

## Le réseau de régulation du phosphate chez les entérobactéries

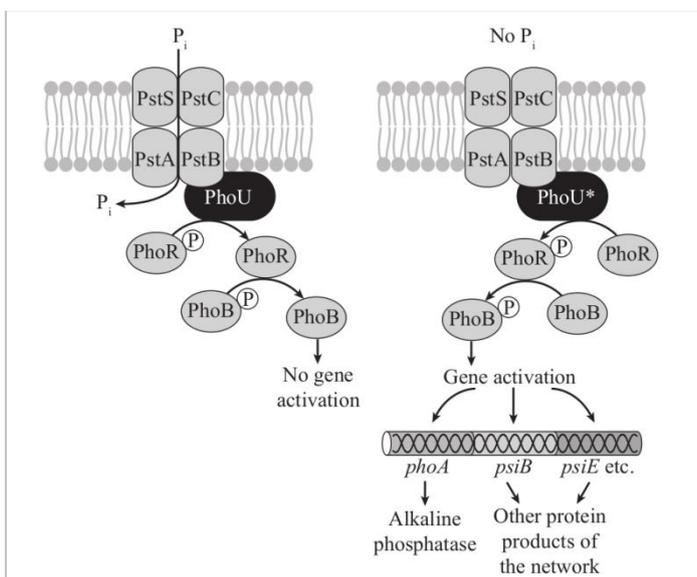
Pour diverses raisons, le phosphate inorganique peut devenir un facteur limitant de la croissance d'une population de cellules bactériennes. Dans ces conditions, les cellules synthétisent une phosphatase alcaline (PhoA), une enzyme qui est sécrétée dans le périplasma (espace compris entre la membrane cytoplasmique et membrane externe d'une bactérie Gram-négative), et qui peut dégrader des esters phosphates organiques en molécules de phosphates inorganiques qui pourront alors être importées par la cellule. La régulation de la synthèse de la protéine PhoA fait intervenir sept protéines : le transporteur ABC Pst composé de quatre protéines PstA, PstB, PstC et PstS ; la protéine PhoU et le système à deux composants composé de l'histidine kinase PhoR et du régulateur de réponse PhoB.

Le complexe Pst possède la double fonction de transporteur et de senseur du phosphate inorganique. Lorsque du phosphate inorganique est présent dans le périplasma, le complexe Pst est sous forme phosphorylée active et permet le transport de phosphate inorganique au travers de la membrane cytoplasmique.

Le complexe Pst contrôle également l'activité de la protéine PhoU qui peut exister sous deux formes active et inactive.

Tant que le périplasma contient du phosphate inorganique, le complexe Pst reste sous sa forme active phosphorylée permettant le transport du phosphate inorganique et maintenant PhoU sous sa forme inactive. Lorsque le phosphate inorganique devient limitant, le système Pst n'est plus phosphorylé et devient inactif. Cette forme inactive va permettre à la protéine PhoU de devenir active. PhoU active va phosphoryler l'histidine kinase PhoR qui, à son tour, va transférer son phosphate au régulateur de réponse PhoB. PhoB-P peut alors se lier à l'ADN pour promouvoir la transcription de plusieurs gènes, y compris le gène *phoA*. Si PhoU sous sa forme active phosphoryle PhoR, PhoU sous sa forme inactive est une phosphatase qui va déphosphoryler PhoB~P.

La protéine PhoA une fois synthétisée sera transportée dans le périplasma où elle pourra dégrader le phosphate organique en phosphate inorganique.



extrait de Neidhardt *et al.* (1990) *Physiologie of the bacterial cell*

### Hypothèse pour la modélisation :

- L'action de PhoB-P se fera directement sur l'étape de transcription de *phoA*. On représentera donc les deux étapes transcription et traduction conduisant à la synthèse de PhoA
- la phosphorylation du système Pst par le phosphate inorganique ne consomme pas ce dernier
- PhoU active n'est pas consommée lors de la phosphorylation de PhoR
- PhoB-P n'est pas consommée lors de l'activation de la transcription de *phoA*

- l'ARN messager de *phoA* n'est pas consommé lors de la traduction
- la forme phosphorylé du système Pst n'est pas consommée lors du transport du phosphate inorganique
- la protéine PhoA périplasmique n'est pas consommée lors de la transformation du phosphate organique en phosphate inorganique
- l'ARN messager de *phoA* et la protéine PhoA cytoplasmique peuvent être dégradés
- le phosphate inorganique dans le cytoplasme sera utilisé dans différentes voies de biosynthèse
- la protéine PhoA cytoplasmique une fois synthétisée est directement transportée dans le périplasma sans modélisation du transporteur

1. Donner la liste des composés moléculaires du processus qui seront pris en compte dans la modélisation et qui constitueront les places du réseau

2. Donner la liste des réactions qui constitueront les transitions

### 3. Construction d'un réseau de Petri étendu simple

Pour cela on considèrera que les conditions initiales sont les suivantes :

Le complexe Pst est sous sa forme active, PhoU, PhoR et PhoB sous leur forme inactive. Il y a 3 molécules de phosphate inorganique périplasmique et 5 molécules de phosphate organique.

- Construire le réseau de Pétri correspondant en utilisant le logiciel Snoopy avec son marquage initiale
- Animer votre réseau pour suivre le « token game »
- exporter le réseau en réseau stochastique

### 4. Construction d'un réseau stochastique

On va considérer que le phosphate organique et inorganique est fourni au système à partir de l'environnement permettant d'avoir une concentration constante de chaque composé, *i.e.*, quand une molécule est consommée, une nouvelle molécule est produite. On considèrera que le nombre de molécule constant de phosphate organique périplasmique ainsi que celui de phosphate inorganique périplasmique est de 10.

On va aussi modéliser le fait que le phosphate inorganique environnemental peut être présent ou absent. On va considérer qu'il est présent sur une période de temps de 100 et absent sur une période de 1000.

- Modifier le réseau de Pétri que vous avez exporté pour intégrer ces nouvelles connaissances.
- Créer vos constantes sachant que toutes les réactions ont la même vitesse de 0.1 sauf la transformation du phosphate organique en inorganique dont la vitesse est de 0.2 et la dégradation de l'ARN messager de *phoA* qui a une vitesse de 0.075. Les périodes de temps de présence et d'absence du phosphate inorganique peuvent aussi être représentées par des constantes qui prendront ici les valeurs de 100 et 1000 (plus facile à modifier si on veut tester différentes valeurs)
- Simuler votre réseau :
  - Définir vos fonctions
  - Configurer le simulateur en utilisant les paramètres suivants :
    - Interval start : 0
    - Interval end : 2500
    - Interval splitting : 500 (densité de points rapportée sur le graphique)
    - Nombre de simulations 50000
- Analyser et commenter les résultats.
- Donner la liste des invariants (P- et T- invariants) (utilisation de Charlie)