

Proposition de stage de Recherche en Laboratoire - Master 2

Romain Yvinec - INRA Nouzilly

10 novembre 2017

Estimation paramétrique de modèles de signalisation cellulaire - Application au calcul de biais des RCPG.

L'unité Physiologie de la Reproduction et des Comportements (PRC) est une unité mixte de recherches du centre INRA Val de Loire, basée à Nouzilly (20 km de Tours). L'unité PRC comporte 11 équipes de recherche dont les thématiques sont organisées autour de l'axe de contrôle de la reproduction et des comportements, allant de l'analyse comportementale et neurobiologique à l'analyse des mécanismes moléculaires et génétiques liés à la fonction de reproduction et sa régulation.

Au sein de l'unité, l'équipe Biologie et Bioinformatique des Systèmes de Signalisation (BIOS) développe une stratégie pluridisciplinaire de biologie systémique combinant des approches expérimentales (aux échelles moléculaire, cellulaire, physiologique), et de modélisation mathématique et informatique, afin d'acquérir un savoir exhaustif et quantitatif des phénomènes biologiques médiés par les récepteurs couplés aux protéines G (RCPG), en particulier ceux liés à la reproduction (récepteurs des hormones gonadotropes et récepteurs des adipocytokines).

Les objectifs de l'équipe BIOS sont de comprendre la dynamique des réseaux de signalisation cellulaire induits par la stimulation de ces récepteurs par un ligand donné, en définissant précisément les effets intracellulaires induits et leurs conséquences biologiques. Cette compréhension permet à l'équipe BIOS, en parallèle, de développer de nouvelles approches pharmacologiques afin de contrôler finement l'activité de récepteurs liés à la reproduction et pour réduire les effets néfastes associés à l'utilisation de leur ligand (naturel ou de synthèse) chez les animaux d'élevages et chez l'humain.

Estimation paramétrique de modèles de réseaux de signalisation Le sujet de stage de recherche proposé porte sur la modélisation dynamique de réseaux de réaction moléculaires et l'inférence statistique des paramètres de ces modèles.

Un réseau de réaction biochimique est un ensemble de relations qui décrivent les interactions entre certaines molécules, qui donnent lieu à des transformations (dégradation, production, formation de complexe etc...) de certaines molécules en de nouvelles molécules. Un formalisme standard pour traduire un réseau de réaction biochimique en un modèle mathématique utilise des systèmes d'équations différentielles ordinaires (EDO), et (souvent) la loi d'action-masse pour transformer les réactions en systèmes dynamiques représentant l'évolution temporelle des concentrations des molécules. Ces modèles contiennent de nombreux paramètres dont les valeurs sont en général inconnus : concentrations initiales des molécules, constantes cinétiques de réaction, paramètres d'échelles reliant les concentrations aux mesures effectuées, etc...

Le modèle est parfaitement déterminé une fois que l'on obtient la valeur de chaque paramètre. Pour ce faire, on utilise des observations (directes ou indirectes, et souvent partielles) des concentrations des molécules (après stimulation par un Ligand) qui constituent le réseaux de réactions biochimiques. A l'aide d'un modèle statistique représentant les erreurs de mesures, on recherche les valeurs les plus probables de paramètres étant donné les observations (on parle d'estimation du maximum de vraisemblance) [6, 3, 5]. Cette recherche du maximum de vraisemblance s'effectue via des algorithmes d'optimisation. On obtient enfin des intervalles de confiance pour chaque paramètre en utilisant des outils d'identifiabilité comme le profil de vraisemblance [14, 15, 2, 13, 9]. En particulier, le groupe a notamment récemment développé un nouvel algorithme hybride d'estimation de paramètres – l'algorithme HYPE (Bourquard et al., en préparation). Cette algorithme mélange des approches globales de l'algorithme génétique et des approches plus locales de l'algorithme CMA-ES [4]. Par ailleurs, d'autres approches populaires dans ce domaine utilisent des algorithmes déterministes par descente de gradient [15].

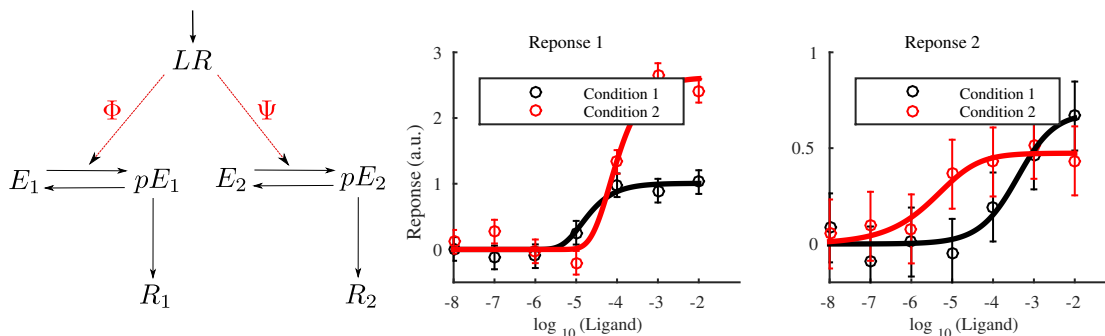


FIGURE 1 – A gauche, schéma des biais de signalisation, suite à une stimulation d’un récepteur par un ligand. Deux voies de signalisation sont déclenchées après stimulation par un même complexe Ligand-Récepteur. A droite, exemples de courbe dose-réponse typique, pour les deux réponses dans deux conditions différentes.

Au cours de ce stage, on se familiarisera donc avec les concepts suivants :

- Modèles d’équations différentielles ordinaires
- Maximum de vraisemblance et tests statistiques associés
- Algorithme d’optimisation (algorithme déterministe par descente de gradient, et algorithme stochastique du type algorithme génétique et CMA-ES)
- Identifiabilité de paramètres

La première partie de ce stage consistera à mettre au point un algorithme (codé en C) qui permettent d’utiliser des approches stochastiques et déterministes successivement, afin de trouver efficacement le maximum de vraisemblance et d’étudier son identifiabilité locale. Cette partie se basera sur une collaboration existante avec Yann Jullian (Ingénieur CaSciModOT, à l’Université de Tours) et Anne Poupon (BIOS)

Application aux calculs de biais de signalisation à l’aide de données dynamiques de fluorescence

Nous nous intéresserons à développer des méthodes permettant le calcul des biais de signalisation et des tests statistiques permettant de conclure de manière rigoureuse à la présence d’un biais ou non. En effet, lorsque qu’un ligand s’attache à un récepteur transmembranaire, celui-ci déclenche dans de nombreux cas plusieurs voies de signalisations associées à différentes réponses cellulaires [8]. La nature du ligand et du récepteur (avec des mutations éventuelles) sont cruciales pour la balance d’activation de telle ou telle voie de signalisation. Les méthodes actuellement utilisées [12, 7, 10] pour calculer les biais de signalisation reposent sur la calibration d’une courbe paramétrique dite “dose-réponse” (cf figure 1) et nécessitent la mesure de signaux à de nombreuses concentrations de récepteurs et sur des temps longs. Malgré un nombre croissant d’études mettant en évidence la présence de biais de signalisation, les méthodes de calculs et les tests statistiques correspondants pour quantifier le biais sont relativement simplistes. Nous explorerons d’autres définitions du biais de signalisation, qui permettent de prendre en compte l’aspect quantitatif et temporel de l’activation biaisée des différentes voies de signalisation, en utilisant la modélisation dynamique des réseaux de signalisation et l’estimation des paramètres de ces modèles.

Nous appliquerons nos méthodes sur des données générées dans l’équipe, qui utilisent des mesures de fluorescence [11, 1, 16] pour mesurer les interactions et activations de molécules en temps réel. Une des difficultés liés à ces données est la haute résolution temporelle, qui est à priori un avantage pour l’identification des paramètres mais qui peut rendre les algorithmes d’optimisation numériquement instable.

Dans la deuxième partie du stage, nous analyserons en détails les propriétés statistiques des données générées et nous en déduirons le cadre statistique d’estimation paramétrique le plus adapté. Nous appliquerons alors les méthodes développés dans la première partie pour estimer les paramètres du modèle de signalisation adapté aux données. Nous conclurons sur l’efficacité de chaque ligand dans l’activation des différentes voies de signalisation par comparaison statistique.

Références

- [1] MA Ayoub, R Yvinec, G Jégot, JA Dias, SM Poli, A Poupon, P Crépieux, and E Reiter. Profiling of fshr negative allosteric modulators on lh/cgr reveals biased antagonism with implications in steroidogenesis. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 436 :10–22, 2016.
- [2] Oana-Teodora Chis, Julio R. Banga, and Eva Balsa-Canto. Structural identifiability of systems biology models : A critical comparison of methods. *PLoS ONE*, 6(11), 2011.
- [3] D. Goulet. Modeling, Simulating, and Parameter Fitting of Biochemical Kinetic Experiments. *arXiv :1508.05359 [q-bio]*, August 2015. arXiv : 1508.05359.
- [4] Nikolaus Hansen. The CMA Evolution Strategy : A Comparing Review. In Jose A. Lozano, Pedro Larrañaga, Iñaki Inza, and Endika Bengoetxea, editors, *Towards a New Evolutionary Computation*, number 192 in Studies in Fuzziness and Soft Computing, pages 75–102. Springer Berlin Heidelberg, 2006.
- [5] Jan Hasenauer and Fabian Theis. Parameter estimation for dynamic biological systems. 2015.
- [6] Khuloud Jaqaman and Gaudenz Danuser. Linking data to models : data regression. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 7(11) :813–819, November 2006.
- [7] Terry Kenakin and Arthur Christopoulos. Signalling bias in new drug discovery : detection, quantification and therapeutic impact. *Nature Reviews Drug Discovery*, 12(3) :205–216, 2012.
- [8] Boris N. Kholodenko, John F. Hancock, and Walter Kolch. Signalling ballet in space and time. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 11(6) :414–426, 2010.
- [9] Corinna Maier, Carolin Loos, and Jan Hasenauer. Robust parameter estimation for dynamical systems from outlier-corrupted data. *Bioinformatics*, 33(5) :718–725, March 2017.
- [10] Yoon Namkung, Olivier Radresa, Sylvain Armando, Dominic Devost, Alexandre Beutrait, Christian Le Gouill, and Stephane A. Laporte. Quantifying biased signaling in GPCRs using BRET-based biosensors. *Methods*, April 2015.
- [11] KDG Pflieger, RM Seeber, and KA Eidne. Bioluminescence resonance energy transfer (bret) for the real-time detection of protein-protein interactions. *Nature Protocols*, 1(1) :337–345., 2006.
- [12] S. Rajagopal, S. Ahn, D. H. Rominger, W. Gowen-MacDonald, C. M. Lam, S. M. DeWire, J. D. Violin, and R. J. Lefkowitz. Quantifying ligand bias at seven-transmembrane receptors. *Molecular Pharmacology*, 80(3) :367–377, 2011.
- [13] A. Raue, C. Kreutz, T. Maiwald, J. Bachmann, M. Schilling, U. Klingmüller, and J. Timmer. Structural and practical identifiability analysis of partially observed dynamical models by exploiting the profile likelihood. *Bioinformatics*, 25(15) :1923–1929, 2009.
- [14] Andreas Raue, Clemens Kreutz, Fabian Joachim Theis, and Jens Timmer. Joining forces of bayesian and frequentist methodology : a study for inference in the presence of non-identifiability. *Philosophical Transactions of the Royal Society A : Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 371(1984) :–, 2013.
- [15] Andreas Raue, Marcel Schilling, Julie Bachmann, Andrew Matteson, Max Schelke, Daniel Kaschek, Sabine Hug, Clemens Kreutz, Brian D. Harms, Fabian J. Theis, Ursula Klingmüller, and Jens Timmer. Lessons learned from quantitative dynamical modeling in systems biology. *PLoS ONE*, 8(9) :–, 2013.
- [16] L Riccetti, R Yvinec, D Klett, N Gallay, Y Combarous, E Reiter, M Simoni, L Casarini, and MA Ayoub. Human luteinizing hormone and chorionic gonadotropin display biased agonism at the lh and lh/cg receptors. *Scientific Reports*, 7(1) :940, 2017.

Détails pratiques Contact : Romain Yvinec

romain.yvinec@tours.inra.fr

02 47 42 75 05

Equipe BIOS : <http://bios.tours.inra.fr/>

Page personnelle : <http://yvinec.perso.math.cnrs.fr/>