

Adhésion des cellules biologiques

Marc Wouts

Septembre 2001

Stage encadré par Jean Vannimenus et Frédéric Pincet du Laboratoire de Physique Statistique de l'ENS.

Table des matières

1	Introduction	3
1.1	Quelques résultats	3
1.2	Approche microscopique	4
2	Modèle analytique à haute température	5
2.1	Calcul de la fonction de partition à une particule	6
2.2	Fonction de partition	6
2.3	Calcul des grandeurs physiques	6
2.4	Domaine de validité	7
3	Etudes numériques	8
3.1	Principe	8
3.2	Ordres de grandeur, précision des mesures	9
3.3	Test du programme	9
3.4	Grandeurs mesurables	10
3.5	Mesures	11
3.6	Exploitation	12
3.7	Généralisation à des densités de sites quelconques	14
4	Interaction latérale	16
4.1	Energie en fonction de l'aire de contact	18
4.2	Allure du système à température nulle	21
4.2.1	Sans interaction latérale ($e_t = 0$)	21
4.2.2	Sans aire de contact ($e_l = 0$)	21
4.2.3	Superposition des deux phénomènes	21
4.2.4	Valeur de $\frac{\partial E}{\partial s}$ à température nulle	22
4.3	Etude à température infinie	22
4.4	Etude du maximum de $\frac{\partial E}{\partial s}$	24
4.5	Energie spécifique d'adhésion	26
5	Conclusion	28
6	Remerciements	30

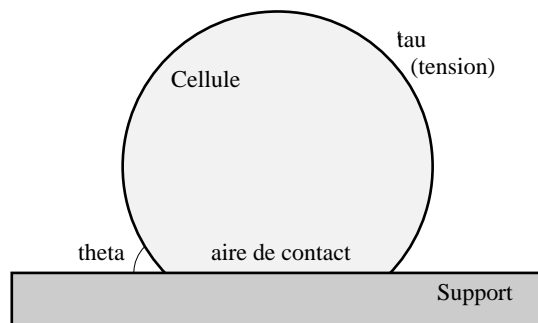


FIG. 1: Adhésion d'une cellule sur un support plan

1 Introduction

Nous allons étudier un aspect d'un problème de biologie assez vaste, l'adhésion des cellules. Ce phénomène a une importance cruciale dans le monde vivant, c'est lui qui permet par exemple la cohésion des tissus.

Cette adhésion est rendue possible par la présence de nombreux sites sur les membranes des cellules, qui ont la faculté de se lier aux sites similaires de la cellule d'en face.

On se limitera aux liaisons faibles entre sites, celles qui permettent une adhésion réversible (lorsque l'adhésion est trop forte, il n'est plus possible de détacher les deux cellules sans rompre les membranes).

1.1 Quelques résultats

Evans a publié de nombreux travaux sur ce problème, en privilégiant une approche macroscopique. Ces résultats sont à la base des expériences menées par Frédéric Pincet au LPS visant à quantifier le phénomène.

Ces travaux montrent qu'on peut déterminer la dérivée de l'énergie libre de la cellule par rapport à l'aire de contact par des mesures géométriques. Plus précisément, Evans établit l'équation de Young dans [1]

$$\frac{\partial F}{\partial A_c} = -\tau_m(1 - \cos \theta)$$

où A_c est l'aire de contact de la cellule avec le support, τ_m la tension de la membrane et θ l'angle entre la membrane et le support, comme sur la figure 1. La tension τ_m se déduit de la courbure de la membrane.

Enfin, dans [2] Evans met au point un protocole expérimental pour mesurer cette énergie libre surfacique. Avec une micropipette, on aspire plus ou moins fort la cellule, ce qui fait varier la surface de contact avec le support (voir la figure 2). C'est cette méthode qui est utilisée par F. Pincet (dans

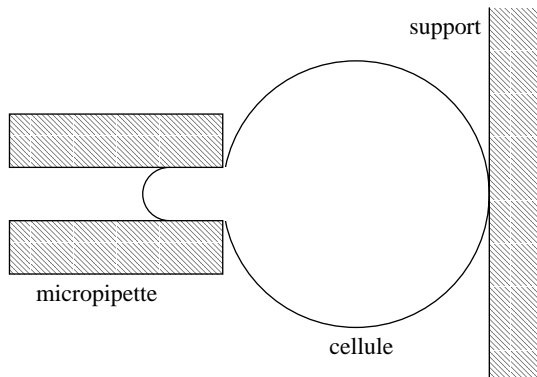


FIG. 2: Utilisation d'une micropipette

[3]) pour déterminer expérimentalement $\frac{\partial F}{\partial A_c}$. Elle permet aussi de vérifier la réversibilité de l'adhésion en faisant varier la pression dans les deux sens.

Nous appellerons énergie d'adhésion la grandeur $W_{adh} = -\frac{\partial F}{\partial A_c}$. Nous nous intéresserons uniquement dans ce travail à la composante de W_{adh} due aux sites présents sur la cellule, qu'on notera W_{spe} , énergie d'adhésion spécifique. Pour la mesurer, il suffit de faire l'expérience pour deux types de cellules, d'abord avec des cellules sans sites (on mesure alors l'énergie d'adhésion non spécifique W_{nspe}) puis avec des cellules recouvertes de sites (on mesure $W_{adh} = W_{spe} + W_{nspe}$).

Notre travail consistera à déterminer par une approche microscopique l'énergie spécifique d'adhésion, avec pour but de relier cette énergie à l'énergie de liaison site-site.

1.2 Approche microscopique

Définissons le cadre de notre étude : nous examinerons comment une cellule adhère sur un support. La nature du support est indifférente, en pratique ce sera une surface quelconque garnie de sites (par exemple une autre cellule).

Une restriction importante : nous supposerons que les sites de la cellule diffusent librement sur toute la surface de la cellule, alors que les sites du support seront fixes. C'est le cas dans la majorité des expériences réalisées au laboratoire.

Posons enfin quelques notations. L'aire de la cellule sera désignée par A , l'aire en contact avec le support par A_c . On notera ρ_c la densité en sites de la cellule, ρ_s la densité en sites du support, puis $n = \rho_c A$ le nombre de sites de la cellule et pour terminer $s = \rho_s A_c$ le nombre de sites du support dans la zone de contact.

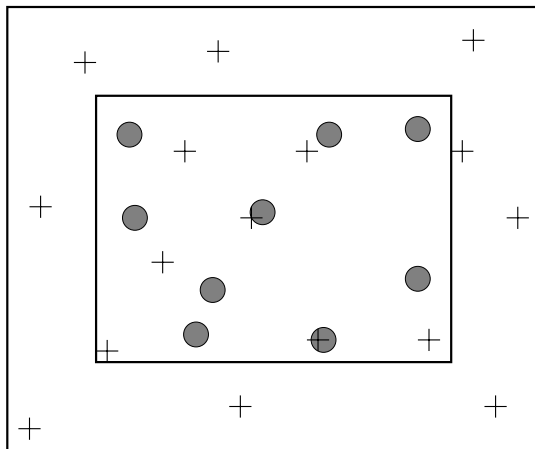


FIG. 3: Allure du système. Au centre, la zone de contact, avec les deux types de sites : croix pour ceux de la cellule, disques gris d'aire α pour ceux du support. On observe ici deux liaisons.

On représentera l'interaction site – site par une énergie de liaison : énergie $-e_l < 0$ pour deux sites assez proches, énergie nulle s'ils sont trop éloignés. On quantifiera la distance d'interaction par une aire, notée α , qui a l'interprétation suivante : c'est l'aire dans laquelle peut se trouver un site de la cellule lié à un site particulier du support.

Précisons par un schéma (figure 3). On représente, pour des questions de commodité, toutes les surfaces par des rectangles (la forme des surfaces est indifférente dans l'étude microscopique). La surface de la cellule se décompose en deux zones : la zone de contact avec le support (au centre) et la zone libre. Les sites de la cellule (les croix) évoluent librement sur la surface de la cellule, alors que les sites du support (les disques) sont fixes. De plus, on affecte une aire α à ces derniers, ce qui permet ainsi de représenter commodément les liaisons : il y a liaison lorsqu'une croix tombe dans un cercle.

2 Modèle analytique à haute température

Au prix de quelques approximations, nous allons pouvoir résoudre analytiquement le problème étudié. Cette approche est extrêmement fructueuse, puisqu'elle donne en particulier la fonction de partition du système et permet donc de calculer pratiquement n'importe quelle grandeur physique, sur une large échelle de valeur des paramètres (par opposition aux études numériques qui suivront, qui ne donnent que les grandeurs essentielles comme l'énergie, et ceci en fixant un certain nombre de paramètres).

Je retrace ici les calculs, qui m'ont été présentés par Frédéric Pincet et Jean Vannimenus, qu'on retrouvera dans [3].

Nous visons donc à calculer la fonction de partition du système $Z = \sum e^{-\beta E}$ où la somme a lieu sur l'ensemble des positions des sites de la cellule. E est l'énergie du système correspondant à une disposition donnée et β est simplement l'inverse de la température : $\beta = \frac{1}{k_B T}$.

2.1 Calcul de la fonction de partition à une particule

Remarquons que lorsque la cellule ne présente qu'un seul site, la fonction de partition du système, notée z pour l'occasion, est triviale. Pour placer ce site, on a le choix entre une zone liée d'aire $s\alpha$ (énergie $-e_l$) et le reste de la surface, donc :

$$z = \frac{s\alpha}{A} e^{\beta e_l} + (1 - \frac{s\alpha}{A}) = 1 + \frac{s\alpha}{A} (e^{\beta e_l} - 1)$$

2.2 Fonction de partition

Lorsque les sites de la cellules sont indépendants, on peut donner Z comme $Z = z^n$. On va donc faire quelques approximations pour se ramener à ce cas simple.

Les particules, bien qu'elles diffusent librement, ne sont pas indépendantes. En effet, elles occupent chacune un volume non nul, et, d'autre part, un site du support ne peut être lié qu'à un unique site de la cellule. Nous supposons donc que

1. la densité de sites de la cellule est faible, en particulier dans la zone de contact
2. peu de sites du support sont occupés.

Nous quantifierons ces hypothèses par un raisonnement auto-cohérent, une fois le modèle développé.

Sous les hypothèses ci-dessus, on a donc :

$$Z = (1 + \frac{s\alpha}{A} (e^{\beta e_l} - 1))^n$$

2.3 Calcul des grandeurs physiques

On peut tirer de Z toutes les grandeurs intéressantes.

Commençons par l'énergie moyenne :

$$E = -\frac{\partial \ln Z}{\partial \beta} = -n e_l \frac{1}{1 + \frac{s\alpha}{A} e^{-\beta e_l}}$$

C'est une grandeur physique à l'interprétation claire : en moyenne, on a $\frac{-E}{e_l}$ sites liés au support. Mais il se trouve que ce n'est pas cette énergie, mais l'énergie libre qui est accessible par l'expérience.

On calcule donc l'énergie libre, puis l'énergie spécifique d'adhésion : $F = -k_B T \ln Z$ et $W_{spe} = -\frac{\partial F}{\partial A_c}$, avec ici $A_c = \frac{s}{\rho_s}$, soit

$$W_{spe} = \frac{n\rho_s}{s\beta} \frac{1}{1 + \frac{A}{s\alpha} \frac{1}{e^{\beta e_l} - 1}}$$

En d'autres termes,

$$W_{spe} = \rho_s \rho_c \alpha e_l \frac{1}{\frac{\rho_s \alpha A_c}{A} \beta e_l + \frac{\beta e_l}{e^{\beta e_l} - 1}}$$

Cette dernière forme permet de voir la limite à haute température ($\beta = 0$) de W_{spe} qui vaut donc $\rho_s \rho_c \alpha e_l$.

2.4 Domaine de validité

On rappelle les hypothèses préliminaires au calcul ci-dessus :

1. peu de sites du support sont occupés
2. la densité de sites de la cellule est faible partout.

La seconde hypothèse sera automatiquement vérifiée si ρ_c et ρ_s sont faibles toutes les deux, étant donné qu'on a les relations

$$(\rho_c^{cont} - \rho_c^{ext}) = \frac{-E}{e_l A_c} < \rho_s$$

et

$$\rho_c^{cont} A_c + \rho_c^{ext} (A - A_c) = n = \rho_c A.$$

Définissons plus précisément ce qu'on entend par faible : la surface des molécules étant de l'ordre de α , il faut que

$$\rho_c \ll \frac{1}{\alpha} \text{ et } \rho_s \ll \frac{1}{\alpha}.$$

La première hypothèse, quand à elle, s'écrit $\frac{-E}{e_l} \ll s$, soit $\frac{n}{s} \ll 1 + \frac{A}{s\alpha} e^{-\beta e_l}$. Le cas $n < s$ n'étant pas très intéressant, cette condition devient : $e^{-\beta e_l} \gg \alpha \rho_c$ soit $\beta \ll \frac{\ln(\frac{1}{\alpha \rho_c})}{e_l}$ ou encore

$$k_b T \gg \frac{e_l}{\ln(\frac{1}{\alpha \rho_c})}.$$

On voit donc apparaître une température minimale de validité

$$T_{min} = \frac{e_l}{k_B \ln(\frac{1}{\alpha \rho_c})}.$$

Commentons ces conditions : les deux premières, portant sur les densités, sont en général vérifiées. En effet, il faudra approcher de la saturation en sites pour qu'elles soient fausses ! Par contre, la condition $T \gg T_{min}$ est cruciale, comme le montreront les études numériques à suivre.

3 Etudes numériques

Nous souhaitons maintenant étudier le même système, mais à une température quelconque. En effet, les expériences ont parfois lieu à un rapport énergie/température légèrement inférieur au seuil de validité du modèle développé précédemment.

Il y a plusieurs moyens de continuer l'étude dans cette gamme de température. On aurait pu employer des méthodes de volume exclu, en ajoutant un terme de correction au calcul précédent pour modéliser l'impossibilité de superposition de deux sites de la cellule. Toutefois, nous avons privilégié une approche numérique, par le contrôle qu'elle donne sur le système (on *voit* comment il évolue) et pour son intérêt pédagogique. De plus, comme nous le verrons dans la suite, elle nous permettra de complexifier le modèle au prix de modifications négligeables.

3.1 Principe

Nous avons utilisé des méthodes de Monte Carlo. Le principe en est simple : on parcourt les divers états du système selon leur probabilité (proportionnelle à $e^{-\beta E}$), et on moyenne toutes les grandeurs qui nous intéressent comme l'énergie, les concentrations dans la zone de contact... Je me suis basé sur le cours de W. Krauth (voir [4]) pour mettre au point le programme de simulation.

Nous travaillerons avec un réseau carré pour des raisons de simplicité (à ce stade, le type de réseau n'a aucune importance). Nous allons choisir des carrés de taille α , de manière à ce qu'un site occupe exactement un emplacement du réseau.

Le mouvement élémentaire dans la simulation est le suivant : on sélectionne, au hasard, un des sites de la cellule. On lui tire, encore aléatoirement, une nouvelle position dans le réseau. Trois cas se présentent alors :

1. le mouvement est impossible : on reste dans l'état antérieur
2. le mouvement fait diminuer l'énergie du système : on effectue le mouvement
3. l'énergie augmente de e_l (c'est à dire on rompt une liaison) : on modifie le système avec la probabilité $e^{-\beta e_l}$.

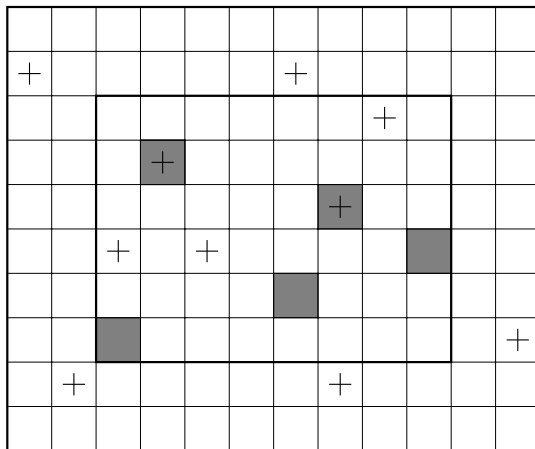


FIG. 4: Réseau utilisé. Dans la zone de contact, quelques sites du support (carrés gris d'aire α), parfois liés aux sites de la cellule (croix).

On vérifie que ces lois de transitions définissent une chaîne de Markov homogène, et que la loi de probabilité sur les états converge vers la loi de Boltzmann (loi de l'équilibre thermodynamique, en $e^{-\beta E}$). Les moyennes des grandeurs physiques mesurées dans chaque état convergeront donc vers leur valeur à l'équilibre.

Le choix du mouvement élémentaire ci-dessus n'est pas anodin. La solution la plus physique aurait été de limiter la longueur du déplacement à un pas (puisque en réalité, le mouvement de ces sites est continu), ce qui nous aurait permis d'observer la dynamique du système. Néanmoins, ces déplacements de longueur arbitraire permettent d'explorer l'espace des phases beaucoup plus rapidement (les configurations successives sont rapidement décorrélées) ce qui réduit de manière importante le temps de calcul.

3.2 Ordres de grandeur, précision des mesures

Quelques ordres de grandeur : le réseau utilisé a toujours une taille 100×100 . Les densités de sites sont égales pour la cellule et le support, et valent chacune $\frac{1}{9\alpha}$, soit 1111 sites sur la cellule. Enfin, l'aire de contact varie de 0 à 20% de l'aire de la cellule.

3.3 Test du programme

On commence par une vérification du programme : on permet juste pour un instant aux particules de se superposer, et on trace la courbe d'énergie en

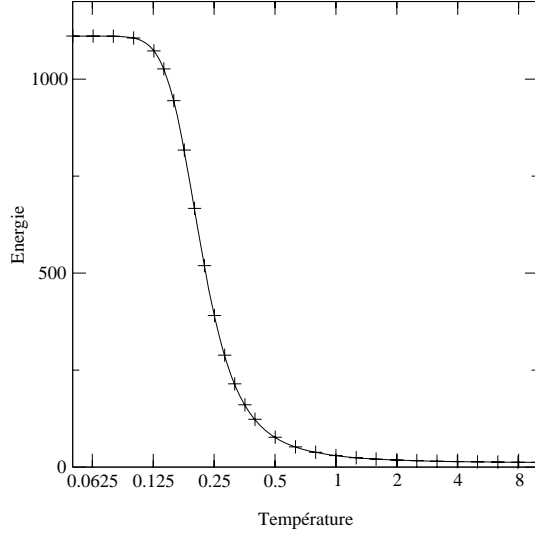


FIG. 5: Comparaison des courbes d'énergie analytiques/numériques pour le système $A = 10000\alpha$, $n = 1111$, $Ac = 900\alpha$ et $s = 100$ (unités $-e_l$ et $\frac{e_l}{k_B}$, échelle logarithmique en abscisse)

fonction de la température. On doit retrouver exactement les prédictions du modèle analytique, et ce à toute température.

Comme attendu, tous les points sont sur la courbe (figure 5) On peut exploiter ces mesures pour évaluer la précision des résultats numériques : l'erreur relative est de l'ordre de 10^{-3} .

Profitons de cette courbe pour montrer les défauts du modèle analytique à température trop faible (ici la température minimale de validité vaut $\frac{1}{\ln 9} \approx 0.46 \frac{e_l}{k_B}$). On observe principalement une énergie à température nulle de $-1111e_l$, alors que la surface de contact ne contient que 100 sites du support ! C'est absurde, puisque cela signifie que chaque site du support est lié à une dizaine de sites de la cellule.

3.4 Grandeurs mesurables

Nous cherchons essentiellement à déterminer l'énergie spécifique d'adhésion $W_{spe} = -\frac{\partial F}{\partial Ac} = -\rho_s \frac{\partial F}{\partial s}$. Malheureusement, on ne peut pas calculer l'énergie libre F directement dans la simulation, car on ne sait pas déterminer simplement l'entropie S du système et que $F = E - TS$.

Nous allons cependant pouvoir calculer F en fonction de E assez simplement, en supposant connue l'évolution de E avec la température. Quelques petits calculs de thermodynamique suivent...

On sait que la capacité calorifique du système vérifie

$$C_v = \frac{\partial E}{\partial T} = T \frac{\partial S}{\partial T},$$

ce qui va nous permettre de déterminer l'entropie du système, puis l'énergie libre F . En effet,

$$S + \int_T^\infty \frac{1}{T} \frac{\partial E}{\partial T} dT = S_\infty$$

ou encore

$$S + \int_T^\infty \frac{E}{T^2} dT - \frac{E}{T} = S_\infty$$

D'où, pour conclure :

$$F = T \int_T^\infty \frac{E}{T^2} dT - T S_\infty$$

On peut s'amuser à calculer l'entropie à température infinie S_∞ : à température infinie, on a $\Omega = C_N^n$ configurations toutes équiprobables ($N = \frac{A}{\alpha}$ est le nombre de cases du réseau), donc $S_\infty = k_B \ln \Omega \approx k_B n \ln N$. En particulier, et c'est surtout cette propriété qui nous intéresse, S_∞ ne dépend pas de A_c .

D'où une seconde relation importante :

$$W_{spe} = \rho_s T \int_T^\infty \frac{1}{T^2} \frac{\partial(-E)}{\partial s} dT$$

(attention : s est le nombre de sites du support, S l'entropie).

On voit donc que la mesure de E en fonction de T nous permettra de déterminer l'énergie d'adhésion W_{spe} qui nous intéresse tout particulièrement, puisque c'est la grandeur expérimentale.

On remarquera que nous avons choisi de déterminer la capacité calorifique du système C_v en dérivant l'énergie E par rapport à la température T . Il est toutefois possible de déterminer C_v en mesurant les fluctuations de E au cours du temps, en utilisant le théorème de fluctuation-dissipation $k_B T^2 C_v = \text{var} E$. Les deux méthodes s'accordent pour notre système mais la seconde converge beaucoup plus lentement, surtout à basse température.

3.5 Mesures

Nous effectuons nos simulations sur une très large gamme de température : $0.05e_l \leq k_B T \leq 10e_l$, suivant une échelle logarithmique. En parallèle, l'aire de contact varie de 0 à 20%.

Donnons quelques graphes :

Ce premier graphe (figure 6) est beaucoup plus satisfaisant, parce que cette fois l'énergie ne dépasse plus la valeur maximale de se_l . En comparant cette courbe au modèle analytique, on voit qu'il y a coïncidence à température

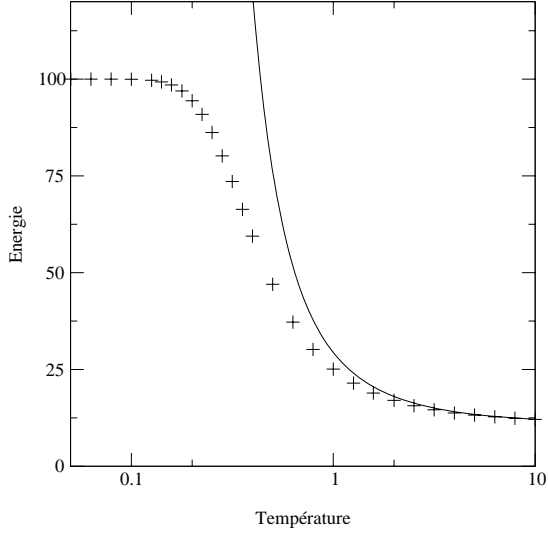


FIG. 6: Evolution de l'énergie avec la température (unités $-e_l, \frac{e_l}{k_B}$) pour le système $A = 10000\alpha$, $n = 1111$, $Ac = 900\alpha$ et $s = 100$. A comparer avec la courbe du modèle analytique (trait plein).

élevée, mais que l'écart est très grand en deça de T_{min} (la courbe analytique a un maximum d'énergie de $1111e_l$ à température nulle alors qu'il n'y a que $s = 100$ liaisons possibles).

Passons à un second graphe (figure 7) : on y voit l'évolution de l'énergie avec la surface de contact. L'énergie est tout simplement une fonction linéaire de l'aire de contact (ou du nombre de sites s du support), ce qui va bien nous simplifier les choses. En fait, j'ai représenté la courbe la moins linéaire (coefficient de corrélation de 0.99987!).

3.6 Exploitation

On voit donc qu'on peut dériver immédiatement l'énergie par rapport à l'aire de contact, pour obtenir les valeurs numériques de $\frac{\partial E}{\partial s}$ en fonction de T qui sont valables pour toute aire de contact raisonnable.

Il ne nous reste plus qu'à déterminer $\frac{\partial F}{\partial s}$. Au vu de la relation $W_{spe} = \rho_s T \int_T^\infty \frac{1}{T^2} \frac{\partial(-E)}{\partial s} dT$, on pourrait penser qu'une simple intégration numérique suffira à nous donner W_{spe} . Malheureusement, ce n'est pas si simple en réalité car l'intégrale ci-dessus est divergente à température nulle... Sans compter que les mesures dont on dispose sont en nombre limité, et ne s'étendent pas en particulier jusqu'à température infinie. Pour donner une idée de ce qu'on obtient par cette méthode, voir la courbe 9.

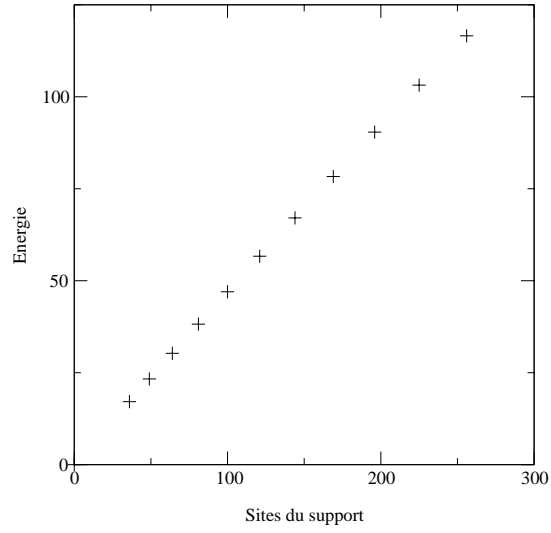


FIG. 7: Evolution de l'énergie avec l'aire de contact (unités $-e_l$, nombre de sites du support) pour le système $A = 10000\alpha$, $n = 1111$, $T = 0.398 \frac{e_l}{k_B}$.

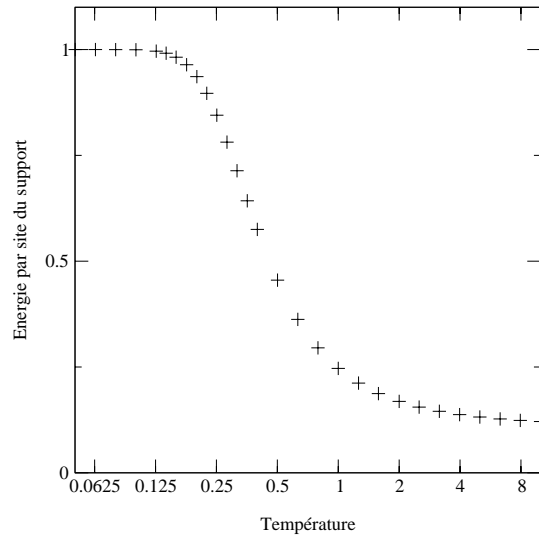


FIG. 8: Graphe de $\frac{\partial E}{\partial s} = \frac{1}{\rho_s} \frac{\partial E}{\partial A_c}$. (unités $-e_l, \frac{e_l}{k_B}$) pour le système $A = 10000\alpha$, $n = 1111$.

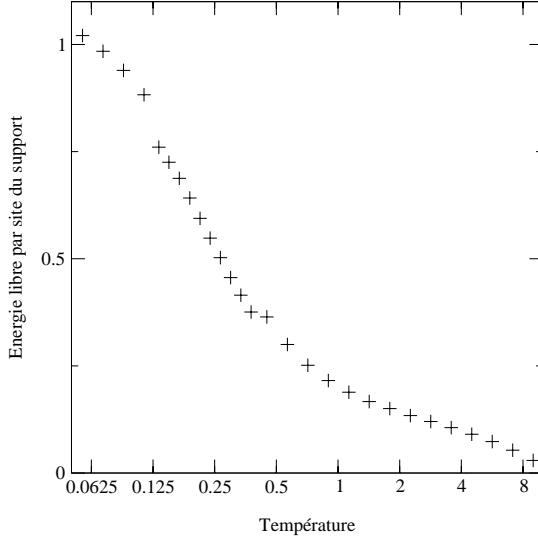


FIG. 9: Graphe de $-\frac{\partial F}{\partial s}$ obtenu par intégration numérique. On devrait avoir $\frac{\partial F}{\partial s} \approx \frac{\partial E}{\partial s}$ aux deux extrémités ($T = 0, \infty$) vu que $F = E - TS$, mais ce n'est pas le cas. Il faut donc trouver une meilleure méthode.

Il faut donc aborder le problème de manière un peu plus fine. Nous allons trouver une approximation analytique de la courbe $\frac{\partial E}{\partial s}$, qu'on pourra alors intégrer sans difficulté pour trouver une courbe de $\frac{\partial F}{\partial s}$ bien plus satisfaisante.

Rappelons-nous que dans le cas du modèle analytique, $\frac{\partial E}{\partial s}$ est une fraction rationnelle en $e^{-\beta e_l}$, et plus précisément, elle est de la forme $\frac{ae^{-\beta e_l}}{(1+be^{-\beta e_l})^2}$. Dans notre cas, nous allons chercher la meilleure approximation par une fonction de la forme $\frac{a+bx+cx^2}{1+dx+ex^2}$ où $x = e^{-\beta e_l}$, en imposant les conditions aux bords (valeur en $T = 0$ et $T = \infty$).

Après quelques simplifications, on dispose d'une très bonne approximation sous la forme $\frac{\partial E}{\partial s} = -e_l \frac{1+x(\rho_c(1+5a)-1)}{1+ax+4ax^2}$ où $x = e^{-\beta e_l}$ et $a \approx 21.16$

Lorsqu'on dispose d'une approximation rationnelle de $\frac{\partial E}{\partial s}$ en $e^{-\beta e_l}$, on peut théoriquement en déduire l'intégrale donnant $\frac{\partial F}{\partial s}$ (un changement de variable nous ramène à l'intégrale d'une fonction rationnelle ; on confie cette tâche à un logiciel de calcul formel) et on en tire les courbes de W_{spe} .

Nous pouvons enfin donner la courbe de l'énergie spécifique d'adhésion (courbe 11).

3.7 Généralisation à des densités de sites quelconques

Nous pouvons faire une critique importante au travail précédent : dans tous les systèmes considérés, on a fixé les densités de sites des deux mem-

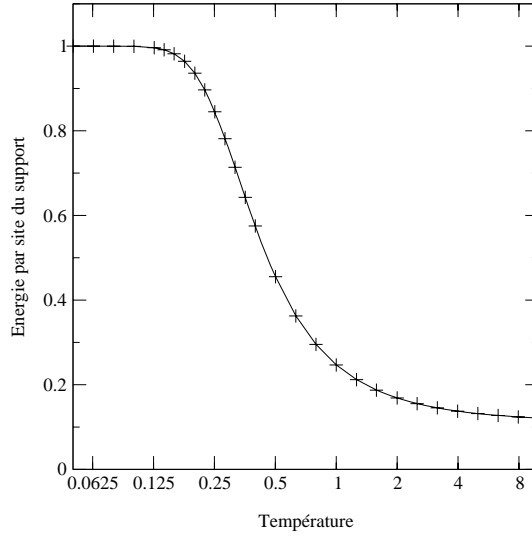


FIG. 10: Approximation de $\frac{\partial E}{\partial s} = -e_l \frac{1+x(\rho_c(1+5a)-1)}{1+ax+4ax^2}$ avec $x = e^{-\beta e_l}$, $a \approx 21.16$. Tous les points sont bien sur la courbe.

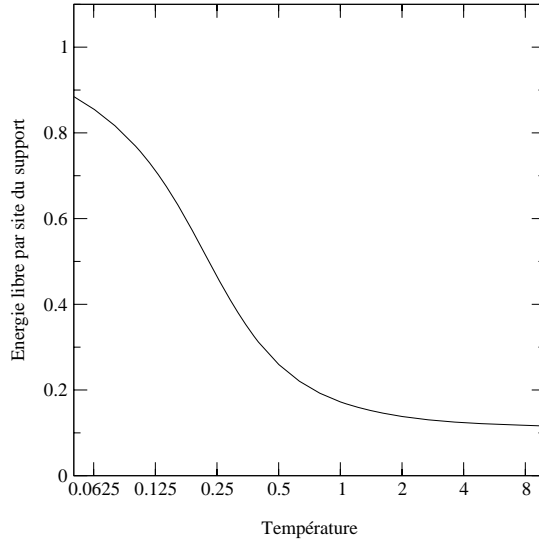


FIG. 11: Courbe de $-\frac{\partial F}{\partial s} = \frac{W_{sps}}{\rho_s}$ obtenue par la méthode du fit de $\frac{\partial E}{\partial s}$. La courbe est bien plus jolie que celle qu'on avait obtenue par la première méthode, et de plus on a bien égalité avec $\frac{\partial E}{\partial s}$ aux extrémités (la courbe remonte bien jusqu'à e_l à température nulle, ce qu'on ne voit pas sur le graphe car nous nous limitons à $T \geq 0.05 \frac{e_l}{k_B}$).

branes. Cette restriction n'est pas tenable, car dans les expériences réalisées par Frédéric Pincet les densités varient et sont en général beaucoup plus faibles.

Deux issues se présentent. Soit on continue dans la même voie, en faisant toujours plus de calculs, en vue de déterminer la valeur de a pour d'autres densités, soit on tente d'exploiter les phénomènes révélés par l'analyse numérique pour développer un modèle approché mais valable à toute température.

Je privilégierai la seconde voie pour mettre au point un modèle légèrement moins précis mais valable sur une grande plage de densités.

Nous avons vu dans ces simulations numériques que l'énergie était proportionnelle au nombre de sites du support. Bien sûr, ceci ne peut pas être toujours vrai, par exemple lorsque la cellule possède moins de sites que le support (l'énergie est alors limitée à $-ne_l$ quelle que soit la valeur de s). Néanmoins dans tout le domaine exploré par les simulations ainsi que dans les manipulations de F. Pincet on vérifie cette linéarité en fonction de l'aire de contact, ou de manière équivalente l'indépendance de W_{spe} en fonction de A_c .

Avec cette hypothèse, nous pouvons écrire $\frac{\partial E}{\partial s} = E(s=1)$. Et la fonction de partition du système avec un seul support est aisément calculable : nous avons nA_{N-1}^{n-1} états liés (énergie $-e_l$) et A_{N-1}^n états non liés (énergie nulle) (rappel : $N = \frac{A}{a}$ est la taille du réseau). Donc la fonction de partition vaut $Z = A_{N-1}^n + nA_{N-1}^{n-1}e^{\beta e_l}$. On en tire immédiatement $E(s=1) = \frac{-e_l}{1 + \frac{N-n}{n}e^{-\beta e_l}}$.

Suivant ce modèle simple, on a :

$$\frac{\partial E}{\partial s} = -\frac{e_l}{1+ae^{-\beta e_l}} \text{ avec } a = \frac{1}{\alpha\rho_c} - 1$$

Puis une simple intégration nous donne :

$$W_{spe} = \frac{\rho_s}{\beta} \ln(1 + \alpha\rho_c(e^{\beta e_l} - 1))$$

Il ne manque plus qu'une confrontation aux simulations numériques. Nous allons donc retracer la courbe 10 avec cette nouvelle approximation de $\frac{\partial E}{\partial s}$ (cf. graphe 12). Cette comparaison donne une grande légitimité au modèle.

La courbe de W_{spe} obtenue diffère très peu de la courbe numérique, comme on le verra sur le graphe 13.

4 Interaction latérale

Le modèle développé précédemment est valable pour les interactions usuelles cellules – cellules en biologie. Mais il ne prend pas en compte un phénomène important dans les expériences réalisées au LPS, où Frédéric Pincet utilise

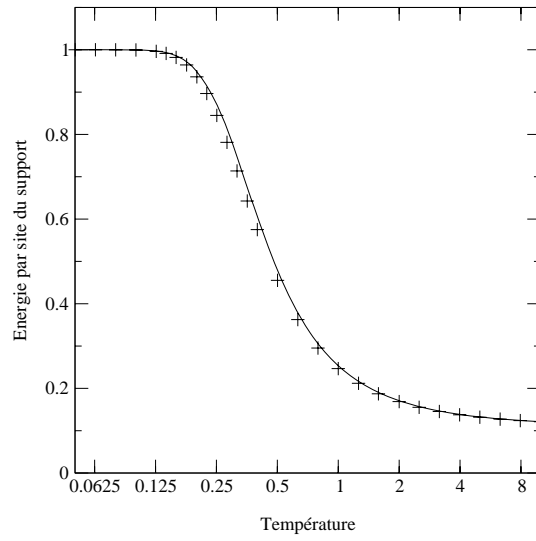


FIG. 12: Courbe de $-\frac{\partial E}{\partial s}$ tirée du dernier modèle comparée aux points numériques. On note principalement un léger écart dans la zone de température intermédiaire.

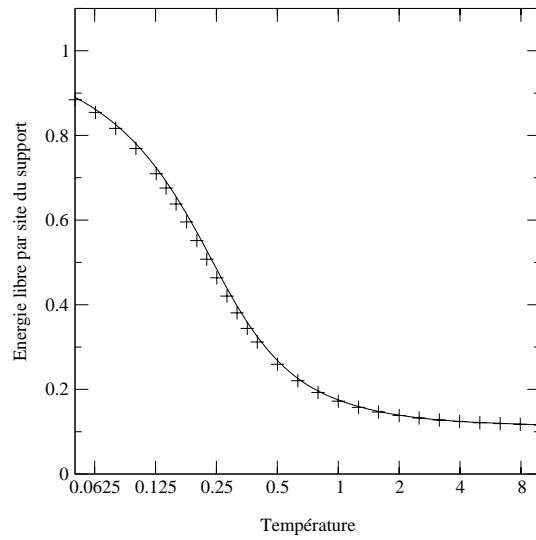


FIG. 13: Courbe de $-\frac{\partial F}{\partial s}$ tirée du dernier modèle comparée aux points numériques. L'écart est encore ici très faible.

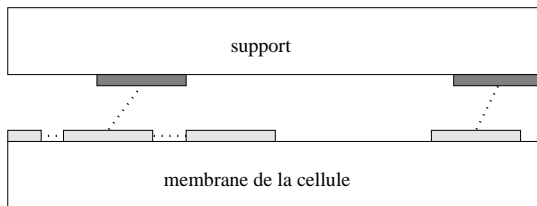


FIG. 14: Tranche de l'aire de contact suivant la direction d'une chaîne. On observe deux types de liaisons : cellule – support (énergie $-e_t$) et cellule – cellule (énergie $-e_t$, t pour «tangent »).

des molécules d'ADN en tant que sites. Ces molécules d'ADN peuvent développer des liaisons latérales parasites avec des molécules voisines de la même membrane, et on assiste donc à la formation de chaînes de sites sur la cellule à basse température. Nous allons étudier dans quelle mesure la présence de ces chaînes modifie l'énergie d'adhésion.

Nous allons mener l'étude exclusivement sur le réseau. On donne alors une orientation à chaque site de la cellule (horizontale ou verticale dans le cas du réseau carré). On considérera toujours qu'il y a liaison avec le support lorsqu'un site de la cellule tombe sur un site du support, et on dira que deux sites de la cellule sont liés latéralement s'ils ont la même orientation et sont voisins suivant cette orientation.

Sur la figure 15, on a représenté une configuration du système proche de l'équilibre. On voit bien les chaînes mentionnées précédemment, en particulier aux environs de la zone de contact. On notera aussi les chaînes qui traversent les contours du système, celui-ci étant cyclique.

4.1 Energie en fonction de l'aire de contact

Comme dans la première partie, nous allons déduire l'énergie d'adhésion spécifique de l'énergie moyenne du système. Nous effectuons donc les mêmes jeux de mesures, c'est à dire qu'on mesure l'énergie du système en fonction de la température et de l'aire de contact pour diverses valeurs de e_t ($e_t = 0, 0,5, 1$ et enfin $2e_t$).

On constate ici encore que l'énergie est une fonction affine de l'aire de contact, et ceci avec une bonne approximation pour la gamme d'aire étudiée (0 à 20%). Nous allons donc pouvoir la caractériser par sa valeur à aire de contact nulle et sa pente $\frac{\partial E}{\partial s}$.

On a tracé sur les figures 16 et 17 l'énergie à aire de contact nulle et la pente de cette énergie suivant le nombre de sites du support. En général, le facteur de corrélation entre E et s est très bon, mais il varie sensiblement

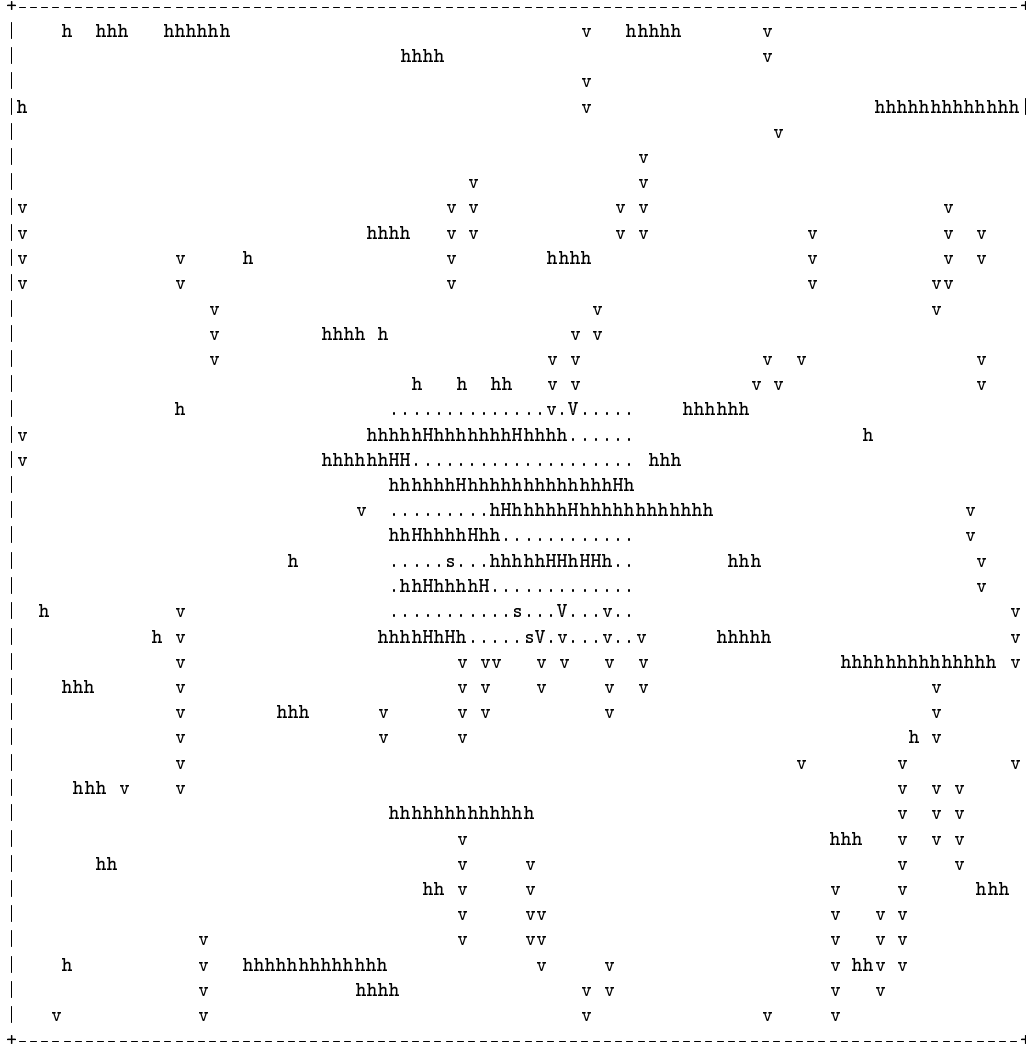


FIG. 15: Une configuration du système à faible température ($k_B T = 0.2e_l = 0.2e_t$). L'orientation des sites est représentée par les lettres **v** et **h** (verticale/horizontale), en majuscule lorsqu'ils sont liés au support. La zone de contact est représentée par des points, on y trouve quelques sites libres (**s**).

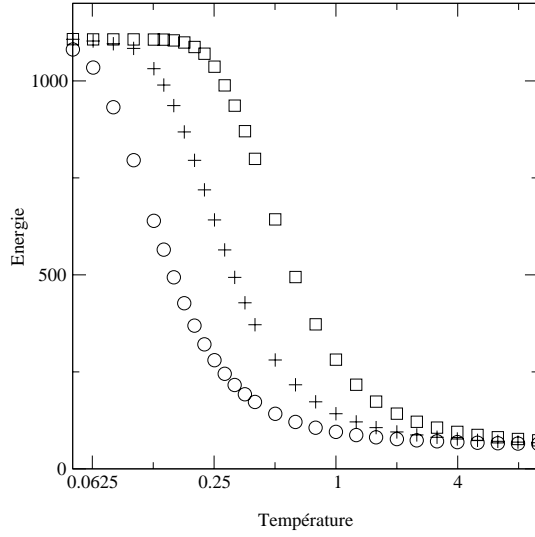


FIG. 16: Energie à aire de contact nulle, en unités $-e_t$ et $\frac{e_t}{k_B}$. Les trois courbes $e_t = 0, 5, 1$ et $2e_l$ (cercles, croix et carrés) se superposent en unités $-e_t, \frac{e_t}{k_B}$ (évident par analyse dimensionnelle).

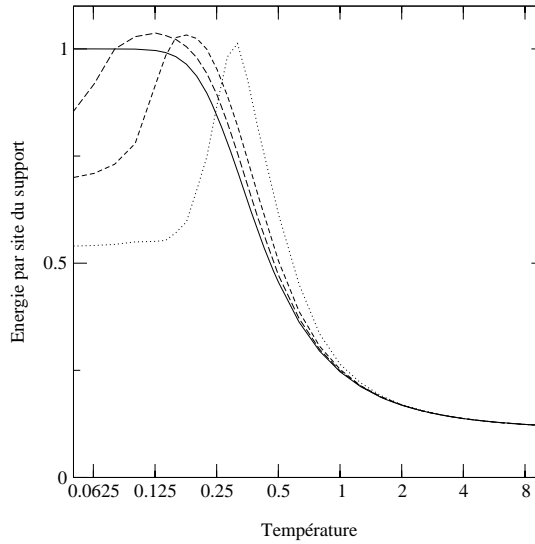


FIG. 17: Courbes de $\frac{\partial E}{\partial s}$ en unités $-e_l$ et $\frac{e_l}{k_B}$, pour $e_t = 0, 0, 5, 1$ et $2e_l$ (ligne pleine, tirets longs, tirets, pointillés).

avec la température et sa moins bonne valeur est de 0,989.

Avant de déterminer l'énergie spécifique d'adhésion W_{spe} à partir de $\frac{\partial E}{\partial s}$, nous allons décrire le système à trois température particulières :

1. température quasi-nulle
2. température infinie
3. température proche du maximum de $\frac{\partial E}{\partial s}$.

4.2 Allure du système à température nulle

Lorsqu'on approche de la température nulle, le système se trouve le plus fréquemment dans des états d'énergie quasi-minimale. Il se forme donc de très longues chaînes, le plus souvent ancrées dans la zone de contact.

Examinons les différents phénomènes qui entrent en compétition dans la minimisation de l'énergie. Commençons par les cas simples où on n'a qu'un seul type de liaison, soit avec les sites du support, soit entre sites de la cellule.

4.2.1 Sans interaction latérale ($e_t = 0$)

Nous supposons ici que les sites de la cellule ne se lient pas entre eux. Alors, pour minimiser l'énergie il faut lier tous les sites du support. On place donc s sites de la cellule sur les sites du support, les autres étant libres sur la cellule. C'est une configuration très simple. On notera toutefois que le troisième principe n'est pas vérifié, c'est à dire que l'entropie à température nulle n'est pas nulle, vu que seuls s sites sur n sont «gelés».

4.2.2 Sans aire de contact ($e_t = 0$)

Traitons maintenant le cas symétrique où seule l'interaction latérale intervient. Il est clair que l'énergie est minimale lorsque chaque site est lié à deux autres sites, c'est à dire lorsque les chaînes forment des boucles sur le réseau (qui est cyclique). Toutes ces boucles seront nécessairement parallèles car elles ne peuvent pas se croiser.

4.2.3 Superposition des deux phénomènes

Dans le cas général, les deux phénomènes se font concurrence. Nous allons donner un aperçu de ce qui se passe lorsque l'aire de contact augmente.

Dans un premier temps, on peut conserver le système de boucles pour recouvrir toute la zone de contact. Il est clair que l'énergie reste bien minimale.

Puis, l'aire de contact augmentant encore, certains sites vont se retrouver en dehors de l'aire couverte par les boucles. Est-il profitable de rompre les

boucles formées ? Briser une boucle nécessite l'énergie $2e_t$ alors qu'on récupère ke_t en recouvrant k sites avec le bout de chaîne extrait de la boucle rompue...

Je ne pousserai pas plus loin cette discussion, car il n'est pas évident de déterminer les états d'énergie minimale. Par exemple, la distribution des sites du support intervient de manière flagrante, mais elle est supposée aléatoire et n'est donc pas facile à manipuler. On remarquera aussi que la *forme* du système intervient, raison pour laquelle nous avons toujours choisi des réseaux carrés (et zone de contact carrée) pour la simulation.

Examinons pour clore cette partie la configuration de la figure 18, proche de l'équilibre à température très faible (0,05 unités d'énergie). On est dans le cas $e_l = e_t$, cas intermédiaire et réaliste. Sur cet exemple, tous les sites du support sont liés à des sites de la cellule (lettres H et V). Comme annoncé, on remarque un certain nombre de boucles sur la droite de la zone de contact. Cette configuration a une énergie particulièrement faible, mais pas minimale. Par exemple, la boucle isolée à droite pourrait être ramenée dans la zone de contact pour remplacer le premier H de droite ; le segment libre vertical pourrait prolonger une chaîne existante... La principale explication de cette différence avec l'état minimal est le temps nécessaire pour atteindre l'équilibre avec les manipulations effectuées sur le système : il est très peu probable ($e^{-1/0,05} \approx 2.10^{-9}$) de rompre une liaison, en particulier le temps nécessaire pour déplacer une boucle est astronomique. On pourrait aussi imaginer que c'est la température non nulle qui est la cause de ce décalage, mais ce n'est pas la bonne explication, car la probabilité de se trouver dans un état d'énergie non minimale à l'équilibre est elle aussi de l'ordre de grandeur de $e^{-1/0,05}$

4.2.4 Valeur de $\frac{\partial E}{\partial s}$ à température nulle

On remarque sur la figure 17 que $\frac{\partial E}{\partial s}$ décroît selon e_t à température nulle. Ceci se comprend aisément. En effet, lorsque l'aire de contact augmente on est obligé de rompre les chaînes qui recouvrent cette zone de contact pour former de nouveaux brins continuant à la recouvrir. Mais cette manipulation n'est pas toujours profitable, et le système préférera parfois laisser des sites du support non recouverts plutôt que de rompre des chaînes, et ceci d'autant plus que e_t est élevée.

4.3 Etude à température infinie

Nous allons déterminer la limite de l'énergie à température infinie, par un modèle simple et exact. Pour ce, nous supposons que les sites sont indépendants et qu'ils se répartissent uniformément sur tout le réseau.

Calculons l'énergie par site du système. Un site donné a la probabilité $\frac{s}{N}$ d'être lié au support, d'où une énergie par site de $-\frac{s}{N}e_l$. Ensuite, si on fixe notre site, il a une orientation donnée, horizontale ou verticale. La probabilité qu'il ait un voisin à droite ou en haut est de $\frac{n-1}{N-1}$, et celui-ci a la même orientation que notre site avec la probabilité $1/2$ (on ne considère la liaison latérale que sur une face pour ne pas avoir à diviser par deux l'énergie latérale finale), d'où :

$$\frac{E}{n} = -\frac{s}{N}e_l - \frac{1}{2}\frac{n-1}{N-1}e_t$$

On pourra se demander pourquoi je conserve les « -1 » alors que n et N sont grands. En fait, on peut mettre en évidence ces petits termes par une vérification numérique assez précise.

On a représenté sur la figure 19 l'allure du système à très haute température. La disposition des sites est pratiquement aléatoire, ce qui explique le faible nombre de liaisons constatées.

4.4 Etude du maximum de $\frac{\partial E}{\partial s}$

On peut donner une interprétation aisée à $\frac{\partial E}{\partial s}$. C'est le gain d'énergie du système lorsqu'on ajoute un site s à la zone de contact. Ainsi, à température nulle dans le cas de base $e_t = 0$, nous avons $\frac{\partial E}{\partial s} = -e_l$, c'est à dire que chaque sites supplémentaire est immédiatement lié. Ou encore, à température infinie, la relation précédente nous donne $\frac{\partial E}{\partial s} = -\alpha\rho_c e_l$.

Comment alors donner un sens à $\frac{\partial E}{\partial s} < -e_l$, ce qu'on observe sur les courbes de la figure 17? Cela semble absurde, on ajoute un site et cela entraîne un gain d'énergie supérieur à l'énergie de liaison!

Nous allons examiner le cas $e_t = e_l$, avec l'extremum de $\frac{\partial E}{\partial s}$ au voisinage de $k_B T = 0,178e_l$ avec une valeur de $1,0325e_l$.

Traçons le graphe de E en fonction de s à cette température (cf. figure 20), afin de vérifier que la pente est réellement supérieure à e_l .

Ce graphe met bien en évidence le paradoxe. Il ne nous reste plus qu'à examiner une image du système pour tenter de percer le mystère...

Que remarque-t-on sur ce réseau (figure 21)? En dehors de la zone de contact, les sites sont regroupés en chaînes de longueur non négligeable. La zone de contact, quand à elle, est recouverte en grande partie par des chaînes de même orientation.

Imaginons qu'on augmente la taille de la zone de contact, de façon à ajouter un site supplémentaire sur le support. Si ce site tombe dans une des chaînes prenant racine dans la zone de contact, il est automatiquement lié et l'énergie augmente de e_l . Dans l'autre cas, il est très probable qu'une des chaînes libres se déplace sur le site (la température est relativement basse -

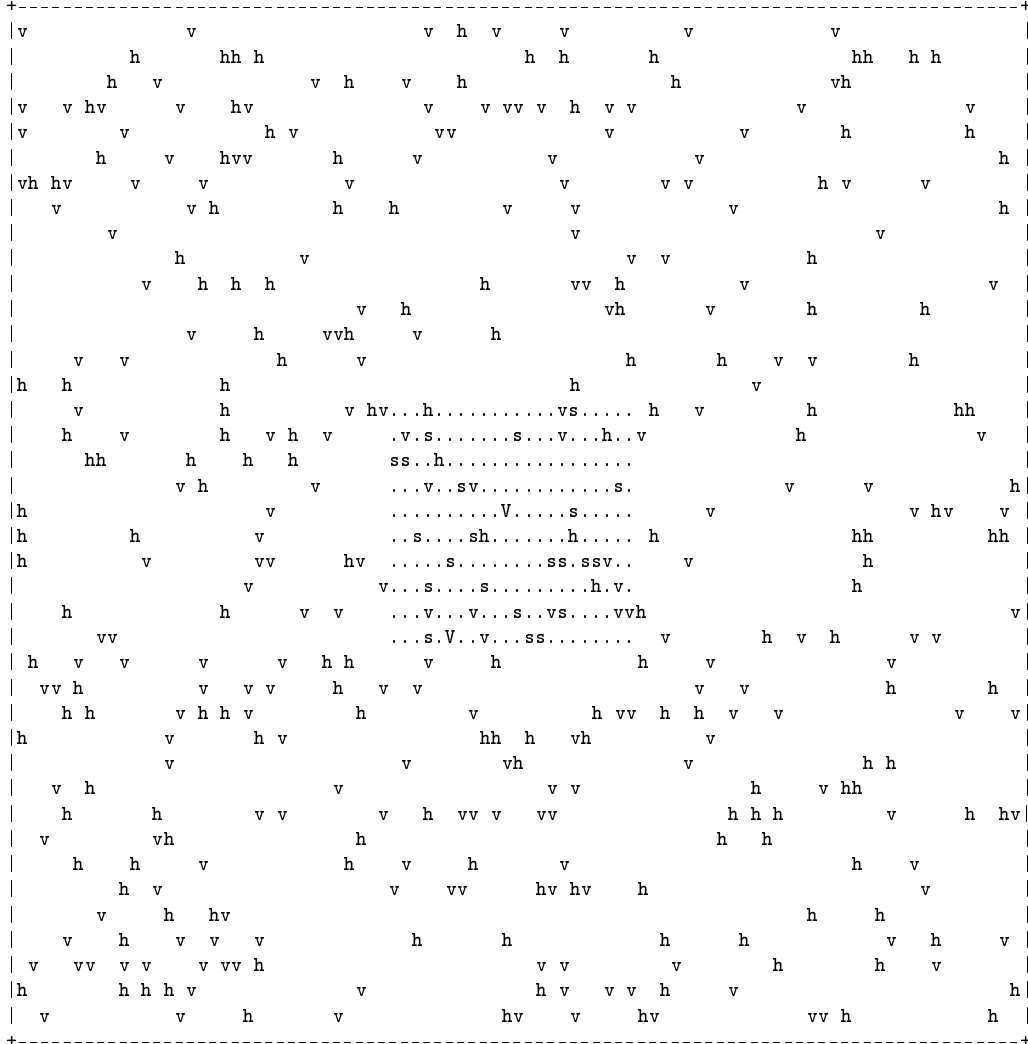


FIG. 19: Une configuration du système à très haute température ($k_B T = 100e_t, e_l = e_t$).

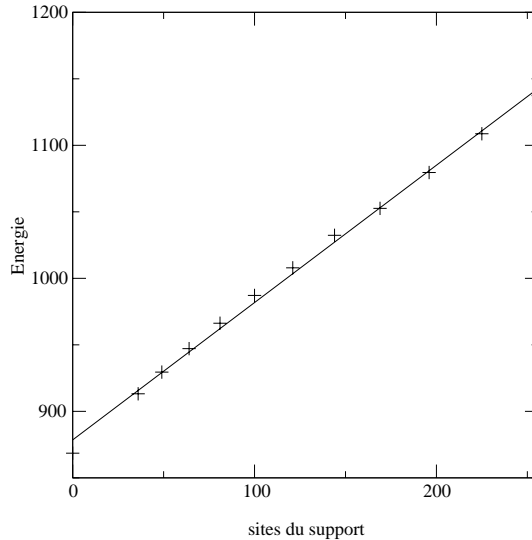


FIG. 20: Energie en fonction du nombre de sites du support, et son approximation linéaire. La pente de la droite étant déjà supérieure à 1, il est indéniable que dans la partie $s \leq 100$ l'énergie croît plus vite que le nombre de sites...

0,178 unités d'énergie). Avec une probabilité non négligeable cette chaîne va prolonger une chaîne déjà existante (manoeuvre profitable énergétiquement), ce qui entraîne alors un gain d'énergie de $e_l + e_t$ susceptible d'entraîner le gain moyen au delà de e_l .

Donnons un petit schéma, pour le second cas (figure 22)

Notons que cette réaction nécessite des chaînes libres, donc une température ni trop basse (toutes les chaînes sont liées à la zone de contact) ni trop élevée (les chaînes sont trop courtes).

4.5 Energie spécifique d'adhésion

De la même manière que tout à l'heure, nous pouvons donner l'énergie spécifique d'adhésion à partir de $\frac{\partial E}{\partial s}$. Il suffit pour cela de trouver une bonne approximation de ces courbes, et de leur appliquer ensuite, de manière analytique, la transformation discutée dans la première partie.

On cherche encore une fois les approximations sous la forme d'une fraction rationnelle en $e^{-\beta e_t}$, au second ordre au numérateur/dénominateur. On impose de plus la valeur à température infinie ($-\alpha \rho_c e_l$) indépendante de e_t . Malgré l'introduction d'un second terme d'énergie (e_t), ces approximations sont fines (a priori, il aurait fallu chercher une fraction rationnelle en les deux

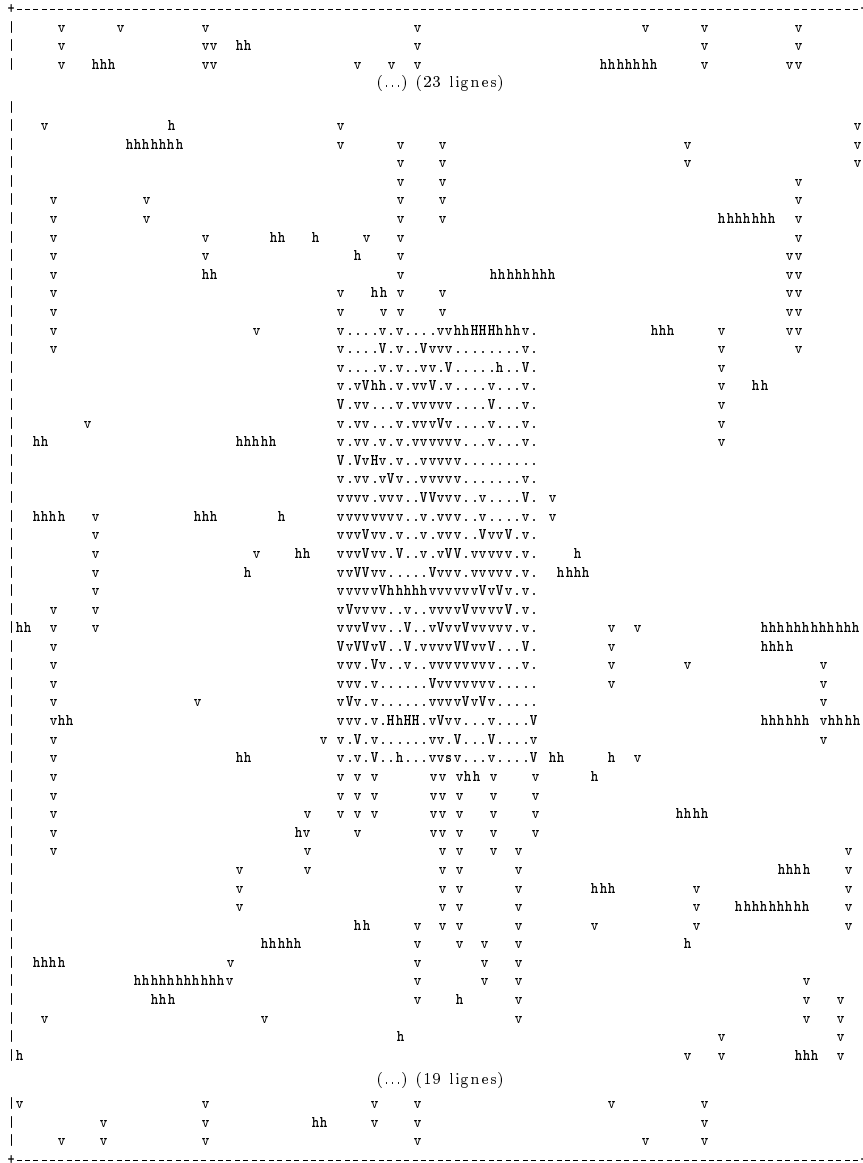


FIG. 21: Allure du système dans les conditions du «paradoxe », soit $k_B T = 0,178e_l$ et $e_t = e_l$ avec une zone de contact contenant 64 sites. Le réseau représenté étant le réseau réellement utilisé dans les simulations, il est un peu plus grand que les précédents.

	v	v	v			v	v	v	
		v v	v				v v	v	
	vvvv	v	v			vvvv	v	v	
	vvvv	v v	v			vvvv	v v	v	
	vvvv...vV..V.v.		v			vvvv...vV..V.v.		v	
	VvVv...Vv..v.v.		v			VvVv...Vv..v.v.		v	
	vVvvHhH....v.V.		v			vVvvHhH....v.V.		v	
	vvvvHh....vV..\\ /		v			vvvvHh....vV...			
	vVvV.....VVVHh.*-		v			vVvV.....VVVHhHhh			
	vvVv.V...vV.../ \\		v			vvVv.V...vV....			
	vvVhHhhHHvv....		v			vvVhHhhHHvv....			
	v v	v				v v	v		
	v v	v	v			v v	v	v	
	v	v	v			v	v	v	
	v	v	v			v	v	v	

FIG. 22: Ajout d'un site en * et réaction possible du système. Dans ce cas, l'énergie augmente de $e_l + e_t$

exponentielles $e^{-\beta e_l}$ et $e^{-\beta e_t}$).

Après quelques manipulations, on tire les courbes de $\frac{\partial F}{\partial s}$, représentées à la figure 23.

Observons soigneusement ce dernier graphe. On constate que les courbes ne commencent à se séparer que lorsque la température devient relativement faible, de l'ordre de 0,5 unités d'énergie.

Traçons l'écart relatif par rapport à la courbe de référence $e_t = 0$, sur la figure 24. On note en particulier que pour $e_t = e_l$, il ne dépasse jamais 10%.

Rappelons pour terminer quelques ordres de grandeurs expérimentaux : les énergies e_l et e_t sont équivalentes, la température vaut au moins 0,5 unités d'énergie. On peut donc négliger l'interaction latérale au prix d'une erreur relative inférieure à 10%.

5 Conclusion

Au cours du stage, nous avons utilisé généreusement la simulation numérique. Elle est comparable aux manipulations expérimentales dans la mesure où on doit fixer un certain nombre de paramètres pour obtenir une mesure (les tailles, densités et énergies de liaison). Dès que le nombre de paramètres du système devient élevé, on est obligé d'en fixer un nombre important (ici

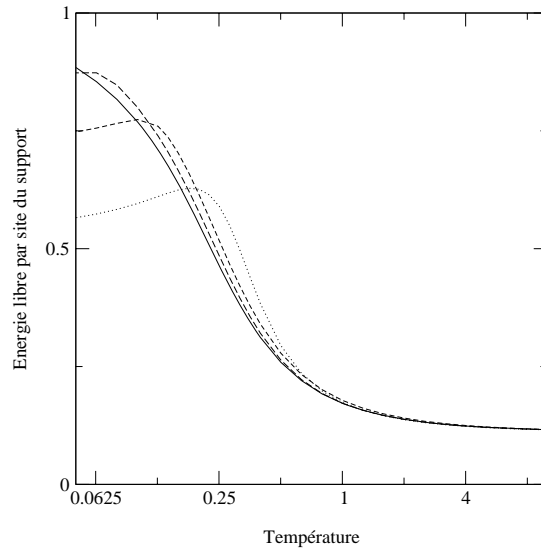


FIG. 23: Courbes de $\frac{\partial F}{\partial s}$ en unités $-e_l$ et $\frac{e_t}{k_B}$, pour $e_t = 0, 0, 5, 1$ et $2e_l$ (ligne pleine, tirets longs, tirets, pointillés).

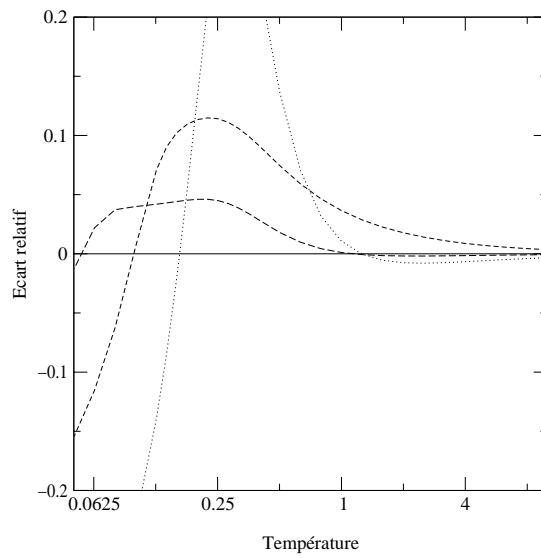


FIG. 24: Ecart relatif des courbes de $\frac{\partial F}{\partial s}$ par rapport à la courbe de référence $\frac{\partial F}{\partial s}$ à $e_t = 0$.

les densités) pour mener l'étude à bien en un temps raisonnable. A cause de toutes ces restrictions, les mesures ne permettent pas de développer un modèle général du système.

Dans notre cas, la simulation aura surtout servi à expliquer le fonctionnement du système. C'est ce que nous avons essentiellement fait dans cette dernière partie, pour montrer qu'on pouvait en première approximation se ramener au cas simple, c'est à dire sans interactions latérales. Et dans ce premier cas, c'est grâce à l'hypothèse de linéarité justifiée par nos mesures qu'on a pu développer un modèle simple et précis de l'adhésion.

6 Remerciements

Merci à Jean Vannimenus pour ses nombreux conseils concernant les phénomènes à examiner et l'analyse des données numériques, ainsi que pour son introduction au monde de la recherche.

Merci aussi à Frédéric Pincet qui confrontait régulièrement nos recherches avec ses expériences et avec les autres approches (essentiellement physico-chimiques) du problème pour vérifier la crédibilité de nos résultats.

Références

- [1] E. Evans, Detailed mechanics of membrane-membrane adhesion and separation. *Biophys. J.* **48** (1985) 175–192.
- [2] E. Evans, Analysis of adhesion of large vesicles to surfaces. *Biophys. J.* **31** (1980) 425–432.
- [3] F. Pincet, E. Perez, JC. Loudet, L. Lebeau, Reversible adhesion with mobile sites : a test of the theory. *in preparation*.
- [4] W. Krauth, Introduction to Monte Carlo algorithms.
http : //www.lps.ens.fr/~krauth (2001).