

FRANÇOIS MOLINO

INTRODUCTION À LA BIO- LOGIE DES SYSTÈMES

TOTO PRESS

Copyright © 2015 François Molino

PUBLISHED BY TOTO PRESS

TUFTE-LATEX.GOOGLECODE.COM

Licensed under the Apache License, Version 2.0 (the “License”); you may not use this file except in compliance with the License. You may obtain a copy of the License at <http://www.apache.org/licenses/LICENSE-2.0>. Unless required by applicable law or agreed to in writing, software distributed under the License is distributed on an “AS IS” BASIS, WITHOUT WARRANTIES OR CONDITIONS OF ANY KIND, either express or implied. See the License for the specific language governing permissions and limitations under the License.

First printing, December 2015

Table des matières

TP numéro 1 - Modélisation des réactions chimiques 11

TP numéro 3 - Échelles de temps 15

TP numéro 4 - Cas des réactions enzymatiques 19

TP numéro 5 - Motifs et régulations 21

Bibliographie 25

Table des figures

1	Réseau de régulation de l'expression des gènes chez Escherichia coli.	21
2	L'auto-inhibition	22
3	Évolution de la concentration d'une protéine <i>tetR</i> avec et sans mécanisme d'auto-régulation négative.	23
4	L'auto-amplification	23

Liste des tableaux

TP numéro 1 - Modélisation des réactions chimiques

Introduction

DANS CE CHAPITRE nous allons rappeler les principes de modélisation mathématique de la cinétique des réactions biochimiques. Nous simulerons les équations correspondant à quelques réactions simples en utilisant deux logiciels : XPPAUT et COPASI.

L'objectif du TP est donc pour commencer de se (re-)familiariser rapidement avec le type d'équations qui se présentent en biologie des systèmes, et surtout ensuite de maîtriser deux outils qui permettent de les simuler concrètement.

Le matériau couvert correspond à une partie importante des chapitres 3 et 4 de ¹.

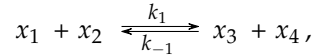
Note : concernant l'apprentissage des *interfaces d'utilisation* de nos logiciels, je vous laisse pour ce premier TP vous débrouiller seul (changer les échelles des axes, choisir les variables qui sont représentées en abscisse et en ordonnée, superposer plusieurs graphes...). Le meilleur apprentissage se fait, au tout début au moins, en se frappant méthodiquement et sans relâche la tête contre l'écran dans la plus complète solitude jusqu'à ce que ça fonctionne ! Ne vous laissez pas décourager par le comportement particulièrement agaçant de l'interface antédiluvienne de XPPAUT, et son habitude curieuse de faire disparaître vos graphes lorsque vous changez de fenêtre par exemple...

Le compte rendu de TP est d'une structure simple : il est constitué d'une série d'images issues de vos simulations accompagnées de quelques commentaires sur les valeurs des paramètres, et de la copie du code pour XPPAUT. Pour ce dernier logiciel, la copie d'une zone d'écran sous forme d'une image est souvent la solution la plus efficace au début.

1. Palsson, B. (2011). *Systems biology - simulation of dynamic network states*. Cambridge

La loi d'action de masse

Sans refaire un cours élémentaire de cinétique chimique, on rappelle que pour une réaction chimique impliquant quatre espèces X_1 , X_2 , X_3 , X_4 , par exemple de la forme



on aboutit à un ensemble de 4 variables dynamiques $x_1(t)$, $x_2(t)$, $x_3(t)$, $x_4(t)$, représentant les quatre concentrations au cours du temps, et qui obéissent aux équations suivantes, obtenues en utilisant la *loi d'action de masse* :

$$\frac{d}{dt}x_1(t) = -k_1x_1(t)x_2(t) + k_{-1}x_3(t)x_4(t), \quad (1)$$

$$\frac{d}{dt}x_2(t) = -k_1x_1(t)x_2(t) + k_{-1}x_3(t)x_4(t), \quad (2)$$

$$\frac{d}{dt}x_3(t) = k_1x_1(t)x_2(t) - k_{-1}x_3(t)x_4(t), \quad (3)$$

$$\frac{d}{dt}x_4(t) = k_1x_1(t)x_2(t) - k_{-1}x_3(t)x_4(t). \quad (4)$$

Nous avons deux logiciels de simulation de ces équations, COPASI et XPPAUT. Nous avons vu dans la dernière séance un exemple de code XPPAUT. Le code pour un tel groupe de 4 équations est le suivant

```
x1(0)=0
x2(0)=0
x3(0)=0
x4(0)=0
param k1=1, km1=1
x1'=-k1*x1*x2+km1*x3*x4
x2'=-k1*x1*x2+km1*x3*x4
x3'=k1*x1*x2-km1*x3*x4
x4'=k1*x1*x2-km1*x3*x4
done
```

On peut faire tourner ce code comme dans le TP précédent et observer l'évolution des quatre concentrations au cours du temps.

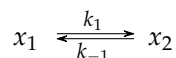
Concernant COPASI, on visionnera les vidéos d'introduction disponibles en ligne (http://copasi.org/Support/Video_Tutorials/). Les tutoriels 2 et 3 sont les plus utiles. Attention ils présentent un exemple *plus compliqué* de réaction. Il faut donc l'adapter au cas très simple que nous avons. On fera ainsi tourner le même système d'équations avec COPASI.

Les parties suivantes de ce TP ont toutes la même structure. On prendra une série de réactions issues du chapitre 4 de², et à l'aide des deux logiciels, on vous demandera de *reproduire les illustrations* concernant ces modèles issues de ce chapitre. Noter que les légendes

2. Palsson, B. (2011). *Systems biology - simulation of dynamic network states*. Cambridge

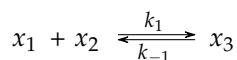
de ces figures vous fournissent des valeurs pour les constantes cinétiques et les valeurs initiales des concentrations (voir aussi les graphes).

La réaction linéaire réversible



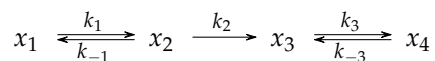
Exercice Écrire les équation correspondantes. Simuler avec XPPAUT et COPASI.

La réaction bilinéaire réversible



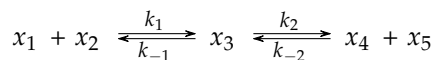
Exercice Écrire les équation correspondantes. Simuler avec XPPAUT et COPASI.

Réactions linéaires réversibles connectées



Exercice Écrire les équation correspondantes. Simuler avec XPPAUT et COPASI.

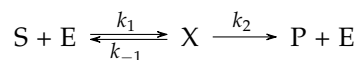
Réactions bilinéaires réversibles connectées



Exercice Écrire les équation correspondantes. Simuler avec XPPAUT et COPASI.

Cinétique de Michaelis-menten

Cet exemple est lui issu du chapitre 5.



Exercice Écrire les équation correspondantes. Simuler avec XPPAUT et COPASI. On prendra successivement pour les constantes cinétiques et

les concentrations initiales les valeurs suivantes :

$$E(0) = 1$$

$$S(0) = 1$$

$$X(0) = 0$$

$$P(0) = 0$$

$$k_1 = 0.01$$

$$k_{-1} = 0.01$$

$$k_2 = 1$$

puis

$$E(0) = 1$$

$$S(0) = 1$$

$$X(0) = 0$$

$$P(0) = 0$$

$$k_1 = 1$$

$$k_{-1} = 1$$

$$k_2 = 0.1$$

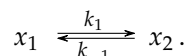
Ces deux jeux de valeurs visent à préparer l'analyse des *échelles de temps* et des *approximations* qui leur sont associées que nous étudierons dans le TP suivant.

TP numéro 3 - Échelles de temps

Cette séance va être consacrée à l'étude de l'analyse des réactions chimiques en termes de *quantités conservées*, de *variables dynamiques* et d'*échelles de temps*. Cette approche permet de séparer les aspects *topologiques* (réseau), *thermodynamiques* (équilibre) et *cinétiques* de notre ensemble de réactions. Nous commencerons par un exemple simple.

Réaction linéaire réversible

Repartons de la réaction



On définit la *matrice stoechiométrique* comme suit. Elle possède autant de *lignes* qu'il y a de composés chimiques dans la ou les réactions, et autant de *colonnes* qu'il y a de réactions (une réaction réversible correspondant à deux réactions, une dans chaque sens). Le coefficient de la matrice est alors pour chaque composé et chaque réaction le *coefficient stoechiométrique* correspondant, affecté du signe + en cas de création du composé et - en cas de consommation dans la réaction considérée.

Par exemple, pour notre réaction simple, la matrice est

$$S = \begin{pmatrix} -1 & 1 \\ 1 & -1 \end{pmatrix}$$

Cette matrice contient l'information sur la *topologie* du réseau de réactions, indiquant quels composés sont liés à quels autres par une ou plusieurs réactions. Elle ne contient *aucune information cinétique*.

Le nombre de colonnes de la matrice linéairement indépendantes donne alors le *rang* de la matrice. Si n est ce rang, et C le nombre de composés chimiques intervenant, alors il y a $C - n$ *quantités conservées*, c'est-à-dire de combinaisons des concentrations qui sont *invariantes au cours du temps*. Dans notre cas, les deux réactions sont *inverses l'une de l'autre*, donc les équations correspondantes ne vont

pas être indépendantes. On voit que le rang est 1, il doit donc y avoir une quantité conservée. En vous aidant des équations, pouvez-vous trouver laquelle ?

Il est alors utile de redéfinir les variables dynamiques que nous allons utiliser. Si on prend les quantités conservées comme variables, elles vont rester constantes. Il y aura deux nouvelles variables p_1 et p_2 , la seconde étant la quantité conservée, et donc n'évoluant pas.

Cette réaction réversible doit conduire à un *état d'équilibre*. Quelles sont les valeurs de x_1 et x_2 à l'équilibre ? Il est également naturel de choisir des variables qui expriment l'*écart à l'équilibre*. Ici

$$p_1 = x_1 - x_2/K_1,$$

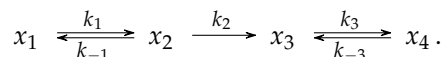
avec $K_1 = \frac{k_1}{k_{-1}}$. Écrivez l'équation à laquelle obéit p_1 . Comment apparaît une *constante cinétique* ayant la dimension d'un temps ?

Les deux variables p_1 et p_2 sont dites *poolées*. Elles font apparaître séparément les composantes statiques et dynamiques de la réaction. La variable p_1 contient une composante *thermodynamique* qui exprime l'écart à l'équilibre, et son évolution donne la *cinétique* du système.

En revenant aux simulations que vous avez écrites avec XPPAUT pour cette réaction, faites varier les constantes k_1 et k_{-1} . Tracez les variables p_1 et p_2 au cours du temps. Pouvez-vous prédire leurs évolutions temporelles pour des valeurs données de k_1 et k_{-1} ?

Deux réactions linéaires réversibles connectées

Considérons maintenant la réaction



Écrivez à nouveau les équations correspondantes (système 1).

Pouvez-vous écrire la matrice stoechiométrique ?

Combien y a-t-il de quantités conservées ? Pouvez-vous les écrire ?

Quelles variables peuvent-elles décrire l'écart à l'équilibre pour chacune des deux réactions réversibles ?

Manque-t-il encore une variable ? Si oui, que proposez-vous ?

Écrivez le système d'équations de ces nouvelles variables (système 2).

Simuler alors sous XPPAUT les deux systèmes 1 et 2. Jouez avec les cinq constantes cinétiques k_i et les conditions initiales et essayez de vous familiariser avec le comportement du système. Tracez par exemple les deux variables qui seraient les quantités conservées pour les deux réactions réversibles si elles étaient séparées. Si vous prenez toutes les constantes égales, puis que vous faites diminuer fortement k_2 , qu'observez-vous ? Commenter en termes de séparation entre les échelles de temps. Considérez maintenant le cas $k_1 = k_{-1} = 1$ et $k_2 = 0.2$. Faites varier k_3 (on prendra $k_{-3} = k_3$) entre 0 et 100 (10

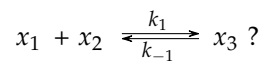
valeurs), toujours pour les mêmes conditions initiales. Qu'observez-vous ? On parle de *découplage stoechiométrique*.

Utilisant Maxima, vous pouvez enfin calculer les trois valeurs propres du système 2 (dont vous excluez la variable conservée dont l'évolution est triviale. En utilisant la fonction `eigenvectors` de Maxima, vous pouvez obtenir les nouvelles variables (système 3), combinaisons des trois précédentes, dont l'évolution est simplement exponentielle, avec une constante de temps donnée par l'inverse la valeur propre. Tracez-les également.

Note : dans le but d'élargir votre gamme d'outils de simulation, il est intéressant d'apprendre à effectuer ces simulations et les graphes également avec Maxima lui-même. Il faut consulter un tutoriel de la fonction `desolve`.

Réaction bilinéaire réversible

Quelle est la matrice stoechiométrique pour la réaction



Proposez des quantités conservées.

Contrairement à la précédente, cette équation possède un état d'équilibre thermodynamique, toutes les réactions étant réversibles. Pouvez-vous calculer cet état, en fonction des conditions initiales ? Utilisez la fonction `solve` de Maxima.

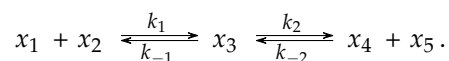
En utilisant les techniques vues dans le TP précédent, linéarisez l'équation au voisinage du point fixe. Quelles sont les équations linéarisées ? Le point fixe est-il stable ou instable ? Simulez ce système linéarisé, comparez aux solutions numériques du système originel, et confirmez vos analyses, en terme de quantités conservées et de point fixe. On peut s'aider de la figure 4.2 de ³.

Dans ce nouveau système linéarisé, proposez trois variables poolées p_1, p_2, p_3 qui mettent évidence les deux quantités conservées et la variable dynamique. Écrire les équations pour ces variables. Vérifiez que l'évolution de p_1 est une exponentielle décroissante dont le temps caractéristique peut être calculé, par exemple avec Maxima, à l'aide des constantes cinétiques de la réaction.

3. Palsson, B. (2011). *Systems biology - simulation of dynamic network states*. Cambridge

Réaction bilinéaire réversible

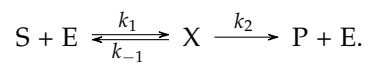
Compte tenu des exemples précédents, proposez une analyse du système de réactions



TP numéro 4 - Cas des réactions enzymatiques

Cinétique de Michaelis-Menten

On considère la relation de catalyse enzymatique suivante



Écrire la matrice stoechiométrique et les quantités conservées.

En utilisant les quantités conservées, réduire le système à deux équations différentielles. Le simuler.

Approximation de l'état quasi-stationnaire

dans cette approximation, on considère que la variable x est quasiment constante sur les échelles de temps où s varie. On annule donc $\frac{dx}{dt}$. À quelle équation aboutit-on pour s ?

Approximation de quasi-équilibre

Dans cette approximation, on suppose que la réaction réversible de liaison du substrat à l'enzyme atteint rapidement son équilibre. À quelle équation aboutit-on pour s ?

Simulez le système d'origine, ainsi que les évolutions obtenues pour les deux approximations. Pour quelles valeurs des constantes cinétiques ces deux approximations sont-elles valables ? Commenter.

Cinétique de Hill

TP numéro 5 - Motifs et régulations

Introduction aux motifs

Les réseaux de régulation d'expression des gènes, les réseaux métaboliques, ou autres exemples dans la cellule, se schématisent en général par de grands *graphes* dont les liens schématisent des interactions ou des transformations, le plus souvent de nature enzymatique.

Une des façons de simplifier ces graphes est de rechercher en eux des *motifs*, c'est à dire des sous graphes de petite taille, qui apparaissent de façon récurrente. Pour déterminer leur significativité dans le graphe tiré des données, on génère un graphe *aléatoire* comportant le même nombre de nœuds et de liens. On compare alors la probabilité de présence de ce motif dans le réseau aléatoire et dans le réseau réel.

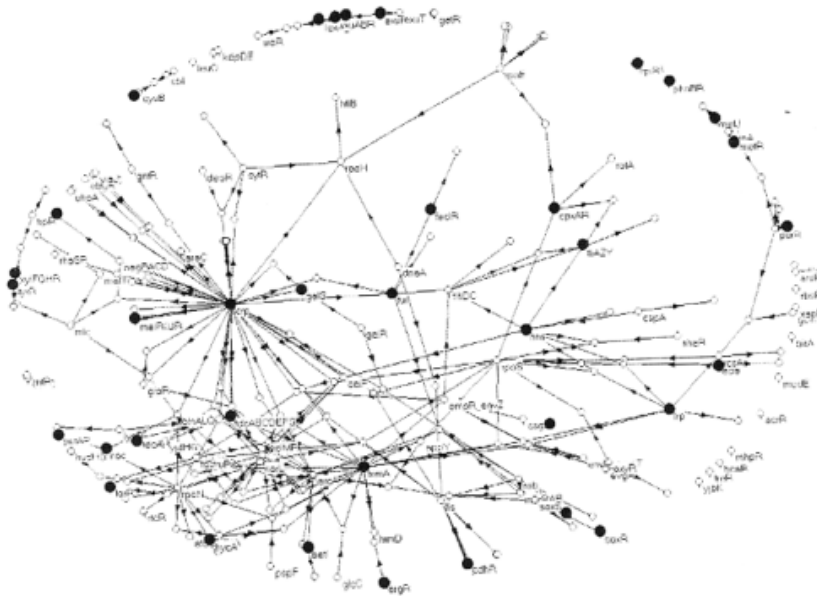


FIGURE 1: Réseau de régulation de l'expression des gènes chez Escherichia coli.

Pour un premier exemple, considérons le motif le plus simple de l'*autorégulation* : il s'agit d'un lien reliant un composé à lui même

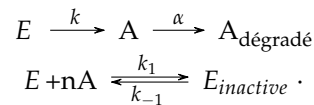
(boucle). Sur des base statistiques, la probabilité de ce type de lien est de $\frac{E}{N}$, où N est le nombre de nœuds et E le nombre de liens. En effet la probabilité pour un lien de retourner vers son nœud d'origine est de $\frac{1}{N}$, et il y a E liens. Pour un réseau de régulation typique de l'expression des gènes chez un organisme relativement simple comme *Escherichia coli* on trouve $N=420$ nœuds et $E=520$ liens⁴. Le nombre attendu de liens d'autorégulation est donc de 1 ou 2 (moyenne de 1.2). Dans la réalité il y en a 40, dont 34 sont des auto-inhibitions (X inhibe sa propre production) et 6 d'auto-amplification (X promeut sa propre production).

Il est raisonnable donc de considérer l'autorégulation comme un *motif*, sélectionné par l'évolution, et dont on peut examiner les propriétés dynamiques.

L'autorégulation

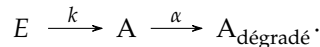
Auto-inhibition

La réaction complète d'auto-inhibition est régulée en général enzymatiquement. Pour un facteur de transcription A , les réactions sont :



Ici, L'enzyme E produit constitutivement A à un taux k (en interaction avec d'autres facteurs non modélisés, qu'on supposera constants); par ailleurs A se dégrade à un taux α . Mais A peut se fixer coopérativement sur l'enzyme E elle même pour la rendre inactive. Dans les réseaux de transcription de gènes, l'enzyme n'est autre que l'ADN elle même, et A un facteur qui peut se fixer sur son propre site promoteur et le rendre inactif.

L'objectif est de comparer ce système à un *gène non régulé*. Pour ce dernier les réactions sont alors simplement :



1. Étudier les deux réactions du système régulé comme cas particulier de forme de Hill. On supposera la quantité totale d'enzyme fixée. On fera l'étude par simulation en considérant une quantité initiale de A nulle.
2. Écrire l'équation correspondante pour le système non régulé et la simuler pour la même condition initiale.
3. Que devient le système régulé dans le cas de l'approximation QEA ? Écrire l'équation correspondante et la simuler, toujours pour une condition initiale $A = 0$.

4. Shen-Orr, S. S., Milo, R., Mangan, S., and Alon, U. (2002). Network motifs in the transcriptional regulation network of *Escherichia coli*. *Nature genetics*, 31(1):64-8

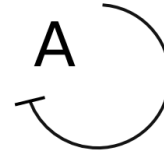


FIGURE 2: L'auto-inhibition

4. En revenant aux techniques étudiées en début d'année, examinez les points fixes de cette équation et leur stabilité.
5. Quel paramètre détermine le comportement du système non régulé? Montrer que pour le système régulé les deux paramètres qui interviennent sont le rapport $K = \frac{k_{-1}}{k_1}$ et $\frac{k[E_0]}{\alpha}$. Quelle est la signification de ces deux paramètres (comparer au système régulé).
6. On examinera d'abord le cas où n est grand. Pour le système régulé A va-t-il vers un état stationnaire? Essayez de le déterminer graphiquement. Quels cas sont à considérer? Comment cet état dépend-il dans chaque cas des paramètres? Pour cette étude, il est utile de tracer en fonction de A les deux termes dont la soustraction donne $\frac{dA}{dt}$. Dans cette représentation, c'est l'intersection des deux courbes qui donne le point fixe et donc l'état stationnaire.
7. On prendra ensuite le cas $n = 1$. Calculer l'état stationnaire à l'aide de Maxima. Pouvez vous retrouver l'équivalent des deux cas précédents?
8. On considère dans toute la suite que $K \ll \frac{k[E_0]}{\alpha}$. Le taux de dégradation des molécules, et donc α , est en effet comparativement petit par rapport aux échelles de temps de régulation de A . Comment le temps d'établissement de l'état stationnaire dépend-il des paramètres, dans le cas n grand du système régulé? Et dans le cas du système non régulé? On prendra comme temps d'établissement de l'état stationnaire le temps nécessaire pour atteindre la moitié de la valeur de l'état stationnaire, toujours à partir de zéro comme condition initiale pour A .
9. Biologiquement, $K = \frac{k_{-1}}{k_1}$ et $\frac{k[E_0]}{\alpha}$ peuvent être régulés indépendamment. Le premier est lié à la cinétique d'interaction avec l'ADN, et le second à la transcription une fois la liaison à l'ADN effectuée. Montrez que pour le même état stationnaire et le même taux de dégradation α , le système régulé dispose d'un paramètre supplémentaire lui permettant d'accélérer la montée vers l'état stationnaire. Illustrer cette observation par des exemples de cinétiques pour différentes valeurs qui vous sembleront appropriées des paramètres.
10. La figure 3 représente l'évolution d'un facteur de transcription *tetR*, dont on a manipulé le mécanisme d'auto-répression⁵. Commentez rapidement cette figure.

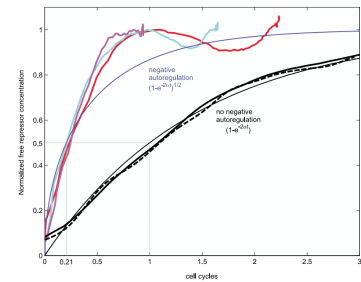


FIGURE 3: Évolution de la concentration d'une protéine *tetR* avec et sans mécanisme d'auto-régulation négative.

5. Rosenfeld, N., Elowitz, M. B., and Alon, U. (2002). Negative autoregulation speeds the response times of transcription networks. *Journal of Molecular Biology*, 323(5):785–793

Auto-amplification

On considère maintenant un facteur A qui se lie à une enzymes (ADn) pour favoriser sa propre transcription. Les réactions sont :

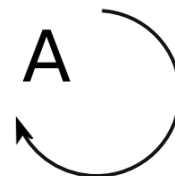
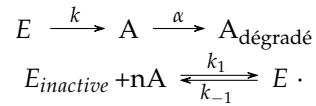


FIGURE 4: L'auto-amplification



De la même façon qu'on a montré sous certaines conditions dans la partie précédente que l'autorégulation *négative* était susceptible d'*accélérer* la cinétique vers l'état stationnaire, on va montrer par une étude analogue que l'autorégulation *positive* est susceptible de faire apparaître des phénomènes de *seuil* ("threshold effects" en anglais). Ces deux effets peuvent être utiles dans différents contextes de régulation au cours du développement.

1. Écrire les équations correspondantes aux réactions d'auto-régulation positive ci-dessus.
2. Écrire l'équation résultant de l'approximation QEA.
3. Simuler cette équation pour différents paramètres. Montrez que l'on ne peut plus prendre une condition initiale égale à zéro ! On prendra donc A initialement petit, mais non nul.
4. Commencez par l'étude des points fixes de l'équation régulée positivement. Décrire leur nature et leur nombre selon les valeurs de α . Quelles sont les différences avec le cas précédent ?
5. Comparez les points fixes stables du cas régulé avec la valeur stationnaire du cas non régulé, en vous appuyant sur le cas simple où n est grand.
6. Pouvez-vous donner un sens dans ce mécanisme à la notion d'*effet de seuil* ? Illustrez.

Bibliographie

Palsson, B. (2011). *Systems biology - simulation of dynamic network states*.
Cambridge.

Rosenfeld, N., Elowitz, M. B., and Alon, U. (2002). Negative auto-regulation speeds the response times of transcription networks.
Journal of Molecular Biology, 323(5) :785–793.

Shen-Orr, S. S., Milo, R., Mangan, S., and Alon, U. (2002). Network motifs in the transcriptional regulation network of Escherichia coli.
Nature genetics, 31(1) :64–8.