

Simulations Déterministes et stochastique
Toggle Switch & Repressilator

Coppin Georges

12 Mai 2015

1 Deterministic Simulations

1.1 Toggle Switch

1. Simulate Eqs. (1)-(2) for different initial conditions and show that the system is bistable.

Pour différentes conditions initiales, on peut constater que le système peut évoluer différemment. En effet, sur la figure 1, trois cas de figures sont observés : $[X]_0 = [Y]_0$, $[X]_0 < [Y]_0$ et $[X]_0 > [Y]_0$. Dans le premier cas, on observe pas le système tendre vers un état élevé pour aucune des deux variables, tandis que pour le deuxième et troisième cas, le système tend vers l'état élevé de la variable dont la concentration initiale est supérieure à celle de l'autre. Le système présente donc une bistabilité.

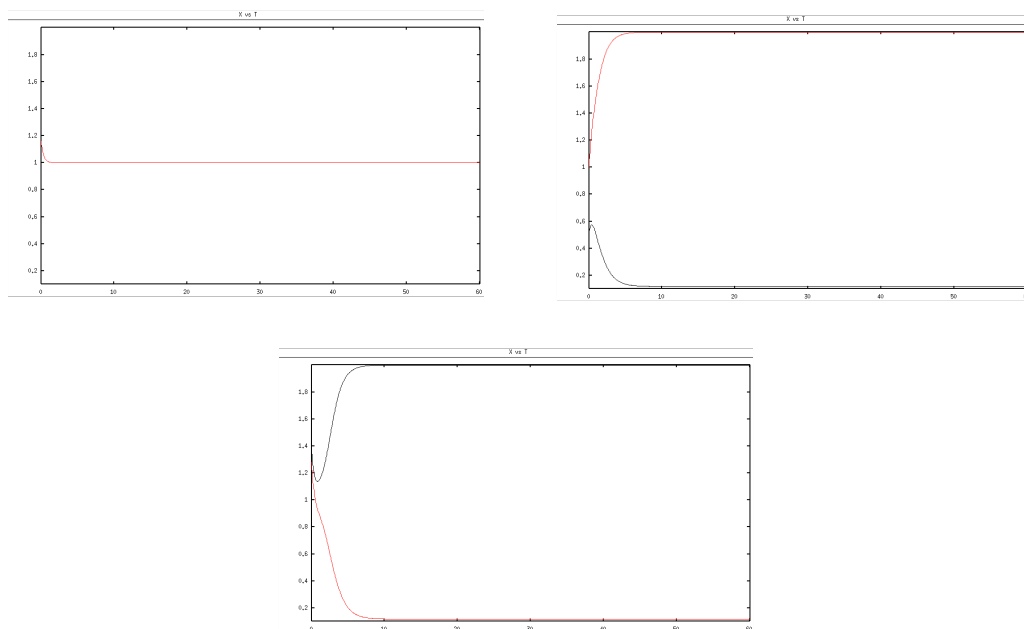


FIGURE 1 — Concentrations de X (noir) et de Y (rouge) en fonction du temps pour différentes concentrations initiales

2. Draw the nullclines in the phase plane and discuss the effect of α_1 and α_2 on the bistability (cf. Figs. 2a and 2b of the paper).

L'analyse des phases de la figure 2 montre bien que le système présente de la bistabilité lorsque le paramètre n de la fonction de Hill vaut 4. Ce qui est confirmé lorsque l'on analyse les diagrammes de bifurcations du paramètre α_1 de la figure 3 où sur le premier diagramme, on peut observer que pour certaines valeurs de α_1 , deux états sont possibles. Contrairement au diagramme de bifurcation de α_1 lorsque $n = 2$, où il n'y a pas de bistabilité. Les résultats sont identiques pour α_2 .

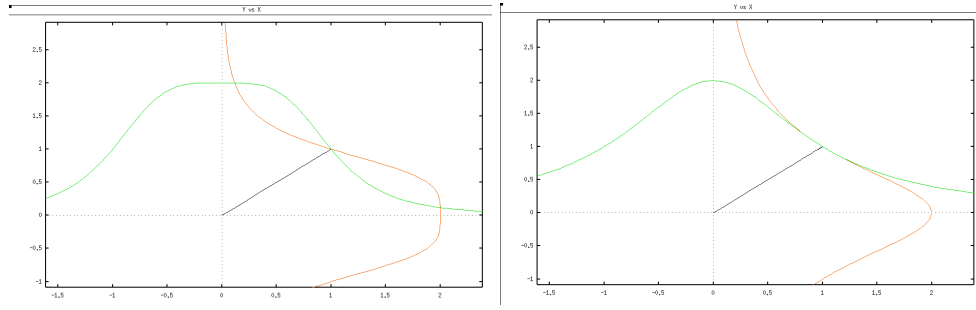


FIGURE 2 – Nullclines pour différentes valeurs de n (respectivement 4 et 2)

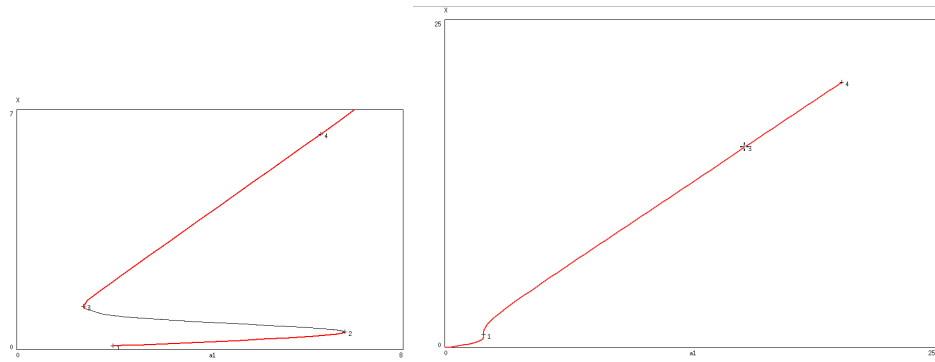


FIGURE 3 – diagrammes de bifurcation de X en fonction du paramètre α_1 pour $n = 4$ et $n = 2$

3. Draw the stability diagram as a function of parameters α_1 and α_2 for $n = 2$ and $n = 4$ (cf. Figs. 2c and 2d of the paper).

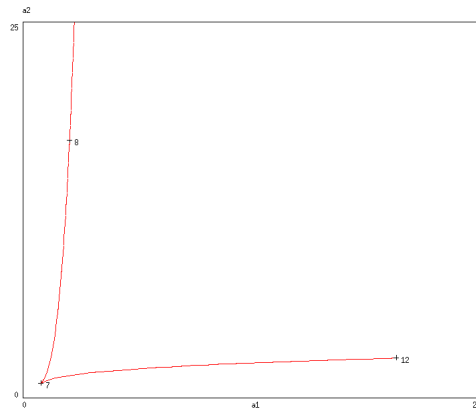


FIGURE 4 – Nullclines pour différentes valeurs de n (respectivement 2 et 4)

4. Discuss the effect of δ_1 and δ_2 on the bistability (note that these two parameters are implicitly assumed to be equal in the paper).

Sur le diagramme de stabilité de δ_1 et δ_2 de la figure 5, on observe que le range de ces deux paramètres pour lequel il y a de la bistabilité est relativement restreint. En effet, étant donné que δ_1 et δ_2 ont des valeurs paramétriques identiques, on observe de la bistabilité uniquement sur la droite rouge partant des coordonnées $(X = 0; Y = 0)$ jusqu'à $(X = 1,974; Y = 1,974)$.

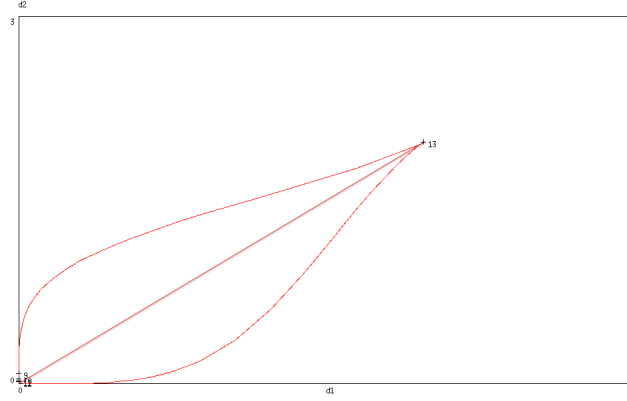


FIGURE 5 – Diagramme de stabilité des paramètres δ_1 et δ_2

5. Draw the bifurcation diagram as a function of IPTG and study the effect of a pulse of IPTG (cf. Fig. 5 of the paper).

Le diagramme de bifurcation (figure 6) de X en fonction du paramètre S (IPTG) montre qu'un pulse d'IPTG suffisamment fort est capable de faire passer le système à haut régime pour X . On constate également, que si le système est déjà en haut régime pour X , même en diminuant S à zéro, le système ne changera pas. Sur les séries temporelle de la figure 7, on observe que l'intensité du premier pulse ($S = 1$) n'est pas suffisante pour faire basculer le système. Lorsque sur le deuxième graphique, l'intensité du pulse est augmentée ($S = 1.5$), le système parvient à changer de régime lors du pulse.

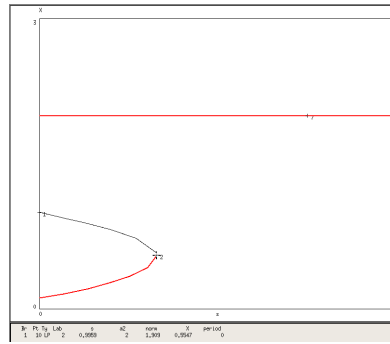


FIGURE 6 – diagramme de bifurcation de X en fonction du paramètre S (=IPTG)

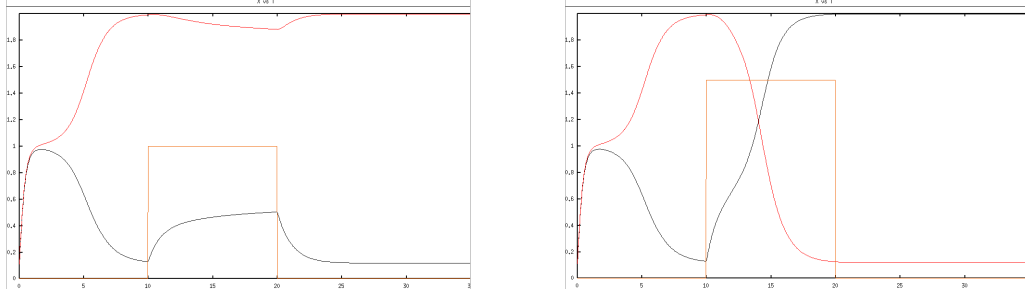


FIGURE 7 – évolution de X(noir) et Y(rouge) en fonction du temps avec pulse d'IPTG (jaune)

6. Study the effect of a pulse of δ_1 (which would correspond to a pulse of temperature). Is the switch much faster than the opposite switch induced by a pulse of IPTG, as claimed in the paper (cf. Fig. 6 of the paper).

Sur la figure 8, on observe que pour un pulse de température, où δ_1 passe de 1 à 2 durant le pulse, le système bascule dans un état où Y est en haut régime lorsque $[X_{ini}] > [Y_{ini}]$. Il est difficile de comparer la vitesse du switch entre un pulse d'IPTG et de température, car ce sont deux dimensions différentes. Néanmoins, pour une même augmentation des valeurs paramétriques, on constate qu'en effet, le switch semble plus rapide lors d'un pulse de température (switch après 2 secondes environ pour le pulse de température, contre 5 secondes environ pour le pulse d'IPTG).

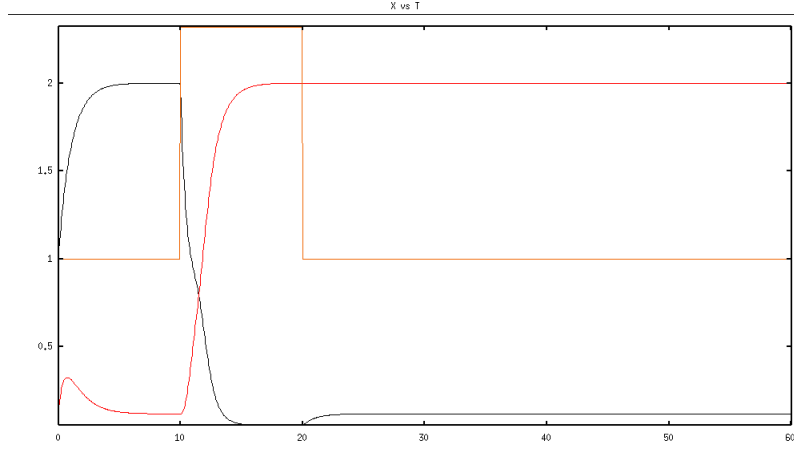


FIGURE 8 – évolution de X(noir) et Y(rouge) en fonction du temps avec pulse de température

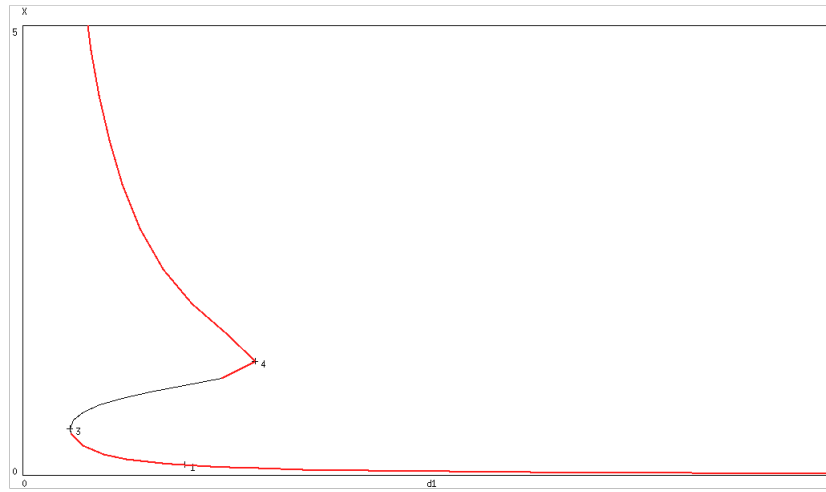


FIGURE 9 – diagramme de bifurcation de X en fonction du paramètre δ_1

7. Run a simulation with a pulse of IPTG (S) and, subsequently, a pulse of temperature (δ_1) (cf. Fig. 4 of the paper).

Sur la figure 10, où un pulse d'IPTG et un pulse de température sont simulés, on peut observer les effets antagonistes de ces deux paramètres. En effet, deux switch sont observés.

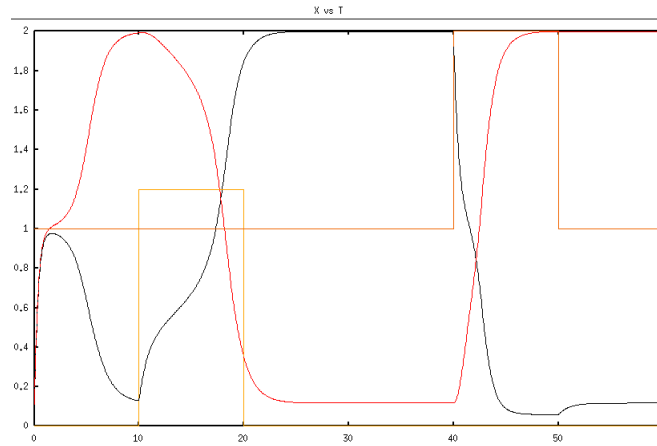


FIGURE 10 – évolution de X (noir) et Y (rouge) en fonction du temps avec pulse d'IPTG (jaune) et de température (orange)

1.2 Repressilator

1. Simulate the Repressilator (Eqs. 5-10) starting from different initial conditions (cf. Fig. 1c of the paper).

La figure 11 présente les séries temporelles de $M1$, $M2$, $M3$ pour différentes conditions initiales. Sur le premier graphique, où $[M1]_0 = [M2]_0 = [M3]_0$, on observe pas d'oscillation. Tandis que sur le second, où $[M1]_0 = [M3]_0 < [M2]_0$, le système présente des oscillations entretenues. Ces observations sont logiques, étant donné les répressions mutuelles des protéine P_1 , P_2 et P_3 les unes sur les autres, les oscillations ne peuvent être observées que si les conditions initiales sont différentes pour une variable au moins.

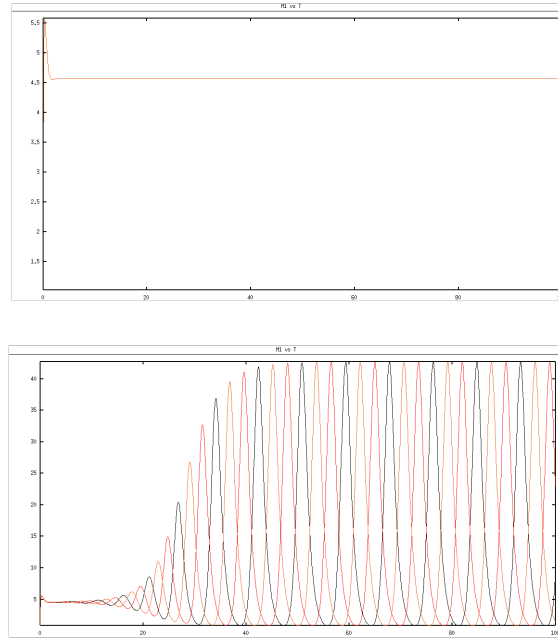


FIGURE 11 — évolution de $M1$, $M2$, et $M3$ en fonction du temps pour différentes conditions initiales

2. What happens if α_1 is changed? Draw the bifurcation diagram as a function of parameter α_1 .

Sur le diagramme de bifurcation de α_1 de la figure 12, on observe que pour certaines valeurs du paramètre, le système quitte son cycle limite d'oscillation. En effet, pour $\alpha_1 < 5.895$ qui est un point de bifurcation de Hopf, le système ne présentera plus d'oscillation. En augmentant α_1 , l'amplitude des oscillations de $M1$ et de $M3$ augmente, tandis que celle de $M2$ diminue. Ce qui est cohérent. On observe l'inverse lorsque l'on diminue α_1 .

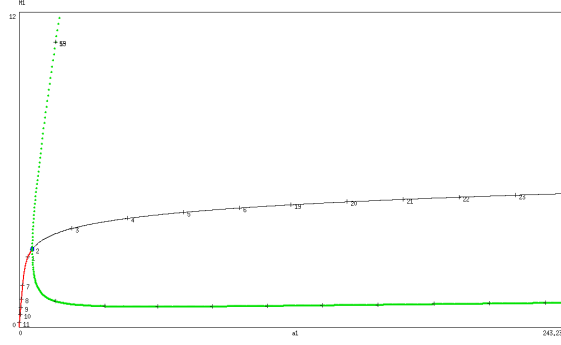


FIGURE 12 – diagramme de bifurcation de $M1$ et fonction du paramètre α_1

3. Draw the stability diagram as a function of $\alpha = \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3$ and β for various values of α_0 (cf. Fig. 1b of the paper, but note that in the paper $\beta = \delta$).

Le paramètre α_0 correspond au nombre de copies de protéines produites par cellules sous concentration saturée de répresseurs. Il traduit donc l'efficacité des répresseurs. Par défaut, lors de nos simulations, α_0 est nul. Lorsque l'on modifie sa valeur, on constate une diminution de l'amplitude des oscillations du modèle. Cette observation est normale, étant donné qu'une augmentation de α_0 correspond à une diminution de l'efficacité des répresseurs. Il y aura alors une répression continue plus ou moins importante en fonction de α_0 .

Sur les diagrammes de stabilité de la figure 13, on observe que pour des valeurs non nulles de α_0 , la zone d'oscillation est plus restreinte.

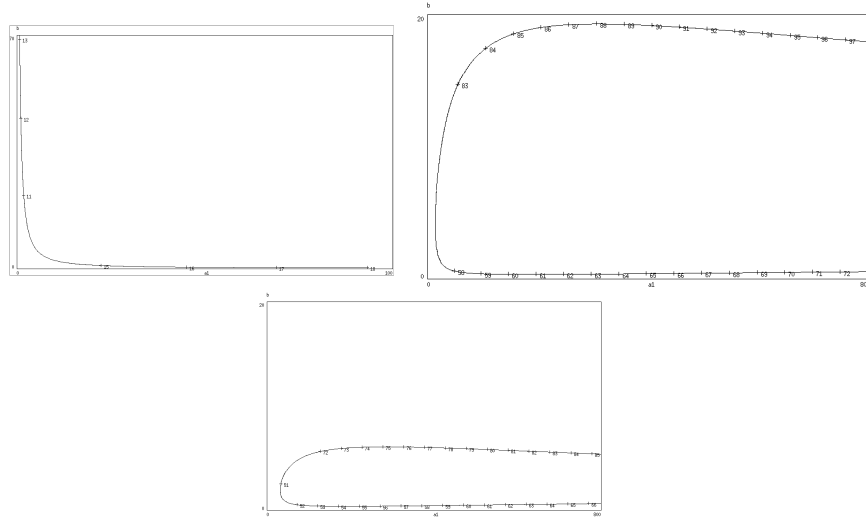


FIGURE 13 – diagramme de stabilité des paramètres α_1 et β pour différentes valeurs de α_0

4. How would you modify the equations to incorporate the effect of IPTG (S) ? What is the effect of a continuous injection of IPTG ? What is the effect of a pulse of IPTG ?

Les équations du modèles déterministes sont décrites comme suit :

$$\frac{dm_1}{dt} = \alpha_1 \frac{K_1^n}{K_1^n + p_3^n} + \alpha_0 - \gamma_1 \quad (1)$$

$$\frac{dm_2}{dt} = \alpha_2 \frac{K_2^n}{K_2^n + p_1^n} + \alpha_0 - \gamma_2 \quad (2)$$

$$\frac{dm_3}{dt} = \alpha_3 \frac{K_3^n}{K_3^n + p_2^n} + \alpha_0 - \gamma_3 \quad (3)$$

$$\frac{dp_1}{dt} = \beta m_1 - \delta p_1 \quad (4)$$

$$\frac{dp_2}{dt} = \beta m_2 - \delta p_2 \quad (5)$$

$$\frac{dp_3}{dt} = \beta m_3 - \delta p_3 \quad (6)$$

Pour incorporer l'effet de l'IPTG (S) sur le modèle déterministe, il faut modifier l'équation 2 qui correspond à l'évolution TetR dont le promoteur lac01 est régulé par l'IPTG.

$$\frac{dm_2}{dt} = \alpha_2 \frac{K_2^n}{K_2^n + \left(\frac{p_1}{1 + \left(\frac{s}{k_s}\right)^m}\right)^n} + \alpha_0 - \gamma_2 \quad (7)$$

Valeurs des nouveaux paramètres : $m = 2$, $k_s = 5$

Les graphiques observés en figure 14 présentent les séries temporelles de M1, M2 et M3 pour différentes valeurs de S. Logiquement, l'effet de l'IPTG augmente avec sa concentration. A partir d'une certaine concentration, on constate la perte des oscillations des variables. C'est l'effet recherché que les auteurs ont voulu obtenir, pour pouvoir synchroniser les populations de cellules étudiées.

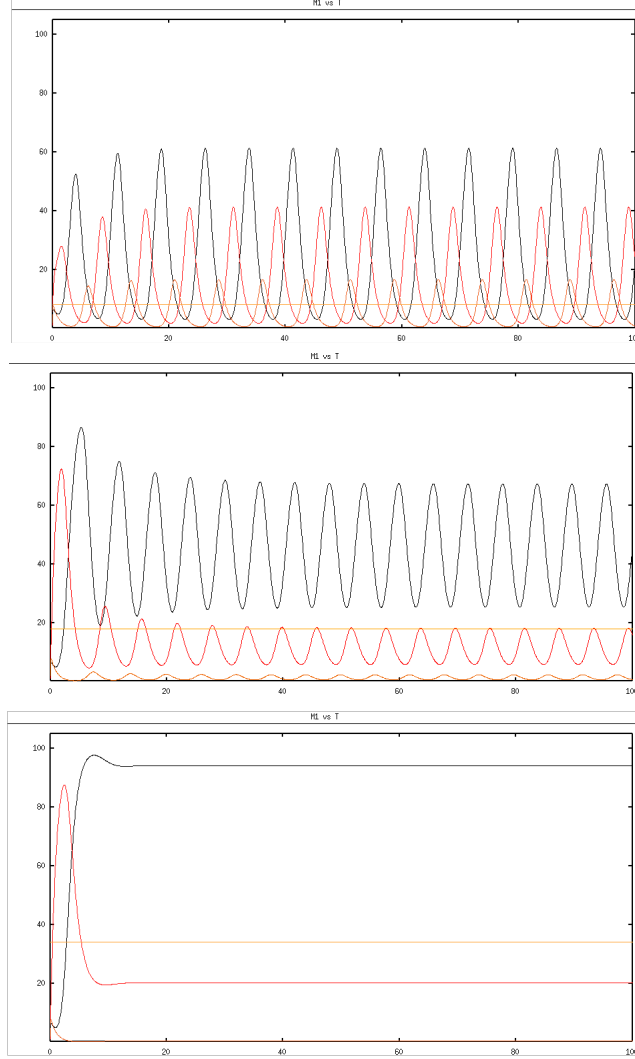


FIGURE 14 – évolution de m_1 , m_2 , m_3 en fonction du temps pour différentes valeurs de s (resp. $s = 8, 18, 34$)

En effet, lorsque l'injection d'IPTG n'est pas continue, mais est administrée sous forme de pulse, on constate la reprise des oscillations dès la fin des pulses. C'est ce qu'on peut observer sur les séries temporelles en figure 15. Sur la première série temporelle ($S = 9$), les oscillations sont maintenues dans le pulse; sur la seconde ($S = 22$), elles sont amorties; sur la dernière ($S = 36$), elles sont perdues. Dans les trois cas, le système retrouve la même amplitude et la même fréquence d'oscillation après le pulse d'IPTG.

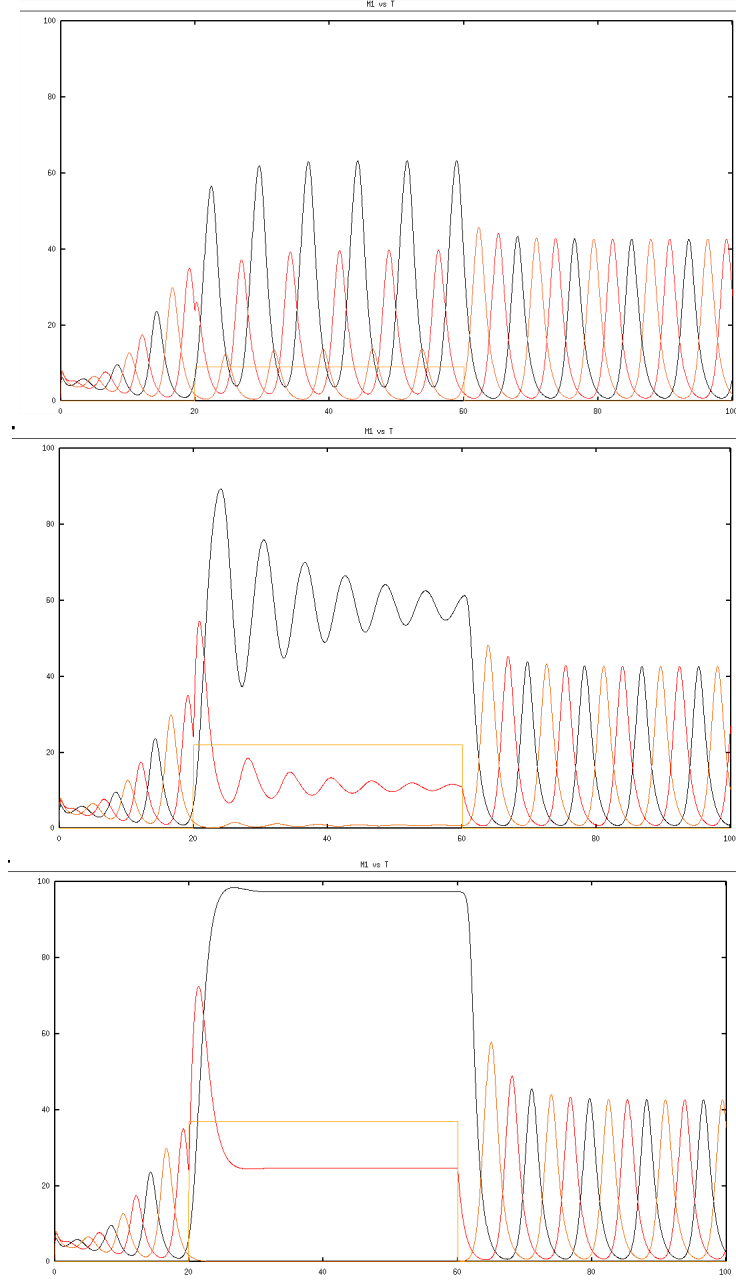


FIGURE 15 — évolution de m_1 , m_2 , m_3 en fonction du temps avec pulse d'IPTG pour différentes valeurs de s (resp. $s = 9, 22, 36$)

5. In the experimental construction, the level of expression is measured by the GFP, which is under the control of one of the three promoters of the repressilator. Propose an evolution equation for GFP mRNA and protein concentration and show that for low GFP degradation rate the average level of GFP tends to increase (cf. Fig. 2 of the paper).

Comme la synthèse de la GFP dépend du même promoteur que celui synthétisant cl (m_3), on peut partir de l'équation (3) pour décrire l'évolution de l' ARN_m de la GFP au cours du temps :

$$\frac{dM_{GFP}}{dt} = \alpha_3 \frac{K_3^n}{K_3^n + p_2^n} + \alpha_0 - \gamma_{GFP} \quad (8)$$

où γ_{GFP} correspond au taux de dégradation d' ARN_m de la GFP

Pour traduire l'équation de l'évolution de la protéine de la GFP au cours du temps, on peut partir de l'équation (6) de l'évolution de P_3 .

$$\frac{dP_{GFP}}{dt} = \beta m_{GFP} - \delta_{GFP} * P_{GFP} \quad (9)$$

où δ_{GFP} correspond au taux de dégradation la GFP

Sur la figure 16, on peut observer les séries temporelles de P_1 (noir), P_2 (rouge), P_3 (orange) et de la GFP(vert). On observe bien que lorsque le taux de dégradation δ_{GFP} de la GFP est bas, la concentration de GFP augmente et s'accumule. Lorsque le taux de dégradation est grand, la concentration de GFP est plus basse.

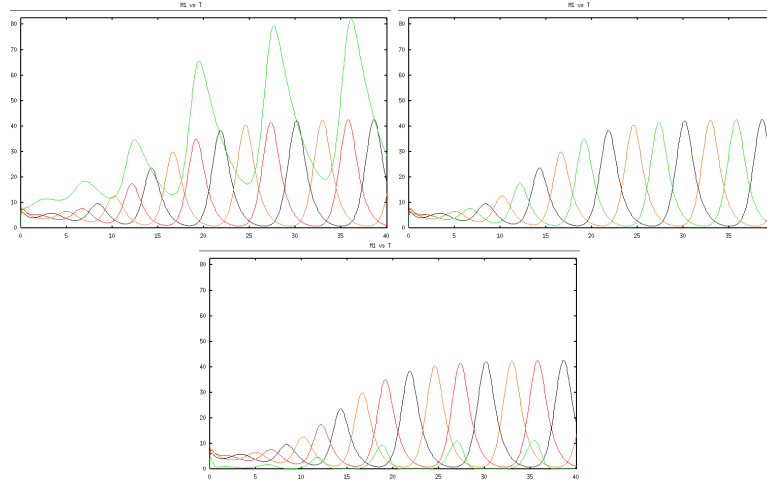


FIGURE 16 — évolution de M_1 (noir), M_2 (rouge), M_3 (orange) et de la GFP(vert) en fonction du temps pour différentes valeurs de δ_{GFP} (resp. $\delta_{GFP} = 0.3, 1, 5$)

Les résultats expérimentaux des auteurs de la figure (17) et ceux obtenus sur le premier graphique de la figure 16.1 sont très proches.

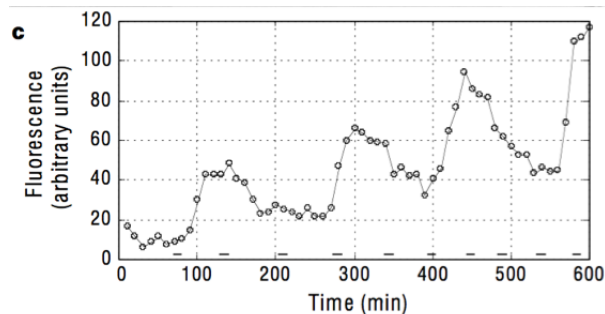


FIGURE 17 – évolution de l'intensité de la GFP au cours du temps (résultats expérimentaux)

2 Stochastic Simulations

2.1 Toggle Switch

1. The deterministic equations (ODE) for the Toggle Switch are given here above. Write the stochastic version of this model (i.e. a table with each reaction and their corresponding propensity).

Reaction Number	Reaction Step	Probability of reaction
1	$Y \xrightarrow{k_1} X$	$w_1 = \alpha_1 \Omega \frac{(K_1 \Omega)^n}{(K_1 \Omega)^n + y^n}$
4	$Y \xrightarrow{d_1}$	$w_2 = \delta_1 X$
3	$X \xrightarrow{k_2} Y$	$w_4 = \alpha_2 \Omega \frac{(K_2 \Omega)^n}{(K_2 \Omega)^n + y^n}$
4	$Y \xrightarrow{d_2}$	$w_3 = \delta_2 Y$

TABLE 1 – Décomposition des équations déterministes du Toggle Switch et propensions relatives

2. Simulate the stochastic model using the Gillespie algorithm. In the Gillespie algorithm, a parameter Ω - the system size - allows to control the number of molecules present in the system. Changing Ω means changing the level of noise. Study the robustness of the bistability in the Toggle Switch model with respect to molecular noise.

Sur les graphiques de la figure 18, on peut observer l'effet du bruit sur le système. En effet, l'algorithme de Gillespie ajoute le paramètre Ω qui contrôle le nombre de molécules présentes dans le système. Ce paramètre est à l'origine du bruit, plus Ω sera petit, moins il y aura de molécules, et plus il y aura de bruit. C'est ce qu'on peut observer lors des simulations stochastiques du Toggle Switch. Sur le premier graphe de la figure 18, $\Omega = 5$. Le bruit est important, et le modèle switch plusieurs fois en l'espace de 100 secondes. Sur le second graphe, $\Omega = 10$, le bruit diminue, mais le

système parvient encore à switcher pour l'une ou l'autre des variables. Sur le troisième graphique, $\Omega = 100$, le bruit est davantage diminué et le système ne présente plus de switch sur le temps étudié.

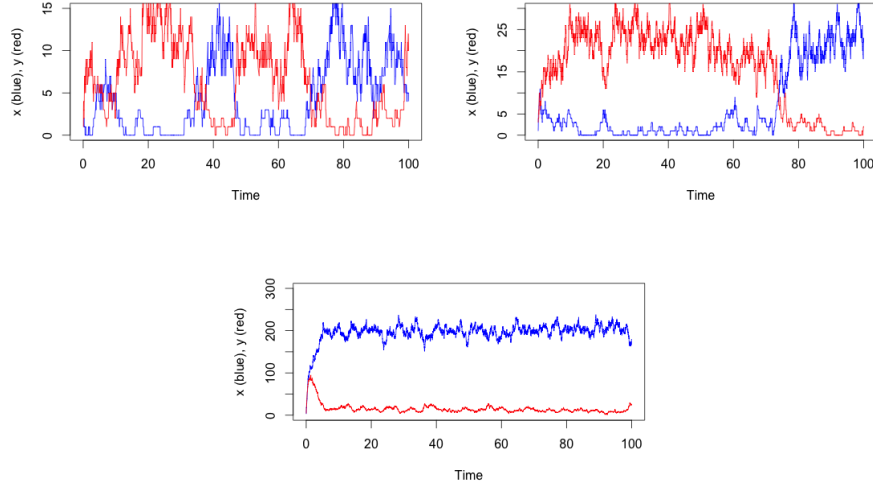


FIGURE 18 – évolution de X(bleu) et Y(rouge) en fonction du temps pour différentes valeurs de Ω (resp. 5, 10, 100

3. What happens when the system is placed close to a Saddle-Node bifurcation (i.e. for a value of α_1 near the boundary of the bistable region) ?

Sur le graphique de l'espace des phases de X et Y de la figure 3.1 du modèle déterministe du Toggle Switch, on constate que les coordonnées du point de selle se situent en (1,1). Les conditions initiales de X et de Y seront donc proches de celui-ci pour observer l'évolution du système lorsque les variables sont proches de ce point. Sur les séries temporelles en figure 19, on observe que pour $X_{ini} = 0.99$, et $Y_{ini} = 1.01$, le système peut évoluer en "haut régime" aléatoirement pour une variable d'un cas à l'autre. Cette situation n'est pas observable pour des simulations déterministes où le "haut régime" est déterminé uniquement par les concentrations initiales et par les valeurs des paramètres.

A noter que la valeur d'Omega lors de ces simulations a été fixé à 100. L'évolution du système partant d'un point proche du point de selle est donc fortement sensible au bruit.

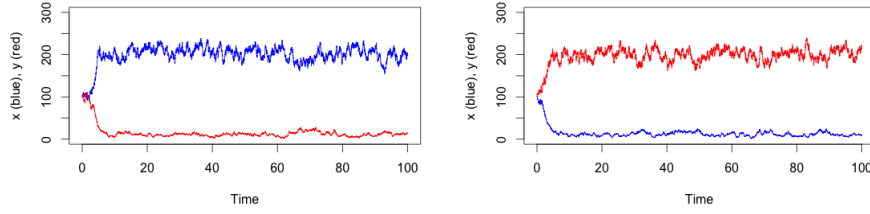


FIGURE 19 — évolution de X(bleu) et Y(rouge) en fonction du temps pour des conditions initiales proches du point de selle ($X_0 = 0.99$, $Y_0 = 1.01$)

4. Modify the model to incorporate IPTG. Simulate a pulse of IPTG. Run several simulation and compare the results. What do we observe at the level of the cell population? Hint : You can plot on a single graph the same variable (e.g. X) for different simulations and check at which time each cell “switches”. Discuss the effect of the duration and amplitude of the pulse of IPTG.

Injections constantes d'IPTG

Pour simuler les injections d'IPTG, Ω a été fixé à 100 pour limiter le bruit et mieux observer les effets de l'inducteur. Dans la même idée, les conditions initiales ont été définies de sorte à ce que la variable dominante au départ soit Y ($Y_{ini} = 200$). Ainsi, nous pouvons mieux observer l'effet de l'induction du switch par l'IPTG.

Sur la figure 20, on observe trois séries temporelles de X et Y sous concentration constante d'IPTG. Pour $S = 0.7$, on observe pas de switch pour un régime élevé de X. Pour $S = 1$ et $S = 2$, on observe un switch du modèle, plus rapide lorsque $S = 2$.

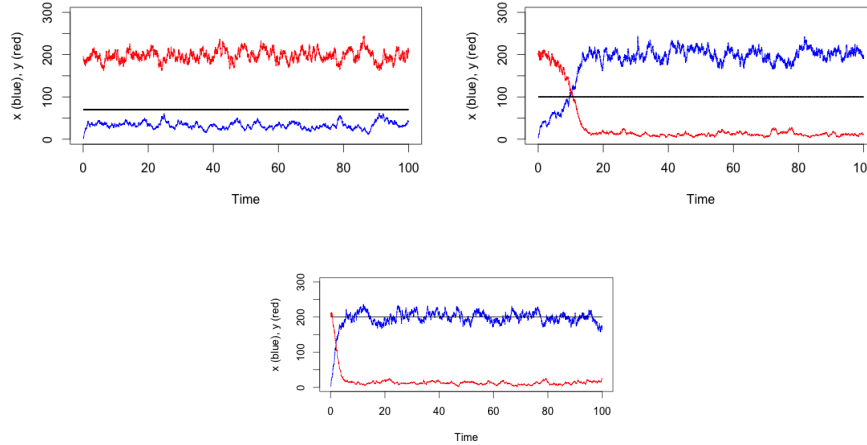


FIGURE 20 — évolution de X(bleu)et Y(rouge) en fonction du temps sous concentration constante d'IPTG(noir)

Pulses d'IPTG

Sur la figure 21, on peut observer deux pulses d'IPTG d'intensité différentes. Les probabilités de switch augmentent avec S . En effet, lorsque l'intensité de S est de 0.5, on observe pas de switch, contrairement au deuxième cas où $S = 1$. Dans le premier cas, sur 30 simulations, aucun switch n'a été observé. Dans le second, pour 30 simulations, 21 switch ont été observés. On constate donc encore bien ici, au contraire des simulations déterministes, l'effet du bruit sur le système.

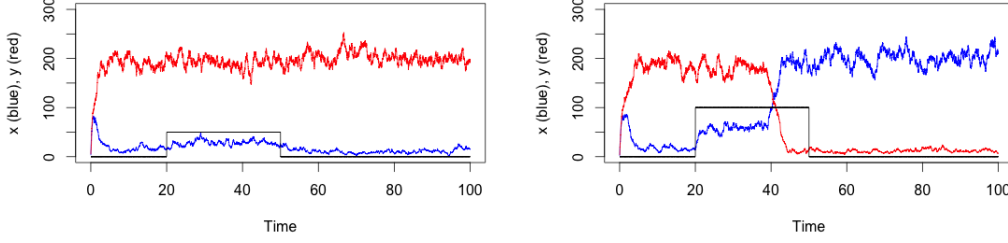


FIGURE 21 — évolution de X(bleu) et Y(rouge) en fonction du temps avec pulse d'IPTG(noir)

L'histogramme de la figure 22 présente la distribution de 100 simulations du temps de switch sous un pulse d'IPTG de 30 secondes pour $S = 10$. On observe que le plus grand pic de switch s'opère dès la première seconde de pulse (15 cellules). Le reste de la distribution est relativement homogène. On observe quelques switch s'opérer entre 27 et 30 secondes des pulses, soit à la fin de ceux-ci. Cela montre l'importance de la durée des pulses, en effet, la probabilité de switch augmentent avec la durée des pulses.

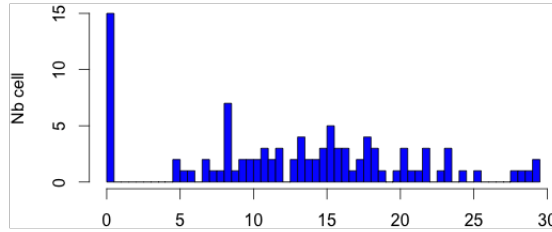


FIGURE 22 — Histogramme du nombre de switch d'une population de 100 cellules en fonction du temps sous pulse d'IPTG ($S = 10$, $\Omega = 100$)

Sur la figure 23, on observe une série d'histogrammes reprenant l'augmentation des proportions de X sous pulse d'IPTG. Pour ces simulations, Ω est fixé à 100, le nombre de cellules étudiées est de 500, la durée du pulse est de 30 unités de temps, $X_0 = 1$, $Y_0 = 1$ et $S = 1$. On constate qu'au

début du pulse ($t = 3$), la majeure partie des cellules n'ont pas encore switché. Au fur et à mesure que l'on progresse dans le pulse, la distribution des cellules en "haut régime" pour X augmente.

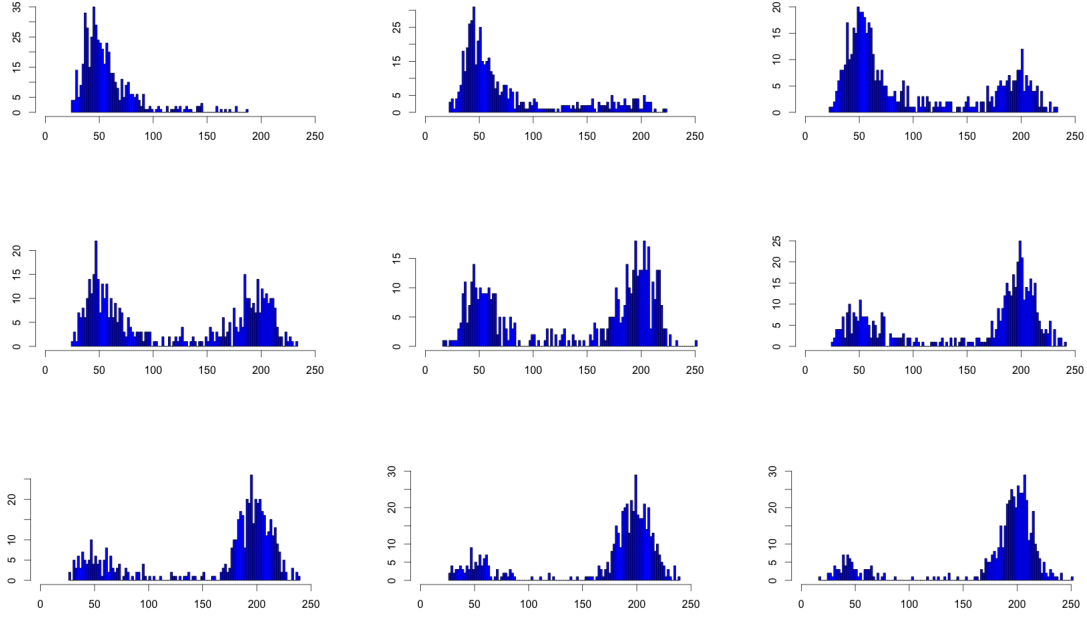


FIGURE 23 — Histogrammes des distributions de X pour 500 cellules sous pulse d'IPTG ($S = 1$)

2.2 Repressilator

1. The deterministic equations (ODE) for the Repressilator are given above. Write the stochastic version of these models (i.e. a table with each reaction and their corresponding propensity).

Reaction Number	Reaction Step	Probability of reaction
1	$\xrightarrow{k_1} M_1$	$w_1 = \alpha_0 \Omega + (\alpha_1 \Omega) \frac{(K_1 \Omega)^n}{(K_1 \Omega)^n + p_3^n}$
2	$M_1 \xrightarrow{\gamma}$	$w_2 = \gamma M_1$
3	$\xrightarrow{k_2} M_2$	$w_3 = \alpha_0 \Omega + (\alpha_2 \Omega) \frac{(K_2 \Omega)^n}{(K_2 \Omega)^n + p_1^n}$
4	$M_2 \xrightarrow{\gamma}$	$w_4 = \gamma M_2$
5	$\xrightarrow{k_3} M_3$	$w_5 = \alpha_0 \Omega + (\alpha_3 \Omega) \frac{(K_3 \Omega)^n}{(K_3 \Omega)^n + p_2^n}$
6	$M_3 \xrightarrow{\gamma}$	$w_6 = \gamma M_3$
7	$\xrightarrow{\beta} P_1$	$w_7 = \beta M_1$
8	$P_1 \xrightarrow{\delta}$	$w_8 = \delta P_1$
9	$\xrightarrow{\beta} P_2$	$w_9 = \beta M_2$
10	$P_2 \xrightarrow{\delta}$	$w_{10} = \delta P_2$
11	$\xrightarrow{\beta} P_3$	$w_{11} = \beta M_3$
12	$P_3 \xrightarrow{\delta}$	$w_{12} = \delta P_3$

TABLE 2 – Décomposition des équations déterministes du Repressilator et propensions relatives

2. Simulate this system using the Gillespie algorithm. In the Gillespie algorithm, a parameter Ω - the system size - allows to control the number of molecules present in the system. Changing Ω means changing the level of noise. Study the robustness of the oscillations with respect to molecular noise.

Comme dans le cas du Toggle Switch, l'adaptation du modèle déterministe du Repressilator par l'algorithme de Gillespie rend le système sensible au bruit avec le paramètre Ω . Sur les séries temporelles présentées en figure 24, on observe d'importantes fluctuations d'amplitude. Celles-ci diminuent néanmoins avec Ω qui augmente. Lorsque l'on compare les simulations stochastiques, avec les simulations déterministes (cfr. figure 11.2), on observe clairement l'effet du bruit.

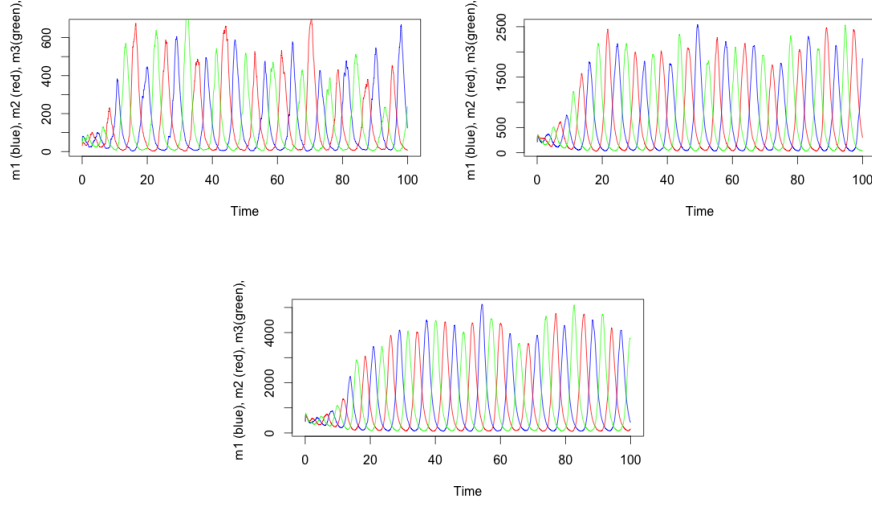


FIGURE 24 – évolution de M1(bleu), M2(rouge) et M3(vert) en fonction du temps

3. Run several simulations starting from the same initial condition. Choose an initial condition on the limit cycle (which you can find by running a deterministic simulation). Compare then the different stochastic times series and observe the phase diffusion. Hint : You can plot on a single graph the same variable (e.g. M1) for different simulations and check how fast the oscillations are unsynchronized.

Les séries temporelles de la figure 25 ont été obtenues avec différentes valeurs d' Ω . Contrairement au modèle déterministe du Repressilator, on remarque un déphasage progressif sur les deux séries temporelles. Néanmoins, celui-ci est plus important lorsqu' Ω prend une plus petite valeur. En effet, le déphasage est dû au bruit induit par le paramètre Ω . On constate encore, comme pour la figure 24, que l'amplitude est également influencée par le bruit. Lorsque $\Omega = 5$, on observe un déphasage entre les différentes cellules dès le premier pic de M1. Pour $\Omega = 50$, on observe également un déphasage rapide (dès le troisième pic de M1) entre les cellules, mais moins nuancé.

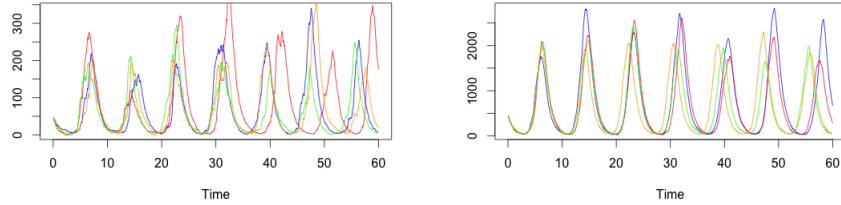


FIGURE 25 – séries temporelles de M1 pour 4 cellules avec différentes valeurs d' Ω ($\Omega = 5$ et $\Omega = 50$)

4. In the experiment the authors used pulses of IPTG to synchronize the cells. Adapt the program to account for the effect of IPTG, and run some simulations to assess the effect of the pulse of IPTG on the oscillations (you will need to run several simulations to observe sychronization). Discuss the effect of the duration and amplitude of the pulse on the synchronization.

Sur les séries temporelle de la figure 26, on observe la synchronisation de la variable M1 pour 4 cellules suite à un pulse d'IPTG. On remarque également un déphasage relativement rapide du système, même pour une valeur élevée du paramètre Ω , lorsque celui-ci est fixé à 100. Lorsque $S = 40$, les oscillations sont directement perdues, contrairement aux deux autres graphes où les oscillations sont maintenues, mais dont l'amplitude est diminuée. Dans les trois cas, on remarque que les pulses ont été suffisamment intenses pour synchroniser les 4 cellules.

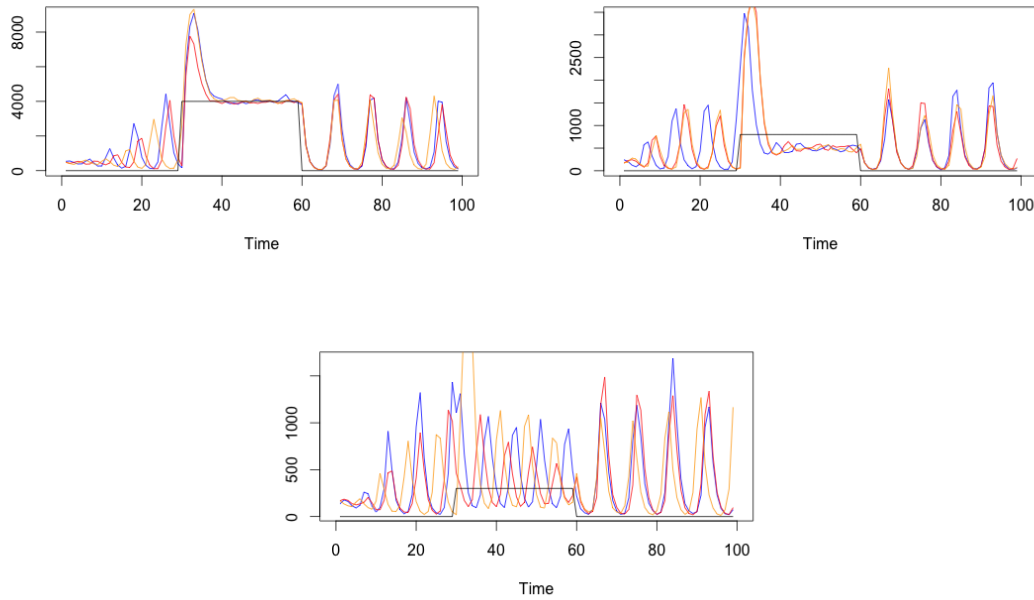


FIGURE 26 – séries temporelles de M1 pour 3 cellules sous pulse d'IPTG ($\Omega = 100, 40, 40$ et $S = 40, 20, 10$)