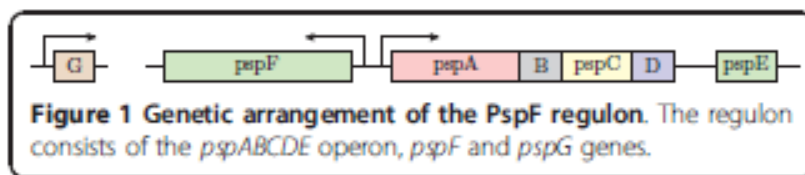


Analysis of the phage shock protein stress response in *Escherichia Coli* : The Psp response that responds to alterations in the bacterial cell envelope

La "Psp response" est un des processus développés par les bactéries pour répondre à des stress. Elle a été particulièrement étudiée chez *E. coli* et elle est induite quand la membrane bactérienne est endommagée.

Connaissances biologiques :

- Les gènes *psp* chez *E. coli* forment le régulon PspF qui inclut l'opéron *psp* (gènes *pspA*, *pspB*, *pspC*, *pspD* and *pspE*), et les gènes *pspF* et *pspG* (cf. figure 1).



PspF est un facteur de transcription qui active la transcription de l'opéron *psp* (l'opéron *pspA-E*) qui possède un promoteur de type σ^{54} et la transcription du gène *pspG*. Le gène *pspF* est transcrit à partir d'un promoteur de type σ^{70} (facteur sigma de ménage).

La localisation cellulaire de ces protéines a été étudiée en détail. PspF est une protéine cytoplasmique, PspA est une protéine périphérique de la membrane interne, PspB, PspC et PspD sont des protéines de la membrane interne ainsi que PspG. Finalement PspE est une protéine périplasmique.

En l'absence de conditions de stress, PspA se lie à PspF, ce qui inhibe l'activité de l'ATPase PspF. Ainsi, la transcription de l'opéron *pspA-E* et de la *pspG* est basale

Dans des conditions de stress, un stimulus est converti en un signal qui est transduit apparemment de

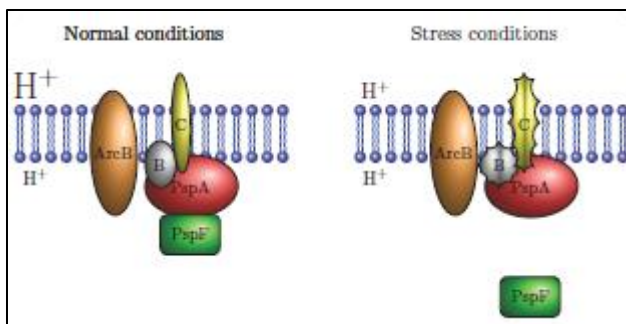


Figure 2 : modèle schématique du système de réponse Psp chez *E. coli*. Dans des conditions normales, PspA est liée à PspF, ce qui empêche PspF d'initier la réponse transcriptionnelle. Dans des conditions de stress, PspA et PspF se séparent ce qui permet à PspF d'initier la transcription. La différence de représentation des protéines PspB et PspC indique les changements de conformation subis par ces deux protéines en cas de stress.

manière indépendante par la protéine kinase transmembranaire ArcB (senseur) et par les protéines PspB et PspC. ArcA, le régulateur de réponse cytosolique apparenté à ArcB, joue un rôle dans l'amplification du signal. Ce signal perturbe l'interaction PspA-PspF et permet à PspF d'activer la transcription, ce qui entraîne une augmentation de la concentration de plusieurs protéines Psp (cf. figure 2). Les rôles des protéines PspD, PspE et PspG dans la transduction, la régulation transcriptionnelle ou la réparation des membranes n'est pas encore totalement comprise.

Rôles connus des protéines Psp :

- PspA, PspD et PspG jouent un rôle majeur dans le passage du métabolisme cellulaire à la respiration anaérobie et à la fermentation

- PspA et PspD sont également impliquées dans la réparation de la membrane endommagée
- PspG joue un rôle majeur dans le tuning du métabolisme cellulaire vers la respiration anaérobie et la fermentation.
- Quand PspA, PspD et PspG sont surproduites, elles régulent à la baisse la motilité des cellules ce qui régule la consommation de la force motrice des protons et maintient l'utilisation de l'énergie.

Hypothèse pour la modélisation :

Un modèle simplifié va être construit pour lequel on ne gardera que les éléments biologiques importants pour saisir la dynamique de base de la réponse au stress.

- PspD, PspE et PspG : rôle connu : réponse physiologique mais pas encore décrit comme étant impliquées dans la régulation de la réponse : écartées du réseau
- Les protéines impliquées dans la transduction et l'amplification du signal de stress (ArCB et ArcA) ne sont pas nécessaires pour capturer la réponse de base : elles ne sont donc pas explicitement modélisées.

Donc, seules les protéines PspA, PspB, PspC et PspF seront incluses dans ce modèle simplifié. De plus, PspB, PspC et PspA seront représentées sous la forme d'un complexe BCA. Quand PspA est en complexe avec PspB et PspC, elle n'est jamais démantelée du complexe. Ce complexe existera sous deux formes intacte (pas de stress) ou endommagée (en présence de stress) (voir figure 2). Seules les nouvelles protéines PspA synthétisées interviendront dans la réparation de la membrane sous forme d'oligomère.

En absence de stress, le complexe à la membrane est sous forme BCAF.

Quand il y a stress, PspF est libérée et le complexe BCA change de conformation. PspF devient alors un facteur de transcription (TF) permettant la synthèse d'une part de 10 nouveaux complexes « intacts » BCA et d'autre part de l'oligomère de PspA. TF n'est pas consommé lors de la réaction.

En fonction de l'état de la membrane, endommagée ou intacte, le complexe BCA peut changer de conformation de intacte à endommagée et vice-versa.

Lors de la réparation de la membrane, l'oligomère de PspA n'est pas consommé.

Quand la membrane redevient intacte, le complexe BCAF se reforme à partir d'un complexe BCA intact et du TF.

Une autre hypothèse, conforme aux preuves expérimentales, est que le nombre de protéines PspF est constant dans les cellules. La production et la dégradation de PspF sont donc exclues dans le modèle. Par contre, la production et la dégradation des autres espèces moléculaires seront modélisées.

La membrane : Elle peut être intacte ou endommagée lorsque le stress agit sur la membrane. Pour discrétiser la mesure de la membrane endommagée, elle sera modélisée comme étant composée de la "partie intacte de la membrane" et de la "partie endommagée de la membrane". La partie endommagée sera exprimée en pourcentage et ce pourcentage sera traduit en nombre de jetons (tokens), le maximum étant 100.

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 :

La membrane est sous sa forme intacte. Il y a 20 molécules du complexe BCAF et le stress est présent (un jeton).

- Construire le réseau de Pétri correspondant en utilisant le logiciel Snoopy avec son marquage initial
- Animer votre réseau pour suivre le « token game »
- Rechercher les P- et T- invariants en utilisant le logiciel Charlie. Explication biologique.
- exporter le réseau en réseau stochastique

4. Construction d'un réseau stochastique

La modélisation qualitative sous forme de réseau de Pétri simple ne permet pas de suivre la cinétique des différents composés du système et ne permet pas non plus de faire varier l'application du stress.

- Modifier le réseau pour le stress s'applique pendant 10 minutes puis qu'il y ait une absence de stress pendant 60 minutes (exemple : stress on 0-10, stress off 10-70, stress on 70-80, stress off 80-140 etc.)
- Créer vos constantes en se référant aux données ci-après
- Simuler votre réseau :
 - Définir vos fonctions
 - Configurer le simulateur en utilisant les paramètres suivants :
 - Interval start : 0
 - Interval end : 160
 - Interval splitting : 160 (densité de points rapportée sur le graphique)
 - Simulateur : algorithme de Gillespie
 - 100 simulations seront réalisées.
- Analyser et commenter les résultats.

Tableau de valeur des constantes de cinétique :

Nom de la réaction	constante	valeur
Dégradation membrane	K1	100
Réparation membrane	K2	62.46
Synthèse complexes BCA et oligomère PspA	K3	0.81
Reconstruction complexe BCAF	K4	0.12
Action de la membrane endommagée sur complexe BCAF	K5	0.0454
Reconstruction du complexe BCA « intact » quand membrane intacte	K6	0.0078
Action de la membrane endommagée sur complexe « intact » BCA	K7	0.0095
Dégradation du complexe BCA « intact »	K8	0.0078
Dégradation du complexe BCA « endommagé »	K9	0.88
Dégradation de l'oligomère	K10	0.42