



HAL
open science

Étude de modèles mathématiques issus de la biologie du cycle cellulaire et de la dynamique des protéines

Laurent Pujo-Menjouet

► **To cite this version:**

Laurent Pujo-Menjouet. Étude de modèles mathématiques issus de la biologie du cycle cellulaire et de la dynamique des protéines. Systèmes dynamiques [math.DS]. Université Claude Bernard Lyon 1 - Institut Camille Jordan, 2016. tel-01411371

HAL Id: tel-01411371

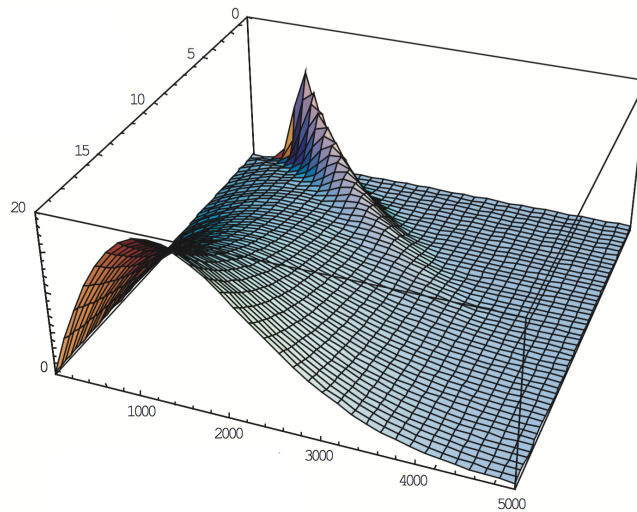
<https://inria.hal.science/tel-01411371>

Submitted on 7 Dec 2016

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Étude de modèles mathématiques issus de la biologie du cycle cellulaire et de la dynamique des protéines



Laurent Pujo-Menjouet

Habilitation à diriger des recherches

Université Claude Bernard Lyon 1
École doctorale **InfoMath**, ED 512
Spécialité : **Mathématiques**
N. d'ordre 051–2016

Étude de modèles mathématiques issus de la biologie du cycle cellulaire et de la dynamique des protéines

Habilitation à diriger des recherches

Soutenue publiquement le 2 décembre 2016 par

Laurent Pujo-Menjouet

devant le Jury composé de :

M. Mostafa Adimy	DR Inria, Lyon	Examineur
M. Pierre Auger	DR IRD, Paris	Rapporteur
Mme Sylvie Benzoni-Gavage	PU, UCB Lyon 1	Examinatrice
Mme Florence Hubert	MCF, HDR, U. Aix-Marseille	Rapporteuse
M. Philip Maini	PR, Oxford, UK	Rapporteur
M. Human Rezaei	DR, Inra, Jouy-en-Josas	Examineur

à Laurent,
avec qui j'ai l'énorme chance
de tout partager depuis 12 ans

Table des matières

Sommaire	1
1 Modélisation de la production sanguine	7
1.1 Travail de thèse : des mathématiques jusqu'à la moelle	9
1.2 Post-doctorat : leucémie et marqueurs cellulaires à Montréal	15
1.3 Maître de conférences : intégration au sein de l'équipe de recherche à Lyon	24
1.4 Conclusion du chapitre	36
2 Maladies à prions : histoires et modèles	39
2.1 Une brève histoire des maladies à prions	40
2.2 Les équations de polymérisation, coagulation et fragmentation	48
2.3 Les premiers modèles du prion	53
3 Travaux sur la dynamique du prion	61
3.1 Premier modèle	62
3.2 Un modèle avec diffusion	76
3.3 Vers la découverte des micelles chez les prions	85
4 Prion et Alzheimer	101
4.1 Maladie d'Alzheimer	102
4.2 Premier modèle Prion-Alzheimer	103
5 Transmettre, diffuser, découvrir et recommencer	111
5.1 Transmission	112
5.2 Diffusion	114
5.3 Découvrir	116

Liste des figures

1.1	Cycle cellulaire	10
1.2	Données cliniques de leucémie myéloïde chronique	16
1.3	Hématopoïèse : les différents lignages	17
1.4	Simulations pour la leucémie	19
1.5	Profil type par CFSE	20
1.6	Simulation de profil type par CFSE	22
1.7	Interface graphique de suivi par CFSE	23
1.8	Effet d’anémie provoquée chez des souris	25
1.9	Schéma de réaction après une anémie forcée	27
1.10	Simulation de la remontée d’hématocrite	29
1.11	Simulation de la remontée d’hématocrite	29
1.12	Simulation de la remontée d’hématocrite	30
1.13	Différents types de leucémies	31
1.14	Hématopoïèse par modèle individu-centré	33
1.15	Simulation de propagation de cellules cancéreuses	34
1.16	Représentation de la communication cellulaire	35
1.17	Version 2.0 du logiciel individu-centré	35
1.18	Deux articles dans la presse sur notre travail	36
2.1	Une brebis atteinte de tremblante	41
2.2	Creutzfeldt et Jakob	41
2.3	Cuillé et Chelle	42
2.4	Zigas et Gajdusek	43
2.5	Stanley Prusiner	44
2.6	Représentation schématique du modèle de Masel	59
3.1	Schéma du premier modèle	64
3.2	Évolution de la densité de distribution des polymères	69
3.3	Évolution de la longueur moyenne des polymères	70
3.4	Temps d’incubation en fonction des doses	71
3.5	Exemple de stabilité globale	72
3.6	Fragmentation de polymères par agitation	80
3.7	Évaluation du temps de latence	87
3.8	Dynamiques expérimentales similaires	88
3.9	Hétérogénéité des structures amyloïdes	89
3.10	Ensemencement successif	89

3.11	Hypothèse de polymorphisme amyloïde	90
3.12	Micelles et prions	91
3.13	Evolution en temps des micelles et des prions	92
3.14	Représentation d'une micelle	93
3.15	Représentation de la nucléation	94
3.16	Polymérisation et de la fragmentation	95
3.17	Micelles et prions	97
3.18	Simulations des micelles et des prions	98
3.19	T_{50} en fonction de la dose d'inoculum	98
4.1	Intéraction Prion-Alzheimer	104

Remerciements

*Sois reconnaissant envers tous, tous
t'enseignent*

Bouddha

En achevant ce manuscrit, je me suis aperçu que j'avais croisé le chemin d'un grand de personnes auprès de qui j'ai besoin d'exprimer une immense gratitude ici. Si certains ne sont plus de ce monde et d'autres se sont un peu éloignées, tous restent profondément ancrés au fond de moi et font partie de mon quotidien.

Il me serait bien impossible de hiérarchiser ma gratitude. Le seul moyen d'oublier le moins de personne possible est donc pour moi de procéder méthodiquement, en commençant par remercier tous ceux qui m'ont aidé dans ma vie professionnelle, et tous ceux qui m'ont accompagné et soutenu dans ma vie personnelle, la frontière entre les deux étant quelque fois assez floue. Je commence donc par les membres du jury. Lorsque j'ai envoyé un message à chacun d'eux pour leur demander s'ils acceptaient d'être présent en tant que membre du jury pour certains, et rapporteurs pour d'autres, tous, sans exception, ont répondu favorablement dans la journée et sans la moindre hésitation. Je les remercie chaleureusement pour ce geste touchant. Par ordre alphabétique, mon jury est composé de Mostafa Adimy, Pierre Auger, Sylvie Benzoni-Gavage, Florence Hubert, Philip Maini et Human Rezaei.

Mostafa Adimy a été mon co-directeur de thèse avec Ovide Arino. Je lui dois énormément tant au plan professionnel qu'au plan humain. Durant ma thèse déjà, il a tout fait avec Ovide Arino, pour que je puisse travailler dans les meilleures conditions possibles en étant toujours présent quand j'avais besoin de lui, et en m'encourageant continuellement pendant mes moments de doutes. Il m'a appris non seulement beaucoup d'un point de vue mathématique, mais surtout à être autonome, à faire des choix dans ma recherche, à contacter les bonnes personnes pour avancer et surtout à me préparer pour devenir chercheur. Durant mes séjours au Canada et aux États-Unis je n'ai jamais cessé de garder le contact avec Mostafa. Et c'est tout naturellement que j'étais plus qu'enthousiaste lors de l'annonce d'Inria de le faire venir à Lyon afin de créer et diriger l'équipe Dracula, qui possède, après très peu d'années seulement un très grand rayonnement international. C'est avec un plaisir quotidien que je retrouve Mostafa et son équipe dont je suis très fier de faire partie.

Je connais *Pierre Auger* depuis près de vingt ans. Collaborateur et ami d'Ovide Arino et de Mostafa Adimy, je l'ai croisé de très nombreuses fois durant ses visites à Lyon, ou lors de nombreuses conférences. Nous n'avons jamais collaboré dans la recherche, mais nous avons échangé souvent. Tous mes souvenirs sur Pierre, sont d'excellents souvenirs, de discussions avec Ovide Arino, quelque part dans un endroit de la planète où nous participions à des colloques. Ovide et Pierre ont été deux pionniers des mathématiques appliquées à la biologie et il était

tout à fait naturel pour moi non seulement de le solliciter pour faire partie de mon jury mais également d'être rapporteur de mon travail.

Je connais *Sylvie Benzoni-Gavage* depuis mon arrivée à Lyon en 2005. D'abord en tant que directrice de la licence, où elle m'a patiemment guidé dans les méandres de l'administration et de l'organisation de ma tâche d'enseignant. Je revenais de quatre années en Amérique du Nord et l'organisation de la licence avait bien changé durant cette période. Nous avons collaboré ensuite pour le cours de Calcul Différentiel dont elle était responsable. Je l'ai ensuite remplacée dans la responsabilité de ce cours en essayant de m'inspirer de ses notes et d'être aussi pédagogue qu'elle. Nous avons toujours échangé autant sur des questions pédagogiques que sur d'autres questions, principalement d'ordre administratives. Sylvie, directrice de notre laboratoire, l'*institut Camille Jordan* depuis janvier 2016, a toujours été d'excellent conseil, et d'un soutien sans faille pour trouver les solutions à mes problèmes.

Je connais *Florence Hubert* personnellement depuis moins de temps que les autres membres du jury, même si son nom et ses travaux revenaient assez fréquemment dans mes recherches bibliographiques. Nous avons pris le temps de discuter lors de la soutenance de thèse de Pauline Mazzocco, où nous étions membres du jury (et Florence rapporteure). L'intérêt de ses domaines de recherches, et les discussions que nous avons eues ensemble ont naturellement guidé ma décision de lui proposer d'être rapporteure de mon travail. Nous nous sommes revus à Marseille en octobre de cette année sur son invitation à donner un séminaire devant son groupe. Nous avons pu continuer nos discussions extrêmement intéressantes. J'espère que cet automne 2016 sera le début d'une longue collaboration.

This short paragraph will be in English. I can not say how much I am grateful to have *Philip Maini* in the jury of my habilitation. I have known Philip for almost 20 years now. Every time we have met, we spent a great time talking about life and research. And I can tell that Philip is of great advice for the both of them. Philip Maini is one of the most famous and pioneer researcher in mathematics applied to biology.

Le dernier membre de mon jury et non des moindres, est *Human Rezaei* que je connais depuis plus de trois ans maintenant. Un des biologistes les plus brillants de son domaine, il garde la simplicité des grands (comme tous les membres de ce jury d'ailleurs). Nous avons commencé à collaborer ensemble sur le prion, puis sur la relation entre le prion et la maladie d'Alzheimer. Tous nos échanges, sans exception, sont d'un très grand intérêt pour moi. Il n'y a pas une seule fois où je n'ai pas appris quelque chose à ses côtés. Doué d'un grand sens scientifique mais surtout humain, il sait s'entourer des meilleurs experts qui prennent tous beaucoup de plaisir et une fierté à travailler auprès de lui.

Les remerciements ne pourraient pas se poursuivre, sans mentionner les cinq professeurs qui ont compté le plus dans ma vie de chercheur. Ils ont été une source d'inspiration et d'exemple depuis le début. Véritables mentor, ils sont le modèle de professeur dont j'essaie de suivre les traces tant bien que mal. Ces professeurs sont : *Mostafa Adimy* qui me fait le grand honneur de participer au jury de ma soutenance ; *Ovide Arino*, parti en septembre 2003 bien trop tôt, et qui a été pour moi l'objet de ma révélation et d'enthousiasme pour la recherche ; *Michael C. Mackey*, qui m'a montré comment guider les étudiants, avoir cette vision paternaliste du métier et l'intérêt énorme de la communication étroite avec les biologistes ; *Glenn F. Webb*, véritable exemple pour moi d'humilité et de passion pour la recherche de cet expert, leader mondial dans son domaine et *Jianhong Wu* dont les conseils ont toujours un impact très fort dans les décisions que je dois prendre.

D'autres professeurs ont croisé mon chemin, ils seraient trop nombreux à citer ici. Il est tou-

tefois important de citer ici *Vitaly Volpert* et *Stéphane Génieys* qui sont à l'origine du groupe de mathématiques appliquées à la biologie de l'*institut Camille Jordan* et qui ont cru en moi pour le premier membre recruté de cette toute jeune équipe à l'époque. Même chose pour *Olivier Gandrillon*, biologiste qui a rejoint notre équipe très tôt et avec qui nous partageons une collaboration sans égale et *Jean-Pierre Liautard*, l'un de mes collaborateurs biologistes clés au début de mes recherches sur le prion.

Il y a évidemment tous les membres de l'équipe *Dracula* avec qui collaborer, discuter, partager est un plaisir constant. Parmi les membres permanents, il y a *Thomas Lepoutre*, *Philippe Michel*, *Céline Vial* (depuis peu), mais également *Samuel Bernard*, que je connais depuis le début de sa thèse à Montréal. Nous avons partagé le même bureau, les mêmes doutes, lui en tant que doctorant et moi en tant que post-doctorant. *Léon Matar Tine*, le dernier arrivé dans l'équipe, avec qui j'ai une immense joie de travailler à la fois sur la recherche mais également dans l'enseignement. Léon possède une véritable richesse de cœur qui éclabousse à la fois ses collègues et ses étudiants. Il y a enfin *Fabien Crauste*, avec qui j'ai le plus de points communs. Il vient de la même région que moi, a effectué ses études dans la même université, et a été dirigé par Mostafa Adimy comme moi pour sa thèse. Nous avons collaboré ensemble très tôt (il a même été l'un de mes premiers étudiants). Il fait partie du noyau dur des personnes dont la frontière entre la vie professionnelle et vie personnelle est assez floue et il a toujours été d'un soutien sans faille dans mes moments de doute.

Je pourrai remercier énormément de monde au sein de l'institut *Camille Jordan* également, des chercheurs avec qui je collabore ou avec qui j'ai collaboré pour la recherche, comme *Gabriela Ciuperca*, ou *Morgane Bergot*. Je tenais spécialement à remercier *Sorin Ciuperca*, qui partage mon bureau depuis mon arrivée à Lyon. Véritable collègue, nous avons passé énormément de temps à échanger sur nos vies, nos points de vue sur la pédagogie, nous avons d'ailleurs collaboré pour des cours communs et sur la recherche. Nous collaborons sur des projets communs depuis quelques années maintenant. C'est un véritable plaisir de partager mon bureau avec Sorin !

Je ne pourrai pas non plus ici remercier la soixantaine d'étudiants que j'ai encadrés. Je ne peux que mentionner mes étudiants en thèse, qui m'ont fait gagner beaucoup d'années d'expérience et de maturité, que ce soit Erwan Hingant, Romain Yvinec et Mohamed Helal, qui sont désormais respectivement, professeur au Chili, chercheur à l'Inra de Tours et directeur de département de mathématiques en Algérie. Mais il y a aussi *Aurélien Canet* et *Loïs Boullu*, mes deux étudiants en cours de thèse avec qui je partage énormément et qui m'apportent beaucoup.

Il y a également le soutien logistique et heureusement formidablement humain de nos assistantes que je remercie chaleureusement ici. Que ce soit *Maria* avec qui je travaille depuis le début, *Nabilla* et *Houda*, qui s'occupent ou se sont occupées de mes contrats, *Laurent* et *Vincent* pour l'informatique, *Caroline* à l'Inria, *Sandrine* et *Véronique* à l'Insa, *Louise* et *Delphine* pour la partie enseignement, *Betty* pour la logistique, *Carine* et *Séverine* pour les labex, *Rachel* et *Martine* pour certaines de mes missions et tous ceux qui n'ont été que de passage ou qui sont désormais à la retraite. Un merci particulier à *Jean-Louis*, présent dès le début et qui s'occupe de mon bureau comme un chef. Nous trouvons toujours un petit moment dans la matinée pour faire une pause et parler de la vie. Ce sont des moments très riches qui jalonnent mon quotidien depuis plus de 10 ans maintenant.

Je ne pourrais pas finir sans remercier ma famille de tout cœur ! Véritables soutiens de tous les jours ils accompagnent mes pensées au quotidien et sont ma force. Il y a bien entendu mon père André et ma mère Monique à qui je dois tout depuis le début. Ma grande sœur Françoise

et mon petit frère Philippe avec lesquels je garde une complicité sans faille. Mes deux neveux que j'adore, Thomas et Valentin. Mais il y a aussi Jeanine, Bruno et Marine qui ont agrandi ce cercle si précieux. Ce cercle qui s'est agrandi depuis plus de 12 ans maintenant, avec l'entrée de Laurent dans ma vie, celui auprès duquel je puis mes forces, véritable soutien sans faille, compagnon de vie si rare à trouver. Je l'ai trouvé, et je le garde précieusement auprès de moi. Il m'amène ma joie de vivre quotidienne et a apporté Mireille, Jordi, Stéphan et Julien avec lui, une deuxième famille sur qui je peux compter et qui partage mon existence depuis ces 12 belles années.

Préambule

Tous les modèles sont faux, certains sont utiles

George Box

Un bilan. Voilà à peu près ce que je vais essayer tout au long de ce manuscrit de retranscrire. Le bilan de mes 16 premières années d'enseignant chercheur après avoir soutenu ma thèse le 17 septembre 2001 en vue d'un doctorat en mathématiques appliquées.

Par ma formation de chercheur, je me suis tourné vers l'étude de problèmes mathématiques appliqués à la biologie et à la médecine. Mon travail est parfois très théorique et parfois très appliqué avec des collaborations biologiques fortes. Il possède toutefois un fil conducteur que j'essaie de suivre depuis le début, à savoir, tenter d'explorer le domaine en respectant autant que possible les hypothèses émises par les biologistes.

Dans ce manuscrit, je vais tenter de décrire brièvement mon parcours de recherche *sans toutefois entrer dans les détails techniques ni être exhaustif* sur tous les résultats. Il s'agit ici plutôt de donner une idée des choix des thématiques, des différentes collaborations et des principaux résultats trouvés au cours de mes années en tant que doctorant, post-doctorant, professeur assistant et maître de conférences. Plusieurs articles que j'ai publiés sont attachés à la fin de cet ouvrage, mais pas la totalité. La liste exhaustive de tous mes articles ainsi que les liens vers les fichiers *pdf* sont disponibles à l'adresse suivante :

<http://math.univ-lyon1.fr/~pujo/Publications2016.html>.

Étant donné que la quasi intégralité de mon parcours de recherche se décompose en deux sous-thématiques principales qui sont :

1. les mathématiques appliquées à la production et régulations des cellules sanguines dans la moelle osseuse,
2. les mathématiques appliquées aux maladies neurodégénératives,

il me semble plus clair de les séparer en deux grandes parties distinctes. Et plutôt que les développer toutes les deux de façon égales, j'ai délibérément choisi de développer la seconde, qui reflète non seulement, mon travail le plus récent, mais également le travail pour lequel j'ai été le plus autonome et où j'ai dirigé des équipes. Pour simplifier la lecture de ce manuscrit, je préfère donc consacrer entièrement trois chapitres 2, 3, 4 aux maladies neurodégénératives et seulement

un chapitre plus court sur la production sanguine et les maladies du sang (chapitre 1).

Le dernier chapitre, 5, quant à lui, retrace brièvement ma carrière d'enseignant à travers mes différentes missions d'enseignement, d'encadrement et de diffusion (grand public et conférences de recherche).

Tous ces chapitres couvrent ainsi, il me semble, l'étendue de mes activités de ces premières années d'enseignement et de recherche. Ils me permettent également de prendre du recul, faire un point sur mon travail effectué jusqu'à maintenant ainsi que les directions de mes futures activités de formation et de recherche.

Un bilan. Si je peux résumer mes années d'enseignant-chercheur en chiffres, voici à peu près ce que cela donne :

- a) **2** années de post-doctorat à l'université McGill, Montréal, Canada,
- b) **2** années en tant que professeur assistant à l'université Vanderbilt, Nashville, États-Unis,
- c) **12** années en tant que maître de conférences à l'université Claude Bernard Lyon1,
- d) **85** conférences, colloques, interventions, séminaires,
- e) **13** stages et séjours de recherche,
- f) **28** collaborations avec des journaux de recherche,
- g) **3** collaborations en tant que membre de l'*editorial board*,
- h) **6** contrats de recherches (allant de 2 000 euros à 145 000 euros),
- i) **54** étudiants encadrés (de la deuxième année de licence à la thèse),
- j) **30** articles publiés,
- k) et **1** grand enthousiasme pour continuer tout cela pour quelques années encore,

Tous les points forts se trouvent dans ce qui suit, certains détails sur mon CV, et la totalité sur mon site web.

<http://math.univ-lyon1.fr/~pujo/>.

Chapitre 1

Modélisation de la production sanguine

Bon sang ne saurait mentir

Proverbe Populaire

Sommaire

1.1	Travail de thèse : des mathématiques jusqu'à la moelle	9
1.1.1	Modèle à division symétrique et retard discret	10
1.1.2	Modèle à division symétrique et retard continue dépendant de la maturité	13
1.1.3	Modèle à division asymétrique et retard discret	13
1.1.4	Bilan du travail de thèse	15
1.2	Post-doctorat : leucémie et marqueurs cellulaires à Montréal	15
1.2.1	Étude de la leucémie myéloïde chronique	16
1.2.2	Se démarquer avec des marqueurs	19
1.2.3	Retour en France	23
1.3	Maître de conférences : intégration au sein de l'équipe de recherche à Lyon	24
1.3.1	Equations à retard et érythropoïèse de stress	24
1.3.2	Étude clinique de la leucémie aiguë	30
1.3.3	Étude de l'hématopoïèse par une approche individu-centrée	32
1.4	Conclusion du chapitre	36

Ce chapitre est consacré à mes premières années de recherche dédiées à l'étude de la production de cellules sanguines et à certains dérèglements aboutissant à des pathologies parfois incurables comme les leucémies. J'ai souhaité un développement chronologique permettant de suivre l'évolution de mes travaux dans ce domaine, et les rencontres qui m'ont poussées à développer les thématiques que j'aborde ici.

Il s'articule autour de trois parties distinctes :

1. rappel succinct de mes travaux théoriques de thèse sur l'étude d'équations de transport à retards décrivant les dynamiques de population cellulaires,
2. étude un peu moins théorique mais plus technique effectuée pendant mon post-doctorat essayant de répondre à des problématiques directement liées à la biologie,
3. description de la continuité des travaux post-doctoraux effectués durant mes premières années de maître de conférences à Lyon.

Avant toute chose, rappelons brièvement le mécanisme biologique de l'hématopoïèse (voir [199]) et les références dans ce papier, pour les détails, puis les différentes sections ci-dessous pour des spécificités sur chaque maladie). Les cellules sanguines sont formées dans la moelle osseuse. Elles sont toutes issues des mêmes ancêtres encore actives, appelées cellules souches qui ont la faculté de se renouveler. Ces cellules sont à l'origine de deux lignages : la branche lymphoïde et la branche myéloïde.

- **La branche lymphoïde** donne naissance aux lymphocytes T et B, qui finissent leur maturation ailleurs que dans la moelle osseuse (dans le thymus par exemple pour les lymphocytes T). C'est une des raisons qui font que je n'ai pas étudié ce lignage dans mes modèles. Il est par contre étudié par des collègues de mon équipe, qui sont plus orientés dans la recherche sur le comportement du système immunitaire. Mes travaux portant sur les pathologies liées à la production sanguine, je me suis plutôt focalisé sur le deuxième lignage, à savoir la branche myéloïde.

-**La branche myéloïde** : cette dernière est constituée de trois lignées distinctes : la lignée rouge (pour les globules rouges), la lignée mégacaryocytaire (pour les plaquettes) et la lignée blanche (pour les globules blancs). Chaque lignée est composée de cellules progénitrices dont la maturité croît en fonction de leurs divisions dans la moelle osseuse. Ces cellules progénitrices peuvent ainsi se diviser et se différencier pour rejoindre le groupe des précurseurs. La division peut s'effectuer de façon symétrique (ce que nous considérerons la plupart du temps), c'est à dire que la cellule mère donne naissance à deux cellules filles jumelles, partageant la même quantité de protéines par exemple) ou asymétrique (la cellule mère donne naissance à deux cellules filles qui se répartissent le contenu de la mère de façon inégale). Dans ce groupe, les cellules ne se divisent plus, elles ne font que se différencier un peu plus en acquérant de la maturité. Arrivées à leur terme, elles quittent la moelle osseuse pour rejoindre la circulation sanguine (voir la figure 1.3 pour une illustration de ces lignées).

Le destin des cellules est le suivant :

1. *les cellules souches* peuvent se diviser en s'auto-renouvelant (division symétrique ou non en deux cellules identiques) ou en donnant des cellules progénitrices plus matures ou elles peuvent mourir par apoptose. Une fois passée la phase de prolifération, elles rejoignent en général la phase de repos où elles peuvent également se différencier, y mourir, ou repartir se diviser de nouveau (voir la section 1.3.3),

2. *les cellules progénitrices* ne peuvent normalement pas se renouveler (sauf cas exceptionnel évoqué dans la section 1.3.1), mais elles se divisent de façon symétrique ou non, ou mourir par apoptose. Comme les cellules souches, après la phase de prolifération, elles partent en phase de repos,
3. *les cellules précurseurs* quant à elles ne peuvent que vieillir, se différencier pour rejoindre la circulation sanguine, ou mourir par apoptose.

Chacune des lignées myéloïde est régulée par un ou plusieurs facteurs de croissance. Un des plus connus est l'érythropoïétine (EPO) pour les globules rouges, mais il en existe pour les plaquettes (thrombopoïétine ou TPO) et pour les globules blancs (granulocyte-stimulating factor ou G-CSF). Ce sont ces régulations qui nous offrent un rétro-contrôle non-linéaire dans nos modèles. Ils jouent selon moi un rôle important à la fois dans la stabilité de la population, comme son instabilité. C'est ce que nous allons explorer tout au long de ce chapitre.

Commençons tout d'abord par rappeler quelques résultats de mes travaux de thèse qui ont conduit à mes choix de recherche post-doctoraux par la suite.

1.1 Travail de thèse : des mathématiques jusqu'à la moelle

Depuis 1996 et le début de mon travail de thèse de doctorat, je m'intéresse aux problèmes de *la production sanguine ou hématopoïèse*. A commencer par ma thèse [197], qui est principalement consacrée à l'analyse mathématique de modèles de cycles cellulaires structurés en âge et maturité qui généralisent les modèles existants sur les problèmes d'anémie aplasique et la régulation de la population de globules rouges par les cellules souches. Ces travaux s'inscrivent dans la lignée des pionniers tels que Keyfitz en 1968 [122], Pollard, en 1973 [184], Henry en 1976 [111] sur les dynamiques de populations en général et de Mackey et Dörmer en 1982 [162] pour les modèles appliqués aux cellules du sang. Il est intéressant de noter que ce travail de Mackey et Dörmer est resté de côté jusqu'au début des années 90, où, il a fait l'objet d'un vif regain d'intérêt. Il a ainsi été remis au goût du jour par Rey et Mackey en 1992 [205], 1993 [206] et 1995 [207], [208], par Crabb *et al.* en 1996 (date du début de ma thèse) [56], [57], Mackey et Rudnicki en 1994 [155] et 1999 [156] ainsi que Dyson *et al.* en 1996 [78] et 2003 [79]. Pour un état de l'art plus complet sur les modèles mathématiques déterministes liés à la production de cellules sanguines, je vous conseille de vous référer à l'article [199]. Mon travail de thèse reprenait donc la suite logique de tous ces travaux en apportant une généralisation plus réaliste mais plus complexe à analyser de ce problème avec notamment une vitesse de maturité non linéaire et doublement singulière, une division cellulaire asymétrique, et un temps de prolifération dépendant de la maturité. Je vais y revenir ci-dessous.

Ma thèse est composée de 3 grandes parties (excluant l'introduction et un bref état de l'art des modèles du cycle cellulaire) : 1) un modèle linéaire et un modèle non linéaire avec division cellulaire symétrique à retard discret, 2) un modèle linéaire et un modèle non linéaire avec division symétrique et un retard dépendant de la maturité, et 3) un modèle avec retard discret mais division asymétrique. Rappelons mes contributions à ces trois parties afin de mettre en perspective mes travaux qui ont été effectués par la suite.

1.1.1 Modèle à division symétrique et retard discret

La première partie, la plus simple, consiste à étudier un modèle de cycle cellulaire structuré en taille et maturité avec division symétrique.

Le modèle linéaire

Le modèle linéaire est représenté par le système d'équations différentielles hyperboliques :

$$\begin{cases} \frac{\partial}{\partial t} p(t, m, a) + \frac{\partial}{\partial a} p(t, m, a) + \frac{\partial}{\partial m} (V(m)p(t, m, a)) = -\gamma(m)p(t, m, a), \\ \frac{\partial}{\partial t} n(t, m, a) + \frac{\partial}{\partial a} n(t, m, a) + \frac{\partial}{\partial m} (V(m)n(t, m, a)) = -(\delta(m) + \beta(m)) \\ \times n(t, m, a), \end{cases} \quad (1.1)$$

où $p(t, m, a)$ et $n(t, m, a)$ sont respectivement la densité de populations proliférante (cellule en train de se diviser) et non-proliférante (au repos) au temps $t > 0$, à l'âge a et de maturité m . Ce système est complété par des hypothèses biologiques :

1. certaines cellules en phase de repos (que l'on appelle également phase G_0) peuvent soit y rester toute leur vie et y mourir, ou bien, à un certain moment décider de sortir de leur état de quiescence quels que soient leur âge ou leur maturité, et rejoindre la phase de prolifération. Une fois dans la phase de prolifération, leur âge est remis à zéro un peu comme un compteur tandis que leur maturité continue d'évoluer. Mais le temps passé dans cette phase est limité, et toutes les cellules (sauf celles qui sont mortes en cours de route) en sortent au bout d'un même temps, ici fixé à $\tau > 0$. Une fois sorties de cette phase, les cellules se divisent en deux cellules, que l'on appelle cellules filles. Ces cellules rejoignent la phase de repos, et leur âge est remis à zéro étant donné que ce sont des nouvelles nées, et leur maturité (ici considérée comme étant liée à une quantité de protéines spécifiques) est légèrement plus faible que celle de leur mère (voir figure 1.1 pour une illustration des phases de prolifération et de repos).

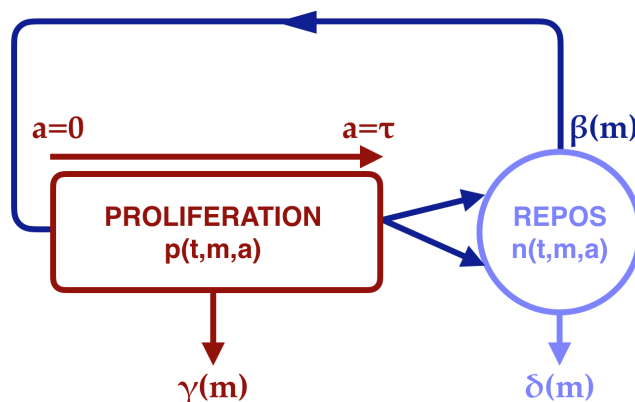


FIGURE 1.1 – Schéma du cycle cellulaire (retard discret et modèle linéaire).

2. L'âge a des cellules en phase de prolifération évolue ainsi de 0 à τ tandis que celui des cellules en phase de repos démarre à 0 et peut théoriquement continuer jusqu'à l'infini. Notons que la maturité m est normalisée pour être comprise entre 0 et 1.

3. Il est classique de supposer que les cellules vieillissent d'un jour par jour, et donc leur vitesse de vieillissement est constante et égale à 1 tandis que leur maturité évolue de façon indépendante de l'âge avec une vitesse $V(m)$, où V satisfait les conditions suivantes

$$V \in \mathcal{C}[0, 1], \quad V(0) = 0, \quad V(1) = 0, \quad (1.2)$$

et pour tout $m \in (0, 1)$,

$$V(m) > 0, \quad \int_0^m \frac{ds}{V(s)} = +\infty, \quad \text{et} \quad \int_m^1 \frac{ds}{V(s)} < +\infty.$$

Autrement dit, nous sommes en présence de deux singularités, une en $m = 0$ et une en $m = 1$. Celle en $m = 0$ est une condition d'Osgood, et signifie que la maturité nulle est un concept assez abstrait que l'on ne peut pas réellement atteindre, tandis que les cellules peuvent sans difficulté atteindre la maturité maximale et donc sortir de la moelle osseuse pour rejoindre la circulation sanguine.

Rappelons ici que la quantité

$$\int_{m_1}^{m_2} \frac{ds}{V(s)},$$

représente le temps nécessaire à une cellule pour passer de la maturité m_1 à la maturité m_2 .

4. Les fonctions γ et δ représentant respectivement la mortalité en phase de prolifération et de repos (pour la phase de repos, elle peut être également interprétée comme de la différenciation), sont supposées continues, de même pour la fonction β représentant le taux de réintroduction des cellules quiescentes vers la phase de prolifération.

En notant

$$N(t, m) = \int_0^{+\infty} n(t, m, a) da,$$

la densité de cellules de maturité m dans la phase de repos, je peux alors donner les conditions aux bords suivante

$$\begin{cases} n(t, m, 0) = 2p(t, g^{-1}(m), \tau)(g^{-1})'(m), & \text{pour } m \leq g(1), \\ p(t, m, 0) = \int_0^{+\infty} \beta(m)n(t, m, a) da = \beta(m)N(t, m), \end{cases} \quad (1.3)$$

où $g(m)$ représente la maturité des deux cellules filles quand m est la maturité de la cellule mère. La fonction $g : [0, 1] \rightarrow [0, 1]$ est supposée continue, telle que $g \in \mathcal{C}[0, 1]$, $g'(m) > 0$, $g(m) \leq m$, pour $m \in (0, 1)$, et $g^{-1}(m) = 1$ pour $m > g(1)$.

Notons qu'à cause de la singularité de V en $m = 0$ il n'y a pas de condition au bord pour $m = 0$. Il faut également ajouter les conditions initiales suivantes

$$p(0, m, a) = \varphi(m, a) \text{ pour } (m, a) \in (0, 1) \times [0, \tau],$$

et

$$n(0, m, a) = \psi(m, a), \text{ pour } (m, a) \in (0, 1) \times [0, +\infty), \text{ avec } \lim_{a \rightarrow +\infty} \psi(m, a) = 0.$$

Les fonctions φ et ψ sont supposées continues.

La méthode des caractéristiques, combinée à l'intégration par rapport à l'âge, permet d'obtenir un système d'équations aux dérivées partielles structurées en maturité, montrant un retard et une dépendance à une maturité moindre. Pour être plus clair, les équations sont les suivantes, en notant

$$P(t, m) = \int_0^\tau p(t, m, a) da,$$

pour $0 \leq t \leq \tau$,

$$\begin{cases} \frac{\partial}{\partial t} P(t, m) + \frac{\partial}{\partial m} (V(m)P(t, m)) = -\gamma(m)P(t, m) + \beta(m)N(t, m) + f_1(t, m), \\ \frac{\partial}{\partial t} N(t, m) + \frac{\partial}{\partial m} (V(m)N(t, m)) = -[\delta(m) + \beta(m)]N(t, m) + f_2(t, m), \end{cases} \quad (1.4)$$

et pour $t \geq \tau$,

$$\begin{cases} \frac{\partial}{\partial t} P(t, m) + \frac{\partial}{\partial m} (V(m)P(t, m)) = -\gamma(m)P(t, m) + \beta(m)N(t, m) \\ \quad + f_3(m, N^\tau(t, m)), \\ \frac{\partial}{\partial t} N(t, m) + \frac{\partial}{\partial m} (V(m)N(t, m)) = -[\delta(m) + \beta(m)]N(t, m) + f_4(m, N^\tau(t, m)), \end{cases} \quad (1.5)$$

où

$$f_1(t, m) = -\xi(m, t)\varphi(\pi_{-t}(m), \tau - t),$$

$$f_2(t, m) = 2(g^{-1})'(m)\xi(g^{-1}(m), t)\varphi(\pi_{-t} \circ g^{-1}(m), \tau - t),$$

mais aussi

$$f_3(m, x) = -\xi(m, \tau)\beta(\pi_{-\tau}(m))x,$$

$$f_4(m, x) = 2(g^{-1})'(m)\beta(\pi_{-\tau} \circ g^{-1}(m))\xi(g^{-1}(m), \tau)x \text{ pour } x \in \mathbb{R}$$

avec

$$\xi(m, t) = \exp \left\{ - \int_0^t \gamma(\pi_{-s}(m)) + V'(\pi_{-s}(m)) ds \right\},$$

où $\pi_s : [0, 1) \rightarrow [0, 1)$, $s \in \mathbb{R}$ est le flot solution de l'équation différentielle

$$\begin{cases} \frac{du}{ds}(s) = V(u(s)), \\ u(0) = m, \end{cases}$$

et avec $N^\tau(t, m) = N(t - \tau, \pi_{-\tau} \circ g^{-1}(m))$. Étant donné que je m'intéresse au comportement asymptotique, le cas $t \geq \tau$ est au centre de mon attention, et, d'autre part, comme l'équation en N est indépendante de P tandis que l'équation en P est dépendante de N , il me semble plus judicieux de me focaliser dans plusieurs parties de nos calculs sur l'équation en N seulement, le comportement des solutions en P s'en déduisant assez facilement.

L'idée est alors d'exhiber un opérateur générateur infinitésimal d'un semi-groupe qui me permet d'obtenir une représentation intégrale des solutions $P(t, m)$ et $N(t, m)$ du système à retards. J'ai ainsi un résultat d'existence et unicité de ces solutions, et même mieux, je montre que l'unicité dépend des cellules de petite maturité (rappelons que je travaille ici sur des équations à retard). C'est le théorème principal de cette partie : théorème 2.1.8 page 53, [197] que mes directeurs de thèse et moi avons baptisé le "théorème des petites cellules" et que nous continuons continue à appeler comme ça.

Le modèle non-linéaire

La deuxième partie de ce chapitre de thèse reprend le même modèle dans un cas *non-linéaire* plus réaliste et plus général où la fonction β (le taux de réintroduction des cellules quiescentes vers la phase de prolifération) dépend également de la densité de population $N(t, m)$. Autrement dit je considère $\beta(N(tm), m)$ au lieu de $\beta(m)$ seulement. Le problème un peu plus complexe est toutefois assez similaire. J'obtiens en plus des résultats sur le comportement asymptotique des solutions, et un résultat d'instabilité liée aux cellules de faible maturité qui peut correspondre au cas d'anémie aplasique (c'est le théorème 2.2.7, page 81 [197]).

Ce chapitre a fait l'objet de deux articles, [6] pour le cas linéaire et [8] pour le cas non linéaire.

1.1.2 Modèle à division symétrique et retard continue dépendant de la maturité

Dans le chapitre 3 de ma thèse, je tente de rendre le modèle plus général encore, en proposant une *durée de la phase de prolifération variable suivant la maturité* des cellules. Cette hypothèse a un sens biologique puisqu'elle avait déjà été émise en 1971 par Mitchison [164] et par John en 1981 [119]. Autrement dit, le paramètre τ devient $\tau(m)$. Comme dans la partie précédente, je m'intéresse au *cas linéaire et non-linéaire* avec des résultats analogues mais des preuves beaucoup plus techniques dues à un retard non constant.

Ce chapitre a fait l'objet de deux publications : une directement liée à cette partie [7] et [4].

1.1.3 Modèle à division asymétrique et retard discret

Ce dernier chapitre reprend le cas où la durée de prolifération τ est constante, mais la division cellulaire est asymétrique cette fois-ci. L'idée était de généraliser les travaux de Mackey et Rudnicki [155] dans ce cas là. Pour ce problème, j'utilise la théorie des opérateurs de Markov.

Le modèle est le suivant

$$\begin{cases} \frac{\partial}{\partial t} p(t, m, a) + \frac{\partial}{\partial a} p(t, m, a) + \frac{\partial}{\partial t} (V(m)p(t, m, a)) = -\gamma(m)p(t, m, a), \\ \frac{\partial}{\partial t} n(t, m, a) + \frac{\partial}{\partial a} n(t, m, a) + \frac{\partial}{\partial t} (V(m)n(t, m, a)) = -(\delta(m) + \beta(m, \bar{N}(t))) \\ \quad \times n(t, m, a), \end{cases} \quad (1.6)$$

où $p(t, m, a)$ et $n(t, m, a)$ représentent les mêmes densités que précédemment, V possède les mêmes propriétés, γ et δ sont continues dépendantes de m et β dépend de m et de $\bar{N}(t)$ défini pour tout $t \geq 0$ par

$$\bar{N}(t) = \int_0^1 N(t, m) dm.$$

Je suppose les mêmes conditions initiales que précédemment. La seule différence se situe dans la condition aux bords. J'ai cette fois-ci une division inégale représentée par

$$\begin{cases} n(t, m, 0) = 2 \int_0^1 p(t, x, \tau) k(x, m) dx, \\ p(t, m, 0) = \int_0^{+\infty} \beta(m) n(t, m, a) da = \beta(m) N(t, m), \end{cases} \quad (1.7)$$

où $m \in (0, 1)$ est la maturité des cellules filles à l'âge $a = 0$ rentrant dans la phase de repos, et $x \in (0, 1)$ la maturité de la cellule mère au point de division sortant de la phase de prolifération. La fonction $m \mapsto k(x, m)$ représente la densité de maturité d'une cellule fille issue d'une mère ayant la maturité x . La fonction k est supposée positive, continue et doit satisfaire les deux propriétés suivantes :

(H1) $\int_0^1 k(x, m) dm = 1$, pour tout $x \in (0, 1)$,

(H2) il existe κ_1 et κ_2 avec $0 < \kappa_1 < \kappa_2 < 1$ tels que

$$k(x, m) = 0 \text{ pour } m \leq \kappa_1 x \text{ ou } \kappa_2 x \leq m.$$

Autrement dit, la maturité des cellules filles ne peut être ni trop petite, ni trop grande. Cette fois-ci, l'étude du système à retard (après intégration par rapport à l'âge et utilisation de la méthode des caractéristiques), se fait avec la théorie des opérateurs de Markov.

Rappelons qu'un opérateur \mathcal{P} est un opérateur de Markov, si et seulement si

1. \mathcal{P} est un opérateur linéaire sur $L^1(0, 1)$,
2. $f \geq 0$ implique $\mathcal{P}f \geq 0$,
3. $\int_0^1 \mathcal{P}f(m) dm = \int_0^1 f(m) dm$.

(voir [129] pour un rappel de la définition et de quelques propriétés de ces opérateurs). J'ai bien un opérateur de Markov dans notre équation en $N(t, m)$ (voir [197] pour les détails). Rappelons que je ne m'intéresse en général qu'aux équations décrivant les cellules au repos $n(t, m, a)$ ou $N(t, m)$ ou encore $\bar{N}(t)$ puisqu'elles sont indépendantes des cellules proliférantes alors que les équations des cellules en prolifération dépendent des cellules quiescentes et sont linéaires par rapports à elles-mêmes. La véritable difficulté réside donc dans l'analyse des équations des cellules de la phase de repos. J'intègre ensuite par rapport à la maturité pour obtenir une équation différentielle à retards en $\bar{N}(t)$. Je peux alors donner un résultat sur le comportement asymptotique des solutions de cette dernière équation (stabilité locale et globale (par une fonction de Lyapounov) des équilibres, existence de solutions stationnaires suivant certains cas).

Enfin, dans le cas linéaire de l'équation aux dérivées partielles à retards en $N(t, m)$, je parviens à donner un résultat de stabilité globale vers une distribution pour les solutions de l'équation en $N(t, m)$ par la technique des opérateurs de Markov.

Ce dernier chapitre a fait l'objet d'un article publié [202].

1.1.4 Bilan du travail de thèse

Ma thèse s’inscrivait dans la continuité de ma formation de DEA (Diplôme d’Études Approfondies, qui s’appelle maintenant Master 2) en mathématiques appliquées et surtout des cours d’Ovide Arino et Mostafa Adimy sur les équations à retards et l’étude des semi-groupes. Co-encadrée par ces deux professeurs, j’ai pu découvrir non seulement que l’on pouvait faire de la recherche en analyse mathématique en manipulant des outils théoriques tout en gardant un œil sur les retombées biologiques des résultats trouvés. Il se trouve que durant ma thèse, parmi tous les chercheurs avec qui j’ai pu discuter et échanger des idées et des techniques, j’ai fait la rencontre de trois professeurs qui ont eu un impact très fort à la fois sur les décisions de mes recherches futures, mais également sur l’obtention de certains résultats de ma thèse : Michael C. Mackey, Ryszard Rudnicki et Glenn F. Webb.

Le premier m’a offert la possibilité d’effectuer un post-doctorat à ses côtés à l’université McGill, à Montréal au Canada les deux années suivant ma thèse. Le deuxième m’a invité plusieurs fois à l’Institut de mathématiques de Katowice en Pologne et m’a permis de rédiger et publier la dernière partie de ma thèse. Quant au troisième il m’a permis de devenir professeur assistant à l’université Vanderbilt, à Nashville aux USA pendant deux ans.

Cinq articles sont sortis de ce travail de thèse tous avec des résultats théoriques mais, malheureusement sans réelles collaboration avec les biologistes à ce moment-là.

Ce travail a eu un impact dans la communauté scientifique qui s’intéresse à la modélisation du cycle cellulaire en général et des maladies sanguines en particulier avec notamment la publication 4 ans plus tard de la thèse de Fabien Crauste [61]. Ce dernier a généralisé mes résultats, nous avons collaboré sur certains articles [4] ou encore [60]. Mais d’autres chercheurs (comme Shigui Ruan de l’université de Miami, USA ou Jianhong Wu de l’université York, Toronto, Canada) et d’autres équipes se sont jointes à nous. C’est ce thème d’ailleurs qui a été retenu comme application du développement des outils de mathématiques appliquées à des problèmes de la biologie et de la médecine dans l’équipe projet *Dracula* de l’Inria dirigée par Mostafa Adimy depuis 2010.

1.2 Post-doctorat : leucémie et marqueurs cellulaires à Montréal

Mes recherches post-doctorales se sont effectuées entre 2001 et 2003 à l’université McGill, à Montréal au Canada dans le *Centre de Dynamique Non-Linéaire* dirigé par Michael C. Mackey. Mes travaux de cette période-là se sont inscrits dans la lignée de la thématique de mon travail de thèse et se sont déroulées en deux parties :

1. une partie dirigée par le professeur Mackey sur des travaux liés à la dérégulation de la production sanguine, et plus particulièrement l’étude de la leucémie myéloïde chronique,
2. une partie où j’ai commencé à devenir indépendant, et où, avec Samuel Bernard (à l’époque doctorant de Mackey et de Bélair (université de Montréal) et maintenant chargé de recherche CNRS dans notre équipe à l’institut Camille Jordan, et *Dracula* à l’Inria), nous avons proposé et analysé notre propre modèle issu d’un problème lié à un marqueur cellulaire, le CFSE (dont nous donnons la définition ci-dessous). Ce sont ces deux parties que je vais développer brièvement dans les deux sous-sections suivantes.

1.2.1 Étude de la leucémie myéloïde chronique

La problématique soulevée par Mackey était alors la suivante. Il s'agissait d'essayer de comprendre pourquoi la forme chronique de la leucémie qui se manifestait dans la branche myéloïde de la formation des cellules sanguines pouvait montrer des oscillations de populations allant jusqu'à plus de 80 jours, alors que le cycle d'une cellule est d'environ 24h (voir la figure 1.2 pour un exemple de cas clinique avec une période d'environ 55 jours). La leucémie myéloïde chronique

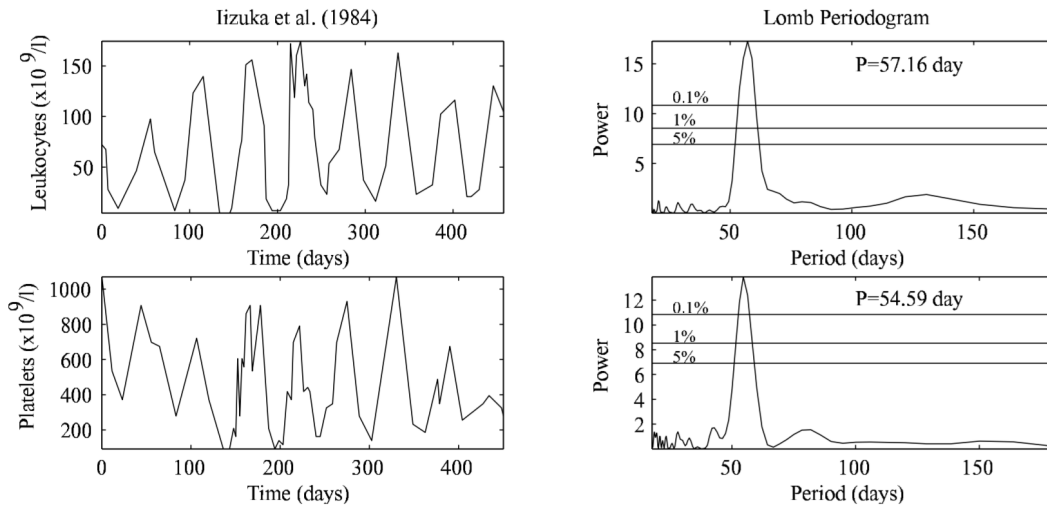


FIGURE 1.2 – **Gauche** : oscillations des globules blancs (leucocytes) et plaquettes pour un patient atteint de leucémie myéloïde chronique, données tirée de [116]. **Droite** : calcul du périodogramme de Lomb pour calculer la période des oscillations (voir [85] pour le détail des calculs).

(LMC) est due à la translocation entre deux parties de chromosomes, une sur le chromosome 9 et une autre sur le chromosome 22. C'est ce qu'on appelle la *translocation de Philadelphie ou chromosome de Philadelphie*. Cette modification entraîne alors la fusion de deux gènes BCR (Breakpoint Cluster Region) et ABL (Abelson), à l'origine de la formation d'un nouveau gène, appelé *gène chimère BCR-ABL* [237]. Ce dernier va alors engendrer le développement tumoral dans la moelle osseuse. Les cellules issues de la branche myéloïde sont les globules rouges, les plaquettes et quelques globules blancs (macrophages, basophiles, eosinophiles), tandis que les lymphocytes T et B sont formés dans la branche lymphoïde (voir figure 1.3). Lors d'une LMC, les cellules immatures à l'origine des leucocytes, c'est à dire cellules souches ou progénitrices (que l'on appelle blastes médullaires) se mettent à se répliquer sans se différencier. La population de globules blancs immature s'entasse alors de façon anarchique dans la moelle osseuse, ne laissant de la place ni aux globules rouges ni aux globules blancs pour se développer. L'individu atteint de LMC connaît alors des périodes d'anémie parfois combinées à des problèmes d'hémorragies et une mauvaise défense immunitaire. Comme son nom l'indique, cette maladie est chronique et se développe périodiquement. Sans traitement, il se peut qu'un élément nouveau transforme la LMC en leucémie myéloïde aiguë (LMA) (plusieurs causes en sont à l'origine comme des radiations, un agent chimique ou encore un facteur génétique). Dans ce cas, le nombre de blastes médullaires explose entraînant une issue fatale assez rapidement (de l'ordre de quelques mois). Dans ce projet, nous ne nous sommes intéressés qu'à la LMC et l'étude des

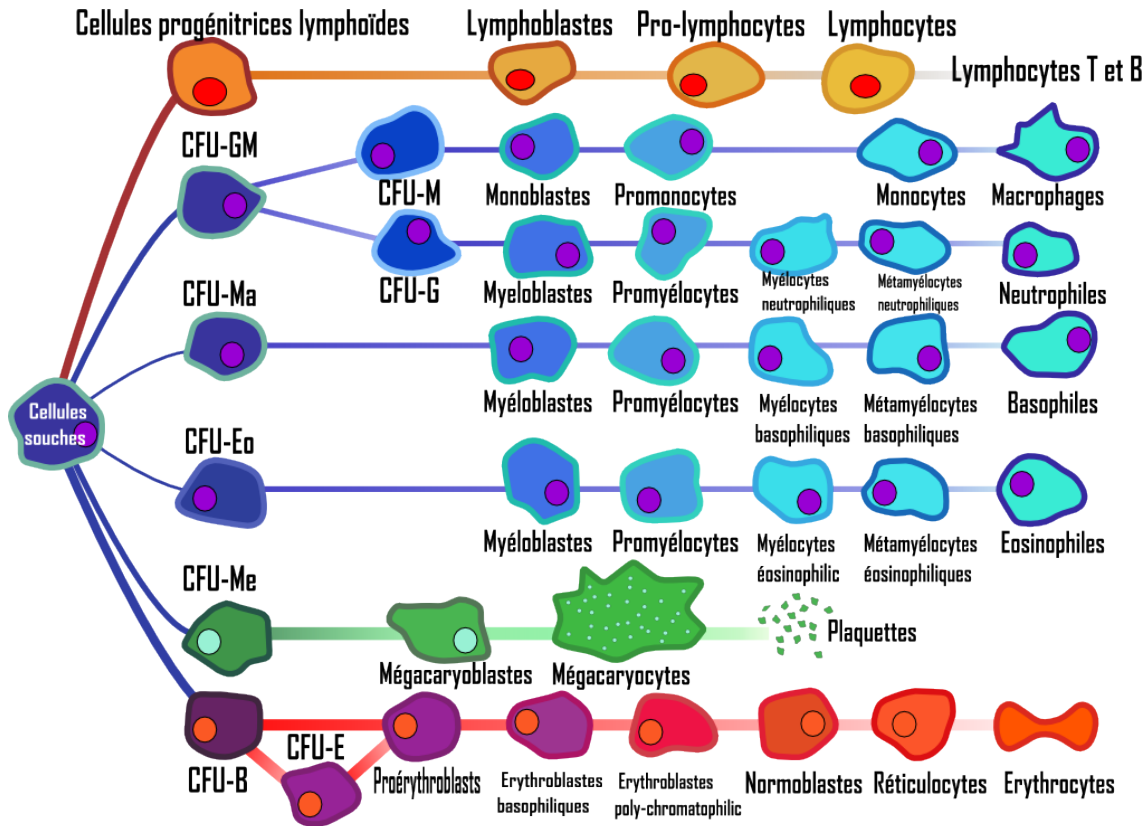


FIGURE 1.3 – Schéma représentant l'hématopoïèse avec les différentes lignées. Nous ne nous intéressons ici qu'à la lignée myéloïde (toutes les lignées sauf celle en orange tout en haut).

paramètres d'un modèle simple décrivant le cycle cellulaire des blastes médullaires, voire, des cellules souches, pouvant muter. Il était intéressant de voir si l'on pouvait trouver un critère analytique pour regrouper les paramètres responsables de la longueur de la période des oscillations des cohortes de cellules de chaque lignées, et ceux responsables de leur amplitude.

Le modèle se voulait donc assez simple avec peu de paramètres pour rendre leur identification possible. Il est constitué d'un système de deux équations différentielles non linéaires à retard et basé sur des modèles déjà utilisés pour le cycle cellulaire [151], [152], [153] :

$$\begin{cases} \frac{dP(t)}{dt} = -\gamma P + \beta(N(t))N(t) - e^{-\gamma\tau} \beta(N_\tau(t))N_\tau(t), \\ \frac{dN(t)}{dt} = -[\beta(N(t)) + \delta]N(t) + 2e^{-\gamma\tau} \beta(N_\tau(t))N_\tau(t), \end{cases} \quad (1.8)$$

où $P(t)$ et $N(t)$ représentent respectivement la densité de cellules proliférantes et au repos au temps t , les paramètres constants γ et δ représentent respectivement la perte des cellules par apoptose (mort naturelle) dans la phase de prolifération et la perte des cellules par différenciation dans la phase de repos. La fonction β désigne le taux de réintroduction des cellules quiescentes vers la phase de prolifération (en général sous forme de fonction de Hill, avec une justification biologique [151]) et τ est la durée de cette phase de prolifération (schéma du cycle cellulaire similaire à la figure 1.1).

Enfin, le terme $N_\tau(t)$ est le terme de retard $N(t-\tau)$. Comme la seconde équation du système est indépendante de P tandis que la première est linéaire en P et dépend ensuite de N par ajout de deux autres termes, l'étude se focalise naturellement sur l'équation en N , les solutions de l'équation en P s'en déduisant assez facilement.

Attaquer de front le problème de façon analytique ne pose pas de réelles difficultés. Les résultats d'existence, unicité des solutions et l'étude de la stabilité des équilibres se fait assez bien pour ce type de système non linéaire à retard. Mais pour explorer le rôle des paramètres sur la longueur de la période et l'amplitude des oscillations nous nous sommes inspirés de la méthode *bang-bang dans le contrôle optimal*, évoquée entre autres dans les travaux de An der Heijden et Mackey [68] et en l'adaptant à notre problème. La méthode est la suivante. Nous considérons la fonction de Hill β définie ici sur \mathbb{R}_+ par,

$$\beta(y) = \beta_0 \frac{\theta^n}{\theta^n + y^n}, \quad (1.9)$$

où β_0 , θ et n sont des paramètres positifs. De façon assez classique, β_0 correspond à la valeur maximale prise par la fonction β (quand $y \rightarrow 0$), θ est la valeur de y pour laquelle, $\beta(\theta) = \beta_0/2$ et enfin, n est le coefficient de sensibilité de la fonction de Hill. Notons que plus ce coefficient n augmente, plus la courbe représentative de β devient "raide". Et quand $n \rightarrow +\infty$, nous obtenons une nouvelle fonction que nous approchons par $\tilde{\beta}$, définie avec la fonction de Heaviside par,

$$\tilde{\beta}(y) = \beta_0[1 - H(x - \theta)], \quad \text{où } H(x) = \begin{cases} 1, & \text{si } x \geq 0, \\ 0, & \text{sinon.} \end{cases}$$

En adimensionnant ensuite l'équation en N , que nous renommons équation en x , nous passons d'une équation à retard non linéaire à un système de 4 équations différentielles linéaires à retard, théoriquement simples à étudier, et techniquement un peu plus complexe à résoudre. Le système s'écrit alors

$$\frac{dx}{dt} = \begin{cases} -\delta x, & \text{pour } 1 \leq x, x_\tau, \\ -\alpha x, & \text{pour } 0 \leq x < 1 \leq x_\tau, \\ -\alpha x + \Gamma x_\tau, & \text{pour } 0 \leq x, x_\tau < 1, \\ -\delta x + \Gamma x_\tau, & \text{pour } 0 \leq x_\tau < 1 \leq x, \end{cases} \quad (1.10)$$

avec $\alpha = \beta_0 + \delta$ et $\Gamma = 2\beta_0 e^{-\gamma\tau}$. Nous considérons le cas où $\theta = 1$ sans perte de généralité ici, lorsque nous prenons le cas limite où n tend vers $+\infty$. Nous pouvons alors conclure analytiquement qu'il y a deux groupes de paramètres :

1. les paramètres de perte γ et δ responsables de la longueur de la période des oscillations,
2. les paramètres de régulation du cycle β_0 et τ responsables de l'amplitude.

Nous avons ensuite utilisé des valeurs de paramètres trouvées dans la littérature pour simuler quelques solutions et illustrer le rôle des groupes de paramètres sur l'amplitude et la période des oscillations. Pour certaines valeurs de paramètres, lors de nos simulations, nous avons été confrontés à des comportements assez intéressants des oscillations sous formes de "rides" ou "petite vagues" que nous avons tenté d'expliquer. Nous pouvons voir ces rides dans la figure 1.4 et une explication par le portrait de phase dans la figure 1.4.

Ce travail qui a été à l'origine de 3 articles de recherches [154], [200] et [201], a eu un bon impact dans la communauté scientifique. Il a été repris entre autre par Adimy *et al.* [5]. Ces derniers ont généralisé le résultat dans le cas où l'on pouvait obtenir des oscillations avec des

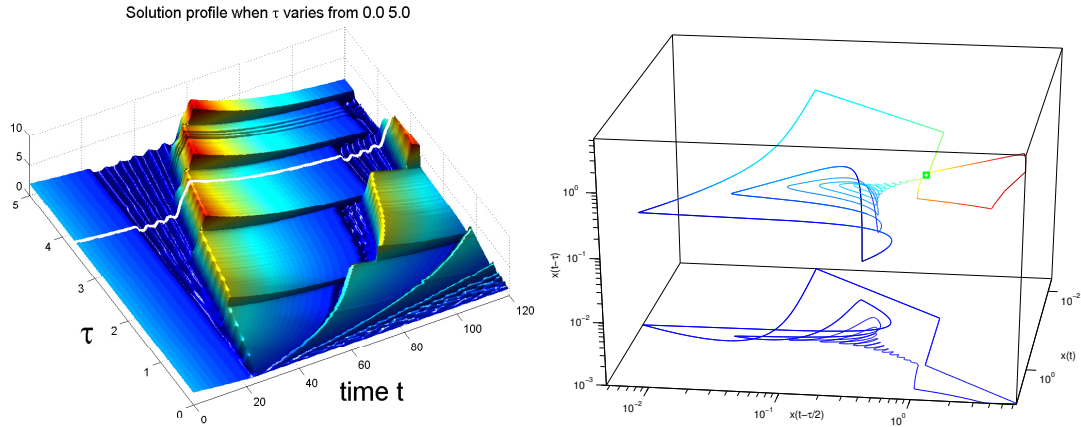


FIGURE 1.4 – Exemple d’oscillations représentatives de la leucémie myéloïde chronique. **A gauche** : Représentation de différentes solutions en faisant varier le paramètre τ de durée de la phase de prolifération. Nous voyons bien l’apparitions de petites oscillations . **A droite** : Explication des petites oscillations par un portrait de phase . Simulations numériques tirées de [200]

valeurs de coefficients de sensibilité de Hill plus faibles (≤ 3) et plus réalistes biologiquement (il était en effet plus raisonnable de supposer la valeur de n entre 0 et 3), en étudiant des équations à retard distribué.

Plus récemment il a inspiré un papier sur l’étude de bifurcation à deux paramètres [65]. Nous pouvons noter par ailleurs que l’article [201] a jusqu’à maintenant, été cité dans près de 100 publications.

1.2.2 Se démarquer avec des marqueurs

Le point faible de l’étude précédente réside principalement dans le manque de données expérimentales et l’estimation de paramètres à partir de méthodes biologiques permettant de les identifier soit directement par des outils de mesures adaptés ou alors par déduction à partir de modèles simples. Nous souhaitons identifier les paramètres de notre modèle sur la leucémie myéloïde chronique à savoir, les paramètres de perte (apoptose et différenciation), et les paramètres de régulations du cycle (durée de la phase de prolifération et taux de réintroduction des cellules de la phase de repos vers la phase de prolifération).

Nous nous sommes alors penchés sur les marqueurs cellulaires. A l’époque, la plupart des marqueurs étaient soit hors de prix, soit provoquaient une mortalité accrue des cellules étudiées : c’était le cas par exemple pour la tritiated thymidine (3H-Tdr), incorporée dans l’ADN des cellules vivantes [235], du diMethylthiazol (MTT) [168] ou encore de la Bromodeoxyuridine (BrdU or BrdUrd) [27]. Un seul marqueur avait alors retenu notre attention le Carboxyfluorescein diacetate Succinimidyl Ester (CFSE), utilisé depuis la fin des années 90 avec succès pour suivre les cohortes de générations de cellules. Le fonctionnement du CFSE est le suivant : incorporé dans la cellule, les molécules de ce marqueur émettent une fluorescence dont l’intensité est proportionnelle à la quantité présente dans chaque cellule. A chaque division, cette quantité est divisée par deux et donc l’intensité de fluorescence également. Ces mesures peuvent se faire *in vitro* autant qu’*in vivo* et permettent ainsi avec une fidélité remarquable de suivre le nombre de cellules qui se divisent (jusqu’à 8 divisions), et en combien de temps [115], [150]. Nous pou-

vons alors avoir des séries temporelles de mesures sur plusieurs dizaines d'heures (voir figure 1.5). L'idée que nous avons eu avec Samuel Bernard (alors étudiant en thèse) a été de créer un

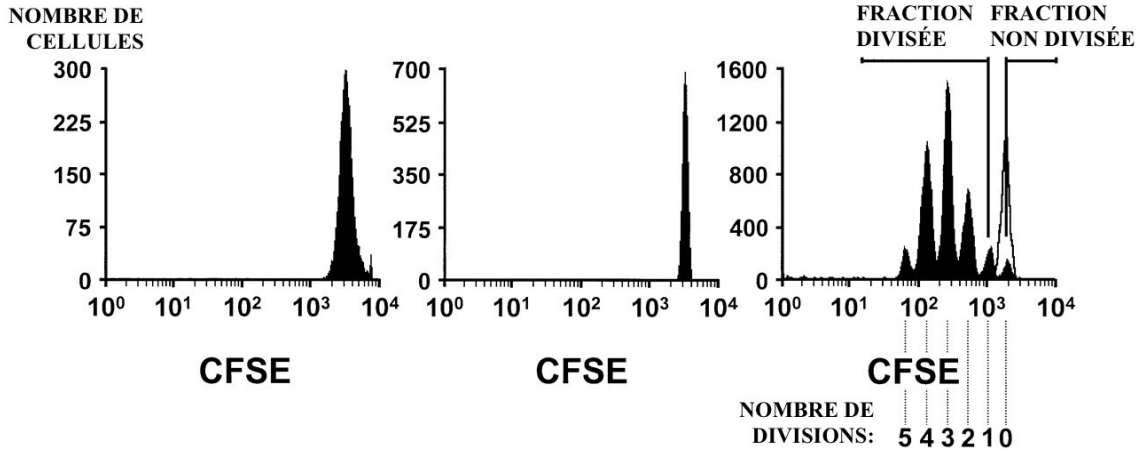


FIGURE 1.5 – Illustration de la distribution des cellules à l'instant initial (à gauche), après avoir été marquées (au milieu) et après quelques heures à se diviser (à droite). La fluorescence en abscisse diminue de moitié à chaque division ce qui permet de compter le nombre de cellules (ordonnées) par génération de droite pour les premières, à gauche pour les dernières ([108]).

nouveau modèle, structuré en âge de façon continue et en maturité de façon discrète, puisque cette dernière représente les générations de cellules.

Nous nous sommes attaqués à un modèle à la fois simple et suffisamment réaliste. Représentant une nouveauté dans l'approche de la modélisation du cycle cellulaire, nous l'avons conçu pour coller aux hypothèses biologiques expérimentales, afin d'en tirer le maximum d'informations. Le système d'équations s'écrit alors comme suit :

$$\begin{cases} \frac{\partial}{\partial t} p_k(t, a) + \frac{\partial}{\partial a} p_k(t, a) = -\gamma p_k(t, a), \\ \frac{\partial}{\partial t} n_k(t, a) + \frac{\partial}{\partial a} n_k(t, a) = -(\mu + \beta) n_k(t, a), \end{cases} \quad (1.11)$$

où $p_k(t, a)$ et $n_k(t, a)$ représentent respectivement les densités de cellules dans génération k (ayant effectué k divisions) au temps $t > 0$ et d'âge $a \in (0, \tau)$ en phase de prolifération et en phase de repos avec $a \in (0, +\infty)$. Les paramètres positifs supposés constants γ et μ représentent l'apoptose ou la différenciation, quant à $\beta \geq 0$, il représente le taux constant de passage de la phase de repos à la phase de prolifération et $\tau > 0$ la durée de la phase de prolifération.

Ce système est accompagné de conditions aux bords suivantes pour $t > 0$,

$$\begin{cases} p_k(t, 0) = \beta \int_0^{+\infty} n_k(t, a) da = \beta N_k(t), \\ n_k(t, 0) = 2p_{k-1}(t, \tau). \end{cases}$$

Nous considérons également deux types de condition initiales :

1. soit toutes les cellules marquées sont en phase de prolifération,

$$IC^I \begin{cases} p_0(0, a) = C_0 \delta(a), & \text{pour } 0 \leq a \leq \tau, \\ n_0(0, a) = 0, & \text{pour tout } a \geq 0, \end{cases} \quad (1.12)$$

2. soit toutes les cellules marquées sont en phase de repos

$$IC^{II} \begin{cases} p_0(0, a) = 0, & \text{pour } 0 \leq a \leq \tau, \\ n_0(0, a) = C_0 \delta(a), & \text{pour } a \geq 0, \end{cases} \quad (1.13)$$

avec C_0 représentant la quantité initiale de cellules et $\delta(a)$ la fonction delta de Dirac standard définie pour tout réel a par

$$\delta(a) = 0, \text{ pour } a \neq 0, \text{ et } \int_{-\infty}^{\infty} \delta(a) da = 1.$$

Il est alors possible d'effectuer un mélange de ces deux conditions initiales. Ceci correspond alors à une expérience où le CFSE est absorbé au temps $t = 0$ par les deux types de cellules (proliférantes et quiescentes). Par des techniques classiques de méthode des caractéristiques, puis d'intégration par rapport à l'âge, nous nous retrouvons avec la possibilité de calculer explicitement les solutions de ce problème, à savoir, pour la génération k de cellules soumises à la condition IC^I (1.12) par exemple :

- pour $k \geq 1$ et $t - a \geq k\tau$,

$$p_k(t, a) = \frac{(t - a - k\tau)^{k-1}}{(k-1)!} 2^k e^{-k\gamma\tau} \beta^k e^{-\gamma a} e^{-(\mu+\beta)(t-a-k\tau)}, \quad (1.14)$$

- pour $k \geq 2$ et $t - a \geq k\tau$,

$$n_k(t, a) = \frac{(t - a - k\tau)^{k-2}}{(k-2)!} 2^k e^{-k\gamma\tau} \beta^{k-1} e^{-(\mu+\beta)(t-k\tau)}, \quad (1.15)$$

- et pour $k = 0$ et 1, nous avons

$$p_0(t, a) = \delta(a - t) e^{-\gamma a}, \text{ for } a \leq t \leq \tau, \quad (1.16)$$

et

$$n_1(t, a) = 2\delta(a - t + \tau) e^{-\gamma\tau} e^{-(\mu+\beta)a}, \text{ pour } 0 \leq a \leq t - \tau. \quad (1.17)$$

Nous pouvons identifier chacune des cohortes explicitement pour chacune des générations à n'importe quel moment de l'expérience.

Nous avons alors essayé d'estimer nos paramètres sur des données expérimentales fournies par Oostendorp *et al.* [175], et nous avons publié nos résultats dans [25]. Nous avons alors montré que le taux de réintroduction β ne peut être constant au cours de l'expérience et doit, soit dépendre de la population totale de cellules au repos ou bien montrer une preuve indirecte de la présence de la coexistence de deux sous-populations hétérogènes (cellules souches et progénitrices) où, comme le suggèrent Bradford et ses collaborateurs [37] que les cellules les plus matures ont un cycle plus court que les cellules primitives (voir figure 1.6).

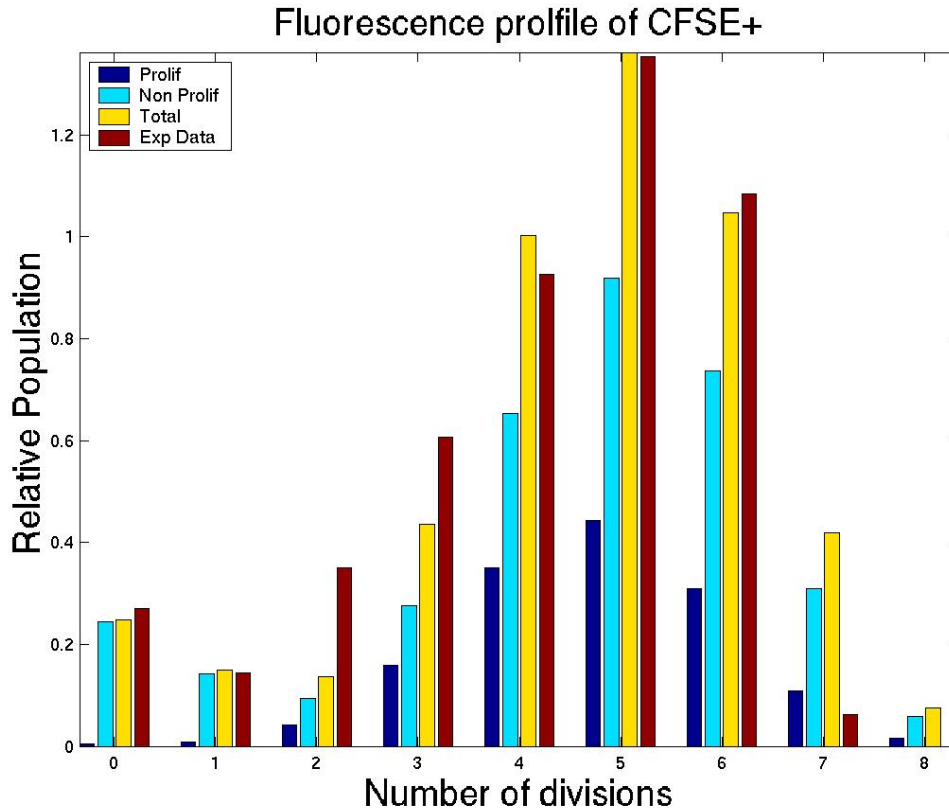


FIGURE 1.6 – Approximation de données expérimentales fournies par Osstendorp *et al.* [175] après 4 jours en cultures. Deux sous-populations combinées sont présentées ici, une correspondant à un cycle lent ($\beta = 0.08 \text{ jour}^{-1}$) à hauteur de 40% et l'autre correspondant à un cycle rapide ($\beta = 2.30 \text{ jour}^{-1}$) à hauteur de 60%. [25].

Cet article a eu un très bon impact dans la communauté scientifique, et il est cité dans près de 90 papiers au moment de l'écriture de ce manuscrit. Ce fut le premier travail pour lequel je me suis démarqué de mes superviseurs en proposant un modèle inédit, élaboré avec Samuel Bernard. Avec ce dernier, nous avons d'ailleurs créé une interface permettant à tout biologiste qui souhaite simuler l'évolution des cohortes de ses cellules et obtenir une estimation de paramètres, de le faire depuis son laboratoire (voir figure 1.7 pour une illustration de cette interface).

Après mes deux formations doctorales et post-doctorales, mes objectifs de recherche devenaient plus clairs désormais. Ils étaient et sont toujours doubles :

1. *développer des méthodes mathématiques théoriques* pour résoudre analytiquement des problèmes complexes, la plupart du temps sous forme de systèmes d'équations aux dérivées partielles à plusieurs structures ou d'équations à retards,
2. *se rapprocher au plus près des biologistes* afin de collaborer et d'élaborer des modèles mathématiques avec eux et ainsi répondre au mieux à leurs problématiques précises.

Le premier objectif rentrait parfaitement dans ma formation de recherche, mais la seconde n'était pas encore tout à fait satisfaisante pour moi à ce moment-là. Je n'avais pas de réelles collaborations avec des biologistes, j'ignorais donc si mon travail théorique trouvait un véritable écho dans la communauté biologique en général, et hématologique en particulier.

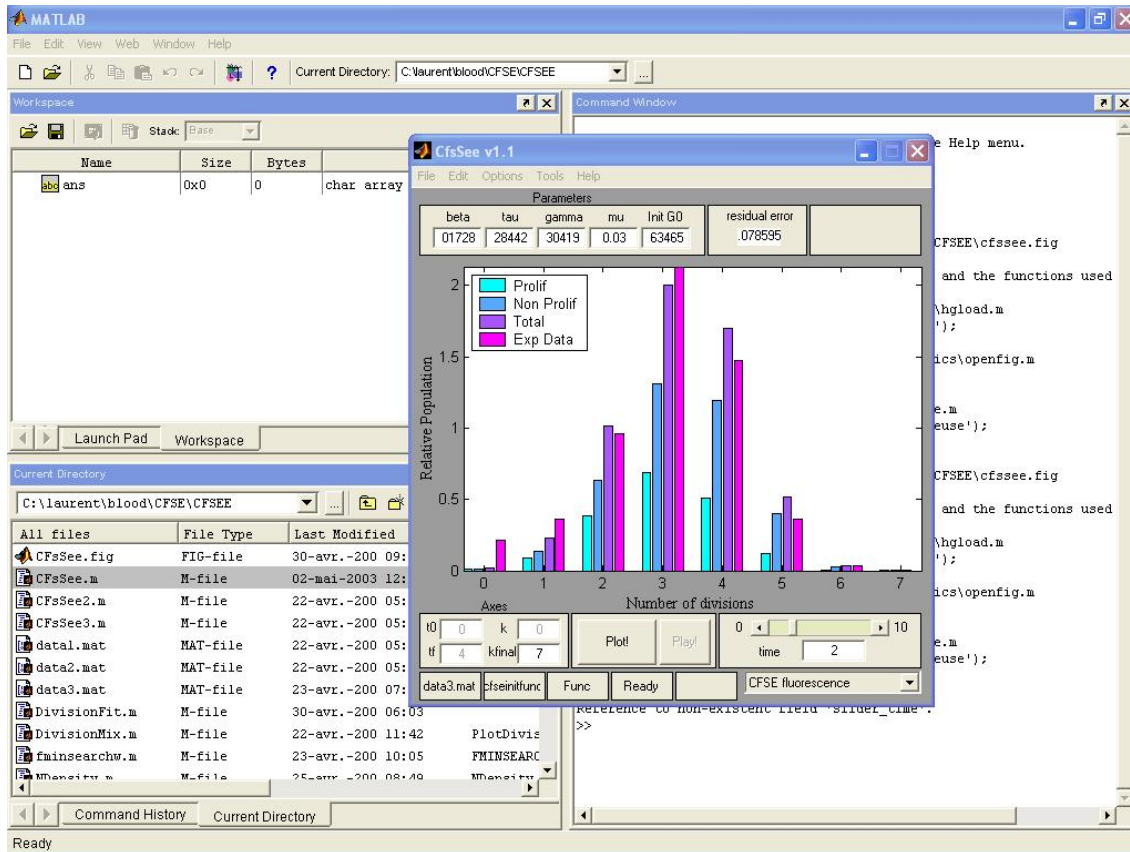


FIGURE 1.7 – Interface graphique permettant de prédire le profil adopté par les cellules après plusieurs jours à se diviser, estimation en temps réel des paramètres ([25]).

1.2.3 Retour en France

Tout en poursuivant mes travaux théoriques, j’ai donc tenté d’être encore plus vigilant sur les hypothèses biologiques que je faisais et l’interprétation de mes résultats à chaque fois que c’était possible. Il était important pour moi d’initier de réelles collaborations interdisciplinaires. Celles-ci ont réellement commencé l’année de mon arrivée à l’institut Camille Jordan en 2005. Je me suis tout de suite inséré dans l’équipe naissante de “*modélisation mathématique pour la médecine et la biologie (M3B)*” composée par Vitaly Volpert et Stéphane Génieys. Nous avons débuté notre collaboration avec, d’un côté Olivier Gandrillon et son équipe du CG ϕ MC (*Center for Molecular and Cellular Genetics and Physiology à Lyon*) qu’il dirigeait et d’un autre côté, Charles Dumontet et Adriana Plesa du *Service d’Hématologie Clinique des Hospices Civils de Lyon* pour continuer les travaux sur les problèmes de l’hématopoïèse et de ses dysfonctionnement. C’est en parallèle de tout cela que j’ai également commencé une collaboration étroite avec Jean-Pierre Liautard du CPBS (*Centre de Recherche sur les Pathogènes et Biologie pour la Santé, UMR5236 à Montpellier*) sur le développement de modèle de la dynamique du prion. Nous avons travaillé ensemble jusqu’à sa retraite, puis j’ai débuté une collaboration forte avec Human Rezaei de l’équipe INRA, *UR892 Virologie Immunologie Moléculaires à Jouy-en-Josas* qui continue encore pour la dynamique du prion et de la maladie d’Alzheimer. Ces deux dernières collaborations sur le prion et la maladie d’Alzheimer seront détaillées dans les trois chapitres suivants. Restons un peu de temps dans ce chapitre sur la collaboration interdisciplinaire

avec les collègues biologistes et cliniciens spécialistes de l'hématologie.

L'équipe "*modélisation mathématique pour la médecine et la biologie*" composée initialement de Vitaly Volpert et Stéphane Génieys s'est ensuite étoffée, au cours du lustre qui a suivi mon arrivée, par le recrutement de Fabien Crauste, Samuel Bernard, Mostafa Adimy, et plus récemment Thomas Lepoutre et Léon Matar Tine. Durant cette période, nous avons initié trois projets de recherches liés à l'hématopoïèse avec trois problématiques et trois approches complètement différentes, que je vais évoquer brièvement dans ce qui suit.

1.3 Maître de conférences : intégration au sein de l'équipe de recherche à Lyon

Les trois projets de recherche sur l'hématopoïèse évoqués à la fin de la section précédente ont été initiés et ont évolué de front durant mes premières années à l'institut Camille Jordan. Chacun avait une thématique bien précise, à savoir :

1. étude de l'*érythropoïèse de stress* à partir de données expérimentales *in vivo* sur des souris,
2. étude des *leucémies myéloïdes aiguës* à partir de données cliniques,
3. modélisation de l'*hématopoïèse par le développement d'un logiciel* basé sur un modèle individu-centré.

1.3.1 Equations à retard et érythropoïèse de stress

La problématique de ce travail a été emmenée par Olivier Gandrillon. Avec son équipe, il souhaitait comprendre comment des souris dont on a provoqué une perte importante de globules rouges en injectant de la phénylhydrazine (un poison qui détruit les érythrocytes) pouvaient récupérer totalement en si peu de temps (voir figure 1.8).

Pour suivre cette érythropoïèse de stress, les biologistes mesurent l'hématocrite (c'est à dire le volume des globules rouges circulant sur le volume total de sang, exprimé en pourcentage), se situant en conditions normales autour de 50%. Cet empoisonnement le fait alors descendre à moins de 25% en moyenne (sachant qu'en dessous de 20% d'hématocrite les souris meurent).

La question était la suivante : il faut environ 5 jours pour une formation complète des globules rouges dans la moelle osseuse (en partant des cellules immatures), tandis que dans l'expérience proposée par Olivier Gandrillon, la récupération complète de la totalité d'hématocrite s'effectue en moins de 3 jours. Quelle peut être la cause de ce rétablissement remarquable ? Est-ce que l'érythropoïétine (**EPO**) (hormone de stimulation de la production des globules rouges) suffit à expliquer cette forte remontée d'hématocrite ? Ou bien une autre molécule est-elle nécessaire pour venir en soutien à l'EPO.

Les deux modèles que nous avons proposés se voulaient simples, mais reflétant les traits principaux des mécanismes de réaction de la moelle osseuse et de la circulation sanguine face à une érythropoïèse de stress. Le premier modèle ne fait intervenir que l'EPO pour voir si seule son action est suffisante. Le deuxième modèle propose une combinaison de l'EPO et de molécules apportant un soutien à l'EPO. Est-ce que de telles molécules peuvent exister dans l'organisme ? Avant de se lancer dans la modélisation, il fallait quand même le vérifier.

C'est là qu'un des points forts de nos deux modèles a été mis en avant : ils ont été élaborés en totale collaboration et en discussion constante à tous les niveaux, et sur tous les détails

avec l'équipe de biologistes dirigée par Olivier Gandrillon. Nous avons ainsi apporté quelques nouveautés dans nos anciens modèles. Nous avons par exemple tenu compte du fait que, d'après Koury et Bondurant [127], l'EPO intervient principalement sur le taux d'apoptose des cellules progénitrices et précurseurs des globules rouges. Et que les molécules candidates en soutien à l'EPO sont possiblement des gluco-corticoïdes (cortisol) comme montré dans plusieurs articles précédents nos travaux [21], [97], [177]. Selon nos collègues biologistes, l'impact se situe sur les fonctions d'auto-renouvellement des cellules progénitrices. L'hypothèse de l'ajout des gluco-corticoïdes est la suivante : face à une érythropoïèse de stress, les cellules progénitrices se répliqueraient d'abord grâce aux gluco-corticoïdes, en combinaison avec le fait que l'EPO empêche une mortalité accrue habituelle des cellules rouges médullaires. La cohorte de nouvelles cellules se voit ainsi renforcée avec un surnombre de nouvelles recrues prêtes à entrer dans la circulation quasiment immédiatement, et non pas au bout de 5 jours avec un recrutement modeste.

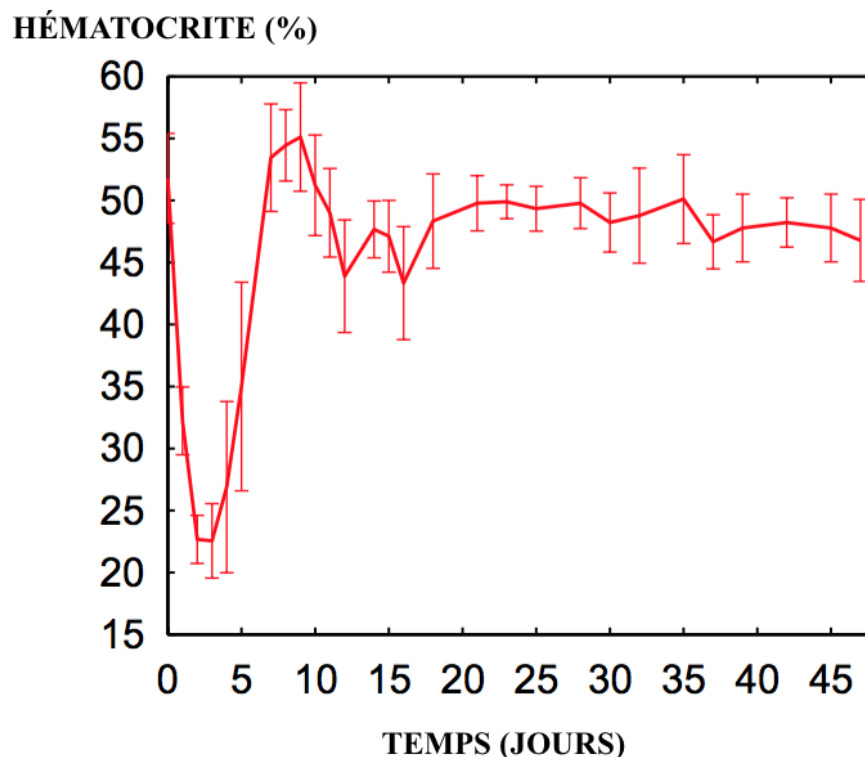


FIGURE 1.8 – Valeurs moyenne de l'hématocrite pour des souris adultes Hsd-ICR suivies pendant 48 jours. Nous voyons bien la remontée rapide après une injection de phénylhydrazine dans les premiers jours de l'expérience [60].

Les deux modèles (avec ou sans gluco-corticoïdes) permettent ainsi de quantifier ces deux hypothèses et voir si l'EPO seule peut suffire suivant les données expérimentales que nous possédons.

Le modèle le plus complet, tenant compte des effets de l'EPO et des gluco-corticoïdes est un modèle structuré en âge standard, adapté à nos hypothèses (fonction de Hill pour les non linéarités, rétro-contrôle par l'EPO sur les taux d'apoptose, et des gluco-corticoïdes sur l'auto-

renouvellement) décrit par le système suivant :

$$\begin{cases} \frac{\partial}{\partial t}p + \frac{\partial}{\partial a}p = -\beta p - \sigma p, \\ \frac{\partial}{\partial t}p_{sr} + \frac{\partial}{\partial a}p_{sr} = -\beta p_{sr}, \\ \frac{\partial}{\partial t}e + \frac{\partial}{\partial a}e = -\gamma e, \end{cases} \quad (1.18)$$

où $p(t, a)$, $p_{sr}(t, a)$ et $e(t, a)$ sont respectivement la densité de progéniteurs qui ne se renouvellent pas, de ceux qui se renouvellent et des érythrocytes (globules rouges circulants) au temps $t > 0$ et d'âge a . Les paramètres sont donnés par β pour le taux d'apoptose des progéniteurs, une fonction dépendant de la population totale d'érythrocytes $E(t)$ où

$$E(t) := \int_0^{+\infty} e(t, a) da \text{ pour } t \geq 0,$$

définie sur \mathbb{R}_+ par une fonction de Hill standard analogue à l'expression (1.9),

$$\beta := \beta(E), \beta(0) = 0 \text{ et } \lim_{E \rightarrow +\infty} \beta(E) = \beta_\infty > 0.$$

Pour le taux σ de cellules se répliquant (auto-renouvellement), nous avons

$$\sigma := \sigma(E), \sigma(0) = \sigma_0 \text{ et } \lim_{E \rightarrow +\infty} \sigma(E) = 0.$$

Et γ est le taux de mortalité des globules rouges. La durée nécessaire pour l'auto-renouvellement est notée τ_c , et le temps moyen de cellules dans le compartiment des progéniteurs est τ_p .

Les principales différences par rapport à mes précédents modèles se situent aux bords durant la réplication des cellules et sont pour $t > 0$,

$$\begin{cases} p(t, 0) = K + 2p_{sr}(t, \tau_c), \\ p_{sr}(t, 0) = \int_0^{\tau_p} \sigma p(t, a) da, \\ e(t, 0) = Ap(t, \tau_p). \end{cases} \quad (1.19)$$

Le premier terme du second membre de la première condition décrit la source K de cellules provenant du compartiment des cellules souches hématopoïétiques, le second terme est dû au doublement des cellules mères provenant du compartiment d'auto-renouvellement et arrivant au terme de leur cycle. La seconde condition reflète l'arrivée des nouvelles cellules dans le compartiment d'auto-renouvellement. Ces cellules sont recrutées à n'importe quel âge dans le compartiment des progéniteurs. La dernière condition correspond à l'entrée des progéniteurs dans la circulation sanguine après s'être divisés un nombre constant de fois (hors auto-renouvellement dû aux gluco-corticoïdes) A dans le compartiment des progéniteurs (voir figure 1.9). Les conditions sur les érythrocytes sont les suivantes :

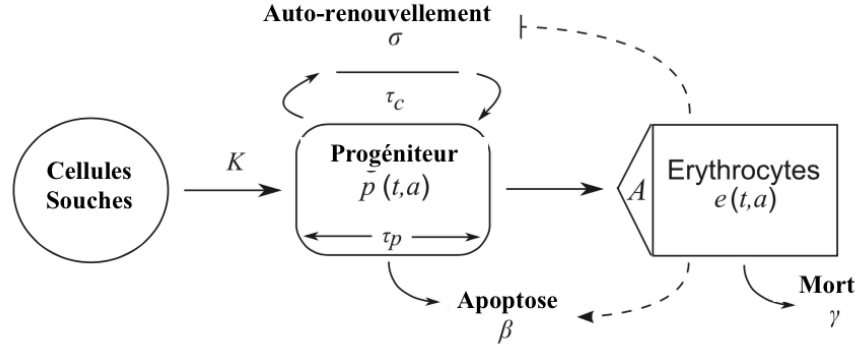


FIGURE 1.9 – Représentation schématique du modèle de réaction après une anémie provoquée par un empoisonnement du sang. Les progéniteurs ont la faculté de s’auto-renouveler [60].

$$\lim_{a \rightarrow +\infty} e(t, a) = 0 \text{ et } \int_0^{+\infty} e(t, a) da < +\infty \text{ pour tout } t > 0.$$

L’analyse de ce modèle s’est effectuée de façon classique, par la méthode des caractéristiques et en intégrant par rapport à l’âge. L’une des nouveautés récentes dans ce type de modèle réside dans le fait que les systèmes d’équations différentielles sont des systèmes à retard distribué. En posant, pour $t > \tau_p + \tau_c$,

$$P(t) := \int_0^{\tau_p} p(t, a) da \text{ et } P_{sr}(t) := \int_0^{\tau_c} p_{sr}(t, a) da,$$

nous obtenons le système

$$\begin{aligned} \frac{dP}{dt}(t) &= -[\beta(E(t) + \sigma(E(t))) P(t) + K + 2\sigma(E(t - \tau_c)) P(t - \tau_c) \\ &\quad \times \exp\left(-\int_{t-\tau_c}^t \beta(E(s)) ds\right) \\ &\quad - \left[K + 2\sigma(E(t - \tau_p - \tau_c)) P(t - \tau_p - \tau_c) \exp\left(-\int_{t-\tau_p-\tau_c}^{t-\tau_p} \beta(E(s)) ds\right) \right] \\ &\quad \times \exp\left(-\int_{t-\tau_p}^t (\beta(E(s)) + \sigma(E(s))) ds\right), \end{aligned} \quad (1.20)$$

et

$$\begin{aligned} \frac{dE}{dt}(t) &= -\gamma E(t) + A \exp\left(-\int_{t-\tau_p}^t (\beta(E(s)) + \sigma(E(s))) ds\right) \\ &\quad \times \left[K + 2\sigma(E(t - \tau_p - \tau_c)) P(t - \tau_p - \tau_c) \exp\left(-\int_{t-\tau_p-\tau_c}^{t-\tau_p} \beta(E(s)) ds\right) \right]. \end{aligned} \quad (1.21)$$

Noter que nous omettons l’équation sur les cellules en auto-renouvellement parce qu’elle n’a pas d’impact sur les deux autres équations (ce ne sont que des cellules en transit dans un compartiment). Elle est quand même exprimée dans l’annexe A de l’article que nous avons publié [60].

Nous avons alors vérifié si le modèle était bien posé, et étudié les équilibres et leur stabilité dans le cas où nous avons seulement l'EPO où le problème pouvait être analysé : preuve d'un unique équilibre, conditions pour avoir la stabilité locale asymptotique et déstabilisation par une bifurcation de Hopf pour le cas sans auto-renouvellement, le modèle le plus complet (avec auto-renouvellement) étant ensuite traité seulement numériquement.

Afin d'utiliser les données expérimentales, nous devons relier la population d'érythrocytes $E(t)$ à l'hématocrite $H(t)$. C'est ce que nous avons fait grâce à la formule suivante :

$$H(t) = \frac{\nu E(t)}{\nu E(t) + \text{volume de plasma}}, \quad (1.22)$$

où ν est le volume par unité de densité de masse des érythrocytes. Le volume de plasma est supposé constant tout au long de l'expérience. Nous pouvons donc l'exprimer en fonction de l'hématocrite et des érythrocytes à l'équilibre, respectivement H^* et E^* par,

$$\text{volume du plasma} = \frac{1 - H^*}{H^*} \nu E^*.$$

Nous donnons alors une expression de $E(t)$ en fonction de $H(t)$,

$$E(t) = \frac{H(t)}{1 - H(t)} \frac{1 - H^*}{H^*} E^*. \quad (1.23)$$

Avec les conditions initiales appropriées sur le érythrocytes,

$$E_0(t) = E^* \frac{H_0(t)}{1 - H_0(t)} \frac{1 - H^*}{H^*}, \text{ pour } t \in [\tau_p, 0],$$

où

$$H_0(t) = \begin{cases} H^*, & \text{pour } t \in [-\tau_p, -\tau_{in}], \\ \frac{H^* - H_{min}}{\tau_{in}^*} t + H_{min}, & \text{pour } t \in [-\tau_{in}, 0], \end{cases}$$

où τ_{in} est défini par le moment où nous nous injectons le poison dans la souris, et pour lequel l'hématocrite descend jusqu'à une valeur H_{min} .

Les résultats numériques, montrent clairement que pour des paramètres biologiquement réalistes, il est impossible dans notre cas que l'EPO seule puisse permettre une remontée aussi forte de l'hématocrite chez les souris victimes d'une érythropoïèse de stress via un empoisonnement du sang. Pour s'adapter aux courbes expérimentales il faudrait un nombre d'érythrocytes à l'équilibre trop bas par rapport à la réalité (voir détails dans la section 5. [60], et figure 1.10). D'un autre côté, la présence simulée de l'auto-renouvellement *via* les gluco-corticoïdes nous permette d'obtenir des résultats beaucoup plus satisfaisants. Il est en effet possible, pour des valeurs de paramètres proches des données expérimentales biologiquement raisonnables, d'obtenir des simulations assez fidèles aux observations (voir figure 1.11). Un seul bémol toutefois, les oscillations sont trop amorties et ne correspondent pas aux oscillations suivant la sur-expression (*overshoot*) des érythrocytes après le premier choc. Pour palier ce problème, la seule hypothèse qui nous semblait viable était d'augmenter la mortalité des érythrocytes après le stress. C'était purement spéculatif au début, mais avait du sens pour nous (voir figure 1.12). En effet, après

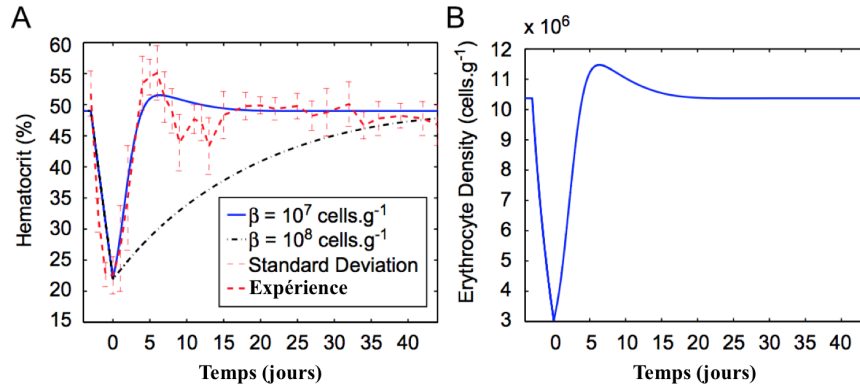


FIGURE 1.10 – Évolution de l'hématocrite sur 44 jours avec le modèle sans renouvellement (seulement avec l'effet de l'EPO) **Figure A** : la ligne continue correspond à une simulation pour $\bar{\beta} = 10^7$ cellules par gramme, la ligne pointillée noire correspond à une simulation pour $\bar{\beta} = 10^8$ cellules par gramme, et la ligne pointillée rouge représente les données expérimentales (moyenne des hématocrites de plusieurs souris). **Figure B** : simulation de la densité d'érythrocytes pour $\bar{\beta} = 10^7$ cellules par gramme [60].

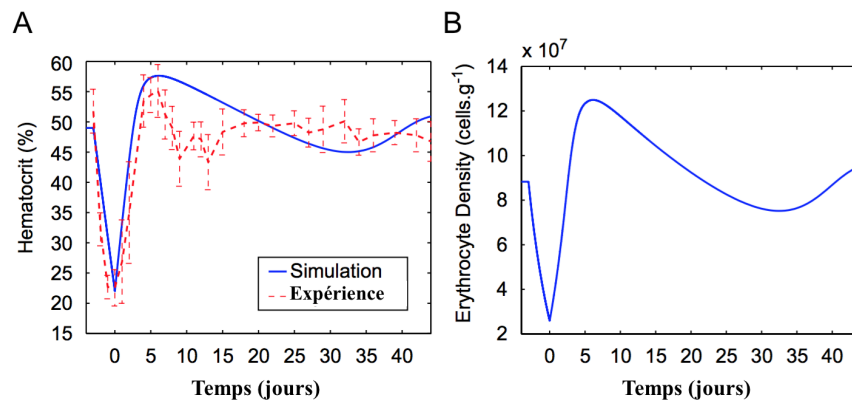


FIGURE 1.11 – Évolution de l'hématocrite sur 44 jours avec le modèle tenant compte de l'auto-renouvellement (gluco-corticoïdes et EPO). **Figure A** : la ligne continue correspond à une simulation pour $\bar{\beta} = 10^8$ cellules par gramme et la ligne pointillée rouge représente les données expérimentales (moyenne des hématocrites de plusieurs souris). **Figure B** : simulation de la densité d'érythrocytes pour $\bar{\beta} = 10^8$ cellules par gramme [60].

le stress, de nombreuses cellules pas encore totalement formées (réticulocytes) sont forcées à entrer dans la circulation. Leur formation étant accélérée il semble probable qu'elles soient plus fragiles que des érythrocytes normalement formés. Il se trouve qu'en cherchant dans la littérature, ce résultat qui pour nous n'était que spéculatif, se trouvait corroboré par les observations biologiques de Shimada en 1975 [216].

Notre travail s'inscrivait ici parfaitement dans la problématique posée par Olivier Gandrillon et son équipe, à savoir : montrer si les gluco-corticoïdes semblaient nécessaires pour une remontée rapide de l'hématocrite chez des souris ayant subi une perte d'érythrocytes par empoisonnement. Notre réponse semblait être oui selon notre modèle et avait même permis de nous replonger dans la littérature biologique pour affirmer également que dans ce cas là, la durée de vie des globules rouges survivants était plus courte. Cette dernière remarque étant au départ une prédiction de notre modèle par le biais des simulations de ses solutions.

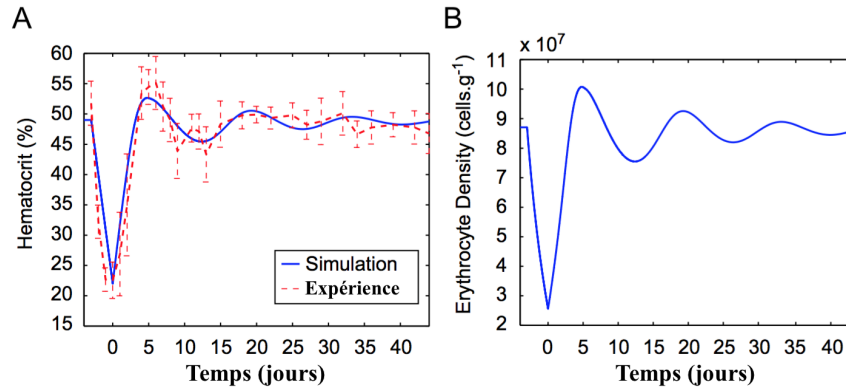


FIGURE 1.12 – Évolution de l'hématocrite sur 44 jours avec le modèle tenant compte de l'auto-renouvellement (gluco-corticoïdes et EPO) **Figure A** : La ligne continue correspond à une simulation pour $\bar{\beta} = 10^8$ cellules par gramme et $\gamma = 0.15 \text{ jour}^{-1}$. La ligne pointillée rouge représente les données expérimentales (moyenne des hématocrites de plusieurs souris). **Figure B** : simulation de la densité d'érythrocytes pour $\bar{\beta} = 10^8$ cellules par gramme [60].

Ce travail a continué plusieurs années après avec des discussions avec Mark Koury (un des découvreurs du rôle de l'EPO en 1990 [127]). Les différentes méthodes employées (saignement des souris *versus* empoisonnement par phénylhydrazine) ne permettaient pas d'obtenir des résultats expérimentaux identiques (pas d'*overshoot* dans le cas du saignement), ni d'oscillations contrairement à l'empoisonnement. Ces problèmes restent encore ouverts dans l'attente d'investigations poussées sur les mécanismes qui impliquent ces deux comportements différents.

1.3.2 Étude clinique de la leucémie aiguë

Très peu de temps après mon arrivée au sein de l'équipe *modélisation mathématique pour la médecine et la biologie*, j'ai participé à des réunions avec Charles Dumontet et Adriana Plesa, deux cliniciens du *Service d'Hématologie Clinique des Hospices Civiles de Lyon*. Le problème posé était le suivant : est-il possible de diagnostiquer un type de leucémie myéloïde aiguë de façon automatique et fiable, grâce à l'analyse mathématique de données immunophénotypiques ?

Il se trouvait que jusqu'alors, le diagnostic se faisait empiriquement avec plus ou moins de succès suivant l'expertise et l'expérience avancée ou non du praticien qui l'effectuait.

Il existe en effet plusieurs types de leucémies aiguës (au nombre de 7), suivant le degré de différenciation des cellules mutées. Cette classification proposée par les américains, les britanniques et les français (la classification FAB (French-American-British)) permet un diagnostic basé sur l'analyse cytomorphologique des cellules prélevées chez le patient, aidée par des mesures enzymatiques. Cette analyse peut s'avérer trop subjective quelques fois, et mener à des erreurs de jugements (voir figure 1.13).

L'idée était donc ici d'utiliser une classification immunophénotypique sur la base de 30 marqueurs pour savoir quels seraient ceux qui pouvaient mettre en évidence les différents types de leucémies juste en évaluant leur degré d'expression par la technique de cytométrie en flux. D'autre part, il n'était pas impossible que cette nouvelle classification ne coïncide pas avec la classification FAB existante. Ceci permettait alors d'entrevoir des regroupements inédits de cas présentant le même profil immunophénotypique et par conséquent un possible diagnostic et

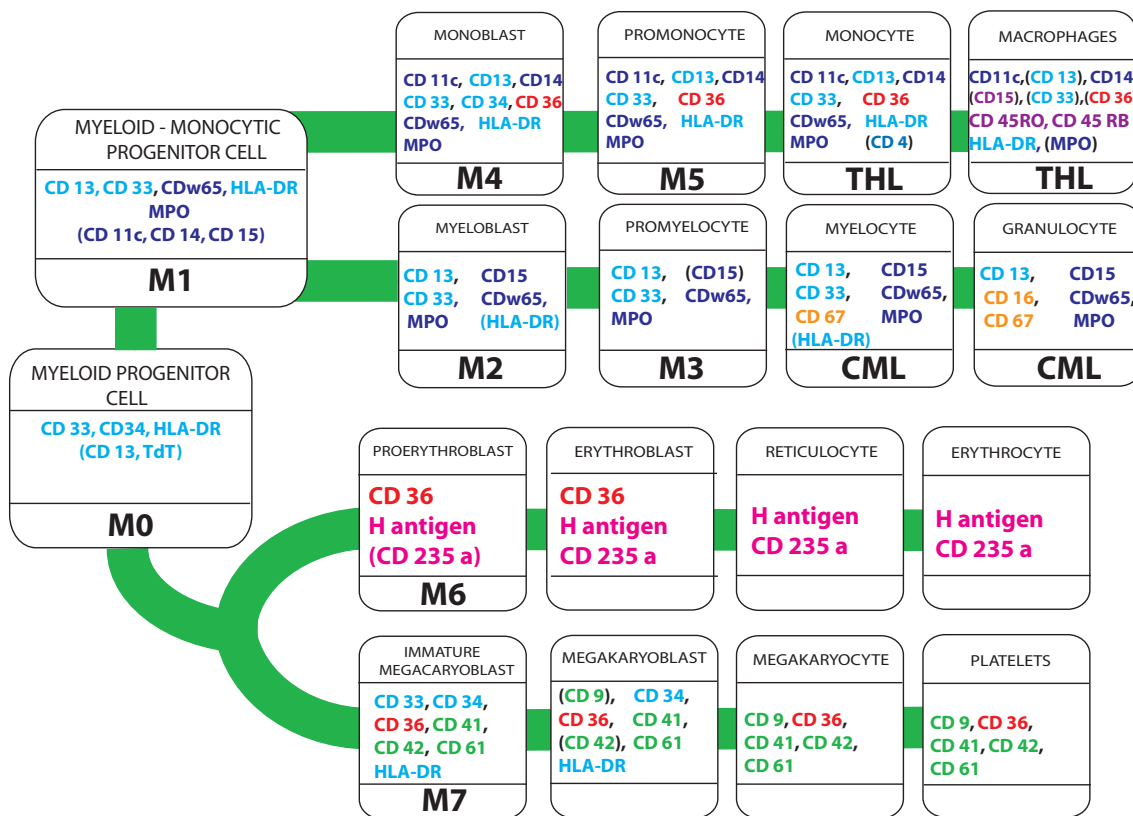


FIGURE 1.13 – Différenciation des cellules de la lignée myéloïde incluant les types de leucémies correspondantes ainsi que les marqueurs cellulaires mis en évidence pour chacun d’entre eux [183].

pronostic commun pour ces nouveaux groupes (grâce à une étude statistique non supervisée).

La base de notre étude porte sur 213 patients dont nous possédons un grand nombre de renseignements (âge, sexe, rechute) ainsi que l’expression des 30 marqueurs immunophénotypiques. Après traitement des données de tous les patients effectué au sein de l’hôpital, puis dans notre laboratoire de mathématiques, nous obtenons un tableau de dimension supérieure à 30 pour 213 personnes.

Après une étude statistique sur ces 213 patients, nous sommes arrivés à la conclusion que nous pouvions dégager quelques groupes, mais que ce n’était pas encore assez significatif. Une autre étude effectuée par un étudiant en stage de master 2, Laurent Roche, encadré par Gabriela Ciuperca, Vitaly Volpert et moi, portant sur 250 patients, nous a permis de dégager un groupe avec une faible erreur dans le diagnostic. C’était malheureusement le groupe M3 (touchant les promyélocytes) qui est le plus facilement identifiable par l’analyse cytomorphologique avec l’erreur de prédiction la plus faible de toutes.

Les résultats que nous avons obtenus pour l’instant ne pouvaient donc pas nous permettre de conclure de façon formelle. Nous ne savions pas en effet si nous ne pouvions pas identifier les autres leucémies avec cette méthode ou bien si c’était parce que le faible nombre de patients et l’hétérogénéité des profils ne permettaient pas encore de conclure de façon formelle. Deux pistes étaient alors envisageables : obtenir plus de patients pour affiner notre étude statistique, ou bien combiner les deux méthodes (ou trouver d’autres marqueurs plus spécifiques) afin de mieux repérer les différents groupes.

Ce projet s’est interrompu pendant quelques temps, afin d’avoir plus de recul sur les données

(suivi des patients (rechute, rémission) sur des durées plus longues, et augmentation de la base de nouveaux patients). Il est encore en attente, au moment de la rédaction de ce manuscrit, et donc le problème reste encore ouvert.

Ce travail a fait l'objet d'une publication [183], les résultats du mémoire de master 2 sur les 250 patients effectués par Roche n'ont pas été publiés.

1.3.3 Étude de l'hématopoïèse par une approche individu-centrée

Le troisième projet de recherche lié à l'équipe *modélisation mathématique pour la médecine et la biologie* à l'origine proposé par Vitaly Volpert et Nikolai Bessonov (de l'*institut des problèmes d'ingénierie mécanique de Saint Pétersbourg* (Russie)), avait pour but de simuler l'hématopoïèse en tenant compte de l'espace médullaire poreux, et des interactions entre chacune des cellules dans ce lieu étroit. La grande majorité des modèles existant étaient alors structurés en âge, en taille ou en maturité, mais rarement en espace. D'un autre côté, ils s'inspiraient d'expériences *in vitro* et peu de résultats *in vivo*. L'objectif était donc d'offrir un outil exploitable par les biologistes et les cliniciens, sous la forme d'un logiciel facile d'utilisation, qui pouvait simuler l'évolution des cellules de différentes lignées à partir des cellules souches à l'intérieur de la moelle osseuse.

Suivre le destin des cellules : quitte ou double

Le logiciel se présente de la façon suivante. D'un point de vue biologique, les cellules peuvent avoir quatre destinées : se diviser, mourir (par apoptose), se différencier ou se muter en cellules cancéreuses.

Plusieurs critères pour suivre le cycle cellulaire et le représenter le plus fidèlement possibles sont pris en compte :

1. la couleur des cellules (choisie par l'utilisateur et pouvant changer suivant la génération ou la lignée),
2. le nombre de cellules filles après division, et les caractéristiques de chacune des filles (auto-renouvellement, différenciation, plasticité),
3. les temps de division suivant la maturité des cellules (temps non fixe, mais distribué à plus ou moins une durée fixée par l'utilisateur),
4. la taille des cellules (pour plus de réalisme, rappelons par exemple que les mégacaryocytes sont des cellules beaucoup plus grosses que les autres cellules, et d'autre part, au cours de la différenciation, la taille des cellules diminue, sauf justement pour les mégacaryocytes).

Une fois ces critères et obstacles définis, il ne reste plus à l'utilisateur qu'à déterminer initialement le nombre de cellules de chaque type et à les placer dans les niches pour les laisser évoluer dans un espace représentant la partie étudiée de la moelle (voir figure 1.14 pour une visualisation de l'interface du logiciel). Les biologistes peuvent alors se servir de cet outil pour modéliser plusieurs scénarios et observer leurs résultats, pour ensuite ajuster les paramètres afin de coller à leurs observations *in vitro*. Il est ainsi possible de décrire l'hématopoïèse sous la forme la plus complète, ou encore l'évolution de cellules dans les niches hématopoïétiques au sein des ostéoblastes. L'intérêt réside également dans la simulation de développement de cancer par mutations de cellules (souches ou non). Il est alors possible de voir quels paramètres

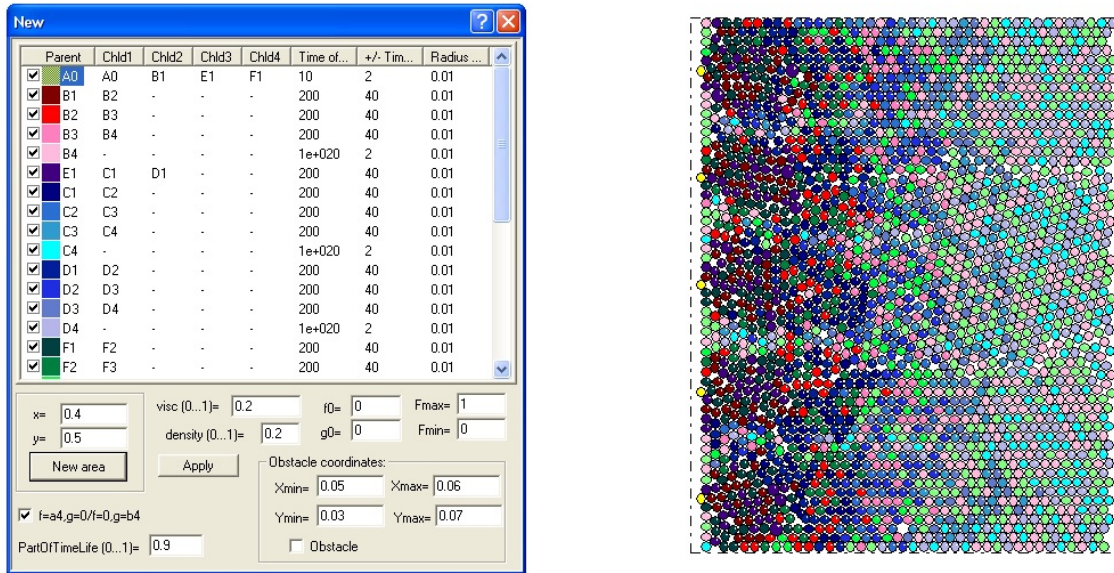


FIGURE 1.14 – Exemple de simulation d’hématopoïèse normale. Les cellules souches (en jaune) notées A_0 , peuvent donner naissance à d’autres cellules souches, ou à trois autres lignées ($B1$, $E1$, $F1$), à l’origine des trois branches myéloïdes (globules rouges (rouge), globules blancs (bleu) et plaquettes (vert)). Les cellules les plus immatures sont à gauche de la simulation quant aux cellules les plus matures, elles sont prêtes à rentrer dans la circulation sanguine définie comme étant le côté droit du domaine [30].

permettent à une leucémie de se propager, d’osciller périodiquement ou de se résorber (voir figure 1.15 pour une représentation de propagation de cellules leucémiques). Le logiciel permet également d’identifier et de compter les cellules matures rentrant dans la circulation (et donc quittant la moelle osseuse). Il est alors possible de suivre l’évolution de la population de cellules de chaque lignée au cours du temps à la fois de façon qualitative mais également quantitative.

Des cellules à l’écoute

Le logiciel permet également aux cellules de communiquer entre elles et ainsi de prendre la décision de se différencier ou non selon leur environnement (voisines directes).

Considérons par exemple une cellule indifférenciée A , qui ne s’est pas encore transformée en type B ou C (en plaquette ou en globule rouge par exemple). Chaque cellule de tout type est caractérisée par deux paramètres f et g qui pourraient correspondre à une quantité de protéines. Nous supposons qu’une cellule de type A possède les quantités $f = f_0$ et $g = g_0$ initiales. Cette cellule va alors être influencée par ses voisines indifférenciées par la considération de la concentration de f et g dans chacune de ses voisines, calculée à chaque pas de temps par le logiciel suivant des critères détaillés dans [30], [28]. Et donc lorsqu’il y a une majorité de cellules de type B autour (avec plus de f que de g), la cellule devient aussi de type B et inversement pour le type g (qui contient une majorité de g). L’évolution des quantités f et g dans la cellule indifférenciée se fait par le biais d’équations différentielles, et tient compte de types f et g des cellules voisines. Tant que les deux quantités f et g sont au-dessous d’un certain seuil, la cellule reste indifférenciée. Dès que le seuil est dépassé, le logiciel marque alors la cellule avec une couleur qui retranscrit la différenciation et qui se base sur la quantité f ou g majoritaire au moment du franchissement de ce seuil.

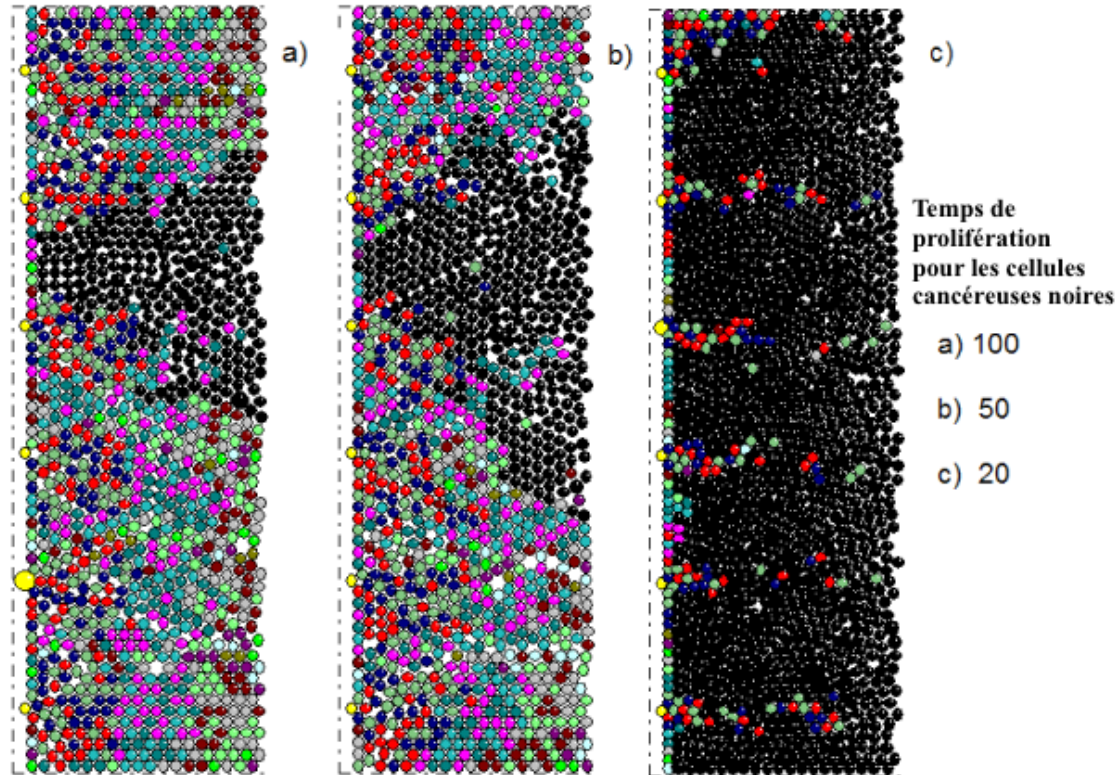


FIGURE 1.15 – Représentation de trois simulations de propagation de cellules cancéreuses (en noir) possédant des durée de phase de prolifération différentes pour chacun des cas ((a) 100 unités de temps, (b) 50 unités de temps et (c) 20 unités de temps). [30].

Dès que la cellule a choisi son type, l'autre quantité reste constante, et la cellule va se mettre à produire la quantité qui la caractérise suivant une loi prédéfinie par l'utilisateur. Différents profils peuvent apparaître avec des interprétations pour tous les cas. Il est donc possible à l'utilisateur de changer la valeur des paramètres et des lois pour décrire différents cas de figures, notamment la plasticité des cellules ou l'auto-renouvellement face à du stress ou à une pathologie (voir une illustration dans la figure 1.16).

Une version améliorée du logiciel a ensuite été proposée. Cette nouvelle version permet

1. de simuler une meilleure mobilité des cellules,
2. ajouter des segments représentant la porosité de la moelle (ce qui n'était pas possible dans l'ancienne version),
3. déterminer une probabilité de mourir (ou de survivre suivant le point de vue) d'une cellule suivant chaque génération.

Que ce soit la première, comme la deuxième version du logiciel, ce travail a fait l'objet de trois publications : 2 pour la première version [30], [28], et 1 pour la nouvelle version [29]. Il a été et est remarquablement bien accueilli par les biologistes, les médecins et les cliniciens. Le principal avantage souligné par ces derniers est qu'ils peuvent vraiment visualiser dans l'espace ce que fait un modèle théorique, et avoir une vision *in silico* de leurs expériences *in vitro* et *in vivo*. Ils peuvent également manipuler eux-mêmes le logiciel sans difficulté et ainsi vérifier quelles sont les différentes conditions ou différents paramètres responsables de phénomènes

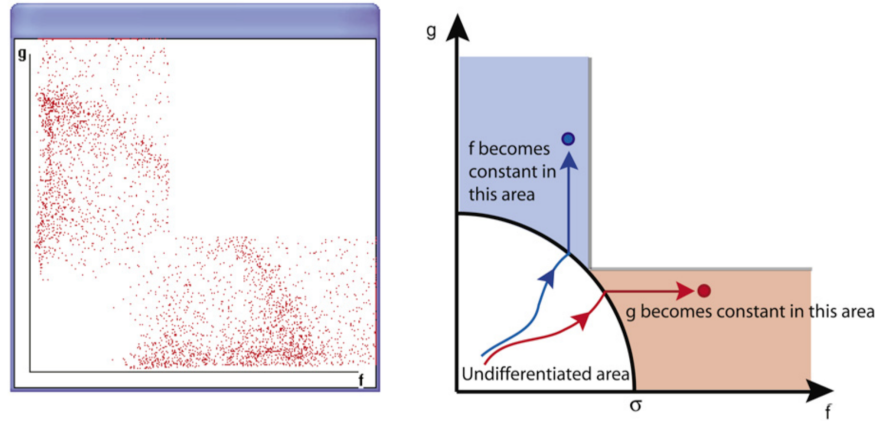


FIGURE 1.16 – Représentation de la communication cellulaire abordée par notre modèle individu centré. Les points rouges représentent la position des cellules dans le plan $f - g$. Une cellule blanche reste indifférenciée tant que la somme des carrés des quantités f et g est inférieure à un paramètre σ donné (quart de cercle blanc). Dès que f (respectivement g) s'impose, la cellule se différencie en rentrant dans la zone bleue (respectivement rouge) où la concentration de g (respectivement f) ne varie plus. (voir texte pour les détails ainsi que les explications données dans la publication [28]).

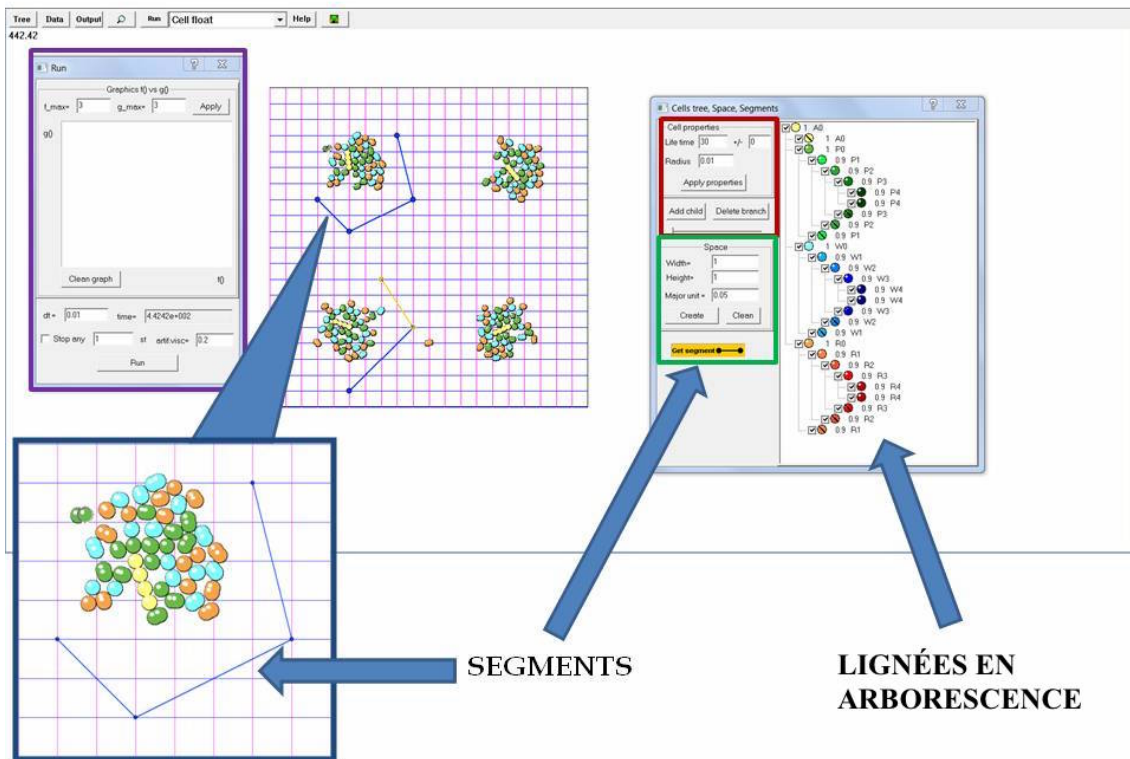


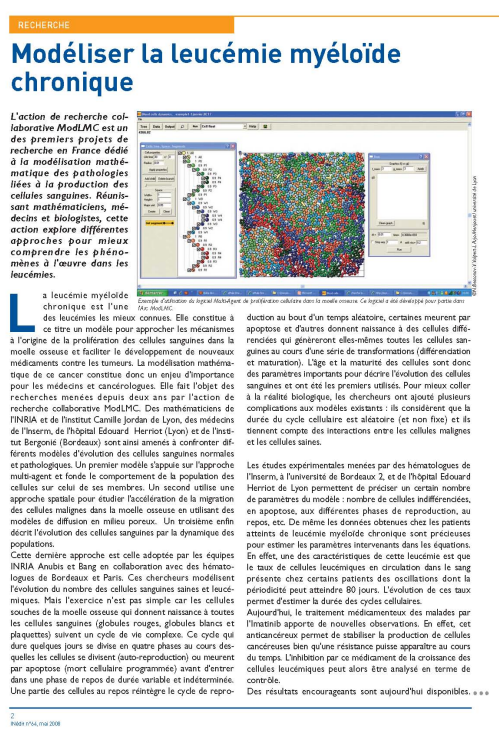
FIGURE 1.17 – Nouvelle version du logiciel représentant la division cellulaire dans la moelle osseuse. Beaucoup plus facile à manipuler, plus claire, et surtout permettant l'ajout d'obstacles représentant la porosité de la moelle, cette version se veut beaucoup plus réaliste que la précédente [29].

pathologiques et le cas échéant proposer de nouvelles pistes de thérapie ou émettre de nouvelles hypothèses biologiques suivant le décalage entre ce qu'ils observent expérimentalement et ce qu'ils obtiennent par des simulations.

Ce travail a été suivi dans notre équipe entre autre par la création de modèles multi-agents et multi-échelles pour modéliser la réponse immunitaire [191]. Il a également été remarqué dans les médias et diffusé dans deux supports écrits pour le grand public : un article du monde du 21 décembre 2007 [136], et un article de communication de l'Inria dans le magazine Inédit (lettre d'information de l'Inria) en 2008 [2] (voir figure 1.18).



(a) Article du journal Le Monde



(b) Article du journal de communication de l'Inria

FIGURE 1.18 – Deux articles parus dans la presse grand public concernant nos travaux de recherche.

1.4 Conclusion du chapitre

L'étude de l'hématopoïèse a été au centre de mes travaux de recherches pendant plus d'une décennie à partir du début de ma thèse. Avec mes encadrants, puis mes collègues, nous avons essayé d'un point de vue biologique d'apporter notre contribution aux connaissances des mécanismes complexes impliqués dans la formation des cellules sanguines, et les conséquences de leurs dérégulations, et d'un point de vue mathématique de généraliser des résultats théoriques en utilisant plusieurs outils différents (étude par les semi-groupes, les opérateurs de Markov, équations à retards discrets et distribués,...).

Mais, en ce qui me concerne, cette période m'a également beaucoup apporté. Je suis passé de l'étudiant en thèse et post-doctorant, suivant les directives et proposant des directions, des

méthodes et des collaborations au statut d'enseignant chercheur, où j'ai intégré une équipe, en proposant moi-même de nouvelles pistes à suivre. La transition s'est effectuée durant mon post-doc, où, grâce à une collaboration avec Samuel Bernard, j'ai proposé notre propre modèle et notre approche inédite d'un problème auquel nous tenions.

J'ai également appris à me situer dans mon domaine de mathématiques appliquées à la biologie et la médecine. Mes travaux sont désormais orientés autour de deux angles complémentaires, aussi importants l'un que l'autre à mes yeux, proposant des défis très différents, mais tout aussi difficiles à relever :

1. continuer des travaux théoriques, très fondamentaux, avec des résultats un peu plus éloignés des attentes des biologistes (par manque de collaboration au début),
2. collaborer de manière étroite avec les biologistes et les médecins pour construire de nouveaux modèles répondant à des questions très spécifiques, et donc imposant des contraintes parfois très difficile à respecter.

A partir de 2003, j'ai commencé à travailler sur une autre thématique : la modélisation de la dynamique du prion, en collaboration avec Glenn F. Webb, de l'université Vanderbilt à Nashville dans le Tennessee. J'ai réussi à mener de front les deux thématiques pendant un lustre. Puis à partir de 2008, j'ai obtenu une bourse de recherche ANR, et j'ai commencé à co-encadrer trois étudiants en thèse sur ce thème. J'ai donc laissé l'hématopoïèse provisoirement de côté, afin de me consacrer pleinement à cette nouvelle thématique et mes étudiants en thèse. J'ai élargi ensuite mon champs de recherche vers la maladie d'Alzheimer. C'est cette période et mes travaux de recherche sur ce thème que je vais décrire dans les trois prochains chapitres.

Chapitre 2

Maladies à prions : histoires et modèles

L'élucidation de l'étiologie et de l'épidémiologie d'une maladie exotique rare restreinte à une petite population isolée - le kuru en Nouvelle-Guinée - nous a amenés à des réflexions beaucoup plus vastes qui sont du plus grand intérêt pour toute la médecine et la microbiologie.

Carleton Gajdusek, 1976

Sommaire

2.1	Une brève histoire des maladies à prions	40
2.1.1	Une découverte à deux temps	40
2.1.2	L'affaire du Kuru	42
2.1.3	La découverte de l'agent infectieux	44
2.1.4	Les pièces se rassemblent	44
2.1.5	Garder la forme	45
2.1.6	Les deux crises	45
2.1.7	D'un cannibalisme à un autre	46
2.1.8	Un effet de la crise pétrolière	46
2.2	Les équations de polymérisation, coagulation et fragmentation	48
2.2.1	Equation de polymérisation-fragmentation : une approche discrète	48
2.2.2	Equation de coagulation-fragmentation : cas discret	50
2.2.3	Une approche continue	51
2.3	Les premiers modèles du prion	53
2.3.1	Plusieurs échelles	54
2.3.2	Le modèle de Masel	56

Ce chapitre est dédié à l'état de l'art du travail de recherche que j'effectue depuis le début de l'année 2003, à savoir l'étude de la dynamique de prolifération du prion. Ce travail très interdisciplinaire s'est étoffé au gré des résultats de recherches, des rencontres et des collaborations avec des collègues mathématiciens et biologistes, pour former désormais un réseau solide de chercheurs essayant de faire avancer les connaissances fondamentales de ce domaine d'étude qui a fait beaucoup parler de lui au siècle dernier. C'est cette histoire que je vais tenter de résumer succinctement dans un premier temps, en ne reprenant que les grandes lignes. Puis je me pencherai sur les premiers modèles qui ont tenté de décrire ces phénomènes afin d'apporter des éléments de compréhension. Cette petite plongée nous mènera chez des cannibales humains ou bovins, en passant par différentes crises majeures et nous verrons pourquoi, la plus importante, la crise de la vache folle a été un des effets collatéraux des deux crises pétrolières majeures des années 70.

2.1 Une brève histoire des maladies à prions

2.1.1 Une découverte à deux temps

Les maladies à prion ont été découvertes un peu à la façon d'une enquête policière qui s'est déroulée sur environ 250 ans. Chacun des indices apparaissait sous la forme de symptômes, et un nouveau nom de maladie lui était attribué relatif aux premières personnes qui les observaient et les décrivaient.

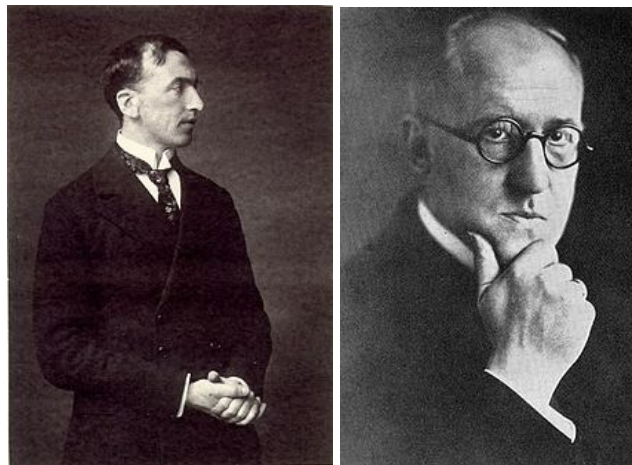
Quand la laine est mauvaise

Tout a ainsi commencé en 1732, en Grande-Bretagne, où une de ces maladies est mentionnée par écrit pour la première fois. Touchant principalement les ovins et un peu moins fréquemment les caprins, les symptômes observés sur les bêtes atteintes de ce mal inconnu prennent la forme de tremblements, de troubles locomoteurs et de démangeaisons. Ce sont ces réactions qui ont donné le nom de "tremblante du mouton" en français, "scrapie" (venant de scrape signifiant gratter) en anglais ou encore "Traberkrankheit" (venant de trab signifiant trotter, et krankheit maladie) en allemand. Il est intéressant d'ailleurs ici de remarquer ne serait-ce déjà qu'à ce stade, que le nom que porte la même maladie chez les moutons décrit un symptôme différent, au-moins pour l'un de ces trois pays. Trouver une origine commune à toutes les descriptions chez les autres espèces semble donc mal parti, et va s'avérer être une tâche bien plus difficile que ce que l'on aurait pu penser. Ce n'est finalement qu'en 1755 qu'elle est décrite en détail dans un rapport d'éleveurs du comté de Lincoln en Angleterre et publié dans le *Journal of the House of Commons* [178] pour une raison purement économique : la laine est à l'époque un produit commercial d'exportation très lucratif, et la qualité du produit commence à se dégrader à cause des sujets atteints de la tremblante (voir une illustration dans la figure 2.1). C'est ainsi que, économiquement forcées, il est décidé d'entamer les premières campagnes de collecte de données afin de mieux comprendre cette nouvelle maladie, ou au moins savoir comment elle se répand. La consignation systématique des cas de tremblante du mouton prend donc naissance au sein du parlement Britannique pour une question de qualité de laine. Deux écoles s'affrontent alors durant plusieurs siècles pour savoir si l'agent responsable de cette maladie est infectieux ou héréditaire. Ce n'est qu'en 1883, en Haute-Garonne, que M. Sarradet rapporte le premier cas mondial de tremblante chez le bœuf [214]. Et ce n'est seulement que dans les années 20 qu'Hans



FIGURE 2.1 – Une brebis atteinte de tremblante^a.

a. Crédit photo : Jeanne Brugère-Picoux



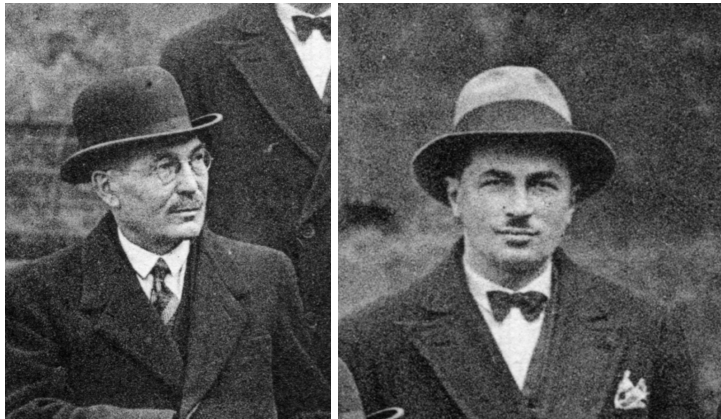
(a) Hans Gerhard Creutzfeldt (1885–1964) (b) Alfons Maria Jakob (1884–1931)

FIGURE 2.2 – Années 20, Creutzfeldt et Jakob décrivent la maladie qui porte leurs noms^a.

a. Images libres de droit provenant de <http://medicalschooll.tumblr.com/post/10519161989/creutzfeldt-jakob-disease-was-first-described>

Gerhard Creutzfeldt (voir figure 2.2(a)) et Alfons Maria Jakob (voir figure 2.2(b)) rapportent des cas de démences inédits, en 1920 pour Creutzfeldt chez une patiente de 23 ans et en 1921, pour Jakob chez 5 patients de plus de 60 ans. Ils décrivent chez les humains les symptômes d'une maladie qui porte leurs noms depuis lors, la maladie de Creutzfeldt-Jakob. Il faut attendre 1936 pour que deux vétérinaires de Toulouse, Jean Cuillé (voir figure 2.3(a)) et Paul-Louis Chelle (voir figure 2.3(b)), se penchent de nouveau sur la tremblante du mouton, et montrent le caractère transmissible de la maladie en inoculant un extrait de moelle épinière et de cerveau d'une brebis malade dans le globe oculaire de deux brebis saines et en attendant respectivement 15 et 22

mois que les symptômes apparaissent. Démontrant déjà une période d'incubation suffisamment grande [62]. Deux ans plus tard, en 1938, ils parviennent même à montrer qu'il est possible



(a) Jean Cuillé (1872-1950) (b) Paul-Louis Chelle (1902-1943)

FIGURE 2.3 – Cuillé et Chelle, les deux vétérinaires toulousains qui ont montré la transmissibilité de la tremblante^a

a. Crédit photo : Darreenvt

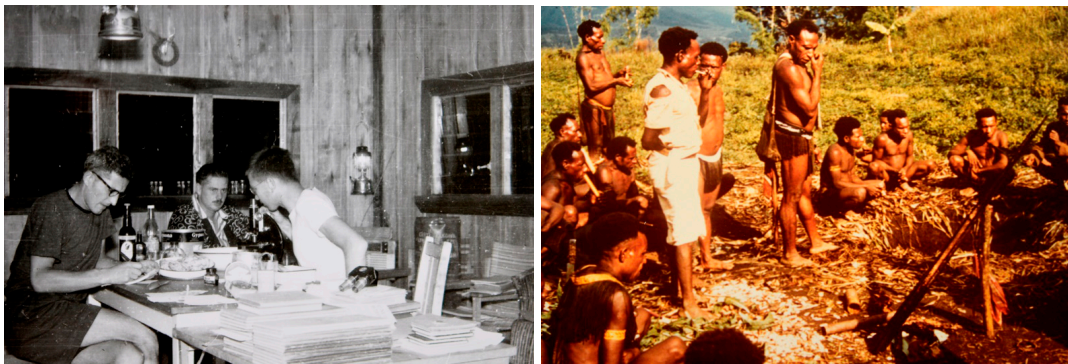
de transmettre cet agent pathogène d'une espèce à l'autre en passant de la brebis à la chèvre [64]. La piste virale étant évoquée [63] des vétérinaires écossais décident en 1945 d'utiliser des extraits de cerveau et de rate de mouton pour vacciner des troupeaux d'ovins, ce qui conduit à l'apparition de 1500 nouveaux cas de tremblante sur les 18000 animaux vaccinés. L'histoire ne nous dit pas si les autres animaux ont vécu plus longtemps que la période d'incubation ou s'ils ont été abattus avant.

Malgré cet échec, un vétérinaire islandais du nom de Björn Sigurdsson (1913-1959) poursuit l'étude de Cuillé et Chelle à Keldur, non loin de Reykjavik et propose dès 1954 la notion de "maladie virale d'évolution lente", pour décrire les infections transmissibles à incubations longues et à évolution lente menant vers des issues fatales [217]. Tout ceci nous rapproche de l'année 1955 mais nous éloigne à l'autre bout de la planète, en Papouasie-Nouvelle-Guinée.

2.1.2 L'affaire du Kuru

En 1955, Vincent Zigas, médecin d'origine Estonienne se rend en Papouasie-Nouvelle-Guinée pour une mission de surveillance sanitaire des indigènes restés isolés du monde jusqu'alors. Du côté oriental de l'île, il fait la rencontre d'un peuple vivant dans les monts Foré, qu'on appelle de façon assez pragmatique la tribu des Forés. Les phénomènes qu'il observe dans cette tribu sont uniques sur l'île et très étranges pour lui : les femmes et les enfants sont touchés d'un mal inconnu, que les indigènes appellent "kuru", ce qui signifie "trembler". Les symptômes suivent toujours le même schéma : ils commencent par des tremblements légers qui s'aggravent, puis le déséquilibre est tel que les individus touchés doivent prendre appui sur un bout de bois pour finalement être incapable de se déplacer. L'état général empire jusqu'au coma puis l'issue fatale le plus souvent provoquée par une pneumonie terminale [238]. Cette maladie semblant contagieuse, il pense à un virus et contacte Franck MacFarlane Burnet, virologue australien

qui se trouve dans la région où un jeune médecin boursier américain, Daniel Carleton Gajdusek exerce. Ce dernier part rejoindre Zigas dans la tribu des Forés et commence à étudier le problème. Leur première publication reflète leur perplexité sur les différentes causes du kuru [94] à savoir un agent infectieux, un régime alimentaire spécial ou une transmission par les gènes. Mais ils se rendent vite compte que l'origine de la maladie est due aux rites funéraires et au



(a) Vincent Zigas, Jack Baker et Carleton Gaj- (b) Membres de la tribu de Fore touchée par le
dusek (de g. à d.) analysant des échantillons, au Kuru
centre de recherche sur le Kuru à l'Okapa patrol
post en 1957

FIGURE 2.4 – Pionniers de la découverte du prion et membres de la tribu des Forés en 1957^a.

a. Crédit photo : National Library of Medicine (NLM), <https://circulatingnow.nlm.nih.gov/2015/04/07/d-carleton-gajdusek-and-kuru-in-new-guinea/>

cannibalisme qui les accompagnent. Les femmes et les enfants consomment le cerveau et les viscères tandis que les hommes mangent les muscles. Le fait que la maladie se propage chez les femmes et les enfants laissent alors penser que le mode de transmission passe par l'ingestion de la matière grise [92]. Mais l'agent pathogène n'est toujours pas isolé. C'est William J. Hadlow, un vétérinaire britannique qui à la lecture des travaux de Gajdusek rapproche les observations faites sur le kuru et les symptômes décrits dans le cas de la tremblante du mouton [106]. Le lien entre les différentes maladies à prion est enfin établi.

Sur la suggestion de Hadlow et sur les lectures des travaux de Sigurdsson et les maladies virales lentes, Gajdusek aidé de Clarence Gibbs et Michael Alpers inocule des extraits de cerveaux d'une jeune fille morte du kuru à deux chimpanzés. Les différents essais précédents sur tous types d'animaux se sont révélés des échecs mais cette fois-ci, après une longue période d'incubation les signes de la maladie et l'issue fatale chez les deux singes apportent bien la preuve que le kuru est transmissible [93], [92]. En 1971, Gajdusek fait également le rapprochement entre le kuru et la maladie de Creutzfeldt-Jakob et montre que cette dernière, à l'instar du kuru est transmissible à d'autres espèces et que la forme du cerveau en éponge (spongiose cérébrale) causée par les dégâts de l'agent est commune à tous les individus touchés par la maladie [95]. Gajdusek reçoit le prix Nobel de médecine en 1976, qu'il partage avec Baruch S. Blumberg (qui travaille sur l'hépatite B) pour "leurs découvertes concernant de nouveaux mécanismes pour l'origine et la dissémination des maladies infectieuses".

2.1.3 La découverte de l'agent infectieux

Ce n'est qu'en 1982, soit 250 ans après les premières observations de la tremblante du mouton, que Stanley Ben Prusiner, médecin américain (voir photo 2.5), se base sur les travaux du britannique Thykave Alper. Ce dernier montre en 1967 que l'agent infectieux responsable de ces maladies ne contient pas d'acides nucléiques. Autrement dit, ça ne peut ni être une bactérie ni un virus. Prusiner confirme les travaux d'Alper et publie plusieurs travaux [194], [195] dont celui de 1982 [193] où il propose une hypothèse innovante qui fut controversée pendant plusieurs années : la nature de l'agent infectieux est protéique. Autrement dit, pour la première fois, une protéine peut être aussi infectieuse qu'un virus ou une bactérie ! Prusiner lui donne le nom de prion. Il souhaite l'appeler proin pour "proteinaceous infectious particles" mais phonétiquement prion sonne beaucoup mieux que proin et c'est prion qui est gardé avec un autre acronyme "PRoteinaceous Infectious ONLY". Pour les scientifiques, l'appellation du prion la plus utilisée est PrP pour "prion protein".



FIGURE 2.5 – Stanley Prusiner^a.

a. Crédit photo : photo libre de droit, source https://fr.wikipedia.org/wiki/Stanley_Prusiner

2.1.4 Les pièces se rassemblent

Les choses s'accroissent avec l'observation en 1981 de plaques amyloïdes (une substance en forme d'amidon qui est anormalement présente à l'extérieur des cellules et qui s'accumule en plaques) dans les cerveaux des malades devenus spongiformes. Ces plaques sont constituées de fibrilles ou SFA (Scrapie Associated Fibrils). Prusiner donne la preuve en 1983 que ces plaques sont constituées de la protéine prion. Le lien est également fait avec les maladies neurodégénératives apparentées comme le syndrome de Gerstmann- Straüssler-Scheinker (décrit en 1936 [98]) ou l'insomnie fatale familiale décrite en 1986 [148].

Une étude de la composition des PrP réalisée par Prusiner en 1984 a permis de donner la composition en acides aminés du prion et de remonter par déduction à la séquence du gène correspondant. L'année d'après, Oesch en Suisse [173] et Chesebro aux États-Unis [45] montrent

que le prion, composé de 253 acides aminés se trouve de façon abondante sur la membrane des neurones.

En d'autres termes, cela signifie que chacun d'entre nous produit de la protéine prion et qu'elle se trouve en grande quantité sur la membrane cytoplasmique de nos neurones.

Mais alors pourquoi ne sommes nous pas tous atteints de maladies à prion ?

2.1.5 Garder la forme

L'hypothèse la plus vraisemblable quand à l'aspect pathogène de la protéine prion est sa conformation. L'équipe de Prusiner s'est alors attelée à comprendre les différences entre la "bonne forme" du prion, appelée PrP^C (pour Cellular) et la ou les "conformations pathologiques" appelées PrP^{Sc} (pour Scrapie). La protéine PrP^C contient beaucoup plus d'hélices alpha (3 hélices), est hydrophile et sensible aux protéases, contrairement aux protéines PrP^{Sc} qui contiennent une plus grande quantité de feuilletts beta, sont hydrophobes et beaucoup moins sensibles aux protéases (ce qui corrobore l'aspect résistant de cette forme de protéine). Pour l'ensemble de ses travaux, mais plus particulièrement pour "sa découverte des prions, un nouveau principe biologique d'infection", Prusiner reçoit le prix Nobel de médecine en 1997.

Des questions majeures restent quand même sans réponses à ce moment là : comment est-ce que ce phénomène se déclenche ? Quel est le mécanisme de sa propagation ? Quelles sont ses caractéristiques dynamiques ?

2.1.6 Les deux crises

Ces résultats qui furent l'aboutissement d'une somme remarquable de découvertes d'un nouveau type d'agent pathogène auraient pu rester à l'étude en laboratoire. En effet, non seulement l'apparition de nouveaux cas étaient assez rares et sporadiques la plupart du temps, mais cela se produisait dans des zones géographiques très localisées à l'instar du kuru. Cependant deux crises majeures vont changer la donne. Il est intéressant de noter comment le calendrier des découvertes et de l'apparition de ces deux crises s'est synchronisé quasiment à la perfection.

La première crise prend son origine aux États-Unis en 1974 avec la mort en moins de 8 mois d'une patiente de 55 ans greffée d'une cornée 18 mois plus tôt. S'en suit une cascade de plusieurs autres cas de personnes ayant recours aux hormones de croissance traitées avec des extraits d'hypophyses humaines prélevés involontairement sur des cadavres de personnes âgées dans des services de neurologie. Autant dire que l'on effectue, sans le savoir, une expérience grandeur nature chez les humains correspondant à ce qui est pratiqué sur les animaux volontairement depuis plusieurs années : l'injection directe de prion dans l'organisme de sujets sains. Les États-Unis réagissent rapidement en interdisant cette pratique, et en la remplaçant par un protocole considéré sans danger grâce à la production d'une hormone de croissance synthétique appelée somatropine issue du génie génétique sur des bactéries. En France, la politique est différente. A partir de juillet 1985, le prélèvement d'hypophyse continue avec une étape supplémentaire de purification de l'hormone ajoutée. Mais les services de santé optent finalement pour l'hormone synthétique à partir de 1988. Le bilan est conséquent : sur environ 980 enfants traités entre 1984 et 1985, 119 sont contaminés par ce procédé. Mais connaissant la longueur de la période d'incubation de la maladie, il se peut que d'autres cas apparaissent dans les années qui viennent [18].

2.1.7 D'un cannibalisme à un autre

La seconde crise a éclaté quasiment en même temps. La date et le lieu exacts sont même connus : le 22 décembre 1984 chez Peter Stent, fermier à Midhurst dans le sud de Londres. Une vache montre fin 1984 des symptômes proches de la tremblante du mouton. Elle meurt rapidement en février 1985, accompagnée par d'autres éléments du troupeau. Cette même année, d'autres bêtes des fermes voisines et même des comtés environnants souffrant du même mal sont signalées avec le même constat vétérinaire : aspect spongieux du cerveau et lésions dégénératives typiques associées à des fibrilles protéiques. En novembre 1986, Wells, biochimiste britannique propose une nouvelle maladie neurodégénérative apparentée au prion chez les bovins : l'encéphalopathie spongiforme bovine ou ESB [234].

La crise de la vache folle vient d'éclater. Les chiffres sont accablants : en 10 ans, 161 892 bovins sont touchés au Royaume-Uni, avec deux pics de nouveaux cas : 35 629 en 1992 et 37 020 en 1993. La France et d'autres pays européens sont également touchés. Les mesures prophylactiques sont drastiques : tout cheptel qui voit apparaître au-moins un cas d'ESB en son sein, est abattu et brûlé. La raison de cette réaction vive réside dans le fait que cette maladie s'avère transmissible à l'homme. Le premiers cas inhabituel de la maladie de Creutzfeldt-Jakob arrive en octobre 1989. Il est inhabituel à cause de l'âge de la patiente : 36 ans. Suivent ensuite une série de cas allant jusqu'à un peu moins de 200 morts depuis 1996 en Angleterre et 25 en France. Les mesures sanitaires, et les embargos déclenchés pour éviter la propagation de l'agent permettent quand même, assez tôt, de circonscrire l'épizootie autant que l'épidémie.

2.1.8 Un effet de la crise pétrolière

L'origine de cette crise est rapidement identifiée : la modification du traitement des farines animales données en nourriture au bétail. Il faut savoir que la méthode date du début du XXème siècle : les farines sont obtenues à partir des restes d'animaux (ovins et bovins) récupérés dans les abattoirs. Cette méthode permet d'apporter un complément alimentaire à moindre coût, et elle s'est répandue partout à partir des années 1950. Par mesure de sécurité, ces farines sont dégraissées avec des solvants organiques comme l'hexane, puis chauffées et nettoyées à la vapeur à 125 degrés celsius afin d'éliminer les traces des solvants. C'est cette dernière étape qui élimine les traces éventuelles d'agent pathogène du prion. Mais personne ne le soupçonne à ce moment là.

Tout change dans les années 1970. Pour obtenir un coût encore moins élevé, et donc une meilleure marge, une nouvelle technologie est adoptée : la technologie en flux continu. Elle entraîne un meilleur rendement et surtout des résultats apparemment analogues pour une température de chauffage moindre, donc moins énergivore. L'étape d'extraction des graisses par les solvants organique cesse aussi à cause de la hausse brutale des prix, conséquence directe des deux crises pétrolières de 1973 et 1979. Il est à rajouter que la manipulation de ces solvants n'est pas sans danger, puisqu'ils sont à l'origine de l'explosion d'une des usines les produisant. Tout ceci explique donc comment les agents infectieux à l'origine de l'ESB sont passés au travers des mailles du filet et se sont retrouvés dans la chaîne alimentaire du bétail britannique.

Les autres pays quant à eux utilisaient assez peu ce type de farine et ne furent pas touchés. C'est une des raisons pour laquelle l'impact de la crise est resté très local.

En 1988, décision est prise d'interdire les farines animales pour les vaches en Grande-Bretagne. Cyniquement, elles sont autorisées pour d'autres animaux que des ruminants et sur-

tout autorisées à l'exportation. Ceci provoque inévitablement de nombreuses fraudes. Certains fermiers anglais continuent en effet à utiliser ces farines sur le marché pour leurs cheptels de bovins, et participent donc au déclenchement de 40 000 nouveaux cas. La décision est enfin prise d'interdire *complètement* la présence de restes de bovins dans ces farines, entraînant l'arrêt progressif de la crise au rythme de la période d'incubation de la maladie. Le nombre de cas de mort humaine par la maladie de Creutzfeldt-Jakob continue par la suite à décroître doucement jusqu'à arriver au début des années 2010 à son rythme "normal" d'apparitions sporadiques de cas mondiaux avant la crise de la vache folle.

C'est dans le contexte de la fin du pic de cette crise, au début des années 2000 que mes travaux de recherche commencent.

Alors que je commence à peine à m'intéresser à ce problème, des questions majeures restent encore ouvertes : comment se déclenche la maladie ? quel est le procédé de propagation de l'agent pathogène dans le cerveau ? Comment se comporte le prion, quelle est sa dynamique ? Quelles sont les cinétiques des différentes réactions ? Et existe-t-il des liens avec d'autres maladies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer ?

La question centrale qui se pose alors est : les modèles mathématiques peuvent-ils apporter si ce ne sont des réponses, au moins des éclaircissements à ces interrogations.

Nous allons voir dans la suite de ce manuscrit que non seulement avec notre équipe de biologistes avons eu des éclaircissements quant aux dynamiques du prion, mais nous avons pu également faire une découverte biologique importante grâce à nos modèles. Nous verrons également que le prion joue un rôle encore plus important que ce que nous pensons et que je n'en suis qu'au début de nos recherches sur le sujet.

Ce travail interdisciplinaire a pu être possible grâce aux collaborations importantes des mathématiciens et des biologistes que je mentionnerai tout au long des prochains chapitres.

Auparavant, il me semble nécessaire de faire le point sur les différentes approches mathématiques existantes afin de placer nos travaux dans le contexte scientifique mondial de ces dernières années.

Avant cela, rappelons que les prions sont des protéines. Elles se présentent soit sous la forme de monomères (une seule protéine) ou de polymères (plusieurs protéines du même type attachées les unes aux autres). Les monomères sont en général les protéines PrP^C (non pathologiques), tandis que les polymères sont constitués des protéines PrP^{Sc}. Ces polymères ont la capacité :

1. de s'allonger en récupérant des monomères à chacune de leurs extrémités, on parle alors de polymérisation,
2. de se coller entre elles pour former des amas de polymères que l'on appelle les plaques amyloïdes (littéralement "qui ressemblent à de l'amidon"), on parle alors de coagulation,
3. de se couper en un ou plusieurs morceaux de polymères de taille inférieure, on parle alors de fragmentation.

Chacun de ces événements possède une interprétation mathématique bien différente que nous allons exposer dans la section qui suit.

2.2 Les équations de polymérisation, coagulation et fragmentation

Comme nous le verrons dans les prochains chapitres dédiés à nos modèle des prions, je ne m'intéresse ici qu'aux approches déterministes décrivant la dynamique des interactions entre polymères et monomères. Je souhaite en effet montrer l'évolution naturelle des différents modèles déterministes que nous avons élaborés et étudiés avec mes collaborateurs. Les modèles stochastiques que nous avons étudiés, bien que très proches de ces recherches-là formeraient un chapitre à part et nécessiteraient un développement détaillé qui allongerait significativement ce manuscrit (rappel des outils mathématiques, développement du modèle, résultats analytiques principaux et interprétation biologique). Bien que très intéressant et enrichissant, je préfère renvoyer le lecteur à la lecture du deuxième chapitre de la thèse de mon ancien étudiant, Romain Yvinec [236].

D'un point de vue déterministe donc, deux possibilités s'offrent à moi : les versions discrètes et les versions continues. Ce sont ces deux versions qui font l'objet de cette section. Je les utiliserai dans les deux prochains chapitres.

2.2.1 Equation de polymérisation-fragmentation : une approche discrète

Comme mentionné à la fin de la section précédente deux phénomènes sont modélisés dans les équations de polymérisation et fragmentation :

- 1- la polymérisation qui accroît la masse des polymères par attachement d'un monomère à l'une de ses extrémités (si l'on considère un polymère comme une tige), ou à un agrégat (appelé *cluster* en anglais),
- 2- la fragmentation des polymères qui correspond à la cassure brutale d'un polymère en deux ou plusieurs morceaux (dans mes modèles je ne considère que le cas où la séparation se fait en deux morceaux).

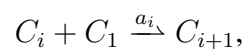
Il se peut que les polymères se rassemblent entre eux, on parle alors de coagulation. Dans notre cas, ce sera pour former des plaques composées le plus souvent de centaines de polymères.

Becker-Döring

Un des premiers modèles discret de polymérisation-fragmentation date des années 1930. Introduit par Becker et Döring en 1935 [22], il a pour objectif de décrire la polymérisation et dépolymérisation d'agrégats par gain ou perte de monomère.

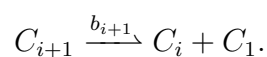
Autrement dit, en choisissant le monomère noté C_1 comme unité de référence pour mesurer la taille d'un agrégat, ces réactions de polymérisation et dépolymérisation peuvent s'écrire comme suit :

1. Pour la polymérisation :



où C_i est un cluster contenant i éléments C_1 .

2. Et pour la dépolymérisation :



Les taux de réaction sont respectivement a_i pour la polymérisation et b_i pour la dépolymérisation.

Grâce à la loi d'action de masse, ces schémas cinétiques très simples permettent de décrire le flux de chaque agrégat de taille i et donc l'évolution de leurs concentrations pour chaque taille. Le modèle de Becker-Döring est alors représenté par le système suivant :

$$\begin{cases} \frac{d}{dt}c_1 = -2J_1 - \sum_{i=2}^{+\infty} J_i, \\ \frac{d}{dt}c_i = J_{i-1} - J_i, \text{ pour tout } i \geq 2, \end{cases} \quad (2.1)$$

où les flux sont donnés pour tout $i \geq 1$ par

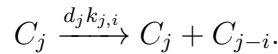
$$J_i = a_i c_i c_1 - b_{i+1} c_{i+1}.$$

Ce sont ces notations que j'utiliserai dans la section 3.3.2. D'autre part, étant donné que la taille des polymères (ou des agrégats) peut devenir très grande, on se retrouve à manipuler une infinité d'équations différentielles. Ce qui peut s'avérer très peu pratique. Mais il est possible d'en tirer tout de même quelques propriétés intéressantes.

Dans mes travaux, j'ai, en plus de la polymérisation et dépolymérisation, une fragmentation en deux morceaux des agrégats (qui seront pour moi des fibrilles de prion). J'obtiens alors un modèle plus général que celui de Becker-Döring que je présente de la façon suivante.

Fragmentation

Supposons qu'un agrégat de taille j se scinde en deux morceaux, l'un de taille i et l'autre de taille $j - i$. Pour décrire correctement le système, je dois introduire ce qui est communément appelé le noyau de fragmentation, que je note $k_{j,i}$. Il permet de donner le nombre moyen d'agrégats de taille i provenant de la scission d'agrégats de taille j (quand il s'agit d'une fragmentation en deux morceaux). Ce noyau dans sa formulation générale peut représenter une fragmentation en plusieurs morceaux (au moins 2). Quelques modèles concernant cette fragmentation multiple ont été étudiés, le premier date de 1957 [163] et d'autres ont suivi comme [130] ou [101]. Mais dans ce manuscrit, je me contente d'une fragmentation en deux morceaux par soucis de simplicité des calculs. Je peux décrire ce processus comme suit



Cette fois-ci d_j représente le taux de fragmentation. Il y a des contraintes sur le noyau $k_{j,i}$ qu'il faut toutefois respecter : un noyau de fragmentation doit vérifier la conservation de la masse des monomères, autrement dit, la somme des tailles (ou encore le nombre de monomères dans les agrégats) après fragmentation, doit rester la même qu'avant. Autrement dit

$$\sum_{i=1}^{j-1} i k_{j,i} = j.$$

Le système discret avec fragmentation s'écrit alors de la façon suivante

$$\begin{cases} \frac{d}{dt}c_1 = -2a_1c_1c_1 - \sum_{i=2}^{+\infty} a_i c_i c_1 + \sum_{i=2}^{+\infty} b_i \kappa_{i,1} c_i, \\ \frac{d}{dt}c_i = -(a_i c_i c_1 - a_{i-1} c_{i-1} c_1) - d_i c_i + \sum_{j=i+1}^{+\infty} b_j \kappa_{j,i} c_j, \text{ pour tout } i \geq 2, \end{cases} \quad (2.2)$$

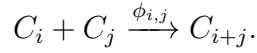
Lorsque la scission se fait en seulement deux morceaux, le noyau de fragmentation s'écrit comme un noyau de probabilité symétrique que je note $\kappa_{j,i}$ tel que $k_{j,i} = 2\kappa_{j,i}$ et vérifiant

$$\sum_{i=1}^{j-1} \kappa_{j,i} = 1 \text{ et } \kappa_{j,i} = \kappa_{j,j-i} \text{ (symétrie).}$$

Notons que si je pose $k_{j+1,j} = 1$ pour tout $i \geq 1$, $k_{1,1} = 2$ et $k_j, i = 0$ sinon, le système (2.2) devient le système de Becker-Döring (2.1).

2.2.2 Equation de coagulation-fragmentation : cas discret

Il est possible de généraliser ce problème lorsque l'on tient compte de la coagulation. Dans mon cas, cela peut arriver par exemple lorsque des agrégats de fibrilles s'accrochent entre eux pour former des plaques encore plus grandes qui sont appelées plaques amyloïdes. De façon plus simple, je peux décrire ce phénomène par la réaction suivante



où $\phi_{i,j}$ représente le taux de coagulation d'un agrégat de taille i avec un autre agrégat de taille j . Le résultat donne alors un agrégat de taille $i + j$.

Le modèle devient alors plus complexe que les deux précédents et s'écrit de la façon suivante

$$\frac{d}{dt}c_i = \frac{1}{2} \sum_{j=1}^{i-1} \phi_{j,i-j} c_j c_{i-j} - \sum_{j=1}^{+\infty} \phi_{i,j} c_i c_j - b_i c_i + \sum_{j=i+1}^{+\infty} b_j k_{j,i} c_j, \text{ pour tout } i \geq 1. \quad (2.3)$$

Notons que $b_1 = 0$ puisque les monomères ne peuvent se fragmenter. Pour être cohérent avec la biologie je suppose que le taux de fragmentation est symétrique, autrement dit $\phi_{i,j} = \phi_{j,i}$. Et si je fais les hypothèses suivantes :

$$\begin{cases} \phi_{i,1} = \phi_{1,i} = \tau_i, & \text{pour tout } i \geq 2, \\ \phi_{1,1} = 2\tau_1, \\ \phi_{i,j} = 0, & \text{sinon,} \end{cases}$$

j'obtiens le système (2.2) précédent.

La plupart du temps, les modèles décrivent des expériences *in vitro*, c'est à dire sans dégradation ni terme de source. Par conséquent, la masse totale de monomères est conservée pendant toute la durée des manipulations. Et donc, si je considère l'hypothèse de conservation sur les $k_{i,j}$ et de symétrie des $\phi_{i,j}$, en sommant les équations, et en inversant formellement les sommes, puis en intégrant par rapport à t , j'obtiens la relation suivante

$$\sum_{i \geq 1} i c_i(t) = \sum_{i \geq 1} i c_i^{in},$$

où c_i^{in} est la donnée initiale.

Cette relation doit se vérifier formellement dans les trois systèmes précédents. C'est pour cette raison que l'on travaille en général dans l'espace X suivant

$$X = \left\{ (x_i)_{i \geq 1} \in \mathbb{R}^{\mathbb{N}^*} : \sum_{i \geq 1} |x_i| < \infty \right\}.$$

Le problème revient donc à étudier des solutions $(c_i)_{i \geq 1}$ à valeurs dans X . Il faut donc que la condition initiale soit non seulement non-négative, mais que son premier moment, c'est à dire sa masse définie par $\sum_{i \geq 1} i c_i^{in}$, soit finie. C'est un espace classiquement utilisé dans l'étude de problèmes de coagulation-fragmentation discrets par Ball *et al.* [15], [14] ou encore Laurençot [130]. Des résultats d'existence, d'unicité et de comportement asymptotique existent, mais sous certaines contraintes :

1. Existence :

L'existence des solutions qui vérifient la conservation de la masse ne peut pas se montrer de façon générale malheureusement. En effet, pour une constant $K > 0$, lorsque i et j sont assez grands, et que l'on a $\phi_{i,j} > K(i + j)$, on ne peut pas assurer cette propriété de conservation. Ce problème a été souligné par exemple par Hendriks *et al.* [110]. Cette condition décrit ce qui est appelé en physique le phénomène de gélation, pour lequel le taux de coagulation devient très grand et il y a formation d'agrégats infiniment grands. Mais, si ce taux de coagulation est "raisonnable", dans le sens où on peut le contrôler, il est possible de préserver la conservation de la masse. C'est qui a été montré dans [15], [14] et d'une autre façon dans [130] (c'est cette dernière méthode que j'utiliserai d'ailleurs dans la section 4.2), tirée de [109].

2. Unicité :

L'unicité des solutions est montrée de deux façons différentes :

- (a) soit en ayant des hypothèses supplémentaires sur la condition initiale ([15] ou [130]),
- (b) soit en ayant des hypothèses supplémentaires sur le taux de coagulation ([15] ou [14]).

3. Comportement asymptotique : le comportement asymptotique a été étudié plus spécifiquement dans le cas où il existe M_i tel que

$$\phi_{i,j} M_i M_j = b_{i+j} k_{i+j,j} M_{i+j},$$

qui est analogue à ce qui s'appelle la "*detailed balance*" introduite par Boltzmann pour l'étude de ses équations. Cette condition permet d'obtenir la réversibilité des mécanismes. La convergence vers l'équilibre est alors donnée par des arguments d'entropie [13], [15], [219], [117] ou encore [42]. La vitesse de convergence exponentielle a également pu être estimée, même sans condition de réversibilité [86].

2.2.3 Une approche continue

L'approche continue est l'analogie du cas discret dans le cas où la population d'agrégats est très grande. Au lieu d'avoir une quantité dénombrable de différentes tailles i comme dans les modèles discrets, on change d'échelle, étant donné que les tailles peuvent aller jusqu'à l'infini

(théoriquement). On passe donc à une échelle macroscopique et on considère alors que la taille est une variable continue, généralement notée x . Ce sujet, de changement d'échelle et de passage du discret au continu, a été abordé plusieurs fois dans la littérature par Neu *et al.* [170], Laurençot *et al.* [131]. et Doumic *et al.* [72]. Il existe deux modèles principaux que je vais évoquer ici et dans le manuscrit : le modèle de Lifschitz-Slyozov et le modèle de Smoluchowsky.

Lifschitz-Slyozov

Le modèle de Lifschitz-Slyozov a été introduit comme son nom l'indique par Lifschitz et Slyozov en 1961 [145]. C'est la version continue du modèle de Becker-Döring où cette fois-ci la structure de taille est continue. Le modèle qui décrit les dynamiques des agrégats est une équation d'évolution sur une fonction $(t, x) \mapsto f(t, x)$, où $f(t, x)$ représente la densité d'agrégats de tailles $x \in \mathbb{R}_+$ au temps $t \geq 0$. Si je considère le système fermé (comme dans une expérience *in vitro*), j'aurais à rajouter une hypothèse pour la conservation de la masse totale de monomères. Cette équation est couplée avec une équation différentielle ordinaire en $t \mapsto u(t)$, où $u(t)$ représente la concentration de monomères au temps t (correspondant à c_1 pour le modèle de Becker-Döring). Je suppose que les agrégats se polymérisent à un taux $a(x)$ dépendant de la taille, et se dépolymérisent à un taux $b(x)$ (ce sont les analogues respectifs des $(a_i)_i$ et des $(b_i)_i$ du modèle de Becker-Döring).

La modification de la taille des agrégats $f(t, x)$ se fait au travers de la polymérisation et dépolymérisation à chaque instant t . Elle dépend de la taille x mais également de la concentration de monomères aux alentours de ces agrégats. Elle est décrite par une fonction que l'on appelle v définie pour tout $t \geq 0$ et pour tout $x \in \mathbb{R}_+$ par

$$v(t, x) = a(x)u(t) - b(x).$$

Le modèle de Lifschitz-Slyozov s'écrit alors pour tout $(t, x) \in \mathbb{R}_+^* \times \mathbb{R}_+$,

$$\begin{cases} \frac{\partial}{\partial t} f(t, x) + \frac{\partial}{\partial x} (v(t, x) f(t, x)) = 0, \\ u(t) + \int_0^\infty x f(t, x) dx = \rho, \text{ pour tout } t \geq 0. \end{cases} \quad (2.4)$$

Ici, $\rho > 0$ est une constante qui représente la masse totale de monomères.

Lifschitz-Slyozov avec fragmentation

Si l'on rajoute de la fragmentation mais que l'on considère qu'il n'y a pas de dépolymérisation (autrement dit b est la fonction nulle), on obtient le modèle suivant

$$\begin{cases} \frac{\partial}{\partial t} f(t, x) + u(t) \frac{\partial}{\partial x} (a(x) f(t, x)) = -\beta(x) f(t, x) + \int_0^{+\infty} \beta(y) k(y, x) f(t, y) dy, \\ \frac{d}{dt} u(t) = -u(t) \int_0^\infty a(x) f(t, x) dx, \text{ pour tout } t \geq 0. \end{cases} \quad (2.5)$$

Ce modèle a été étudié dans de nombreux travaux au cours de ces dernières années, notamment par Gabriel [88]. C'est d'ailleurs une version modifiée de ce modèle que j'introduirai dans le chapitre 3.

Modèle avec coagulation et fragmentation : Smoluchowski

Si l'on remplace la fragmentation par de la coagulation dans le modèle précédent, autrement dit, si l'on remplace le taux de fragmentation par l'opérateur de coagulation suivant

$$Q(f, f)(x) = \frac{1}{2} \int_0^x \phi(y, x-y) f(y) f(x-y) dy - \int_0^\infty \phi(x, y) f(x) f(y) dy, \quad (2.6)$$

on obtient l'équation de coagulation de Smoluchowski [221]. Ces dernières équations sont plutôt étudiées pour traiter du phénomène de gélification, et la plupart du temps, tiennent compte de l'espace. Il y a quelques études sur les modèles combinant la coagulation et la fragmentation, voir [82] par exemple.

En tenant compte du fluide : Fokker-Planck-Smoluchowsky

Il existe des modèles, où les agrégats et les polymères sont décrits dans un fluide en agitation, provoquant ainsi des cassures dans les agrégats tout en maintenant la polymérisation. C'est ce qu'on appelle des modèles Fokker-Planck-Smoluchowsky. Ces modèles ont été étudiés par Doi *et al.* [69], Bird *et al.* [31] ou encore Kirkwood [124]. Quelques fois les agrégats sont considérés comme élastiques [139] ou comme des tiges rigides. Cette dernière forme est plus proche des observations biologiques dans mon étude, et c'est celle que je privilégie donc dans toute la suite.

Ces modèles sont du type

$$\frac{\partial}{\partial t} f + u \cdot \nabla_x f + \nabla_\eta \cdot (P_{\eta^\perp} (\nabla_y u \eta) f) - D \nabla_\eta f = 0, \quad (2.7)$$

où $f(t, x, \eta) \geq 0$ représente la densité de polymères au point $x \in \Omega$, un domaine de \mathbb{R}^3 , au temps $t \geq 0$ et dont la configuration est donnée par l'orientation $\eta \in \mathbb{S}^2$, la sphère unité de \mathbb{R}^3 . D'autre part, $u(t, x)$ est la vitesse du fluide environnant et D le coefficient de diffusion rotationnelle des polymères. Enfin, pour tout $z \in \mathbb{R}^3$, $P_{\eta^\perp} = z - (z \cdot \eta)\eta$ définit la projection de z sur le plan orthogonal à η .

Le champ de vitesse du fluide u peut être soit imposé, soit solution d'un système du type de Stokes ou Navier-Stokes. On aurait alors un système couplé entre les équations pour f et pour u . Dans la section 3.2 j'étudierai un modèle similaire dans lequel u sera donné. j'aurai également de la polymérisation et de la fragmentation. J'ajouterai alors la structure de taille en plus de x et de η .

Maintenant que j'ai présenté les principaux modèles connus de polymérisation-coagulation-fragmentation discrets et continus, regardons de plus près les premiers modèles qui ont décrit les dynamiques du prion. Nous devrions reconnaître à peu près les structures introduites dans cette section.

2.3 Les premiers modèles du prion

C'est environ 15 ans avant la preuve apportée par Prusiner sur la nature protéique du prion que le premier modèle mathématique lié au problème du prion apparaît.

Ce premier modèle est dû au mathématicien J. S. Griffith en 1967. Dans un très court article, il présente trois classes de mécanismes de répliation pouvant expliquer l'auto-répliation

de protéines. Ses modèles sont très simples et ne présentent pas d'équations, mais juste des théories basées sur des schémas de réaction chimique. Par contre, ses conclusions restent encore d'actualité : *“s'il [l'agent de la tremblante] appartient à l'une des deux premières classes [des mécanismes de réplifications proposés], alors c'est une protéine, ou un ensemble de protéines dont l'animal est génétiquement équipé pour sa fabrication, mais qu'il ne peut soit pas produire ou en tous les cas pas sous cette forme. Il peut se transmettre à d'autres animaux mais peut se trouver sous une forme différente d'une espèce à l'autre. Finalement, dans chacun des cas, il existe la possibilité d'une apparition spontanée de la maladie chez des animaux sains à l'origine.”*[105].

Ces travaux précurseurs de Griffith basés sur une hypothèse très controversée et non vérifiées de façon irréfutable biologiquement à l'époque n'ont pas trouvé d'échos pour le développement de nouveaux modèles dans les deux décennies qui ont suivi.

2.3.1 Plusieurs échelles

Ce n'est qu'à partir des années 1990 qu'il y a une montée en puissance des modèles théoriques des maladies à prion. Un état de l'art assez exhaustif se trouve dans la thèse de Natacha Lenuzza [140]. Il est intéressant de noter que les approches théoriques se sont portées sur plusieurs échelles différentes, avec un objectif différent pour chacune de ces échelles.

1. **L'échelle de la population** a permis de développer des modèles épidémiologiques sur trois critères principaux :
 - (a) Estimation de la prévalence (état de santé d'une population à un instant donné ou sur une période donnée) liée à une contamination par voie alimentaire, ou par contamination secondaire (transfusion sanguine, instruments chirurgicaux par exemple),
 - (b) Estimation des paramètres inaccessibles expérimentalement (période d'incubation chez l'homme par exemple),
 - (c) Estimation des effets causés par des expositions à faible doses (transmission secondaire par exemple).

Un des travaux de Wells et son équipe sur cette partie d'étude d'épidémiologie théorique a ainsi permis de prédire de meilleures stratégies pour faire baisser le nombre de cas d'ESB [10]. Une autre étude a également montré l'inefficacité des mesures prises en Angleterre pour arrêter l'épidémie [11].

2. **L'échelle de la cellule et de l'individu** contient très peu de modèles théoriques, voire aucun à l'échelle de l'individu. A l'échelle cellulaire, on peut distinguer trois groupes de modèles :
 - (a) les modèles individus centrés hybrides par un couplage entre des équations cinétiques et des modèles d'automates cellulaires [224],
 - (b) les modèles utilisant la théorie des graphes [160],
 - (c) les modèles utilisant des équations aux dérivées partielles avec termes de diffusion pour une étude de fronts de propagation [160], [179],
 - (d) les modèles tenant compte du trafic cellulaire de la protéine prion [180].
3. **L'échelle intra-cellulaire** a vu émerger quant à elle des modèles de dynamique des protéines. Comme pour les précédentes échelles, plusieurs approches théoriques ont été abordées :

- (a) les automates cellulaires, comme à l'échelle cellulaire [128], qui sont plutôt des modèles à deux dimensions,
- (b) des modèles à une dimension, qui se concentrent sur la croissance fibrillaire des polymères composés des protéines prions. Les équations qui les décrivent sont soit des équations différentielles ordinaires, ou des équations différentielles hybrides, c'est à dire continues en temps et discrètes en taille, ou des équations aux dérivées partielles continues en temps et en taille.

Parmi les modèles à une dimension, trois courants principaux se détachent basés sur trois différences biologiques, toutes assez proches les unes des autres. Il est important de souligner qu'à l'échelle de la protéine, il est extrêmement difficile de faire des observations et de tirer des résultats directs d'expériences aussi précises soient elles. En effet, la plupart des données récoltées et exploitables proviennent toujours à notre connaissance d'observations indirectes obtenues par des procédés complexes comme le changement de fluorescence de la thioflavine T (ThT) par exemple, ou la résonance plasmonique de surface (SPR pour Surface Plasmon Resonance) (technique BiaCore). Les mécanismes exacts de propagation du prion, de recrutement des protéines saines PrP^{C} par les protéines pathologiques PrP^{Sc} restent encore très spéculatives, même si avec l'avancée des progrès biologiques, les connaissances semblent converger vers l'hypothèse de la nucléation que je vais détailler dans la section suivante. Les trois types d'approche pour la modélisation en une dimension sont les suivants :

- (a) **le modèle hétérodimère** : il s'inspire des phénomènes autocatalytiques. Il s'appuie sur la théorie de la protéine chaperonne émise par Liautard [144] et qui a inspiré Prusiner. Dans cette théorie, le prion pathologique PrP^{Sc} transforme la protéine PrP^{C} par contact direct, en jouant un rôle de "chaperon". Le modèle mathématique est décrit par des équations différentielles de type Michaëlis-Menten. Il a été étudié par Galдино avec une solution analytique [96] dans sa version simple et par Eigen pour une version plus complète [80] qui inclut l'apparition sporadique de la maladie par une conversion spontanée. Toutefois, ce dernier a montré que, si l'on prenait en compte les cinétiques d'infection et de durées d'incubations observées, le rapport de processus de conversion spontanée et de changement de conformation par chaperonne devait trop grand pour être réaliste. Ce modèle bien que très simple a donc progressivement été abandonné.
- (b) **Le modèle de Laurent** : il décrit la conversion des oligomères (polymères de petites tailles). La partie qui convertit les PrP^{C} en PrP^{Sc} est formée d'un hétéro-oligomère qui interagit avec les PrP^{Sc} existants pour provoquer le changement de conformation des PrP^{C} en forme pathogène. Le modèle composé d'équations différentielles avec des parties non linéaires constituées de fonctions de Hill est très phénoménologique et même s'il décrit qualitativement les aspects sporadiques comme le phénomène de réplication, il ne peut en capturer le sens mécanique et donc une interprétation biologique détaillée [132], [133]. Un modèle plus descriptif tenta de pallier ce problème [120], [121] sans toutefois considérer le phénomène d'agrégation des PrP^{Sc} en fibrilles. C'est cette étape là d'agrégation qui est au centre du dernier modèle.
- (c) **Le modèle de Masel** : il tient compte des mécanismes de polymérisation et fragmentation. S'inspirant des hypothèses sur l'ensemencement et la nucléation introduites

par Lansbury en 1993 [54], Masel et son équipe ont proposé un modèle mathématique hybride [159]. Ce modèle mécanistique est en effet composée d'une partie continue en temps et d'une partie discrète pour la taille. L'hypothèse de nucléation que je décrirai plus loin s'appuie sur le fait que les polymères composés de protéines PrP^{Sc} sont stables au-dessus d'une certaine longueur (ou taille), mais instables en-dessous de cette taille critique. Cette instabilité a pour conséquence de provoquer immédiatement la dépolymérisation de ces petits polymères en monomères qui viennent rejoindre l'effectif des PrP^C. Ce modèle comporte donc la description de l'élongation des fibrilles par polymérisation mais également de la fragmentation de ces longues chaînes de polymères. Il est alors possible d'obtenir une distribution en taille de ces fibrilles qui peuvent être observées expérimentalement. Ce modèle par contre, contrairement aux précédents, part de l'hypothèse que des polymères sont déjà ensemencés à l'instant initial. Ceci signifie qu'il ne prend pas en compte l'effet d'apparition sporadique (spontanée) du problème.

D'autres types de modèles similaires à celui de Masel ont été étudiés comme ceux de Ferrone [84], Lee *et al.* [137], ou encore Powers et Powers [187]. C'est toutefois le modèle de Masel pour sa simplicité et son efficacité dans la description de la polymérisation et la fragmentation des protéines prions qui a inspiré nos travaux, et c'est la raison pour laquelle je le détaillerai un peu plus par rapport aux autres dans la section suivante.

2.3.2 Le modèle de Masel

Ce modèle est celui qui entre tous a eu le plus de succès : il a été soit le plus utilisé sous sa forme hybride, soit une source d'inspiration pour les modèles en version continue avec des équations aux dérivées partielles structurées en taille. Ses avantages sont nombreux :

1. par rapport aux autres modèles d'autocatalyse par chaperonnes, il n'est pas limité en taille,
2. le système macroscopique (c'est à dire sans structure de taille obtenue par sommation, que je vais expliquer ci-dessous) permet une étude de stabilité complète à la fois de la quantité des monomères et des polymères, mais également de la masse (ici le nombre de monomères dans les polymères) des polymères,
3. la version microscopique (c'est à dire avec la structure en taille originelle) permet de décrire l'évolution de chacune des espèces mises en jeu suivant sa taille.

Le modèle de Masel est basé sur trois hypothèses principales que je décris ci-après.

1. **La nucléation** : l'une des hypothèses les plus importantes de ce modèle. Introduite par Lansbury [54], elle peut être décrite de la façon suivante. Les monomères PrP^C s'agrègent pour former des polymères qui s'allongent progressivement. En dessous d'une certaine taille critique, ce processus est réversible à chacune des étapes. Mais au-dessus de cette taille critique, un noyau stable se forme, certainement par un repliement qui consolide la structure. La polymérisation devient alors irréversible. Autrement dit, il n'est plus possible théoriquement pour un polymère de taille supérieure à ce seuil de se dépolymériser. Il ne peut que s'allonger par polymérisation. C'est une des clés du modèle, qui toutefois ne tient pas compte, dans cette version, du processus réversible associé à l'apparition spontané de la maladie pour la raison suivante : les expériences biologiques montrent que cette première étape d'apparition sporadique du premier polymère stable est très aléatoire,

corroborant l'idée que le phénomène sous-jacent est fortement stochastique (voir thèse de Romain Yvinec [236]). Le modèle de Masel étant déterministe, cette partie est éludée par l'hypothèse d'ensemencement initial de fragments de polymères. Autrement dit, on part ici de l'hypothèse supplémentaire que si l'on est *in vitro*, l'expérience modélisée est déjà ensemencée par des polymères de PrP^{Sc} de tailles supérieures à la taille critique. Dans le cas *in vivo*, cela signifie que l'individu observé serait déjà infecté, correspondant à notre volonté de décrire le processus de propagation dans des populations infectées.

2. **La fragmentation** : c'est également une hypothèse importante du modèle. Les fibrilles peuvent se casser en deux parties inégales à n'importe quel moment et la cassure peut avoir lieu à n'importe quel endroit du polymère. La variation de l'expression du taux de cassure dans les modèles qui suivront celui de Masel permettra de simuler les techniques d'amplification du nombre des fragments par PMCA (Protein Misfolding Cyclic Amplification). Cette technique est un moyen de casser les fibrilles par ultrasons afin d'augmenter le nombre d'échantillons de polymères de façon artificielle.
3. **L'élongation ou polymérisation** : Chacun des brins peut s'allonger en récupérant un monomère par polymérisation. Il ne peut le faire qu'un brin à la fois dans ce modèle. L'élongation ici n'a théoriquement pas de limite de taille tant qu'il y a une source d'approvisionnement de monomères.

En tenant compte de ces hypothèses, je peux établir le modèle de Masel.

Les monomères PrP^{C} .

Les protéines de PrP^{C} sont décrites par la concentration $v(t) \geq 0$ pour tout $t \geq 0$. Elles sont :

1. **produites** dans le système à un taux constant $\lambda > 0$,
2. **dégradées** suivant une probabilité constante $\gamma > 0$ par unité de temps.

Les polymères PrP^{Sc} .

Les polymères PrP^{Sc} sont décrits par la concentration $u_i(t)$ au temps $t \geq 0$ pour chaque individu i représentant le nombre de monomères qui les composent, ou en d'autres termes la taille du polymère. Ils sont :

1. **dégradés** suivant une probabilité μ_i par unité de temps qui dépend de leur taille,
2. mais ils ne sont pas produits naturellement par l'organisme donc il n'y a **pas de terme de source pour les polymères**.

Polymérisation

L'hypothèse de la polymérisation est décrite de la façon suivante :

les protéines de PrP^{C} peuvent s'accrocher à un polymère. Et ainsi, un polymère de taille i s'allonge par assimilation d'une nouvelle protéine, et sa taille est alors $i + 1$. Le processus d'élongation d'un polymère se poursuit avec un coefficient τ_i dépendant de la taille du polymère lui-même. Il prend en compte les différentes réactions produites entre le monomère et le polymère (diffusion possible, probabilité de s'attacher à un monomère par exemple). C'est la raison pour laquelle le taux d'élongation d'un polymère de taille i est donné par $\tau_i v(t)$ et dépend donc linéairement de la quantité de monomères au temps t .

Fragmentation

Chaque polymère constitué de protéines PrP^{Sc} peut se casser en deux fibrilles de tailles inégales. Cette facilité à se fragmenter peut dépendre de la longueur du polymère. Supposons que l'on ait

un polymère de taille i , il peut alors se scinder avec une probabilité β_i par unité de temps. Cette scission crée deux brins l'un de taille $j \leq i$ et l'autre de taille $i - j$ suivant un noyau de probabilité $\kappa_{i,j}$. Il est possible ainsi, suivant la forme du noyau, de supposer qu'elle se casse seulement à la moitié donnant des tailles $j/2$ de chaque côté, ou bien n'importe où sur le polymère décrivant ainsi une loi uniforme. C'est en général cette dernière loi qu'on utilise dans nos modèles. Il n'existe en effet pas encore d'observation biologique permettant de trancher sur la forme du noyau de probabilité. Il semble donc légitime pour l'instant de choisir celle qui simplifiera les modèles tout en restant quand même biologiquement réaliste.

Influence de la nucléation :

L'hypothèse de la nucléation permet de supposer qu'il existe une taille critique $n_0 > 0$ en dessous de la quelle il ne peut pas exister de polymère, ces derniers se désagrègent en monomères. Une conséquence importante réside dans l'hypothèse suivante : lorsqu'un polymère de taille i se fragmente en deux fibrilles de taille j et de taille $i - j$, si $j < n_0$ (ou $i - j < n_0$), alors le morceau de taille inférieure à n_0 se décomposera instantanément en j (ou $i - j$) monomères que l'on considère PrP^C.

Le modèle de Masel dans sa forme la "plus complète", s'écrit alors de la façon suivante (voir figure 2.6)

$$\begin{cases} \frac{dv}{dt} = \lambda - \gamma v - \sum_{i \geq n_0} \tau_i u_i v + 2 \sum_{j \geq n_0} \sum_{i < n_0} i \beta_j \kappa_{i,j} u_j, \\ \frac{du_i}{dt} = -\mu_i u_i - (\tau_i u_i - \tau_{i-1} u_{i-1}) v - \beta_i u_i + 2 \sum_{j \geq i+1} \beta_j \kappa_{i,j} u_j, \text{ pour } i \geq n_0. \end{cases} \quad (2.8)$$

Ce système est le plus général et tient compte de toutes les hypothèses émises plus haut. Il est à la base de notre modèle et de l'étude d'autres auteurs comme Doumic et al. [72]. Mais je reviendrai sur ce dernier papier dans le prochain chapitre.

Le modèle original de Masel contient toutefois plusieurs simplifications.

1. Les taux de dégradation sont considérés indépendants de la taille du polymère et notés simplement par des constantes γ et μ ,
2. le taux de polymérisation lui-aussi est supposé constant et noté τ ,
3. la taille du noyau n_0 est juste notée n ,
4. le taux de fragmentation quant à lui, dépend de la taille de façon linéaire, autrement dit $\beta_i = \beta i$,
5. la probabilité de se casser $\kappa_{i,j}$, suit une loi uniforme. C'est à dire que $\kappa_{i,j} = 1/i$ si $j > n$ et $i < j$, et 0 si $j \leq n$ ou $j \leq i$. Dit d'une autre façon, une fibre de taille j peut se fragmenter à n'importe quel endroit sans préférence, mais ne peut se casser en une fibre plus grande. Enfin, elle ne peut être considérée comme fibre que lorsque sa taille est supérieure au noyau n .

Les deux dernières hypothèses combinées permettent ainsi d'avoir une simplification entre β_i et $\kappa_{i,j}$, ce qui au final revient à prendre une constante pour la fragmentation. Et donc, la version

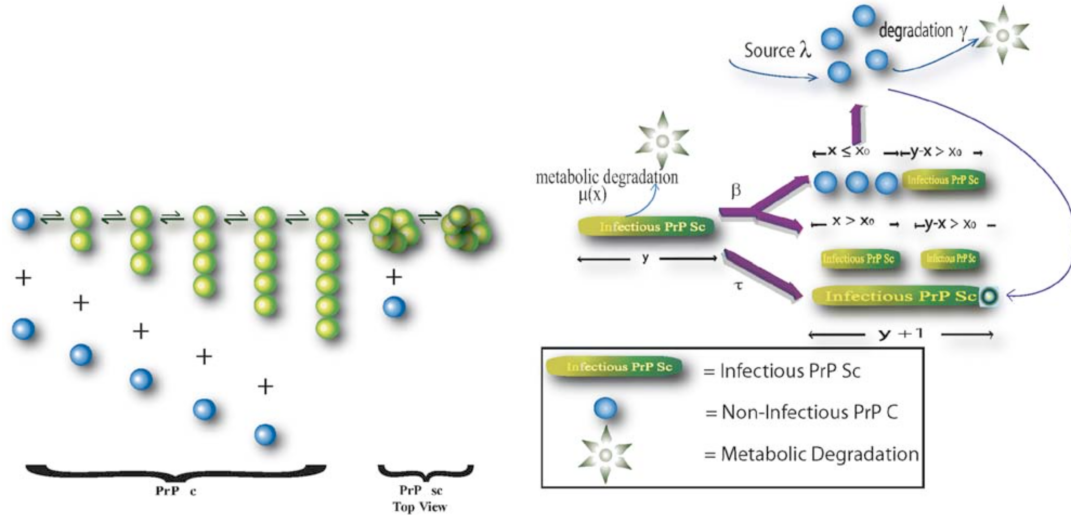


FIGURE 2.6 – **A gauche** : mécanisme de polymérisation avec une taille de nucléation minimale $n = 6$ (non pris en compte par le modèle de Masel [159]). **A droite** : modèle cinétique de croissance des fibrilles reprenant les hypothèses du modèle de Masel. Schéma tiré de Greer *et al.* [104].

originelle du modèle de Masel a plutôt la forme suivante :

$$\begin{cases} \frac{dv}{dt} = \lambda - \gamma v - \sum_{i=1}^{\infty} \tau u_i v + 2\beta \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^{\infty} i u_j, \\ \frac{du_i}{dt} = -\mu u_i + \tau(u_{i-1} - u_i)v + 2\beta \sum_{j=i+1}^{\infty} u_j, \quad \text{pour } i \geq n, \\ u_i = 0, \text{ sinon.} \end{cases} \quad (2.9)$$

Il est repris par Masel et ses collaborateurs plusieurs fois [159], [158], [157]. Une des techniques pour étudier ce dernier modèle qui a priori fait intervenir un nombre infini d'équations est de le réduire en faisant une sommation. Ainsi, en notant $U = \sum_{i \geq n} u_i$ la quantité totale de

polymères, et $P = \sum_{i \geq n} i u_i$ la quantité totale de monomères contenus dans les polymères, que

l'on pourrait considérer comme la masse de tous les polymères réunis, le système (2.9) s'écrit comme un "simple" système de trois équations différentielles linéaires

$$\begin{cases} v' = \lambda - \gamma v - \tau U v + n(n-1)\beta U, \\ U' = -\mu U + \beta P - (2n-1)\beta U, \\ P' = -\mu P + \tau U v - n(n-1)\beta U, \end{cases} \quad (2.10)$$

pour tout $t > 0$ avec une condition initiale définie de telle sorte que l'on ne commence pas seulement avec une population de monomères mais également avec un ensemencement de polymères. Autrement dit, $v(0)$, $U(0)$ et $P(0)$ sont tous strictement positifs.

Ce dernier modèle (2.10) est appelé modèle macroscopique, car il décrit les dynamiques des quantités totales (monomères libres v , polymères U et monomères dans les polymères P). C'est

le pendant du système (2.9) appelé modèle microscopique, qui lui décrit les dynamiques des individus étudiés suivant leurs tailles.

La condition initiale donnée ci-dessus reflète une des caractéristiques du modèle. Il décrit la propagation *in vivo* des prions dans l'organisme chez un sujet déjà infecté où il y a déjà des polymères de prion PrP^{Sc}.

Limites du modèle. Une des limites de ce modèle est la phase de nucléation initiale, autrement dit la phase d'apparition sporadique (spontanée) d'un polymère qui serait à l'initiation de la maladie sans transmission préalable qui n'est pas représentée ici. Cette apparition spontanée du premier noyau est fortement stochastique. Il ne peut être décrit correctement par les systèmes déterministes ci-dessus, macroscopiques ou microscopiques. Comme je l'ai mentionné précédemment, j'élude ce problème ici même s'il a été étudié par Romain Yvinec [236].

Une autre limite de ce modèle discret est la difficulté d'étudier le modèle microscopique étant donné que ce dernier est représenté par un système composé d'une infinité d'équations différentielles.

Initiation de nos travaux. Masel et son équipe n'ont d'ailleurs effectué que très peu d'analyse du modèle. Ils se sont plutôt focalisés sur les simulations numériques et l'évaluation de paramètres en utilisant des approximations assez fortes parfois. C'est ce qui a été à la genèse de notre réflexion et le début d'une plongée dans ce domaine de recherche qui s'est développé pour atteindre un rythme de croisière soutenu au moment de l'écriture de ce manuscrit.

C'est le déroulement de nos réflexions et de nos résultats sur la dynamique de la prolifération du prion qui sont présentés dans le chapitre suivant.

Chapitre 3

Travaux sur la dynamique du prion

Tout ce qui a trait à la vache m'émeut.

Vincent Roca

Sommaire

3.1 Premier modèle	62
3.1.1 Objectifs	62
3.1.2 Equations du modèle microscopique	63
3.1.3 Du système microscopique au système macroscopique	66
3.1.4 Étude du système macroscopique	67
3.1.5 Analogie avec les modèles d'épidémiologie SEIS	70
3.1.6 Analogie avec un modèle cellulaire infecté par un virus	74
3.1.7 Impact du modèle	75
3.2 Un modèle avec diffusion	76
3.2.1 Modèle structuré en espace	77
3.3 Vers la découverte des micelles chez les prions	85
3.3.1 Un temps de latence incompressible	86
3.3.2 Une collaboration interdisciplinaire fructueuse	90

L'origine de ce travail date précisément du mois de juin 1999, période pendant laquelle l'école d'été européenne "*Mathematics of Cell Physiology and Proliferation*" à Termoli en Italie, était organisée entre autres par Ovide Arino, un de mes directeurs de thèse. Je travaillais alors sur les équations à retards et le cycle cellulaire avec des applications aux maladies sanguines dans le cadre de mes recherches doctorales. Mais un exposé de Joanna Masel intitulé "*The kinetics of prion replication*" présentant ses récentes recherches de l'époque sur le prion à la base de son article [159] nous a interpellés, Glenn Webb et moi. Cette idée est restée à l'état de latence quelques temps avant de ressurgir un peu plus de trois années après.

En effet, une soutenance de thèse et deux ans de post-doctorat à l'université McGill plus tard (avec Michael C. Mackey), je me trouvais professeur assistant en septembre 2003 à l'université Vanderbilt aux États-unis auprès du professeur Webb.

Le thème de mes recherches avec le professeur Webb vint très naturellement. Il s'agissait de collaborer avec Meredith Greer alors son étudiante en thèse sur la modélisation du prion et plus particulièrement la forme continue de ce modèle. Une formulation qui prenait également en compte la taille des polymères de façon continue et non pas dans une formulation discrète comme Masel l'exposait dans son article [159] (et son intervention à Termoli).

C'est dans ce contexte que tout a commencé pour moi dans ce domaine qui m'était totalement inconnu. Il arrivait dans un moment de transition entre mes recherches sur la modélisation de la dynamique des cellules hématopoïétiques de fin de post-doctorat et une ouverture vers d'autres thématiques totalement nouvelles.

3.1 Premier modèle

3.1.1 Objectifs

Le premier modèle que nous avons élaboré, analysé et étudié a été publié en 2006 in [104]. Il est centré d'une part sur la dynamique des formes normales de prion que nos cellules produisent tous les jours et qui jouent plusieurs rôles bénéfiques sur notre corps. Elles sont composées d'une seule protéine appelé monomère PrP^{C} (pour *Prion Protein Cellular*) et d'autre part sur la dynamique des formes infectieuse ou pathologique de prion, appelée PrP^{Sc} (pour *Prion Protein Scrapie*), créée à partir d'un mauvais repliement de la protéine PrP^{C} : ajout de feuilletts β dans leur structure à partir d'hélices α des molécules de PrP^{C} qui se sont dépliées. L'augmentation des feuilletts β a pour conséquence de favoriser l'attachement entre plusieurs protéines de PrP^{Sc} créant ainsi des polymères qui s'agrègent ensuite en plaques amyloïdes que l'on soupçonne d'être nocives pour les neurones.

Ce premier travail a été motivé principalement par des hypothèses biologiques précises concernant différents rôles fonctionnels des formes non pathogènes PrP^{C} des prions décrits par Roucou *et al.* [210], [209] mais également Bounhar *et al.* [35], Brander *et al.* [38], Brown *et al.* [39], Chiesa *et al.* [46], Kim *et al.* [123] et Li *et al.* [142]. Dans leur article, Roucou *et al.* [210], [209] notamment, montrent que ce n'est pas uniquement la forme pathogène PrP^{Sc} des prions qui cause des dommages dans le cerveau. Cela peut être également dû en effet, dans certaines conditions, à la perte massive de PrP^{C} qui s'agrègent avec les PrP^{Sc} pour former des polymères. Et comme une des fonctions bénéfique du PrP^{C} serait de protéger les neurones contre le *Bax*, une substance qui, lorsqu'elle était activée (par une forme de stress de l'individu) provoquerait l'apoptose (mort naturelle) de la cellule, le manque de PrP^{C} pourrait alors engendrer une des-

truction importante des neurones. Cet effet combiné au rôle néfaste des PrP^{Sc} et des plaques amyloïdes, le processus d'évolution de la maladie et d'apparition des premiers symptômes ne peut alors que s'accélérer. Ainsi, selon Brown *et al.* [39], plus un individu infecté par les PrP^{Sc} est stressé, plus ses neurones ont tendance à disparaître, le précipitant vers une issue fatale (rappelez que le décès de l'individu infecté par le prion pathologique arrive inéluctablement moins d'un an après l'apparition des premiers symptômes).

C'est donc à la fois la dynamique des monomères PrP^{C} mais également des polymères PrP^{Sc} qui m'a intéressé au plus haut point dans ce travail de recherche.

L'objectif était donc de développer le modèle le plus simple possible incorporant les étapes essentielles de la dynamique des formes infectieuses et non infectieuses du prion.

Comme mentionné dans le chapitre précédent, plusieurs modèles pour tenter d'expliquer le processus de réplication des prions PrP^{Sc} ont été proposés et notamment ceux de Eigen [80], Lansbury [54], Kulkarni [128], Laurent [132], Masel [159], Mobley [165], Nowak [171], Pöschel [186], Slepoy [220]. Parmi toutes ces propositions, je distingue les *modèles à une dimension* (élongation linéaire des fibrilles) ou *deux dimensions* (agrégation planaire). Les modèles à deux dimensions décrivant soit les agrégation des plaques, soit les surfaces cellulaires ont été étudiées par Kulkarni *et al.* [128], Mobley *et al.* [165] ou encore Slepoy *et al.* [220]. Mais, trop compliqués à nos yeux pour l'angle d'étude que nous avons en tête, nous avons préféré nous focaliser sur les modèles plus simples à une dimension qui représentent déjà très bien l'idée d'élongation des structures fibrillaires, linéairement dans chacune des directions. Les modèles déjà existants dont nous nous sommes inspirés ont été ceux de Masel [159], Nowak [171], Pöschel [186]. Mais c'est quand même celui de Masel [159] qui intègre à nos yeux le mieux l'hypothèse de polymérisation nucléée dans un modèle déterministe. Il est à la base de notre tout premier modèle continu structuré en taille dont l'approche nous semble plus accessible d'un point de vue conceptuel, et plus aisé à analyser d'un point de vue mathématique.

3.1.2 Equations du modèle microscopique

Notre premier modèle décrit un processus de polymérisation nucléé, au travers duquel il est possible de décrire la réplication des prions infectieux. Il ne propose pas le processus sporadique (spontanée) plutôt stochastique d'apparition du premier noyau à partir d'une population composée uniquement de prion PrP^{C} , mais suppose que les premières infections ont déjà eu lieu, et qu'une population de polymères est déjà initialement installée dans l'organisme depuis quelques temps. L'objectif est ici en effet d'étudier un modèle seulement déterministe dans une première approche. Il est appelé microscopique parce qu'il décrit les populations polymères de toutes les tailles x , par "opposition" au modèle macroscopique qui décrit les dynamiques de tous les polymères et de leur masse sans distinction de taille. Je reviendrai au modèle macroscopique dans la section suivante.

Ce modèle microscopique composé de 6 paramètres se compose de deux équations couplées : une équation différentielle décrivant la dynamique des monomères PrP^{C} (non structurés en taille) et une équation aux dérivées partielles structurée en taille décrivant la dynamique des polymères PrP^{Sc} de toutes les tailles.

Nos hypothèses biologiques sont les suivantes (voir également la figure 3.1 pour une illustration de ces hypothèses) :

1. un polymère infectieux PrP^{Sc} possède plusieurs destins différents : il peut
 - soit voir sa taille augmenter par l'attachement de monomères PrP^{C} , ce dernier se trans-

formant immédiatement en PrP^{Sc} au contact de la fibrille auquel il s'accroche, -soit se couper en deux parties inégales, on dit qu'il se fragmente.

2. il existe une taille critique x_0 , que l'on appelle la taille du noyau, en dessous de laquelle, le polymère est instable et se fragmente entièrement en monomères qui rejoignent la population des PrP^{C} . Au dessus-de la taille critique x_0 le polymère est stable et peut s'allonger. En conséquence, si la fibrille se casse en deux, et si l'un des deux morceaux est plus petit que x_0 , ce dernier se décompose en monomères PrP^{C} . Si par contre les deux morceaux issus de la fragmentation sont tous les deux de taille supérieure à x_0 , les deux morceaux constituent deux nouvelles fibres "filles" de tailles inférieures à la fibre "mère".
3. Notre modèle étant basé sur des hypothèses *in vivo*, nous avons un terme de source pour les monomères (protéines produites dans les cellules environnantes, et notamment les neurones ici) et des termes de dégradation pour les monomères comme pour les polymères.

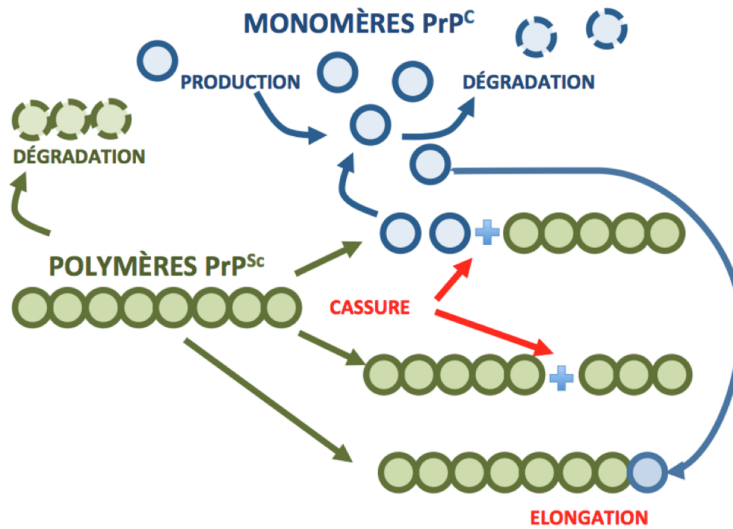


FIGURE 3.1 – Description des mécanismes de polymérisation et fragmentation des monomères PrP^{C} et des polymères PrP^{Sc} .

Les deux équations du modèle sont alors formulées de la façon suivante.

Population de monomères

Notons $V(t)$ la population de monomères PrP^{C} au temps $t > 0$ et

$$U(t) = \int_{x_0}^{\infty} u(x, t) dx,$$

la population totale de polymères de taille x plus grandes que la taille minimale de stabilité (formant le noyau) x_0 , avec $u(x, t)$ la densité de polymères au temps $t > 0$ de taille $x \in (x_0, +\infty)$.

Précisons que la taille de polymères peut être extrêmement importante, de l'ordre de plusieurs milliers de monomères comme le souligne Masel dans [159] ou Prusiner [192]. Nous pouvons également remarquer que dans le modèle de Masel [159], la taille x des polymères

est une variable discrète que nous supposons continue ici vue la grande taille des polymères. Ainsi, plutôt que manipuler une infinité d'équations différentielles correspondant aux tailles des polymères pouvant être aussi grande que l'on souhaite dans le modèle de Masel, nous préférons n'utiliser qu'une seule équation, aux dérivées partielles structurée en taille. L'équation des monomères peut alors s'écrire

$$\frac{d}{dt}V(t) = \lambda - \gamma V(t) - \tau V(t)U(t) + 2 \int_0^{x_0} x \int_{x_0}^{\infty} \beta(y)\kappa(x, y)u(y, t)dydx. \quad (3.1)$$

Regardons d'un peu plus près cette équation :

- le premier terme λ du second membre correspond au terme de source, qui biologiquement est considérée comme une production constante et indépendante de PrP^C ,
- le second terme $\gamma V(t)$ représente la dégradation naturelle métabolique des monomères dans leur milieu,
- le troisième terme $\tau V(t)U(t)$ décrit la polymérisation des PrP^{Sc} . Ce sont les PrP^C qui partent de la population de monomère pour aller s'attacher et donc allonger les polymères PrP^{Sc} à un taux τ ,
- le dernier terme est un peu plus compliqué : il correspond au nombre de monomères provenant de la fragmentation de polymères PrP^{Sc} , et plus particulièrement des morceaux instables plus petits de taille inférieure à x_0 , qui se fragmentent complètement en monomères et qui rejoignent ainsi la population de PrP^C . La fonction β décrit le taux de séparation des polymères et le noyau κ représente la probabilité qu'un polymère de taille $y > x_0$ se casse en deux polymères de taille x et $y - x$ tous les deux inférieurs à y . Il est possible de donner la forme du noyau que l'on veut dans notre modèle. Autrement dit, nous pouvons privilégier une façon de se fragmenter en deux comme nous le souhaitons : biologiquement, un polymère peut se fragmenter plutôt en son milieu et donc nous pouvons favoriser la cassure en $y/2$, ou bien déterminer des sites possibles de cassures plus favorables sur une fibrille suivant les conditions d'expérimentation. Nous choisissons ici, par pure simplification technique, une façon uniforme de se fragmenter. C'est à dire qu'une fibrille peut se casser avec la même probabilité n'importe où sur sa longueur. Mathématiquement cela revient à exprimer notre noyau κ de la façon suivante,

$$\kappa(x, y) = \begin{cases} 0, & \text{si } y \leq x_0, \text{ ou } y \leq x, \\ 1/y, & \text{si } y > x_0, \text{ et } 0 < x < y. \end{cases} \quad (3.2)$$

Nous obtenons bien une probabilité dans le sens où, pour une valeur y fixée nous avons,

$$\int_0^{+\infty} \kappa(x, y)dx = \begin{cases} 0, & \text{si } y \leq x_0, \\ 1, & \text{si } y > x_0. \end{cases} \quad (3.3)$$

Le facteur 2 dans le dernier terme du second membre de l'équation différentielle (3.1), correspond au fait qu'une fibrille peut se couper en un petit morceau et un grand morceau de la même manière si l'on regarde à partir d'une extrémité ou l'autre et nous comptons donc les deux possibilités de se couper de façon identique.

Nous proposons également une condition initiale $V(0) = V_0$, où V_0 est un réel positif.

Population de polymères

Suivant les hypothèses biologiques décrites au début de cette section, nous pouvons décrire l'évolution de la population de polymères par l'équation de transport suivante,

$$\frac{\partial}{\partial t}u(x, t) + \tau V(t) \frac{\partial}{\partial x}u(x, t) = -\mu(x)u(x, t) - \beta(x)u(x, t) + 2 \int_x^\infty \beta(y)\kappa(x, y)u(y, t)dy. \quad (3.4)$$

Faisons quelques remarques sur cette équation :

- le deuxième terme du premier membre correspond à l'élongation par polymérisation des fibrilles avec attachement des monomères. Il n'y a pas de dépolymérisation ici, et nous supposons τ constante, de telle sorte que la vitesse d'élongation n'est pas incluse dans la dérivée partielle par rapport à x ,
- le premier terme du second membre représente la perte de monomère par dégradation naturelle métabolique,
- le second terme décrit la perte d'un polymère de taille x qui se fragmente en deux morceaux de tailles inférieures,
- le dernier terme provient de la séparation d'un polymère de taille y en un polymère de taille x qui vient rejoindre la population de polymères de cette même taille, et un polymère de taille $y - x$.

Nous proposons également une condition initiale

$$u(x, 0) = \varphi(x), \quad \text{pour } x_0 < x < \infty, \quad (3.5)$$

et une condition au bord

$$u(x_0, t) = 0 \quad \text{pour } t \geq 0. \quad (3.6)$$

Hypothèses simplificatrices

L'idée étant de faire une première analyse mathématique de ce modèle, nous décidons d'apporter quelques hypothèses supplémentaires qui nous permettent de simplifier grandement l'étude.

1. Nous supposons d'abord que les polymères peuvent se fragmenter à un taux proportionnel à la taille de ces derniers, autrement dit, $\beta(x) = \beta x$ où β est un réel strictement positif.
2. Les taux de dégradation γ et μ , sont choisis constants et positifs.
3. Le taux τ de polymérisation est également choisi constant positif.

Grâce à ces hypothèses, le système des deux équations (3.1)-(3.4) précédentes se simplifie grandement. Le terme $\beta(y)\kappa(x, y)$ par exemple devient $\beta y \frac{1}{y} = \beta$.

3.1.3 Du système microscopique au système macroscopique

L'étude analytique de la dynamique des solutions du système microscopique étant assez compliquée, nous souhaitons au début passer à un modèle macroscopique plus rapide à analyser, et surtout, permettre de fournir des informations déjà très utiles pour les biologistes, à savoir : l'évolution du nombre de polymères, de leur masse et donc de leur taille. Nous reviendrons un peu plus loin dans l'interprétation biologique des résultats.

Afin de réduire le modèle microscopique en modèle macroscopique comprenant trois équations différentielles, nous introduisons

$$P(t) = \int_{x_0}^{\infty} xu(x, t)dx, \quad (3.7)$$

qui représente le nombre total de monomères contenus dans tous les polymères de toutes les tailles supérieures à la taille limite x_0 au temps t .

Et donc, en intégrant l'équation (3.4) pour les $u(x, t)$ par rapport à l'âge, et en supposant que $u(x_0, t) = 0$ et $\lim_{x \rightarrow \infty} u(x, t) = 0$, nous obtenons l'équation différentielle du nombre totale de polymères de toutes tailles supérieures à x_0 :

$$\frac{d}{dt}U(t) = \beta P(t) - \mu U(t) - 2\beta x_0 U(t), \quad (3.8)$$

pour tout $t > 0$.

D'autre part, en multipliant l'équation (3.4) par x , en supposant que $\lim_{x \rightarrow \infty} xu(x, t) = 0$, puis en intégrant par rapport à la taille x , nous obtenons l'équation différentielle relative à la masse totale (nombre de monomères dans tous les polymères de toutes les tailles) :

$$\frac{d}{dt}P(t) = \tau V(t)U(t) - \mu P(t) - \beta x_0^2 U(t), \quad (3.9)$$

pour tout $t > 0$.

Nous supposons également les conditions initiales biologiquement raisonnables

$$U(0) = U_0 \geq 0, \quad V(0) = V_0 \geq 0 \quad \text{et} \quad P(0) = P_0 \geq x_0 U_0. \quad (3.10)$$

Il est alors possible d'étudier le système de trois équations différentielles non linéaires assez simple pour tout $t > 0$,

$$\begin{cases} U' &= \beta P - \mu U - 2\beta x_0 U, \\ V' &= \lambda - \gamma V - \tau V U + \beta x_0^2 U, \\ P' &= \tau V U - \mu P - \beta x_0^2 U. \end{cases} \quad (3.11)$$

3.1.4 Étude du système macroscopique

Equilibres

Les résultats à la fois sur le système microscopique et sur le système macroscopique ont été très nombreux. Penchons nous seulement sur les principaux.

Les deux états d'équilibres du système sont respectivement

$$\bar{U} = 0, \quad \bar{V} = \lambda/\gamma \quad \text{et} \quad \bar{P} = 0, \quad (3.12)$$

pour l'équilibre sain, et

$$\bar{U} = \frac{\beta\lambda\tau - \gamma(x_0\beta + \mu)^2}{\mu\tau(2x_0\beta + \mu)}, \quad \bar{V} = \frac{(x_0\beta + \mu)^2}{\beta\tau} \quad \text{et} \quad \bar{P} = \frac{\beta\lambda\tau - \gamma(x_0\beta + \mu)^2}{\beta\mu\tau}, \quad (3.13)$$

pour l'équilibre pathologique.

Afin que l'équilibre pathologique puisse exister, notons que la condition suivante est nécessaire :

$$(\beta\lambda\tau/\gamma)^{1/2} > x_0\beta + \mu. \quad (3.14)$$

Le second membre de cette inégalité correspond à la perte totale de polymères PrP^{Sc} due à leur dégradation et leur fragmentation en taille inférieure à x_0 . Le premier membre quant à lui décrit la production de polymères due à leur polymérisation et leur fragmentation en parties stables permettant de s'allonger et consommer les monomères PrP^{C} libres.

Existence, unicité et positivité

Le premier résultat assez simple a été le suivant

Proposition 3.1

Soient $\lambda, \gamma, \tau, \beta, \mu, x_0 > 0$. Soit $X = \{(U, V, P) \in \mathbb{R}_+ : U \geq 0, V \geq 0 \text{ et } P \geq x_0U\}$, alors

1. pour chaque $(U(0), V(0), P(0)) \in X$, il existe une unique solution $(U(t), V(t), P(t))$ le système (3.11) pour tout $t \geq 0$.

D'autre part, $(U(t), V(t), P(t)) \in X$ pour tout $t \geq 0$.

2. L'équilibre sain donné par $(\bar{U}, \bar{V}, \bar{P}) = (0, \lambda/\gamma, 0)$ est globalement asymptotiquement stable dans X pour le système (3.11) si et seulement si $(\beta\lambda\tau/\gamma)^{1/2} > x_0\beta + \mu$. Autrement dit,

$$\lim_{t \rightarrow \infty} (U(t), V(t), P(t)) = (\bar{U}, \bar{V}, \bar{P}), \quad (3.15)$$

pour tout $(U(0), V(0), P(0)) \in X$, si et seulement si $(\beta\lambda\tau/\gamma)^{1/2} > x_0\beta + \mu$.

3. L'équilibre pathologique donné par

$$\bar{U} = \frac{\beta\lambda\tau - \gamma(x_0\beta + \mu)^2}{\mu\tau(2x_0\beta + \mu)}, \quad \bar{V} = \frac{(x_0\beta + \mu)^2}{\beta\tau} \quad \text{et} \quad \bar{P} = \frac{\beta\lambda\tau - \gamma(x_0\beta + \mu)^2}{\beta\mu\tau}$$

est globalement asymptotiquement stable en $X \setminus [\{0\} \times \mathbb{R}_+ \times \{0\}]$ pour le système (3.11) si la condition $(\beta\lambda\tau/\gamma)^{1/2} < x_0\beta + \mu$ est vérifiée.

Preuve :

La preuve, assez rapide est donnée dans [104] pour les points (1) et (2) et [196] pour le point (3).

Évolution de la taille moyenne des polymères

En utilisant les données expérimentales disponibles à notre connaissance (à ce moment là), nous pouvons estimer l'évolution de la taille moyenne des polymères au cours du temps. Les 6 paramètres $x_0, \gamma, \lambda, \mu, \beta$ et τ de notre modèle peuvent soit être donnés par la littérature, soit estimés. C'est ainsi que la taille minimale x_0 d'un noyau stable de polymère est estimée entre 6 et 30 par Masel *et al.* dans [159]. La demi-vie des monomères PrP^{C} est estimée entre 3h et 6h sur les souris par Borchelt *et al.* [34] et Caughey *et al.* [43] ce qui nous permet d'évaluer γ entre 3 et 5 jour⁻¹. Nous estimons la source λ à peu près entre 10^3 et 10^4 ce qui nous semble être en adéquation avec les résultats de Masel dans [159]. Ces trois paramètres x_0, γ et λ sont évalués indépendamment de l'évolution de la maladie. Les trois autres paramètres μ, β et τ sont obtenus à partir de données expérimentales observées à l'équilibre. Autrement dit, à partir de l'équilibre pathologique (3.13), nous pouvons en sortir

$$\tau = -\frac{(\bar{P} - \bar{U}x_0)^2(\bar{V}\gamma - \lambda)}{PUV(\bar{P} - 2\bar{U}x_0)}, \mu = \frac{-\bar{V}\gamma + \lambda}{\bar{P}}, \beta = \frac{\bar{U}(-\bar{V}\gamma + \lambda)}{P(\bar{P} - 2\bar{U}x_0)}.$$

Nous utilisons les données expérimentales de Rubenstein *et al.* [211] disponibles (au moment de la rédaction de notre article). Notons que dans [211] les auteurs utilisent la SAF/sq c'est à dire la "Scrapie Associated Fibrils par unité de mesure au carré" comme un indicateur d'infectivité. Dans leurs expériences, ils ont inoculé le PrP^{Sc} par injection intracérébrale ou intrapéritonéale et mesuré le niveau de SAF dans le cerveau et la rate à différents moments après l'inoculation. D'un point de vue qualitatif et quantitatif, il est donc possible de montrer l'évolution de la population de polymères en temps long et voir vers quel profil la solution tend asymptotiquement en fonction de la taille x (voir figure 3.2). Dans la figure 3.2 nous voyons clairement à gauche que la longueur moyenne croît très vite, très tôt dans les tous premiers jours, puis se met à décroître rapidement pour s'équilibrer en temps long. L'explication de ce phénomène est assez clair : dans un premier temps, le nombre de monomères disponibles est très élevé, les polymères s'allongent fortement en se fragmentant avec un taux constant. Leur taille moyenne croît rapidement jusqu'à un épuisement du stock de monomères, qui se raréfie malgré un apport constant. Il devient alors plus difficile pour les polymères de s'allonger plus, et donc c'est la fragmentation qui prend le dessus. Les polymères se cassent, plus qu'ils ne s'allongent, et donc leur longueur moyenne décroît rapidement jusqu'à obtenir un équilibre entre la source constante de polymères et le taux constant de fragmentation. L'évolution de la longueur moyenne est donnée dans la figure 3.3.

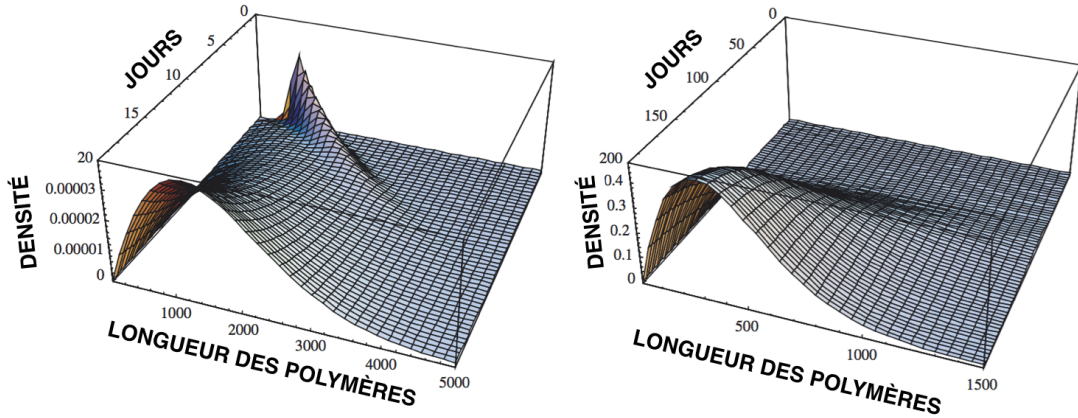


FIGURE 3.2 – Évolution de la densité de distribution des polymères $u(x, t)$. Le graphe à gauche représente les premiers instants de la prolifération (jusqu'au jour 20), où l'on peut voir clairement la longueur moyenne des polymères augmenter, puis décroître assez rapidement. Le graphe à droite montre la stabilisation de la population de polymère quand $u(x, t)$ converge vers l'état d'équilibre. Les paramètres de la simulation proviennent de [159] et de [211] : $\lambda = 4400 \text{ jour}^{-1}$, $\tau = 0.3 \text{ SAF/sq}^{-1} \text{ jour}^{-1}$, $\beta = 0.0001 \text{ SAF/sq}^{-1} \text{ jour}^{-1}$, $\mu = 0.04 \text{ jour}^{-1}$, $\gamma = 5.0 \text{ jour}^{-1}$, $x_0 = 6$, où SAF/sq correspond à "Scrapie Associated Fibrils par unité de mesure au carré". Nous avons pris une population initiale $V_0 = 880$ en concentration de monomères et de pour les polymères, notre condition initiale $u(x, 0)$ était donnée de façon arbitraire égale 0.000002 fois la distribution gaussienne de moyenne 0.15 et de déviation standard 0.03.

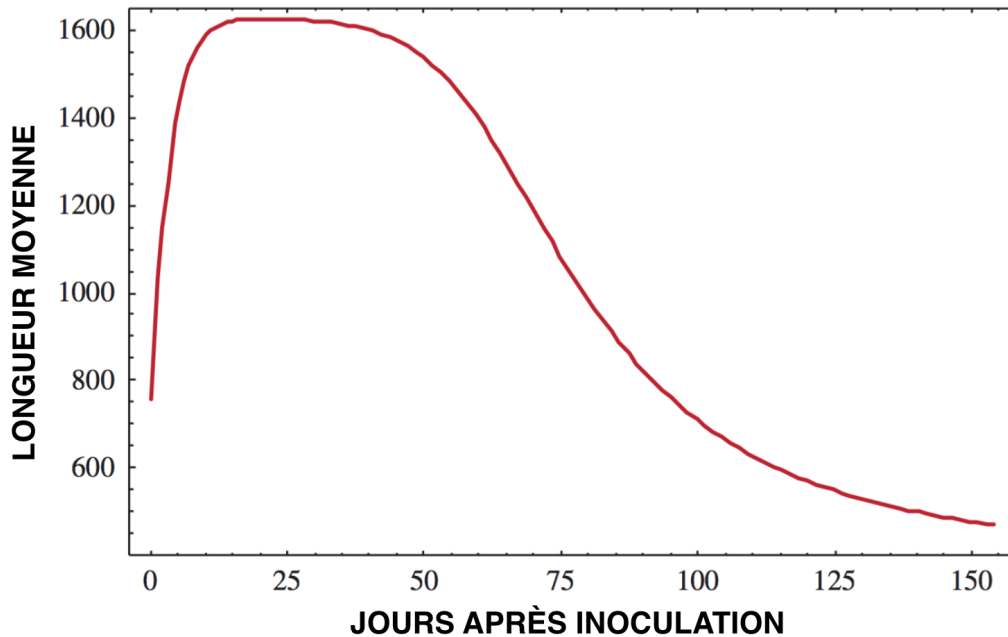


FIGURE 3.3 – Évolution de la longueur moyenne $P(t)/U(t)$ des polymères en fonction du nombre de jours après l’inoculation de polymères PrP^{Sc} . Cette longueur croît rapidement dans les premiers jours puis décroît lentement pour se stabiliser par la suite, dû à une raréfaction de monomères PrP^{C} disponibles (voir texte pour des explications plus substantielles). Les paramètres de la simulation sont les mêmes que pour la figure 3.2.

Temps d’incubation en fonction des doses d’inoculum

Notre modèle permet également de prédire l’évolution des temps d’incubation (entre l’inoculation et l’apparition des symptômes) en fonction de différentes doses d’inoculum injectées chez un individu. Nous avons simulé 9 doses à des concentrations croissantes et mesuré la réponse de l’organisme jusqu’à l’apparition des premiers symptômes (soit selon Rubenstein *et al.* [211], environ 130 SAF/sq mesuré dans la rate de souris auxquelles on a préalablement injecté intracérébralement la souche “Scrapie 139A”). Il est clair pour nous que sur une échelle logarithmique, les points sont parfaitement alignés. Ce qui laisse à penser que plus on augmente la dose, plus le temps d’incubation est court, jusqu’à obtenir un temps extrêmement faible pour des doses d’inoculum très importantes (voir figure 3.4).

3.1.5 Analogie avec les modèles d’épidémiologie SEIS

Très vite, nous nous rendons compte que ce système (3.11) présente des analogies forte avec un modèle d’épidémiologie que nous allons décrire ici. Mais auparavant, en posant

$$R_0 = \frac{\lambda\beta\tau}{\gamma(\mu + \beta x_0)^2}, \quad (3.16)$$

qui correspond au nombre d’infections secondaires produites en moyenne par une seule infection de prion. Et donc, si $R_0 \leq 1$, alors l’infection ne prend pas et l’équilibre sain est globalement

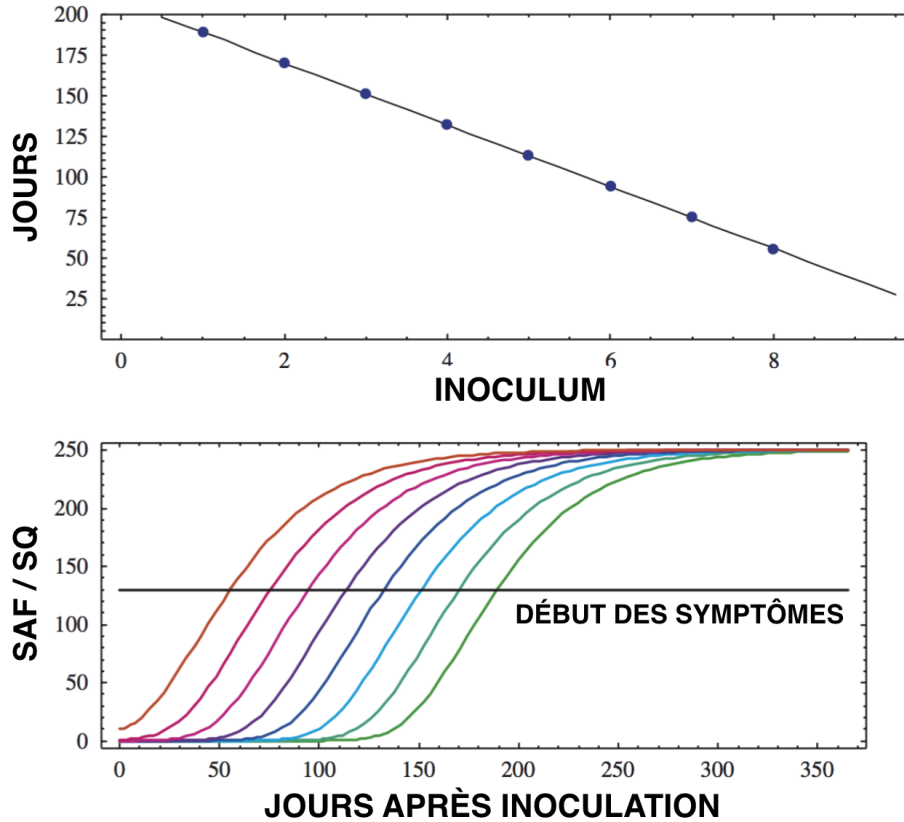


FIGURE 3.4 – Haut : temps d’incubation en jours pour des doses $U(0)$ diluées jusqu’à 9 fois. Tous les points sont alignés sur une échelle log. Bas : simulations du nombre total de fibrilles $U(t)$ en SAF / sq pour les 9 doses d’inoculum. La ligne horizontale correspond à l’apparition des premiers symptômes. Les paramètres de la simulation sont les mêmes que pour la figure 3.2.

asymptotiquement stable. Si par contre $R_0 > 1$, l’infection persiste et l’équilibre pathologique devient globalement asymptotiquement stable. En changeant les variables de la façon suivante :

1. tout d’abord pour travailler dans le cône positif \mathbb{R}^3 , nous remplaçons la variable P par $W = P - x_0U$. Ceci permet de changer le système (3.11) en

$$\begin{cases} x_0U' &= \beta x_0W - (\mu + \beta x_0)x_0U, \\ V' &= \lambda - \gamma V - \frac{\tau}{x_0}x_0VU + \beta x_0^2U, \\ W' &= \frac{\tau}{x_0}x_0VU - (\mu + \beta x_0)W, \end{cases} \quad (3.17)$$

avec les conditions initiales $U(0) = U_0 \geq 0$, $V(0) = V_0 \geq 0$ et $W(0) = W_0 = P_0 - x_0U_0 \geq 0$.

2. Puis en adimensionnant par le changement de variable suivant

$$x_0U(t) = ax(\alpha t), \quad V(t) = by(\alpha t) \text{ et } W(t) = cz(\alpha t),$$

avec

$$\alpha = \mu + \beta x_0, \quad a = (\mu + \beta x_0)x_0/\tau, \quad b = c = (\mu + \beta x_0)^2/\beta\tau,$$

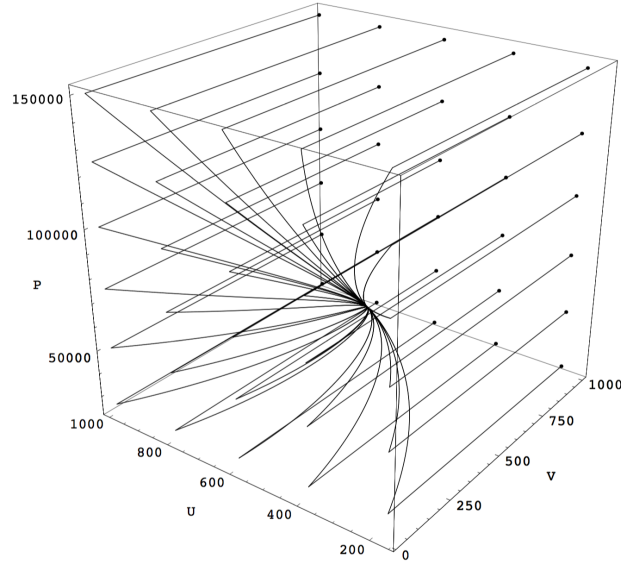


FIGURE 3.5 – Exemple de cas de stabilité asymptotique globale vers l'équilibre pathologiques donné dans [196]. Les paramètres de la simulation proviennent de [159] et de [211] : $\lambda = 4400 \text{ jour}^{-1}$, $\tau = 0.3 \text{ SAF/sq}^{-1} \text{ jour}^{-1}$, $\beta = 0.0001 \text{ SAF/sq}^{-1} \text{ jour}^{-1}$, $\mu = 0.04 \text{ jour}^{-1}$, $\gamma = 5.0 \text{ jour}^{-1}$, $x_0 = 6$, où SAF/sq correspond à “Scrapie Associated Fibrils par unité de mesure au carré”.

et,

$$\xi = 1, \sigma = \lambda\beta\tau/(\mu + \beta x_0)^3 > 0, \rho = \gamma/(\mu + \beta x_0) > 0, \delta = (\beta x_0/(\mu + \beta x_0))^2 \in (0, 1)$$

nous obtenons le système

$$\begin{cases} x' = z - \xi x, \\ y' = \sigma - \rho y - xy + \delta x, \\ z' = xy - z, \end{cases} \quad (3.18)$$

avec les conditions initiales $x(0) = x_0 \geq 0$, $y(0) = y_0 \geq 0$, $z(0) = z_0 \geq 0$. (noter au passage que la fonction x ici n'a pas de rapport avec la variable x représentant la taille dans l'équation de transport (3.4), nous essayons de garder autant que possible les notations des articles publiés).

Ce système (3.18) peut s'interpréter comme un modèle d'épidémiologie SEIS : nous considérons en effet

- les populations $S(t)$ de susceptibles, c'est à dire les individus potentiellement enclin à être infectés,
- les populations $E(t)$ d'exposés, c'est à dire les individus exposés à la maladie et déjà infectés, mais pas encore contagieux,
- les populations $I(t)$ d'infectés qui sont également contagieux et donc potentiellement en mesure de transmettre la maladie aux susceptibles.

En posant

$$x(t) = \frac{\tau}{\alpha + \mu} I(t/(\alpha + \mu)), y(t) = \frac{\alpha\tau}{(\alpha + \mu)^2} S(t/(\alpha + \mu)), \text{ et } z(t) = \frac{\alpha\tau}{(\alpha + \mu)^2} E(t/(\alpha + \mu)),$$

mais aussi,

$$\xi = \frac{\beta + \nu}{\alpha + \mu}, \quad \sigma = \frac{\alpha\tau\lambda}{(\alpha + \mu)^3}, \quad \rho = \frac{\gamma}{\alpha + \mu}, \quad \delta = \frac{\alpha\beta}{(\alpha + \mu)^2}.$$

le système (3.18) se transforme en système SEIS suivant

$$\begin{cases} S' &= \lambda - \gamma S - \tau IS + \beta I, \\ E' &= \tau IS - (\alpha + \mu)E, \\ I' &= \alpha E - (\beta + \nu)I. \end{cases} \quad (3.19)$$

Nous obtenons alors les deux résultats suivants

Proposition 3.2 *Si l'on suppose que $\xi > 0$, $\sigma > 0$, $\rho > 0$ et $\delta \in [0, \xi)$, le système (3.18) induit un semi-flot global sur l'ensemble \mathbb{R}_+^3 . De plus possède un équilibre sain $(0, \sigma/\rho, 0)$ qui est globalement asymptotiquement stable si et seulement si $\sigma \leq \xi\rho$.*

D'autre part, si $\sigma > \xi\rho$, il existe un autre équilibre, l'équilibre pathologique $(\frac{\sigma - \xi\rho}{\xi - \delta}, \xi, \xi\frac{\sigma - \xi\rho}{\xi - \delta})$ qui est globalement asymptotiquement stable dans $\mathbb{R}^3 \setminus [\{0\} \times \mathbb{R}_+ \times \{0\}]$.

Preuve :

La preuve se trouve dans l'article [196]. Notons d'ailleurs que c'est la preuve de cette proposition qui a servi à montrer le point (3) de la proposition 3.1.

Le second résultat découlant de ces changements de variables, concerne le modèle SEIS (3.19) :

Proposition 3.3 *Si l'on suppose $\lambda, \gamma, \tau, \beta, \alpha, \mu, \nu > 0$ le système (3.19) induit un semi-flot global sur l'ensemble \mathbb{R}_+^3 . De plus, si l'on note $R_0 = \frac{\alpha\lambda\tau}{\gamma(\alpha + \mu)(\beta + \nu)}$, alors il existe un équilibre sain défini par*

$$\bar{S} = \lambda/\gamma, \quad \bar{E} = 0, \quad \bar{I} = 0$$

qui est globalement asymptotiquement stable si et seulement $R_0 \leq 1$.

D'autre part, si $R_0 > 1$, alors il existe un unique équilibre pathologique défini par

$$\bar{S} = \frac{\lambda\beta\tau - \gamma(\mu + \beta x_0)^2}{\mu\tau(\mu + 2\beta x_0)}, \quad \bar{E} = \frac{(\mu + \beta x_0)^2}{\beta\tau}, \quad \bar{I} = \frac{\lambda\beta\tau - \gamma(\mu + \beta x_0)^2}{\beta\mu\tau}$$

qui est globalement asymptotiquement stable dans $\mathbb{R}_+^3 \setminus [\mathbb{R}_+ \times \{0\} \times \{0\}]$.

Preuve :

La preuve se trouve dans l'article [196].

Notons que dans le domaine des modèles SEIS, de nombreux modèles ont été étudiés (voir [196]) pour quelques références. Plus particulièrement Li *et al.* dans [143] ont établi un résultat de stabilité globale asymptotique de l'équilibre pathologique pour un modèle SEIRS avec une population qui reste constant. Ce modèle peut alors se réduire en un modèle SEIS similaire au nôtre (3.19) quand il n'y a pas de transition entre les infectés et les remis $R(t)$ qui possèdent une immunité temporaire. Autrement dit, nous considérons ici un modèle d'infection où dès que l'on est rétabli de la maladie on est susceptible de l'attraper de nouveau, immédiatement sans phase d'immunité temporaire. Un résultat de stabilité asymptotique globale de l'équilibre pathologique a également été montré par Fan *et al.* dans [83] mais avec des conditions sur les paramètres de pertes plus restrictives. Notre résultat inédit est donc plus général et englobe beaucoup de cas étudiés jusqu'alors.

3.1.6 Analogie avec un modèle cellulaire infecté par un virus

Notre système (3.19) peut également s'interpréter comme un modèle d'interactions entre les cellules hôtes et les virus qui s'y répliquent à l'intérieur (voir par exemple [33], [161]). Considérons en effet une population de virus $V(t)$, des cellules hôtes non infectées $T(t)$ et des cellules hôtes infectées $T_i(t)$ au temps t . Le virus est produit à un taux proportionnel à la population de cellules infectées avec un taux constant α et il est détruit à un taux constant ν . Il existe une source et une perte constante de cellules non infectées à un taux normal respectivement de λ et γ . Une perte additionnelle due au passage des cellules non infectées aux cellules infectées est proportionnelle au produit des cellules infectées avec le virus à un taux constant τ . Une production de cellules non infectées stimulée par le virus est donnée par un taux β . Les cellules infectées quant à elle ont un taux de perte constant μ .

Si l'on fait le changement suivant à partir du système (3.18)

$$x(t) = \frac{\tau}{\mu}V(t/\mu), y(t) = \frac{\alpha\tau}{\mu^2}T(t/\mu), z(t) = \frac{\alpha t}{\mu^2}T_i(t/\mu),$$

ainsi que le changement de variables

$$\xi = \frac{\nu}{\mu}, \sigma = \frac{\alpha\tau\lambda}{\mu^3}, \rho = \frac{\gamma}{\mu} \text{ et } \delta = \frac{\alpha\beta}{\mu^2}.$$

nous obtenons le nouveau système

$$\begin{cases} V' &= \alpha T_i - \nu V, \\ T' &= \lambda - \gamma T - \tau VT + \beta V, \\ T_i' &= \tau VT - \mu T_i. \end{cases} \quad (3.20)$$

Et nous pouvons là encore donner un résultat de stabilité globale.

Proposition 3.4 *Supposons que $\alpha, \nu, \lambda, \gamma, \tau$ et $\mu > 0$. Supposons également que $\alpha\beta < \mu\nu$. Le système (3.20) induit alors un semi-flot global sur \mathbb{R}_+^3 . Soit $\mathbb{R}_0 = \frac{\alpha\lambda\tau}{\gamma\mu\nu}$, il existe un équilibre sain, donné par*

$$\bar{V} = 0, \bar{T} = \lambda/\gamma \text{ et } \bar{T}_i = 0,$$

qui est globalement asymptotiquement stable si et seulement si $\mathbb{R}_0 \leq 1$.

D'un autre côté, si $\mathbb{R}_0 > 1$, il existe un unique équilibre pathologique, donné par

$$\bar{V} = \frac{\alpha\lambda\tau - \gamma\mu\nu}{\tau(\mu\nu - \alpha\beta)}, \bar{T} = \frac{\mu\nu}{\alpha\tau} \text{ et } \bar{T}_i = \frac{\nu(\alpha\lambda\tau - \gamma\mu\nu)}{\tau\alpha(\mu\nu - \alpha\beta)}$$

qui est globalement asymptotiquement stable dans $\mathbb{R}^3 \setminus [\{0\} \times \mathbb{R}_+ \times \{0\}]$

Preuve :

La preuve est donnée dans [196].

Notons que le cas où $\beta = 0$ avait déjà été établi par Korobeinikov [126], [125] en transformant le système (3.20) en un système SEIR équivalent mais gardant une population de taille constante. Ce système (3.20) a d'ailleurs été utilisé pour modéliser la dynamique de cellules infectées par le VIH [99], [182], [181].

3.1.7 Impact du modèle

Ce modèle macroscopique à peine étudié, de nombreux auteurs dans le monde se sont penchés à la fois sur une généralisation de ces résultats et une étude du modèle microscopique.

L'impact de notre travail a obtenu à nos yeux un excellent écho dans la communauté scientifique. A commencer par la communauté mathématique.

Impact du modèle microscopique

Le premier résultat découlant de ce modèle a été publié en même temps dans [104] et [81]. Il s'agit de trouver le profil asymptotique des polymères en fonction de la taille. Nous montrons qu'il est globalement asymptotiquement stable et donnons même sa valeur. C'est ce qui est établi dans la proposition suivante.

Proposition 3.5 *Soient $\lambda, \gamma, \tau, \beta, \mu, x_0 > 0$. Soit $X_+ = \mathbb{R}_+ \times L^1((x_0, \infty); x dx)$. Alors, le système (3.1-3.4) induit alors un semi-flot global sur X_+ . De plus*

1. *Si $x_0\beta + \mu \geq (\beta\lambda\tau/\gamma)^{1/2}$ l'état d'équilibre sain $(\lambda/\gamma, 0)$ est globalement asymptotiquement stable dans X_+ et même exponentiellement dans certains cas d'inégalité stricte.*
2. *Si $x_0\beta + \mu < (\beta\lambda\tau/\gamma)^{1/2}$, alors il existe un équilibre pathologique donné par*

$$\bar{V} = \frac{(x_0\beta + \mu)^2}{\beta\tau} \text{ et } \bar{u}(x) = \frac{2\beta(\lambda\beta\tau - \gamma(\mu + \beta x_0)^2)}{\mu\tau(\mu + \beta x_0)(\mu + 2\beta x_0)} \phi \frac{\beta(x - x_0)}{\mu + \beta x_0},$$

où $\phi(r) = (r + r^2/2) \exp(-(r + r^2/2))$, est globalement asymptotiquement stable sur $Z_+ \setminus [R_+ \times \{0\}]$.

Dans un même temps, notre travail a suscité l'intérêt de plusieurs autres équipes avec des résultats des variations sur notre modèle à prion.

1. Webb et Greer ont collaboré avec Van den Driessche et Wang [103] pour rajouter de la coagulation. Les polymères étaient alors capables de s'attacher par leur extrémités donner naissance aux plaques. D'autres travaux ont été publiés sur les modèles avec de l'agrégation ajoutée à la fragmentation [71], [227], [188],
2. Simonett et Walker [218] ont étudié le modèle de polymérisation-fragmentation de façon générale. Ils ont donné des résultats d'existence et unicité globale pour les solutions classiques de notre modèle, ainsi que des conditions d'existences globales de solutions faibles dans le cas où le taux de fragmentation n'est pas borné. L'unicité a été prouvé ensuite par Laurençot et Walker [134]. Un résultat d'existence globale pour des solutions faibles dans le cas où les taux de polymérisation et dégradations ne sont pas bornés et un résultat d'existence de solutions classiques dans le cas où le taux de dégradation était borné a ensuite été montré par Walker [228].
3. La preuve rigoureuse du passage du modèle discret de Masel *et al.* [159] au modèle continu de Greer *et al.* [104] a été montré par Doumic *et al.* [72],
4. Plusieurs études des modèles de Greer et de Masel ont découlé par la suite, en tenant compte d'un taux d'élongation τ non constant ayant pour conséquence une distribution bimodale [41] conséquence de la méthode dite de PMCA (*Protein Misfolding Cyclic Amplification*, ou, en français, *Amplification Cyclique engendrant une Mauvaise conformation des Protéines*). Développée par Saborio *et al.* en 2001 [212], nous ne connaissons

pas cette technique au moment où nous avons commencé à travailler sur les prions. Elle consiste, comme son nom l'indique à amplifier le nombre de polymères PrP^{Sc} en les forçant à se fragmenter artificiellement et de manière plus ou moins contrôlée. L'augmentation de la fragmentation accroît ainsi le nombre de nouveaux fibrilles qui se polymérisent rapidement, puis se cassent et donc se multiplient très rapidement. L'objectif est d'obtenir en un temps très court, une grande quantité de polymères PrP^{Sc} de taille assez faible. Une des raisons à cela est la volonté de détecter la présence de prion dans le sang au lieu de tuer l'animal en effectuant une biopsie de son cerveau. La présence très faible de prion PrP^{Sc} dans le sang peut être ainsi amplifiée par ce procédé et permettre de sauver une grande partie du bétail qui sans cela finit abattu et brûlé par l'application de décisions anti-prophylactiques. Des études ont été faites sur le taux de polymérisation et son influence [87], le taux de fragmentation [91], la fragmentation via des protéines chaperones [67], [66].

5. L'étude des problèmes inverses a été également effectuée pour notre modèle [74], ainsi qu'une calibration du modèle à partir de données expérimentales [73], [36]
6. Des travaux numériques et statistiques ont permis de comparer les travaux avec des données expérimentales [75], [16], [76], [189], [17],
7. Et d'autres études de comportement asymptotiques [70], avec un taux de fragmentation borné [26], [89],[12], d'optimisation dans le processus d'assemblage [48], des résultats de stabilité globale [90], de contrôle [47], [55], des phénomènes de souche [40].
8. Finalement, à ma connaissance 5 thèses se sont inspirées au-moins pour une partie de nos modèles, [112],[236], [141], [140], [88].

Cette liste n'est pas du tout exhaustive mais donne une idée de la richesse des résultats que l'on peut obtenir à partir d'un modèle de prion assez simple au départ. Des collaborations fructueuses avec des biologistes ont suivi et sont également en cours. Nous ne nous sommes pas arrêtés là non plus, et avons continué à étudier ce modèle sous des formes plus générales, ou répondant à des problèmes plus spécifiques. C'est ce que nous exposons dans ce qui suit.

3.2 Un modèle avec diffusion

Notre premier modèle semble assez bien décrire les principaux mécanismes de prolifération du prion *in vivo*, même si nous verrons dans la section 3.3 que certains points majeurs ont dû être éclaircis par la suite.

Nous avons cependant rapidement réalisé que la grande majorité des données expérimentales étaient *in vitro* et que les solutions contenant les fibrilles étaient constamment agitées, ce qui causait artificiellement (volontairement ou non) des cassures non maîtrisées. Il existait d'autres méthodes pour casser volontairement, et de façon assez maîtrisée les polymères : la technique de la PMCA comme nous l'avons vu dans la section précédente. Mais pas vraiment de modèle prenant en compte cette agitation qui induisaient quand même l'accélération des phénomènes de polymérisation et fragmentation. Nous devons tenir compte de chacun des éléments : les monomères PrP^{C} , les polymères PrP^{Sc} , mais également leurs interactions dans le fluide dans lequel ils baignent.

Nous sommes partis du modèle de Fokker-Planck-Smoluchowsky introduit dans la section 2.2.3. Nous avons fait le choix de considérer les polymères comme des tiges-rigides qui ne

pouvait pas être extensibles. Ce choix est biologiquement raisonnable par les observations expérimentales biologiques. Mais contrairement au modèle de Fokker-Planck-Smoluchowsky de la section 2.2.3, nous supposons que nous avons de la polymérisation ainsi que la fragmentation. Il convient donc d'ajouter la taille comme variable de structure à notre modèle. Il existait déjà des modèles de polymérisation-fragmentation ou coagulation-fragmentation avec un dépendance en espace. Mais seule la diffusion est prise en compte, il n'y a pas d'interaction avec le fluide environnant [53], [222].

Notre objectif est double ici :

-généraliser le modèle de Greer [104] en tenant compte de tout ces nouveaux éléments. Plus compliqué, il offre un défi mathématique intéressant pour son analyse. Nous l'avons publié en 2012 [51],

-à plus long terme, nous avons en tête de confronter ce modèle avec des données expérimentales produites *in vitro* dont les conditions d'agitations étaient extrêmement précises. Nous n'avons pas encore eu accès à ce type de données, mais dès que nous les aurons nous reprendrons la main de cette étude en étroite collaboration avec nos collègues biologistes. Cela nous permettra de tester la rigidité de nos polymères qui pourraient se fragmenter ainsi l'influence de l'agitation sur la polymérisation.

Notre analyse mathématique s'est inspirée des travaux sur les modèles de Fokker-Planck-Smoluchowsky, où en règle général, une solution de l'équation (2.7) satisfait pour tout $T > 0$,

$$f \in L^\infty(0, T; L^2(\Omega \times \mathbb{S}^2)).$$

Mais notre modèle, qui tient compte de la taille est un peu plus compliqué, et nous effectuons l'analyse en utilisant une formulation variationnelle du problème, comme ce qui a été fait par Barrett *et al.* [19], [20] ou encore Otto *et al.* [176]. Par contre, nous devons l'adapter à l'étude classique des modèles de polymérisation-fragmentation où l'espace naturellement associé est en général $L^1(\mathbb{R}_+, (1+r)dr)$ pour une taille r . Ceci permet en effet d'obtenir des solutions régulières et par des principes de compacité faible d'obtenir des solutions L^1 pour des coefficients et des conditions initiales moins régulières. Ici, comme nous allons le voir ci-dessous, nous choisissons de chercher les solutions dans l'espace

$$f \in L^\infty(0, T; L^2(\Omega \times \mathbb{S}^2 \times \mathbb{R}_+, e^{\alpha r} dr d\eta dx)),$$

afin de pouvoir écrire la formulation variationnelle du problème. Comme rappelé ci-dessous, ça n'est pas incohérent avec la technique dans l'espace L^1 mentionnée ci-dessus, car l'espace à L^2 à poids que nous venons d'introduire (pour la mesure $e^{\alpha r} dr$, où $\alpha > 0$ s'injecte dans L^1). Mais notre problème nécessite un contrôle de la population initiale, autrement dit, un contrôle de la décroissance à l'infini de la queue de la distribution en taille pour tous les moments initiaux.

Nous adaptons une technique de semi-discrétisation en temps pour prouver notre résultat d'existence de solutions positives. La nouveauté de ce travail réside principalement dans le choix *ad hoc* des espaces de fonctions et la modification des techniques existantes pour résoudre ce type de problème. Nous présentons ainsi une méthode de résolutions alternative au problème d'existence de solutions positives comme celles proposées par Engler *et al.* [81], Laurençot *et al.* [134] et Simonett *et al.* [218].

3.2.1 Modèle structuré en espace

Étant donné que nous considérons seulement des expériences *in vitro* dans notre modèle, nous n'avons ni terme de source ni terme de dégradation. Nous avons donc une conservation de

la masse totale de monomères au cours du temps. Penchons nous un peu plus en détail sur la construction du modèle qui contient les deux populations : les polymères PrP^{Sc} et les monomères PrP^{C} .

Commençons par les polymères.

Polymères

Comme dans notre modèle précédent, nous considérons les polymères PrP^{Sc} comme étant de la forme de tiges qui ne se déforment pas. Elles sont représentées dans l'espace et donc, elles sous la forme de vecteurs de \mathbb{R}^3 . Afin que ce soit plus pratique, nous utilisons des symboles séparés pour la longueur $r \in \mathbb{R}_+ = (0, +\infty)$ et pour l'angle du vecteur $\eta \in \mathbb{S}^2$, où \mathbb{S}^2 est la sphère unité de \mathbb{R}^3 . Contrairement au modèle de Greer *et al.* [104] nous supposons par simplification que les polymères peuvent être aussi petits que l'on veut. Autrement dit, il n'y a pas de nucléation et de seuil de taille en dessous de laquelle le noyau est stable.

Pour des raisons techniques et sans perte d'hypothèse réaliste, nous supposons que les fibres sont contenues dans un ensemble bornée, suffisamment régulier $\Omega \in \mathbb{R}^3$ et que la position des centre de masse de chacune des fibres est notée par le vecteur y .

Nous supposons que le champ de vitesse $u : \Omega \times \mathbb{R}_+ \rightarrow \mathbb{R}^3$ de telle sorte que

$$\nabla_y \cdot u = 0, \text{ dans } \Omega, \text{ et } u \cdot \vec{n} = 0 \text{ sur } \partial\Omega, \quad (3.21)$$

avec \vec{n} le vecteur normal à la surface du domaine Ω . La fonction de distribution de probabilité configurationnelle du vecteur $\psi(r, \eta, y, t)$ en tout instant $t > 0$ résout l'équation suivante

$$\frac{\partial}{\partial t} \psi + u \cdot \nabla_y \psi + \frac{\partial}{\partial r} (\tau(\phi, u, r, \eta) \psi) = \mathcal{B}\psi + \mathcal{F}\psi. \quad (3.22)$$

avec $(r, \eta, y) \in \mathbb{R}_+ \times \mathbb{S}^2 \times \Omega$. Les fibres sont transportées par le champ de vecteur vitesse u et leur élongation s'effectue à un taux $\tau \geq 0$ qui dépend de la densité des monomères libres ϕ . En régime "dilué", l'hydrodynamique microscopique est représentée par le terme \mathcal{B} comme dans [176] et définie par

$$[\mathcal{B}\psi](r, \eta, y, t) = A(r) \nabla_\eta \cdot [D_1 \nabla_\eta \psi - P_{\eta^\perp} (\nabla_y u \eta) \psi], \quad (3.23)$$

où ∇_η et $(\nabla_\eta \cdot)$ sont respectivement le gradient et la divergence sur \mathbb{S}^2 , $A \geq 0$ est une pondération qui correspond à l'influence de l'accroissement de la longueur sur le mouvement et $D_1 > 0$ est le coefficient de diffusion sur la sphère. D'autre part, le transport sur la sphère dû au champ de vecteur est donné par $\eta^\perp (\nabla_y u \eta)$, avec $P_{\eta^\perp} z = z - (\eta \cdot z)\eta$, pour tout $z \in \mathbb{R}^3$, est la projection du vecteur z dans l'espace tangent η .

Le processus de fragmentation a lieu à un taux $\beta \geq 0$ et il est décrit par \mathcal{F} (comme dans [104]) donné ci-dessous,

$$[\mathcal{F}\psi](r, \eta, y, t) = -\beta(\nabla_y u, u, r, \eta) \psi + 2 \int_r^\infty \beta(\nabla_y u, u, r', \eta) \kappa(r, r') \psi(r', \eta, y, t) dr'. \quad (3.24)$$

Le noyau κ de redistribution de taille après fragmentation est symétrique, puisqu'un polymère de taille r' peut se couper de la même façon en un morceau de taille r et un morceau de taille $r' - r$ en regardant d'un côté ou de l'autre.

Nous supposons que la scission se fait de la manière suivante (pour simplifier grandement nos calculs sans trop perdre en réalité biologique) :

- l'ensemble de deux fragments résiduels après scission forment un ensemble ayant le même centre de masse que le polymère avant fragmentation dont ils sont originaires,
- il semble raisonnable de supposer aussi que l'orientation reste inchangée à l'instant immédiat après la fragmentation. Par conséquent nous avons $\kappa(r, r') \geq 0$, $\kappa(r, r') = 0$ if $r > r'$ (un polymère de taille r' ne peut se fragmenter en morceaux plus grands que r'), $\kappa(r' - r, r') = \kappa(r, r')$ (on ne peut distinguer un polymère de taille r' qui se fragmente en taille r et $r' - r$ d'un polymère qui se fragmente en taille $r' - r$ et r) et comme c'est un noyau de probabilité, nous avons

$$\int_0^{r'} \kappa(r, r') dr = 1. \quad (3.25)$$

La fonction configurationnelle de probabilité ψ doit satisfaire la condition aux bords

$$\psi(0, \eta, y, t) = 0, \quad (3.26)$$

et la condition initiale

$$\psi(r, \eta, y, 0) = \psi^0(r, \eta, y), \quad (3.27)$$

avec ψ^0 une probabilité initiale connue.

Monomères

La concentration de monomères libres (c'est à dire non attachés à des polymères) est donnée par la distribution $\phi(y, t)$ au temps $t > 0$ pour tout $y \in \Omega$. Elle satisfait,

$$\frac{\partial}{\partial t} \phi + u \cdot \nabla_y \phi - D_2 \Delta \phi = - \int_{\mathbb{S}^2 \times \mathbb{R}_+} \tau(\phi, u, r, \eta) \psi(r, \eta, y, t) dr d\eta, \quad (3.28)$$

où $D_2 > 0$ est le coefficient de diffusion. Le terme intégral est dû à la polymérisation des monomères, transconformés (c'est à dire mal replié) en fibres. De plus, la concentration de monomères satisfait la condition au bord

$$\nabla_y \phi \cdot \vec{n} = 0 \text{ sur } \partial\Omega, \quad (3.29)$$

avec \vec{n} le vecteur normal à la surface du domaine $\partial\Omega$, et muni de la condition initiale

$$\phi(y, 0) = \phi^0(y), \quad (3.30)$$

avec ϕ^0 une concentration initiale connue. Étant donné que le milieu est supposé fermé (*in vitro*), nous ajoutons une équation de conservation de la masse totale de monomères contenue dans le domaine Ω :

$$\int_{\Omega} \left[\phi(y, t) + \int_{\mathbb{R}_+ \times \mathbb{S}^2} r \psi(r, \eta, y, t) d\eta dr \right] dy = \rho, \text{ pour tout } t \geq 0 \quad (3.31)$$

où ρ est une donnée expérimentale connue. Cette équation de conservation de la masse est formellement satisfaite, comme conséquence des équations (3.22)–(3.28) et (3.21).

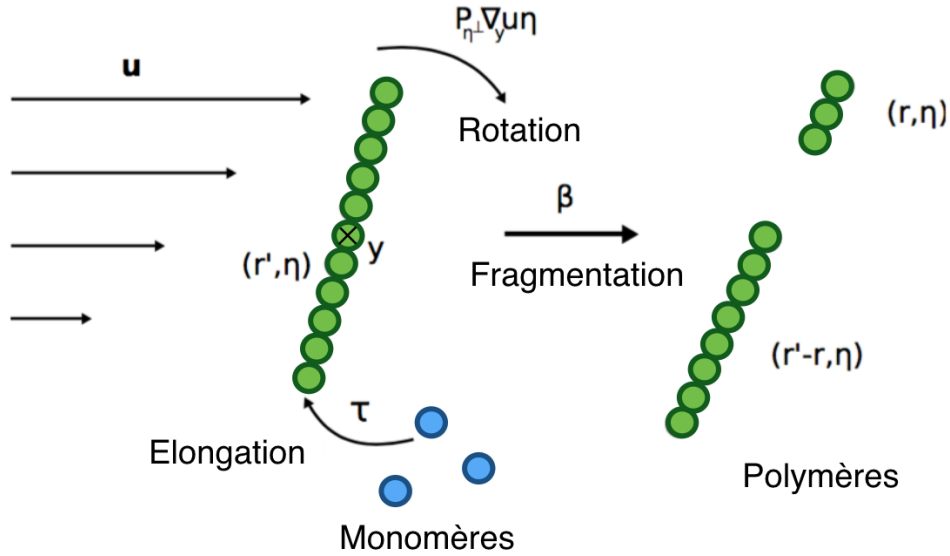


FIGURE 3.6 – Schéma représentant un polymère de taille r' pouvant soit s'allonger par polymérisation, soit se fragmenter en deux morceaux de tailles $r' - r$ et r .

Champ des vecteurs vitesses et conservation du moment

Pour tous $t > 0$ et $y \in \Omega$, notons le champ de vecteur $u(t, y) \in \mathbb{R}^3$, qui satisfait les équations de Navier-Stokes (pour des fluides incompressibles)

$$\begin{cases} \frac{\partial}{\partial t} u + (u \cdot \nabla) u = -\nabla p + \nu \Delta u - \nabla \cdot \mathbf{S} \\ \nabla \cdot u = 0 \\ u \cdot \vec{n} = 0 \end{cases} \quad (3.32)$$

où p est la pression, ν la viscosité du solvant Newtonien (ici l'eau) dans lequel les prions (*i.e.* les molécules rigides en formes de tiges) baignent, et \mathbf{S} la contribution de tenseur de stress non-Newtonien supplémentaire (en plus du stress total) dû à la présence de tiges rigides. Cette dernière est donnée par [31]

$$\mathbf{S}(y, t) = \int_{\mathbb{R}_+} r^2 \int_{\mathbb{S}^2} \eta \otimes \eta \psi \, d\eta dr. \quad (3.33)$$

Nous supposons dans ce travail que u est donnée, et que les seules fonctions inconnues sont ψ et ϕ . L'existence et unicité des solutions au système complet avec les équations de Navier Stokes introduites ci-dessus (c'est à dire u , ψ et ϕ) ne sont encore pas étudiés mais sont en projet pour un travail futur.

Hypothèses mathématiques inhérentes au modèle

Supposons que le champ de vecteurs vitesses

$$u \in \mathcal{C}^1([0, \infty), W^{1,\infty}(\Omega))$$

est défini de telle sorte que

$$\nabla_y \cdot u = 0 \quad \text{and} \quad u \cdot \vec{n} = 0 \quad \text{sur} \quad \partial\Omega. \quad (3.34)$$

D'autre part, nous tenons compte de ce qui déjà supposé dans la plupart des modèles à prions structurés en taille [104], [103], [159], [196]. Le taux de scission des fibres est donné par β , considérée linéaire en r . Par conséquence, nous supposons qu'il existe $g : M_3(\mathbb{R}) \times \mathbb{R}^3 \times \mathbb{S}^2 \rightarrow \mathbb{R}_+$ continue par rapport à la première et la à deuxième variable telle que $\beta(\sigma, v, r, \eta) = g(\sigma, v, \eta)r$, pour tout $\sigma \in M_3(\mathbb{R})$, $v \in \mathbb{R}^3$, $r > 0$ et $\eta \in \mathbb{S}^2$. De plus, nous supposons que pour tout ensemble borné $B \subset \mathbb{R}^3$ et $O \subset M_3(\mathbb{R})$, il existe des constantes positives $\bar{g}_{B,O} \geq \underline{g}_{B,O}$ telles que

$$\underline{g}_{B,O} \leq g(\sigma, v, \eta) \leq \bar{g}_{B,O}, \quad \text{pour tout} \quad (\sigma, v, \eta) \in O \times B \times \mathbb{S}^2. \quad (3.35)$$

Soit $T > 0$ fixé. Alors, due à la régularité de u , il existe $\bar{g} \geq \underline{g} > 0$ tels que

$$\underline{g} \leq g(\nabla_y u, u, \eta) \leq \bar{g} \quad \text{pour tout} \quad (t, y, \eta) \in [0, T] \times \Omega \times \mathbb{S}^2. \quad (3.36)$$

Nous considérons le taux de polymérisation τ linéaire (dans la densité de monomères libres) ϕ , *i.e.* il existe $\tau_0 > 0$ tel que

$$\tau(\phi, v, r, \eta) = \tau_0 \phi. \quad (3.37)$$

Cette hypothèse a déjà été évoquée par Greer *et al.* dans [104]. Le noyau de fragmentation κ représente la probabilité qu'un polymère de taille r , se sépare en deux morceaux de taille r' et $r - r'$ comme décrit dans [104] et il est donné par

$$\kappa(r, r') = \begin{cases} 1/r' & \text{if } 0 < r \leq r', \\ 0 & \text{else.} \end{cases} \quad (3.38)$$

Cette expression est compatible avec (3.25) (et la loi de conservation (3.31)). Alors la fonction de pondération $A \geq 0$ est supposée se trouver dans $L^\infty(\mathbb{R}_+)$ et il existe $C_A > 0$ telle que

$$\|A\|_{L^\infty(\Omega)} = C_A < \infty \quad (3.39)$$

Remarquons qu'en vertu du fait que u soit suffisamment régulière et pour un $T > 0$ fixé, il existe $C_P > 0$ telle que

$$\|A\|_{L^\infty([0,T] \times \mathbb{R}_+ \times \mathbb{S}^2)} = C_P < \infty, \quad (3.40)$$

Alors (voir l'Annexe de [109]), il existe $C_D > 0$ tel que

$$\|\nabla_\eta \cdot A\|_{L^\infty([0,T] \times \mathbb{R}_+ \times \mathbb{S}^2)} = C_D < \infty. \quad (3.41)$$

Grâce aux hypothèses données dans cette section, nous pouvons reformuler le problème de la façon suivante :

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial t}\psi + u \cdot \nabla_y \psi + \tau_0 \phi \frac{\partial}{\partial r} \psi - A(r) \nabla_\eta \cdot [D_1 \nabla_\eta \psi - P_{\eta^\perp} (\nabla_y u \eta) \psi] \\ = -g(\nabla_y u, u, \eta) r \psi + 2g(\nabla_y u, u, \eta) \int_r^\infty \psi(r', \eta, y, t) dr', \end{aligned} \quad (3.42a)$$

$$\frac{\partial}{\partial t} \phi + u \cdot \nabla_y \phi - D_2 \Delta \phi = -\tau_0 \phi \int_{\mathbb{S}^2 \times \mathbb{R}_+} \psi(r, \eta, y, t) dr d\eta, \quad (3.42b)$$

$$\psi(r = 0, \eta, y, t) = 0, \quad (3.42c)$$

$$\nabla_y \phi \cdot \vec{n} = 0, \quad \text{sur } \partial\Omega \quad (3.42d)$$

$$\psi(t = 0) = \psi^0 \text{ et } \phi(t = 0) = \phi^0. \quad (3.42e)$$

$$(3.42f)$$

Lien avec le modèle de Greer *et al.* [104]

Si l'on considère $u = 0$, et si l'on suppose en plus que g est telle que $g(0, 0, \eta) = g_0$, où g_0 est une constante pour tout η . Cela signifie que même en absence d'agitation, les fibrilles peuvent se fragmenter et polymériser.

Si l'on suppose de plus que ϕ est indépendante de y , alors en posant

$$f(t, r) = \frac{1}{|\Omega|} \int_{\Omega \times \mathbb{S}^2} \psi(r, \eta, y, t) d\eta dy$$

la moyenne de ψ . En intégrant les équations (3.42a)-(3.42e), nous obtenons

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial t} f + \tau_0 \phi(t) \frac{\partial}{\partial r} f + g_0 r f = 2g_0 \int_r^\infty f(r', t) dr' \text{ pour } (t, r) \in \mathbb{R}_+^2, \\ f(0, t) = 0, \\ \frac{d}{dt} \phi(t) = -\tau_0 \phi(t) \int_{\mathbb{R}_+} f(r, t) dr. \end{aligned} \quad (3.43)$$

Nous retrouvons alors le système proposé par Greer *et al.* dans [104], avec l'hypothèse supplémentaire que le système est fermé, sans dégradation ni source et donc avec conservation de la masse totale de monomères.

Formulation variationnelle

Notons $a = \mathbb{R}_+ \rightarrow \mathbb{R}_+$ une fonction définie par $a(r) = e^{\alpha r}$ pour tout $\alpha > 0$. Notons $Q = \mathbb{S}^2 \times \mathbb{R}^2$ et $dq = a(r) dr d\eta$.

Définissons ensuite les espaces de Hilbert suivant

$$L_\alpha^2 = \left\{ \psi \in L_{loc}^1(Q), \int_{\Omega \times Q} \psi^2 dq dy < \infty \right\}. \quad (3.44)$$

Alors

$$V = \left\{ \psi \in L_{loc}^1(\Omega \times Q), \int_{\Omega \times Q} (A(r) |\nabla_\eta \psi|^2 + (1+r)\psi^2) dq dy < \infty \right\}, \quad (3.45)$$

et

$$V_1 = \left\{ \psi \in L^1_{loc}(\Omega \times Q), \int_{\Omega \times Q} \left(\left| \frac{\partial}{\partial r} \psi \right|^2 + A(r) |\nabla_\eta \psi|^2 + (1+r)\psi^2 \right) a(r) dq dy < \infty \right\}. \quad (3.46)$$

Nous rappelons que l'espace de Sobolev $H^1(\Omega)$ est muni de la norme

$$\|\phi\|_{H^1} = \|\phi\|_{L^2(\Omega)} + \|\nabla_y \phi\|_{L^2(\Omega)}. \quad (3.47)$$

Nous rappelons également que

$$V_1 \subset V \subset L^2_\alpha = (L^2_\alpha)' \subset V' \subset (V_1)'. \quad (3.48)$$

Maintenant, pour tout $\theta \in R$, posons $L^1_\theta = \{\psi \in L^1_{loc}(Q), \int_{\Omega \times Q} \psi r^\theta dr d\eta dy\}$. Alors nous avons

$$L^2_\alpha \subset L^1_\theta, \quad \text{pour tout } \alpha > 0 \text{ et } \theta \geq 0, \quad (3.49)$$

ce qui a du sens par rapport à la conservation de masse et la quantité totale de polymères quand $\theta = 0$ or $\theta = 1$.

Formulation variationnelle

Introduisons les espaces des fonctions.

Considérons $T > 0$.

Tout d'abord, pour l'équation- ψ des polymères.

Notons \mathcal{X}_1 le complété de $C_c^\infty((-T, T) \times \bar{\Omega} \times \mathbb{S}^2 \times [0, +\infty))$ par rapport à la norme $\|\cdot\|_{\mathcal{X}_1}$,

$$\|\tilde{\psi}\|_{\mathcal{X}_1} = \int_0^T \left(\left\| \frac{\partial}{\partial t} \tilde{\psi} \right\|_{L^2_\alpha}^2 + \|\nabla_y \tilde{\psi}\|_{L^2_\alpha}^2 \|\tilde{\psi}\|_{V_1}^2 \right) dt. \quad (3.50)$$

En particulier, ceci implique que, si $\tilde{\psi} \in \mathcal{X}_1$, alors $\tilde{\psi}(t = T) = 0$.

Ensuite, les fonctions tests pour l'équation- ϕ des monomères sont les éléments de \mathcal{X}_2 , cet espace étant le complété de $C_c^\infty((-T, T) \times \bar{\Omega})$ par rapport à la norme $H^1((0, T) \times \Omega)$. En particulier, ceci implique que si $\tilde{\phi} \in \mathcal{X}_2$, alors $\tilde{\phi}(t = T) = 0$. Afin d'obtenir une formulation variationnelle du système (3.42a)-(3.42e) nous supposons d'abord que nous avons une solution forte qui est suffisamment régulière. Puis nous multiplions (3.42a) par $\tilde{\phi}(r, \eta, y, t)a(r)$, avec $\tilde{\phi} \in \mathcal{X}_1$, et nous intégrons sur $(0, T) \times Q$, puis nous multiplions (3.42b) par $\tilde{\phi} \in \mathcal{X}_2$ et nous intégrons sur $(0, T) \times \Omega$. Nous obtenons

$$\begin{aligned} \int_{S^{p^2}} \tau_0 \phi \frac{\partial}{\partial r} \psi \tilde{\psi} a(r) dr &= - \int_{\mathbb{R}_+} \tau_0 \phi \psi \frac{\partial}{\partial r} (\tilde{\psi} a(r)) dr \\ &= - \int_{\mathbb{R}_+} \tau_0 \phi \psi \left(\frac{\partial}{\partial r} (\tilde{\psi} + \alpha \tilde{\psi}) a(r) \right) dr, \end{aligned} \quad (3.51)$$

puisque $\tilde{\psi} \in \mathcal{X}_1$. Nous avons également,

$$\int_{\mathbb{S}^2} \nabla_\eta \cdot (D_1 \nabla_\eta \psi) \tilde{\psi} d\eta = - \int_{\mathbb{S}^2} D_1 \nabla_\eta \psi \cdot (\nabla_\eta \tilde{\psi} - 2\eta \tilde{\psi}) d\eta, \quad (3.52)$$

$$\begin{aligned}
 \int_{S^{p^2}} \nabla_\eta \cdot (P_{\eta^\perp} (\nabla_y u \eta) \psi) \tilde{\psi} \, d\eta &= - \int_{S^2} P_{\eta^\perp} (\nabla_y u \eta) \psi \cdot (\nabla_\eta \tilde{\psi} - 2\eta \tilde{\psi}) \, d\eta \\
 &= - \int_{S^2} P_{\eta^\perp} (\nabla_y u \eta) \psi \cdot \nabla_\eta \tilde{\psi} \, d\eta,
 \end{aligned} \tag{3.53}$$

since $P_{\eta^\perp} (\nabla_y u \eta) \cdot \eta = 0$ (voir par exemple l'Annexe II de [176] pour les détails de calculs sur la sphère). De plus, par l'hypothèse (3.34) sur u ,

$$\int_\Omega u \cdot \nabla_y \psi \tilde{\psi} \, dy = - \int_\Omega \psi (u \cdot \nabla_y \tilde{\psi}) \, dy, \tag{3.54}$$

et

$$\int_\Omega u \cdot \nabla_y \phi \tilde{\phi} \, dy = - \int_\Omega \phi (u \cdot \nabla_y \tilde{\phi}) \, dy. \tag{3.55}$$

Alors la formulation variationnelle de (3.42a) est

$$\begin{aligned}
 & - \int_{\Omega \times Q} \psi^0 \tilde{\psi}(t=0) \, dqdy - \int_0^T \int_{\Omega \times Q} \psi \left(\frac{\partial}{\partial t} \tilde{\psi} + u \cdot \nabla_y \tilde{\psi} \right) \, dqdydt \\
 & + \int_0^T \int_{\Omega \times Q} A(r) \left(D_1 \nabla_\eta \psi (\nabla_\eta \tilde{\psi} - 2\eta \tilde{\psi}) - P_{\eta^\perp} (\nabla_y u \eta) \psi \cdot \nabla_\eta \tilde{\psi} \right) \, dqdydt \\
 & + \int_0^T \int_{\Omega \times Q} \psi \left(d(\nabla_y u, u, \eta) r \tilde{\psi} - \tau_0 \phi \left(\frac{\partial}{\partial r} \tilde{\psi} + \alpha \tilde{\psi} \right) \right) \, dqdydt \\
 & = 2 \int_0^T \int_{\Omega \times Q} g(\nabla_y u, u, \eta) \left(\int_r^\infty \psi \, dr' \right) \tilde{\psi} \, dqdydt,
 \end{aligned} \tag{3.56}$$

pour tout $\tilde{\psi} \in \mathcal{X}_1$,

et pour (3.42b),

$$\begin{aligned}
 & - \int_\Omega \phi^0 \tilde{\phi}(t=0) \, dy - \int_0^T \int_\Omega \phi \left(\frac{\partial}{\partial t} \tilde{\phi} + u \cdot \nabla_y \tilde{\phi} \right) \, dydt \\
 & + \int_0^T \int_\Omega \left[D_2 \nabla_y \phi \cdot \nabla_y \tilde{\phi} + \tau_0 \phi \tilde{\phi} \left(\int_{S^2 \times \mathbb{R}_+} \psi \, dr \, d\eta \right) \right] \, dydt = 0,
 \end{aligned} \tag{3.57}$$

pour tout $\tilde{\phi} \in \mathcal{X}_2$.

Et cette préparation, nous permet d'énoncer le principal résultat de l'article [51] : il s'agit de l'existence de solutions faibles non-négatives du problème.

Proposition 3.6 *Soit $\phi^0 \in L^\infty(\Omega)$ non-négative et $\psi^0 \in L_\alpha^2$ non-négative également telle qu'il existe une constante $C_0 > 0$ avec*

$$\psi^0 \leq C_0 e^{-\alpha r}.$$

Alors, pour tout $T > 0$, il existe au moins une solution (ψ, ϕ) à la formulation faible (3.56)-(3.57) du problème (3.42a)-(3.42e), avec ψ et ϕ non-négatives. De plus, nous avons

$$\psi \in L^\infty(0, T; L_\alpha^2) \cap L^2(0, T; V)$$

et

$$\phi \in L^\infty(0, T; L^2(\Omega)) \cap L^2(0, T; H^1(\Omega)).$$

Nous pouvons faire deux remarques ici.

Remarques 3.1

1. Nous n'avons pas encore prouvé l'unicité, et nous le laissons pour de prochains travaux.
2. Les solutions faibles de la formulation variationnelle ci-dessus avec une régularité plus forte que celle de la proposition précédente satisfont le problème (3.42a)-(3.42e) au sens fort. De plus la formulation variationnelle vérifie le principe de conservation de la masse au sens faible. En effet, considérons $\varphi \in H^1(0, T)$, avec $\varphi(t = T) = 0$, et que prenons $\tilde{\psi}(r, \eta, y, t) = r e^{-\alpha r} \varphi(t) \in \mathcal{X}_1$ et $\tilde{\phi}(t, y) = \varphi(t) \in \mathcal{X}_2$ dans les formulations variationnelles. Comme, pour toutes fonctions à valeurs réelles f

$$\int_{\mathbb{S}^2} \eta \cdot \nabla_{\eta} f \, d\eta = 0, \quad (3.58)$$

nous obtenons

$$\begin{aligned} -\varphi(t = 0) \int_{\Omega} \left[\phi^0 + \int_{\mathbb{R}_+ \times \mathbb{S}^2} r \psi^0 \, d\eta \, dr \right] dy \\ - \int_0^T \frac{d}{dt} \varphi(t) \int_{\Omega} \left[\phi + \int_{\mathbb{R}_+ \times \mathbb{S}^2} r \psi \, d\eta \, dr \right] dy \, dt = 0. \end{aligned} \quad (3.59)$$

Et si la solution est suffisamment régulières, nous avons le résultat de conservation de la masse

$$\frac{d}{dt} \int_{\Omega} \left[\phi + \int_{\mathbb{R}_+ \times \mathbb{S}^2} r \psi \, d\eta \, dr \right] dy = 0. \quad (3.60)$$

Preuve de la proposition : elle est assez longue, et détaillée dans l'article [51]. Elle est partagée en trois étapes :

- 1- une semi-discrétisation en temps du problème pour obtenir une approximation de la solution,
- 2- nous obtenons des estimations appropriées,
- 3- nous obtenons une solution par passage à la limite.

Comme nous pouvons le voir, manipuler ces équations de polymérisation et fragmentation avec de la diffusion n'est pas une chose aisée. Les résultats deviennent de plus en plus techniques, mais permettent de se rapprocher de la réalité de la biologie expérimentale.

Cette approche fait partie de nos objectifs, et nous continuons à travailler dessus. Nous avons commencé à réfléchir à un problème tenant compte de l'espace dans un nouveau modèle d'interaction entre le prion et la maladie d'Alzheimer (dont les premières approches sont présentées dans le chapitre 4). Nous projetons également de travailler sur les simulations numériques de ce type d'équations, afin de confronter les comportements qualitatifs de nos solutions aux données expérimentales. Afin, dans un deuxième temps, d'estimer les paramètres de notre modèle et prédire des résultats quantitatifs suivant les conditions des expériences (concentration initiale, agitation, etc.).

3.3 Vers la découverte des micelles chez les prions

Peu de temps après la publication de nos articles [104], [196], nous avons été contactés par un collègue biologiste directeur de recherche au *Centre de Recherche sur les Pathogènes et*

Biologie pour la Santé à l'université de Montpellier 2. Il se trouve, qu'il effectuait à l'époque des expériences similaires à nos simulations numériques sur l'évolution *in vitro* de la quantité de polymères PrP^{Sc} en fonction de leur concentration initiale (voir figure 3.4). Et nous avons dû nous rendre à l'évidence : son équipe et la nôtre faisaient face à un problème majeur, qui fut un heureux désaccord, à l'origine d'une collaboration importante.

Ce problème se situe dans l'augmentation de la concentration. Selon nos simulations, plus on augmente la concentration initiale (inoculum) plus le temps d'apparition des symptômes (chez un individu), ou plutôt un niveau seuil de polymères atteint, diminue jusqu'à devenir négligeable (quasiment nul). Mais voilà, ce n'est pas ce qui est observé en réalité. Et dans les expériences exposées dans l'article d'Alvarez-Martinez *et al.* [9], nous donnons la preuve expérimentale avec une estimation des paramètres d'un modèle simple, qu'un temps de latence incompressible existe bel et bien.

Avant d'évaluer quantitativement ces valeurs de temps de latence il est préférable des les définir correctement.

3.3.1 Un temps de latence incompressible

La signification du temps de latence que nous choisissons ici est la suivante. Il existe selon nous deux temps de latence : celui de la formation du noyau T_{nlag} (appelée nucléation) qui peut fortement varier d'une expérience à une autre. Ce phénomène de nucléation, qui n'apparaît que lorsque l'on initie l'expérience avec des monomères sains, est en effet excessivement stochastique et ne permet pas d'exhiber une relation claire avec le niveau de concentration initiale de polymères (puisque le premier polymère n'est formé que sporadiquement (spontanément)). Afin d'écartier ce problème, nous avons décidé de ne procéder qu'à des expériences où nous ensemençons le réservoir de PrP^C par des PrP^{Sc}. De cette façon, les premiers noyaux sont déjà présents dans l'expérience et nous pouvons nous focaliser sur l'influence de leur concentration initiale seulement. Il existe alors un autre temps de latence, propre cette fois-ci à cette valeur de concentration initiale que l'on appelle le temps de latence résiduel ou T_{rlag} . Et donc le temps de latence total est composé (sans ensemencement préalable) de $T_{lag} = T_{nlag} + T_{rlag}$. Le but est de trouver un système pour calculer ce T_{rlag} . Nous utilisons alors une fonction empirique qui s'adapte parfaitement aux courbes sigmoïdes caractéristiques de l'évolution de la fluorescence de la Thioflavin-T (ou ThT), l'outil de mesure de l'évolution de masse des polymères (ou encore du nombre total de monomères dans les polymères). Cette fonction f est définie pour tout $t \geq 0$ par

$$f(t) = y_0 + \frac{a}{1 + e^{-(t-T_i)/\tau}}, \quad (3.61)$$

où y_0 quelques fois notée F_{max} . Elle correspond à la polymérisation complète mesurée au moment où la fluorescence est maximale, T_i est temps au point d'inflexion de la courbe et $1/\tau$ correspond à la pente de la sigmoïde mesurée suivant la figure 3.7 qui correspond au taux de polymérisation. Dans le but de minimiser l'influence du taux de polymérisation dans la mesure du temps de latence T_{lag} , nous avons choisi de définir ce T_{lag} comme Lee *et al.* [137], à savoir

$$T_{lag} = T_i - 2\tau. \quad (3.62)$$

Le calcul du temps T_0 pour lequel la polymérisation commence réellement (juste après le temps de latence) est alors donné grâce à la formule donnée par 3.62, une fois que l'on connaît le T_{lag}

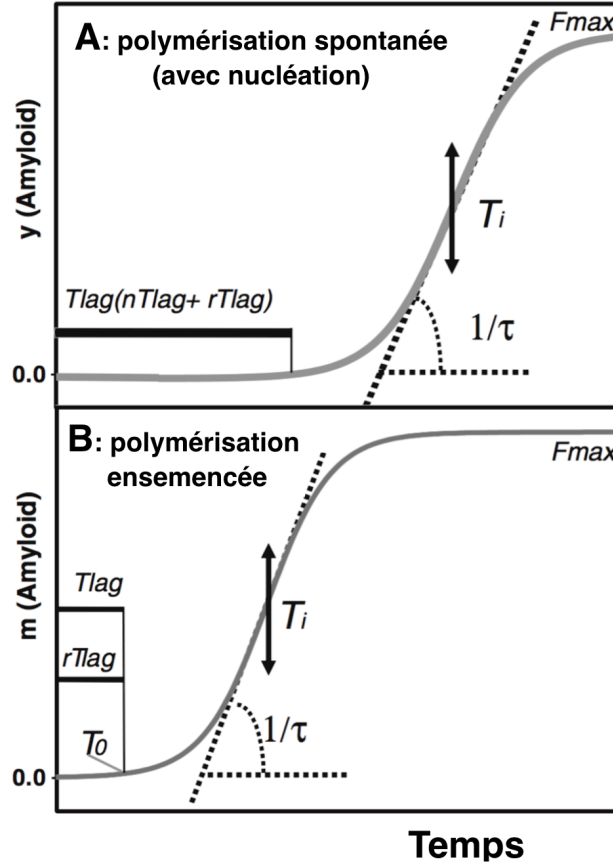


FIGURE 3.7 – Représentation schématique de l'évaluation des paramètres F_{max} , T_i , τ sur la courbe sigmoïde d'évolution de croissance de la masse des polymères pour la polymérisation spontanée (A) qui considère le temps de nucléation T_{nlag} et la polymérisation ensemencée (B) (sans temps de nucléation) [9].

(voir figure 3.7 (B), autrement dit $T_{rlag} = T_{lag} - T_0$. Nous obtenons alors un lien (voir [9]) entre les différentes masses mises en jeu et ce T_0 :

$$m = a_0 + \frac{M_0}{1 + (M_0/m_0 - 1)e^{-k(t-T_0)/N}}, \quad (3.63)$$

où M_0 est la concentration initiale de monomères, m_0 est la concentration initiale de monomères contenus dans les polymères inoculés (masse initiale de polymères), m est le masse des polymères mesurées à chaque instant t par la fluorescence de la ThT et enfin N est la taille moyenne des polymères.

Nous décidons de considérer une théorie simplifiée basée sur la théorie de 'pré-équilibre' de la nucléation de Golstein et al. [102] (voir aussi [174]) afin d'avoir une forte dépendance du taux de formation de fibrilles à la concentration qui croît avec la taille du noyau n , donnée par

$$T_{nlag} = \frac{a}{nk_+^{n-1}KM_0^{n-1}}, \quad (3.64)$$

où a est une fraction donnée de la concentration de monomères, qui correspondent à la proportion de monomères polymérisés dans les noyaux, M_0 est la concentration initiale de monomères,

k_+^{n-1} le taux de réaction de la dernière étape de polymérisation qui permet d'obtenir le noyau de taille n et

$$K = \prod_{i=1}^{n-2} \frac{k_+^i}{k_-^{i+1}}.$$

Ce dernier terme permet de relier à l'équilibre le premier monomère à l'origine du noyau et le polymère de taille $n - 1$ (voir [9]).

On peut obtenir alors la dépendance à la concentration M_0 par la formule

$$\log[T_{lag}] = -(n - 1) \log[M_0] + \text{constante.} \quad (3.65)$$

Expérimentalement et soutenu par une étude qualitative d'un modèle simplifié [9], nous arrivons à plusieurs conclusions biologiques :

1. La formation d'amyloïdes prion sous différentes conditions d'incubations suit des dynamiques similaires (résultat expérimental (voir figure 3.8) et conforté par nos études qualitatives précédentes),

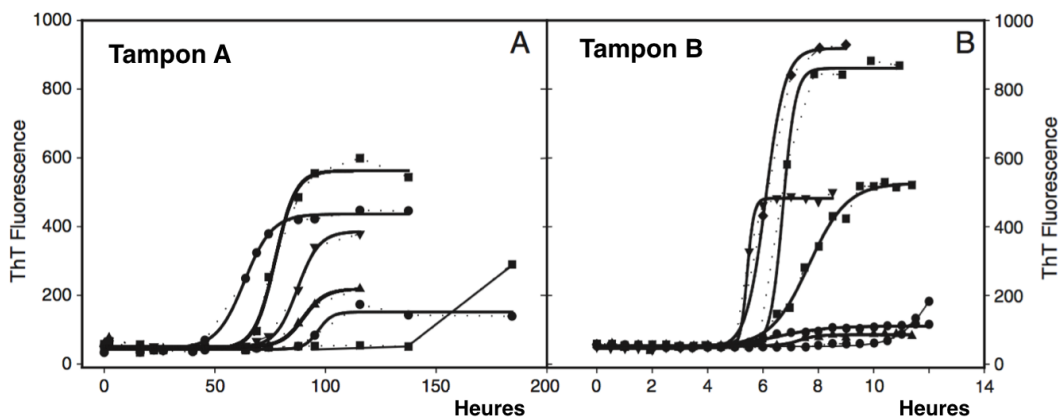


FIGURE 3.8 – Cinétiques indépendantes de la formation de plaques amyloïdes avec deux conditions tampons différentes A et B à une concentration de 0.4 mg/ml. Le résultat donne des courbes qualitativement similaires permettant de les approximer assez fidèlement par des sigmoïdes.

2. les dynamiques de polymérisation révèlent un mécanisme hautement stochastique dont l'origine provient de l'hétérogénéité de la nucléation. Cette déduction expérimentale dans un premier temps [9] a été conforté dans la thèse de Romain Yvinec [236],
3. il existe bien un temps de latence incompressible T_{rlag} , et la recherche de sa signification, après élimination de plusieurs hypothèses biologiques, nous a permis de montrer qu'il serait dû à un processus on-pathway (inhérent au processus de formation par opposition à off-pathway qui se passe en marge du processus que l'on observe sans interagir avec ce dernier),
4. il existe bien une hétérogénéité dans les protéines prions. Autrement dit, lors de la nucléation, par une sensibilité aléatoire aux conditions de l'expérience, plusieurs conformations différentes peuvent apparaître, donnant naissance à plusieurs souches. C'est au final, en général le premier noyau qui rend le processus déterministe et oblige les autres souches

à disparaître, sauf dans certains cas, plutôt rares où plusieurs souches peuvent co-exister. Cette hypothèse a été confirmée par l'analyse en microscopie à électrons (voir figure 3.9) et étudiée par Romain Yvinec [236],

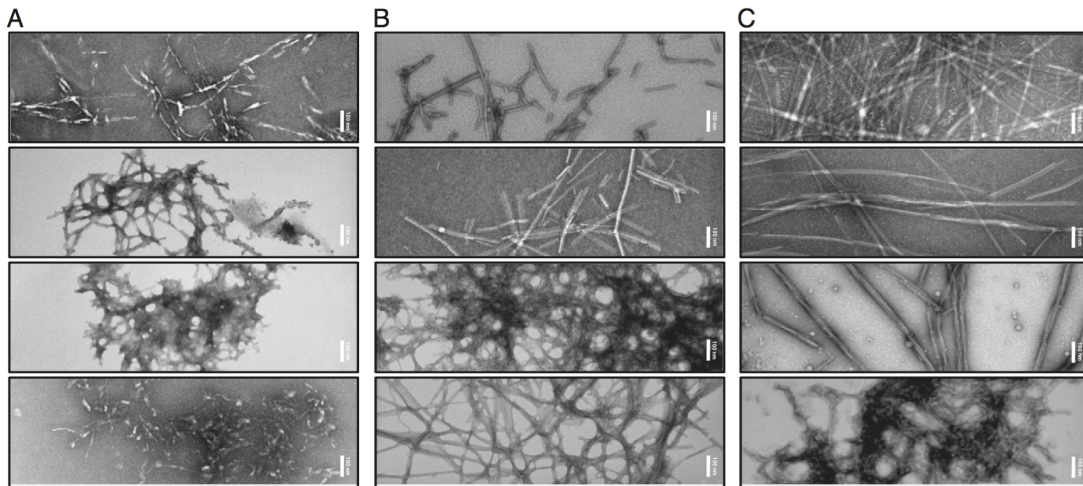


FIGURE 3.9 – Analyse par microscopie à électrons montrant l'hétérogénéité des structures amyloïdes, prouvant ainsi l'existence de différentes souches.

5. l'ensemencement successif permet de sélectionner les souches les plus efficaces, mais le temps de latence reste incompressible (voir figure 3.10),

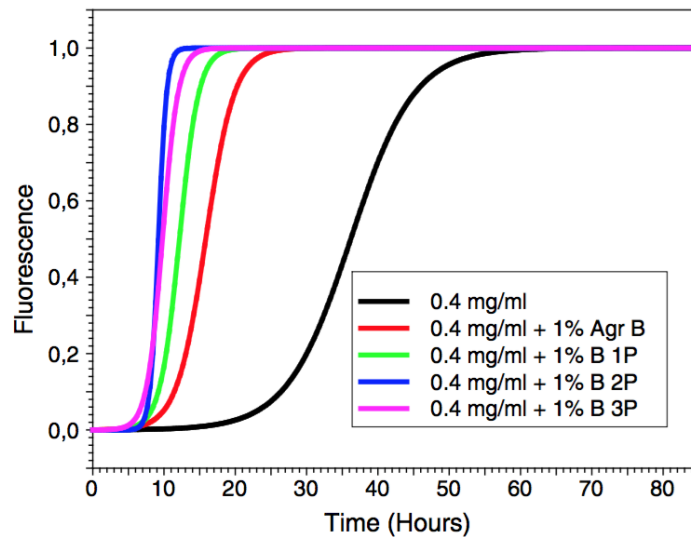


FIGURE 3.10 – Sélection de la souche la plus efficace par ensemencements successifs, aboutissant à une accélération du processus de polymérisation.

6. finalement nous avons montré que les processus de nucléation et d'élongation ne sollicitaient pas les mêmes mécanismes moléculaires.

Cette première tentative de conjuguer l'analyse qualitative et l'analyse quantitative des modèles avec les données expérimentales permet de faire le point sur l'état des connaissances de la formation des plaques amyloïdes, du temps de latence incompressible et de la présence de différentes souches. Nous avons essayé de résumer une partie de ces résultats dans un schéma explicatif assez simple (voir figure 3.11). Mais, comme nous pouvons le constater, il reste une zone d'ombre majeure dans cette analyse : nous ne savons toujours pas quelle est la raison de ce temps de latence incompressible.

C'est dans cet esprit que notre collaboration interdisciplinaire très resserrée nous a permis d'aller chercher, à la fois par des moyens théoriques et grâce aux ressources expérimentales de notre collègue biologiste Jean-Pierre Liautard, ainsi que son équipe, la solution, là où, nous ne serions pas nécessairement allés sans ces études préalables.

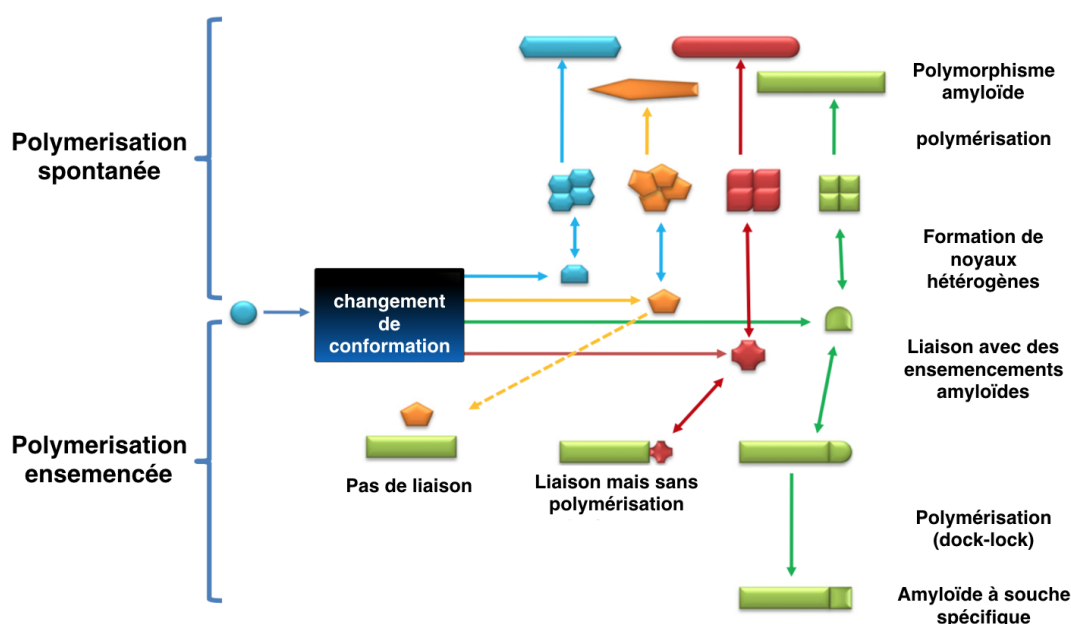


FIGURE 3.11 – Schéma représentant la possible formation de différentes souches donnant naissance à un polymorphisme amyloïde. Nous pouvons remarquer la boîte noire de changement de conformation qui était encore inconnue au moment de la rédaction de l'article ([9]).

3.3.2 Une collaboration interdisciplinaire fructueuse

En étudiant notre modèle sous toutes les coutures, nous nous rendions bien compte que quelque chose manquait, mais nous ignorions quoi. Rajouter un élément comme la boîte noire de la figure 3.11 avait un sens, mais nous ne pouvions pas rajouter cet élément de manière purement phénoménologique.

Cette recherche du ou des éléments impliqués dans l'incompressibilité du temps de latence nous a pris plusieurs mois. Nous avons essayé plusieurs pistes théoriques qui n'ont pas marché, jusqu'à ce que Jean-Pierre Liautard et son équipe trouvent une réponse *in vitro* qui nous a semblé être la bonne : la clé qui permettait de passer d'une conformation non-pathologique de la

protéine prion vers une forme favorable à l'agrégation de plaques amyloïdes semblait reposer finalement sur une structure particulière, appelée micelle. Après plusieurs vérifications biologiques, par observations directes (voir figures 3.12 et 3.13), tout semblait coller parfaitement. Il fallait vérifier si théoriquement, la formation des structures micellaires et leur importance

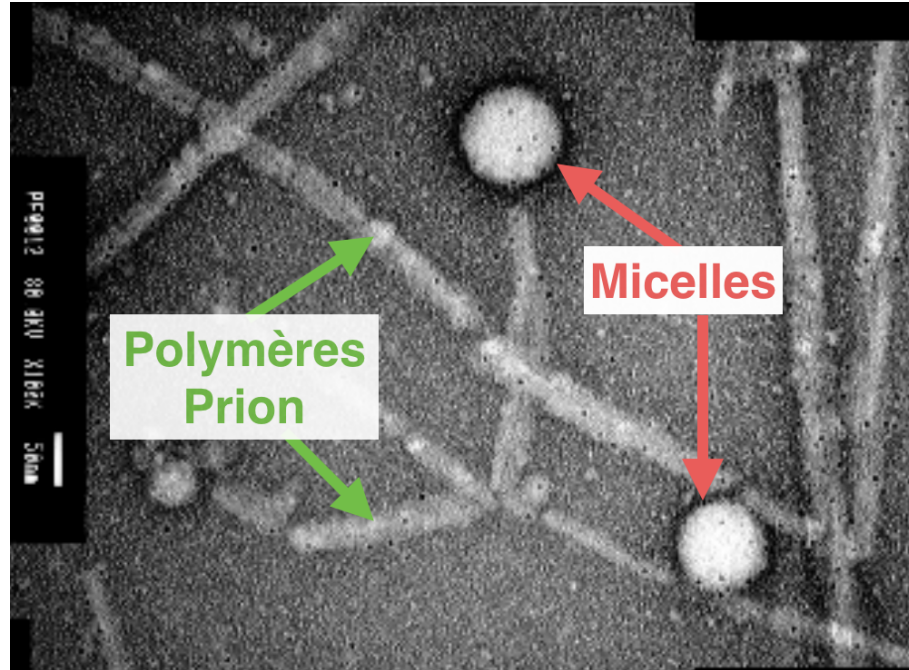


FIGURE 3.12 – Image électronique des micelles et des fibrilles de prion. Les micelles apparaissent avec des structures sphériques alors que les polymères PrP^{Sc} sont sous la forme de tiges rigides [113].

dans le changement de conformation pouvait expliquer le phénomène de temps de latence incompressible pour des valeurs numériques de paramètres biologiquement raisonnables. Nous avons donc construit un modèle discret en taille permettant de décrire ce phénomène. Le choix du discret était important pour nous afin de décrire l'évolution des micelles de taille assez faible mais également la transformation des monomères PrP^{C} en monomères PrP^{Sc} basé sur l'approche de Masel *et al.* [159]. Le but était double : tout d'abord vouloir suivre l'évolution monomères par monomères et ensuite élaborer un modèle suffisamment simple pour qu'il soit compréhensible pour les biologistes.

La description du modèle tient en 4 étapes :

1. **Étape 1** : formation des micelles dépendant des prions PrP^{C} .

En notant M_1 un monomère PrP^{C} et M_i les micelles de tailles i , où $i \geq 2$, nous pouvons décrire la réaction permettant d'augmenter la taille des micelles par ajout de monomère PrP^{C} de la façon suivante :



où $a_i \geq 0$ est le taux de recrutement des monomères vers les micelles et $b_{i+1} \geq 0$ est le taux de dépolymérisation des micelles en monomères PrP^{C} (nous supposons que le processus est réversible à tout moment) (voir figure 3.14).

En notant $m_1(t)$ et $m_i(t)$ respectivement les concentrations de monomères PrP^{C} et les

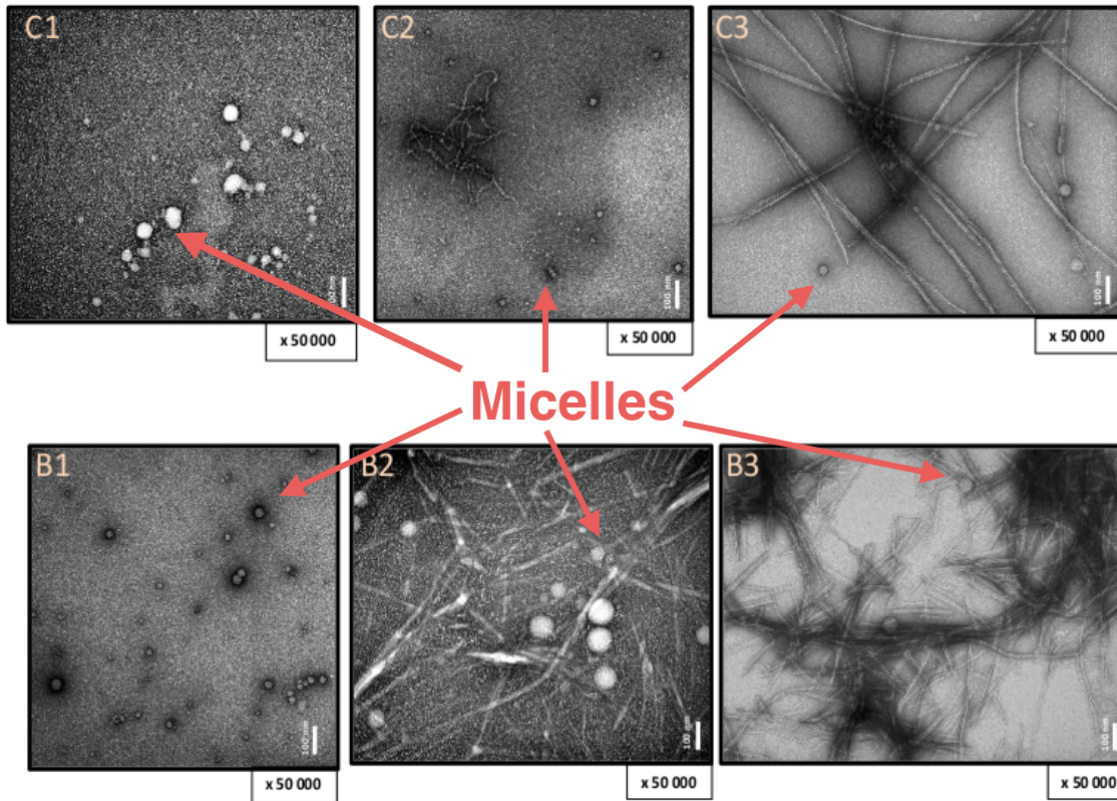


FIGURE 3.13 – Image électronique des micelles et des fibrilles de prion prises à différents moments de l’expérience dans deux solutions tampons différentes (tampon C en haut et tampon B en bas). Nous voyons clairement que les micelles apparaissent d’abord seules (gauche), puis les polymères PrP^{Sc} et les micelles coexistent (centre) et à la fin de l’expérience, seuls les PrP^{Sc} restent, les micelles ayant quasiment tous disparus.

concentrations de micelles au temps $t \geq 0$ et pour $i \geq 2$, nous obtenons une équation pour le flux associé à la réaction précédente (3.66), appelé également taux net de la réaction,

$$J_i(t) = a_i m_1(t) m_i(t) - b_{i+1} m_{i+1}(t), \quad i \geq 1. \quad (3.67)$$

2. **Étape 2** : Transition vers un PrP*, où PrP* représente la forme adaptée ‘intermédiaire’ pour polymériser facilement avec les PrP^{Sc}.

En notant P_1 ce monomère intermédiaire PrP*, a_i^* et b_{i+1}^* les taux de recrutement de dépolymérisation jouant un rôle analogue à celui de la réaction (3.66) (voir figure 3.14), nous obtenons pour $i \geq 2$:



En notant $p_1(t)$ la concentration des P_1 au temps $t \geq 0$, nous obtenons le taux net de la réaction,

$$J_i^*(t) = a_i^* p_1(t) m_i(t) - b_{i+1}^* m_{i+1}(t), \quad i \geq 1. \quad (3.69)$$

3. **Étape 3** : phase de nucléation.

Dans cette phase, nous notons P_i , $i \geq 2$ un oligomère constitué de quelques monomères

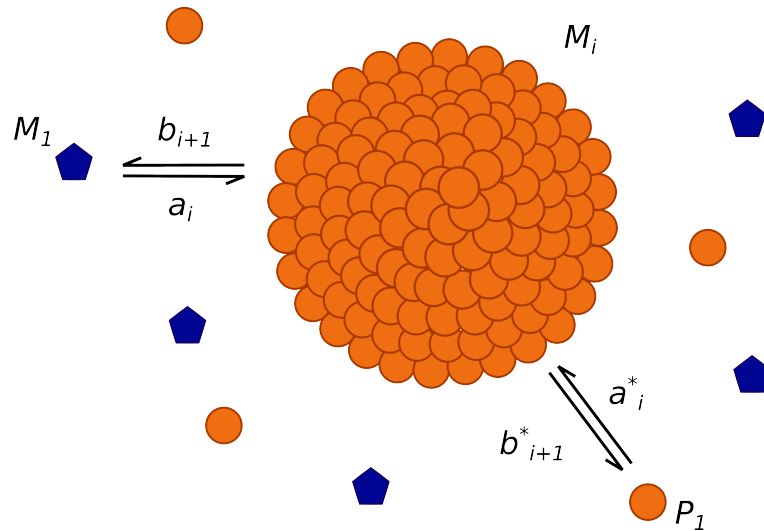
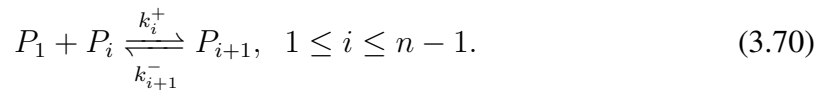


FIGURE 3.14 – Représentation schématique d’une micelles et des interactions avec les monomères PrP^{C} (pentagones bleu) et PrP^* (disques orange).

PrP^* . Quand ces oligomères atteignent la taille n , ils forment ce que l’on appelle un noyau stable. La formation de ces oligomères est donnée par les réactions suivante



Ici, k_i^+ décrit le taux pour lequel un oligomère P_i va s’attacher à un monomère PrP^* pour former un oligomère de taille $i+1$. Et cette réaction est réversible, avec un taux de réaction “inverse” k_{i+1}^- . Et le taux net associé à cette réaction est,

$$H_i(t) = k_i^+ p_1(t) p_i(t) - k_{i+1}^- p_{i+1}(t), \quad 1 \leq i \leq n-1. \quad (3.71)$$

Ce processus est appelé nucléation et ces petits agrégats (oligomères) sont encore supposés ne contenir que des monomères PrP^* . Ils sont encore très instables. Biologiquement, nous pouvons même dire que la réaction précédente (3.70) est énergiquement défavorable, c’est à dire que $k_i^+ / k_{i+1}^- \ll 1$. Et donc les oligomères peuvent facilement relâcher des monomères PrP^* jusqu’à ce qu’ils atteignent une taille n critique que l’on appelle le noyau. Une fois cette taille atteinte, nous obtenons un noyau stable que l’on appelle désormais PrP^{Sc} (voir figure 3.15), nous disons que la barrière de nucléation est franchie. L’hypothèse la plus importante que l’on formule ici réside dans le fait que les monomères PrP^{C} ne peuvent atteindre cette barrière qui serait pour eux énergiquement trop haute tandis que les isoformes PrP^* pourraient diminuer fortement cette énergie nécessaire à la formation de ces noyaux.

4. Étape 4 : phase d’élongation des polymères.

Une fois le noyau formé, qui forme la structure minimale des PrP^{Sc} , il peut polymériser en attachant des monomères PrP^* et non pas des PrP^{C} qui requerraient une énergie beaucoup trop grande. Les polymères PrP^{Sc} de tailles $i \geq n$ sont notés P_i (voir figure 3.16). En notant alors k_i^+ et k_{i+1}^- les taux respectifs de polymérisation et dépolymérisation des PrP^{Sc}

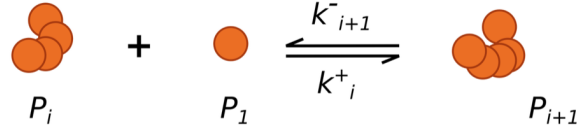
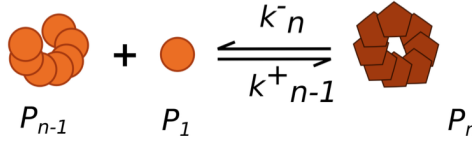
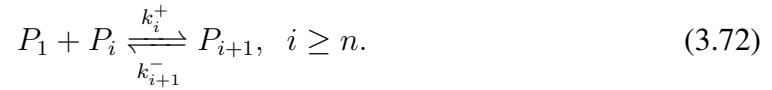
A. NUCLÉATION

B. BARRIÈRE DE NUCLÉATION


FIGURE 3.15 – Représentation schématique de la nucléation, avec la polymérisation progressive des oligomères P_i (en haut) et le franchissement de la barrière de nucléation (formation du noyau) (en bas).

comme pour la réaction (3.70) pour $i \geq n$, nous obtenons la réaction

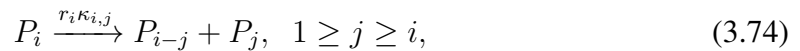


Cette étape quant à elle est favorable et $k_i^+/k_{i+1}^- \gg 1$. Le taux net de réaction s'écrit alors

$$H_i(t) = k_i^+ p_1(t) p_i(t) - k_{i+1}^- p_{i+1}(t), \quad i \geq n. \quad (3.73)$$

5. Étape 5 : fragmentation des polymères.

Pour une meilleure répartition homogène des éléments dans la solution, une agitation permanente est appliquée lors de l'expérience. Ceci a pour conséquence de provoquer la fragmentation des polymères PrP^{Sc}. Nous supposons que cette fragmentation est binaire ici (un polymère se casse en deux polymères de tailles inférieures). Ce phénomène permet ainsi d'accélérer le processus de croissance du nombre de polymères et donc de la masse totale de ces derniers. Nous définissons alors un taux de fragmentation r_i avec un noyau de fragmentation associé $\kappa_{i,j}$ définissant la probabilité pour un polymère de taille i de se fragmenter en un polymère de taille j et un autre de taille $i - j$ (voir figure 3.16). La réaction est donnée par



et le taux net par

$$F_{i,j}(t) = -r_i \kappa_{i,j} p_i. \quad (3.75)$$

Nous pouvons désormais poser les équations d'évolution de notre modèle. Les équations sont les suivantes :

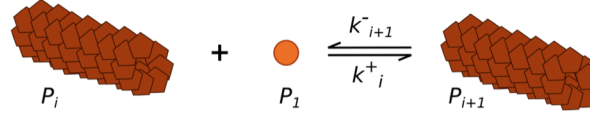
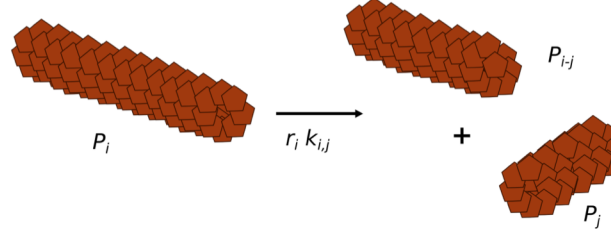
A. POLYMÉRISATION

B. FRAGMENTATION


FIGURE 3.16 – Représentation schématique de la polymérisation (en haut) et de la fragmentation (en bas) des polymères PrP^{Sc} .

1. pour les monomères PrP^{C} de l'étape 1 précédente,

$$\frac{d}{dt}m_1(t) = -J_1(t) - \sum_{i \geq 1} J_i(t). \quad (3.76)$$

Noter que le flux J_1 apparaît deux fois puisqu'il y a deux monomères impliqués dans la première réaction.

2. L'évolution de la concentration des micelles est donnée par

$$\frac{d}{dt}m_i(t) = J_{i-1}(t) - J_i(t) + J_{i-1}^*(t) - J_i^*(t), \quad i \geq 2. \quad (3.77)$$

3. Les dynamiques des PrP^* sont données par

$$\frac{d}{dt}p_1(t) = -J_1^*(t) - \sum_{i \geq 1} J_i^*(t) - H_1(t) - \sum_{i \geq 1} H_i(t) - 2 \sum_{j \geq 2} F_{j,1}(t). \quad (3.78)$$

4. Enfin, les oligomères et les polymères suivent les mêmes dynamiques qui sont données par

$$\frac{d}{dt}p_i(t) = H_{i-1}(t) - H_i(t) + \sum_{j=1}^{i-1} F_{i,j}(t) - 2 \sum_{j \geq i+1} F_{j,i}(t), \quad i \geq 2. \quad (3.79)$$

Nous supposons posons les conditions initiales suivantes

$$m_i(0) = m_i^0 \geq 0 \text{ et } p_i(0) = p_i^0 \geq 0, \text{ pour tout } i \geq 1.$$

Nous rappelons également que le noyau $\kappa_{i,j}$ suit les règles suivantes :

pour tout $i \geq 1$, $\kappa_{i,j} \geq 0$ et pour tout $j \geq i$, $\kappa_{i,j} = 0$,

étant donné qu'un polymère de taille i ne peut pas se fragmenter en morceaux plus grands que i . De plus,

$$\kappa_{i,j} = \kappa_{i,j-1} \text{ pour tout } 1 \leq j \leq i - 1.$$

Ceci signifie que l'on ne peut distinguer un polymère de taille i qui se fragmente en taille j et $i - j$ d'un polymère qui se fragmente en taille $i - j$ et j . Et enfin, comme $\kappa_{i,j}$ est un noyau de probabilité nous avons

$$\sum_{j=1}^{i-1} \kappa_{i,j} = 1 \text{ pour tout } j \leq i.$$

Comme dans les sections précédentes, nous notons

$$\sum_{i \geq 2} m_i(t) \text{ et } \sum_{i \geq 2} im_i(t),$$

respectivement la concentration de micelles et la masse totale de micelles (nombre de PrP* dans les micelles), sachant que le rapport entre cette masse et la concentration totale nous donne une évaluation de l'évolution de la taille moyenne des micelles au cours du temps. Et de la même façon

$$\sum_{i \geq 2} p_i(t) \text{ et } \sum_{i \geq 2} ip_i(t),$$

nous donne respectivement la concentration des polymères (oligomères et polymères confondus) et leur masse totale. Là encore, le rapport de la masse totale sur la concentration totale nous permet d'évaluer l'évolution de la taille moyenne des oligomères et polymères (confondus) au cours du temps.

Enfin, puisque nos expériences se font *in vitro* nous considérons un système fermé, où il n'y a pas de terme de sources ni dégradation des protéines, et donc, notre modèle doit préserver la masse totale de monomères, ce qui se traduit par la condition suivante :

$$\frac{d}{dt} \sum_{i \geq 1} im_i(t) + \frac{d}{dt} \sum_{i \geq 1} ip_i(t) = 0, \quad t \geq 0. \quad (3.80)$$

C'est ce que nous obtenons grâce à la propriété du noyau de probabilité $\kappa_{i,i}$.

L'étude qualitative du modèle détaillée dans [113] a permis de confirmer les dynamiques observées expérimentalement (voir figures 3.17 et 3.18).

Le résultat le plus important est alors le temps de latence. Nous avons utilisés T_{50} qui est le temps pour lequel la moitié de la masse totale finale a été polymérisée. Elle se confond ici avec le T_i défini dans la section 3.3.1. En effet, en posant $1/\tau$ la pente maximale de la sigmoïde décrivant les dynamiques des polymères par rapport au temps. Nous avons vu dans cette section la relation $T_{lag} = T_{50} - 2\tau$ donnée par Lee *et al.* [137]. Étant donné que T_{lag} et T_{50} sont liés par τ , nous préférons plutôt choisir T_{50} , qui nous évite de construire une fonction sigmoïde empirique comme celle donnée en (3.61) avec de nouveaux paramètres à calculer et qui demeure un critère rapide et efficace de mesure indirecte du temps de latence.

Dans la figure 3.19 où est mesuré le T_{50} en fonction de concentrations croissantes d'ensemencement des PrP^{Sc} (à concentration de monomères prion PrP^C égale) (voir [113] pour les détails). Nous pouvons alors observer deux choses essentielles dans ce travail :

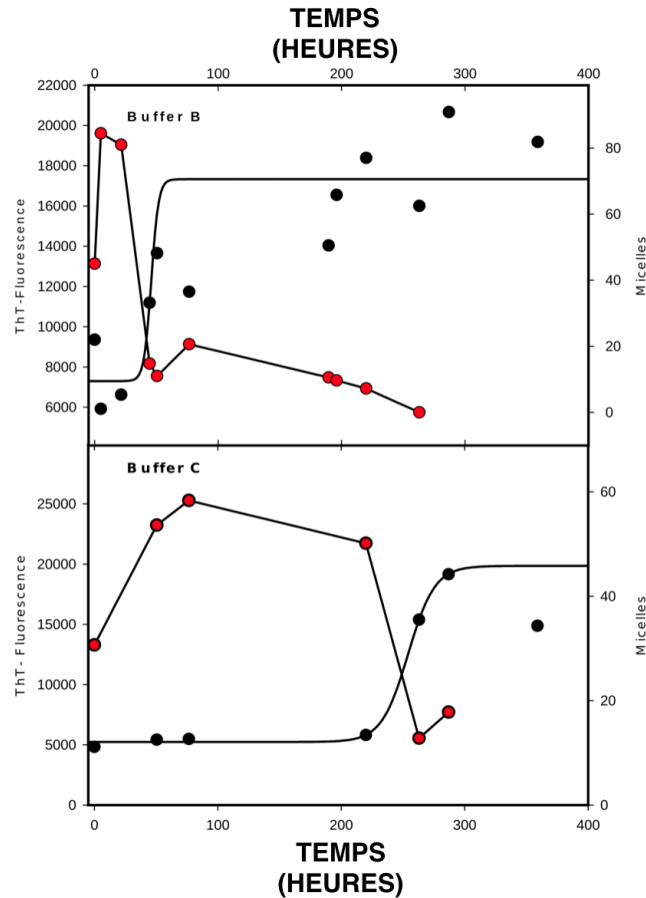


FIGURE 3.17 – Comparaison expérimentale des dynamiques entre le nombre de micelles (en rouge) comptés directement par microscope et amyloïdes prions (en noir) (mesurés par fluorescence de ThT) pour deux essais différents (tampon B en haut et tampon C en bas). On voit clairement que les micelles précèdent la formation des amyloïdes prions et disparaissent quand toute réaction est terminée.

1. notre nouveau modèle colle parfaitement aux données expérimentales cette fois, avec des paramètres biologiquement réalistes,
2. nous voyons bien qu'il existe un temps de latence incompressible et nous pouvons cette fois-ci le quantifier avec notre nouveau modèle.

Ce travail interdisciplinaire en étroite collaboration avec l'équipe de Jean-Pierre Liautard nous a donc permis à la fois de remettre notre premier modèle en question (celui de [104]), mais également de faire une découverte biologique importante à nos yeux sur une étape de la formation des plaques amyloïdes pour le prion.

Cette découverte ne concerne cependant que les expériences *in vitro* qui ne donnent qu'une idée simplifiée de ce qu'il se passe *in vivo* dans le cerveau des individus. Cependant, nous sommes convaincus que notre découverte *in vitro* possède une analogie *in vivo*. Autrement dit, les protéines prions PrP^C selon nous, doivent atteindre une conformation spécifique dans le cerveau pour pouvoir ensuite se polymériser et former des plaques amyloïdes. Nous avons alors fait une plongée dans la littérature biologique pour vérifier si des pistes *in vivo* allaient dans notre sens. Et nous en avons trouvé au nombre de 4.

1. la structure conformationnelle et la stabilité de la PrP chez l'humain sur un environnement

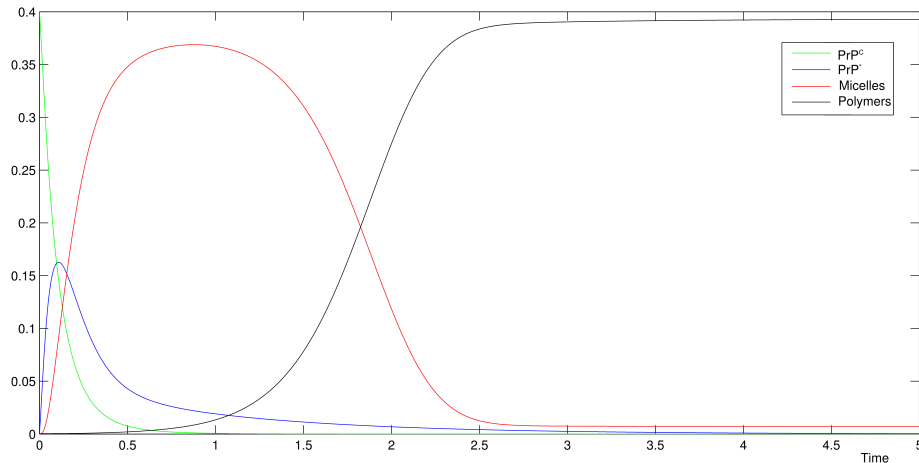


FIGURE 3.18 – Comportement qualitatif du modèle des micelles-prions. Les dynamiques sont conformes qualitativement à celles de la figure 3.17.

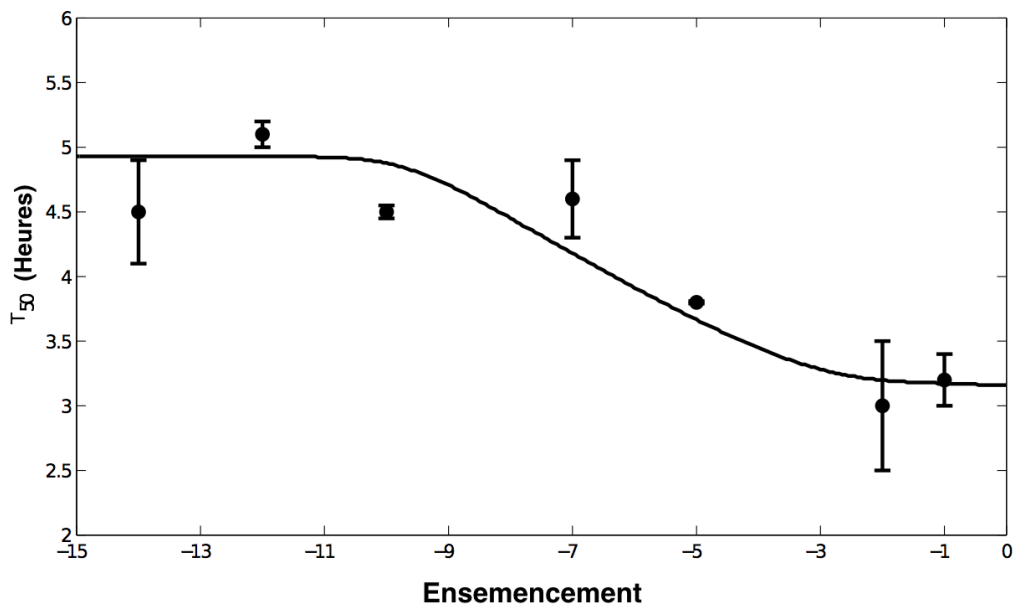


FIGURE 3.19 – Données expérimentales (carrés) et simulations numériques de notre modèle (courbe continue) représentant T_{50} (relié au temps de latence par la formule de Lee Lee *et al.* [137]) en fonction de concentrations croissantes d'ensemencement des PrP^{Sc} (voir détails dans [113]). Nous observons deux choses : (1) que notre nouveau modèle incluant les micelles colle parfaitement aux données expérimentales et (2) il existe bien un temps de latence incompressible que l'on peut à la fois quantifier et expliquer.

membranaire (d'une cellule) sont substantiellement différentes de protéines PrP libres en solution [167], [213]. Autrement dit, ce qu'il se passe *in vivo* est bien différent de ce qu'il se passe *in vitro*,

2. les bicelles lipidiques anioniques convertissent les PrP riches en hélices- α en conformations riches en feuilles- β [149],
3. les lipides sont nécessaires pour convertir les PrP^C en PrP^{Sc} infectieux sous certaines conditions physiologiques [231], [232],
4. la région hautement hydrophobique des PrP^C est impliquée dans l'interaction avec les membranes lipidiques [230], et leur absence dans cette partie de la molécule perturbe leur conversion en PrP^{Sc} [233]. Et ce phénomène a également été observé pour d'autres peptides à l'origine de plaques amyloïdes [138], [225].

Notre hypothèse est en fait la suivante : la formation de micelles contenant un mélange de phospholipides et de PrP^C permettrait de réduire la concentration nécessaire pour atteindre une concentration micellaire critique (CMC) (concentration en tensio-actifs au-delà duquel des micelles se forment spontanément) sous certaines conditions physiologiques. Nous pensons que ceci est cohérent avec l'apparition de noyaux *in vivo* et favoriserait même l'infectiosité des souches prions.

Ce n'était en fait que le début, mais Jean-Pierre Liautard est parti à la retraite juste à la fin de cette collaboration en 2011. Son équipe s'est alors éparpillée dans d'autres laboratoires. Cette période marquait également la fin de la thèse à la fois d'Erwan Hingant et de Romain Yvinec ainsi que de mon financement ANR en 2012.

Une période de transition nous a donc plus ou moins obligé à mettre ces questions en suspens. D'autre part, un financement France-Alzheimer en 2014 apportant une nouvelle collaboration avec Human Rezaei et son équipe nous fait changer de cap de recherche, à savoir la relation entre les protéines prions et les peptides A- β responsables de la maladie d'Alzheimer.

Plusieurs questions restent ouvertes encore sur les micelles et le processus de conformation des PrP^C en PrP^{Sc} (et plus particulièrement *in vivo*). Ce projet a été mis temporairement de côté mais reste quand même fortement ancré dans nos esprits.

Quant au projet de relation entre les protéines prion et les peptides A- β , il a été initié durant les thèses d'Erwan Hingant et Mohamed Helal, alors que nous n'avions plus de collaboration avec des biologistes de Montpellier et pas encore de relations étroites avec l'équipe d'Human Rezaei de l'Inra de Jouy-en-Josas. Nous avons alors décidé d'élaborer un modèle inédit permettant de décrire cette nouvelle mécanique (assez controversée à l'époque) avec la collaboration de Glenn Webb. C'est ce que nous allons expliquer dans le chapitre suivant.

Chapitre 4

Prion et Alzheimer

*Lorsque la mémoire était la seule écriture,
l'homme chantait. Lorsque l'écriture
naquit, il baissa la voix. Lorsque tout fut
mis en chiffres, il se tut.*

Robert Sabatier

Sommaire

4.1	Maladie d'Alzheimer	102
4.1.1	Une maladie en pleine croissance	102
4.1.2	Le rôle des petites $A\beta$	102
4.1.3	Lien avec le prion	102
4.2	Premier modèle Prion-Alzheimer	103
4.2.1	Modèle macroscopique	105
4.2.2	Modèle microscopique	108

Après avoir travaillé plus de 6 ans sur le prion, avec quelques résultats qui nous semblaient intéressants (voir chapitre précédent), plusieurs publications nous ont interpellés. Il s’agissait d’articles très récents mettant en avant le rôle du prion dans la perte de la mémoire lors du développement de la maladie d’Alzheimer [50],[49], [100], [135], [169].

Ces travaux sur les interactions entre protéines prion PrP^C et peptides A β nous ont tout de suite fortement intéressés. Ils se trouvaient dans la continuité de nos travaux que nous souhaitons élargir à d’autres maladies neurodégénératives. Nous avons donc commencé à réfléchir à différents modèles permettant d’apporter de nouvelles perspectives sur ce nouveau thème de recherche, et nous avons eu quelques résultats. C’est ce que nous allons présenter dans ce chapitre.

4.1 Maladie d’Alzheimer

4.1.1 Une maladie en pleine croissance

La maladie d’Alzheimer est l’une de maladies neurodégénératives les plus répandues dans le monde. Entre 60% et 80% des cas de démences sont en effet liés à elle selon Sosa-Ortiz *et al.* [223]. Ce qui donne à peu près une estimation d’environ 46 millions de personnes dans le monde vivant avec cette maladie selon le “World Alzheimer Report” en 2015 [190].

La maladie d’Alzheimer affecte la mémoire, le raisonnement, le comportement est comme le prion mène à une issue fatale. Rappelons brièvement son mécanisme.

4.1.2 Le rôle des petites A β

Deux acteurs semblent jouer un rôle majeur dans le mécanisme de dégénérescence : la protéine tau qui agit plutôt à l’intérieur de la cellule, et le peptide A β qui semble plutôt agir au niveau extra-cellulaire (un peptide étant une protéine dans sa version simple).

Nous ne nous intéressons pas ici au rôle tenu par la protéine tau mais seulement à la protéine A β qui interagit avec les protéines prions PrP^C causant à la fois la destruction du neurone et la création de plaques amyloïdes. Nous souhaitons savoir comment cette interaction s’organise, et comment, qualitativement nous pouvons voir évoluer chacune des populations (peptides A β , prion, plaque) au cours du temps en fonctions des paramètres d’un modèle simple.

4.1.3 Lien avec le prion

Notre première approche est d’établir un modèle continu simple, à l’instar du modèle de prion [104]. Pour cela nous devons comprendre les différents mécanismes du problème. D’après certains auteurs, la maladie d’Alzheimer est reliée en partie à la formation de plaques appelées β -amyloïdes, dans le cerveau [77], [107]. Ces plaques sont formées de peptides A β obtenues par un mauvais clivage de la protéine membranaire précurseur de l’amyloïde (APP). Il existe différentes formes de β -amyloïdes allant de monomères solubles à des agrégats fibrillaires insolubles [44], [146], [147], [226], [229]. Cependant, comme nous le verrons par la suite, même si les plaques sont reliées à l’évolution de la maladie d’Alzheimer, il semblerait que la toxicité soit plutôt due aux oligomères (polymères de petites tailles) formés de peptides A β [215]. Ce derniers seraient à l’origine de la perte de mémoire et des dégradations cognitives de l’individu, plutôt que les grandes plaques amyloïdes. Et selon certains biologistes, les peptides n’agiraient pas seuls et

seraient aidés, notamment par les protéines prions PrP^C saines [172], [203], [204], [100][135], celles que l'on trouve en temps normal chez tous les individus et dont les fonctions sont en général bénéfiques pour l'organisme (voir chapitre précédent).

Ce sont ces même protéines prions PrP^C, qui comme nous l'avons vu, quand elles présentent une mauvaise conformation (riche en feuillets β) ont tendance à polymériser pour engendrer la maladie de Creutzfeldt-Jacob. Le prion a de plus été identifié comme jouant un rôle dans la régulation des APP (à l'origine de la production des A β [172]). Ce dernier point est en cours d'investigation au moment de l'écriture de ce manuscrit (voir les perspectives dans le chapitre suivant).

4.2 Premier modèle Prion-Alzheimer

Notre objectif est donc de créer un modèle inédit permettant de décrire les mécanismes reliant les protéines PrP^C, les peptides A β , les plaques β -amyloïdes (constituées de peptides A β agrégés entre eux) et les complexes A β - \times -PrP^C. Nous souhaitons étudier la stabilité des équilibres éventuels afin de comprendre ce phénomène complexe, savoir comment les populations se comportent au cours du temps, et quelles étaient les influences des paramètres, au-moins qualitativement dans un premier temps.

De nombreux modèles tentant de décrire la maladie d'Alzheimer existent déjà [1], [58], [59], mais aucun n'a jusqu'alors utilisé l'hypothèse biologique du rôle du prion dans l'évolution de cette maladie. Nous allons alors proposer un modèle continu inédit de la formation de plaque β -amyloïde à l'aide de protéines prions.

Il est constitué de 4 espèces différentes :

1. la concentration d'oligomères A β , composés d'une petite quantité de peptides A β , que nous notons $u(t) \geq 0$, au temps $t \geq 0$,
2. la concentration de protéines PrP^C, que nous notons $p(t) \geq 0$, au temps $t \geq 0$,
3. la concentration d'un complexe A β - \times -PrP^C formés de peptides A β liés aux protéines PrP^C, $b(t) \geq 0$, au temps $t \geq 0$,
4. les plaques β -amyloïdes de taille x au temps t , sont notées $f(x, t) \geq 0$.

Les trois premières quantités sont solubles et leur concentration est décrite en termes d'équations différentielles ordinaires. La dernière concentration constituée des complexes est insoluble. Elle est décrite par une équation aux dérivées partielles structurée par leur taille x . Cette approche désormais classique ([104], [40], [88], [218]) pour décrire ces phénomènes de polymérisation et agrégation semble la plus adaptée pour une étude de la dynamique des solutions.

Pour plus de simplicité nous supposons que les plaques s'agrègent linéairement. Et donc, la variable x se trouve dans un intervalle $(x_0, +\infty)$, où, comme pour le prion (voir [104]) $x_0 > 0$ représente la taille critique en dessous de laquelle la plaque est instable et ne peut pas se former. Elle "grossit" en s'allongeant avec un taux $\rho(x) \geq 0$ dépendant de la taille de la plaque (voir figure 4.1).

Nous supposons que les oligomères A β sont produits avec un terme de source constant $\lambda_u \geq 0$ et sont dégradés à un taux constant $\gamma_u \geq 0$. De même, pour les prions PrP^C où le terme de source est $\lambda_p \geq 0$ et le taux de dégradation est $\gamma_p \geq 0$ sont supposés constants. Nous considérons également les oligomères A β qui se lient aux prions pour former le complexe A β - \times -PrP^C à un taux $\tau \geq 0$ et de détachent à un tau $\sigma \geq 0$ constants. Ces complexes peuvent

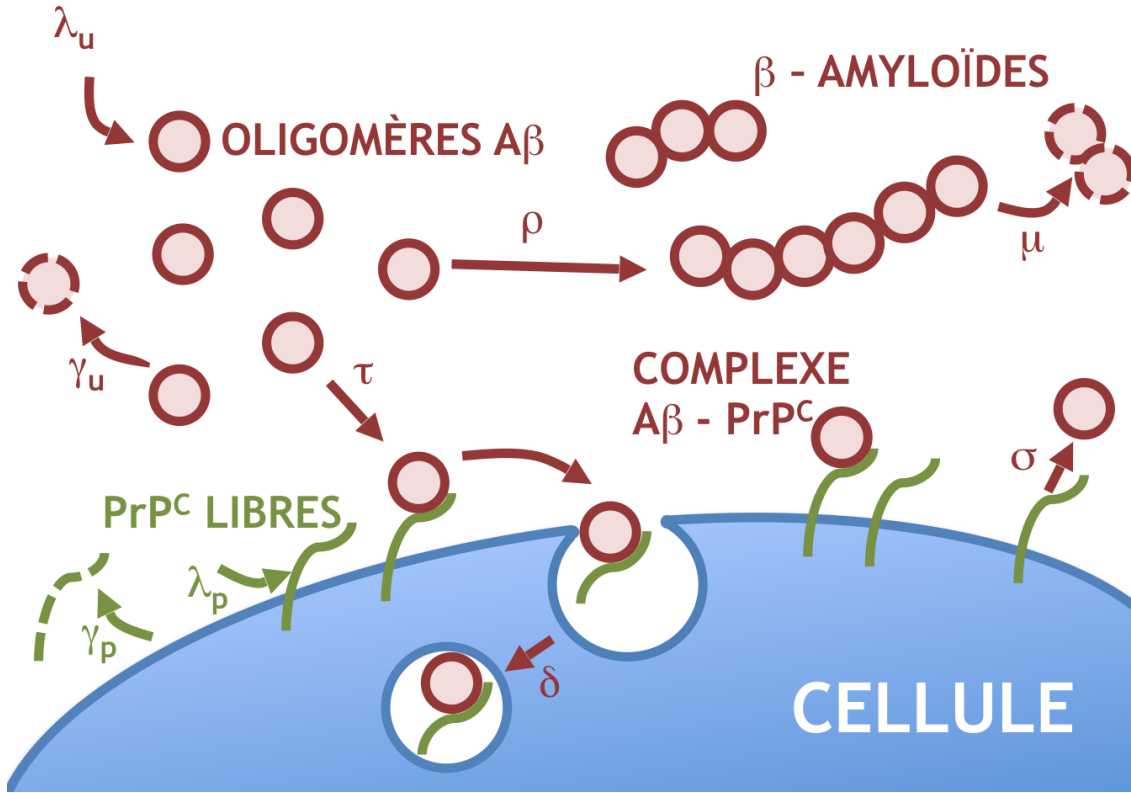


FIGURE 4.1 – Schéma représentant les différents acteurs jouant un rôle dans notre modèle d'interaction entre les prions PrP^{C} et les oligomères $\text{A}\beta$ [109].

se dégrader à un taux $\delta \geq 0$ constant. Reste le taux d'élongation de la plaque $\rho(x)$, et le taux de dégradation de ces plaques $\mu(x)$ tous deux positifs ou nuls dépendant de la taille x de la plaque.

Le modèle s'écrit alors

$$\frac{\partial}{\partial t} f(x, t) + u(t) \frac{\partial}{\partial x} [\rho(x) f(x, t)] = -\mu(x) f(x, t) \quad \text{on } (x_0, +\infty) \times (0, +\infty), \quad (4.1)$$

$$\dot{u} = \lambda_u - \gamma_u u - \tau u p + \sigma b - n N(u) - \frac{1}{\varepsilon} u \int_{x_0}^{+\infty} \rho(x) f(x, t) dx \quad \text{on } (0, +\infty), \quad (4.2)$$

$$\dot{p} = \lambda_p - \gamma_p p - \tau u p + \sigma b \quad \text{on } (0, +\infty), \quad (4.3)$$

$$\dot{b} = \tau u p - (\sigma + \delta) b \quad \text{on } (0, +\infty). \quad (4.4)$$

Le terme N dans l'équation (4.2) correspond au taux de formation d'une nouvelle plaque β -amyloïde de taille x_0 à partir d'un nombre suffisant d'oligomères $\text{A}\beta$. Pour équilibrer ce terme de perte dans l'équation (4.2 qui devient un terme de formation de nouveaux élément (terme de bord) pour l'équation (4.1), nous posons la condition

$$u(t) \rho(x_0) f(x_0, t) = N(u(t)), \quad t \geq 0. \quad (4.5)$$

Le terme intégral dans l'équation (4.2) correspond à la perte des oligomères $A\beta$ qui partent s'agréger sur les plaques β -amyloïdes. L'interprétation de ce système est analogue à celui de la section 3.1.2 du chapitre 3. Nous ne le détaillerons pas ici afin d'alléger ce manuscrit (pour plus de détails, voir [109]).

Pour compléter le modèle, nous le munissons de conditions initiales données une fonction $f^{in} \geq 0$ (dont nous verrons la régularité plus tard) et des réels positifs ou nuls notés u^{in}, p^{in}, b^{in} de telle sorte que

$$f(\cdot, t = 0) = f^{in} \quad \text{sur } (x_0, +\infty), \quad (4.6)$$

et

$$u(t = 0) = u^{in}, \quad p(t = 0) = p^{in} \quad \text{et} \quad b(t = 0) = b^{in}. \quad (4.7)$$

Le système (4.1-4.4) deux conditions supplémentaires pour équilibrer la quantité d'éléments mis en jeu : un pour les protéines prions (libres (p) et sous forme de complexes (b),

$$\frac{d}{dt}(b + p) = \lambda_p - \gamma_p p - \delta b,$$

et la seconde condition pour les oligomères $A\beta$,

$$\frac{d}{dt} \left(b + u + \int_{x_0}^{+\infty} x f dx \right) = \lambda_u - \gamma_u u - \delta b - \int_{x_0}^{+\infty} x \mu f dx.$$

Ce système étant considéré *in vivo* dans ce modèle théorique, il est par conséquent ouvert. Autrement dit, les concentrations totales des protéines prions et oligomères $A\beta$ évoluent au cours du temps suivant leur production et leur dégradation, contrairement aux modèles *in vitro* que l'on considère fermés en général, sans perte ni source de produits (conservation de la masse).

Notre travail a pour but d'étudier la stabilité des équilibres du modèle macroscopique (modèle obtenu par intégration comme pour le modèle de Greer *et al.* [104]). Mais nous souhaitons également obtenir des résultats analytiques (existence et non-négativité) sur le modèle microscopique dans le cas particulier où ρ et μ sont des constantes positives et en prenant une fonction N particulière correspondant au taux de formation d'un noyau $N(u) = \alpha u^n$, avec $\alpha > 0$ et n un entier, comme suggéré par Portet *et al.* [185]. C'est ce que nous obtenons pour des formes particulières de $\rho(x)$ (élongation des plaques). Nous présentons tout cela dans les deux sections suivantes.

4.2.1 Modèle macroscopique

Supposons comme écrit juste au dessus que les fonctions d'élongation ρ et de perte μ des plaques, soient constantes et positives. Supposons également que le taux de formation $N(u)$ des noyaux pour obtenir des plaques stables soit donné par la fonction suivante $N(u) = \alpha u^n$ avec α un réel positif et n un entier représentant le nombre d'oligomères nécessaires pour former une plaque stable. Cette hypothèse sur $N(u)$ a un sens biologique comme indiqué dans [185]. En effet, si l'on suppose que nous sommes en présence de $n - 1$ réactions menant à une plaque comportant n oligomères



où F_i sont les pré-fibrilles constitués d'agrégats de i -oligomères $A\beta$, pour $i = 2, \dots, n$. Les taux de réaction sont supposés constants mais dépendants de la taille i et sont notés K_i . Par conséquent, nous obtenons à l'équilibre, $F_2 = K_2 u^2$, $F_3 = K_3 F_2 u = K_3 K_2 u^3$, etc. jusqu'au noyau $F_n = \alpha u^n$ où par définition $\alpha = K - n K_{n-1} \dots K_2 > 0$. Et une fois le noyau formé, nous supposons que la structure de la plaque est stable.

Nous pouvons alors utiliser la même méthode proposée par Greer *et al.* [104], c'est à dire, en intégrant sur $(x_0, +\infty)$, nous posons pour tout $t \geq 0$,

$$A(t) = \int_{x_0}^{+\infty} f(x, t) dx,$$

et nous obtenons formellement

$$\frac{d}{dt} A(t) - u(t) \rho f(x_0, t) = -\mu A(t).$$

Ce qui nous permet de fermer le système (en utilisant l'expression (4.5)) d'écrire le système macroscopique suivant pour tout $t \geq 0$,

$$\dot{A} = \alpha u^n - \mu A, \quad (4.9)$$

$$\dot{u} = \lambda_u - \gamma_u u - \tau u p + \sigma b - \alpha n u^n - \rho u A, \quad (4.10)$$

$$\dot{p} = \lambda_p - \gamma_p p - \tau u p + \sigma b, \quad (4.11)$$

$$\dot{b} = \tau u p - (\sigma + \delta) b. \quad (4.12)$$

La masse des plaques β -amyloïdes étant définie par $M(t) = \int_{x_0}^{+\infty} x f(x, t) dx$, satisfait, là encore par intégration formelle de (4.9), et en utilisant la méthode de [104], une équation qui peut se résoudre indépendamment des autres

$$\frac{d}{dt} M(t) - x_0 u(t) \rho f(x_0, t) - \int_{x_0}^{+\infty} \rho u(t) f(x, t) dx = -\mu M(t). \quad (4.13)$$

En posant $x_0 = n$, en utilisant la condition (4.5) et l'expression du noyau $N(u) = \alpha u^n$, nous obtenons une version plus simple de cette EDO,

$$M' = n \alpha u^n + \rho u A - \mu M. \quad (4.14)$$

Notons enfin que les conditions initiales pour A et M sont données par

$$A^{in} = \int_{x_0}^{+\infty} f^{in}(x) dx \text{ et } M^{in} = \int_{x_0}^{+\infty} x f^{in}(x) dx,$$

tandis que les conditions initiales pour u , p et b restent inchangées.

Des résultats classiques sont alors démontrés, comme la positivité, l'existence et l'unicité d'une solution globale, résumés dans la proposition suivante

Proposition 4.1 *Supposons que $\lambda_u, \lambda_p, \gamma_u, \gamma_p, \tau, \sigma, \delta, \rho$ et μ sont des constantes réelles positives, et $n \geq 1$ un entier. Pour tout $(A^{in}, u^{in}, p^{in}, b^{in}) \in \mathbb{R}_+^4$, il existe une solution positive ou nulle (A, u, p, b) , au système (4.9)-(4.12) définie pour tout $t > 0$, c'est à dire que les fonctions A, u, p et b composant la solution du système sont de classe $\mathcal{C}_b(\mathbb{R}_+)$ et restent stables dans le sous ensemble*

$$S = \left\{ (A, u, p, b) \in \mathbb{R}_+^4 : nA + u + p + 2b \leq nA^{in} + u^{in} + p^{in} + 2b^{in} + \frac{\lambda}{m} \right\}, \quad (4.15)$$

avec $\lambda = \lambda_u + \lambda_p$ et $m = \min \mu, \gamma_u, \gamma_p, \delta$.

De plus, si $M(t=0) = M^{in} \geq 0$, il existe une unique solution non négative M à l'équation (4.14) définie pour tout $t > 0$.

Preuve : la preuve est classique et détaillée dans [109].

Nous souhaitons ensuite trouver les éventuels équilibres et étudier leur stabilité. Nous obtenons un résultat local dans un premier temps :

Proposition 4.2 *Sous les mêmes hypothèses que la proposition 4.1 précédente, il existe un unique équilibre $A_\infty, u_\infty, p_\infty$ et b_∞ du système (4.9)-(4.12) avec*

$$A_\infty = \frac{\alpha}{\mu} u_\infty^n, \quad p_\infty = \frac{\lambda_p}{\tau^* u_\infty + \gamma_p}, \quad b_\infty = \frac{1}{\sigma} \frac{\lambda_p (\tau - \tau^*)}{\tau^* u_\infty + \gamma_p} u_\infty,$$

où $\tau^* = \tau(1 - \sigma/(\delta + \sigma))$ et u_∞ l'unique racine positive de Q , défini par

$$Q(x) = \gamma_p \lambda_u + ax - P(x), \text{ pour tout } x \geq 0$$

avec $a = \tau^*(\lambda_u - \lambda_p) - \gamma_u \gamma_p$ et

$$P(x) = \tau^* \gamma_u x^2 + \alpha \gamma_p n x^n + (\alpha \tau^* n + \rho \gamma_p \frac{\alpha}{\mu}) x^{n+1} + \rho \tau^* \frac{\alpha}{\mu} x^{n+2}.$$

De plus cet équilibre est localement asymptotiquement stable.

Preuve : la preuve se fait avec un critère de Routh-Hurwitz assez facilement, voir [109].

Et dans le cas où il n'y a pas de nucléation, c'est à dire $\alpha = 0$, nous avons même un résultat de stabilité globale.

Proposition 4.3 *Supposons $\alpha = 0$. Sous la condition*

$$\left(1 + 2 \frac{\delta + \gamma_u}{\sigma} \right) > \frac{\delta}{2\gamma_p} > \frac{\gamma_p}{\sigma},$$

l'unique équilibre est donné par

$$A_\infty = 0, \quad p_\infty = \frac{\lambda_p}{\tau^* u_\infty + \gamma_p}, \quad b_\infty = \frac{1}{\sigma} \frac{\lambda_p (\tau - \tau^*)}{\tau^* u_\infty + \gamma_p} u_\infty,$$

où u_∞ est l'unique racine positive de $Q(x) = \gamma_p \lambda_u + ax - \tau^* \lambda_u x^2$, avec $a = \tau^*(\lambda_u - \lambda_p) - \gamma_u \gamma_p$. De plus, cet équilibre est globalement asymptotiquement stable dans le sous ensemble S défini dans 4.15.

Preuve : la preuve se fait grâce à la construction d'une fonction de Lyapounov qui est détaillée dans [109].

4.2.2 Modèle microscopique

L'analyse du modèle microscopique (4.1)-(4.4) étant difficile dans sa version la plus générale, nous décidons de simplifier légèrement le problème en prenant la considération biologique suivante.

Comme souligné par Calvez *et al.* [40] et Gabriel [87] le fait que les taux de polymérisation ρ et μ soient constants (comme notre choix dans le modèle macroscopique), n'est pas toujours réaliste. En conséquence, nous décidons d'utiliser une fonction dépendant de la taille x pour le taux de polymérisation de la forme $\rho(x) \sim x^\theta$, avec $\theta \in (0, 1)$. Ce choix de fonction de polymérisation a du sens, en effet, plus une plaque β -amyloïde est grande, plus elle a de chance d'attirer des oligomères $A\beta$ et des les agréger à elle. Cependant, ce taux de polymérisation ne peut augmenter très vite, sinon, nous épuiserions les oligomères quasiment immédiatement.

Ce choix de $\rho(x)$, ainsi que le choix de garder μ constante (même si cette dernière hypothèse ne semble pas trop réaliste), nous permet de donner des résultats analytiques intéressants sur notre modèle macroscopique.

Pour cela, il faut nous placer dans les bons espaces, et donner de nouvelles hypothèses :

$$\begin{array}{l}
 \text{(H}_1\text{)} \quad \left| \quad f^{in} \in L^1(x_0, +\infty; x dx), f^{in} \geq 0, \text{ a.e. } x > x_0. \right. \\
 \text{(H}_2\text{)} \quad \left| \quad \rho \geq 0, \rho \in W^{2,\infty}([x_0, \infty)), \mu \geq 0, \mu \in W^{1,\infty}([x_0, \infty)). \right. \\
 \text{(H}_3\text{)} \quad \left| \quad N \geq 0, N \in W_{loc}^{1,\infty}(\mathbb{R}_+), N(0) = 0. \right. \\
 \text{(H}_4\text{)} \quad \left| \quad \lambda_u, \gamma_u, \lambda_p, \gamma_p, \tau, \sigma, \delta > 0. \right.
 \end{array}$$

Noter que l'hypothèse (H₂) implique l'existence d'une constante $C > 0$ de telle sorte que $\rho(x) \leq Cx$.

En prenant par exemple, $C = 2\|\rho'\|_{L^\infty} + \rho(x_0)/x_0$. Pour tout $x \geq x_0$, nous avons

$$\rho(x) \leq \|\rho'\|_{L^\infty}(x + x_0) + \rho(x_0) \leq \left(2\|\rho'\|_{L^\infty} + \frac{\rho(x_0)}{x_0}\right)x.$$

Nous remarquons justement que ce type de régularité sur le taux ρ couvre le cas où $\rho(x) \sim x^\theta$ avec $\theta \in (0; 1)$.

D'autre part, (H₃) implique l'existence d'une constante $K_M > 0$ de telle sorte que $N(w) \leq K_M w$, pour tout $w \in [0, M]$.

Enfin, la non-négativité des paramètres reprise par l'hypothèse (H₄) est une hypothèse biologiquement réaliste.

Nous définissons ci-dessous une solution de notre problème (4.1)-(4.4) soumis aux hypothèses (H₁)-(H₄)

Définition 4.1 *Considérons une fonction f^{in} satisfaisant (H₁), considérons aussi u^{in}, p^{in}, b^{in} trois données réelles non négatives. Supposons que ρ, μ, N et tous les paramètres du problème vérifient les hypothèses (H₂) - (H₄). Considérons enfin le réel $T > 0$. Alors le quadruplet (f, u, p, b) de fonctions non négatives est appelée solution sur l'intervalle $(0, T)$ du (4.1-4.4)*

avec la condition au bord (4.5) et les données initiales (4.6) et (4.7), si elle satisfait pour tous $\varphi \in \mathcal{C}_c^\infty([0, T] \times [x_0, +\infty))$ et $t \in (0, T)$

$$\begin{aligned} \int_{x_0}^{+\infty} f(x, t)\varphi(x, t)dx &= \int_{x_0}^{+\infty} f^{in}(x)\varphi(x, 0)dx + \int_0^t N(u(s))\varphi(x_0, s)ds \\ &+ \int_0^t \int_{x_0}^{+\infty} f(x, s) \left[\frac{\partial}{\partial t}\varphi(x, s) + u(s)\rho(x)\frac{\partial}{\partial x}\varphi(x, s) - \mu(x)\varphi(x, s) \right] dx ds, \end{aligned}$$

et

$$\begin{aligned} u(t) &= u^{in} + \int_0^t \left[\lambda_u - \gamma_u u - \tau u p + \sigma b - x_0 N(u) - u \int_{x_0}^{+\infty} \rho(x) f(x, s) dx \right] ds, \\ p(t) &= p^{in} + \int_0^t [\lambda_p - \gamma_p p - \tau u p + \sigma b] ds, \\ b(t) &= b^{in} + \int_0^t [\tau u p - (\sigma + \delta) b] ds, \end{aligned}$$

avec la régularité $f \in L^\infty(0, T; L^1(x_0, +\infty; x dx))$ et $u, p, b \in C^0(0, T)$.

Notre résultat principal est alors le théorème suivant énonçant l'existence, l'unicité et la non-négativité du modèle initial (4.1-4.4) avec la condition au bord 4.5 et les conditions initiales données par (4.6) et (4.7) d'une solution donnée dans le sens de la définition 4.1 précédente.

Théorème 4.1 Soient f^{in} un fonction non-négative satisfaisant (H_1) , u^{in} , p^{in} et b^{in} des réels non-négatifs et supposons que les hypothèses (H_2) à (H_4) soient vérifiées. Considérons un réel $T > 0$. Il existe alors une solution non-négative unique (f, u, p, b) du système (4.1-4.4) avec la condition au bord 4.5 et les conditions initiales données par (4.6) et (4.7), dans le sens de la définition 4.1, de telle sorte que $f \in C^0([0, T], L^1(x_0, +\infty; x^r dx))$ pour tous $r \in [0, 1]$, et $u, p, b \in C_b^1(0, T)$.

Preuve : la preuve (assez longue), est séparée en deux et chacune est parties est détaillée respectivement dans les sections 3.2 et 3.3 de [109]. L'idée de cette preuve est la suivante.

1. La première partie de la preuve (section 3.2 de [109]), consiste à montrer que le problème

$$\frac{\partial}{\partial t} f(x, t) + u(t) \frac{\partial}{\partial x} [\rho(x) f(x, t)] = -\mu(x) f(x, t) \quad \text{sur } (x_0, +\infty) \times (0, +\infty), \quad (4.16)$$

$$u(t)\rho(x_0)f(x_0, t) = N(u(t)), \quad \text{on } (0, +\infty), \quad (4.17)$$

$$f(\cdot, t=0) = f^{in}, \quad \text{sur } (x_0, +\infty). \quad (4.18)$$

est bien posé. Ce résultat est énoncé dans la proposition suivante.

Proposition 4.4 Soient $u \in C_b^0(\mathbb{R}_+)$, f^{in} satisfaisant (H_1) , et supposons que les hypothèses (H_2) à (H_4) soient vérifiées.

Pour tout $T > 0$, il existe une unique solution non-négative f à (4.16-4.18) au sens des distributions, telle que $f \in C^0([0, T], L^1(x_0, +\infty; x^r dx))$ pour tout $r \in [0, 1]$.

La preuve de cette proposition est dans le même esprit que celle proposée par Collet *et al.* [52] pour l'équation de Lifshitz-Slyozov. Elle est basée sur le concept de solution "douce" (mild) au sens des distributions avec la contrainte additionnelle de continuité du temps dans l'espace $L^1(xdx)$.

2. La seconde partie de la preuve (donnée dans la section 3.3 de [109]) réside dans la construction d'un opérateur

$$\begin{aligned} S & : C^0([0, T])^3 \mapsto C^0([0, T])^3 \\ (u, p, b) & \mapsto (S_u, S_p, S_b) = S(u, p, b), \end{aligned} \tag{4.19}$$

où

$$\begin{aligned} S_u & = u^{in} + \int_0^t \left[\lambda_u - \gamma_u u - \tau u p + \sigma b - x_0 N(u) - u \int_{x_0}^{+\infty} \rho(x) f(x, s) dx \right] ds, \\ S_p & = p^{in} + \int_0^t [\lambda_p - \gamma_p p - \tau u p + \sigma b] ds, \\ S_b & = b^{in} + \int_0^t [\tau u p - (\sigma + \delta) b] ds, \end{aligned}$$

où f est l'unique solution associée à u donnée par la proposition 4.4. Le théorème est alors prouvé en appliquant le théorème de point fixe de Banach à l'opérateur S .

Chapitre 5

Transmettre, diffuser, découvrir et recommencer

Il n'y a pas des problèmes qu'on se pose, il y a des problèmes qui se posent. Il n'y a pas de problèmes résolus, il y a seulement des problèmes plus ou moins résolus.

Henri Poincaré

Sommaire

5.1	Transmission	112
5.2	Diffusion	114
5.2.1	Diffusion pour le grand public	114
5.2.2	Conférences, séminaires, colloques et publications	116
5.3	Découvrir	116
5.3.1	La somitogenèse	117
5.3.2	Radiothérapie	118
5.3.3	Mégacaryopoïèse	118
5.3.4	Dynamique des langues	119

Le dernier chapitre de ce manuscrit est consacré à trois parties qui constituent quasiment l'essentiel de mes activités d'enseignant-chercheur au quotidien : la transmission, la diffusion et la recherche. Le plus difficile est de trouver un équilibre entre les trois. Elles sont souvent entrecoupées de tâches administratives, éditoriales, de rédaction de projets en vue de financements et de gestion de ces financements quand j'ai eu l'opportunité d'en obtenir. Les journées sont bien remplies, mais elles commencent toujours avec le même bonheur guidé par la vocation et la passion de mon travail.

Je vais essayer de résumer ces trois activités principales, sans être toutefois exhaustif, mais en dressant un bilan de ces 15 années qui ont suivi la soutenance de ma thèse de doctorat.

5.1 Transmission

Je n'ai jamais cessé d'enseigner depuis le tout début de ma thèse. Même durant mes années de post-doctorat à l'université McGill, vouées à la recherche uniquement, j'ai effectué des remplacements pour des collègues. J'ai toujours éprouvé beaucoup de plaisir à le faire, et je ne m'en lasse pas pour deux raisons essentielles : d'un côté, l'enseignement me permet de contribuer à la fois au développement du savoir et savoir faire des étudiants, et d'un autre côté, il joue un rôle fondamental en me faisant évoluer continuellement. Chaque semestre est pour moi une remise en question complète sur ma façon de transmettre mes cours. Je m'interroge sur ce qui n'a pas marché et je tente d'améliorer un peu plus ce qui semble fonctionner tout en sachant que les générations se suivent et ne se ressemblent pas.

Mais les cours magistraux et les travaux dirigés ne sont pas mes seules activités de formation. Il y a également les encadrements de stages et de thèse qui relèvent autant de l'accompagnement que de la transmission. Plusieurs types de stages sont offerts à l'université (en mathématiques) : les travaux d'initiative personnelle encadrés (TIPE) pour les étudiants de deuxième année de licence, les travaux d'études et de recherche (TER) pour les étudiants de première année de master, les stages de 4^{ème} année et 5^{ème} année d'étude pour les étudiants de l'INSA, les stages d'étudiants de deuxième année de master, et enfin l'encadrement des étudiants en thèse.

L'offre de l'encadrement des étudiants est donc assez riche à tous les niveaux, et j'y prends part chaque année. C'est ainsi que depuis 2007, date à laquelle je me suis investi dans cette forme de transmission, j'ai encadré 54 étudiants, dont 4 en deuxième année de licence, 33 en première année de master, 13 en deuxième année de master et 5 en thèse. J'ai beaucoup évolué dans ma façon d'accompagner les étudiants dans ce type de formation.

J'encourage les étudiants à faire preuve d'esprit d'initiative, de sens critique, envers eux mêmes, envers tout ce qu'ils peuvent lire, et surtout envers moi. Ainsi, tout en essayant de les faire progresser, je suis également en perpétuelle évolution. C'est ainsi que, depuis quelques années, j'ai changé ma façon d'encadrer mes étudiants (surtout les plus âgés, ceux qui se trouvent en deuxième année de master et en thèse) : je les fais travailler de la façon suivante. Je les laisse choisir une problématique biologique précise parmi celles que je leur propose. Elles sont en général inédites, ou je sais au moins que très peu de chercheurs, voire personne ne s'y sont plongés d'un point de vue de la modélisation. Autrement dit, tout est à faire, ce qui laisse le champ libre à la créativité (pour la construction d'un modèle nouveau), l'intuition (pour faire le tri entre ce qui est essentiel de ce qui ne l'est pas, et savoir quels outils mathématiques seront utiles ou non) et la communication (pour trouver à la fois des éclaircissements sur les mécanismes biologiques mais également les outils et les techniques utiles à la résolution des problèmes posés). Cette

formation se fait en plusieurs étapes :

1. étudier de façon approfondie le contexte biologique et la problématique précise afin que connaitre parfaitement les acteurs et les mécanismes impliqués dans le projet. Pour cela, il est nécessaire de collaborer au plus près avec les biologistes,
2. tirer l'essentiel de tous les détails biologiques des réactions et interactions décrites dans la littérature ou fournies par les discussions avec nos collaborateurs,
3. élaborer un premier modèle assez simple, afin de l'étudier en utilisant les outils mathématiques à la portée de l'étudiant,
4. critiquer ce premier modèle, pour voir ce qui marche et ce qui ne marche pas, et le complexifier pour le rendre plus réaliste tout en gardant le cap qui est la réponse à la question posée par les biologistes.

Cette dernière étape est la plus compliquée, parce que les étudiants se trouvent en perpétuel équilibre sur un fil, il suffit de rajouter un élément au modèle pour se rapprocher de la réalité, ce qui est une excellente chose, mais en même temps, se trouver face à une difficulté mathématique parfois insurmontable, et ne pas avoir les outils nécessaires pour analyser le problème. Les étudiants ont alors le choix : soit faire marche arrière et repenser le modèle, et ce qu'il faut rajouter, tout en maintenant le cap, soit chercher les outils qui leur manquent pour surmonter la difficulté mathématique à laquelle ils font face. La tâche de l'encadrant est ici essentielle à mes yeux : il s'agit de les accompagner dans leurs choix, et les guider en puisant dans notre expérience et nos connaissances. Quelques fois, cela suffit, et parfois, l'apprentissage se fait ensemble, aboutissant à un développement des deux acteurs de la formation.

C'est à chaque fois très enrichissant et gratifiant. Je garde ainsi le contact avec quasiment tous les étudiants que j'ai encadrés, certains sont devenus chercheurs et se trouvent éparpillés sur la planète, d'autres ont rejoint des entreprises, et beaucoup viennent me voir, ou m'écrivent pour avoir des conseils autant scientifiques que personnels sur leurs choix de carrière.

En ce qui concerne ma formation des étudiants en licence et master, j'ai rapidement préféré devenir responsable pédagogiques des unités d'enseignement (UE) auxquelles je participais pour pouvoir faire le lien entre les équipes pédagogiques et les étudiants. C'est ainsi que depuis 2007 je suis la plupart du temps en charge des cours et dans la mesure du possible également intervenant dans groupe de travaux dirigés correspondant. Que ce soit à tous les niveaux de la licence, du master comme pour les étudiants de l'INSA où j'effectue quelques vacances, j'essaie d'offrir un support écrit pour chacun de ces cours, en le mettant à jour, et le renouvelant sans arrêt pour essayer de l'améliorer. Je tiens compte de toutes les remarques constructives des collègues membres de l'équipe pédagogique de l'UE, mais également du retour des étudiants sur ce qui a fonctionné et ce qu'il faudrait changer.

J'ai également souhaité être le responsable de la filière *Mathématiques pour la biologie et la médecine* du parcours *Maths en Action : du concept à l'innovation*, en deuxième année du *Master mathématiques appliquées, statistique*. Cette filière a ouvert en même temps que le *Master Maths en Action*, à l'automne 2013. Je m'y suis beaucoup investi, autant pour le choix des cours, que le choix des intervenants et la communication pour le recrutement des étudiants. Cet automne 2016, c'est la quatrième année que ce master existe, et cette filière a toujours obtenu le nombre d'étudiants nécessaire à son ouverture. Près d'une quarantaine d'étudiants ont été formés, et une grande majorité a obtenu une bourse de thèse. Une grande partie de la première promotion rentre en troisième année de thèse, et donc devrait soutenir d'ici à la fin 2017 si tout se passe bien.

Nous avons trois cours programmés dans cette filière. Deux sont pour l'instant restés durant ces 4 années :

1. la statistique pour la grande dimension en génomique,
2. la dynamique des populations.

Le troisième cours a changé. Entre 2013 et 2016, il était consacré à la *dynamique des protéines*, et depuis la rentrée en 2016, il a été remplacé par la *modélisation mathématique en épidémiologie*. Ce changement provient de la politique d'évolution de la formation de ce master, avec le changement d'un ou plusieurs cours tous les 3 ou 4 ans. Les choix de ces cours est constamment guidé par deux choses :

1. la qualité remarquable des intervenants qui sont des chercheurs très actifs dans le domaine qu'ils enseignent, d'excellents pédagogues et qui possèdent un réseau international très important,
2. le fait que chaque thème de recherche de ces trois cours est extrêmement porteur, et que de très nombreux postes de thèse ou de recherche sont proposés dans ces domaines là.

Le bilan de ces 15 années d'enseignement, d'encadrement et de responsabilités administratives relatives à ce domaine est plus que bénéfique pour moi. J'espère avoir accompagné un grand nombre d'étudiants et les avoir fait évoluer tout autant qu'eux m'ont fait évoluer. Je commence à avoir pas mal de supports écrits de plusieurs cours allant de la première année de licence à la dernière année de master, mais ils sont en constante évolution. Je prends toujours autant de plaisir à enseigner dans les grands amphithéâtres qu'à encadrer individuellement chaque stagiaire ou étudiant en thèse. Tous m'ont apporté et m'apportent énormément à tous les niveaux de ma vie professionnelle. Grâce à eux j'ai essayé de m'améliorer dans ma pédagogie mais également dans l'étendue de mes connaissances mathématiques. Et comme le disait le réalisateur égyptien, Youssef Chahine, "*si j'enseigne, c'est pour apprendre*".

5.2 Diffusion

Une forme à part de transmission concerne la diffusion. On ne peut pas véritablement considérer la diffusion, que je vais essayer de décrire dans cette section, comme de l'enseignement à proprement parler. C'est la raison pour laquelle, je consacre une partie de ce chapitre à cette activité qui se trouve dans la lignée de la transmission mais pas tout à fait dans celle de l'enseignement.

Quand j'emploie le terme diffusion ici, c'est plutôt dans le sens de la diffusion grand public (ou encore la vulgarisation des mathématiques en général et de mes activités de recherche en particulier), mais également la diffusion de mes travaux de recherches dans les conférences, séminaires, colloques internationaux.

5.2.1 Diffusion pour le grand public

L'université ouverte :

J'ai véritablement commencé cette activité au moment où Régis Goiffon, le responsable en mathématiques de l'université ouverte (UO) de Lyon (organisme qui offre la possibilité à qui le souhaite d'assister à des conférences grand public données par des chercheurs). Voici comment elle est présentée par Nicole Mounier et Anne Pillonnet, leurs deux directrices,

“L’Université Ouverte est un service général de l’Université Claude Bernard Lyon 1. Sa mission est de diffuser les connaissances dans les domaines des sciences et de la santé vers un large public, quel que soit son niveau de formation, scientifique ou non. Elle organise des conférences, effectuées dans leur grande majorité par des enseignants-chercheurs et des chercheurs de l’Université Claude Bernard Lyon 1, mais aussi par des ingénieurs et des professionnels de la santé. Tous sont volontaires pour présenter au grand public leur domaine de compétences et parler de leurs activités de recherche.”

L’université ouverte a été créée en 1987 au travers de cycles de conférences intitulées “*Mercredis Scientifiques*” organisés par l’Institut des Sciences de la Matière à Villeurbanne. Le nom changea par la suite “*Soirées Scientifiques*” de l’Université Claude Bernard à Villeurbanne, organisée par le professeur Edgar Elbaz pour finalement s’appeler “Université ouverte” en 1995, et offrait en 2015 plus de 250 conférences dans tous les domaines scientifiques et techniques.

J’ai commencé cette activité depuis l’année 2008/2009, et depuis j’ai présenté soit un ou deux exposés par année. Je l’ai fait dans plusieurs lieux différents : les amphithéâtres de l’université Claude Bernard Lyon 1, des grandes salles de lycées à Lyon, à la maison des mathématiques et de l’informatique de Lyon, au grand auditorium de la bibliothèque municipale de Lyon.

Mes interventions à la bibliothèque de Lyon ont été filmées et peuvent être consultées sur leur site :

<https://www.bm-lyon.fr/>.

MATH.En.JEANS : Depuis 3 ans également, je m’investis dans la diffusion des mathématiques au collège en faisant participer les élèves à des projets qu’ils présentent ensuite dans un congrès annuel regroupant tous les élèves de tous les collèges environnants.

MATH.En.JEANS est l’acronyme pour “*Méthode d’Apprentissage des Théories mathématiques en Jumelant des Etablissements pour une Approche Nouvelle du Savoir*”, c’est une association créée en 1990 dont le but est de “soutenir et promouvoir la mise en place d’ateliers de recherche en mathématiques dans les établissements scolaires” afin de faire découvrir les mathématiques d’une autre façon, en s’amusant, en faisant des découvertes. Elle permet d’avoir un aperçu des démarches de la recherche. Chaque atelier est encadré par un chercheur qui les guide, accompagné d’une équipe pédagogique sur place. C’est à la fois pour moi un moyen de transmettre la passion de mon métier et de montrer que les mathématiques peuvent avoir des applications étonnantes. Les équipes pédagogiques avec qui je collabore sur place m’ont fait un retour très positif de mes interventions. Nous entrons en 2016 dans la troisième année ensemble, et toujours avec un enthousiasme grandissant.

Interventions diverses : J’interviens également dans différents lycées et collèges depuis que je suis maître de conférences à Lyon, pour présenter les différentes facettes du métier de chercheur en mathématiques et montrer qu’il existe des applications dans le domaine de la biologie et la médecine. Il m’arrive de faire plusieurs exposés par an. Quelques fois, mes interventions font l’objet d’articles dans la presse locale quotidienne.

Il m’arrive donc de me trouver dans les médias. Ma dernière apparition a été dans *le Progrès* (quotidien Lyonnais), suite à ma dernière conférence à l’auditorium de la bibliothèque municipale de Lyon. L’impact a été tel que l’article s’est retrouvé dans tous les journaux du groupe. J’ai donc bénéficié d’une couverture médiatique dans de nombreux quotidiens de l’est de la France, et dans le quotidien gratuit *Direct Matin*. J’ai également été contacté par la chaîne de télévision *France 3* pour faire partie d’un sujet de reportage dans le journal du soir.

La diffusion grand public est importante pour moi. Elle me permet de transmettre la passion de mon métier, mais également de montrer plusieurs facettes des mathématiques, que beaucoup ignorent. Si en plus, je parviens à éveiller la curiosité des plus jeunes, voire, créer des vocations, alors j'aurais rempli ma mission.

5.2.2 Conférences, séminaires, colloques et publications

La diffusion de mes travaux auprès de mes pairs fait partie intégrante de ma mission d'enseignant chercheur. Il est essentiel de pouvoir diffuser les résultats de mes recherches, de pouvoir en discuter avec mes collègues du monde entier, afin d'échanger de nouvelles idées, de nouvelles techniques, de nouveaux outils, mais également de créer de nouveaux contacts.

Je n'ai jamais cessé de participer à des conférences, séminaires, écoles, colloques depuis le début de ma thèse. J'ai parfois été à l'organisation, ou à la tête de l'organisation de certains événements. J'ai initié beaucoup de collaborations grâce aux diverses rencontres partout dans le monde, j'ai été invité à passer plusieurs jours voire semaines dans les laboratoires de collègues à l'étranger, et depuis quelques années, j'invite des collègues à venir me voir à Lyon pour travailler avec eux.

En comptant le nombre de mes interventions, tout confondu, j'ai fait près de 85 conférences depuis le début de ma thèse, et à peu près 60 dans les 10 dernières années. Le détail se trouve dans mon curriculum vitae (CV).

J'essaie également de publier le plus régulièrement les résultats de mes travaux. J'en suis à peu près à 30 publications acceptées, toutes dans des journaux internationaux avec comité de lecture (voir le détail dans mon CV). Deux sont soumises au moment de l'écriture de ce manuscrit, et 5 sont en préparation en vue de soumission dans le courant de l'année académique 2016/2017.

La diversité de mes activités de recherche me permet de publier dans des thématiques assez différentes. Il m'arrive également de rédiger des revues sur un thème précis, permettant de faire un point sur l'état de l'art de la recherche dans un domaine. Dans la majorité des cas, ces revues sont des commandes des éditeurs, qui souhaitent que je publie ce genre d'article. Certaines revues sortent dans des journaux [3], [32], d'autres dans des chapitres de livre [29], [198], [199] et d'autres dans des contributions pour encyclopédies [24].

Toutes ces activités de transmission (enseignement et diffusion) jouent un rôle très important dans ma carrière. Et sont complémentaire de mes activités de recherche. J'ai présenté deux thèmes principaux dans les chapitres précédents, à savoir, la recherche liée à l'hématopoïèse et la recherche liée aux maladies à prion et Alzheimer. Il y a en a d'autres, sur lesquelles je travaille. J'y consacre un peu moins de temps pour diverses raisons mais elles sont toutes aussi importantes. Ce sont ces divers travaux que je vais évoquer dans la dernière partie de ce chapitre.

5.3 Découvrir

En plus des thèmes sur l'hématopoïèse et les maladies à prion et d'Alzheimer, je me suis intéressé et m'intéresse à d'autres domaines de recherche, certains sont très nouveaux pour moi, d'autres n'ont fait qu'un bref passage dans ma courte carrière. Je ne fais que les évoquer, parce que mis à part la somitogenèse (section 5.3.1), tous les autres travaux sont en cours de développement et n'ont pas encore été publiés.

5.3.1 La somitogenèse

Juste avant d’achever mon contrat de post-doctorant et avant d’entamer mes deux années de professeur assistant aux États-unis, j’ai commencé à travailler sur la modélisation du mécanisme de somitogenèse.

La somitogenèse décrit, comme son nom l’indique, le mécanisme de formation des somites. Ce sont des regroupement de cellules dans l’embryon, comme des petites boules, qui se situent de part et d’autre de ce qui deviendra par la suite la colonne vertébrale. Les somites sont d’ailleurs à l’origine des vertèbres, des muscles squelettiques et du derme dans cette région.

Ce mécanisme de formation m’a beaucoup intéressé dans le sens où il fait intervenir à la fois des fronts d’ondes et des cycles périodiques. Ce processus est décrit par des modèles appelés en anglais “clock and wave front”.

Plusieurs facteurs de transcriptions sont impliqués dans les oscillations, mais celui qui nous intéresse directement est appelé Hes1. Hirata *et al.* [114] ont montré qu’une seule injection de sérum peut induire des oscillations dans la concentration de l’ARNm avec une période autour de 2 heures. Ils ont également montré que Hes1 agit comme son propre répresseur grâce à une boucle de rétro-contrôle négative. Pour expliquer ces oscillations, ils ont proposé un modèle à trois équations avec un facteur inconnu appelé X qui s’ajoute aux protéines Hes1 et aux ARNm Hes1 sans savoir exactement ce que pouvait être ce facteur X.

D’un autre côté, Jensen *et al.* [118] et Monk [166] ont montré que l’ajout d’un retard de 15 à 20 minutes dans le système d’équations différentielles à seulement deux facteurs (protéines et ARNm Hes1) peut suffire à induire les oscillations observées avec le rétro-contrôle négatif. Ce retard correspond au temps mis pour les protéines à transcrire, traduire et former un complexe dans le noyau afin de démarrer la répression.

Notre équipe, composée de Samuel Bernard et Michael Mackey au Canada, de Branka Čajavec et Hanspeter Herzog en Allemagne, et moi-même aux USA, avons décidé d’explorer de façon analytique et numérique, l’approche du modèle à retard de Jensen (et ses collègues) et Monk dans un premier temps. Puis, nous nous sommes intéressés à l’influence d’un facteur X évoqué par Hirata *et al.* mais tenant compte du retard quand même. Pour nous, après investigation et discussions avec les biologistes, le choix du facteur X a été le co-represseur Gro/TLE1 dont l’activation se produit par une phosphorylation induite par la protéine Hes1 elle-même. Une fois activé, Gro/TLE1 forme un complexe avec Hes1 qui va réprimer le gène responsable de la propre production de ce dernier. Nous avons comparé les deux modèles à retard : nous avons effectué une analyse mathématique de stabilité (principalement l’étude de la bifurcation de Hopf), une simulation numérique des solutions et une comparaison avec les données expérimentale. Nous sommes arrivés à montrer que notre modèle combinant le retard et le co-represseur Gro/TLE1 offrait de bien meilleurs résultats que ceux établis par nos prédécesseurs et notamment une réponse physiologique bien plus rapide, en adéquation avec ce qui est observé, et avec des paramètres plus proche de la réalité biologique lors de l’injection de sérum.

Ce travail a fait l’objet d’une publication [23] mais n’a malheureusement pas eu de suite. J’ai en effet immédiatement été sur la modélisation de la dynamique du prion à temps plein une fois arrivé aux USA. Mais ce domaine de recherche ne m’a pas vraiment quitté, puisque j’ai co-encadré avec Michael Mackey un stagiaire de master 2 en 2013. Nous avons pu approfondir certaines hypothèses, mais nous avons été bloqués par la validation expérimentale par manque de collaboration. L’étudiant, David Granjon, a dans la foulée, commencé une thèse dans un autre domaine, et devrait soutenir à la fin de cette année.

5.3.2 Radiothérapie

Depuis le début de l'hiver 2014, j'ai été mis en contact par le biais de Sylvie Benzoni avec Nicolas Foray et son équipe du *Groupe de Radiobiologie du Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon (UMR1052 INSERM - UMR 5286 CNRS – UMS 1052 LYON I* pour travailler sur les problèmes chez les patients sensibles à la radiothérapie. L'enjeu est le suivant : les patients soumis à des radiations nucléaires (par radiothérapie ou autre exposition) se trouvent confrontés à des dommages sur les brins d'ADN de certaines de leurs cellules. Ces dommages sont appelés cassures double-brin. Heureusement pour la majorité des organismes, ces cassures sont reconnues et réparées la plupart du temps. Il se peut cependant qu'elles soient reconnues par des protéines spécifiques (et notamment les protéines ATM (pour *Ataxia Telangiectasia Mutated*)) mais mal réparées, ce qui pourrait engendrer un cancer, ou alors pas reconnues du tout, menant directement à la mort. Certains organismes sont donc plus sensibles que d'autres à ces radiations, ce qui pourrait avoir des conséquences graves, comme le déclenchement de cancer par une mammographie chez des individus sains par exemple. L'objectif est donc de modéliser les mécanismes cytoplasmiques et nucléaires engendrant la reconnaissance et la réparation des cassures double-brins.

Le processus est assez complexe, et il se fait en deux temps au sein de la cellule :

1. *dans le cytoplasme* : sous l'effet de l'irradiation, les brins d'ADN sont endommagés (dans le noyau de la cellule), tandis qu'une certaine proportion de protéines ATM sous forme de dimères dans le cytoplasme se séparent pour former des monomères.
2. *dans le noyau* : Une fois séparées, les monomères d'ATM parviennent à rentrer dans le noyau et déclenchent des cascades de réactions en vue d'activer la reconnaissance et la réparation des brins. Les interactions sont beaucoup compliquées ici.

Ce travail fait l'objet d'une thèse que je co-encadre avec Nicolas Foray et Larry Bodgi, *chef de projet recherche et développement chez Neolys Diagnostics*. Le doctorant, Aurélien Canet, qui a commencé en janvier 2016 effectue ses recherches à la fois dans le milieu académique, à l'Institut Camille Jordan et dans les locaux de la start-up *Neolys Diagnostics*. C'est une collaboration entre des mathématiciens, des biologistes et un industriel. Un article de revue a déjà été publié [32].

L'autre partie de la thèse d'Aurélien Canet est consacrée à la modélisation mathématique de la réduction de tumeurs solides après radiothérapie.

5.3.3 Mégacaryopoïèse

Depuis l'automne 2014 je suis également revenu à mes premiers centres d'intérêts en tant que chercheur, à savoir, l'étude de la formation du sang et plus particulièrement la mégacaryopoïèse ou formation des plaquettes sanguines. De façon étrange, il existe très peu de travaux de modélisation mathématique sur ce sujet. C'est avec un étudiant en thèse, Loïs Boullu, que je co-encadre en co-tutelle avec Jacques Bélair, professeur de mathématiques à l'université de Montréal au Canada, que nous avons décidé de nous pencher sur ce processus, en tenant compte des connaissances biologiques les plus récentes sur le sujet : cycle cellulaire de formation des mégacaryocytes, mais également le rôle tenu par la thrombopoïétine (TPO) un des facteurs de croissance impliqués dans la régulation des plaquettes dans le sang.

Nous avons déjà bien avancé, avec l'étude d'un modèle composé d'équations à retards discrets (provenant de l'intégration d'équations aux dérivées partielles structurées en âge), et no-

tamment la preuve de stabilité globale ou d'existence de solutions oscillantes sous certaines conditions. Ce travail s'effectue en collaboration avec Mostafa Adimy et Fabien Crauste.

Nous avons également créé un autre modèle, plus réaliste, faisant intervenir des équations différentielles dépendant de l'état. Ce travail s'effectue en collaboration avec Jianhong Wu, de l'université York, à Toronto au Canada, et Nemanja Kosoalic, de l'université d'Alabama du Sud. Deux articles sont en cours de préparation.

5.3.4 Dynamique des langues

Depuis le printemps 2015, Morgane Bergot de l'Institut Camille Jordan (ICJ), Léon Matar Tine (ICJ et Inria) et moi-même avons un domaine de recherche que j'avais effleuré il y a près de 15 ans : à savoir la dynamique des langues et plus particulièrement, leur disparition. L'idée est de comprendre pourquoi une langue est vouée à disparaître, et surtout comment faire pour éviter cela afin de maintenir une diversité culturelle mondiale. Par manque de temps et de données, j'avais mis ce travail de côté. Puis au printemps 2015, sous l'impulsion de la collaboration avec Morgane et Léon, j'ai repris cette thématique, et nous avons contacté des chercheurs du *Centre de Dynamique Du Langage (DDL)*, à l'université Lyon 2. Nous avons reçu un accueil plus qu'enthousiaste de la part de François Pellegrino et son équipe du laboratoire DDL qui nous a permis d'initier une collaboration qui ne fait que se renforcer depuis lors. Nous avons créé un modèle décrivant le bilinguisme et la transmission de la langue à travers les générations de locuteurs. Ce projet est financé par l'*Institut des Systèmes Complexes* qui nous a permis de rémunérer un étudiant de master 2 de mathématiques, Nathan Pages, pour son stage de fin d'études, pendant 6 mois (d'avril à septembre 2016). Ces travaux sont en cours de finalisation pour une publication prochaine.

D'autres projets sont en phase embryonnaire pour l'instant, simplement par manque de temps, ou par manque de collaborateurs spécialistes du domaine, comme par exemple la régulation du poids après différents régimes successifs (qui a quand même fait l'objet d'un financement de l'*Institut des Systèmes Complexes*, et permis d'embaucher une étudiante de l'Insa, Manon Muntaner pour une période de 4 mois au printemps 2016) ou encore l'étude des relations amoureuses.

Tous ces projets sont à des stades plus ou moins avancés. Certains sont déjà bien installés avec des collaborations très fortes, d'autres sont en phase de maturation, encore à l'état de projet. Mais tous méritent d'être menés jusqu'au bout.

Ce qui est certain, c'est qu'au travers de toutes mes recherches et de tous mes enseignements, j'ai rencontré des collaborateurs exceptionnels à la fois par leur talent et leurs qualités humaines. J'ai tenté de m'inspirer de tous, et je continue encore tous les jours à apprendre de tous, pour essayer de m'améliorer sans cesse, et transmettre le peu que je possède.

Bibliographie

- [1] Y. Achdou, B. Franchi, N. Marcello, and Tesi M. C. A qualitative model for aggregation and diffusion of β -amyloid in Alzheimer's disease. *Journal of Mathematical Biology*, pages 1 – 24, 2012. [103](#)
- [2] M. Adimy. Modéliser la leucémie myéloïde chronique. *Inédit, La Lettre d'information de l'Inria*, 64, 2008. [36](#)
- [3] M. Adimy, S. Bernard, J. Clairambault, F. Crauste, S. Génieys, and L. Pujo-Menjouet. Modélisation de la dynamique de l'hématopoïèse normale et pathologique. *Hématologie*, 15(5) :339–350, 2008. [116](#)
- [4] M. Adimy, F. Crauste, and L. Pujo-Menjouet. On the stability of a maturity structured model of cellular proliferation. *Dis. Cont. Dyn. Sys. Ser. A*, 12(3) :501–522, 2005. [13](#), [15](#)
- [5] M. Adimy, F. Crauste, and S. Ruan. A mathematical study of the hematopoiesis process with applications to chronic myelogenous leukemia. *SIAM J. Appl. Math.*, 65(4) :1328–1352, 2005. [18](#)
- [6] M. Adimy and L. Pujo-Menjouet. A singular transport model describing cellular division. *C.R. Acad. Sci. Paris Biologies*, 332(12) :1071–1076, 2001. [13](#)
- [7] M. Adimy and L. Pujo-Menjouet. A mathematical model describing cellular division with a proliferating phase duration depending on the maturity of cells. *Electron. J. Diff. Equ.*, 107 :1–14, 2003. [13](#)
- [8] M. Adimy and L. Pujo-Menjouet. Asymptotic behavior of a singular transport equation modelling cell division. *Dis. Cont. Dyn. Sys. Ser. B*, 3(3) :439–456, 2003. [13](#)
- [9] M.-T. Alvarez-Martinez, P. Fontes, V. Zomosa-Signoret, J.-D. Arnaud, E. Hingant, L. Pujo-Menjouet, and J.-P. Liautard. Dynamics of polymerization shed light on the mechanisms that lead to multiple amyloid structures of the prion protein. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1814(10) :1305—1317, 2011. [86](#), [87](#), [88](#), [90](#)
- [10] R.M. Anderson, C.A. Donnelly, N.M. Ferguson, M.E. Woolhouse, C.J. Watt, H.J. Udy, S. MaWhinney, S.P. Dunstan, T.R. Southwood, J.W. Wilesmith, J.B. Ryan, L.J. Hoinville, J.E. Hillerton, A.R. Austin, and G.A. Wells. Transmission dynamics and epidemiology of bse in british cattle. *Nature*, 382(6594) :779–788, 1996. [54](#)
- [11] R.M. Anderson, C.A. Donnelly, N.M. Ferguson, M.E. Woolhouse, C.J. Watt, H.J. Udy, S. MaWhinney, S.P. Dunstan, T.R. Southwood, J.W. Wilesmith, J.B. Ryan, L.J. Hoinville, J.E. Hillerton, A.R. Austin, and G.A. Wells. Les rôles de la modélisation en épidémiologie. *C. R. Acad. Sci. Série 3, Sciences de la vie*, 323(5) :429–433, 2000. [54](#)
- [12] D. Balagué, J. A. Cañizo, and P. Gabriel. Fine asymptotics of profiles and relaxation to equilibrium for growth-fragmentation equations with variable drift rates. *Kinetic Related Models*, 6(2) :219–243, 2013. [76](#)

- [13] J. M. Ball and J. Carr. Asymptotic behaviour of solutions to the Becker–Döring equations for arbitrary initial data. *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh : Section A Mathematics*, 108(1–2) :109—116, 1988. [51](#)
- [14] J. M. Ball and J. Carr. The discrete coagulation-fragmentation equations : Existence, uniqueness, and density conservation. *Journal of Statistical Physics*, 61 :203—234, 1990. [51](#)
- [15] J. M. Ball, J. Carr, and O. Penrose. The Becker–Döring cluster equations : Basic properties and asymptotic behaviour of solutions. *Communications in Mathematical Physics*, 61(4) :657—692, 1986. [51](#)
- [16] H.T. Banks, M. Doumic, and C. Kruse. A numerical scheme for the early steps of nucleation-aggregation models. *J. Math. Biol.*, pages 1–29, 2016. [76](#)
- [17] H.T. Banks, M. Doumic, C. Kruse, S. Prigent, and H. Rezaei. Information content in data sets for a nucleated-polymerization models. *J Biol Dyn.*, 9 :172–197, 2015. [76](#)
- [18] H. Baron. Prion et santé publique : les accidents tragiques d’hier à l’origine des mesures de sécurité d’aujourd’hui. *Virologie*, 13 :6–12, 2009. [45](#)
- [19] J. W. Barrett and E. Süli. Existence of global weak solutions to Fokker-Planck and Navier-Stokes-Fokker-Planck equations in kinetic models of dilute polymers. *Discrete and Continuous Dynamical Systems - Series S*, 3(3) :371–408, 2010. [77](#)
- [20] J. W. Barrett and E. Süli. Existence and equilibration of global weak solutions to kinetic models for dilute polymers I : Finitely extensible nonlinear bead-spring chains. *Mathematical Models and Methods in Applied Sciences*, 21(6) :1211–1289, 2011. [77](#)
- [21] A. Bauer, F. Tronche, O. Wessely, C. Kellendonk, H.M. Reichardt, P. Steinlein, G. Schutz, and H. Beug. The glucocorticoid receptor is required for stress erythropoiesis. *Genes Dev.*, 13 :2996–3002, 1999. [25](#)
- [22] R. Becker and W. Döring. Kinetische behandlung der keimbildung in übersättigten dämpfen. *Annalen der Physik*, 416(8) :719—752, 1935. [48](#)
- [23] S. Bernard, B. Cajavec, L. Pujo-Menjouet, and M. C. Mackey and H. Herzel. Modelling transcriptional feedback loops : the role of Gro/TLE1 in Hes1 oscillations. *Phil. Trans. R. Soc. A*, 364 :1155–1170, 2006. [117](#)
- [24] S. Bernard, C. Colijn, J. Lei, and M.C. Mackey. Mathematical Modeling of Hematopoiesis. *Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS), UNESCO ENCYCLOPEDIA*, 2010. [116](#)
- [25] S. Bernard, L. Pujo-Menjouet, and M.C. Mackey. Analysis of cell kinetics using a cell division marker : mathematical modeling of experimental data. *Biophys. J.*, 84 :3414–3424, 2003. [21](#), [22](#), [23](#)
- [26] É. Bernard and P. Gabriel. Asymptotic behavior of the growth-fragmentation equation with bounded fragmentation rate. *arXiv :1605.03030v1 [math.AP] 10 May 2016*, 2016. [76](#)
- [27] A. Bertuzzi, M. Faretta, A. Gandolfi, C. Sinisgalli, G. Starace, G. Valoti, and P. Ubezio. Kinetic heterogeneity of an experimental tumour revealed by BrdUrd incorporation and mathematical modelling. *Bull. Math. Biol.*, 64 :355–384, 2002. [19](#)

- [28] N. Bessonov, I. Demin, L. Pujo-Menjouet, and V. Volpert. A multi-agent model describing self-renewal of differentiation effects on the blood cell population. *Mathematical and Computer Modelling*, 49 :2116—2127, 2009. [33](#), [34](#), [35](#)
- [29] N. Bessonov, I. Demin, L. Pujo-Menjouet, and V. Volpert. *Multi-Agent Systems and Blood Cell Formation*. Multi Agent Systems modeling, Interactions, Simulations and Case studies, InTech Publishers, 2011. [34](#), [35](#), [116](#)
- [30] N. Bessonov, L. Pujo-Menjouet, and V. Volpert. Cell Modelling of Hematopoiesis. *Math. Model. Nat. Phenom.*, 2(1) :81–103, 2008. [33](#), [34](#)
- [31] R. B. Bird, R. C. Armstrong, and O. Hassager. *Dynamics of Polymeric Liquids*. Vol. 2 : Kinetic Theory, J. Wiley & Sons, New York, 1987. [53](#), [80](#)
- [32] L. Bodgi, A. Canet, L. Pujo-Menjouet, A. Lesne, J-M. Victor, and N. Foray. Mathematical models of radiation action on living cells : From target theory to the modern approaches. A historical and critical review. *Journal of Theoretical Biology*, 394 :93–101, 2016. [116](#), [118](#)
- [33] S. Bonheffer, R.M. May, G.M. Shaw, and M.A. Nowak. Virus dynamics and drug therapy. *Proc. Natl. Acad. USA*, 94 :6971—6976, 1997. [74](#)
- [34] D.R. Borchelt, M. Scott, A. Taraboulos, N. Stahl, and S.B. Prusiner. Scrapie and cellular prion proteins differ in their kinetics of synthesis and topology in cultured cells. *J. Cell Biol.*, 110 :743—752, 1990. [68](#)
- [35] Y. Bounhar, Y. Zhang, C. Goodyer, and A. LeBlanc. Prion protein protects human neurons against bax-mediated apoptosis. *J. Biol. Chem.*, 276 :39145—39149, 2001. [62](#)
- [36] T. Bourgeron, M. Doumic, and M. Escobedo. Estimating the division rate of the growth-fragmentation equation with a self-similar kernel. *Inverse Problems*, 30(2) :025007, 2014. [76](#)
- [37] G. B. Bradford, B. Williams, R. Rossi, and I. Bertocello. Quiescence, cycling, and turnover in the primitive hematopoietic stem cell compartment. *Exper. Hematol.*, 25 :445–453, 1997. [21](#)
- [38] S. Brandner, S. Isenmann, A. Raeber, M. Fischer, A. Sailer, Y. Kobayashi, S. Marino, C. Weissmann, and A. Aguzzi. Normal host prion protein necessary for scrapie-induced neurotoxicity. *Nature*, 379 :339–343, 1996. [62](#)
- [39] D. Brown, R. Nicholas, and L. Canevari. Lack of prion protein expression results in a neuronal phenotype sensitive to stress. *J. Neurosci. Res.*, 67 :211—224, 2002. [62](#), [63](#)
- [40] V. Calvez, N. Lenuzza, M. Doumic, J.-P. Deslys, F. Mouthon, and B. Perthame. Prion dynamics with size dependency–strain phenomena. *Journal of Biological Dynamics*, 4(1) :28–42, 2010. [76](#), [103](#), [108](#)
- [41] V. Calvez, N. Lenuzza, D. Oelz, J.-P. Deslys, P. Laurent, F. Mouthon, and B. Perthame. Size distribution dependence of prion aggregates infectivity. *Math Biosci.*, 217(1) :88–42, 2009. [75](#)
- [42] J. A. Cañizo. Convergence to equilibrium for the discrete coagulation- fragmentation equations with detailed balance. *Journal of Statistical Physics*, 129(1) :1–26, 2007. [51](#)
- [43] B. Caughey, R.E. Race, D. Ernst, M.J. Buchmeier, and B. Chesebro. Prion protein biosynthesis in scrapie-infected and uninfected neuro- blastoma cells. *J. Virol.*, 63 :175—181, 1989. [68](#)

- [44] S. Chen, S. P. Yadav, and W. K. Surewicz. Interaction between human prion protein and amyloid- β ($A\beta$) oligomers : Role of N-terminal residues. *The Journal of Biological Chemistry*, 285 :26377 – 26383, 2010. [102](#)
- [45] B. Chesebro, R. Race, and K. et al. Wehrly. Identification of scrapie prion protein-specific mrna in scrapie-infected and uninfected brain. *Nature*, 315 :331–333, 1985. [44](#)
- [46] R. Chiesa, P. Piccardo, S. Dossena, L. Nowoslawski, K.A. Roth, B. Ghetti, and D.A. Harris. Bax deletion prevents neuronal loss but not neurological symptoms in a transgenic model of inherited prion disease. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 102 :238–243, 2005. [62](#)
- [47] M. Chyba, J.-M. Coron, P. Gabriel, A. Jacquemard, G. Patterson, G. Picot, and P. Shang. Control applied to the protein misfolding cyclic amplification process. *Acta Appl. Math.*, 135 :145–173, 2015. [76](#)
- [48] M. Chyba, J.-M. Coron, P. Gabriel, Y. Mileyko, and H. Rezaei. Identification of the fragmentation role in the amyloid assembling processes and application to their optimization. *Proceedings of the SIAM Conference on Control and its Applications (CT15), Paris*, pages 348–355, 2015. [76](#)
- [49] M. Cisse, B. Halabiski, J. Harris, D. B. Devidze, N. and Dubal, B. Sun, G. Orr, A. and Lotz, D. H. Kim, P. Hamto, K. Ho, G-Q. Yu, and L. Mucke. Reversing ephb2 depletion rescues cognitive functions in Alzheimer model. *Nature*, 469(7328) :47— 52, 2011. [102](#)
- [50] M. Cisse and L. Mucke. A prion protein connection. *Nature*, 457(26) :1090— 1091, 2009. [102](#)
- [51] I. S. Ciuperca, E. Hingant, L. I. Palade, and L. Pujol-Menjouet. Fragmentation and monomer lengthening of rod-like polymers, a relevant model for prion proliferation. *disc. and Cont. Dyn. Syst. Series B*, 17(3) :775—799, 2012. [77](#), [84](#), [85](#)
- [52] J.-F. Collet and T. Goudon. On solutions of the Lifshitz-Slyozov model. *Nonlinearity*, 13(4) :1239 – 1262, 2000. [110](#)
- [53] J. F. Collet and F. Poupaud. Existence of solutions to coagulation-fragmentation systems with diffusion. *Transport Theory and Statistical Physics*, 25(3–5) :503–513, 1996. [77](#)
- [54] J.H. Come, P.E. Fraser, and Jr. P.T. Lansbury. A kinetic model for amyloid formation in the prion diseases : importance of seeding. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90(13) :5959–5963, 1993. [56](#), [63](#)
- [55] J.-M. Coron, P. Gabriel, and P. Shang. Optimization of an amplification protocol for misfolded proteins by using relaxed control. *J. Math. Biol.*, 70(1–2) :289–327, 2013. [76](#)
- [56] R. Crabb, J. Losson, and M.C. Mackey. Dependence on initial conditions in nonlocal PDE’s and hereditary dynamical systems. *Proc. Inter. Conf. Nonlin. Anal. (Tampa Bay)*, pages 3125–3136, 1996. [9](#)
- [57] R. Crabb, M.C. Mackey, and A. Rey. Propagating fronts, chaos and multistability in a cell replication model. *Chaos*, 3 :477–492, 1996. [9](#)
- [58] D. L. Craft, L. M. Wein, and D. J. Selkoe. A mathematical model of the impact of novel treatments on the $A\beta$ burden in the Alzheimer’s brain, csf and plasma. *Bulletin of Mathematical Biology*, 64(5) :1011–1031, 2002. [103](#)
- [59] D. L. Craft, L. M. Wein, and D. J. Selkoe. *The impact of novel treatments on $A\beta$ burden in Alzheimer’s disease : Insights from a mathematical model*, volume 70 of *International*

- Series in Operations Research and Management Science*. Brandeau, M. L. and Sainfort, F. and Pierskalla, W. P., Springer US, 2005. [103](#)
- [60] F. Crauste, L. Pujo-Menjouet, S. Génieys, C. Molina, and O. Gandrillon. Adding self-renewal in committed erythroid progenitors improves the biological relevance of a mathematical model of erythropoiesis. *Journal of Theoretical Biology*, 250 :322–338, 2008. [15](#), [25](#), [27](#), [28](#), [29](#), [30](#)
- [61] Fabien Crauste. *Mathematical study of hyperbolic partial differential equations modelling blood cells regulation processes-Applications to periodic hematological diseases*. Theses, Université de Pau et des Pays de l'Adour, June 2005. [15](#)
- [62] J. Cuillé and P-L. Chelle. La maladie dite de la tremblante du mouton ; est-elle inoculable ? *Compte Rend Acad Sci.*, 203 :1552–1554, 1936. [42](#)
- [63] J. Cuillé and P-L. Chelle. La tremblante du mouton est-elle déterminée par un virus filtrable ? *Compte Rend Acad Sci.*, 206 :1687–1688, 1938. [42](#)
- [64] J. Cuillé and P-L. Chelle. Transmission expérimentale de la tremblante à la chèvre. *Compte Rend Acad Sci.*, 208 :1058–1060, 1939. [42](#)
- [65] Breda D., Diekmann O., Liessi D., and Scarabel F. Numerical bifurcation analysis of a class of nonlinear renewal equations. *accepted on Electron. J. Qual. Theory Differ. Equ.*, 65, 2016. [19](#)
- [66] J.K. Davis and S.S. Sindi. A study in nucleated polymerization models of protein aggregation. *Applied Mathematics Letters*, 40 :97—101, 2015. [76](#)
- [67] J.K. Davis and S.S. Sindi. A mathematical model of the dynamics of prion aggregates with chaperone-mediated fragmentation. *J. Math Biol.*, 72(6) :1555–78, 2016. [76](#)
- [68] U. An der Heiden and M.C. Mackey. The dynamics of production and destruction : analytic insight into complex behavior. *J. Math. Biol.*, 16 :75—101, 1982. [18](#)
- [69] M. Doi and S. F. Edwards. *The Theory of Polymer Dynamics*. International Series of Monographs on Physics, Oxford Science Publications, Clarendon Press, 1986. [53](#)
- [70] M. Doumic and M. Escobedo. Time asymptotics for a critical case in fragmentation and growth-fragmentation equations. *Kinetic and Related Models*, 9(2) :251—297, 2014. [76](#)
- [71] M. Doumic and P. Gabriel. Eigen elements of a general aggregation-fragmentation model. *Math. Models Methods Appl. Sci.*, 20(5) :757–783, 2010. [75](#)
- [72] M. Doumic, T. Goudon, and T. Lepoutre. Scaling limit of a discrete prion dynamics model. *Communications in Mathematical Sciences*, 7(4) :839—865, 2009. [52](#), [58](#), [75](#)
- [73] M. Doumic, P. Maia, and J. Zubelli. On the calibration of a size-structured population model from experimental data. *Acta Biotheoretica*, 58 :405–413, 2010. [76](#)
- [74] M. Doumic, B. Perthame, and J. Zubelli. Numerical solution of an inverse problem in size-structured population dynamics. 25(4) :045008, 2009. [76](#)
- [75] M. Doumic and L.M. Tine. Estimating the division rate for the growth-fragmentation equation. *J. Math. Biol.*, 67(1) :69–103, 2013. [76](#)
- [76] M. Doumic and L.M. Tine. Statistical estimation of a growth-fragmentation model observed on a genealogical tree. *Bernoulli*, 21(3) :1760–1799, 2016. [76](#)

- [77] C. Duyckaerts, B. Delatour, and M.-C. Potier. Classification and basic pathology of Alzheimer disease. *Acta Neuropathologica*, 118 :5– 36, 2009. [102](#)
- [78] J. Dyson, R. Vilella-Bressan, and G.F. Webb. A singular transport equation modelling a proliferating maturity structured cell population. *Can. Appl. Math. Quart.*, 4 :65–95, 1996. [9](#)
- [79] J. Dyson, R. Vilella-Bressan, and G.F. Webb. A semilinear transport equation with delays. *Int. J. Math. Math. Sci.*, 6(32) :2011–2026, 2003. [9](#)
- [80] M. Eigen. Prionics or the kinetic basis of prion diseases. *Biophys Chem.*, 63(1) :A1–18, 1996. [55](#), [63](#)
- [81] H. Engler, J Prüss, and Webb G. F. Analysis of a model for the dynamics of prions ii. *J. Math. Anal. Appl.*, 324 :98–117, 2006. [75](#), [77](#)
- [82] M. Escobedo and B. Mischler, S. and Perthame. Gelation in coagulation and fragmentation models. *Communications in Mathematical Physics*, 231(1) :157–188, 2002. [53](#)
- [83] M. Fan, M.Y. Li, and K. Wang. Global stability of an seis epidemic model with recruitment and a varying total population size. *Math. Biosci.*, 170 :199—208, 2001. [73](#)
- [84] F. Ferrone. Analysis of protein aggregation kinetics. *Methods Enzymol.*, 309 :256–74, 1999. [56](#)
- [85] P. Fortin and M. C. Mackey. Periodic chronic myelogenous leukemia : Spectral analysis of blood cell counts and etiological implications. *Brit. J. Haematol.*, 104 :336–345, 1999. [16](#)
- [86] N. Fournier and S. Mischler. Exponential trend to equilibrium for discrete coagulation equations with strong fragmentation and without a balance condition. *Proceedings of the Royal Society A : Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 460(2049) :2477—2486, 2007. [51](#)
- [87] P. Gabriel. The shape of the polymerization rate in the prion equation. *Math. Comput. Modelling*, 53(7–8) :1451–1456, 2011. [76](#), [108](#)
- [88] P. Gabriel. *Transport-fragmentation equations and applications to prion diseases*. PhD thesis, Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, Thèse de doctorat, June 2011. [52](#), [76](#), [103](#)
- [89] P. Gabriel. Long-time asymptotics for nonlinear growth-fragmentation equations. *Comm. Math. Sci.*, 10(3) :787–820, 2012. [76](#)
- [90] P. Gabriel. Global stability for the prion equation with general incidence. *Math. Biosci. Eng.*, 12(4) :789 – 801, 2015. [76](#)
- [91] P. Gabriel and F. Salvarani. Exponential relaxation to self-similarity for the superquadratic fragmentation equation. *Appl. Math. Lett.*, 27 :74–78, 2014. [76](#)
- [92] C. Gajdusek. Unconventional viruses and the origin and disappearance of kuru. *Science*, 197 :943–960, 1977. [43](#)
- [93] C. Gajdusek, Gibbs C., and Alpers MP. Experimental transmission of a kuru-like syndrome in chimpanzees. *Nature*, 209 :794–796, 1966. [43](#)
- [94] C. Gajdusek and V. Zigas. Degenerative disease of the central nervous system in new guinea : the endemic occurrence of kuru in the native population. *N. Engl. J. Med.*, 257 :974–978, 1957. [43](#)

- [95] D.C. Gajdusek and J. Gibbs. Transmission of the two subacute spongiform encephalopathies of man kuru and creutzfeldt-jakob disease. *Nature*, 230 :588–591, 1971. [43](#)
- [96] M.L. Galdino, S.S. de Albuquerque, A.S. Ferreirab, J.C. Cressonib, and R.J.V. dos Santos. Thermo-kinetic model for prion diseases. *Physica A : Statistical Mechanics and its Applications*, 295(1-2) :58–63, 2001. [55](#)
- [97] O. Gandrillon, U. Schmidt, H. Beug, and J. Samarut. Tgf-beta cooperates with tgf-alpha to induce the self-renewal of normal erythrocytic progenitors : evidence for an autocrine mechanism. *EMBO J.*, 18 :2764–2781, 1999. [25](#)
- [98] J. Gerstmann, E. Straussler, and Scheinker M. Über eine eigenartige hereditär-familiäre ekrankung des zentralnervensystems. *Z. Neurol.*, 154 :736–762, 1936. [44](#)
- [99] M.A. Gilchrist, D. Coombs, and A.S. Perelson. Optimizing within-host viral fitness : infected cell lifespan and virion production rate. *J. Theoret. Biol.*, 229 :281–288, 2004. [74](#)
- [100] D. A. Gimbel, H. B. Nygaard, E. E. Coffey, E. C. Gunther, J. Laurén, Z. A. Gimbel, and S. M. Strittmatter. Memory impairment in transgenic Alzheimer mice requires cellular prion protein. *The Journal of Neuroscience*, 30(18) :6367— 6374, 2010. [102](#), [103](#)
- [101] A. K. Giri, J. Kumar, and G. Warnecke. The continuous coagulation equation with multiple fragmentation. *J. Math. Anal. Appl.*, 374 :71–87, 2011. [49](#)
- [102] R.F. Goldstein and L. Stryer. Cooperative polymerization reactions. analytical approximations, numerical examples, and experimental strategy. *Biophys. J.*, 50 :583—599, 1986. [87](#)
- [103] M. Greer, P. Van den Driessche, L. Wang, and G. F. Webb. Effects of general incidence and polymer joining on nucleated polymerization in a model of prion proliferation. *SIAM J. Appl. Math.*, 68(1) :154—170, 2007. [75](#), [81](#)
- [104] M.L. Greer, L. Pujó-Menjouet, and G. F. Webb. A mathematical analysis of the dynamics of prion proliferation. *Journal of Theoretical Biology*, 242 :598–606, 2006. [59](#), [62](#), [68](#), [75](#), [77](#), [78](#), [81](#), [82](#), [85](#), [97](#), [102](#), [103](#), [105](#), [106](#)
- [105] J. S. Griffith. Nature of the scrapie agent : self-replication and scapie. *Nature*, 215(5105) :1043–1044, 1967. [54](#)
- [106] W. Hadlow. Scrapie and kuru. *Lancet*, 2 :289–290, 1959. [43](#)
- [107] J. Hardy and D.J. Selkoe. The amyloid hypothesis of Alzheimer’s disease : progress and problems on the road to therapeutics. *Science*, 297(5580) :353– 356, 2002. [102](#)
- [108] J. Hasbold and P. D. Hodgkin. Flow cytometric cell division tracking using nuclei. *Brit. J. Haematol.*, 40 :230—237, 2000. [20](#)
- [109] M. Helal, E. Hingant, L. Pujó-Menjouet, and G. F. Webb. Alzheimer’s disease : analysis of a mathematical model incorporating the role of prions. *J. Math. Biol.*, 69(5) :1207–1235, 2014. [51](#), [81](#), [104](#), [105](#), [107](#), [109](#), [110](#)
- [110] E. M. Hendriks, M. H. Ernst, and R. M. Ziff. Coagulation equations with gelation. *Journal of Statistical Physics*, 31(3) :519—563, 1983. [51](#)
- [111] L. L. Henry. *Population analysis and models*. Edward Arnold, London, 1976. [9](#)

- [112] E. Hingant. *Contributions to the mathematical and numerical modelling of biological problems : applications to Prions and Alzheimer's disease*. PhD thesis, Université Claude Bernard - Lyon I, Thèse de doctorat, 2012. [76](#)
- [113] E. Hingant¹, M.-T. Alvarez-Martinez P. Fontes, J.-D. Arnaud, J.-P. Liautard, and L. Pujomenjouet. A micellar on-pathway intermediate step explains the kinetics of prion amyloid formation. *PLoS Comput. Biol.*, 10(8) :e1003735, 2014. [91](#), [96](#), [98](#)
- [114] H. Hirata, S. Yoshiura, T. Ohtsuka, Y. Bessho, T. Harada, K. Yoshikawa, and R. Kagayama. Oscillatory expression of the bhlh factor hes1 regulated by a negative feedback loop. *Science*, 298 :840—843, 2002. [117](#)
- [115] P. D. Hodgkin, J.-H. Lee, and A. B. Lyons. B cell differentiation and isotype switching is related to division cycle number. *J. Exp. Med.*, 184 :277–281, 1996. [19](#)
- [116] Y. Iizuka, A. Horikoshi, S. Sekiya, U. Sawada, T. Ohshima, , and I. Amaki. Periodic fluctuation of leukocytes, platelets and reticulocytes in a case of chronic myelocytic leukemia : The relation between leukocyte counts, CFU-C colony formation, CSA and CIA. *Acta Haematologica Japonica*, 47 :71–79, 1984. [16](#)
- [117] P. E. Jabin and B. Niethammer. On the rate of convergence to equilibrium in the Becker–Döring equations. *Journal of Differential Equations*, 191(2) :518—543, 2003. [51](#)
- [118] M. Jensen, H. Sneppen, and K. Tiana. Sustained oscillations and time delays in gene expression of protein hes1. *FEBS Lett.*, 541 :176—177, 2003. [117](#)
- [119] P.C.L. John. *The cell cycle*. London, Cambridge University Press, 1981. [13](#)
- [120] N. Kellershohn and M. Laurent. Species barrier in prion diseases : a kinetic interpretation based on the conformational adaptation of the prion protein. *Biochem J.*, 334(3) :539–545, 1998. [55](#)
- [121] N. Kellershohn and M. Laurent. Species barrier in prion diseases : a kinetic interpretation based on the conformational adaptation of the prion protein. *Biophys J.*, 81(5) :2517–2529, 2001. [55](#)
- [122] N. Keyfitz. *Introduction to the mathematics of population*. Adison-Wesley, Reading, Mass, 2068. [9](#)
- [123] B.H. Kim, H.G. Lee, J.K. Choi, Choi Kim, J.I., E.K., R.I. Carp, and Y.S. Kim. The cellular prion protein (prpc) prevents apoptotic neuronal cell death and mitochondrial dysfunction induced by serum deprivation. *Mol. Brain Res.*, 124 :40–50, 2004. [62](#)
- [124] J. G. Kirkwood. *Macromolecules*. New York, 1967. [53](#)
- [125] A. Korobeinikov. Global properties of basic virus dynamics models. *Bull. Math. Biol.*, 66 :879—883, 2004. [74](#)
- [126] A. Korobeinikov. Lyapunov functions and global properties for seir and seis epidemic models. *Math. Med. Biol.*, 21 :75–83, 2004. [74](#)
- [127] M.J. Koury and M.C. Bondurant. Erythropoietin retards dna breakdown and prevents programmed death in erythroid progenitor cells. *Science*, 248 :378—381, 1990. [25](#), [30](#)
- [128] R.V. Kulkarni, A. Slepoy, R.R.P. Singh, D.L. Cox, and F. Pázmándi. Theoretical modeling of prion disease incubation. *Biophys J.*, 85(2) :707–718, 2003. [55](#), [63](#)
- [129] A. Lasota and M.C. Mackey. *Chaos, Fractals, and Noise, Stochastic Aspects of Dynamics*. Springer ; 2nd edition (April 1, 1998), 1998. [14](#)

- [130] P. Laurençot. The discrete coagulation equation with multiple fragmentation. *Proc. Edinburgh Math. Soc.*, 45 :67–82, 2002. [49](#), [51](#)
- [131] P. Laurençot and S. Mischler. From the Becker–Döring to the Lifshitz–Slyozov–Wagner equations. *Journal of Statistical Physics*, 106(5–6) :957—991, 2002. [52](#)
- [132] M. Laurent. Autocatalytic processes in cooperative mechanisms of prion diseases. *FEBS Lett.*, 407(1) :1–6, 1997. [55](#), [63](#)
- [133] M. Laurent. Les prions : entre dogmes et réalités. *Médecine/Science*, 14 :475–478, 1998. [55](#)
- [134] P. Laurençot and C. Walker. Well-posedness for a model of prion proliferation dynamics. *Journal of Evolution Equations*, 7(2) :241–264, 2007. [75](#), [77](#)
- [135] J. Laurèn, D. A. Gimbel, H. B. Nygaard, J. W. Gilbert, and S. M. Strittmatter. Cellular prion protein mediates impairment of synaptic plasticity by amyloid-beta oligomers. *Nature*, 457(7233) :1128—1132, 2009. [102](#), [103](#)
- [136] P. Le Hir. Les sciences s’allient pour modéliser la complexité. *Le monde*, 2007. [36](#)
- [137] C. C. Lee, A. Nayak, A. Sethuraman, G. Belfort, and G. J. McRae. A three-stage kinetic model of amyloid fibrillation. *Biophysical Journal*, 92(10) :3448–3458, 2007. [56](#), [86](#), [96](#), [98](#)
- [138] C.C. Lee, Y. Sun, and H.W. Huang. Membrane-mediated peptide conformation change from alphanomomers to beta-aggregates. *Biophys. J.*, 98 :2236—2245, 2010. [99](#)
- [139] T. Lelièvre. *Modèles multi-échelles pour les fluides viscoélastiques*. PhD thesis, École Nationale des Ponts et Chaussées, 2004. [53](#)
- [140] N. Lenuzza. *Modélisation de la répliquations des prions : implication de la dépendance en taille des agrégats de PrP et de l’hétérogénéité des populations cellulaires*. PhD thesis, Ecole Centrale Paris, Thèse de doctorat, Octobre 2009. [54](#), [76](#)
- [141] T. Lepoutre. *Analysis and modelling of growth and motion phenomenon from biology*. PhD thesis, Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, Thèse de doctorat, 2009. [76](#)
- [142] A. Li and D.A. Harris. Mammalian prion protein suppresses bax- induced cell death in yeast. *J. Biol. Chem.*, 280 :17430—17434, 2005. [62](#)
- [143] M.Y. Li, J.S. Muldowney, and P. Van den Driessche. Global stability of seirs models in epidemiology. *Can. Appl. Math. Quart.*, 4(4) :409–425, 1999. [73](#)
- [144] J. P. Liautard. Les prions sont-ils des molécules chaperonnes mal repliées ? *Médecine/Science*, 8 :55–57, 1992. [55](#)
- [145] I. Lifshitz and V. Slyozov. The kinetics of precipitation from supersaturated solid solutions. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 19(1–2) :35–50, 1961. [52](#)
- [146] A. Lomakin, D. S. Chung, G. B. Benedek, Kirschner D.A., and D. B. Teplow. On the nucleation and growth of amyloid beta-protein fibrils : Detection of nuclei and quantitation of rate constants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(3) :1125–1129, 1996. [102](#)
- [147] A. Lomakin, D. B. Teplow, D. A. Kirschner, and G. B. Benedek. Kinetic theory of fibrillogenesis of amyloid beta-protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(15) :7942–47, 1997. [102](#)

- [148] E. Lugaresi, R. Medori, P. Montagna, A. Baruzzi, P. Cortelli, A. Lugaresi, P. Tinuper, M. Zucconi, and P. Gambetti. Fatal familial insomnia and dysautonomia with selective degeneration of thalamic nuclei. *N. Engl. J. Med.*, 315 :997–1003, 1986. [44](#)
- [149] T. Lürs, R. Zahn, and K. Wüthrich. Amyloid formation by recombinant full-length prion proteins in phospholipid bicelle solutions. *J. Mol. Biol.*, 46 :7045—7053, 2006. [99](#)
- [150] A. B. Lyons and C. R. Parish. Determination of lymphocyte division by flow cytometry. *J. Immunol. Methods*, 171 :131–137, 1994. [19](#)
- [151] M. C. Mackey. A unified hypothesis for the origin of aplastic anemia and periodic haematopoiesis. *Blood*, 51 :941–956, 2016. [17](#)
- [152] M.C. Mackey. *Dynamic haematological disorders of stem cell origin*. J.G. Vassileva-Popova, E.V. Jensen (Eds.), Biophysical and Biochemical Information Transfer in Recognition, Plenum Press, New York, 1979. [17](#)
- [153] M.C. Mackey. *Mathematical models of haematopoietic cell replication and control*. H.G. Othmer, F.R. Adler, M.A. Lewis, J.C. Dalton (Eds.), The Art of Mathematical Modeling : Case Studies in Ecology, Physiology and Biofluids, Prentice-Hall, 1996. [17](#)
- [154] M.C. Mackey, C. Ou, L. Pujo-Menjouet, and J. Wu. Periodic oscillations of blood cell populations in chronic myelogenous leukemia. *SIAM J. Math. Anal.*, 38(1) :166–187, 2006. [18](#)
- [155] M.C. Mackey and R. Rudnicki. Global stability in a delayed partial differential equation describing cellular replication. *J. Math. Biol.*, 33 :89–109, 1994. [9](#), [13](#)
- [156] M.C. Mackey and R. Rudnicki. A new criterion for the global stability of simultaneous cell replication and maturation processes. *J. Math. Biol.*, 38 :195–219, 1999. [9](#)
- [157] J. Masel, N. Genoud, and A. Aguzzi. Efficient inhibition of prion replication by PrP-Fc(2) suggests that the prion is a PrP(Sc) oligomer. *Journal of Molecular Biology*, 345(5) :1243–51, February 2005. [59](#)
- [158] J. Masel and V. A.A. Jansen. The measured level of prion infectivity varies in a predictable way according to the aggregation state of the infectious agent. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1535(2) :164–173, February 2001. [59](#)
- [159] J. Masel, V.A. Jansen, and M.A. Nowak. Quantifying the kinetic parameters of prion replication. *Biophysical chemistry*, 77(2-3) :139–52, 1999. [56](#), [59](#), [62](#), [63](#), [64](#), [68](#), [69](#), [72](#), [75](#), [81](#), [91](#)
- [160] F. Matthäus. Diffusion versus network models as descriptions for the spread of prion diseases in the brain. *J. of Theoret. Biol.*, 240 :104–113, 2006. [54](#)
- [161] R.M. May and M.A. Nowak. *Virus Dynamics. Mathematical Principles of Immunology and Virology*. Oxford University Press, Oxford, 2000. [74](#)
- [162] P. Dörmer M.C. Mackey. Continuous maturation of proliferating erythroid precursors. *Cell and Tissue Kinetics*, 15 :381–392, 1982. [9](#)
- [163] Z.A. Melzak. A scalar transport equation. *Trans. Am. Math. Soc.*, 85 :547—560, 1957. [49](#)
- [164] J.M. Mitchison. *The biology of the cell cycle*. London, Cambridge University Press, 1971. [13](#)

- [165] D.L. Mobley, D.L. Cox, R.R. Singh, R.V. Kulkarni, and A. Slepoy. Simulations of oligomeric intermediates in prion diseases. *Biophys. J.*, 85 :2213—2223, 2003. [63](#)
- [166] N. A. M. Monk. Oscillatory expression of *hes1*, *p53*, and *nf-kb* driven by transcriptional time delays. *Curr. Biol.*, 13 :1409–1413, 2003. [117](#)
- [167] M. Morillas, W. Swietnicki, P. Gambetti, and W.-K. Surewicz. Membrane environment alters the conformational structure of the recombinant human prion protein. *J. Biol. Chem.*, 274 :36859—36865, 1999. [98](#)
- [168] T. Mosmann. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival : Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods*, 65 :55–63, 1983. [19](#)
- [169] S. Nath, Agholme L., F. R. Kurudenkandy, B. Granseth, and M. Marcusson, J. and Hallbeck. Spreading of neurodegenerative pathology via neuron-to-neuron transmission of β amyloid. *Journal of Neuroscience*, 32(26) :8767– 8777, 2012. [102](#)
- [170] J. J. Neu, J. A. Cañizo, and L. L. Bonilla. Three eras of micellization. *Physical Review E*, 66(6), 2002. [52](#)
- [171] M.A. Nowak, D.C. Krakauer, A. Klug, and R.M. May. Prion infection dynamics. *Integr. Biol.*, 1 :3–15, 1998. [63](#)
- [172] H. B. Nygaard and S. M. Strittmatter. Cellular prion protein mediates the toxicity of beta-amyloid oligomers : Implications for Alzheimer disease. *Archives of Neurology*, 66(11) :1325– 1328, 2009. [103](#)
- [173] B. Oesch, D. Westaway, M. Wälchli, M.P. McKinley, S.B. Kent, R. Aebersold, R.A. Barry, P. Tempst, D.B. Teplow, and L.E. Hood. A cellular gene encodes scrapie prp 27-30 protein. *Cell*, 40 :735–746, 1985. [44](#)
- [174] F. Oosawa and M. Kasai. A theory of linear and helical aggregations of macromolecules. *J. Mol. Biol.*, 4 :10–21, 1962. [87](#)
- [175] R. A. Oostendorp, J. Audet, and C. J. Eaves. High-resolution tracking of cell division suggests similar cell cycle kinetics of hematopoietic stem cells stimulated in vitro and in vivo. *Blood*, 95(3) :855–862, 2000. [21](#), [22](#)
- [176] F. Otto and A. E. Tzavaras. Continuity of velocity gradients in suspensions of rod-like molecules. *Commun. Math. Phys.*, 277 :729—758, 2008. [77](#), [78](#), [84](#)
- [177] B. Pain, C.M. Woods, J. Saez, T. Flickinger, M. Raines, H.J. Kung, S. Peyrol, C. Moscovici, G. Moscovici, P. Jurdic, E. Lazarides, and J. Samarut. Egf-r as a hemopoietic growth factor receptor : the c-erbB product is present in normal chicken erythrocytic progenitor cells and controls their self-renewal. *Cell*, 65 :37—46, 1991. [25](#)
- [178] British Parliament. Journal of the house of commons. *Journal of the House of Commons*, 27 :87, 1755. [40](#)
- [179] R.J.H. Payne and D.C. Krakauer. The spatial dynamics of prion disease. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, 265 :2341–2346, 1998. [54](#)
- [180] R.J.H. Payne and D.C. Krakauer. The paradoxical dynamics of prion disease latency. *J. of Theoret. Biol.*, 191 :345–352, 2006. [54](#)
- [181] A.S. Perelson and P.W. Nelson. Mathematical analysis of hiv-1 dynamics in vivo. *SIAM Rev.*, 41 :3–44, 1999. [74](#)

- [182] A.S. Perelson, A. Neumann, M. Markowitz, J. Leonard, and D. Ho. Hiv-1 dynamics in vivo : virion clearance rate, infected cell life-span, and viral generation time. *Science*, 271 :1582–1586, 1996. [74](#)
- [183] A. Plesa, G. Ciuperca, V. Louvet, L. Pujo-Menjouet, S. Génieys, C. Dumontet, X. Thomas, and V. Volpert. Diagnostics of the aml with immunophenotypical data. *Math. Model. Nat. Phenom.*, 2(1) :104–123, 2008. [31](#), [32](#)
- [184] J. H. Pollard. *Mathematical models for the growth of human populations*. Cambridge University Press, Cambridge, 1973. [9](#)
- [185] S. Portet and J. Arino. An in vivo intermediate filament assembly model. *Mathematical Biosciences and Engineering*, 6(1) :117 – 134, 2009. [105](#)
- [186] N. Pöschel, V. Brilliantov, and C. Frommel. Kinetics of prion growth. *Biophys. J.*, 85 :3460—3474, 2003. [63](#)
- [187] E. T. Powers and D. L. Powers. The kinetics of nucleated polymerizations at high concentrations : amyloid fibril formation near and above the “supercritical concentration”. *Biophysical Journal*, 91(1) :122–132, 2006. [56](#)
- [188] S. Prigent, A. Ballesta, F. Charles, P. Gabriel, L.M. Tine, H. Rezaei, and M. Doumic. An efficient kinetic model for assemblies of amyloid fibrils and its application to polyglutamine aggregation. *Plos One*, 7(11), 2012. [75](#)
- [189] S. Prigent, H.W. Haffaf, H.T. Banks, M. Hoffmann, H.Rezaei, and M. Doumic. Size distributions of amyloid fibrils : Mathematical models and experimental data. *International Journal of Pure and Applied Mathematics*, 93(6) :845 – 878, 2014. [76](#)
- [190] M. Prince, A. Wimo, M. Guerchet, G.-C. Ali, Y.-T. Wu, and M. Prina. *World Alzheimer Report 2015 The Global Impact of Dementia*. Alzheimer’s Disease International (ADI), London., 2015. [102](#)
- [191] S. Prokopiou, L. Barbarroux, S. Bernard, J. Mafille, Y. Leverrier, C. Arpin, J. Marvel, O. Gandrillon, and F. Crauste. Multiscale modeling of the early cd8 t-cell immune response in lymph nodes : An integrative study. *Computation*, 2(4) :159, 2014. [36](#)
- [192] S. B. Prusiner. Prions. *Sci. Am.*, 4 :50–59, 1986. [64](#)
- [193] S.B. Prusiner. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science*, 216(4542) :136–144, 1982. [44](#)
- [194] S.B. Prusiner, D.F. Groth, M.P. McKinley, F.R. Masiarz, and H.M. Martinez. Molecular properties, partial purifications, and assay by incubation period measurements of hamster scrapie agent. *Biochemistry*, 214 :4883–4891, 1980. [44](#)
- [195] S.B. Prusiner, M.P. McKinley, D.F. Groth, K.A. Bowman, N.I. Mock, S.P. Cochran, and F.R. Masiarz. Does the agent of scrapie replicate without nucleic acid ? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 78 :6675–6679, 1981. [44](#)
- [196] J. Prüss, L. Pujo-Menjouet, G.F. Webb, and R. Zacher. Analysis of a model for the dynamics of prions. *Discrete Control Dyn. Syst. Ser. B*, 6(1) :215–225, 2006. [68](#), [72](#), [73](#), [74](#), [81](#), [85](#)
- [197] L. Pujo-Menjouet. *Contribution à l’étude d’une équation de transport à retards décrivant une dynamique de population cellulaire*. PhD thesis, Université de Pau et des Pays de l’Adour, Thèse de doctorat, Septembre 2001. [9](#), [13](#), [14](#)

- [198] L. Pujo-Menjouet. *Structures de Turing et équations de réaction-diffusion*. Epistémologies et pratiques de la modélisation et de la simulation, tome 2, 2014. [116](#)
- [199] L. Pujo-Menjouet. Blood cell dynamics : half of a century of modelling. *Math. Model. Nat. Phenom.*, 10(6) :182–204, 2016. [8](#), [9](#), [116](#)
- [200] L. Pujo-Menjouet, S. Bernard, and M.C. Mackey. Long period oscillations in a g0 model of hematopoietic stem cells. *SIAM J. Appl. Dyn. Sys.*, 4 :312–332, 2005. [18](#), [19](#)
- [201] L. Pujo-Menjouet and M. C. Mackey. Contribution to the study of periodic chronic myelogenous leukemia. *C.R. Acad. Sci. Paris Biologies*, 327 :235–244, 2004. [18](#), [19](#)
- [202] L. Pujo-Menjouet and R. Rudnicki. Global stability of cellular populations with unequal division. *Can. Appl. Math. Quart.*, 8(2) :185–202, 2005. [14](#)
- [203] Zou W. Q., Zhou X., Xiao X., and Yuan J. Insoluble cellular prion protein and its association with prion and Alzheimer diseases. *Prion*, 5(3) :172 – 178, 2011. [103](#)
- [204] U. K. Resenberger, A. C. Harmeier, A. and Woerner, J. L. Goodman, V. Müller, R. Krishnan, R. M. Vabulas, H. A. Kretschmar, S. Lindquist, F. U. Hartl, G. Multhaup, K. F. Winklhofer, and J. Tatzelt. The cellular prion protein mediates neurotoxic signalling of β -sheet-rich conformers independent of prion replication. *The EMBO Journal*, 30(10) :2057 – 2070, 2011. [103](#)
- [205] A. Rey and M.C. Mackey. Bifurcations and traveling waves in a delayed partial differential equation. *Chaos*, 2 :231–244, 1992. [9](#)
- [206] A. Rey and M.C. Mackey. Multistability and boundary layer development in a transport equation with retarded arguments. *Can. Appl. Math. Quart.*, 1 :1–21, 1993. [9](#)
- [207] A. Rey and M.C. Mackey. Propagation of population pulses and fronts in a cell replication problem : non-locality and dependence on the initial function. *Physica D*, 86 :373–395, 1995. [9](#)
- [208] A. Rey and M.C. Mackey. Transitions and kinematics of reaction–convection fronts in a cell population model. *Physica D*, 80 :120–139, 1995. [9](#)
- [209] X. Roucou, M. Gains, and A. Leblanc. Neuroprotective functions of prion protein. *J. Neuroscience Res.*, 75 :153–161, 2004. [62](#)
- [210] X. Roucou, Q. Guo, Y. Zhang, C.G. Goodyer, and A. Leblanc. Cytosolic prion protein is not toxic and protects against bax-mediated cell death in human primary neurons. *J. Biol. Chem.*, 278 :40877–40881, 2003. [62](#)
- [211] R. Rubenstein, P.A. Merz, R.J. Kascsak, C.L. Scalici, M.C. Papini, R.I. Carp, and R.H. Kimberlin. Scrapie-infected spleens : analysis of infectivity, scrapie-associated fibrils, and protease-resistant proteins. *J. Infect. Dis.*, 164 :29–35, 1991. [69](#), [70](#), [72](#)
- [212] G.P. Saborio, B. Permanne, and C. Soto. Sensitive detection of pathological prion protein by cyclic amplification of protein misfolding. *Nature*, 411 :810–813, 2000. [75](#)
- [213] N. Sanghera and Pinheiro T.-J.-T. Binding of prion protein to lipid membranes and implications for prion conversion. *J. Mol. Biol.*, 315 :1241—1256, 2002. [98](#)
- [214] M. Sarradet. Un cas de tremblante sur un bœuf. *Rev. Méd. Vét.*, 7 :310–312, 1883. [40](#)
- [215] D. J. Selkoe. Soluble oligomers of the amyloid beta-protein impair synaptic plasticity and behavior. *Behavioural brain research*, 192(1) :106– 113, 2008. [102](#)

- [216] A. Shimada. The maturation of reticulocytes. ii life-span of red cells originating from stress reticulocytes. *Acta Med. Okayama*, 4 :283—289, 1975. [29](#)
- [217] B. Sigurdsson. Rida, a chronic encephalitis of sheep. with general remarks on infections which develop slowly and some of their special characteristics. *Brit. Vet. J.*, 110 :341–354, 1954. [42](#)
- [218] G. Simonett and C. Walker. On the solvability of a mathematical model for prion proliferation. *J. Math. Anal. Appl.*, 324 :580—603, 2006. [75](#), [77](#), [103](#)
- [219] M. Slemrod. Trend to equilibrium in the Becker–Döring cluster equations. *Nonlinearity*, 2(3) :429—443, 1989. [51](#)
- [220] A. Slepoy, R.V. Kulkarni, R.R.P. Singh, F. Pázmándi, and D.L. Cox. On the statistical mechanics of prion proteins. *Phys. Rev. Lett.*, 87 :8101—8104, 2001. [63](#)
- [221] M. Smoluchowski. Drei vorträge über diffusion, brownsche molekularebewegung und koagulation von kolloidteilchen. *Physik. Zeit.*, 17 :557—599, 1916. [53](#)
- [222] M. Smoluchowski. Mass-conserving solutions to the discrete coagulation–fragmentation model with diffusion. *Nonlinear Analysis : Theory, Methods and Applications*, 49(3) :297—314, 2002. [77](#)
- [223] A. L. Sosa-Ortiz, I. Acosta-Castillo, and M. J. Prince. Epidemiology of dementias and Alzheimer’s disease. *Arch. Med. Res.*, 43(8) :600–608, 2012. [102](#)
- [224] M. P. H. Stumpf and D.C. Krakauer. Mapping the parameters of prion-induced neuropathology. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 97 :10573–10577, 2000. [54](#)
- [225] H.H.G. Tsai, J.-B. Lee, S.-S. Tseng, X.-A. Pan, and Y.-C. Shih. Folding and membrane insertion of amyloid-beta (25–35) peptide and its mutants : implications for aggregation and neurotoxicity. *Proteins*, 78 :1909–1925, 2010. [99](#)
- [226] B. Urbanc, L. Cruz, S. V. Buldyrev, S. Havlin, M. C. Irizarry, H. E. Stanley, and B. T. Hyman. Dynamics of plaque formation in Alzheimer’s disease. *Biophysical journal*, 76(3) :1330 – 1334, 1999. [102](#)
- [227] M. Doumic V. Calvez and P. Gabriel. Self-similarity in a general aggregation-fragmentation problem ; application to fitness analysis. *J. Math. Pures Appl.*, 98(1) :1–27, 2012. [75](#)
- [228] C. Walker. Prion proliferation with unbounded polymerization rates. *Sixth Mississippi State Conference on Differential Equations and Computational Simulations, Electronic Journal of Differential Equations, Conference 15*, 15 :387—397, 2007. [75](#)
- [229] D. M. Walsh, A. Lomakin, G.B. Benedek, M.M. Condron, and Teplow D.B. Amyloid-beta protein fibrillogenesis. detection of a protofibrillar intermediate. *Journal of Biological Chemistry*, 272(35) :22364 – 22372, 1997. [102](#)
- [230] F. Wang, X. Wang, and J. Ma. Conversion of bacterially expressed recombinant prion protein. *Methods*, 53 :208–213, 2011. [99](#)
- [231] F. Wang, X. Wang, and C.-G. Yuan. Generating a prion with bacterially expressed recombinant prion protein. *Science*, 327 :1132—1135, 2010. [99](#)
- [232] F Wang, F. Yang, Y. Hu, X. Wang, and X. et al. Wang. Lipid interaction converts prion protein to a prpsc-like proteinase k-resistant conformation under physiological conditions. *Biochemistry*, 46 :7045—7053, 2007. [99](#)

- [233] F. Wang, S. Yin, X. Wang, L. Zha, and M.-S. et al. Sy. Role of the highly conserved middle region of prion protein (prp) in prp-lipid interaction. *Biochemistry*, 4 :8169—8176, 2010. [99](#)
- [234] G.A.H. Wells, A.C. Scott, C.T. Johnson, R.F. Gunning, R.D. Hancock, M. Jeffrey, M. Dawson, and R. Bradley. A novel progressive spongiform encephalopathy in cattle. *Vet. Rec.*, 121 :419–420, 1987. [46](#)
- [235] M. Yanokur, K. Takase, K. Yamamoto, and H. Teraoka. Cell death and cell-cycle arrest induced by incorporation of [3h] thymidine into human haemopoietic cell lines. *Int. J. Radiat. Biol.*, 76(3) :295–303, 2000. [19](#)
- [236] R. Yvinec. *Probabilist modelization in molecular and cellular biology*. PhD thesis, Université Claude Bernard - Lyon I, Thèse de doctorat, 2012. [48](#), [57](#), [60](#), [76](#), [88](#), [89](#)
- [237] X.W. Zhang and R.B. Ren. Bcr-Abl efficiently induces a myelo- proliferative disease and production of excess interleukin-3 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in mice : a novel model for chronic myelogenous leukemia. *Blood*, 92 :3829–3840, 1998. [16](#)
- [238] V. Zigas. *Laughing Death, the Untold Story of Kuru*. Totowa (New Jersey), Humana Press Inc., 1990. [42](#)

A mathematical analysis of the dynamics of prion proliferation

Meredith L. Greer^a, Laurent Pujo-Menjouet^b, Glenn F. Webb^{c,*}

^aDepartment of Mathematics, Bates College, 213 Hathorn Hall Bates College, Lewiston, Maine 04240, USA

^bInstitut Camille Jordan, Université Claude Bernard Lyon 1, 43 boulevard du 11 Novembre 1918, 69622 Villeurbanne cedex, France

^cDepartment of Mathematics, Vanderbilt University, 1326 Stevenson Center, Nashville, TN 37240-0001, USA

Received 4 October 2005; received in revised form 3 April 2006; accepted 12 April 2006

Available online 28 April 2006

Abstract

How do the normal prion protein (PrP^C) and infectious prion protein (PrP^{Sc}) populations interact in an infected host? To answer this question, we analyse the behavior of the two populations by studying a system of differential equations. The system is constructed under the assumption that PrP^{Sc} proliferates using the mechanism of nucleated polymerization. We prove that with parameter input consistent with experimentally determined values, we obtain the persistence of PrP^{Sc}. We also prove local stability results for the disease steady state, and a global stability result for the disease free steady state. Finally, we give numerical simulations, which are confirmed by experimental data.

© 2006 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Keywords: Prion diseases; Prion proliferation; Solution persistence; Nucleated polymerization mechanism

1. Introduction

Though widely investigated, the pathogenesis of transmissible spongiform encephalopathies (TSEs) remains incompletely understood. These diseases, members of the fatal neurodegenerative disease family, have different names depending on the mammalian species. They are called scrapie for sheep or bovine spongiform encephalopathy (BSE) for cattle, and for humans they appear under forms called kuru, Creutzfeldt–Jakob disease (CJD), Gerstmann–Sträussler–Scheinker syndrome and fatal familial insomnia. It is believed that they show common pathologies such as spongiform degeneration, described as large vacuoles in the cortex and the cerebellum (Horwich and Weissman, 1997). They are also characterized by long incubation periods, a lack of immune response and invisibility to detection as viruses. It has been shown that only one infectious agent is the cause of these diseases (Griffith, 1967; Prusiner, 1982). This agent is the prion; its

discovery was very surprising in the sense that it is thought not to be a virus or any other viroid-like agent but is commonly accepted to be a protein (Aguzzi and Poly-menidou, 2004; Prusiner, 1991). The fact that a protein alone can transmit an infectious disease has been a great controversy within the scientific community. However, despite some arguments against this protein-only hypothesis, the prion is now widely regarded as the best explanation for TSEs.

Much progress was made in the 1980s in understanding structural aspects of the different forms of prion protein (Oesch et al., 1985; Prusiner, 1991; Prusiner et al., 1981, 1984). To summarize, we can say that the prion infectious agent is a modified form of a normal protein called PrP^C (prion protein cellular) which is a normal proteinase K-sensitive form of prion protein PrP. Single molecules of the protein PrP^C, which we will refer to as monomers, can normally be found in the human system. Many authors have investigated the functional role of prions (Bounhar et al., 2001; Brandner et al., 1996; Brown et al., 2002; Chiesa et al., 2005; Kim et al., 2004; Li and Harris, 2005; Roucou et al., 2003, 2004). Brandner et al. (1996) showed that PrP^{Sc} does not directly damage neurons. Roucou et al. (2003, 2004) showed that for human neurons, normal PrP located in the cytosol retains its

*Corresponding author.

E-mail addresses: mgreer@bates.edu (M.L. Greer),
pujo@math.univ-lyon1.fr (L. Pujo-Menjouet),
glenn.f.webb@vanderbilt.edu (G.F. Webb).

protective function against Bax, a substance in the human cell which when activated provokes cell apoptosis. In other words, normal PrP could be considered a natural protection against apoptosis. Without it, a massive destruction of our neurons would occur under stress.

On the other hand, the infectious protein PrP^{Sc} (Prion Protein Scrapie) is an abnormal pathogenic conformation of PrP^C and is the origin of the TSEs. PrP^{Sc} is hydrophobic and has a tendency to form aggregates (Prusiner, 1998). It is then more stable than PrP^C and much more resistant to proteolytic treatment as well as radiation and high temperatures (Huang et al., 1984; Pan et al., 1993). The motivation to study the dynamics of these protein populations comes from the research of Roucou et al. (2003) and the authors quoted above, which suggests that the PrP^{Sc} proteins do not directly damage the neurons in the TSEs. Indeed, if we assume that PrP^{Sc} is an aggregate that converts PrP^C monomers as it replicates, then the neurons would be damaged because the protection of PrP^C disappears and no shield against the Bax within the cell persists. Thus, the more an animal or human is stressed the faster the neurons die (Brown et al., 2002). Obviously, this biological assumption is very simplified here, and there exist other hypotheses regarding the cause of death due to the prion disease.

The objective in this work is to understand the dynamics of the PrP^C and PrP^{Sc} populations. Our goal is to develop a basic model incorporating the essential elements of prion disease. We would like to understand under what conditions the PrP^{Sc} population survives while the monomer PrP^C population declines, and if such conditions are biologically realistic. In other words, we want to study the stability of the protein populations involved in these diseases. In order to study this behavior we need to consider a sufficiently robust model. Several models to explain the replication process of PrP^{Sc} have been proposed (Cohen et al., 1994; Eigen, 1996; Harper and Lansbury, 1997; Jarrett and Lansbury, 1993; Kulkarni et al., 2003; Laurent, 1997; Masel et al., 1999; Mobley et al., 2003;

Nowak et al., 1998; Pöschel et al., 2003; Slepoy et al., 2001). These models are distinguished primarily as one-dimensional (lengthening fibrils) or two-dimensional (planar aggregates). Areal aggregation models (that is, two-dimensional aggregations on regular arrays corresponding to cell surfaces) have been investigated (Kulkarni et al., 2003; Mobley et al., 2003; Slepoy et al., 2001) and experimental evidence of areal aggregation has been shown (Govaerts et al., 2004; Wille et al., 2002). There is experimental evidence that PrP proteins with glyco-phospho-inositol (GPI) anchors deleted can yield increased scrapies upon inoculation without disease symptoms (Chesebro et al., 2005). Areal aggregation models have provided an impressive theoretical explanation of the highly reproducible logarithmic correlation of incubation times and inoculum doses, as well as experimentally observed deviations in this relationship at small doses (Kulkarni et al., 2003).

The view that PrP^{Sc} aggregates are essentially one-dimensional fibrillic structures lengthening in both linear directions has been investigated (Jarrett and Lansbury, 1993; Collins et al., 2004; Lansbury and Caughey, 1981; Scheibel et al., 2001). Collins et al. (2004) investigate one-dimensional yeast prion aggregation by single molecule fluorescence measurements, which indicate that fibrils grow by monomer addition. The one-dimensional propagation of prion fibrils has been modeled mathematically (Masel et al., 1999; Nowak et al., 1998; Pöschel et al., 2003). Masel et al. (1999) hypothesize nucleated polymerization (see Fig. 1) as the primary mechanism of PrP^{Sc} proliferation and develop a deterministic model for it consisting of an infinite system of ordinary differential equations, one for each possible fibril length. The model in Masel et al. (1999) is the starting point of our investigation, but we consider a continuum of possible fibril lengths described by partial differential equations (Greer, 2002). The advantages of our modeling approach are that it is conceptually more accessible and mathematically more tractable.

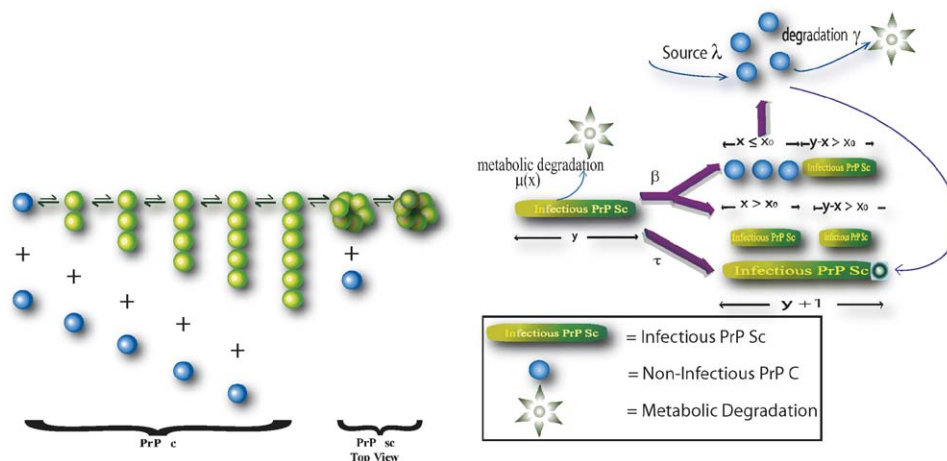


Fig. 1. Left: nucleated polymerization mechanism with minimum nucleation size $n = 6$. Right: Kinetic model of the prion aggregate growth model based on Fig. 2 of Masel et al. (1999).

We state our model of prion proliferation, then find the steady state values of the system. We study the local stability of the disease free and disease steady states. We prove global stability for the disease free steady state and the conditions necessary for persistence of the disease. We conclude with numerical simulations based on experimental data (Masel et al., 1999; Rubenstein et al., 1991). All the details of the proofs of our propositions concerning the existence, uniqueness, and asymptotic behavior of the solutions of the model are available on request.

2. The model of prion proliferation

Our model describes nucleated polymerization, the mechanism by which prions are hypothesized to replicate (Nowak et al., 1998). It is necessarily abstract, because it describes an extremely complex biological process. The model contains six basic parameters, each of which has a fundamental biological interpretation. The nucleated polymerization theory considers the PrP^{Sc} protein to be a polymeric form of PrP^C. It is important to point out that above a critical size, PrP^{Sc} is very stable and does not polymerize anymore (Pan et al., 1993). Only terminally truncated forms of the PrP^{Sc} polymerize. Our work is consequently focused on these truncated forms that polymerize which by language abuse we name PrP^{Sc}. By polymerizing, we mean that PrP^{Sc} increases its length by attaching to its end units of converted PrP^C in a stringlike formation (Scheibel et al., 2001). After a PrP^{Sc} polymer attaches to a PrP^C monomer, the PrP^C is converted to the infectious PrP^{Sc} form. It is assumed that the PrP^{Sc} proteins are long enough to wrap into a helical shape, in which they form stabilizing bonds (Wille et al., 2002). The first winding of the helix, achieved at the critical size, is the “nucleus” referred to by the term nucleated polymerization (see Fig. 1) (Masel et al., 1999).

The bonds formed in a PrP^{Sc} polymer likely confer PrP^{Sc} greater metabolic stability than PrP^C (Masel et al., 1999). This difference in stability is manifested in the parameters for metabolic degradation of PrP^{Sc} and PrP^C. Polymers of PrP^{Sc} can split into smaller polymers, and the mechanisms of lengthening and splitting are the basis of prion proliferation (see Fig. 1). A split usually transforms one infectious polymer into two smaller infectious polymers, each of which can attach PrP^C. However, when a newly split polymer falls below the critical size, it immediately degrades into PrP^C monomers. We note that our assumption that the PrP^{Sc} polymers can degrade into PrP^C units is controversial, although there is experimental evidence that monomers less than a minimum size are energetically unfavorable (Pöschel et al., 2003; Wille et al., 2002). All our results, however, are valid with or without this assumption, that is, our minimum viable polymer length may be as small as 1.

2.1. The monomer population

Let us denote by $V(t)$ the population of PrP^C monomers at time $t > 0$, and by $U(t) = \int_{x_0}^{\infty} u(x, t) dx$ the total

population of polymers of length x greater than a minimum length $x_0 > 0$. The function u is the density of polymers at time $t > 0$ with respect to the length $x \in (x_0, \infty)$. Note that polymer lengths have been shown to range over thousands of monomer units (Masel et al., 1999; Prusiner, 1986). In (Masel et al., 1999) polymer lengths x were assumed to be integer values, but we assume continuous values for mathematical tractability. The monomer population satisfies the ordinary differential equation

$$\frac{dV(t)}{dt} = \lambda - \gamma V(t) - \tau V(t)U(t) + 2 \int_0^{x_0} x \int_{x_0}^{\infty} \beta(y)\kappa(x, y)u(y, t) dy dx, \quad (1)$$

where $\lambda > 0$ is the constant background source of monomers, $\gamma > 0$ is the constant metabolic degradation rate of monomers and τ is the polymerization rate, i.e. the rate at which polymers attach to, and convert, monomers. In the last term of the right-hand side, $\beta(y)$ gives the possibly length-dependent likelihood of splitting of polymers to monomers. Supposing a split occurs, $\kappa(x, y)$ is the probability of a polymer of length y splitting to any shorter length x with the other piece having length $y - x$, and is defined in the following way:

$$\kappa(x, y) = \begin{cases} 0 & \text{if } y \leq x_0 \text{ or } y \leq x, \\ 1/y & \text{if } y > x_0 \text{ and } 0 < x < y. \end{cases} \quad (2)$$

The form of Eq. (2) means that the probability a length y splits to any shorter length x is equally likely. Observe that for a fixed value of y ,

$$\int_0^{\infty} \kappa(x, y) dx = \begin{cases} 0 & \text{if } y \leq x_0, \\ 1 & \text{if } y > x_0. \end{cases} \quad (3)$$

In Eq. (1), the $\tau V(t)U(t)$ term on the right-hand side represents the loss of monomers as PrP^C units are attached to the polymer PrP^{Sc}. The term $2 \int_0^{x_0} x \int_{x_0}^{\infty} \beta(y)\kappa(x, y)u(y, t) dy dx$ represents the monomers gained when a PrP^{Sc} polymer splits with at least one polymer shorter than the minimum length x_0 . We assume that such a polymer piece degrades immediately into PrP^C units. We also give the initial condition

$$V(0) = V_0, \quad (4)$$

where V_0 is positive.

2.2. The polymer population

The polymer population is described by the following transport equation:

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial t} u(x, t) + \tau V(t) \frac{\partial}{\partial x} u(x, t) \\ = -\mu(x)u(x, t) - \beta(x)u(x, t) \\ + 2 \int_x^{\infty} \beta(y)\kappa(x, y)u(y, t) dy. \end{aligned} \quad (5)$$

While the term $\tau V(t)U(t)$ of Eq. (1) represents the loss of PrP^C monomers as they are polymerized, the term $\tau V(t)(\partial/\partial x)u(x, t)$ in Eq. (5) shows the gain in length of PrP^{Sc} due to polymerization. The first term on the right-hand side of Eq. (5) gives the metabolic degradation of PrP^{Sc}. In this paper, for simplicity we assume polymers are equally likely to split anywhere along their length where two protein units join, hence $\beta(x) = \beta x$. We also assume $\mu(x) \equiv \mu$. Note the important roles of β and μ . In our model there is a very small probability that PrP^{Sc} polymers can grow to greater lengths than have been experimentally observed. Careful choices of both β and μ can render this probability negligible. These choices do not contradict the biological observations and without them, the study of the model could become extremely complex. The last two terms of Eq. (5) describe splitting. The term $\beta(x)u(x, t)$ is the loss of polymers, subject to the splitting rate $\beta(x)$. The last term of the right-hand side is the count of all the polymers of length x resulting from the splitting of polymers of length greater than x . We give the initial condition for the polymer population as

$$u(x, 0) = \varphi(x) \quad \text{for } x_0 < x < \infty, \tag{6}$$

and the boundary condition to be

$$u(x_0, t) = 0 \quad \text{for } t \geq 0. \tag{7}$$

3. An associated system of ordinary differential equations

From the system comprised of Eq. (1) and Eqs. (4)–(7), a straightforward computation allows us to deduce the following associated system of ordinary differential equations:

$$\begin{cases} \frac{d}{dt}U(t) = \beta P(t) - \mu U(t) - 2\beta x_0 U(t), \\ \frac{d}{dt}V(t) = \lambda - \gamma V(t) - \tau V(t)U(t) + \beta x_0^2 U(t), \\ \frac{d}{dt}P(t) = \tau V(t)U(t) - \mu P(t) - \beta x_0^2 U(t), \end{cases} \tag{8}$$

where $P(t) = \int_{x_0}^{\infty} x u(x, t) dx$ is the total population of PrP^{Sc} monomers comprising the polymers at time t . We remark that System 8 is analogous to the system of three differential equations presented by Masel et al. (1999). However, in our work, we analyse different aspects of the system. Further, System 8 is obtained from Eq. (1) and Eqs. (4)–(7), which is a formulation of the model based on continuous fibril lengths. The System Eq. (1) and Eqs. (4)–(7) carries more biological information, namely the distribution of prion fibrils, as well as the lengthening and splitting processes.

There are two steady states for System (8): the disease free steady state

$$\bar{U} = 0, \quad \bar{V} = \lambda/\gamma \quad \text{and} \quad \bar{P} = 0,$$

and the prion disease steady state

$$\bar{U} = \frac{\beta\lambda\tau - \gamma(x_0\beta + \mu)^2}{\mu\tau(2x_0\beta + \mu)}, \quad \bar{V} = \frac{(x_0\beta + \mu)^2}{\beta\tau}$$

and

$$\bar{P} = \frac{\beta\lambda\tau - \gamma(x_0\beta + \mu)^2}{\beta\mu\tau}.$$

Note that the disease steady state exists only if $x_0\beta + \mu < (\beta\lambda\tau/\gamma)^{1/2}$. The left-hand side of this inequality is related to the net loss of PrP^{Sc} polymers due to their degradation and splitting to unstable lengths, and the right-hand side is related to the net production of polymers due to their lengthening and splitting to stable lengths as they consume the available supply of PrP^C, in other words, the inequality conditioning the disease steady state can be interpreted in terms of the degradation, splitting and lengthening rates of the polymers. We state below results concerning the existence, uniqueness and the partial differential equations Systems Eq. (1) Eqs. (4)–(7). We also state results concerning the stability of the steady state of these two systems. The proofs of Propositions 3.0.1(i) and (ii) are available in the Appendix. The proof of Proposition 3.0.1(iii) is given in Prüss et al. (2006). The proof of Proposition 3.0.2 is based on the results for the associated system of ordinary differential equations and is given in Engler et al. (2006).

Proposition 3.0.1. *Let $\lambda, \gamma, \tau, \beta, \mu, x_0 > 0$. Let $X = \{(U, V, P) \in \mathbb{R}_+^3 : U \geq 0, V \geq 0 \text{ and } P \geq x_0 U\}$*

- (i) *For each $(U(0), V(0), P(0)) \in X$ there is a unique solution $(U(t), V(t), P(t))$ to the initial value problem (8) for $t \geq 0$. Further, $(U(t), V(t), P(t)) \in X$ for $t \geq 0$.*
- (ii) *The disease free steady state given by $(\bar{U}, \bar{V}, \bar{P}) = (0, \lambda/\gamma, 0)$ is globally stable in X for the system (8) (that is, $\lim_{t \rightarrow \infty} (U(t), V(t), P(t)) = (\bar{U}, \bar{V}, \bar{P})$ for all $(U(0), V(0), P(0)) \in X$, if $(\beta\lambda\tau/\gamma)^{1/2} < x_0\beta + \mu$.*

- (iii) *The disease steady state given by*

$$\bar{U} = \frac{\beta\lambda\tau - \gamma(x_0\beta + \mu)^2}{\mu\tau(2x_0\beta + \mu)}, \quad \bar{V} = \frac{(x_0\beta + \mu)^2}{\beta\tau}$$

and

$$\bar{P} = \frac{\beta\lambda\tau - \gamma(x_0\beta + \mu)^2}{\beta\mu\tau}$$

is globally stable in X for the system (8), if

$$(\beta\lambda\tau/\gamma)^{1/2} > x_0\beta + \mu.$$

Proposition 3.0.2. *Let $\lambda, \gamma, \tau, \beta, \mu, x_0 > 0$. Let $X = \mathbb{R} \times L_1((x_0, \infty); x dx)$. For each $(V_0, \phi) \in X_+$ there is a unique solution $(V(t), u(., t))$ to the initial value problem System*

Eq. (1) and Eqs. (4)–(7) for $t \geq 0$ and $(V(t), U(t), P(t)) \in X_+$. The disease free steady state $(\lambda/\gamma, 0)$ is globally stable in X_+ , if

$$(\beta\lambda\tau/\gamma)^{1/2} < x_0\beta + \mu.$$

The disease steady state

$$\bar{V} = \frac{(x_0\beta + \mu)^2}{\beta\tau},$$

$$\bar{u}(x) = \frac{2\beta(\lambda\beta\tau - \gamma(\mu + \beta x_0)^2)}{\mu\tau(\mu + \beta x_0)(\mu + 2\beta x_0)} \Phi\left(\frac{\beta(x - x_0)}{\mu + \beta x_0}\right),$$

where $\Phi(r) = (r + r^2/2) \exp(-(r + r^2/2))$, is globally stable in X_+ , if

$$(\beta\lambda\tau/\gamma)^{1/2} > x_0\beta + \mu.$$

4. Numerical illustrations

Our model can be used for simulations based on experimental data for prion proliferation. The model has six parameters: $x_0, \gamma, \lambda, \mu, \beta$, and τ . The minimum stable polymer length x_0 is estimated as 6 to 30 in Masel et al. (1999), but remains controversial (Masel et al., 2005). The half-life of PrP^C monomers is estimated as 3–6 h from studies for mouse neuroblastoma cells (Borchelt et al., 1990; Caughey et al., 1989) which means $\gamma \approx 3-5 \text{ day}^{-1}$. We estimate the PrP^C source as $\lambda \approx 10^3 - 10^4$, which is consistent with the values in Masel et al. (1999). These three parameters x_0, γ, λ are obtainable independently of the disease dynamics. We note that the pre-inoculation steady state $V(0) = \lambda/\gamma$ relates λ and γ independently of the disease dynamics. The other three parameters μ, β, τ can be obtained experimentally from the observed disease steady state values

$$\bar{V} = \frac{(x_0\beta + \mu)^2}{\beta\tau},$$

$$\bar{U} = \frac{\beta\lambda\tau - \gamma(x_0\beta + \mu)^2}{\mu\tau(2x_0\beta + \mu)},$$

$$\bar{P}/\bar{U} = \frac{2x_0\beta + \mu}{\beta},$$

which are, respectively, the monomer population, the polymer population, and the mean polymer length at disease steady state. These three equations yield a unique solution for μ, β , and τ in terms of $x_0, \lambda, \gamma, \bar{U}, \bar{V}$ and \bar{P} given by

$$\tau = \frac{(\bar{P} - \bar{U}x_0)^2(\bar{V}\gamma - \lambda)}{\bar{P}\bar{U}\bar{V}(\bar{P} - 2\bar{U}x_0)}, \quad \mu = \frac{-\bar{V}\gamma + \lambda}{\bar{P}}$$

and

$$\beta = \frac{\bar{U}(-\bar{V}\gamma + \lambda)}{\bar{P}(\bar{P} - 2\bar{U}x_0)}.$$

We apply our model to experimental data in Rubenstein et al. (1991). The parameter values for the simulation are given in Table 1. MATHEMATICA code used in the simulations is available on request.

4.1. Convergence of the density $u(x, t)$ to the disease steady state

In Fig. 2, the early (left panel) and late (right panel) stages for the pathogenesis of prion proliferation are given for the polymer density $u(x, t)$. It can be seen in Fig. 2 and also in Fig. 3 that the mean polymer length first increases and then decreases as it stabilizes over disease progression. Our model explains this phenomenon as follows. In the early stage there is an abundance of PrP^C monomers which are maintained at a constant source rate. As this population is consumed by the lengthening and splitting polymers, the mean polymer length is constrained. This is consistent with the hypothesis formulated by Roucou et al. (2003), that is, deaths attributable to prion disease result

Table 1
Model parameters and variables definitions and units. The parameter values were taken from Masel et al. (1999)

Parameter/ variable	Definition	Value	Unit
t	Time	–	days
x	Length of a PrP ^{Sc} polymer	–	–
x_0	Minimum polymer length	6	–
$u(x, t)$	Density of polymer lengths	–	SAF/sq*
$U(t)$	Total number of PrP ^{Sc} polymers	–	SAF/sq
$V(t)$	Total number of PrP ^C monomers	–	–
$P(t)$	Total number of PrP ^{Sc} monomers in polymers	–	–
γ	Degradation rate of monomers	5	day ⁻¹
μ	Degradation rate of polymers	.04	day ⁻¹
β	Rate of splitting of polymers to monomers	.0001	(SAF/sq) ⁻¹ day ⁻¹
λ	Source of monomers	4400	day ⁻¹
τ	Conversion rate of monomers to polymers	.3	(SAF/sq) ⁻¹ day ⁻¹
$\kappa(x, y)$	Probability that a polymer of length y splits to lengths x and $y - x$	–	–

*SAF/sq means Scrapie-Associated Fibrils per square unit and is explained in detail by Rubenstein et al. (1991).

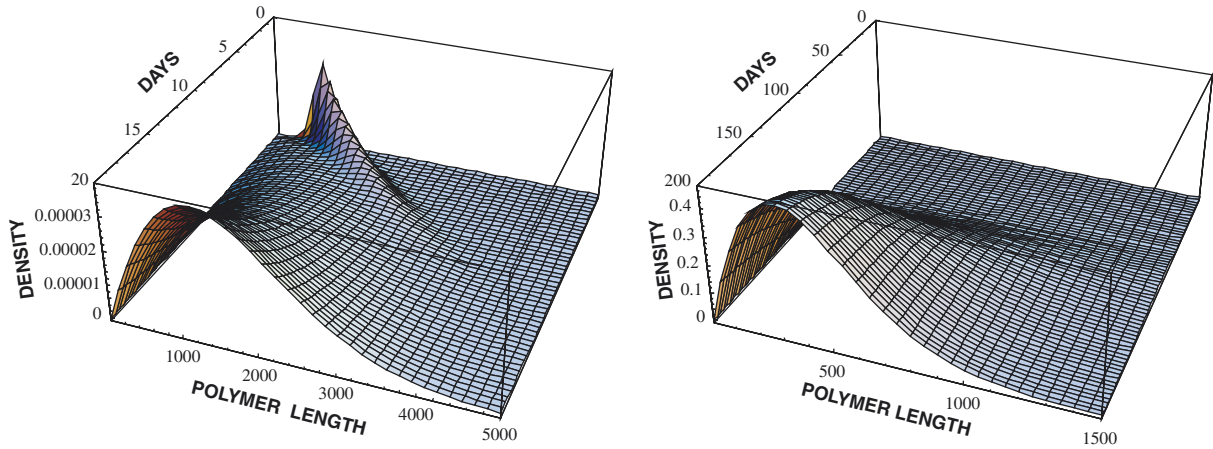


Fig. 2. Evolution of the polymer density distribution $u(x, t)$. For the graph on the left representing the early stage of the proliferation, the mean length of the polymers increases, but then decreases with time. The graph in the right shows the stabilization of the polymer population as $u(x, t)$ converges to the disease steady state. The parameters used are presented in Table 1. The simulations assume an initial PrP^C population $V_0 = 880$ and an initial PrP^{Sc} population $u(y, 0)$ given by .000002 times a Gaussian distribution with mean .15 and standard deviation .03.

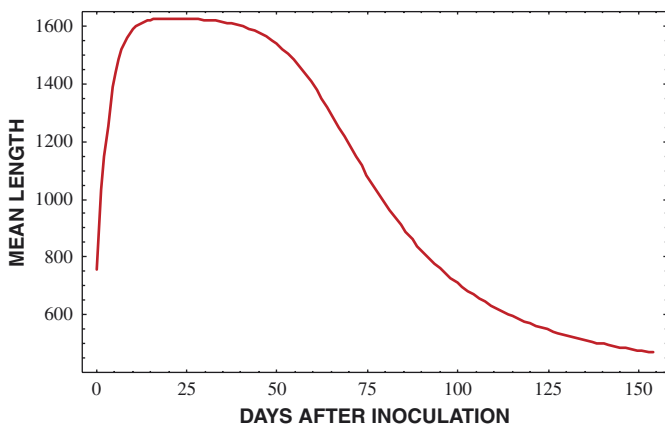


Fig. 3. Evolution of the mean length $P(t)/U(t)$ of the polymer as a function of the days after inoculation. The length of an average polymer increases fast initially and then slowly decreases due to the depletion of the PrP^C monomer population. The parameters used are presented in Table 1. The simulations assume an initial PrP^C population $V_0 = 880$ and an initial PrP^{Sc} population $u(y, 0)$ given by .000002 times a Gaussian distribution with mean .15 and standard deviation .03.

from the pathogenic consumption of normal PrP^C monomers. Both simulations assume an initial PrP^C population $V_0 = 880$ and an initial PrP^{Sc} population $u(y, 0)$ given by .000002 times a Gaussian distribution with mean .15 and standard deviation .03.

4.2. Analysis of infectivity

In Fig. 4 we show the dependence of the incubation time on the inoculation dose. It is well documented (Prusiner, 1986; Ferreira et al., 2003) that the incubation time (defined as appearance of disease symptoms or death) is a log

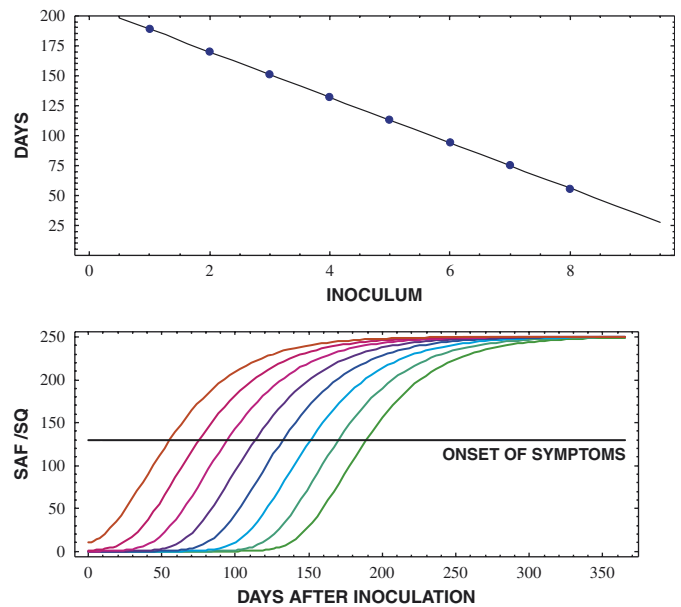


Fig. 4. Top figure: Incubation times in days for inoculum doses $U(0)$ diluted through nine orders of magnitude. All the points are linearly dependent on the log scale. Bottom panel: graphs of the number of fibrils $U(t)$ (in SAF/sq) for the nine inoculum doses. The horizontal line corresponds to the onset of symptoms. The parameters are taken from Table 1.

function of the inoculum dose. In the top panel of Fig. 4 the incubation time in days is graphed for nine order of magnitude dilutions of the inoculum dose $U(0)$. In the bottom panel of Fig. 4 the corresponding graphs of $U(t)$ are given. The incubation time is defined as the number of days for $U(t)$ to reach 130 SAF/sq which is the experimental value obtained in Rubenstein et al. (1991) for the appearance of symptoms in mice injected intracerebrally with 139A scrapie strain as measured in spleen.

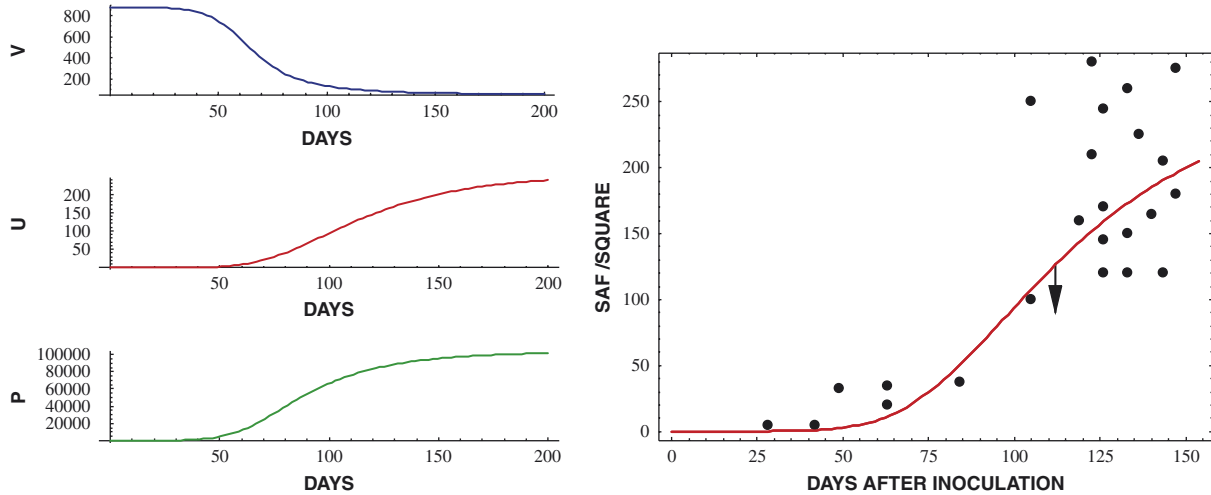


Fig. 5. Left panel: convergence of $V(t)$, $U(t)$ and $P(t)$ to the steady states \bar{V} , \bar{U} and \bar{P} , with the parameters taken from Table 1. Right panel: scrapie-associated fibrils (SAF) measurements at various times after intracerebral injection of the 139A scrapie strain into Compton white mice (points). The solution $U(t)$ of (8) is shown with parameters taken from Table 1, and the experimental data come from Rubenstein et al. (1991). The arrow indicates the time of onset of clinical disease.

In Fig. 5 we graph the solution of System (8) for an inoculum dose corresponding to data in Rubenstein et al. (1991). The model simulation fits the data for the disease progression. This data has also been simulated by Pöschel et al. (2003) who used a model similar to Masel et al. (1999). In Rubenstein et al. (1991) the authors used scrapie-associated fibrils (SAF) as the indicator of infectivity. In their experiment, they infected mice by intracerebral injection as well as intraperitoneal injection then measured the level of SAF in the brain and spleen at various times after inoculation. The data they obtained are shown in Fig. 5 (dots in the graph of the right part, the arrow represents the onset of clinical disease). Here we show the data from the spleen after an intracerebral injection (Fig. 2 in Rubenstein et al. (1991)).

5. Conclusion

We have presented a model of prion proliferation with biological assumptions similar to those of Masel et al. (1999). Our model differs from theirs in that we consider prion polymer length to be a continuous rather than discrete structure variable. This change from a discrete model allows us to show different behaviors of the interacting protein populations. As one example, our model shows the complete polymer distribution $u(x, t)$ for each time t .

The continuous model is simple enough to provide clear numerical results and be easily manipulated, and it is detailed enough to describe many aspects of prion diseases. It is accurate and consistent when compared to biological data. We can use the model to predict events, such as the early increase and later decrease in mean polymer length (Fig. 3), the log relationship between

inoculation doses and incubation times (Fig. 4) and the saturation of total PrP^{Sc} mass as a determinant of onset of clinical symptoms (Fig. 5). Yet the model is mathematically challenging enough to leave open questions for both mathematicians and experimental biologists. These include global stability of the disease steady state and a more complete description of PrP lengths and quantities in vivo.

We have several directions for future work. The model requires analysis in the case when μ and β are not constant and investigation of unstable behavior and possible oscillations. We will study each parameter in more depth to better understand its influence on disease progression. And finally, the model may be adapted to reflect further biological understanding of polymer formation.

Appendix A. Proof of Proposition 3.0.1(i)

We first give the following equivalent system of equations to system (8) in terms of $U(t)$, $V(t)$, $W(t)$, where $W(t) = P(t) - x_0 U(t)$:

$$\begin{cases} \frac{d}{dt}U(t) = \beta W(t) - (\mu + \beta x_0)U(t), \\ \frac{d}{dt}V(t) = \lambda - \gamma V(t) - \tau V(t)U(t) + \beta x_0^2 U(t), \\ \frac{d}{dt}W(t) = \tau V(t)U(t) - (\mu + \beta x_0)W(t). \end{cases}$$

We re-write the new system in vector form as

$$\frac{d}{dt}\mathbf{Z}(t) = A\mathbf{Z}(t) + F(\mathbf{Z}(t)), \quad \mathbf{Z}(0) = (U(0), V(0), W(0)), \quad (9)$$

where $\mathbf{Z}(t) = (U(t), V(t), W(t))^T$, A is the matrix defined by

$$A = \begin{pmatrix} -(\mu + \beta x_0) & 0 & \beta \\ \beta x_0^2 & -\gamma & 0 \\ 0 & 0 & -(\mu + \beta x_0) \end{pmatrix}$$

and $F(\mathbf{Z}(t)) = (0, \lambda - \tau U(t)V(t), \tau U(t)V(t))^T$. The integration of Eq. (9) gives

$$\mathbf{Z}(t) = e^{tA}\mathbf{Z}(0) + \int_0^t e^{(t-s)A}F(\mathbf{Z}(s))\,ds, \tag{10}$$

where

$$e^{tA} = \begin{pmatrix} e^{-t(\mu+\beta x_0)} & 0 & e^{-t(\mu+\beta x_0)}t\beta \\ \frac{e^{-t\gamma}(1 - e^{-t(\mu+\beta x_0-\gamma)})\beta x_0^2}{\mu + \beta x_0 - \gamma} & e^{-t\gamma} & \frac{e^{-t(\mu+\beta x_0)}x_0^2\beta^2(e^{t(\mu+\beta x_0-\gamma)} - 1 - t(\mu + \beta x_0 - \gamma))}{(\mu + \beta x_0 - \gamma)^2} \\ 0 & 0 & e^{-t(\mu+\beta x_0)} \end{pmatrix}$$

if $\mu + \beta x_0 \neq \gamma$, and

$$e^{tA} = \begin{pmatrix} e^{-t\gamma} & 0 & e^{-t\gamma}t\beta \\ e^{-t\gamma}t\beta x_0^2 & e^{-t\gamma} & \frac{1}{2}e^{-t\gamma}t^2x_0^2\beta^2 \\ 0 & 0 & e^{-t\gamma} \end{pmatrix}$$

if $\mu + \beta x_0 = \gamma$. Then, $e^{tA}(\mathbb{R}_+^3) \subset \mathbb{R}_+^3$ for $t \geq 0$, F is Lipschitz continuous on bounded sets in \mathbb{R}_+^3 , and for each $\mathbf{Z} \in \mathbb{R}_+^3$, $\mathbf{Z} + hF(\mathbf{Z}) \in \mathbb{R}_+^3$ for $h > 0$ and sufficiently small. Thus, there exists a unique solution of (9) in \mathbb{R}_+^3 for each $\mathbf{Z}(0) \in \mathbb{R}_+^3$ defined on a maximal interval of existence $[0, t_{\max})$, and either $t_{\max} = \infty$ or $t_{\max} < \infty$ and $\lim_{t \rightarrow t_{\max}^+} \|\mathbf{Z}(t)\| = \infty$ (Martin, 1976). Since

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt}(U(t) + V(t) + W(t)) &= \beta W(t) - (\mu + \beta x_0)(U(t) + W(t)) + \lambda - \gamma V(t) + \beta x_0^2 U(t) \\ &\leq \lambda + c(U(t) + V(t) + W(t)) \end{aligned}$$

for some positive constant c , the solution $\mathbf{Z}(t)$ stays bounded on bounded intervals of t . Thus, $t_{\max} = \infty$, and the existence of a unique global positive solution is proved.

Appendix B. Proof of Proposition 3.0.1(ii)

Let us define the mapping $F : C(\mathbb{R}_+^3) \rightarrow \mathbb{R}$ by

$$F(U, V, P) = \left(V - \frac{\lambda}{\gamma} \right)^2 + bU + \frac{\beta b}{\mu}P,$$

with

$$b = \frac{1}{\beta^2 \gamma \tau} (2\mu(4x_0\beta\gamma\mu + 2\gamma\mu^2 + \beta(x_0^2\beta\gamma - \lambda\tau))).$$

Then F is a Liapunov functional. Indeed, notice first that the condition $(\beta\lambda\tau/\gamma)^{1/2} < x_0\beta + \mu$ implies that $b > 0$, and

thus $(0, \lambda/\gamma, 0)$ is a strict minimum for F . It is not difficult to show that

$$\begin{aligned} \dot{F}(U, V, P) &= -2bUx_0\beta - \frac{\beta b}{\mu}Ux_0^2\beta + 2UVx_0^2\beta \\ &\quad - 2V^2\gamma + 4V\lambda - 2\frac{Ux_0^2\beta\lambda}{\gamma} - 2\frac{\lambda^2}{\gamma} - bU\mu \\ &\quad + \frac{\beta b}{\mu}UV\tau - 2UV^2\tau + 2\frac{UV\lambda\tau}{\gamma} \end{aligned}$$

and then,

$$\begin{aligned} \dot{F}(U, V, P) &\leq -\frac{U}{\gamma} \left(b\gamma(2x_0\beta + \mu) + \left(\frac{\beta b\gamma}{\mu}\gamma + 2(-V\gamma + \lambda) \right) \right. \\ &\quad \left. \times (x_0^2\beta - V\tau) \right), \end{aligned}$$

which for b given above and from the condition $(\beta\lambda\tau/\gamma)^{1/2} < x_0\beta + \mu$, leads to

$$\dot{F}(U, V, P) \leq 0.$$

Then from Hale (1969) the proof is complete.

References

Aguzzi, A., Polymenidou, M., 2004. Mammalian prion biology: one century of evolving concepts. *Cell* 116, 313–327.
 Borchelt, D.R., Scott, M., Taraboulos, A., Stahl, N., Prusiner, S.B., 1990. Scrapie and cellular prion proteins differ in their kinetics of synthesis and topology in cultured cells. *J. Cell Biol.* 110, 743–752.
 Bounhar, Y., Zhang, Y., Goodyer, C., LeBlanc, A., 2001. Prion protein protects human neurons against bax-mediated apoptosis. *J. Biol. Chem.* 276, 39145–39149.
 Brandner, S., Isenmann, S., Raeber, A., Fischer, M., Sailer, A., Kobayashi, Y., Marino, S., Weissmann, C., Aguzzi, A., 1996. Normal host prion protein necessary for scrapie-induced neurotoxicity. *Nature* 379, 339–343.
 Brown, D., Nicholas, R., Canevari, L., 2002. Lack of prion protein expression results in a neuronal phenotype sensitive to stress. *J. Neurosci. Res.* 67, 211–224.
 Caughey, B., Race, R.E., Ernst, D., Buchmeier, M.J., Chesebro, B., 1989. Prion protein biosynthesis in scrapie-infected and uninfected neuroblastoma cells. *J. Virol.* 63, 175–181.
 Chesebro, B., Trifilo, M., Race, R., Meade-White, K., Teng, C., LaCasse, R., Raymond, L., Favara, C., Baron, G., Priola, S., Caughey, B., Masliah, E., Oldstone, M., 2005. Anchorless prion protein results in infectious amyloid disease without clinical scrapie. *Science* 308, 1435–1439.
 Chiesa, R., Piccardo, P., Dossena, S., Nowoslawski, L., Roth, K.A., Ghetti, B., Harris, D.A., 2005. Bax deletion prevents neuronal loss but not neurological symptoms in a transgenic model of inherited prion disease. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 102, 238–243.

- Cohen, F.E., Huang, Z., Fletterick, R.J., Baldwin, M., Prusiner, S.B., 1994. Structural clues to prion replication. *Science* 264, 530–531.
- Collins, S., Douglass, A., Vale, R., Weissman, J., 2004. Mechanism of prion propagation: amyloid growth occurs by monomer addition. *PLoS Bio* 2, 1582–1590.
- Eigen, M., 1996. Prionics or the kinetic basis of prion diseases. *Biophys. Chem.* 63, 11–18.
- Engler, H., Prüss, J., Webb, G.F., 2006. Analysis of a model for the dynamics of prions II, in press.
- Ferreira, A.S., da Silva, M.A., Cressoni, J.C., 2003. Stochastic modeling approach to the incubation time of prionic diseases. *Phys. Rev. Lett.* 90, 198101–198104.
- Govaerts, C., Wille, H., Prusiner, S.B., Cohen, F.E., 2004. Evidence for assembly of prions with left-handed β -helices into trimers. *Proc. Natl Acad. Sci.* 101, 8342–8347.
- Greer, M.L., 2002. A population model of prion dynamics. Ph.D. Thesis, Vanderbilt University.
- Griffith, J.S., 1967. Nature of the scrapie agent. *Nature* 215, 1043–1044.
- Hale, J., 1969. *Ordinary Differential Equations*. Wiley-Interscience, New-York.
- Harper, J.D., Lansbury, P.T., 1997. Models of amyloid seeding in Alzheimer's disease and scrapie: mechanistic truths and physiological consequences of the time-dependent solubility of amyloid proteins. *Ann. Rev. Biochem.* 66, 385–407.
- Horwich, A.L., Weissman, J.S., 1997. Deadly conformations: protein misfolding in prion disease. *Cell* 89, 499–510.
- Huang, Z.W., Gabriel, J.M., Baldwin, M.A., Fletterick, R.J., Prusiner, S.B., ECohen, F., 1984. Proposed three-dimensional structure for the cellular prion protein. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 47, 71–79.
- Jarrett, J.T., Lansbury, P.T., 1993. Seeding "one-dimensional crystallization" of smyloid: a pathogenic mechanism in Alzheimer's disease and scrapie? *Cell* 73, 1055–1058.
- Kim, B.H., Lee, H.G., Choi, J.K., Kim, J.I., Choi, E.K., Carp, R.I., Kim, Y.S., 2004. The cellular prion protein (prp) prevents apoptotic neuronal cell death and mitochondrial dysfunction induced by serum deprivation. *Mol. Brain Res.* 124, 40–50.
- Kulkarni, R.V., Slepoy, A., Singh, R.R.P., Cox, D.L., Pázmándi, F., 2003. Theoretical modeling of prion disease incubation. *Biophys. J.* 85, 707–718.
- Lansbury, P., Caughey, B., 1981. The chemistry of scrapie infection: implication of the "ice 9" metaphor. *Chem. Biol.* 2, 1–5.
- Laurent, M., 1997. Autocatalytic processes in cooperative mechanisms of prion diseases. *FEBS Lett.* 407, 1–6.
- Li, A., Harris, D.A., 2005. Mammalian prion protein suppresses bax-induced cell death in yeast. *J. Biol. Chem.* 280, 17430–17434.
- Martin, R.H., 1976. *Nonlinear Operators and Differential Equations in Banach Spaces*. Wiley Interscience Series of Texts, Monographs & Tracts, New York.
- Masel, J., Jansen, V.A.A., Nowak, M.S., 1999. Quantifying the kinetic parameters of prion replication. *Biophys. Chem.* 77, 139–152.
- Masel, J., Genoud, N., Aguzzi, A., 2005. Efficient inhibition of prion replication by prp-fc₂ suggests that the prion is a prp^{Sc} oligomer. *J. Mol. Biol.* 345, 1243–1251.
- Mobley, D.L., Cox, D.L., Singh, R.R., Kulkarni, R.V., Slepoy, A., 2003. Simulations of oligomeric intermediates in prion diseases. *Biophys. J.* 85, 2213–2223.
- Nowak, M.A., Krakauer, D.C., Klug, A., May, R.M., 1998. Prion infection dynamics. *Integr. Biol.* 1, 3–15.
- Oesch, B., Westaway, D., Walchli, M., McKinley, M.P., Kent, S.B.H., Aebersold, R., Barry, R.A., Tempst, P., Teplow, D.B., Hood, L.E., Prusiner, S.B., Weissmann, C., 1985. A cellular gene encodes scrapie prp 27–30 protein. *Cell* 40, 735–746.
- Pan, K.M., Baldwin, M., Nguyen, J., Gasset, M., Serban, A., Groth, D., IIMelhorn, S., Huang, Z., Fletterick, R.J., Cohen, F.E., Prusiner, S.B., 1993. Conversion of α -helices into β -sheets features in the formation of the scrapie prion proteins. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 90, 10962–10966.
- Pöschel, N., Brilliantov, V., Frommel, C., 2003. Kinetics of prion growth. *Biophys. J.* 85, 3460–3474.
- Prusiner, S.B., 1982. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science* 216, 136–144.
- Prusiner, S.B., 1986. Prions. *Sci. Am.* 4, 50–59.
- Prusiner, S.B., 1991. Molecular biology of prion diseases. *Science* 252, 1515–1522.
- Prusiner, S.B., 1998. Prions. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 95, 13363–13383.
- Prusiner, S.B., McKinley, M.P., Groth, D.F., Bowman, K.A., Mock, N.I., Cochran, S.P., Masiarz, F.R., 1981. Scrapie agent contains a hydrophobic protein. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 78, 6675–6679.
- Prusiner, S.B., Groth, D.F., Bolton, D.C., Kent, S.B., Hood, L.E., 1984. Purification and structural studies of a major scrapie prion protein. *Cell* 38, 127–134.
- Prüss, J., Pujo-Menjouet, L., Webb, G.F., Zacher, R., 2006. Analysis of a model for the dynamics of prions. *Discrete Control Dyn. Syst. Ser. B* 6 (1), 215–225.
- Roucou, X., Guo, Q., Zhang, Y., Goodyer, C.G., Leblanc, A., 2003. Cytosolic prion protein is not toxic and protects against bax-mediated cell death in human primary neurons. *J. Biol. Chem.* 278, 40877–40881.
- Roucou, X., Gains, M., Leblanc, A.C., 2004. Neuroprotective functions of prion protein. *J. Neuroscience Res.* 75, 153–161.
- Rubenstein, R., Merz, P.A., Kascak, R.J., Scalici, C.L., Papini, M.C., Carp, R.I., Kimberlin, R.H., 1991. Scrapie-infected spleens: analysis of infectivity, scrapie-associated fibrils, and protease-resistant proteins. *J. Infect. Dis.* 164, 29–35.
- Scheibel, T., Kowal, A.S., Bloom, J.D., Lindquist, S.L., 2001. Bidirectional amyloid fiber growth for a yeast prion determinant. *Curr. Biol.* 11, 366–369.
- Slepoy, A., Kulkarni, R.V., Singh, R.R.P., Pázmándi, F., Cox, D.L., 2001. On the statistical mechanics of prion proteins. *Phys. Rev. Lett.* 87, 8101–8104.
- Wille, H., Michelitsch, M.D., Guenebaut, V., Supattapone, S., Serban, A., Cohen, F.E., Agard, D.A., Prusiner, S.B., 2002. Structural studies of the scrapie prion protein by electron crystallography. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 99, 3563–3568.

Further reading

- Simonett, G., Walker, C. On the solvability of a mathematical model for prion proliferation. *J. Math. Anal. Appl.*, to appear.

ANALYSIS OF A MODEL FOR THE DYNAMICS OF PRIONS

JAN PRÜSS

Fachbereich Mathematik und Informatik
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
D-06120 Halle, Germany

LAURENT PUJO-MENJOUET

Department of Mathematics
Vanderbilt University
Nashville, Tennessee TN 37240, USA

G.F. WEBB

Department of Mathematics
Vanderbilt University
Nashville, Tennessee TN 37240, USA

RICO ZACHER

Fachbereich Mathematik und Informatik
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
D-06120 Halle, Germany

(Communicated by Linda Allen)

ABSTRACT. A mathematical model for the dynamics of prion proliferation is analyzed. The model involves a system of three ordinary differential equations for the normal prion forms, the abnormal prion forms, and polymers comprised of the abnormal forms. The model is a special case of a more general model, which is also applicable to other models of infectious diseases. A theorem of threshold type is derived for this general model. It is proved that below and at the threshold, there is a unique steady state, the disease-free equilibrium, which is globally asymptotically stable. Above the threshold, the disease-free equilibrium is unstable, and there is another steady state, the disease equilibrium, which is globally asymptotically stable.

1. Introduction. In this paper we analyze a system of ordinary differential equations, which is applicable to a model of prion proliferation dynamics. The model is a special case of a more general model, which is also applicable to SEIS epidemic models and models of in-host viral infection dynamics. The prion model has been introduced in [11], based on the works of Masel, Jansen and Nowak [25], Nowak, Krakauer, Klug and May [27] and others. For a comprehensive explanation of the prion model and relevant biochemical literature we refer to [11], Eigen [13], and Prusiner [31]. Prions are proteins that are believed to be responsible for certain diseases such as *bovine spongiform encephalopathy* and *Creutzfeld-Jacob disease*. There are two basic forms of prions of interest here, the *Prion Protein*

2000 *Mathematics Subject Classification.* 92D25, 92C60.

Key words and phrases. prions, proliferation, epidemics, viral-host interaction.

Cellular PrP^C and the *Prion Protein Scrapie PrP^{Sc}*. The single molecule proteins *PrP^C*, also called *monomers* in the sequel, are protease resistant proteins produced normally in the body. It is hypothesized that *PrP^C* provide a protective function against cell apoptosis (Roucou, Gains and Lablanc [32]). On the other hand, the infectious prions *PrP^{Sc}* convert *PrP^C* to the *PrP^{Sc}* form, which attach and lengthen in long string-like fibrils. Above a critical length $x_0 > 0$ the fibrils are stable, and can contain thousands of infectious *PrP^{Sc}*. These fibrils have the ability to split into two pieces, which can elongate, and split again. There are six processes which govern the dynamics of prions in the model:

- elongation of fibrils at rate τ ;
- splitting of fibrils of length $y > 0$ into lengths $0 < x < y$ and $y - x$ with probability $\kappa(x, y)$ at rate $\beta(y)$;
- degradation of *PrP^C* monomers at rate γ ;
- degradation of fibrils of length x at rate $\mu(x)$.
- production of normal *PrP^C* monomers at rate λ ;
- decomposition of fibrils of length $\leq x_0$ resulting from splitting into *PrP^C* monomers, where $x_0 \geq 1$ is the minimum viable fibril length.

Denoting the number of *PrP^C* monomers at time t by $V(t)$ and the density of polymers of length x at time t by $u(t, x)$, we obtain the following model equations:

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt}V(t) &= \lambda - \gamma V(t) - \tau V(t) \int_{x_0}^{\infty} u(t, x) dx \\ &\quad + 2 \int_0^{x_0} x \int_{x_0}^{\infty} \beta(y) \kappa(x, y) u(t, y) dy dx, \\ \frac{\partial}{\partial t}u(t, x) + \tau V(t) \frac{\partial}{\partial x}u(t, x) + (\mu(x) + \beta(x))u(t, x) &= 2 \int_x^{\infty} \beta(y) \kappa(x, y) u(t, y) dy, \\ V(0) \geq 0, \quad u(t, x_0) = 0, \quad u(0, x) = u_0(x), \quad x \geq x_0, \end{aligned} \tag{1}$$

where $t \geq 0$ and $1 \leq x_0 \leq x < \infty$. The factor 2 in (1) arises from the symmetry of a fibril splitting into 2 pieces, one of length x and its complement of length $y - x$.

Observe that the splitting kernel $\kappa(y, x)$ should satisfy the following properties:

$$\kappa(y, x) \geq 0, \quad \kappa(y, x) = \kappa(x - y, x), \quad \int_0^x \kappa(y, x) dy = 1,$$

for all $x \geq x_0$, $y \geq 0$, and $\kappa(y, x) = 0$ if $y > x$ or $x \leq x_0$. We assume that splitting is equi-distributed, the rate of splitting is proportional to length, and the degradation rate of polymers is constant. Therefore, we make the further assumptions

$$\kappa(y, x) = 1/x \text{ if } x > x_0 \text{ and } 0 < y < x, \quad \kappa(y, x) = 0 \text{ elsewhere,}$$

$\beta(x) = \beta x$ is linear, and $\mu(x) \equiv \mu$ is constant. Under these assumptions the model contains only the 6 parameters $\lambda, \tau, \gamma, \mu, \beta$, and x_0 , and can be reduced to a system of 3 ordinary differential equations. In fact, introducing the new functions

$$U(t) = \int_{x_0}^{\infty} u(t, y) dy \quad \text{and} \quad P(t) = \int_{x_0}^{\infty} y u(t, y) dy,$$

representing the total number of polymers, and the total number of monomers in polymers at time t , respectively, and integrating the equation for $u(t, x)$ over

$[x_0, \infty)$, assuming $u(t, x_0) = 0$, and $\lim_{x \rightarrow \infty} u(x, t) = 0$, we obtain

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt}U(t) &= -\tau V(t)u(t, x)|_{x_0}^\infty - \mu U(t) - \beta P(t) + 2\beta \int_{x_0}^\infty \int_x^\infty u(t, y)dydx \\ &= -\mu U(t) - \beta P(t) + 2\beta \int_{x_0}^\infty u(t, y)(y - x_0)dy \\ &= -\mu U(t) - \beta P(t) + 2\beta P(t) - 2\beta x_0 U(t). \end{aligned}$$

Multiplying the equation for $u(t, x)$ by x , assuming $\lim_{x \rightarrow \infty} xu(x, t) = 0$, and integrating yields

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt}P(t) &= -\tau V(t)(xu(t, x)|_{x_0}^\infty - \int_{x_0}^\infty u(t, y)dy) \\ &\quad - \mu P(t) - \beta \int_{x_0}^\infty u(t, x)x^2dx + 2\beta \int_{x_0}^\infty x \int_x^\infty u(t, y)dydx \\ &= \tau V(t)U(t) - \mu P(t) - \beta \int_{x_0}^\infty u(t, x)x^2dx + \beta \int_{x_0}^\infty u(t, y)(y^2 - x_0^2)dy \\ &= \tau V(t)U(t) - \mu P(t) - \beta x_0^2 U(t). \end{aligned}$$

We thus obtain the following system of three ordinary differential equations:

$$\begin{aligned} \dot{U} &= \beta P - \mu U - 2\beta x_0 U, \\ \dot{V} &= \lambda - \gamma V - \tau UV + \beta x_0^2 U, \\ \dot{P} &= \tau UV - \mu P - \beta x_0^2 U \end{aligned} \tag{2}$$

with initial conditions

$$U(0) = U_0 \geq 0, \quad V(0) = V_0 \geq 0, \quad P(0) = P_0 \geq x_0 U_0.$$

Once the solutions of (2) are known, one has only to solve the linear partial integro-differential equation in (1) to obtain the density with respect to fibril length $u(t, x)$. The full pde-system (1), which contains also the dynamics of the fibril density $u(t, x)$, is analyzed in [12] and Simonett and Wallker [35]. Our goal is to analyze the global behavior of the solutions of (2) in the cone $U \geq 0, V \geq 0, P \geq x_0 U$. We prove the following result concerning the qualitative behavior of the system (2):

THEOREM 1.1. *Suppose $x_0, \beta, \gamma, \lambda, \mu, \tau > 0$. The system (2) induces a global semi-flow on the set $K = \{(U, V, P) \in \mathbb{R}^3 : U, V, P - x_0 U \geq 0\}$. There is precisely one disease-free equilibrium $(0, \lambda/\gamma, 0)$ which is globally asymptotically stable if and only if $\mu + x_0\beta \geq \sqrt{\lambda\beta\tau/\gamma}$. On the other hand, if $\mu + x_0\beta < \sqrt{\lambda\beta\tau/\gamma}$, then there is a unique disease equilibrium*

$$\left(\frac{\lambda\beta\tau - \gamma(\mu + \beta x_0)^2}{\mu\tau(\mu + 2\beta x_0)}, \frac{(\mu + \beta x_0)^2}{\beta\tau}, \frac{\lambda\beta\tau - \gamma(\mu + \beta x_0)^2}{\beta\mu\tau} \right),$$

which is globally asymptotically stable in $K \setminus [\{0\} \times \mathbb{R}_+ \times \{0\}]$.

This result shows that the solutions of (2) exhibit the typical behavior of epidemic models. Let $R_0 = \lambda\beta\tau/\gamma(\mu + \beta x_0)^2$, which is the number of secondary infections produced on average by one infectious prion. If $R_0 \leq 1$, then the disease dies out and the disease-free equilibrium is globally asymptotically stable. If $R_0 > 1$, a unique nontrivial steady state, the disease equilibrium, bifurcates from the trivial one and subsumes the global asymptotic stability. Thus, for $R_0 > 1$, the disease persists and exhibits strong stability properties. In Fig. 1 below we illustrate the

global attractivity of the disease steady state in a simulation of prion proliferation dynamics corresponding to data from Rubentstein *et al.* [34].

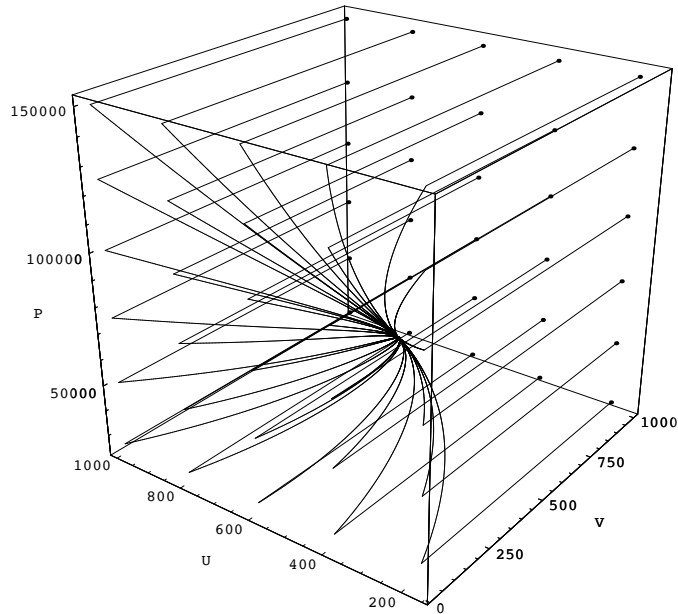


FIGURE 1. Phase portrait for the system (2). The solutions $(U(t), V(t), P(t))$ corresponding to different initial values converge to the globally attracting disease steady state. The parameters of the simulations are derived from [25] and [34]: $\lambda = 4400 \text{ day}^{-1}$, $\tau = .3 \text{ SAF/sq}^{-1} \text{ day}^{-1}$, $\beta = .0001 \text{ SAF/sq}^{-1} \text{ day}^{-1}$, $\mu = .04 \text{ day}^{-1}$, $\gamma = 5.0 \text{ day}^{-1}$, $x_0 = 6$, where SAF/sq denotes scrapie associated fibrils per square unit of measurement.

2. A General Three Compartment Model of Infection Dynamics. As general references for the theoretical results employed below we refer to the monographs of Amann [1] or Chicone [5]. We first transform the model of prion proliferation (2) to the following more general system:

$$\begin{aligned} \dot{x} &= z - \xi x, \\ \dot{y} &= \sigma - \rho y - xy + \delta x, \\ \dot{z} &= xy - z, \end{aligned} \tag{3}$$

with initial conditions $x(0) = x_0 \geq 0$, $y(0) = y_0 \geq 0$, $z(0) = z_0 \geq 0$. We prove the following theorem for (3):

THEOREM 2.1. *Suppose $\xi > 0$, $\sigma > 0$, $\rho > 0$ and $\delta \in [0, \xi)$. The system (3) induces a global semiflow on the set \mathbb{R}_+^3 . There exists precisely one (disease-free) equilibrium $(0, \sigma/\rho, 0)$, which is globally asymptotically stable, if and only if $\sigma \leq \xi\rho$. On the other hand, if $\sigma > \xi\rho$ there is one additional (disease) equilibrium $(\frac{\sigma - \xi\rho}{\xi - \delta}, \xi, \xi \frac{\sigma - \xi\rho}{\xi - \delta})$, which is globally asymptotically stable in $\mathbb{R}_+^3 \setminus [\{0\} \times \mathbb{R}_+ \times \{0\}]$.*

Theorem 1.1 is proved by Theorem 2.1, with (2) converted to (3) as follows: First, to work in the standard positive cone \mathbb{R}_+^3 , we replace the variable P by $W = P - x_0U$ (the feasible values of P and U satisfy $P \geq x_0U$, since the minimum value for P is x_0U). This gives the system

$$\begin{aligned} x_0\dot{U} &= \beta x_0W - (\mu + \beta x_0)x_0U, \\ \dot{V} &= \lambda - \gamma V - \frac{\tau}{x_0}x_0UV + \beta x_0x_0U, \\ \dot{W} &= \frac{\tau}{x_0}x_0UV - (\mu + \beta x_0)W, \end{aligned}$$

with initial values $U(0) = U_0 \geq 0, V(0) = V_0 \geq 0$ and $W(0) = W_0 = P_0 - x_0U_0 \geq 0$. Next, perform a scaling of the variables by setting

$$x_0U(t) = ax(\alpha t), \quad V(t) = by(\alpha t), \quad W(t) = cz(\alpha t).$$

With $\alpha = \mu + \beta x_0, a = (\mu + \beta x_0)x_0/\tau, b = c = (\mu + \beta x_0)^2/\beta\tau$ we obtain the system (3) with $\xi = 1, \sigma = \lambda\beta\tau/(\mu + \beta x_0)^3 > 0, \rho = \gamma/(\mu + \beta x_0) > 0, \delta = (\beta x_0/(\mu + \beta x_0))^2 \in (0, 1)$.

The model (3) also admits an interpretation for SEIS epidemics. Consider the populations of susceptibles $S(t)$ (individuals capable of acquiring the disease), exposed $E(t)$ (infected individuals who are not yet contagious), and infectious $I(t)$ (infected individuals who are capable of transmitting the disease to susceptibles). We assume a constant influx of susceptibles $\lambda > 0$ and natural death rate $\gamma > 0$ of susceptibles. Susceptibles enter the exposed class at a rate proportional to the product of the susceptible and infectious populations with rate constant τ . Exposed individuals enter the infectious class with rate α or are otherwise removed with rate μ . Infectious individuals return to the susceptible class with rate β or are otherwise removed with rate ν . Thus, infectious individuals either die, recover with permanent immunity, or recover with no immunity. The equations of the model are

$$\begin{aligned} \dot{S} &= \lambda - \gamma S - \tau IS + \beta I, \\ \dot{E} &= \tau IS - (\alpha + \mu)E, \\ \dot{I} &= \alpha E - (\beta + \nu)I, \end{aligned} \tag{4}$$

THEOREM 2.2. *Suppose $\lambda, \gamma, \tau, \beta, \alpha, \mu, \nu > 0$. The system (4) induces a global semi-flow in R_+^3 . Let $R_0 = \frac{\alpha\lambda\tau}{\gamma(\alpha+\mu)(\beta+\nu)}$. There is precisely one disease-free equilibrium $\bar{S} = \lambda/\gamma, \bar{E} = 0, \bar{I} = 0$, which is globally asymptotically stable if and only if $R_0 \leq 1$. On the other hand, if $R_0 > 1$, then there is a unique disease equilibrium*

$$\bar{S} = \frac{\lambda\beta\tau - \gamma(\mu + \beta x_0)^2}{\mu\tau(\mu + 2\beta x_0)}, \bar{E} = \frac{(\mu + \beta x_0)^2}{\beta\tau}, \bar{I} = \frac{\lambda\beta\tau - \gamma(\mu + \beta x_0)^2}{\beta\mu\tau},$$

which is globally asymptotically stable in $R_+^3 \setminus [\mathbb{R}_+ \times \{0\} \times \{0\}]$.

The conversion of (4) to (3) is accomplished as follows: Set $x(t) = \frac{\tau}{\alpha+\mu}I(\frac{t}{\alpha+\mu}), y(t) = \frac{\alpha\tau}{(\alpha+\mu)^2}S(\frac{t}{\alpha+\mu}), z(t) = \frac{\alpha\tau}{(\alpha+\mu)^2}E(\frac{t}{\alpha+\mu}), \xi = \frac{\beta+\nu}{\alpha+\mu}, \sigma = \frac{\alpha\tau\lambda}{(\alpha+\mu)^3}, \rho = \frac{\gamma}{\alpha+\mu}, \delta = \frac{\alpha\beta}{(\alpha+\mu)^2}$. Note that $\delta < \xi$. For the SEIS model (4) $R_0 = \frac{\alpha\lambda\tau}{\gamma(\alpha+\mu)(\beta+\nu)} = \frac{\sigma}{\xi\rho}$ is the number of secondary infections produced by a single infectious individual.

SEIS models have been studied extensively, and many results are known ([3], [4], [6], [7], [8], [10], [14], [15], [16], [17], [19], [20], [21], [22], [23], [24], [26], [33], [36], [37]). In [22] the global stability of the disease equilibrium was established for a

SEIRS model with constant total population size, which reduces to a SEIS model similar to (4) as the parameter for transition from I to R tends to infinity. In [7] the global stability of the disease equilibrium was established for a model similar to (4), but with more restrictive loss rates.

The model (4) can also be interpreted in terms of viral-host cell interactions (Bonhoeffer, May, Shaw, and Nowak [2] and May and Nowak [28]). Consider the populations of virus $V(t)$, uninfected host cells $T(t)$, and infected host cells $T^*(t)$ in an infected host at time t . Virus is produced at a rate proportional to the population of infected cells with rate constant α and loss rate ν . There is a constant source λ and normal loss rate γ of uninfected cells, an additional loss of uninfected cells (and gain of infected cells) proportional to the product of infected cells and virus with rate constant τ , and virus-stimulated production of uninfected cells at a rate β . Infected cells have loss rate μ . The equations of this model are

$$\begin{aligned}\dot{V} &= \alpha T^* - \nu V, \\ \dot{T} &= \lambda - \gamma T - \tau VT + \beta V, \\ \dot{T}^* &= \tau VT - \mu T^*,\end{aligned}\tag{5}$$

THEOREM 2.3. *Suppose $\alpha, \nu, \lambda, \gamma, \tau, \mu > 0$, $\beta \geq 0$ and $\alpha\beta < \mu\nu$. The system (5) induces a global semiflow in \mathbb{R}_+^3 . Let $R_0 = \frac{\alpha\lambda\tau}{\gamma\mu\nu}$. There is precisely one disease-free equilibrium $\bar{V} = 0, \bar{T} = \lambda/\gamma, \bar{T}^* = 0$, which is globally asymptotically stable if and only if $R_0 \leq 1$. On the other hand, if $R_0 > 1$, then there is a unique disease equilibrium*

$$\bar{V} = \frac{\alpha\lambda\tau - \gamma\mu\nu}{\tau(\mu\nu - \alpha\beta)}, \bar{T} = \frac{\mu\nu}{\alpha\tau}, \bar{T}^* = \frac{\nu(\alpha\lambda\tau - \gamma\mu\nu)}{\tau\alpha(\mu\nu - \alpha\beta)}.$$

which is globally asymptotically stable in $\mathbb{R}_+^3 \setminus [\{0\} \times \mathbb{R}_+ \times \{0\}]$.

The conversion of (5) to (3) is accomplished as follows: Set $x(t) = \frac{\tau}{\mu}V(\frac{t}{\mu})$, $y(t) = \frac{\alpha\tau}{\mu^2}T(\frac{t}{\mu})$, $z(t) = \frac{\alpha\tau}{\mu^2}T^*(\frac{t}{\mu})$, $\xi = \frac{\nu}{\mu}$, $\sigma = \frac{\alpha\tau\lambda}{\mu^3}$, $\rho = \frac{\gamma}{\mu}$, $\delta = \frac{\alpha\beta}{\mu^2}$. The condition $\delta < \xi$ requires $\alpha\beta < \mu\nu$. For the virus-host cell dynamics model (5) $R_0 = \frac{\alpha\lambda\tau}{\gamma\mu\nu} = \frac{\sigma}{\xi\rho}$ is the number of secondary host cell infections from a single infected host cell. In the case that $\beta = 0$ the global asymptotics of system (5) have been analyzed by Korobeinikov [17], [18], by transforming (5) to an equivalent SEIR model with constant host population size. The system (5) (with $\beta = 0$) has been used extensively in modeling the within-host dynamics of HIV infection (Perelson, Neumann, Markowitz, Leonard, and Ho [29], Perelson and Nelson [30], Gilchrist, Coombs, and Perelson [9]).

3. Proof of the Theorems.

3.1. Global Well-Posedness. Since the right hand sides of (3) are polynomial, this system generates a local flow on \mathbb{R}^3 . Recall that an ode-system $\dot{u} = f(u)$ on \mathbb{R}^n is called quasipositive if the condition

$$u \geq 0, u_k = 0 \Rightarrow f_k(u) \geq 0$$

is valid for all $k = 1, \dots, n$. System (3) obviously is quasipositive, hence solutions with nonnegative initial data $(x_0, y_0, z_0) \in \mathbb{R}_+^3$ stay in the standard cone \mathbb{R}_+^3 for all

positive times. From the three equations we get with $\varphi = \frac{\xi+\delta}{2\xi}x + y + z$

$$\dot{\varphi} = \sigma - \rho y - \frac{\xi - \delta}{2}x - \frac{\xi - \delta}{2\xi}z \leq \sigma - \varepsilon\varphi,$$

where $\varepsilon = \min\{\rho, \frac{\xi-\delta}{2}, \frac{\xi-\delta}{2\xi}\}$. Hence we obtain the bound

$$0 \leq \varphi(t) \leq \frac{\sigma}{\varepsilon} + \varphi(0)e^{-\varepsilon t},$$

whenever $(x_0, y_0, z_0) \in \mathbb{R}_+^3$ and $t \geq 0$. This implies boundedness of the solutions, hence global existence for all positive times, which shows that system (3) induces a global semiflow on the standard cone \mathbb{R}_+^3 .

3.2. Steady States. Observe that the set $\{(x, y, z) \in \mathbb{R}_+^3 : x = z = 0\}$ is an invariant subset of (3). Thus, the system trivializes to the single equation

$$\dot{y} = \sigma - \rho y, \quad y(0) = y_0,$$

which admits the single steady state $\bar{y} = \sigma/\rho$. Further, \bar{y} is globally asymptotically stable in the set $\{(x, y, z) \in \mathbb{R}_+^3 : x = z = 0\}$. Hence the system (3) has the steady state $(0, \sigma/\rho, 0)$ which we call the trivial or *disease free equilibrium*.

An simple computation shows that the system admits another steady, namely, (x^*, y^*, z^*) , where $x^* = (\sigma - \xi\rho)/(\xi - \delta)$, $y^* = \xi$, and $z^* = \xi x^*$. We call this steady state the nontrivial or *disease equilibrium*. Note that this steady state is only biologically relevant if it lies in \mathbb{R}_+^3 which means that the condition $\sigma \geq \xi\rho$ must hold. At the critical value $\sigma = \xi\rho$ this steady state bifurcates from the trivial one via a simple transcritical bifurcation.

To examine the local exponential asymptotic stability properties of these equilibria we compute their linearizations. At the trivial equilibrium we obtain the linearization

$$A = \begin{bmatrix} -\xi & 0 & 1 \\ \delta - \sigma/\rho & -\rho & 0 \\ \sigma/\rho & 0 & -1 \end{bmatrix}.$$

The eigenvalues of this matrix are

$$z_{1,2} = \frac{-1 - \xi \pm \sqrt{(1 - \xi)^2 + 4\sigma/\rho}}{2}, \quad z_3 = -\rho$$

It is easily seen that all three eigenvalues are negative, if $\sigma < \xi\rho$. By the principle of linearized stability we thus see that the trivial equilibrium is locally exponentially asymptotically stable if $\bar{y} = \sigma/\rho < \xi$, which is precisely the case when the disease equilibrium has no biological relevance.

For the linearization at the disease equilibrium we get

$$A = \begin{bmatrix} -\xi & 0 & 1 \\ \delta - \xi & -\rho - x^* & 0 \\ \xi & x^* & -1 \end{bmatrix},$$

where $x^* = (\sigma - \xi\rho)/(\xi - \delta) > 0$. The characteristic polynomial of this matrix is given by

$$p(z) = \det(zI - A) = z^3 + a_1z^2 + a_2z + a_3,$$

$$a_1 = 1 + \xi + \frac{\sigma - \delta\rho}{\xi - \delta}, \quad a_2 = \frac{(1 + \xi)(\sigma - \delta\rho)}{\xi - \delta}, \quad a_3 = \sigma - \xi\rho.$$

Since $a_1 a_2 > (1 + \xi)(\sigma - \delta \rho) > a_3$, the Ruth-Hurwitz criterion implies that all roots of p have negative real parts, which shows that the disease equilibrium is locally exponentially asymptotically stable if it is biologically meaningful, i.e. if $\sigma > \xi \rho$.

3.3. Global Asymptotic Stability of the Trivial Equilibrium. Suppose $\sigma \leq \xi \rho$. By means of a *Ljapunov* function we show that in this case the trivial equilibrium is globally asymptotically stable in \mathbb{R}_+^3 . For this purpose we set

$$\Phi(x, y, z) = \frac{1}{2}(y - \bar{y})^2 + (2\xi - \delta - \bar{y})(x + z). \tag{6}$$

Then for $\sigma = \rho \bar{y}$,

$$\begin{aligned} \dot{\Phi} &= -\rho(y - \bar{y})^2 + x(\delta - y)(y - \bar{y}) + x(2\xi - \delta - \bar{y})(y - \xi) \\ &= -\rho(y - \bar{y})^2 - x[(y - \xi)^2 + (\xi - \frac{\sigma}{\rho})(2\xi - \delta - \xi)] \leq 0, \end{aligned}$$

Thus Φ is a Ljapunov function for (3) in \mathbb{R}_+^3 if $\sigma \leq \xi \rho$. Further, in this case we have $\dot{\Phi} = 0$ only if $y = \bar{y} = \sigma/\rho$ and $x = 0$. Now the only invariant subset of the set $y = \bar{y}$ is the disease free steady state, hence it is globally asymptotically stable in \mathbb{R}_+^3 .

3.4. Global Asymptotic Stability of the Disease Equilibrium. Consider now the disease case $\sigma > \xi \rho$. It is convenient to translate the equation to the disease equilibrium. We set $u = x - x^*$, $v = y - y^*$, $w = z - z^*$, where $(x^*, y^*, z^*) = (\frac{\sigma - \xi \rho}{\xi - \delta}, \xi, \xi \frac{\sigma - \xi \rho}{\xi - \delta})$, and obtain the following new system:

$$\begin{aligned} \dot{u} &= w - \xi u, \\ \dot{v} &= -(\rho + x)v - (\xi - \delta)u, \\ \dot{w} &= xv + \xi u - w. \end{aligned} \tag{7}$$

We compute the derivatives of the following functions which are well-known in the theory of epidemics. For $x > 0, y > 0, z > 0$,

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt}(u - x^* \log(x/x^*)) &= \frac{\dot{x}}{x}(x - x^*) \\ &= (z - \xi x)(x - x^*)/x = z - \xi x - \frac{z}{x}x^* + \xi x^*, \end{aligned} \tag{8}$$

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt}(v - y^* \log(y/y^*)) &= \frac{\dot{y}}{y}(y - y^*) \\ &= -\frac{\rho}{y}v^2 + \delta \frac{uv}{y} - xy + \xi x - \frac{\xi^2 x^*}{y} + \xi x^*, \end{aligned} \tag{9}$$

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt}(w - z^* \log(z/z^*)) &= \frac{\dot{z}}{z}(z - z^*) \\ &= xy - z - \frac{xy}{z}z^* + z^*. \end{aligned}$$

Summing these equations, we obtain the Ljapunov function

$$\psi_0(x, y, z) = (u - x^* \log(x/x^*)) + (v - y^* \log(y/y^*)) + (w - z^* \log(z/z^*)),$$

$$\dot{\psi}_0(x, y, z) = -\frac{\rho}{y}v^2 + \delta \frac{uv}{y} - x^*[\frac{z}{x} + \frac{\xi^2}{y} + \frac{xy\xi}{z} - 3\xi].$$

Observe that $\psi_0(x, y, z)$ approaches infinity at the boundary of the positive octant of \mathbb{R}^3 . To remove the second term in $\dot{\psi}_0(x, y, z)$, which does not have a negative sign, we consider the modified Ljapunov function

$$\psi = \psi_0 + \frac{\delta}{\xi - \delta}(v - \xi \log y).$$

Note that $\psi(x, y, z)$ approaches infinity at the boundary of the positive octant of \mathbb{R}^3 and is bounded below. For this function we obtain

$$\begin{aligned} \dot{\psi} &= -\frac{\rho}{y}v^2 + \frac{\delta uv}{y} - x^*\left(\frac{z}{x} + \frac{\xi^2}{y} + \frac{xy\xi}{z} - 3\xi\right) - \frac{\delta}{\xi - \delta}(v(\rho + x) + u(\xi - \delta))\frac{v}{y} \\ &= -\frac{v^2}{y}\left(\rho + \frac{\delta(\rho + x)}{\xi - \delta}\right) - x^*\left(\frac{z}{x} + \frac{\xi^2}{y} + \frac{xy\xi}{z} - 3\xi\right) \\ &= -\frac{\delta x + \xi\rho}{(\xi - \delta)y}v^2 - x^*\left(\frac{z}{x} + \frac{\xi^2}{y} + \frac{xy\xi}{z} - 3\xi\right). \end{aligned}$$

Now the first term is obviously nonpositive. Concerning the second term note that $x^* > 0$ in the disease case. Set $a = z/x > 0$, $b = \xi^2/y > 0$, and consider $\varphi(a, b) = a + b + \frac{\xi^3}{ab} - 3\xi$ on $(0, \infty)^2$. Clearly this function is strictly positive for $a + b \geq 3\xi$ and for $ab \leq \xi^2/3$, but $\varphi(\xi, \xi) = 0$. Therefore it has an absolute minimum in $(0, \infty)^2$. Computing the derivatives of φ one finds that $(a, b) = (\xi, \xi)$ is the unique absolute minimum. Therefore we see that for all values of $\sigma > \xi\rho$ and $\delta \in [0, \xi)$ the function ψ is a Ljapunov function for system (3), and $\dot{\psi} = 0$ if and only if $y = \xi$ and $z = \xi x$ hold. Looking at the equation for v we obtain in case $y = \xi$, i.e. $v = 0$

$$\dot{v} = -(\xi - \delta)u \neq 0$$

unless $u = 0$, i.e. $x = x^*$. Thus the only invariant set contained in the set $\dot{\psi} = 0$ is the disease equilibrium $(x^*, y^*, z^*) = (x^*, \xi, \xi x^*)$, hence La Salle's theorem ([1] implies convergence of the solutions to this equilibrium, for all initial values not in the set $\{0\} \times \mathbb{R}_+ \times \{0\}$. This shows that the disease equilibrium is globally asymptotically stable in $\mathbb{R}_+^3 \setminus [\{0\} \times \mathbb{R}_+ \times \{0\}]$. If the initial data is in $\{0\} \times \mathbb{R}_+ \times \{0\}$, then the solution obviously converges to the disease free equilibrium.

Thus, Theorem 2.1, and hence Theorems 1.1, 2.2, and 2.3 are proved. The results of Theorem 2.2 are applicable to the models (2), (4), and (5), since each can be converted to model (3). Thus, for each of these models of infectious disease, there is a threshold value R_0 , dependent on the specific model parameters, such that if $R_0 \leq 1$, then all solutions converge to the unique disease-free equilibrium, and if $R_0 > 1$, then all solutions converge to the unique disease-endemic equilibrium.

Acknowledgement. This paper was initiated while the first author was visiting the Department of Mathematics, Vanderbilt University, Nashville Tennessee in 2003/04. He wants to express his thanks to the department for kind hospitality and for financial support.

REFERENCES

- [1] H. Amann, *Ordinary Differential Equations*, de Gruyter Studies in Mathematics 13, Walter de Gruyter & Co., Berlin 1990.
- [2] S. Bonhoffer, R.M. May, G.M. Shaw, and M.A. Nowak, *Virus Dynamics and Drug Therapy*, Proc. Natl. Acad. USA, **94** (1997), 6971–6976.

- [3] F. Brauer, *Models for the spread of universally fatal diseases*, J. Math. Biol., **28** (1990), 451–462.
- [4] S. Busenberg and P. van den Driessche, *A method of proving the nonexistence of limit cycles*, J. Math. Anal. Appl., **172** (1993), 463–479.
- [5] C. Chicone, *Ordinary Differential Equations with Applications*, Texts in Applied Mathematics 34, Springer Verlag, New York 1999.
- [6] K.L. Cooke and P. van den Driessche, *Analysis of an SEIRS epidemic model with two delays*, J. Math. Biol., **35** (1996), 240–260.
- [7] M. Fan, M.Y. Li, and K. Wang, *Global Stability of an SEIS epidemic model with recruitment and a varying total population size*, Math. Biosci., **170** (2001), 199–208.
- [8] L. Genik and P. van den Driessche, *A model for diseases without immunity in a variable size population*, Can. Appl. Math. Quart., **6** (1998), 5–16.
- [9] M.A. Gilchrist, D. Coombs, and A.S. Perelson, *Optimizing within-host viral fitness: infected cell lifespan and virion production rate*, J. Theoret. Biol., **229** (2004), 281–288.
- [10] D. Greenhalgh, *Hopf bifurcation in epidemic models with a latent period and nonpermanent immunity*, Math. Comput. Modelling, **25** (1997), 85–107.
- [11] M.L. Greer, L. Pujó-Menjouet, and G.F. Webb, *A mathematical analysis of the dynamics of prion proliferation*, to appear.
- [12] H. Engler, J. Prüss, and G.F. Webb, *Analysis of a model for the dynamics of prions II*, to appear.
- [13] M. Eigen, *Prionics or the kinetic basis of prion diseases*, Biophys. Chem., **63** (1996), 11–18.
- [14] H. Hethcote, *The mathematics of infectious diseases*, SIAM Rev., (2000), 599–653.
- [15] H. Hethcote, H.W. Stech, and P. van den Driessche, *Periodicity and stability in epidemiological models: A survey*, in “Differential Equations and Applications in Ecology, Epidemiology, and Population Problems” (ed. K. Cooke), 65–85, Academic Press (1981).
- [16] H. Hethcote and P. van den Driessche, *Some epidemics models with nonlinear incidence*, J. Math. Biol., **29** (1991), 271–287.
- [17] A. Korobeinikov, *Lyapunov functions and global properties for SEIR and SEIS epidemic models*, Math. Med. Biol., **21** (2004), 75–83.
- [18] A. Korobeinikov, *Global properties of basic virus dynamics models*, Bull. Math. Biol., **66** (2004), 879–883.
- [19] A. Korobeinikov and P.K. Maini, *Non-linear incidence and stability of infectious disease models*, Math. Med. Biol., (2005).
- [20] A. Korobeinikov and G.C. Wake, *Lyapunov functions and global stability for SIR, SIRS, and SIS epidemiological models*, Appl. Math. Lett., **15** (2002), 955–961.
- [21] M.Y. Li, J.R. Graef, L.C. Wang, and J. Karsai, *Global dynamics of an SEIR model with a varying total population size*, Math. Biosci., **160** (1999), 191–213.
- [22] M.Y. Li, J.S. Muldowney, and P. Van den Driessche, *Global stability of SEIRS models in epidemiology*, Can. Appl. Math. Quart., (1999).
- [23] M.Y. Li, H.L. Smith, and L. Wang, *Global dynamics of an SEIR epidemic model with vertical transmission*, SIAM J. Appl. Math., **62** (2001) 58–69.
- [24] W.M. Liu, H.W. Hethcote, and S.A. Levin, *Dynamical behavior of epidemiological models with nonlinear incidence rate*, J. Math. Biol., **25** (1987), 359–380.
- [25] J. Masel, V.A.A. Jansen, and M.A. Nowak, *Quantifying the kinetic parameters of prion replication*, Biophys. Chem., **77** (1999), 139–152.
- [26] J. Mena Lorca and H.W. Hethcote *Dynamic models of infectious diseases as regulator of population sizes*, J. Math. Biol., **30** (1992) 693–716.
- [27] M.A. Nowak, D.C. Krakauer, A. Klug, and R.M. May, *Prion infection dynamics*, Integrative Biology, **1** (1998), 3–15.
- [28] R.M. May and M.A. Nowak, *Virus Dynamics. Mathematical Principles of Immunology and Virology*, Oxford University Press, Oxford 2000.
- [29] A.S. Perelson, A. Neumann, M. Markowitz, J. Leonard, and D. Ho, *HIV-1 dynamics in vivo: virion clearance rate, infected cell life-span, and viral generation time*, Science, **271** (1996), 1582–1586.
- [30] A.S. Perelson and P.W. Nelson, *Mathematical analysis of HIV-1 dynamics in vivo*, SIAM Rev., **41** (1999), 3–44.
- [31] S.B. Prusiner, *Prions*, Sci. Amer., **4** (1986), 50–59.
- [32] X. Roucou, M. Gains, and A.C. Lablanc, *Neuroprotective functions of prion protein*, J. Neurosci. Res., **75** (2004), 153–161.

- [33] S. Ruan and W. Wang, *Dynamical behavior of an epidemic model with a nonlinear incidence rate*, J.Dif. Eqs., **188** (2003), 135–163.
- [34] R. Rubenstein, P.A. Merz, R.J. Kascsak, C.L. Scalici, M.C.Papini, R.I. Carp, and R.H. Kimberlin, *Scrapie-infected spleens: analysis of infectivity, scrapie-associated fibrils, and protease-resistant proteins*, J. Infect. Dis., **164** (1991), 29-35.
- [35] G. Simonett and C. Walker, *On the solvability of a mathematical model for prion proliferation*, to appear.
- [36] H. Thieme, *Epidemic and demographic interaction in the spread of potentially fatal diseases in growing populations*, Math. Biosci., **111** (1992), 99–120.
- [37] W. Wang and S. Ruan, *Bifurcations in an epidemic model with constant removal rate of the infectives*, J. Math. Anal. Appl., **291** (2004), 775–793.

Received May 2005; revised October 2005.

E-mail address: `jan.pruess@mathematik.uni-halle.de`

E-mail address: `pujo@math.vanderbilt.edu`

E-mail address: `glenn.f.webb@vanderbilt.edu`

E-mail address: `rico.zacher@mathematik.uni-halle.de`



Dynamics of polymerization shed light on the mechanisms that lead to multiple amyloid structures of the prion protein [☆]

Maria-Teresa Alvarez-Martinez ^a, Pascaline Fontes ^b, Viviana Zomosa-Signoret ^c, Jacques-Damien Arnaud ^a, Erwan Hingant ^d, Laurent Pujo-Menjouet ^d, Jean-Pierre Liatard ^{c,*}

^a Institut Fédératif de Biologie de Montpellier (IFR-122), Université Montpellier2, Place E. Bataillon, 34095 Montpellier, France

^b Centre CECEMA, Université de Montpellier2, Place E. Bataillon, 34095 Montpellier, France

^c Centre de Recherche sur les Pathogènes et Biologie pour la Santé (CPBS), UMR5236, Université Montpellier2, Place E. Bataillon, 34095 Montpellier, France

^d Université de Lyon, Université Lyon 1, UMR5208, Institut Camille Jordan 43 bd du 11 Novembre 1918, 69622 Villeurbanne Cedex, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 22 November 2010

Received in revised form 20 May 2011

Accepted 25 May 2011

Available online 16 June 2011

Keywords:

Prion

Amyloid

Heterogeneity

Strain

Dynamics

ABSTRACT

It is generally accepted that spongiform encephalopathies result from the aggregation into amyloid of a ubiquitous protein, the so-called prion protein. As a consequence, the dynamics of amyloid formation should explain the characteristics of the prion diseases: infectivity as well as sporadic and genetic occurrence, long incubation time, species barriers and strain specificities. The success of this amyloid hypothesis is due to the good qualitative agreement of this hypothesis with the observations. However, a number of difficulties appeared when comparing quantitatively the *in vitro* experimental results with the theoretical models, suggesting that some differences should hide important discrepancies. We used well defined quantitative models to analyze the experimental results obtained by *in vitro* polymerization of the recombinant hamster prion protein. Although the dynamics of polymerization resembles a simple nucleus-dependent fibrillogenesis, neither the initial concentration dependence nor off-pathway hypothesis fit with experimental results. Furthermore, seeded polymerization starts after a long time delay suggesting the existence of a specific mechanism that takes place before nucleus formation. On the other hand, polymerization dynamics reveals a highly stochastic mechanism, the origin of which appears to be caused by nucleation heterogeneity. Moreover, the specific structures generated during nucleation are maintained during successive seeding although a clear improvement of the dynamics parameters (polymerization rate and lag time) is observed. We propose that an additional on-pathway reaction takes place before nucleation and it is responsible for the heterogeneity of structures produced during prion protein polymerization *in vitro*. These amyloid structures behave like prion strains. A model is proposed to explain the genesis of heterogeneity among prion amyloid.

© 2011 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Prions are the unconventional infectious agents responsible for transmissible spongiform encephalopathies, which appear to be composed mainly or exclusively of the misfolded prion protein (PrP^{Sc}). Prion replication involves the conversion of the normal prion protein (PrP^C) into the misfolded isoform, catalyzed by tiny quantities of PrP^{Sc} present in the infectious material [1].

The mainstream molecular theory proposed to explain the prion phenomenon is the so-called amyloid formation introduced by

Lansbury's team [2,3]. It describes the formation of large aggregates of proteins ordered by specific contacts [4]. The model is based on nucleation-dependent protein polymerization that describes many well-characterized processes, including protein crystallization, microtubule assembly, flagellum assembly, sickle-cell hemoglobin fibril formation, bacteriophage procapsid assembly, and actin polymerization as well as amyloid polymerization. Nucleus formation requires a series of association steps that are thermodynamically unfavorable ($K \ll 1$) because the resultant intermolecular interactions do not outweigh the entropic cost of association [5]. Once the nucleus has been formed, further addition of monomers becomes thermodynamically favorable ($K \gg 1$) because monomers attach to the growing polymer, resulting in rapid polymerization/growth [4]. According to this theory, nucleus formation is the kinetic barrier to sporadic prion diseases that can be bypassed by infection. Nucleus formation is very slow at monomer concentrations slightly exceeding the critical concentration, whereas a small increase in PrP concentration would greatly increase the rate of nucleation [2,3]. It is assumed that

Abbreviations: ATF, Atomic Force; CD, Circular Dichroism; FACS, Fluorescence Activated Cells Sorting; GdnCl, Guanidium Chloride; PrP, Prion protein; rPrP, recombinant prion protein; FTIR, Fourier-transform infrared spectroscopy; ThT, Thioflavin-T

[☆] Competing interests: The authors declared no competing interest.

* Corresponding author. Tel: +33 4 67 14 47 46; fax: +33 4 67 14 33 38.

E-mail address: liatard@univ-montp2.fr (J.-P. Liatard).

infection results from seeding of PrP polymerization, by preformed PrP^{Sc} nuclei.

Amyloids are fibrillar protein polymers with a cross- β structure [6]. Polymerization of proteins or peptides into amyloid fibrils occurs during a number of protein deposition diseases but also during the physiological assembly of several microbial proteins into cell surface structures. In the particular case of the prion proteins, amyloids or amyloid-like assemblies become self-perpetuating *in vivo* and thus turn into pathological infectious agents in mammals or protein-based genetic elements in yeast [7].

Amyloid formation appears to be the heart of prion propagation. The isomorphism between prion semiology and amyloid formation should be extended to the molecular mechanisms of strain formation and to molecular mechanisms of species barrier phenomenon. For several years, the existence of prion strains questioned the “protein only” hypothesis of prion diseases. Today, a number of experimental works have clearly demonstrated that structural differences correlate with biological strains [8–11] (see also Refs. [12,13], for recent reviews). Furthermore, besides the natural biological strains discovered during purification of the infectious agent from the brain of infected animals or humans, new strains have been obtained by *in vitro* manipulation of recombinant or purified prion protein [14,15]. However, the question of the molecular mechanisms at the origins of the strains is still unclear. In the present work, we show the appearance of heterogeneous structures during nucleation and their propagation during polymerization. This phenomenon suggests a critical sensitivity to the initial conditions that could explain both the *in vitro* creation of new strains and the stability of biological isolates. We show that this phenomenon takes place during the first step of the reaction, before nucleation.

2. Methods and experimental procedures

2.1. Methods

Protein amyloid polymerization is a complex feature that has received great attention and numerous models have been proposed [4,16–19], a complete review of the models has been recently published [20]. However, most of the models proposed lead to parameters that are difficult to reach experimentally. To avoid this difficulty, we used quantitative models specifically designed to analyze the experimental results we obtained by *in vitro* polymerization of the recombinant hamster prion protein. The simplifications of the original models will be justified by experimental results (see Appendix A and B).

Different quantitative models were used to fit the experimental data. The geometrical meaning of the parameters is depicted in Fig. 1.

2.1.1. As a first general approach

As a first general approach, we used an empirical function to fit a sigmoidal curve obtained by observing polymerization (y) with fluorescent ThT as a function of time (t):

$$y = y_0 + \frac{a}{1 + e^{-\frac{t-T_i}{\tau}}} \quad (1)$$

This equation, independent of the amyloid protein type, fits the fibrillation data reasonably well and was shown to have real physical meaning [21]. T_i is the time at the inflection point of the sigmoid and the slope $1/\tau$ of the sigmoid can be identified as a polymerization rate (see Fig. 1). In order to minimize the participation of the polymerization rate in the determination of lag time, we define the lag time (T_{lag}) as proposed by many authors (see Ref. [21]) as a function of T_i and τ .

$$T_{lag} = T_i - 2\tau \quad (2)$$

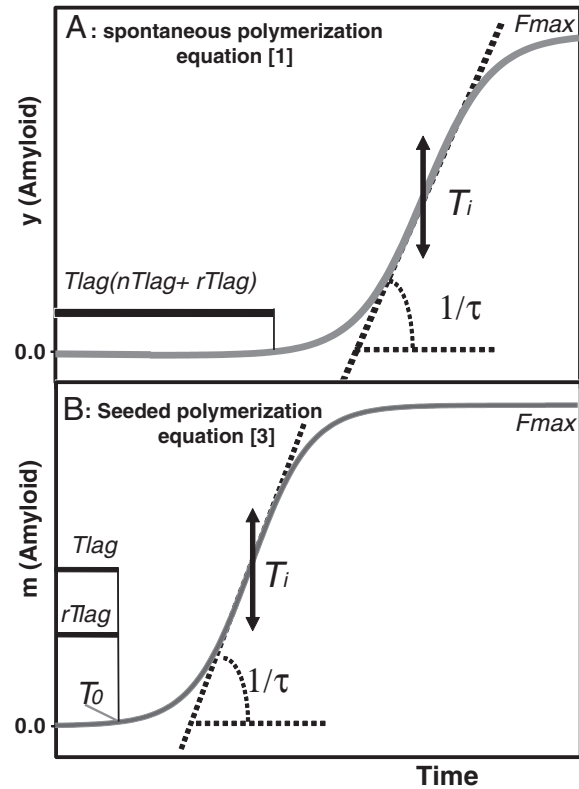


Fig. 1. Schematic representation of the curves parameters obtained from regression analysis. The curves were obtained according to Eq. (1) (panel A) for spontaneous polymerization and to Eq. (3) for seeded polymerization (panel B). The meaning of the parameters is depicted on the figure and the different types of lag times are clarified. F_{max} : complete polymerization measured as the maximum of fluorescence; T_i : inflection point when the rate is maximum, defined in Eq. (1); $1/\tau$: maximum rate of polymerization, defined in Eq. (1); T_{lag} : lag time, defined in Eq. (2); T_0 : time at which polymerization starts, defined in Eq. (3); T_{nlag} : genuine lag time resulting from nucleation, defined in Eq. (4) and (A.9); T_{rlag} : residual lag time, experimentally shown to be T_0 in seeding experiments.

We used SigmaPlot 11 nonlinear regression Wizard with the sigmoidal 4 parameters, to obtain a good fit with 5 to 50 iterations. Generally, a correlation coefficient of $r > 0.99$ was obtained.

2.1.2. The exact meaning of lag time

In order to understand what the T_{lag} consist of, we have performed seeded experiments that eliminate the part of the T_{lag} resulting from the formation of nucleus (i.e. T_{nlag} as defined in Appendix A). Seeded experiments were analyzed according to the following Eq. (3) derived in Appendix B. It allows the calculation of the time at which polymerization truly begins (T_0) and brings out a residual lag time (T_{rlag}) independent of the nucleation and of the autocatalytic characteristic of polymerization (see Appendix B, for derivation, validation and interpretation of this equation)

$$m = a_0 + \frac{M_0}{1 + \left(\frac{M_0}{m_0} - 1\right) e^{-\frac{k}{N}(t-T_0)}} \quad (3)$$

Where M_0 is the initial concentration of the monomer, m_0 is the concentration of monomers in the polymeric form added for seeding; m is the total number of monomers into amyloid measured by the ThT fluorescence, N is the mean number of monomers in the polymers, T_0 is the time when polymerization truly begins, and $T_{rlag} = T_{lag} - T_0$ is a residual lag time. T_i was measured on the curve. We used SigmaPlot 11 nonlinear regression Wizard with the user-defined Eq. (3), to obtain a

good fit with 5 to 50 iterations. A correlation coefficient of $r > 0.99$ was always obtained.

2.1.3. We considered then a simplified theory

We considered then a simplified theory, based on the “pre-equilibrium” assumption of Goldstein and Stryer [22], of the nucleation. This theory is introduced in Appendix A (see also Refs. [4,19,23]). A major characteristic of the nucleation theory is the strong dependence of the fibril formation rate on concentration which increases with the size of nucleus (Eq. (A.9)). This concentration dependence can be expressed in terms of T_{nlag} as follows:

$$\log[T_{nlag}] = -(n-1)\log[M_0] + Constant \quad (4)$$

Where M_0 is the initial concentration of prion protein, and n is the number of subunits in the nucleus.

2.2. Expression and purification of recombinant prion protein

Recombinant 90-231-prion protein (rPrP) from Syrian hamster (*Misocricetus auratus*) provided by SB Prusiner was produced as described previously [24]. Protein concentrations were determined spectrophotometrically (Beckman spectrophotometer) using an extinction coefficient of $25327 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ at 278 nm and a molecular mass of 16,227 kDa. Purity of the protein preparation was assessed by phase reverse HPLC. The protein was stored lyophilised at -80°C .

2.3. Preparative in vitro polymerization

Samples containing 0.4 to 1.2 mg/ml of the oxidized form of HaPrP90-231 (rPrP) were incubated for 1–5 days with 50 mM sodium acetate, pH 4.0, 0.5 M GdnHCl (Buffer A) or pH 6.8 in phosphate-buffered saline (PBS), 1 M GdnHCl, 2.44 M urea, 150 mM NaCl (Buffer B), or 50 mM MES, pH = 6.0, 2M GdnHCl (Buffer C) [25]. The rPrP spontaneously converted into the fibrillar isoform upon continuous shaking at 250 rpm in conical plastic tubes (Eppendorf) in a reaction volume 1.3 ml at 37°C (lying down Tube). In some cases, polymerization was obtained upon continuous shaking at 600 rpm using a Thermomixer comfort (Eppendorf) in conical plastic tubes (Eppendorf) in a reaction volume 0.4 ml at 37°C (upright Tube). To monitor the kinetics of fibril formation aliquots were withdrawn and diluted 100-fold into PBS to a final concentration of rPrP of 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$. After the addition of thioflavin T (ThT) (Sigma) to a final concentration 10 μM for 5 min. the fluorescence measurements were performed at room temperature with a FluoroMax-2 fluorimeter (Jobin Yvon-Spex, Tokyo, Japan) with a 10.4 mm path length rectangular cuvette. ThT emission spectra were recorded after excitation at 450 nm (excitation and emission slit widths, 4 nm), each emission spectrum (slit width, 4 nm) was the average of three scans.

2.4. Transmission electron microscopy

Samples were absorbed on carbon/formvar-coated copper grids (300 mesh) (Agar scientific, Saclay, France) and stained by negative contrast with 2% (w/v) uranyl acetate for 1 min. Labeled samples are observed after negative contrast with uranyl acetate 2% on a JEOL 1200 EX II transmission electron microscope (Service commun de microscopie électronique de l'université Montpellier II, Montpellier, France) at 80 kV of voltage. Length and width of fibrils were measured with ImageJ software (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>).

2.5. Fluorescence microscopy

Samples were diluted in sodium acetate 50 mM buffer pH5 containing 10 μM Thioflavin T (ThT). Images acquisition was performed on an inverted Leica DM IRB microscope equipped with a

Leica DFC350 FX digital camera at gross x945. Images were analyzed with Adobe Photoshop and ImageJ software.

2.6. FACS analysis

Flow cytometric analysis of aggregates was performed as described [26]. Measurements were made using a FACScalibur (Becton Dickinson) with Cell Quest software. 1 ml of a fibril suspension at 2.4 μM final and placed in the flow cytometer; 10,000 data points were acquired for subsequent analysis. The thioflavin-T, assays were performed by adding a freshly prepared stock solution to the protein samples to final thioflavin-T concentration of 10 μM . Samples were allowed to reach equilibrium for 5 min before data collection. The fluorescence intensity of ThT (FL1), collected during the second acquisition, was then plotted versus particle size measured by side scattering (SSC).

2.7. FTIR and CD analysis

CD spectra were recorded at ambient conditions using a J810 spectropolarimeter (Jasco). A 0.1-cm optical path length quartz cell was used to record spectra of proteins in the far UV region (190–260 nm). Protein concentration and buffers were those used in the UV absorbance experiments. Baseline corrected CD spectra were acquired at a scan speed of 20 nm min^{-1} , a 1-nm bandwidth, and a response time of 1 s. The sample compartment was purged with pure dry nitrogen. Spectra were signal-averaged over four scans.

The IR spectra were obtained with a Bruker (Ettlingen, Germany) Vertex 80v FTIR spectrometer equipped with a liquid-nitrogen-cooled, broad-band, mercury-cadmium telluride solid-state detector. The spectra (100 scan accumulation) were co-added after registration at a spectral resolution of 2 cm^{-1} and analyzed with the Opus 6.0 program. For comparison of soluble and aggregated protein, all spectra were recorded with dry samples. After the isolation of aggregates by centrifugation (22 psi \approx 127,000 g for 60 min, airfuge air-driven Micro-ultracentrifuge Beckman Coulter), and suspension in corresponding buffer, the sample was deposited onto a CaF2 plate, and the solvent was allowed to evaporate overnight at room temperature. To compare qualitatively the spectra of different samples, each spectrum was normalized with respect to the integrated intensity of the entire spectrum.

2.8. Kinetic measurements of polymerization

The kinetics of amyloid formation was monitored in SpectraMax Gemini XS (Molecular Devices). Samples containing 0.1 to 1.2 mg/ml of the oxidized form of HaPrP90-231 (rPrP) were incubated in Buffer A, Buffer B or Buffer C upon continuous shaking at 1350 rpm in 96-well plate and in the presence of ThT (10 μM). The kinetics was monitored by bottom-reading of fluorescence intensity using 445 nm excitation and 485 and 500 nm emission. Every set of measurements was performed in triplicates, and the results were averaged. Seeding was performed by adding a percentage of previously prepared amyloid and the w/w percent was calculated assuming that suspension was homogeneous.

3. Results

3.1. Prion-amyloid formation under different incubation conditions follows similar dynamics

The goal of the present work was to shed light on the mechanisms involved in the dynamic and the generation of heterogeneity during the formation of different structural types of amyloids of the prion protein. Amyloids formation is obtained from partially unfolded proteins [27]. As a first approach, we took advantage of this observation to use three buffers that induce different denaturation stages of the native prion protein. Analysis was performed by Circular Dichroism (CD). The secondary structure of the prion protein in buffer B is mainly under the

alpha-helix conformation. The comparison of the CD spectrum obtained in buffer B with the one observed in benign buffer (*i.e.* PBS) shows that the prion protein conformation remains mainly under alpha helix when transferred into this buffer B. On the other hand, the CD spectrum obtained in buffer A evidenced a major change in the secondary structure with a loss of α -helix and a dramatic increase of the random coiled proportion in the molecule (see Ref. [24]).

To obtain amyloid formation we incubated the recombinant prion protein at different concentrations (0.1 mg/ml to 1.2 mg/ml) and different temperatures (between 20 °C and 37 °C), and in each buffer (*i.e.* in buffers A, B and C). Amyloid formation was monitored by thioflavin-T (ThT) fluorescence. The resultant curves were analyzed as described in **Methods**. The parameters deduced are presented in **Fig. 1**.

Fig. 2A and **B** shows some independent kinetics of the amyloid formation under two buffer conditions (*i.e.* Buffers A and B) at a concentration of 0.4 mg/ml. As expected, the kinetics of polymerization obtained under the two buffer conditions gave qualitative similar results, *i.e.* the experimental results can be well approximated by the sigmoidal curve of the Eq. (1) with correlation coefficient $R > 0.99$. (See **Fig. 1** for a definition of the geometrical representation of the parameters that were extracted from the experimental curves).

3.2. Polymerization dynamics reveal a highly stochastic mechanism originating from the heterogeneity of nucleation

The first observation that can be worked out from the kinetics curves obtained (**Fig. 2**) is the heterogeneity of the maximum of fluorescence.

Maximum fluorescence varied in the range of five folds. It should be stressed that these values fluctuated in a single experiment between wells of the same plate and there is no correlation with the position on the plate. These observations can be interpreted in three ways: 1/either only a part of the monomers are polymerized or 2/the existence of an irreversible off-pathway that extract the protein to an amorphous aggregate or 3/the fluorescence of ThT differed from one preparation to another. The first hypothesis was tested by measuring the quantity of monomers remaining in the supernatant after centrifugation of the aggregates. Although fine differences have been seen, no systematic differences can be correlated with the fluorescence (results not shown). A consequence of the second proposition would be the existence of a relation between the maximum of fluorescence (F_{max}) and the T_{lag} and/or τ , the irreversible off-pathway leading to an apparent decrease of the initial concentration thus increasing lag time. No such relations were observed (**Fig. 2C** and **D**). On the other hand, a FACS analysis clearly showed that polymers can be differentiated by their ThT binding capacity as shown by the ratio between fluorescence and size of the amyloids (**Fig. 3**). We thus concluded that different polymers exhibiting different ThT binding properties could be spontaneously formed during polymerization *in vitro*.

To confirm the reality of heterogeneity, we first analyzed the dynamics of the polymerization. The characteristic sigmoid curve can be interpreted according to Eq. (1) to compute a lag time (T_{lag}) and a rate of polymerization ($1/\tau$) (see **Methods** and **experimental procedures**). A major observation of a systematic study of the T_{lag} is its heterogeneity both when different buffers are compared but also within a same buffer

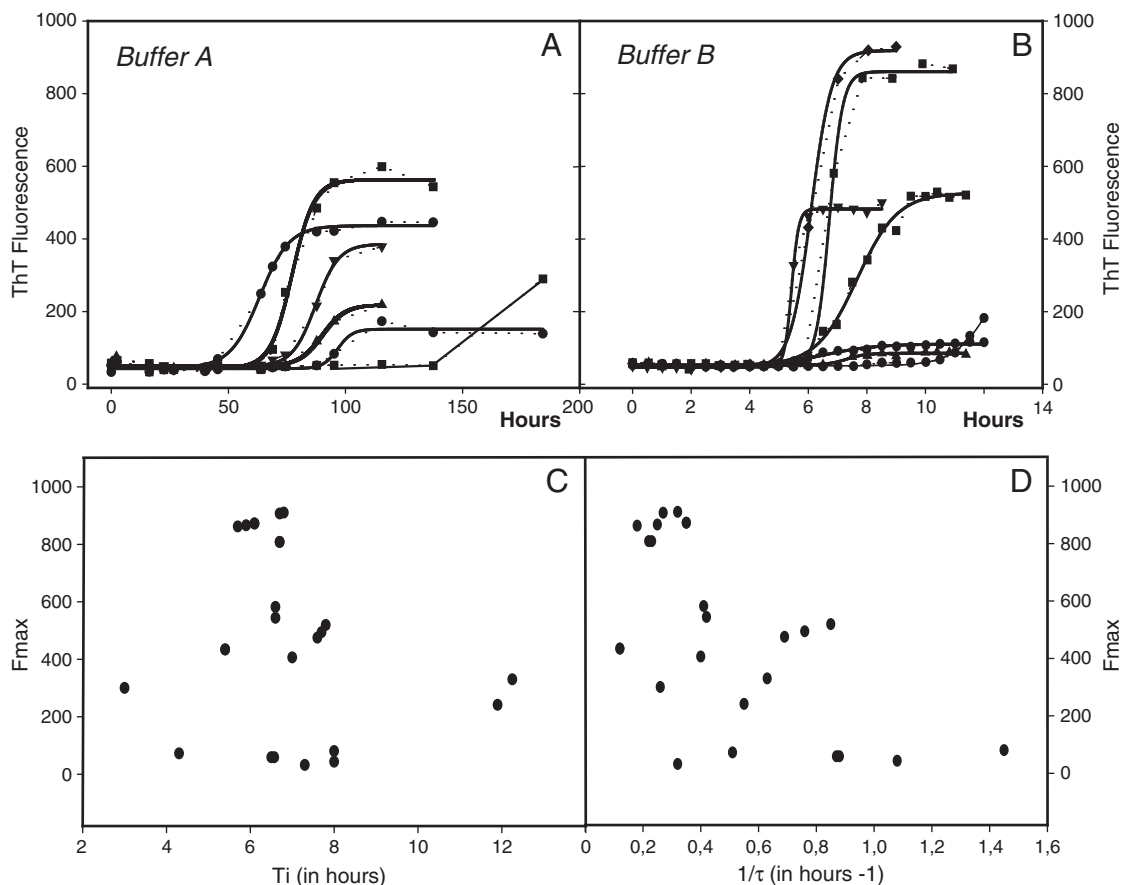


Fig. 2. Heterogeneity of the kinetics of polymerization of rPrP. Samples containing 0.4 mg/ml of the oxidized form of HaPrP90-231 (rPrP) were incubated in Buffer A (panel A) or Buffer B (panel B) upon continuous shaking as described in **Experimental procedures**. The symbols were chosen different for clarity; the samples were taken from different wells but all in the same plate. The experimental points were used to perform a non linear regression using Eq. (1). The results are representative of a great number (several dozen) of experiments. The maximum fluorescence was plotted against T_i (panel C) and $1/\tau$ (panel D) obtained from regression according Eq. (1). Polymerization depicted in panels C and D was performed in buffer B.

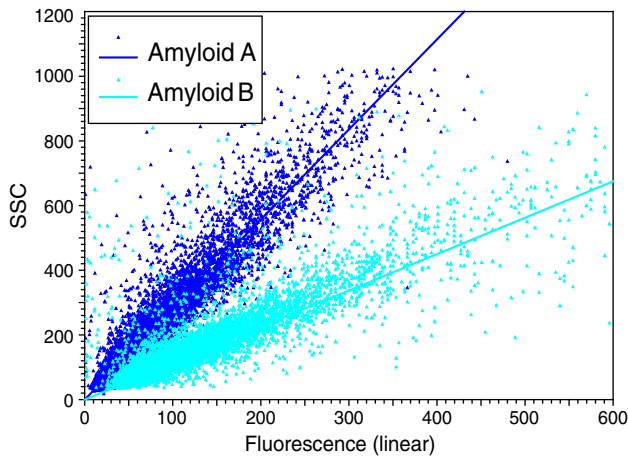


Fig. 3. FACS analysis of the fibrils labeled with ThT. Two different preparations, of amyloids obtained in buffer A and buffer B, were analyzed by FACS as described in [Experimental procedures](#). Each point is put on the figure as a function of size (SSC) and ThT fluorescence.

condition (see [Fig. 2](#)). However, the lag time depends on the initial concentration of monomers and the apparent dispersion of the measurement decreases when concentration increases ([Fig. 4A](#)). These two results seem qualitatively in agreement with a nucleation dependent mechanism of polymerization. In order to rationalize this observation, we decided to compute the number of monomers in the putative nucleus using the relation (Eq. (4)) described in [Methods](#) and mathematically developed in [Appendix A](#). Surprisingly the number of monomers determined according to this theory is only between 1.8 and 2.2, a result hardly consistent with the nucleation theory, particularly to explain the many years long incubation times observed in the sporadic forms of the CJD disease. Such an astonishing result has been previously observed by Baskakov and Bacharova [25] for mammalian prion protein, by Collins et al. [28] for yeast prion, by Chen et al. [29] for polyglutamine or Padrick and Miranker [30] for Islet Amyloid (IAPP). These observations were interpreted either as the existence of an off-pathway for the prion polymerization [25,28] or as a more complex kinetics for IAPP [30]. Although, odd structures have been observed with high resolution microscopy of prion amyloids [25], the existence of an off-pathway can only be ascertained by an analysis of the kinetic data. Three

tests have been proposed to ascertain the existence of an off-pathway [31], 1/the dependency of the T_{lag} on initial concentration ([Fig. 4](#)); 2/a fit obtained with light scattering (not feasible here) and 3/the improvement of the fitting of the first part of the kinetic while initial concentration increases. Thus we performed a study of the fitting of the first half part of the polymerization curve to the equation proposed by Powers et al. [31]:

$$Y = at + bt^2 + c$$

where a , b , c are constants, Y is the fluorescence measured at time t . We found that the correlation coefficient did not improve when higher concentration of monomers was used (see [Supplementary data Fig. S1](#)). This result, together with independence of T_{lag} to maximum fluorescence (F_{max}) ([Fig. 2C and D](#)), seems to rule out the existence of an off-pathway under the conditions used during these experiments. However, due to the low sensitivity of this test, we decided to address this question by another way. Indeed, another approach to explain the relation between T_{lag} and the monomer concentration is to understand what the lag time consists of in our experiments. We thus decided a thorough analysis of the lag time.

3.3. What is the meaning of apparent T_{lag} in seeding experiments?

In order to investigate the nature of lag time, let us denote T_{lag} as the time before the beginning of observable polymerization according to Eq. (2). In seeding experiments, the T_{lag} does not depend on nucleation (this is clear precisely because of seeding) and thus, T_{lag} should reflect only the sigmoid kinetics that results from an autocatalytic reaction (see [Discussion](#) and theory proposed [Appendix B](#)). As a consequence, increasing the quantity of seed should result in the complete disappearance of this lag time (T_{lag}). (See for instance Refs. [16,21,32]). This absence of lag time after seeding was observed with numerous proteins that undergo an amyloid polymerization, for instance insulin [33], the beta-peptide of Alzheimer disease [34,35] or the polyglutamine of Huntington disease [36].

In order to test this inference, we have performed an experiment by increasing the seed concentration. The results presented in [Fig. 5A](#) invalidate this hypothesis for *in vitro* prion polymerization. Indeed, even at very high concentration of seeds (*i.e.* >10%) an apparent lag time is still obtained suggesting that another phenomenon is responsible for at least a part of this occurrence. As expected (see Eq. (B.9) of [Appendix](#)), the decrease of T_i is correctly approximated by

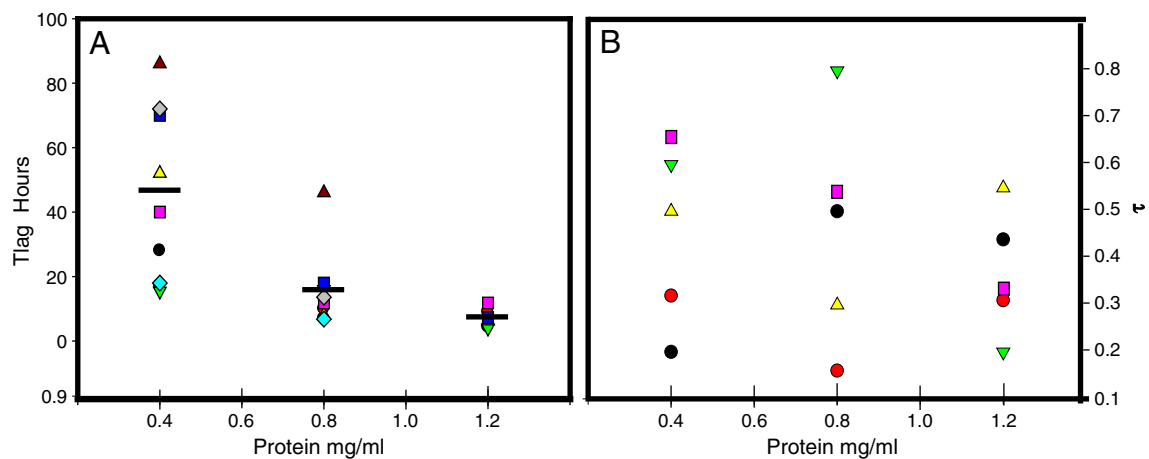


Fig. 4. Lag time (T_{lag}) and rate (τ) dependency of the initial concentration of monomeric rPrP. Kinetics analyses were performed as described in [Experimental procedures](#). Kinetics of amyloid polymerization of rPrP at different concentrations in buffer A at room temperature was obtained in a single experiment (a 96-well plate). Experimental points were used to perform non linear regression using Eq. (1), all the correlation coefficients were greater than 0.99. T_{lag} was calculated according to Eq. (2) (panel A) and τ was deduced directly from Eq. (1) (panel B).

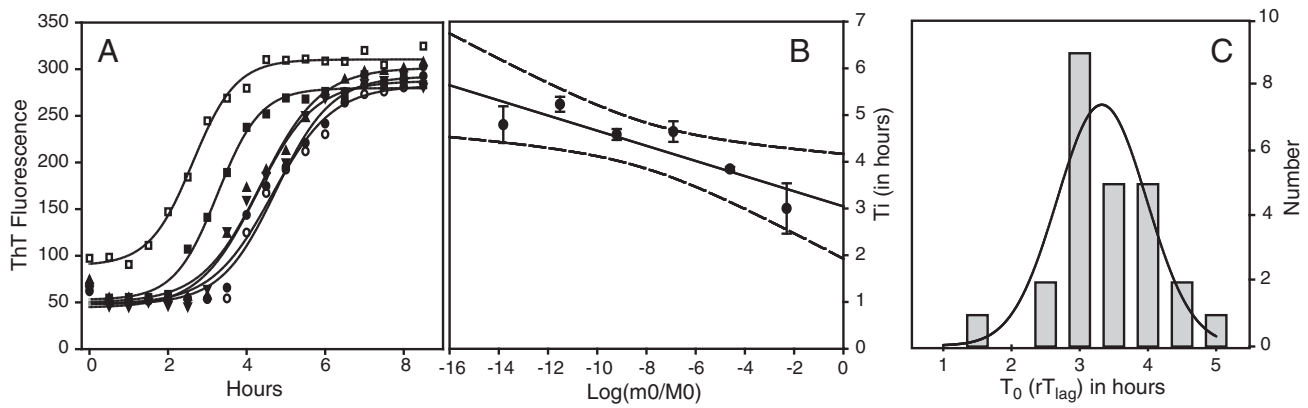


Fig. 5. Lag time did not disappear when seed concentration increased. Kinetics analyses were performed as described in [Experimental procedures](#). Kinetics of amyloid polymerization of rPrP at 0.4 mg/ml in buffer B at room temperature was obtained in a 96-well plate after seeding with m_0 mg/ml of amyloid prepared as described in [Experimental procedures](#). Experimental dots were used to perform nonlinear regression using Eq. (1), all the correlation coefficients were greater than 0.99. T_i was obtained according to Eq. (1). Panel A represents one set of curves obtained among 3 in each experiment. Panel B represents the dependency of T_i against seed quantities in case of polymerization induced by seeding. M_0 is the initial concentration of the monomer and m_0 is the concentration of monomers in the polymers added to seed the reaction. As a consequence, when $m_0 = M_0$, $\text{Log}(m_0/M_0) = 0$, thus the value of T_i obtained at this point represents the delay necessary to begin polymerization. Panel C shows the delay of polymerization measured by T_0 (Eq. (3)). Kinetics experiments were performed as described in [Experimental procedures](#). Kinetics of amyloid polymerization of rPrP at 0.4 mg/ml in buffer B at room temperature was obtained in a 96-well plate after seeding 0.004 mg/ml of amyloid prepared in the same buffer as described in [Experimental procedures](#). Experimental points were used to perform non linear regression using Eq. (3), all the correlation coefficients were greater than 0.99. T_0 was obtained as a parameter of the regression. The curve represents a normal distribution obtained by regression of the T_0 of the experimental values ($r = 0.89$).

a function of the logarithm of the seeding ratio, and the curve intersects the T_i axis around 3 h (with a 95% probability to be between 2 and 4 h) (Fig. 5B). This value could correspond to a residual lag time (T_{rlag} , see Fig. 1B) under the experimental conditions involved. In order to study the mechanisms responsible for this delay, we have developed a model of polymerization that allows us to identify the parameters of the equations obtained (see [Methods and Appendix B](#)). In Eq. (3), the contribution of seeding inside the delay time before polymerization is targeted. Indeed, as detailed in [Appendix B](#), T_0 is the time when seeded polymerization truly begins. Thus, when different from zero, T_0 is a residual lag time (T_{rlag}) not explained by polymerization kinetics. An analysis of the distribution of T_0 confirms that a residual lag time with a mean of 3.3 ± 0.15 h was necessary before polymerization starts (Fig. 5C). This value (3.3 ± 0.15 h) is in good agreement with the one (3 ± 1 h) found by an independent method described above and presented in Fig. 5B. This implies that a time dependent sufficiently long process (*i.e.* 3 h under our experimental conditions) precedes the beginning of polymerization induced by seeding.

Many hypotheses can explain such a phenomenon; however, a simple one would be the existence of a conformational change (see [Supplementary data Fig. S2](#) for a numerical simulation of this hypothesis). Consequently, we decided to test the possibility that a time dependent conformational change leading to an amyloid competent isoform is necessary to begin polymerization. We thus performed an experiment of a delayed seeding to test the possibility that this conformational change comes from the monomer. The results (here with buffer B) show that delayed seeding decreased the lag time but, as a surprise, did not result in its complete disappearance (Fig. 6A and B). The time dependency of the T_{rlag} was well approximated by an exponential curve ($r > 0.98$) that leaves another residual lag time (T_{rrlag}) of 1.7 ± 0.3 h when seeding is performed at 1% and 1.10 ± 0.4 h when seeding is performed at 10%, suggesting that a complex mechanism was involved. Two hypotheses can be made to explain such a result: 1/either amyloid seeds undergo conformational change; 2/or monomer conformational change results from a complex mechanism involving many different steps during conformational changes and one of these steps needs interaction with amyloid.

We tested the first hypothesis: did the amyloid change its structure during the seeding process? In order to investigate this possibility, we decided to fix, with formaldehyde the amyloid before seeding. Fixation

(*i.e.* chemical cross-linking) of the amyloid did not change the dynamics parameters of polymerization (see [Supplementary data Fig. S3](#)). Thus, major structural changes of the seeds were not necessary to start polymerization, leaving as sole explanation a complex mechanism of polymerization that involved monomers. However, any mechanisms involving the monomer should be sensitive to concentration. To challenge this possibility, we decided to change the concentration of monomers (rPrP^C) but kept the same quantity of seeds. A numerical simulation of this experiment, with the simple conformational change hypothesis (a change of conformation is necessary to incorporate monomers into polymers) shows that T_i and consequently T_{lag} should decrease when monomer concentration increase (see [Supplementary data Fig. S4](#)). On the contrary, the experimental results shown in Fig. 6C clearly exhibit an increase of the apparent lag time with respect to the monomer concentration. Thus, a new hypothesis is needed to be added. We then propose that many conformations could co-exist. Some of them would interact with the amyloid polymers but could not polymerize (see model Fig. 11). In order to validate this model, we investigated the consequences of this proposition.

3.4. Heterogeneity of the nucleation process explains dynamics of polymerization

As a consequence of the model proposed above, the nucleation can start with different protein conformations. This hypothesis is sustained by the observation of the dispersion of the T_{lag} (see for example Figs. 2 and 4) that suggests that the reaction is randomly sensitive to the initial conditions *i.e.* the first nucleus formed will dictate the dynamics and probably the polymers structure. As a consequence, various nuclei could be formed independently resulting in heterogeneity of different polymers (see Figs. 2 and 3). This is also obvious when comparing parameters of the kinetics (*i.e.* T_{lag} and $1/\tau$) (see Fig. 4). Fig. 4B shows that the apparent polymerization rate (τ) is widely dispersed not only between buffer conditions but also within the same buffer. Furthermore, the apparent rate of polymerization is totally independent of the initial concentration (Fig. 4B). This result can also be interpreted as heterogeneity of nucleation and subsequent polymer formation. It can be suggested that different nuclei generated structurally different polymers each exhibiting specific polymerization dynamics.

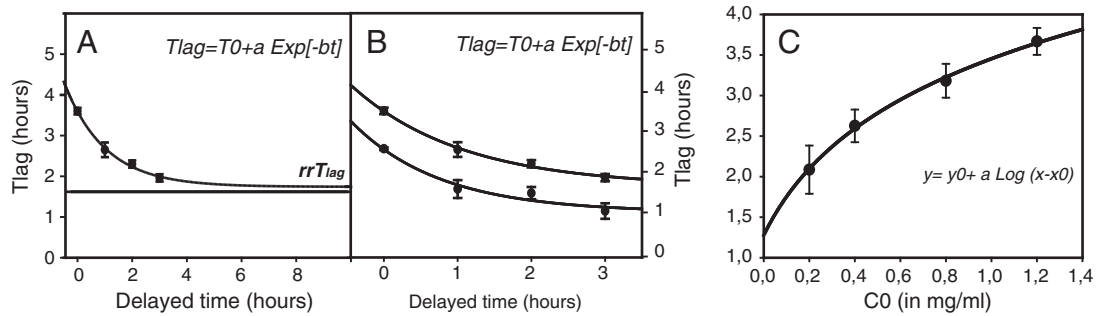


Fig. 6. A and B. Delayed seeding reduced apparent lag Time (T_{lag}) but did not conceal it. Kinetics analyses were performed as described in [Experimental procedures](#). Kinetics of amyloid polymerization of rPrP at 0.4 mg/ml in buffer B at room temperature was obtained in a 96-well plate. Samples were incubated 0, 1, 2 or 3 h before seeding with either 0.004 mg/ml (panels A and B) or 0.04 mg/ml (panel B) of amyloid prepared in the same buffer as described in [Experimental procedures](#). Amyloid polymerization was measured by ThT fluorescence. Experimental points were used to perform non linear regression using Eq. (1) of [Experimental procedures](#), all the correlation coefficients were greater than 0.99. T_{lag} was calculated according to Eq. (2) of [Experimental procedures](#). The points are the average of three independent measurements. We used an exponential function (see figure) to join the points ($r > 0.98$). C. Increasing initial concentration of monomers while the concentration of seeding polymers was kept constant resulted in an increase of T_{lag} . Kinetics analyses were performed as described in [Experimental procedures](#). Kinetics of amyloid polymerization of rPrP in buffer B at different concentration was obtained in a 96-well plate after seeding 0.004 mg/ml of amyloid prepared in the same buffer as described in [Experimental procedures](#). Experimental points were used to perform non linear regression using Eq. (1) in and T_{lag} calculated according to Eq. (2), all the correlation coefficients were greater than 0.99. The points are the mean of 4 independent measurements. We used an exponential function to join the points ($r > 0.99$).

3.5. Electron microscopy analysis confirms heterogeneity of polymer structures

A straight-forward consequence of the previous experiment suggested that structural differences in nucleus formed should lead to polymer heterogeneity. This latter effect should then be observed by microscopy. The polymers, labeled with ThT, have been first observed by fluorescence microscopy. (Samples of the images are shown as [Supplementary data Fig. S5](#)). Indeed very different aspects can be observed, from genuine individual fibrils to huge aggregates where no fibril can be individually distinguished. However, the resolution of optical microscopy, although allowing a large number of sample analyses, cannot distinguish fine structures of the polymers. We thus completed this study by electron microscopy analysis. Many individual experiments reveal specific type of structures even if in some cases the structures look alike ([Fig. 7](#)). Heterogeneity of the polymers, between the preparation and eventually between buffers is

the main observation. A quantitative analysis of the polymers width clearly confirmed the dispersion of the parameters characterizing the structure of the polymers ([Supplementary data Fig. S6](#)).

3.6. Successive seeding allows the selection of more “efficient” amyloid strains

The existence of a structural heterogeneity and the corresponding dynamics parameters have numerous consequences that can be used to better characterize the mechanisms involved. For instance, the results presented above suggest that, in some cases, the apparent rate of polymerization is a mix of many independent rates resulting from the combination of structural and dynamical different amyloids (see [Fig. 7](#) and [Supplementary data Fig. S6](#)). A question arises from this observation: What are the effects of repetitive seeding on this heterogeneous mix? After seeding a solution of monomers, two main parameters (See Appendix) direct the polymerization dynamics: 1/the

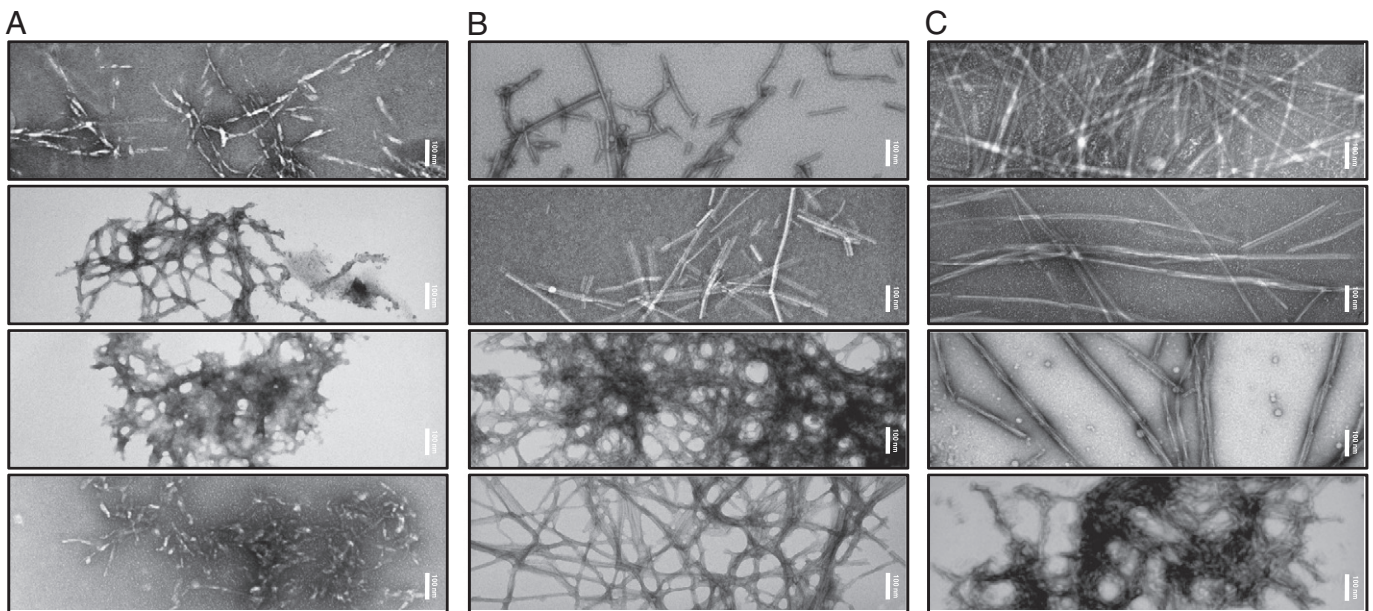


Fig. 7. Electron microscopy analysis confirms the heterogeneity of the amyloid structures. Aliquots of sample obtained after polymerization in buffer A (panel A) or buffer B (panel B), or buffer C (panel C) were proceeded as described in [Experimental procedures](#) for examination in negative stain by Electron microscopy. The images represent an arbitrary selection among many different structures that were observed during this work. Scale bars represent 100 nm.

number of nuclei and 2/the polymerization rate ($1/\tau$) (sensitivity of the polymer to splitting is included in this parameter by the mean length N in Eq. (3)). However, it is quite clear that repetitive seeding will favor the fastest polymerization structures (including true polymerization rate (k), and sensitivity to splitting (N), i.e. k/N in Eq. (3)) leading to a selection of the amyloid fittest to the buffer conditions and agitation used. We thus decided to produce prion-amyloid by repeating seeding and to analyze the kinetic characteristics of the polymerization.

We thus designed an experiment to test the effect of successive seeding on the kinetics of amyloid formation in buffer B. The results evidenced that successive seeding increased the polymerization rate and decreased the T_{lag} strengthening the hypothesis that a selection operates on a heterogeneous population (Fig. 8). According to Pedersen et al. [37], survival-of-the-fittest would be the mechanism causing the preferred amyloid molecular packing that correlates with the conditions present under fibril formation. However, an increase of polymerization rate could also reflect a mechanism of better packing, for instance by zipping a longer beta-core structure, a kind of adaptation.

3.7. Successive seeding in the same buffer conserved the strain characteristics

Another consequence of the heterogeneity of the structure obtained would be the conservation of the nucleus structure during successive seeding. It should be pointed out that such a result would be in conflict with the thermodynamical hypothesis. Indeed, it was suggested by Pedersen et al. [38] using glucagon as model that, under specific conditions, the structure reached by the amyloid is always the same, the one of the minimal energy (a kind of generalization of the Anfinsen principle). This implied that the formation is thermodynamically driven. To decide between these two hypotheses, we selected two preparations that exhibit noticeably different parameters (i.e. ThT binding and dynamics characteristics) and we used these two samples to seed successively independent preparations. The results obtained with buffer B are presented in Fig. 9, the kinetics characteristic (i.e. T_{lag} , τ and fluorescence) and the ThT binding properties remain approximately the same during three successive seedings. To confirm this observation, we have compared the amyloid structure by electron microscopy (see Supplementary data Fig. S7). These results suggest that, at least for a few successive seeding, nucleation is predominant on determining the kind

of structure that is selected and thus seeding conserved the specificities of the amyloid, something reminiscent of the strains phenomenon. However, due to the few number of successive seedings, these observations cannot rule out the thermodynamic fate of the system according “the Ostwald step rules” (see Ref. [39]).

3.8. For prion, fibril nucleation and elongation do not involve similar molecular mechanisms

A consequence of the predominance of the nucleus directed polymerization could be a discrepancy between kinetic parameters polymerization and nucleus formation dynamics. Previous studies of amyloid formation *in vitro* using insulin, glucagon, β 2-microglobuline and different variants of A β (1–40) as model systems have shown that the length of the lag time and the elongation rate are correlated [32,40,41]. To determine whether this is the case for the rPrP used here, the elongation rate ($1/\tau$) and the lag time (T_{lag}) for individual samples of some variants studied were plotted (Fig. 10). As expected from the model deduced from the previous experiments, the results revealed a complete absence of correlation between these two parameters, suggesting a predominance of nucleation parameters in the determination of T_{lag} . This observation indicates a different mechanism of trans conformation of the monomer during fibril nucleation and elongation. This result seems completely different from those obtained with other peptides and proteins [32,40,41], suggesting that prion fibrillation takes a specific way not common to other amyloid formation. However, this is not a fundamental discrepancy but only a different experimental point of view (see Discussion).

4. Discussion

Although prion protein aggregation has been studied for quite a long time, a number of fallacies persist. Probably the most notable is the assumption that a lag time in the kinetics represents a nucleation phase and that the end of such a lag corresponds to cessation of nucleation. This idea was challenged by experimental results obtained by numerous authors that reveal a linear dependency of the T_{lag} with monomer concentration not exceeding a nucleus size of $n \sim 2$. This result, also found for some other amyloid-forming proteins, is challenging for the nucleation theory of prion that was introduced to explain very long delay time before onset of the disease. *In vitro*, this low number of monomers found in the nucleus was generally attributed to an accumulation of large off-pathway species whose formation is competitive with the on-pathway processes that leads to amyloid [25,42,43]. However, in many cases off-pathway appears as an *ad hoc hypothesis* that was difficult to sustain by experimental results, the evidence of odd structures on electron microscopic image cannot be unambiguously interpreted as off-pathway. In some cases, a more complex pattern of the polymerization process was used to explain the complex dynamics of amyloid formation, as for instance the ‘Nucleated Conformational Conversion’ (NCC) of yeast prion element [PSI⁺] [44] or the dispersed phase-mediated fibrillogenesis (PMF) for amylin [30]. In the case of hamster rPrP polymerized *in vitro*, we found no kinetic evidence for an off-pathway, thus, we proposed that an additional path, on-pathway, is necessary to explain the results observed (see Fig. 11 for a schematic representation). This is probably a first step, before nucleation, because we showed that seeded polymerization begins after a delay-time (3 h when considering our experimental conditions) that can be interpreted as the generation of active monomers, resulting probably from a change in spatial structure. Thus, the results presented here can be explained by a complex mechanism that directs conformational changes leading to structural competent monomers. Because the conformational change takes about 3 h under the experimental conditions we used here; it cannot be a simple protein ‘breathing’ that needs only a small fraction

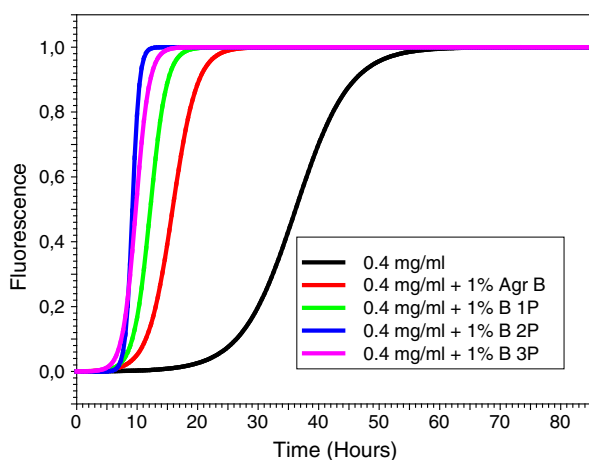


Fig. 8. Repeated seeding leads to a decrease of T_{lag} and an increase of the apparent rate of polymerization ($1/\tau$). Kinetics of amyloid polymerization of the rPrP at 0.4 mg/ml in buffer B at room temperature was obtained in a 96-well plate. The experimental results were used to perform non linear regression according to Eq. (1) of Experimental procedures. They were normalized in order to clearly evidence that the T_{lag} and speed polymerization. The first kinetic (black line) was obtained without seeding. All the other curves were obtained after seeding at 0.004 mg/ml using the previous amyloid as presented on the figure.

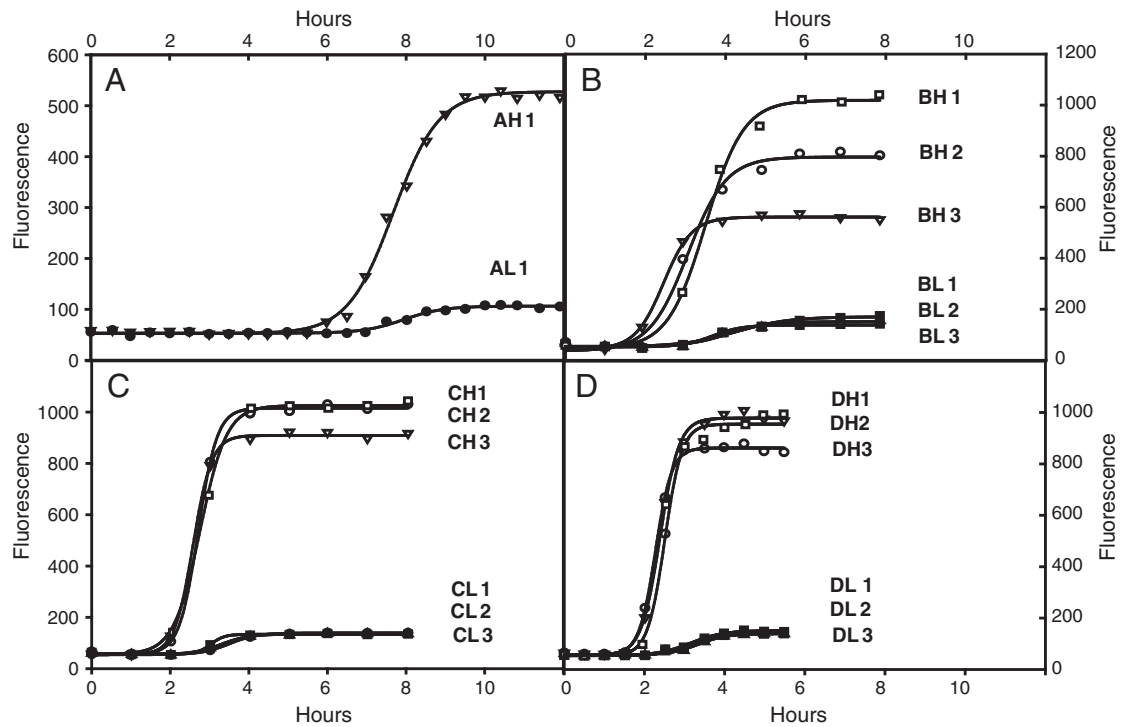


Fig. 9. While decreasing T_{lag} and increasing apparent rate of polymerization ($1/\tau$), strain-maintained during repeated seeding. Successive seeding experiments were performed as follows: amyloid polymerizations of rPrP were obtained at 0.4 mg/ml in buffer B at room temperature in a 96-well plate. A set of polymerization was first performed without seeding and two preparations with very different characteristics (*i.e.* Maximum fluorescence, rate of polymerization and lag time) were selected (panel A). They were called AH1 (Figure A, High fluorescence, sample 1) and AL1 (Figure A, low fluorescence, sample 1). Three aliquots of each were used to seed polymerizations with the same concentration of rPrP (0.4 mg/ml) in the same buffer B. Three independent seeding were done. The kinetics is presented in panel B. BH1, BH2 and BH3 were obtained by seeding with AH1 and BL1, BL2 and BL3 were obtained by seeding with AL1. Experiments were carried on by seeding polymerization with preparation BH1 and BL1. The kinetics obtained is presented in panel C. Finally preparation CH1 and CL1 were used to seed a last polymerization, the kinetics of which are presented in panel D. The experimental results were used to perform non linear regression according Eq. (1) of [Experimental procedures](#).

of a second as for instance in polyglutamine [36]. In the model depicted in Fig. 11, this step is symbolized by a black-box. Unconventional initiation steps of the reaction preceding polymerization have been proposed to explain complex behavior in amyloidogenesis. In the case of polyglutamine this was interpreted as a simple conformational change [36], but, in this model, seeding results in a complete disappearance of the T_{lag} . For α -synuclein the dynamics

was interpreted as a fibrillation process in which oligomeric granular species turn into amyloid fibrils through concerted lateral association of the preformed granules [45], amylin polymerization was also shown by ATF microscopy to result from the association of oligomers [46]. Evidence of the existence of micelles during the fibrillogenesis of beta-amyloid peptide has also been published [47,48]. Taken into account the results we present, we suggest that the time before polymerization is linked to the production of multiple conformations. The molecular mechanisms that sustain this process in the case of hamster rPrP are under investigation.

Structural heterogeneity of the amyloid polymerized from a highly purified protein is a well-established fact [49–52]. A cross- β sheet structure set up the core of amyloid protofilaments that represents the filamentous substructures of mature fibrils. Although the basic structural arrangement of the cross- β structure is conserved for different fibrils, there are different possibilities for them to pack into the three-dimensional fibril structure. Such variable protofilament arrangements can give rise to several distinct amyloid fibril morphologies that were recently unraveled at the atomic level [53]. Structurally polymorphic amyloid fibrils are not only reported for *in vitro* preparations. Examination of several tissue-extracted amyloid fibrils shows also significant structural polymorphism [54]. In prion diseases, the strain phenomenon has been correlated with difference in structure of the associated amyloid [8–11], and it was recently demonstrated that *in vitro* built specific amyloid conformations sustained new phenotypic strains [15]. However, to generate these different structures, Colby et al. [15] used different conditions, decreasing urea, and/or temperature. But, we show here that structural diversity can also be generated under the same environmental conditions, a phenomenon already observed for some other amyloids [49,52]. We made a link between the heterogeneity of

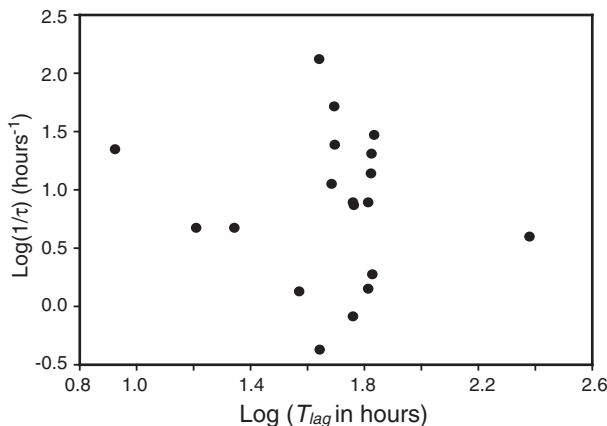


Fig. 10. Under the experimental conditions used, no correlation between apparent rate of polymerization ($1/\tau$) and T_{lag} can be observed. Kinetics of amyloid polymerization of rPrP at 0.4 mg/ml in buffer A at room temperature was obtained in a 96-well plate. Fluorescence was regularly monitored as described in [Experimental procedures](#). Experimental points obtained were used to perform nonlinear regression using Eq. (1), all the correlation coefficients were greater than 0.99. τ was deduced directly from Eq. (1) and T_{lag} was calculated according to Eq. (2).

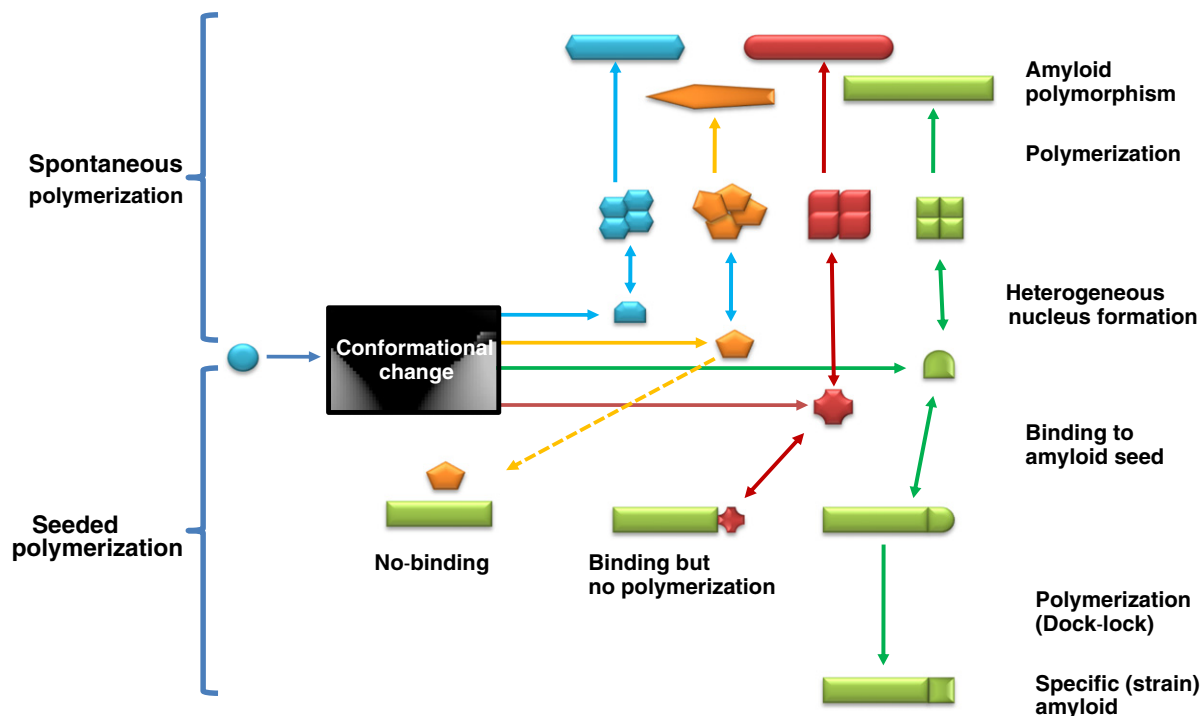


Fig. 11. Model of prion amyloid formation. Amyloidogenesis of prion protein *in vitro* is a nucleation-dependent polymerization process. However, the nucleation is not the main determinant of the lag time, another mechanism should be postulated to explain the weak dependency to the initial concentration of monomers and the residual lag time observed during seeded polymerization. This mechanism is symbolized by a black box and some hypotheses on its nature are proposed in the Discussion. The diversity of the amyloids obtained with the same purified prion protein implies the genesis of different conformers of the monomer, but only the corresponding conformer can react with a precise amyloid used for seeding. This hypothesis would explain not only the heterogeneity of amyloids but also the perpetuation of the strains and results presented here (Fig. 6C) that has shown an inverse dependency of the lag time with initial concentration at constant seed.

structures and the polymerization dynamics. We propose that the different parameters (*i.e.* the rate of polymerization and the sensitivity to agitation) are selected during nucleus formation. The important lag time heterogeneity observed (see Fig. 4) suggests that the first nucleus formed determines the characteristics of the dynamics of polymerization that are encrypted in the amyloid structure. When built, the selected structure propagates because it overcomes nucleation, and then fibril morphology is propagated to daughter fibrils by a template dependent mechanism. Such self-propagating fibril structure represents the structural basis of multiple strains of mammalian prion diseases.

It was observed during serial passage that synthetic prion went to a gradual adaptation with decreasing incubation period [14,15], and we observed a similar phenomenon by successive seeding that reduced T_{lag} and increased polymerization rate. Two interpretations can be proposed: 1/selection of the best adapted structure, *i.e.* those that multiply the most rapidly under the buffer conditions used, or 2/an adaptation of the structure, for example by extending cross-beta structure. These two explanations are not mutually exclusive. Furthermore, the decrease in the lag phase during serial passaging clearly goes against the conformational change hypothesis and argues for simple nuclear heterogeneity. However, to explain the long incubation period, Colby et al. [15] suggested that infectious amyloid is “contaminated” by a so-called intermediate (rPrP^{*}) unfolded protein. From our results it can be proposed that a mixture of “strains” was obtained reducing the quantity of the most infectious strain.

Under the experimental conditions used in this work, there is no evident correlation between lag time and maximal rate (see Fig. 10). This observation appears in contradiction with previous reports [17,32,40,55]. Indeed, these authors have observed that the lag time is generally well correlated with the inverse of the maximal growth rate. This correlation did not appear under the experimental conditions used in our work, but putting the experimental points we have

obtained into a more general graph that takes into account many independent experimental works, our results are in agreement with the previous observations [32,40] (see Supplementary data Fig. S8). What does it mean? This means that, although our results are consistent with the general phenomenon, the specificities of our experiments shed light on a phenomenon not observable when more general aspects are taken into account. According to Knowles et al. [32], when secondary nucleation pathways are active, the experimental results are primarily determined by the exponential growth regime that takes place in the initial phase of the reaction. However, the magnitude of the noise on T_{lag} for the same rate of polymerization is a very important factor. If one selects a range of rate value of 2 the T_{lag} can vary as much as 100 times, and reciprocally if one select a small interval of T_{lag} . In other words: enough variability exists in the experimental results to hide important phenomena. This is the case in our experiments. The physico-chemical conditions of polymerization remain very close in the set of experiments we present, mainly if compared with the set of results compiled by Fandrich [40] or Knowles et al. [32]. Our experimental approach appears to be more adapted to reveal marginal phenomena while compilation of heterogeneous results evidence more general phenomena. However, this marginal phenomenon allows us to shed light on an important phenomenon of the prion diseases, the production of diversity from homogeneous conditions.

Interesting consequences can be proposed in light of this work.

1. The creation of infectious prions from the recombinant protein has been rather disappointing. Although important successes have been published [14,15,56–58], most of the trials have been unsuccessful, raising the question of the reality of this phenomenon. This suggests that only some preparations are infectious. We show here that different structures can be generated from a unique starting condition. If we accept that a relation exists between

structures and strains, our results suggest that only some of the structural strains are infectious, those presenting a set of dynamics parameters in accordance with the *in vivo* polymerization. Such a set has been theoretically predicted [16] and experimentally observed for yeast prion-like elements [59] and a marked structural difference has been evidenced between infectious and non infectious prion amyloids [60]. A question remains: what are the structural characteristics that lead to infectious amyloids and how to direct *in vitro* experiment to obtain them? Are there only dynamics as proposed [59] for yeast prion, or also structural as proposed for *Podospora* prion [61,62]

- The results presented here reveal that many different amyloid structures can be obtained with a highly purified prion protein. Changing polymerization conditions modifies the set of possible structures, and, under a single defined condition this set seems to be very large. This means that probably a huge amount of possibilities is open for new infectious amyloids emergence. As pointed out by C. Soto [63], the possibility that a new amyloid-based plague could emerge, should be taken seriously into account.

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at doi:10.1016/j.bbapap.2011.05.016.

Funding

This work was supported by EC ImmunoPrion Project no. 023144 and ANR grant no. 08-JCJC-0135-01. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Author contributions

Conceived and designed the experiments: J-PL. Performed the experiments: M-TA-M, PF, VZ-S, J-DA. Analyzed the data: JPL, LP-M. Developed the mathematics of the models: LP-M, EH, J-PL. Wrote the paper: J-PL and LP-M. All authors critically read and improved the manuscript.

Acknowledgments

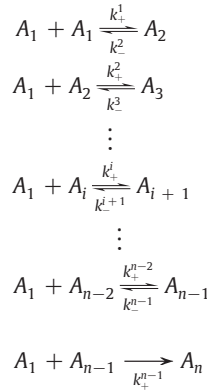
We gratefully acknowledge the helpful assistance of Dr. A. Gross during the experiments with FACS, of Dr J. Torrent during experiments with circular dichroism and F. Godiard for help with electron microscopy. We thank Dr. Glenn Webb for his helpful comments on the manuscript.

Appendix. Derivation of the equations used to analyze the experimental results

A number of quantitative models of amyloid polymerization have been proposed (see for instance Refs. [16,17], and for a review Ref. [20]). However, the complexity of the models and the high number of independent parameters do not generally allow a complete identification of the theoretical parameters with those available by the experiments. But, the experimental methods used during this work render some simplifications available, first because of the reduced number of parameters, but also because some experimental results can be used to validate the choice of some simplifications and so reduce the complexity of more general models. The purpose of this appendix is to propose and to justify simpler models where parameters can be experimentally determined and so to analyze the *in vitro* polymerization kinetics under the experimental conditions used during this work.

Appendix A. Analysis of nucleation without polymerization

If we consider the following nucleation system



A_1 stands for the monomer concentration, $A_i, i=2, \dots, n$ are the intermediate oligomers concentrations, and the k_+^i and k_-^i are the reaction rates depending on the step.

This system simulates the nucleus formation, noted A_n of size n which is the latter step, it is irreversible. At this point, we do not consider elongation after the nucleus formation.

The dynamics is described by the following differential equations

$$\begin{cases} \frac{dA_1}{dt} = -J_1 - \sum_{i=1}^{n-1} J_i \\ \frac{dA_i}{dt} = J_{i-1} - J_i \quad i = 2, \dots, n-1 \\ \frac{dA_n}{dt} = J_{n-1} \end{cases} \quad (A.1)$$

with $J_i = k_+^i A_i A_1 - k_-^{i+1} A_{i+1}$ for $i = 1 \dots n-2$ and $J_{n-1} = k_+^{n-1} A_{n-1}$. Equation on A.1 is deduced by the mass conservation, i.e.

$$\frac{d}{dt} \sum_{i=1}^n iA_i = 0 \quad (A.2)$$

Let us assume that the nucleation is well-balanced. This simplification is generally assumed by most of the models proposed [23,64]. It could be challenged *in vivo* but the homogeneity of the *in vitro* system described here justifies this hypothesis. So, we obtain the following equation regarding the quantities $i = 1 \dots n-1$ at equilibrium (denoted by A_i^{eq}) we obtain from Eq. (A.1) that $J_i = J_{i-1}$, $i = 2 \dots n-1$ and thus

$$-J_1 - \sum_{i=1}^{n-1} J_i = -nJ_1 = 0 \Rightarrow J_i = 0. \quad (A.3)$$

From this system, we can compute A_n^{eq} according to A_1^{eq} , that gives

$$A_n^{eq} = KA_1^{eq^{n-1}} \quad (A.4)$$

$$\text{with } K = \left(\prod_{i=1}^{n-2} \frac{k_+^i}{k_-^{i+1}} \right).$$

If the monomer concentration is considered large enough, and the amount of monomer used for the nucleation steps is insignificant in comparison with the initial monomer concentration, then $A_1^{eq} = A_1(0) = M_0$ where M_0 is the initial concentration of monomer. This assumption is quite straightforward under the conditions used because only some nuclei are necessary to start the polymerization that is afterward sustained by secondary nucleation highly dependent of the breaking of

amyloid fibril during the vigorous stirring used during the *in vitro* polymerization. Taken into account this assumption, combined with Eq. (A.4) it gives

$$A_{n-1}^{eq} = KM_0^{n-1}. \quad (\text{A.5})$$

Now, the time evolution of nucleus concentration is given by

$$\frac{dA_n}{dt} = k_+^{n-1} KM_0^n \quad (\text{A.6})$$

which gives

$$A_n(t) = k_+^{n-1} KM_0^n t \quad (\text{A.7})$$

It is then possible to deduce a lag time of nucleation (T_{nlag}) defined such that

$$nA_n(T_{nlag}) = aM_0 \quad (\text{A.8})$$

Where a is a given fraction of the protein concentration (that can be arbitrary chosen in accordance with experimental measurement purposes) that stands for the proportion of monomers polymerized in nuclei. It needs to be small enough to be consistent with the hypothesis $A_1^{eq} \approx M_0$. Thus, T_{nlag} is given by the following expression

$$T_{nlag} = \frac{a}{nk_+^{n-1} KM_0^{n-1}} \quad (\text{A.9})$$

and, by keeping a constant

$$\log(T_{nlag}) = -(n-1) \log(M_0) + C^{te} \quad (\text{A.10})$$

where C^{te} is a constant.

Appendix B. Polymerization after seeding in an *in vitro* system with vigorous shaking

Let us assume that polymers of size longer than n lengthen by adding one monomer after another. Let us denote by F_i the concentration of polymers of size i , and M the monomer concentration. The lengthening is considered as an irreversible process in agreement with the Dock–Lock mechanism discussed above [65–67] and can be given by



In more general models [16,17,32] the secondary nucleation is inserted into the equations resulting from the possibility of breaking the polymer. This breaking is considered constant leading to a fibril length dependent of the monomer concentration [16,17,32] that give a good representation of *in vivo* kinetics of prion infection [68] and some *in vitro* amyloid polymerization [32]. However, under the conditions used in the experiments described in our work, under vigorous shaking, polymer breaking cannot be considered as constant, it is rapid and leads to homogeneous length of the polymer. This was experimentally proven by the measurement of the mean length of the amyloid during polymerization when concentration varies from initial concentration to zero. Indeed, the lengths remain constant throughout the experiment (see Supplemental, Fig. S9). Such a result was also obtained by Chatani et al. [69] using β 2-microglobuline amyloid and ultrasonication. Thus we assume that the polymer fragmentation process occurs in such a way that it allows the fibrils to have a

constant mean length N throughout the experiment. The following equation on monomers can then be deduced

$$\frac{dM}{dt} = - \sum_{i \geq n} kF_i M = -kFM, \quad (\text{B.2})$$

with $F = \sum F_i$, is the total concentration of polymers. Let us denote by m the monomer mass (that is the number of monomers in polymers), then $m = NF$. Since the total polymer mass is conserved in the system, we have

$$\frac{dM}{dt} + \frac{dm}{dt} = 0. \quad (\text{B.3})$$

Moreover,

$$\frac{dm}{dt} = kFM, \quad (\text{B.4})$$

and

$$m(t) + M(t) = m_0 + M_0 \approx M_0 \quad (\text{B.5})$$

since $m_0 \ll M_0$.

Let replace F by $\frac{m}{N}$ in Eq. (B.4) and M by $M_0 - m$. We obtain then the following differential equation on m

$$\frac{dm}{dt} = k \frac{m}{N} (M_0 - m), \quad (\text{B.6})$$

with the initial condition at $t = T_0$, and

$$m(T_0) = m_0. \quad (\text{B.7})$$

The solution of the logistic in Eq. (B.6) is

$$m(t) = \frac{M_0}{1 + \left(\frac{M_0}{m_0} - 1\right) e^{-\frac{k}{N} M_0 (t - T_0)}}. \quad (\text{B.8})$$

Consequently, $m(0)$ is the quantity of seeding polymers to start the experiments, and T_0 is the time when polymerization begins.

The inflection point at time T_i is:

$$T_i = T_0 + \frac{N}{kM_0} \ln\left(\frac{M_0}{m_0} - 1\right). \quad (\text{B.9})$$

Thus the beginning of the polymerization at time T_0 can easily be deduced from the analysis of the sigmoid. Under these conditions, if $T_0 \neq 0$, it corresponds to a residual lag time (T_{rlag}) when seeding is considered (see Fig. 1).

References

- [1] S.B. Prusiner, Prions, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A 95 (1998) 13363–13383.
- [2] J.H. Come, P.E. Fraser, P.T. Lansbury Jr., A kinetic model for amyloid formation in the prion diseases: importance of seeding, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A 90 (1993) 5959–5963.
- [3] J.T. Jarrett, P.T. Lansbury Jr., Seeding "one-dimensional crystallization" of amyloid: a pathogenic mechanism in Alzheimer's disease and scrapie? Cell 73 (1993) 1055–1058.
- [4] F. Ferrone, Analysis of protein aggregation kinetics, Methods Enzymol. 309 (1999) 256–274.
- [5] C. Chothia, J. Janin, Principles of protein–protein recognition, Nature 256 (1975) 705–708.
- [6] F. Chiti, C.M. Dobson, Protein misfolding, functional amyloid, and human disease, Annu. Rev. Biochem. 75 (2006) 333–366.
- [7] B. Caughey, G.S. Baron, Prions and their partners in crime, Nature 443 (2006) 803–810.
- [8] R.A. Bessen, D.A. Kocisko, G.J. Raymond, S. Nandan, P.T. Lansbury, B. Caughey, Non-genetic propagation of strain-specific properties of scrapie prion protein, Nature 375 (1995) 698–700.

- [9] J. Collinge, K.C. Sidle, J. Meads, J. Ironside, A.F. Hill, Molecular analysis of prion strain variation and the aetiology of 'new variant' CJD, *Nature* 383 (1996) 685–690.
- [10] G.C. Telling, P. Parchi, S.J. DeArmond, P. Cortelli, P. Montagna, R. Gabizon, J. Mastrianni, E. Lugaresi, P. Gambetti, S.B. Prusiner, Evidence for the conformation of the pathologic isoform of the prion protein enciphering and propagating prion diversity, *Science* 274 (1996) 2079–2082.
- [11] D. Peretz, R.A. Williamson, G. Legname, Y. Matsunaga, J. Vergara, D.R. Burton, S.J. DeArmond, S.B. Prusiner, M.R. Scott, A change in the conformation of prions accompanies the emergence of a new prion strain, *Neuron* 34 (2002) 921–932.
- [12] J. Collinge, A.R. Clarke, A general model of prion strains and their pathogenicity, *Science* 318 (2007) 930–936.
- [13] J. Falsig, K.P. Nilsson, T.P. Knowles, A. Aguzzi, Chemical and biophysical insights into the propagation of prion strains, *HFSP J.* 2 (2008) 332–341.
- [14] G. Legname, I.V. Baskakov, H.O. Nguyen, D. Riesner, F.E. Cohen, S.J. DeArmond, S.B. Prusiner, Synthetic mammalian prions, *Science* 305 (2004) 673–676.
- [15] D.W. Colby, K. Giles, G. Legname, H. Wille, I.V. Baskakov, S.J. Dearmond, S.B. Prusiner, Design and construction of diverse mammalian prion strains, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 106 (2009) 20417–20422.
- [16] M.L. Greer, L. Pujo-Menjouet, G.F. Webb, A mathematical analysis of the dynamics of prion proliferation, *J. Theor. Biol.* 242 (2006) 598–606.
- [17] J. Masel, V.A. Jansen, M.A. Nowak, Quantifying the kinetic parameters of prion replication, *Biophys. Chem.* 77 (1999) 139–152.
- [18] J. Masel, V.A. Jansen, Prion kinetics, *Biophys. J.* 87 (2004) 728 author reply 729.
- [19] E.T. Powers, D.L. Powers, The kinetics of nucleated polymerizations at high concentrations: amyloid fibril formation near and above the "supercritical concentration", *Biophys. J.* 91 (2006) 122–132.
- [20] A.M. Morris, M.A. Watzky, R.G. Finke, Protein aggregation kinetics, mechanism, and curve-fitting: a review of the literature, *Biochim. Biophys. Acta* 1794 (2009) 375–397.
- [21] C.C. Lee, A. Nayak, A. Sethuraman, G. Belfort, G.J. McRae, A three-stage kinetic model of amyloid fibrillation, *Biophys. J.* 92 (2007) 3448–3458.
- [22] R.F. Goldstein, L. Stryer, Cooperative polymerization reactions. Analytical approximations, numerical examples, and experimental strategy, *Biophys. J.* 50 (1986) 583–599.
- [23] F. Oosawa, M. Kasai, A theory of linear and helical aggregations of macromolecules, *J. Mol. Biol.* 4 (1962) 10–21.
- [24] M.T. Alvarez-Martinez, J. Torrent, R. Lange, J.M. Verdier, C. Balny, J.P. Liutard, Optimized overproduction, purification, characterization and high-pressure sensitivity of the prion protein in the native (PrP(C)-like) or amyloid (PrP(Sc)-like) conformation, *Biochim Biophys Acta* 1645 (2003) 228–240.
- [25] I.V. Baskakov, O.V. Bocharova, In vitro conversion of mammalian prion protein into amyloid fibrils displays unusual features, *Biochemistry* 44 (2005) 2339–2348.
- [26] J. Wall, A. Solomon, Flow cytometric characterization of amyloid fibrils, *Methods Enzymol.* 309 (1999) 460–466.
- [27] J.W. Kelly, The alternative conformations of amyloidogenic proteins and their multi-step assembly pathways, *Curr. Opin. Struct. Biol.* 8 (1998) 101–106.
- [28] S.R. Collins, A. Douglass, R.D. Vale, J.S. Weissman, Mechanism of prion propagation: amyloid growth occurs by monomer addition, *PLoS Biol.* 2 (2004) e321.
- [29] S. Chen, F.A. Ferrone, R. Wetzel, Huntington's disease age-of-onset linked to polyglutamine aggregation nucleation, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 99 (2002) 11884–11889.
- [30] S.B. Padrick, A.D. Miranker, Islet amyloid: phase partitioning and secondary nucleation are central to the mechanism of fibrillogenesis, *Biochemistry* 41 (2002) 4694–4703.
- [31] E.T. Powers, D.L. Powers, Mechanisms of protein fibril formation: nucleated polymerization with competing off-pathway aggregation, *Biophys. J.* 94 (2008) 379–391.
- [32] T.P. Knowles, C.A. Waudby, G.L. Devlin, S.I. Cohen, A. Aguzzi, M. Vendruscolo, E.M. Terentjev, M.E. Welland, C.M. Dobson, An analytical solution to the kinetics of breakable filament assembly, *Science* 326 (2009) 1533–1537.
- [33] D.P. Hong, A.L. Fink, Independent heterologous fibrillation of insulin and its B-chain peptide, *Biochemistry* 44 (2005) 16701–16709.
- [34] K.C. Evans, E.P. Berger, C.G. Cho, K.H. Weisgraber, P.T. Lansbury Jr., Apolipoprotein E is a kinetic but not a thermodynamic inhibitor of amyloid formation: implications for the pathogenesis and treatment of Alzheimer disease, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 92 (1995) 763–767.
- [35] P. Hortschansky, V. Schroeckh, T. Christopeit, G. Zandomeni, M. Fandrich, The aggregation kinetics of Alzheimer's beta-amyloid peptide is controlled by stochastic nucleation, *Protein Sci.* 14 (2005) 1753–1759.
- [36] R. Wetzel, Kinetics and thermodynamics of amyloid fibril assembly, *Acc. Chem. Res.* 39 (2006) 671–679.
- [37] J.S. Pedersen, D. Dikov, J.L. Flink, H.A. Hjuler, G. Christiansen, D.E. Otzen, The changing face of glucagon fibrillation: structural polymorphism and conformational imprinting, *J. Mol. Biol.* 355 (2006) 501–523.
- [38] J.S. Pedersen, D.E. Otzen, Amyloid-a state in many guises: survival of the fittest fibril fold, *Protein Sci.* 17 (2008) 2–10.
- [39] P.R. ten Wolde, D. Frenkel, Homogeneous nucleation and the Ostwald step rule, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 1 (1999) 2191–2196.
- [40] M. Fandrich, Absolute correlation between lag time and growth rate in the spontaneous formation of several amyloid-like aggregates and fibrils, *J. Mol. Biol.* 365 (2007) 1266–1270.
- [41] G.W. Platt, K.E. Routledge, S.W. Homans, S.E. Radford, Fibril growth kinetics reveal a region of beta2-microglobulin important for nucleation and elongation of aggregation, *J. Mol. Biol.* 378 (2008) 251–263.
- [42] E. Rhoades, J. Agarwal, A. Gafni, Aggregation of an amyloidogenic fragment of human islet amyloid polypeptide, *Biochim Biophys Acta* 1476 (2000) 230–238.
- [43] P.O. Souillac, V.N. Uversky, A.L. Fink, Structural transformations of oligomeric intermediates in the fibrillation of the immunoglobulin light chain LEN, *Biochemistry* 42 (2003) 8094–8104.
- [44] T.R. Serio, A.G. Cashikar, A.S. Kowal, G.J. Sawicki, J.J. Moslehi, L. Serpell, M.F. Arnsdorf, S.L. Lindquist, Nucleated conformational conversion and the replication of conformational information by a prion determinant, *Science* 289 (2000) 1317–1321.
- [45] G. Bhak, J.H. Lee, J.S. Hahn, S.R. Paik, Granular assembly of alpha-synuclein leading to the accelerated amyloid fibril formation with shear stress, *PLoS One* 4 (2009) e4177.
- [46] J.D. Green, C. Goldsbury, J. Kistler, G.J. Cooper, U. Aebi, Human amylin oligomer growth and fibril elongation define two distinct phases in amyloid formation, *J. Biol. Chem.* 279 (2004) 12206–12212.
- [47] A. Lomakin, D.S. Chung, G.B. Benedek, D.A. Kirschner, D.B. Teplow, On the nucleation and growth of amyloid beta-protein fibrils: detection of nuclei and quantitation of rate constants, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 93 (1996) 1125–1129.
- [48] R. Sabate, J. Estelrich, Evidence of the existence of micelles in the fibrillogenesis of beta-amyloid peptide, *J. Phys. Chem. B* 109 (2005) 11027–11032.
- [49] C.S. Goldsbury, G.J. Cooper, K.N. Goldie, S.A. Muller, E.L. Saafi, W.T. Grujters, M.P. Misur, A. Engel, U. Aebi, J. Kistler, Polymorphic fibrillar assembly of human amylin, *J. Struct. Biol.* 119 (1997) 17–27.
- [50] A.T. Petkova, R.D. Leapman, Z. Guo, W.M. Yau, M.P. Mattson, R. Tycko, Self-propagating, molecular-level polymorphism in Alzheimer's beta-amyloid fibrils, *Science* 307 (2005) 262–265.
- [51] W.S. Gosal, I.J. Morten, E.W. Hewitt, D.A. Smith, N.H. Thomson, S.E. Radford, Competing pathways determine fibril morphology in the self-assembly of beta2-microglobulin into amyloid, *J. Mol. Biol.* 351 (2005) 850–864.
- [52] J. Meinhardt, C. Sachse, P. Hortschansky, N. Grigorieff, M. Fandrich, Abeta(1–40) fibril polymorphism implies diverse interaction patterns in amyloid fibrils, *J. Mol. Biol.* 386 (2009) 869–877.
- [53] J.J. Wiltzius, M. Landau, R. Nelson, M.R. Sawaya, M.I. Apostol, L. Goldschmidt, A.B. Soriaga, D. Cascio, K. Rajashankar, D. Eisenberg, Molecular mechanisms for protein-encoded inheritance, *Nat. Struct. Mol. Biol.* 16 (2009) 973–978.
- [54] J.L. Jimenez, G. Tennent, M. Pepys, H.R. Saibil, Structural diversity of ex vivo amyloid fibrils studied by cryo-electron microscopy, *J. Mol. Biol.* 311 (2001) 241–247.
- [55] L. Zhu, X.J. Zhang, L.Y. Wang, J.M. Zhou, S. Perrett, Relationship between stability of folding intermediates and amyloid formation for the yeast prion Ure2p: a quantitative analysis of the effects of pH and buffer system, *J. Mol. Biol.* 328 (2003) 235–254.
- [56] J. Castilla, P. Saa, C. Hetz, C. Soto, In vitro generation of infectious scrapie prions, *Cell* 121 (2005) 195–206.
- [57] N.R. Deleault, B.T. Harris, J.R. Rees, S. Supattapone, Formation of native prions from minimal components in vitro, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 104 (2007) 9741–9746.
- [58] F. Wang, X. Wang, C.G. Yuan, J. Ma, Generating a prion with bacterially expressed recombinant prion protein, *Science* 327 (2010) 1132–1135.
- [59] M. Tanaka, S.R. Collins, B.H. Toyama, J.S. Weissman, The physical basis of how prion conformations determine strain phenotypes, *Nature* 442 (2006) 585–589.
- [60] H. Wille, W. Bian, M. McDonald, A. Kendall, D.W. Colby, L. Bloch, J. Ollesch, A.L. Borovinsky, F.E. Cohen, S.B. Prusiner, G. Stubbs, Natural and synthetic prion structure from X-ray fiber diffraction, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 106 (2009) 16990–16995.
- [61] C. Ritter, M.L. Maddelein, A.B. Siemer, T. Luhrs, M. Ernst, B.H. Meier, S.J. Saupé, R. Riek, Correlation of structural elements and infectivity of the HET-s prion, *Nature* 435 (2005) 844–848.
- [62] R. Sabate, U. Baxa, L. Benkemoun, N. Sanchez de Groot, B. Couлары-Salin, M.L. Maddelein, L. Malato, S. Ventura, A.C. Steven, S.J. Saupé, Prion and non-prion amyloids of the HET-s prion forming domain, *J. Mol. Biol.* 370 (2007) 768–783.
- [63] C. Soto, L. Estrada, J. Castilla, Amyloids, prions and the inherent infectious nature of misfolded protein aggregates, *Trends Biochem. Sci.* 31 (2006) 150–155.
- [64] J. Hofrichter, P.D. Ross, W.A. Eaton, Kinetics and mechanism of deoxyhemoglobin S gelation: a new approach to understanding sickle cell disease, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 71 (1974) 4864–4868.
- [65] W.P. Esler, E.R. Stimson, J.M. Jennings, H.V. Vinters, J.R. Ghilardi, J.P. Lee, P.W. Mantyh, J.E. Maggio, Alzheimer's disease amyloid propagation by a template-dependent dock-lock mechanism, *Biochemistry* 39 (2000) 6288–6295.
- [66] M. Gobbi, L. Colombo, M. Morbin, G. Mazzoleni, E. Accardo, M. Vanoni, E. Del Favero, L. Cantu, D.A. Kirschner, C. Manzoni, M. Beeg, P. Ceci, P. Ubezio, G. Forloni, F. Tagliavini, M. Salmons, Gerstmann-Straussler-Scheinker disease amyloid protein polymerizes according to the "dock-and-lock" model, *J. Biol. Chem.* 281 (2006) 843–849.
- [67] E.P. O'Brien, Y. Okamoto, J.E. Straub, B.R. Brooks, D. Thirumalai, Thermodynamic perspective on the dock-lock growth mechanism of amyloid fibrils, *J. Phys. Chem. B* 113 (2009) 14421–14430.
- [68] J. Masel, N. Genoud, A. Aguzzi, Efficient inhibition of prion replication by PrP-Fc(2) suggests that the prion is a PrP(Sc) oligomer, *J. Mol. Biol.* 345 (2005) 1243–1251.
- [69] E. Chatani, Y.H. Lee, H. Yagi, Y. Yoshimura, H. Naiki, Y. Goto, Ultrasonication-dependent production and breakdown lead to minimum-sized amyloid fibrils, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 106 (2009) 11119–11124.

FRAGMENTATION AND MONOMER LENGTHENING OF ROD-LIKE POLYMERS, A RELEVANT MODEL FOR PRION PROLIFERATION

IONEL SORIN CIUPERCA¹, ERWAN HINGANT¹

LIVIU IULIAN PALADE² AND LAURENT PUJO-MENJOUET¹

¹Université de Lyon, CNRS UMR 5208, Université Lyon 1
Institut Camille Jordan
43, blvd. du 11 novembre 1918
F-69622 Villeurbanne cedex, France

²Université de Lyon, CNRS UMR 5208, INSA-Lyon
Institut Camille Jordan
21, avenue Jean Capelle
F-69621 Villeurbanne cedex, France

(Communicated by Glenn Webb)

ABSTRACT. The Greer, Pujou-Menjouet and Webb model [Greer *et al.*, J. Theoret. Biol., **242** (2006), 598–606] for prion dynamics was found to be in good agreement with experimental observations under no-flow conditions. The objective of this work is to generalize the problem to the framework of general polymerization-fragmentation under flow motion, motivated by the fact that laboratory work often involves prion dynamics under flow conditions in order to observe faster processes. Moreover, understanding and modelling the microstructure influence of macroscopically monitored non-Newtonian behaviour is crucial for sensor design, with the goal to provide practical information about ongoing molecular evolution. This paper's results can then be considered as one step in the mathematical understanding of such models, namely the proof of positivity and existence of solutions in suitable functional spaces. To that purpose, we introduce a new model based on the rigid-rod polymer theory to account for the polymer dynamics under flow conditions. As expected, when applied to the prion problem, in the absence of motion it reduces to that in Greer *et al.* (2006). At the heart of any polymer kinetical theory there is a configurational probability diffusion partial differential equation (PDE) of Fokker-Planck-Smoluchowski type. The main mathematical result of this paper is the proof of existence of positive solutions to the aforementioned PDE for a class of flows of practical interest, taking into account the flow induced splitting/lengthening of polymers in general, and prions in particular.

2000 *Mathematics Subject Classification.* Primary: 35Q92, 82D60; Secondary: 35A05.

Key words and phrases. Prion fragmentation-lengthening dynamics, rigid-rod polymer kinetical theory, probability configurational Fokker-Planck-Smoluchowski equation, existence of solutions, protein.

This work was supported by ANR grant MADCOW no. 08-JCJC-0135-CSD5.

1. Introduction.

1.1. Taking space into account for our problem: What is new in biology, what is new in mathematics? In 1999, Masel *et al.* [12] introduced a new model of polymerization in order to quantify some kinetic parameters of prion replication. This work was based on a deterministic discrete model developed into an infinite system of ordinary differential equations, one for each possible fibril length. In 2006, Greer *et al.* in [6] modified this model to create a continuum of possible fibril lengths described by a partial differential equation coupled with an ordinary differential equation. This approach appeared to be “conceptually more accessible and mathematically more tractable with only six parameters, each of which having a biological interpretation” [6]. However, based on discussions with biologists, it appeared that these models were not well adapted for *in vitro* experiments. In these experiments, proteins are put in tubes and shaken permanently throughout the experiment to induce an artificial splitting in order to accelerate the polymerization-fragmentation mechanism. To the best of our knowledge, dependence of polymer and monomer interaction on the shaking orientation and strength, space competition and fluid viscosity had never been taken into account until now. Thus, it seemed natural to propose a model generalizing the Greer model and adapt it to the specific expectations of the biologists.

We therefore introduce a new model of polymer and monomer interacting in a fluid, with the whole system subjected to motion. A large range of *in vitro* experiments involving this protein refers to this protocol in order to accelerate the polymerization-fragmentation process. Moreover, even as our model could be well adapted to other polymer-monomer interaction studies, we give here a specific application to prion dynamics to make an interesting link with the previous Masel *et al.* [12] and Greer *et al.* [6] models. On the other hand, due to the complexity of the model, any mathematical analysis becomes a challenge. We adapt here a technique of semi-discretization in time for proving the main result of existence of positive solutions, we also provide the basis for the numerical approximation of the problem. The mathematical novelty of this paper resides in the choice of the *ad hoc* function spaces and the appropriate modification of the existing techniques to this new type of problem. Also this work presents an alternative way for proving the existence of positive solutions as compared to the one given by Engler *et al.* in [5], Laurençot and Walker in [11] and Simonett and Walker in [17]. It is then useful to those who consider which techniques to use when proving the existence of positive solutions of this class of equations.

The objective of this paper is twofold: not only to make a step forward in mathematical modelling of a class of polymer-monomer interaction models, but also to propose, within a new framework, how to adapt an existing mathematical technique that will prove the existence of positive solutions to the problem. The biological implications (*e.g.* quantitative and qualitative comparison with experimental data) of this paper model will be addressed in a subsequent work.

1.2. The polymer-monomer interaction model: An application to prion dynamics. Prion proliferation is challenging at both the biological and mathematical levels. Prions are responsible for several diseases such as *bovine spongiform encephalopathy*, *Creutzfeld-Jacob disease*, *Kuru* and it is now commonly accepted that prions are proteins [14].

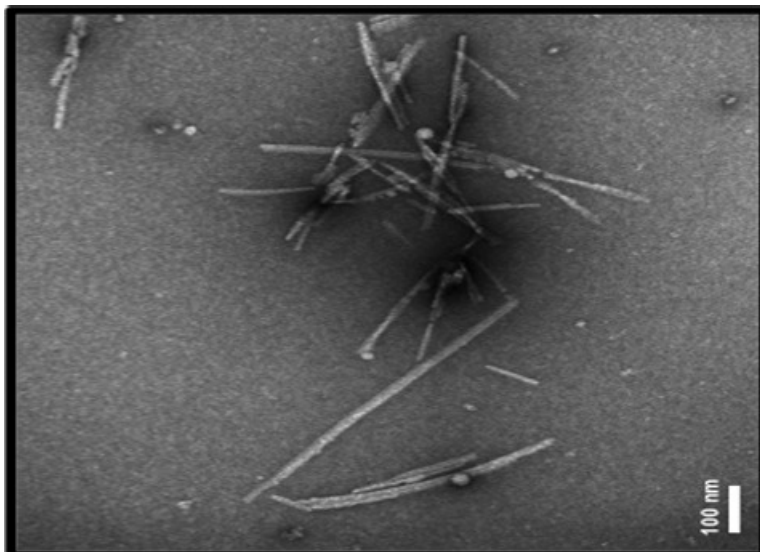


FIGURE 1. View of prion fibrils, Transmission Electron Microscopy image (Courtesy of Prof. J.-P. Liautard, INSERM Université Montpellier 2, France).

For the sake of clarity, we present several fundamental morphological features of prions with relevance to the mathematical modelling of this paper (*i.e.* molecular dynamics of a low enough concentration prion solution).

There are two types of prions: the *Prion Protein Cellular* also called PrP^C and *Prion Protein Scrapie* denoted by PrP^{Sc} . It has been proven that PrP^C proteins are naturally synthesized by mammalian cells and consist only of monomers. On the other hand, the infectious PrP^{Sc} proteins are present only in pathologically altered cells and exist only in “polymer”-shape. The conversion process of a non-pathological into a pathologically modified one consists in attaching the former to an already existing polymer (for details see *e.g.* [10]). As a consequence, the polymers lengthen. However the sized-up new polymers are fragile, and shorten down their size by splitting whenever the polymer solution is subjected to some flow conditions. The size lengthening/shortening process takes place continuously, its kinetics being dependent on monomer concentration, flow intensity, polymer size, etc.

Polymers may be seen as string-like molecules [16]. When polymer proliferation occurs, they do interact to form fibrils; these latter exhibit a (physically speaking) more stable structure and appear as rod-like molecules (see figure 1).

In this paper we deal with idealized rod-like PrP^{Sc} , a realistic choice taking into account the flow-related experiments we investigate. We consider the presence of a finite amount of PrP^C (free monomers) and PrP^{Sc} proteins, as well as of “seeding” rod-like PrP^{Sc} at initial condition, and fibril lengthening/splitting (*i.e.* fragmentation). It is also important to note that our model is related to *in vitro* experiments: neither source terms of monomers and polymers nor degradation rates are taken into account.

We propose a comprehensive molecular model that accounts for the flow behavior as observed in *in vitro* experiments, focusing on the dynamics of monomers and

fibrils. A good deal of experimental laboratory work involves complex flows (*e.g.* diffusion, mixing, etc.). Raw data are provided by sensors designed to acquire macroscopically observable properties like stresses, flow rates, etc. The latter can strongly be influenced by the microscopic interactions. Our model does provide an understanding of how various polymers-monomer and polymer-solvent relationship result in a configurational probability diffusion equation, with the help of which one can investigate the stress tensor and related quantities. Therefore, it is of use for flow pattern monitoring sensors.

The current approach is at an early stage of development. The scission (breakage) process - the most important mechanism in the *in vitro* development/proliferation of infectious proteins - is taken three-dimensionally. While prior models such as those of [6, 12] (for mathematically in nature aspects related to, see [2, 5, 7, 11, 15, 16, 17, 18]) neglect the flow influence on prion dynamics, the one in [6] was rather succesful in predicting prion molecular dynamics in the *in vivo* rest state, and our model is a generalization of [6].

The prion fiber is modelled as a rigid rod polymer molecule the length of which is time dependent; see figure 2.

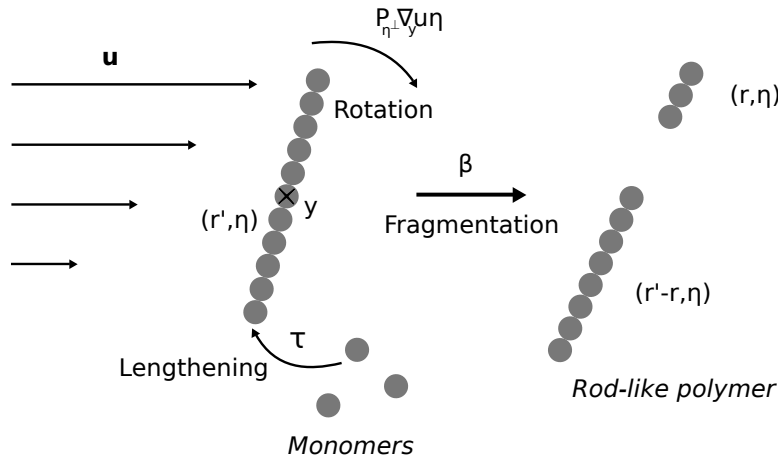


FIGURE 2. Prion fibril modelized as rigid rod polymer under flow.

The dynamics of rigid rod molecular fluids has been initiated by Kirkwood [9] and significantly enriched and brought to fruition by Bird and his school [1] (see also [8] for a more succinct presentation). As in any kinetical theory, the cornerstone is the probability of the configurational diffusion equation, which is of a Fokker-Planck-Smoluchowski type. The latter is the key ingredient for calculating (the macroscopic) stress tensor and related quantities. In the following we shall derive a suitable generalization of equations 14.2-8 in [1] that account for prion dynamics as observed in experiments [3, 14, 19].

This paper begins by first presenting the constitutive assumptions which later lead to the probability configurational diffusion equation in its general form. We give a mathematical conceptual framework and a presentation of the main result: the existence of global weak non-negative solution. To achieve this, we obtain a variational formulation of the corresponding boundary value problem, and the

proof is based on a semi-discretization in time technique. The uniqueness of the solution will be proved in a subsequent paper.

1.3. The general model.

1.3.1. *Polymers.* Let a fiber be modeled as a rod-like molecule here represented by a vector in \mathbb{R}^3 . For convenience, we use separate symbols for the length $r \in \mathbb{R}_+ = (0, +\infty)$, and for the angle-vector $\eta \in \mathbb{S}^2$, with \mathbb{S}^2 being the unit sphere of \mathbb{R}^3 . Contrary to the assumption made in [6] and for simplicity, we assume here that polymers could be arbitrary small, that is no critical (lower) length is considered (this assumption is explained in [4]). For technical reasons and without any loss of realistic assumptions, we suppose that fibers are contained in a bounded, smooth open set Ω in \mathbb{R}^3 , and the position of each fiber center of mass is denoted by the vector \mathbf{y} . We assume a velocity vector field $\mathbf{u} : \Omega \times \mathbb{R}_+ \rightarrow \mathbb{R}^3$ such that

$$\nabla_{\mathbf{y}} \cdot \mathbf{u} = 0 \text{ in } \Omega, \text{ and } \mathbf{u} \cdot \vec{n} = 0 \text{ on } \partial\Omega. \tag{1}$$

with \vec{n} the outward normal. The polymer configurational probability distribution function $\psi(r, \eta, \mathbf{y}, t)$, at any time $t > 0$, solves the following equation

$$\frac{\partial}{\partial t} \psi + \mathbf{u} \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \psi + \frac{\partial}{\partial r} (\tau(\phi, \mathbf{u}, r, \eta) \psi) = \mathcal{B}\psi + \mathcal{F}\psi. \tag{2}$$

with $(r, \eta, \mathbf{y}) \in \mathbb{R}_+ \times \mathbb{S}^2 \times \Omega$. Fibers are transported by the velocity vector field \mathbf{u} and lengthening occurs at a rate $\tau \geq 0$ that depends on the free monomers density, ϕ . In dilute regime, the microscopic hydrodynamics is accounted for by the term \mathcal{B} as in [13] and defined by

$$[\mathcal{B}\psi](r, \eta, \mathbf{y}, t) = A(r) \nabla_{\eta} \cdot [D_1 \nabla_{\eta} \psi - P_{\eta^\perp} (\nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{u} \eta) \psi], \tag{3}$$

where ∇_{η} and $(\nabla_{\eta} \cdot)$ denote the gradient and divergence on \mathbb{S}^2 . $A \geq 0$ is a weight function that accounts for the influence of the length increase upon the motion and $D_1 > 0$ the diffusion coefficient on the sphere. Moreover, the transport on the sphere due to the velocity field is given by $P_{\eta^\perp} (\nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{u} \eta)$, with $P_{\eta^\perp} \mathbf{z} = \mathbf{z} - (\mathbf{z} \cdot \eta)\eta$, for all $\mathbf{z} \in \mathbb{R}^3$, denoting the projection of the vector \mathbf{z} on the tangent space at η . The fragmentation (scission) process takes place at rate $\beta(\nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{u}, \mathbf{u}, r, \eta) \geq 0$ and is described by \mathcal{F} following [6] and given by

$$[\mathcal{F}\psi](r, \eta, \mathbf{y}, t) = -\beta\psi + 2 \int_r^\infty \beta(\nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{u}, \mathbf{u}, r', \eta) \kappa(r, r') \psi(r', \eta, \mathbf{y}, t) dr'. \tag{4}$$

The size redistribution kernel κ accounts for the fact that a polymer breaks into smaller fibers. It is symmetric, since a polymer of size r' breaks with equal probability into a fiber of size $r' - r$ and r ; moreover, the fragmentation/recombination is mass preserving process. We assume here that upon splitting, given the peculiarity of the motion process, and its impact on the scission, the resulting clusters of fibrils have the same center of mass as the initial polymer. It seems reasonable to assume that the orientation remains unchanged right after the scission. Therefore: $\kappa(r, r') \geq 0$, $\kappa(r, r') = 0$ if $r > r'$, $\kappa(r' - r, r') = \kappa(r, r')$ and

$$\int_0^{r'} \kappa(r, r') dr = 1. \tag{5}$$

The probability configurational function ψ must be a non-negative solution, satisfying the non-zero size boundary condition

$$\psi(0, \eta, \mathbf{y}, t) = 0, \tag{6}$$

and the initial condition

$$\psi(r, \eta, \mathbf{y}, 0) = \psi^0(r, \eta, \mathbf{y}), \quad (7)$$

with ψ^0 a known non-negative initial probability.

1.3.2. *Monomers.* The concentration of free monomers, given by the distribution $\phi(\mathbf{y}, t)$ at time $t > 0$ at any $\mathbf{y} \in \Omega$, solves

$$\frac{\partial}{\partial t} \phi + \mathbf{u} \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \phi - D_2 \Delta \phi = - \int_{\mathbb{S}^2 \times \mathbb{R}_+} \tau(\phi, \mathbf{u}, r, \eta) \psi(r, \eta, \mathbf{y}, t) dr d\eta, \quad (8)$$

with $D_2 > 0$ the diffusion coefficient. The integral term is due to polymerization of monomers, being transconformed (misfolded), into fibers. Moreover, monomer concentration ϕ must be a non-negative solution satisfying the (no transport across) boundary condition

$$\nabla_{\mathbf{y}} \phi \cdot \vec{n} = 0 \text{ on } \partial\Omega, \quad (9)$$

with \vec{n} the outward normal vector on the boundary $\partial\Omega$, as well as the initial condition

$$\phi(\mathbf{y}, 0) = \phi^0(\mathbf{y}), \quad (10)$$

with ϕ^0 an initially non-negative given concentration. We adjoin to these equations the balance equation for the total number of monomers contained in the domain Ω :

$$\int_{\Omega} \left[\phi(\mathbf{y}, t) + \int_{\mathbb{R}_+ \times \mathbb{S}^2} r \psi(r, \eta, \mathbf{y}, t) d\eta dr \right] d\mathbf{y} = \rho, \text{ for all } t \geq 0, \quad (11)$$

where ρ is (experimentally) known from the outset. The above balance equation is formally satisfied, as a consequence of equations (2)–(8) using also (1).

1.3.3. *Velocity vector field and momentum balance equations.* As an aside, notice the velocity vector field, $\mathbf{u}(t, \mathbf{y}) \in \mathbb{R}^3$, for all $t > 0$ and $\mathbf{y} \in \Omega$, satisfies the Navier-Stokes equations (for incompressible fluids)

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial t} \mathbf{u} + (\mathbf{u} \cdot \nabla) \mathbf{u} &= -\nabla p + \nu \Delta \mathbf{u} - \nabla \cdot \mathbf{S}, \\ \nabla \cdot \mathbf{u} &= 0, \\ \mathbf{u} \cdot \vec{n} &= 0. \end{aligned} \quad (12)$$

p is the pressure, ν the viscosity of the Newtonian solvent within which the prions (*i.e.* rigid-rod molecules) are dissolved, and \mathbf{S} is the non-Newtonian extra stress tensor contribution (to the total stress) due to the presence of rigid rods. The latter is given by [1] as

$$\mathbf{S}(\mathbf{y}, t) = \int_{\mathbb{R}_+} r^2 \int_{\mathbb{S}^2} \eta \otimes \eta \psi d\eta dr. \quad (13)$$

In this paper, we suppose that \mathbf{u} is given and the unknown functions are only ψ and ϕ . The existence and uniqueness of the solutions to the full system with the Navier-Stokes equations introduced above (that is \mathbf{u} , ψ and ϕ) will be the topic of a subsequent paper.

1.4. **Constitutive assumptions.** Assume the velocity vector field satisfies the regularity

$$\mathbf{u} \in C^1([0, \infty), W^{1,\infty}(\Omega)) \tag{14}$$

such that

$$\nabla_{\mathbf{y}} \cdot \mathbf{u} = 0 \text{ and } \mathbf{u} \cdot \vec{n} = 0 \text{ on } \partial\Omega. \tag{15}$$

Next, we adhere to the view on prion proliferation expressed in [6, 7, 12, 15]. The splitting (scission) rate of fibers, given by β , is assumed to be linear in r . Therefore let $g : M_3(\mathbb{R}) \times \mathbb{R}^3 \times \mathbb{S}^2 \rightarrow \mathbb{R}_+$ be continuous with respect to the first and second variable, such that $\beta(\sigma, \mathbf{v}, r, \eta) = g(\sigma, \mathbf{v}, \eta) r$, for all $\sigma \in M_3(\mathbb{R})$, $\mathbf{v} \in \mathbb{R}^3$, $r > 0$ and $\eta \in \mathbb{S}^2$. Moreover, we assume that for all bounded subsets $B \subset \mathbb{R}^3$ and $O \subset M_3(\mathbb{R})$ there exist positive constants $\bar{g}_{B,O} \geq \underline{g}_{B,O}$ such that

$$\underline{g}_{B,O} \leq g(\sigma, \mathbf{v}, \eta) \leq \bar{g}_{B,O}, \quad \text{for every } (\sigma, \mathbf{v}, \eta) \in O \times B \times \mathbb{S}^2. \tag{16}$$

Let $T > 0$ be fixed. Then, due to the smoothness of \mathbf{u} , there exists $\bar{g} \geq \underline{g} > 0$ such that

$$\underline{g} \leq g(\nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{u}, \mathbf{u}, \eta) \leq \bar{g}, \quad \text{for every } (t, \mathbf{y}, \eta) \in [0, T] \times \Omega \times \mathbb{S}^2. \tag{17}$$

We consider the polymerization rate τ linear in (the free monomers density) ϕ , i.e. there exists $\tau_0 > 0$ such that

$$\tau(\phi, \mathbf{v}, r, \eta) = \tau_0 \phi. \tag{18}$$

This assumption had been already evoked by Greer *et al.* [6] and corresponds to a mass action binding. The splitting kernel κ accounts for the probability of a polymer with initial length r , to split into a polymer with a shorter length r' as described in [6], and is given by

$$\kappa(r, r') = \begin{cases} 1/r' & \text{if } 0 < r \leq r', \\ 0 & \text{else.} \end{cases} \tag{19}$$

This expression is compatible with (5) (and the conservation law (11)). Then the length weight function $A \geq 0$ is supposed to be in $L^\infty(\mathbb{R}_+)$ and there exists $C_A > 0$ such that

$$\|A\|_{L^\infty(\Omega)} = C_A < \infty \tag{20}$$

We remark that, by virtue of \mathbf{u} being sufficiently smooth and for fixed $T > 0$, there exists $C_P > 0$ such that

$$\|P_{\eta^\perp}(\nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{u} \eta)\|_{L^\infty([0,T] \times \Omega \times \mathbb{S}^2)} = C_P < \infty, \tag{21}$$

Using the result stated in the Appendix, there exists $C_D > 0$ such that

$$\|\nabla_{\eta} \cdot P_{\eta^\perp}(\nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{u} \eta)\|_{L^\infty([0,T] \times \Omega \times \mathbb{S}^2)} = C_D < \infty. \tag{22}$$

Thanks to the assumptions given in this section, the problem can be re-written as:

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial t} \psi + \mathbf{u} \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \psi + \tau_0 \phi \frac{\partial}{\partial r} \psi - A(r) \nabla_{\eta} \cdot [D_1 \nabla_{\eta} \psi - P_{\eta^{\perp}} (\nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{u} \eta) \psi] \\ = -g(\nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{u}, \mathbf{u}, \eta) r \psi + 2g(\nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{u}, \mathbf{u}, \eta) \int_r^{\infty} \psi(r', \eta, \mathbf{y}, t) dr', \end{aligned} \quad (23a)$$

$$\frac{\partial}{\partial t} \phi + \mathbf{u} \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \phi - D_2 \Delta \phi = -\tau_0 \phi \int_{\mathbb{S}^2 \times \mathbb{R}_+} \psi(r, \eta, \mathbf{y}, t) dr d\eta, \quad (23b)$$

$$\psi(r=0, \eta, \mathbf{y}, t) = 0, \quad (23c)$$

$$\nabla_{\mathbf{y}} \phi \cdot \vec{n} = 0, \quad \text{on } \partial\Omega \quad (23d)$$

$$\psi(t=0) = \psi^0 \text{ and } \phi(t=0) = \phi^0, \quad (23e)$$

1.5. Particular case: Zero velocity field, as in the Greer's model. Consider $\mathbf{u} = 0$, and assume that g is such that $g(0, \eta) = g_0$, a constant, for any η . In fact, even in the absence of flow the prion-fibrils can undergo scission and re-combination. Suppose that ϕ is independent of y , then let $f(t, r) = \frac{1}{|\Omega|} \int_{\Omega \times \mathbb{S}^2} \psi(r, \eta, \mathbf{y}, t) d\eta d\mathbf{y}$ be the average of ψ . Integrating equations (23) leads to

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial t} f + \tau_0 \phi(t) \frac{\partial}{\partial r} f + g_0 r f = 2g \int_r^{\infty} f(r', t) dr' \text{ over } (t, r) \in \mathbb{R}_+^2, \\ \frac{d}{dt} \phi(t) = -\tau_0 \phi(t) \int_{\mathbb{R}_+} f(r, t) dr, \\ f(0, t) = 0. \end{aligned} \quad (24)$$

Note that the above system of equations is the one proposed in [6] where it was produced under the assumption of prion conservation mass (no protein synthesis, no metabolic degradation).

2. Variational formulation and main result. First we present the functional framework one of the main mathematical novelty of this paper, next the definition of weak solutions to the system (23), and eventually the proof of the existence of a weak solution of this system.

2.1. Functional framework. Let $a : \mathbb{R}_+ \rightarrow \mathbb{R}_+$ be defined by $a(r) = e^{\alpha r}$ for a $\alpha > 0$. Denote $Q = \mathbb{S}^2 \times \mathbb{R}_+$ and $d\mathbf{q} = a(r) dr d\eta$. Let the following Hilbert spaces be defined as

$$L_{\alpha}^2 = \left\{ \psi \in L_{loc}^1(\Omega \times Q), \int_{\Omega \times Q} \psi^2 d\mathbf{q} d\mathbf{y} < \infty \right\}. \quad (25)$$

Then,

$$V = \left\{ \psi \in L_{loc}^1(\Omega \times Q), \int_{\Omega \times Q} (A(r) |\nabla_{\eta} \psi|^2 + (1+r)\psi^2) d\mathbf{q} d\mathbf{y} < \infty \right\}, \quad (26)$$

and

$$\begin{aligned} V_1 = \left\{ \psi \in L_{loc}^1(\Omega \times Q), \right. \\ \left. \int_{\Omega \times Q} \left(\left| \frac{\partial}{\partial r} \psi \right|^2 + A(r) |\nabla_{\eta} \psi|^2 + (1+r)\psi^2 \right) d\mathbf{q} d\mathbf{y} < \infty \right\}. \end{aligned} \quad (27)$$

Recall the Sobolev space $H^1(\Omega)$ endowed with the norm

$$\|\phi\|_{H^1} = \|\phi\|_{L^2(\Omega)} + \|\nabla_{\mathbf{y}}\phi\|_{L^2(\Omega)}. \tag{28}$$

We also use the canonical embedding

$$V_1 \subset V \subset L^2_\alpha = (L^2_\alpha)' \subset V' \subset (V_1)'. \tag{29}$$

For any $\theta \in \mathbb{R}$, let $L^1_\theta = \left\{ \psi \in L^1_{loc}(\Omega \times Q), \int_{\Omega \times Q} |\psi| r^\theta dr d\eta d\mathbf{y} < \infty \right\}$. Then we have the canonical embedding

$$L^2_\alpha \subset L^1_\theta, \quad \text{for any } \alpha > 0 \text{ and } \theta \geq 0, \tag{30}$$

which makes sense in regard to the mass conservation and the total quantity of polymers when $\theta = 0$ or $\theta = 1$.

2.2. Variational formulation. To begin with, we introduce test function spaces. Let $T > 0$. First, for the polymer ψ -equation, let \mathcal{X}_1 be the completion of $\mathcal{C}^\infty_c((−T, T) \times \bar{\Omega} \times \mathbb{S}^2 \times [0, +\infty))$ with respect to the norm $\|\cdot\|_{\mathcal{X}_1}$

$$\|\tilde{\psi}\|_{\mathcal{X}_1} = \int_0^T \left(\left\| \frac{\partial}{\partial t} \tilde{\psi} \right\|_{L^2_\alpha}^2 + \|\nabla_{\mathbf{y}} \tilde{\psi}\|_{L^2_\alpha}^2 + \|\tilde{\psi}\|_{V_1}^2 \right) dt \tag{31}$$

In particular, this implies that, if $\tilde{\psi} \in \mathcal{X}_1$, then $\tilde{\psi}(t = T) = 0$. Second, the test functions for the ϕ -equation are elements of \mathcal{X}_2 , the latter space being the completion of $\mathcal{C}^\infty_c((−T, T) \times \bar{\Omega})$ with respect to the norm $H^1((0, T) \times \Omega)$. In particular this implies that if $\tilde{\phi} \in \mathcal{X}_2$, then $\tilde{\phi}(t = T) = 0$. In order to obtain a variational formulation of (23) we first assume that we have a strong solution which is smooth enough. Then we multiply (23a) by $\tilde{\psi}(r, \eta, \mathbf{y}, t)a(r)$, with $\tilde{\psi} \in \mathcal{X}_1$, and integrate over $(0, T) \times \Omega \times Q$, next we multiply (23b) by $\tilde{\phi} \in \mathcal{X}_2$ and integrate over $(0, T) \times \Omega$. We note

$$\begin{aligned} \int_{\mathbb{R}_+} \tau_0 \phi \frac{\partial}{\partial r} \psi \tilde{\psi} a(r) dr &= - \int_{\mathbb{R}_+} \tau_0 \phi \psi \frac{\partial}{\partial r} (\tilde{\psi} a(r)) dr, \\ &= - \int_{\mathbb{R}_+} \tau_0 \phi \psi \left(\frac{\partial}{\partial r} \tilde{\psi} + \alpha \tilde{\psi} \right) a(r) dr, \end{aligned} \tag{32}$$

since $\tilde{\psi} \in \mathcal{X}_1$. One also has:

$$\int_{\mathbb{S}^2} \nabla_\eta \cdot (D_1 \nabla_\eta \psi) \tilde{\psi} d\eta = - \int_{\mathbb{S}^2} D_1 \nabla_\eta \psi \cdot (\nabla_\eta \tilde{\psi} - 2\eta \tilde{\psi}) d\eta, \tag{33}$$

and

$$\begin{aligned} \int_{\mathbb{S}^2} \nabla_\eta \cdot (P_{\eta^\perp} (\nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{u} \eta) \psi) \tilde{\psi} d\eta &= - \int_{\mathbb{S}^2} P_{\eta^\perp} (\nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{u} \eta) \psi \cdot (\nabla_\eta \tilde{\psi} - 2\eta \tilde{\psi}) d\eta, \\ &= - \int_{\mathbb{S}^2} P_{\eta^\perp} (\nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{u} \eta) \psi \cdot \nabla_\eta \tilde{\psi} d\eta, \end{aligned} \tag{34}$$

since $P_{\eta^\perp} (\nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{u} \eta) \cdot \eta = 0$ (see for instance Appendix II in [13] for calculation details on the sphere). Moreover, by assumption (15) on \mathbf{u} ,

$$\int_\Omega (\mathbf{u} \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \psi) \tilde{\psi} d\mathbf{y} = - \int_\Omega \psi (\mathbf{u} \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{\psi}) d\mathbf{y}, \tag{35}$$

and

$$\int_\Omega (\mathbf{u} \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \phi) \tilde{\phi} d\mathbf{y} = - \int_\Omega \phi (\mathbf{u} \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{\phi}) d\mathbf{y}. \tag{36}$$

Then a variational formulation of (23a) is

$$\begin{aligned} & - \int_{\Omega \times Q} \psi^0 \tilde{\psi}(t=0) \, d\mathbf{q}d\mathbf{y} - \int_0^T \int_{\Omega \times Q} \psi \left(\frac{\partial}{\partial t} \tilde{\psi} + \mathbf{u} \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{\psi} \right) \, d\mathbf{q}d\mathbf{y} \, dt \\ & + \int_0^T \int_{\Omega \times Q} A(r) \left(D_1 \nabla_{\eta} \psi \left(\nabla_{\eta} \tilde{\psi} - 2\eta \tilde{\psi} \right) - P_{\eta^\perp} \left(\nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{u} \, \eta \right) \psi \cdot \nabla_{\eta} \tilde{\psi} \right) \, d\mathbf{q}d\mathbf{y} \, dt \\ & + \int_0^T \int_{\Omega \times Q} \psi \left(g(\nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{u}, \mathbf{u}, \eta) r \tilde{\psi} - \tau_0 \phi \left(\frac{\partial}{\partial r} \tilde{\psi} + \alpha \tilde{\psi} \right) \right) \, d\mathbf{q}d\mathbf{y} \, dt \\ & = 2 \int_0^T \int_{\Omega \times Q} g(\nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{u}, \mathbf{u}, \eta) \left(\int_r^\infty \psi \, dr' \right) \tilde{\psi} \, d\mathbf{q}d\mathbf{y} \, dt, \quad (37) \end{aligned}$$

for any $\tilde{\psi} \in \mathcal{X}_1$ and for (23b),

$$\begin{aligned} & - \int_{\Omega} \phi^0 \tilde{\phi}(t=0) \, d\mathbf{y} - \int_0^T \int_{\Omega} \phi \left(\frac{\partial}{\partial t} \tilde{\phi} + \mathbf{u} \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{\phi} \right) \, d\mathbf{y} \, dt + \\ & + \int_0^T \int_{\Omega} \left[D_2 \nabla_{\mathbf{y}} \phi \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{\phi} + \tau_0 \phi \tilde{\phi} \left(\int_{\mathbb{S}^2 \times \mathbb{R}_+} \psi \, drd\eta \right) \right] \, d\mathbf{y} \, dt = 0, \quad (38) \end{aligned}$$

for any $\tilde{\phi} \in \mathcal{X}_2$.

2.3. Main result: Existence of non-negative solutions of the problem. At this point we are prepared to introduce our main result. It gives the existence of non-negative weak solution to our problem under the general assumptions of section 1.4.

Theorem 2.1 (Main result). *Let $\phi^0 \in L^\infty(\Omega)$ be non-negative and $\psi^0 \in L_\alpha^2$ non-negative such that there exists a constant $C_0 > 0$ with*

$$\psi^0 \leq C_0 e^{-\alpha r}.$$

Then, for any $T > 0$, there exists at least one solution (ψ, ϕ) to the weak formulation (37)-(38) of the problem (23), with ψ and ϕ non-negative. Moreover we have $\psi \in L^\infty(0, T; L_\alpha^2) \cap L^2(0, T; V)$ and $\phi \in L^\infty(0, T; L^2(\Omega)) \cap L^2(0, T; H^1(\Omega))$.

Remark 1. Proving the uniqueness of the solution is a rather lengthy undertaking and will be done in a follow up paper.

Remark 2. Weak solutions to the above variational formulation with stronger regularity than the one implied by the theorem above satisfy the problem (23) in a strong sense. Moreover, this variational formulation complies weakly with the mass conservation principle. Therefore, let $\varphi \in H^1(0, T)$, with $\varphi(t = T) = 0$, and take $\tilde{\psi}(r, \eta, \mathbf{y}, t) = r e^{-\alpha r} \varphi(t) \in \mathcal{X}_1$ and $\tilde{\phi}(t, \mathbf{y}) = \varphi(t) \in \mathcal{X}_2$ in the variational formulations. Using the fact that, for any real value function f

$$\int_{\mathbb{S}^2} \eta \cdot \nabla_{\eta} f \, d\eta = 0. \quad (39)$$

we obtain

$$\begin{aligned}
 & -\varphi(t=0) \int_{\Omega} \left[\phi^0 + \int_{\mathbb{R}_+ \times \mathbb{S}^2} r \psi^0 d\eta dr \right] d\mathbf{y} \\
 & - \int_0^T \frac{d}{dt} \varphi(t) \int_{\Omega} \left[\phi + \int_{\mathbb{R}_+ \times \mathbb{S}^2} r \psi d\eta dr \right] d\mathbf{y} dt = 0. \quad (40)
 \end{aligned}$$

If the solution is smooth enough we have then the mass conservation result

$$\frac{d}{dt} \int_{\Omega} \left[\phi + \int_{\mathbb{R}_+ \times \mathbb{S}^2} r \psi d\eta dr \right] d\mathbf{y} = 0. \quad (41)$$

3. Proof of the main result. The proof consists of three main steps. First (subsection 3.1), a semi-discretization in time of the problem to obtain an approximation of the solution. Second, we get appropriate estimates (subsection 3.2), and third we obtain a solution by passing to the limit (subsection 3.3).

3.1. Semi-discretization in time. Let $N > 0$ and $\{t_n\}_{n=0}^N$ a subdivision of $[0, T]$ such that $t_0 = 0, t_N = T$ and $t_n - t_{n-1} = \Delta t > 0$. We denote by ψ^n and ϕ^n the approximations of ψ and ϕ at t_n . Denote $\mathbf{u}^n(\mathbf{y}) = \mathbf{u}(t_n, \mathbf{y})$. First, for any $s \in [0, T]$, consider the following problem on $[0, T]$:

$$\begin{cases} \frac{d}{dt} \chi^n(t) = \mathbf{u}^n(\chi^n(t)), \\ \chi(s) = \mathbf{y}. \end{cases} \quad (42)$$

We recall that the regularity of \mathbf{u} is $\mathcal{C}^1(0, T; W^{1, \infty})$, therefore $\mathbf{u}^n \in W^{1, \infty}(\Omega)$ so that there exists a unique solution χ^n which will be denoted in the following by $\chi^n(t; s, \mathbf{y})$. The map $\mathbf{y} \rightarrow \chi^n(t; s, \mathbf{y})$ is a homeomorphism from Ω onto Ω , and since \mathbf{u} is divergence-free, we have

$$\det \nabla_{\mathbf{y}} \chi^n(t; s, \cdot) = 1, \text{ a.e. in } \Omega \times [0, T]. \quad (43)$$

Define the function

$$x_n : \Omega \rightarrow \Omega, \text{ by } x_n(\mathbf{y}) = \chi^n(t_n; t_{n-1}, \mathbf{y}). \quad (44)$$

This map x_n is invertible. Let us denote z_n as its inverse. We remark that

$$z_n(\mathbf{y}) = \chi^n(t_{n-1}; t_n, \mathbf{y}). \quad (45)$$

Assume now that $\psi^{n-1} \in V$ and $\phi^{n-1} \in H^1$ are known. We consider two problems: find $\psi^n \in V$ such that

$$\begin{aligned}
 & \int_{\Omega \times Q} \frac{\psi^n(r, \eta, \mathbf{y}) - \psi^{n-1}(r, \eta, z_n(\mathbf{y}))}{\Delta t} \widehat{\psi} d\mathbf{q} d\mathbf{y} \\
 & + \int_{\Omega \times Q} A(r) \left(D_1 \nabla_{\eta} \psi^n \cdot \left(\nabla_{\eta} \widehat{\psi} - 2\eta \widehat{\psi} \right) - P_{\eta^{\perp}} \left(\nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{u}^n \eta \right) \psi^n \cdot \nabla_{\eta} \widehat{\psi} \right) d\mathbf{q} d\mathbf{y} \\
 & + \int_{\Omega \times Q} \psi^n \left(g(\nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{u}^n, \mathbf{u}^n, \eta) r \widehat{\psi} - \tau_0 \phi^{n-1} \left(\frac{\partial}{\partial r} \widehat{\psi} + \alpha \widehat{\psi} \right) \right) d\mathbf{q} d\mathbf{y} \\
 & = 2 \int_{\Omega \times Q} g(\nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{u}^n, \mathbf{u}^n, \eta) \left(\int_r^{\infty} \psi^{n-1} dr' \right) \widehat{\psi} a(r) dr d\eta d\mathbf{y}, \quad (46)
 \end{aligned}$$

for any $\widehat{\psi} \in V_1$, and find $\phi^n \in H^1$ such that

$$\int_{\Omega} \left(\frac{\phi^n(\mathbf{y}) - \phi^{n-1}(\mathbf{y})}{\Delta t} + \mathbf{u}^n \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \phi^n \right) \widehat{\phi} \, d\mathbf{y} \, dt + \int_{\Omega} \left[D_2 \nabla_{\mathbf{y}} \phi^n \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \widehat{\phi} + \tau_0 \phi^n \left(\int_{\mathbb{S}^2 \times \mathbb{R}_+} \psi^{n-1} \, dr d\eta \right) \widehat{\phi} \right] d\mathbf{y} = 0, \quad (47)$$

for any $\widehat{\phi} \in H^1$. Problem (46) is re-written as

$$a^n(\psi^n, \widehat{\psi}) = l_a^n(\widehat{\psi}), \quad \text{for any } \widehat{\psi} \in V_1 \quad (48)$$

with

$$a^n = a^{1n} + a^{2n} \quad (49)$$

where a^{1n} , a^{2n} are defined on $V \times V_1$ by

$$\begin{aligned} a^{1n}(\varphi_1, \varphi_2) &= \int_{\Omega \times Q} A(r) D_1 \nabla_{\eta} \varphi_1 \cdot (\nabla_{\eta} \varphi_2 - 2\eta \varphi_2) \, d\mathbf{q} \, d\mathbf{y} \\ &\quad - \int_{\Omega \times Q} A(r) P_{\eta^\perp} (\nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{u}^n \eta) \varphi_1 \cdot \nabla_{\eta} \varphi_2 \, d\mathbf{q} \, d\mathbf{y} \\ &\quad - \tau_0 \int_{\Omega \times Q} \phi^{n-1} \varphi_1 \left(\frac{\partial}{\partial r} \varphi_2 + \alpha \varphi_2 \right) \, d\mathbf{q} \, d\mathbf{y} \\ &\quad + \int_{\Omega \times Q} g(\nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{u}^n, \mathbf{u}^n, \eta) r \varphi_1 \varphi_2 \, d\mathbf{q} \, d\mathbf{y} \end{aligned} \quad (50)$$

and

$$a^{2n}(\varphi_1, \varphi_2) = \frac{1}{\Delta t} \int_{\Omega \times Q} \varphi_1 \varphi_2 \, d\mathbf{q} \, d\mathbf{y}, \quad (51)$$

respectively, and l_a^n is defined on L^2_{α} by

$$\begin{aligned} l_a^n(\varphi) &= 2 \int_{\Omega \times Q} g(\nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{u}^n, \mathbf{u}^n, \eta) \left(\int_r^{\infty} \psi^{n-1} \, dr' \right) \varphi \, d\mathbf{q} \, d\mathbf{y} \\ &\quad + \frac{1}{\Delta t} \int_{\Omega \times Q} \psi^{n-1} \circ z_n \varphi \, d\mathbf{q} \, d\mathbf{y}. \end{aligned} \quad (52)$$

The problem (47) is re-written as

$$b^n(\phi^n, \widehat{\phi}) = l_b^n(\widehat{\phi}), \quad \text{for any } \widehat{\phi} \in H^1, \quad (53)$$

with b^n defined on $H^1 \times H^1$ such that

$$\begin{aligned} b^n(\varphi_1, \varphi_2) &= \int_{\Omega} \left(\frac{1}{\Delta t} \varphi_1 \varphi_2 + (\mathbf{u}^n \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \varphi_1) \varphi_2 + D_2 \nabla_{\mathbf{y}} \varphi_1 \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \varphi_2 \right) d\mathbf{y} \\ &\quad + \int_{\Omega} \tau_0 \varphi_1 \varphi_2 \left(\int_{\mathbb{S}^2 \times \mathbb{R}_+} \psi^{n-1} \, dr d\eta \right) d\mathbf{y}, \end{aligned} \quad (54)$$

and l_b^n defined on L^2 by

$$l_b^n(\varphi) = \frac{1}{\Delta t} \int_{\Omega} \phi^{n-1} \varphi \, d\mathbf{y}. \quad (55)$$

Lemma 3.1. *Let $N \in \mathbb{N}^*$, $\phi^0 \in L^\infty(\Omega)$, $\phi^0 \geq 0$ and $\psi^0 \in L^2_\alpha$ such that*

$$0 \leq \psi^0 \leq C_0 e^{-\alpha r} \text{ a.e in } Q$$

with $C_0 > 0$ a constant.

Then there exist two sequences $\{\psi^n\}_{n=1}^N \subset V$ and $\{\phi^n\}_{n=1}^N \subset H^1(\Omega)$ satisfying (48) and (53).

Moreover, for Δt small enough, we have that:

$$0 \leq \psi^n \leq C_\infty e^{-\alpha r}, \quad \text{for every } n \in \{0, 1, \dots, N\}, \quad (56a)$$

$$0 \leq \phi^n \leq \|\phi^0\|_{L^\infty}, \quad \text{for every } n \in \{0, 1, \dots, N\}, \quad (56b)$$

and

$$\begin{aligned} \max_{n=0, \dots, N} & \left[\int_{\Omega \times Q} |\psi^n|^2 \, d\mathbf{q}d\mathbf{y} + D_1 \Delta t \sum_{n=1}^N \int_{\Omega \times Q} A(r) |\nabla_\eta \psi^n|^2 \, d\mathbf{q}d\mathbf{y} \right. \\ & \left. + 2\bar{g} \Delta t \sum_{n=1}^N \int_{\Omega \times Q} r |\psi^n|^2 \, d\mathbf{q}d\mathbf{y} + \sum_{n=1}^N \int_{\Omega \times Q} |\psi^n - \psi^{n-1} \circ z_n|^2 \, d\mathbf{q}d\mathbf{y} \right] \\ & \leq 4e^{k_3 T} \|\psi^0\|_{L^2_\alpha}^2, \quad (57) \end{aligned}$$

and

$$\begin{aligned} \max_{n=0, \dots, N} & \left[\int_\Omega |\phi^n|^2 \, d\mathbf{y} + \sum_{n=1}^N \int_\Omega |\phi^n - \phi^{n-1}|^2 \, d\mathbf{y} + 2D_2 \Delta t \sum_{n=1}^N \int_\Omega |\nabla_\mathbf{y} \phi^n|^2 \, d\mathbf{y} \right] \\ & \leq 2\|\phi^0\|_{L^2(\Omega)}^2, \quad (58) \end{aligned}$$

where in the above we denoted

$$\begin{aligned} k_1 &= \frac{2\bar{g}}{\alpha}, \\ k_2 &= \alpha\tau_0 \|\phi^0\|_{L^\infty} + C_D C_A, \\ C_\infty &= 2C_0 e^{(k_1+k_2)T}, \end{aligned}$$

and

$$k_3 = \alpha\tau_0 \|\phi^0\|_{L^\infty} + \frac{C_P^2 C_A}{D_1} + 4\bar{g}\alpha^{-3/2} C_\infty \sqrt{|\Omega| |S_2|}.$$

(Recall C_D and C_A are given by equations (20) and (22)).

Proof of Lemma 3.1. Let us consider the sequence of numbers $\{C_n\}_{n=0}^N$ defined by induction as

$$C_n = \frac{1 + k_1 \Delta t}{1 - k_2 \Delta t} C_{n-1}, \text{ for every } n = 1, \dots, N. \quad (59)$$

with C_0 as in the hypothesis of the Lemma.

We proceed by induction. Suppose that ψ^{n-1} and ϕ^{n-1} are defined as elements of V and $L^\infty(\Omega)$, respectively. Suppose also that

$$0 \leq \psi^{n-1} \leq C_{n-1} e^{-\alpha r}, \quad (60a)$$

$$0 \leq \phi^{n-1} \leq \|\phi^0\|_{L^\infty}. \quad (60b)$$

We shall prove the existence of $\psi^n \in V$ and $\phi^n \in H^1(\Omega)$ solutions of (48) and (53), respectively. We also prove that they satisfy

$$0 \leq \psi^n \leq C_n e^{-\alpha r}, \tag{61a}$$

$$0 \leq \phi^n \leq \|\phi^0\|_{L^\infty}. \tag{61b}$$

The above inequalities give (56a) and (56b) since we have

$$C_n = C_0 \left(\frac{1 + k_1 \Delta t}{1 - k_2 \Delta t} \right)^n \leq C_\infty \tag{62}$$

for Δt small enough.

Step 1. Regularization and existence.

We introduce a regularization of a^n , denoted a_ε^n defined on $V_1 \times V_1$,

$$a_\varepsilon^n(\varphi_1, \varphi_2) = \varepsilon \int_{\Omega \times Q} \frac{\partial}{\partial r} \varphi_1 \frac{\partial}{\partial r} \varphi_2 \, d\mathbf{q}d\mathbf{y} + a^n(\varphi_1, \varphi_2). \tag{63}$$

We shall first prove the existence of a sequence $(\psi_\varepsilon^n)_\varepsilon$ in V_1 solutions of

$$a_\varepsilon^n(\psi_\varepsilon^n, \widehat{\psi}) = l_a^n(\widehat{\psi}), \quad \text{for any } \widehat{\psi} \in V_1 \tag{64}$$

Clearly a_ε^n is bilinear and continuous on $V_1 \times V_1$. Next we prove the coercivity of a_ε^n . Indeed, let $\varphi \in V_1$ and we remark that

$$\int_{\mathbb{S}^2} 2\eta \cdot \nabla_\eta \varphi \, \varphi \, d\eta = \int_{\mathbb{S}^2} \eta \cdot \nabla_\eta \varphi^2 \, d\eta = 0 \tag{65}$$

since $\nabla_\eta \cdot \eta = 2$ and $\eta \cdot \eta = 1$. One has

$$\int_{\mathbb{S}^2} |A(r)P_{\eta^\perp}(\nabla_{\mathbf{y}}\mathbf{u} \cdot \eta) \cdot \nabla_\eta \varphi| \, d\eta \leq \frac{1}{2} \int_{\mathbb{S}^2} \left(D_1 A(r) |\nabla_\eta \varphi|^2 + \frac{C_P^2 C_A}{D_1} \varphi^2 \right) \, d\eta. \tag{66}$$

Finally,

$$\tau_0 \int_{\mathbb{R}_+} \phi^{n-1} \varphi \frac{\partial}{\partial r} \varphi \, a(r) \, dr \leq -\frac{1}{2} \alpha \tau_0 \int_{\mathbb{R}_+} \phi^{n-1} \varphi^2 \, a(r) \, dr. \tag{67}$$

We remark that this inequality can be proved by using a regularized sequence $(\varphi_m)_m$ that converges to φ in V_1 and the fact that the remaining term in the right-hand side of (67) can be dropped according to its appropriate sign. Then, invoking (60b) and the above remarks, it follows that

$$a_\varepsilon^{1n}(\varphi, \varphi) \geq \frac{D_1}{2} \int_{\Omega \times Q} A(r) |\nabla_\eta \varphi|^2 \, d\mathbf{q}d\mathbf{y} + \underline{g} \int_{\Omega \times Q} r \varphi^2 \, d\mathbf{q}d\mathbf{y} - \frac{1}{2D_1} (\alpha \tau_0 D_1 \|\phi^0\|_{L^\infty} + C_P^2 C_A) \int_{\Omega \times Q} \varphi^2 \, d\mathbf{q}d\mathbf{y}, \tag{68}$$

which in turn implies

$$a_\varepsilon^n(\varphi, \varphi) \geq \varepsilon \int_{\Omega \times Q} \left| \frac{\partial}{\partial r} \varphi \right|^2 \, d\mathbf{q}d\mathbf{y} + \frac{D_1}{2} \int_{\Omega \times Q} A(r) |\nabla_\eta \varphi|^2 \, d\mathbf{q}d\mathbf{y} + \underline{g} \int_{\Omega \times Q} r \varphi^2 \, d\mathbf{q}d\mathbf{y} + \frac{1}{2D_1} \left(\frac{2D_1}{\Delta t} - \alpha \tau_0 D_1 \|\phi^0\|_{L^\infty} - C_P^2 C_A \right) \int_{\Omega \times Q} \varphi^2 \, d\mathbf{q}d\mathbf{y}, \tag{69}$$

The coercivity of a_ε^n follows for Δt small enough.

Next, due to the inequality (60a), we have

$$\int_r^\infty \psi^{n-1} dr' \leq \frac{C_{n-1}}{\alpha} \tag{70}$$

which implies that, for any $\varphi \in L^2_\alpha$,

$$\int_{\Omega \times Q} g(\nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{u}^n, \mathbf{u}^n, \eta) \left(\int_r^\infty \psi^{n-1} dr' \right) |\varphi| d\mathbf{q}d\mathbf{y} \leq \frac{\bar{g}}{\alpha} \int_{\Omega \times Q} |\varphi| drd\eta d\mathbf{y}. \tag{71}$$

One also obtains

$$\int_{\Omega \times Q} \psi^{n-1} \circ z_n |\varphi| d\mathbf{q}d\mathbf{y} \leq C_{n-1} \int_{\Omega \times Q} |\varphi| drd\eta d\mathbf{y}. \tag{72}$$

We deduce that $l^n_a \in (L^2_\alpha)^\prime \subset (V_1)^\prime$ by the continuous embedding of L^2_α in L^1 . Applying the Lax-Milgram theorem, for all $\varepsilon > 0$ there exists a unique $\psi^n_\varepsilon \in V_1$ solution of (64). Next we will prove the existence of solutions to (53). First, b^n is clearly a bilinear and continuous function on $H^1 \times H^1$. To prove its coercivity, let $\varphi \in H^1$. Since

$$\int_\Omega \mathbf{u}^n \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \varphi \varphi = \frac{1}{2} \int_\Omega \mathbf{u}^n \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \varphi^2 = 0 \tag{73}$$

we have

$$b^n(\varphi, \varphi) \geq \frac{1}{\Delta t} \int_\Omega \varphi^2 d\mathbf{y} + D_2 \int_\Omega |\nabla_{\mathbf{y}} \varphi|^2 d\mathbf{y}, \tag{74}$$

using the positivity of ψ^{n-1} , and thus b^n is coercive. Moreover, $l^n_b \in (H^1)^\prime$ since $\phi^{n-1} \in L^\infty$. As a consequence of the Lax-Milgram theorem, there exists a unique $\phi^n \in H^1$ satisfying (53).

Step 2. L^∞ - Estimates

To begin we first prove two estimates for ψ^n_ε : for its V -norm and for its derivative with respect to r . It follows from (69) and the continuity of l^n_a that there exists a constant $C > 0$, dependent of Δt , such that

$$\begin{aligned} \int_{\Omega \times Q} (A(r)|\nabla_\eta \psi^n_\varepsilon|^2 + (1+r)|\psi^n_\varepsilon|^2) d\mathbf{q}d\mathbf{y} &\leq C, \\ \varepsilon \int_{\Omega \times Q} \left| \frac{\partial}{\partial r} \psi^n_\varepsilon \right|^2 d\mathbf{q}d\mathbf{y} &\leq C. \end{aligned} \tag{75}$$

Next we prove the non-negativity of ψ^n_ε and ϕ^n . Let us denote $[\cdot]_+$ and $[\cdot]_-$ respectively the positive and negative part, both positive valued. Then, $\phi^n = [\phi^n]_+ - [\phi^n]_-$ and these two parts belong to H^1 . We have

$$l^n_b([\phi^n]_-) = b^n(\phi^n, [\phi^n]_-) = -b^n([\phi^n]_-, [\phi^n]_-) \tag{76}$$

and invoking (55) and (60b), $l^n_b([\phi^n]_-) \geq 0$. Therefore

$$b^n([\phi^n]_-, [\phi^n]_-) \leq 0, \tag{77}$$

hence $\phi^n \geq 0$. Next, $\psi^n_\varepsilon = [\psi^n_\varepsilon]_+ - [\psi^n_\varepsilon]_-$, the positive and negative parts belong V_1 , and

$$l^n_a([\psi^n_\varepsilon]_-) = a^n_\varepsilon(\psi^n_\varepsilon, [\psi^n_\varepsilon]_-) = -a^n_\varepsilon([\psi^n_\varepsilon]_-, [\psi^n_\varepsilon]_-), \tag{78}$$

Invoking (52) and (60a), $l^n_a([\psi^n_\varepsilon]_-) \geq 0$. Thus

$$a^n_\varepsilon([\psi^n_\varepsilon]_-, [\psi^n_\varepsilon]_-) \leq 0, \tag{79}$$

hence $\psi_\varepsilon^n \geq 0$. Let us now obtain L^∞ estimates. We have, according to (60b) and using the above notation, that

$$\begin{aligned} & b^n([\phi^n - \|\phi^0\|_{L^\infty}]_+, [\phi^n - \|\phi^0\|_{L^\infty}]_+) \\ &= b^n(\phi^n - \|\phi^0\|_{L^\infty}, [\phi^n - \|\phi^0\|_{L^\infty}]_+) \\ &= b^n(\phi^n, [\phi^n - \|\phi^0\|_{L^\infty}]_+) - b^n(\|\phi^0\|_{L^\infty}, [\phi^n - \|\phi^0\|_{L^\infty}]_+) \\ &= l_b^n([\phi^n - \|\phi^0\|_{L^\infty}]_+) - b^n(\|\phi^0\|_{L^\infty}, [\phi^n - \|\phi^0\|_{L^\infty}]_+) \\ &\leq \frac{1}{\Delta t} \int_{\Omega} (\phi^{n-1} - \|\phi^0\|_{L^\infty}) [\phi^n - \|\phi^0\|_{L^\infty}]_+ d\mathbf{y}, \end{aligned} \quad (80)$$

Then by (60b)

$$b^n([\phi^n - \|\phi^0\|_{L^\infty}]_+, [\phi^n - \|\phi^0\|_{L^\infty}]_+) \leq 0, \quad (81)$$

hence $\phi^n \leq \|\phi^0\|_{L^\infty}$. Let C_n as defined in (59); then

$$\begin{aligned} & a_\varepsilon^n([\psi_\varepsilon^n - C_n e^{-\alpha r}]_+, [\psi_\varepsilon^n - C_n e^{-\alpha r}]_+) \\ &= a_\varepsilon^n(\psi_\varepsilon^n - C_n e^{-\alpha r}, [\psi_\varepsilon^n - C_n e^{-\alpha r}]_+) \\ &= a_\varepsilon^n(\psi_\varepsilon^n, [\psi_\varepsilon^n - C_n e^{-\alpha r}]_+) - a_\varepsilon^n(C_n e^{-\alpha r}, [\psi_\varepsilon^n - C_n e^{-\alpha r}]_+) \\ &= l_a^n([\psi_\varepsilon^n - C_n e^{-\alpha r}]_+) - a_\varepsilon^n(C_n e^{-\alpha r}, [\psi_\varepsilon^n - C_n e^{-\alpha r}]_+). \end{aligned} \quad (82)$$

Next, for any $\varphi \in V_1$ positive,

$$\begin{aligned} a_\varepsilon^n(C_n e^{-\alpha r}, \varphi) &= -\varepsilon \int_{\Omega \times Q} \alpha C_n \frac{\partial}{\partial r} \varphi dr d\eta d\mathbf{y} \\ &\quad - \int_{\Omega \times Q} C_n A(r) P_{\eta^\perp} (\nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{u}^n \eta) \cdot \nabla_{\eta} \varphi dr d\eta d\mathbf{y} \\ &\quad - \int_{\Omega \times Q} C_n \tau_0 \phi^{n-1} \left(\frac{\partial}{\partial r} \varphi + \alpha \varphi \right) dr d\eta d\mathbf{y} \\ &\quad + \int_{\Omega \times Q} C_n g(\nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{u}^n, \mathbf{u}^n, \eta) r \varphi dr d\eta d\mathbf{y} + C_n \frac{1}{\Delta t} \int_{\Omega \times Q} \varphi dr d\eta d\mathbf{y}. \end{aligned} \quad (83)$$

We remark that

$$\begin{aligned} \varepsilon \int_{\Omega \times Q} \alpha C_n \frac{\partial}{\partial r} \varphi dr d\eta d\mathbf{y} &= -\varepsilon \int_{\Omega \times \mathbb{S}^2} \alpha C_n \varphi(r=0, \eta, \mathbf{y}) d\eta d\mathbf{y} \leq 0, \\ \int_{\Omega \times Q} C_n \tau_0 \phi^{n-1} \frac{\partial}{\partial r} \varphi dr d\eta d\mathbf{y} &= - \int_{\Omega \times \mathbb{S}^2} C_n \tau_0 \phi^{n-1} \varphi(r=0, \eta, \mathbf{y}) d\eta d\mathbf{y} \leq 0. \end{aligned} \quad (84)$$

Then, by (20), (22), (60b) and the positivity of φ ,

$$\begin{aligned} a_\varepsilon^n(C_n e^{-\alpha r}, \varphi) &\geq \int_{\Omega \times Q} C_n A(r) \nabla_{\eta} \cdot (P_{\eta^\perp} (\nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{u}^n \eta)) \varphi dr d\eta d\mathbf{y} \\ &\quad + C_n \left(\frac{1}{\Delta t} - \alpha \tau_0 \|\phi^0\|_{L^\infty} \right) \int_{\Omega \times Q} \varphi dr d\eta d\mathbf{y} \\ &\geq C_n \left(\frac{1}{\Delta t} - k_2 \right) \int_{\Omega \times Q} \varphi dr d\eta d\mathbf{y}. \end{aligned} \quad (85)$$

Moreover, by (52), (71) and (72)

$$l_a^n(\varphi) \leq C_{n-1} \left(\frac{2\bar{g}}{\alpha} + \frac{1}{\Delta t} \right) \int_{\Omega \times Q} \varphi dr d\eta d\mathbf{y}. \quad (86)$$

Now, replacing φ by $[\psi_\varepsilon^n - C_n e^{-\alpha r}]_+$ and using (82) (85) and (86) one gets

$$a_\varepsilon^n([\psi_\varepsilon^n - C_n e^{-\alpha r}]_+, [\psi_\varepsilon^n - C_n e^{-\alpha r}]_+) \leq \left[C_{n-1} \left(k_1 + \frac{1}{\Delta t} \right) - C_n \left(\frac{1}{\Delta t} - k_2 \right) \right] \int_{\Omega \times Q} \varphi \, dr d\eta dy. \tag{87}$$

Using now the particular form of C_n gives

$$a_\varepsilon^n([\psi_\varepsilon^n - C_n e^{-\alpha r}]_+, [\psi_\varepsilon^n - C_n e^{-\alpha r}]_+) \leq 0, \tag{88}$$

hence

$$\psi_\varepsilon^n \leq C_n e^{-\alpha r}. \tag{89}$$

Step 3. Convergence and positivity

The sequence $(\psi_\varepsilon^n)_\varepsilon$ obtained for all $\varepsilon > 0$ is uniformly bounded in V by (75), so it weakly converges to an element $\psi^n \in V$ up to a subsequence. Moreover, $(\varepsilon^{1/2} \frac{\partial}{\partial r} \psi_\varepsilon^n)_\varepsilon$ is bounded in L^2_α , then for $\varepsilon \rightarrow 0$, ψ^n solves (48). The positivity of ψ_ε^n yields the positivity of ψ^n . Moreover, by virtue of (89), ψ^n for $\varepsilon \rightarrow 0$, and inequalities (56a) are satisfied.

Step 4. Additional estimates

From (69), (52) and (56a) one gets

$$0 = a_\varepsilon^n(\psi_\varepsilon^n, \psi_\varepsilon^n) - I_a^n(\psi_\varepsilon^n) \geq \frac{D_1}{2} \int_{\Omega \times Q} A(r) |\nabla_\eta \psi_\varepsilon^n|^2 \, d\mathbf{q} dy + \underline{g} \int_{\Omega \times Q} r |\psi_\varepsilon^n|^2 \, d\mathbf{q} dy - \frac{k_3}{2} \int_{\Omega \times Q} |\psi_\varepsilon^n|^2 \, d\mathbf{q} dy + \frac{1}{\Delta t} \int_{\Omega \times Q} (\psi_\varepsilon^n - \psi^{n-1} \circ z_n) \psi_\varepsilon^n \, d\mathbf{q} dy. \tag{90}$$

Remarking that $2s_1(s_1 - s_2) = s_1^2 + (s_1 - s_2)^2 - s_2^2$ for any reals s_1, s_2 , leads to

$$D_1 \int_{\Omega \times Q} A(r) |\nabla_\eta \psi_\varepsilon^n|^2 \, d\mathbf{q} dy + 2\underline{g} \int_{\Omega \times Q} r |\psi_\varepsilon^n|^2 \, d\mathbf{q} dy + \frac{1}{\Delta t} \int_{\Omega \times Q} [|\psi_\varepsilon^n|^2 + |\psi_\varepsilon^n - \psi^{n-1} \circ z_n|^2 - |\psi^{n-1} \circ z_n|^2] \, d\mathbf{q} dy \leq k_3 \int_{\Omega \times Q} |\psi_\varepsilon^n|^2 \, d\mathbf{q} dy. \tag{91}$$

Then, taking the liminf for $\varepsilon \rightarrow 0$, multiplying by Δt and using the fact that $\int_\Omega |\psi^{n-1} \circ z_n|^2 = \int_\Omega |\psi^{n-1}|^2$, gives

$$D_1 \Delta t \int_{\Omega \times Q} A(r) |\nabla_\eta \psi^n|^2 \, d\mathbf{q} dy + 2\underline{g} \Delta t \int_{\Omega \times Q} r |\psi^n|^2 \, d\mathbf{q} dy + (1 - k_3 \Delta t) \int_{\Omega \times Q} |\psi^n|^2 \, d\mathbf{q} dy + \int_{\Omega \times Q} |\psi^n - \psi^{n-1} \circ z_n|^2 \, d\mathbf{q} dy \leq \int_{\Omega \times Q} |\psi^{n-1}|^2 \, d\mathbf{q} dy. \tag{92}$$

Multiply the last inequality by $(1 - k_3 \Delta t)^{n-1}$ and sum over n from 1 to N . Use the inequality

$$(1 - k_3 \Delta t)^n \geq (1 - k_3 \Delta t)^N \geq \frac{1}{2} e^{-k_3 T} \tag{93}$$

to get (57). Taking $\hat{\phi} = \phi^n$ in (47) and using (56b) and (73) we obtain

$$\frac{1}{2\Delta t} \int_{\Omega} (|\phi^n|^2 + |\phi^n - \phi^{n-1}|^2 - |\phi^{n-1}|^2) \, d\mathbf{y} + D_2 \int_{\Omega} |\nabla_{\mathbf{y}} \phi^n|^2 \, d\mathbf{y} \leq 0 \tag{94}$$

Summing over n from 1 to N produces (58), which ends the proof. □

3.2. Construction of a solution. We now define, for any N large enough, the following functions

$$\psi_N(\cdot, t) = \frac{t - t_{n-1}}{\Delta t} \psi^n(\cdot) + \frac{t_n - t}{\Delta t} \psi^{n-1}(\cdot), \quad t \in [t_{n-1}, t_n] \tag{95}$$

and

$$\psi_N^+(\cdot, t) = \psi^n(\cdot), \quad \psi_N^-(\cdot, t) = \psi^{n-1}(\cdot), \quad t \in (t_{n-1}, t_n] \tag{96}$$

for $n = 1, \dots, N$.

We shall use analogous notations for ϕ_N and \mathbf{u}_N . Let $\tilde{\psi} \in \mathcal{X}_1$, $\tilde{\phi} \in \mathcal{X}_2$, both be test functions and set $\hat{\psi} = \int_{t_{n-1}}^{t_n} \tilde{\psi} \, dt$ and $\hat{\phi} = \int_{t_{n-1}}^{t_n} \tilde{\phi} \, dt$. It is clear that $\hat{\psi} \in V_1$ and $\hat{\phi} \in H^1(\Omega)$. Then

$$\begin{aligned} \int_{t_{n-1}}^{t_n} a^n(\psi^n, \tilde{\psi}(\cdot, t)) \, dt &= \int_{t_{n-1}}^{t_n} l_a^n(\tilde{\psi}(\cdot, t)) \, dt, \\ \int_{t_{n-1}}^{t_n} b^n(\psi^n, \tilde{\psi}(\cdot, t)) \, dt &= \int_{t_{n-1}}^{t_n} l_b^n(\tilde{\psi}(\cdot, t)) \, dt. \end{aligned} \tag{97}$$

Adding these inequalities, we obtain, for any $\tilde{\psi} \in \mathcal{X}_1$,

$$\begin{aligned} &\int_0^T \int_{\Omega \times Q} \frac{\psi_N^+(r, \eta, \mathbf{y}, t) - \psi_N^-(r, \eta, \mathbf{z}_N(\mathbf{y}, t), t)}{\Delta t} \tilde{\psi}(r, \eta, \mathbf{y}, t) \, d\mathbf{q}d\mathbf{y} \\ &+ D_1 \int_0^T \int_{\Omega \times Q} A(r) \nabla_{\eta} \psi_N^+ \cdot (\nabla_{\eta} \tilde{\psi} - 2\eta \tilde{\psi}) \, d\mathbf{q}d\mathbf{y} \\ &- \int_0^T \int_{\Omega \times Q} A(r) P_{\eta^\perp} (\nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{u}_N^+ \eta) \psi_N^+ \cdot \nabla_{\eta} \tilde{\psi} \, d\mathbf{q}d\mathbf{y} \\ &+ \int_0^T \int_{\Omega \times Q} \psi_N^+ \left(g(\nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{u}_N^+, \mathbf{u}_N^+, \eta) r \tilde{\psi} - \tau_0 \phi_N^- \left(\frac{\partial}{\partial r} \tilde{\psi} + \alpha \tilde{\psi} \right) \right) \, d\mathbf{q}d\mathbf{y} \\ &= 2 \int_0^T \int_{\Omega \times Q} g(\nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{u}_N^+, \mathbf{u}_N^+, \eta) \left(\int_r^\infty \psi_N^- \, dr' \right) \tilde{\psi} \, d\mathbf{q}d\mathbf{y}, \end{aligned} \tag{98}$$

where in the above,

$$\mathbf{x}_N(\mathbf{y}, t) = x_n(\mathbf{y}) \text{ and } \mathbf{z}_N(\mathbf{y}, t) = z_n(\mathbf{y}), \text{ for any } t \in (t_{n-1}, t_n). \tag{99}$$

Proceeding likewise, for any $\tilde{\phi} \in \mathcal{X}_2$,

$$\begin{aligned} & \int_0^T \int_{\Omega} \frac{\phi_N^+(\mathbf{y}, t) - \phi_N^-(\mathbf{y}, t)}{\Delta t} \tilde{\phi}(\mathbf{y}, t) \, d\mathbf{y} dt + \int_0^T \int_{\Omega} (u_N^+ \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \phi_N^+) \tilde{\phi} \, d\mathbf{y} dt \\ & + \int_0^T \int_{\Omega} D_2 \nabla_{\mathbf{y}} \phi_N^+ \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{\phi} \, d\mathbf{y} dt + \tau_0 \int_0^T \int_{\Omega} \phi_N^+ \left(\int_{\mathbb{S}^2 \times \mathbb{R}_+} \psi_N^- \, dr d\eta \right) \tilde{\phi} \, d\mathbf{y} dt \\ & = 0. \end{aligned} \tag{100}$$

However, to evaluate the limit $\Delta t \rightarrow 0$, we need some additional convergence results about the approximations. First, let us define the maps,

$$\begin{aligned} \Lambda_1[\psi](\mathbf{y}, t) &= \int_{\mathbb{S}^2 \times \mathbb{R}_+} \psi(r, \eta, \mathbf{y}, t) \, dr d\eta, \\ \Lambda_2[\psi](r, \eta, \mathbf{y}, t) &= \int_r^\infty \psi(r', \eta, \mathbf{y}, t) \, dr', \quad \text{for any } \psi \in L^2(0, T; L^2_\alpha). \end{aligned} \tag{101}$$

We have the following lemma:

Lemma 3.2. *Let $\phi^0 \in L^\infty(\Omega)$, $\phi^0 \geq 0$ and $\psi^0 \in L^2_\alpha$ such that*

$$0 \leq \psi^0 \leq C_0 e^{-\alpha r}, \quad \text{a.e in } Q \tag{102}$$

with $C_0 > 0$ a constant.

For $\{\psi_N\}_N$ and $\{\psi_N^\pm\}_N$, constructed by virtue of Lemma 3.1, there exists $\psi \in L^2(0, T; V) \cap L^\infty(0, T; L^2_\alpha)$, positive, such that, for $N \rightarrow +\infty$ we have the following convergence, up to a subsequence of N :

$$\psi_N^\pm \rightharpoonup \psi \quad * - \text{weakly in } L^\infty(0, T; L^2_\alpha), \tag{103}$$

$$A^{1/2} \nabla_\eta \psi_N^+ \rightharpoonup A^{1/2} \nabla_\eta \psi \quad \text{weakly in } L^2(0, T; L^2_\alpha), \tag{104}$$

$$r^{1/2} \psi_N^+ \rightharpoonup r^{1/2} \psi \quad \text{weakly in } L^2(0, T; L^2_\alpha), \tag{105}$$

$$\Lambda_1[\psi_N^-] \rightharpoonup \Lambda_1[\psi] \quad \text{weakly in } L^2((0, T) \times \Omega), \tag{106}$$

$$\Lambda_2[\psi_N^-] \rightharpoonup \Lambda_2[\psi] \quad \text{weakly in } L^2(0, T; L^2_\alpha). \tag{107}$$

Proof of lemma 3.2. It is clear from (57) that

$$\psi_N^+ \quad \text{is bounded in } L^2(0, T; V) \tag{108}$$

and

$$\psi_N^\pm \quad \text{is bounded in } L^\infty(0, T; L^2_\alpha). \tag{109}$$

We then deduce that

$$\psi_N^- \circ z_N \quad \text{is bounded in } L^\infty(0, T; L^2_\alpha). \tag{110}$$

From (57) one infers

$$\psi_N^+ - \psi_N^- \circ z_N \rightarrow 0 \quad \text{in the norm of } L^2(0, T; L^2_\alpha). \tag{111}$$

Then there exists $\psi^+ \in L^2(0, T; V) \cap L^\infty(0, T; L^2_\alpha)$ and $\psi^- \in L^\infty(0, T; L^2_\alpha)$ such that, up to a subsequence in N we have

$$\psi_N^+ \rightharpoonup \psi^+ \quad \text{weakly in } L^2(0, T; V) \tag{112}$$

$$\psi_N^\pm \rightharpoonup \psi^\pm \quad * - \text{weakly in } L^\infty(0, T; L^2_\alpha), \tag{113}$$

and

$$\psi_N^- \circ z_N \rightharpoonup \psi^+ \quad * \text{-weakly in } L^\infty(0, T; L_\alpha^2). \tag{114}$$

On the other hand we have

$$\begin{aligned} x_n(\mathbf{y}) - \mathbf{y} &= \chi^n(t_n; t_{n-1}, \mathbf{y}) - \chi^n(t_{n-1}; t_{n-1}, \mathbf{y}) \\ &= \Delta t \frac{\partial}{\partial t} \chi^n(\xi; t_{n-1}, \mathbf{y}) \\ &= \Delta t \mathbf{u}^n(\chi^n(\xi; t_{n-1}, \mathbf{y})). \end{aligned} \tag{115}$$

This implies

$$\|\mathbf{x}_N(\mathbf{y}, t) - \mathbf{y}\|_{L^\infty(]0, T[\times \Omega)} \leq \Delta t \|\mathbf{u}\|_{L^\infty(]0, T[\times \Omega)} \tag{116}$$

Now, for any $\tilde{\psi} \in C_0^\infty(Q \times \Omega \times]0, T[)$, with the help of (116) and (109), we obtain

$$\begin{aligned} &\left| \int_0^T \int_{\Omega \times Q} [\psi_N^-(r, \eta, \mathbf{y}, t) - \psi_N^-(r, \eta, \mathbf{z}_N(\mathbf{y}, t), t)] \tilde{\psi}(r, \eta, \mathbf{y}, t) \, d\mathbf{q}d\mathbf{y}dt \right| \\ &= \left| \int_0^T \int_{\Omega \times Q} \psi_N^-(r, \eta, \mathbf{y}, t) [\tilde{\psi}(r, \eta, \mathbf{y}, t) - \tilde{\psi}(r, \eta, \mathbf{x}_N(\mathbf{y}, t), t)] \, d\mathbf{q}d\mathbf{y}dt \right| \\ &\leq C\Delta t \|\mathbf{u}\|_{L^\infty(]0, T[\times \Omega)} \|\tilde{\psi}\|_{C^1}. \end{aligned} \tag{117}$$

We deduce that $\psi_N^- - \psi_N^- \circ z_N \rightarrow 0$ in the sense of distributions $\mathcal{D}'(Q \times]0, T[)$. This leads to the conclusion that $\psi^+ = \psi^-$, and we denote by ψ the common value ψ^+ or ψ^- . Therefore (103), (104) and (105) are proved. Let now $\varphi \in L^2((0, T) \times \Omega)$

$$\begin{aligned} &\int_0^T \int_{\Omega} (\Lambda_1 \psi_N^- - \Lambda_1 \psi) \varphi(\mathbf{y}, t) \, d\mathbf{y}dt \\ &= \int_0^T \int_{\Omega \times Q} \psi_N^- \varphi e^{-\alpha r} \, d\mathbf{q}d\mathbf{y}dt - \int_0^T \int_{\Omega \times Q} \psi \varphi e^{-\alpha r} \, d\mathbf{q}d\mathbf{y}dt \\ &\rightarrow 0, \quad \text{as } N \rightarrow +\infty \end{aligned} \tag{118}$$

since $\varphi e^{-\alpha r} \in L_\alpha^2$. Now, invoking (103), proves (106). Finally, let $\tilde{\psi} \in L^2(0, T; L_\alpha^2)$ and with the help of (105) we get

$$\begin{aligned} &\int_0^T \int_{\Omega \times Q} (\Lambda_2 \psi_N^+ - \Lambda_2 \psi) \tilde{\psi} \, d\mathbf{q}d\mathbf{y}dt \\ &= \int_0^T \int_{\Omega \times Q} r \psi_N^+ \tilde{\psi} \, d\mathbf{q}d\mathbf{y}dt - \int_0^T \int_{\Omega \times Q} r \psi \tilde{\psi} \, d\mathbf{q}d\mathbf{y}dt \\ &\rightarrow 0, \quad \text{as } N \rightarrow +\infty. \end{aligned} \tag{119}$$

Which proves (107). The positivity of ψ follows from the positivity of ψ^n for any n . This ends the proof. \square

We now focus on the convergence of the ϕ_N sequence.

Lemma 3.3. *Let $\phi^0 \in L^\infty(\Omega)$, $\phi^0 \geq 0$ and $\psi^0 \in L_\alpha^2$ such that*

$$0 \leq \psi^0 \leq C_0 e^{-\alpha r} \text{ a.e in } Q \tag{120}$$

with $C_0 > 0$ a constant.

For $\{\phi_N\}_N$ and $\{\phi_N^\pm\}_N$, constructed by virtue of Lemma 3.1, there exists $\phi \in$

$L^2(0, T; H^1) \cap L^\infty(0, T; L^2)$ positive such that we have the following convergence, up to a subsequence of N :

$$\nabla_{\mathbf{y}} \phi_N^+ \rightharpoonup \nabla_{\mathbf{y}} \phi \quad \text{weakly } L^2(0, T; L^2) \quad (121)$$

$$\phi_N^\pm, \phi_N \rightarrow \phi \quad \text{strongly } L^2(0, T; L^2(\Omega)) \quad (122)$$

Proof of lemma 3.3. From (58), we deduce that

$$\phi_N^+ \text{ is bounded in } L^2(0, T; H^1(\Omega)), \quad (123)$$

$$\phi_N^\pm \text{ is bounded in } L^\infty(0, T; L_\alpha^2) \quad (124)$$

and

$$\phi_N^- \text{ is bounded in } L^2(\delta, T; H^1(\Omega)) \text{ for any } \delta \in]0, T[. \quad (125)$$

Since we have

$$\phi_N = \frac{t_n - t}{\Delta t} \phi_N^- + \frac{t - t_{n-1}}{\Delta t} \phi_N^+$$

we deduce that

$$\phi_N \text{ is bounded in } L^\infty(0, T; L_\alpha^2) \quad (126)$$

and

$$\phi_N \text{ is bounded in } L^2(\delta, T; H^1(\Omega)) \text{ for any } \delta \in]0, T[. \quad (127)$$

It follows there exists a $\phi \in L^2(0, T; H^1) \cap L^\infty(0, T; L^2)$ such that (121) is satisfied. On the other hand, from the equality

$$\frac{\partial \phi_N}{\partial t} = \frac{\phi^n - \phi^{n-1}}{\Delta t} \text{ on } [t_{n-1}, t_n] \quad (128)$$

and from (47) we deduce that for any $\widehat{\phi} \in H^1(\Omega)$ we have

$$\begin{aligned} \int_{\Omega} \frac{\partial \phi_N}{\partial t} \widehat{\phi} \, d\mathbf{y} &= - \int_{\Omega} u_N^+ \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \phi_N^+ \widehat{\phi} \, d\mathbf{y} - D_2 \int_{\Omega} \nabla_{\mathbf{y}} \phi_N^+ \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \widehat{\phi} \, d\mathbf{y} \\ &\quad - \tau_0 \int_{\Omega} \phi_N^+ \left(\int_{\mathbb{S}^2 \times \mathbb{R}_+} \psi_N^- \, dr d\eta \right) \widehat{\phi} \, d\mathbf{y} \end{aligned} \quad (129)$$

Using (123) and (109), gives

$$\frac{\partial \phi_N}{\partial t} \text{ is bounded in } L^2(0, T; (H^1(\Omega))'). \quad (130)$$

Then, up to a subsequence of N , we have

$$\phi_N \rightarrow \phi \text{ strongly in } L^2(\delta, T; L^2(\Omega)), \text{ for any } \delta \in]0, T[. \quad (131)$$

Let us now prove that

$$\phi_N \rightarrow \phi \text{ strongly in } L^2(0, T; L^2(\Omega)). \quad (132)$$

We fix $\varepsilon > 0$ and we have for any $\delta \in]0, T[$:

$$\begin{aligned} \int_0^T \|\phi_N - \phi\|_{L^2(\Omega)}^2 \, dt &= \int_0^\delta \|\phi_N - \phi\|_{L^2(\Omega)}^2 \, dt + \int_\delta^T \|\phi_N - \phi\|_{L^2(\Omega)}^2 \, dt \\ &\leq 2C\delta + \int_\delta^T \|\phi_N - \phi\|_{L^2(\Omega)}^2 \, dt \end{aligned} \quad (133)$$

where C is an upper bound for $\|\phi_N\|_{L^\infty(0,T;L^2)}$ and $\|\phi\|_{L^\infty(0,T;L^2)}$. Now taking $\delta = \frac{\varepsilon}{4C}$ we obtain from (131) that for N large enough

$$\int_\delta^T \|\phi_N - \phi\|_{L^2(\Omega)}^2 dt \leq \frac{\varepsilon}{2}, \quad (134)$$

which proves (132). From (58) one gets

$$\phi_N^+ - \phi_N^- \rightarrow 0 \quad \text{strongly in } L^2(0, T; L^2(\Omega)). \quad (135)$$

Using the fact that

$$\phi_N - \phi_N^+ = \frac{t - t_n}{\Delta t} (\phi_N^+ - \phi_N^-) \quad (136)$$

and

$$\phi_N - \phi_N^- = \frac{t - t_{n-1}}{\Delta t} (\phi_N^+ - \phi_N^-) \quad (137)$$

leads to

$$\phi_N - \phi_N^\pm \rightarrow 0 \quad \text{strongly in } L^2(0, T; L^2(\Omega)). \quad (138)$$

This ends the proof. \square

3.3. Final stage of the proof of the main result. In the following we let $N \rightarrow +\infty$ in (98) and (100) with $\tilde{\psi} \in C_c^\infty((-T, T) \times \bar{\Omega} \times \mathbb{S}^2 \times [0, +\infty))$ and $\tilde{\phi} \in C_c^\infty((-T, T) \times \bar{\Omega} \times \mathbb{S}^2 \times [0, +\infty))$, respectively. We now prove that ψ and ϕ given by Lemmas 3.2 and 3.3 satisfy the variational equalities (37) and (38), respectively. Since Δt is small enough, we have

$$\begin{aligned} & \int_0^T \int_{\Omega \times Q} \frac{\psi_N^+(r, \eta, \mathbf{y}, t) - \psi_N^-(r, \eta, \mathbf{z}_N(\mathbf{y}, t), t)}{\Delta t} \tilde{\psi}(r, \eta, \mathbf{y}, t) \, d\mathbf{q}d\mathbf{y}dt \\ &= - \int_0^T \int_{\Omega \times Q} \psi_N^-(r, \eta, \mathbf{y}, t) \frac{\tilde{\psi}(r, \eta, \mathbf{x}_N(\mathbf{y}, t), t) - \tilde{\psi}(r, \eta, \mathbf{y}, t - \Delta t)}{\Delta t} \, d\mathbf{q}d\mathbf{y}dt \\ & \quad - \frac{1}{\Delta t} \int_0^{\Delta t} \int_{\Omega \times Q} \psi^0(r, \eta, \mathbf{y}) \tilde{\psi}(r, \eta, \mathbf{y}, t - \Delta t) \, d\mathbf{q}d\mathbf{y}dt. \end{aligned} \quad (139)$$

Smoothness of $\tilde{\psi}$ entails

$$\frac{1}{\Delta t} \int_0^{\Delta t} \int_{\Omega \times Q} \psi^0(r, \eta, \mathbf{y}) \tilde{\psi}(r, \eta, \mathbf{y}, t - \Delta t) \, d\mathbf{q}d\mathbf{y}dt \rightarrow \int_{\Omega \times Q} \psi^0 \tilde{\psi}(t=0) \, d\mathbf{q}d\mathbf{y}, \quad (140)$$

and

$$\frac{\tilde{\psi}(r, \eta, \mathbf{y}, t) - \tilde{\psi}(r, \eta, \mathbf{y}, t - \Delta t)}{\Delta t} \rightarrow \frac{\partial}{\partial t} \tilde{\psi}(r, \eta, \mathbf{y}, t) \quad \text{strongly in } L^2(0, T; L_\alpha^2). \quad (141)$$

We also have

$$\frac{\tilde{\psi}(r, \eta, \mathbf{x}_n(\mathbf{y}), t) - \tilde{\psi}(r, \eta, \mathbf{y}, t)}{\Delta t} = \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{\psi}(r, \eta, \mathbf{y} + \theta_1(\mathbf{x}_n(\mathbf{y}) - \mathbf{y}), t) \cdot \xi_N, \quad (142)$$

with $\theta_1 \in]0, 1[$ and

$$\xi_N = \frac{\mathbf{x}_n(\mathbf{y}) - \mathbf{y}}{\Delta t}. \quad (143)$$

Since $\mathbf{x}_n(\mathbf{y}) = \chi^n(t_{n-1}, t_n, \mathbf{y})$ we have

$$\begin{aligned} \xi_N &= \frac{\chi^n(t_{n-1}, t_n, \mathbf{y}) - \chi^n(t_n, t_n, \mathbf{y})}{\Delta t} \\ &= -\frac{\partial \chi^n}{\partial t}(t_{n-1} + \theta_2 \Delta t, t_n, \mathbf{y}) \\ &= -\mathbf{u}^n(\chi^n(t_{n-1} + \theta_2 \Delta t, t_n, \mathbf{y})), \end{aligned} \tag{144}$$

with $\theta_2 \in]0, 1[$. Then

$$\begin{aligned} &\frac{\tilde{\psi}(r, \eta, \mathbf{x}_n(\mathbf{y}), t) - \tilde{\psi}(r, \eta, \mathbf{y}, t)}{\Delta t} \\ &= -\nabla_{\mathbf{y}} \tilde{\psi}(r, \eta, \mathbf{y} + \theta_1(\mathbf{x}_n(\mathbf{y}) - \mathbf{y}), t) \cdot \mathbf{u}^n(\chi^n(t_{n-1} + \theta_2 \Delta t, t_n, \mathbf{y})). \end{aligned} \tag{145}$$

On the other hand, for any $s \in [t_{n-1}, t_n]$

$$\begin{aligned} \chi^n(s; t_n, \mathbf{y}) - \mathbf{y} &= \chi^n(s; t_n, \mathbf{y}) - \chi^n(t_n; t_n, \mathbf{y}), \\ &= \frac{\partial \chi^n}{\partial t}(t_n + \theta_3(s - t_n), t_n, \mathbf{y})(s - t_n), \\ &= \mathbf{u}^n(\chi^n(t_n + \theta_3(s - t_n), t_n, \mathbf{y}))(s - t_n), \end{aligned} \tag{146}$$

with $\theta_3 \in]0, 1[$, then

$$|\chi^n(s; t_n, \mathbf{y}) - \mathbf{y}| \leq |s - t_n| \|\mathbf{u}\|_{L^\infty(\Omega \times]0, T])}. \tag{147}$$

Then one deduces from (145) and (147):

$$\frac{\tilde{\psi}(r, \eta, \mathbf{x}_N(\mathbf{y}, t), t) - \tilde{\psi}(r, \eta, \mathbf{y}, t)}{\Delta t} \rightarrow -\mathbf{u}(t, \mathbf{y}) \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{\psi}(r, \eta, \mathbf{y}, t), \tag{148}$$

strongly in $L^2(0, T; L^2_\alpha)$. Next, from (139), (140), (141) and (148) one gets

$$\begin{aligned} &\int_0^T \int_{\Omega \times Q} \frac{\psi_N^+(r, \eta, \mathbf{y}, t) - \psi_N^-(r, \eta, \mathbf{z}_N(\mathbf{y}, t), t)}{\Delta t} \tilde{\psi}(r, \eta, \mathbf{y}, t) \, d\mathbf{q} d\mathbf{y} dt \\ &\rightarrow -\int_0^T \int_{\Omega \times Q} \psi \left(\frac{\partial}{\partial t} \tilde{\psi} + \mathbf{u} \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{\psi} \right) \, d\mathbf{q} d\mathbf{y} dt - \int_{\Omega \times Q} \psi^0 \tilde{\psi}(t=0) \, d\mathbf{q} d\mathbf{y}. \end{aligned} \tag{149}$$

Now, from the strong convergences

$$\nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{u}_N^+ \rightarrow \nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{u}, \tag{150}$$

$$g(\nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{u}_N^+, \mathbf{u}_N^+, \eta) \rightarrow g(\nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{u}, \mathbf{u}, \eta), \tag{151}$$

and the fact that

$$\phi_N^- \rightarrow \phi, \tag{152}$$

one easily calculates the limit in (98) and gets (37). Moreover,

$$\begin{aligned} &\int_0^T \int_{\Omega} \frac{\phi_N^+(\mathbf{y}, t) - \phi_N^-(\mathbf{y}, t)}{\Delta t} \tilde{\phi}(\mathbf{y}, t) \, d\mathbf{y} dt \\ &\rightarrow -\int_{\Omega} \psi^0 \tilde{\psi}(t=0) \, d\mathbf{y} - \int_0^T \int_{\Omega} \phi \frac{\partial}{\partial t} \tilde{\phi} \, d\mathbf{y} dt. \end{aligned} \tag{153}$$

Calculating the limit in (100) easily leads to (38).

4. Conclusions. Understanding polymer dynamics under different experimental conditions is of importance for the laboratory biologists. In this work we studied the influence of an external velocity field on the polymer-fibrils fragmentation (scission) and lengthening process. To the best of our knowledge this type of study has never been taken into account in the mathematical modelling of this problem. And even if our approach is at its early stage of development, we managed to obtain a rather good generalization of the existing models using more realistic assumptions when adapted to the prion study.

In this work, we generalized the corresponding Fokker-Planck-Smoluchowski partial differential equation for rigid rods in order to account for the fragmentation/lengthening process adapted for prion proliferation. Moreover, we have introduced a set of two equations on monomers and polymers with a known flow. We prove existence and positivity of weak solutions to the system with assumptions on the rates and distribution kernel. The proof is based on variational formulation, a semi-discretization in time, and we obtain estimations which allow us to pass to the limit. To achieve this, we introduced a suitable functional framework (see section 2.1).

The matter of existence of solutions to the full system (*i.e.* considering the time dependence of monomers together with the Navier-Stokes equations given in section 1.3) will be addressed in a future work.

Acknowledgments. The authors gratefully acknowledge Dr. Jean-Pierre Liatard, directeur de recherche à l'INSERM, Université de Montpellier 2, France, for providing the image in figure 1 and for useful talks on biology of prions.

Appendix. Let $M \in \mathcal{M}_3(\mathbb{R})$, $\eta \in \mathbb{S}^2$, we shall compute in spherical coordinates according to the base $(e_\theta, e_\varphi, e_r)$

$$\nabla_\eta \cdot P_{\eta^\perp} M \eta = \nabla_\eta \cdot M \eta - \nabla_\eta \cdot (M \eta \cdot \eta) \eta.$$

Note that in spherical coordinates, $\eta = e_r$ and for F a vector value function,

$$\nabla_\eta \cdot F = \partial_\theta F_\theta + \frac{\cos \theta}{\sin \theta} F_\theta + \frac{1}{\sin \theta} \partial_\varphi F_\varphi + 2F_r,$$

with $F_k = F \cdot e_k$, for $k = \theta, \varphi, r$. According to the derivative of the vector of the base, see Appendix II [13] and the fact that

$$\partial_k M e_r \cdot e_j = M \partial_k e_r \cdot e_j + M e_r \cdot \partial_k e_j,$$

assumed that $F = M e_r$, then

$$\nabla_\eta \cdot M e_r = M e_\theta \cdot e_\theta + M e_\varphi \cdot e_\varphi.$$

Next, take $F = (M e_r \cdot e_r) e_r$, it is clear that

$$F_\theta = (M e_r \cdot e_r)(e_r \cdot e_\theta) = 0, \text{ and } F_\varphi = (M e_r \cdot e_r)(e_r \cdot e_\varphi) = 0,$$

thus

$$\nabla_\eta \cdot (M e_r \cdot e_r) e_r = 2M e_r \cdot e_r.$$

Finally,

$$\nabla_\eta \cdot P_{\eta^\perp} M \eta = M e_\theta \cdot e_\theta + M e_\varphi \cdot e_\varphi - 2M e_r \cdot e_r.$$

REFERENCES

- [1] R. B. Bird, C. F. Curtiss, R. C. Armstrong and O. Hassager, “Dynamics of Polymeric Liquids, Vol. 2: Kinetic Theory,” J. Wiley & Sons, New York, 1987.
- [2] V. Calvez, N. Lenuzza, D. Oelz, J. P. Deslys, P. Laurent, F. Mouthon and B. Perthame, *Size distribution dependence of prion aggregates infectivity*, *Mathematical Biosciences*, **217** (2009), 88–99.
- [3] B. Caughey, G. S. Baron, B. Chesebro and M. Jeffrey, *Getting a grip on prions: Oligomers, amyloids, and pathological membrane interactions*, *Annu. Rev. Biochem.*, **78** (2009), 177–204.
- [4] M. Doumic, T. Goudon and T. Lepoutre, *Scaling limit of a discrete prion dynamics model*, *Comm. in Math. Sci.*, **7** (2009), 839–865.
- [5] H. Engler, J. Prüss and G. F. Webb, *Analysis of a model for the dynamics of prions II*, *J. Math. Anal. Appl.*, **324** (2006), 98–117.
- [6] M. L. Greer, L. Pujo-Menjouet and G. F. Webb, *A mathematical analysis of the dynamics of prion proliferation*, *J. Theoret. Biol.*, **242** (2006), 598–606.
- [7] M. L. Greer, P. van den Driessche, L. Wang and G. F. Webb, *Effects of general incidence and polymer joining on nucleated polymerization in a model of prion proliferation*, *SIAM J. Appl. Math.*, **68** (2007), 154–170.
- [8] R. R. Huilgol and N. Phan-Thien, “Fluid Mechanics of Viscoelasticity,” Elsevier, Amsterdam, 1997.
- [9] J. G. Kirkwood, “Macromolecules,” ed. P. L. Auer, Gordon and Breach, 1968.
- [10] P. T. Lansbury and B. Caughey, *The chemistry of scrapie infection: Implications of the ‘ice 9’ metaphor*, *Chemistry & Biology*, **2** (1995), 1–5.
- [11] P. Laurençot and C. Walker, *Well-posedness for a model of prion proliferation dynamics*, *J. Evol. Equ.*, **7** (2007), 241–264.
- [12] J. Masel, V. A. Jansen and M. A. Nowak, *Quantifying the kinetic parameters of prion replication*, *Biophys. Chem.*, **77** (1999), 139–152.
- [13] F. Otto and A. E. Tzavaras, *Continuity of velocity gradients in suspensions of rod-like molecules*, *Commun. Math. Phys.*, **277** (2008), 729–758.
- [14] S. B. Prusiner, *Prions*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95** (1998), 13363–13383.
- [15] J. Prüss, L. Pujo-Menjouet, G. F. Webb and R. Zacher, *Analysis of a model for the dynamics of prions*, *Discrete Contin. Dyn. Syst. Ser. B*, **6** (2006), 225–235.
- [16] T. Scheibel, A. S. Kowal, J. D. Bloom and S. L. Lindquist, *Bidirectional amyloid fiber growth for a yeast prion determinant*, *Curr. Biol.*, **11** (2001), 366–369.
- [17] G. Simonett and C. Walker, *On the solvability of a mathematical model for prion proliferation*, *J. Math. Anal. Appl.*, **324** (2006), 580–603.
- [18] C. Walker, *Prion proliferation with unbounded polymerization rates*, in “Proceedings of the Sixth Mississippi State–UBA Conference on Differential Equations and Computational Simulations,” *Electron. J. Diff. Eqns. Conference*, **15**, Southwest Texas State Univ., San Marcos, TX, (2007), 387–397.
- [19] V. Zamoza-Signoret, J.-D. Arnaud, P. Fontes, M.-T. Alvarez-Martinez and J.-P. Liautard, *Physiological role of the cellular prion protein*, *Vet. Res.*, **39** (2008).

Received June 2011; revised October 2011.

E-mail address: ciuperca@math.univ-lyon1.fr

E-mail address: hingant@math.univ-lyon1.fr

E-mail address: Liviu-Iulian.Palade@insa-lyon.fr

E-mail address: pujo@math.univ-lyon1.fr

Alzheimer's disease: analysis of a mathematical model incorporating the role of prions

Mohamed Helal · Erwan Hingant ·
Laurent Pujo-Menjouet · Glenn F. Webb

Received: 27 February 2013 / Revised: 1 August 2013
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2013

Abstract We introduce a mathematical model of the in vivo progression of Alzheimer's disease with focus on the role of prions in memory impairment. Our model consists of differential equations that describe the dynamic formation of β -amyloid plaques based on the concentrations of $A\beta$ oligomers, PrP^C proteins, and the $A\beta$ - \times - PrP^C complex, which are hypothesized to be responsible for synaptic toxicity. We prove the well-posedness of the model and provided stability results for its unique equilibrium, when the polymerization rate of β -amyloid is constant and also when it is described by a power law.

Keywords Alzheimer · Prion · Mathematical model · Well-posedness · Stability

This work was supported by ANR grant MADCOW no. 08-JCJC-0135-CSD5.
E. H. was partially supported by FONDECYT Postdoctoral Grant no. 3130318 (Chile).

M. Helal
Département de Mathématique, Faculté des Sciences, Université Djillali Liabes,
22000 Sidi Bel Abbès, Algeria
e-mail: mhelal_abbes@yahoo.fr

E. Hingant (✉)
CI²MA, Universidad de Concepción, Concepción, Chile
e-mail: ehingant@ci2ma.udec.cl

L. Pujo-Menjouet
Institut Camille Jordan, Université de Lyon, CNRS UMR 5208, Université Lyon 1,
43 blvd. du 11 novembre 1918, 69622 Villeurbanne cedex, France
e-mail: pujo@math.univ-lyon1.fr

G. F. Webb
Department of Mathematics, Vanderbilt University, 1326 Stevenson Center,
Nashville, TN 37240-0001, USA
e-mail: glenn.f.webb@vanderbilt.edu

Mathematics Subject Classification (2000) 35F61 · 92B05 · 34L30

1 Introduction

1.1 What is the link between Alzheimer disease and prion proteins?

Alzheimer's disease (AD) is acknowledged as one of the most widespread diseases of age-related dementia with ≈ 35.6 million people infected worldwide according to [Wimo and Prince \(2010\)](#). By the 2050's, this same report has predicted three or four times more people living with AD. AD affects memory, cognizance, behavior, and eventually leads to death. Apart from the social dysfunction of patients, another notable societal consequence of AD is its economic cost ($\approx \$422$ billion in 2009, e.g. [Wimo and Prince 2010](#)). The human and social impact of AD has driven extensive research to understand its causes and to develop effective therapies. Among recent findings are the results that imply cellular prion protein (PrP^{C}) is connected to memory impairment ([Cissé and Mucke 2009](#); [Cissé et al. 2011](#); [Gimbel et al. 2010](#); [Laurén et al. 2009](#); [Nath et al. 2012](#)). This connection is the focus of our modeling here, which we hope will contribute to understanding the relation of AD to prions.

The pathogenesis of AD is related to a gradual build-up of β -amyloid ($\text{A}\beta$) plaques in the brain ([Duyckaerts et al. 2009](#); [Hardy and Selkoe 2002](#)). β -amyloid plaques are formed from the $\text{A}\beta$ peptides obtained from the amyloid protein precursor (APP) protein cleaved at a displaced position. There exist different forms of β -amyloids, from soluble monomers to insoluble fibrillar aggregates ([Chen et al. 2010](#); [Lomakin et al. 1996](#); [Lomakin et al. 1997](#); [Urbanc et al. 1999](#); [Walsh et al. 1997](#)). It has been revealed by [Selkoe \(2008\)](#) that the toxicity depends on the size of these structures and recent evidence suggest that oligomers (small aggregates) play a key role in memory impairment rather than β -amyloid plaques (larger aggregates) formed in the brain. More specifically, $\text{A}\beta$ oligomers cause memory impairment *via* synaptic toxicity onto neurons. This phenomenon seems to be induced by a membrane receptor, and there is evidence that this rogue agent is the PrP^{C} protein ([Nygaard and Strittmatter 2009](#); [Zou et al. 2011](#); [Resenberger et al. 2011](#); [Gimbel et al. 2010](#); [Laurén et al. 2009](#)) We note that this protein, when misfolded in a pathological form called PrP^{Sc} , is responsible for Creutzfeldt–Jacob disease. Indeed, it is believed that there is a high affinity between PrP^{C} and $\text{A}\beta$ oligomers, at least theoretically by [Gallion \(2012\)](#). Moreover, the prion protein has also been identified as an APP regulator, which confirms that both are highly related ([Nygaard and Strittmatter 2009](#); [Vincent et al. 2008](#)). This discovery offers a new therapeutic target to recover memory in AD patients, or at least slow memory depletion ([Freir et al. 2011](#); [Chung et al. 2010](#)).

1.2 What is our objective?

Our objective here is to introduce and study a new *in vivo* model of AD evolution mediated by PrP^{C} proteins. To the best of our knowledge, no model such as the one proposed here has yet been advanced. There exist a variety of models specifically designed for Alzheimer's disease and their treatment ([Achdou et al. 2012](#); [Craft et al.](#)

2002, 2005). Nevertheless, the prion protein has never been taken into account in the way we formulate here, and our model could help in designing new experiments and treatments.

This paper is organized as follows. We present the model in Sect. 2, and provide a well-posedness result in the particular case that β -amyloids are formed at a constant rate. In Sect. 3 we provide a theoretical study of our model in a more general context with a power law rate of polymerization, i.e. the polymerization or build-up rate depends on β -amyloid plaque size.

2 The model

2.1 A model for beta-amyloid formation with prions

The model deals with four different species. First, the concentration of $A\beta$ oligomers consisting of aggregates of a few $A\beta$ peptides; second, the concentration of the PrP^C protein; third, the concentration of the complex formed from one $A\beta$ oligomer binding onto one PrP^C protein. These quantities are soluble and their concentration will be described in terms of ordinary differential equations. Fourth, we have the insoluble β -amyloid plaques described by a density according to their size x . This approach is standard in modeling prion proliferation phenomena (see for instance Greer et al. 2006; Prigent et al. 2012; Calvez et al. 2009, 2010; Gabriel 2011; Greer et al. 2006, 2007; Laurençot and Walker 2007; Prüss et al. 2006; Simonett and Walker 2006 for modeling approach and analysis). Note that the size x is an abstract variable that could be the volume of the aggregate. Here, however, we view aggregates as fibrils that lengthen in one dimension. The size variable x thus belongs to the interval $(x_0, +\infty)$, where $x_0 > 0$ stands for a critical size below which the plaques cannot form. To summarize we denote, for $x \in (x_0, +\infty)$ and $t \geq 0$,

- $f(t, x) \geq 0$: the density of β -amyloid plaques of size x at time t ,
- $u(t) \geq 0$: the concentration of soluble $A\beta$ oligomers (unbounded oligomers) at time t ,
- $p(t) \geq 0$: the concentration of soluble cellular prion proteins PrP^C at time t ,
- $b(t) \geq 0$: the concentration of $A\beta$ - \times - PrP^C complex (bounded oligomers) at time t .

Note that β -amyloid plaques are formed from the clustering of $A\beta$ oligomers. The rate of agglomeration depends on the concentration of soluble oligomers and the structure of the amyloid which is linked to its size. It occurs in a mass action between plaques and oligomers at a nonnegative rate given by $\rho(x)$, where x is the size of the plaque. This is the reason why the intentionally misused word “size” considered here (and described above) accounts for the mass of $A\beta$ oligomers that form the polymer. We assume indeed, that the mass of one oligomer is given by a “sufficiently small” parameter $\varepsilon > 0$. Thus, the number of oligomers in a plaque of mass $x > 0$ is x/ε which justifies our assumption that the size of plaques is a continuum. Moreover, amyloids have a critical size $x_0 = \varepsilon n > 0$, where $n \in \mathbb{N}^*$ is the number of oligomers in the critical plaque size. The amyloids are prone to be damaged at a nonnegative rate μ ,

Table 1 Parameter description of the model

Parameter/variable	Definition	Unit
t	Time	Days
x	size of β -amyloidplaques	–
x_0	Critical size of β -amyloidplaques	–
n	Number of oligomers in a plaque of size x_0	–
ε	Mass of one oligomer	–
λ_u	Source of $A\beta$ oligomers	Days ⁻¹
γ_u	Degradation rate of $A\beta$ oligomers	Days ⁻¹
λ_p	Source of PrP ^C	Days ⁻¹
γ_p	Degradation rate of PrP ^C	Days ⁻¹
τ	Binding rate of $A\beta$ oligomers onto PrP ^C	Days ⁻¹
σ	Unbinding rate of $A\beta$ - \times -PrP ^C	Days ⁻¹
δ	Degradation rate of $A\beta$ - \times -PrP ^C	Days ⁻¹
$\rho(x)$	Conversion rate of oligomers into a plaque	(SAF/sq) ⁻¹ * . days ⁻¹
$\mu(x)$	Degradation rate of a plaque	Days ⁻¹

* SAF/sq means Scrapie-Associated Fibrils per square unit and is explained in detail by Rubenstein et al. (1991) (we consider plaques as being fibrils here)

possibly dependent on the size x of the plaques. All the parameters for $A\beta$ oligomers, PrP^C, and β -amyloid plaques, such as production, binding and degradation rates, are nonnegative and described in Table 1.

Then, writing evolution equations for these four quantities, we obtain

$$\frac{\partial}{\partial t} f(x, t) + u(t) \frac{\partial}{\partial x} [\rho(x) f(x, t)] = -\mu(x) f(x, t) \quad \text{on } (x_0, +\infty) \times (0, +\infty), \tag{1}$$

$$\dot{u} = \lambda_u - \gamma_u u - \tau u p + \sigma b - nN(u) - \frac{1}{\varepsilon} u \int_{x_0}^{+\infty} \rho(x) f(x, t) dx \quad \text{on } (0, +\infty), \tag{2}$$

$$\dot{p} = \lambda_p - \gamma_p p - \tau u p + \sigma b \quad \text{on } (0, +\infty), \tag{3}$$

$$\dot{b} = \tau u p - (\sigma + \delta) b \quad \text{on } (0, +\infty). \tag{4}$$

The term N accounts for the formation rate of a new β -amyloidplaque with size x_0 from the $A\beta$ oligomers. In order to balance this term, we add the boundary condition

$$u(t) \rho(x_0) f(x_0, t) = N(u(t)), \quad t \geq 0. \tag{5}$$

The integral in the right-hand side of equation (2) is the total polymerization with parameters $1/\varepsilon$, since dx/ε counts the number of oligomers into a unit of length dx . Finally, the problem is completed with nonnegative initial data, a function $f^{in} \geq 0$ and $u^{in}, p^{in}, b^{in} \geq 0$, such that at time $t = 0$

$$f(\cdot, t = 0) = f^{in} \quad \text{on } (x_0, +\infty), \tag{6}$$

and

$$u(t = 0) = u^{in}, \quad p(t = 0) = p^{in} \quad \text{and} \quad b(t = 0) = b^{in}. \tag{7}$$

The above system (1–5) involves two formal balance laws: the first one for prion proteins

$$\frac{d}{dt} (b + p) = \lambda_p - \gamma_p p - \delta b,$$

and the second for A β oligomers

$$\frac{d}{dt} \left(b + u + \frac{1}{\varepsilon} \int_{x_0}^{+\infty} x f dx \right) = \lambda_u - \gamma_u u - \delta b - \frac{1}{\varepsilon} \int_{x_0}^{+\infty} x \mu f dx.$$

The total concentrations of both evolve in time according to the production and degradation rates. In Fig. 1 we give a schematic representation of these processes.

Before going further, we emphasize some modeling points:

- Modeling fibril formation involves many more complex features. Indeed, in vivo but also in vitro, their dynamics include phenomena of depolymerization, fragmentation and possible coagulation. A fully developed model would take into account all these processes. In this work we focus on the dynamics of oligomers and their interactions with fibrils and PrP^C. Therefore, we neglect the internal dynamics of polymers and their depolymerization to give priority to an apparent extension rate of fibrils.
- There exist various sizes of A β oligomers, from dimer up to ten or so peptides. Nevertheless, these are unstable until they reach a stable structure, and that is why

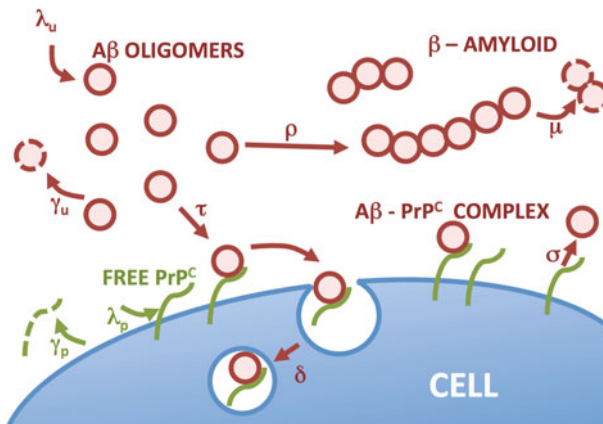


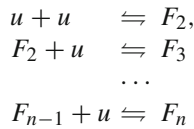
Fig. 1 Schematic diagram of the evolution processes of β -amyloid plaques, A β oligomers (bounded and unbounded), and PrP^C in the model

we assume here only one stable oligomer size, which is the one that interacts with PrP^C and that is able to form protofibrils (also called critical plaques here). We refer to the papers by Serpell (2000) and Fawzi et al. (2007) for their discussions about intermediate oligomers, fibril structure, and fibril nucleation.

2.2 An associated ODE system

In this section we investigate constant polymerization and degradation rates, i.e, rates independent of the size of the plaque involved in the process. This first approach is biologically less realistic, but technically more tractable, yet still quite challenging for an analytical study of the problem. In Sect. 3, the polymerization rate ρ will be taken more realistically as a power of x . Here we assume that $\rho(x) := \rho$ and $\mu(x) := \mu$ are positive constants. Moreover, without loss of generality, we let $\varepsilon = 1$, which only requires a rescaling of the units in the equations.

Then, we assume a pre-equilibrium hypothesis for the formation of β -amyloidplaques, as formulated by Portet and Arino (2009) for filaments, by setting $N(u) = \alpha u^n$, with $\alpha > 0$ the formation rate. It is obtained assuming $n - 1$ reactions lead to a fibril of size n from oligomers:



where F_i are pre-fibrils or aggregates of i -oligomers for $i = 2, \dots, n$ and the coefficient rate of each equation is given by K_i . So, taking all the equations at the equilibrium, we get $F_2 = K_2 u^2$, $F_3 = K_3 F_2 u = K_3 K_2 u^3$, etc. until $F_n = \alpha u^n$, where the formation rate α of a critical plaque, composed of $n \geq 1$ oligomers, is given by $\alpha = K_n \times \dots \times K_2 > 0$. Once the length n is achieved, we assume the fibrils reach a stable structure. Therefore, we only take into account their polymerization and not their reverse reactions (see, for instance, a discussion about prion fibrils in Serpell (2000), Fawzi et al. (2007)).

With these assumptions we are able to close the system (1–4) with respect to (5) into a system of four differential equations. Indeed, integrating (1) over $(x_0, +\infty)$ we get formally an equation over the quantity of amyloids at time $t \geq 0$

$$A(t) = \int_{x_0}^{+\infty} f(x, t) dx,$$

which is given by

$$\frac{d}{dt} A(t) - u(t) \rho f(x_0, t) = -\mu A(t).$$

We close the system using expression of the boundary (5), recalling that ρ is constant, and the fact that $N(u) = \alpha u^n$. This method has already been used on the prion model by Greer et al. (2006). Now the problem reads, for $t \geq 0$,

$$\dot{A} = \alpha u^n - \mu A, \tag{8}$$

$$\dot{u} = \lambda_u - \gamma_u u - \tau up + \sigma b - \alpha nu^n - \rho u A, \tag{9}$$

$$\dot{p} = \lambda_p - \gamma_p p - \tau up + \sigma b, \tag{10}$$

$$\dot{b} = \tau up - (\sigma + \delta)b. \tag{11}$$

The mass of β -amyloidplaques is given by $M(t) = \int_{x_0}^{+\infty} x f(x, t) dx$ which satisfies an equation (formal integration of 1) that can be solved independently, since

$$\frac{d}{dt} M(t) - x_0 u(t) \rho f(x_0, t) - \int_{x_0}^{+\infty} \rho u(t) f(x, t) dx = -\mu M(t).$$

Indeed, we use once again the boundary condition (5), the expression of the formation rate N and that $x_0 = n$ since $\varepsilon = 1$, in order to get

$$\dot{M} = n\alpha u^n + \rho u A - \mu M. \tag{12}$$

Notice that initial conditions for A and M are given by $A^{in} = \int_{x_0}^{+\infty} f^{in}(x) dx$ and $M^{in} = \int_{x_0}^{+\infty} x f^{in}(x) dx$, while the initial conditions for u , p and b are unchanged.

The next subsection is devoted to the analysis of the system (8–11).

2.3 Well-posedness and stability of the ODE system

We prove in the following proposition the nonnegativity, existence, and uniqueness of a global solution to the system (8–11) with classical techniques from the theory of ordinary differential equations.

Proposition 1 (Well-posedness) *Assume $\lambda_u, \lambda_p, \gamma_u, \gamma_p, \tau, \sigma, \delta, \rho$ and μ are positive, and let $n \geq 1$ be an integer. For any $(A^{in}, u^{in}, p^{in}, b^{in}) \in \mathbb{R}_+^4$ there exists a unique nonnegative bounded solution (A, u, p, b) to the system (8–11) defined for all time $t > 0$, i.e., the solution A, u, p and b belong to $C_b^1(\mathbb{R}_+)$ and remains in the stable subset*

$$S = \left\{ (A, u, p, b) \in \mathbb{R}_+^4 : nA + u + p + 2b \leq nA^{in} + u^{in} + p^{in} + 2b^{in} + \frac{\lambda}{m} \right\} \tag{13}$$

with $\lambda = \lambda_u + \lambda_p$ and $m = \min\{\mu, \gamma_u, \gamma_p, \delta\}$. Furthermore, let $M(t = 0) = M^{in} \geq 0$, and then there exists a unique nonnegative solution M to (12), defined for all time $t > 0$.

Proof Let $F : \mathbb{R}^4 \mapsto \mathbb{R}^4$ be given by

$$F(A, u, p, b) = \begin{pmatrix} F_1 := \alpha u^n - \mu A \\ F_2 := \lambda_u - \gamma_u u - \tau u p + \sigma b - \alpha n u^n - \rho u A \\ F_3 := \lambda_p - \gamma_p p - \tau u p + \sigma b \\ F_4 := \tau u p - (\sigma + \delta) b \end{pmatrix}.$$

F is obviously C^1 and locally Lipschitz continuous on \mathbb{R}^4 . Moreover, if $(A, u, p, b) \in \mathbb{R}_+^4$, $F_1 \geq 0$ when $A = 0$, $F_2 \geq 0$ when $u = 0$, $F_3 \geq 0$ when $p = 0$, and $F_4 \geq 0$ when $b = 0$. Thus, the system is quasi-positive and the solution remains in \mathbb{R}_+^4 . Finally, we remark that

$$\frac{d}{dt} (nA + u + p + 2b) \leq \lambda - m (nA + u + p + 2b),$$

with $\lambda = \lambda_u + \lambda_p$ and $m = \min \{ \mu, \gamma_u, \gamma_p, \delta \} > 0$, and Gronwall's lemma ensures that

$$nA(t) + u(t) + p(t) + 2b(t) \leq nA^{in} + u^{in} + p^{in} + 2b^{in} + \frac{\lambda}{m}.$$

This proves the global existence of a unique nonnegative bounded solution (A, u, p, b) . The claim for the mass M is straightforward. \square

We next consider the existence of a steady state $A_\infty, u_\infty, p_\infty, b_\infty$ and the asymptotic behavior of solutions to (8–11). It is easy to compute the steady state by solving the problem

$$\mu A_\infty - \alpha u_\infty^n = 0 \tag{14}$$

$$\lambda_u - \gamma_u u_\infty - \tau u_\infty p_\infty + \sigma b_\infty - \alpha n u_\infty^n - \rho u_\infty A_\infty = 0 \tag{15}$$

$$\lambda_p - \gamma_p p_\infty - \tau u_\infty p_\infty + \sigma b_\infty = 0 \tag{16}$$

$$\tau u_\infty p_\infty - (\delta + \sigma) b_\infty = 0 \tag{17}$$

From the structure of the second equation, we cannot give an explicit formula for this problem. To obtain u_∞ we have to solve an algebraic equation, which involves a polynomial of degree n . However, we can prove that the solution exists, and then u_∞ is given implicitly. The next proposition establishes the local stability of the steady state.

Theorem 1 (Linear Stability) *Under hypothesis of the Proposition 1, there exists a unique positive steady state $A_\infty, u_\infty, p_\infty$ and b_∞ to (8–11) with*

$$A_\infty = \frac{\alpha}{\mu} u_\infty^n, \quad p_\infty = \frac{\lambda_p}{\tau^* u_\infty + \gamma_p}, \quad b_\infty = \frac{1}{\sigma} \frac{\lambda_p (\tau - \tau^*)}{\tau^* u_\infty + \gamma_p} u_\infty,$$

where $\tau^* = \tau(1 - \sigma/(\delta + \sigma))$ and u_∞ is the unique positive root of Q , defined by

$$Q(x) = \gamma_p \lambda_u + ax - P(x), \text{ for every } x \geq 0$$

with $a = \tau^*(\lambda_u - \lambda_p) - \gamma_u \gamma_p$ and

$$P(x) = \tau^* \gamma_u x^2 + \alpha \gamma_p n x^n + \left(\alpha \tau^* n + \rho \gamma_p \frac{\alpha}{\mu} \right) x^{n+1} + \rho \tau^* \frac{\alpha}{\mu} x^{n+2}$$

Moreover, this equilibrium is locally linearly asymptotically stable.

Proof First, Eq. (14) gives A_∞ with respect to u_∞ . Then, combining (16) and (17) we get p_∞ and b_∞ as functions of u_∞ . Now replacing p_∞ and b_∞ in (15) we get u_∞ as the root of Q . It is straightforward that Q has a unique positive root. Indeed, it is the intersection between a line and a monotonic polynomial on the half plane. Now, we linearize the system in $A_\infty, u_\infty, p_\infty$ and b_∞ . Let $X = (A, u, p, b)^T$ and the linearized system reads

$$\frac{d}{dt} X = DX,$$

where

$$D = \begin{pmatrix} -\mu & \alpha n u_\infty^{n-1} & 0 & 0 \\ -\rho u_\infty & \gamma_u - \tau p_\infty - \alpha n^2 u_\infty^{n-1} - \rho A_\infty & -\tau u_\infty & \sigma \\ 0 & -\tau p_\infty & -(\gamma_p + \tau u_\infty) & \sigma \\ 0 & \tau p_\infty & \tau u_\infty & -(\sigma + \delta) \end{pmatrix}.$$

The characteristic polynomial is of the form

$$P(\lambda) = \lambda^4 + a_1 \lambda^3 + a_2 \lambda^2 + a_3 \lambda + a_4,$$

with the $a_i > 0, i = 1 \dots 4$ given in the Appendix. Moreover it satisfies

$$a_1 a_2 a_3 > a_3^2 + a_1^2 a_4.$$

Then, according to the Routh–Hurwitz criterion (see Allen 2007*Th. 4.4, page 150), all the roots of the characteristic polynomial P are negative or have negative real part, thus the equilibrium is locally asymptotically stable. \square

To go further, we give a conditional global stability result when no nucleation is considered, i.e., $\alpha = 0$.

Proposition 2 (Global stability) *Assume that $\alpha = 0$. Under the condition*

$$\left(1 + 2 \frac{\delta + \gamma_u}{\sigma} \right) > \frac{\delta}{2\gamma_p} > \frac{\gamma_p}{\sigma},$$

the unique equilibrium is given by

$$A_\infty = 0, \quad p_\infty = \frac{\lambda_p}{\tau^* u_\infty + \gamma_p}, \quad b_\infty = \frac{1}{\sigma} \frac{\lambda_p(\tau - \tau^*)}{\tau^* u_\infty + \gamma_p} u_\infty,$$

where u_∞ is the unique positive root of $Q(x) = \gamma_p \lambda_u + ax - \tau^* \lambda_u x^2$, with $a = \tau^*(\lambda_u - \lambda_p) - \gamma_u \gamma_p$. Further, this equilibrium is globally asymptotically stable in the stable subset S defined in (13).

Proof The proof is given by a Lyapunov function Φ stated in the Appendix. It is positive when the condition above is fulfilled and its derivative along the solution to the system (8–11) is negative definite. Thus, from the LaSalle’s invariance principle, we get that under these hypotheses the equilibrium of (8–11) is globally asymptotically stable. \square

In the next section we will study from a mathematical point of view a more realistic model. Nevertheless, our model emphasizes a major dilemma in AD. Indeed, consider the steady state given in Theorem 1. If the rate of polymerization increases, it increases the growth rate of the polynomial P , so the intersection occurs faster (the positive root of Q). This means that u_∞ decreases, and likewise b_∞ . The balance law of oligomers suggests that when b_∞ decreases in such a way, the mass of fibrils M will increase. So a question remains, what is the less toxic quantity, and is there any criteria under which we could optimize ρ .

3 A power law polymerization rate

The assumption that the polymerization rate ρ and the degradation rate μ are constant is not always biologically realistic, as recognized by Calvez et al. (2010) and Gabriel (2011). Consequently, we study here the more realistic case $\rho(x) \sim x^\theta$, and in the following we restrict our analysis to $\theta \in (0, 1)$. We will see that we are able to obtain a result of existence and uniqueness of solutions for this more general case.

3.1 Hypotheses and main result

We are interested in nonnegative solutions to the system (1–4) with the boundary condition (5), completed by initial data (6) and (7), but with the new assumption $\rho(x) \sim x^\theta$. Moreover, we require that our solution preserves the total mass of β -amyloidin order to be biologically relevant. Hence, the solution f will be sought in the natural space $L^1(x_0, +\infty; xdx)$, since xdx measures the mass at any time. Our hypotheses for the system (1–4) are

$$(H1) \quad \left| \begin{array}{l} f^{in} \in L^1(x_0, +\infty; xdx), \quad f^{in} \geq 0, \quad a.e. \ x > x_0. \end{array} \right.$$

- (H2) $\rho \geq 0, \rho \in W^{2,\infty}([x_0, \infty)), \mu \geq 0, \mu \in W^{1,\infty}([x_0, \infty)).$
- (H3) $N \geq 0, N \in W_{loc}^{1,\infty}(\mathbb{R}_+), N(0) = 0.$
- (H4) $\lambda_u, \gamma_u, \lambda_p, \gamma_p, \tau, \sigma, \delta > 0.$

We note that (H2) implies the existence of a constant $C > 0$ such that $\rho(x) \leq Cx$, with for example, $C = 2\|\rho'\|_{L^\infty} + \rho(x_0)/x_0$. For any $x \geq x_0$, we have

$$\rho(x) \leq \|\rho'\|_{L^\infty}(x + x_0) + \rho(x_0) \leq \left(2\|\rho'\|_{L^\infty} + \frac{\rho(x_0)}{x_0}\right)x.$$

We remark that this kind of regularity of the rate ρ covers the case that $\rho(x) \sim x^\theta$ with $\theta \in (0; 1)$. Also, (H3) implies the existence of a constant $K_M > 0$ such that $N(w) \leq K_M w$, for any $w \in [0, M]$. Further, The nonnegativity of the parameters of Table 1 (hypothesis (H4)) is a natural assumption with regard to their biological meaning.

We introduce the definition of a solution to system (1–4).

Definition 1 Consider a function f^{in} satisfying (H1) and let u^{in}, p^{in}, b^{in} be three nonnegative real data. Assume that ρ, μ, N and all the parameters of Table 1 verify assumptions (H2)–(H4), and let $T > 0$. Then a quadruplet (f, u, p, b) of nonnegative functions is said to be a *solution* on the interval $(0, T)$ to the system (1–4) with the boundary condition (5) and the initial data (6) and (7), if it satisfies, for any $\varphi \in C_c^\infty([0, T] \times [x_0, +\infty))$ and $t \in (0, T)$

$$\begin{aligned} \int_{x_0}^{+\infty} f(x, t)\varphi(x, t)dx &= \int_{x_0}^{+\infty} f^{in}(x)\varphi(x, 0)dx + \int_0^t N(u(s))\varphi(x_0, s)ds \\ &+ \int_0^t \int_{x_0}^{+\infty} f(x, s) \left[\frac{\partial}{\partial t}\varphi(x, s) + u(s)\rho(x)\frac{\partial}{\partial x}\varphi(x, s) - \mu(x)\varphi(x, s) \right] dx ds, \end{aligned}$$

and

$$u(t) = u^{in} + \int_0^t \left[\lambda_u - \gamma_u u - \tau u p + \sigma b - x_0 N(u) - u \int_{x_0}^{+\infty} \rho(x) f(x, s) dx \right] ds,$$

$$p(t) = p^{in} + \int_0^t [\lambda_p - \gamma_p p - \tau u p + \sigma b] ds,$$

$$b(t) = b^{in} + \int_0^t [\tau u p - (\sigma + \delta)b] ds,$$

with the regularity $f \in L^\infty(0, T; L^1(x_0, +\infty; x dx))$ and $u, p, b \in C^0(0, T)$.

Theorem 2 (Well-posedness) *Let f^{in} be a nonnegative function satisfying (H1), let u^{in}, p^{in} and b^{in} be nonnegative real numbers, and assume hypothesis (H2) to (H4). Let $T > 0$. There exists a unique nonnegative solution (f, u, p, b) to (1–4) with (5) and initial conditions given by (6) and (7), in the sense of Definition 1, such that $f \in C^0([0, T], L^1(x_0, +\infty; x^r dx))$ for every $r \in [0, 1]$, and $u, p, b \in C_b^1(0, T)$.*

The proof of the Theorem 2 is decomposed into two parts. First, we study the initial boundary value problem

$$\frac{\partial}{\partial t} f(x, t) + u(t) \frac{\partial}{\partial x} [\rho(x) f(x, t)] = -\mu(x) f(x, t) \quad \text{on } (x_0, +\infty) \times (0, +\infty), \tag{18}$$

$$u(t) \rho(x_0) f(x_0, t) = N(u(t)), \quad \text{on } (0, +\infty), \tag{19}$$

$$f(\cdot, t = 0) = f^{in}, \quad \text{on } (x_0, +\infty). \tag{20}$$

We prove in the Sect. 3.2 the following proposition:

Proposition 3 *Let $u \in C_b^0(\mathbb{R}_+)$, let f^{in} satisfy (H1), and assume hypothesis (H2) to (H3). For any $T > 0$, there exists a unique nonnegative solution f to (18–20) in the sense of distributions, such that $f \in C^0([0, T], L^1(x_0, +\infty; x^r dx))$ for every $r \in [0, 1]$.*

The proof is in the spirit of the proof proposed by Collet and Goudon (2000) for the Lifshitz–Slyozov equation. It consists of a proof based on the concept of a mild solution in the sense of distributions, with the additional requirement of continuity from time into $L^1(x dx)$ space.

The second step of the proof of Theorem 2 is performed in Sect. 3.3. Precisely, once we have the existence of a unique density f , when u is given, we are able to construct the operator

$$S : C^0([0, T])^3 \mapsto C^0([0, T])^3$$

$$(u, p, b) \mapsto (S_u, S_p, S_b) = S(u, p, b), \tag{21}$$

$$S_u = u^{in} + \int_0^t \left[\lambda_u - \gamma_u u - \tau u p + \sigma b - x_0 N(u) - u \int_{x_0}^{+\infty} \rho(x) f(x, s) dx \right] ds,$$

$$S_p = p^{in} + \int_0^t [\lambda_p - \gamma_p p - \tau u p + \sigma b] ds,$$

$$S_b = b^{in} + \int_0^t [\tau u p - (\sigma + \delta)b] ds,$$

where f is the unique solution associated to u given by Proposition 3. Then, Theorem 2 is finally proven in Sect. 3.3 applying the Banach fixed point theorem to the operator S .

3.2 Existence of a solution to the autonomous problem

In the following we let $u \in C_b^0(\mathbb{R}_+)$ and we use the notations $a(x, t) = u(t)\rho(x)$ and $c(x, t) = -u(t)\rho'(x)$ for every $(x, t) \in [x_0, +\infty) \times \mathbb{R}_+$. From (H2) and noting that $\rho(x) \leq Cx$, we have for any $t > 0$

$$a(t, x) \leq Ax, \text{ for } x > x_0, \tag{22}$$

$$|a(t, x) - a(t, y)| \leq A|x - y|, \text{ for } x, y > x_0, \tag{23}$$

$$|c(t, x)| \leq B, \tag{24}$$

where $A = \max(C\|u\|_{L^\infty}, \|u\|_{L^\infty}\|\rho'\|_{L^\infty})$ and $B = \|u\|_{L^\infty}\|\rho'\|_{L^\infty(x_0, +\infty)}$. In order to establish the mild formulation of the problem, we define the characteristic reaching $x \geq x_0$ at time $t \geq 0$, that is, the solution to

$$\frac{d}{ds} X(s; x, t) = a(t, X(s; x, t)),$$

$$X(t; x, t) = x. \tag{25}$$

From property (23), there exists a unique characteristic that reaches (x, t) . We note that it makes sense as long as $X(s; x, t) \geq x_0$. Thus, we define the starting time of the characteristic as

$$s_0(x, t) := \inf \{s \in [0, t] : X(s; x, t) \geq x_0\}.$$

The characteristic will be defined for any time $s \geq s_0$ and takes its origin from the initial or the boundary condition, respectively, if $s_0 = 0$ or $s_0 > 0$. We recall the classical properties of these characteristics

$$X(s; X(\sigma; x, t), \sigma) = X(s; x, t)$$

$$J(s; x, t) := \frac{\partial}{\partial x} X(s; x, t) = \exp\left(\int_s^t c(\sigma, X(\sigma; x, t))d\sigma\right)$$

$$\frac{\partial}{\partial t} X(s; x, t) = -a(t, x)J(s; x, t).$$

Also, remarking that $s_0(X(t; x_0, 0), t) = 0$, then by monotonicity and continuity of X for any $t > 0$, we get $x \in (x_0, X(t; x_0, 0)) \iff s_0(x, t) \in (0, t)$, and for any $x \in (x_0, X(t; x_0, 0))$ we have $X(s_0(x, t); x, t) = x_0$. It follows that for every x belongs to $(x_0, X(t; x_0, 0))$

$$I(x, t) := -\frac{\partial}{\partial x}s_0(x, t) = J(s_0(x, t); x, t)/a(s_0(x, t), x_0).$$

Considering the derivative of $f(s, X(s; x, t))$ in s , and integrating over (s_0, t) we obtain the mild formulation of the problem. The mild solution is defined for a.e. $(x, t) \in (x_0, +\infty) \times \mathbb{R}_+$ by

$$f(x, t) = \begin{cases} f^{in}(X(0; x, t))J(0; x, t)e^{-\int_0^t \mu(X(\sigma; x, t))d\sigma} & x \geq X(t; x_0, 0), \\ N(u(s_0(x, t)))I(x, t)e^{-\int_{s_0(x, t)}^t \mu(X(\sigma; x, t))d\sigma} & x \in (x_0, X(t; x_0, 0)). \end{cases} \tag{26}$$

We infer from the formulation (26) that for a.e $(x, t) \in [x_0, +\infty) \times \mathbb{R}_+$, f is non-negative, since J and I are nonnegative, and f^{in} satisfies (H1). We recall some useful properties that are derived in Lemma 1 from the paper by Collet and Goudon (2000).

Lemma 1 *Let $u \in C_b^0(\mathbb{R}_+)$ be a given data and assume that (H2) holds. Then for any $x \geq x_0$ and $t > 0$, as long as the characteristic curve $s \mapsto X(s; x, t)$ defined in (25) exists, i.e., $s \geq s_0(x, t)$, we have*

$$\begin{aligned} &\text{for } s_1 \leq s_2, X(s_1; x, t) \leq X(s_2; x, t) \leq X(s_1; x, t)e^{A(s_2-s_1)} \\ &\text{if } x_n \rightarrow +\infty, \text{ then for all } t \geq s \geq 0, X(s; x, t) \rightarrow +\infty \\ &\text{for } s \geq t, X(s; x, t) \leq xe^{A(s-t)}. \end{aligned}$$

Proof We refer to the proof given by Collet and Goudon (2000), where the result follows from the fact that for any $x \geq x_0, t > 0$ and $s_0(x, t) \leq s_1 \leq s_2$, we have

$$\begin{aligned} x_0 \leq X(s_2; x, t) &= X(s_1; x, t) + \int_{s_1}^{s_2} a(s, X(s; x, t))ds \leq X(s_1; x, t) \\ &+ A \int_{s_1}^{s_2} X(s; x, t)ds, \end{aligned}$$

where A is given by (22). □

In the sequel we will repeatedly refer to the changes of variables

$$\begin{aligned} y &= X(0; x, t) \text{ over } x \in (X(t, x_0, 0), +\infty), \text{ with Jacobian } J(0; x, t), \\ s &= s_0(x, t) \text{ over } x \in (x_0, X(t; x_0, 0)), \text{ with Jacobian } -I(x, t). \end{aligned}$$

The first is a C^1 -diffeomorphism from $(X(t, x_0, 0), +\infty)$ into $(x_0, +\infty)$, and the second from $(x_0, X(t; x_0, 0))$ into $(0, t)$. Integrating f defined by (26) over $(0, R)$ with $R > X(t; x_0, 0)$, using the change of variables above, using Lemma 1, and taking the limit $R \rightarrow +\infty$, we get

$$\int_{x_0}^{+\infty} x|f(t, x)|dx \leq \int_{x_0}^{+\infty} X(t; y, 0)|f^{in}(y)|dy + \int_0^t X(t; s, x_0)|N(u(s))|ds$$

$$\leq e^{At} \left(\int_{x_0}^{+\infty} y|f^{in}(y)|dy + \int_0^t x_0|N(u(s))|ds \right), \tag{27}$$

where we have split the integral into two parts and uses both the previous changes of variables. Thus, for any $T > 0$, $f \in L^\infty(0, T; L^1(x_0, +\infty; x dx))$, and therefore in $L^\infty(0, T; L^1(x_0, +\infty; x^r dx))$, for any $r \in [0, 1]$. In the next lemma we claim that f defined by (26) is a weak solution.

Lemma 2 *Let f be the mild solution defined by (26). Then for any $t > 0$*

$$\int_{x_0}^{+\infty} f(x, t)\varphi(x, t)dx = \int_{x_0}^{+\infty} f^{in}(x)\varphi(x, 0)dx + \int_0^t N(u(s))\varphi(x_0, s)ds$$

$$+ \int_0^t \int_{x_0}^{+\infty} f(x, s) \left[\frac{\partial}{\partial t}\varphi(x, s)u(s)\rho(x) \frac{\partial}{\partial x}\varphi(x, s) - \mu(x)\varphi(x, s) \right] dx ds,$$

for all $\varphi \in C_c^\infty([0, T] \times [x_0, +\infty))$.

Proof Since f belongs to $L^\infty(0, T; L^1(x_0, +\infty; x dx))$, it is possible to multiply the mild solution f against a test function $\varphi \in C_c^\infty([0, T] \times [x_0, +\infty))$ and integrate over $(x_0, +\infty)$ to obtain

$$\int_{x_0}^{+\infty} f(x, t)\varphi(x, t)dx = \int_{x_0}^{+\infty} f^{in}(y)\varphi(X(t; y, 0))e^{-\int_0^t \mu(X(\sigma; y, 0))d\sigma} dy$$

$$- \int_0^t N(u(s))\varphi(X(t; x_0, s), t)e^{-\int_s^t \mu(X(\sigma; x_0, s))d\sigma} ds, \tag{28}$$

by the same change of variable made above for (27). Furthermore, we have

$$\begin{aligned}
 & \int_0^t \int_{x_0}^{X(s;x_0,0)} f(x,s) [\partial_t \varphi(x,s) + a(s,x) \partial_x \varphi(x,s) - \mu(x) \varphi(x,s)] dx ds \\
 &= \int_0^t \int_{x_0}^{+\infty} f^{in}(x) \frac{d}{ds} \left(\varphi(X(s;x,0),s) e^{-\int_0^s \mu(X(\sigma;x,0)) d\sigma} \right) dy ds \\
 &= \int_{x_0}^{+\infty} f^{in}(x) \varphi(X(t;x,0),t) e^{-\int_0^t \mu(X(\sigma;y,0)) d\sigma} dx - \int_{x_0}^{+\infty} f^{in}(x) \varphi(x,0) dx,
 \end{aligned} \tag{29}$$

still using the change of variable mentioned above and

$$\begin{aligned}
 & \int_0^t \int_{X(s;x_0,0)}^{\infty} f(x,s) [\partial_t \varphi(x,s) + a(s,x) \partial_x \varphi(x,s) - \mu(x) \varphi(x,s)] dx ds \\
 &= - \int_0^t \int_0^s N(u(z)) \frac{d}{ds} \left(\varphi(X(s;x_0,z),s) e^{-\int_z^s \mu(X(\sigma;x_0,z)) d\sigma} \right) dz ds \\
 &= - \int_0^t N(u(s)) \varphi(X(t;x_0,s),t) e^{-\int_s^t \mu(X(\sigma;x_0,s)) d\sigma} dz ds \\
 &\quad - \int_0^t N(u(s)) \varphi(x_0,s) ds.
 \end{aligned} \tag{30}$$

Finally, combining (28), (29) and (30) we obtain that f is a weak solution. □

The aim of the following lemma is to prove that the moments of f less than 1 are continuous in time.

Lemma 3 *Let hypothesis (H1) to (H3) hold. Let f be the mild solution given by (26). Then for any $T > 0$,*

$$f \in C^0 \left([0, T], L^1(x_0, +\infty; x^r dx) \right), \quad \text{for every } r \in [0, 1].$$

Proof Let $T > 0$ and $r \in [0, 1]$, since $f \in L^\infty_{loc}(\mathbb{R}_+, L^1(x_0, +\infty; x^r dx))$, we have for any $t > 0$ and $\delta t > 0$ such that $t + \delta t \leq T$

$$\int_{x_0}^{+\infty} x^r |f(x, t + \delta t) - f(x, t)| dx = I_1 + I_2 + I_3,$$

where

$$\begin{aligned}
 I_1 &= \int_{x_0}^{X(t;x_0,0)} x^r |f(x, t + \delta t) - f(x, t)| dx, \\
 I_2 &= \int_{X(t;x_0,0)}^{X(t+\delta t;x_0,0)} x^r |f(x, t + \delta t) - f(x, t)| dx, \\
 I_3 &= \int_{X(t+\delta t;x_0,0)}^{+\infty} x^r |f(x, t + \delta t) - f(x, t)| dx.
 \end{aligned}$$

Our goal is to prove that each term goes to zero when δt goes to zero. We first bound I_3 , which results from the initial condition, since for $x \geq X(t + \delta t; x_0, 0) \geq X(t; x_0, 0)$, it follows that

$$\begin{aligned}
 I_3 &= \int_{X(t+\delta t;x_0,0)}^{+\infty} x^r \left| f^{in}(X(0; x, t + \delta t))J(0; x, t + \delta t)e^{-\int_0^{t+\delta t} \mu(X(\sigma;x,t+\delta t))d\sigma} \right. \\
 &\quad \left. - f^{in}(X(0; x, t))|J(0; x, t)e^{-\int_0^t \mu(X(\sigma;x,t))d\sigma} \right| dx.
 \end{aligned}$$

Let $f_\varepsilon^{in} \in C_0^\infty$ with compact support $supp(f_\varepsilon^{in}) \subset (0, R_\varepsilon)$ and converge in the space $L^1([x_0, +\infty), x dx)$ to f^{in} . We write I_3 as follows

$$I_3 = I_3^1 + I_3^2 + I_3^3, \tag{31}$$

where

$$\begin{aligned}
 I_3^1 &= \int_{X(t+\delta t;x_0,0)}^{+\infty} x^r |f^{in}(X(0; x, t + \delta t)) - f_\varepsilon^{in}(X(0; x, t + \delta t))| \\
 &\quad \times J(0; x, t + \delta t)e^{-\int_0^{t+\delta t} \mu(X(\sigma;x,t+\delta t))d\sigma} dx, \\
 I_3^2 &= \int_{X(t+\delta t;x_0,0)}^{+\infty} x^r |f_\varepsilon^{in}(X(0; x, t + \delta t))J(0; x, t + \delta t) \\
 &\quad \times e^{-\int_0^{t+\delta t} \mu(X(\sigma;x,t+\delta t))d\sigma} \\
 &\quad - f_\varepsilon^{in}(X(0; x, t))J(0; x, t)e^{-\int_0^t \mu(X(\sigma;x,t))d\sigma}| dx, \\
 I_3^3 &= \int_{X(t+\delta t;x_0,0)}^{+\infty} x^r |f_\varepsilon^{in}(X(0; x, t)) - f^{in}(X(0; x, t))| \\
 &\quad \times J(0; x, t)e^{-\int_0^t \mu(X(\sigma;x,t))d\sigma} dx.
 \end{aligned}$$

Dropping the exponential term, which is bounded by one, and changing variables $y = X(0; x, t + \delta t)$ in I_3^1 and $y = X(0; x, t)$ in I_3^3 , we get

$$I_3^1 + I_3^3 \leq 2e^{AT} \int_{x_0}^{+\infty} y^r |f^{in}(y) - f_\varepsilon^{in}(y)| dy = C_3^1(T, \varepsilon), \tag{32}$$

with the help of Lemma 1. Next we bound I_3^2 by

$$\begin{aligned} I_3^2 \leq & \int_{X(t+\delta t; x_0, 0)}^{+\infty} x^r |f_\varepsilon^{in}(X(0; x, t + \delta t)) - f_\varepsilon^{in}(X(0; x, t))| J(0; x, t + \delta t) dx \\ & + \int_{X(t+\delta t; x_0, 0)}^{+\infty} x^r f_\varepsilon^{in}(X(0; x, t)) |J(0; x, t + \delta t) - J(0; x, t)| dx \\ & + \int_{X(t+\delta t; x_0, 0)}^{+\infty} x^r f_\varepsilon^{in}(X(0; x, t)) J(0; x, t) \\ & \times |e^{-\int_0^{t+\delta t} \mu(X(\sigma; x, t+\delta t)) d\sigma} - e^{-\int_0^t \mu(X(\sigma; x, t)) d\sigma}| dx, \end{aligned}$$

and we denote the integrals by J_3^1 to J_3^3 , respectively. We remark that $J(0, x, t) \leq e^{BT}$ by (24) and so

$$\begin{aligned} J_3^1 \leq & e^{BT} \|f_\varepsilon^{in}\|_{L^\infty} \int_{X(t+\delta t; x_0, 0)}^{C_\varepsilon} x^r |X(0; x, t + \delta t) - X(0; x, t)| dx \\ \leq & \delta t e^{BT} \|f_\varepsilon^{in}\|_{L^\infty} \int_{X(t+\delta t; x_0, 0)}^{C_\varepsilon} x^r \sup_{s \in [t, t+\delta t]} \left| \frac{\partial}{\partial t} X(0; x, s) \right| dx \\ \leq & \delta t A e^{2BT} \|f_\varepsilon^{in}\|_{L^\infty} \int_{x_0}^{C_\varepsilon} x^{r+1} dx, \end{aligned} \tag{33}$$

where C_ε depends on T, A and R_ε i.e., the compact support of f_ε^{in} . Then

$$J_3^2 \leq e^{BT} \|f_\varepsilon^{in}\|_{L^\infty} \int_{X(t+\delta t; x_0, 0)}^{R_\varepsilon} x^r |e^{G(t, \delta t, x)} - 1| dx$$

with

$$\begin{aligned}
 |G(t, \delta t, x)| &= \left| \int_0^{t+\delta t} c(\sigma, X(\sigma; x, t + \delta t)) d\sigma - \int_0^t c(\sigma, X(\sigma; x, t)) d\sigma \right| \\
 &\leq \int_0^{t+\delta t} \left| \rho'(X(\sigma; x, t + \delta t)) - \rho'(X(\sigma; x, t)) \right| u(\sigma) d\sigma \\
 &\quad + \int_t^{t+\delta t} \left| c(\sigma, X(\sigma; x, t)) \right| d\sigma.
 \end{aligned}$$

Thus, with (22) and (24),

$$\begin{aligned}
 |G(t, \delta t, x)| &\leq K \|u\|_{L^\infty} \int_0^T \left| X(\sigma; x, t + \delta t) - X(\sigma; x, t) \right| d\sigma + \delta t B \\
 &\leq \delta t K \|u\|_{L^\infty} \int_0^T \sup_{s \in [t, t+\delta t]} \left| \frac{\partial}{\partial t} X(\sigma; x, s) \right| d\sigma + \delta t B \\
 &\leq \delta t \left(K \|u\|_{L^\infty} A T e^{BT} x + B \right),
 \end{aligned}$$

where K is the Lipschitz constant of ρ' . Since $x \leq R_\varepsilon$, let

$$C_G(T, \varepsilon) = K \|u\|_{L^\infty} A T e^{BT} R_\varepsilon + B,$$

and if $|x| \leq y$, then

$$|e^x - 1| \leq |e^y - 1| + |e^{-y} - 1|.$$

Thus, we get

$$J_3^2 \leq e^{BT} \|f_\varepsilon^{in}\|_{L^\infty} \left(|e^{\delta t C_G(T, \varepsilon)} - 1| + |e^{-\delta t C_G(T, \varepsilon)} - 1| \right) \int_{x_0}^{R_\varepsilon} x^r dx. \tag{34}$$

Since μ is nonnegative, $J_3^3 \leq$

$$e^{BT} \|f_\varepsilon^{in}\|_{L^\infty} \int_{X(t+\delta t; x_0, 0)}^{R_\varepsilon} x^r \left| e^{-\left(\int_0^{t+\delta t} \mu(X(\sigma; x, t+\delta t)) d\sigma - \int_0^t \mu(X(\sigma; x, t)) d\sigma\right)} - 1 \right| dx.$$

Exactly as above,

$$\left| \int_0^{t+\delta t} \mu(X(\sigma; x, t + \delta t))d\sigma - \int_0^t \mu(X(\sigma; x, t))d\sigma \right| \leq \delta t M A T e^{B T} x + \delta t \|\mu\|_{L^\infty},$$

with $M =$ Lipschitz constant of μ . Denoting by $C_M(T, \varepsilon) = M A T e^{B T} R_\varepsilon + \|\mu\|_{L^\infty}$, we get

$$J_3^3 \leq e^{B T} \|f_\varepsilon^{in}\|_{L^\infty} \left(|e^{\delta t C_M(T, \varepsilon)} - 1| + |e^{-\delta t C_M(T, \varepsilon)} - 1| \right) \int_{x_0}^{R_\varepsilon} x^r dx. \tag{35}$$

From (32), (33), (34) and (35) we can conclude that for any $\varepsilon > 0$,

$$I_3(\delta t) \leq C_3^1(T, \varepsilon) + C_3^2(T, \delta t, \varepsilon), \tag{36}$$

with $\lim_{\varepsilon \rightarrow 0} C_3^1(T, \varepsilon) = 0$ and $\lim_{\delta t \rightarrow 0} C_3^2(T, \delta t, \varepsilon) = 0$.

Next, concerning I_1 , f can be written from the boundary condition. Let $u^\varepsilon \in C_0^\infty$ such that $u^\varepsilon \rightarrow u$ uniformly on $[0, T]$. Then we write I_1 as follows:

$$\begin{aligned} I_1 \leq & \int_{x_0}^{X(t+\delta t; x_0, 0)} x^r |N(u(s_0(x, t + \delta t)) - N(u^\varepsilon(s_0(x, t + \delta t)))| I(x, t + \delta t) dx \\ & + \int_{x_0}^{X(t; x_0, 0)} x^r \left| N(u^\varepsilon(s_0(x, t + \delta t))) I(x, t + \delta t) e^{-\int_{s_0(x, t+\delta t)}^t \mu(X(\sigma; x, t+\delta t))d\sigma} \right. \\ & \quad \left. - N(u^\varepsilon(s_0(x, t))) I(x, t) e^{-\int_{s_0(x, t)}^t \mu(X(\sigma; x, t))d\sigma} \right| dx \\ & + \int_{x_0}^{X(t; x_0, 0)} x^r |N(u(s_0(x, t)) - N(u^\varepsilon(s_0(x, t)))| I(x, t) dx. \end{aligned}$$

From (H3) we obtain, similarly to I_3 , that there exist two constants $C_1^1(T, \varepsilon)$ and $C_1^2(T, \delta t, \varepsilon)$ such that

$$I_1(\delta t) \leq C_1^1(T, \varepsilon) + C_1^2(T, \delta t, \varepsilon), \tag{37}$$

with $\lim_{\varepsilon \rightarrow 0} C_1^1(T, \varepsilon) = 0$ and $\lim_{\delta t \rightarrow 0} C_1^2(T, \delta t, \varepsilon) = 0$.

Finally, for I_2 , we use the two formulas of f ,

$$I_2 = \int_{X(t;x_0,0)}^{X(t+\delta t;x_0,0)} x^r \left| N(u(s_0(x, t + \delta t)))I(x, t + \delta t)e^{-\int_{s_0(x,t+\delta t)}^{t+\delta t} \mu(X(\sigma;x,t+\delta t))d\sigma} - f^{in}(X(0;x,t))J(0;x,t)e^{-\int_{s_0(x,t)}^t \mu(X(\sigma;x,t))d\sigma} \right| dx$$

Using the Lipschitz constant of N denoted by K_N , from the definition of I and with the help of Lemma 1, we get

$$I_2 \leq x_0^r e^{(rA+B)T} K_N |X(t + \delta t; x_0, 0) - X(t; x_0, 0)| + x_0^r e^{rAT} \int_{X(t;x_0,0)}^{X(t+\delta t;x_0,0)} |f^{in}(X(0;x,t))J(0;x,t)| dx.$$

Using the regularization f_ε^{in} of f^{in} , there exist two constants $C_2^1(T, \varepsilon)$ and $C_2^2(T, \delta t, \varepsilon)$ such that for any $\varepsilon > 0$,

$$I_2(\delta t) \leq C_2^1(T, \varepsilon) + C_2^2(T, \delta t, \varepsilon), \tag{38}$$

with $\lim_{\varepsilon \rightarrow 0} C_2^1(T, \varepsilon) = 0$ and $\lim_{\delta t \rightarrow 0} C_2^2(T, \delta t, \varepsilon) = 0$.

In conclusion, combining (36), (37) and (38), we get for any $\varepsilon > 0$ and $\delta t > 0$,

$$\int_{x_0}^{+\infty} x^r |f(x, t + \delta t) - f(x, t)| dx \leq C^1(T, \varepsilon) + C^2(T, \delta t, \varepsilon),$$

where $C^1(T, \varepsilon)$ and $C^2(T, \delta t, \varepsilon)$ are two constants such that $\lim_{\varepsilon \rightarrow 0} C^1(T, \varepsilon) = 0$ and $\lim_{\delta t \rightarrow 0} C^2(T, \delta t, \varepsilon) = 0$. Noticing that the proof remains the same when δt is negative, taking the lim sup in δt we get

$$0 \leq \limsup_{\delta t \rightarrow 0} \int_{x_0}^{+\infty} x^r |f(x, t + \delta t) - f(x, t)| dx \leq C^1(T, \varepsilon), \text{ for any } \varepsilon > 0.$$

The proof is completed by taking the limit as ε goes to zero, which yields to the required regularity, $f \in C^0([0, T], L^1([x_0, +\infty), x^r dr))$ for all $r \in [0, 1]$. \square

We finish this section with a useful estimate for the uniqueness investigation.

Proposition 4 *Let $T > 0$ and $u_1, u_2 \in C_b^0(0, T)$. Let f_1 and f_2 be two mild solutions to (18)–(20), associated, respectively to u_1 and u_2 , with initial data f_1^{in}, f_2^{in} given by formula (26). Then, for any $t \in (0, T)$*

$$\begin{aligned} \int_{x_0}^{+\infty} x |f_1(x, t) - f_2(x, t)| dx &\leq \int_{x_0}^{+\infty} x \left| f_1^{in}(x) - f_2^{in}(x) \right| dx \\ &- \int_0^t \int_{x_0}^{+\infty} \mu(x)x \left| f_1^{in}(x, s) - f_2^{in}(x, s) \right| dx ds \\ &+ A_1 \int_0^t \int_{x_0}^{+\infty} x |f_1(x, s) - f_2(x, s)| dx ds \\ &+ \int_0^t (K_{1,2} + C \|f_2(\cdot, s)\|_{L^1(x dx)}) |u_1(s) - u_2(s)| ds, \end{aligned}$$

where A_1 is given by (22) for u_1 and $K_{1,2}$ is the Lipschitz constant of N on $[0, R]$ with $R = \max(\|u_1\|_{L^\infty(0,T)}, \|u_2\|_{L^\infty(0,T)})$. Finally $C > 0$ denotes a constant such that $\rho(x) < Cx$.

Proof This estimation is obtained from a classical argument of approximation. Let $h = f_1 - f_2$ and

$$\begin{aligned} \int_{x_0}^{+\infty} h(x, t)\varphi(x, t)dx &= \int_{x_0}^{+\infty} h^{in}(x)\varphi(x, 0)dx \\ &+ \int_0^t \int_{x_0}^{+\infty} h(x, s) \left[\frac{\partial}{\partial t}\varphi(x, s) + a_1(s, x)\frac{\partial}{\partial x}\varphi(x, s) - \mu(x)\varphi(x, s) \right] dx ds \\ &+ \int_0^t (N(u_1(s)) - N(u_2(s))) \varphi(x_0, s) ds \\ &+ \int_0^t \int_{x_0}^{+\infty} (a_1(s, x) - a_2(s, x)) f_2(x, s) \frac{\partial}{\partial x}\varphi(x, s) dx ds. \end{aligned}$$

Let h_ε be a regularization of h and S_δ a regularization of the *Sign* function. Take $\varphi(x, s) = S_\delta(h_\varepsilon(s, x))g(x)$ with $g \in C_c^\infty([x_0, +\infty))$. Then, letting $\delta \rightarrow 0$ and then $\varepsilon \rightarrow 0$, we get

$$\begin{aligned} \int_{x_0}^{+\infty} |h(x, t)|g(x)dx &= \int_{x_0}^{+\infty} |h^{in}(x)|g(x)dx \\ &+ \int_0^t \int_{x_0}^{+\infty} |h(x, s)| \left[a_1(s, x)\frac{\partial}{\partial x}g(x) - \mu(x)g(x) \right] dx ds \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 & + \int_0^t |N(u_1(s)) - N(u_2(s))| \text{Sign}(h_0(x_0))g(x_0)ds \\
 & + \int_0^t \int_{x_0}^{+\infty} (a_1(s, x) - a_2(s, x)) f_2(x, s) \text{Sign}(h(s, x)) \frac{\partial}{\partial x} g(x) dx ds.
 \end{aligned}$$

Finally, we approximate the identity function with a regularized function given by $\eta_R \in C_c^\infty([x_0, +\infty))$ such that $\eta_R(x) = x$ over $(0, R)$, and then taking the limit $R \rightarrow +\infty$ ends the proof. \square

It is straightforward from Proposition 2 that f defined by (26) is a weak solution and the only one from Proposition 4. Indeed, getting $u_1 = u_2$ and $f_1^0 = f_2^0$ in Proposition 4 leads to the uniqueness. Finally, Proposition 3 provides the continuity in time of the moments with order less or equal to one. This concludes the proof of Proposition 3.

3.3 Proof of the well-posedness

In this section we prove Theorem 2. We first study the operator S defined by (21).

Lemma 4 *Consider hypothesis (H2) to (H4). Let u^{in}, p^{in} and b^{in} be nonnegative initial data, and let f^{in} satisfy (H1). Let $M > 0$ be large enough such that $u^{in}, p^{in}, b^{in} < M/2$ and define*

$$X_M = \left\{ (u, p, b) \in C^0([0, T])^3 : 0 \leq u, p, b \leq M \right\}$$

where $C^0([0, T])^3$ is equipped with the uniform norm. Then, there exists $T > 0$ (small enough) such that $S : X_M \mapsto X_M$ is a contraction.

Proof Let M be sufficiently large such that $\max(u^{in}, p^{in}, b^{in}) < M/2$, and let $T > 0$ be small enough such that

$$\begin{aligned}
 (\gamma_u + \tau M + \sigma + x_0 C_1(M) + C_2(M, T))MT &\leq M/2, \\
 (\gamma_p + \tau M)MT &\leq M/2, \\
 (\sigma + \delta)MT &\leq M/2, \\
 (\lambda_u + \sigma M)T &\leq M/2, \\
 (\lambda_p + \sigma M)T &\leq M/2, \\
 \tau M^2 T &\leq M/2,
 \end{aligned}$$

where $C_1(M)$ is the Lipschitz constant of N on $(0, M)$ and

$$C_2(M, T) = Ce^{MCT} \left(\|f^{in}\|_{L^1(xdx)} + C_1(M)MT \right), \tag{39}$$

where C is the constant such that $\rho(x) \leq Cx$, see (27). This assumption ensures that for any $(u, p, b) \in X_M$, then $S(u, p, b) \in X_M$, i.e, the solution is bounded by M and is nonnegative. It remains to prove that S is a contraction. Let (u_1, p_1, b_1) and (u_2, p_2, b_2) belong to X_M . Then

$$\begin{aligned} \|S_{u_1} - S_{u_2}\|_\infty &\leq \gamma_u T \|u_1 - u_2\|_\infty + \tau T \|u_1 p_1 - u_2 p_2\|_\infty + \sigma T \|b_1 - b_2\|_\infty \\ &\quad + x_0 T C_1(M) \|u_1 - u_2\|_\infty \\ &\quad + T \sup_{t \in [0, T]} \left| u_1 \int_{x_0}^{+\infty} \rho(x) f_1(x, s) dx - u_2 \int_{x_0}^{+\infty} \rho(x) f_2(x, s) dx \right|. \end{aligned} \tag{40}$$

Then,

$$\|u_1 p_1 - u_2 p_2\|_\infty \leq M \|u_1 - u_2\|_\infty + M \|p_1 - p_2\|_\infty, \tag{41}$$

$$\begin{aligned} \sup_{t \in [0, T]} \left| u_1 \int_{x_0}^{+\infty} \rho(x) f_1(x, s) dx - u_2 \int_{x_0}^{+\infty} \rho(x) f_2(x, s) dx \right| \\ \leq C_2(M, T) \|u_1 - u_2\|_\infty + CM \sup_{t \in [0, T]} \left| \int_{x_0}^{+\infty} x |f_1(x, t) - f_2(x, t)| dx \right|, \end{aligned} \tag{42}$$

and from Proposition 4,

$$\sup_{t \in [0, T]} \left| \int_{x_0}^{+\infty} x |f_1(x, t) - f_2(x, t)| dx \right| \leq T (C_1(M) + CC_2(M, T)) \|u_1 - u_2\|_\infty. \tag{43}$$

We get similar bounds for $|S_{p_1} - S_{p_2}|_\infty$ and $|S_{b_1} - S_{b_2}|_\infty$. We infer that there exists a constant $C(M, T)$ depending only on M and T such that

$$\|(S_{u_1}, S_{p_1}, S_{b_1}) - (S_{u_2}, S_{p_2}, S_{b_2})\|_\infty \leq C(M, T) T \|(u_1, p_1, b_1) - (u_2, p_2, b_2)\|_\infty, \tag{44}$$

with $C(M, T)T \rightarrow 0$, when T goes to 0. Hence, if T is small enough we are able to get $C(M, T)T < 1$, then S is a contraction. \square

From Lemma 4, we have a local nonnegative solution on $[0, T]$, which is unique with the solution (u, p, b) bounded by the constant M . The solution satisfies $f \in C^0(0, T; L^1(xdx))$ and $u, p, b \in C^0(0, T)$. Furthermore from (H3), N is continuous and from (H2), $\rho(x) \leq Cx$ where C is a positive constant. Thus $\rho f \in C^0(0, T; L^1(dx))$. We conclude that u, p and b defined in Definition 1 have continuous derivatives.

Now we remark that the solutions satisfy on $[0, T]$

$$\frac{d}{dt}(u + p + 2b) = \lambda_u + \lambda_p - \gamma_u u - \gamma_p p - \delta 2b - nN(u) - \frac{1}{\varepsilon} u \int_{x_0}^{+\infty} \rho(x) f(x, t) dx \leq \lambda - m(u + p + 2b),$$

with $m = \min(\gamma_u, \gamma_p, \delta)$ and $\lambda = \lambda_u + \lambda_p$. Using Gronwall's lemma, the solutions remain bounded at any time by

$$u + p + 2b \leq u^{in} + p^{in} + 2b^{in} + \frac{\lambda}{m}. \tag{45}$$

From this global bound on u , p and b , we can construct the solution on any interval of time by repetition of the local argument. The proof of the theorem is complete.

4 Perspectives and biological implications

The connection of prions and AD is not fully understood, but recent research suggests that soluble $A\beta$ oligomers are possible inducers of AD neuropathology. The key element of this hypothesis is the formation of a neurotoxic complex $A\beta$ - \times -PrP^C, which is created by the association of $A\beta$ oligomers and PrP^C proteins, and not only the progression of β -amyloid plaques by the clustering of $A\beta$ oligomers.

We believe the model developed and studied here is a step forward in the understanding of the mechanisms underlying AD progression. We have introduced a mathematical model of the evolution of AD based on the hypotheses that $A\beta$ oligomers exist both as bounded and unbounded to PrP^C proteins, and the agglomeration rate in the formation of β -amyloid plaques depends on the concentrations of the bound and unbound $A\beta$ oligomers, the concentration of soluble PrP^C, and the size of the β -amyloid plaques. Specifically, we have analyzed in detail the existence and uniqueness properties of solutions of the model, as well as the qualitative properties of solution behavior. In specific cases we have quantified the stabilization of the solutions to steady state. In future work, we will explore applications of this model to specific AD laboratory and clinical data. Nevertheless, from this approach we can deduce some suggestions for further research:

- The model suggests a stabilization to steady state for the quantities incorporated into the model. Such phenomena can be very difficult to ascertain in a progressive disease such as AD. Nevertheless, any experimental data quantifying stabilization of AD progression can be valuable in identifying the parameters of the model.
- From an experimental point of view, the investigation of the size distribution of the fibrils is an important consideration. Indeed, we have neglected some phenomena in our study (such as fragmentation-coagulation and depolymerization), and thus it remains to clarify these assumptions. Moreover, in the case of a size-dependent polymerization rate, we would also investigate the character of the polymerization rate from experimental data.

- Finally, we emphasize one further point. One of the main issues in AD is to mitigate progressive memory impairment. Both $A\beta$ - \times -PrP^C and β -amyloid play a key role in the evolution of disease progression, but disappearance of β -amyloid plaques *via* a vaccine does not mitigate neurodegeneration (Holmes et al. 2008). One simple answer would be to increase the degradation rate of $A\beta$ - \times -PrP^C by some treatments, which are at present not available. But, as suggested by the model, the polymerization rate could be a key point in the control of disease progression. Indeed, increasing this rate would exhaust the availability of oligomers, and thus reduce the formation of complexes. An important issue remains, namely, what is the best balance between $A\beta$ - \times -PrP^C and β -amyloid plaques such that AD patients live the longest without toxicity effects. Perhaps the solution is not to suppress the β -amyloid plaques, but rather control their progression. The question is open and a deeper analysis of the model, together with biological data, would provide understanding in this direction.

Acknowledgments The authors thank the Reviewers for their useful comments and suggestions. E.H. thanks A. Rambaud for helpful discussions, which improved the paper.

Appendix A: Characteristic polynomials of the linearized ODE system

Here we give the coefficient a_i , $i = 1, \dots, 4$ for the characteristic polynomial of the linearized system in Theorem 1:

$$\begin{aligned}
 a_1 &= \left(\mu + \gamma_u + \tau \frac{\lambda_p}{\tau^* u_\infty + \gamma_p} + \alpha n^2 u_\infty^{n-1} + \rho \frac{\alpha}{\mu} u_\infty^n + \gamma_p + \tau u_\infty + \sigma + \delta \right), \\
 a_2 &= \left(\mu + \gamma_u + \alpha n^2 u_\infty^{n-1} + \rho \frac{\alpha}{\mu} u_\infty^n \right) (\gamma_p + \tau u_\infty + \sigma + \delta) + \gamma_p \sigma + (\gamma_p + \tau u_\infty) \delta \\
 &\quad + \mu \left(\gamma_u + \tau \frac{\lambda_p}{\tau^* u_\infty + \gamma_p} + \alpha n^2 u_\infty^{n-1} + \rho \frac{\alpha}{\mu} u_\infty^n \right) + \rho \alpha n u_\infty^n + \tau (\gamma_p + \delta) \frac{\lambda_p}{\tau^* u_\infty + \gamma_p}, \\
 a_3 &= \left(\mu + \gamma_u + \alpha n^2 u_\infty^{n-1} + \rho \frac{\alpha}{\mu} u_\infty^n \right) (\gamma_p \sigma + (\gamma_p + \tau u_\infty) \delta) + (\gamma_p \delta + (\gamma_p + \delta) \mu) \tau \frac{\lambda_p}{\tau^* u_\infty + \gamma_p} \\
 &\quad + \left\{ \mu \left(\gamma_u + \alpha n^2 u_\infty^{n-1} + \rho \frac{\alpha}{\mu} u_\infty^n \right) + \rho \alpha n u_\infty^n \right\} (\gamma_p + \tau u_\infty + \sigma + \delta), \\
 a_4 &= \mu \gamma_p \delta \tau \frac{\lambda_p}{\tau^* u_\infty + \gamma_p} + \left\{ \mu \left(\gamma_u + \alpha n^2 u_\infty^{n-1} + \rho \frac{\alpha}{\mu} u_\infty^n \right) + \rho \alpha n u_\infty^n \right\} (\gamma_p \sigma + (\gamma_p + \tau u_\infty) \delta).
 \end{aligned}$$

Appendix B: Lyapunov functional

Here we detail a Lyapunov function Φ which is the key ingredient to prove global stability of system (8–11) in Proposition 2. This function appears to be a bit tricky,

but determining it rest upon the backward method described for instance Chapter 4, p. 120, in the book by Khalil (1996). It consists in investigate an expression of the derivative Φ' and then going back to chose the parameters Φ such as Φ' is negative definite. After tedious calculus, a Liapunov function Φ for system (8–11) is given by

$$\begin{aligned} \Phi = & \frac{1}{2} \left(\frac{2\gamma_p}{\delta} \right) s_1 \theta_1^2 + \frac{1}{2} \left(1 + 2 \frac{\delta + \gamma_u + \rho(A_\infty + \theta_1)}{\sigma} \right) \theta_2^2 + \frac{1}{2} \left(\frac{2\gamma_p}{\delta} \right) \theta_3^2 \\ & + \frac{1}{2} \left(\frac{\sigma}{\gamma_p} \right) \theta_4^2 + \left(\frac{\rho p_\infty}{\gamma_u + \rho A_\infty + \mu} \right) \theta_1 \theta_2 + \theta_1 \theta_3 \\ & + \left(\frac{\rho p_\infty}{\gamma_u + \rho A_\infty + \mu} + 1 + \frac{\rho}{\tau} \right) \theta_1 \theta_4 + \theta_2 \theta_3 + 2\theta_2 \theta_4 + \left(\frac{2\gamma_p}{\delta} \right) \theta_3 \theta_4, \end{aligned}$$

where $\theta_1 = A - A_\infty, \theta_2 = u - u_\infty, \theta_3 = p - p_\infty, \theta_4 = b - b_\infty$, with $s_1 = \max(T_1, T_2)$ such that

$$\begin{aligned} T_1 = & \frac{\rho^2 \delta u_\infty^2 (1 + 2 \frac{1+\delta}{\sigma})}{8\mu\gamma_p} + \frac{(\gamma_p + \mu)^2 \left(\frac{\delta}{2\gamma_p} \right)^2}{4\gamma_p\mu} \\ & + \frac{\left[(\delta + \mu) \left(\frac{\rho p_\infty}{\gamma_u + \rho A_\infty + \mu} + 1 \right) + (\sigma + \delta + \mu) \frac{\rho}{\tau} + 2\rho u_\infty \right]^2}{8\mu\sigma}, \end{aligned}$$

and $T_2 = \Gamma \left(\frac{\delta}{2\gamma_p} \right)^2 T_2'$ with

$$\begin{aligned} T_2' = & \left(\frac{\rho p_\infty}{\gamma_u + \rho A_\infty + \mu} \right)^2 \left\{ \frac{2\sigma + \delta}{2\gamma_p} + \left(\frac{\delta}{2\gamma_p} \Gamma \right)^{-1} \left(\frac{1}{1 + 2 \frac{\delta + \gamma_u}{\sigma}} \right) \right\} \\ & + \frac{\rho p_\infty}{\gamma_u + \rho A_\infty + \mu} \left\{ 2 + 4 \frac{\rho}{\tau} \frac{\delta + \gamma_u}{\sigma} \right\} + \frac{\delta}{2\gamma_p} \left\{ \frac{\rho}{\tau} \left(2 + \frac{\rho}{\tau} \right) + \frac{\sigma + 2(\delta + \gamma_u)}{\gamma_p} \right\} \\ & + \left(1 + 2 \frac{\delta + \gamma_u}{\sigma} \right) \left\{ \frac{\rho}{\tau} \left(1 + \frac{\rho}{\tau} \right) + \frac{\delta}{2\gamma_p} \frac{\sigma}{\gamma_p} - 1 \right\} \end{aligned}$$

and

$$\Gamma = \frac{1}{\left(1 + 2 \frac{\delta + \gamma_u}{\sigma} - \frac{\delta}{2\gamma_p} \right) \left(\frac{\delta}{2\gamma_p} \frac{\sigma}{\gamma_p} - 1 \right)}.$$

We remark that $T_1 > 0$ so that $s_1 > 0$, and then we deduce that the Lyapunov function Φ is positive when condition $\left(1 + 2 \frac{\delta + \gamma_u}{\sigma} \right) > \frac{\delta}{2\gamma_p} > \frac{\gamma_p}{\sigma}$ holds true. In such case, its derivative along the solutions of system (8–11) is given by

$$\begin{aligned} \Phi' = & - \left(\mu s_1 + \rho u \frac{\delta}{2\gamma_p} \cdot \frac{\rho p_\infty}{\gamma_u + \rho A_\infty + \mu} \right) \theta_1^2 - \rho u_\infty \frac{\delta}{2\gamma_p} \left(1 + 2 \frac{\gamma_u + \rho(A_\infty + \theta_1) + \delta}{\sigma} \right) \theta_1 \theta_2 \\ & - \frac{\delta}{2\gamma_p} \left(\frac{2(\gamma_u + \rho(A_\infty + \theta_1) + \tau p)(\gamma_u + \rho(A_\infty + \theta_1) + \delta)}{\sigma} + \gamma_u + \rho(A_\infty + \theta_1) \right) \theta_2^2 \\ & - \frac{\delta}{2\gamma_p} \left((\delta + \mu) \left(\frac{\rho p_\infty}{\gamma_u + \rho A_\infty + \mu} + 1 \right) + (\sigma + \delta + \mu) \frac{\rho}{\tau} + 2\rho u_\infty \right) \theta_1 \theta_4 \\ & - \left(\frac{\delta \tau u}{2\gamma_p} + \gamma_p \right) \theta_3^2 - \delta \left(\frac{\sigma}{\gamma_p} \frac{\delta}{2\gamma_p} \right) \theta_4^2 - \frac{\delta}{2\gamma_p} (\gamma_p + \mu) \theta_1 \theta_3. \end{aligned}$$

and remains nonpositive. Furthermore, $\Phi' = 0$ if and only if $\theta_1 = \theta_2 = \theta_3 = \theta_4 = 0$. The conclusion holds by the LaSalle Invariance Principle [LaSalle \(1976\)](#).

References

- Achdou Y, Franchi B, Marcello N, Tesi M (2012) A qualitative model for aggregation and diffusion of β -amyloid in alzheimers disease. *J Math Biol* 1–24
- Allen LJS (2007) An introduction to mathematical biology. Pearson/Prentice Hall, Upper Saddle River
- Calvez V, Lenuzza N, Oelz D, Deslys JP, Laurent P, Mouthon F, Perthame B (2009) Size distribution dependence of prion aggregates infectivity. *Math Biosci* 217(1):88–99
- Calvez V, Lenuzza N, Doumic M, Deslys JP, Mouthon F, Perthame B (2010) Prion dynamics with size dependency-strain phenomena. *J Biol Dyn* 4(1):28–42
- Chen S, Yadav SP, Surewicz WK (2010) Interaction between human prion protein and amyloid- β ($a\beta$) oligomers role of N-terminal residues. *J Biol Chem* 285(34):26,377–26,383
- Chung E, Ji Y, Sun Y, Kacsak R, Kacsak R, Mehta P, Strittmatter S, Wisniewski T (2010) Anti-prpc monoclonal antibody infusion as a novel treatment for cognitive deficits in an alzheimer's disease model mouse. *BMC Neurosci* 11(1):130
- Cissé M, Mucke L (2009) Alzheimer's disease: a prion protein connection. *Nature* 457(7233):1090–1091
- Cissé M, Halabisky B, Harris J, Devidez N, Dubal DB, Sun B, Orr A, Lotz G, Kim DH, Hamto P et al (2011) Reversing ephb2 depletion rescues cognitive functions in alzheimer model. *Nature* 469(7328):47–52
- Collet JF, Goudon T (2000) On solutions of the lifshitz-slyozov model. *Nonlinearity* 13(4):1239
- Craft DL, Wein LM, Selkoe DJ (2002) A mathematical model of the impact of novel treatments on the $a\beta$ burden in the alzheimers brain, csf and plasma. *Bull Math Biol* 64(5):1011–1031
- Craft DL, Wein LM, Selkoe DJ (2005) The impact of novel treatments on $a\beta$ burden in alzheimers disease: insights from a mathematical model. In: Brandeau ML, Sainfort F, Pierskalla WP (eds) *Operations research and health care, international series in operations research and management science, vol 70*. Springer, USA, pp 839–865
- Duyckaerts C, Delatour B, Potier MC (2009) Classification and basic pathology of alzheimer disease. *Acta Neuropathol* 118(1):5–36
- Fawzi NL, Okabe Y, Yap EH, Head-Gordon T (2007) Determining the critical nucleus and mechanism of fibril elongation of the alzheimers $a\beta_{1-40}$ peptide. *J Mol Biol* 365(2):535–550
- Freir DB, Nicoll AJ, Klyubin I, Panico S, Risse E, Asante EA, Farrow MA, Sessions RB, Saibil HR, Clarke AR, Rowan MJ, Walsh DM, Collinge J (2011) Interaction between prion protein and toxic amyloid β assemblies can be therapeutically targeted at multiple sites. *Nat Commun* 2:336
- Gabriel P (2011) The shape of the polymerization rate in the prion equation. *Math Comput Model* 53(7):1451–1456
- Gallion SL (2012) Modeling amyloid-beta as homogeneous dodecamers and in complex with cellular prion protein. *PLoS One* 7(11):e49,375
- Gimbel DA, Nygaard HB, Coffey EE, Gunther EC, Laurén J, Gimbel ZA, Strittmatter SM (2010) Memory impairment in transgenic Alzheimer mice requires cellular prion protein. *J Neurosci* 30(18): 6367–6374
- Greer ML, Pujo-Menjouet L, Webb GF (2006) A mathematical analysis of the dynamics of prion proliferation. *J Theor Biol* 242(3):598–606

- Greer ML, Van den Driessche P, Wang L, Webb GF (2007) Effects of general incidence and polymer joining on nucleated polymerization in a model of prion proliferation. *SIAM J Appl Math* 68(1):154–170
- Hardy J, Selkoe DJ (2002) The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science* 297(5580):353–356
- Holmes C, Boche D, Wilkinson D, Yadegarfar G, Hopkins V, Bayer A, Jones RW, Bullock R, Love S, Neal JW, Zotova E, Nicoll JA (2008) Long-term effects of $\alpha\beta 42$ immunisation in alzheimer's disease: follow-up of a randomised, placebo-controlled phase i trial. *The Lancet* 372(9):216–223. doi:10.1016/S0140-6736(08)61075-2. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673608610752>
- Khalil HK (1996) Nonlinear systems. Prentice Hall, Upper Saddle River
- LaSalle JP (1976) The stability of dynamical systems. In: CBMS-NSF regional conference series in applied mathematics SIAM
- Laurén J, Gimbel DA, Nygaard HB, Gilbert JW, Strittmatter SM (2009) Cellular prion protein mediates impairment of synaptic plasticity by amyloid- β oligomers. *Nature* 457(7233):1128–1132
- Laurençot P, Walker C (2007) Well-posedness for a model of prion proliferation dynamics. *J Evol Equ* 7(2):241–264
- Lomakin A, Chung DS, Benedek GB, Kirschner DA, Teplow DB (1996) On the nucleation and growth of amyloid beta-protein fibrils: detection of nuclei and quantitation of rate constants. *Proc Natl Acad Sci USA* 93(3):1125–1129
- Lomakin A, Teplow DB, Kirschner DA, B BG, (1997) Kinetic theory of fibrillogenesis of amyloid- β -protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 94(15):7942–7947
- Nath S, Agholme L, Kurudenkandy FR, Granseth B, Marcusson J, Hallbeck M (2012) Spreading of neurodegenerative pathology via neuron-to-neuron transmission of β -amyloid. *J Neurosci* 32(26):8767–8777
- Nygaard HB, Strittmatter SM (2009) Cellular prion protein mediates the toxicity of beta-amyloid oligomers: implications for Alzheimer disease. *Arch Neurol* 66(11):1325
- Portet S, Arino J (2009) An in vivo intermediate filament assembly model. *Math Biosci Eng* 6(1):117–134
- Prigent S, Ballesta A, Charles F, Lenuzza N, Gabriel P, Tine LM, Rezaei H, Doumic M (2012) An efficient kinetic model for assemblies of amyloid fibrils and its application to polyglutamine aggregation. *PLoS One* 7(11):e43,273
- Prüts J, Pujol-Menjouet L, Webb G, Zacher R (2006) Analysis of a model for the dynamics of prions. *Discret Contin Dyn Syst Ser B* 6(1):225–235
- Resenberger UK, Harmeier A, Woerner AC, Goodman JL, Müller V, Krishnan R, Vabulas RM, Kretzschmar HA, Lindquist S, Hartl FU, Gerd M, Winklhofer KF, Tatzelt J (2011) The cellular prion protein mediates neurotoxic signalling of β -sheet-rich conformers independent of prion replication. *EMBO J* 30(10):2057–2070
- Rubenstein R, Merz PA, Kascsak RJ, Scalici CL, Papini MC, Carp RI, Kimberlin RH (1991) Scrapie-infected spleens: analysis of infectivity, scrapie-associated fibrils, and protease-resistant proteins. *J Infect Dis* 164(1):29–35
- Selkoe DJ (2008) Soluble oligomers of the amyloid β -protein impair synaptic plasticity and behavior. *Behav Brain Res* 192(1):106–113
- Serpell LC (2000) Alzheimers amyloid fibrils: structure and assembly. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* 1502(1):16–30
- Simonett G, Walker C (2006) On the solvability of a mathematical model for prion proliferation. *J Math Anal Appl* 324(1):580–603
- Urbanc B, Cruz L, Buldyrev S, Havlin S, Irizarry M, Stanley H, Hyman B (1999) Dynamics of plaque formation in Alzheimer's disease. *Biophys J* 76(3):1330–1334
- Vincent B, Cisse MA, Sunyach C, Guillot-Sestier MV, Checler F (2008) Regulation of β app and prpc cleavage by α -secretase: mechanistic and therapeutic perspectives. *Curr Alzheimer Res* 5(2):202–211
- Walsh DM, Lomakin A, Benedek GB, Condron MM, Teplow DB (1997) Amyloid β -protein fibrillogenesis: detection of a protofibrillar intermediate. *J Biol Chem* 272(35):22,364–22,372
- Wimo A, Prince M (2010) World Alzheimer report 2010: the global economic impact of dementia. Technical report, Alzheimer's Disease International
- Zou WQ, Zhou X, Yuan J, Xiao X (2011) Insoluble cellular prion protein and its association with prion and Alzheimer diseases. *Prion* 5(3):172–178



A Micellar On-Pathway Intermediate Step Explains the Kinetics of Prion Amyloid Formation

Erwan Hingant^{1*}, Pascaline Fontes², Maria Teresa Alvarez-Martinez³, Jacques-Damien Arnaud³, Jean-Pierre Liautard⁴, Laurent Pujou-Menjouet^{5,6}

1 CI²MA, Universidad de Concepción, Concepción, Chile, **2** INSERM U710, Université Montpellier 2, Place E. Bataillon, 3ème étage, Montpellier, France, **3** Etablissement Confiné d'Expérimentation, Plateforme RAM, UMS 3426-BioCampus, Place E. Bataillon, UM2, Montpellier, France, **4** Centre de Recherche sur les Pathogènes et Biologie pour la Santé, CPBS UMR5236, Université Montpellier 2, Place E. Bataillon, Montpellier, France, **5** Université de Lyon, CNRS, Université Lyon 1, Institut Camille Jordan UMR5208, Villeurbanne, France, **6** INRIA Team Dracula, Inria Center Grenoble Rhône-Alpes, France

Abstract

In a previous work by Alvarez-Martinez *et al.* (2011), the authors pointed out some fallacies in the mainstream interpretation of the prion amyloid formation. It appeared necessary to propose an original hypothesis able to reconcile the *in vitro* data with the predictions of a mathematical model describing the problem. Here, a model is developed accordingly with the hypothesis that an intermediate on-pathway leads to the conformation of the prion protein into an amyloid competent isoform thanks to a structure, called micelles, formed from hydrodynamic interaction. The authors also compare data to the prediction of their model and propose a new hypothesis for the formation of infectious prion amyloids.

Citation: Hingant E, Fontes P, Alvarez-Martinez MT, Arnaud J-D, Liautard J-P, et al. (2014) A Micellar On-Pathway Intermediate Step Explains the Kinetics of Prion Amyloid Formation. *PLoS Comput Biol* 10(8): e1003735. doi:10.1371/journal.pcbi.1003735

Editor: Scott Markel, Accelrys, United States of America

Received: July 19, 2013; **Accepted:** June 5, 2014; **Published:** August 7, 2014

Copyright: © 2014 Hingant et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Funding: This work has been supported by ANR grant MADCOW no. ANR-08-JCJC-0135-01 (France). EH has been partially supported by FONDECYT postdoctoral grant no. 3130318 (Chile). The authors thank INRIA for its financial support. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing Interests: The authors have declared that no competing interests exist.

* Email: ehingant@ci2ma.udec.cl

Introduction

Transmissible spongiform encephalopathies, or prion diseases, are a group of fatal neurodegenerative disorders of humans and animals. The pathogenic process is typically associated with conformational conversion of a cellular protein, called prion or PrP^C, to a misfolded isoform, called PrP^{Sc}. The “protein-only” model asserts that this rogue PrP^{Sc} represents the infectious prion agent, self-propagating by binding PrP^C and inducing its conversion to the abnormal PrP^{Sc} [1,2]. This scenario was quantitatively described as a nucleation-dependent amyloid polymerization [3,4]. It is now generally accepted that the prion development process results from an amyloid polymerization after an initial nucleus formation in the very early phase of protein aggregation. Models based on nucleation-dependent polymerization [5–7] describe a molecular mechanism at the origin of the formation of large protein aggregates, by involving thermodynamically unfavourable steps that become favourable when the nucleation kinetic barrier is reached. As a striking consequence of these models, the unfavourable first steps can be bypassed by seeding with preformed polymers. However, due to the transient nature of the initial nucleus, our understanding of the interactions that form this initial structure is very sparse and thus the understanding of species allowing the prion proteins to overcome the strong kinetic barrier to form a specific amyloid conformation is highly limited [8]. This may have led to one of the most notable persisting fallacy claiming that the Lag phase of prion proliferation, defined as the required phase for the nucleus formation [3,9],

reflects the unfavourable nucleation phase. This idea was challenged by experimental results obtained by numerous authors who revealed a linear dependence of the lag time (denoted by T_{lag}) to monomer concentration not exceeding a nucleus size of about 2 monomers [10,11]. This result, also found for some other spontaneous amyloid-forming proteins [12], was generally attributed to an accumulation of large off-pathway species whose formation is competitive with the on-pathway processes that lead to amyloid [11,13]. However, in the case of hamster rPrP (Recombinant Syrian Hamster Prion Protein 90–231) polymerized *in vitro*, we previously found no kinetic evidence for an off-pathway [10]. Consequently, we propose that an additional on-pathway step is necessary to explain the results observed. We hypothesize that this new stage stands very likely for a first step. It would occur before nucleation, because experimentally, we were able to show that seeded polymerization always begins after a time delay that can be interpreted as the time needed to generate active monomers [10]. We show indeed that micelles are formed, which leads to an amyloid competent isoform of the prion protein (denoted by PrP*) considered as a necessary step to induce nucleation and amyloid polymerization. This hypothesis is supported by [14,15] where it is found that lipid interactions play a key role in the conformation of PrP^C into PrP^{Sc} by β -sheet enrichment, see Sec. Discussion. We assume here that a similar interaction occurs in our experimental condition by pure PrP^C interaction with the help of micelles formation. To analyse the consequences of this hypothesis, we develop a quantitative model with an explicit description of the microscopic processes, and we

Author Summary

Understanding the mechanism of prions is an important issue. Indeed, it involves a mechanism modifying the structure of the proteins that are of high interest in theoretical biology. Knowing the underlying mechanism that leads to prion disease could help further investigations in the world of amyloid disease and for example the so-called Alzheimer's disease. The theory of prion, also known as Protein-Only, has been widely studied. Nevertheless no mathematical models are able to reproduce the phenomena *in silico*. This suggests a lack of information in the theory. Here we propose a new model, built with a new approach theory that fits experimental data in a very satisfactory way. This model, together with experiments, maintains the idea that an intermediate conformation of the protein helps the disease to spread. Besides, this work is an excellent example of a strong interaction between mathematical modelling and biological approach. Indeed, because of a strong discrepancy between theoretical results of the early original model and biological data on pathological prion formation, the team of biologists decided to investigate more closely their experiments. They came out with a new discovery: the crucial role of micelles in the pathological conformation of the prion protein.

compare experimental data with the results predicted by the model.

Results

Micelles characterization

In order to find out what types of structures could be involved as an on-pathway, we have performed a time dependent electron microscopic analysis during polymerization of hamster rPrP. Few minutes after dilution into polymerization buffer, we observed spherical structures looking like rigid micelles (Fig. 1A and Fig. S6 in Supporting Information). The size distribution fits well with a log normal distribution (Fig. 1B). The size of these spheres was heterogeneous with a mean around 30 nm. A sphere of 30 nm diameter reaches a surface area of around 30 nm², the rPrP have a diameter (thanks to Protein Workshop v1.0 and PDB ID 1B10) of about 1.5 to 2 nm thus the sphere contains about 1000 proteins on its surface. In order to ensure that these structures are formed of rPrP, we decided to label them with antibodies. This method clearly identified spheres consisting of rPrP (details in Fig. S1).

Micelles quantity correlates with fibrils in a precursor relationship

In a previous study [10], we showed that polymerization kinetics could not be explained by the existence of an off-pathway. Thus an important question remains: what exactly is the role of micelles in the polymerization mechanism? To answer this, we decided to analyse the evolution of the micelle quantity during polymerization kinetics. Qualitative analysis using electron microscopy revealed that the number of micelles is important a few minutes after dilution into polymerization buffer, and then rapidly decreases when fibrils are formed (Fig. 2). A semi-quantitative analysis of the amount of round shape structures suggested a precursor relationship between the micelles and fibrils (Fig. 2). This was established in two different buffers exhibiting very different lag phase and thus showing that it is very likely a common feature of *in vitro* prion polymerization.

Quantitative model of polymerization including on-pathway micelles

To quantitatively analyse the consequences of an on-pathway micelle intermediate, we built an *a priori* model describing the different steps with the microscopic processes involved and their contributions to the whole system. From this microscopic model it is then possible to quantify macroscopic data, such as micelles, polymers and monomers concentration. The model can be detailed into four main parts.

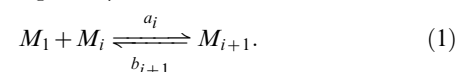
- **Phase 1:** Formation of dependent PrP micelles through a growth phase with addition and loss of monomers as a cluster dynamics. It corresponds to the early phase in Fig. 2 where micelle quantity increases (curve with red circles) while the PrP^{Sc} still remains constant (curve with black circles).
- **Phase 2:** Micelles help the transition towards a new structure (PrP*) that is stabilized in the micelle itself and is released as an isoform monomer. This is the main hypothesis of our work. Production of PrP* occurs all along the process until the stabilization of PrP^{Sc} is reached.
- **Phase 3:** The free isoform (PrP*) is able to reach the nucleation barrier and then nucleates. It corresponds to the phase in Fig. 2 where micelles (red circles) start to decrease while the quantity of polymers (black circles) remains constant.
- **Phase 4:** Nucleation promotes polymerization of PrP^{Sc} and fibrils split when size increases, leading to a rapid polymer (black circles) growth phase. Here, it corresponds to the fast growth phase of PrP^{Sc} in Fig. 2.

Microscopic description of the model and kinetic equations

A standard approach to formalize particle interactions between monomers, micelles and polymers, is to describe the transition rates between the states of the system through kinetic schemes. Well-known in chemistry, such a modelling is also used for polymerization models [4] and according to this method, it is then possible to write the differential equations of the concentration describing the dynamics of each quantity involved in the system.

In order to give the clearest insight as possible of the model elaboration process both for biologists and mathematicians, let us consider the 4 phases listed in the last section and progressively introduce the microscopic processes involved together with their kinetic schemes and the corresponding equations.

Phase 1: Formation of dependent PrP micelles. We denote by M_1 the PrP^C monomer population (blue pentagons in Fig. 3) and by M_i the micelles consisting of $i \geq 2$ monomers (orange spherical aggregate in Fig. 3). We assume that micelles grow by addition of PrP^C one after the other, *i.e.* a PrP^C monomer will aggregate to a micelle consisting of i monomers to form a larger one consisting of $i+1$ monomers. The rate at which this reaction occurs is given by a non-negative number a_i that depends on the size i of micelles. We also assume that this reaction is reversible and a micelle of size $i+1$ can release a PrP^C monomer to form a micelle of size i . The rate of this reaction is given by the non-negative number b_{i+1} , also depending on the size. Both reactions are represented in Fig. 3 by the interaction between the blue pentagon and the spherical aggregate. The kinetic scheme of these two reactions is given by



The differential equation describing the quantity change rates are written in function of the concentration of each particle type.

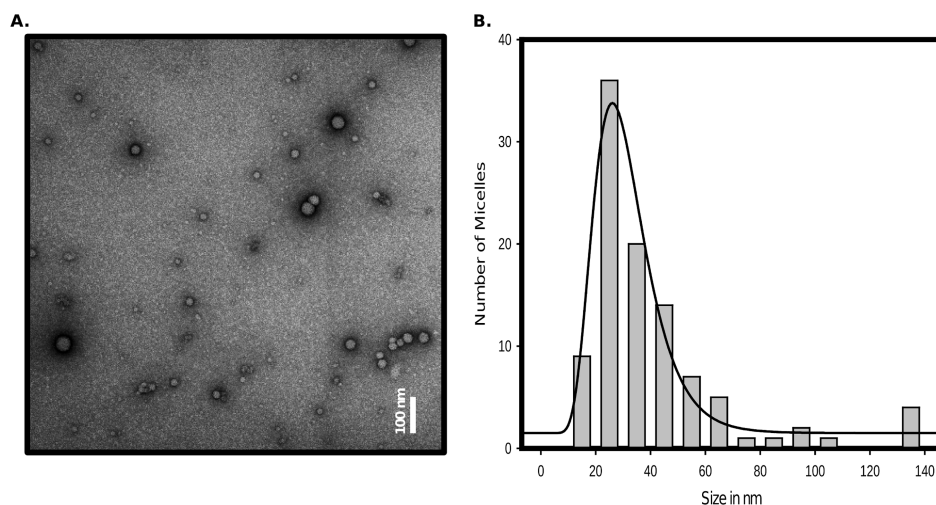
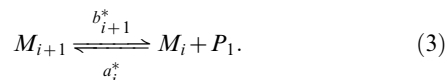


Figure 1. Micelle-like structures. A. Electron microscopy view of the rPrP^C few minutes after solubilisation (see Materials and Methods). Samples were adsorbed on carbon/formvar film and negatively stained by 2% uranyl-acetate, and examined on a Jeol 1200 EX. B. Diameter measurement of the micelles observed on one sample as described in item A. doi:10.1371/journal.pcbi.1003735.g001

We introduce then $m_1(t)$ and $m_i(t)$ the concentrations, respectively of, monomers M_1 and micelles M_i for $i \geq 2$ at time $t \geq 0$. The flux associated to reaction (1), also called net rate, is then given by

$$J_i(t) = a_i m_1(t) m_i(t) - b_{i+1} m_{i+1}(t), \quad i \geq 1. \quad (2)$$

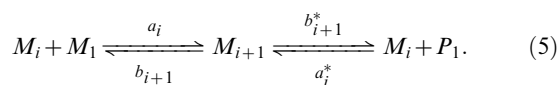
Phase 2: Transition to PrP*. We assume that the reaction, between PrP* monomers (orange spheres in Fig. 3) denoted by P_1 and micelles M_i for $i \geq 2$, follows the same dynamics as the PrP^C monomers. Thus, the kinetic equation writes, for $i \geq 2$,



The rates b_{i+1}^* and a_i^* play the same role as in (1). They respectively stand for, the rate at which a micelle M_{i+1} releases a PrP* monomer after having stabilized it and the rate at which a micelle M_i associates a PrP* monomers. If we denote by $p_1(t)$ the concentration of P_1 at time $t \geq 0$, we obtain the net rate for reaction (3),

$$J_i^*(t) = a_i^* p_1(t) m_i(t) - b_{i+1}^* m_{i+1}(t), \quad i \geq 1. \quad (4)$$

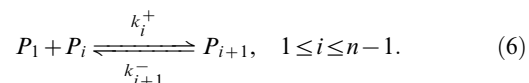
To summarize, reactions (1)–(3) can be combined and written as



This shows how micelles help the transition from PrP^C monomers to PrP*. Both depletion rates b_i and b_i^* represent, in some sense, the probability that a monomer released by a micelle of size i is stable in one of the two free isoforms, PrP^C or PrP*. The way we choose these coefficients in the model will strongly depend on the structure of the micelles: we assume here a 3D spherical

micelle structure in agreement with *in vitro* observation, see Sec. General assumptions and Fig. 1A.

Phase 3: Nucleation. In this phase, we denote by P_i a small aggregate consisting of $i \geq 2$ PrP* monomers up to a size n . Here, n corresponds to the size required to form a so-called nucleus. We name these intermediate aggregates oligomers. The reactions involved in the formation of a nucleus P_n are the



Coefficient k_i^+ is the rate at which a small aggregate P_i will bind a PrP* monomer to form an aggregate P_{i+1} . Here again, the reaction is reversible and k_{i+1}^- is the rate of the reverse reaction. The net rate associated to reaction (6) is written as follows:

$$H_i(t) = k_i^+ p_1(t) p_i(t) - k_{i+1}^- p_{i+1}(t), \quad 1 \leq i \leq n-1. \quad (7)$$

This process is called the nucleation because small aggregates are still assumed to be composed of PrP* (Fig. 4A). And these oligomers are unstable because the reaction is energetically unfavourable, namely $k_i^+ / k_{i+1}^- < 1$. Thus, oligomers can easily release PrP* until their reach the critical nucleus size n . Once this size is reached, a so-called the nucleation barrier is crossed, *i.e.* an aggregate of size n is formed, and monomers become attached to the newly created PrP^{Sc} isoform polymers (Fig 4B). An important hypothesis here, is that the PrP^C cannot reach this barrier which would be energetically to high while PrP* isoform would decrease considerably this level of energy necessary to reach the nucleus. This is the reason why the micelle role of converting PrP^C into PrP* is crucial here.

Phase 4: Polymers growth phase. After PrP* monomers have formed a nucleus of size P_n , that is the minimal stable structure of PrP^{Sc}, it polymerizes to form what we call polymers of PrP^{Sc} and denoted by P_i when it consists in $i \geq n$ PrP* monomers (Fig. 5A). In this model, we assume that polymers only polymerize with PrP* monomers and not with the PrP^C. Indeed, we assume that

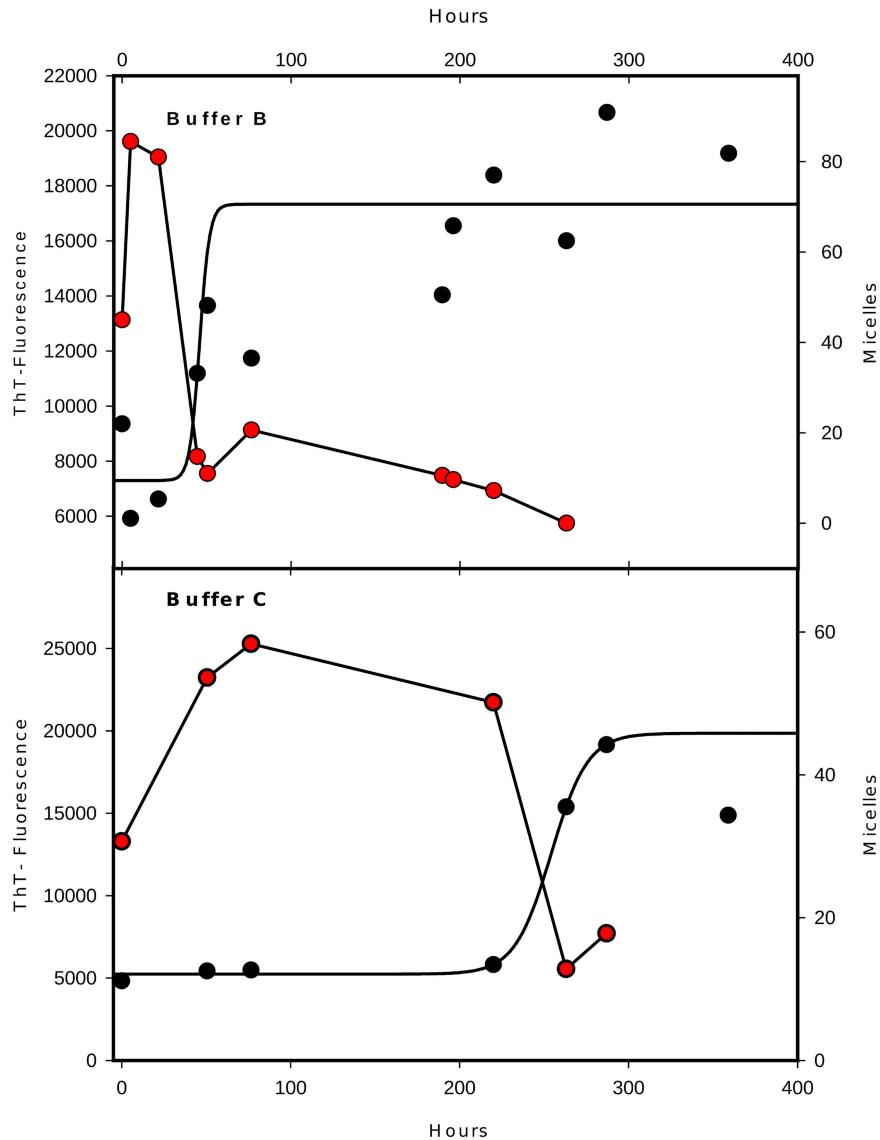
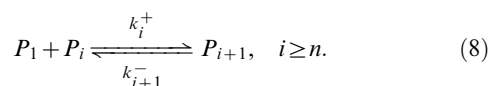


Figure 2. Micelle-like structures precede amyloid fibril formation. Comparison of the dynamics of micelles and amyloids. Amyloid formation was measured by fluorescence of ThT (in black circle) and micelles number (in red circle) counted directly on arbitrarily selected grids observed at the same magnification (top in buffer B and down in buffer C). doi:10.1371/journal.pcbi.1003735.g002

energy necessary to pass from PrP^C to the PrP^{Sc} isoform is much more important than the one to pass from the PrP^* (stabilized by micelles) to the PrP^{Sc} . Thus, similarly to the nucleation steps, we define k_i^+ and k_{i+1}^- , now for $i \geq n$, respectively the polymerization rates and depolymerization rates such that

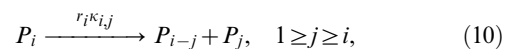


This step is thermodynamically favourable and $k_i^+/k_{i+1}^- > 1$. The net rate of reaction (8) reads as (7), *i.e.*

$$H_i(t) = k_i^+ p_i(t) p_i(t) - k_{i+1}^- p_{i+1}(t), \quad i \geq n. \quad (9)$$

Finally, we assume that under our experimental conditions (agitation) both oligomers and polymers are subjected to a binary fragmentation,

namely they can split into two smaller polymers (Fig. 5B). This phenomenon contributes to the growth phase by multiplying the possible polymerization sites and explains why the mass of polymers (Fig. 2) seems to increase exponentially after the lag time. Thus, we define a splitting rate, given by r_i , of a polymer P_i and the associate distribution kernel $\kappa_{j,i}$. This latter gives the probability that a polymer consisting of i monomers, when it splits, gives rise to two polymers: one consisting of j monomers and another of $i-j$. The reaction is



and the net rate is

$$F_{i,j}(t) = -r_i \kappa_{j,i} p_i. \quad (11)$$

All these considerations give us the material to write evolution equations introduced in next section. These equations are the ones used for simulation in the next sections.

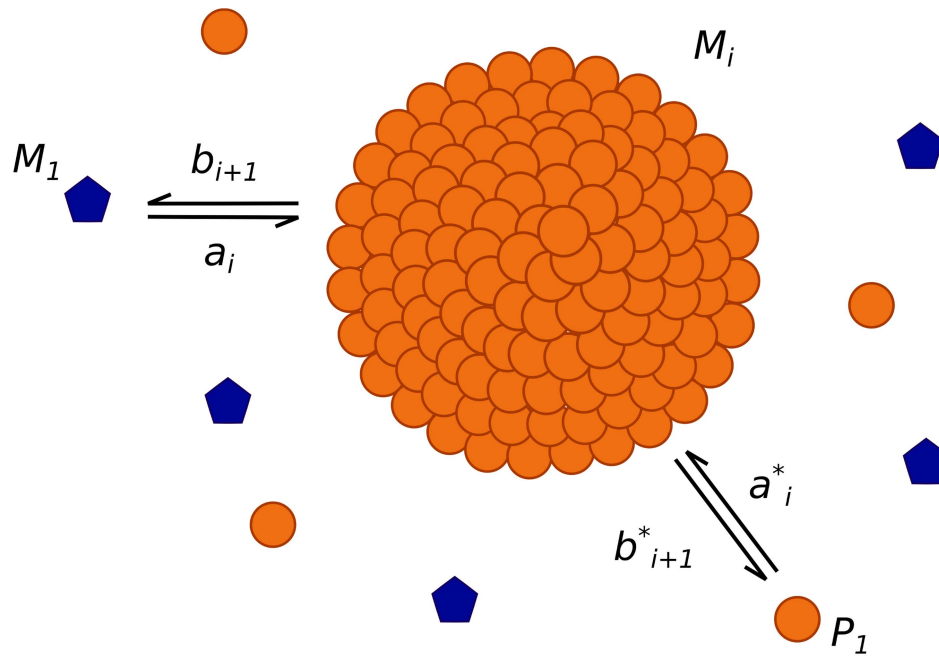


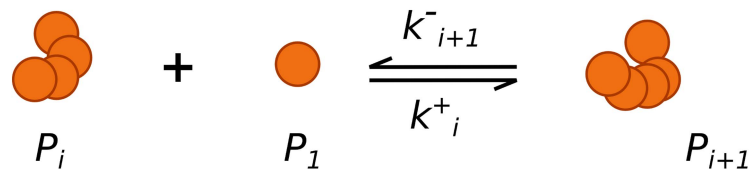
Figure 3. Schematic representation of a micelle and interactions with monomers. The blue pentagons represent the PrP^C monomers, the big orange spherical structure stands for a micelle consisting of i monomers, and the orange spheres (out of micelle) are the PrP^{*} monomers stabilized by micelles. Both types of monomers, PrP^C and PrP^{*}, interact with the micelles by association-dissociation with rates given by a_i , b_i , a_i^* and b_i^* depending on the number i of monomers that form the micelle.
doi:10.1371/journal.pcbi.1003735.g003

Derivation of the model. The kinetic schemes and fluxes derived in the previous section are summarized in Table 1. Using the reaction fluxes notations, it is then now possible to derive differential equations describing the dynamics of monomer, micelles and polymer formation at time $t \geq 0$ through their concentrations $(m_i(t))_{i \geq 1}$ and $(p_i(t))_{i \geq 1}$. We recall that $m_1(t)$ is the concentration of PrP^C monomer, $m_i(t)$ with $i \geq 2$ the concentration of micelles consisting of i monomers, $p_1(t)$ the concentration of PrP^{*} monomers, $p_i(t)$ with $2 \leq i \leq n-1$ the concentration of

PrP^{*} oligomers, $p_n(t)$ the concentration of nucleus and $p_i(t)$ with $i \geq n+1$ the concentration of PrP^{Sc} polymers consisting of i monomers.

We assume that the coefficient rates a_i , b_i , a_i^* , b_i^* , k_i^+ , k_i^- and r_i^* are non negative. Moreover, for any $i \geq 1$ the kernel $\kappa_{i,j}$ is non-negative such that for $j \geq i$, $\kappa_{i,j} = 0$. This latter equality means that a polymer $i \geq 1$ cannot split into bigger polymers, but only in two smaller pieces. We assume that $\kappa_{i,j} = \kappa_{i,i-j}$ for any $1 \leq j \leq i-1$. This symmetry assumptions means that we cannot distinguish

A. Nucleation



B. Nucleation barrier

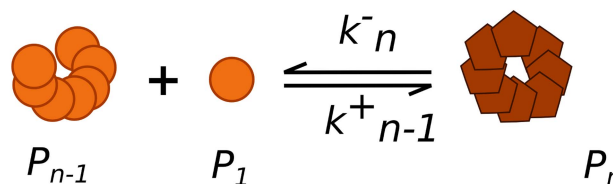
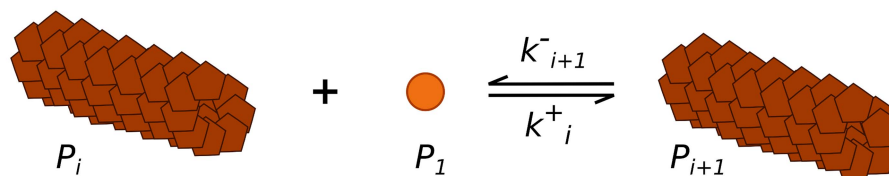


Figure 4. Schematic representation of the nucleation. A. The PrP^{*} monomers form small aggregates called oligomers. B. When the oligomer reach a size n , the oligomer structure becomes stable and forms a PrP^{Sc} polymer.
doi:10.1371/journal.pcbi.1003735.g004

A. Lengthening



B. Fragmentation

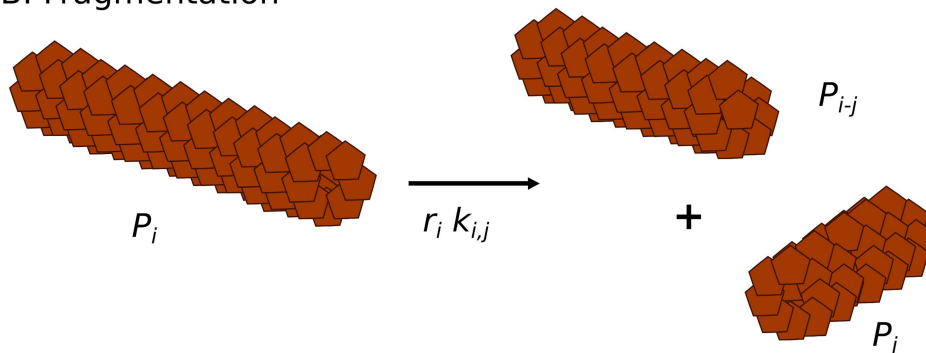


Figure 5. Schematic representation of the polymers dynamics. A. The PrP^{Sc} polymers P_i (consisting of i monomers) bind (or loose) PrP* at its ends. It is the polymerization (or de-polymerization process). B. Polymers split into two smaller pieces. A polymer P_i gives rise to two new polymers P_j and P_{i-j} at a rate $r_i \kappa_{i,j}$.
doi:10.1371/journal.pcbi.1003735.g005

between the fragmentation of a polymer i into two polymers j and $i-j$ or two other $j-i$ and j , it is the same reaction. Finally, it is a probability kernel, for any $i \geq 1$, that is

$$\sum_{j=1}^{i-1} \kappa_{i,j} = 1, \text{ for any } j \leq i. \quad (12)$$

We are able now to write the differential equations associated to each concentration. First, the PrP^C monomers is involved in all the reactions (1) and its dynamics is given by summing all the flux set up in (2):

$$\frac{dm_1}{dt} = -J_1(t) - \sum_{i \geq 1} J_i(t). \quad (13)$$

The flux J_1 appears twice because there is two monomers involved in the first reaction. Then, the evolution of micelles concentration is given by

$$\frac{dm_i}{dt} = J_{i-1}(t) - J_i(t) + J_{i-1}^*(t) - J_i^*(t), \text{ for all } i \geq 2. \quad (14)$$

Indeed, there are four reactions that affects a micelle M_i . Two are of type (1) with the PrP^C monomers associated to the net rates J_{i-1} and J_i while the two others are of type (3) with the PrP* monomer associated to the net rates J_{i-1}^* and J_i^* . Reactions (3), (6), (8) and (10) involve PrP* monomers. The dynamics of $m_1(t)$ is written as follows:

$$\frac{dp_1}{dt} = -J_1^*(t) - \sum_{i \geq 1} J_i^*(t) - H_1(t) - \sum_{i \geq 1} H_i(t) - 2 \sum_{j \geq 2} F_{j,1}(t)$$

Table 1. Reaction scheme and their related fluxes.

Description	Reaction scheme	Reaction fluxes
Micelle formation and PrP* released	$M_1 + M_i \xrightleftharpoons[b_{i+1}]{a_i} M_{i+1}$	$J_i = a_i m_1 m_i - b_{i+1} m_{i+1}$
	$M_{i+1} \xrightleftharpoons[b_{i+1}^*]{a_i^*} M_i + P_1$	$J_i^* = a_i^* P_1 m_i - b_{i+1}^* m_{i+1}$
Amyloid polymerization	$P_1 + P_i \xrightleftharpoons[k_{i+1}^-]{k_i^+} P_{i+1}$	$H_i = k_i^+ p_1 p_i - k_{i+1}^- p_{i+1}$
Amyloid splitting	$P_i \xrightarrow{r_i \kappa_{i,j}} P_{i-j} + P_j$	$F_{i,j} = -r_i \kappa_{i,j} p_i$

We denote $m_i = [M_i]$ and $p_i = [P_i]$, the respective concentrations.
doi:10.1371/journal.pcbi.1003735.t001

In particular, if $2 \sum_{j \geq 2} F_{j,1}$ accounts for all fragmentations such that a polymer j leads to a polymer of size $j-1$ and a monomer. The reactions are counted twice because of the symmetry of the reaction. Finally, oligomers and polymers follows the same dynamics, given by reactions (6), (8) and (10) with their associated fluxes. It is written as follows:

$$\frac{dp_i}{dt} = H_{i-1}(t) - H_i(t) + \sum_{j=1}^{i-1} F_{i,j}(t) - 2 \sum_{j \geq i+1} F_{j,i}(t), \quad (15)$$

for all $i \geq 2$.

The fragmentation terms account for all the splitting of a polymer i to give two smaller ones of size less than i and the creation of a new polymer i from the fragmentation of a bigger one.

In conclusion, the model we developed can be summarized as a set of equations (13) to (15). The system has to be completed with initial conditions that depend on the experimental conditions, that is:

$$m_i(0) = m_i^0 \geq 0 \text{ and } p_i(0) = p_i^0 \geq 0, \text{ for any } i \geq 1. \quad (16)$$

Before we analyse the system, we would like to emphasize the fact that this model describes the concentration of all micelles and polymers according to their size (number of monomers). Nevertheless it is possible to compute macroscopic quantity such as,

$$\sum_{i \geq 2} m_i(t) \text{ and } \sum_{i \geq 2} im_i(t),$$

respectively the concentration of micelles and the *mass* of micelles which is the concentration of monomers in all the micelles. Similarly,

$$\sum_{i \geq 2} p_i(t) \text{ and } \sum_{i \geq 2} ip_i(t),$$

stands for the concentration of polymers and the *mass of polymers* that is the number of monomers in all the polymers. Finally, as we consider a closed system, with neither degradation nor production of monomers, it is then expected that the model preserves the total mass of monomers which is written as follows:

$$\frac{d}{dt} \sum_{i \geq 1} im_i(t) + \frac{d}{dt} \sum_{i \geq 1} ip_i(t) = 0, \text{ for any } t \geq 0. \quad (17)$$

Indeed, summing all the equations of the system, and particularly thanks to the properties of the probability kernel $\kappa_{j,i}$, this conservation holds.

Analysis of the experimental results based on this model

A qualitative analysis of the dynamics of micelles and polymers given by our model (see Fig. 6) is consistent with the one observed in experiments (see Fig. 2). As expected, the correlation between polymers formation and the decreasing of micelles concentration is connected with the PrP* formation. For this purpose, we assume in our simulations that PrP* monomers originate from micelles and do not exist before, *i.e.* their initial concentration is null.

Furthermore, this model was built to analyse the lag phase and be compared to data. Several definitions of the lag time exist but they are mostly related to the half-time (denoted by T_{50}), which is the time when half of the final polymerized mass is reached. One of the definitions links the T_{50} to the lag time by the relation: $T_{lag} = T_{50} - 2\tau$, with $1/\tau$ the maximal slope of the sigmoid [6] describing polymer dynamics with respect to time. This formula makes sense for a genuine sigmoidal equation, but here we cannot have any explicit solution to the model. Since the half-time T_{50} is better defined and more tractable on our data, we choose to use it to analyse our results. It is possible to focus ourselves on four main results provided by the model:

1. We perform an analysis of the delay before polymerization starts when experiments are seeded with preformed PrP^{Sc} polymers at different concentrations. Note that nucleation steps are bypassed in this case since PrP^{Sc} already exists at the beginning of our experiment. Previous works [4,16] predicted the disappearance of the lag phase (Fig. S2) and expected the half-time to go to zero. In Fig. 7B, we can see that these phenomena are absolutely not observed experimentally while, on the other hand, the model we introduced confirm perfectly these observations and fit the data correctly. Moreover, as expected the half time computed in our model does not converge to zero when the seeding concentration of PrP^{Sc} polymers increases.
2. Results in Fig. 7A show that the lag phase persists with an increasing concentration of PrP^C monomers considering the nucleation case (without seeding). That fact is consistent with the generation of active monomers in the system. The shape of dependency to the initial condition is preserved, *i.e.* a linear log-log shape, but it remains independent of the nucleus size (Fig. S5). It comforts the idea that the Lag time does not depend on a nucleation barrier. We emphasize that, for low concentration of PrP^C, the dispersion becomes higher, this phenomenon could be explained by the stochasticity involved in the system and by-passed at high concentration when the interactions between proteins are facilitated. This has been studied in [17].
3. In the conventional model of nucleation, if the seeding is postponed, an increase of the T_{50} equal to the delay time before seeding should be observed (at least in the very first hours when the experiment takes place far enough from the T_{lag}). However, this dependency was not observed experimentally and the T_{50} is less than the one expected. This suggests that a phenomenon occurs during the early phase without seeding, which accelerates polymerization when nucleus is introduced. Our model explains this phenomenon by formation of the amyloid competent isoform and results are shown in Fig. S4.
4. In the next step, we analyse the shape of the maximal speed distribution of polymerization ($1/\tau$) as a function of initial concentration. Our simulations appear to be qualitatively consistent with the experimental data, with concave shape of dependency (Fig. S3).

Taken together, these four points, allow us to conclude that experimental data corroborate our model. Furthermore, it suggests a simple explanation for the weak dependency of the lag time with initial concentration and it proposes a new interpretation of the overcoming kinetic barrier of the prion protein. *A posteriori*, the microscopic processes involving prion proliferation, built here, describe the observed *in vitro* macroscopic facts.

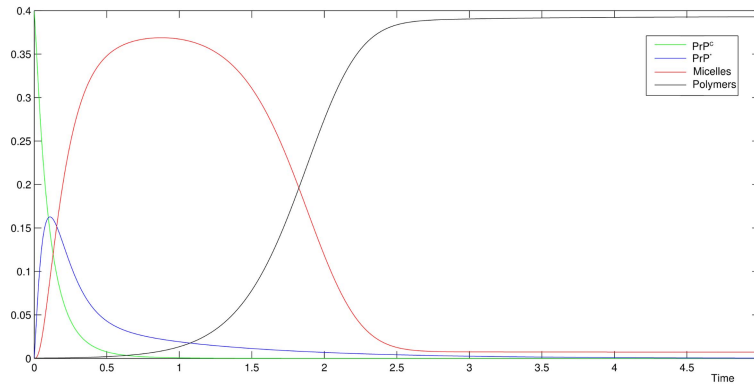


Figure 6. Qualitative behaviour of the model. Evolution normalized of the quantity: PrP^C, PrP*, the mass of micelles and the mass of polymers. The dynamics are consistent with the experimental data shown in Fig. 2. doi:10.1371/journal.pcbi.1003735.g006

Discussion

Evidences for the existence of micelle as an on-pathway during the formation of amyloid *in vitro* leads then to the question of the existence of such intermediate *in vivo*. Indeed, the concentrations of rPrP used to study the *in vitro* polymerization are far above those observed *in vivo* and buffers involved are not compatible with life. But, in the view presented here, micelles play the important role to sustain the conformation that is eligible for the amyloid formation. This suggests that the PrP^C should reach a specific conformation to be able to polymerize into amyloid. What happens *in vivo*? It was recently shown that:

1. the conformational structure and stability of the recombinant human PrP in a membrane environment are substantially different from those of the free protein in solution [18,19]
2. anionic lipids bicelles converted α -helix-rich rPrP to a β -sheet conformation [15],
3. lipid is necessary to convert PrP^C to infectious PrP^{Sc} under physiological conditions [20,21],
4. the hydrophobic highly conserved middle region of PrP is involved in the interaction with lipid membranes [22], and deletion in this part of the molecule impaired PrP^{Sc} induced conversion [23]. This phenomenon was also observed for other amyloid forming peptides [14,24].

Thus our hypothesis is the formation of mixed-micelles containing phospholipids and rPrP reducing the concentration necessary to reach CMC (Critical Micellar Concentration) under physiological conditions. We believe that it is consistent with the appearance of nucleation, *in vivo*, at low concentration of proteins.

The main characteristic of the *in vivo* formed amyloids is infectiosity and this property is related to the amyloid structure [25]. It is important to remind that most of the amyloids produced *in vitro* are not infectious. However, recently it was shown that addition of phospholipids [21] during *in vitro* polymerization leads consistently to infectious amyloids [20,26]. Furthermore, it was proven that rPrP proteins interact with membrane phospholipids [19] and this interaction precedes conformational changes [18], a phenomenon also observed for other amyloid forming peptides [14]. Our hypothesis of formation of mixed-micelles containing phospholipids and rPrP, in such mixed-micelles, as in pure prion

micelles, allow the protein to reach the PrP* conformation competent to generate infectious amyloids.

Materials and Methods

General assumptions on the model

This model is used to fit data, that is why we have to give assumptions on rates to obtain a physical and biological relevant model. In the case of micelles(or 3D spherical structures as it is observed experimentally here), we assume as in [27] that assimilation rates a_i and a_i^* are constant for any $i \geq 1$ and we denote them by a and a^* respectively, both of them being positive constants. Indeed, we assume that both types of proteins have the same affinity with respect to micelles of any size. The depletion rate needs to take the spherical structure of a micelle into account, which radius linked to the number of monomers that composes it. In [27], this term is given under the form

$$b_0 e^{Ai^{-1/3} + Bi^{1/3}}, \text{ for } i \geq 2, \tag{18}$$

which is derived from chemical potential for one species of monomers. However, for the sake of simplicity we interpret differently this form and adapt it to one model. First, we suppose that in the smallest size, micelles do not transconformed PrP^C monomers into amyloid competent isoform. We justify this assumption by thermodynamic constraints, assumed to be stronger in the greatest size. As the term in $i^{-1/3}$ is dominant for small micelles, we let

$$b_{i+1} = b_0 e^{Ai^{-1/3}}. \tag{19}$$

The term in $i^{1/3}$ is dominant in the greatest size, thus this part is taken into account for the depletion of PrP*,

$$b_{i+1}^* = b_0^* e^{Bi^{1/3}}. \tag{20}$$

Now, for polymerization, we consider a constant polymerization rate $\tau > 0$, such that k_i^+ is equal to τ for any $i \geq 1$, and a

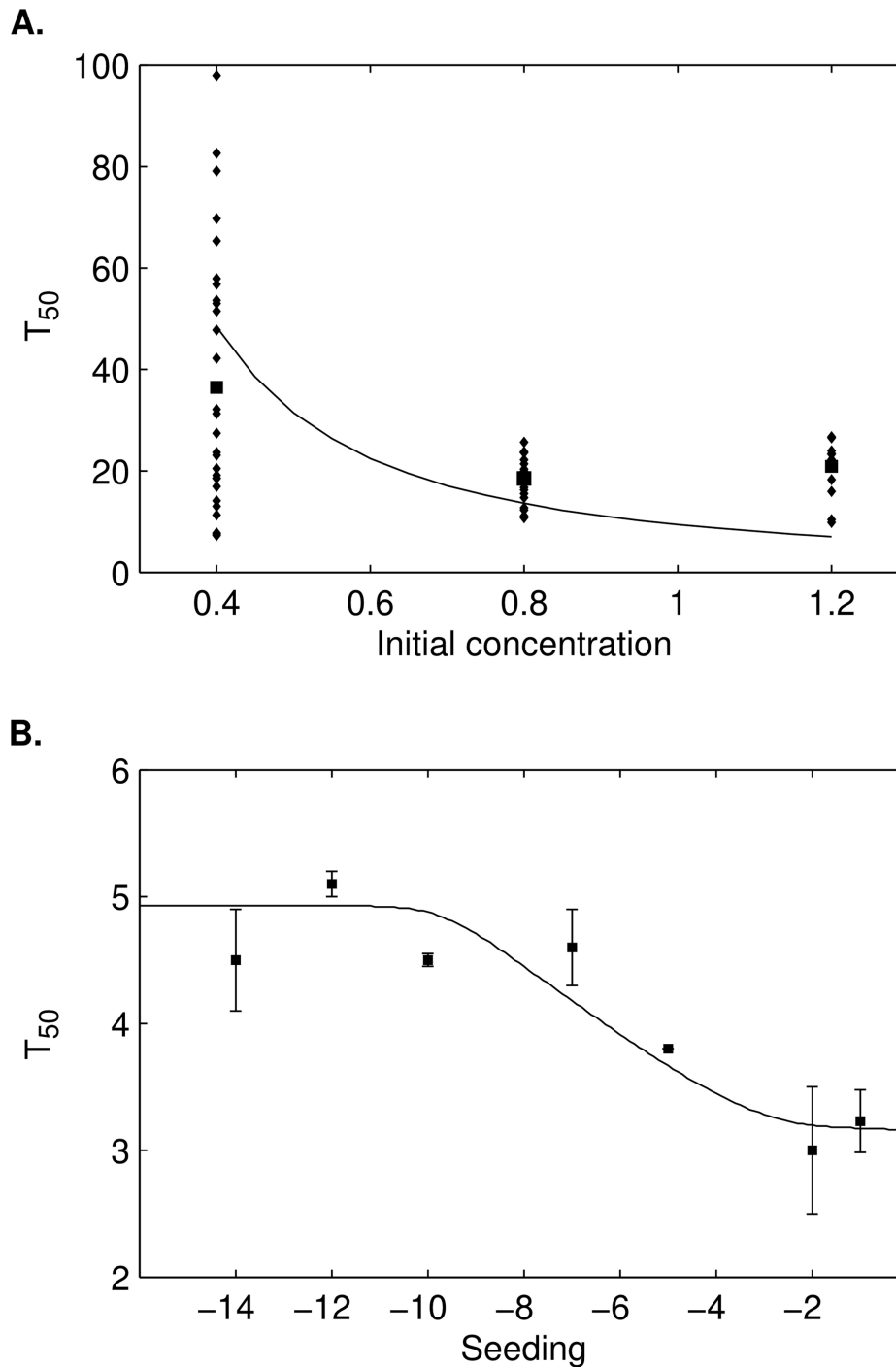


Figure 7. Half-time correlation between the model and experimental results. A. Diamonds are the T_{50} (in hours) obtain by fitting experimental data with a sigmoid (see [10]) for initial concentration of PrP^{C} equal to 0.4, 0.8 and $1.2 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$. Squares are the mean value of the T_{50} while continuous line is the value obtain by the model for a concentration of PrP^{C} varying from 0.4 to $1.2 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$. B. Squares stand for the mean T_{50} (in hours) with standard error of the mean vs the seeding concentration of PrP^{Sc} (in log-scale), obtained for a series of experiments. In each experiment the concentration of PrP^{C} was fixed to $m_1(0) = 0.4 \text{ mg/ml}$ while the seeding concentration of PrP^{Sc} given by $\sum_{i \geq 2} ip_i(0)$ (mass of polymers) ranges from $0.4 \cdot 10^{-14}$ to $0.4 \cdot 10^{-1} \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$. The result here gives the T_{50} vs $\log_{10}(\sum_{i \geq 2} ip_i(0)/m_1(0))$. The continuous line corresponds to the simulations obtained with the model.
doi:10.1371/journal.pcbi.1003735.g007

depolymerization rate k_i^- equal to a constant $d > 0$ for $i < n$, where n is the nucleus size and equal to 0 for longer polymer, $i \geq n$, *i.e.* polymerization becomes an irreversible process after

the nucleus is reached. Moreover, a linear splitting rate is taken, that is $r_i = r(i-1)$ with $r > 0$ and a uniform kernel given by

$$\kappa_{ij} = \begin{cases} \frac{1}{i-1}, & \text{if } i > j > 0 \\ 0, & \text{otherwise.} \end{cases} \quad (21)$$

Methods

Expression and purification of recombinant prion protein. Recombinant 90–231 prion protein (rPrP) was produced as described previously, see [10]. Protein concentrations were determined spectrophotometrically (Beckman spectrophotometer) using an extinction coefficient of $25327\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ at 278nm and a molecular mass of 16,227kDa. Purity of the protein preparation was assessed by phase reverse HPLC. The protein was stored lyophilized at -80°C .

Transmission electron microscopy. Samples were adsorbed on carbon/formvar-coated copper grids (300 mesh) (Agar scientific, Saclay, France) and stained by negative contrast with 2% (w/v) uranyl acetate for one minute. Labelled samples are observed after negative contrast with uranyl acetate 2% on a JEOL 1200 EX II transmission electron microscope (Service commun de microscopie électronique de l'université Montpellier II, Montpellier, France) at 80KV of voltage. Number of micelles were counted directly on images and size of micelles as well as length and width of fibrils were measured using ImageJ software (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>).

Kinetics measurements of polymerization. Kinetics of amyloid formation was monitored in SpectraMax Gemini XS (Molecular Devices). Samples containing 0.1 to $1.2\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ of the oxidized form of HaPrP90-231 (rPrP) were incubated in Buffer A, Buffer B or Buffer C (see [10] for more details on the buffers composition) upon continuous shaking at 1350 rpm in 96-well plates and in the presence of ThT ($10\mu\text{M}$). The kinetics was monitored by bottom-reading of fluorescence intensity using 445nm excitation and 485 and 500nm emission. Every set of measurements was performed in triplicates, and the results were averaged. Previously prepared amyloid were used to performed the seeding and the w/v per cent were calculated assuming that suspension was homogeneous.

Numerical simulation. A code was developed to simulate the equations and compared to data. It is available at <http://www.ci2ma.udec.cl/ehingant/>.

Supporting Information

Figure S1 Characterization by antibodies of micelles.

Transmission electron microscopy view of micelles occurring as spherical structures while PrP^{Sc} polymers appear as rigid-rod. The method used: 1. Samples absorption on carbon/formvar-coated copper grids (300 mesh) (Agar scientific, Saclay, France) 2. Labelling with antibodies: 1/antibody 3F4 (Covance, Berkeley, California; 1/100e in PBS 1% BSA), 2/antibody Rabbit anti Mouse (1/400e in PBS 1%BSA), 3/antibody Goat anti Rabbit-10 nm gold (1/100e in PBS BSA 1%) 3. Negative contrast staining with 2% (w/v) uranyl acetate for one minute.

(TIFF)

Figure S2 Numerical simulation of the model in [14]. a.

The normalized polymerization shape of the mass of polymers $\sum_{i \geq 2} ip_i(t)$. The simulation is done for a range of seeding (initial mass of PrP^{Sc}) given by $\sum_{i \geq 2} ip_i(0)$ ranges from $0.4 \cdot 10^{-6}$ to $0.4 \cdot 10^0$ with a concentration of monomers PrP^C given by $m_1(0) = 0.4 \text{ mg/ml}$. In this model there are no micelles, PrP^C

References

- Prusiner SB (1982) Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science* 216: 136–144.
- Prusiner SB (1998) Prions. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 13363–13383.
- Come JH, Fraser PE, Lansbury PT (1993) A kinetic model for amyloid formation in the prion diseases: importance of seeding. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 5959–5963.

monomers directly polymerize with PrP^{Sc}. **b**, T_{50} vs. seeding associated to the polymerization shape in (a), seeding is presented in log-scale. Both show the Lag time T_{lag} together with half time T_{50} disappear when seeding increase.

(TIFF)

Figure S3 Dependency of slope to the initial concentration of PrP^C.

Comparison of our model and the model in [14] with experimental results. The slope v_{max} is the apparent polymerization rate at the inflexion point or with the model: the

number $\frac{d}{dt} \sum_{i \geq 2} ip_i(t_{inflex})$ where t_{inflex} is the inflexion time such that $\frac{d^2}{dt^2} \sum_{i \geq 2} ip_i(t_{inflex}) = 0$.

a, Experimental data obtained in different buffers. The slope is obtained by fitting them with a sigmoidal shape. Red dot or the mean obtained through the experiments. **b**, Result obtained with the nucleation-dependent model [14] and **c**, with the micelle-dependent model presented in the paper. The micelle-dependent model, item (c), appears in a better agreement as a convex function.

(TIFF)

Figure S4 Dependency of the Half-time to a postpone seeding.

Circle is the mean with standard deviation of the half-time over 3 experiments. Meanwhile, the solid line is the result provided by the micelle-dependent model and the dashed line is the theoretical Half-time when pure nucleation-dependent polymerization is considered. This experiment consists in 4 test tubes containing $0.4\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ of PrP^C monomers in the same buffer at time $t=0$. Then, at $t=0$ the first tube is seeded with preformed polymers this leads to a half-time set as the T_{50}^0 . The second test tube is seeded 1 hour later (the seeding time) with the same concentration of polymers and so forth. The T_{50} is supposed to be linearly brought forward (dashed line) according to the seeding time, in the case where nothing happens between the beginning of the experiments and the time when polymers are introduced. Experimentally this time is less than the one expected (circle). The formation of micelles and transconformed monomers at the early phase explains this situation. Indeed, the process had already started with the micelles formation and active monomers PrP* in the buffer, before seeding. Thus, polymerization starts earlier than expected.

(TIFF)

Figure S5 The half-time vs initial concentration of PrP^C.

It appears that the decreasing rate in log scale of the half-time remains independent on the nucleus size n for the micelle-dependent model which is not consistent with the nucleation-dependent model.

(TIFF)

Figure S6 Transmission electron microscopy's views of the experiments at different times.

The images represent an arbitrary selection among many ones selected from the beginning to the end of experiments in two different buffers corresponding to Fig. 2, top (Buffer C) and bottom (Buffer B).

(TIFF)

Author Contributions

Conceived and designed the experiments: JPL LPM. Performed the experiments: PF MTAM JDA. Analyzed the data: EH JPL LPM. Wrote the paper: EH JPL LPM. Developed the mathematical model: EH LPM.

4. Masel J, Jansen VA, Nowak MA (1999) Quantifying the kinetic parameters of prion replication. *Biophys Chem* 77: 139–152.
5. Ferrone F (1999) Analysis of protein aggregation kinetics. *Methods Enzymol* 309: 256–274.
6. Lee CC, Nayak A, Sethuraman A, Belfort G, McRae GJ (2007) A three-stage kinetic model of amyloid fibrillation. *Biophys J* 92: 3448–3458.
7. Powers ET, Powers DL (2006) The kinetics of nucleated polymerizations at high concentrations: amyloid fibril formation near and above the “supercritical concentration”. *Biophys J* 91: 122–132.
8. Serio TR, Cashikar AG, Kowal AS, Sawicki GJ, Moslehi JJ (2000) Nucleated conformational conversion and the replication of conformational information by a prion determinant. *Science* 289: 1317–1321.
9. Harper J, Lansbury PJ (1997) Models of amyloid seeding in alzheimer’s disease and scrapie: mechanistic truths and physiological consequences of the time-dependent solubility of amyloid proteins. *Annu Rev Biochem* 66: 385–407.
10. Alvarez-Martinez T, Fontes P, Zomosa-Signoret V, Arnaud JD, Hingant E et al. (2011) Dynamics of polymerization shed light on the mechanisms that lead to multiple amyloid structures of the prion protein. *Biochim Biophys Acta* 1814: 1305–1317.
11. Baskakov IV, Bocharova OV (2005) In vitro conversion of mammalian prion protein into amyloid fibrils displays unusual features. *Biochemistry* 44: 2339–2348.
12. Collins SR, Douglass A, Vale RD, Weissman JS (2004) Mechanism of prion propagation: amyloid growth occurs by monomer addition. *PLoS Biol* 2: e321.
13. Powers ET, Powers DL (2008) Mechanisms of protein fibril formation: nucleated polymerization with competing off-pathway aggregation. *Biophys J* 94: 379–391.
14. Lee CC, Sun Y, Huang HW (2010) Membrane-mediated peptide conformation change from alphanomomers to beta-aggregates. *Biophys J* 98: 2236–2245.
15. Lührs T, Zahn R, Wüthrich K (2006) Amyloid formation by recombinant full-length prion proteins in phospholipid bicelle solutions. *J Mol Biol* 357: 833–841.
16. Greer ML, Pujo-Menjouet L, Webb GF (2006) A mathematical analysis of the dynamics of prion proliferation. *J Theor Biol* 242: 598–606.
17. Yvinec R (2012) Modélisation probabiliste en biologie moléculaire et cellulaire. Ph.D. thesis, Université Claude Bernard - Lyon I.
18. Morillas M, Swietnicki W, Gambetti P, Surewicz WK (1999) Membrane environment alters the conformational structure of the recombinant human prion protein. *J Biol Chem* 274: 36859–36865.
19. Sanghera N, Pinheiro TJJ (2002) Binding of prion protein to lipid membranes and implications for prion conversion. *J Mol Biol* 315: 1241–1256.
20. Wang F, Wang X, Yuan CG, Ma J (2010) Generating a prion with bacterially expressed recombinant prion protein. *Science* 327: 1132–1135.
21. Wang F, Yang F, Hu Y, Wang X, Wang X et al. (2007) Lipid interaction converts prion protein to a prpsc-like proteinase k-resistant conformation under physiological conditions. *Biochemistry* 46: 7045–7053.
22. Wang F, Wang X, Ma J (2011) Conversion of bacterially expressed recombinant prion protein. *Methods* 53: 208–213.
23. Wang F, Yin S, Wang X, Zha L, Sy MS et al. (2010) Role of the highly conserved middle region of prion protein (prp) in prp-lipid interaction. *Biochemistry* 49: 8169–8176.
24. Tsai HHG, Lee JB, Tseng SS, Pan XA, Y-C S (2010) Folding and membrane insertion of amyloidbeta (25–35) peptide and its mutants: implications for aggregation and neurotoxicity. *Proteins* 78: 1909–1925.
25. Chien P, Weissman JS, DePace AH (2004) Emerging principles of conformation-based prion inheritance. *Annu Rev Biochem* 73: 617–656.
26. Deleault NR, Harris BT, Rees JR, Supattapone S (2007) Formation of native prions from minimal components in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 104: 9741–9746.
27. Billingham J (2000) On modelling the formation of micelles in the presence of a slow influx of monomer. *The Quarterly Journal of Mechanics & Applied Mathematics* 53: 285–297.

Étude de modèles mathématiques issus de la biologie du cycle cellulaire et de la dynamique des protéines

Résumé : Découvrir, transmettre, diffuser. Voici le programme de ce manuscrit retraçant ma carrière d'enseignant-chercheur depuis la soutenance de ma thèse de doctorat en 2001. En un peu plus de 15 années, j'ai travaillé sur plusieurs modèles mathématiques appliquées à la biologie, correspondant à différentes périodes de mon parcours. Dans le chapitre 1, je résume mes travaux d'analyse de modèles du cycle cellulaires appliqués à la production de cellules sanguines et quelques dérèglements engendrant diverses pathologies comme la leucémie ou l'anémie. Ces modèles sont principalement constitués d'équations différentielles non-linéaires à retards provenant de l'intégration d'équations aux dérivées partielles hyperboliques structurées en âge. Les chapitres 2, 3 et 4 reprennent mes travaux sur les dynamiques des protéines, appliqués aux maladies liées au prion et Alzheimer. Ils ont commencé alors que j'étais professeur assistant aux États-Unis et qui se poursuivent encore maintenant. Les modèles sont constitués de systèmes d'équations aux dérivées partielles structurés en taille de type polymérisation-fragmentation couplé à des équations différentielles non-linéaires. Le dernier chapitre fait le point sur mes activités d'enseignement, d'encadrement et de diffusion. Je termine enfin par un bref aperçu de mes projets de recherches en cours.

Mots clés : Biomathématiques ; Modèles non-linéaires ; Équations à retards ; Équations de transport ; Cycle cellulaire ; Dynamique des protéines ; Prion ; Alzheimer.

Study of mathematical models arising from the biology of the cell cycle and the protein dynamics

Abstract : Discover, pass-on and disseminate. Here is the program of this manuscript summarizing my associate professor activities since my PhD defence in 2001. Within a little more than 15 years, I have been working on several mathematical models applied to biology reflecting different periods of my curriculum. In chapter 1, I summarize my analytical studies of the cell cycle models applied to blood cell production and disorders leading to related pathologies like leukaemia or anaemia. These models consist essentially of non-linear delayed differential equations arising from the integration of hyperbolic age structured partial differential equations. Chapters 2, 3 and 4 deal with my research work on protein dynamics applied to prion and Alzheimer disease. They have started while I was assistant professor in the USA and keep on being my current centre of interest. Models consist of systems of size structured polymerization-fragmentation partial differential equations coupled with non-linear differential equations. The last chapter is dedicated to my teaching, supervising and disseminating activities. I end it up with a short word on my work in progress.

Keywords : Biomathematics ; Non-linear modelling ; Equations with delays ; Transport equations ; Cell Cycle ; Protein dynamics ; Prion ; Alzheimer.

Image en couverture : Croissance de la population de polymères du prion pathologique. Crédit image : Greer *et al.* (2006).

