

# Étude des checkpoints du cycle cellulaire : spécification et vérification

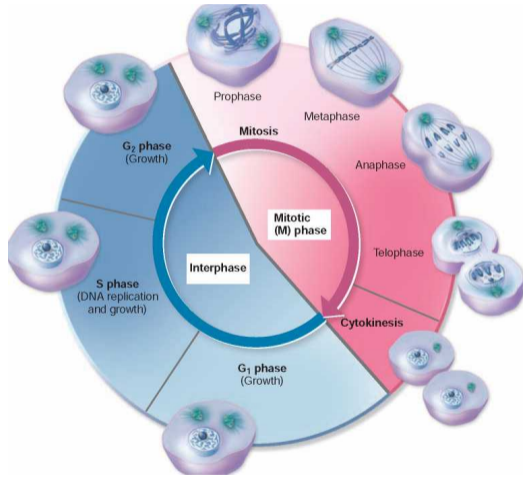
**Déborah Boyenval**   Gilles Bernot   Jean-Paul Comet   Franck Delaunay

Université Côte d'Azur, CNRS, I3S et IBV.

**GTBIOSS 2020** - 6 novembre 2020



# Modélisations discrètes du cycle cellulaire des mammifères



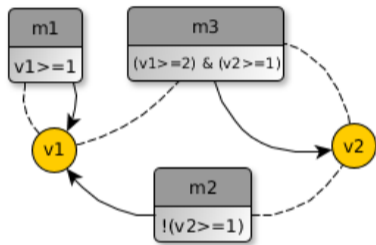
www.chegg.com

## Approches qualitatives :

- *Diop O. et al., ECC 2019 (Booléen)*
- *Traynard P. et al., Bioinformatics 2016 (Multivalué)*
- *Behaegel J. et al., JBCB 2016 (Multivalué)*
- *Fauré A. et al., Bioinformatics 2006 (Booléen)*

# Formalisme de R. Thomas : modélisation multivaluée de RRB

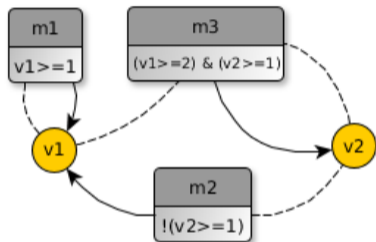
Le graphe de régulation :



- **m<sub>1</sub>**  $[v_1 \geq 1] \rightarrow v_1$  :  $v_1$  s'autoactive
- **m<sub>2</sub>**  $[\neg(v_2 \geq 1)] \rightarrow v_1$  :  $v_2$  inhibe  $v_1$
- **m<sub>3</sub>**  $[(v_1 \geq 2) \wedge (v_2 \geq 1)] \rightarrow v_2$  : le dimère  $v_1$ - $v_2$  activateur  $v_2$

## Formalisme de R. Thomas : modélisation multivaluée de RRB

Le graphe de régulation :



États du système :

 $\eta_1$ : ○ ○ $\eta_2$ : ● ○ $\eta_3$ : ● ○ $\eta_4$ : ○ ● $\eta_5$ : ● ● $\eta_6$ : ● ●

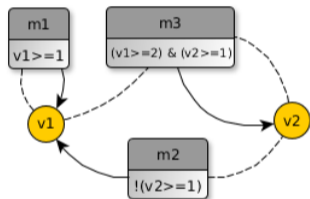
États des variables :

○    ●    ●  
 $v_1 = 0$     $v_1 = 1$     $v_1 = 2$ ○    ●  
 $v_2 = 0$     $v_2 = 1$ ⚠ Choix des variables  
et seuils

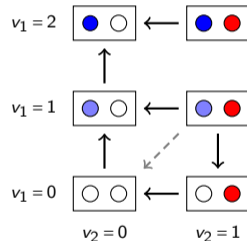
- **m<sub>1</sub>**  $[v_1 \geq 1] \rightarrow v_1$  :  $v_1$  s'autoactive
- **m<sub>2</sub>**  $[\neg(v_2 \geq 1)] \rightarrow v_1$  :  $v_2$  inhibe  $v_1$
- **m<sub>3</sub>**  $[(v_1 \geq 2) \wedge (v_2 \geq 1)] \rightarrow v_2$  : le dimère  $v_1$ - $v_2$  activateur  $v_2$

# Formalisme de R. Thomas : modélisation multivaluée de RRB

Graphe de régulation :

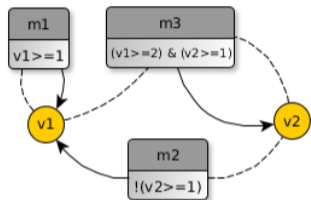


Graphe de transition asynchrone :



# Formalisme de R. Thomas : modélisation multivaluée de RRB

Graphe de régulation :



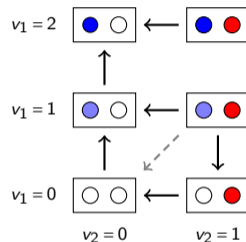
Ensemble des ressources :

- $\omega_{v_1} : m_1, m_2$
- $\omega_{v_2} : m_3$

Paramètres K :

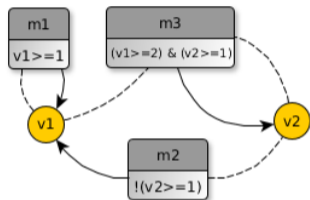
$$\begin{aligned}
 K_{v_1, \emptyset} &= 0 \\
 K_{v_1, m_1} &= 0 \\
 K_{v_1, m_2} &= 1 \\
 K_{v_1, m_1, m_2} &= 2 \\
 K_{v_2, \emptyset} &= 0 \\
 K_{v_2, m_3} &= 1
 \end{aligned}$$

Graphe de transition asynchrone :



# Formalisme de R. Thomas : modélisation multivaluée de RRB

Graphe de régulation :



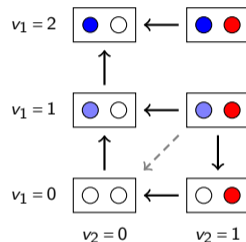
Ensemble des ressources :

- $\omega_{v_1}$ :  $m_1, m_2$
- $\omega_{v_2}$ :  $m_3$

Paramètres K :

$$\begin{aligned}
 K_{v_1, \emptyset} &= 0 \\
 K_{v_1, m_1} &= 0 \\
 K_{v_1, m_2} &= 1 \\
 K_{v_1, m_1, m_2} &= 2 \\
 K_{v_2, \emptyset} &= 0 \\
 K_{v_2, m_3} &= 1
 \end{aligned}$$

Graphe de transition asynchrone :

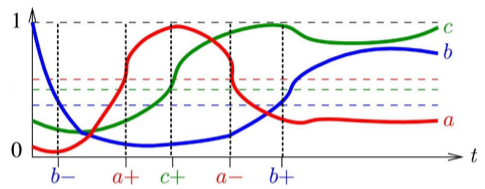


- La dynamique du système dépend des paramètres  $K_{v, \omega_v}$  où  $\omega_v$  est l'ensemble des ressources de  $v$ .
- $\prod_v (d^+(v) + 1)^{2^{d^-(v)}}$  paramétrisations sont possibles, avec  $d^+(v)$  et  $d^-(v)$  resp. le degrés sortant et entrant de  $v$ .

# La logique de Hoare génétiquement modifiée

## Un triplet de Hoare H

- $H : \{PRE\} \text{ PATH } \{POST\}$
- $PRE : a=0, b=1, c=0$
- $PATH : b-; a+; c+; a-; b+$
- $POST : a=0, b=1, c=1$



Profils normalisés d'expression ou d'activité d'espèces biologiques

$$H_{ex} : \quad \{a=0, b=1, c=0\} \quad b- ; a+ ; c+ ; a- ; b+ \quad \{a=0, b=1, c=1\}$$

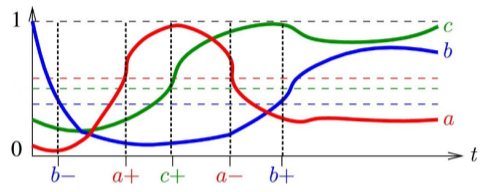
↓  
Postcondition Q



# La logique de Hoare génétiquement modifiée

## Un triplet de Hoare H

- $H : \{PRE\} \text{ PATH } \{POST\}$
- $PRE : a=0, b=1, c=0$
- $PATH : b-; a+; c+; a-; b+$
- $POST : a=0, b=1, c=1$



Profils normalisés d'expression ou d'activité d'espèces biologiques

$$H_{ex} : \quad \{a=0, b=1, c=0\} \quad b- ; a+ ; c+ ; a- ; b+ \quad \{a=0, b=1, c=1\}$$



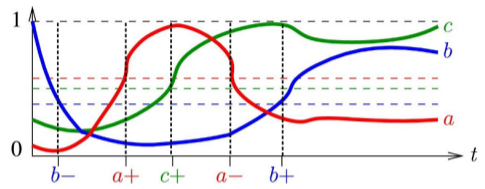
A genetically modified Hoare logic  
Bernot et al., 2019

Nouvelle postcondition  $Q_1 :$   
 $K_{b,\omega_1} \geq 1 \wedge a=0 \wedge b=0 \wedge c=1$

# La logique de Hoare génétiquement modifiée

## Un triplet de Hoare H

- $H : \{PRE\} \text{ PATH } \{POST\}$
- $PRE : a=0, b=1, c=0$
- $PATH : b-; a+; c+; a-; b+$
- $POST : a=0, b=1, c=1$



Profils normalisés d'expression ou d'activité d'espèces biologiques

$$H_{ex} : \quad \{a=0, b=1, c=0\} \quad b- ; a+ ; c+ ; a- ; b+ \quad \{a=0, b=1, c=1\}$$



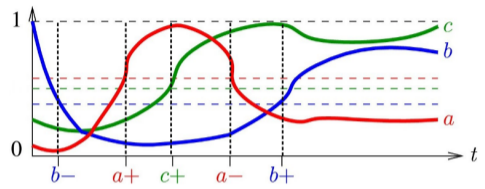
Nouvelle postcondition  $Q_2$  :

$$\underline{(\mathbf{K}_{b,\omega_1} \geq 1) \wedge (\mathbf{K}_{a,\omega_2} < 1) \wedge a=1 \wedge b=0 \wedge c=1}$$

# La logique de Hoare génétiquement modifiée

## Un triplet de Hoare H

- $H : \{PRE\} \text{ PATH } \{POST\}$
- $PRE : a=0, b=1, c=0$
- $PATH : b-; a+; c+; a-; b+$
- $POST : a=0, b=1, c=1$



Profils normalisés d'expression ou d'activité d'espèces biologiques

$$H_{ex} : \quad \{a=0, b=1, c=0\} \quad b- ; a+ ; c+ ; a- ; b+ \quad \{a=0, b=1, c=1\}$$



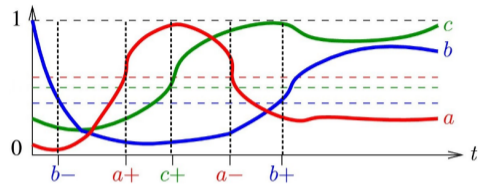
... Nouvelle postcondition  $Q_2 :$   

$$\underline{(\mathbf{K}_{b,\omega_1} \geq 1) \wedge (\mathbf{K}_{a,\omega_2} < 1) \wedge a=1 \wedge b=0 \wedge c=1}$$

# La logique de Hoare génétiquement modifiée

## Un triplet de Hoare H

- $H : \{PRE\} \text{ PATH } \{POST\}$
- $PRE : a=0, b=1, c=0$
- $PATH : b-; a+; c+; a-; b+$
- $POST : a=0, b=1, c=1$



Profils normalisés d'expression ou d'activité d'espèces biologiques

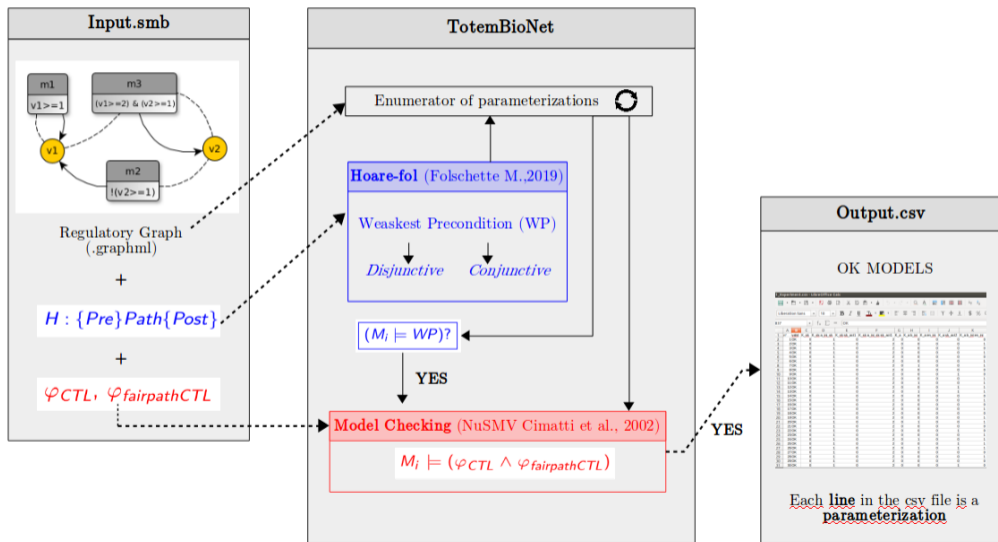
$$H_{ex} : \quad \{a = 0, b = 1, c = 0\} \quad b- ; a+ ; c+ ; a- ; b+ \quad \{a = 0, b = 1, c = 1\}$$



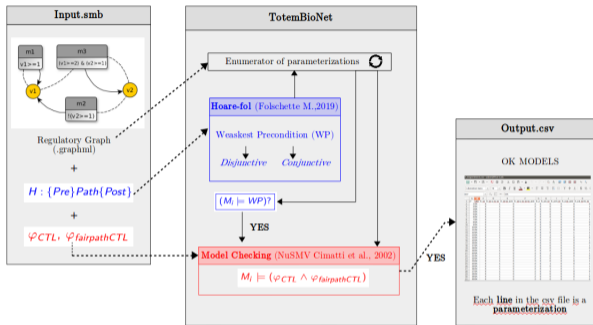
Weakest Precondition (WP)

$$\underline{(\mathbf{K}_{b,\omega_1} \geq 1) \wedge (\mathbf{K}_{a,\omega_2} < 1) \wedge (\mathbf{K}_{c,\omega_3} \geq 1) \wedge (\mathbf{K}_{a,\omega_4} \geq 1) \wedge (\mathbf{K}_{b,\omega_5} < 1) \wedge a=0 \wedge b=1 \wedge c=0}$$

# TotemBioNet : un outil d'identification exhaustive des paramètres K



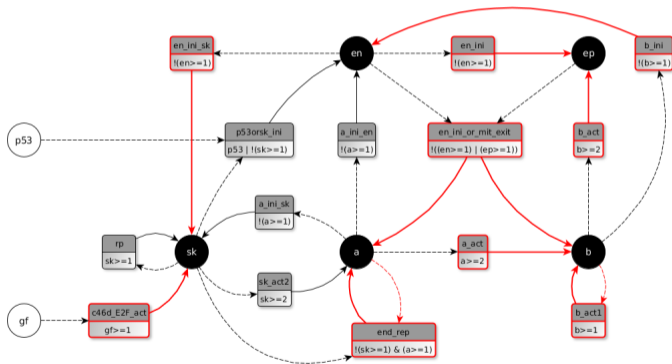
# TotemBioNet : un outil d'identification exhaustive des paramètres K



- <https://gitlab.com/totembionet/totembionet>
- Boyenval *et al.*, What is a cell cycle checkpoint ? The TotemBioNet answer, CMSB20.
- [www.i3s.unice.fr/~boyenval/video/CMSB20\\_DeborahBOYENVAL.flv](http://www.i3s.unice.fr/~boyenval/video/CMSB20_DeborahBOYENVAL.flv)

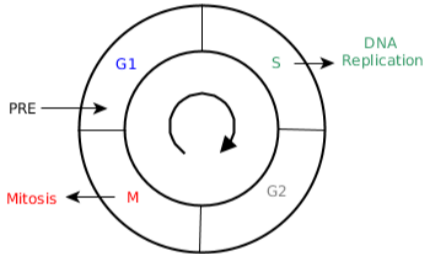
# Behaegel, J. JBCB16 : un modèle revu et enrichi

Graphes de régulation : variables impliquées dans la progression du cycle cellulaire



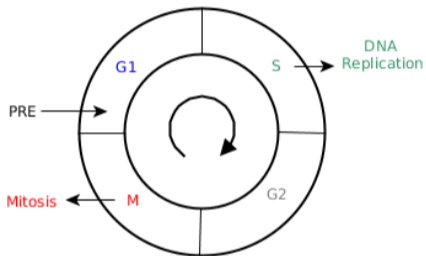
- *sk* (starting kinases) : CycE/Cdk2
- *a* : CycA/Cdk1 et CycA/Cdk2
- *b* : CycB/Cdk1
- *en* (enemies) : APC-cdh1, Wee1, p21, p27, PP1 et PP2
- *ep* (exit protein) : APC-cdc20
- *p53*
- *gf* (growth factors) : EGF, FGF, PDGF, ...

# Phases du cycle cellulaire : succession canonique des événements



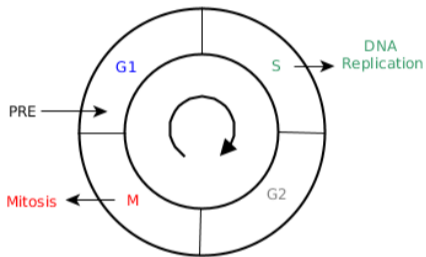


# Phases du cycle cellulaire : succession canonique des événements



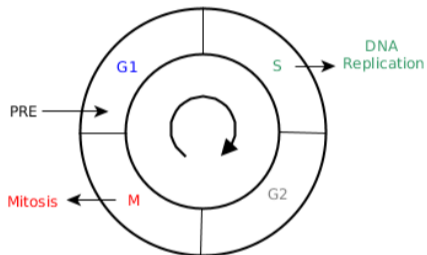
- $PRE \equiv (sk = 0 \wedge a = 0 \wedge b = 0 \wedge ep = 0 \wedge en = 1)$

# Phases du cycle cellulaire : succession canonique des événements



- $PRE \equiv (sk = 0 \wedge a = 0 \wedge b = 0 \wedge ep = 0 \wedge en = 1)$
- Cyclines inactives, inhibiteurs activés et  $APC_{cdc20}$  (*exit protein*) inactive.

# Phases du cycle cellulaire : succession canonique des événements

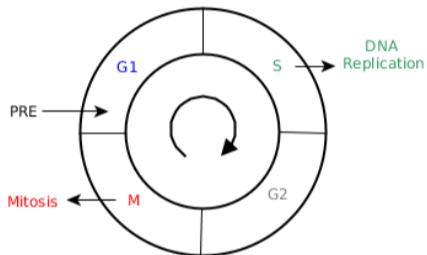


- $PRE \equiv (sk = 0 \wedge a = 0 \wedge b = 0 \wedge ep = 0 \wedge en = 1)$
- Cyclines inactives, inhibiteurs activés et  $APC_{cdc20}$  (*exit protein*) inactive.

## Triplet du cycle cellulaire canonique $H_c$

{PRE}  $sk+; en-; sk+; a+; sk-; sk-; a+; en+; b+; en-; b+; ep+; a-; a-; b-; b-; ep-; en+$  {POST}

# Phases du cycle cellulaire : succession canonique des événements

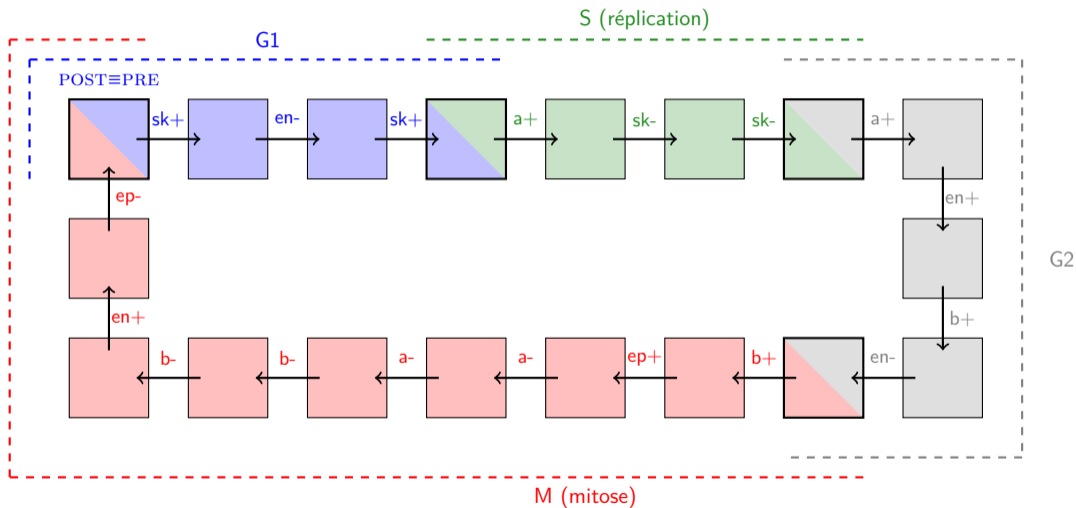


- $PRE \equiv (sk = 0 \wedge a = 0 \wedge b = 0 \wedge ep = 0 \wedge en = 1)$
- Cyclines inactives, inhibiteurs activés et  $APC_{cdc20}$  (*exit protein*) inactive.
- $POST \equiv PRE$

## Triplet du cycle cellulaire canonique $H_c$

{PRE}  $sk+; en-; sk+; a+; sk-; sk-; a+; en+; b+; en-; b+; ep+; a-; a-; b-; b-; ep-; en+$  {POST}

# Phases du cycle cellulaire : succession canonique des événements



$$PRE \equiv (sk = 0 \wedge a = 0 \wedge b = 0 \wedge ep = 0 \wedge en = 1)$$

# Résolution du triplet $H_c$ et autres propriétés dynamiques

## Triplet du cycle cellulaire canonique $H_c$

{PRE}  $sk+; en-; sk+; a+; sk-; sk-; a+; en+; b+; en-; b+; ep+; a-; a-; b-; b-; ep-; en+$  {POST}

# Résolution du triplet $H_c$ et autres propriétés dynamiques

## Triplet du cycle cellulaire canonique $H_c$

{PRE} *sk+*; *en-*; *sk+*; *a+*; *sk-*; *sk-*; *a+*; *en+*; *b+*; *en-*; *b+*; *ep+*; *a-*; *a-*; *b-*; *b-*; *ep-*; *en+* {POST}

- D'autres propriétés du cycle en CTL :
  - $\varphi_1$  : blocage en phase de quiescence
  - $\varphi_2$  : insensibilité aux facteurs de croissance

# Résolution du triplet $H_c$ et autres propriétés dynamiques

## Triplet du cycle cellulaire canonique $H_c$

{PRE}  $sk+; en-; sk+; a+; sk-; sk-; a+; en+; b+; en-; b+; ep+; a-; a-; b-; b-; ep-; en+$  {POST}

- D'autres propriétés du cycle en CTL :
  - $\varphi_1$  : blocage en phase de quiescence
  - $\varphi_2$  : insensibilité aux facteurs de croissance
- Si aucune identification de paramètres alors  $> 7 \times 10^{18}$  modèles



# Résolution du triplet $H_c$ et autres propriétés dynamiques

## Triplet du cycle cellulaire canonique $H_c$

{PRE}  $sk+; en-; sk+; a+; sk-; sk-; a+; en+; b+; en-; b+; ep+; a-; a-; b-; b-; ep-; en+$  {POST}

- D'autres propriétés du cycle en CTL :
  - $\varphi_1$  : blocage en phase de quiescence
  - $\varphi_2$  : insensibilité aux facteurs de croissance
- Si aucune identification de paramètres alors  $> 7 \times 10^{18}$  modèles
- Résolution de  $H_c \wedge \varphi_1 \wedge \varphi_2$  avec TotemBioNet : **32 modèles**

# Résolution du triplet $H_c$ et autres propriétés dynamiques

## Triplet du cycle cellulaire canonique $H_c$

{PRE}  $sk+; en-; sk+; a+; sk-; sk-; a+; en+; b+; en-; b+; ep+; a-; a-; b-; b-; ep-; en+$  {POST}

- D'autres propriétés du cycle en CTL :
  - $\varphi_1$  : blocage en phase de quiescence
  - $\varphi_2$  : insensibilité aux facteurs de croissance
- Si aucune identification de paramètres alors  $> 7 \times 10^{18}$  modèles
- Résolution de  $H_c \wedge \varphi_1 \wedge \varphi_2$  avec TotemBioNet : **32 modèles**
- Un paramètre booléen identifié *a posteriori* à partir de la littérature.

# Résolution du triplet $H_c$ et autres propriétés dynamiques

## Triplet du cycle cellulaire canonique $H_c$

{PRE}  $sk+; en-; sk+; a+; sk-; sk-; a+; en+; b+; en-; b+; ep+; a-; a-; b-; b-; ep-; en+$  {POST}

- D'autres propriétés du cycle en CTL :
  - $\varphi_1$  : blocage en phase de quiescence
  - $\varphi_2$  : insensibilité aux facteurs de croissance
- Si aucune identification de paramètres alors  $> 7 \times 10^{18}$  modèles
- Résolution de  $H_c \wedge \varphi_1 \wedge \varphi_2$  avec TotemBioNet : **32 modèles**
- Un paramètre booléen identifié *a posteriori* à partir de la littérature.

**16 modèles à soumettre à la vérification des checkpoints**

## Qu'est-ce qu'un checkpoint ?

### Un checkpoint en langage courant

- **Tous les événements d'une phase doivent avoir lieu avant le début de la phase suivante.**
- L'intégrité de l'ADN est menacée si tous les événements au sein d'une phase ne sont pas réalisés (e.g. en G1, S, G2 et M).

## Qu'est-ce qu'un checkpoint ?

### Un checkpoint en langage courant

- **Tous les événements d'une phase doivent avoir lieu avant le début de la phase suivante.**
  - L'intégrité de l'ADN est menacée si tous les événements au sein d'une phase ne sont pas réalisés (e.g. en G1, S, G2 et M).
- 
- Checkpoints G1/S et S/G2 : entrée et fin de *réplication* (S)
  - Checkpoints G2/M et M/G1 : entrée et fin de *mitose* (M)

# Qu'est-ce qu'un checkpoint ?

## Un checkpoint en langage courant

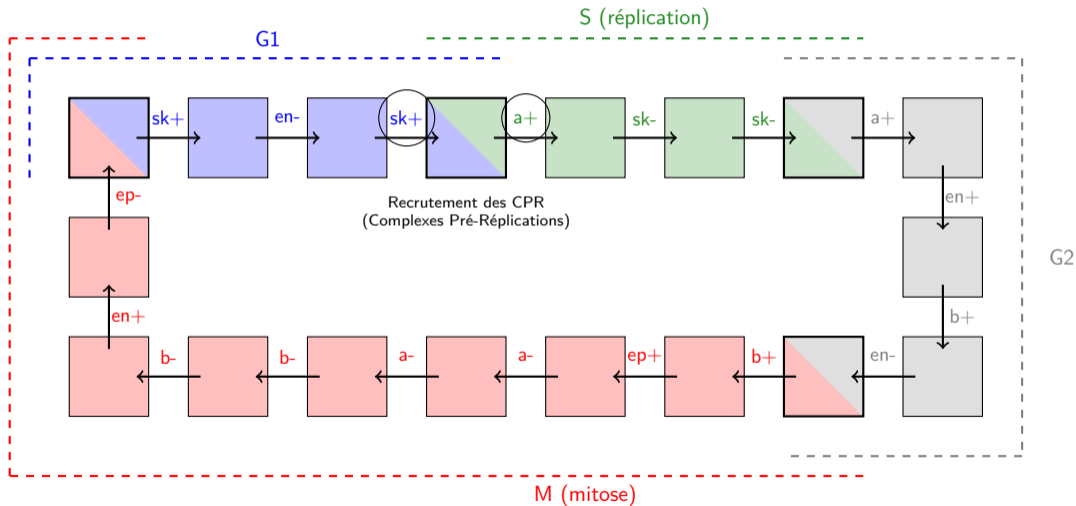
- **Tous les événements d'une phase doivent avoir lieu avant le début de la phase suivante.**
- L'intégrité de l'ADN est menacée si tous les événements au sein d'une phase ne sont pas réalisés (e.g. en G1, S, G2 et M).

- Checkpoints G1/S et S/G2 : entrée et fin de *réplication* (S)
- Checkpoints G2/M et M/G1 : entrée et fin de *mitose* (M)

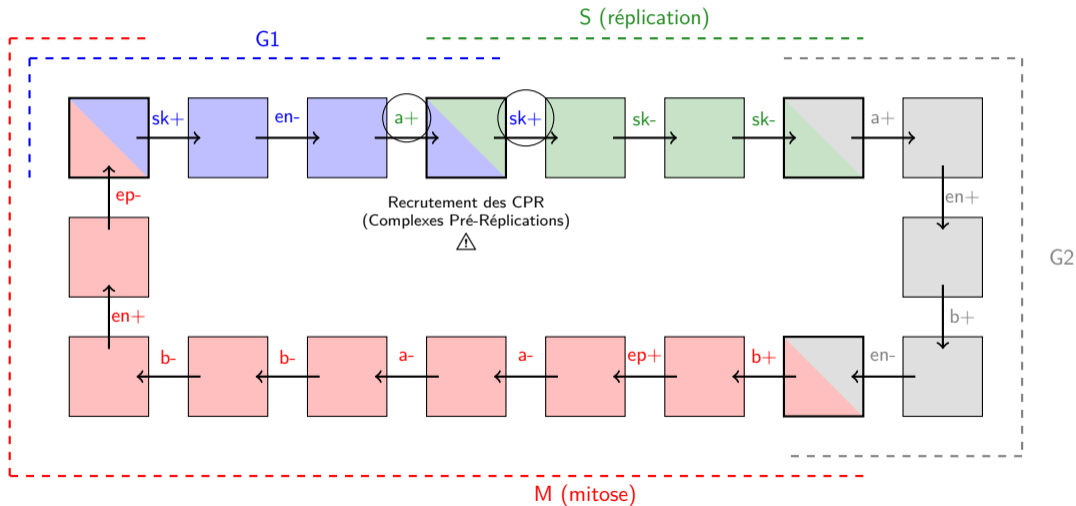
## Contexte

AG( $p53 = 0$ ) : pas d'altération physique de l'ADN (cassure, mutation)

# Qu'est-ce qu'un checkpoint ?



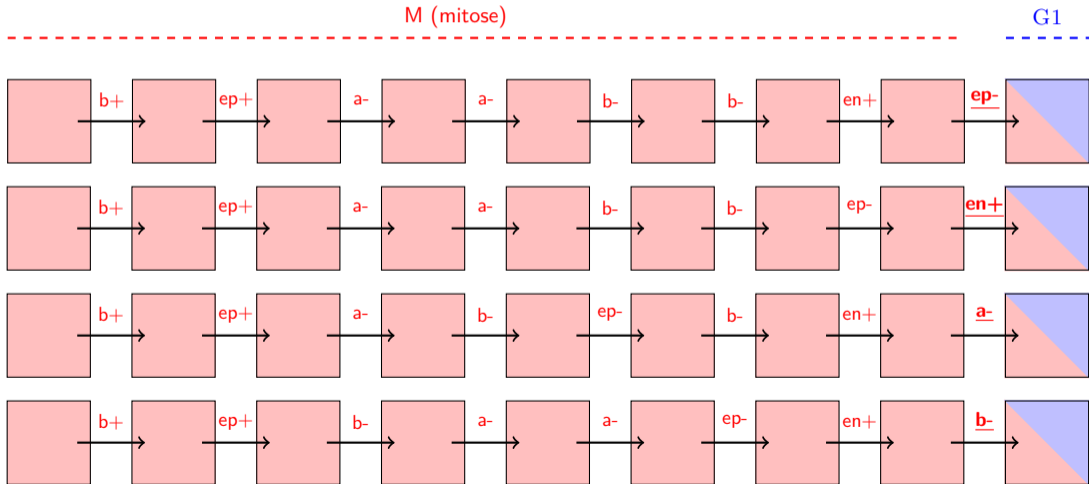
# Qu'est-ce qu'un checkpoint ?





# Permutations autorisées d'événements au sein d'une phase

L'ordre des événements à l'intérieur des phases est partiellement connu : exemple en phase M



# Spécification d'un checkpoint du cycle cellulaire

## Le prédicat *checkpoint*

$$\forall X, \forall Y, \text{peutClore}(X, p_i) \wedge \text{peutInitier}(Y, p_{i+1}) \implies \text{estRequis}(X, Y)$$

## Les prédicats *peutClore* et *peutInitier*

- $\text{peutClore}(X, p) \iff \exists p' \in \text{permutations}(p) \mid (\text{wp}(\{\text{init}_p\} p' \{\text{final}_p\}) \wedge X = \text{dernier}(p'))$
- $\text{peutInitier}(Y, p) \iff \exists p' \in \text{permutations}(p) \mid (\text{wp}(\{\text{init}_p\} p' \{\text{final}_p\}) \wedge Y = \text{premier}(p'))$

**wp** : weakest precondition

# Implémentation de *peutClore* et *peutInitier* en Prolog

## Les prédicats *peutClore* et *peutInitier*

- $\text{peutClore}(X, p) \iff \exists p' \in \text{permutations}(p) \mid (\text{wp}(\{\text{init}_p\} p' \{\text{final}_p\}) \wedge X = \text{dernier}(p'))$
- $\text{peutInitier}(Y, p) \iff \exists p' \in \text{permutations}(p) \mid (\text{wp}(\{\text{init}_p\} p' \{\text{final}_p\}) \wedge Y = \text{premier}(p'))$

Phase	Liste des événements	État initial de la phase	peutInitier (Liste, Y)	peutClore(Liste, X)
<b>G1</b>	[sk+, en-, sk+]	sk=0, ep=0, a=0, b=0, en=1	Y=[sk+]	X=[sk+]
<b>S</b>	[a+, sk-, sk-]	sk=2, ep=0, a=0, b=0, en=0	Y=[a+]	X=[sk-]
<b>G2</b>	[a+, en+, b+, en-]	sk=0, ep=0, a=1, b=0, en=0	Y=[a+]	X=[en-]
<b>M</b>	[b+, ep+, a-, a-, b-, b-, en+, ep-]	sk=0, ep=0, a=2, b=1, en=0	Y=[b+]	X=[a-, b-, en+, ep-]

## Enrichissement du triplet du cycle cellulaire : 33 chemins admissibles

 $H'_C$  : le triplet qui remplace  $H_C$ 

{PRE}

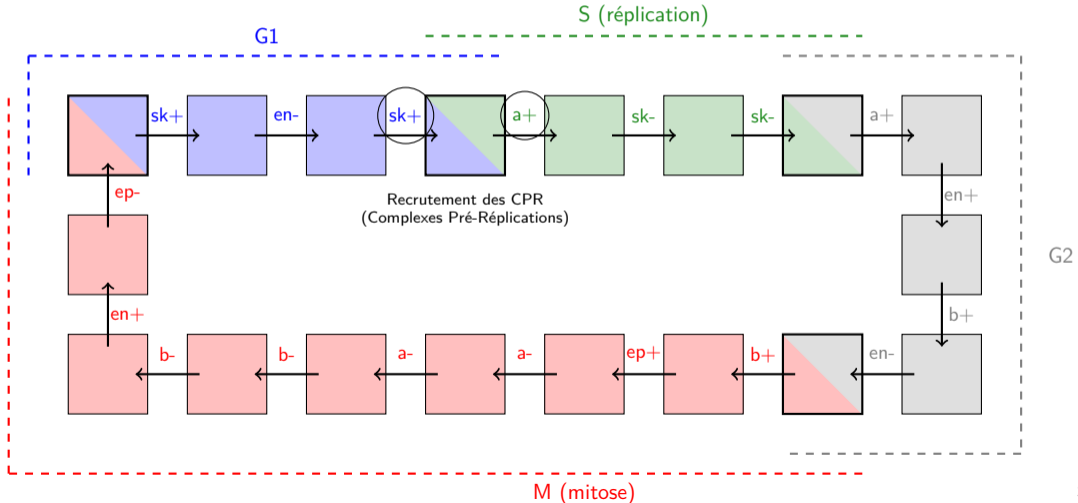
 $sk+; en-; sk+;$  $a+; sk-; sk-;$  $a+; en+; b+; en-;$ 

$Exists((b+; ep+; a-; a-; b-; b-; ep-; en+), (b+; ep+; a-; a-; b-; ep-; b-; en+), (b+; ep+; a-; b-; a-; b-; ep-; en+)$   
 $(b+; ep+; a-; a-; b-; en+; b-; ep-), (b+; ep+; a-; a-; en+; b-; b-; ep-), (b+; ep+; a-; b-; a-; b-; en+; ep-)$   
 $(b+; ep+; a-; b-; a-; en+; b-; ep-), (b+; ep+; b-; a-; b-; a-; en+; ep-), (b+; ep+; b-; a-; b-; en+; a-; ep-)$   
 $(b+; ep+; a-; b-; b-; a-; en+; ep-), (b+; ep+; b-; a-; a-; b-; en+; ep-), (b+; ep+; a-; b-; b-; en+; a-; ep-)$   
 $(b+; ep+; b-; a-; a-; en+; b-; ep-), (b+; ep+; a-; a-; b-; b-; en+; ep-), (b+; ep+; a-; a-; b-; ep-; en+; b-)$   
 $(b+; ep+; a-; a-; en+; b-; ep-; b-), (b+; ep+; b-; a-; a-; en+; ep-; b-), (b+; ep+; a-; a-; en+; ep-; b-; b-)$   
 $(b+; ep+; a-; b-; a-; en+; ep-; b-), (b+; ep+; b-; a-; a-; ep-; en+; b-), (b+; ep+; a-; b-; a-; ep-; en+; b-)$   
 $(b+; ep+; a-; a-; b-; en+; ep-; b-), (b+; ep+; a-; b-; a-; ep-; b-; en+), (b+; ep+; b-; a-; b-; a-; ep-; en+)$   
 $(b+; ep+; a-; b-; b-; a-; ep-; en+), (b+; ep+; b-; a-; a-; b-; ep-; en+), (b+; ep+; b-; a-; a-; ep-; b-; en+)$   
 $(b+; ep+; a-; b-; b-; en+; ep-; a-), (b+; ep+; a-; b-; b-; ep-; en+; a-), (b+; ep+; a-; b-; ep-; b-; en+; a-)$   
 $(b+; ep+; b-; a-; b-; en+; ep-; a-), (b+; ep+; b-; a-; b-; ep-; en+; a-), (b+; ep+; b-; a-; ep-; b-; en+; a-)$

{POST}

# Spécification d'un checkpoint du cycle cellulaire

Tous les événements d'une phase doivent avoir lieu avant le début de la phase suivante.



# Spécification d'un checkpoint du cycle cellulaire

## Le prédicat *estRequis*

- $X = x +$  ou  $x -$
- $Y = y +$  ou  $y -$
- $\eta_{avant}$  = état du cycle cellulaire tel que état de  $y$  avant l'événement  $X$
- $\eta_{après}$  = état de  $y$  après l'événement  $X$
- $\omega_{avant}$  = ressources de  $y$  dans  $\eta_{avant}$
- $\omega_{après}$  = ressources de  $y$  dans  $\eta_{après}$
- **$estRequis(X, Y) \iff (K_{y, \omega_{avant}} - \eta_{avant}) \times (K_{y, \omega_{après}} - \eta_{après}) \leq 0$**

# Spécification d'un checkpoint du cycle cellulaire

## Le prédicat *estRequis*

- $X = x +$  ou  $x -$
- $Y = y +$  ou  $y -$
- $\eta_{avant}$  = état du cycle cellulaire tel que état de  $y$  avant l'événement  $X$
- $\eta_{après}$  = état de  $y$  après l'événement  $X$
- $\omega_{avant}$  = ressources de  $y$  dans  $\eta_{avant}$
- $\omega_{après}$  = ressources de  $y$  dans  $\eta_{après}$
- **$estRequis(X, Y) \iff (K_{y, \omega_{avant}} - \eta_{avant}) \times (K_{y, \omega_{après}} - \eta_{après}) \leq 0$**

# Vérification des checkpoints du cycle cellulaire

## Prototype CalculCheckpoint

- automatise le calcul du prédicat *checkpoint*,
- implémenté en Prolog,
- prend en entrée un modèle, le triplet  $H_c$  initial, et un des 4 checkpoints.

Checkpoint	Évaluation	Paramètre(s) identifié(s)	Temps d'exécution <sup>1</sup>
G1/S	True	$K_{a,\{enIniOrMit\}} = 0$	1.9s
S/G2	True	-	11s
G2/M	True	-	1h10min
M/G1	False	-	1h12min

<sup>1</sup>SWI-Prolog v7.2.3, Intel Core i7-8650U processor, 1.90GHz, 8 cores.



## Vérification des checkpoints du cycle cellulaire

Le checkpoint M/G1 n'est satisfait par aucun modèle

- $\forall X, \forall Y, \text{peutClare}(X, M) \wedge \text{peutInitier}(Y, G1) \Rightarrow \text{estRequis}(X, Y)$

## Vérification des checkpoints du cycle cellulaire

Le checkpoint M/G1 n'est satisfait par aucun modèle

- $\forall X, \forall Y, \text{peutClare}(X, M) \wedge \text{peutInitier}(Y, G1) \Rightarrow \text{estRequis}(X, Y)$
- $X = [ep-, b-, en+, a-], Y = [sk+]$

# Vérification des checkpoints du cycle cellulaire

Le checkpoint M/G1 n'est satisfait par aucun modèle

- $\forall X, \forall Y, \text{peutClore}(X, M) \wedge \text{peutInitier}(Y, G1) \Rightarrow \text{estRequis}(X, Y)$
- $X = [ep-, b-, en+, a-], Y = [sk+]$
- $\text{estRequis}(X, Y) \Leftrightarrow C_{M/G1}$

$$C_{M/G1} : (K_{sk, \{a\_ini\_sk, c46d\_E2F\_act\}} - 0) \times (K_{sk, \{a\_ini\_sk, c46d\_E2F\_act\}} - 0) \leq 0 \wedge$$

$$(K_{sk, \{a\_ini\_sk, c46d\_E2F\_act\}} - 0) \times (K_{sk, \{a\_ini\_sk, c46d\_E2F\_act, en\_ini\_sk\}} - 0) \leq 0 \wedge$$

$$(K_{sk, \{a\_ini\_sk, c46d\_E2F\_act\}} - 0) \times (K_{sk, \{c46d\_E2F\_act\}} - 0) \leq 0$$

# Vérification des checkpoints du cycle cellulaire

Le checkpoint M/G1 n'est satisfait par aucun modèle

- $\forall X, \forall Y, \text{peutClore}(X, M) \wedge \text{peutInitier}(Y, G1) \Rightarrow \text{estRequis}(X, Y)$
- $X = [ep-, b-, en+, a-], Y = [sk+]$
- $\text{estRequis}(X, Y) \Leftrightarrow C_{M/G1}$

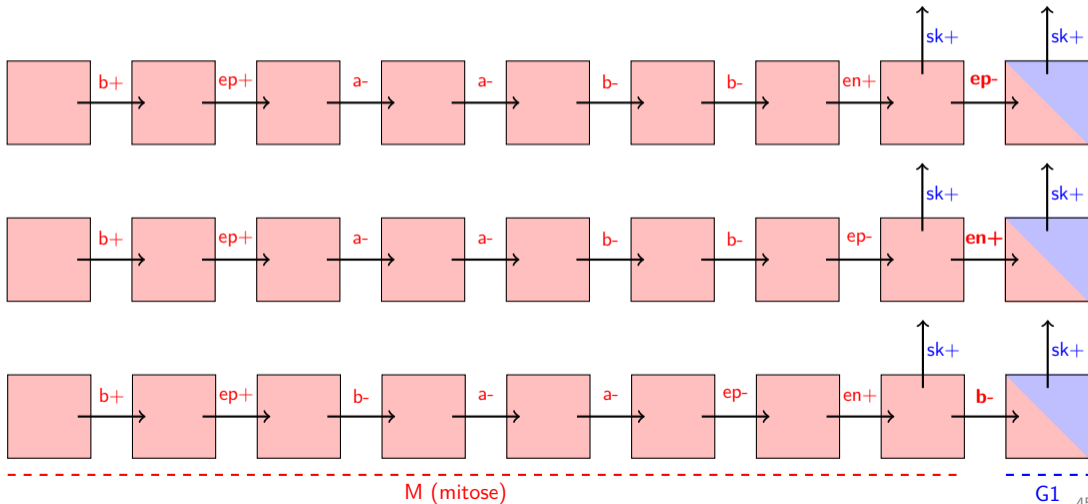
$$C_{M/G1} : (K_{sk, \{a\_ini\_sk, c46d\_E2F\_act\}} - 0) \times (K_{sk, \{a\_ini\_sk, c46d\_E2F\_act\}} - 0) \leq 0 \wedge$$

$$(K_{sk, \{a\_ini\_sk, c46d\_E2F\_act\}} - 0) \times (K_{sk, \{a\_ini\_sk, c46d\_E2F\_act, en\_ini\_sk\}} - 0) \leq 0 \wedge$$

$$(K_{sk, \{a\_ini\_sk, c46d\_E2F\_act\}} - 0) \times (K_{sk, \{c46d\_E2F\_act\}} - 0) \leq 0$$

# Le checkpoint M/G1 n'est satisfait par aucun modèle

$estRequis(X, Y) \leftarrow false$  : les événements  $ep-$ ,  $b-$  et  $en+$  (en M) ne sont pas requis avant  $sk+$  (en G1).



# M/G1 n'est pas un checkpoint au sens du prédicat

## Le triplet alternatif du cycle cellulaire $H''_C$

{sk = 1, a = 0, b = 0, ep = 0, en = 1}

en-; sk+;

a+; sk-; sk-;

a+; en+; b+; en-;

*Exists*((b+; ep+; a-; a-; b-; b-; ep-; sk+; en+), (b+; ep+; a-; a-; b-; ep-; b-; sk+; en+), (b+; ep+; a-; a-; b-; b-; en+; sk+; ep-)  
 (b+; ep+; a-; a-; b-; en+; b-; sk+; ep-), (b+; ep+; a-; a-; en+; b-; b-; sk+; ep-), (b+; ep+; a-; b-; a-; b-; en+; sk+; ep-),  
 (b+; ep+; a-; b-; a-; en+; b-; sk+; ep-), (b+; ep+; b-; a-; b-; a-; en+; sk+; ep-), (b+; ep+; b-; a-; b-; en+; a-; sk+; ep-),  
 (b+; ep+; a-; b-; b-; a-; en+; sk+; ep-), (b+; ep+; b-; a-; a-; b-; en+; sk+; ep-), (b+; ep+; a-; b-; b-; en+; a-; sk+; ep-)  
 (b+; ep+; b-; a-; a-; en+; b-; sk+; ep-), (b+; ep+; a-; a-; b-; en+; ep-; sk+; b-), (b+; ep+; a-; a-; b-; ep-; en+; sk+; b-)  
 (b+; ep+; a-; a-; en+; b-; ep-; sk+; b-), (b+; ep+; b-; a-; a-; en+; ep-; sk+; b-), (b+; ep+; a-; a-; en+; ep-; b-; sk+; b-)  
 (b+; ep+; a-; b-; a-; en+; ep-; sk+; b-), (b+; ep+; b-; a-; a-; ep-; en+; sk+; b-), (b+; ep+; a-; b-; a-; ep-; en+; sk+; b-)  
 (b+; ep+; a-; b-; a-; b-; ep-; sk+; en+), (b+; ep+; a-; b-; a-; ep-; b-; sk+; en+), (b+; ep+; b-; a-; b-; a-; ep-; sk+; en+)  
 (b+; ep+; a-; b-; b-; a-; ep-; sk+; en+), (b+; ep+; b-; a-; a-; b-; ep-; sk+; en+), (b+; ep+; b-; a-; a-; ep-; b-; sk+; en+)

{sk = 1, a = 0, b = 0, ep = 0, en = 1}

- En G1 et M, sk+ (0 → 1) est associé au passage du point de restriction.
- Aucune donnée de la littérature en contradiction.

# Résumé

## Formalisation discrète du cycle cellulaire

- $H'_c$  et  $H_c''$  : succession des événements de régulation des Cdks/Cycs et leurs inhibiteurs.
- Tous les chemins admissibles par la littérature (observés et non réfutés) sont inclus.

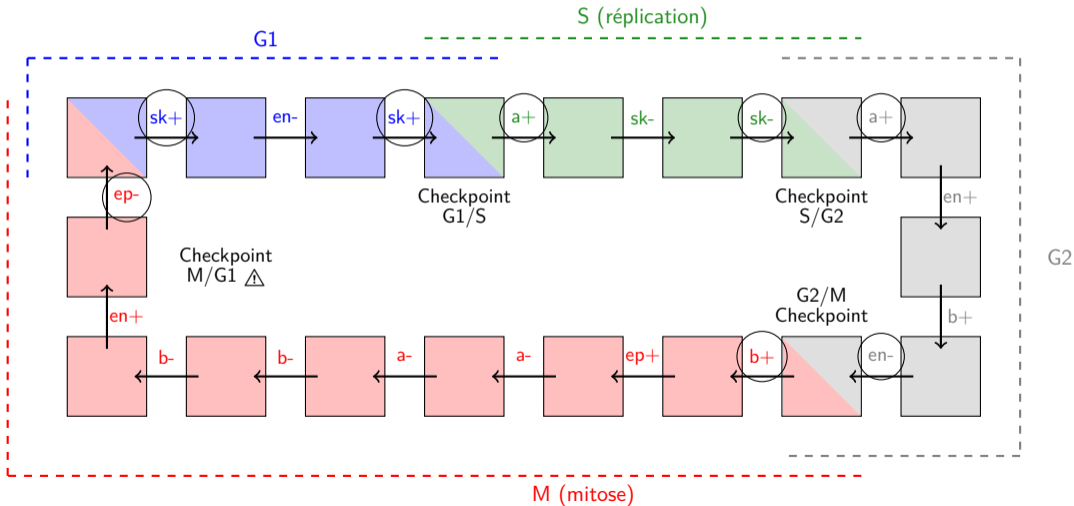
## Formalisation discrète des checkpoints

La permutation de deux événements est :

- **autorisée** s'ils appartiennent à la même phase,
- **interdite** si le premier événement peut clore une phase et le second peut initier la phase suivante.

# Résumé

**8/16** modèles vérifient les checkpoints G1/S, G2/M, S/G2, **0/16** modèle vérifie le checkpoint M/G1.





# Résumé

## Perspectives de modélisation

- Relocalisation du checkpoint M/G1 qui tel que défini n'est pas un checkpoint.

# Résumé

## Perspectives de modélisation

- Relocalisation du checkpoint M/G1 qui tel que défini n'est pas un checkpoint.
- Vérification de l'*irréversibilité* des passages de checkpoints.

# Résumé

## Perspectives de modélisation

- Relocalisation du checkpoint M/G1 qui tel que défini n'est pas un checkpoint.
- Vérification de l'*irréversibilité* des passages de checkpoints.
- Vers une définition logique des *phases* à plus faible contrainte.

# Résumé

## Perspectives de modélisation

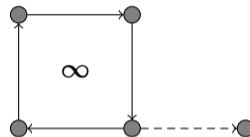
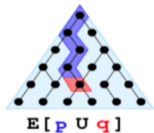
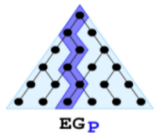
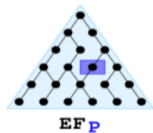
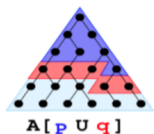
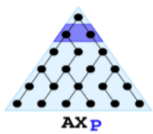
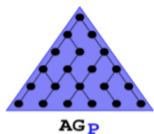
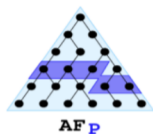
- Relocalisation du checkpoint M/G1 qui tel que défini n'est pas un checkpoint.
- Vérification de l'*irréversibilité* des passages de checkpoints.
- Vers une définition logique des *phases* à plus faible contrainte.
- Vérification de blocages de *phase* dans le contexte  $AG(p_{53} = 1)$

# Résumé

## Perspectives de modélisation

- Relocalisation du checkpoint M/G1 qui tel que défini n'est pas un checkpoint.
- Vérification de l'*irréversibilité* des passages de checkpoints.
- Vers une définition logique des *phases* à plus faible contrainte.
- Vérification de blocages de *phase* dans le contexte  $AG(p_{53} = 1)$
- Le couplage cycle cellulaire - métabolisme - horloge circadienne et l'intégrité des checkpoints (Chen Z., *et al.*, Science, 2007).

# Annexe 1 - CTL et fair-path CTL



- $p$  and  $q$  two properties
- Temporal modalities made up of 2 letters : a *quantifier* and a *temporal operator*
- **Quantifiers:** A,E, **Temporal operators:** F,G,X,U

## Annexe 2 - Le cycle cellulaire en privation de facteurs de croissance

## Contexte

**AG(gf = 0)** : constante privation de facteur de croissance

## Blocage en phase de quiescence

$\varphi_1 : (G_0 \wedge \mathbf{AG}(gf = 0)) \Rightarrow AG(G_0)$

où  $G_0$  spécifie l'état  $sk = 0, ep = 0, a = 0, b = 0, en = 1, gf = 0, p_{53} = 0$

## Insensibilité aux facteurs de croissance en G1 tardif

$\varphi_2 : \{G1_{tardif}\} en-; sk+; a+; sk-; sk-; a+; en+; b+; en-; b+; ep+; a-; a-; b-; b-; en+; ep- \{G_0\}$

où  $G1_{tardif}$  spécifie l'état  $sk = 1, ep = 0, a = 0, b = 0, en = 1, gf = 0, p_{53} = 0$ .