

## Modélisation de l'opéron lactose

L'opéron lactose est un système nécessaire au transport et au métabolisme du lactose chez *Escherichia coli*, ainsi que chez d'autres bactéries de la flore intestinale. L'opéron lactose est composé de trois gènes structuraux : *lacZ*, *lacY* et *lacA*. Il est régulé par plusieurs facteurs, notamment la disponibilité en glucose et en lactose. La régulation des gènes de l'opéron lactose est le premier mécanisme de régulation génétique complexe à avoir été élucidé et est l'un des exemples les plus connus de la régulation des gènes procaryotes.



Dans son environnement naturel, l'opéron lactose permet la digestion efficace du lactose. La cellule peut utiliser le lactose comme source d'énergie en produisant l'enzyme  $\beta$ -galactosidase (LacZ) et ainsi transformer le lactose en glucose et en galactose. Toutefois, la production de l'enzyme est inutile quand le lactose n'est pas disponible, ou s'il y a une source d'énergie plus facilement exploitable de disponible comme le glucose. L'opéron lactose utilise un mécanisme de contrôle permettant à la cellule de produire la  $\beta$ -galactosidase lorsque nécessaire. L'opéron lactose est dit « inductible », car son expression est réprimée en temps normal mais activée sous l'action d'un inducteur, ici le lactose.

L'opéron est constitué de trois gènes de structure :

- *lacZ* codant la  $\beta$ -galactosidase qui hydrolyse le lactose en glucose et galactose ;
- *lacY* codant la  $\beta$ -galactoside perméase, protéine membranaire qui permet la pénétration des  $\beta$ -galactosides contre un gradient de concentration ;
- *lacA* codant la  $\beta$ -thiogalactoside acétyltransférase permettant à la cellule d'utiliser les thiogalactosides. Mais seuls *lacZ* et *lacY* semblent nécessaires au catabolisme du lactose.

Le promoteur de l'opéron lactose permet la fixation de l'ARN polymérase mais aussi la fixation d'un répresseur empêchant la transcription de l'opéron par l'ARN polymérase. En effet, en amont de cet opéron l'on trouve un gène régulateur, *lacI*, transcrit de façon constitutive et qui code pour un répresseur qui peut lier le promoteur, et plus particulièrement l'opérateur, de façon réversible. Ce répresseur peut aussi former un complexe réversible avec l'allolactose (produit secondaire de dégradation du lactose par la  $\beta$ -galactosidase) changeant sa conformation et empêchant sa fixation sur le promoteur.

*Simplification pour la modélisation :*

- nous considérerons uniquement la protéine LacZ comme protéine reportrice de l'expression de l'opéron (donc son gène *lacZ* ainsi que son ARNm)
- nous considérerons que le répresseur LacI se lie directement au lactose pour former un complexe réversible
- le lactose sera converti en glucose en présence de LacZ (la  $\beta$ -galactosidase) sans que LacZ ne soit consommée
- la RNA polymérase est considérée comme n'étant pas régulée par le système. Son nombre de molécules est supposé constant dans le modèle et fixé à 100.
- La transcription du gène *lacZ* nécessite que la RNA polymérase soit fixée sur l'opérateur

- La transcription du gène *lacZ* a pour effet de dissocier la RNA polymérase de l'opérateur
- Les ARN messagers et les protéines des gènes régulés par le système sont soumis à la dégradation

*Conditions initiales* : 20 molécules de lactose et 50 molécules de *Lacl* sont présentes dans le système, ainsi que les 100 molécules de la RNA polymérase

Pour la modélisation, on considèrera que le lactose est fourni au système sous forme de pulse de 10000 molécules, le premier après un temps de simulation de 5000 et avec une répétition tous les 30000, jusqu'à la fin de la simulation.

### Construction d'un réseau de Petri stochastique.

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. Déterminer les P-invariants ainsi que les T-invariants et expliquer leur signification biologique. Le réseau est-il couvert par les P-invariants et les T-invariants ? Expliquer pourquoi.
6. effectuer les simulations pour étudier la dynamique du réseaux
7. Configuration du simulateur :
  - Interval end : 70000
  - Interval Splitting : 70000
  - Simulateur : algorithme de Gillespie
  - 100 simulations seront réalisées.
8. Analyser et commenter la cinétique des composés au cours du temps

### Valeurs des constantes de réaction :

- taux de transcription du gène *lacl* : 0.02 transcrit/min
- constante de dégradation de l'ARNm de *lacl* :  $0.01 \text{ min}^{-1}$
- vitesse de traduction de l'ARNm *lacl* :  $0.1 \text{ protein/mRNA} \cdot \text{min}$
- constante de dégradation de la protéine *Lacl* :  $0.002 \text{ min}^{-1}$
- constante d'association *Lacl*-Opérateur : 1
- constante de dissociation *Lacl*-Opérateur : 0.01
- constante d'association RNApolymérase-Opérateur : 0.1
- constante de dissociation RNApolymérase -Opérateur : 0.01
- constante d'association *Lacl*-lactose : 0.005
- constante de dissociation *Lacl*-lactose : 0.1
- taux de transcription du gène *lacZ* : 0.03 transcrit/min
- constante de dégradation de l'ARNm de *lacZ* :  $0.01 \text{ min}^{-1}$

- vitesse de traduction de l'ARNm lacZ :  $0.1 \text{ protein/mRNA} \cdot \text{min}$
- constante de dégradation de la protéine LacZ :  $0.001 \text{ min}^{-1}$
- vitesse de conversion du lactose en glucose :  $0.00001 \text{ molécule/min}$

Pour la rédaction du rapport :

- Décrire le contexte scientifique donc rappeler la problématique
- Décrire la méthodologie utilisée
- Expliciter votre réflexion et la modélisation finale que vous avez réalisée. Fournir en figure une image de votre réseau de Pétri
- Expliquer comme demandé dans le texte la signification biologique des P- et T-invariants ainsi que le résultat de la couverture du réseau par ces invariants.
- Choisir parmi les cinétiques dynamiques, celles qui vous paraissent intéressantes pour démontrer que votre modélisation est correcte et les intégrer en temps qu'images. Fournir une interprétation biologique des cinétiques montrées.
- Conclusion

Rappel : Chaque figure doit être légendée et la légende doit permettre de comprendre la figure sans se référer au texte. Intégrer des figures lisibles.