface membranaire.  $\tau$  caractérise la cinétique de réaction du canal avec son environnement (cytosquelette par exemple) autour de sa densité moyenne  $\bar{n}$ .

### 3 Instabilité d'auto-agrégation de protéines membranaires

La cellule considérée est circulaire de rayon  $R$ . Notre étude ne porte que sur le mode dipolaire et son harmonique, le mode quadrupolaire. La stabilité de l'état homogène  $(n, \phi_i, \phi_e) = (\bar{n}, V_0, 0)$  est étudiée en introduisant une perturbation proportionnelle à  $e^{\omega t + im\theta}$ .  $V_0$  et  $\bar{n}$  satisfont  $I_m(\bar{n}, V_0) = 0$ . La relation de dispersion fournit la variation du taux de croissance  $\omega$  de l'instabilité :

$$\omega = -\frac{1}{\tau} - \frac{D_p}{R^2} m^2 + \frac{D_p}{R^2} m^2 \frac{\tilde{\mu}}{m + \frac{RG}{\sigma} + \frac{R\Lambda\bar{n}}{\sigma}} \quad (7)$$

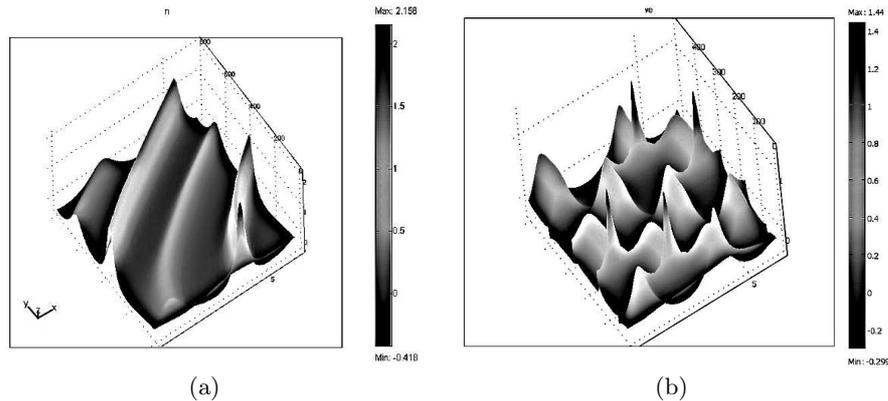
où  $\sigma_{i,e} = \sigma$  pour simplifier et  $\tilde{\mu} = (e/k_B T) D_p \Lambda \bar{n} (V_0 - E)(z_i - z_e)/R\sigma$ . Une condition nécessaire d'instabilité est  $\tilde{\mu} > 0$ . C'est à dire que le champ électrique produit par une fluctuation de densité de canaux doit induire leur électrophorèse amplifiant la perturbation initiale. Pour cela, elles doivent être chargées correctement. L'Eq. 7 montre que les courbes neutres des modes dipolaire et quadrupolaire se coupent, un indice fort pour la présence d'instabilités secondaires.

Dans le voisinage du point défini au paragraphe précédent, une troncation à l'ordre 3 des amplitudes a permis d'obtenir un système de deux ODE couplées des amplitudes des modes dipolaires  $A_1$  et quadrupolaire  $A_2$  :

$$\frac{dA_1}{dt} = \omega(1)A_1 - \tilde{\mu}b_1\bar{A}_1A_2 - \tilde{\mu}(c_1|A_1|^2 + d_1|A_2|^2)A_1 \quad (8)$$

$$\frac{dA_2}{dt} = \omega(2)A_2 + \tilde{\mu}b_2A_1^2 - \tilde{\mu}(c_2|A_1|^2 + d_2|A_2|^2)A_2 \quad (9)$$

où les coefficients ont été calculés :  $b_1 = 25/294$ ,  $b_2 = 25/21$ ,  $c_1 = -55/588$ ,  $c_2 = -233/1764$ ,  $d_1 = 85/1372$ ,  $d_2 = 115/882$ ,  $\omega(1) = -(D_p/R^2 + 1/\tau) + 5\tilde{\mu}D_p/7R^2$  and  $\omega(2) = [-(4D_p/R^2 + 1/\tau) + 10\tilde{\mu}D_p/6R^2]$ . Le signe des coefficients de  $\bar{A}_1A_2$  et  $A_1^2$  sont opposés indiquant la présence d'une instabilité de brisure de parité ou dérive (Fig. 1). L'analyse numérique a confirmé cette étude et a validé la valeur obtenue pour le seuil. D'autre part, en augmentant le paramètre de contrôle, une nouvelle instabilité est apparue : une oscillation de la densité de protéines. Comme le montre le diagramme spatiotemporel, cette instabilité secondaire ne correspond pas à une onde stationnaire, instabilité secondaire classique dans les systèmes étendus.



**Fig.2.** Diagrammes spatiotemporels : x-angle polaire de la cellule circulaire, y-temps et z-densité de canaux. Gauche : Instabilité de brisure de parité. Initialement, le potentiel de membrane est instable. Une structure dipolaire se forme. Le second pic moins intense correspond à la présence de son harmonique. En augmentant le courant transporté par les protéines mobiles, la structure se déstabilise. Le profil du potentiel de membrane devient asymétrique et la structure se met à tourner. C'est une instabilité classique de dérive que l'on rencontre dans de nombreux systèmes physiques. Droite : OSC. Les modes dipolaire et quadrupolaire sont successivement instables par deux mécanismes d'origine différente.

## 4 Conclusion

La structure primaire produite par l'instabilité d'auto-agrégation de protéines membranaires est instable vis à vis de quatre instabilités secondaires : un mode  $\lambda \rightarrow 2\lambda$ , une autre de type Eckhaus, l'instabilité de dérive et une oscillation globale de la densité [6]. L'instabilité de dérive a été caractérisée. Dans le cas sous-critique, elle peut être un moyen de transférer de l'information.

## Références

1. K. R. ROBINSON & L. F. JAFFE, Polarizing fucoid eggs drive a calcium current through themselves, *Science*, **187**, 70-72 (1975).
2. K. R. ROBINSON *et al.*, Symmetry breaking in the zygotes of the fucoid algae : controverses and recent progress, *Curr. Top. Dev. Biol.*, **44**, 101-125 (1999).
3. L. F. JAFFE, Electrophoresis along cell membranes, *Nature*, 600-602 (1977).
4. R. LARTER & P. ORTOLEVA, A study of instability to electrical symmetry breaking in unicellular systems, *J. Theor. Biol.*, **96**, 175-200 (1982).
5. P. FROMHERZ & W. ZIMMERMANN, Stable spatially periodic patterns of ion channels in biomembranes, *Phys. Rev. E*, **51**, R1659-R1662 (1995).
6. M. LEONETTI, J. NUEBLER & F. HOMBLÉ, Parity-breaking bifurcation and global oscillation in patterns of ion channels, *Phys. Rev. Lett.*, **96**, 218101 (2006).