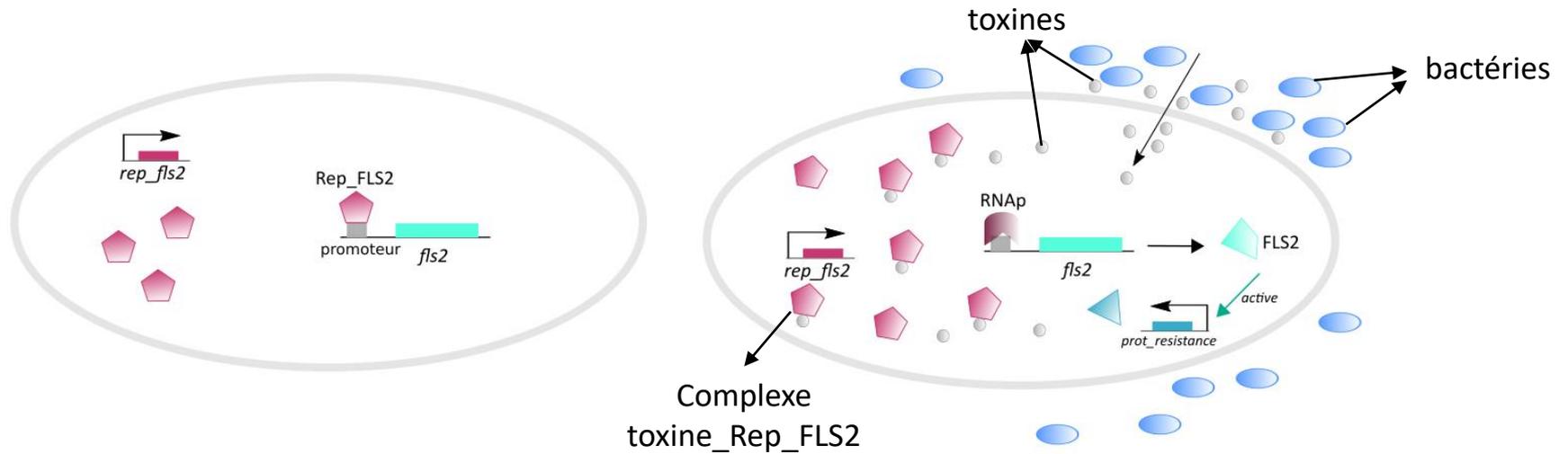


Connaissances biologiques « fictives » sur la régulation du gène *fls2*



En absence de stress (absence de bactérie) la transcription du gène *fls2* est réprimée par le répresseur Rep_FLS2 dont la transcription est constitutive (pas régulée par le réseau).

En présence de bactéries, celles-ci produisent des toxines qui pénètrent dans la cellule.

- Ces toxines sont reconnues par Rep_FLS2 qui les séquestre en formant un complexe.
- Les protéines Rep_FLS2 étant engagées dans la formation du complexe avec les toxines, libèrent le promoteur de *fls2* le rendant accessible à la RNA polymérase (RNAP), qui en se liant au promoteur, va permettre la transcription du gène et la synthèse de la protéine FLS2.
- FLS2 va à son tour activer la synthèse des protéines impliquées dans la résistance de la plante à l'attaque des bactéries
- Les toxines libres (non liées à Rep_FLS2) sont dégradées
- Tous les complexes peuvent se dissocier (Rep_FLS2_toxine, Rep_FLS2_promoteur, RNAP_promoteur) et les protéines Rep_FLS2 et FLS2 sont dégradées.

Les simplifications et les hypothèses pour la modélisation :

- On ne modélisera pas la synthèse de la RNA polymérase qui est supposée être en nombre de molécules suffisantes (100 molécules à l'état initial)
- On modélisera la synthèse de Rep_FLS2 en considérant qu'elle n'est pas régulée par le système et qu'à l'état initial 30 protéines sont présentes
- On fusionnera les étapes de transcription et de traduction en une seule étape de synthèse qui en partant du gène donnera la protéine correspondante
- Le promoteur du gène *fls2* existera sous trois formes : libre, liée à Rep_FLS2 ou lié à RNAP

Les composants du système :

- Le gène *rep_fls2*
- La protéine RFLS2
- Le promoteur du gène *fls2* libre
- Le complexe promoteur_Rep_FLS2
- Le complexe promoteur_Rnap
- La RNA polymérase (RNAP)
- Le gène *fls2*
- La protéine FLS2
- Les toxines bactériennes
- Le complexe toxine_Rep_FLS2
- Les protéines de résistance
- Le stress (présence bactéries dans l'environnement de la plante)



Le réseau de Petri contiendra 12 places

Les réactions du systèmes : 13 réactions

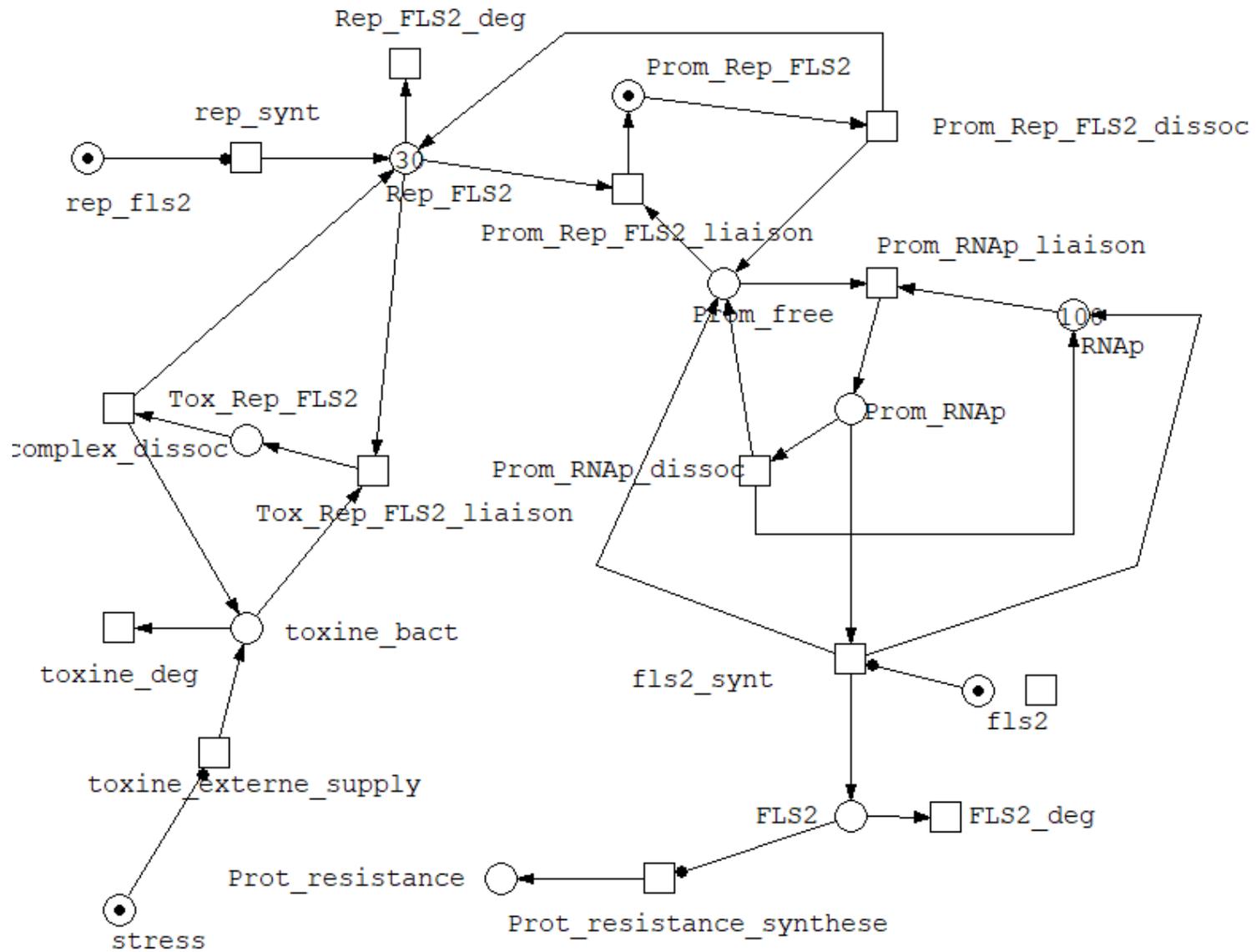
- $rep_fls2 \rightarrow Rep_FLS2 + rep_fls2$ (en minuscule le gène, majuscule la protéine)
- $Rep_FLS2 + \text{promoteur libre} \rightarrow \text{promoteur_Rep_FLS2}$ (association)
- $\text{Promoteur_Rep_FLS2} \rightarrow \text{promoteur libre} + Rep_FLS2$ (dissociation)
- $RNAP + \text{promoteur libre} \rightarrow \text{promoteur_RNAP}$ (association)
- $\text{promoteur_RNAP} \rightarrow \text{promoteur libre} + RNAP$ (dissociation)
- $\text{promoteur_RNAP} + fls2 \rightarrow FLS2 + fls2 + RNAP + \text{promoteur libre}$
- $FLS2 \rightarrow \text{protéine de résistance}$
- $\text{stress} \rightarrow \text{toxine bactérienne}$
- $\text{toxine bactérienne} + Rep_FLS2 \rightarrow \text{Toxine_Rep_FLS2}$ (formation complexe toxine-Rep_FLS2)
- $\text{Toxine_Rep_FLS2} \rightarrow \text{toxine bactérienne} + Rep_FLS2$ (dissociation complexe toxine-Rep_FLS2)
- dégradation de Rep_FLS2
- dégradation de FLS2
- dégradation des toxines bactériennes

Les conditions initiales : état du système en absence de stress

Le marquage initial des place du réseau de Petri :

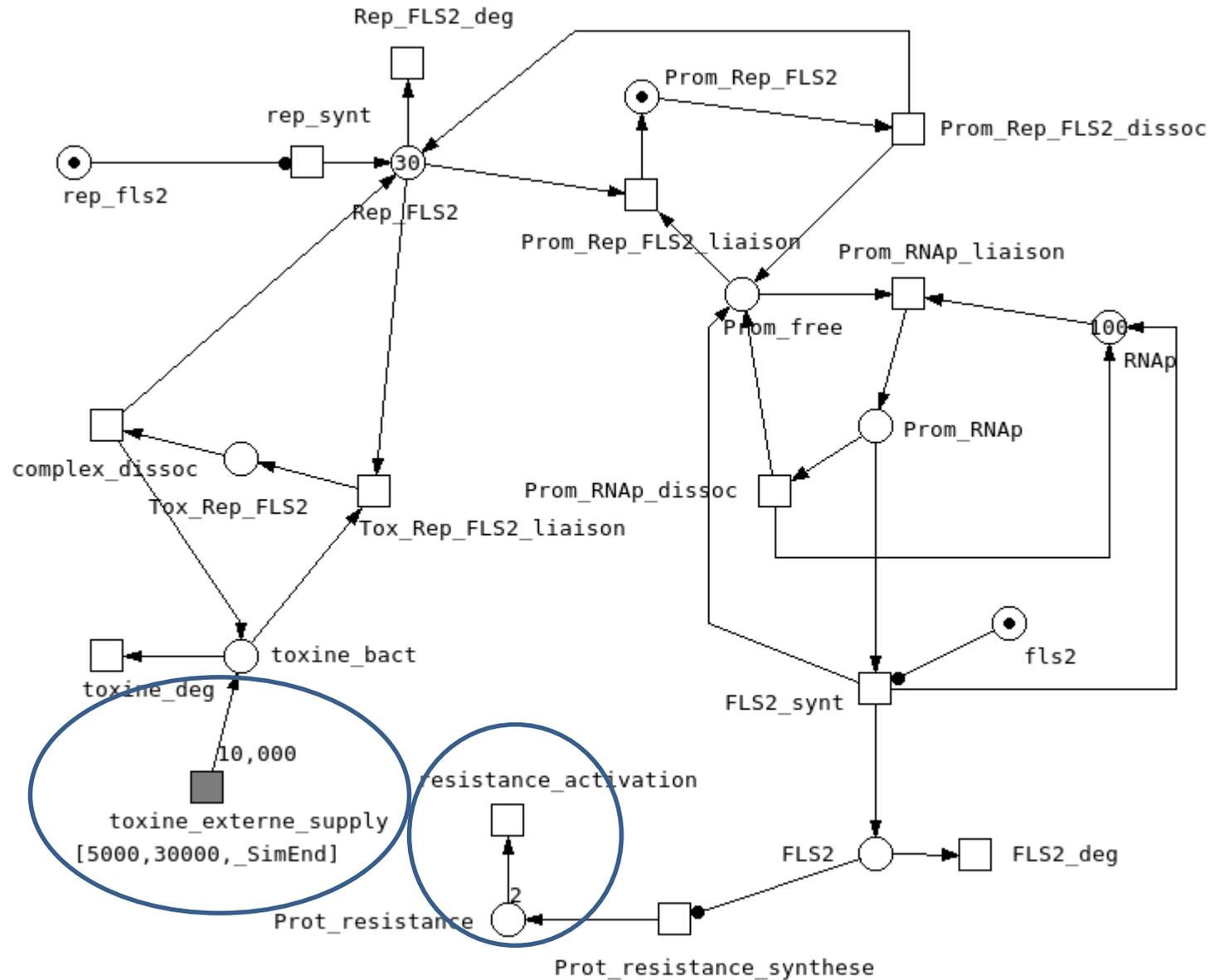
- Le gène *rep_fls2* : 1 jeton indiquant la présence du gène
- La protéine RFLS2 : 30 protéines
- Le promoteur du gène *fls2* libre : vide
- Le complexe promoteur_Rep_FLS2 : 1 jeton indiquant que le répresseur est lié au promoteur
- Le complexe promoteur_Rnap : vide
- La RNA polymérase (RNAP) : 100 protéines
- Le gène *fls2* : 1 jeton indiquant la présence du gène
- La protéine FLS2 : vide
- Les toxines bactériennes : vide
- Le complexe toxine_Rep_FLS2 : vide
- Les protéines de résistance : vide

Réseau de Petri standard

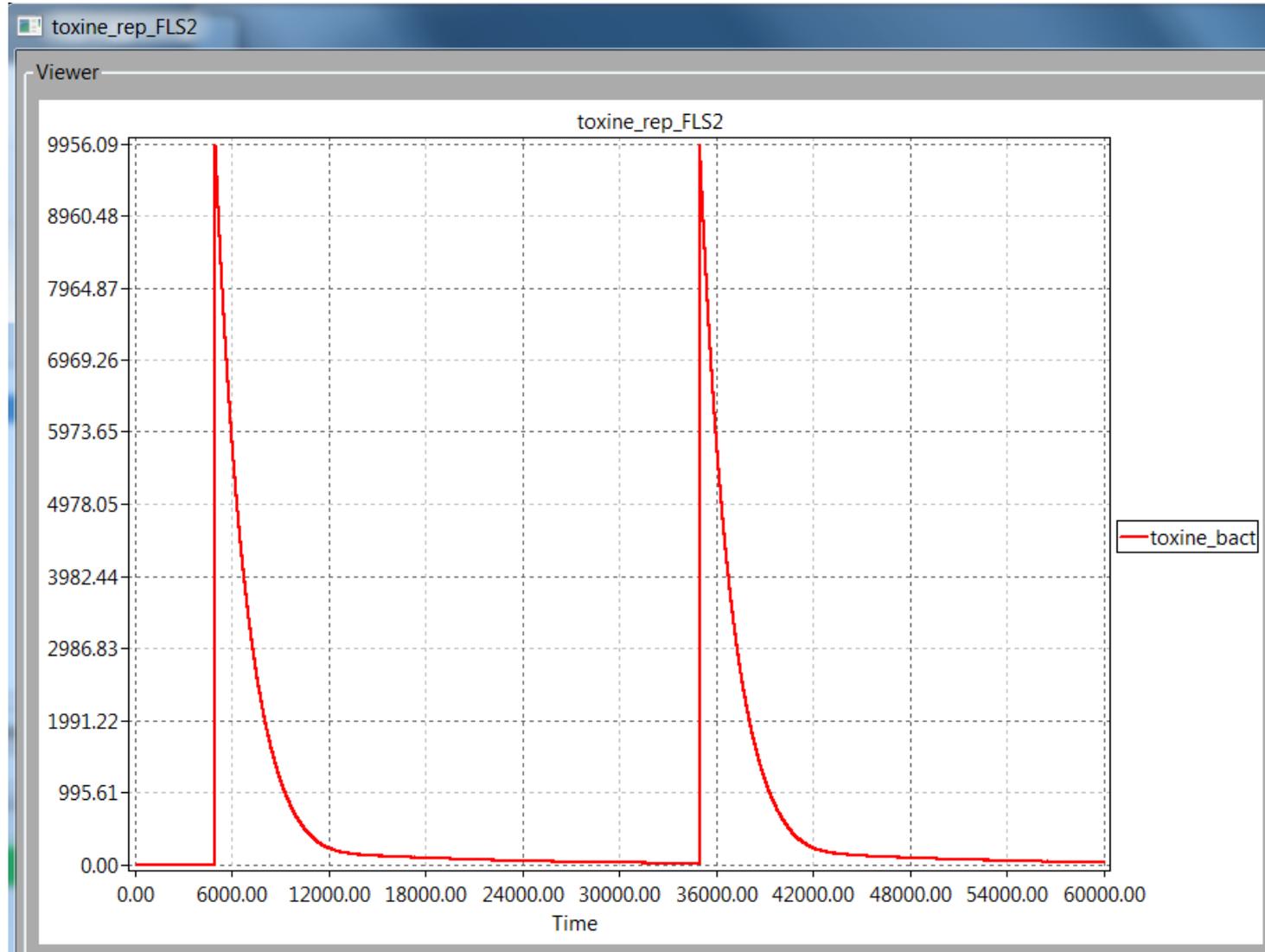


—● : arc test

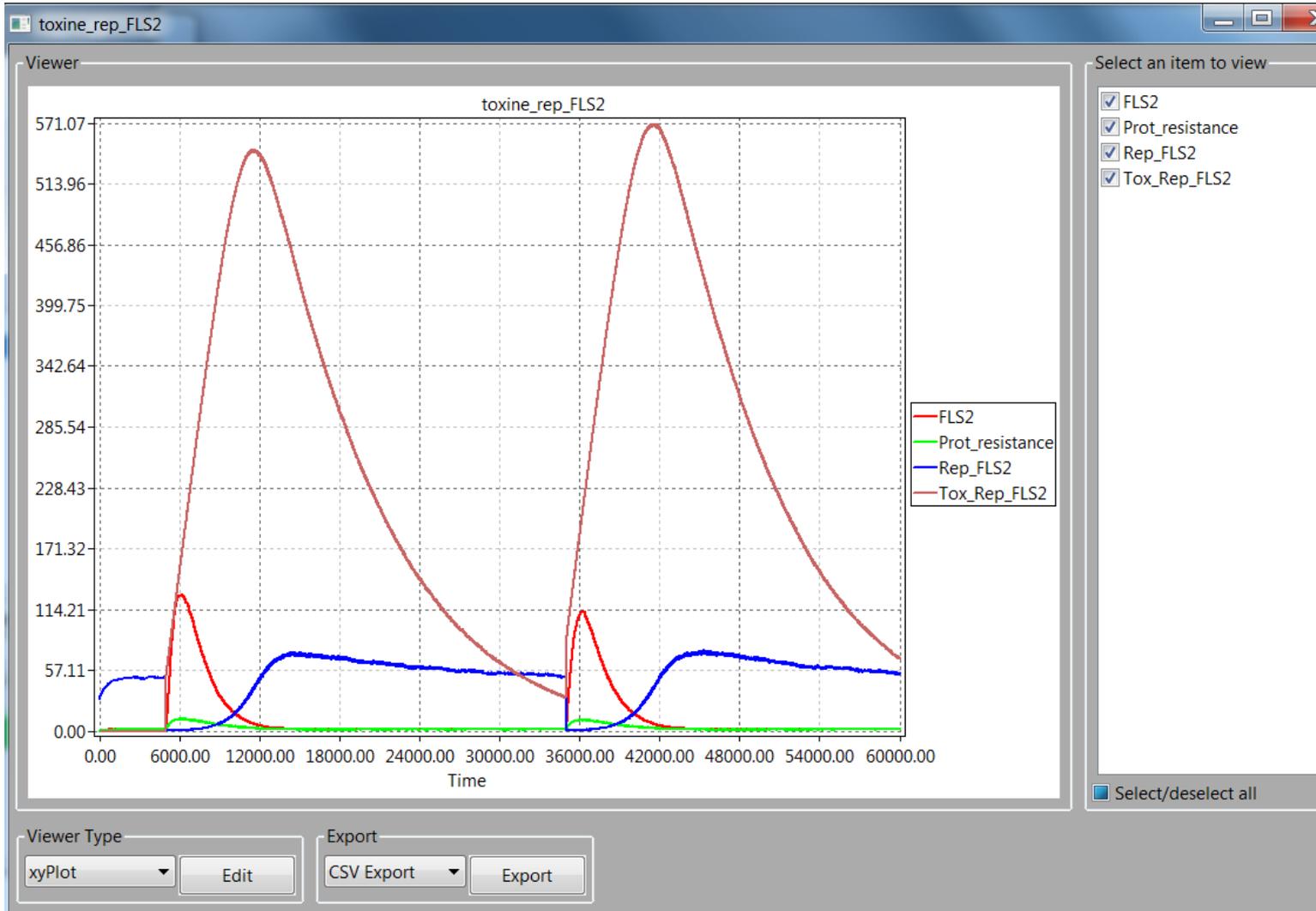
Réseau de Petri stochastique : modifications par rapport au réseau standard entourée



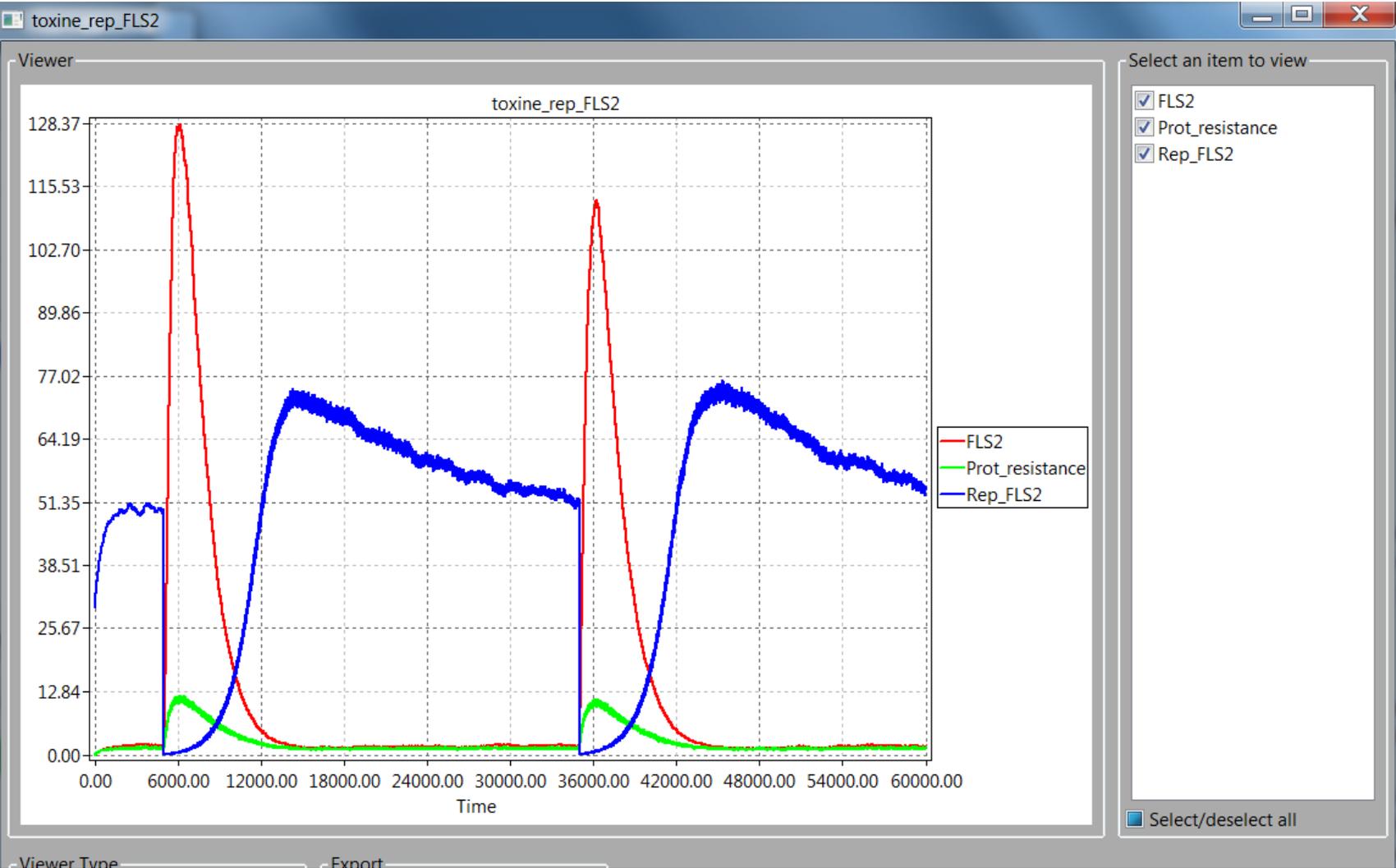
Toxines bactériennes : on obtient bien deux pulses un à 5000 et l'autre à 35000 soit 30000 plus tard. Le nombre de toxines libres décroît très rapidement, indiquant que soit elles sont séquestrées par le répresseur Rep_FLS2, soit dégradées.



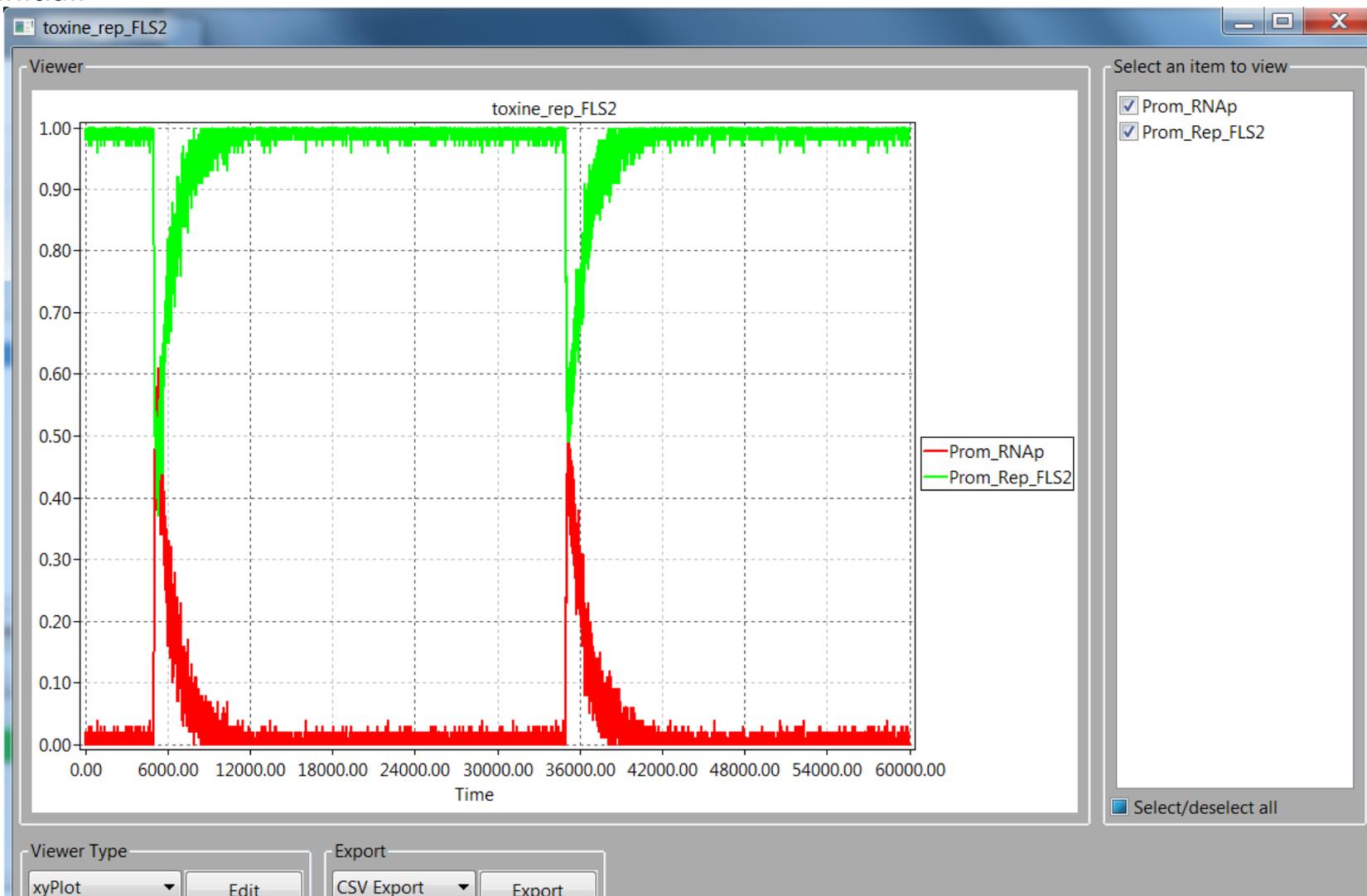
Avant l'entrée de toxine, seule des protéines Rep_FLS2 (bleue) sont présentes. Quand les toxines pénètrent dans la cellule, elles sont très vite liées par Rep_FLS2 (marron) ce qui a pour effet de réduire drastiquement le nombre de protéines Rep_FLS2 libre. De ce fait, il y a synthèse de la protéine FLS2 (le promoteur n'est plus réprimé) et de protéines de résistance dont la synthèse dépend de l'activation par FLS2.



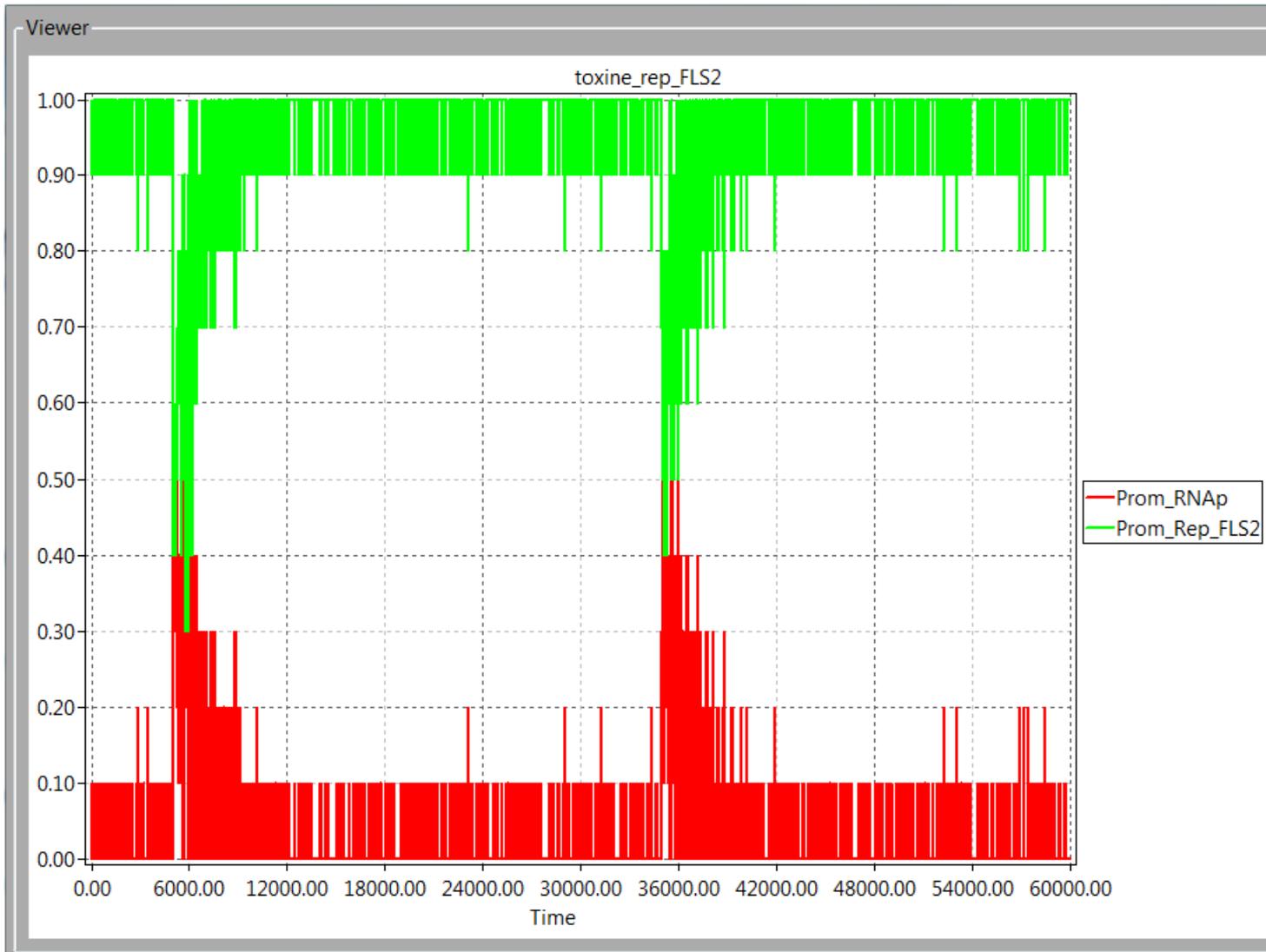
Même résultats mais sans la cinétique du complexe Toxine_Rep_FLS2 dont les quantités supérieures aux autres protéines « écrasaient » les variations des autres protéines. Le nombre de protéines de résistance apparaît plus faible car elles sont directement consommées pour activer la résistance. On voit donc que la réponse est très rapide dès que les toxines pénètrent dans la cellule (FLS2 produite rapidement et en quantité) et qu'elle se ferme aussi rapidement (après 7000 unité de temps, plus de synthèse de FLS2 et donc arrêt par conséquent de la synthèse des protéines de résistance).



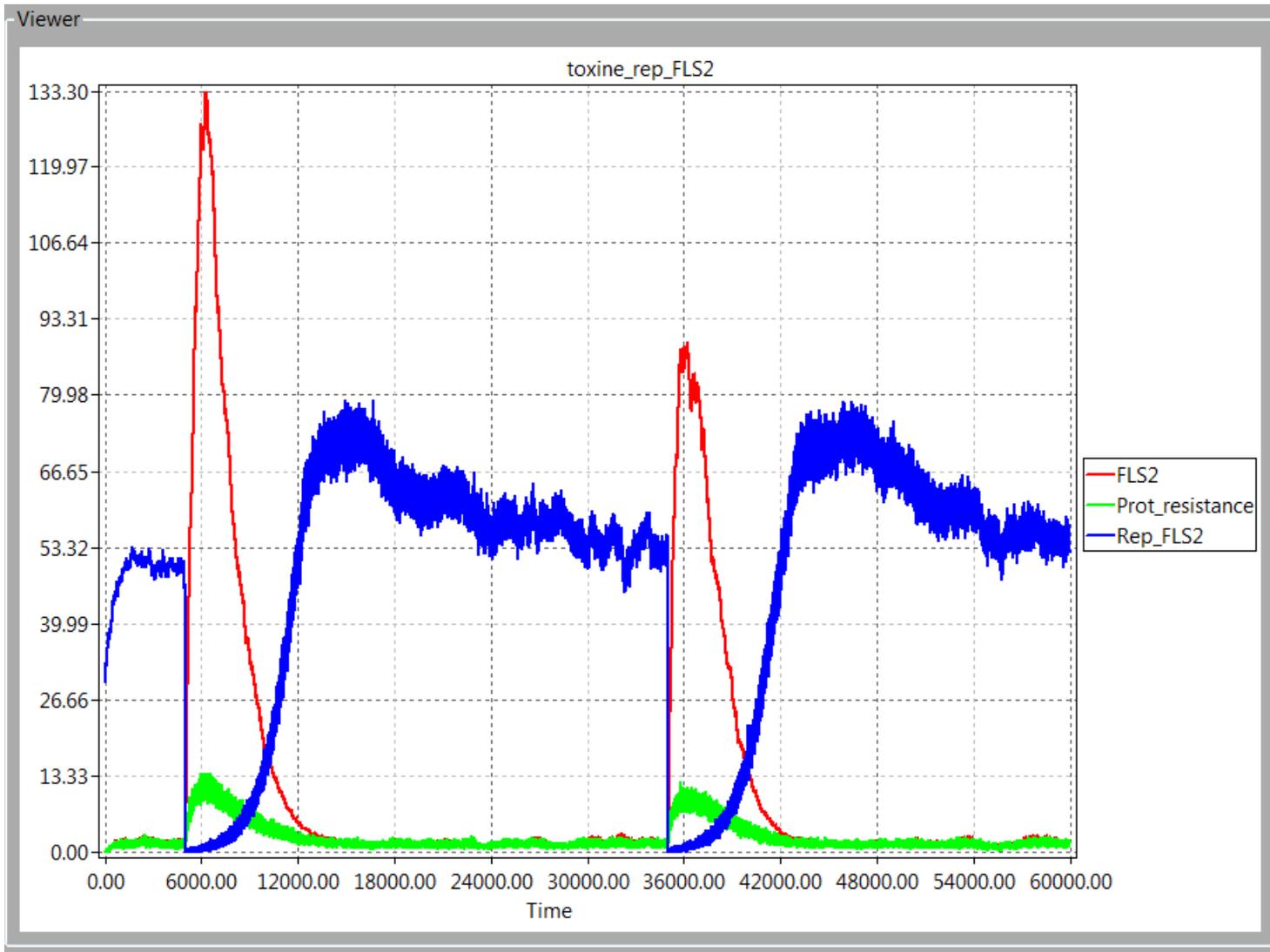
Cinétique anti-corrélée des deux formes complexées de promoteur de *fls2*. A l'état initial avant entrée de toxines, le répresseur est lié au promoteur (vert). A l'entrée des toxines, la majorité des protéines du répresseur sont engagées dans un complexe avec les toxines, le promoteur devient accessible à la RNAP (rouge). Les toxines étant rapidement dégradées, des molécules de répresseur libre réapparaissent et vont entrer en compétition avec la RNAP pour la liaison au promoteur. On revient à l'état initial.



Effet du nombre de simulations : ici seulement 10 runs. Si on compare au résultat précédent, on voit que la courbe est beaucoup moins lissée.

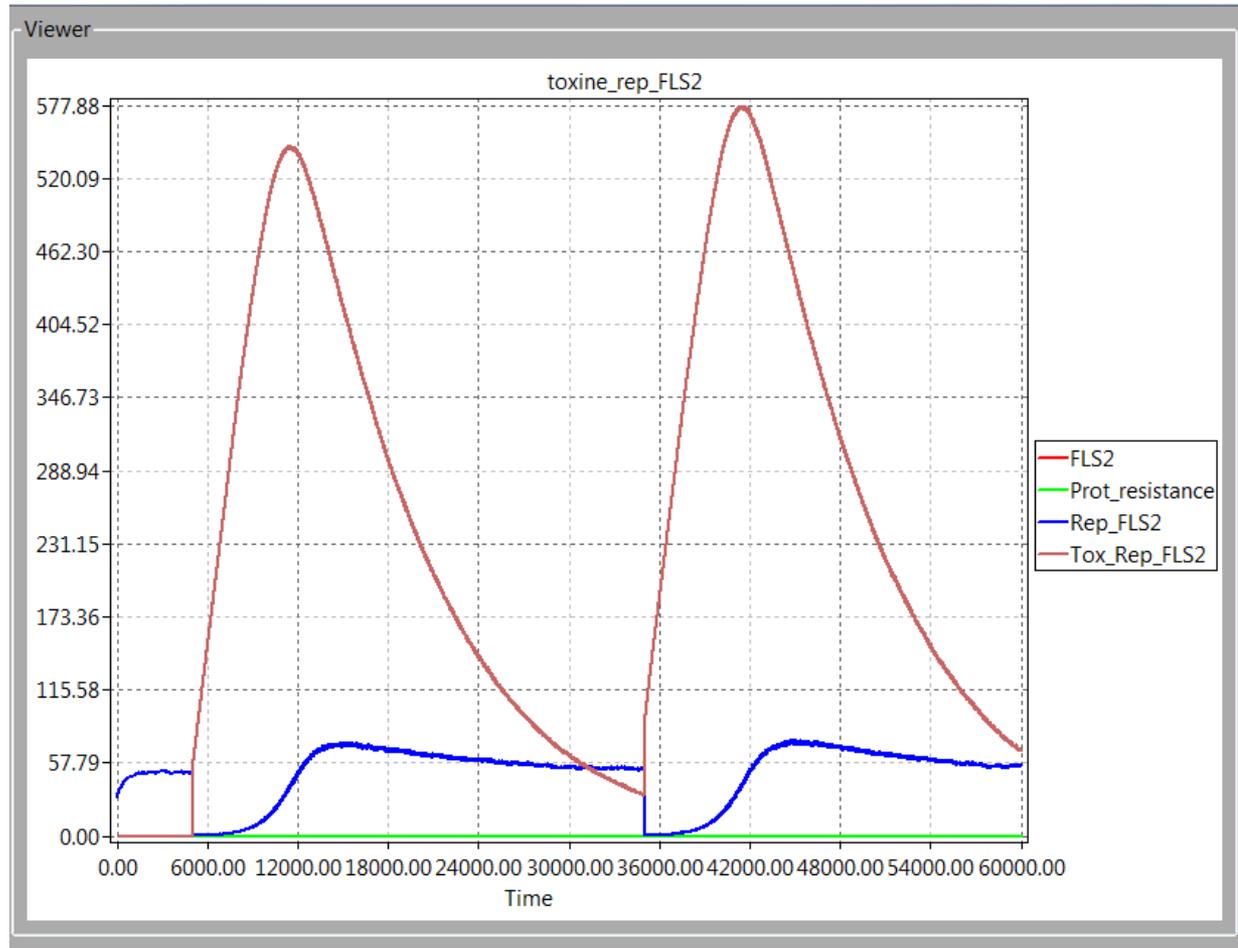


Effet du nombre de simulations : ici seulement 10 runs. De même, pour les cinétiques des protéines, les résultats sont plus chaotiques qu'avec 100 runs.

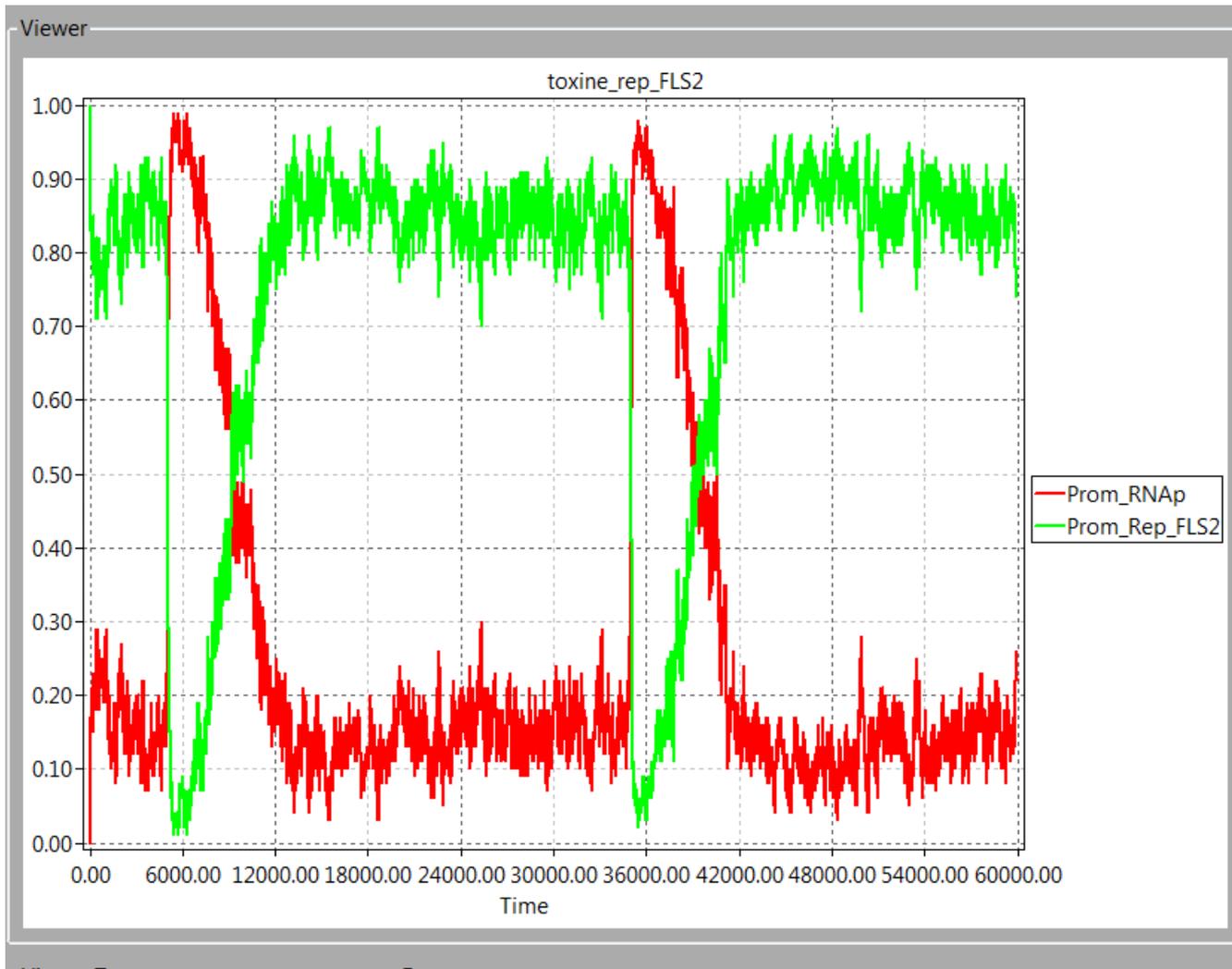


Perturbation du système : test du comportement *in silico* du système quand le gène *fls2* est muté. Cela peut être simulé en enlevant le jeton de la place *fls2*.

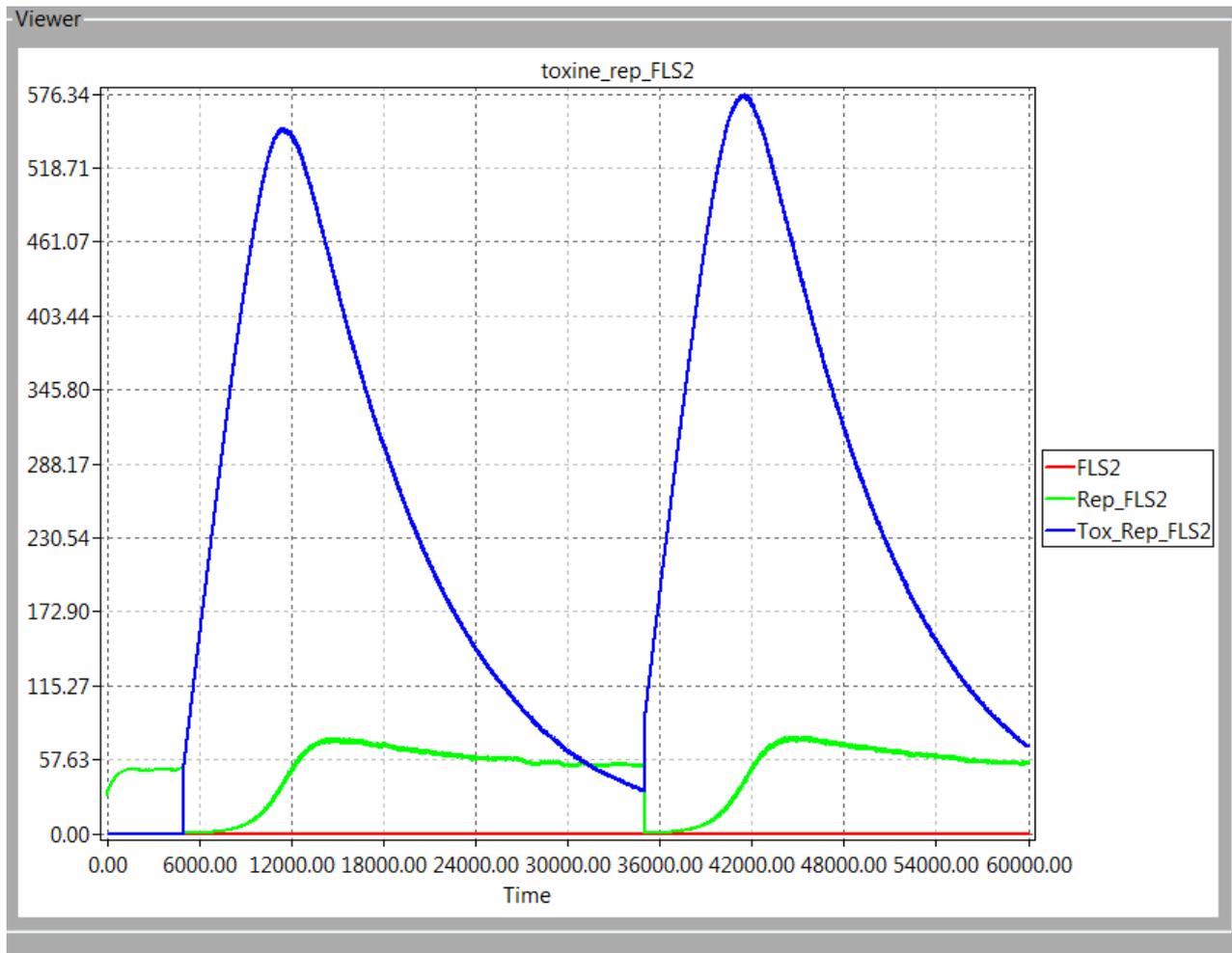
Cela n'a pas d'incidence sur la formation du complexe Toxine_Rep_FLS2, donc les cinétiques de ce complexe ainsi que celle de la protéine libre Rep_FLS2 restent inchangées par rapport au système sauvage. Par contre, il n'y a pas de synthèse de la protéine FLS2 et donc par conséquent pas de synthèse des protéines de résistance.



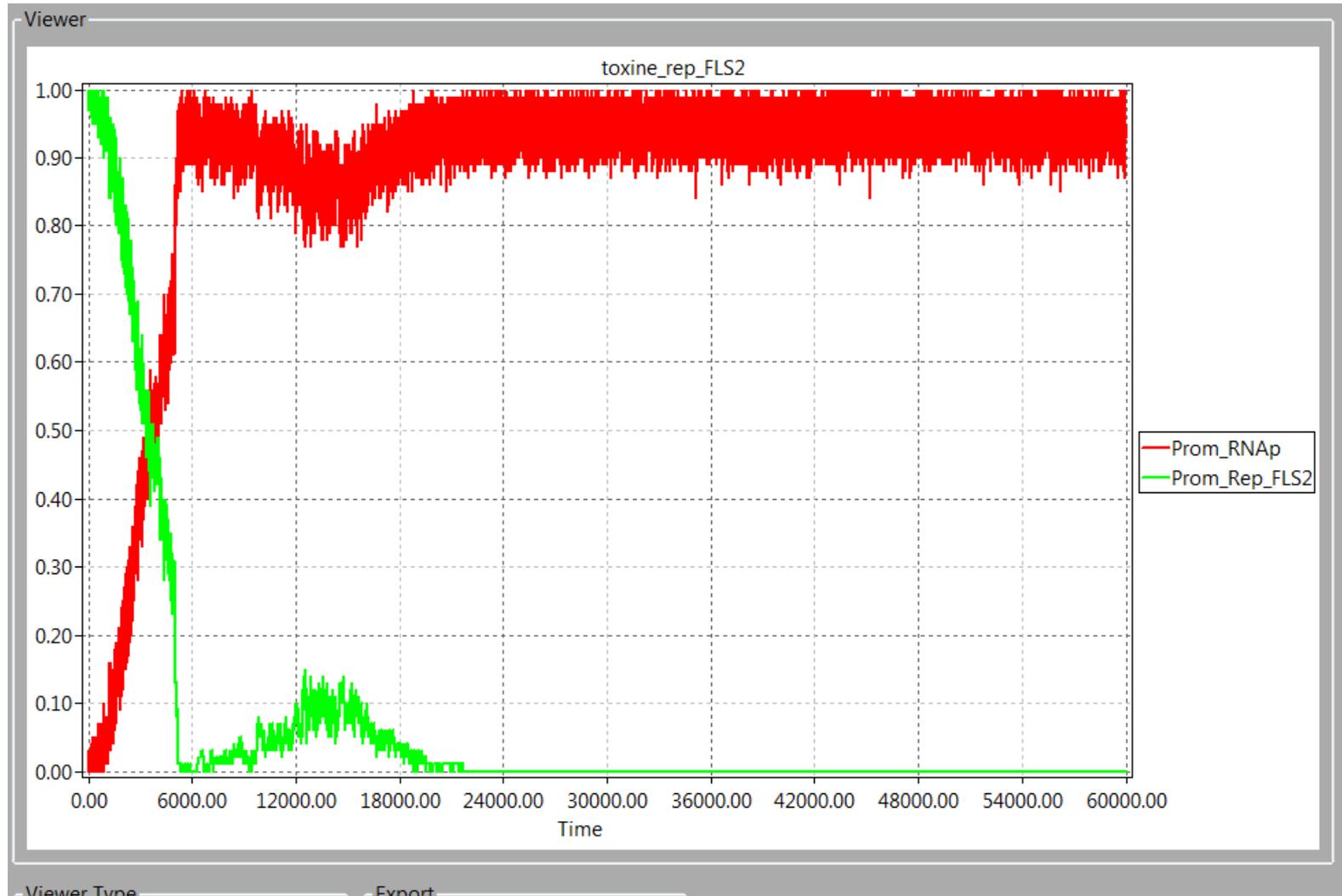
Perturbation du système : test du comportement *in silico* du système quand le gène *fls2* est muté. De même, la cinétique des deux formes liées du promoteur restent les mêmes, mais la liaison de la RNAP au promoteur de *fls2* n'entraîne pas la synthèse d'une protéine fonctionnelle.



Perturbation du système : test du comportement *in silico* du système quand le gène *fls2* et son promoteur sont mutés (voir perdus). Ceci peut être simulé en enlevant le jeton des places *fls2* et *Prom_Rep_FLS2*. Comme le promoteur est absent, pas de cinétique de ses formes liées ou libre. Comme dans le cas du mutant du gène seul, cela n'a pas d'incidence sur la formation du complexe *Toxine_Rep_FLS2*, donc les cinétiques de ce complexe ainsi que celle de la protéine libre *Rep_FLS2* restent inchangées par rapport au système sauvage. Et de même, il n'y a pas de synthèse de la protéine *FLS2* et donc par conséquence pas de synthèse des protéines de résistance.



Perturbation du système : test du comportement *in silico* du système quand le gène *rep_fls2* est muté. On considérera que l'on a quand même une quantité de protéines Rep_FLS2 à l'état initial mais que le jeton a été enlevé de la place *rep_fls2*. La quantité de promoteur lié à Rep_FLS2 décroît très vite car les protéines vont se lier aux toxines et le gène *fls2* est activé de façon constitutive par la suite.

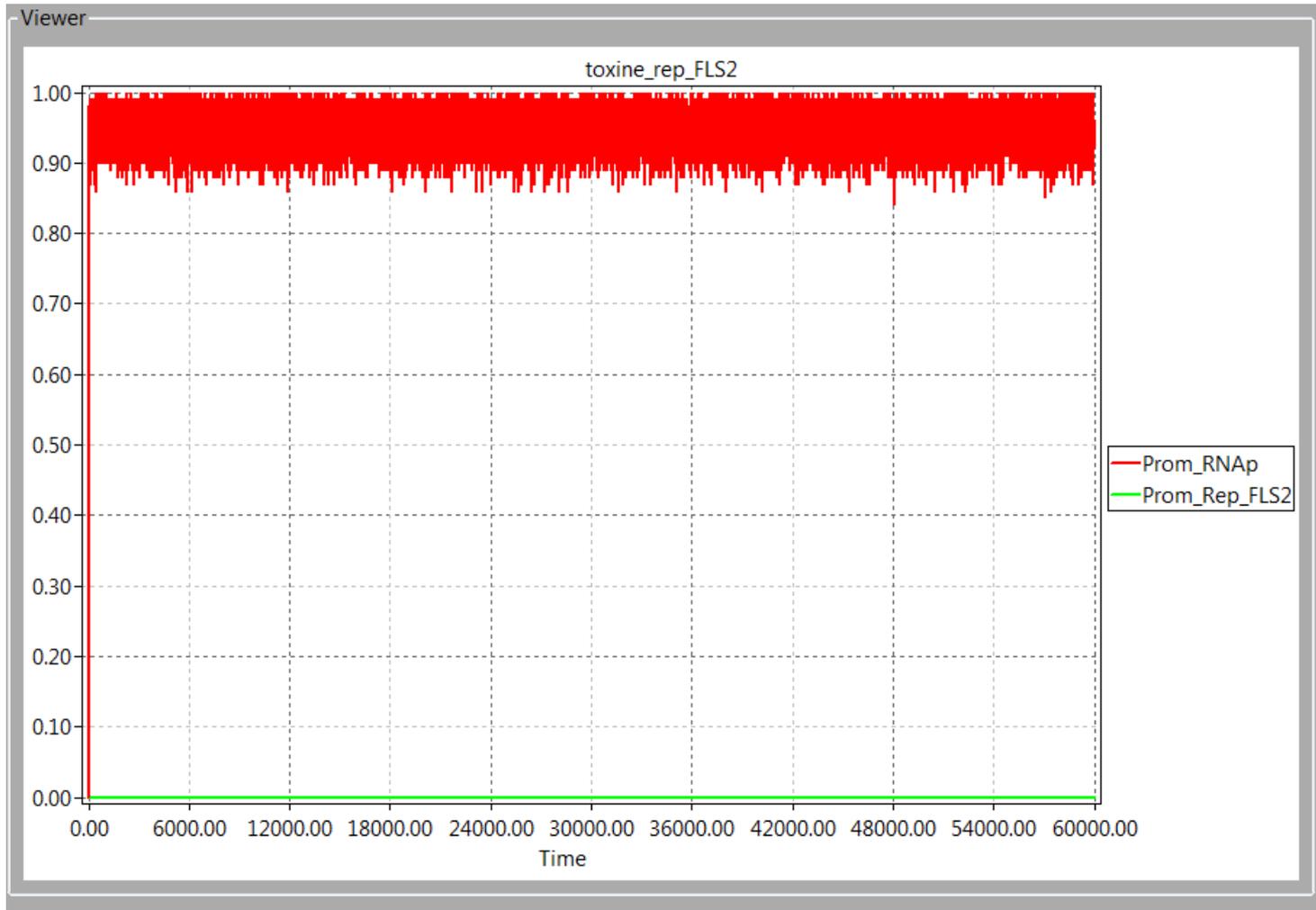


Perturbation du système : test du comportement *in silico* du système quand le gène *rep_fls2* est muté. On voit bien la synthèse continue de FLS2 et des protéines de résistance. Il n'y a plus fermeture de la réponse adaptative et les protéines FLS2 et de résistance continuent à être synthétisées même quand le signal a disparu. Au début, à l'entrée des toxines, les protéines Rep_FLS2 initiales forment un complexe avec la toxine puis disparaissent rapidement car dégradées.



Formation d'une petite quantité de complexes toxine_Rep_FLS2

Perturbation du système : test du comportement *in silico* du système quand le gène *rep_fls2* est muté, ici absence complète du répresseur (0 dans Rep_FLS2 et dans Prom_Rep_FLS2 à l'état initial). Mettre un jeton dans la place Prom_free pour indiquer l'existence du promoteur du gène fls2. On voit que la synthèse du gène n'est plus régulé.



Perturbation du système : test du comportement *in silico* du système quand le gène *rep_fls2* est muté, ici absence complète du répresseur (0 dans Rep_FLS2 et dans Prom_Rep_FLS2 à l'état initial). On voit que la synthèse du gène n'est plus régulé et la protéine FLS2 et par conséquent les protéines de résistance sont synthétisées de façon constitutive en présence ou pas de signal.

