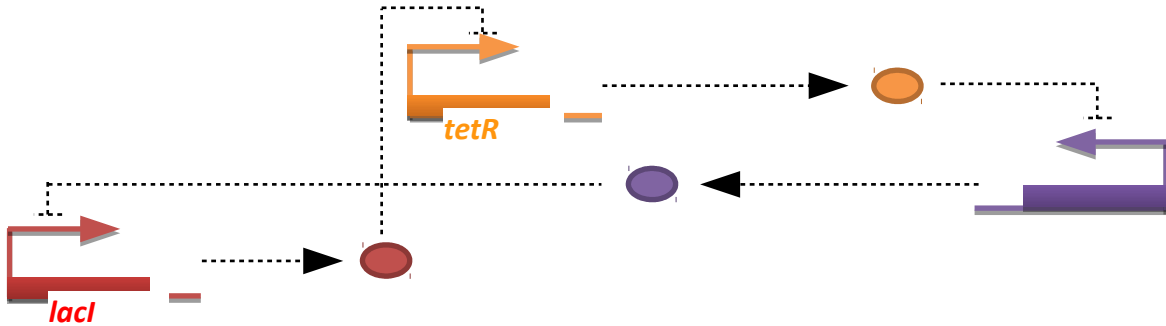


Nous allons réaliser un réseau de Petri modélisant la régulation de trois gènes. Le modèle est réalisé à partir des données de la publication “**A synthetic oscillatory network of transcriptional regulators**” (Elowitz *et al.*, Nature 2000).

Nous modéliserons ici un réseau de régulation composé de trois gènes. La première protéine, **Lacl** (protéine régulatrice de l'opéron lactose), inhibe l'expression du second gène répresseur **tetR** (gène de résistance à un antibiotique, la tétracycline) dont le produit protéique, à son tour, inhibe l'expression d'un troisième gène, **lambda-ci** provenant du phage lambda. Cet ensemble de 3 gènes a été artificiellement introduit chez la bactérie *Escherichia coli* afin d'étudier le comportement d'un tel système, nommé le “repressilator”.



Nous souhaitons étudier l'évolution, *in silico*, de ce système de gènes.

### 1. Modélisation stochastique à l'aide d'un réseau de Petri

Nous représenterons :

- les gènes impliqués dans le réseau
- Les ARNm de ces gènes
- les produits protéiques de ces gènes

Au niveau des réactions :

- la synthèse des ARNm en tenant compte de la description suivante.

D'après l'article de Elowitz *et al.*, pour représenter la coopérativité dans la répression introduite dans le modèle continu, il va falloir faire l'hypothèse de l'existence de deux sites opérateur dans la région du promoteur capable chacun de lier le répresseur conduisant à trois états de la région promotrice en fonction du nombre de molécules de répresseur liées : 0 molécules (état P0), une molécule (état P1), deux molécules (état P2). De plus, une seconde molécule du répresseur ne peut se lier que si une première molécule est déjà liée à l'opérateur. Les réactions de liaison sont réversibles. On considérera également que lorsque la région promotrice est occupée, il y a quand même un très faible taux de transcription (fuite du promoteur)

- la synthèse des protéines
- la dégradation des ARNm et des protéines.

Marquage initial : 20 molécules de l'ARNm tetR

1. Donner la liste des composés moléculaires du processus qui seront pris en compte dans la modélisation et qui constitueront les places du réseau (on modélisera la transcription et la traduction)
2. Donner la liste des réactions qui constitueront les transitions
3. Construire le réseau de Petri stochastique en utilisant Snoopy. Pour les constantes stochastiques voir ci-après.
4. Définir le marquage initial du réseau
5. Effectuer les simulations pour étudier la dynamique du réseau en utilisant les deux configurations suivantes du simulateur :

Première configuration :

- Interval end : 10000
- Interval Splitting : 100
- 500 simulations seront réalisées avec l'algorithme de Gillespie

Deuxième configuration :

- Interval end : 100000
- Interval Splitting : 100
- 500 simulations seront réalisées avec l'algorithme de Gillespie

7. Analyser et commenter la cinétique des composés au cours du temps

**Paramètres stochastiques identiques pour les trois composés:**

taux de transcription quand la région promotrice est occupée : 0.0005 transcrit/seconde

taux de transcription quand la région promotrice est libre : 0,5 transcrit/ seconde

constante de dégradation des ARNm :  $0.0057833 \text{ s}^{-1}$

constante de dégradation des protéines :  $0.001155 \text{ s}^{-1}$

vitesse de traduction : 0,167 protein/mRNA \* seconde

constante d'association d'une molécule de répresseur à l'opérateur : 1

constante dissociation du répresseur pour l'état P1 : 224

constante dissociation du répresseur pour l'état P2 : 9

**1. Modélisation continue à l'aide d'un réseau de Petri**

Un modèle continu sera ensuite élaboré. Dans ce cas nous simplifierons la modélisation et nous considérerons deux taux différents de transcription :

- une synthèse basale non régulée
- une synthèse maximale quand la réaction n'est pas inhibée

**Paramètres continue:**

Taux de synthèse basale pour tous les gènes : 0.03 transcrit/min

Taux de synthèse maximale pour tous les gènes : 30 transcrit/ min

constante de dégradation des ARNm :  $0.347 \text{ min}^{-1}$

constante de dégradation des protéines :  $0.0693 \text{ min}^{-1}$

vitesse de traduction : 6,93 protein/mRNA \* min

coefficient de répression (Km) : 40

Coefficient de Hill : 2