



HAL
open science

Méthodes d'analyse de modèles de régulation cellulaire

Ibrahima Ndiaye

► **To cite this version:**

Ibrahima Ndiaye. Méthodes d'analyse de modèles de régulation cellulaire. Mathématiques [math].
Université Nice Sophia Antipolis, 2010. Français. NNT: . tel-00459987

HAL Id: tel-00459987

<https://theses.hal.science/tel-00459987>

Submitted on 25 Feb 2010

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE NICE-SOPHIA ANTIPOLIS

ECOLE DOCTORALE STIC

SCIENCES ET TECHNOLOGIES DE L'INFORMATION ET DE LA COMMUNICATION

THESE

pour obtenir le titre de

Docteur en Sciences

de l'Université de Nice - Sophia Antipolis

Mention : **Automatique Traitement du signal et des images**

Présentée par

Ibrahima NDIAYE

Méthodes d'analyse de modèles de régulation cellulaire

Thèse préparée dans le projet COMORE, INRIA Sophia-Antipolis
Dirigée par **Jean-Luc GOUZÉ**

Soutenue publiquement le 01 Février 2010 devant le jury composé de :

| | | |
|----------------------|---|---------------|
| Hassan HAMMOURI | Professeur à l'Université Lyon1 | Président |
| Gautier SALLET | Professeur à l'Université de Metz | Rapporteur |
| Anne SIEGEL | Chargée de recherches-CNRS Rennes | Rapporteur |
| Hidde de JONG | Directeur de recherches-INRIA Grenoble | Examineur |
| Jacques A. SEPULCHRE | Maître de conférences à l'Université de Nice-SA | Examineur |
| Jean-Luc GOUZÉ | Directeur de recherches INRIA Sophia Antipolis | Directeur |
| Madalena CHAVES | Chargée de recherches INRIA Sophia Antipolis | Membre invité |

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier Jean-Luc Gouzé, mon directeur de thèse. Ce travail n'aurait sans doute pas pris cette forme s'il n'avait pas été à mes côtés, toujours disponible et avec beaucoup de patience. Tout au long de ces trois années, il a su orienter mes recherches aux bons moments.

Merci également à Frédéric Grogard qui a co-encadré le Chapitre 5 et Madalena Chaves qui a co-encadré le Chapitre 6. Malgré le lourd travail de recherche qui les attendait, ils ont toujours trouvé un moment de libre pour m'aider à résoudre des problèmes. Mes remerciements vont, d'une manière générale, à tous les membres du projet COMORE.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à mon travail : A Gauthier Sallet Professeur à l'Université de Metz et Anne Siegel Chargée de recherches-CNRS qui ont bien voulu accepter de lire ce travail et d'en tirer un compte-rendu. A Hidde de Jong Directeur de recherches-INRIA et Jacques Alexandre Sepulchre Maître de conférences à l'Université de Nice Sophia-Antipolis qui ont bien voulu jouer le rôle d'examineur. Enfin, je remercie Hassan Hammouri Professeur à l'Université Lyon1 pour avoir accepté de présider le jury de cette thèse. Ses encouragements lors de mon master m'ont beaucoup motivé à entreprendre cette thèse.

Je ne saurais terminer sans remercier ma famille et mes amis pour leur soutien sans faille.

DIEUREDIEUF SERIGNE TOUBA

Table des matières

| | |
|--|-----------|
| Principaux articles | 9 |
| Introduction | 11 |
| I Modélisation de réseaux de régulation cellulaire | 15 |
| 1 Principe de la régulation cellulaire | 17 |
| 1.1 Le dogme central de la biologie cellulaire | 17 |
| 1.2 Exemple de l'opéron lactose | 19 |
| 2 Préalables pour la modélisation de réseaux de régulation cellulaire | 23 |
| 2.1 Réactions biochimiques et enzymatiques | 23 |
| 2.1.1 Réaction chimique | 23 |
| 2.1.2 Cinétique enzymatique | 25 |
| 2.2 Différentes classes de modèles de systèmes génétiques | 29 |
| 2.2.1 Modèle de régulation d'un gène | 30 |
| 2.2.2 Modélisation avec des équations différentielles ordinaires | 31 |
| 2.2.3 Modèles affines par morceaux | 32 |
| 2.2.4 Exemple : réseau d'inhibition réciproque de deux gènes | 32 |
| 2.3 Exemple de réseau métabolico-génétique : l'opéron lactose | 42 |
| II Méthodes d'étude de modèles de régulation cellulaire | 45 |
| 3 Hiérarchisation d'un modèle complexe | 47 |
| 3.1 Décomposition hiérarchique d'un graphe | 47 |
| 3.2 Description du modèle | 48 |
| 3.3 Graphe d'interaction du modèle | 50 |
| 3.4 Décomposition en composantes fortement connexes | 54 |
| 3.5 Conclusion | 55 |
| 4 Unicité et stabilité globale de l'équilibre de modèles métaboliques | 57 |
| 4.1 Définition des systèmes monotones | 57 |
| 4.2 Stabilité des systèmes monotones | 59 |
| 4.3 Application : boucle positive | 60 |

| | | |
|----------|--|------------|
| 4.4 | Stabilité globale des chaines de réactions enzymatiques | 62 |
| 4.4.1 | Réseau enzymatique fermé | 63 |
| 4.4.2 | Réseau enzymatique ouvert avec prise en compte des termes de dégradation | 65 |
| 4.4.3 | Réseau enzymatique ouvert sans les termes de dégradation | 67 |
| 4.4.4 | Conclusion | 71 |
| 4.5 | Chaîne enzymatique couplée avec des gènes | 71 |
| 5 | Etude de modèle métabolico-génétique basée sur des tech. de syst. monotones | 73 |
| 5.1 | Un théorème du petit gain | 73 |
| 5.2 | Application : réseau métabolico-génétique non monotone | 75 |
| 5.2.1 | Décomposition en deux sous-systèmes monotones | 75 |
| 5.2.2 | Monotonie des deux sous-systèmes | 76 |
| 5.2.3 | Existence des caractéristiques entrée-état | 77 |
| 5.2.4 | Bornitude des solutions du système global | 79 |
| 5.2.5 | Convergence de la fonction $u_{k+1} = (k_w o k_y)(u_k) = F(u_k)$ | 80 |
| 6 | Oscillations induced by different timescales... | 83 |
| 6.1 | Introduction | 83 |
| 6.2 | Coupling fast signalling and slow regulatory modules | 85 |
| 6.2.1 | The model | 86 |
| 6.2.2 | Different timescales | 88 |
| 6.3 | Stability analysis | 89 |
| 6.4 | Parameter identification | 93 |
| 6.4.1 | Bistability | 93 |
| 6.4.2 | Oscillations | 94 |
| 6.4.3 | Validation of different timescales hypotheses | 95 |
| 6.5 | Period, sensitivity analysis and more experiments | 95 |
| 6.5.1 | Period of the orbit | 96 |
| 6.5.2 | Model predictions and experiments | 98 |
| 6.6 | Conclusions | 99 |
| 7 | Modèle cinétique du réseau étendu de la réponse à un stress en c. chez <i>E. coli</i> | 101 |
| 7.1 | Modèle | 101 |
| 7.2 | Décomposition du modèle | 104 |
| 7.2.1 | Décomposition et étude pour $u_s = 0$ | 106 |
| 7.2.2 | Décomposition et étude pour $u_s = 1$ | 116 |
| 7.3 | Conclusion | 119 |

| | |
|--|------------|
| Conclusion | 119 |
| Bibliographie | 122 |
| Annexes | 126 |
| A Théorèmes utiles | 127 |
| A.1 Théorème de Tikhonov [67] | 127 |
| A.2 Lemme de séparation | 128 |
| B Modèle intégré de la glycolyse et la néoglucogenèse dans <i>E. coli</i> | 129 |
| C The extended carbon starvation response network [58] | 133 |
| C.1 Variables and parameters for the extended carbon starvation response network | 133 |
| C.2 Intervals for concentration and parameter values | 134 |
| D Supplementary material | 135 |
| D.1 Parameter estimates | 135 |
| D.1.1 Bistability | 135 |
| D.1.2 Oscillations | 139 |
| D.2 Period Estimates | 140 |

Résumé

L'objet de cette thèse est de proposer des méthodes originales d'étude et de réduction de modèles métabolico-génétiques. Les systèmes considérés sont constitués d'une partie génétique (réseau de gènes) et d'une partie métabolique couplée au réseau génétique. Ils sont décrits par des équations différentielles. Ces méthodes utilisent le graphe d'interaction du système, la monotonie des interactions, la réduction par différence d'échelles de temps et l'étude des modèles hybrides et linéaires par morceaux. Nous donnons dans la première partie quelques notions biologiques concernant le principe de la régulation cellulaire et des préalables pour la modélisation de réseaux de régulation cellulaire. Dans la deuxième partie, nous présentons les différentes méthodes mises en place. En premier, nous exposons une méthode basée sur la hiérarchisation et qui permet de décomposer un modèle complexe en composantes fortement connexes. Nous nous sommes ensuite intéressés à l'unicité et à la stabilité de l'équilibre de modèles métaboliques réversibles. Nous prouvons que s'il existe, l'équilibre est globalement asymptotiquement stable. Troisièmement, nous avons appliqué des méthodes d'étude de systèmes couplés basées sur des techniques de systèmes monotones à un petit exemple de modèle métabolico-génétique. L'identification paramétrique et la réduction de modèle basée sur la différence d'échelles de temps sont traitées dans le chapitre suivant. Nous terminons par un modèle composé de 14 variables qui nous est fourni par l'équipe Ibis de l'INRIA Grenoble auquel nous appliquons quelques unes de ces méthodes ; nous sommes en mesure de l'étudier dans son intégralité.

Abstract

The purpose of this thesis is to propose original methods of study and reduction of metabolic and genetic models. The considered systems consist of one genetic part (gene network) and one metabolic part coupled with the genetic network. They are described by differential equations. These methods use the interaction graph of the system, the monotony of the interactions, reduction using the timescale order of magnitude and study of hybrid and piecewise linear models. We give in the first part some notions about the biological principles of cellular regulation and for the modeling of cellular regulatory networks. In the second part, we present the different methods we have implemented. First, we outline a method based on the hierarchisation, which allows to decompose a complex model in strongly connected components. We further discuss the uniqueness and stability of the equilibrium of reversible metabolic models. We prove that if exists, the equilibrium is globally asymptotically stable. Third, we apply methods based on monotony theory to study complex systems ; we give one small example of metabolic and genetic models. Parameter identification and model reduction based upon the difference of time scales are discussed in the next chapter. We conclude with a model composed of 14 variables provided by the Ibis team of INRIA Grenoble ; we apply some of these methods, and are able to study the full model.

Principaux articles

- Article présenté à RIAMS 2006 (avec comité de lecture) qui s'est tenue à Lyon et à JOBIM 2007 à Marseille.
I. Ndiaye, F. Grogard et J. L. Gouzé, *Etude d'un petit réseau métabolico-génétique par des techniques de systèmes monotones*
- Article présenté à RIAMS 2007 (avec comité de lecture) qui s'est tenue à Lyon
I. Ndiaye, M. Chaves et J. L. Gouzé, *Un petit modèle d'interaction entre expression génétique et signalisation*
- Article présenté à Med08 (avec comité de lecture) qui s'est tenue à Ajaccio en 2008.
I. Ndiaye, M. Chaves et J. L. Gouzé, *Study and parameter identification of a model coupling cell signaling and gene expression*
- Article accepté pour une publication dans IET Systems Biology
I. Ndiaye, M. Chaves et J. L. Gouzé, *Oscillations induced by different timescales in signal modules regulated by slowly evolving protein-protein interactions*
- Article accepté à CIFA 2010 qui aura lieu à Nancy en 2010
I. Ndiaye et J. L. Gouzé, *Unicité et stabilité globale de l'équilibre de modèles métaboliques réversibles*

Introduction

La biologie moléculaire est de nos jours l'un des domaines de la biologie les plus actifs. L'usage de technologie de pointe a permis le séquençage complet de génomes fournissant ainsi d'énormes quantités de données. Ces importantes bases de données permettent de décrire certains mécanismes biologiques. Ainsi, les interactions entre les gènes, les protéines, les métabolites et d'autres molécules sont identifiées. De même, les variations de concentrations en fonction des changements dans le milieu sont aussi détectées. L'objectif des biologistes est d'arriver à une interprétation globale du fonctionnement d'un organisme. Il sera donc nécessaire d'arriver à une compréhension des réseaux d'interactions, connectés par des boucles de rétroaction positives et négatives, pour pouvoir diagnostiquer, prédire ou même corriger certains comportements.

Devant de tels réseaux, la compréhension intuitive est impossible. Il faut le concours de tous les domaines scientifiques pour arriver à produire des modèles mathématiques et à faire des simulations par ordinateur.

Néanmoins, les modèles biologiques sont souvent de très grandes tailles et sont ainsi très difficiles à manipuler. A cela s'ajoute le fait que ces modèles comprennent des variables génétiques, métabolites, de signalisation. De plus, pour un mathématicien, un système non-linéaire de dimension supérieure à 3 est souvent impossible ou difficile à étudier, reste la simulation numérique. Il s'avère donc intéressant de mettre en place de nouvelles méthodes pour ces genres de modèle. C'est dans ce cadre que s'inscrit cette thèse qui consiste à proposer des méthodes originales d'étude et de réduction de modèles métabolico-génétiques complexes. Ces méthodes utilisent les caractéristiques suivantes :

- le graphe du système (de la matrice jacobienne) ;
- la monotonie des interactions (théorie des systèmes monotones) ;
- la réduction par échelle de temps (modèle avec plusieurs échelles de temps) ;
- l'étude des modèles hybrides (discontinu en espace) et linéaires par morceaux.

Avec la collaboration du projet Ibis de l'INRIA Grenoble, nous avons pu travailler sur de vrais modèles. Toutefois, nous avons eu à appliquer des méthodes sur de petits exemples simples.

- Dans la première partie de cette thèse, nous donnons quelques notions biologiques permettant de mieux comprendre les modèles que nous aurons à traiter. Le chapitre 1 aborde le principe de la régulation cellulaire en présentant d'abord le dogme central de la biologie pour terminer sur l'exemple de l'opéron lactose. N'étant pas biologiste, je me contenterai de donner des descriptions sommaires sans trop entrer dans les détails. Le chapitre 2 donne des préalables pour la modélisation de réseaux de régulation cellulaire.
- La deuxième partie est consacrée aux différentes méthodes mises en place. Ainsi dans le chapitre 3, nous présentons une méthode basée sur la hiérarchisation et qui permet de décomposer le modèle en composantes fortement connexes. Nous l'appliquons sur un exemple de modèle à 39 variables. L'étude des chaînes enzymatiques réversibles est abordée dans le chapitre 4,

il s'agit de prouver que ces genres de systèmes admettent un équilibre globalement asymptotiquement stable. Etant donné que les systèmes biologiques ont souvent des interactions négatives donnant ainsi des systèmes non-monotones, nous présentons dans le chapitre 5, sur un petit exemple une méthode d'étude de systèmes non-monotones basée sur des techniques de systèmes monotones. Dans le chapitre 6, nous présentons sur un exemple, les techniques de réduction de modèle basées sur les différences d'échelle de temps. Toujours avec cet exemple, nous analysons comment la variation lente d'un processus lent peut engendrer le basculement d'un processus rapide d'un mode de fonctionnement à un autre. L'identification paramétrique ainsi que l'estimation de la période d'un cycle limite sont aussi faites dans ce chapitre. Le dernier chapitre consiste en l'application de quelques unes de ces méthodes sur "le modèle cinétique du réseau étendu de la réponse à un stress en carbone chez *Escherichia coli*" qui nous est fourni par le projet Ibis de l'INRIA Grenoble. Dans ce chapitre, nous utilisons la modélisation par systèmes hybrides linéaires par morceaux.

Première partie

Modélisation de réseaux de régulation cellulaire

Chapitre 1

Principe de la régulation cellulaire

Dans ce chapitre, nous faisons un rappel des notions de base concernant le mécanisme de base de l'ADN.

1.1 Le dogme central de la biologie cellulaire

Afin de mieux aborder le principe de régulation génétique et ses modélisations, nous devons tout d'abord comprendre le fonctionnement de base de la cellule et le rôle des gènes au sein de celle-ci. Nous nous limiterons dans la suite à une description très sommaire des principes (voir [46]). La cellule est comme une petite poche organique possédant une membrane qui sépare l'intérieur et l'extérieur et permet les échanges entre celle-ci et le milieu environnant. La figure 1.1 montre une cellule et les éléments qui la constituent. Ainsi les cellules prennent de manière sélective dans leur environnement les divers produits (nutriments, oxygène...) nécessaires à leur fonctionnement et y excrètent les déchets qui résultent de celui-ci. A l'intérieur de la cellule, des transformations chimiques incessantes catalysées par des enzymes se produisent. Ces réactions correspondent au métabolisme cellulaire (glycolyse, respirations, enzymes), aux voies de transduction de signal (récepteurs intracellulaires, protéines, facteurs de transcription).

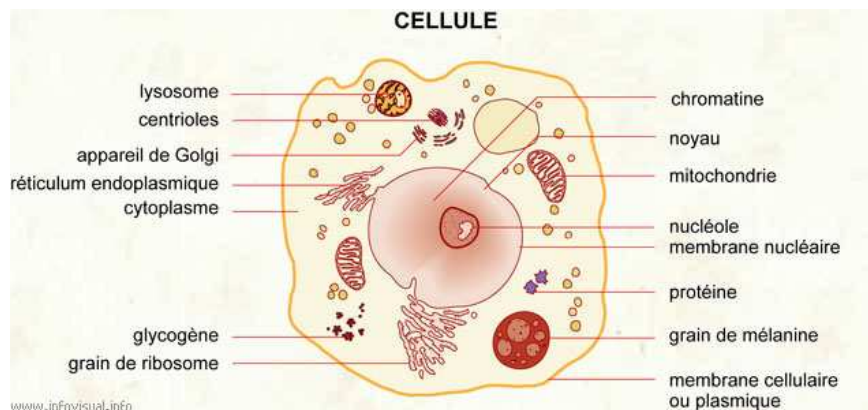


FIG. 1.1 – Cellule et les éléments qui la constituent [72]

Au sein de la cellule se trouve la molécule d'ADN qui, dans les cellules eucaryotes est contenue dans le noyau, dans les cellules procaryotes elle est contenue dans le cytoplasme. La molécule d'ADN est une macromolécule qui remplit un certain nombre de fonctions parmi lesquelles :

- le stockage d'information génétique nécessaire au développement et au fonctionnement de l'organisme,
- la transmission de cette information de génération en génération ; c'est ce qui permet l'hérédité,
- l'information portée par les ADN peut se modifier au cours du temps. Cela entraîne une diversité des individus et une évolution possible des espèces.

Pour mieux comprendre comment l'ADN remplit ces fonctions, nous allons rappeler brièvement sa structure. L'ADN est donc composée de séquences de nucléotides disposées dans deux brins se faisant face et formant une double hélice. Chaque nucléotide est constitué d'un groupe phosphate, d'un sucre (le desoxyribose), d'une base azotée ; tous ces éléments sont liés entre eux comme on peut le voir sur la figure 1.2.

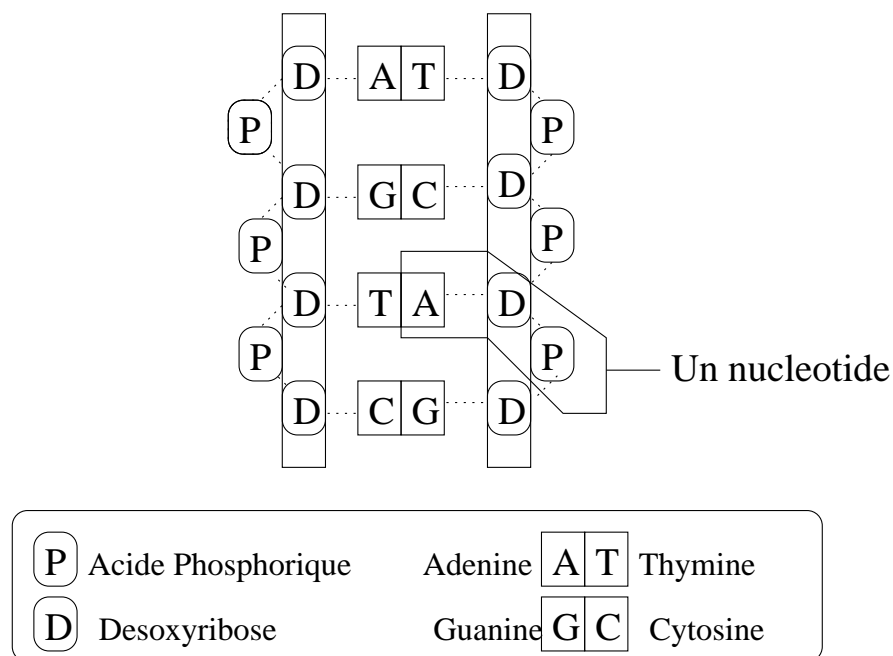


FIG. 1.2 – Structure de l'ADN

Il existe quatre bases azotées différentes : l'Adénine A, la Thymines T, la Cytosine C et la Guanine G. Par conséquent, il existe quatre nucléotides différents. Ces nucléotides sont complémentaires deux à deux : A est complémentaire de T, G est complémentaire de C. Un brin d'ADN est formé par la répétition ordonnée de ces nucléotides. Chaque nucléotide d'un brin se lie par une liaison faible (liaison hydrogène) à celle qui lui correspond dans l'autre brin. La molécule d'ADN est donc un enchainement fini de lettres sur un alphabet comportant quatre lettres $\{A, T, G, C\}$ et chaque gène est une portion de cette longue séquence. Le gène est l'unité fonctionnelle de base de l'information génétique. Il existe des gènes de structures et des gènes de régulation. Les gènes de structure contiennent l'information utilisable par la cellule pour fabriquer ses protéines. Les protéines sont des macromolécules nécessaires à la survie de la cellule. On peut citer en guise d'exemple :

- les enzymes qui catalysent toutes les réactions biochimiques du métabolisme ;
- les protéines de structure pour former les différents éléments de celle-ci.

La synthèse des protéines à partir des gènes communément appelée dogme central de la biologie cellulaire se fait en deux étapes :

- La transcription : lors de cette phase, une enzyme particulière l'ARN polymérase (ARNp) parcourt l'un des brins du gène à transcrire et le lit. A la fin de la lecture, un brin d'ARN dit messenger, complémentaire du brin parcouru est libéré. C'est une copie exacte du gène qui est ainsi effectuée lors de la transcription. La Thymine est cependant remplacée par l'Uracile.

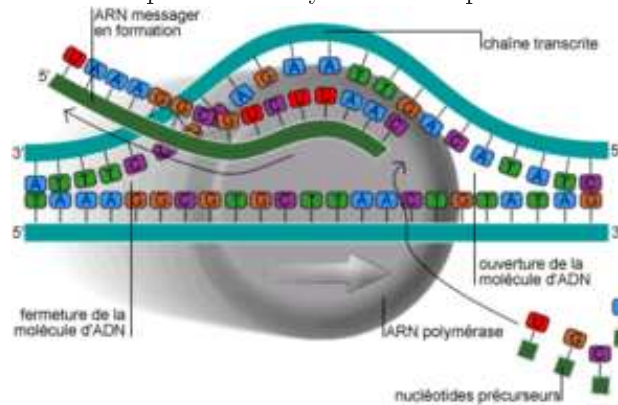


FIG. 1.3 – *Processus de transcription de l'ADN [20]*

- La traduction : l'ARNm libéré est composé de codons (groupe de trois nucléotides) parmi lesquels le codon AUG qui indique le début de la traduction et le codon-stop qui provoque l'arrêt de la traduction. Cet ARNm est parcouru par un ribosome, codon par codon et chaque codon correspond à un acide aminé excepté trois codons appelés codon-stop. Une fois le codon-stop atteint, le ribosome se détache de l'ARNm et une séquence d'acides aminés (appelées chaîne polypeptidique) est libérée et pourra prendre une configuration spatiale qui lui est propre et devenir ainsi une protéine.

La fabrication de protéines à partir de l'information portée par l'ADN suit donc les deux étapes décrites précédemment.

Etant donné que toutes les cellules de l'organisme partagent le même génome et qu'il existe différents types de cellules (exemple les cellules de la peau sont différentes des neurones), il est donc clair que les gènes spécifiques à un certain type de cellule n'ont pas à être exprimés dans un autre type de cellule. Il existe donc un ou plusieurs mécanismes dans chaque cellule capable de contrôler l'expression des gènes. Ainsi certains gènes ne sont exprimés que dans certaines cellules, à certaines périodes de la vie de l'organisme ou sous certaines conditions.

1.2 Exemple de l'opéron lactose

Pour comprendre le principe de la régulation génétique, nous allons prendre l'exemple de l'opéron lactose. Cet exemple comprend aussi des composants métaboliques. Décrit pour la première fois au début des années 60 par François Jacob et Jacques Monod, l'opéron lactose est le premier système de régulation génétique mis en évidence. Un *opéron* est une unité d'expression génétique qui comprend un ou plusieurs gènes et des séquences régulatrices qui contrôlent leurs transcriptions. Dans le cas de l'opéron lactose, il s'agit de trois gènes (*lacZ*, *lacY* et *lacA*) indispensables à la transformation du lactose par la cellule. Ces trois gènes codent pour trois protéines qui sont respectivement la

β -galactosidase, la perméase et la transacétylase. Le rôle de cette dernière est mal connu quant aux deux autres protéines, leur rôle est de permettre à la cellule de s'alimenter en lactose. La perméase permet de faire pénétrer à l'intérieur de la cellule les lactoses présentés dans le milieu extra-cellulaire, quant à la β -galactosidase, elle permet la dégradation du lactose intra-cellulaire en glucose. Ces trois gènes sont précédés d'une région qui régule leur expression. Cette région comprend l'opérateur qui est une région où se fixe un represser pour contrôler l'expression des gènes et le promoteur qui est une région en amont du site d'initiation de la transcription sur laquelle l'ARN polymérase peut se lier. En amont de l'opéron lactose, on trouve un gène régulateur *lacI* qui code pour une protéine régulatrice. Cette protéine intervient dans le contrôle de l'expression des gènes en se fixant sur l'opérateur. Elle peut ainsi activer ou réprimer spécifiquement la transcription des gènes. Pour mieux comprendre le fonctionnement de l'opéron lactose, nous allons prendre deux cas à savoir en présence et en absence de lactose. Nous n'entendons pas donner le détail du système de régulation de l'opéron lactose, nous nous limiterons juste à une description très sommaire du principe d'activation ou d'inhibition des gènes structuraux. Ceux qui voudraient plus de détails peuvent consulter [16, 68].

- En absence de lactose

En absence de lactose, la protéine régulatrice va se lier spécifiquement au niveau de l'opérateur de l'opéron lactose bloquant l'accès de l'ARN polymérase au site d'initiation de la transcription. Les gènes de structure ne sont donc pas transcrits car les enzymes correspondant sont inutiles en absence de lactose. Il y a ainsi une régulation négative de la transcription des gènes de l'opéron lactose.

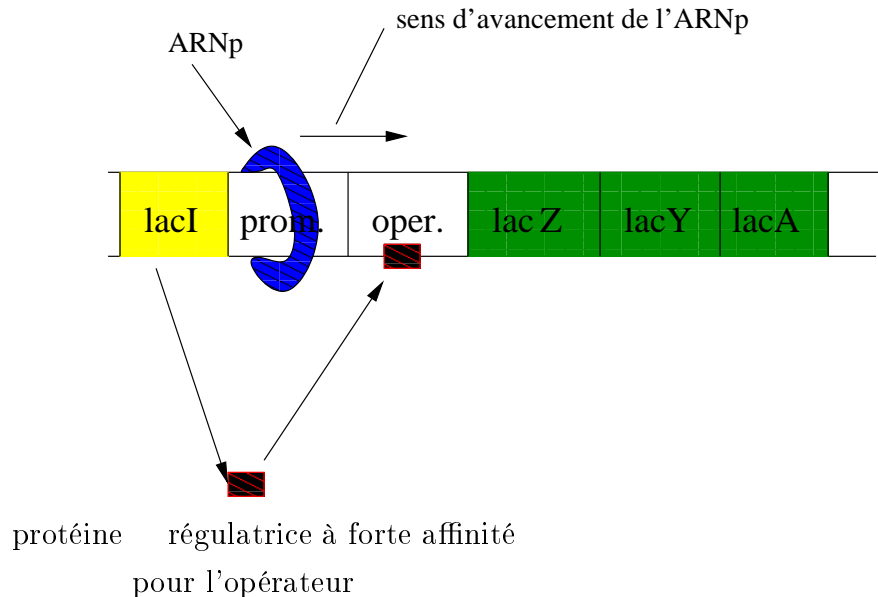


FIG. 1.4 – Inhibition de l'expression des gènes de structure de l'opéron lactose. L'ARNp peut se lier au promoteur mais est bloqué au niveau de l'opérateur.

- En présence de lactose

En présence de lactose, l'allolactose, un isomère du lactose, se lie à la protéine régulatrice changeant ainsi sa conformation. Ceci entraîne la perte de l'affinité de cette protéine pour l'opérateur. Le site de l'opérateur est donc libéré et l'ARN polymérase peut atteindre le site d'initiation de la transcription. Ainsi les enzymes nécessaires au métabolisme du lactose sont

synthétisées et remplissent leur rôle.

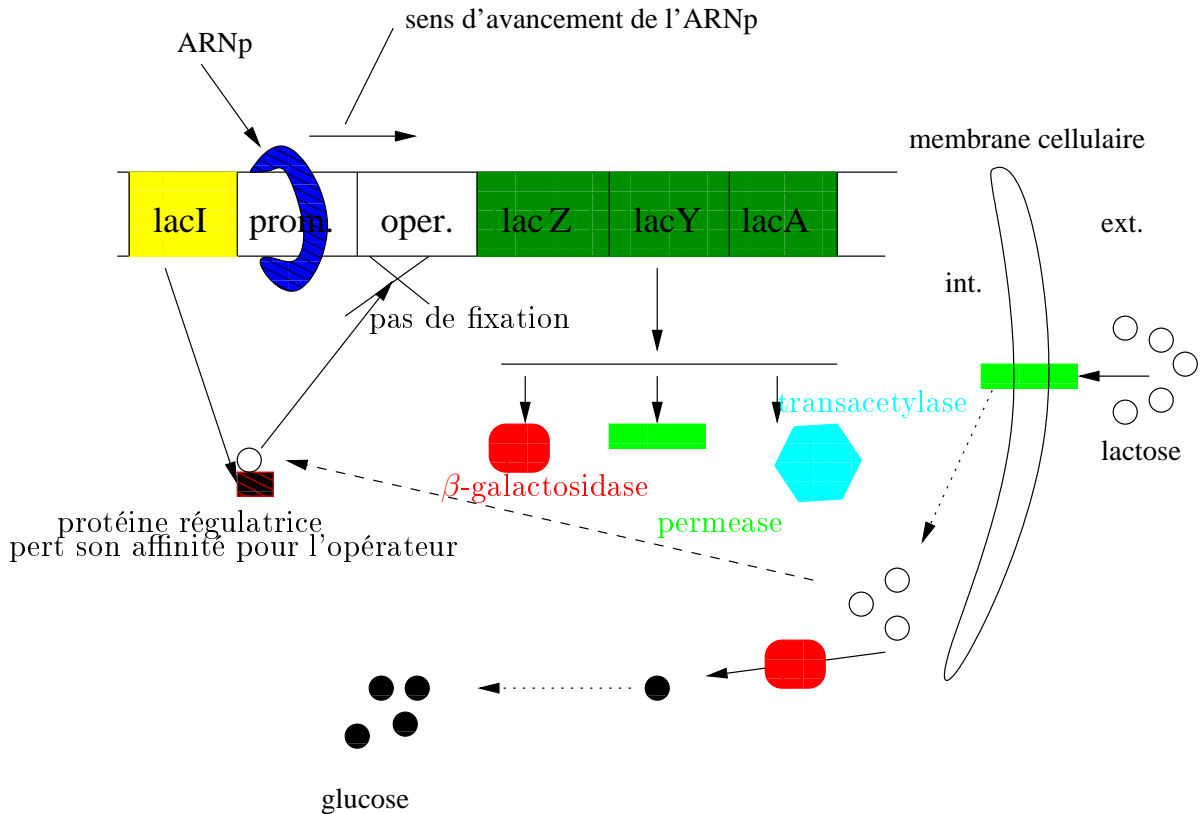


FIG. 1.5 – Schéma simplifié des interactions de l'opéron lactose. Nous n'avons pas représenté toutes les réactions, nous voulons juste montrer le système de régulation de la transcription des gènes structuraux

La description précédente de l'opéron lactose ne tient pas compte de toutes les réactions. Nous nous sommes juste intéressés à la partie génétique. Par exemple, dans l'opéron lactose, il y a aussi une partie métabolique (transformation du lactose en glucose catalysé par l'enzyme β -galactosidase). Si l'on voulait plus de précision, on prendrait en compte les réactions métaboliques environnantes car un réseau n'est jamais purement génétique. Ainsi pour mieux décrire un réseau, il faut considérer les réactions chimiques, enzymatiques et génétiques de même que leur interaction. De nombreux modèles ont été écrits sur l'opéron lactose (voir [16, 68]). Dans la section 2.3, nous présentons un modèle de l'opéron lactose. Nous allons dans la suite donner des préalables pour modéliser des réactions chimiques, enzymatiques et génétiques.

Chapitre 2

Préalables pour la modélisation de réseaux de régulation cellulaire

Nous donnons dans ce chapitre quelques rappels sur les modélisations classiques pour les réactions chimiques, métaboliques et les régulations génétiques.

2.1 Réactions biochimiques et enzymatiques

Dans cette section, nous allons nous intéresser aux réactions enzymatiques et à leur modélisation. Nous n'allons pas trop entrer dans les détails biologiques, ceux qui voudraient de plus amples explications peuvent se référer à [7]. Les réactions enzymatiques sont des réactions catalysées par des enzymes qui jouent le rôle d'accélérateur de réactions. Les enzymes sont donc des macromolécules, des protéines ou des ARN qui accélèrent suffisamment la vitesse des réactions pour qu'elles soient compatibles avec le fonctionnement de l'organisme. Les enzymes jouent donc un rôle capital dans le fonctionnement de la cellule. Pour aider à la compréhension de la cinétique enzymatique, nous allons tout d'abord rappeler les principes de la cinétique chimique.

2.1.1 Réaction chimique

Une réaction chimique est une transformation de la matière au cours de laquelle les espèces chimiques (atomiques, ioniques ou moléculaires) qui constituent la matière sont modifiées : les espèces qui sont consommées sont appelées réactifs et les espèces formées au cours de la réaction sont appelées produits (de réaction). La figure 2.1 représente une réaction chimique où a et p représentent les coefficients stoechiométriques, A est le réactif, P le produit, k_1 est la constante de vitesse de la réaction directe et k_{-1} celle de la réaction inverse.

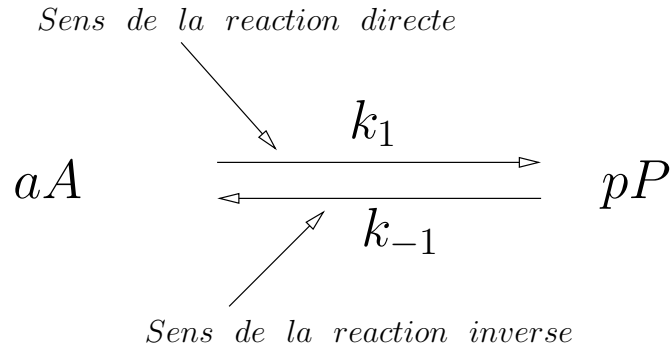


FIG. 2.1 – Représentation d'une réaction chimique

Vitesse de réaction

En considérant une réaction chimique, lorsque la réaction progresse, les réactifs de départ disparaissent alors que les produits se forment. On assiste alors à une variation des concentrations des réactifs et des produits au cours du temps. La mesure de la rapidité de ces changements de concentrations est appelée vitesse de réaction. Ainsi en 1867, Guldberg et Waage établissent la loi d'action de masses qui dit que : à température constante, la vitesse des réactions est proportionnelle au produit des concentrations des réactifs. Chaque réactif est élevé à une puissance égale à son coefficient stoechiométrique.

En considérant ainsi la réaction $\alpha A + \beta B \rightarrow P$, alors la vitesse est donnée par

$$v = k[A]^\alpha[B]^\beta$$

où k représente la constante de vitesse, $[A]$ et $[B]$ représentent respectivement les concentrations des réactifs A et B .

Ordre d'une réaction

L'ordre d'une réaction décrit la cinétique de la réaction et se déduit directement de la loi d'action de masse. En prenant une réaction telle que la vitesse soit égale à $v = k[A]^\alpha[B]^\beta$, l'ordre de cette réaction est égale à : $\sigma = \alpha + \beta$.

Réseau de réactions chimiques

Un réseau de réactions chimiques est constitué d'un ensemble de réactions chimiques élémentaires. La figure 2.2 représente un réseau de réactions chimiques composé de quatre réactions élémentaires. Chaque réaction correspond à une flèche. Les réactants apparaissent à gauche des flèches, les constantes cinétiques au dessus des flèches et les produits à droite. Les espèces chimiques (les réactants et les produits) sont A , B et C . Les constantes cinétiques sont k_1 , k_2 , k_3 et k_4 .

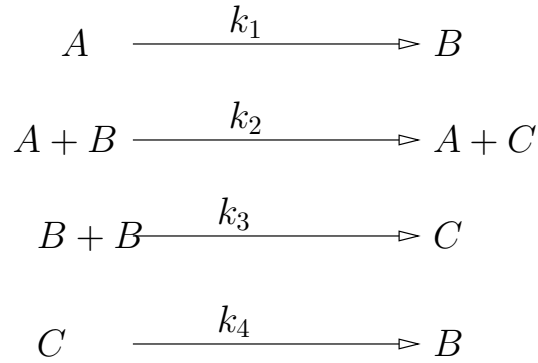


FIG. 2.2 – Réseau de réactions chimiques

Le modèle mathématique de ce réseau est donné par :

$$\begin{cases} \frac{dA}{dt} = -k_1 A \\ \frac{dB}{dt} = k_1 A - k_2 AB - 2k_3 B^2 + k_4 C \\ \frac{dC}{dt} = k_2 AB + k_3 B^2 - k_4 C \end{cases} \quad (2.1)$$

Ce modèle peut aussi s'écrire par la formule suivante :

$$\dot{x} = NV(x)$$

où N est la matrice stoechiométrique, V est le vecteur des vitesses de réactions. Pour l'exemple précédant :

$$N = \begin{pmatrix} -1 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & -1 & -2 & 1 \\ 0 & 1 & 1 & -1 \end{pmatrix}, \quad V = \begin{pmatrix} k_1 A \\ k_2 AB \\ k_3 B^2 \\ k_4 C \end{pmatrix} \quad \text{et} \quad \dot{x} = \begin{pmatrix} \frac{dA}{dt} \\ \frac{dB}{dt} \\ \frac{dC}{dt} \end{pmatrix}$$

Après ce petit rappel sur les réactions chimiques, nous allons maintenant nous intéresser à la cinétique enzymatique.

2.1.2 Cinétique enzymatique

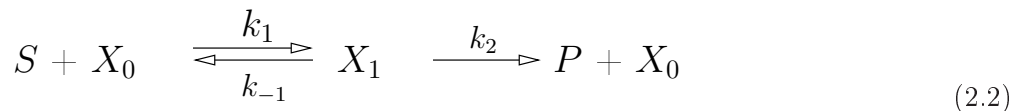
Comme nous l'avons rappelé dans l'introduction de cette partie, les enzymes sont des catalyseurs. Le tableau (2.1) extrait de [36] met en relief le facteur d'accroissement de la vitesse de la réaction par une enzyme. On comprend mieux à travers ce tableau le rôle des enzymes.

| Enzyme | Vit. non enzymatique (s^{-1}) | Vit. enzymatique (s^{-1}) | F. d'accrois. |
|----------------------|-----------------------------------|-------------------------------|---------------|
| Chymotrypsine | 410^{-9} | 410^{-2} | 10^7 |
| Uréase | 310^{-10} | 310^4 | 10^{14} |
| Phosphatase alcaline | 10^{-15} | 10^2 | 10^{17} |

TAB. 2.1 – Ce tableau montre à quel point l'enzyme peut augmenter la vitesse d'une réaction. L'étape suivante consistera maintenant à expliciter cette vitesse de réaction

L'équation de vitesse du mécanisme irréversible

En 1913, Michaelis et Menten ont mené des études sur une réaction enzymatique simple impliquant une seule enzyme. Considérons la réaction constituée d'un substrat noté S , d'une enzyme notée X_0 et d'un produit noté P . Michaelis et Menten proposent le schéma suivant : nous nous référons à [48] et [15]. L'enzyme forme un complexe transitoire X_1 avant de revenir à sa forme initiale, donnant ainsi le produit P à partir du substrat S .



Le modèle est donné par :

$$\begin{cases} \frac{ds}{dt} = -k_1sx_0 + k_{-1}x_1 \\ \frac{dx_0}{dt} = -k_1sx_0 + k_{-1}x_1 + k_2x_1 \\ \frac{dx_1}{dt} = k_1sx_0 - k_{-1}x_1 - k_2x_1 \\ \frac{dp}{dt} = k_2x_1 \end{cases} \quad (2.3)$$

où s , x_0 , x_1 et p représentent respectivement les concentrations de S , X_0 , X_1 et P .

Remarque.

$$\frac{dx_0}{dt} + \frac{dx_1}{dt} = 0$$

ceci signifie que

$$x_0 + x_1 = E(\text{cst})$$

La quantité d'enzyme (sous sa forme libre et sous la forme de complexe enzyme-substrat) reste constante au cours du temps.

Les concentrations de S , X_0 et X_1 étant indépendantes de la concentration de P , nous pouvons isoler la dernière équation.

En remplaçant x_0 par $E - x_1$, on obtient le système suivant :

$$\begin{cases} \frac{ds}{dt} = -k_1Es + (k_{-1} + k_1s)x_1 \\ \frac{dx_1}{dt} = k_1Es - (k_{-1} + k_2 + k_1s)x_1 \end{cases} \quad (2.4)$$

Pour trouver l'équation de Michaelis-Menten, les biologistes utilisent l'hypothèse de la quasi-stationnarité qui consiste à dire que la concentration du complexe transitoire atteint rapidement une valeur constante d'où

$$\frac{dx_1}{dt} = 0$$

Cette hypothèse est à prendre avec beaucoup d'attention. Il faudrait trouver les conditions pour lesquelles cette approximation peut être faite. Le meilleur moyen est d'a-dimensionner le système (2.10).

Prenons une nouvelle base de temps τ telle que $\tau = k_1Et$ et faisons les changements de variables

suivants : $s^*(\tau) = \frac{s(t)}{s_0}$ et $x_1^*(\tau) = \frac{x_1(t)}{E}$. Posons $\epsilon = \frac{E}{s_0}$, $K = \frac{k_{-1}+k_2}{k_1 s_0}$, $\lambda = \frac{k_2}{k_1 s_0}$, le système (2.10) devient :

$$\begin{cases} \frac{ds^*}{d\tau} = -s^* + (K - \lambda + s^*)x_1^* \\ \epsilon \frac{dx_1^*}{d\tau} = s^* - (K + s^*)x_1^* \end{cases} \quad (2.5)$$

Hypothèse 1. On suppose que s_0 est très grand devant E

Si l'hypothèse 1 est vérifiée, alors ϵ sera très petit. Le système (2.5) est donc un système lent/rapide et x_1^* correspond à la variable dont l'évolution est rapide. On applique le théorème de Thikonov (voir annexe A.1). Le nouveau système s'écrit alors :

$$\begin{cases} \frac{ds^*}{d\tau} = -s^* + (K_m - \lambda + s^*)x_1^* \\ 0 = s^* - (K + s^*)x_1^* \end{cases} \quad (2.6)$$

Cette démonstration justifie mieux l'hypothèse de quasi-stationnarité. La résolution du deuxième équation implique

$$x_1^* = \frac{s^*}{K + s^*}$$

En remplaçant x_1^* dans la première équation, nous obtenons

$$\frac{ds^*}{d\tau} = \frac{-\lambda s^*}{K + s^*} \quad (2.7)$$

En redimensionnant l'équation (2.7), nous obtenons

$$\begin{aligned} \frac{1}{k_1 s_0 E} \frac{ds}{dt} &= - \frac{k_2 s(t)}{k_1 s_0^2 \left(\frac{k_{-1}+k_2}{k_1 s_0} + \frac{s(t)}{s_0} \right)} \\ \frac{ds}{dt} &= - \frac{k_2 E s(t)}{\frac{k_{-1}+k_2}{k_1} + s(t)} \end{aligned}$$

En posant $K_M = \frac{k_{-1}+k_2}{k_1}$

$$\boxed{V_r = -\frac{ds}{dt} = \frac{k_2 E s(t)}{K_M + s(t)}} \quad (2.8)$$

La vitesse de la réaction (2.2) V_r est appelée équation quasi-stationnaire de Michaelis-Menten : $k_2 E$ est la vitesse maximale que peut atteindre la réaction lorsque la concentration en substrat s tend vers $+\infty$ et K_M est la constante de Michaelis. L'allure de V_r est représentée dans la figure 2.3

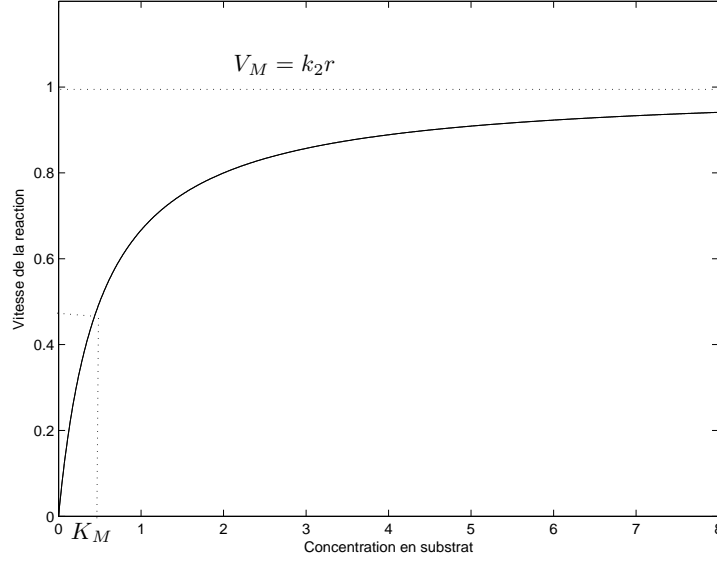
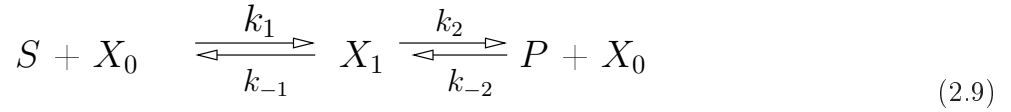


FIG. 2.3 – Allure de la vitesse de la réaction (2.2) en fonction de la concentration du substrat s

L'équation de vitesse du mécanisme réversible

Dans [7], on peut lire que en principe toutes les réactions catalysées par des enzymes sont réversibles et que en réalité de nombreuses réactions importantes en biochimie sont réversibles. Il s'avère donc intéressant de compléter le modèle (2.2) en faisant apparaître la réaction au sens inverse. Le modèle le plus simple est le suivant :



Le modèle mathématique correspondant est le suivant :

$$\begin{cases} \frac{ds}{dt} = -k_1 s x_0 + k_{-1} x_1 \\ \frac{dx_0}{dt} = -k_1 s x_0 + k_{-1} x_1 + k_2 x_1 - k_{-2} p x_0 \\ \frac{dx_1}{dt} = k_1 s x_0 - k_{-1} x_1 - k_2 x_1 + k_{-2} p x_0 \\ \frac{dp}{dt} = k_2 x_1 - k_{-2} p x_0 \end{cases} \quad (2.10)$$

En faisant une démarche similaire à celle précédente, on arrive à l'expression de la vitesse de réaction suivante : $V_r = \frac{k_1 k_2 E s(t) - k_{-1} k_{-2} E p(t)}{k_{-1} + k_2 + k_1 s(t) + k_{-2} p(t)}$

En posant $k_S = k_1 k_2$, $k_P = k_{-1} k_{-2}$, $K_{SP} = k_{-1} + k_2$, $k'_S = k_1$ et $k'_P = k_{-2}$, nous obtenons

$$V_r = E \frac{k_S s(t) - k_P p(t)}{K_{SP} + k'_S s(t) + k'_P p(t)} \quad (2.11)$$

Nous allons utiliser cette équation dans la suite où nous étudions les chaînes enzymatiques réversibles. Rappelons que E est la concentration totale d'enzyme supposée constante (ou variant lentement) dans un premier temps.

Coopérativité et allostérie

Il est important de remarquer que les expressions de vitesse précédentes ne concernent que les enzymes ayant un seul site de liaison avec le substrat. Il se trouve que dans la nature, on voit souvent des enzymes présentant plusieurs sites de liaisons et pour ces dernières, les lois précédentes de la cinétique enzymatique sont inadaptées. On distinguera deux cas : si tous les sites accueillent le même type de substrat alors l'enzyme possède des propriétés de coopérativité et si chaque type de liaison concerne un substrat différent alors l'enzyme est allostérique. En guise d'exemple de coopérativité, nous pouvons citer l'hémoglobine qui est une protéine permettant le transport de l'oxygène dans le sang : elle possède quatre sites de liaison qui ont une affinité avec l'oxygène O. Pour décrire la fixation coopérative de l'oxygène sur l'hémoglobine, Hill propose en 1910 l'équation suivante [7] :

$$V_r = \frac{V_{max}s^p}{K^p + s^p} \quad (2.12)$$

V_{max} est la vitesse limite, K correspond à la valeur de la concentration de substrat s pour laquelle $V_r = 0.5V$. En ce qui concerne le coefficient p , Hill n'avait pas donné de signification physique. Pour certains, ce coefficient correspond à une estimation du nombre de sites de fixation du substrat sur l'enzyme. Il est incorrect de traiter ainsi ce coefficient car en prenant l'exemple de l'hémoglobine, la valeur de p est d'environ 2,7, alors que le nombre de sites de fixation est de quatre. Nous nous limiterons à appeler h le coefficient de Hill.

Nous avons donné dans cette section des éléments de compréhension de la catalyse enzymatique, nous allons parler dans la section suivante de la modélisation des réseaux de régulation génétiques.

2.2 Différentes classes de modèles de systèmes génétiques

Il est important de noter la grande diversité des classes de modèles de réseaux génétiques. Nous nous limitons ici à mentionner quelques uns de ces modèles sans autres précisions. L'on peut trouver dans la littérature, des textes plus détaillés [13, 11, 24, 64, 71].

Il existe ainsi des modèles à caractère informatique souvent basés sur des graphes. Nous pouvons aussi citer des systèmes hybrides qui sont des systèmes dynamiques faisant intervenir simultanément des variables discrètes et des variables continues (voir [2, 25, 62, 68]).

Dans [23, 47] sont étudiés des modèles stochastiques. Etant donné que les processus biochimiques sont marqués par des effets de bruits et d'incertitude, les modèles stochastiques seront donc plus "proches" de la réalité biologique que ceux que nous allons parler par la suite mais plus difficile à traiter et souvent les hypothèses sur la stochasticité sont difficiles à vérifier.

Il existe aussi des modèles discrets [41, 66, 56, 50, 70, 40] qui ont pour avantage de permettre de traiter des réseaux de dimension élevée. Ceci confère à ces modèles une grande importance dans la mesure où l'on sait qu'en biologie, on se retrouve souvent à devoir traiter de gros modèles (le génome d'un organisme est souvent d'un ordre de grandeur de 10^4). Par contre, ils sont plus qualitatifs et ne permettent pas en général de représenter des réseaux métaboliques.

Nous allons maintenant présenter deux types de modèles qui vont être utilisés dans cette thèse.

2.2.1 Modèle de régulation d'un gène

Avant de donner le modèle général de régulation génétique, nous allons d'abord nous intéresser à un modèle de régulation très simple. Il s'agit d'un gène a qui est transcrit en ARNm qu'on notera m . Ce dernier est traduit en protéine p . La transcription du gène est régulée par une protéine B (voir figure 2.4)

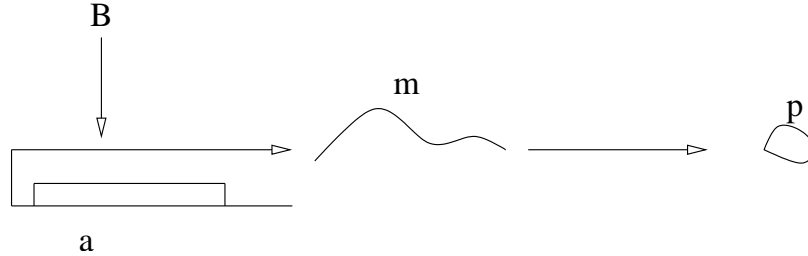


FIG. 2.4 – Régulation de la transcription d'un gène a

Le modèle mathématique correspondant est le suivant :

$$\dot{m} = k_a h^+(B, \theta_B, n_B) - \gamma_m m \quad (2.13)$$

$$\dot{p} = \alpha m - \beta p \quad (2.14)$$

Dans ce modèle, m représente la concentration de l'ARNm, p est la concentration de la protéine. Le terme $k_a h^+(B, \theta_B, n_B)$ représente la régulation positive de la transcription du gène par une protéine B . La fonction $h^+(B, \theta_B, n_B)$ est une fonction de forme sigmoïdale vérifiant les propriétés suivantes :

- $h^+(x, \theta, n)$ (resp. $h^-(x, \theta, n)$) est strictement croissante (resp. décroissante) vaut 0 en 0 et tend vers 1 en $+\infty$ (resp. vaut 1 en 0 et tend vers 0 en $+\infty$)
- Lorsque n tend vers $+\infty$,
 $\forall x < \theta, \quad h^+(x, \theta, n) \rightarrow 0$ (resp. $h^-(x, \theta, n) \rightarrow 1$)
 $\forall x > \theta, \quad h^+(x, \theta, n) \rightarrow 1$ (resp. $h^-(x, \theta, n) \rightarrow 0$)

Les fonctions de Hill $h^+(x, \theta, p) = \frac{x^p}{x^p + \theta^p}$ ($h^-(x, \theta, p) = \frac{\theta^p}{x^p + \theta^p}$) vérifient toutes ces propriétés et sont souvent utilisées dans la régulation génétique.

Faisons maintenant l'hypothèse suivante :

Hypothèse 2. La transcription du gène est plus rapide que la traduction de l'ARNm en protéine.

Nous appliquons maintenant le théorème sur le lent-rapide de Tychonov (voir annexe A.1), le système devient alors :

$$m^* = \frac{k_a}{\gamma_m} h^+(B, \theta_B, n_B) \quad (2.15)$$

$$\dot{p} = k_p h^+(B, \theta_B, n_B) - \beta p \quad (2.16)$$

avec $k_p = \alpha \frac{k_a}{\gamma_m}$.

Nous venons de voir que pour modéliser la synthèse d'une protéine par un gène, nous devons

passer par deux étapes à savoir une équation modélisant la transcription et une autre modélisant la traduction. Nous avons ensuite fait une hypothèse qui nous a permis de réduire le modèle. Nous utiliserons dans la suite ce modèle réduit de la forme de l'équation(2.16) pour modéliser la synthèse d'une protéine par un gène pour le cas simple où le gène n'est régulé que par une seule protéine B. Nous allons maintenant voir un cas plus général où le gène peut être régulé par plusieurs éléments.

2.2.2 Modélisation avec des équations différentielles ordinaires

Il s'agit d'un modèle donné par des équations différentielles ordinaires du type :

$$\dot{x}_i = F_i(x, Z), \quad i = 1 \dots n$$

où les $F_i(x, Z)$ sont de la forme $a_i(\mathbf{Z}) - b_i x_i$; $x(t)$ est un vecteur de \mathbf{R}_+^n et $Z_k = S_k^+(x_j, \theta_j, n)$ ou $Z_k = S_k^-(x_j, \theta_j, n)$ est une fonction de forme sigmoïdale vérifiant les propriétés suivantes :

- $S^+(x, \theta, n)$ (resp. $S^-(x, \theta, n)$) est strictement croissante (resp. décroissante) vaut 0 en 0 et tend vers 1 en $+\infty$ (resp. vaut 1 en 0 et tend vers 0 en $+\infty$)
- Lorsque n tend vers $+\infty$,
 $\forall x < \theta, \quad S^+(x, \theta, n) \rightarrow 0$ (resp. $S^-(x, \theta, n) \rightarrow +\infty$)
 $\forall x > \theta, \quad S^+(x, \theta, n) \rightarrow +\infty$ (resp. $S^-(x, \theta, n) \rightarrow 0$)

Ces propriétés sont toutes vérifiées par les fonctions de Hill qu'on notera $h(x, \theta, n)$

Le terme $a_i(\mathbf{Z})$ peut avoir plusieurs formes. Il peut être égal à αZ_i , il peut aussi être une somme ($Z_i + Z_j + \dots$), un produit ($Z_i Z_j \dots$) ou même une somme de produits ($Z_i Z_j + Z_k Z_l + \dots$). Ce terme dépendra des éléments du réseau et éventuellement de la variable elle même. Cette dépendance symbolise la régulation. De ce fait, nous utiliserons pour une régulation positive (activation) une fonction de Hill positive ($h^+ = \frac{x^p}{\theta^p + x^p}$) et pour une régulation négative (inhibition), nous

prendrons une fonction de Hill négative $h^- = 1 - h^+ = \frac{\theta^p}{\theta^p + x^p}$. La fonction de Hill admet deux paramètres : θ qui est une valeur seuil et p qui correspond à la coopérativité (voir la sous-section 2.1.2). Mathématiquement p correspond à la raideur de la fonction. Le terme $b_i x_i$ correspond à la dégradation des différentes espèces.

Cette modélisation représente bien la dynamique du système mais cependant, l'étude analytique est très difficile du fait de la non linéarité de la fonction de Hill.

Il existe un autre type de fonction approximant les sigmoïdes et souvent utilisée pour simplifier les calculs [52] : il s'agit des logoides. Une logoïde positive (resp. négative) est telle que en considérant l'intervalle $[0, +\infty]$, elle est constante et vaut 0 (resp. 1) entre $[0, i]$, elle est constante et vaut 1 (resp. 0) entre $[j, +\infty]$. Elle croit de façon continue (resp. décroît de façon continue) dans l'intervalle $[i, j]$ contenant le seuil θ . Voir la figure 2.5.

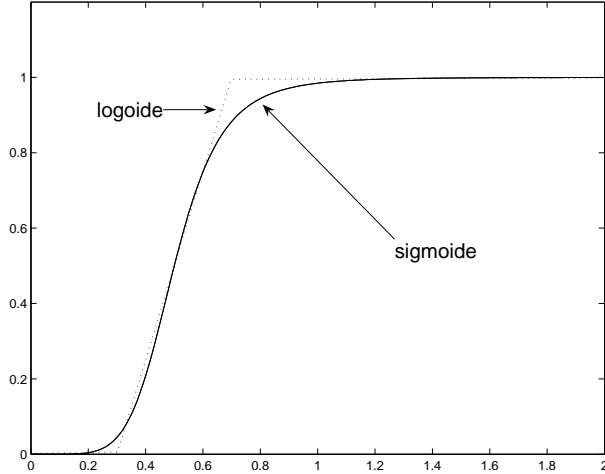


FIG. 2.5 – Représentation d'une sigmoïde avec comme paramètres : $\theta = 0.5$ et $p = 6$ et de la logioïde l'approximant

2.2.3 Modèles affines par morceaux

Nous allons parler dans cette section d'un modèle intermédiaire entre les modèles continus et discrets. Il s'agit dans ces modèles de remplacer les fonctions sigmoïdales ou logoidales par des fonctions de Heaviside centrées en θ [27, 26], appelées aussi fonction step. L'introduction de fonction step va entraîner des discontinuités dans le second membre. Ces systèmes ont la forme suivante :

$$\dot{x}_i = a_i(\mathbf{Z}) - b_i x_i, \quad i = 1 \dots n \tag{2.17}$$

Les $a_i(\mathbf{Z})$ sont constantes par morceaux. Dans chaque morceau ou boîte rectangulaire, le système (2.17) est affine. Ceci est intéressant car la linéarité va faciliter l'étude des équations quelque soit la taille du système.

2.2.4 Exemple : réseau d'inhibition réciproque de deux gènes

Pour donner plus de clarté à ces descriptions de modèles, nous allons traiter un exemple de réseaux génétiques avec d'une part un modèle avec équations différentielles ordinaires et d'autre part avec modèle affine par morceaux. Il s'agit dans cette section de faire une étude d'un réseau de régulation génique de deux gènes. Le réseau se présente comme suit : chacun des gènes code une protéine régulatrice qui inhibe l'expression de l'autre gène, en se fixant à un site chevauchant le promoteur du gène (voir la figure 2.6). Le réseau sera modélisé d'une part avec des équations différentielles ordinaires et d'autre part par un modèle affine par morceaux.

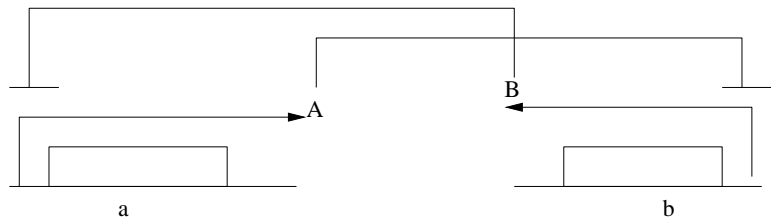


FIG. 2.6 – Exemple d'un réseau de régulation génique simple composé de deux gènes a et b , leurs protéines A et B , ainsi que leurs interactions régulatrices

Modèles d'équations différentielles ordinaires non linéaires

Equations mathématiques

$$\begin{cases} \frac{dx_a}{dt} = k_a h^-(x_b, \theta_b, n_b) - \gamma_a x_a \\ \frac{dx_b}{dt} = k_b h^-(x_a, \theta_a, n_a) - \gamma_b x_b \end{cases} \quad (2.18)$$

Les variables x_a et x_b représentent les concentrations des protéines A et B codées par les gènes a et b respectivement.

Le terme $k_a h^-(x_b, \theta_b, n_b)$ (resp. $k_b h^-(x_a, \theta_a, n_a)$) est le terme de synthèse de la protéine A (resp. de la protéine B), tandis que $\gamma_a x_a$ (resp. $\gamma_b x_b$) représente le terme de dégradation de la protéine A (resp. de la protéine B) et est proportionnel à sa propre concentration x_a (resp. x_b). La fonction h est une fonction de Hill.

Tous les paramètres sont des constantes positives.

Proposition 2.2.1. Domaine d'étude :

Le domaine d'étude est $\mathbb{R}_{\geq 0}$ et est positivement invariant.

Preuve 1. Sens des lignes de champs au niveau des frontières :

- En posant $x_a=0$, on trouve $\frac{dx_a}{dt} = k_a h^-(x_b, \theta_b, n_b) > 0$
Les lignes de champs vont dans le sens des x_a positifs,
- En posant $x_b=0$, on trouve $\frac{dx_b}{dt} = k_b h^-(x_a, \theta_a, n_a) > 0$
Les lignes de champs vont dans le sens des x_b positifs.

Les frontières sont donc répulsives d'où l'invariance du domaine voir figure 2.7.

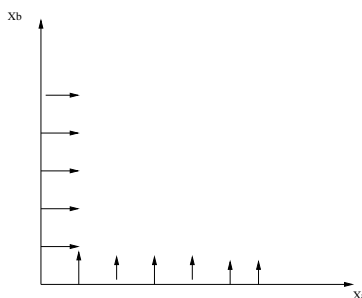


FIG. 2.7 – Lignes de champs au niveau des frontières

Etude des points d'équilibre Les isoclines sont données par :

$$\begin{cases} x_a = \frac{k_a h^-(x_b, \theta_b, n_b)}{\gamma_a} = f(x_b) \\ x_b = \frac{k_b h^-(x_a, \theta_a, n_a)}{\gamma_b} = g(x_a) \end{cases} \quad (2.19)$$

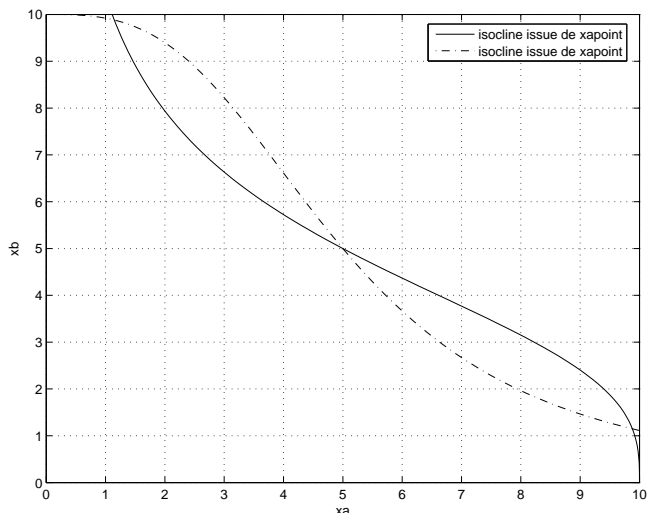


FIG. 2.8 – Tracé des Isoclines de x_a et x_b avec les valeurs de paramètres suivantes : $n=3$, $\theta_a = \theta_b = 5$, $k_a = k_b = 10$, $\gamma_a = \gamma_b = 1$

Proposition 2.2.2. *Nous obtenons avec certaines valeurs de paramètres la figure 2.8 où nous avons trois points d'équilibre.*

Etude de la stabilité des points d'équilibre Rappel : Soit un système différentiel ordinaire de dimension 2 et soit x^* un équilibre de ce système.

Si la trace de la jacobienne évaluée en x^* est négative et le déterminant positif, alors x^* est localement asymptotiquement stable.

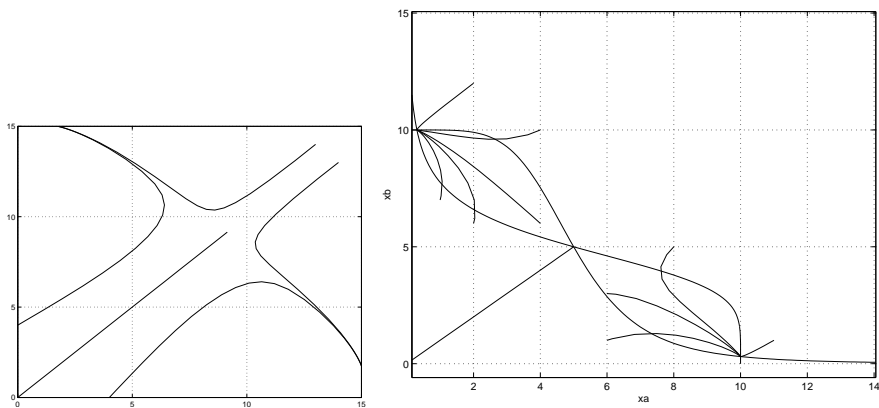


FIG. 2.9 – Représentation des deux isoclines et exemples de trajectoires. Le système possède une séparatrice qui partage les bassins d'attractions des deux points d'équilibre stables

Pour simplifier les écritures, nous allons poser $h^-(x_a, \theta_a, n_a) = h_a$ et $h^-(x_b, \theta_b, n_b) = h_b$, la matrice jacobienne du système(2.18) sera donc :

$$J = \begin{pmatrix} -\gamma_a & k_b h'_b \\ k_a h'_a & -\gamma_b \end{pmatrix}$$

$$\text{Trace}(J) = -\gamma_a - \gamma_b < 0$$

$$\det(J) = \gamma_a \gamma_b - k_b h'_b k_a h'_a$$

Soit E_1 et E_2 les points d'équilibre du haut et du bas, E_3 le point d'équilibre du milieu (voir figure 2.8). Déterminons le signe du déterminant en chacun de ces points d'équilibre :

Remarque. $x_a = \frac{k_a}{\gamma_a} h_b$ peut aussi s'écrire en utilisant sa fonction inverse sous la forme $f(x_a) = x_b = h^{-1}\left(\frac{\gamma_a}{k_a} x_a\right)$.

La figure 2.8 est une représentation graphique de $f(x_a)$ et $g(x_a) = x_b = \frac{k_b h(a)}{\gamma_b}$. Nous pouvons sortir de cette figure des inégalités sur les pentes des deux isoclines. Ainsi en E_1 et E_2 , $f'(x_a) < g'(x_a)$ et en E_3 , $f'(x_a) > g'(x_a)$.

Or

$$g'(x_a) = \frac{k_b}{\gamma_b} h'_a$$

et

$$\begin{aligned} f'(x_a) &= h^{-1'}\left(\frac{\gamma_a}{k_a} x_a\right) \\ &= \left(\frac{\gamma_a}{k_a} x_a\right)' \frac{1}{h'(h^{-1}\left(\frac{\gamma_a}{k_a} x_a\right))} \\ &= \frac{\gamma_a}{k_a} \frac{1}{h'_b} \end{aligned}$$

Donc en E_1 et E_2 , $\frac{\gamma_a}{k_a} \frac{1}{h'_b} < \frac{k_b}{\gamma_b} h'_a$

D'où $\gamma_a \gamma_b > k_b h'_b k_a h'_a$ car $h'_b < 0$

Le déterminant est donc positif. La trace de J est négative quelque soit le point considéré.

Proposition 2.2.3. *Les deux points d'équilibre E_1 et E_2 sont asymptotiquement stables.*

En E_3 , $\frac{\gamma_a}{k_a} \frac{1}{h'_b} > \frac{k_b}{\gamma_b} h'_a$, et par le même raisonnement que précédemment, on trouve que $\text{Det}(J) < 0$ en E_3 .

Proposition 2.2.4. *En E_3 , il y a donc deux valeurs propres dont les parties réelles sont de signes contraires. E_3 est donc un point selle.*

A la valeur propre à partie réelle négative, on associe un sous ensemble propre stable E_s et à celle à partie réelle positive, on associe un sous ensemble propre instable E_i .

Conclusion L'analyse de ces résultats nous amène à dire que le réseau d'inhibition réciproque est sous certaines valeurs de paramètres bistable, c'est à dire qu'à partir des conditions initiales, le système atteindra l'un des deux équilibres stables. De même, l'équilibre instable n'est atteint que pour des conditions initiales très particulières. Remarquons aussi que les deux états d'équilibre correspondent soit à une concentration élevée de l'une des protéines et faible de l'autre ou inversement. De ce fait, une perturbation allant dans le sens de dégrader fortement la protéine ayant la concentration la plus élevée entraîne un basculement dans l'autre équilibre stable. Ce phénomène est appelé hystérésis [38].

Les propriétés de bistabilité et l’hystérésis de ce réseau ont été testées expérimentalement par Gardner et al [21]. Ils ont reconstitué dans la cellule d’*Escherichia coli* ce réseau par clonage des gènes sur un plasmide. Les gènes ont été choisis de sorte que l’activité des protéines correspondantes peut être régulée par des signaux de l’extérieur. Des expériences ciblées ont montré que le système est bistable et peut basculer d’un équilibre à l’autre en fonction d’une induction chimique ou thermique transitoire.

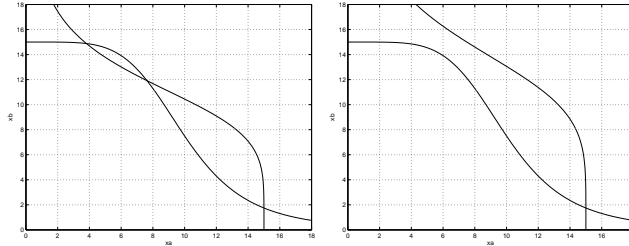


FIG. 2.10 – Analyse de la bifurcation qui se produit lorsque la valeur de θ_b est augmentée

Remarque. Pour certaines valeurs des paramètres, le comportement du système change (figure 2.10). En fixant tous les paramètres et en augmentant θ_b , l’isocline de x_a se déplace et on a rapprochement entre l’un des points d’équilibre stable et le point d’équilibre instable. Pour θ_b supérieur ou égal à $\frac{k_b}{\gamma_b}$, le système perd les propriétés de bistabilité et d’hystérésis. Il y a donc bifurcation.

Remarque. Il est aussi intéressant de remarquer que pour ce type de modèle, nous parvenons qualitativement à localiser les deux équilibres stables mais il nous est difficile d’avoir les solutions analytiques des équations du fait de la non linéarité de la fonction de Hill. Nous sommes obligés de passer par une solution géométrique.

Ceci nous amène à proposer un modèle où la fonction de Hill est remplacée par une fonction step.

Modèles d’équations différentielles ordinaires linéaires par morceaux

Equations mathématiques Le modèle non linéaire étant difficile à étudier analytiquement pour des modèles de dimension élevée, nous pouvons penser à utiliser un modèle plus simple et qui représente la dynamique du système. Etant donné que la fonction de Hill se comporte comme un step pour n grand (voir figure 3.1), on peut ainsi remplacer h^- par la fonction s^- qui est telle que :

$$\begin{cases} s^-(x_i, \theta_i) = 0 & \text{pour } x_i > \theta_i \\ s^-(x_i, \theta_i) = 1 & \text{pour } x_i < \theta_i \end{cases}$$

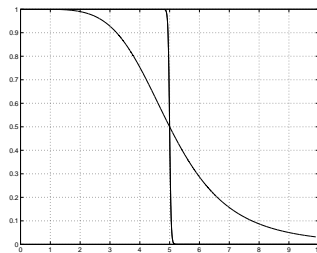


FIG. 2.11 – Représentation graphique de la fonction de Hill pour n grand

Dans la suite, nous essayerons de montrer que les propriétés du système non linéaire sont conservés. La modélisation en utilisant la fonction s^- donne le système discontinu suivant :

$$\begin{cases} \frac{dx_a}{dt} = k_a s^-(x_b, \theta_b) - \gamma_a x_a \\ \frac{dx_b}{dt} = k_b s^-(x_a, \theta_a) - \gamma_b x_b \end{cases} \quad (2.20)$$

Le second membre est discontinu et donc les propriétés habituelles ne s'appliquent plus. De plus, le champ n'est pas défini sur les seuils. D'où la nécessité de faire appel à d'autres méthodes que nous détaillerons dans la suite.

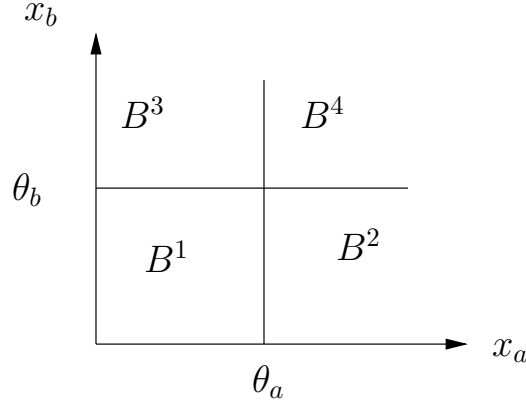


FIG. 2.12 – Division de l'espace en quatre régions par $x_a = \theta_a$ et $x_b = \theta_b$

En tenant compte des valeurs que peuvent prendre $s^-(x_i, \theta_i)$ selon qu'on soit à gauche ou à droite de θ_a ou θ_b , on se ramène à une décomposition de l'espace en quatre parties et à chacune d'elles correspond un système d'équation différentielle linéaire. La figure 2.12 montre la décomposition de l'espace.

- pour $x_a < \theta_a$ et $x_b < \theta_b$

$$B^1 : \frac{d}{dt} \begin{pmatrix} x_a \\ x_b \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} -\gamma_a & 0 \\ 0 & -\gamma_b \end{pmatrix} \begin{pmatrix} x_a \\ x_b \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} k_a \\ k_b \end{pmatrix}$$

- pour $x_a > \theta_a$ et $x_b < \theta_b$

$$B^2 : \frac{d}{dt} \begin{pmatrix} x_a \\ x_b \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} -\gamma_a & 0 \\ 0 & -\gamma_b \end{pmatrix} \begin{pmatrix} x_a \\ x_b \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} k_a \\ 0 \end{pmatrix}$$

- pour $x_a < \theta_a$ et $x_b > \theta_b$

$$B^3 : \frac{d}{dt} \begin{pmatrix} x_a \\ x_b \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} -\gamma_a & 0 \\ 0 & -\gamma_b \end{pmatrix} \begin{pmatrix} x_a \\ x_b \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} 0 \\ k_b \end{pmatrix}$$

- pour $x_a > \theta_a$ et $x_b > \theta_b$

$$B^4 : \frac{d}{dt} \begin{pmatrix} x_a \\ x_b \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} -\gamma_a & 0 \\ 0 & -\gamma_b \end{pmatrix} \begin{pmatrix} x_a \\ x_b \end{pmatrix}$$

On se retrouve maintenant avec des systèmes affines et découplés. Toute la difficulté se trouve maintenant au niveau des seuils où le système n'est pas défini. Nous le verrons dans la suite.

Etude des points d'équilibre réguliers et de leurs stabilités

Des systèmes définis ci-dessus, nous pouvons en tirer la solution exacte dans chaque région. Ainsi nous avons :

$$\begin{cases} x_a(t) = \frac{k_a s^-(x_b, \theta_b)}{\gamma_a} + (x_a(0) - \frac{k_a s^-(x_b, \theta_b)}{\gamma_a}) e^{-\gamma_a t} \\ x_b(t) = \frac{k_b s^-(x_a, \theta_a)}{\gamma_b} + (x_b(0) - \frac{k_b s^-(x_a, \theta_a)}{\gamma_b}) e^{-\gamma_b t} \end{cases} \quad (2.21)$$

Avec la valeur de $s^-(x_i, \theta_i)$ variant suivant la région.

En appelant B^j la région considérée et en initialisant $x(0)$ dans B^j , on trouve :

$$\lim_{t \rightarrow +\infty} x_i(t) = \frac{k_i s^-(x_k, \theta_k)}{\gamma_i} = f(B^j) \quad (2.22)$$

$f(B^j)$ est appelé point focal. Deux cas peuvent se présenter :

Proposition 2.2.5. [29] Si $f(B^j) \in B^j$ alors $f(B^j)$ est un point d'équilibre asymptotiquement stable c'est à dire que dans B^j , toutes les trajectoires tendent vers $f(B^j)$ et donc rien ne quitte la boîte. Ce point est aussi appelé point d'équilibre régulier.

Proposition 2.2.6. Si $f(B^j) \notin B^j$ les trajectoires tendent vers le point focal atteignant ainsi les frontières.

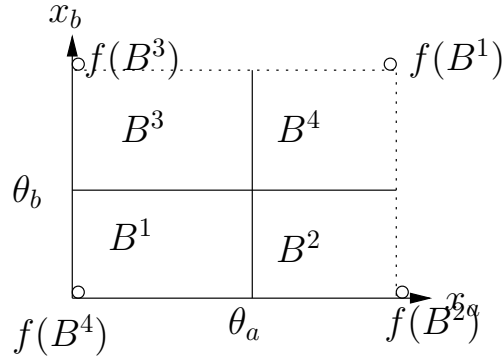


FIG. 2.13 – Répartition des points focaux dans les régions

Proposition 2.2.7. Les points $f(B^2)$ et $f(B^3)$ sont des points d'équilibre réguliers. Voir figure 2.13

Etude du point d'équilibre singulier et de sa stabilité Afin de trouver une solution du modèle linéaire par morceaux en tout point, nous allons utiliser les solutions de type Filippov [29]. En considérant l'équation différentielle suivante

$$\dot{x} = \Gamma(x) - \gamma x$$

où $\Gamma_i(x_j) = k_i s^-(x_j, \theta_j)$ est continue par morceaux, alors la solution de Filippov consiste à étendre l'équation différentielle en une inclusion différentielle de la forme

$$\dot{x} \in F(x) - \gamma x$$

Voir [29] pour plus de détails.

Ainsi, en prenant deux boîtes B^1 et B^2 séparées par un mur W , la fonction Γ est continue à l'intérieur de ces dernières et donc $F(x)$ prendra la valeur de Γ dans la boîte considérée (Γ^{B^1} dans B_1 et Γ^{B^2} dans B_2).

Sur le mur W , la fonction Γ n'est pas définie et donc $F(x)$ sera égale à l'enveloppe convexe suivante :

$$F(x) = \text{conv}(\Gamma^{B^1}, \Gamma^{B^2})$$

Définition 1. Murs noir, blanc et transparent

En considérant le segment $F(x) - \gamma x_i$ qui joint les extrémités des deux vecteurs $\Gamma^{B^1} - \gamma x_i$ et $\Gamma^{B^2} - \gamma x_i$, on peut définir les notions de mur transparent, noir ou blanc.

Ainsi, si le segment n'a pas d'intersection avec le mur W , on a un mur transparent et donc les trajectoires passent d'une boîte à l'autre à travers le mur. Dans ce cas, on a pas de point d'équilibre sur le mur. Si le segment coupe le mur, l'intersection donne un vecteur $\Gamma^W - \gamma x_i$. On a donc un mode glissant (sliding mode) et l'équation régissant le mouvement de la solution sur le mur est donnée par :

$$\dot{x} = \Gamma^W - \gamma x$$

On parle de mur noir si le mouvement reste sur le mur et mur blanc si on a le contraire. Ainsi, le point d'intersection est un point équilibre singulier stable pour un mur noir et instable pour un mur blanc.

Remarquons qu'il peut pas y avoir de point d'équilibre singulier sur un mur transparent.

Définition 2. Une autre définition de mur transparent, noir ou blanc peut être donnée. On peut simplement dire que si x_i a le même sens de variation dans deux régions séparées par un mur θ_i , alors ce dernier est un mur transparent. Si x_i est décroissante (resp. croissante) dans la région où $x_i < \theta_i$ et croissante (resp. décroissante) dans la région où $x_i > \theta_i$, on a un mur blanc (resp. noir) Voir figure 2.14

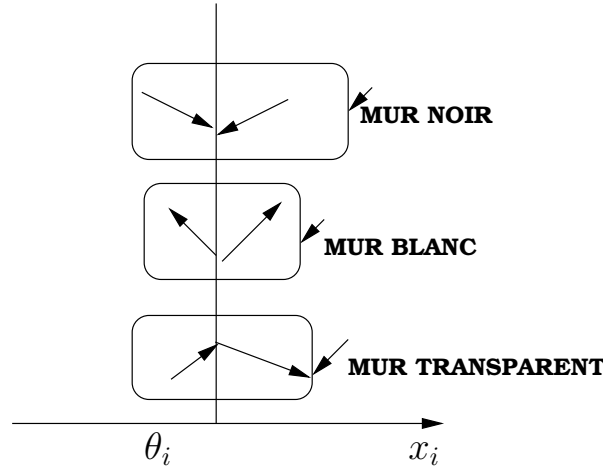


FIG. 2.14 – Illustration de la notion de mur noir, blanc et transparent

Ramenons nous à notre cas. Nous allons définir quatre murs :

$$W1 = (B^1, B^2), W2 = (B^2, B^4), W3 = (B^3, B^4), W4 = (B^1, B^3)$$

On suppose que $k_i/\gamma_i > \theta_i$

- Dans B^1 et B^2 , $x'_a = k_a - \gamma_a x_a > 0$, donc x_a est croissante d'où le mur W1 est transparent.
- Dans B^2 et B^4 , $x'_b = -\gamma_b x_b < 0$, donc x_b est décroissante d'où le mur W2 est transparent.
- Dans B^1 et B^3 , $x'_b = k_b - \gamma_b x_b > 0$, donc x_b est croissante d'où le mur W4 est transparent.
- Dans B^3 et B^4 , $x'_a = -\gamma_a x_a < 0$, donc x_a est décroissante d'où le mur W3 est transparent.

Proposition 2.2.8. *Pour le modèle (2.20), tous les murs sont transparents alors toutes les solutions qui atteignent les murs vont les traverser.*

Appelons ϕ^P le point d'intersection des droites $x_a = \theta_a$ et $x_b = \theta_b$. Montrons que ϕ^P est un point d'équilibre au sens de Filippov puis étudions sa stabilité en utilisant le graphe d'état.

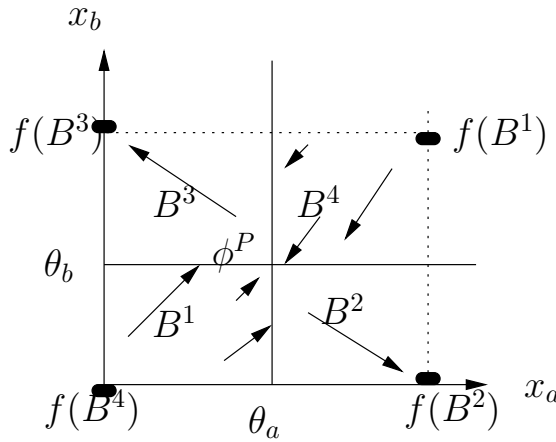


FIG. 2.15 – Exemples de trajectoires dans les régions

Considérons le point ϕ^P . L'enveloppe convexe fermée en ce dernier sera égale à :

$$F(x) = \text{conv}(\Gamma^{B_1}, \Gamma^{B_2}, \Gamma^{B_3}, \Gamma^{B_4})$$

D'après [29], ϕ^P est un point d'équilibre au sens de Filippov si $0 \in F(x) - \gamma x$. Et si $0 \notin F(x) - \gamma x$ alors ϕ^P n'est pas un point d'équilibre (voir figure 2.16).

Proposition 2.2.9. *La figure 2.15 montre que ϕ^P est un point d'équilibre au sens de Filippov.*

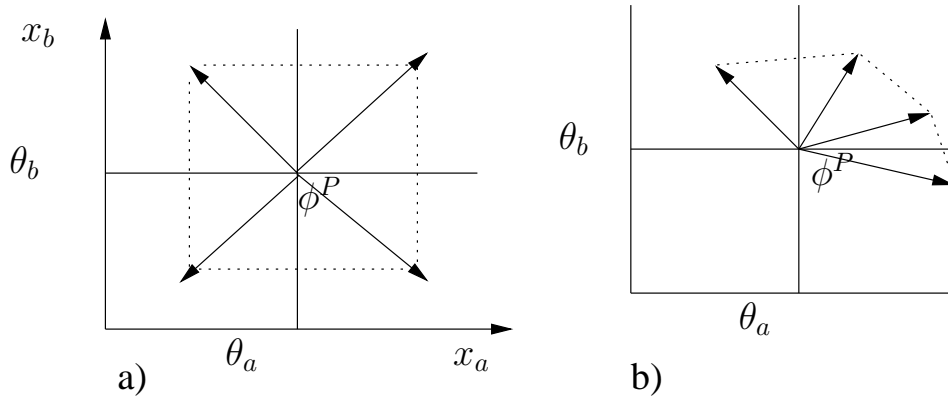


FIG. 2.16 – *Enveloppe convexe fermée* : a) Φ^P est un point d'équilibre au sens de Filippov ; b) Φ^P n'est pas un point d'équilibre

Nous allons maintenant nous intéresser à la stabilité du point d'équilibre ϕ^P .

Définition 3. Définition du graphe d'état

Dans [38], le graphe d'état est défini comme étant l'ensemble des états qualitatifs et des transitions entre ces états. Un état qualitatif est une région de l'espace de phase où le système se comporte de façon qualitativement homogène. Par exemple, dans la région B^1 , toutes les trajectoires convergent vers le point $f(B^1) = (\frac{k_a}{\gamma_a}, \frac{k_b}{\gamma_b})$, tandis que dans B^2 , elles convergent vers $f(B^2) = (\frac{k_a}{\gamma_a}, 0)$. S'il existe une solution débutant dans la région correspondant à un premier état qui atteint la région correspondant à un deuxième état sans passer par une troisième région, alors ces deux états sont reliés par une transition.

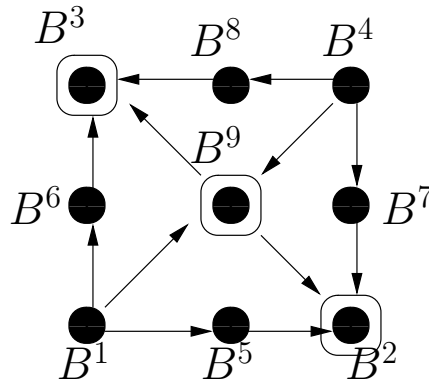


FIG. 2.17 – *Graphe d'état du réseau d'inhibition réciproque*

Pour étudier la stabilité du point ϕ^P , nous allons utiliser le théorème suivant énoncé dans [55] :

Théorème 2.2.10. Soit D le domaine contenant le point ϕ^P et D' le domaine ne contenant pas ϕ^P . S'il existe une transition allant de D à D' , alors le point ϕ^P est instable.

Proposition 2.2.11. L'analyse du graphe d'état de la figure 2.17 montre que ϕ^P est un point d'équilibre instable.

Les trajectoires qui atteignent ce point peuvent y rester indéfiniment mais à la moindre perturbation, ils vont tendre vers l'un des deux points d'équilibre réguliers.

Proposition 2.2.12. Le modèle (2.20) admet deux points d'équilibre asymptotiquement stables et un point d'équilibre instable comme le montre la figure 2.15.

Comme pour le modèle non linéaire, une perturbation allant dans le sens de diminuer considérablement la concentration élevée ferait basculer le système vers l'autre point d'équilibre stable comme le montre la figure 2.18.

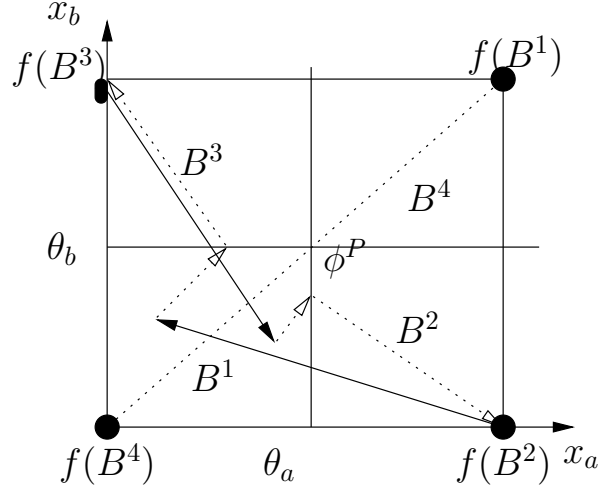


FIG. 2.18 – Phénomène d’hystérésis : une perturbation allant dans le sens de dégrader la concentration de protéine la plus élevée entraîne un basculement dans l’autre équilibre (les perturbations sont ici symbolisées par les flèches en trait plein)

Conclusion Nous venons de voir que l’usage de la fonction step à la place de la fonction de Hill simplifie les calculs et pour cet exemple toutes les propriétés du modèle non linéaire sont conservées. Dans la suite, nous allons dans certains cas remplacer les fonctions de Hill par des steps pour simplifier les modèles.

Nous avons présenté un exemple en dimension 2, mais les méthodes et notions développées sont valables en dimension n (voir [31]).

2.3 Exemple de réseau métabolico-génétique : l’opéron lactose

En guise d’exemple de modèle qui met en jeu des variables génétiques et métaboliques, nous allons prendre le modèle de l’opéron lactose dont nous avons décrit le fonctionnement dans la section 1.2. Nous nous référons pour le modèle à [68]. Ainsi le modèle (2.23) décrit les trois situations suivantes :

- en absence de lactose, l’opéron est bloqué, ce qui signifie que les enzymes ont un taux de production très faible.
- en présence de lactose et en présence de glucose, l’opéron est induit : le taux de production des enzymes est faible.
- en présence de lactose et en absence de glucose dans la cellule, l’opéron est activé, ce qui signifie que le taux de production est fort.

$$\begin{cases} \dot{a} &= \Gamma(g^-, l^+) - \nu_a a \\ \dot{b} &= \alpha_b a - \nu_b b \\ \dot{p} &= \alpha_p a - \nu_p p \\ \dot{l} &= F(l_{ext}, p) - G(l, b) - \nu_l l \\ \dot{g} &= \kappa g_{ext} + G(l, b) - \nu_g g \end{cases} \quad (2.23)$$

Les variables a, b, p, l, g représentent respectivement les concentrations en $ARNm$, β -galactosidase, perméase, lactose et glucose. On note que l_{ext} et g_{ext} sont des constantes pour ce système (apport

extérieur de lactose et de glucose). Les trois premières équations concernent la régulation génétique, les deux dernières portent quant à elles sur le métabolisme. Les deux fonctions F et G décrivent des vitesses de réactions enzymatiques, et suivent donc des lois de type Michaelis-Menten :

$$G(l, b) = \frac{k l b}{K_M + l} \quad \text{et} \quad F(l_{ext}, p) = \frac{k l_{ext} p}{K'_M + l_{ext}}$$

Enfin, la fonction Γ peut être écrite comme suit :

$$\Gamma(g, l) = \kappa_g \frac{\theta_g^{n_g}}{\theta_g^{n_g} + g^{n_g}} \kappa_l \frac{l^{n_l}}{l^{n_l} + \theta_l^{n_l}}$$

Deuxième partie

Méthodes d'étude de modèles de régulation cellulaire

Chapitre 3

Hiérarchisation d'un modèle complexe

Dans ce chapitre, nous allons parler d'une technique basée sur les graphes d'interaction et qui peut servir à simplifier l'étude de certains modèles complexes. Cette méthode consiste en une décomposition du graphe d'interaction du modèle considéré en composantes fortement connexe. Nous allons appliquer cette technique au modèle intégré de la glycolyse et la néoglucogenèse dans *E. coli*. Nous n'allons pas étudier ce modèle, notre but est d'appliquer notre méthode à un modèle complexe. La méthode de décomposition hiérarchique d'un graphe est bien connue, mais notre apport consiste en son application à des modèles biologiques : elle semble peu connue des modélisateurs biologistes.

3.1 Décomposition hiérarchique d'un graphe

Définition 4. Composante fortement connexe [19]

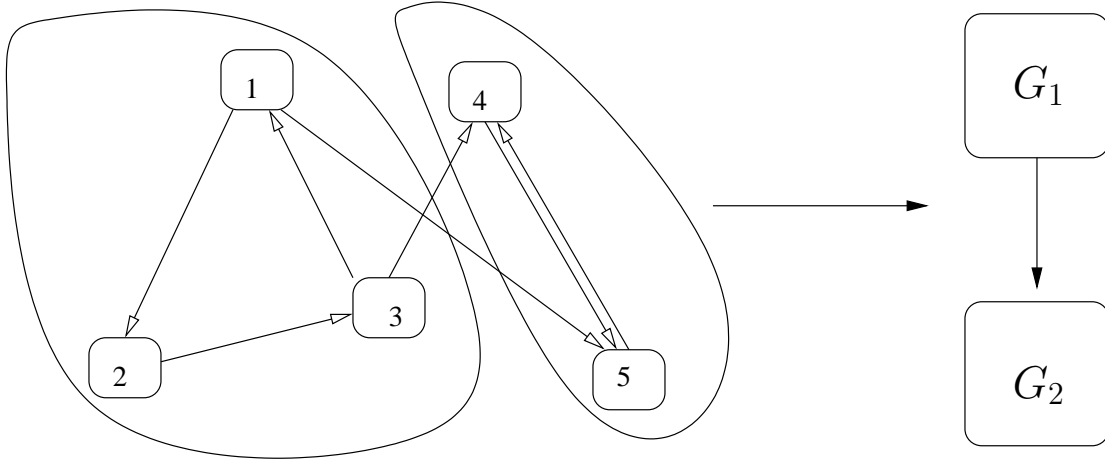
Considérons un graphe G orienté. Une composante fortement connexe C d'un graphe G est un sous-ensemble maximal de sommets tels que deux quelconques d'entre eux soient reliés par un chemin :

- si $x \in C$, alors $\forall y \in C$, il existe un circuit passant par x et y ,
- si $x \in C$, alors $\forall z \in G \setminus C$, il n'existe pas de circuit passant par x et z .

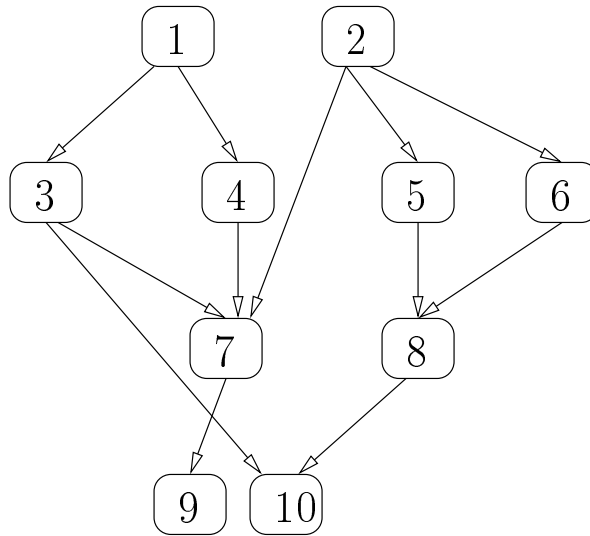
Un chemin est une suite $(x_0, x_1, \dots, x_{n-1}, x_n)$ de sommets de G tel que deux sommets consécutifs quelconques x_i et x_{i+1} sont reliés par un arc de G . x_0 et x_n sont respectivement l'origine et l'extrémité du chemin.

Un circuit est un chemin dont l'origine et l'extrémité sont identiques.

Exemple : Le graphe de la figure 3.1 a deux composantes fortement connexes : $\{1, 2, 3\}$ et $\{4, 5\}$



Il existe des algorithmes permettant de hiérarchiser un graphe [65]. Ils consistent à rechercher dans le graphe des composantes fortement connexes et à réorganiser le graphe par niveau. Le niveau supérieur comprend les composantes qui ne sont pas influencées par les autres. Les niveaux inférieurs ne sont influencés que par les niveaux supérieurs. Le dernier niveau comprend les composantes qui n'ont aucune influence sur les autres composantes.



Dans le graphe 3.1, les variables {1 et 2} occupent le niveau supérieur et constituent des entrées pour les autres variables. les variables {9 et 10} sont des sorties.

3.2 Description du modèle

Décrivons maintenant le modèle qui va servir de base d'application de notre méthode. Il est connu que le glucose est la source d'énergie préférée de la bactérie *E. coli*. En raison de son importance pour la croissance de la bactérie, l'assimilation du glucose est très réglementée dans la cellule. Ce contrôle implique une voie de signalisation (PEP : phosphotransferase system), une modification de l'activité métabolique (glycolyse, cycle TCA, la voie pentose-phosphate et la néoglucogénèse), et une régulation de l'expression génétique. Ces différents modes de contrôle ont

été étudiée séparément. En réalité ils sont imbriqués et forment un réseau de régulation complexes. D. Ropers et al. ont proposé un modèle qui prend en compte toutes ces modes de contrôle et qui comprend 39 variables et 159 paramètres (voir annexe B).

Pour simplifier les écritures, nous allons faire les changements suivants :

| variables métaboliques | | variables génétiques | |
|------------------------|---------------------------|----------------------|---------------------------|
| $x_1 = x_{PTSfree}$ | $x_{11} = x_{2PG}$ | $y_{21} = x_{Pgi}$ | $y_{31} = x_{TopA}$ |
| $x_2 = x_{PTSpfree}$ | $x_{12} = x_{PEP}$ | $y_{22} = x_{PfkA}$ | $y_{32} = x_{GyrAB.free}$ |
| $x_3 = x_{Glc}$ | $x_{13} = x_{PYR}$ | $y_{23} = x_{Fbp}$ | $y_{33} = x_{GyrI.free}$ |
| $x_4 = x_{G6p}$ | $x_{14} = x_{GyrAB.GyrI}$ | $y_{24} = x_{FbaA}$ | $y_{34} = x_{Fis}$ |
| $x_5 = x_{F6p}$ | $x_{15} = x_{Cya.PTSp}$ | $y_{25} = x_{TpiA}$ | $y_{35} = x_{Cya.free}$ |
| $x_6 = x_{FBP}$ | $x_{16} = x_{cAMP.free}$ | $y_{26} = x_{GapA}$ | $y_{36} = x_{Crp.free}$ |
| $x_7 = x_{DHAP}$ | $x_{17} = x_{Crp.cAMP}$ | $y_{27} = x_{Ppk}$ | $y_{37} = x_{Rpos.free}$ |
| $x_8 = x_{G3P}$ | $x_{18} = x_{RssB*.free}$ | $y_{28} = x_{GpmI}$ | $y_{38} = x_{RssB.free}$ |
| $x_9 = x_{DPG}$ | $x_{19} = x_{Rpos.RssB*}$ | $y_{29} = x_{Eno}$ | $y_{39} = x_{FruR.free}$ |
| $x_{10} = x_{3PG}$ | $x_{20} = x_{FruR.FBP}$ | $y_{30} = x_{PpkF}$ | |

La figure 3.1 est une représentation du réseau constitué.

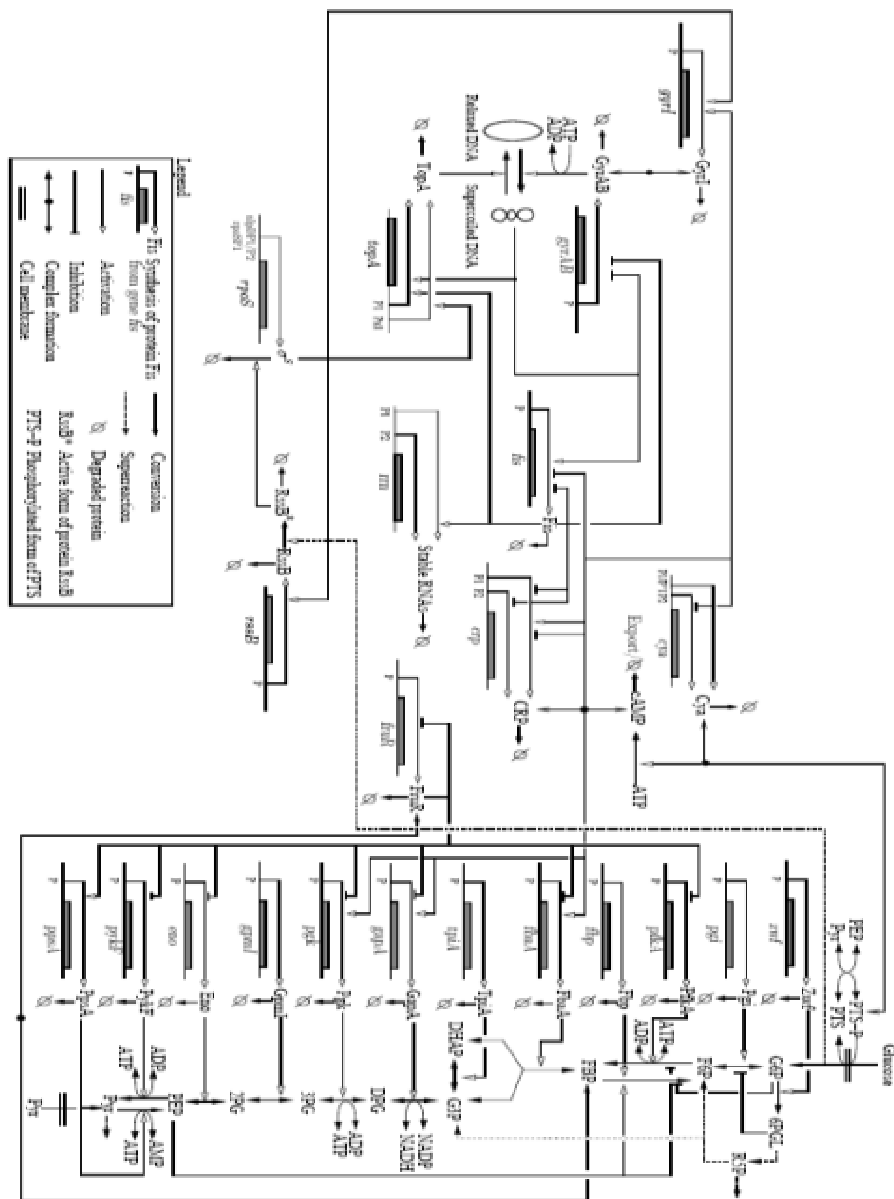


FIG. 3.1 – Réseau des réactions biochimiques impliquées dans la régulation globale de la réponse à un stress en carbone dans *E. coli*.

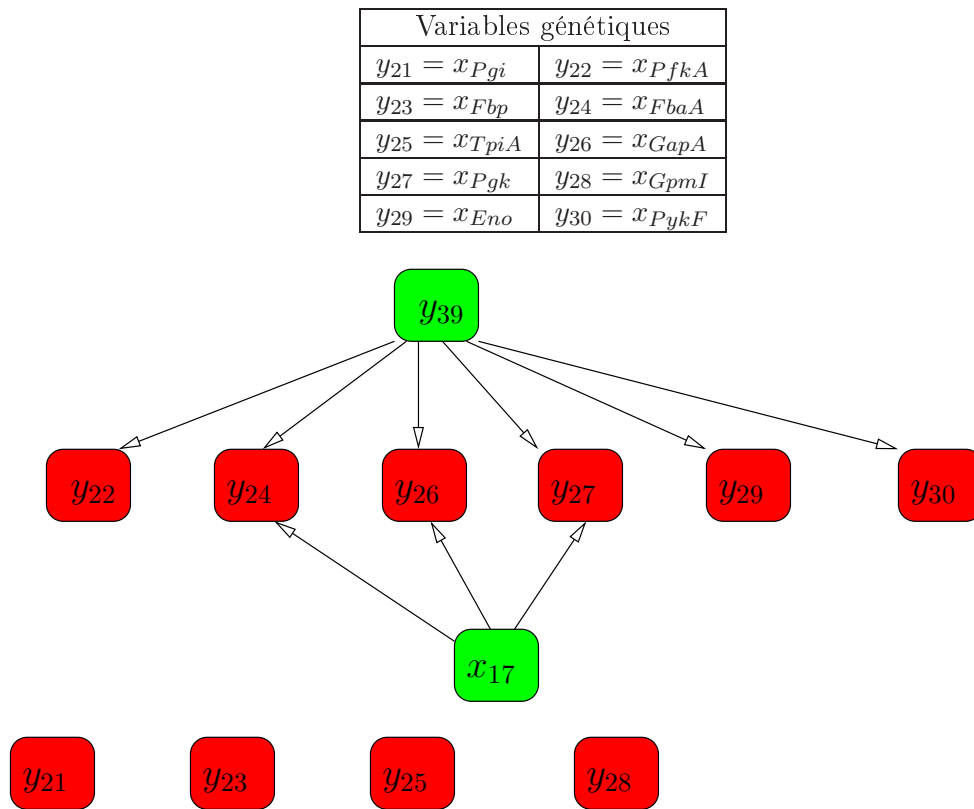
3.3 Graphe d'interaction du modèle

Le modèle est composé de 4 blocs : un bloc regroupant les enzymes impliquées dans la glycolyse et la néoglucogénèse, un bloc regroupant les gènes impliqués dans la glycolyse et la néoglucogénèse,

un bloc regroupant les enzymes impliquées dans la régulation globale et un bloc qui regroupe les gènes impliqués dans la régulation globale. Tous ces blocs sont connectés entre eux. Nous allons représenter les graphes d'interaction (graphe représentant la structure de la matrice jacobienne) de chaque bloc et terminer par donner une décomposition du modèle en composantes fortement connexes.

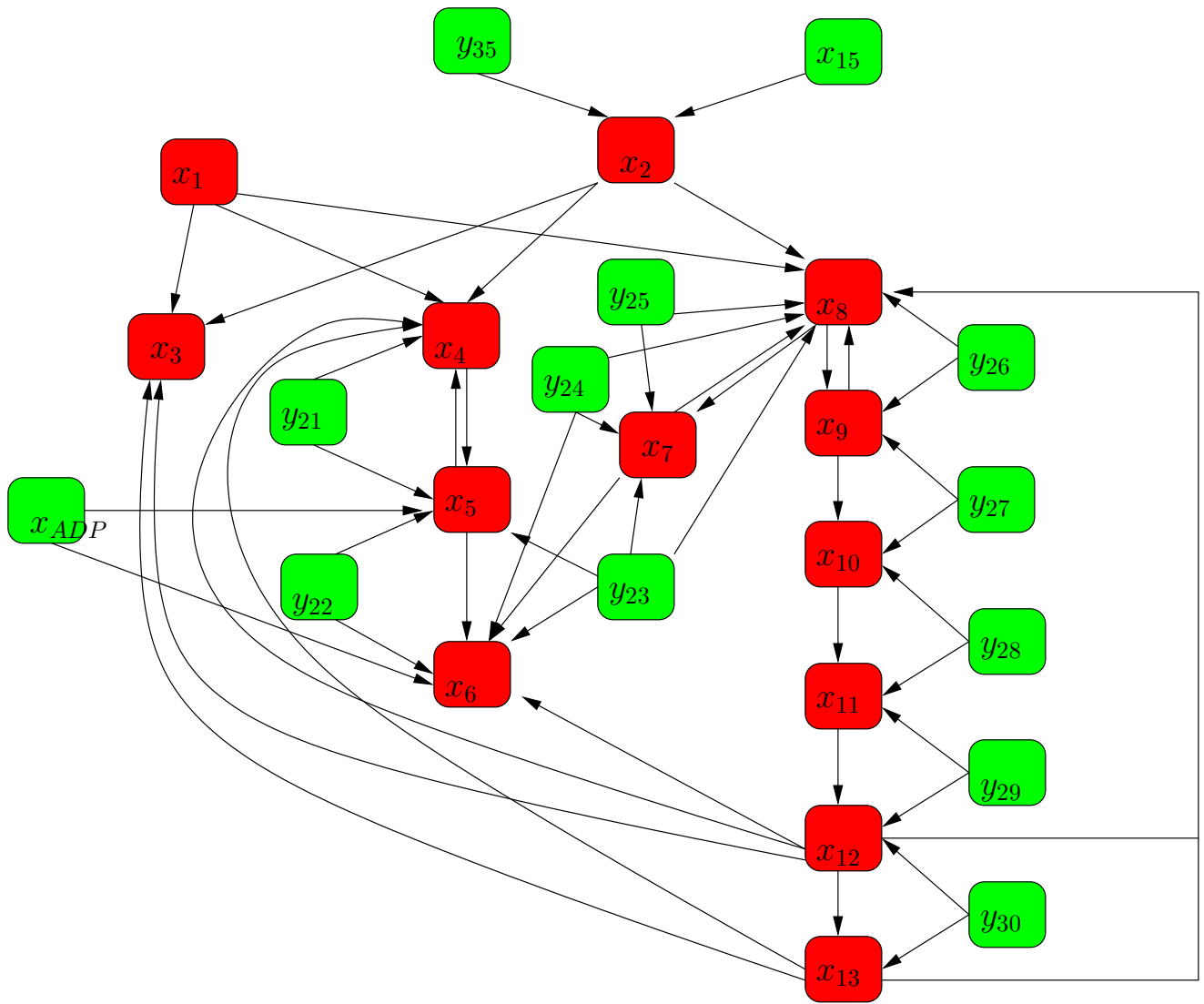
Les graphes seront constitués des variables du bloc considéré et des variables externes les influençant. Toutefois, nous ne représentons pas les variables externes influencées par les variables du bloc pour ne pas trop charger les graphes. Un recollement des graphes de tous les blocs donne le graphe d'interaction global de ce modèle.

Graphe d'interaction du bloc "Glycolyse et néoglucogénèse (génétique)"



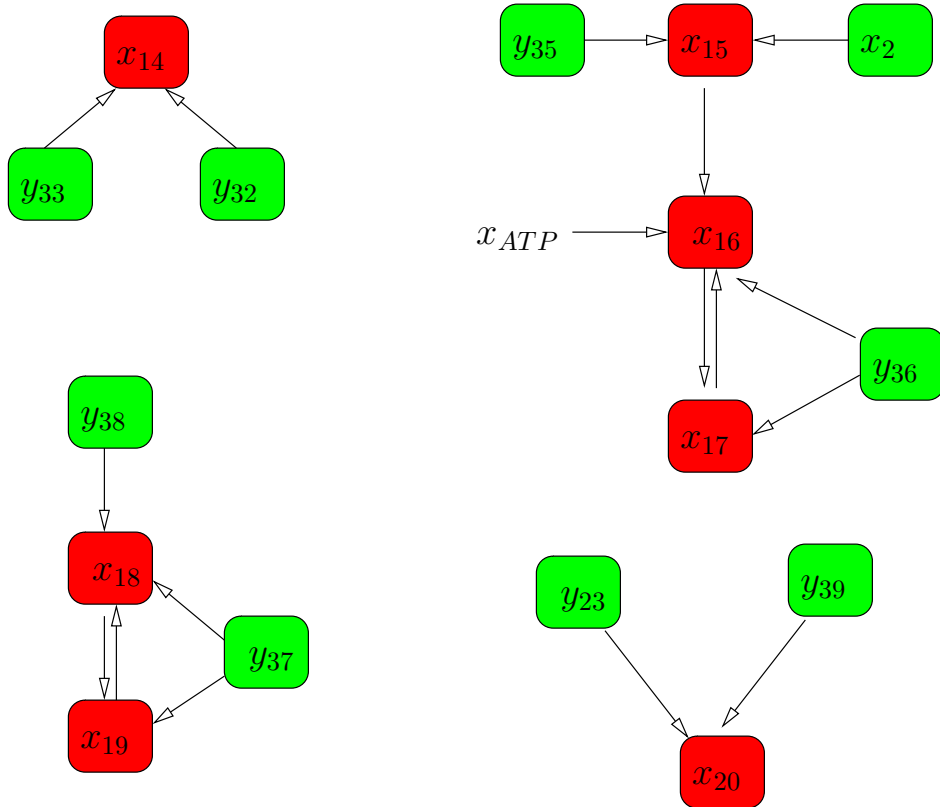
Graphe d'interaction du bloc "Glycolyse et néoglucogénèse (métabolique)"

| Variables métaboliques | |
|------------------------|----------------------|
| $x_1 = x_{PTSfree}$ | $x_2 = x_{PTSpfree}$ |
| $x_3 = x_{Glc}$ | $x_4 = x_{G6p}$ |
| $x_5 = x_{F6p}$ | $x_6 = x_{FBP}$ |
| $x_7 = x_{DHAP}$ | $x_8 = x_{G3P}$ |
| $x_9 = x_{DPG}$ | $x_{10} = x_{3PG}$ |
| $x_{11} = x_{2PG}$ | $x_{12} = x_{PEP}$ |
| $x_{13} = x_{PYR}$ | |



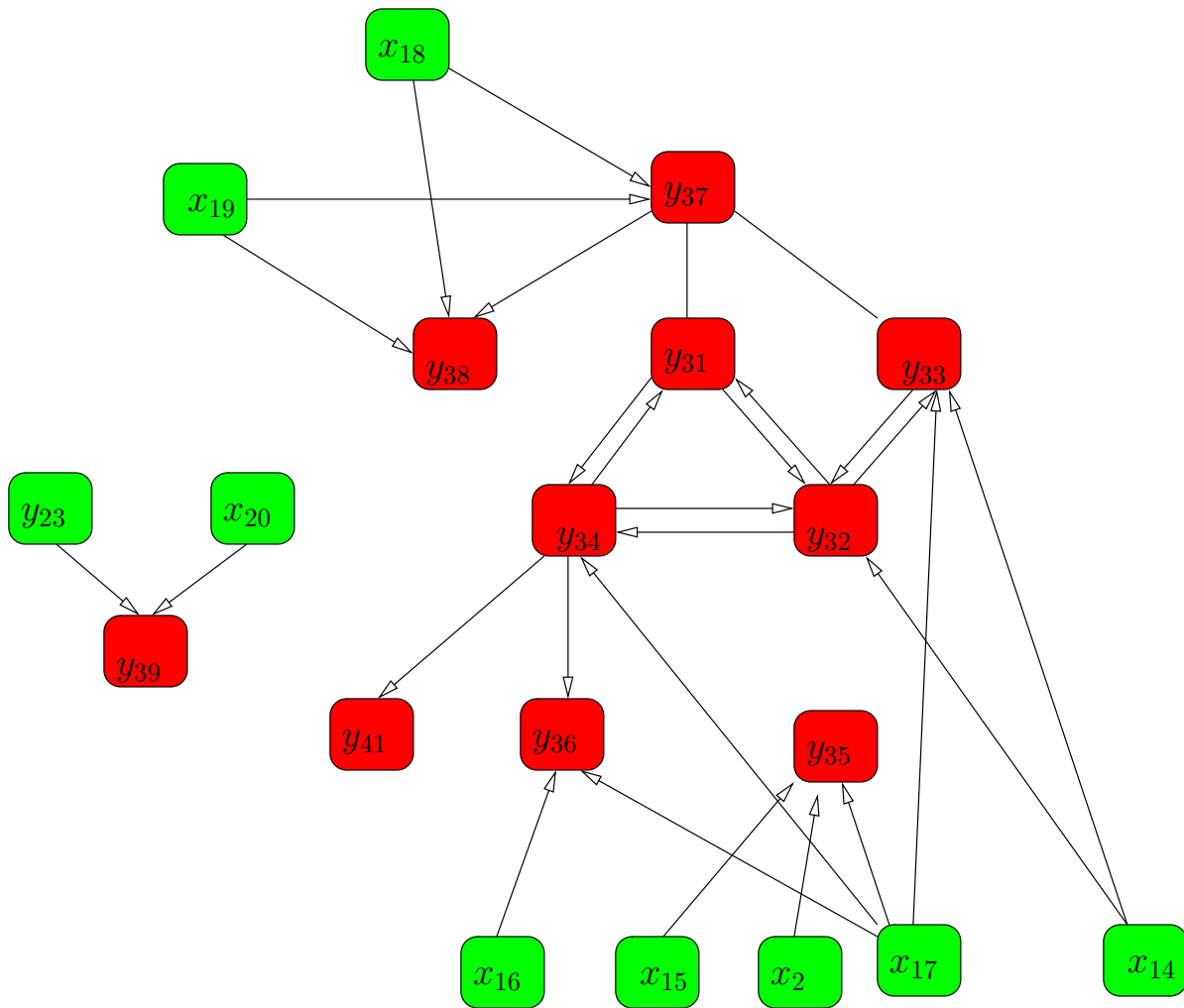
Graphe d'interaction du bloc "Régulation globale (métabolique)"

| Variables métaboliques | |
|---------------------------|---------------------------|
| $x_{14} = x_{GyrAB.GyrI}$ | |
| $x_{15} = x_{Cya.PTSp}$ | $x_{16} = x_{cAMP.free}$ |
| $x_{17} = x_{Crp.cAMP}$ | $x_{18} = x_{RssB*.free}$ |
| $x_{19} = x_{Rpos.RssB*}$ | $x_{20} = x_{FruR.FBP}$ |



Grappe d'interaction du bloc "Régulation globale (génétique)"

| Variables génétiques | |
|--------------------------|---------------------------|
| $y_{31} = x_{TopA}$ | $y_{32} = x_{GyrAB.free}$ |
| $y_{33} = x_{GyrI.free}$ | $y_{34} = x_{Fis}$ |
| $y_{35} = x_{Cya.free}$ | $y_{36} = x_{Crp.free}$ |
| $y_{37} = x_{Rpos.free}$ | $y_{38} = x_{RssB.free}$ |
| $y_{39} = x_{FruR.free}$ | |



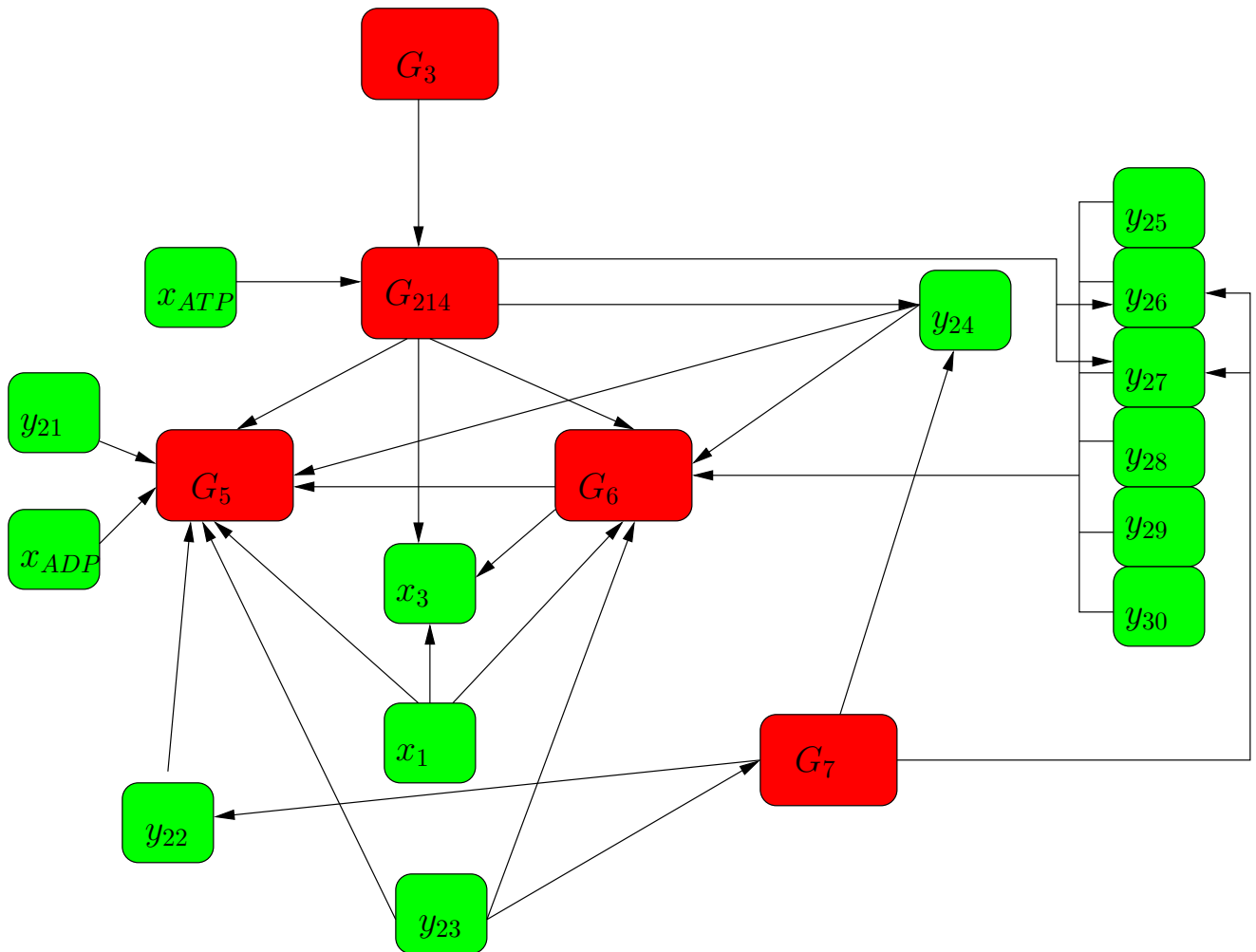
3.4 Décomposition en composantes fortement connexes

En faisant le lien entre les différents graphes d'interaction des blocs, nous en déduisons une décomposition du modèle en "Composante Fortement Connexe".

Nous avons fait cette décomposition à la main mais cependant il existe des algorithmes permettant la recherche de composante fortement connexe [65].

Ce modèle a 17 composantes fortement connexes :

- 12 composantes à un élément : x_1 ; x_3 ; y_{21} ; y_{22} ; y_{23} ; y_{24} ; y_{25} ; y_{26} ; y_{27} ; y_{28} ; y_{29} ; y_{30} ;
- 2 composantes purement métaboliques : $G_5 = \{x_4, x_5, x_6\}$, $G_6 = \{x_7, x_8, x_9, x_{10}, x_{11}, x_{12}, x_{13}\}$;
- 3 composantes métabolico-génétiques : $G_{214} = \{x_2, x_{14}, x_{15}, x_{16}, x_{17}, y_{31}, y_{32}, y_{33}, y_{34}, y_{35}, y_{36}\}$, $G_3 = \{x_{18}, x_{19}, y_{37}, y_{38}\}$, $G_7 = \{x_{20}, y_{39}\}$



3.5 Conclusion

Du gros modèle on passe à un modèle hiérarchisé avec des entrées, des sorties. Cette technique simplifie donc l'étude du modèle.

Quelques points intéressants :

- Il existe des composantes fortement connexes ayant une seule variable. Parmi ces composantes, il y en a qui sont des entrées ($x_1, y_{21}; y_{23}; y_{24}; y_{25}; y_{28}; y_{29}; y_{30}$) et pourront être remplacées par leurs équilibres dans les autres équations.

En prenant par exemple la variable y_{21} , son équation est donnée par :

$$\frac{dy_{21}}{dt} = \kappa_{Pgi} - (\gamma_{Pgi} + \mu)y_{21}$$

son équilibre est donné par :

$$y_{21}^* = \frac{\kappa_{Pgi}}{\gamma_{Pgi} + \mu}$$

D'après le théorème de la décomposition (voir annexe A.2), y_{21} sera remplacé par y_{21}^* dans les autres équations.

La composante x_3 est une sortie.

- G_3 se trouve en haut du graphe hiérarchisé et pourra être étudié séparément.
- Les composantes G_{214} , G_3 et G_7 sont chacune composées de variables métaboliques et génétiques. On pourra donc faire l'hypothèse biologique qui dit que les variables métaboliques sont plus rapides que les variables génétiques et ainsi on pourra appliquer le théorème de Tikhonov (voir annexe A.1). Ainsi :
 - G_{214} va passer de 11 variables à 6 variables ;
 - G_3 passe de 4 variables à 2 variables ;
- Si nous disposons de données sur les variables, l'identification des paramètres sera plus facile et se fera par bloc. En prenant le bloc G_3 par exemple, c'est un système sans entrée avec 4 variables. Nous pourrions identifier les paramètres de ce bloc. G_3 est une entrée pour le bloc G_{214} et donc si le bloc G_3 a un équilibre globalement stable, ce dernier va dépendre des paramètres du bloc G_3 déjà identifiés. D'après le théorème de la décomposition (voir annexe A.2), on mettra G_3 à l'équilibre dans le bloc G_{214} , nous aurons moins de paramètres à identifier. Cette procédure se fera dans tous les blocs et on pourra ainsi identifier les paramètres.
- Enfin, il peut être intéressant de vérifier si les modules (G_3 , G_{214} , G_5 , G_6 et G_7) ont un sens biologique.

Ces remarques ne sont que des perspectives. Certaines seront utilisées sur le modèle du chapitre 7.

Chapitre 4

Unicité et stabilité globale de l'équilibre de modèles métaboliques

Les systèmes métaboliques constituent une classe importante de systèmes dynamiques intervenant dans le domaine de la biologie [33]. Il s'agit de systèmes de type chimiques, mais dans lesquels les réactions sont catalysées par des enzymes. Ces enzymes sont des protéines synthétisées par des gènes, et les systèmes métaboliques et génétiques sont ainsi couplés par des boucles de régulation (les métabolites peuvent réguler la synthèse d'une enzyme). Pour étudier ces systèmes couplés, dont l'un (le système métabolique) a une dynamique très rapide par rapport à l'autre, il est très important de pouvoir étudier les propriétés de stabilité globale du système métabolique. Si celui-ci est globalement stable, alors on pourra le mettre à son équilibre, et appliquer des théorèmes de type Tikhonov sur les systèmes à plusieurs échelles de temps [33], pour injecter la valeur de cet équilibre dans le système génétique. Pour les biologistes, il semble évident que les systèmes métaboliques "réalistes" ont un seul équilibre stable. Pourtant, il est connu que certains systèmes de type métabolique peuvent avoir plusieurs équilibres [10]. Dans ce chapitre, nous apportons quelques contributions à ce problème. Nous montrons que pour un réseau enzymatique réversible "pur" (toutes les réactions sont des réactions enzymatiques réversibles), alors, suivant les entrées, il y a soit pas d'équilibre, soit un seul équilibre globalement asymptotiquement stable. Les outils que nous allons utiliser sont classiques et appartiennent à la théorie des systèmes monotones, et à celle des systèmes compartimentaux. Notre apport consiste en l'étude des systèmes métaboliques réversibles, avec des entrées et des sorties. Dans la dernière section, nous faisons le lien avec les systèmes génétiques, et montrons que l'équilibre dépend de façon décroissante des concentrations en enzymes.

4.1 Définition des systèmes monotones

Les systèmes monotones constituent l'une des plus importantes classes de systèmes dynamiques utilisées pour la modélisation mathématique de systèmes biologiques. Des études poussées de ces systèmes ont été faites par Smith [63] et Hirsch [34]. Ce sont des systèmes très fréquents en biologie. Dans cette section, nous donnons une définition de ces systèmes. Nous allons nous intéresser à leur stabilité dans le cadre des réseaux métaboliques. Donnons d'abord quelques définitions.

- Ordre partiel

Soit un ensemble K (cône positif) qui satisfait aux propriétés suivantes :

- $\alpha K \subset K$ pour tout $\alpha \in \mathbb{R}_+$
- $K + K \subset K$
- $K \cap (-K) = \{0\}$

On définit un ordre partiel \succeq dans K tel que si $x_1 \succeq x_2$ alors $x_1 - x_2 \in K$.

- Définition de flot

Soit le système suivant :

$$\dot{x} = f(x) \tag{4.1}$$

On définit le flot $\Phi(t)$ comme étant l'ensemble des solutions du système (4.1) paramétrées par le temps t . La notation $\Phi(t, x_1)$ correspond à la solution issue de la condition initiale x_1 et paramétrée par $t \geq 0$.

Considérons maintenant le système autonome

$$\dot{x} = f(x) \tag{4.2}$$

où f est continuellement dérivable dans $K = \mathbb{R}_+^n$ (dans ce qui suit, on prendra $K = \mathbb{R}_+^n$). On notera $x < y$ si $x_i < y_i \forall i$

Définition 5. Condition de Kamke

f est de type K dans K pour tout i , si $f_i(a) \succeq f_i(b)$ pour tout point a et b dans K tels que $a \succeq b$ et $a_i = b_i$.

Théorème 4.1.1. Soit f satisfaisant à la condition de Kamke et $x_0, x_1 \in K$. Si $x_0 \succeq x_1$ et que $\Phi(t, x_i)$, $i = 0, 1$ soient définis, alors $\Phi(t, x_0) \succeq \Phi(t, x_1)$.

La preuve de ce théorème se trouve dans [63].

La condition de Kamke implique alors une conservation de l'ordre partiel au cours du temps.

La condition de Kamke est plus facile à identifier en regardant le signe de la matrice Jacobienne.

Proposition 4.1.2. Si f est différentiable, alors la condition de Kamke implique que

$$\frac{\partial f_i}{\partial x_j}(t, x) \geq 0 \quad \forall i \neq j \tag{4.3}$$

Inversement, si $\frac{\partial f_i}{\partial x_j}(t, x)$ est continue dans K et satisfait à la condition (4.3), et si le domaine K est p -convexe c'est à dire que pour tout x et $y \in K$ et satisfaisant à $x \succeq y$, le segment qui joint les deux points reste dans K , alors la condition de Kamke est satisfaite. Voir [63] pour la preuve. Le système (4.2) est donc appelé système coopératif.

Si le système est coopératif, alors le flot (solution paramétrée par le temps) est monotone c'est à dire que le flot conserve l'ordre partiel dans R^n .

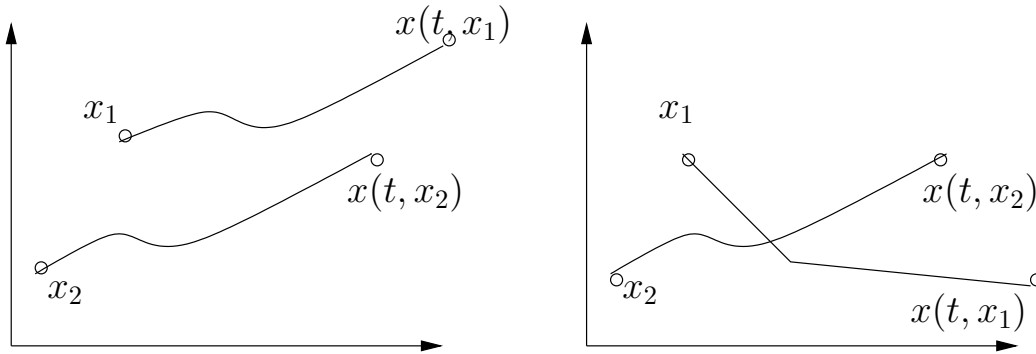


FIG. 4.1 – Ces deux figures illustrent graphiquement la monotonie. Ainsi à gauche le système est monotone car l'ordre partiel est conservé tandis qu'à droite le système est non monotone du fait de la non conservation de l'ordre partiel

4.2 Stabilité des systèmes monotones

Ces systèmes ont une forte tendance à converger vers l'ensemble de leurs points d'équilibre [63]. On peut montrer que presque toute solution converge vers l'ensemble des équilibres sauf un ensemble de mesure nulle. En particulier, il n'y a pas de solutions périodiques stables. Il existe des théorèmes plus précis.

Considérons X un espace métrique et d une distance sur X et supposons qu'un ordre partiel \succeq soit défini dans X

Théorème 4.2.1. *Supposons que*

H_1 : Pour tout sous-ensemble compact S de X , on a que $\inf(S)$ et $\sup(S)$ appartiennent à X

H_2 : Le système dynamique $\dot{x}(t) = f(x(t))$ est monotone ;

H_3 : X contient un unique point d'équilibre x^* ;

H_4 : Pour tout $x \in X$, l'orbite $O(x) := \Phi_t(x) \ t \in \mathbb{R}_+$ a une fermeture compacte dans X , alors x^* est un point d'équilibre globalement asymptotiquement stable.

La preuve de ce théorème se trouve dans [45]. Les hypothèses sont parfois difficiles à vérifier. Il existe cependant une condition suffisante très simple qui dit que :

Théorème 4.2.2. *Faisons les hypothèses suivantes :*

H_5 : le système dynamique $\dot{x}(t) = f(x(t))$ est monotone,

H_6 : on peut trouver un point x_1 où le champ est négatif et un autre point x_2 où le champ est positif et que $x_2 < x_1$

H_7 : il y a un seul équilibre x^* dans le "rectangle" $[x_2, x_1]$,

alors toute solution dont la condition initiale est dans le rectangle converge vers l'équilibre x^* (voir Figure 5.1).

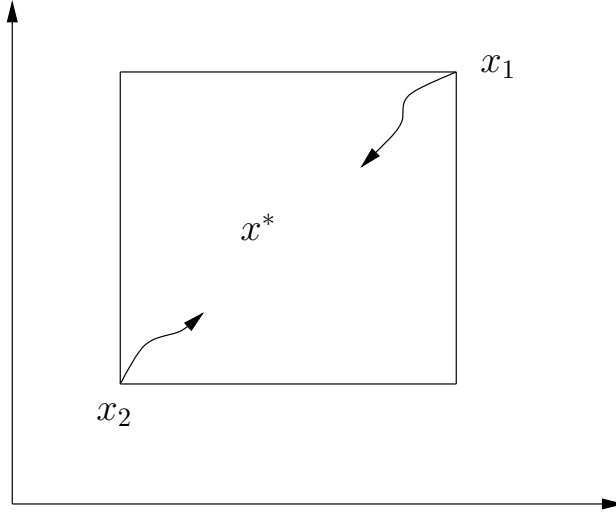


FIG. 4.2 – Convergence vers le point d'équilibre unique dans X : le champ est positif en x_2 et négatif en x_1 .

4.3 Application : boucle positive

Comme application au théorème ci-dessus, nous prendrons le modèle mathématique classique du contrôle de la production de protéines dans la cellule. Le principe peut être décrit comme suit : une séquence d'ADN est transcrite en ARNm qui donnera une enzyme. Cette enzyme va donner une autre enzyme ainsi de suite jusqu'à la dernière enzyme produite. Celle-ci va agir sur la séquence d'ADN pour contrôler la transcription de l'ARNm. Nous nous intéressons ici au contrôle positif qui correspond à un feedback positif. Cet exemple est traité exhaustivement dans [63] par des méthodes plus compliquées. Nous montrons ici comment appliquer simplement le théorème 4.2.2.

Nous restreindrons notre étude à un réseau à trois variables où x_1 sera la concentration de l'ARNm, x_2 la concentration de la première enzyme produite et x_3 l'enzyme suivant qui contrôlera la transcription de l'ARNm. $X = \mathbb{R}_+^3$

$$\begin{cases} \frac{dx_1}{dt} = g(x_3) - \alpha_1 x_1 \\ \frac{dx_2}{dt} = x_1 - \alpha_2 x_2 \\ \frac{dx_3}{dt} = x_2 - \alpha_3 x_3 \end{cases} \quad (4.4)$$

où $\alpha_i > 0$ et g est une fonction bornée et continue telle que : $0 < g(u) < M$, $0 < g'(u)$, $0 < u$.

La fonction non-linéaire g représente le contrôle positif de la dernière enzyme produite sur la transcription de l'ARNm. On prendra pour g une fonction de Hill activatrice (voir la sous-section 2.2.1) telle que $g(0) > 0$:

$$g(u) = \frac{1 + u^p}{K + u^p}$$

p est positif, $K > 1$

Vérifions l'hypothèse H_5 : Soit J la jacobienne associée au système (4.4) :

$$J = \begin{pmatrix} -\alpha_1 & 0 & \frac{\partial g(x_3)}{\partial x_3} \\ 1 & -\alpha_2 & 0 \\ 0 & 1 & -\alpha_3 \end{pmatrix}$$

Or $\frac{\partial g(x_3)}{\partial x_3} > 0$ alors le système (4.4) est monotone

Vérifions l'hypothèse H_6 : Considérons deux points P_1 et P_2 dans X de coordonnées respectives $(x_{1m}, x_{2m}, 0)$ et (x_{1M}, x_{2M}, x_{3M}) tels que $P_1 < P_2$ et

$$\frac{1}{K} > \alpha_1 x_{1m}; x_{1m} > \alpha_2 x_{2m}; x_{1M} < \alpha_2 x_{2M}; x_{2M} < \alpha_3 x_{3M}$$

Soit ϵ tel que $0 < \epsilon \ll 1$. On prendra x_{1m} et x_{2m} tels que $x_{1m} < \epsilon$ et $x_{2m} < \epsilon$. En P_1 , $\dot{x}_1 = \frac{1}{K} - \alpha_1 x_{1m} > 0$, $\dot{x}_2 = x_{1m} - \alpha_2 x_{2m} > 0$ et $\dot{x}_3 = x_{2m} > 0$. Le champ est donc positif en P_1 .

Soit λ très grand. On prendra x_{1M} , x_{2M} et x_{3M} tels que $\lambda < x_{iM}$, $i = 1, 2, 3$.

En P_2 , $\dot{x}_1 = 1 - \alpha_1 x_{1M} < 0$, $\dot{x}_2 = x_{1M} - \alpha_2 x_{2M} < 0$ et $\dot{x}_3 = x_{2M} - \alpha_3 x_{3M} < 0$. Le champ est donc négatif en P_2 .

Vérifions l'hypothèse H_7 : L'équilibre du système (4.4) est donné par :

$$\dot{x}_3 = 0 \Rightarrow x_2^* = \alpha_3 x_3^*$$

$$\dot{x}_2 = 0 \Rightarrow x_1^* = \alpha_2 x_2^* = \alpha_2 \alpha_3 x_3^*$$

$$\dot{x}_1 = 0 \Rightarrow g(x_3^*) = \alpha_1 \alpha_2 \alpha_3 x_3^*$$

Nous tombons sur un problème de point fixe.

Nous allons maintenant calculer $\frac{\partial g(x_3)}{\partial x_3}$.

$$\frac{\partial g(x_3)}{\partial x_3} = \frac{n(K-1)x_3^{n-1}}{(K+x_3^n)^2}$$

or $K > 1$ alors $\frac{\partial g(x_3)}{\partial x_3} > 0$. Pour x_3 tendant vers l'infini, alors $\frac{\partial g(x_3)}{\partial x_3}$ tend vers 0.

La fonction $g(x_3)$ est par suite croissante, concave et est telle que $g(0) = \frac{1}{K}$.

La fonction $f(x_3^*) = \alpha_1 \alpha_2 \alpha_3 x_3^*$ est linéaire alors le système (4.4) admet un unique point fixe. (voir figure 4.3)

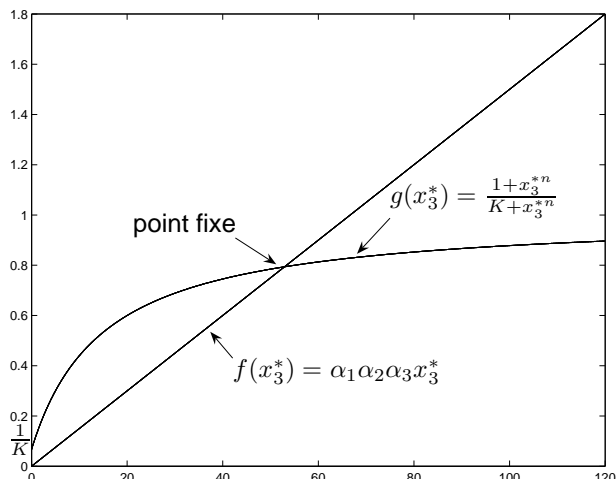


FIG. 4.3 – Résolution graphique de l'équation $g(x_3^*) = \alpha_1 \alpha_2 \alpha_3 x_3^*$. On prouve qu'il n'y a qu'un seul point fixe.

Proposition 4.3.1. *Pour le système (4.4) à boucle positive, les hypothèses H_5 , H_6 et H_7 sont vérifiées. Il admet donc un unique équilibre globalement stable dans \mathbb{R}_+^3 .*

Cette méthode peut donc être utile pour étudier des systèmes en boucles (interactions) positives.

4.4 Stabilité globale des chaînes de réactions enzymatiques

Au cours des dernières années, plusieurs études ont été faites pour analyser le comportement des systèmes métaboliques. Le plus connu et le plus utilisé est l'analyse du contrôle métabolique qui découle des travaux de Kacser et Burns [39] et d'Heinrich et Rapoport [32]. Il consiste à considérer les états stationnaires de systèmes d'enzymes et de faire une étude de sensibilité. A notre connaissance, nous ne connaissons pas d'étude faite sur la stabilité globale de réseaux métaboliques. Nous nous sommes donc intéressés à la stabilité des réseaux métaboliques. Nous allons utiliser des résultats similaires à ceux des systèmes compartimentaux [37].

Donnons maintenant quelques rappels concernant les systèmes compartimentaux (voir [37]). Il s'agit de décrire l'évolution dynamique de n compartiments interconnectés par des liens où s'échangent des flux. L'équation globale s'écrit en faisant un bilan de masse entre les entrées et les sorties de chaque compartiment. Nous aurons seulement besoin de la définition suivante d'une matrice compartimentale :

Définition 6. Matrice compartimentale

On appelle $f_{(n \times n)}$ une matrice compartimentale si elle satisfait aux trois propriétés suivantes [37] :

$$f_{ii} \leq 0 \text{ pour tout } i, \quad (4.5)$$

$$f_{ij} \geq 0 \text{ pour tout } i \neq j, \quad (4.6)$$

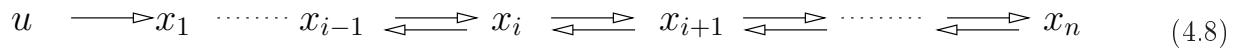
$$-f_{jj} \geq \sum_{i \neq j} f_{ij} \text{ pour tout } j \quad (4.7)$$

Remarque. Il existe un lien entre les systèmes compartimentaux et les systèmes monotones. En effet si la matrice jacobienne est compartimentale alors le système est monotone.

Remarquons que les f_{ij} peuvent en général dépendre des $x_k, k = 1 \dots n$ qui sont les concentrations dans chaque compartiment. Un cas fréquent est celui où f_{ij} , flux du compartiment j dans le compartiment i , ne dépend que de x_j (donc du compartiment de départ). Il existe aussi des théorèmes sur la stabilité des systèmes compartimentaux linéaires.

Notre objectif est maintenant d'étudier la stabilité globale de réseaux enzymatiques réversibles. Pour simplifier l'exposition, nous allons considérer des chaînes enzymatiques, et pas des réseaux plus complexes avec des boucles. Ceci nous permettra d'écrire plus facilement les équations et de présenter plus rapidement les calculs. Nous dirons à la fin de chaque section ce qui peut se généraliser (ou pas) à un réseau.

De même, nous souhaitons considérer des entrées et des sorties pour ce réseau enzymatique, et pour clarifier l'exposition, nous avons choisi de prendre une seule entrée au plus ; nous considérons donc la chaîne suivante :



Nous avons classifié les cas intéressants en trois formes :

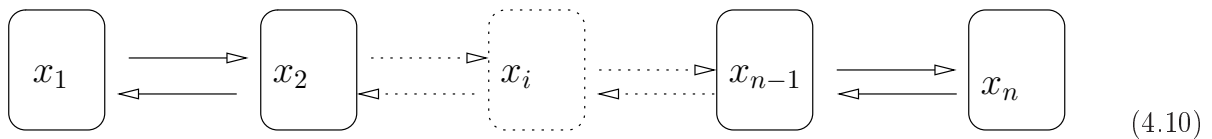
- le système est fermé : il n'y a pas d'entrée ni de sortie et les termes de dégradation des variables sont négligés ;
- le système possède une entrée et les termes de dégradation sont pris en compte ;
- le système possède une entrée et une sortie ; les autres termes de dégradation sont négligés.

Nous allons étudier dans chaque cas la stabilité globale ; $x \in X = \mathbb{R}_+^n$ désignera les concentrations des n variables.

L'expression de la vitesse d'une réaction entre x_i et x_{i+1} sera donc :

$$R_i(x_i, x_{i+1}) = E_i \frac{k_{i,i+1}x_i - k_{i+1,i}x_{i+1}}{K_{i,i+1} + k'_{i,i+1}x_i + k'_{i+1,i}x_{i+1}} \quad (4.9)$$

4.4.1 Réseau enzymatique fermé



Le modèle mathématique de ce type de réseau est donné par :

$$\dot{x} = AR(x) \quad (4.11)$$

avec

$$R(x) = (R_1, R_2, \dots, R_{n-1})^T$$

$$\text{et } A = \begin{pmatrix} -1 & 0 & 0 & \dots & 0 \\ 1 & -1 & 0 & \dots & 0 \\ \vdots & \ddots & \ddots & \ddots & \vdots \\ 0 & \dots & 0 & 1 & -1 \\ 0 & \dots & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}$$

Pour mieux voir la forme de la matrice A , prenons $n = 3$. Alors

$$\begin{cases} \frac{dx_1}{dt} = -R_1(x_1, x_2) \\ \frac{dx_2}{dt} = R_1(x_1, x_2) - R_2(x_2, x_3) \\ \frac{dx_3}{dt} = R_2(x_2, x_3) \end{cases} \quad (4.12)$$

On vérifie aisément que l'orthant positif est invariant. On verra aussi que le système est coopératif à $i, \frac{1}{2}$ cause des signes des dérivées ($\frac{\partial R_i}{\partial x_i} \geq 0$ et $\frac{\partial R_i}{\partial x_{i+1}} \leq 0$). Enfin, on peut interpréter le système en termes compartimentaux, puisqu'il y a des bilans de matière.

Nous allons utiliser le théorème suivant (rappelons que fortement connexe signifie que le graphe de la matrice est irréductible) :

Théorème 4.4.1. *Propriété 5 dans [5]*

Soit $M(x) = \sum_{i=1}^n x_i$ la concentration totale du système.

Si un système fermé avec une matrice jacobienne compartimentale est fortement connexe (voir Définition 4), alors pour tout $M_0 > 0$ et constant, l'hyperplan $H = \{x \in \mathbb{R}_+^n : M(x) = M_0 > 0\}$ est invariant et il existe un unique équilibre globalement stable dans H

Remarque. Ce théorème remonte à d'anciens résultats de stabilité [60]

Soit J_1 la matrice jacobienne associée au système (4.11)

$$J_1 = \begin{pmatrix} -\frac{\partial R_1}{\partial x_1} & -\frac{\partial R_1}{\partial x_2} & 0 & \dots & \dots \\ \frac{\partial R_1}{\partial x_1} & \frac{\partial R_1}{\partial x_2} - \frac{\partial R_2}{\partial x_2} & -\frac{\partial R_2}{\partial x_3} & 0 & \dots \\ \vdots & \ddots & \ddots & \ddots & \vdots \\ 0 & \dots & \frac{\partial R_{n-2}}{\partial x_{n-2}} & \frac{\partial R_{n-2}}{\partial x_{n-1}} - \frac{\partial R_{n-1}}{\partial x_{n-1}} & -\frac{\partial R_{n-1}}{\partial x_n} \\ 0 & \dots & \dots & \frac{\partial R_{n-1}}{\partial x_{n-1}} & \frac{\partial R_{n-1}}{\partial x_n} \end{pmatrix}$$

La matrice J_1 est telle que :

sur la diagonale on a

$$\left\{ -\frac{\partial R_1}{\partial x_1}, \frac{\partial R_i}{\partial x_{i+1}} - \frac{\partial R_{i+1}}{\partial x_{i+1}} \text{ avec } i = 1, \dots, n-2; \frac{\partial R_{n-1}}{\partial x_n} \right\}$$

sur la diagonale inférieure on a :

$$\frac{\partial R_i}{\partial x_i} \text{ avec } i = 1, \dots, n-1$$

sur la diagonale supérieure on a :

$$-\frac{\partial R_i}{\partial x_{i+1}} \quad \text{avec } i = 1, \dots, n-1$$

Or $\frac{\partial R_i}{\partial x_i} \geq 0$ et $\frac{\partial R_i}{\partial x_{i+1}} \leq 0$, alors tous les éléments hors diagonale sont positifs. Aussi $\forall j, -f_{jj} = \sum_{i \neq j} f_{ij}$, alors la matrice jacobienne J_1 est compartmentale.

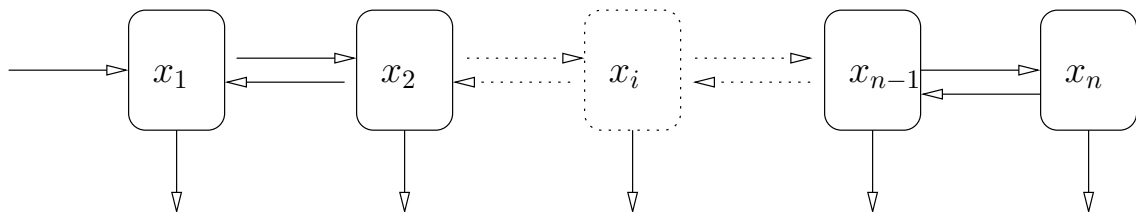
La réversibilité des réactions fait que le système (4.11) est fortement connexe (voir figure 4.10). D'après le théorème 4.4.1, l'hyperplan $H = \{x \in \mathbb{R}_+^n : M(x) = \sum_{i=1}^n x_i = M_0 > 0\}$ est invariant et admet un unique équilibre globalement stable dans H .

Proposition 4.4.2. *Pour un réseau enzymatique fermé, l'hyperplan $H = \{x \in \mathbb{R}_+^n : M(x) = \sum_{i=1}^n x_i = M_0 > 0\}$ est invariant et admet un unique équilibre globalement stable dans H .*

Généralisation : Si le graphe est un réseau et plus une chaîne, toutes les propriétés seront conservées. Le graphe sera fortement connexe s'il est connexe (puisque toutes les réactions sont réversibles), et donc en un seul morceau.

Proposition 4.4.3. *Pour un réseau enzymatique fermé connexe, l'hyperplan $H = \{x \in \mathbb{R}_+^n : M(x) = \sum_{i=1}^n x_i = M_0 > 0\}$ est invariant et contient un unique équilibre globalement stable dans H .*

4.4.2 Réseau enzymatique ouvert avec prise en compte des termes de dégradation



Dans ce réseau, tous les métabolites x_i sont dégradés à un taux γ identique. Le modèle mathématique de ce type de réseau est donné par :

$$\dot{x} = AR(x) + U - \gamma x \quad (4.14)$$

avec

$$R(x) = (R_1, R_2, \dots, R_{n-1})^T$$

et $A = \begin{pmatrix} -1 & 0 & 0 & \dots & 0 \\ 1 & -1 & 0 & \dots & 0 \\ \vdots & \ddots & \ddots & \ddots & \vdots \\ 0 & \dots & 0 & 1 & -1 \\ 0 & \dots & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}$

U est le vecteur entrée : $U_{n \times 1} = (u, 0, 0, \dots, 0)^T$. Pour $n = 3$, le modèle est donné par :

$$\begin{cases} \frac{dx_1}{dt} = u - R_1(x_1, x_2) - \gamma_1 x_1 \\ \frac{dx_2}{dt} = R_1(x_1, x_2) - R_2(x_2, x_3) - \gamma_2 x_2 \\ \frac{dx_3}{dt} = R_2(x_2, x_3) - \gamma_3 x_3 \end{cases} \quad (4.15)$$

Nous allons utiliser le théorème suivant :

Théorème 4.4.4. *théorème 8 dans [37]*

Soit

$$\dot{x} = F(x) \quad (4.16)$$

- (S1)

$$\frac{\partial F_i}{\partial x_j} \geq 0 \quad \text{pour } i \neq j, \quad i, j = 1, \dots, n,$$

- (S2)

$$\sigma(x) = \sum_i \dot{x}_i \quad \text{satisfait} \quad \frac{\partial \sigma}{\partial x_i} < 0 \quad \text{pour tout } i$$

- (S3) Il existe un $k > 0$ tel que $\sigma(x) \leq 0$ quand $\sum_i x_i = k$

Si les conditions (S1), (S2) et (S3) sont satisfaites, alors le système (4.16) admet un équilibre unique globalement asymptotiquement stable.

Pour étudier le système (4.14), nous allons vérifier (S1), (S2) et (S3).

La matrice jacobienne du système (4.14) est donnée par :

$$J_2 = \begin{pmatrix} -\frac{\partial R_1}{\partial x_1} - \gamma & -\frac{\partial R_1}{\partial x_2} & 0 & \dots & \dots \\ \frac{\partial R_1}{\partial x_1} & \frac{\partial R_1}{\partial x_2} - \frac{\partial R_2}{\partial x_2} - \gamma & -\frac{\partial R_2}{\partial x_3} & 0 & \dots \\ \vdots & \ddots & \ddots & \ddots & \vdots \\ 0 & \dots & \frac{\partial R_{n-2}}{\partial x_{n-2}} & \frac{\partial R_{n-2}}{\partial x_{n-1}} - \frac{\partial R_{n-1}}{\partial x_{n-1}} - \gamma & -\frac{\partial R_{n-1}}{\partial x_n} \\ 0 & \dots & \dots & \frac{\partial R_{n-1}}{\partial x_{n-1}} & \frac{\partial R_{n-1}}{\partial x_n} - \gamma \end{pmatrix}$$

Or $\frac{\partial R_i}{\partial x_i} \geq 0$ et $\frac{\partial R_i}{\partial x_{i+1}} \leq 0$ alors tous les éléments hors diagonale sont positifs.

La condition (S1) est donc satisfaite.

Soit

$$\sigma(x) = \sum_i \dot{x}_i = u - \gamma \sum_i x_i$$

$\forall i, \frac{\partial \sigma(x)}{\partial x_i} = -\gamma < 0$ alors (S2) est ainsi satisfaite.

Posons $k = \sum_i x_i$, alors $\sigma(x) = u - \gamma k$. On peut ainsi choisir k très grand tel que $\sigma(x) \leq 0$. Ainsi (S3) est satisfaite.

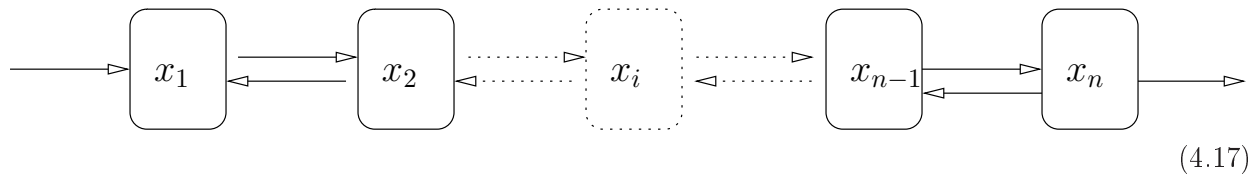
Proposition 4.4.5. *Le système (4.14) admet un unique équilibre globalement asymptotiquement stable dans \mathbb{R}_+^n .*

Généralisation : Si le graphe est un réseau et plus une chaîne, toutes les propriétés seront conservées pour appliquer le théorème. De même si le taux de dégradation de x_i est $\gamma_i \neq 0$ (et pas une constante γ), alors on peut encore appliquer le théorème. La propriété (S_3) est encore vraie car $\sigma(x) \leq u - mx$, avec $m = \min(\gamma_i)$. Remarquons quand même que le théorème ne peut plus s'appliquer si un taux de dégradation est nul. Comme il y a une seule entrée, nous supposons que le réseau est connexe.

Proposition 4.4.6. *Le système (4.14) avec un graphe en réseau connexe admet un unique équilibre globalement asymptotiquement stable dans \mathbb{R}_+^n , si tous les taux de dégradation sont strictement positifs.*

4.4.3 Réseau enzymatique ouvert sans les termes de dégradation

Ce cas est le plus difficile et le plus intéressant. Le schéma de la chaîne est donc le suivant :



Le modèle mathématique de ce type de réseau est donné par :

$$\dot{x} = AR(x) + U - Sx \quad (4.18)$$

avec

$$R(x) = (R_1, R_2, \dots, R_{n-1})^T$$

$$\text{et } A = \begin{pmatrix} -1 & 0 & 0 & \dots & 0 \\ 1 & -1 & 0 & \dots & 0 \\ \vdots & \ddots & \ddots & \ddots & \vdots \\ 0 & \dots & 0 & 1 & -1 \\ 0 & \dots & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}$$

U est le vecteur entrée : $U_{n \times 1} = (u, 0, 0, \dots, 0)^T$ et Sx est le vecteur sortie : $Sx_{(n \times 1)} = (0, 0, 0, \dots, kx_n)^T$, k est une constante positive.

Pour $n = 3$, le modèle correspond à :

$$\begin{cases} \frac{dx_1}{dt} = u - R_1(x_1, x_2) \\ \frac{dx_2}{dt} = R_1(x_1, x_2) - R_2(x_2, x_3) \\ \frac{dx_3}{dt} = R_2(x_2, x_3) - kx_3 \end{cases} \quad (4.19)$$

Equilibre du modèle

Le système est à l'équilibre si $\dot{x}_i = 0$ pour $i = 1, \dots, n$.

Ainsi $\sum \dot{x}_i = 0 \Rightarrow u = kx_n^*$

En posant $X_i = \sum_{j=1}^i \dot{x}_j = 0$, $i = 1, \dots, n-1$, nous obtenons :

$$u = R_i$$

Alors

$$x_i^* = \frac{E_i k_{i+1,i} x_{i+1}^* + u(K_{i,i+1} + k'_{i+1,i} x_{i+1}^*)}{E_i k_{i,i+1} - k'_{i,i+1} u}$$

Cet équilibre existe si

$$E_i k_{i,i+1} - k'_{i,i+1} u > 0 \Rightarrow u < \frac{k_{i,i+1}}{k'_{i,i+1}} E_i \quad \forall i$$

Supposons cette condition remplie, alors cet équilibre est unique car pour tout $u = cst$, il existe un unique x_n^* tel que $u = kx_n^*$. Et si x_n^* est unique alors $x_{n-1}^* = \frac{E_{n-1} k_{n,n-1} x_n^* + u(K_{n-1,n} + k'_{n,n-1} x_n^*)}{E_{n-1} k_{n-1,n} - k'_{n-1,n} u}$ est aussi unique. Itérativement on montre que x^* est unique.

Proposition 4.4.7. *Le système (4.18) admet un équilibre unique si et seulement si $u < \frac{k_{i,i+1}}{k'_{i,i+1}} E_i \quad \forall i$.*

Proposition 4.4.8. *Le système (4.18) n'admet pas d'équilibre s'il existe un i tel que $u \geq \frac{k_{i,i+1}}{k'_{i,i+1}} E_i$.*

Stabilité du modèle pour le cas où $u < \frac{k_{i,i+1}}{k'_{i,i+1}} E_i \quad \forall i$

Avant de nous lancer à l'étude de stabilité, nous allons d'abord rappeler quelques définitions et propriétés tirées de [5].

Définition 7. Réseau complètement connecté aux sorties (CCS).

Considérons la figure 4.17, les x_i sont des compartiments du réseau.

Un compartiment x_i est connecté à une sortie si il y a un chemin $x_i \rightarrow x_j \rightarrow \dots \rightarrow x_l$ partant de ce compartiment et se terminant en un compartiment x_l à partir duquel il y a un flux de sortie. Le réseau est complètement connecté aux sorties (CCS) si chaque compartiment est connecté à une sortie.

Propriété 1. Invertibilité et stabilité d'une matrice compartimentale

Une matrice compartimentale $A(x)$ est régulière et stable $\forall x \in \mathbb{R}_+^n$ si et seulement si le réseaux à compartiments est CCS.

Propriété 2. Si $J(x)$ est une matrice compartimentale $\forall x \in \mathbb{R}_+^n$, alors toutes les trajectoires bornées tendent vers un équilibre dans \mathbb{R}_+^n .

Considérons maintenant le modèle (4.18).

La matrice jacobienne associée au modèle (4.18) est donnée par :

$$J_3 = \begin{pmatrix} -\frac{\partial R_1}{\partial x_1} & -\frac{\partial R_1}{\partial x_2} & 0 & \dots & \dots \\ \frac{\partial R_1}{\partial x_1} & \frac{\partial R_1}{\partial x_2} - \frac{\partial R_2}{\partial x_2} & -\frac{\partial R_2}{\partial x_3} & 0 & \dots \\ \vdots & \ddots & \ddots & \ddots & \vdots \\ 0 & \dots & \frac{\partial R_{n-2}}{\partial x_{n-2}} & \frac{\partial R_{n-2}}{\partial x_{n-1}} - \frac{\partial R_{n-1}}{\partial x_{n-1}} & -\frac{\partial R_{n-1}}{\partial x_n} \\ 0 & \dots & \dots & \frac{\partial R_{n-1}}{\partial x_{n-1}} & -k + \frac{\partial R_{n-1}}{\partial x_n} \end{pmatrix}$$

- Vérifions la condition 4.6

Sur la diagonale inférieure on a :

$$\frac{\partial R_i}{\partial x_i} \text{ avec } i = 1, \dots, n - 1$$

Sur la diagonale supérieure on a :

$$-\frac{\partial R_i}{\partial x_{i+1}} \text{ avec } i = 1, \dots, n - 1$$

Or $\frac{\partial R_i}{\partial x_i} > 0 \forall i$ et $\frac{\partial R_i}{\partial x_{i+1}} < 0 \forall i$ alors tous les éléments hors diagonale sont positifs

- Vérifions la condition 4.5

Tous les éléments de la diagonale sont négatives

- Vérifions la condition 4.7

Nous avons

$$J_{11} = \sum_{j=2}^n J_{j1}$$

$$J_{ii} = \sum_{j=1, j \neq i}^n J_{ji} \quad i = 2, \dots, n - 1$$

$$-J_{nn} - \sum_{j=1}^{n-1} J_{jn} = k \Rightarrow -J_{nn} > \sum_{j=1}^{n-1} J_{jn}$$

Nous avons bien $-J_{jj} \geq \sum_{i \neq j} J_{ij} \quad \forall j$

Proposition 4.4.9. *La matrice jacobienne J_3 est compartmentale $\forall x \in \mathbb{R}_+^n$*

Considérons maintenant la fonction de type norme suivante utilisée dans [28] :

$$V(x) = \sum_{i=1}^n |x_i - x_i^*| \tag{4.20}$$

Cette fonction n'est cependant pas dérivable en $x_i = x_i^*$, nous utilisons la dérivée à droite par rapport au temps et définissons les opérations suivantes :

$$\sigma_i = \begin{cases} 1 & \text{si } x_i(t) > x_i^* \text{ ou si } x_i(t) = x_i^* \text{ et } \dot{x}_i(t) > 0 \\ 0 & \text{si } x_i(t) = x_i^* \text{ et } \dot{x}_i(t) = 0 \\ -1 & \text{si } x_i(t) < x_i^* \text{ ou si } x_i(t) = x_i^* \text{ et } \dot{x}_i(t) < 0 \end{cases} \quad (4.21)$$

Nous pouvons maintenant faire la dérivée à droite de la fonction $V(x(t)) = \sum_{i=1}^n \sigma_i(x_i - x_i^*)$:

$$\begin{aligned} \frac{d^+}{dt}V(x(t)) &= \sum_{i=1}^n \sigma_i(\dot{x}_i - \dot{x}_i^*) \\ &= -\sigma_1(R_1 - R_1^*) + \sum_{i=2}^{n-1} \sigma_i(R_{i-1} - R_{i-1}^* - R_i + R_i^*) + \sigma_n(R_{n-1} - R_{n-1}^* - k(x_n - x_n^*)) \\ &= \sum_{i=1}^{n-1} (R_i - R_i^*)(\sigma_{i+1} - \sigma_i) - \sigma_n k(x_n - x_n^*) \end{aligned}$$

Deux cas peuvent se présenter :

- Si $\sigma_i = \sigma_{i+1} \Rightarrow (R_i - R_i^*)(\sigma_{i+1} - \sigma_i) = 0$
- Si $\sigma_i = -\sigma_{i+1}$ alors pour connaître le signe de $\frac{d^+}{dt}V(x(t))$, nous allons nous intéresser au signe de $(R_i - R_i^*)$.

$$\begin{aligned} R_i - R_i^* &= \frac{(x_i - x_i^*) \left(k_{i,i+1} K_{i,i+1} + (k_{i,i+1} k'_{i+1,i} + k'_{i,i+1} k_{i+1,i}) x_{i+1}^* \right)}{(K_{i,i+1} + k'_{i,i+1} x_i + k'_{i+1,i} x_{i+1})(K_{i,i+1} + k'_{i,i+1} x_i^* + k'_{i+1,i} x_{i+1}^*)} \\ &\quad - \frac{(x_{i+1} - x_{i+1}^*) \left(k_{i+1,i} K_i + (k_{i,i+1} k'_{i+1,i} + k'_{i,i+1} k_{i+1,i}) x_i^* \right)}{(K_{i,i+1} + k'_{i,i+1} x_i + k'_{i+1,i} x_{i+1})(K_{i,i+1} + k'_{i,i+1} x_i^* + k'_{i+1,i} x_{i+1}^*)} \end{aligned}$$

Or $\text{Signe}(x_i - x_i^*) = -\text{Signe}(x_{i+1} - x_{i+1}^*)$ alors $\text{Signe}(R_i - R_i^*) = \text{Signe}(x_i - x_i^*) = \sigma_i$
Ainsi $(R_i - R_i^*)(\sigma_{i+1} - \sigma_i) = (R_i - R_i^*)(-2\sigma_i) < 0$

Par suite, dans tous les cas, les termes sont négatifs :

$$\frac{d^+}{dt}V(x(t)) \leq -\sigma_n k(x_n - x_n^*) \leq 0$$

Proposition 4.4.10. *Etant donné que $V(x) = \sum_{i=1}^n |x_i - x_i^*|$ et que $\frac{d^+}{dt}V(x(t)) \leq 0$, alors toutes les solutions sont bornées.*

Proposition 4.4.11. *La matrice jacobienne J_3 est compartimentale et toutes les trajectoires sont bornées, alors d'après la propriété 2, toutes les trajectoires tendent vers un équilibre unique dans \mathbb{R}_+^n .*

La matrice jacobienne J_3 est fortement connexe et comme le modèle a une sortie alors d'après la définition 7, le modèle est CCS.

Proposition 4.4.12. *D'après la propriété 1, la matrice J_3 est régulière et stable, alors l'équilibre est localement stable.*

L'équilibre est localement stable et globalement attractif, et donc nous avons finalement :

Proposition 4.4.13. *Pour $u < \frac{k_{i,i+1}}{k'_{i,i+1}} E_i \forall i$, le système (4.18) admet un unique équilibre attractif et localement stable dans \mathbb{R}_+^n . Ceci implique que l'équilibre est globalement asymptotiquement stable dans \mathbb{R}_+^n .*

Cas où $\exists i$ tel que $u \geq \frac{k_{i,i+1}}{k'_{i,i+1}} E_i$

Pour le cas où $u \geq \frac{k_{i,i+1}}{k'_{i,i+1}} E_i$ l'équilibre n'existe pas. Il est facile de voir qu'une variable au moins va tendre vers l'infini.

Généralisation. Dans le cas d'un réseau avec une entrée et une sortie, le résultat se généralise avec les mêmes outils s'il existe un équilibre (qui est alors globalement stable). Par contre, les conditions d'existence d'un tel équilibre sont plus difficiles à écrire.

4.4.4 Conclusion

Les études de ces trois cas de chaînes enzymatiques aboutissent aux conclusions suivantes : pour un réseau enzymatique fermé et un réseau enzymatique ouvert avec prise en compte des termes de dégradation, il existe un équilibre unique globalement asymptotiquement stable. Et pour un réseau enzymatique ouvert sans termes de dégradation, si l'équilibre existe alors il est unique et est globalement asymptotiquement stable.

Généralisation. On peut sans mal généraliser ces résultats dans le cas où la cinétique réversible entre x_i et x_j s'écrit (au lieu de (2.11) :

$$R(x_i, x_j)$$

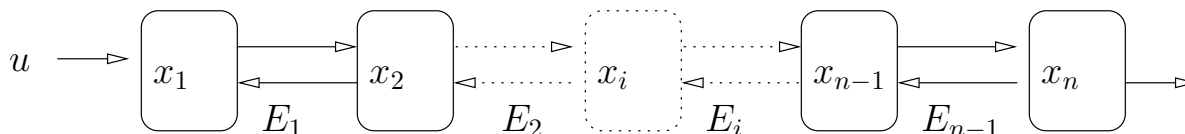
avec les propriétés suivantes :

- $R(0, x_j) = R(x_i, 0) = 0$
- $R(x_i, x_j)$ est croissante par rapport à x_i et décroissante par rapport à x_j .
- $R(x, 0)$ est borné quand x tend vers l'infini, ainsi que $R(0, x)$.

4.5 Chaîne enzymatique couplée avec des gènes

Nous allons appliquer ces résultats en couplant le système métabolique étudié avec une régulation génétique.

Considérons la chaîne enzymatique suivante :



Les E_i sont des enzymes codées par des gènes e_i et la transcription des gènes est contrôlée par certaines enzymes x_i . En prenant en compte l'hypothèse biologique selon laquelle les variables

métaboliques sont plus rapides que les variables génétiques, nous pourrions appliquer le théorème de Tikhonov (voir annexe A.1) et étudier séparément la partie métabolique et la partie génétique. Dans l'étude de la partie métabolique, nous considérerons que les E_i sont constants. Et dans l'étude de la partie génétique, on remplacera les x_i par leurs expressions à l'équilibre. Nous nous limiterons ici à l'étude de la variation des équilibres métaboliques en fonction des variables génétiques.

Le modèle de la partie métabolique correspond au modèle (4.18).

L'équilibre de ce modèle est donné par :

$$x_n^* = \frac{u}{k}, x_i^* = \frac{E_i k_{i+1,i} x_{i+1}^* + u(K_{i,i+1} + k'_{i+1,i} x_{i+1}^*)}{E_i k_{i,i+1} - k'_{i,i+1} u} \quad i = 1, \dots, n-1.$$

On peut réécrire l'expression de x_i^* en fonction des E_i .

$$x_{n-1}^* = \frac{E_{n-1} k_{n,n-1} \frac{u}{k} + u(K_{n-1,n} + k'_{n,n-1} \frac{u}{k})}{E_{n-1} k_{n-1,n} - k'_{n-1,n} u} = f_{n-1}(E_{n-1})$$

et

$$x_{n-2}^* = \frac{E_{n-2} k_{n-1,n-2} f_{n-1}(E_{n-1}) + u(K_{n-2,n-1} + k'_{n-1,n-2} f_{n-1}(E_{n-1}))}{E_{n-1} k_{n-2,n-1} - k'_{n-2,n-1} u} = f_{n-2}(E_{n-1}, E_{n-2})$$

Itérativement, on trouve que $x_i^* = f_i(E_i, E_{i+1}, \dots, E_{n-1}) \quad i = 1, \dots, n-1$.

De ces expressions, on en déduit que

$$\frac{\partial x_i^*}{\partial E_j} < 0 \quad i = 1, \dots, n-1 \quad \text{et} \quad j = i, \dots, n-1$$

Proposition 4.5.1. *Pour ce système, les équilibres $x_i^* = f_i(E_i, E_{i+1}, \dots, E_{n-1}) \quad i = 1, \dots, n-1$ sont décroissantes par rapport aux $E_i, \quad i = 1, \dots, n-1$.*

Pour nous résumer, considérons le système suivant :

$$\dot{x} = f(x, E) \tag{4.22}$$

$$\dot{E} = g(E, x) \tag{4.23}$$

où x est la variable métabolique et E la variable génétique. Il rassemble le couplage évoqué plus haut entre système métabolique et génétique. On peut alors appliquer un théorème de type Tikhonov pour mettre le système métabolique à l'état stationnaire (supposé existant) globalement asymptotiquement stable d'après les théorèmes précédents.

De l'équation (4.22), nous en déduisons l'expression de x à l'équilibre $x^*(E)$ qui est fonction décroissante par rapport à E .

Maintenant en remplaçant dans (4.23), x par x^* nous obtenons

$$\dot{E} = g(E, x^*(E)).$$

Cela introduit des boucles négatives supplémentaires sur la partie génétique. Le nouveau système ne comprend que des variables génétiques, et peut être étudié par des techniques adaptées, par exemple les systèmes affines par morceaux [31, 12].

Conclusion. Nous avons montré que sous certaines conditions, l'équilibre est unique et stable. On peut donc simplifier le système couplé métabolique-génétique et obtenir un système génétique seul, avec de nouvelles interactions négatives apparues du fait du métabolisme.

Chapitre 5

Etude de modèle métabolico-génétique basée sur des techniques de systèmes monotones

Nous avons vu dans le chapitre 4 que des systèmes avec que des interactions positives sont monotones et ont une forte tendance à converger vers un équilibre globalement stable. Cependant en biologie, on rencontre souvent des systèmes avec des interactions négatives donnant ainsi des systèmes non-monotones. Nous voudrions maintenant utiliser des techniques basées sur la monotonie pour étudier ces systèmes non-monotones.

Dans ce chapitre, nous allons prendre un exemple de système non-monotone auquel nous appliquons une technique utilisant *un théorème du petit gain*. Notre apport est l'étude d'un petit système métabolico-génétique par des techniques de systèmes monotones. Elle a fait l'objet d'une présentation et d'actes de conférence dans RIAMS 2006.

Avant d'en venir à notre exemple, nous allons donner quelques définitions et rappeler le théorème du petit gain.

5.1 Un théorème du petit gain

Définition 8. Caractéristique entrée-état statique

On dit que le système

$$\dot{x} = f(x, u)$$

est doté d'une caractéristique entrée-état statique

$$k_x(\cdot) : \mathcal{U} \rightarrow \mathcal{X}$$

si et seulement si pour toute entrée constante $u(t) = u$, il existe un unique point d'équilibre globalement asymptotiquement stable $k_x(u)$.

Définition 9. Caractéristique entrée-sortie statique

Pour un système ayant pour sortie $y = h(x)$, nous définissons la caractéristique entrée-sortie statique comme

$$k_y(u) := h(k_x(u))$$

à condition que la caractéristique entrée-état statique existe et que h soit continue.

Pour plus d'éclaircissement, consulter [3, 4].

Soit le système (5.1)

$$\begin{cases} \frac{dx}{dt} = f_1(x, u) \\ \frac{dz}{dt} = f_2(z, v) \end{cases} \quad (5.1)$$

$y = h_1(x)$ et $w = h_2(z)$

La figure 5.1 donne une représentation du système(5.1)

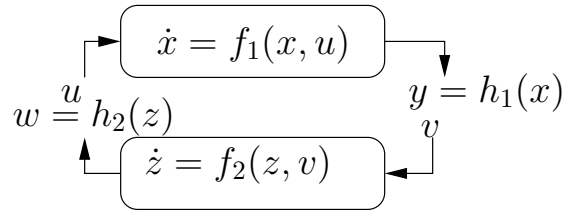


FIG. 5.1 – Décomposition du système en deux sous-systèmes

Faisons les hypothèses suivantes :

Hypothèse 3. le premier sous-système est monotone par rapport à l'état x et à l'entrée u et sa sortie y est aussi monotone par rapport à l'état x

Hypothèse 4. le deuxième sous-système est aussi monotone par rapport à l'état z et à son entrée y et sa sortie w est anti-monotone par rapport à l'état z

Hypothèse 5. les caractéristiques entrée-état statique $k_x(\cdot)$ et $k_z(\cdot)$ existent. De même les caractéristiques entrée-sortie $k_y(\cdot)$ du premier sous-système et $k_w(\cdot)$ du second sous-système existent et sont respectivement croissante et décroissante

Hypothèse 6. toutes les solutions du système sont bornées

Théorème 5.1.1. *Considérons le système (5.1) et interconnectons les deux sous-systèmes avec un feedback tel que $v = y$ et $u = w$.*

Si les quatre hypotheses ci-dessus sont toutes vérifiées alors le système (5.1) admet un équilibre globalement asymptotiquement stable à condition que le système discret suivant :

$$u_{k+1} = (k_w \circ k_y)(u_k)$$

admette un unique point globalement asymptotiquement stable u^ . (voir figure 5.2).*

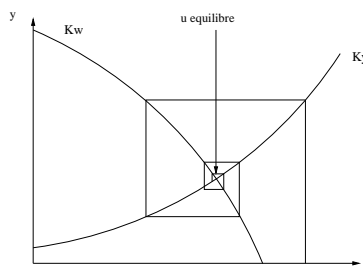


FIG. 5.2 – Caractéristiques I/O dans le plan (u, y) : feedback négatif

La preuve de ce théorème est bien détaillée dans [3, 4]

5.2 Application : réseau métabolico-génétique non monotone

Nous allons prendre un exemple de réseau métabolico-génétique non monotone auquel nous appliquons une méthode utilisant un théorème du petit gain.

Considérons le réseau suivant :

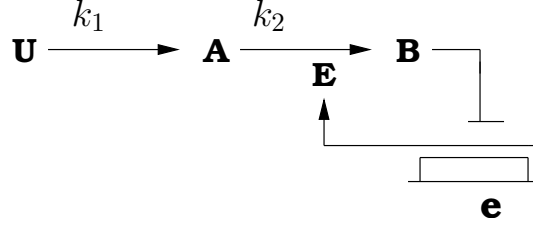


FIG. 5.3 – Réseau de régulation métabolico-génétique

U est l'entrée du réseau, A et B sont des métabolites, e est un gène qui code pour la protéine E . La transcription du gène e est inhibée par le métabolite B . La réaction $A \rightarrow B$ est catalysée par E . Le modèle mathématique est donné par :

$$\begin{cases} \frac{dx_a}{dt} = k_1 x_u - k_2 x_e \frac{x_a}{x_a + K_m} - \gamma_a x_a \\ \frac{dx_b}{dt} = k_2 x_e \frac{x_a}{x_a + K_m} - \gamma_b x_b \\ \frac{dx_e}{dt} = k_e h^-(x_b) - \gamma_e x_e \end{cases} \quad (5.2)$$

avec $h^-(x_b) = \frac{\theta_b^n}{x_b^n + \theta_b^n}$ et x_u est une constante. L'inhibition de la transcription du gène par le métabolite B rend le système non-monotone. Nous allons vérifier les hypothèses du théorème du petit gain.

faisons l'hypothèse suivante :

Hypothèse 7. $\gamma_a > \gamma_b$

5.2.1 Décomposition en deux sous-systèmes monotones

Etant donné que le système (5.2) est non monotone, nous allons procéder à une décomposition en systèmes monotones.

$$S_1 : \begin{cases} \frac{dx_e}{dt} = k_e h^-(u) - \gamma_e x_e = q(u, x_e) \end{cases} \quad (5.3)$$

avec $h^-(u) = \frac{\theta_b^n}{(-u)^n + \theta_b^n}$

$$S_2 : \begin{cases} \frac{dx_a}{dt} = k_1 x_u - k_2 v \frac{x_a}{x_a + K_m} - \gamma_a x_a = f_a(x_a, v) \\ \frac{dx_b}{dt} = k_2 v \frac{x_a}{x_a + K_m} - \gamma_b x_b = f_b(x_a, x_b, v) \end{cases} \quad (5.4)$$

$u = -x_b$ est l'entrée du premier système et que $w = -x_b$ est la sortie du deuxième. Nous prendrons $v = x_e$ comme entrée du deuxième et $y = x_e$ comme sortie du premier. Cette décomposition peut être vue comme la séparation de la partie métabolique et de la partie génétique.

5.2.2 Monotonicité des deux sous-systèmes

S_2 est non-monotone par rapport à l'entrée car

$$\begin{aligned}\frac{\partial f_a(x_a, v)}{\partial v} &< 0 \\ \frac{\partial f_b(x_a, x_b, v)}{\partial v} &> 0\end{aligned}$$

Pour rendre S_2 monotone, nous allons poser $z = x_a + x_b$. Nous obtenons le système suivant :

$$S'_2 : \begin{cases} \frac{dz}{dt} = k_1 x_u + (\gamma_a - \gamma_b)x_b - \gamma_a z = f(x_b, z) \\ \frac{dx_b}{dt} = k_2 v \frac{z - x_b}{z - x_b + K_m} - \gamma_b x_b = g(x_b, z, v) \end{cases} \quad (5.5)$$

Sa jacobienne est donn e par J_1 :

$$J_1 = \begin{pmatrix} -\gamma_a & \gamma_a - \gamma_b \\ \frac{K_m}{(z - x_b + K_m)^2} & -\gamma_b \end{pmatrix}$$

S'_2 est monotone par rapport à l' tat. On a aussi

$$\begin{aligned}\frac{\partial f(x_b, z)}{\partial x_e} &= 0 \\ \frac{\partial g(x_b, z)}{\partial x_e} &> 0\end{aligned}$$

D'où S'_2 monotone aussi par rapport à l'entrée.

La sortie étant $w = -x_b$, alors

$$\begin{pmatrix} \frac{\partial w}{\partial z} \\ \frac{\partial w}{\partial x_b} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 \\ -1 \end{pmatrix} < 0$$

La sortie est donc anti-monotone par rapport à l' tat.

S_1 est toujours monotone par rapport à l'état car étant d'ordre 1. Et comme la sortie est x_e , alors la sortie de S_1 est aussi monotone par rapport à l' tat.

On a aussi

$$\frac{\partial q(u)}{\partial u} = k_e h'^{-}(-u)$$

or

$$h'^{-}(-u) = \frac{\partial h^{-}(-u)}{\partial u}$$

En posant $s = -u$, on aura :

$$\frac{\partial h^{-}(-u)}{\partial u} = \frac{\partial h^{-}(s)}{\partial s} \frac{\partial s}{\partial u} > 0$$

car $\frac{\partial h^{-}(s)}{\partial s} < 0$ et $\frac{\partial s}{\partial u} < 0$.

Donc S'_1 est aussi monotone par rapport à l'entrée .

Proposition 5.2.1. *Sous l'hypothèse que $\gamma_a > \gamma_b$, le sous-système S_1 est monotone par rapport à son entrée et à son  tat. Sa sortie est aussi monotone par rapport à son  tat.*

S'_2 est monotone par rapport à son entrée et à son  tat. Sa sortie est anti-monotone par rapport à son  tat.

5.2.3 Existence des caractéristiques entrée-état

Considérons le sous-système S'_2 et déterminons son point d'équilibre

$$\begin{cases} x_{a1,2}^* = \frac{k_1 x_u - \gamma_a K_m - k_2 v \pm \sqrt{\Delta}}{2\gamma_a} \\ x_b^* = \frac{k_1 x_u - \gamma_a x_a^*}{\gamma_b} \\ \Delta = (k_1 x_u - \gamma_a K_m - k_2 v)^2 + 4\gamma_a k_1 x_u K_m \end{cases} \quad (5.6)$$

x_a a une solution positive et une solution négative. Les concentrations devant être positives, on choisit donc la solution positive :

$$x_a^* = \frac{k_1 x_u - \gamma_a K_m - k_2 v + \sqrt{\Delta}}{2\gamma_a}$$

Le point d'équilibre de S'_2 sera donc :

$$\begin{cases} x_b^* = \frac{k_1 x_u - \gamma_a x_a^*}{\gamma_b} \\ z^* = x_a^* + x_b^* \end{cases} \quad (5.7)$$

- Etude de la stabilité de ce point fixe

L'entrée v est supposée constante. Considérons la fonction de Lyapunov suivante pour étudier la stabilité globale de S'_2 .

$V(Z, X_b) = |Z - X_b| + |X_b|$ avec $Z = z - z^*$ et $X_b = x_b - x_b^*$

- $V(0, 0) = 0$
- $V(Z, X_b) > 0 \forall (Z, X_b) \neq (0, 0)$
- $\lim_{(Z, X_b) \rightarrow \infty} V(Z, X_b) = \infty$

V est un bon candidat de Lyapunov. Reste maintenant à trouver le signe de \dot{V}

Réécrivons S'_2 :

$$S'_2 : \begin{cases} \frac{dZ}{dt} = k_1 x_u + (\gamma_a - \gamma_b)(X_b + x_b^*) - \gamma_a(Z + z^*) \\ \frac{dX_b}{dt} = k_2 v \frac{Z - X_b + z^* - x_b^*}{Z - X_b + z^* - x_b^* + K_m} - \gamma_b(X_b + x_b^*) \end{cases} \quad (5.8)$$

Remarquons qu'à l'équilibre :

$$\begin{aligned} k_1 x_u + (\gamma_a - \gamma_b)x_b^* - \gamma_a z^* &= 0 \\ k_2 v \frac{z^* - x_b^*}{z^* - x_b^* + K_m} - \gamma_b x_b^* &= 0 \end{aligned}$$

Posons $\alpha = k_2 v \frac{z^* - x_b^*}{z^* - x_b^* + K_m}$, $C = k_1 x_u$, $\gamma = \gamma_a - \gamma_b$ et calculons $\frac{dV}{dt}$

$$\begin{aligned} \frac{dV}{dt} &= \left(\frac{dZ}{dt} - \frac{dX_b}{dt} \right) \cdot \text{signe}(Z - X_b) + \frac{dX_b}{dt} \cdot \text{signe}(X_b) \\ &= (C + \gamma(X_b + x_b^*) - \gamma_a(Z + z^*) - \alpha + \gamma_b(X_b + x_b^*)) \cdot \text{signe}(Z - X_b) \\ &\quad + (\alpha - \gamma_b(X_b + x_b^*)) \cdot \text{signe}(X_b) \end{aligned}$$

Quatre cas peuvent se présenter :

- Si $(Z - X_b) > 0$ et $X_b > 0$, alors

$$\frac{dV}{dt} = (C + \gamma(X_b + x_b^*) - \gamma_a(Z + z^*))$$

En remplaçant $C + (\gamma_a - \gamma_b)x_b^* - \gamma_a z^* = 0$, on obtient

$$\begin{aligned} \frac{dV}{dt} &= \gamma X_b - \gamma_a Z \\ &= -\gamma_a(Z - X_b) - \gamma_b X_b < 0 \end{aligned}$$

- Si $(Z - X_b) > 0$ et $X_b < 0$, alors

$$\frac{dV}{dt} = -2(\alpha - \gamma_b(X_b + x_b^*)) + \gamma X_b - \gamma_a Z$$

En remplaçant $\gamma_b x_b^* = k_2 x_e \frac{z^* - x_b^*}{z^* - x_b^* + K_m}$, on trouve :

$$\begin{aligned} \frac{dV}{dt} &= -2 \frac{(Z - X_b) K_m}{(Z + z^* - X_b - x_b^* + K_m)(z^* - x_b^* + K_m)} - \gamma_a(Z - X_b) + \gamma_b X_b \\ \frac{dV}{dt} &< 0 \end{aligned}$$

- Si $(Z - X_b) < 0$ et $X_b > 0$, alors

$$\frac{dV}{dt} = 2(\alpha - \gamma_b(X_b + x_b^*)) - \gamma X_b + \gamma_a Z$$

En remplaçant $\gamma_b x_b^* = k_2 v \frac{z^* - x_b^*}{z^* - x_b^* + K_m}$, on trouve :

$$\begin{aligned} \frac{dV}{dt} &= 2 \frac{(Z - X_b) K_m}{(Z + z^* - X_b - x_b^* + K_m)(z^* - x_b^* + K_m)} + \gamma_a(Z - X_b) - \gamma_b X_b \\ \frac{dV}{dt} &< 0 \end{aligned}$$

- Si $(Z - X_b) < 0$ et $X_b < 0$, alors

$$\begin{aligned} \frac{dV}{dt} &= -\gamma X_b + \gamma_a Z \\ &= \gamma_a(Z - X_b) + \gamma_b X_b \\ \frac{dV}{dt} &< 0 \end{aligned}$$

Par suite, $\dot{V} < 0$ d'où le point d'équilibre de S_2' est globalement asymptotiquement stable.

Considérons maintenant le sous-système S_1 Son équilibre est en $x_e^* = \frac{k_e}{\gamma_e} h^-(-u)$. L'entrée u est une constante.

Pour étudier la stabilité globale de ce sous-système, nous allons considérer une fonction de Lyapunov $V(X_e) = X_e^2$ avec $X_e = x_e - x_e^*$.

V est un bon candidat Lyapunov car :

- $V(0) = 0$
- $V(X) > 0 \forall X \neq 0$
- $\lim_{X_e \rightarrow \infty} V(X_e) = \infty$

Maintenant cherchons le signe de $\dot{V}(X_e)$

$$\dot{V}(X_e) = 2(k_e h^-(-u) - \gamma_e(X_e + x_e^*))X_e$$

En remplaçant x_e^* par son expression, on obtient :

$$\dot{V}(X_e) = -2\gamma_e X_e^2 < 0$$

Par suite, le point d'équilibre de S_1 est globalement asymptotiquement stable.

Proposition 5.2.2. *Les caractéristiques entrée-état statique $k_x(\cdot)$ et $k_z(\cdot)$ respectivement de S_1 et S_2 existent de même que les caractéristiques entrée-sortie statique $k_w(\cdot)$ et $k_y(\cdot)$ données par*

$$\begin{cases} k_w(v) = -\frac{k_2 v}{\gamma_b} \frac{k_1 x_u - \gamma_a K_m - k_2 v + \sqrt{\Delta}}{k_1 x_u - \gamma_a K_m - k_2 v + \sqrt{\Delta} + 2K_m \gamma_a} \\ k_y(u) = \frac{k_e h^-(-u, \theta_b)}{\gamma_e} \\ \Delta = (k_1 x_u - \gamma_a K_m - k_2 v)^2 + 4\gamma_a k_1 x_u K_m \end{cases} \quad (5.9)$$

Sens de variation de $k_w(v)$

Posons $\alpha = \frac{k_1 x_u - \gamma_a K_m - k_2 v + \sqrt{\Delta}}{k_1 x_u - \gamma_a K_m - k_2 v + \sqrt{\Delta} + 2K_m \gamma_a} > 0$ car étant égal à $\frac{x_a}{x_a + K_m}$.
Calculons la dérivée de $k_w(v)$

$$\frac{\partial k_w(v)}{\partial v} = -\frac{k_2}{\gamma_b} \left(\alpha + v \frac{2K_m \gamma_a}{k_1 x_u - \gamma_a K_m - k_2 v + \sqrt{\Delta} + 2K_m \gamma_a} \right) < 0$$

Par suite la caractéristique entrée-sortie statique $k_w(\cdot)$ est décroissante.

Sens de variation de $k_y(u)$

Calculons la dérivée de $k_y(u)$

$$\frac{\partial k_y(u)}{\partial u} = \frac{k_e}{\gamma_e} h'^-(-u)$$

On avait vu précédemment que $h'^-(-u)$ est positif donc la caractéristique entrée-sortie statique $k_y(\cdot)$ est croissante.

Proposition 5.2.3. *La caractéristique entrée-sortie statique $k_y(\cdot)$ est croissante et $k_w(\cdot)$ est décroissante.*

5.2.4 Bornitude des solutions du système global

Soit V la somme des solutions du système

$$V = x_a + x_b + x_e$$

Rappelons que le domaine est $\mathbb{R}_{\geq 0}$

$$\dot{V} = k_1 x_u + k_e h^-(x_b) - \gamma_a x_a - \gamma_b x_b - \gamma_e x_e$$

Soit λ une constante positive et inférieure à $\gamma_a, \gamma_b, \gamma_e$ et sachant que $h^-(x_b) \leq 1$, on peut alors majorer \dot{V} .

$$\dot{V} \leq k_1 x_u + k_e - \lambda V$$

d'où,

$$V \leq \frac{k_1 x_u + k_e}{\lambda} + (V(0) - \frac{k_1 x_u + k_e}{\lambda}) e^{-\lambda t}$$

V est donc bornée, et comme toutes les solutions sont positives, on peut dire que si V est bornée alors toutes les solutions sont bornées.

Proposition 5.2.4. *Toutes les solutions du système (5.2) sont bornées.*

5.2.5 Convergence de la fonction $u_{k+1} = (k_w \circ k_y)(u_k) = F(u_k)$

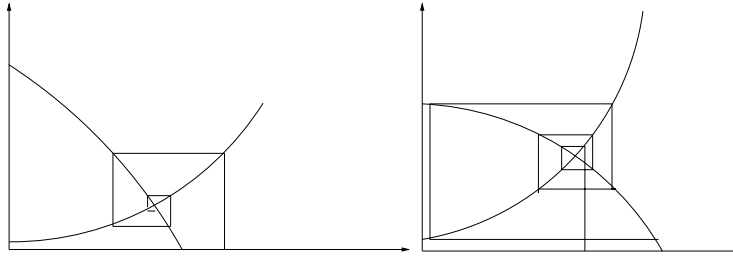


FIG. 5.4 – Convergence ou divergence de la fonction $u_{k+1} = (k_w \circ k_y)(u_k)$

Pour étudier la convergence de cette fonction, nous allons utiliser le théorème du point fixe de Banach.

Théorème 5.2.5. *Si $f : I \rightarrow I$ une application contractante, ie il existe $k \in [0, 1[$ tq pour tout $(x, y) \in I$, $\|f(x) - f(y)\| \leq k \|x - y\|$.*

Alors f possède un unique point fixe x^ . De plus, toute suite définie par $u_0 \in I$, $u_{n+1} = f(u_n)$, converge globalement vers cet unique point fixe x^* ([44, 30])*

Lemme 5.2.6. *Supposons que les quatre hypothèses énoncées plus haut soient vérifiées alors notre système admet un point d'équilibre globalement stable si*

$$\sup_{u_k \in \mathbf{R}} \left\| \frac{\partial F}{\partial u_k} \right\| < 1$$

Démonstration. Supposons que $F(u_k)$ soit continument dérivable, d'après le théorème des accroissements finis,

$$\|F(y) - F(x)\| = \left\| \frac{\partial F}{\partial u_k}(\theta)(y - x) \right\|, \theta \in [x, y]$$

$$\|F(y) - F(x)\| \leq \sup_{u_k \in \mathbf{R}} \left\| \frac{\partial F}{\partial u_k} \right\| \|y - x\|$$

Pour que l'application F soit contractante, il faut que $\sup_{u_k \in \mathbf{R}} \left\| \frac{\partial F}{\partial u_k} \right\| < 1$, ainsi $F(u_k)$ convergera globalement vers le point fixe et donc le point d'équilibre de notre système sera globalement asymptotiquement stable. \square

Revenons à notre système. En appliquant ce qui vient d'être dit à notre fonction $u_{k+1} = -k_w o k_y(u_k)$, nous devons trouver les conditions pour que $\sup_{u_k \in \mathbf{R}^m} \left\| \frac{\partial k_w o k_y(u_k)}{\partial u_k} \right\| < 1$.

$$k_w o k_y(u_k) = \frac{k_2}{\gamma^b} \frac{k_1 x_u - \gamma_a K_m - k_2 \frac{k_e}{\gamma_e} h^-(u_k) + \sqrt{k_1 x_u - \gamma_a K_m - k_2 \frac{k_e}{\gamma_e} h^-(u_k)}}{k_1 x_u - \gamma_a K_m - k_2 \frac{k_e}{\gamma_e} h^-(u_k) + \sqrt{k_1 x_u - \gamma_a K_m - k_2 \frac{k_e}{\gamma_e} h^-(u_k)} + 2\gamma_a K_m} \frac{k_e}{\gamma_e} h^-(u_k)$$

Posons $b = k_1 x_u - \gamma_a K_m$, $\alpha = k_2 \frac{k_e}{\gamma_e}$, $\beta = 2\gamma_a K_m$ et $a = \frac{k_2 k_e}{\gamma_b \gamma_e}$.

Posons $\Delta(u_k) = b - \alpha h^-(u_k)$

$$\frac{\partial k_w o k_y(u_k)}{\partial u_k} = ah'^-(u_k) \frac{(\Delta(u_k) + \sqrt{\Delta(u_k)})^2 (2\sqrt{\Delta(u_k)} + \beta) (2(\Delta(u_k))(\sqrt{\Delta(u_k)} + 1))}{2\sqrt{\Delta(u_k)}(\Delta(u_k) + \sqrt{\Delta(u_k)} + \beta)^2} - \frac{2\alpha h^-(u_k)(\sqrt{\Delta(u_k)} + 1)}{2\sqrt{\Delta(u_k)}(\Delta(u_k) + \sqrt{\Delta(u_k)} + \beta)^2}$$

Posons

$$G = \frac{(\Delta(u_k) + \sqrt{\Delta(u_k)})^2 (2\sqrt{\Delta(u_k)} + \beta) (2(\Delta(u_k))(\sqrt{\Delta(u_k)} + 1))}{2\sqrt{\Delta(u_k)}(\Delta(u_k) + \sqrt{\Delta(u_k)} + \beta)^2} - \frac{2\alpha h^-(u_k)(\sqrt{\Delta(u_k)} + 1)}{2\sqrt{\Delta(u_k)}(\Delta(u_k) + \sqrt{\Delta(u_k)} + \beta)^2}$$

donc

$$\frac{\partial k_w o k_y(u_k)}{\partial u_k} = ah'^-(u_k)G$$

- Cherchons le maximum de $\|(h^-(x))'\|$

$$\|(h^-(x))'\| = \frac{n}{x} h^-(x) h^+(x)$$

avec h^+ le complémentaire de h^- .

$$(h^-(x))'' = \frac{n}{x^2} h^- h^+ (1 + nh^+ - nh^-)$$

$\|(h^-(x))'\|$ est maximale si $(h^-(x))'' = 0$, ainsi on trouve :

$$x_{max} = \theta_b \left(\frac{n-1}{1+n} \right)^{\frac{1}{n}}$$

On en déduit l'expression de $\|(h^-(x_{max}))'\| = f_m$

$$\|(h^-(x_{max}))'\| = f_m = \frac{(1+n)^{\frac{n+1}{n}}}{4n\theta_b(n-1)^{\frac{1-n}{n}}}$$

- Cherchons le maximum de $\|G\|$

$$\|G\| = \left\| \frac{(\Delta(u_k) + \sqrt{\Delta(u_k)})^2 (2\sqrt{\Delta(u_k)} + \beta) (2(\Delta(u_k))(\sqrt{\Delta(u_k)} + 1))}{2\sqrt{\Delta(u_k)}(\Delta(u_k) + \sqrt{\Delta(u_k)} + \beta)^2} - 2 \frac{\alpha h^-(u_k)(\sqrt{\Delta(u_k)} + 1)}{2\sqrt{\Delta(u_k)}(\Delta(u_k) + \sqrt{\Delta(u_k)} + \beta)^2} \right\|$$

Soit G_{max} et G_{min} respectivement les maximum et minimum de G

$$G_{max} = \frac{(b + \sqrt{b})^2 (2\sqrt{b}) + 2\beta b (\sqrt{b} + 1)}{2\sqrt{b} - \alpha(b - \alpha + \sqrt{b - \alpha} + \beta)^2}$$

$$G_{min} = \frac{(b - \alpha + \sqrt{b - \alpha})^2(2\sqrt{b - \alpha}) + \beta(2(b - \alpha)(\sqrt{b - \alpha} + 1) - 2\alpha(\sqrt{b - \alpha} + 1))}{2\sqrt{b}(b + \sqrt{b} + \beta)^2}$$

$$\max(\|G\|) = \max(\|G_{max}\|, \|G_{min}\|)$$

On peut dire maintenant que pour que $\sup_{u_k \in \mathbf{R}^m} \left\| \frac{\partial k_{x_b} \circ k_{x_e}(u_k)}{\partial u_k} \right\| < 1$, il faut que

$$a f_m \max(\|G\|) < 1$$

$$f_m < \frac{1}{a(\max(\|G\|))}$$

Proposition 5.2.7. $\sup_{u_k \in \mathbf{R}^m} \left\| \frac{\partial k_{x_b} \circ k_{x_e}(u_k)}{\partial u_k} \right\| < 1$ si on a $f_m < \frac{1}{a(\max(\|G\|))}$.

La pente de la fonction de Hill doit être assez petite par rapport aux autres paramètres.

Vérification par simulations numériques

Nous allons faire des simulations avec des paramètres qui vérifient l'inégalité et d'autre qui ne la vérifient pas. (voir figure 5.5)

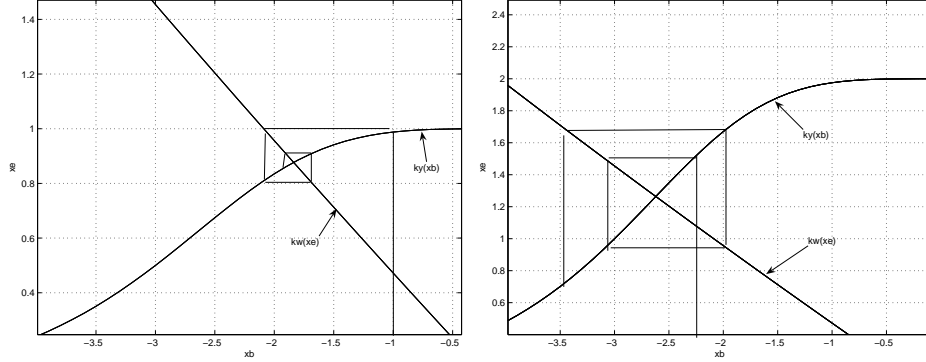


FIG. 5.5 – Comportement de la fonction $u_{k+1} = (k_w \circ k_y)(u_k) = F(u_k)$ selon les valeurs de paramètres : a) $\max(\|G\|) = 0.9248$, $a = 3$, $f_m = 0.3551 < \frac{1}{3 \cdot 0.9248} = 0.3604$ donc la fonction converge ; b) $\max(\|G\|) = 0.9248$, $a = 6$, $f_m = 0.3551 > \frac{1}{6 \cdot 0.9248} = 0.1802$ donc la fonction diverge

Proposition 5.2.8. Toutes les hypothèses du théorème de petit gain étant vérifiées sous la condition énoncée dans la proposition 5.2.7, alors le système (5.2) admet un équilibre globalement asymptotiquement stable.

Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons eu à étudier un système métabolico-génétique non-monotone du fait de la régulation négative de l'expression du gène par une protéine. En décomposant le système en deux bloc, l'un contenant la variable génétique et l'autre contenant les variables métaboliques, nous avons pu appliquer des techniques de systèmes monotones pour montrer que le système converge sous des hypothèses sur la pente de la fonction de Hill, vers un équilibre globalement stable.

Chapitre 6

Oscillations induced by different timescales in signal transduction modules regulated by slowly evolving protein-protein interactions

Dans ce chapitre, nous explorons la dynamique que peut induire l'existence de différences d'échelles de temps dans un système. Comme application, nous avons pris un modèle composé de modules d'activation et de signalisation régulés par un processus qui évolue lentement. Ce processus lent peut être une interaction protéine-protéine ou génétique. Les études de ce modèle ont permis de voir qu'une variation lente du processus lent peut induire un rapide basculement du processus rapide (module de signalisation), d'un mode de fonctionnement à un autre et conduire à des oscillations. Ces résultats sont illustrés par un modèle réduit de l'oscillateur cdc2-cycline B dans le cycle cellulaire. En utilisant les données expérimentales disponibles, les paramètres du modèle sont estimés et sont en adéquation avec un mécanisme ayant un comportement oscillatoire découlant du couplage d'un processus lent avec un processus rapide.

Ces études ont fait l'objet d'une présentation et d'un acte de conférence à Med08 et est actuellement en cours de révision pour une publication dans IET Systems Biology

6.1 Introduction

Signalling pathways are fundamental modules of intercellular organization and regulation. They are responsible for transmitting information from the exterior to the interior of the cell (or between two intercellular regions), along signal transduction cascades. Signalling pathways frequently interact among each other or with gene expression, to regulate cellular functions, in response to external stimuli. For instance, gene transcription is often the ultimate result of signalling events but, conversely, changes in gene expression patterns can also activate a signal transduction cascade. In general, signal transduction pathways and gene networks operate at different timescales. Typical signalling times are on the order of seconds, a fast process when compared to gene expression patterning, which may range from minutes to hours (see, for instance, Table 2.1 in [1]).

In this paper, we study a general system with three components : an activation module, a si-

gnalling module and a slowly evolving regulatory module. The activation and signalling components are considered fast relative to the regulatory component. In this system, the signalling module has two stable modes of operation (which correspond to two steady states for a fixed concentration of the regulatory component). We show how the signalling module can be regulated between its two stable modes of operation by a slowly varying (*e.g.*, genetic) pattern. In particular, we study the interaction between components with different timescales – slow (genetic-like) component and fast signalling component – which may induce oscillations in the concentrations of the system’s mRNAs and proteins.

Examples of biological systems where an interaction between genetic and signalling (or two signalling) modules leads to oscillatory behaviour include the p53-mdm2 [43] or the I κ B-NF κ B networks [35]. We will consider 3- and 2-dimensional models as represented schematically in Fig. 6.1. [thpb]

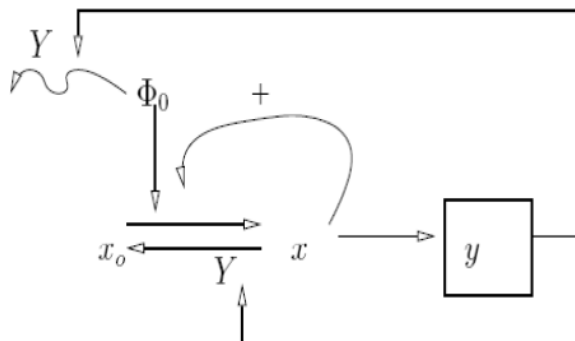


FIG. 6.1 – Simplified scheme of the mechanism of regulation.

Our models were inspired by signal transduction cascades (such as MAPK cascades [42, 18]), and, more particularly, by a model of the cdc2-cyclin B cell cycle oscillator proposed in [54, 53]. This system plays an important role in the progression from G2 to M phases in the early embryonic cell cycle in *Xenopus laevis* oocytes. Cdc2 (a cell division cycle protein; represented by x_0 in Fig. 6.1) is activated by cyclin B (represented by Φ_0), forming a complex Cdc2-cyclin B (x). This complex activates its own activator Cdc25 (represented by the “+” loop), and also activates the Anaphase Promoting Complex (Y), which in turn promotes degradation of cyclin B (degradation of Φ_0 , as well as inactivation of x back to form x_0). Some remarkable experiments on the Cdc2-cyclin B have been performed by two groups, Pomerening et al [54], and Sha et al [61], which show that the Cdc2-cyclin B system does exhibit bistability, that is two stable steady states exist for the same concentration of cyclin B. Further work by Pomerening et al [53] shows that the auto-activation positive feedback (denoted “+” in Fig. 6.1) is necessary for sustained oscillations to occur. The models proposed in [54, 53] have around 10 variables and about 30 parameters. They behave as “integrate-and-fire” or “relaxation” oscillators, using the conjunction of positive and negative feedback loops.

Here, we consider smaller 2,3-dimensional models, which are also of the type known as relaxation oscillators, because the periodic orbit essentially evolves along two different branches of the x -nullcline, with fast jumps between the two branches of the x -nullcline. In other words, along each branch of the nullcline, x is near quasi-steady state, and jumps rapidly between the two “steady states” In [53] the importance of the auto-activation positive feedback for generating oscillations was studied. In this paper, the focus is on the role of the negative feedback loop and on the analysis of

the relative timescales of the various biological processes that are needed to generate a “relaxation” oscillator.

The negative feedback is formed by the system denoted y in Fig. 6.1, whose output $Y = h(y)$ (for some appropriate function of y) contributes to the degradation of Φ_0 and x . In general, y may be an n -dimensional vector, representing the components in a regulatory module, for instance proteins and messenger RNAs in a genetic regulatory network or another signalling pathway. In the example studied throughout the paper, we will consider y to be a scalar variable and the output to be $Y = y$. Theoretical conditions on the parameters are provided, that guarantee an oscillatory behaviour as observed in [53]. First, under constant regulation (fixed y, Y), our analysis provides conditions on the parameters for the existence of bistable behaviour. Then, adding slowly varying protein-protein activity, conditions are given that guarantee the existence of a periodic orbit. Finally, a set parameters for the model is identified from data reported in [54, 53], and it satisfies all the “fast/slow” theoretical conditions. The model analysis also suggests further experiments to confirm or not, the hypothesis that the Cdc2-cyclin B oscillatory behaviour is generated by a mechanism combining a positive feedback with a slowly varying negative loop (as posed also in [53]).

Recent work [22] uses a similar “fast/slow” idea to study a system coupling an n -dimensional monotone system with a slow varying 1-dimensional system. Conditions are given for the existence of periodic orbits. An example of a MAPK cascade is given. However, no parameter estimation from the data is performed in [54, 53] or [22]. Our present study of a reduced 2-dimensional model has the advantage that each variable can be fitted to the corresponding steady state and time series data, the fast/slow hypotheses checked, and a maximum of information extracted using a minimum of mathematical machinery.

6.2 Coupling fast signalling and slow regulatory modules

Our goal is to study the role of slow processes (such as a genetic network) in the regulation of a faster process (such as a signal transduction network). For simplicity, we will consider one slow variable y (representing a regulatory genetic network or slowly evolving protein-protein interactions), and one normally varying variable x which represents a common signal transduction network, such as a MAPK cascade [42, 18] (see Fig. 6.1). Thus there are in fact two forms of a protein X , inactive (x_0) and active (x), but their total concentration is constant : $x_0 + x = X_{tot}$. The slow variable is characterized by an increasing sigmoidal activation function and a linear degradation rate : this is also the mathematical form typically used to describe a transcription/translation process. If x is below a certain threshold (θ_2), y is only weakly activated. but once x increases above that threshold, y becomes fully activated. Note that the dynamics of the regulatory module (6.4) is characterized by an increasing sigmoidal activation function and a linear degradation rate : this is also the mathematical form typically used to describe a transcription/translation process [1]. Our analysis is thus applicable to systems coupling signal transduction and gene expression, or other genetic-like processes. The normal variable is negatively regulated by the slow variable (y promotes degradation of x), but there is also a positive auto-regulation term ($\Phi(x)$), that is x increases depending on the available quantity of inactive X ($x_0 = X_{tot} - x$) :

$$\begin{aligned}\dot{x} &= \Phi(x)(X_{tot} - x) - \gamma_1 y x, \\ \dot{y} &= V_2 \frac{x^m}{x^m + \theta_2^m} - \gamma_2 y.\end{aligned}\tag{6.1}$$

The function Φ should be an increasing function of x , and in the rest of the paper we will choose one general form (see Section 6.2.1). In particular, we wish to study conditions under which the slower dynamics can induce oscillations in the system. Suppose that, for some fixed y (for y in some interval I_y), the equation for x admits multiple steady states, representing different modes of operation of the signal transduction network. Suppose also that, for y outside this interval I_y , only a single steady state for x exists. Then, as the regulatory network y changes slowly to exit the multistability interval, the x module will respond by jumping from one steady state to another. The positive auto-regulation feedback loop is essential to generate two stable states for x . Then the negative feedback loop is necessary to induce x to change between its two (stable) states. Conditions are given to guarantee (or not) the existence of oscillations. Finally, the oscillatory dynamics is important : here, we wish to study the case where x spends most of the time near one of its stable modes, and then responds to a slowly evolving y by rapidly switching to its other state. This dynamics will follow from appropriate hypotheses on the timescales of the different biological processes. The theorem of Poincaré-Bendixson will be used to establish the existence of oscillations - this is a standard result for 2-dimensional systems (see, for instance, [51] ; a recent example of its use for establishing conditions for oscillations in chemical reaction networks can be found in [9]).

This kind of oscillatory systems has been mathematically studied before [51], but never really applied to estimate parameters from biological experimental data to verify that the fast/slow conditions hold. Another new aspect analyzed in this paper is the use of the slow/fast framework to obtain analytical estimates for the period of the orbit in terms of the parameters of the system. Several predictions can then be made, for instance, which parameter most affects the period and the time spent in each “steady state” or mode of operation.

6.2.1 The model

To study the system (6.1) we will next introduce a general form for function Φ . This is motivated by model a of the cell cycle oscillator studied in [54, 53]. Equations (6.1) can be viewed as a reduced model of the cell cycle oscillator : the protein x represents Cdc2-Cyclin , and the slow variable y represents the Anaphase Promoting Complex (or APC). An inactive form of Cdc2-Cyclin B is also considered, which satisfies $x_0 = X_{tot} - x$. The transformation of protein x_0 to its active form x is mediated by another protein, w , for which we will add a simple equation with a constant synthesis rate (k_s). A basal level or external input may also be added (w_0), resulting in an activation term $\Phi_0 = k_1(w_0 + w)$, as shown in Fig. 6.1. The auto-activation feedback loop will be of the form $V_1 \frac{x^n}{x^n + \theta_1^n} x_0$. The protein x activates module y (represented by the term $V_2 \frac{x^m}{x^m + \theta_2^m}$), and a linear degradation rate is assumed for y ($\gamma_2 y$). In turn, the module y regulates degradation of both proteins x and w , by proteolysis of w (terms $-\gamma_1 y x$ and $-\gamma_s y w$). Taking the total concentration of Cdc2 to be constant, $x_0 + x = X_{tot}$, the equations are given by :

$$\dot{w} = k_s - \gamma_s y w \tag{6.2}$$

$$\dot{x} = \left(k_1(w_0 + w) + V_1 \frac{x^n}{\theta_1^n + x^n} \right) (X_{tot} - x) - \gamma_1 y x \tag{6.3}$$

$$\dot{y} = V_2 \frac{x^m}{x^m + \theta_2^m} - \gamma_2 y. \tag{6.4}$$

All parameters are positive, and it is easy to see that the nonnegative orthant ($[0, \infty[\times [0, \infty[\times [0, \infty[$) is invariant for the system. We will study this system using the idea that each of the three model’s

components has a specific response timeframe, and the three are clearly distinct. In other words, it will be assumed that three distinct timescales are present in the system : the activating stimulus (w) has the faster timescale, followed by the signalling protein x , with an intermediate or “normal” timescale, and the regulatory model has the slowest timescale (see Table 6.1).

The difference between signalling and transcription/translation times is well documented by now [1]. Regarding the activation by w , for this system, the mechanism for regulation and balancing of cyclin B is apparently not yet clear. It is well established that cyclin B is hardly present up to G2/M phase, where it rapidly accumulates to high concentration and activates Cdc2. At the end of mitosis, cyclin B is observed to degrade rapidly, through proteolysis by APC. In our analysis we will assume that the time response of w is faster than that of x or y . We will treat this as an hypothesis, part of the model, to be confirmed or contradicted from the comparison of experimental data to the dynamical behaviour of the model arising from these hypotheses. In particular, it will be assumed from now on that w is at quasi-steady state, that is,

$$w = \frac{k_s}{\gamma_s} \frac{1}{y} = a_1 \frac{1}{y}, \quad (6.5)$$

for $y > 0$ (it will be shown that y is strictly positive). Taking a new variable $x \rightsquigarrow x/X_{tot}$ and setting also $\theta_i \rightsquigarrow \theta_i/X_{tot}$ ($i = 1, 2$), the system becomes :

$$\begin{aligned} \dot{x} &= \left(k_1 \left(w_0 + \frac{a_1}{y} \right) + V_1 \frac{x^n}{\theta_1^n + x^n} \right) (1 - x) - \gamma_1 y x \\ \dot{y} &= V_2 \frac{x^m}{x^m + \theta_2^m} - \gamma_2 y. \end{aligned} \quad (6.6)$$

A similar system was studied in [49] (with $a_1 = 0$), and it was shown that, for each fixed y , there are at most three and at least one steady states for x . It is not difficult to check that this is still true for the present x equation (see Fig. 6.2). [h,t]

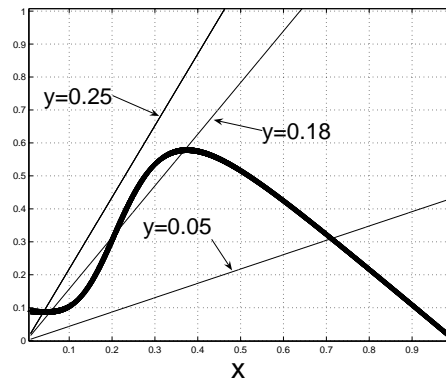


FIG. 6.2 – The bold curve represents $\Phi(x) = (\Phi_0 + V_1 \frac{x^n}{x^n + \theta_1^n})(1 - x)$ and the other curves represent $\psi = \gamma_1 y x$ for three values of y , as indicated. Values of parameters : $\Phi_0 = 0.09$, $V_1 = 1$, $V_2 = 1.275 \times 10^{-2}$, $\gamma_1 = 8.7$, $\gamma_2 = 3.75 \times 10^{-2}$, $\theta_1 = 0.25$, $\theta_2 = 0.2$, $n = 4$, $m = 50$.

Although details are given for the cdc2-cyclin B system, model (6.2)-(6.4) can also be used to describe other biological systems. Consider, as another example, the NF κ B-I κ B network [35]. The transcription factor NF κ B is present in the cytoplasm ($w = \text{NF}\kappa\text{B}_{cyt}$) and in the nucleus ($x = \text{NF}\kappa\text{B}_{nuc}$),

where it activates transcription of the $I\kappa B$ gene ($y = I\kappa B$ mRNA). The protein $I\kappa B$ will bind $NF\kappa B$, thus preventing its transcriptional activity ($\gamma_1 y x, \gamma_s y w$). Active and inactive forms of $NF\kappa B$ can be considered (x, x_0). Several other feedback loops exist (notably, through anti-apoptotic proteins such as IAP), which can be summarized by the positive auto-regulatory term $V_1 \frac{x^n}{x^n + \theta_1^n}$. With these components, model (2)-(4) also describes oscillations in the $NF\kappa B$ - $I\kappa B$ network.

6.2.2 Different timescales

Following the biologically reasonable assumption that the dynamics of the signalling network is faster than the dynamics of the protein-protein regulatory module, we can rewrite the model under a standard slow/fast approach (under a fast time) : $\dot{x} = f(x, y)$ and $\dot{y} = \gamma_2 g(x, y)$ with γ_2 small (see A1). Normalizing variable y to :

$$\tilde{y} = \gamma_2 \frac{y}{V_2},$$

system (6.6) can be rewritten as :

$$\begin{aligned} \frac{dx}{dt} &= \left(k_1 (w_0 + \frac{\gamma_2 a_1}{V_2} \frac{a_1}{\tilde{y}}) + V_1 \frac{x^n}{x^n + \theta_1^n} \right) (1 - x) - \gamma_1 \frac{V_2}{\gamma_2} \tilde{y} x \\ \frac{d\tilde{y}}{dt} &= \gamma_2 \left(\frac{x^m}{x^m + \theta_2^m} - \tilde{y} \right) \end{aligned} \quad (6.7)$$

with the additional hypothesis that $\frac{\gamma_1}{\gamma_2} V_2 \gg \gamma_2$ (see Table 6.1).

The variable w can also be normalized with respect to some appropriate value, W_{tot} :

$$\tilde{w} = \frac{w}{W_{tot}}, \quad \tilde{k}_s = \frac{k_s}{W_{tot}},$$

to obtain

$$\frac{d\tilde{w}}{dt} = \tilde{k}_s \left(1 - \frac{\gamma_s V_2}{\tilde{k}_s \gamma_2} \tilde{y} \tilde{w} \right).$$

The parameter \tilde{k}_s should be large to justify the quasi-steady state assumption (6.5). Note that $a_1 = \frac{\tilde{k}_s}{\gamma_s}$. From the normalized equations, it follows that there will be three distinct timescales in system (6.2)-(6.4) if the parameters satisfy the constraints listed in Table 6.1. [h]

TAB. 6.1 – Timescales of the model's components.

| Component | Timescale | Assumptions |
|-----------------|-----------|---|
| Activation, w | fast | $\frac{\tilde{k}_s}{W_{tot}} \gg k_1 w_0 + V_1 ; \gamma_s \gg \gamma_1$ |
| Signalling, x | normal | |
| Regulation, y | slow | $\gamma_2 \ll \min\{k_1 w_0 + V_1, V_2 \frac{\gamma_1}{\gamma_2}\}$ |

6.3 Stability analysis

The steady states of system (6.6) can be found by looking at the intersection between the nullclines $f(x, y) = 0$ and $g(x, y) = 0$. These can be solved with respect to y to obtain :

$$f_0(x) = \frac{1}{2\gamma_1}A(x) + \frac{1}{2\gamma_1}\sqrt{A(x)^2 + 4k_1a_1\gamma_1\frac{1-x}{x}},$$

$$g_0(x) = \frac{V_2}{\gamma_2}\frac{x^m}{x^m + \theta_2^m},$$

where

$$A(x) = \left(k_1w_0 + V_1\frac{x^n}{\theta_1^n + x^n}\right)\frac{1-x}{x}.$$

The form of $f_0(x)$ depends on the values of the parameters. For instance, it can be strictly decreasing, or it can have an increasing region in between two decreasing regions (as depicted in Fig. 6.3). The y nullcline is always a strictly increasing function. If f_0 is strictly decreasing, it is not difficult to check that there is only one (stable) steady state. Here we will focus on the case of f_0 with three monotonic regions, as in Fig. 6.3. In addition, V_2 , γ_2 , and m will be assumed such that g_0 intersects f_0 only once. The stability of this unique steady state depends on which region g_0 and f_0 intersect (as shown below).

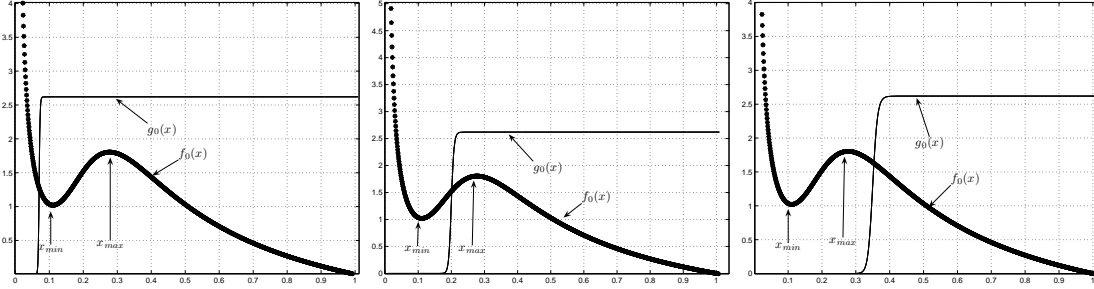


FIG. 6.3 – Representation of nullclines. By varying θ_2 , one of two cases is obtained : either θ_2 belongs to the interval $]x_{\min}, x_{\max}[$ (middle) ; or θ_2 is outside the interval $[x_{\min}, x_{\max}]$, either below x_{\min} (left), or above x_{\max} (right). Parameters are as in Fig. 6.2 and (left to right) a) $\theta_2 = 0.07$, b) $\theta_2 = 0.2$, and c) $\theta_2 = 0.35$.

Thus, the system will be studied under the following assumptions on the parameters :

- A1. $\gamma_2 < \min\{\frac{1}{2}, \frac{3}{4}\frac{k_1(w_0+a_1)}{\gamma_1V_2}\}$ and $\gamma_2 \ll \frac{\gamma_1}{\gamma_2}V_2$;
- A2. m is sufficiently large ;
- A3. there exist $0 < x_{\min} < x_{\max}$ with $df_0/dx(x_{\min}) = df_0/dx(x_{\max}) = 0$, $df_0/dx > 0$ for all $x \in]x_{\min}, x_{\max}[$, and $df_0/dx < 0$ for all $x \notin [x_{\min}, x_{\max}]$;
- A4. $f_0(x_{\max}) < \max(g_0)$ (or $f_0(x_{\max}) < \frac{V_2}{\gamma_2}$, when m tends to infinity) ;
- A5. $f_0(x_{\min}) > \min(g_0)$ (or $f_0(x_{\min}) > 0$, when m tends to infinity) ;
- A6. $n \geq \frac{24}{V_1(1-\theta_1)} \left(2\frac{a_1\gamma_1}{w_0}\frac{\theta_1}{1-\theta_1} + k_1w_0 + V_1\right)$.

These assumptions guarantee that system (6.6) has the form necessary to exhibit oscillations. More precisely : A1 guarantees that the y equation is slow relative to the x equation (see Table 6.1) ; A2 guarantees that the activation of y by x is sufficiently steep to be fairly well approximated by

a step-like function (this is used later in Section 6.5 to compute an analytical expression for the period of the orbit); A3 establishes the existence of a bistability region by saying that f_0 increases in $]x_{\min}, x_{\max}[$ and decreases in $[0, x_{\min}]$ and $[x_{\max}, 1]$ (see Figs. 6.2 and 6.3). If the function f_0 is strictly decreasing, then system (6.6) has only one stable steady state, and no oscillations are possible. If there is a region where f_0 is increasing then system (6.6) may have an unstable steady state and a periodic orbit, as will be shown (Fig. 6.3, middle). The values x_{\min}, x_{\max} can in fact be viewed as an interval for the y activation threshold θ_2 . Estimates for x_{\min}, x_{\max} will be given in Lemma 6.3.4, with the help of assumption A6; A4 and A5, together with A2, guarantee that system (6.6) has exactly one steady state, given by the intersection of the two nullclines f_0 and g_0 . The “flat” parts of the y nullcline should not intersect the x nullcline (see Fig. 6.3) :

$$\begin{aligned} x > \theta_2 : g_0(x) &\approx V_2/\gamma_2 > f_0(x_{\max}) \\ x > \theta_2 : g_0(x) &\approx 0 < f_0(x_{\min}). \end{aligned}$$

Finally, A6 says that n should be sufficiently large to generate a bistability region. It is used in Lemma 6.3.4 to find explicit conditions on the parameters to satisfy A3. But it is a conservative assumption : smaller n also satisfy the conditions.

First, we show that there are forward-invariant regions for both 3-dimensional and reduced systems. A set $\mathcal{D} \in \mathbb{R}^n$ is forward-invariant for a system $\dot{x} = f(x)$ if : for all $x_0 \in \mathcal{D}$, the solution $x(t)$ of the initial value problem $\dot{x} = f(x)$, $x(0) = x_0$ satisfies $x(t) \in \mathcal{D}$ for all $t \geq 0$.

Lemma 6.3.1. Assume A1 holds. Then the compact set

$$\mathcal{C} = \left[\frac{1}{2} \frac{k_s}{\gamma_1} \frac{\gamma_2}{V_2}, 4 \frac{k_s}{\gamma_1} \frac{\gamma_2}{V_2} \frac{\gamma_2^{2m} + \theta_2^m}{\gamma_2^{2m}} \right] \times [\gamma_2^2, 1] \times \left[\frac{V_2}{2\gamma_2} \frac{\gamma_2^{2m}}{\gamma_2^{2m} + \theta_2^m}, \frac{V_2}{\gamma_2} \right]$$

is a forward-invariant set for system (6.2)-(6.4). Furthermore, the quasi-steady state approximation (6.5) is well defined in \mathcal{C} and

$$\mathcal{D} = [\gamma_2^2, 1] \times \left[\frac{V_2}{2\gamma_2} \frac{\gamma_2^{2m}}{\gamma_2^{2m} + \theta_2^m}, \frac{V_2}{\gamma_2} \right]$$

is a forward-invariant set for the reduced system (6.6).

Proof. To determine whether a given domain \mathcal{D} is forward-invariant, we evaluate the vector field on the boundary of the domain. If the vector field points towards the interior of \mathcal{D} , then \mathcal{D} is invariant. To check that \mathcal{C} is a forward-invariant set for (6.2)-(6.4), it is clear that $\frac{dx}{dt} < 0$ whenever $x = 1$, and $\frac{dy}{dt} \leq 0$ whenever $y = \frac{V_2}{\gamma_2}$. It is also easy to check that $\frac{dw}{dt}(w_l, x, y) > 0$ whenever $w_l = \frac{1}{2} \frac{k_s}{\gamma_1} \frac{\gamma_2}{V_2}$ and $(w_l, x, y) \in \mathcal{C}$, or $\frac{dw}{dt}(w_r, x, y) < 0$ whenever $w_r = 4 \frac{k_s}{\gamma_1} \frac{\gamma_2}{V_2} \frac{\gamma_2^{2m} + \theta_2^m}{\gamma_2^{2m}}$ and $(w_r, x, y) \in \mathcal{C}$. For $y = y_l = \frac{V_2}{2\gamma_2} \frac{\gamma_2^{2m}}{\gamma_2^{2m} + \theta_2^m}$, using $x \geq \gamma_2^2$ it is clear that

$$\frac{dy}{dt}(w, x, y_l) > V_2 \frac{\gamma_2^{2m}}{\theta_2^m + \gamma_2^{2m}} - \gamma_2 \frac{V_2}{2\gamma_2} \frac{\gamma_2^{2m}}{\gamma_2^{2m} + \theta_2^m} > 0.$$

for all $(w, x, y_l) \in \mathcal{C}$. Finally, using assumption A1, one can choose γ_2 sufficiently small such that (setting $x_l = \gamma_2^2$, and using $y \leq V_2/\gamma_2$) :

$$\frac{dx}{dt}(w, x_l, y) > \left(k_1 w_0 + V_1 \frac{\gamma_2^{2n}}{\theta_1^n + \gamma_2^{2n}} \right) (1 - \gamma_2^2) - \gamma_1 \frac{V_2}{\gamma_2} \gamma_2^2 > \frac{3}{4} k_1 w_0 - \gamma_1 V_2 \gamma_2 > 0$$

for all $(w, x_l, y) \in \mathcal{C}$, using $\gamma_2 > 0$ and $\gamma_2 < 1/2$ for the first inequality, and $\gamma_2 < \frac{3}{4} \frac{k_1(w_0+a_1)}{\gamma_1 V_2}$ for the second inequality. Hence, the domain \mathcal{C} is invariant.

To prove the second part of the Lemma, since y is strictly positive (and remains inside a strictly positive closed interval), the quasi-steady state approximation (6.5) is well defined in \mathcal{C} . Note that \mathcal{D} is the projection of \mathcal{C} on (x, y) , and a similar proof shows that \mathcal{D} is indeed invariant for system (6.6). ■

The next result shows that system (6.6) has a unique equilibrium in \mathcal{D} , and analyses its stability.

Lemma 6.3.2. Assume A1-A5 hold. Then system (6.6) has a unique steady state, (x^*, y^*) , and (a) if $\theta_2 \notin [x_{\min}, x_{\max}]$, then (x^*, y^*) is stable ; (b) if $\theta_2 \in]x_{\min}, x_{\max}[$ then (x^*, y^*) is unstable.

Proof. Assumptions A2, A4 and A5 imply that f_0 and g_0 intersect at a single point (x^*, y^*) (as depicted in Fig. 6.3). To analyse stability of the steady state, consider the Jacobian. The following relations can be deduced from the nullclines'equations :

$$\begin{aligned} \frac{\partial f(x, y)}{\partial x} + \frac{\partial f(x, y)}{\partial y} s_1 &= 0 \\ \frac{\partial g(x, y)}{\partial x} + \frac{\partial g(x, y)}{\partial y} s_2 &= 0, \end{aligned} \quad (6.8)$$

where $s_1 = \frac{df_0}{dx}(x^*)$ and $s_2 = \frac{dg_0}{dx}(x^*)$ are the slopes of nullclines f_0 and g_0 computed at the steady state. Then the Jacobian is given by

$$J = \begin{bmatrix} \partial f/\partial x & \partial f/\partial y \\ \partial g/\partial x & \partial g/\partial y \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -s_1 \partial f/\partial y & \partial f/\partial y \\ -s_2 \partial g/\partial y & \partial g/\partial y \end{bmatrix}.$$

For a system of second order, it is well known that, if $\text{tr}J < 0$ and $\det J > 0$ then the steady state is stable. In contrast, $\text{tr}J > 0$ and $\det J > 0$ imply that the steady state is unstable. For both cases (a) and (b) it holds that $\det J > 0$. To see this, note that

$$\det J = (s_2 - s_1) \frac{\partial f}{\partial y} \frac{\partial g}{\partial y}$$

so $\det J > 0$ iff $s_2 > s_1$. This is always true for parameter sets satisfying A1-A5 : for $\theta_2 \notin [x_{\min}, x_{\max}]$, it follows that $s_1 < 0 < s_2$; for $\theta_2 \in]x_{\min}, x_{\max}[$, with m large enough, it follows that $s_2 > s_1 > 0$. To check the sign of the trace of J , note that

$$\text{tr}J = -s_1 \frac{\partial f}{\partial y} + \frac{\partial g}{\partial y} = s_1 \gamma_1 x^* - \gamma_2.$$

For case (a), $s_1 < 0$ so clearly $\text{tr}J < 0$ and the steady state is stable. For case (b), $s_1 > 0$ but note that $x^* > x_{\min}$, where x_{\min} is independent of γ_2 (since obtained from $df_0/dx = 0$). Thus, using assumption A1, one can choose γ_2 sufficiently small such that $\gamma_2 < s_1 \gamma_1 x_{\min} < s_1 \gamma_1 x^*$. Thus, for case (b) the steady state is unstable. ■

The dynamical behaviour of system (6.6) in case (b) can be further characterized (see also Fig. 6.5).

Lemma 6.3.3. Assume A1-A5 hold. If $\theta_2 \in]x_{\min}, x_{\max}[$, then system (6.6) admits a periodic orbit.

Proof. The existence of a periodic orbit follows immediately from the theorem of Poincaré-Bendixson [51] and the previous lemmas. The following two conditions are verified : (i) there exists a bounded, invariant region in the xy -plane (\mathcal{D} , Lemma 6.3.1); and (ii) this region contains a unique unstable steady state (Lemma 6.3.2). ■

Finally, we will give sufficient conditions on the parameters for the system to verify assumption A3, and hence exhibit a periodic orbit. It is not easy to find explicit expressions for x_{\min} and x_{\max} in terms of the parameters of the system. To solve this problem, we will instead show that there exists $\Delta > 0$ such that the interval $I = [(1 - \Delta)\theta_1, \theta_1] \subset]x_{\min}, x_{\max}[$. In this case, a sufficient condition for existence of an unstable equilibrium point is $\theta_2 \in [(1 - \Delta)\theta_1, \theta_1]$.

Lemma 6.3.4. Let $\alpha = 1/2^{\frac{1}{n}} \in [\frac{1}{2}, 1]$ and suppose assumption A6 holds. Then $x_{\min} < \alpha\theta_1$ and $x_{\max} > \theta_1$.

Proof. To prove this, it is sufficient to verify that, for n large enough, the derivative of f_0 is positive for $x = \lambda\theta_1$ for any $\lambda \in [\alpha, 1]$, and becomes negative somewhere outside this interval. This follows from assumption A6 and the expression of the derivative of f_0 :

$$\frac{df_0}{dx} = \frac{1}{2\gamma_1} \frac{dA}{dx} + \frac{1}{2\gamma_1} \frac{1}{c} \left(2A \frac{dA}{dx} - 4k_1 a_1 \gamma_1 \frac{1}{x^2} \right),$$

where c denotes the expression : $\sqrt{A(x)^2 + 4k_1 a_1 \gamma_1 \frac{1-x}{x}}$. Note that $\frac{dA}{dx} < 0$ implies $\frac{df_0}{dx} < 0$ and that

$$\frac{dA}{dx} > 0 \text{ and } A \frac{dA}{dx} > 2k_1 a_1 \gamma_1 \frac{1}{x^2} \quad (6.9)$$

implies that $\frac{df_0}{dx} > 0$. For $x = \lambda\theta_1$ with $\lambda \leq 1$ obtain :

$$\begin{aligned} A(\lambda\theta_1) &= \left(k_1 w_0 + V_1 \frac{\lambda^n}{\lambda^n + 1} \right) \frac{1 - \lambda\theta_1}{\lambda\theta_1} \\ \frac{dA}{dx}(\lambda\theta_1) &= \frac{1}{\lambda^2 \theta_1^2} \left(n V_1 \frac{\lambda^n}{(\lambda^n + 1)^2} (1 - \lambda\theta_1) - k_1 w_0 - V_1 \frac{\lambda^n}{\lambda^n + 1} \right). \end{aligned}$$

Since $A(x)$ is positive for all x , to satisfy (6.9) it is sufficient that

$$\begin{aligned} n\lambda^n &\geq 4 \frac{2}{V_1(1 - \theta_1)} \left[2k_1 a_1 \gamma_1 \frac{\theta_1}{1 - \theta_1} \frac{1}{k_1 w_0} + k_1 w_0 + V_1 \right] \\ &\geq \frac{(\lambda^n + 1)^2}{V_1(1 - \lambda\theta_1)} \left[2k_1 a_1 \gamma_1 \frac{\lambda\theta_1}{1 - \lambda\theta_1} \frac{1}{k_1 w_0 + V_1 \frac{\lambda^n}{\lambda^n + 1}} + k_1 w_0 + V_1 \frac{\lambda^n}{\lambda^n + 1} \right], \end{aligned}$$

where we have used that fact that $1/2 \leq \lambda < 1$ and the following inequalities :

$$4 > (\lambda^n + 1)^2, \quad 1 > \frac{\lambda^n}{\lambda^n + 1} > 0, \quad \frac{\theta_1}{1 - \theta_1} > \frac{\lambda\theta_1}{1 - \lambda\theta_1}.$$

Now, by assumption $\lambda \geq \alpha = 1/2^{\frac{1}{n}}$, which leads to :

$$n\lambda^n \geq n\alpha^n = \frac{n}{2} \geq \frac{12}{V_1(1 - \theta_1)} \left[2k_1 a_1 \gamma_1 \frac{\theta_1}{1 - \theta_1} \frac{1}{k_1 w_0} + k_1 w_0 + V_1 \right],$$

where assumption A6 was used in the last inequality. Therefore, under the assumptions, conditions (6.9) are indeed both satisfied. ■

6.4 Parameter identification

To illustrate the theoretical results we will use systems (6.2)-(6.4) and (6.6) as a simple model for the mechanism of Cdc2 activation by cyclin B. This is known to function as an autonomous oscillator [54] in the progression from G2 to M phases in the early embryonic cell cycle of *Xenopus* oocytes.

Two types of experiments were performed by Pomerening and co-authors. In the first set of experiments [54], a non-destructible form of cyclin B was used, which is not subject to APC-mediated degradation. Cyclin B was used as a constant input to the system : *Xenopus* egg extracts were treated with different concentrations of cyclin B and allowed to reach a steady state. Bistability and hysteresis were observed. In the second set of experiments [53], the importance of the positive feedback loop is explored (represented by the x auto-regulation in our models), and cyclin B is not externally controlled as before. Simultaneous measurements of cyclin B and Cdc2-cyclin B activity are available. We will next use two sets of experimental data to estimate parameters for model (6.6), and then check whether these are compatible with the timescales' assumptions.

6.4.1 Bistability

The experiments reported in [54] (see, in particular, Fig. 3(c) of this reference) can be interpreted as the response x to *constant inputs* w . The data consists of steady state values of x , for each constant w . In Fig. 6.4, the hysteresis curve for steady states of Cdc2-cyclin B as a function of the input u is reproduced as white squares and black stars. Since a non-destructible form of cyclin B was used, in our 3-dimensional model, the w equation becomes redundant, and the system is modeled by (6.3) and (6.4), with constant $w \equiv u$. According to our analysis, if x is at steady state, then we expect y to remain fixed at some (unknown) value y_0 .

Under these hypotheses, model (6.2)-(6.4) can be reduced to the x equation, with a new parameter $\gamma_0 = \gamma_1 y_0$, to be estimated :

$$\dot{x} = \Phi(x) - \gamma_0 x = \left(k_1(w_0 + u) + V_1 \frac{x^n}{x^n + \theta_1^n} \right) (1 - x) - \gamma_0 x \quad (6.10)$$

The input term for x is of the form $\Phi_0 = k_1(w_0 + u)$, where $u = [\delta 65 - \text{cyclin B}]$ represents the concentration of the non-destructible cyclin B (known), w_0 represents a basal concentration of cyclin B (unknown parameter), and k_1 is the corresponding reaction rate.

A set of parameters that describe the biological system can be estimated by minimizing the difference between the data and the model's steady states. However, since the data consists of steady state measurements, it contains no information on the rapidity of convergence to steady state. That is, only the ratios V_1/k_1 and γ_0/k_1 can be obtained from the data. Observe also that, for large n , it is not possible to derive an explicit expression for the steady states of (D.1). Therefore, for the purposes of parameter estimation, we have chosen to approximate the sigmoidal expression $\frac{x^n}{x^n + \theta_1^n}$ by a ramp function (see also [49]). For simplicity, the exponent n will be fixed at $n = 4$. The estimation procedure is described in the Appendix, and further details given in the Supplementary material. As u varies from 0 to 40 nM, there should be only a "low" steady state ; for u roughly in the interval 45 - 70 nM there should be both a "low" and a "high" steady state ; finally, for u larger than 75nM there should be only a "high" steady state. For the existence of a bistability region, there are two possible cases for the "low" and a "high" stable steady states. The estimated parameters are given in Table 6.2. [h]

TAB. 6.2 – Estimated parameters. The errors indicated correspond to the diameter of a 95% confidence region for the bistability data, and 95% confidence intervals for the time series data.

| Bistability Cdc2 activity data | | Simultaneous Cdc2 activity, Cyclin B data | |
|--------------------------------|----------------------|---|---|
| Parameter | Value | Parameter | Value |
| w_0 | 61.92 ± 1.74 nM | w_0 | 19.78 ± 3.57 nM |
| $\frac{V_1}{k_1}$ | 430.86 ± 4.09 nM | a_1 | 1.504 ± 0.208 nM ² |
| $\frac{\gamma_0}{k_1}$ | 843.42 ± 5.06 nM | k_1 | $3.769 \times 10^{-4} \pm 3.92 \times 10^{-6}$ nM ⁻¹ min ⁻¹ |
| θ_1 | 0.2752 ± 0.0012 | V_1 | 0.162 ± 0.0032 min ⁻¹ |
| n | 4 | V_2 | 0.251 ± 0.069 nM min ⁻¹ |
| | | γ_1 | 0.358 ± 0.09 nM ⁻¹ min ⁻¹ |
| | | γ_2 | 0.026 ± 0.0051 min ⁻¹ |
| | | θ_2 | 0.269 ± 0.045 |

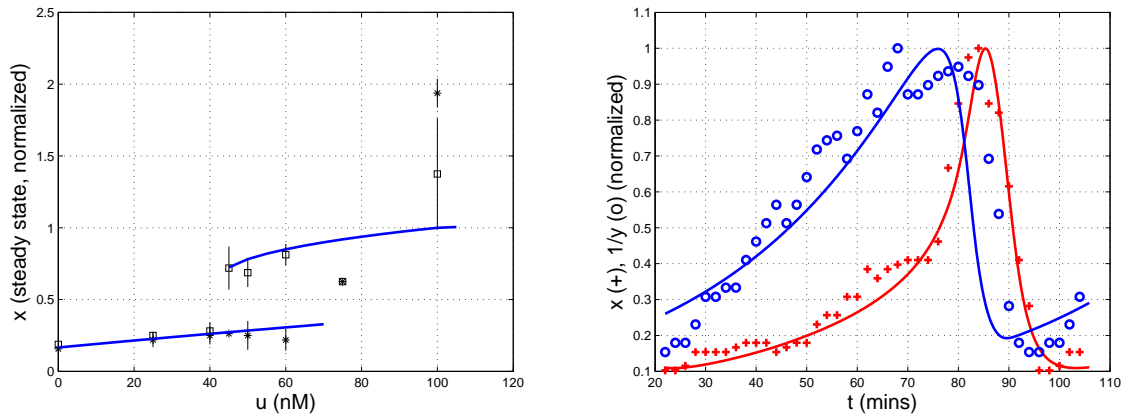


FIG. 6.4 – Data fitting. Left : steady state response of Cdc2-cyclin B activity. The stars and squares represent the hysteresis data from Fig. 3(c) of [54]. Right : dynamical evolution of Cdc2-cyclin B activity ('+') and cyclin B ('o'). The symbols represent data from Fig. 1V of [53]. Solid curves represent the model variables, normalized to their maximal value. Variable x fits to '+' and $1/y$ fits to 'o'.

6.4.2 Oscillations

One of the experiments reported in [53] (namely, Fig. 1V of this reference) shows the simultaneous evolution of both cyclin B (w) and Cdc2-cyclin B activity (x) (in a wild type case), but there are no APC measurements (y). Under the different timescales hypothesis, we consider that cyclin B responds much faster than Cdc2 to changes in APC, obtaining reduced system (6.6).

The parameters already obtained from the bistability data will now be used in the estimation of the remaining parameters, as follows :

- $\theta_2 \in [(1 - \Delta)\theta_1, \theta_1]$ (see Appendix) ;
- to simplify computational work, we choose and fix $m = 6$;
- γ_1 is newly estimated (since γ_0 is in fact $\gamma_1 y_0$, with unknown y_0) ;
- w_0 is newly estimated, since basal levels may depend on the experimental conditions ;
- a_1 , V_2 , and γ_2 are newly estimated ;
- k_1 is newly estimated ; based on it the parameter V_1 can be computed.

The estimation procedure is a nonlinear least squares method, where the cost to be minimized is the difference between data points and model trajectories, both normalized to their maximal values (see Appendix). As before, this procedure was implemented in Matlab 7.3, using the function `lsqnonlin`. The parameters obtained are shown in Table 6.2, and the final fit may be seen in Fig. 6.4.

6.4.3 Validation of different timescales hypotheses

Estimates have now been obtained for all parameters of (2-dim) system (6.6). To check whether the assumptions on the timescales are verified recall that (Table 6.1) :

$$\gamma_2 \ll \min\{k_1 w_0 + V_1, \frac{\gamma_1}{\gamma_2} V_2\} : \quad 0.026 \pm 0.0051 \ll \min\{0.17, 1.54\}.$$

Assumption A1 further requires :

$$\gamma_2 < \frac{3}{4} \frac{k_1(w_0 + a_1)}{\gamma_1 V_2} : \quad 0.026 \pm 0.0051 < 0.034.$$

We have considered the error bars for each parameter to find the minimum values of $k_1 w_0 + V_1$, $\frac{\gamma_1}{\gamma_2} V_2$, and $\frac{k_1(w_0 + a_1)}{\gamma_1 V_2}$. Since we have no way to access γ_s or k_s/W_{tot} , it cannot be checked whether the quasi-steady state assumption on w is justified. However, looking at the data in Fig. 6.4, we observe that cyclin B ($= w$) has a fairly constant value during the sharp increase in Cdc2-cyclin B ($= x$) (the symbols 'o' in the time interval [75,85] minutes). According to the model, y remains practically constant during the sharp x rise (see also Fig. 6.5). This argues in favor of the approximation $w \approx a_1/y$.

The estimated parameters satisfy all inequalities. These results indicate that system (6.2), together with the hypotheses of substantially different timescales is a reasonable model of the Cdc2-cyclin B oscillator. This 2-dimensional model may have the disadvantage of being too schematic and not containing enough detail, but many advantages are also gained : it is suitable for parameter estimation from the available measurements, avoiding many problems related to underdetermined systems ; and it still provides a faithful and useful phenomenological description of the biological system.

6.5 Period, sensitivity analysis and more experiments

Assume now that conditions A1-A6 are satisfied, and system (6.6) has a periodic orbit. To obtain some knowledge on the period of the orbit, as well as its dependence on the various parameters, we will again use the "fast/slow" variables assumptions. The partial state y (regulation variable) represents a variable whose evolution is slow relative to x (signalling variable). As an example, consider the parameters obtained for the cdc2-cyclin B system and the corresponding trajectories (Fig. 6.5 (a),(b)). It can be observed that x switches rapidly between two ("steady") states or two distinct modes of operation of x : x remains for some time (roughly around 50s) on a low concentration state (x_B), before rapidly jumping to a high concentration state (x_A). The time spent in the high state is much shorter (roughly around 7s), and then x quickly falls back to x_B . In contrast, the variable y responds slowly to changing x concentration. (y evolves according to decreasing or increasing negative exponentials). In the phase space (Fig. 6.5 (a)), this fast/slow dynamics is seen by the fact that the periodic orbit moves practically along the $y = f_0(x)$ nullcline as y decreases from its maximal to minimal value : along this nullcline, $\dot{x} = 0$, so x remains practically constant

in this part of the cycle (at x_A). This type of dynamics is more clearly illustrated in Fig. 6.5 (c),(d) (where two parameters are slightly changed from those in Table 6.2). Here, it is clear that the “slow” part of the system corresponds to changes in y with an almost constant x , as trajectories move along the x -nullcline ($y = f_0(x)$). The fast part of the system corresponds to rapid changes in x , as it jumps from one state to another in response to y .

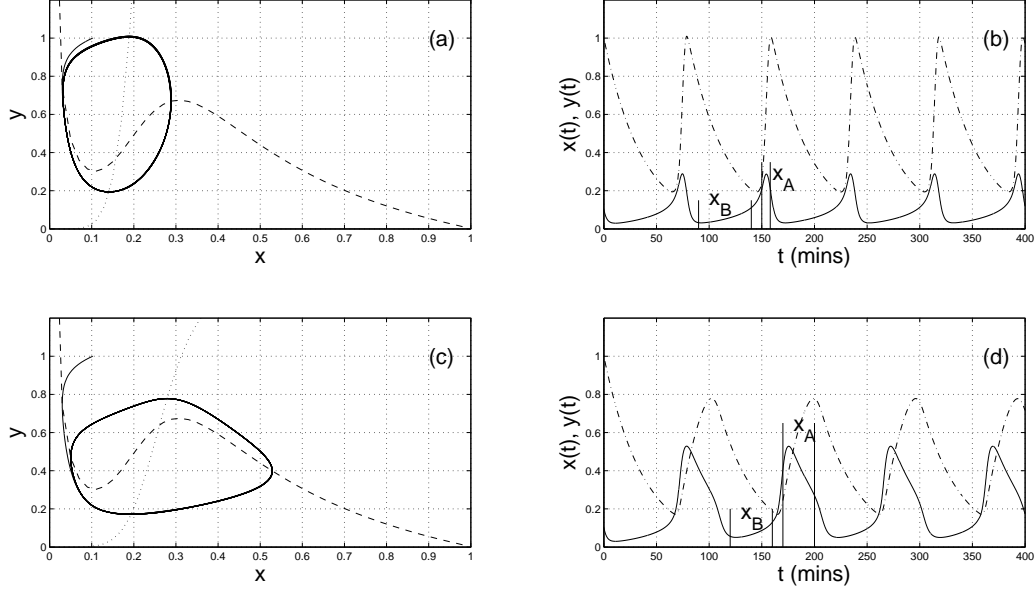


FIG. 6.5 – Periodic orbit and trajectories for system (6.6), with parameters as in Table 6.2 (a),(b), or with new $\tilde{V}_2 = 0.15V_2$ for (c),(d). In (a) and (c) the nullclines f_0 (dashed line) and g_0 (dotted line) are shown, together with one trajectory (solid line) in the phase plane. In (b) and (d) the same trajectory is shown as a function of time ($x(t)$ and $y(t)$ are represented, respectively, by the solid and dash-dotted lines).

6.5.1 Period of the orbit

Using the above arguments, the time spent by the system in each of the operation modes can be analytically estimated. Let :

$$\begin{aligned} T_1 &= \text{time spent in mode } x_B, \\ T_2 &= \text{time spent in mode } x_A. \end{aligned}$$

During T_1 , we assume that the trajectory evolves along the nullcline $y = f_0(x)$, with $x = x_B$. Moreover, the dynamics of y can be simplified : for large Hill coefficient m (assumption A2), the expression $V_2 x^m / (x^m + \theta_2^m)$ can be approximated by a step function with $s(x) = 0$ if $x < \theta_2$ and $s(x) = V_2$ if $x > \theta_2$. Then the y equation becomes

$$\frac{dy}{dt} \approx f'_0(x) \frac{dx}{dt} = \gamma_2 \left(\frac{V_2 x^m}{\gamma_2 x^m + \theta_2^m} - f_0(x) \right) \approx -\gamma_2 f_0(x)$$

As x increases from x_B to x_A , integration gives :

$$T_1 = \frac{\ln f_0(x_A) - \ln f_0(x_B)}{\gamma_2}.$$

During T_2 , we assume once more that the trajectories are close to the $y = f_0(x)$ nullcline, and let $G(x) = \frac{V_2}{\gamma_2} - f_0(x)$ to obtain :

$$f_0'(x) \frac{dx}{dt} = \gamma_2 G(x) \Rightarrow \int_{x_B}^{x_A} \frac{f_0'(x)}{G(x)} dx = \int_0^{T_2} \gamma_2 dt$$

and integration gives :

$$T_2 = \frac{\ln G(x_B) - \ln G(x_A)}{\gamma_2}.$$

Following Lemma 6.3.4, we approximate $x_B \approx (1 - \Delta)\theta_1$ and $x_A \approx \theta_1$ to obtain :

$$T_1 \approx \frac{1}{\gamma_2} \ln \frac{f_0(\theta_1)}{f_0((1 - \Delta)\theta_1)} \approx 29.2,$$

$$T_2 \approx \frac{1}{\gamma_2} \ln \frac{\frac{V_2}{\gamma_2} - f_0((1 - \Delta)\theta_1)}{\frac{V_2}{\gamma_2} - f_0(\theta_1)} \approx 3.0.$$

These analytical formulas are interesting for several reasons :

- the ratio between T_1 and T_2 gives an idea of the fraction of time spent by the system on each of its stable operation modes (x_A or x_B). In the example, $T_1/(T_1 + T_2) \approx 0.94$ meaning that the oscillator remains 94% of its cycle with relatively low concentrations of active Cdc2-cyclin B ;
- it is often difficult to obtain analytical estimates for the period of a periodic orbit, but these formulas give an indication (see Fig. 6.6) : using the different timescales hypotheses, the system could be simplified enough to write down an approximate analytical expression. However, if the hypotheses are not strongly satisfied, there can be a large difference between the analytical estimates and the real period. For the parameters in Table 6.2, we have $(T_1 + T_2)/\text{Period} \approx 27.55/79.76 = 0.34$, an error of 66%. As the difference between timescales becomes more marked, the sum $T_1 + T_2$ will provide better estimates, and their sum gives a reasonable estimate of the full cycle period (with errors as low as 7%, as seen in Fig. 2 in the Supplementary material). The quality of the $T_1 + T_2$ estimate depends on how well the values $f_0(x_B) = f_0((1 - \Delta)\theta_1)$ and $f_0(x_A) = f_0(\theta_1)$ approximate the actual value of y as x jumps between low and high levels ;
- these formulas show how each parameter will influence the value of T_1 , T_2 and hence the period of the orbits (Fig. 6.6).

A sensitivity analysis of the time duration $T_1 + T_2$, and the total period of the orbit is shown in Fig. 6.6. Only one parameter was varied at a time, with all others fixed at their estimated values shown in Table 6.2. Each parameter p was varied in an interval : $[0.85p, 1.15p]$ (i.e., between a 15% decrease and increase to its original value). The total period was computed by simulating the system with the new set of parameters, while $T_1 + T_2$ was directly computed from the (approximated) analytical formulas. Note that $T_1 + T_2$ is indeed a good predictor of the changes in the period in response to changes in each parameter : a variation in the period is always captured by a similar variation in $T_1 + T_2$. For a 15% perturbation in each parameter a periodic orbit still exists, except

in the case of θ_2 . Indeed, for small values of θ_2 , there is no periodic orbit, and the system converges to a steady state (not shown). This is in agreement with Lemma 6.3.3 which provides an interval for θ_2 which guarantees existence of oscillations, and Lemma 6.3.2 which says that, outside that interval, there exists a stable fixed point.

6.5.2 Model predictions and experiments

The positive auto-regulation is a very important component of the model, since this is the component responsible for the existence of two stable steady states (for fixed y), and hence two distinct stable modes of operation for system (6.6) (Section 6.2.1). Recall that this positive feedback is represented by the term $V_1 x^n / (x^n + \theta_1^n)$, so that V_1 is the strength of the auto-regulation effect.

Interestingly, analysis of the expression $T_1 + T_2$ shows that it is inversely proportional to all parameters, except V_1 (Fig. 6.6). For instance, for the Cdc2-cyclin B oscillator (fixing all parameters as in Table 6.2), the model predicts a 10% increase in $T_1 + T_2$ in response to a 15% increase in V_1 .

In [53], the effect of the positive regulation was studied experimentally, by attempting to “break” the loop. This was achieved by adding a non-phosphorylatable form of Cdc2, thus decreasing the strength of the positive regulation. The average period observed for the wild type Cdc2-cyclin B oscillator was around 80 mins., while the modified system had a shorter period, around 55 mins. (Fig. 2 in [53], and Table 6.3 below). This, indeed, agrees with the model’s predictions for a 40% reduction in the strength of the auto-regulatory loop. [ht]

TAB. 6.3 – Influence of the positive feedback on the period.

| System | Experiment [53] | Model | Parameters |
|---|-----------------|------------|-------------------------|
| Wild type Cdc2 | 80 mins | 79.76 mins | as in Table 6.2 |
| Non-phosphorylated Cdc2 (weaker positive feedback) | 55 mins | 55.6 mins | $\tilde{V}_1 = 0.57V_1$ |

Another prediction of the model is that V_2 influences only T_2 , the time spent in x_A (the high concentration state). Thus is it possible to obtain a modified dynamics, for instance by forcing the periodic orbit to spend the same amount of time in each operation mode, simply by decreasing V_2 . This is illustrated in Fig. 6.5 (c) and (d), with $\tilde{V}_2 = 0.15V_2$. This suggests a new experiment to check whether the oscillatory mechanism of Cdc2-cyclin B is generated by a model of the type (6.6). By increasing the rate of synthesis of y , does the firing-peak duration increase, that is can one observe similar orders of magnitude for the durations T_1 and T_2 ? This would correspond to a situation where the cyclin B-Cdc2 oscillator spends similar amounts of time in each of its two modes, x_A and x_B (respectively, at high and low concentrations of Cdc2-cyclin B complex). If all other parameters are unchanged, this will also increase the period of oscillations. [h,t]

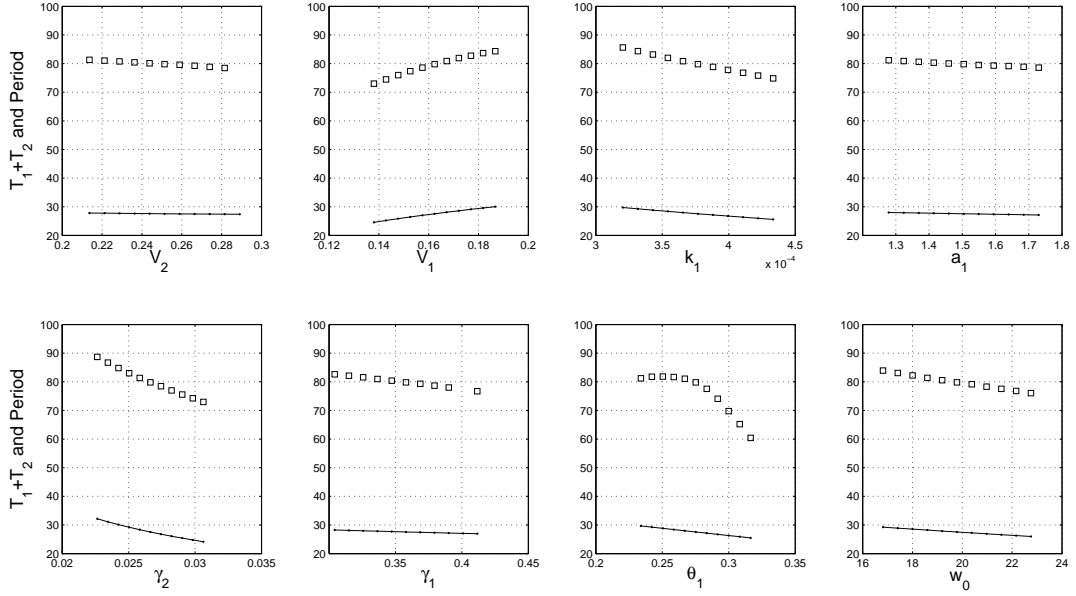


FIG. 6.6 – Sensitivity with respect to each parameter, for the period and the time intervals T_1 , T_2 . Each parameter was varied between 85% and 115% of its original value (only one parameter is varied at a time). The period (open squares) was numerically calculated from a simulation of the system. The values of T_1 and T_2 (solid lines with dots) were calculated directly from their formulas.

6.6 Conclusions

It is well known that different biological processes may have very distinct timescales (for instance, transcription or translation are typically slower than signalling events). Here we have studied a possible dynamical outcome induced by the interconnection between biological modules whose response times are substantially different. We proposed and analysed a mechanism through which slowly varying regulation patterns (such as genetic-like) can induce rapid changes in the mode of operation of signal transduction networks, and thus lead to sustained oscillations (a system of the class usually referred to as “relaxation oscillators”). Under appropriate assumptions on the timescales (there are “fast”, “normal”, and “slow” variables), explicit sufficient conditions on the parameters are provided, for the existence of a periodic orbit. This mechanism is illustrated by an application to the Cdc2-cyclin B oscillator. Using experimental data reported in [54, 53] a set parameters was identified, which satisfies all the different timescales hypotheses.

These results suggest the following interpretation of the dynamics of cyclin B in the Cdc2-cyclin B oscillator. From the biological point of view, it is well established that cyclin B is hardly present up to G2/M phase, where it rapidly accumulates to high concentration and activates Cdc2. At the end of mitosis, cyclin B is observed to degrade rapidly, through proteolysis by APC. However, there appear to be many uncertainties still on the process of cyclin B synthesis and balancing. Our study suggests that cyclin B follows very rapidly the dynamics of APC (or group of proteins related to this phase). Since this regulation module has a slower timescale, cyclin B would appear to also evolve slowly, until a sufficient concentration of APC is available to degrade it. Thus, cyclin B is possibly

regulated by protein products from the APC phase. Our results also suggest possible candidates (for components y), based on its activation threshold : $\theta_2 \in [(1 - \Delta), 1]\theta_1$.

A further experiment suggested by our analysis is to increase the rate of synthesis of products y . The prediction is that the high concentration peak in active Cdc2-cyclin B complex will broaden, so the system will spend more time in its high Cdc2-cyclin B concentration state. The system would then switch rapidly between its two modes of operation (while spending similar lengths of time in each of these).

Finally, we would like to emphasise that this study presents a simple, very schematic model, which has the advantages of being intuitive and amenable to analytical theoretical analysis. In this way, we were able to generate conditions on the parameters that guarantee a desired dynamical behaviour. Furthermore, since available data consists essentially of the measurements of two variables, a 2-dimensional model is also more suitable for parameter estimation, in the sense that each of the model's variables can be compared to data, and the most information extracted using a minimum of mathematical machinery. The model has the advantage of providing a faithful phenomenological description and thus suggest possible experiments to further understand the dynamical mechanisms of the biological oscillator.

Chapitre 7

Modèle cinétique du réseau étendu de la réponse à un stress en carbone chez *Escherichia coli*

On prend ici comme exemple d'étude un modèle cinétique du réseau étendu de la réponse à un stress en carbone chez *Escherichia coli*, conçu par D. Ropers, H. de Jong et al., dans le cadre de l'ANR Metagenoreg à laquelle nous avons participé. Voir [58]

7.1 Modèle

Le glucose est la source de carbone préféré de *E. coli*. Quand il est en manque dans le milieu, les cellules qui étaient en croissance exponentielle arrêtent presque immédiatement et entrent dans une phase stationnaire si aucune source de carbone de remplacement n'est disponible. En raison de son importance pour la physiologie de la cellule, la réponse de *E. coli* liée au glucose est fortement réglementée sur différents niveaux. Ce contrôle comporte une voie de signalisation (le PEP : système phosphotransférase), la modification de l'activité du métabolisme central, et la régulation de l'expression génique. Ces différents modes de contrôle sont liés et forment un réseau de régulation vaste et complexe, dont le fonctionnement n'est que partiellement compris.

Plusieurs études de modélisation ont permis une meilleure compréhension du rôle du métabolisme et des réseaux de signalisation dans l'adaptation de *E. coli* à une carence en source de carbone (par exemple, [6, 57, 8]), mais peu de travaux sont faits au niveau de l'expression génique.

Nous considérons le réseau de régulation globale de transcription impliqués dans le contrôle de la réponse à un stress en carbone (Fig. 7.1). Il comprend : la protéine Fis, le répresseur catabolique $cAMP \cdot CRP$ (résultant de l'expression des gènes *cya* et *crp*, et de l'activation de la zone Cya par le manque en carbone), le super enroulement de l'ADN (dépendant des expressions des gènes *gyrA*, *gyrB*, *gyrI*, *topA*), le facteur de la réponse générale au stress RpoS facteur (dont la stabilité est réglementée par le RssB), et l'ARN stables exprimées par les opérons *rrn* (un indicateur fiable du taux de croissance de la cellule). Le réseau comprend également d'autres types de réactions biochimiques, par exemple la formation de complexe ($GyrAB \cdot GyrI$), la modification des protéines par de petites molécules ($cAMP \cdot CRP$), et les réactions enzymatiques (la synthèse de $cAMP$). Dans [58], un modèle est proposé pour ce système. Par convention, la concentration de protéines libres et la concentration totale des protéines sont notées respectivement x_{\sim} et x_{\cdot} . κ est

une constante représentant la vitesse de synthèse des protéines et γ représente la vitesse constante de dégradation des protéines. Les seuils de concentrations sont notés par θ , on appelle k et k_- les vitesses de réactions dans les deux sens. h^+ est une fonction de Hill positive $h^+(x, \theta, m) = \frac{x^m}{x^m + \theta^m}$ et $h^-(x, \theta, m) = 1 - h^+(x, \theta, m)$. Un signal indique la présence (signal de stress $u_s = 0$) ou l'absence d'une source de carbone essentielle à la croissance de la cellule (signal de stress $u_s = 1$).

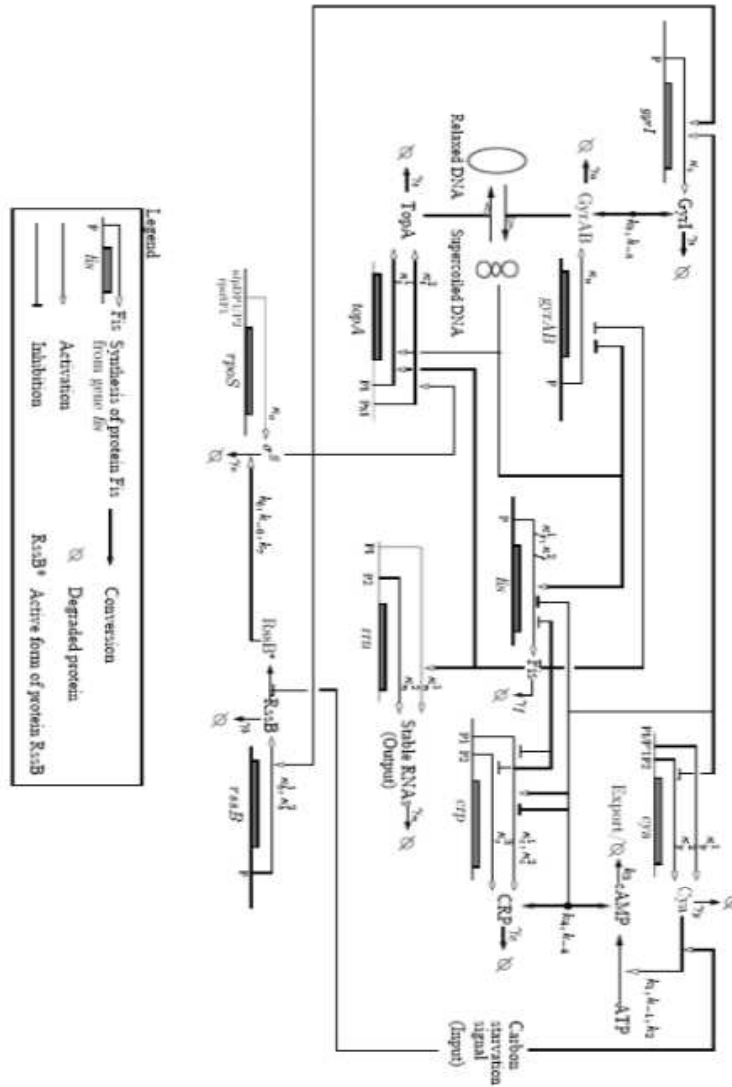


FIG. 7.1 – Réseau d'interaction des gènes et protéines impliqués dans la réponse à un stress en carbone chez *Escherichia coli*. Les conventions graphiques sont expliqués dans la légende. Les κ et les γ sont des paramètres cinétiques.

Le modèle mathématique correspondant au réseau de la figure 7.1 est donné par le modèle (7.1) et est composé de 14 variables correspondant à des protéines, des complexes, de l'ARNs stable et d'une variable pour indiquer la source de carbone :

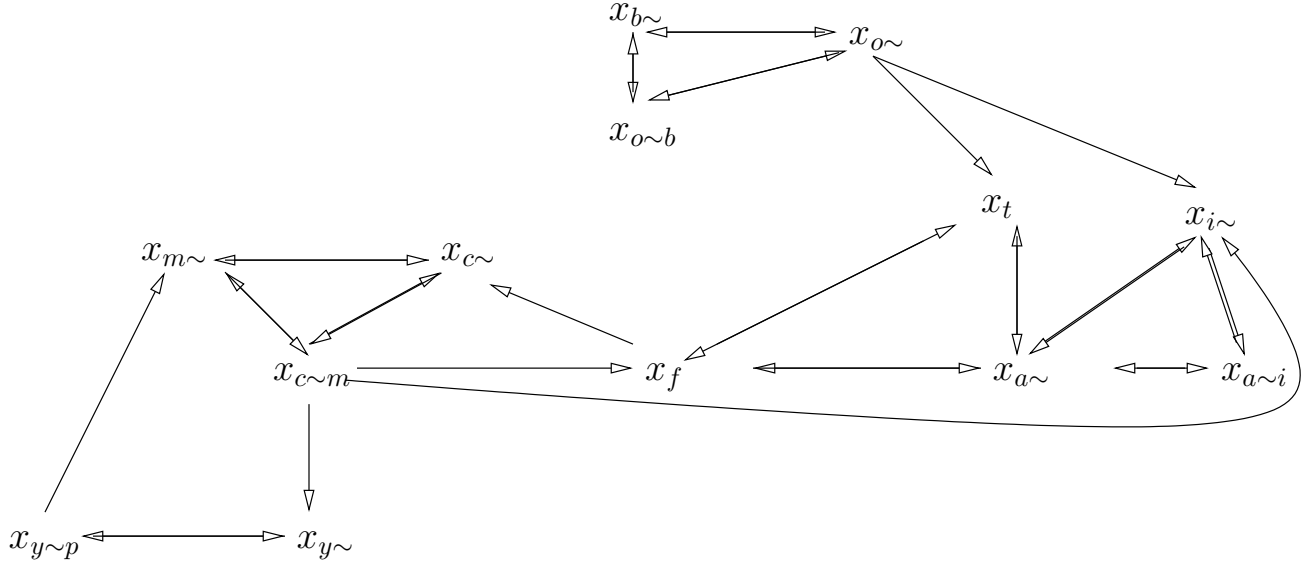
$x_{y\sim}$ (*Cya free*), $x_{y\sim p}$ (*Complexe Cya.ATP*), $x_{c\sim}$ (*CRP free*), $x_{c\sim m}$ (*Complexe CRP.cAMP*), $x_{m\sim}$ (*cAMP*), x_f (*Fis total*), $x_{a\sim}$ (*GyrAB free*), $x_{a\sim i}$ (*Complexe GyrAB.GyrI*), $x_{i\sim}$ (*GyrI free*), x_t (*TopA total*), $x_{o\sim}$ (*RpoS free*), $x_{o\sim b}$ (*Complexe RpoS.RssB*), $x_{b\sim}$ (*RssB free*), x_n (*ARNs*), u_s (concentration de glucose extracellulaire), x_p (concentration de l'ATP et est considérée comme un paramètre).

Voir l'annexe C.1 pour la liste des variables et paramètres.

$$\begin{aligned}
\dot{u}_s &= 0 \\
\dot{x}_{y\sim} &= \kappa_y^1 + \kappa_y^2 h^-(x_{c\sim m}, \theta_{c\sim m}^2, m_{c\sim m}^2) - \gamma_y x_{y\sim} + (k_{-1} + k_2 h^+(u_s, \theta_s, m_s)) x_{y\sim p} - k_1 x_{y\sim} x_p \\
\dot{x}_{y\sim p} &= k_1 x_{y\sim} x_p - (k_{-1} + k_2 h^+(u_s, \theta_s, m_s) + \gamma_y) x_{y\sim p} \\
\dot{x}_{c\sim} &= \kappa_c^1 + \kappa_c^2 h^-(x_f, \theta_f^2, m_f^2) h^+(x_{c\sim m}, \theta_{c\sim m}^1, m_{c\sim m}^1) + \kappa_c^3 h^-(x_f, \theta_f^1, m_f^1) - \gamma_c x_{c\sim} \\
&\quad + k_{-4} x_{c\sim m} - k_4 x_{c\sim} x_{m\sim} \\
\dot{x}_{c\sim m} &= k_4 x_{c\sim} x_{m\sim} - (k_{-4} + \gamma_c) x_{c\sim m} \\
\dot{x}_{m\sim} &= k_2 h^+(u_s, \theta_s, m_s) x_{y\sim p} + k_{-4} x_{c\sim m} - k_3 x_{m\sim} - k_4 x_{c\sim} x_{m\sim} \\
\dot{x}_f &= \kappa_f^1 h^-(x_{c\sim m}, \theta_{c\sim m}^1, m_{c\sim m}^1) h^-(x_f, \theta_f^6, m_f^6) + \kappa_f^2 h^+(SC, \theta_{SC}^1, m_{SC}^1) \\
&\quad \times h^-(x_{c\sim m}, \theta_{c\sim m}^1, m_{c\sim m}^1) h^-(x_f, \theta_f^6, m_f^6) - \gamma_f x_f \\
&\quad \text{avec } SC = b \frac{x_{a\sim}}{x_t} \\
\dot{x}_{a\sim} &= \kappa_a h^-(SC, \theta_{SC}^2, m_{SC}^2) h^-(x_f, \theta_f^4, m_f^4) - \gamma_a x_{a\sim} - k_5 x_{a\sim} x_{i\sim} + k_{-5} x_{a\sim i} \\
\dot{x}_{a\sim i} &= k_5 x_{a\sim} x_{i\sim} - (k_{-5} + \gamma_a) x_{a\sim i} \\
\dot{x}_{i\sim} &= \kappa_i h^+(x_{c\sim m}, \theta_{c\sim m}^1, m_{c\sim m}^1) h^+(x_{o\sim}, \theta_o, m_o) - \gamma_i x_{i\sim} + k_{-5} x_{a\sim i} - k_5 x_{a\sim} x_{i\sim} \\
\dot{x}_t &= \kappa_t h^+(SC, \theta_{SC}^3, m_{SC}^3) h^+(x_f, \theta_f^5, m_f^5) + \kappa_t^2 h^+(x_{o\sim}, \theta_o, m_o) - \gamma_t x_t \\
\dot{x}_{o\sim} &= \kappa_o - \gamma_o x_{o\sim} + k_{-6} x_{o\sim b} - k_6 x_{o\sim} x_{b\sim} \\
\dot{x}_{o\sim b} &= k_6 x_{o\sim} x_{b\sim} - (k_{-6} + k_7 h^-(u_s, \theta_s, m_s) + \gamma_o) x_{o\sim b} \\
\dot{x}_{b\sim} &= \kappa_b^1 + \kappa_b^2 h^+(x_{o\sim}, \theta_o, m_o) - \gamma_b x_{b\sim} + (k_{-6} + k_7 h^-(u_s, \theta_s, m_s)) x_{o\sim b} - k_6 x_{o\sim} x_{b\sim} \\
\dot{x}_n &= \kappa_n^1 h^+(x_f, \theta_f^3, m_f^3) + \kappa_n^2 - \gamma_n x_n
\end{aligned} \tag{7.1}$$

Remarque. Dans ce modèle, les γ représentent le taux de dégradation des variables et le taux de croissance de la cellule μ .

Le graphe d'interaction correspondant au modèle (7.1) est le suivant :



7.2 Décomposition du modèle

Avant de procéder à la décomposition, nous allons passer par des étapes intermédiaires. Intéressons nous tout d'abord aux variables $x_{c\sim m}$ et $x_{m\sim}$.

Pour $u_s = 0$

Considérons les équations de $\dot{x}_{c\sim m}$ et $\dot{x}_{m\sim}$:

$$\begin{aligned} \dot{x}_{c\sim m} &= k_4 x_{c\sim} x_{m\sim} - (k_{-4} + \gamma_c) x_{c\sim m} \\ \dot{x}_{m\sim} &= k_{-4} x_{c\sim m} - k_3 x_{m\sim} - k_4 x_{c\sim} x_{m\sim} \end{aligned} \quad (7.2)$$

La somme

$$\dot{x}_{c\sim m} + \dot{x}_{m\sim} = -\gamma_c x_{c\sim m} - k_3 x_{m\sim} \leq 0$$

Pour $u_s = 1$

Considérons les équations de $\dot{x}_{c\sim m}$ et $\dot{x}_{m\sim}$:

$$\begin{aligned} \dot{x}_{c\sim m} &= k_4 x_{c\sim} x_{m\sim} - (k_{-4} + \gamma_c) x_{c\sim m} \\ \dot{x}_{m\sim} &= k_2 x_{y\sim p} + k_{-4} x_{c\sim m} - k_3 x_{m\sim} - k_4 x_{c\sim} x_{m\sim} \end{aligned} \quad (7.3)$$

La somme

$$\dot{x}_{c\sim m} + \dot{x}_{m\sim} = k_2 x_{y\sim p} - \gamma_c x_{c\sim m} - k_3 x_{m\sim}$$

Sur le tableau des intervalles de valeurs des variables et paramètres (voir annexe C.2), nous avons :

$$x_{y\sim p} \in [10^{-12}, 10^{-8}]; \quad x_{c\sim m} \in [10^{-8}, 4.10^{-5}]; \quad x_m \in [10^{-8}, 10^{-3}]$$

et

$$\gamma_c \in [4.10^{-4}, 6.10^{-2}]; \quad k_2 \in [1, 316]; \quad k_3 \in [1, 1000];$$

Nous supposons aussi que $x_{m\sim} \in [10^{-8}, 10^{-3}]$.

Nous noterons les bornes en $x_{c\sim m}$ par $x_{c\sim m}^-$, $x_{c\sim m}^+$ et les bornes en $x_{m\sim}$ par $x_{m\sim}^-$, $x_{m\sim}^+$.

Alors la somme $\dot{x}_{c\sim m} + \dot{x}_{m\sim} = k_2 x_{y\sim p} - \gamma_c x_{c\sim m} - k_3 x_{m\sim}$ peut être négative pour des valeurs de paramètres compatibles avec les données. Nous supposons que $\dot{x}_{c\sim m} + \dot{x}_{m\sim}$ est négative dans le rectangle $[x_{m\sim}^-, \theta_{c\sim m}^1], [x_{m\sim}^+, x_{c\sim m}^+]$.

Sous cette hypothèse, on arrive à la proposition suivante (qui est aussi valable sans hypothèse pour $u_s = 0$).

Proposition 7.2.1. *Quelque soit la condition initiale, on finit toujours dans la région où $x_{c\sim m} < \theta_{c\sim m}^1$.*

Nous allons utiliser ce résultat pour simplifier l'équation de x_f .

Soit t l'instant après lequel toute condition initiale prise supérieure à $\theta_{c\sim m}^1$ finit dans la région où $x_{c\sim m} < \theta_{c\sim m}^1$. A partir de cet instant, l'équation de x_f deviendra :

$$\dot{x}_f = \kappa_f^1 h^-(x_f, \theta_f^6, m_f^6) + \kappa_f^2 h^+(SC, \theta_{SC}^1, m_{SC}^1) h^-(x_f, \theta_f^6, m_f^6) - \gamma_f x_f \quad (7.4)$$

Hypothèse 8. On suppose que m_f^6 grand.

D'après l'hypothèse (8), la fonction de Hill h^- peut être remplacée par une fonction step s^- telle que :

$$h^-(x_f, \theta_f^6, m_f^6) \approx \begin{cases} 1 & \text{si } x_f < \theta_f^6 \\ 0 & \text{si } x_f > \theta_f^6 \end{cases}$$

Hypothèse 9. On suppose que $\frac{\kappa_f^1}{\gamma_f} > \theta_f^6$ et $\theta_f^6 > \theta_f^i$, $i = 1, \dots, 5$ [59]. Cette hypothèse n'est pas incompatible avec les valeurs de paramètres données dans le tableau (voir annexe C.1).

On appellera B^j , $j = 1, 2$ la région considérée, $x_f(0)$ la condition initiale dans B^j et $f(B^j)$ le point focal. Dans [29], on trouve deux cas :

Proposition 7.2.2. • $f(B^j) \in B^j$: Dans ce cas, $f(B^j)$ est un point d'équilibre asymptotiquement stable c'est à dire que dans B^j , toutes les trajectoires tendent vers $f(B^j)$ et donc rien ne quitte la région. Ce point est aussi appelé point d'équilibre régulier.

- $f(B^j) \notin B^j$: les trajectoires tendent vers le point focal quittant ainsi la région B^j et atteignent donc les frontières.

Considérons maintenant deux régions : $B^1 = \{x_f / x_f < \theta_f^6\}$ et $B^2 = \{x_f / x_f > \theta_f^6\}$

- En initialisant x_f dans la région B^1 , alors l'équation 7.4 devient :

$$\dot{x}_f = \kappa_f^1 + \kappa_f^2 h^+(SC, \theta_{SC}^1, m_{SC}^1) - \gamma_f x_f$$

Cette équation est à l'équilibre partiel si $\dot{x}_f = 0$

$$\Rightarrow f(B^1) = x_f^* = \frac{\kappa_f^1 + \kappa_f^2 h^+(SC, \theta_{SC}^1, m_{SC}^1)}{\gamma_f} > \frac{\kappa_f^1}{\gamma_f}$$

D'après l'hypothèse (9), le point focal $f(B^1)$ se trouve dans la région B^2 .

- En initialisant x_f dans la région B^2 alors l'équation 7.4 devient :

$$\dot{x}_f = -\gamma_f x_f$$

Cette équation est à l'équilibre partiel si $\dot{x}_f = 0$

$$\Rightarrow f(B^2) = x_f^* = 0$$

$f(B^2)$ se trouve dans la région B^1 .

Proposition 7.2.3. *Quelle que soit la région où on initialise la variable x_f , on finit toujours par atteindre la frontière $x_f = \theta_f^6$. D'après [29], $x_f^* = \theta_f^6$ est un équilibre au sens de Filippov.*

Proposition 7.2.4. *Dans le modèle (7.1), θ_f^6 est le plus grand seuil. Ainsi, en initialisant dans une région où $x_f < \theta_f^i$, $i = 1, \dots, 5$, on arrivera à un instant t_1 où x_f est plus grand que $\theta_1, \theta_2, \theta_3, \theta_4, \theta_5$.*

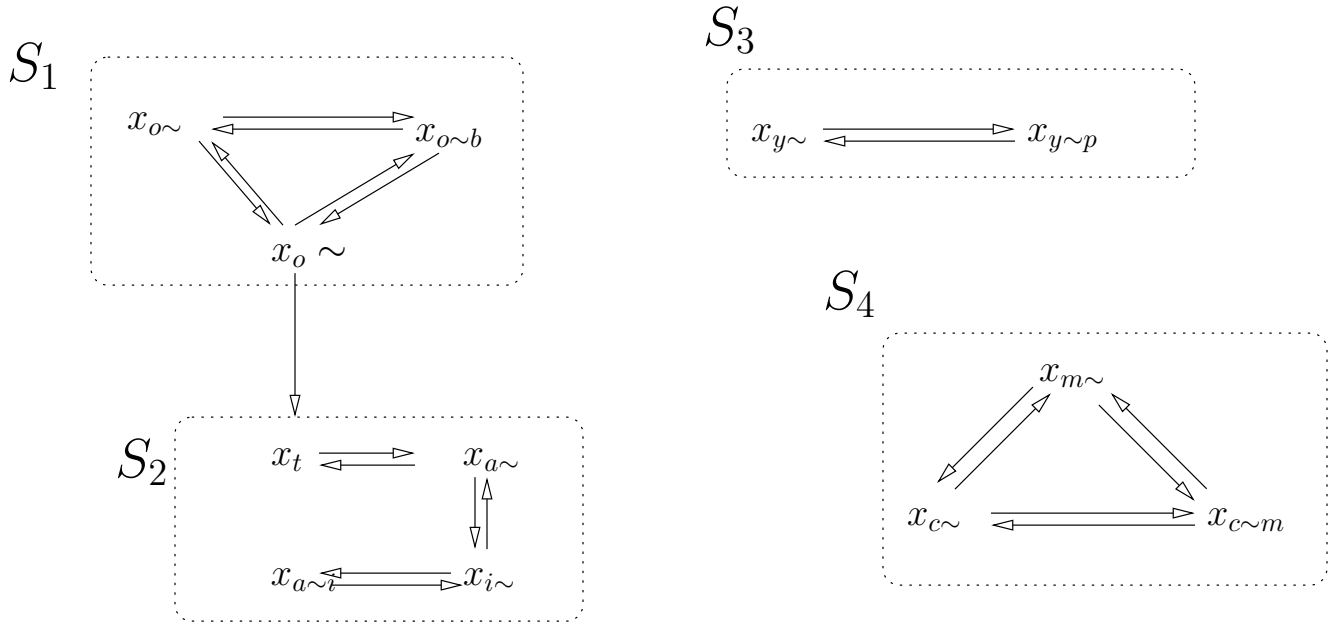
Nous allons passer à la décomposition du modèle en considérant les instants t tel $t > t_1$ et donc $x_{c\sim m} < \theta_{c\sim m}^1$ et $x_f > \theta_f^5$. Nous allons d'abord faire une étude pour $u_s = 0$, puis pour $u_s = 1$.

7.2.1 Décomposition et étude pour $u_s = 0$

Le modèle s'écrira pour $u_s = 0$ comme suit :

$$\begin{aligned}
 u_s &= 0 \\
 x_f &= \theta_f^6 \\
 \dot{x}_{y\sim} &= \kappa_y^1 + \kappa_y^2 - \gamma_y x_{y\sim} + k_{-1} x_{y\sim p} - k_1 x_{y\sim} x_p \\
 \dot{x}_{y\sim p} &= k_1 x_{y\sim} x_p - (k_{-1} + \gamma_y) x_{y\sim p} \\
 \dot{x}_{c\sim} &= \kappa_c^1 - \gamma_c x_{c\sim} + k_{-4} x_{c\sim m} - k_4 x_{c\sim} x_{m\sim} \\
 \dot{x}_{c\sim m} &= k_4 x_{c\sim} x_{m\sim} - (k_{-4} + \gamma_c) x_{c\sim m} \\
 \dot{x}_{m\sim} &= k_{-4} x_{c\sim m} - k_3 x_{m\sim} - k_4 x_{c\sim} x_{m\sim} \\
 \dot{x}_{a\sim} &= \kappa_a h^-(SC, \theta_{SC}^2, m_{SC}^2) - \gamma_a x_{a\sim} - k_5 x_{a\sim} x_{i\sim} + k_{-5} x_{a\sim i} \\
 \dot{x}_{a\sim i} &= k_5 x_{a\sim} x_{i\sim} - (k_{-5} + \gamma_a) x_{a\sim i} \\
 \dot{x}_{i\sim} &= -\gamma_i x_{i\sim} + k_{-5} x_{a\sim i} - k_5 x_{a\sim} x_{i\sim} \\
 \dot{x}_t &= \kappa_t^1 h^+(SC, \theta_{SC}^3, m_{SC}^3) + \kappa_t^2 h^+(x_{o\sim}, \theta_o, m_o) - \gamma_t x_t \\
 \dot{x}_{o\sim} &= \kappa_o - \gamma_o x_{o\sim} + k_{-6} x_{o\sim b} - k_6 x_{o\sim} x_{b\sim} \\
 \dot{x}_{o\sim b} &= k_6 x_{o\sim} x_{b\sim} - (k_{-6} + k_7 + \gamma_o) x_{o\sim b} \\
 \dot{x}_{b\sim} &= \kappa_b^1 + \kappa_b^2 h^+(x_{o\sim}, \theta_o, m_o) - \gamma_b x_{b\sim} + (k_{-6} + k_7) x_{o\sim b} - k_6 x_{o\sim} x_{b\sim} \\
 \dot{x}_n &= \kappa_n^1 + \kappa_n^2 - \gamma_n x_n \\
 &\text{avec } SC = b \frac{x_{a\sim}}{x_t}
 \end{aligned} \tag{7.5}$$

Le graphe associé au modèle 7.5 est tel qu'on peut distinguer quatre blocs qui peuvent être étudiés séparément. Voir la figure 7.2.1



S_1 est une entrée pour S_2 ; S_3 et S_4 sont des blocs isolés.

Nous allons étudier l'équilibre de S_1 . S'il est unique et globalement stable, alors nous pourrons appliquer le lemme de décomposition (voir annexe A.2) et remplacer les variables de S_1 intervenant dans S_2 par leurs équilibres. Nous étudions ensuite le bloc S_2 . S_3 et S_4 étant indépendant des autres blocs, nous les étudions séparément.

Etude du bloc S_1

Modèle mathématique Le modèle mathématique de S_1 est donné par :

$$\begin{cases} \dot{x}_{o\sim} = \kappa_o - \gamma_o x_{o\sim} + k_{-6} x_{o\sim b} - k_6 x_{o\sim} x_{b\sim} \\ \dot{x}_{o\sim b} = k_6 x_{o\sim} x_{b\sim} - (k_{-6} + k_7 + \gamma_o) x_{o\sim b} \\ \dot{x}_{b\sim} = \kappa_b^1 + \kappa_b^2 h^+(x_{o\sim}, \theta_o, m_o) - \gamma_b x_{b\sim} + (k_{-6} + k_7) x_{o\sim b} - k_6 x_{o\sim} x_{b\sim} \end{cases} \quad (7.6)$$

Afin de simplifier l'écriture, nous posons $x_{o\sim} = x_1$, $x_{o\sim b} = x_2$ et $x_{b\sim} = x_3$. Le système 7.6 devient donc :

$$\begin{cases} \dot{x}_1 = \kappa_o - \gamma_o x_1 + k_{-6} x_2 - k_6 x_1 x_3 \\ \dot{x}_2 = k_6 x_1 x_3 - (k_{-6} + k_7 + \gamma_o) x_2 \\ \dot{x}_3 = \kappa_b^1 + \kappa_b^2 h^+(x_1, \theta_o, m_o) - \gamma_b x_3 + (k_{-6} + k_7) x_2 - k_6 x_1 x_3 \end{cases} \quad (7.7)$$

Hypothèse 10. On suppose que $\gamma_o = \gamma_b$.

Existence et unicité de l'équilibre

Le système 7.7 est à l'équilibre si $\dot{x}_i = 0$, $i = 1, 2, 3$. Ainsi

$$\dot{x}_1 + \dot{x}_2 = 0 \Rightarrow \kappa_o - \gamma_o (x_1^* + x_2^*) - k_7 x_2^* = 0$$

Pour $x_1 < \frac{\kappa_o}{\gamma_o}$,

$$x_2^* = \frac{\kappa_o}{k_7 + \gamma_o} - \frac{\gamma_o}{k_7 + \gamma_o} x_1^* = p_1(x_1^*)$$

En faisant $\dot{x}_2 = 0$, on obtient

$$x_3^* = \frac{(k_{-6} + k_7 + \gamma_o) \left(\frac{\kappa_o}{k_7 + \gamma_o} - \frac{\gamma_o}{k_7 + \gamma_o} x_1^* \right)}{k_6 x_1^*} = p_2(x_1^*)$$

Dans l'équation $\dot{x}_3 = 0$, on remplacera x_2^* par $p_1(x_1^*)$, x_3^* par $p_2(x_1^*)$ et $k_6 x_1^* x_3^*$ par $(k_{-6} + k_7 + \gamma_o) x_2^*$, nous obtenons :

$$\kappa_b^1 + \kappa_b^2 h^+(x_1, \theta_o, m_o) - \left(\gamma_b \frac{(k_{-6} + k_7 + \gamma_o)}{k_6 x_1^*} + \gamma_o \right) \left(\frac{\kappa_o}{k_7 + \gamma_o} - \frac{\gamma_o}{k_7 + \gamma_o} x_1^* \right) = 0$$

On tombe sur un problème de point fixe.

Posons $f(x_1) = \kappa_b^1 + \kappa_b^2 h^+(x_1, \theta_o, m_o)$ et $g(x_1) = \left(\gamma_b \frac{(k_{-6} + k_7 + \gamma_o)}{k_6 x_1} + \gamma_o \right) \left(\frac{\kappa_o}{k_7 + \gamma_o} - \frac{\gamma_o}{k_7 + \gamma_o} x_1 \right)$.

La fonction $f(x_1)$ est croissante et la fonction $g(x_1)$ est décroissante et est telle que $g(0) = +\infty$ et $g\left(\frac{\kappa_o}{\gamma_o}\right) = 0$, alors il existe un unique point fixe tel que $f(x_1^*) = g(x_1^*)$ comme le montre la figure 7.2. L'équilibre du système 7.7 existe et est unique.

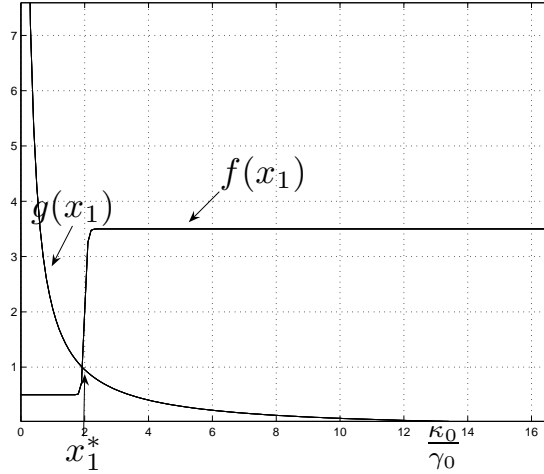


FIG. 7.2 – Résolution graphique de l'équation $f(x_1) = g(x_1)$

Proposition 7.2.5. *Le système 7.7 admet un unique équilibre*

Etude de la stabilité de l'équilibre

Nous allons maintenant faire les changements de variables suivantes pour simplifier le système 7.7 : $x = x_1$, $y = x_1 + x_2$ et $z = x_2 + x_3$. Le système devient :

$$\begin{cases} \dot{x} = \kappa_o - \gamma_o x + k_{-6}(y - x) - k_6 x(z - y + x) \\ \dot{y} = \kappa_o - \gamma_o y - k_7(y - x) \\ \dot{z} = \kappa_b^1 + \kappa_b^2 h^+(x, \theta_o, m_o) - \gamma_o z \end{cases} \quad (7.8)$$

Considérons maintenant la fonction de Lyapunov suivante :

$$V(x) = \max(\alpha|x - x^*|, \beta|y - y^*|, \gamma|z - z^*|) \quad (7.9)$$

Cette fonction n'est cependant pas dérivable en $(x = x^*, y = y^*, z = z^*)$ nous utilisons la dérivée à droite par rapport au temps et définissons les opérations suivantes :

$$\sigma_p = \begin{cases} 1 & \text{si } p(t) > p^* \text{ ou si } p(t) = p^* \text{ et } \dot{p}(t) > 0 \\ 0 & \text{si } p(t) = p^* \text{ et } \dot{p}(t) = 0 \\ -1 & \text{si } p(t) < p^* \text{ ou si } p(t) = p^* \text{ et } \dot{p}(t) < 0 \end{cases} \quad (7.10)$$

La variable p représente x , y ou z .

Nous pouvons maintenant faire la dérivée à droite de la fonction (7.9). Trois cas peuvent se présenter :

- $\alpha|x - x^*| > \beta|y - y^*|$ et $\alpha|x - x^*| > \gamma|z - z^*| \Rightarrow V = \alpha|x - x^*|$

$$\frac{d^+}{dt}V = -\alpha\sigma_x[(x - x^*)(\gamma_o + k_{-6} + k_6z^* - k_6y^* + k_6(x^* + x)) - (k_{-6} + k_6x)(y - y^*) + k_6x(z - z^*)]$$

Or $\alpha|x - x^*| > \beta|y - y^*|$ et $\alpha|x - x^*| > \gamma|z - z^*|$ alors

$$\frac{d^+}{dt}V < -\alpha\sigma_x(x - x^*)(\gamma_o + k_{-6} + k_6z^* - k_6y^* + k_6(x^* + x)) + (k_{-6} + k_6x)\frac{\alpha}{\beta}|x - x^*| + k_6x\frac{\alpha}{\gamma}|x - x^*|$$

\Rightarrow

$$\frac{d^+}{dt}V < -\alpha|x - x^*|(\gamma_o + k_{-6} + k_6z^* - k_6y^* + k_6(x^* + x)) + (k_{-6} + k_6x)\frac{\alpha}{\beta}|x - x^*| + k_6x\frac{\alpha}{\gamma}|x - x^*|$$

\Rightarrow

$$\frac{d^+}{dt}V < -\alpha|x - x^*|(\gamma_o + k_{-6} + k_6z^* - k_6y^* + k_6(x^* + x) - (k_{-6} + k_6x)\frac{\alpha}{\beta} - k_6x\frac{\alpha}{\gamma})$$

Une condition suffisante pour que $\frac{d^+}{dt}V < 0$ est

$$1 - \frac{\alpha}{\beta} > 0 \quad \text{et} \quad 1 - \frac{\alpha}{\beta} - \frac{\alpha}{\gamma} > 0$$

\Rightarrow

$$\boxed{\alpha < \frac{\beta\gamma}{\beta + \gamma}} \quad (7.11)$$

- $\beta|y - y^*| > \alpha|x - x^*|$ et $\beta|y - y^*| > \gamma|z - z^*| \Rightarrow V = \beta|y - y^*|$

$$\frac{d^+}{dt}V = \beta\sigma_y(-(\gamma_o + k_7)(y - y^*) + k_7(x - x^*))$$

\Rightarrow

$$\frac{d^+}{dt}V = -\beta(\gamma_o + k_7 - \frac{\beta}{\alpha}k_7)|y - y^*|$$

$$\frac{d^+}{dt}V < 0 \text{ si } \gamma_o + k_7 - \frac{\beta}{\alpha}k_7 > 0 \Rightarrow$$

$$\boxed{\alpha > \frac{\beta k_7}{k_7 + \gamma_o}} \quad (7.12)$$

- $\gamma|z - z^*| > \alpha|x - x^*|$ et $\gamma|z - z^*| > \beta|y - y^*| \Rightarrow V = \gamma|z - z^*|$

$$\frac{d^+}{dt}V = \gamma\sigma_z(\kappa_b^2(h^+(x, \theta_o, m_o) - h^+(x^*, \theta_o, m_o)) - \gamma_o(z - z^*))$$

\Rightarrow

$$\frac{d^+}{dt}V < \gamma\sigma_z\kappa_b^2\text{Max}(h^{+'}(x, \theta_o, m_o))(x - x^*) - \gamma\gamma_o|z - z^*|$$

Or $\gamma|z - z^*| > \alpha|x - x^*|$ alors

$$\frac{d^+}{dt}V < -\gamma|z - z^*|(-\frac{\gamma}{\alpha}\kappa_b^2\text{Max}(h^{+'}(x, \theta_o, m_o)) + \gamma_o)$$

$$\frac{d^+}{dt}V < 0 \text{ ssi}$$

$$\boxed{\alpha > \frac{\gamma\kappa_b^2\text{Max}(h^{+'}(x, \theta_o, m_o))}{\gamma_o}} \quad (7.13)$$

D'après 7.11, 7.12, 7.13 et en prenant $\beta = 1$ alors $\frac{d^+}{dt}V < 0$ si :

$$\boxed{\text{Max}\left(\frac{k_7}{k_7 + \gamma_o}; \frac{\gamma\kappa_b^2\text{Max}(h^{+'}(x, \theta_o, m_o))}{\gamma_o}\right) < \alpha < \frac{\gamma}{1 + \gamma}} \quad (7.14)$$

Il faudra donc que $\frac{k_7}{k_7 + \gamma_o} < \frac{\gamma}{1 + \gamma}$ et $\frac{\kappa_b^2\text{Max}(h^{+'}(x, \theta_o, m_o))}{\gamma_o} < \frac{1}{1 + \gamma}$.

De l'équation $\frac{k_7}{k_7 + \gamma_o} < \frac{\gamma}{1 + \gamma}$, on en déduit que :

$$\boxed{\gamma > \frac{k_7}{\gamma_o}} \quad (7.15)$$

et de l'équation $\frac{\kappa_b^2\text{Max}(h^{+'}(x, \theta_o, m_o))}{\gamma_o} < \frac{1}{1 + \gamma}$, on en déduit que :

$$\boxed{\gamma < \frac{\gamma_o - \kappa_b^2\text{Max}(h^{+'}(x, \theta_o, m_o))}{\kappa_b^2\text{Max}(h^{+'}(x, \theta_o, m_o))}} \quad (7.16)$$

D'après (7.15) et (7.16) :

$$\boxed{\text{Max}(h^{+'}(x, \theta_o, m_o)) < \frac{\gamma_o^2}{\kappa_b^2(k_7 + \gamma_o)}} \quad (7.17)$$

Cette condition signifie que la pente de la fonction de Hill doit être petite par rapport aux autres paramètres.

Proposition 7.2.6. *Pour des valeurs de paramètres prises telles que la relation 7.17 soit satisfaite, le bloc S_1 admet un unique équilibre globalement asymptotiquement stable.*

Nous considérons le cas où l'équilibre est globalement stable et appliquons le lemme de décomposition. Les variables de S_1 sont alors remplacées par leurs équilibres dans S_2 .

Etude du bloc S_2

Modèle mathématique

Le modèle mathématique de S_2 est donné par :

$$\begin{cases} \dot{x}_{a\sim} = \kappa_a h^-(SC, \theta_{SC}^2, m_{SC}^2) - \gamma_a x_{a\sim} - k_5 x_{a\sim} x_{i\sim} + k_{-5} x_{a\sim} i \\ \dot{x}_{a\sim} i = k_5 x_{a\sim} x_{i\sim} - (k_{-5} + \gamma_a) x_{a\sim} i \\ \dot{x}_{i\sim} = -\gamma_i x_{i\sim} + k_{-5} x_{a\sim} i - k_5 x_{a\sim} x_{i\sim} \\ \dot{x}_t = \kappa_t^1 h^+(SC, \theta_{SC}^3, m_{SC}^3) + \kappa_t^2 h^+(x_{o\sim}, \theta_o, m_o) - \gamma_t x_t \end{cases} \quad (7.18)$$

Posons $x_{a\sim} = x_7$, $x_{a\sim} i = x_8$, $x_{i\sim} = x_9$ et $x_t = x_{10}$. Le modèle devient alors :

$$\begin{cases} \dot{x}_7 = \kappa_a h^-(SC, \theta_{SC}^2, m_{SC}^2) - \gamma_a x_7 - k_5 x_7 x_9 + k_{-5} x_8 \\ \dot{x}_8 = k_5 x_7 x_9 - (k_{-5} + \gamma_a) x_8 \\ \dot{x}_9 = -\gamma_i x_9 + k_{-5} x_8 - k_5 x_7 x_9 \\ \dot{x}_{10} = \kappa_t^1 h^+(SC, \theta_{SC}^3, m_{SC}^3) + \kappa_t^2 h^+(x_{o\sim}, \theta_o, m_o) - \gamma_t x_{10} \end{cases} \quad (7.19)$$

Avec $SC = b \frac{x_{a\sim}}{x_t}$.

Dans ce modèle, $x_{o\sim}$ sera remplacé par son équilibre car c'est une entrée pour le bloc S_2 et nous avons montré en étudiant le bloc S_1 que $x_{o\sim}$ tend vers un équilibre globalement stable.

Existence et unicité de l'équilibre

Remarquons que

$$\dot{x}_8 + \dot{x}_9 = -\gamma_a x_8 - \gamma_i x_9$$

Alors

$$\dot{x}_8 + \dot{x}_9 = 0 \Rightarrow x_8^* = 0 \quad x_9^* = 0$$

D'après le théorème de la décomposition (voir annexe A.2), x_8 et x_9 seront remplacés par leurs équilibres dans les équations de x_7 et x_{10} . Nous posons $K = \kappa_t^2 h^+(x_{o\sim}, \theta_o, m_o)$

Nous obtenons alors :

$$\begin{cases} \dot{x}_7 = \kappa_a h^-(SC, \theta_{SC}^2, m_{SC}^2) - \gamma_a x_7 \\ \dot{x}_{10} = \kappa_t^1 h^+(SC, \theta_{SC}^3, m_{SC}^3) + K - \gamma_t x_{10} \end{cases} \quad (7.20)$$

Nous allons approximer la fonction de Hill par la fonction step.

$$\begin{cases} \dot{x}_7 = \kappa_a s^-(SC, \theta_{SC}^2, m_{SC}^2) - \gamma_a x_7 \\ \dot{x}_{10} = \kappa_t^1 s^+(SC, \theta_{SC}^3, m_{SC}^3) + K - \gamma_t x_{10} \end{cases} \quad (7.21)$$

Considérons les trois boîtes suivantes :

- $B^1 : SC < \theta_{SC}^2$

Dans cette boîte, le modèle s'écrit en remplaçant la fonction de Hill par un step comme suit :

$$\begin{cases} \dot{x}_7 = \kappa_a - \gamma_a x_7 \\ \dot{x}_{10} = K - \gamma_t x_{10} \end{cases} \quad (7.22)$$

L'équilibre correspond à : $x_7^* = \frac{\kappa_a}{\gamma_a}$ et $x_{10}^* = \frac{K}{\gamma_t}$;

Trois cas sont possibles pour cet équilibre :

- soit l'équilibre se trouve dans les boîtes B^2 ou B^3 (voir figure 7.3);
- soit sur la frontière $SC = \theta_{SC}^2$;
- soit dans la boîte B^1
- B^2 : $\theta_{SC}^2 < SC < \theta_{SC}^3$
 Dans cette boîte, le modèle s'écrit en remplaçant la fonction de Hill par un step comme suit :

$$\begin{cases} \dot{x}_7 = -\gamma_a x_7 \\ \dot{x}_{10} = K - \gamma_t x_{10} \end{cases} \quad (7.23)$$

L'équilibre correspond à : $x_7^* = 0$ et $x_{10}^* = \frac{K}{\gamma_t}$; et se trouve sur la boîte B^1

- B^3 : $SC > \theta_{SC}^3$
 Dans cette boîte, le modèle s'écrit en remplaçant la fonction de Hill par un step comme suit :

$$\begin{cases} \dot{x}_7 = -\gamma_a x_7 \\ \dot{x}_{10} = \kappa_t^1 + K - \gamma_t x_{10} \end{cases} \quad (7.24)$$

L'équilibre correspond à : $x_7^* = 0$ et $x_{10}^* = \frac{\kappa_t^1 + K}{\gamma_t}$; et se trouve sur la boîte B^1

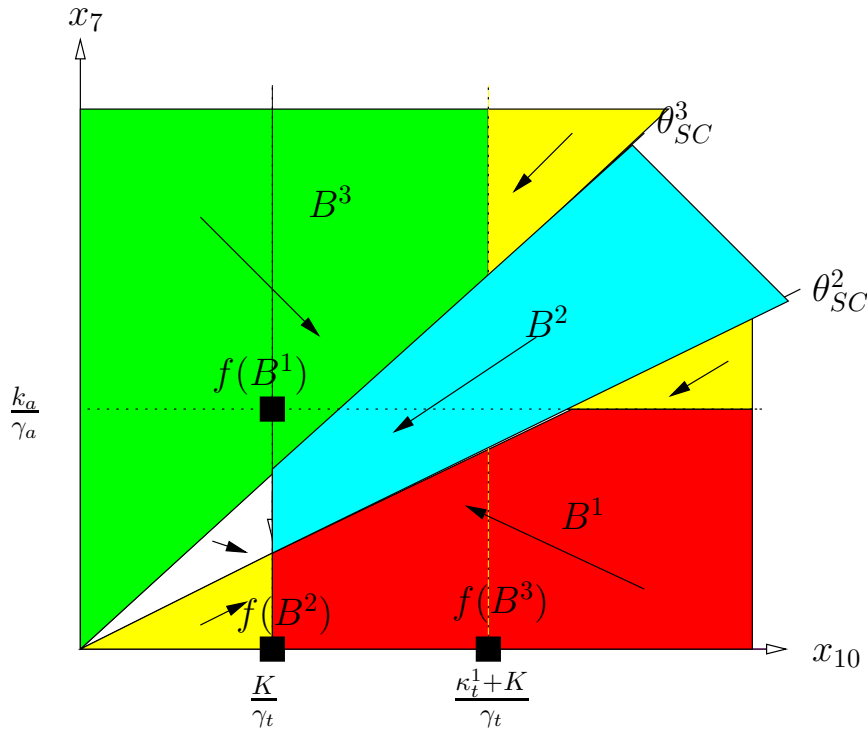


FIG. 7.3 – Schéma de la décomposition de l'espace en états qualitatifs dans le cas où $f(B^1)$ se trouve dans la boîte B^3 .

Graphe d'état (voir la définition 3) du modèle (7.21)

Nous allons maintenant représenter le graphe d'état du modèle (7.21) dans le cas où $f(B^1)$ se

trouve dans la boîte B^3 . La décomposition de l'espace est comme illustrée dans la figure 7.3. Les états qualitatifs du modèle sont les suivants :

$$E_1 = \{SC > \theta_{SC}^3; \ x_{10} < \frac{\kappa_t^1 + K}{\gamma_t}\} : \text{dans cette région, } \dot{x}_7 < 0 \text{ et } \dot{x}_{10} > 0;$$

$$E_2 = \{SC > \theta_{SC}^3; \ x_{10} > \frac{\kappa_t^1 + K}{\gamma_t}\} : \text{dans cette région, } \dot{x}_7 < 0 \text{ et } \dot{x}_{10} < 0;$$

$$E_3 = \{\theta_{SC}^2 < SC < \theta_{SC}^3; \ x_{10} < \frac{K}{\gamma_t}\} : \text{dans cette région, } \dot{x}_7 < 0 \text{ et } \dot{x}_{10} > 0;$$

$$E_4 = \{\theta_{SC}^2 < SC < \theta_{SC}^3; \ x_{10} > \frac{K}{\gamma_t}\} : \text{dans cette région, } \dot{x}_7 < 0 \text{ et } \dot{x}_{10} < 0;$$

$$E_5 = \{\theta_{SC}^2 < SC; \ x_{10} < \frac{K}{\gamma_t}\} : \text{dans cette région, } \dot{x}_7 > 0 \text{ et } \dot{x}_{10} > 0;$$

$$E_6 = \{\theta_{SC}^2 < SC; \ x_{10} > \frac{K}{\gamma_t}; \ x_7 < \frac{k_a}{\gamma_a}\} : \text{dans cette région, } \dot{x}_7 > 0 \text{ et } \dot{x}_{10} < 0;$$

$$E_7 = \{\theta_{SC}^2 < SC; \ x_{10} > \frac{K}{\gamma_t}; \ x_7 > \frac{k_a}{\gamma_a}\} : \text{dans cette région, } \dot{x}_7 < 0 \text{ et } \dot{x}_{10} < 0.$$

Nous allons utiliser la définition 1 pour définir les frontières suivantes :

$$E_8 = \{\text{la frontière entre } E_1 \text{ et } E_2\} : \text{nous avons un sliding mode sur cette frontière.}$$

$$E_9 = \{\text{la frontière entre } E_1 \text{ et } E_3\} : \text{cette frontière correspond à un mur transparent.}$$

$$E_{10} = \{\text{la frontière entre } E_1 \text{ et } E_4\} : \text{cette frontière correspond à un mur transparent.}$$

$$E_{11} = \{\text{la frontière entre } E_2 \text{ et } E_4\} : \text{cette frontière correspond à un mur transparent.}$$

$$E_{12} = \{\text{la frontière entre } E_3 \text{ et } E_5\} : \text{nous avons un sliding mode sur cette frontière.}$$

$$E_{13} = \{\text{la frontière entre } E_3 \text{ et } E_4\} : \text{nous avons un sliding mode sur cette frontière.}$$

$$E_{14} = \{\text{la frontière entre } E_4 \text{ et } E_6\} : \text{nous avons un sliding mode sur cette frontière.}$$

$$E_{15} = \{\text{la frontière entre } E_4 \text{ et } E_7\} : \text{cette frontière correspond à un mur transparent.}$$

$$E_{16} = \{\text{la frontière entre } E_5 \text{ et } E_6\} : \text{nous avons un sliding mode sur cette frontière.}$$

$$E_{17} = \{\text{la frontière entre } E_6 \text{ et } E_7\} : \text{nous avons un sliding mode sur cette frontière.}$$

Nous allons maintenant définir les équilibres au sens de Filippov [29] :

$$\Phi_1 = \{\text{l'intersection entre } x_{10} = \frac{\kappa_t^1 + K}{\gamma_t} \text{ et } SC = \theta_{SC}^3\}$$

$$\Phi_2 = \{\text{l'intersection entre } x_7 = \frac{k_a}{\gamma_a} \text{ et } SC = \theta_{SC}^2\}$$

$$\Phi_3 = \{\text{l'intersection entre } x_{10} = \frac{K}{\gamma_t} \text{ et } SC = \theta_{SC}^2\}$$

$$\Phi_4 = \{\text{l'intersection entre } x_{10} = \frac{K}{\gamma_t} \text{ et } SC = \theta_{SC}^3\}$$

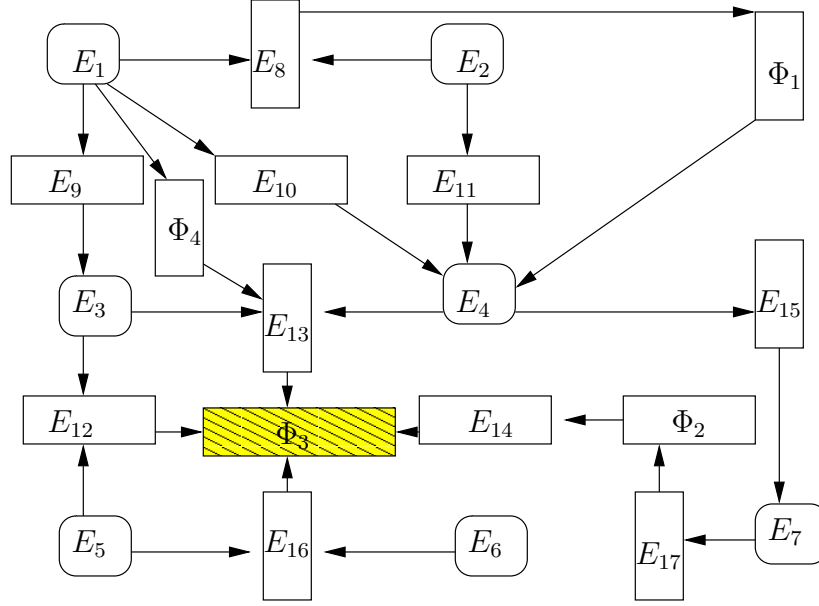


FIG. 7.4 – Graphe d'états du modèle (7.21)

Nous pouvons conclure d'après le graphe 7.4 que Φ_3 est l'équilibre globalement asymptotiquement stable.

Pour le cas où $f(B^1)$ se trouve sur la frontière $SC = \theta_{SC}^2$ et le cas où $f(B^1)$ est dans B^1 , on montre par une démarche similaire à celle précédente que $f(B^1)$ est l'équilibre globalement asymptotiquement stable.

Proposition 7.2.7. *Le graphe d'état de la figure 7.4 montre que le modèle (7.21) admet un équilibre globalement asymptotiquement stable Φ_3 .*

Etude du bloc S_3

Modèle mathématique Le modèle mathématique de S_1 est donné par :

$$\begin{cases} \dot{x}_{y\sim} = \kappa_y^1 + \kappa_y^2 - \gamma_y x_{y\sim} + k_{-1} x_{y\sim p} - k_1 x_{y\sim} x_p \\ \dot{x}_{y\sim p} = k_1 x_{y\sim} x_p - (k_{-1} + \gamma_y) x_{y\sim p} \end{cases} \quad (7.25)$$

où x_p est une constante positive. C'est un système linéaire. Nous allons calculer son équilibre et étudier sa stabilité.

Existence et unicité de l'équilibre

Pour étudier l'équilibre de ce système, nous allons d'abord effectuer le changement de variables suivant : $X = x_{y\sim} + x_{y\sim p}$. Le nouveau système devient

$$\begin{cases} \dot{X} = \kappa_y^1 + \kappa_y^2 - \gamma_y X = f_1(X) \\ \dot{x}_{y\sim p} = k_1 x_p X - (k_{-1} + \gamma_y + k_1 x_p) x_{y\sim p} = f_2(X, x_{y\sim p}) \end{cases} \quad (7.26)$$

Ce système est à l'équilibre si $\dot{X} = 0$ et $\dot{x}_{y\sim p} = 0$. Ainsi

$$X^* = \frac{\kappa_y^1 + \kappa_y^2}{\gamma_y}$$

et

$$x_{y\sim p}^* = \frac{k_1 x_p X^*}{k_{-1} + \gamma_y + k_1 x_p}$$

L'équilibre du système (7.26) est unique.

Etude de la stabilité de l'équilibre

Nous allons écrire le système (7.26) sous forme matricielle.

$$\begin{pmatrix} \dot{X} \\ \dot{x}_{y\sim p} \end{pmatrix} = A \begin{pmatrix} X \\ x_{y\sim p} \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} \kappa_y^1 + \kappa_y^2 \\ 0 \end{pmatrix} \quad (7.27)$$

avec

$$A = \begin{pmatrix} -\gamma_y & 0 \\ k_1 x_p & -(k_{-1} + \gamma_y + k_1 x_p) \end{pmatrix}$$

Toutes les valeurs propres de A sont des réels négatifs alors l'équilibre du système (7.26) est globalement asymptotiquement stable.

Proposition 7.2.8. *Le système (7.26) correspondant au bloc S_3 admet un équilibre globalement asymptotiquement stable.*

Etude du bloc S_4

Modèle mathématique

$$\begin{cases} \dot{x}_{c\sim} = \kappa_c^1 - \gamma_c x_{c\sim} + k_{-4} x_{c\sim m} - k_4 x_{c\sim} x_{m\sim} \\ \dot{x}_{c\sim m} = k_4 x_{c\sim} x_{m\sim} - (k_{-4} + \gamma_c) x_{c\sim m} \\ \dot{x}_{m\sim} = k_{-4} x_{c\sim m} - k_3 x_{m\sim} - k_4 x_{c\sim} x_{m\sim} \end{cases} \quad (7.28)$$

Posons $x_4 = x_{c\sim}$, $x_5 = x_{c\sim m}$ et $x_6 = x_{m\sim}$, nous obtenons le système suivant :

$$\begin{cases} \dot{x}_4 = \kappa_c^1 - \gamma_c x_4 + k_{-4} x_5 - k_4 x_4 x_6 \\ \dot{x}_5 = k_4 x_4 x_6 - (k_{-4} + \gamma_c) x_5 \\ \dot{x}_6 = k_{-4} x_5 - k_3 x_6 - k_4 x_4 x_6 \end{cases} \quad (7.29)$$

Existence et unicité de l'équilibre

Remarquons que

$$\dot{x}_5 + \dot{x}_6 = -\gamma_c x_5 - k_3 x_6$$

Alors

$$\dot{x}_5 + \dot{x}_6 = 0 \Rightarrow x_5^* = 0 \quad x_6^* = 0$$

$$\dot{x}_4 = 0 \Rightarrow x_4^* = \frac{\kappa_c^1}{\gamma_c}.$$

Cet équilibre est unique et est globalement attractif.

Stabilité de l'équilibre

Nous allons linéariser le système (7.29) autour de l'équilibre $(\frac{\kappa_c^1}{\gamma_c}; 0; 0)$. Nous obtenons la matrice J :

$$J = \begin{pmatrix} -\gamma_c & k_{-4} & -k_4 x_4^* \\ 0 & -k_{-4} - \gamma_c & 0 \\ 0 & k_{-4} & -k_3 - k_4 x_4^* \end{pmatrix}$$

La matrice J est stable alors l'équilibre est localement stable.

Proposition 7.2.9. *Le système(7.29) admet un équilibre globalement attractif et localement stable alors cet équilibre est globalement asymptotiquement stable.*

Proposition 7.2.10. *Pour $u_s = 0$, si la condition 7.17 est vérifiée et sous les hypothèses (8, 9, 10), alors le modèle (7.1) admet un équilibre globalement asymptotiquement stable.*

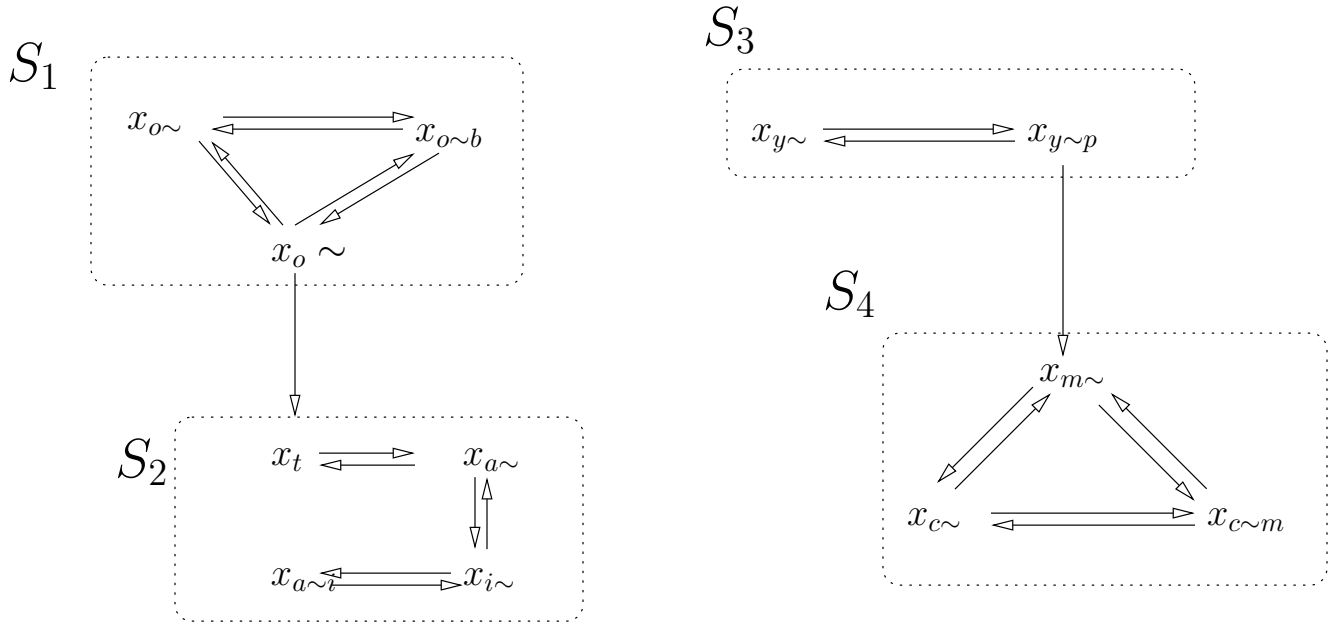
Remarque. Pour $u_s = 0$, certaines variables ont leur équilibre égal à 0 ce qui ne correspond pas aux intervalles donnés par D. Ropers et al. [58].

7.2.2 Décomposition et étude pour $u_s = 1$

Le modèle s'écrira pour $u_s = 1$ comme suit :

$$\begin{aligned} u_s &= 1 \\ x_f &= \theta_f^6 \\ \dot{x}_{y\sim} &= \kappa_y^1 + \kappa_y^2 h^-(x_{c\sim m}, \theta_{c\sim m}^2, m_{c\sim m}^2) - \gamma_y x_{y\sim} + (k_{-1} + k_2) x_{y\sim p} - k_1 x_{y\sim} x_p \\ \dot{x}_{y\sim p} &= k_1 x_{y\sim} x_p - (k_{-1} + k_2 + \gamma_y) x_{y\sim p} \\ \dot{x}_{c\sim} &= \kappa_c^1 - \gamma_c x_{c\sim} + k_{-4} x_{c\sim m} - k_4 x_{c\sim} x_{m\sim} \\ \dot{x}_{c\sim m} &= k_4 x_{c\sim} x_{m\sim} - (k_{-4} + \gamma_c) x_{c\sim m} \\ \dot{x}_{m\sim} &= k_2 x_{y\sim p} + k_{-4} x_{c\sim m} - k_3 x_{m\sim} - k_4 x_{c\sim} x_{m\sim} \\ \dot{x}_{a\sim} &= \kappa_a h^-(SC, \theta_{SC}^2, m_{SC}^2) - \gamma_a x_{a\sim} - k_5 x_{a\sim} x_{i\sim} + k_{-5} x_{a\sim} i \\ \dot{x}_{a\sim i} &= k_5 x_{a\sim} x_{i\sim} - (k_{-5} + \gamma_a) x_{a\sim i} \\ \dot{x}_{i\sim} &= -\gamma_i x_{i\sim} + k_{-5} x_{a\sim i} - k_5 x_{a\sim} x_{i\sim} \\ \dot{x}_t &= \kappa_t^1 h^+(SC, \theta_{SC}^3, m_{SC}^3) + \kappa_t^2 h^+(x_{o\sim}, \theta_o, m_o) - \gamma_t x_t \\ \dot{x}_{o\sim} &= \kappa_o - \gamma_o x_{o\sim} + k_{-6} x_{o\sim b} - k_6 x_{o\sim} x_{b\sim} \\ \dot{x}_{o\sim b} &= k_6 x_{o\sim} x_{b\sim} - (k_{-6} + \gamma_o) x_{o\sim b} \\ \dot{x}_{b\sim} &= \kappa_b^1 + \kappa_b^2 h^+(x_{o\sim}, \theta_o, m_o) - \gamma_b x_{b\sim} + k_{-6} x_{o\sim b} - k_6 x_{o\sim} x_{b\sim} \\ \dot{x}_n &= \kappa_n^1 + \kappa_n^2 - \gamma_n x_n \\ &\text{avec } SC = b \frac{x_{a\sim}}{x_t} \end{aligned} \tag{7.30}$$

Le graphe associé au modèle (7.30) est le suivant :



Contrairement au cas $u_s = 0$ où les blocs S_3 et S_4 étaient indépendants, dans le cas $u_s = 1$, S_3 est une entrée pour le bloc S_4 , et S_1 est aussi une entrée pour le bloc S_2 .

Nous allons étudier les équilibres de S_1 et S_3 . Si leurs équilibres respectifs sont uniques et globalement stables alors on pourra appliquer le lemme de décomposition (annexe A.2).

Etude de S_1

Equilibre : Par une démarche similaire à celle faite pour le cas $u_s = 0$, nous tombons sur cette équation :

$$\kappa_b^1 + \kappa_b^2 h^+(x_1, \theta_o, m_o) - \left(\gamma_b \frac{(k-6 + \gamma_o)}{k_6 x_1^*} + \gamma_o \right) \left(\frac{\kappa_o}{\gamma_o} - \frac{\gamma_o}{\gamma_o} x_1^* \right) = 0$$

On montre que S_1 admet un unique équilibre.

Stabilité : En prenant la même fonction de Lyapunov utilisée pour étudier S_1 dans le cas $u_s = 0$, la condition pour que l'unique équilibre soit globalement stable est la suivante :

$$\boxed{\gamma < \frac{\gamma_o - \kappa_b^2 \text{Max}(h^{+'}(x, \theta_o, m_o))}{\kappa_b^2 \text{Max}(h^{+'}(x, \theta_o, m_o))}} \quad (7.31)$$

Cette condition est faite sur le coefficient de la fonction de Lyapunov contrairement au cas $u_s = 0$ où la condition est sur la pente de la fonction de Hill. On peut donc toujours choisir la fonction de Lyapunov pour vérifier cette condition.

Proposition 7.2.11. *Pour $u_s = 1$, S_1 admet un unique équilibre globalement asymptotiquement stable.*

Nous allons injecter cet équilibre dans S_2 et l'étudier.

Etude de S_2

En se référant au modèle (7.1), on voit que S_2 ne dépend pas directement de u_s . Quelque soit la valeur de u_s , l'équilibre de S_2 va être unique et globalement stable d'après l'étude faite pour le cas $u_s = 0$. Sa valeur va cependant être différente selon qu'on soit dans le cas $u_s = 0$ ou dans $u_s = 1$ du fait de sa dépendance à S_1 qui est influencé par u_s .

Etude de S_3

L'équilibre de S_3 correspond à :

$$X^* = \frac{\kappa_y^1 + \kappa_y^2}{\gamma_y}$$

et

$$x_{y\sim p}^* = \frac{k_1 x_p X^*}{k_{-1} + k_2 + \gamma_y + k_1 x_p}$$

Similairement à l'étude du cas $u_s = 0$, on trouve que cet équilibre est globalement asymptotiquement stable.

Nous allons injecter cet équilibre dans S_4 et l'étudier.

Etude de S_4

Le modèle de ce bloc est le suivant :

$$\begin{cases} \dot{x}_{c\sim} = \kappa_c^1 - \gamma_c x_{c\sim} + k_{-4} x_{c\sim m} - k_4 x_{c\sim} x_{m\sim} \\ \dot{x}_{c\sim m} = k_4 x_{c\sim} x_{m\sim} - (k_{-4} + \gamma_c) x_{c\sim m} \\ \dot{x}_{m\sim} = k_2 x_{y\sim p} + k_{-4} x_{c\sim m} - k_3 x_{m\sim} - k_4 x_{c\sim} x_{m\sim} \end{cases} \quad (7.32)$$

Posons $y = x_{c\sim} + x_{c\sim m}$ alors $\dot{y} = \kappa_c^1 - \gamma_c y$.

L'équilibre est donné par : $y^* = \frac{\kappa_c^1}{\gamma_c}$.

D'après le Lemme de décomposition, on remplacera y par son équilibre dans les autres équations.

Remarquons que $x_{c\sim} = y^* - x_{c\sim m}$ et est toujours positif.

En remplaçant $x_{c\sim}$ par $y^* - x_{c\sim m}$, le système devient :

$$\begin{cases} \dot{x}_{c\sim m} = k_4 (y^* - x_{c\sim m}) x_{m\sim} - (k_{-4} + \gamma_c) x_{c\sim m} \\ \dot{x}_{m\sim} = k_2 x_{y\sim p} + k_{-4} x_{c\sim m} - k_3 x_{m\sim} - k_4 (y^* - x_{c\sim m}) x_{m\sim} \end{cases} \quad (7.33)$$

L'isocline $\dot{x}_{c\sim m} = 0$ est donnée par $f_1(x_{c\sim m}) = \frac{(k_{-4} + \gamma_c) x_{c\sim m}}{k_4 (y^* - x_{c\sim m})}$.

L'isocline $\dot{x}_{m\sim} = 0$ est donnée par $f_2(x_{c\sim m}) = \frac{k_2 x_{y\sim p} + k_{-4} x_{c\sim m}}{k_3 + k_4 (y^* - x_{c\sim m})}$.

Etant donné que $y^* - x_{c\sim m}$ doit être positif, nous allons considérer pour $x_{c\sim m}$ l'intervalle $I = [0; y^*]$.

Sur l'intervalle I , $f_1(x_{c\sim m})$ est croissante et est telle que

$$\lim_{x_{c\sim m} \rightarrow 0} f_1(x_{c\sim m}) = 0 \quad \text{et} \quad \lim_{x_{c\sim m} \rightarrow y^*} f_1(x_{c\sim m}) = +\infty$$

Sur l'intervalle I , $f_2(x_{c\sim m})$ est croissante et est telle que

$$\lim_{x_{c\sim m} \rightarrow 0} f_2(x_{c\sim m}) = \frac{k_2 x_{y\sim p}}{k_3 + k_4 y^*} \quad \text{et} \quad \lim_{x_{c\sim m} \rightarrow y^*} f_2(x_{c\sim m}) = \frac{k_2 x_{y\sim p} + k_{-4} y^*}{k_3}$$

Sur l'intervalle I , le modèle (7.33) admet un unique équilibre.

Soit J la matrice jacobienne du modèle (7.33) :

$$J = \begin{pmatrix} -(k_{-4} + \gamma_c) - k_4 x_{m\sim} & k_4 (y^* - x_{c\sim m}) \\ k_{-4} + k_4 x_{m\sim} & -k_3 - k_4 (y^* - x_{c\sim m}) \end{pmatrix}$$

Les éléments hors diagonale sont positifs alors le système est monotone.

Considérons le rectangle $R = \{x_{c\sim m} \in [0; y^*]; x_{m\sim} \in [0; x_{m\sim}^M]\}$ avec $x_{m\sim}^M > \frac{k_{-4}y^* + k_2x_{y\sim p}}{k_3}$.

Au point $(x_{c\sim m} = 0; x_{m\sim} = 0)$ le champ est positif et au point $(x_{c\sim m} = y^*; x_{m\sim} = x_{m\sim}^M)$ le champ est négatif.

Sur le rectangle R , le système est monotone et en prenant $x_{m\sim}^M > \frac{k_2x_{y\sim p} + k_{-4}y^*}{k_3}$, il existe un unique équilibre sur le rectangle R . De plus, au point $(x_{c\sim m} = 0; x_{m\sim} = 0)$ le champ est positif et au point $(x_{c\sim m} = y^*; x_{m\sim} = x_{m\sim}^M)$ le champ est négatif. D'après le théorème 4.2.2, toute solution dont la condition initiale est dans le rectangle converge vers l'équilibre.

Proposition 7.2.12. *D'après le lemme de décomposition, le système (7.32) admet un unique équilibre globalement asymptotiquement stable.*

Proposition 7.2.13. *Pour $u_s = 1$, sous les hypothèses (8,9,10), le modèle (7.1) admet un équilibre globalement asymptotiquement stable.*

7.3 Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons pu étudier la stabilité globale d'un modèle complexe comprenant 14 variables. L'application des techniques basées sur la décomposition en composantes fortement connexes et de la modélisation par systèmes hybrides linéaires par morceaux nous a permis de réduire considérablement la complexité du modèle et d'arriver à l'étudier entièrement sous certaines conditions.

Conclusion et perspectives

L'objectif de cette thèse était de proposer des méthodes d'étude de modèles biologiques.

Dans une première partie, des notions biologiques sont décrites sommairement. Nous avons abordés le principe de la régulation cellulaire dans le chapitre 1 en présentant d'abord le dogme central de la biologie et en donnant un exemple de réseau de régulation cellulaire : l'opéron lactose. Etant donné que la modélisation est un interface entre la biologie et les mathématiques, et compte tenu que les méthodes proposées sont principalement mathématiques, nous avons consacré le chapitre 2 aux préalables pour la modélisation de réseaux de régulation cellulaire.

Dans une deuxième partie, nous avons présenté les diverses méthodes proposées. Ces méthodes utilisent les caractéristiques suivantes :

- le graphe de la matrice jacobienne du système : sur un gros modèle à 39 variables, cette méthode basée sur la hiérarchisation nous a permis de décomposer le modèle en composantes fortement connexes, facilitant considérablement son étude ;
- la théorie des systèmes monotones : étant donné qu'en biologie on rencontre souvent des interactions négatives donnant ainsi des systèmes non-monotones, nous avons présenté sur un petit exemple une méthode d'étude de systèmes non-monotones basée sur des techniques de systèmes monotones ;
- la différence d'échelle de temps : il est bien connu que les systèmes biologiques peuvent avoir des variables évoluant à des échelles de temps très différentes. Sur un exemple, nous avons fait de la réduction de modèle et avons étudié la dynamique que peut induire l'existence de différences d'échelles de temps dans un système. Nous proposons et analysons un mécanisme qui est tel qu'une variation lente du processus lent induit un rapide basculement du processus rapide d'un mode de fonctionnement à un autre. Ce mécanisme est illustré par le modèle réduit de l'oscillateur *cdc2-cycline B* dans le cycle cellulaire et les données expérimentales disponibles nous ont permis de faire de l'identification paramétrique ;
- l'étude des modèles hybrides (discontinu en espace) et linéaires par morceaux : sur un modèle fourni par le projet Ibis de l'INRIA Grenoble, une approximation des fonctions de Hill par des fonctions steps est faite donnant ainsi des discontinuité en espace. En utilisant le lemme de décomposition, nous avons pu décomposer ce modèle en blocs et avons étudié séparément chaque bloc.
- Nous avons apporté quelques contributions à un problème lié à l'unicité et à la stabilité globale de réseaux métaboliques réversibles. En effet, pour les biologistes, il semble évident que les systèmes métaboliques réalistes ont un seul équilibre stable et pourtant il est connu que certains systèmes de type métabolique peuvent avoir plusieurs équilibres. Cette contribution est très intéressante car pour étudier les systèmes couplant des systèmes métaboliques (dy-

namique rapide) et génétiques (dynamique lente), il est très important de pouvoir étudier les propriétés de stabilité globale du système métabolique. Si celui-ci est globalement stable, alors on pourra le mettre à son équilibre, et appliquer des théorèmes de type Tikhonov pour injecter la valeur de cet équilibre dans le système génétique.

Perspectives

Cette thèse s'inscrivant dans le cadre du projet Metagenoreg dont l'objectif est de modéliser et d'analyser les interactions entre les systèmes métaboliques et génétiques avec l'exemple de *E. coli*, une des perspectives de continuation de ce travail pourrait être l'application de ces méthodes à l'étude du modèle de *E. coli* dont nous avons parlé dans la section 3.2.

Nous avons vu dans la sous-section 2.2.4, l'exemple de l'inhibition réciproque de deux gènes. L'étude du modèle montre l'existence d'une bistabilité sous certaines valeurs de paramètres et que en perturbant le système, on observe un phénomène d'hystérésis. Une perspective pourrait être de concevoir une loi de commande qui entrainerait le système vers un seul équilibre globalement stable. Compte tenu des travaux de Gardner et al. [21], il sera supposé que les taux de synthèse peuvent être contrôlés par les biologistes. Les données quantitatives n'étant presque jamais disponibles pour les réseaux de régulation génétique, l'étude se fera sur le modèle linéaire par morceaux et la commande sera constante par morceaux. Cette approche n'est pas classique en théorie du contrôle et nécessiterait de concevoir et développer une théorie de contrôle sur les systèmes linéaires par morceaux. Quelques premiers pas ont été fait vers cette direction [17].

Du côté identification, il serait possible d'utiliser la structure hiérarchique des systèmes pour estimer les paramètres (voir la fin du chapitre 3)

Bibliographie

- [1] U. Alon. *An introduction to systems biology*. Chapman & Hall/CRC, Boca Raton, 2007.
- [2] R. Alur, C. Courcoubetis, N. Halbwachs, T.A. Henzinger, P.-H. Ho, X. Nicollin, A. Olivero, and S. Yovine. The algorithmic analysis of hybrid systems. *Theoretical Computer Science*, 138, 1995.
- [3] D. Angeli and E.D. Sontag. Monotone control systems. *IEEE Trans Autom Control, In Proc IEEE Conf Decision and Control, Las Vegas, Dec 2002, IEEE Publications, Piscataway, NJ, 2002, 1876-1881*), 48 :1684–1698, 2002.
- [4] D. Angeli and E.D. Sontag. Interconnections of monotone systems with steady-state characteristics. In *Optimal Control, Stabilization, and Nonsmooth Analysis (de Queiroz, M., M. Malisoff, and P. Wolenski, eds.)*, Springer-Verlag, pages 135–154, 2004.
- [5] G. Bastin and V. Guffens. Congestion control in compartmental network systems. *Systems and Control Letters*, 55 :689–696, 2006.
- [6] K. Bettenbrock, S. Fischer, A. Kremling, K. Jahreis, T. Sauter, and E. Gilles. A quantitative approach to catabolite repression in escherichia coli. *J. Biol. Chem.*, 281, 2006.
- [7] A. C. Bowden, M. Jamin, and V. Saks. *Cinétique enzymatique*. Collection Grenoble Sciences, 2005.
- [8] C. Chassagnole, N. Noisommit-Rizzi, J. Schmid, K. Mauch, and M. Reuss. Dynamic modeling of the central carbon metabolism of escherichia coli. *Biotechnol. Bioeng.*, 79(1), 2002.
- [9] J. Coatleven and C. Altafini. A kinetic mechanism inducing oscillations in simple chemical reactions networks. In *Proc. 47th IEEE Conf. Decision and Control*, Cancun, Mexico, 2008.
- [10] G. Craciun, Y. Tang, and M. Feinberg. Understanding bistability in complex enzyme-driven reaction networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(23) :8697, 2006.
- [11] H. de Jong. Modeling and simulation of genetic regulatory systems : a literature review. *Journal of Computational Biology*, 9(1), 2002.
- [12] H. de Jong, J.L. Gouzé, C. Hernandez, M. Page, T. Sari, and J. Geiselman. Qualitative simulation of genetic regulatory networks using piecewise linear models. *Bull. Math. Biol.*, 66 :301–340, 2004.
- [13] P. D’haesleer, S. Liang, and R. Somogyi. Gene expression data analysis and modeling. In *Tutorial notes from Pacific Symposium on Biocomputing*, 1999.
- [14] D. Dochain and P.A. Vanrolleghen. *Dynamical modelling and estimation in wastewater treatment processes*. IWA Publishing, Alliance House, London, 2001.
- [15] L. E-Keshet. *Mathematical Models in Biology*. The Random House, 1988.

- [16] E. Farcot. Etude d'une classe d'équations différentielles affines par morceaux modélisant des réseaux de régulation biologique. Technical report, Thèse de Doctorat, INPG, Grenoble, 2005.
- [17] E. Farcot and J.L. Gouzé. A mathematical framework for the control of piecewise-affine models of gene networks. *Automatica*, 44(9) :2326–2332, 2008.
- [18] J.E. Ferrell and W. Xiong. Bistability in cell signalling : how to make continuous processes discontinuous, and reversible processes irreversible. *Chaos*, 11 :227–238, 2001.
- [19] Jean-Claude Fournier. *Théorie des graphes et applications*. Hermes Science Publications, 2006.
- [20] fr.wikipedia.org/wiki/Synthese_des_proteines. -. -, -.
- [21] T. Gardner, C. Cantor, and J. Collins. Construction of a genetic toggle switch in escherichia coli. *Nature*, 403,n^o 6767, 2000.
- [22] T. Gedeon and E.D. Sontag. Oscillations in multi-stable monotone systems with slowly varying feedback. *J. Differential Equations*, 239 :273–295, 2009.
- [23] M.A. Gibson and J. Bruck. A probabilistic model of a prokaryotic gene and its regulation. *Computational Modeling of Genetic and Biochemical Networks (eds. J.M. Bower and H. Bolouri) MIT Press*, 2001.
- [24] M.A. Gibson and E. Mjølness. Modeling the activity of single genes. Technical report, Computational Methods for Molecular and Cellular Biology, eds. J. M. Bower and H. Bolouri, MIT Press. Also avail. as Technical Report JPL-ICTR-99-3, 2004.
- [25] A. Girard. Analyse algorithmique des systèmes hybrides. Technical report, Thèse de Doctorat, INPG, Grenoble, 2004.
- [26] L. Glass. Classification of biological networks by their qualitative dynamics. *J. Theor. Biol.*, 54, 1975.
- [27] L. Glass. Combinatorial and topological methods in nonlinear chemical kinetics. *J. Chem. Phys.*, 63, 1975.
- [28] J. L. Gouzé. Stability of a class of nonlinear stirred tank reactor. *Systems and Control Letters*, 41, 1995.
- [29] J. L. Gouzé and T. Sari. A class of piecewise linear differential equations arising in biological models. *Dynamical systems*, 17 :299–316, 2003.
- [30] F. Grognaud, Y. Chitour, and G. Bastin. Equilibria and stability analysis of a branched metabolic network with feedback inhibition. *Networks and Heterogeneous Media*, 1, no.1, 2006.
- [31] F. Grognaud, J.-L. Gouzé, and H. de Jong. Piecewise-linear models of genetic regulatory networks : theory and example. In I. Queinnec, S. Tarbouriech, G. Garcia, and S. Niculescu, editors, *Biology and control theory : current challenges*, Lecture Notes in Control and Information Sciences (LNCIS) 357, pages 137–159. Springer-Verlag, 2007.
- [32] R. Heinrich and T. A. Rapoport. Mathematical analysis of multienzyme systems. iii. steady state and transient control. *BioSystems*, 7, 1975.
- [33] R. Heinrich and S. Schuster. *The regulation of cellular systems*. Chapman & Hall. New York. US, 1996.
- [34] M. W. Hirsch and H. L. Smith. Competitive and cooperative systems : a mini-review. *Lecture Notes in Control and Information Sciences*, 294 :183–190, 2003.

- [35] A. Hoffmann, A. Levchenko, M.L. Scott, and D. Baltimore. The I κ B-NF κ B signaling module : temporal control and selective gene activation. *Science*, 298 :1241–1245, 2002.
- [36] Horton, Moran, Ochs, Rawn, and Scrimgeour. *Principes de Biochimie*. Ed. DeBoeck, 1994.
- [37] J. A. Jacquez and C. P. Simon. Qualitative theory of compartmental systems. *SIAM Review*, 35 :43–79, 1993.
- [38] H. Jong and J. Geiselmann. *Informatique pour l'analyse du transcriptome : Chapitre 5*. Lavoisier, 2004.
- [39] H. Kacser and J. A. Burns. The control of flux. *Symp. Soc. Exp. Biol.*, 27, 1973.
- [40] S. Kauffman. The large scale structure and dynamics of gene control circuits : an ensemble approach. *J. Theor. Biol.*, 44, 1974.
- [41] S.A. Kauffman. *The origins of order, self-organization and selection in evolution*. University Press, 1993.
- [42] B. N. Kholodenko. Negative feedback and ultrasensitivity can bring about oscillations in the mitogen-activated protein kinase cascades. *Eur. J. Biochem.*, 267 :1583–1588, 2000.
- [43] G. Lahav, N. Rosenfeld, A. Sigal, N. Geva-Zatorsky, A.J. Levine, M. Elowitz, and U. Alon. Dynamics of the p53-Mdm2 feedback loop in individual cells. *Nat. Genetics*, 36 :147–150, 2004.
- [44] P. D. Leenheer, D. Angeli, and E.D. Sontag. Small-gain theorems for predator-prey systems. In *Positive Systems. Proceedings of the First Multidisciplinary Symposium on Positive Systems (POSTA 2003)*, edited by Luca Benvenuti, Alberto De Santis and Lorenzo Farina, *Lecture Notes on Control and Information Sciences*, volume 294, 2003.
- [45] P. De Leenheer, D. Angeli, and E. D. Sontag. A tutorial on monotone systems- with an application to chemical reaction networks. In *Proc. 16th Int. Symp. Mathematical Theory of Networks and Systems (MTNS)*, 2004.
- [46] B. Lewin. *Genes VII*. Oxford University Press, 1999.
- [47] H.H. McAdams and A. Arkin. Stochastic mechanisms for gene expression. In *Proc. Natl.*, volume 94, 1997.
- [48] J.D. Murray. *Mathematical biology*. Springer, 2002.
- [49] I. Ndiaye, M. Chaves, and J.-L. Gouzé. Study and parameter identification of a model coupling cell signaling and gene expression. In *Proc. 16th Mediterranean Conf. Control and Automation (MED'08)*, Ajaccio, France, 2008.
- [50] J. Von Neumann. *Théorie générale and logique des automates*. Champ Vallon, 1996.
- [51] L. Perko. *Differential equations and dynamical systems*. Springer, Berlin, 2001.
- [52] E. Plahte, T. Mestl, and S.W. Omholt. Global analysis of steady points for systems of differential equations with sigmoid interactions. *Dyn. Stab. Syst.*, 9, 1994.
- [53] J.R. Pomerening, S.Y. Kim, and J.E. Ferrell. Systems-level dissection of the cell-cycle oscillator : bypassing positive feedback produces damped oscillations. *Cell*, 122 :565–578, 2005.
- [54] J.R. Pomerening, E.D. Sontag, and J.E. Ferrell. Building a cell cycle oscillator : hysteresis and bistability in the activation of Cdc2. *Nat. Cell Biol.*, 5 :346–351, 2003.
- [55] H. de Jong R. Casey and J.L. Gouzé. Piecewise-linear models of genetic regulatory networks : equilibria and their stability. *Journal of Mathematical Biology.*, 2005.

- [56] F. Robert. *Les systèmes dynamiques discrets*, volume 19. Springer, Collection : Mathématiques and applications, 1995.
- [57] J. Rohwer, N. Meadow, S. Roseman, H. Westerhoff, and P. Postma. Understanding glucose transport by the bacterial phosphoenolpyruvate :glycose phosphotransferase system on the basis of kinetic measurements in vitro. *J. Biol. Chem.*, 275(45), 2000.
- [58] D. Ropers, V. Baldazzi, and H. de Jong. Model reduction using piecewise-linear approximations preserves dynamic properties of the carbon starvation response in /*escherichia coli*/. */IEEE/ACM Transactions on Computational Biology and Bioinformatics, in press.*, 2009.
- [59] D. Ropers, H. de Jong, M. Page, D. Schneider, and J. Geiselmann. Qualitative simulation of the carbon starvation response in *escherichia coli*. *BioSystems*, 84(2) :124–152, 2006.
- [60] H. H. Rosenbrock. A lyapunov function with applications to some nonlinear physical systems. *Automatica*, 1 :31–53, 1963.
- [61] W. Sha, J. Moore, K. Chen, A.D. Lassaletta, C.-S. Yi, J.J. Tyson, and J.C. Sible. Hysteresis drives cell-cycle transitions in *Xenopus laevis* egg extracts. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 100 :975–980, 2003.
- [62] S.N. Simic, K.H. Johansson, J. Lygeros, and S. Sastry. Towards a geometric theory of hybrid systems. *HSCC 2000, LNCS 1790*, 2000.
- [63] H. L. Smith. *Monotone Dynamical Systems : An introduction to the theory of competitive and cooperative systems*, volume 41. Mathematical surveys and monographs, 1995.
- [64] P. Smolen, D.A. Baxter, and J.H. Byrne. Modeling transcriptional control in gene networks - methods, recent results, and future directions. *Bull. Math. Biol.*, 62, 2000.
- [65] R. Tarjan. Depth first search and linear graph algorithms. *SIAM Journal of Computing*, 1(2), 1972.
- [66] R. Thomas and R. D’Ari. *Biological feedback*. CRC Press, 1990.
- [67] A. Tikhonov, A. Vasil’eva, and A. Sveshnikov. Differential equations. *Springer*, New York, 1980.
- [68] L. Tournier. Etude and modélisation mathématique de réseaux de régulation génétique and métabolique. Technical report, Thèse de Doctorat,INPG, Grenoble, 2006.
- [69] M. Vidyasagar. *Nonlinear systems analysis, second edition*. Prentice Hall International, 1993.
- [70] G. Weisbuch. *Dynamique des systèmes complexes*. Editions du CNRS, 1989.
- [71] L.F.A. Wessels, E.P. van Someren, and M.J.T Reinders. A comparison of genetic network models. *Pac. Symp. on Biocomputing*, 6, 2001.
- [72] www.infovisual.info/03/001_fr.html. -. -, -.

Annexe A

Théorèmes utiles

A.1 Théorème de Tikhonov [67]

Soit le système :

$$\Sigma^\epsilon \begin{cases} \frac{dx}{dt} = f(x, z, \epsilon) \\ \epsilon \frac{dz}{dt} = g(x, z, \epsilon) \end{cases} \quad (\text{A.1})$$

Si les hypothèses suivantes sont satisfaites

Hypothèse 11. $z = \rho(x)$ solution de $g(x, z, 0) = 0$, avec ρ fonction régulière de x et

$$\frac{\partial g}{\partial z}(x, \rho(x), 0)$$

est une matrice dont toutes les valeurs propres sont à partie réelle strictement négative ;

Hypothèse 12. le système réduit Σ^0

$$\Sigma^0 \begin{cases} \frac{dx}{dt} = f(x, \rho(x), 0) \\ x(t=0) = x_0 \end{cases} \quad (\text{A.2})$$

a une unique solution $x_0(t)$ sur $[0, T]$, $0 < T < +\infty$

Alors, pour $\epsilon \ll 1$, (Σ^ϵ) admet une unique solution $(x_\epsilon(t), z_\epsilon(t))$ sur $[0, T]$ (si z^0 proche de $\rho(x^0)$)

Et sur tout $[a, T]$ ($a > 0$), on a

$$\lim_{\epsilon \rightarrow 0^+} x_\epsilon(t) = x_0(t) \quad (\text{et} \quad \lim_{\epsilon \rightarrow 0^+} z_\epsilon(t) = \rho(x_0(t)))$$

Sans hypothèses supplémentaires, l'approximation n'est valable, en général, que sur des intervalles de temps t de longueur bornée T . Si le système (A.2) admet un équilibre dont le linéaire tangent est asymptotiquement stable, l'approximation est alors valable pour tous les temps positifs (pourvu que z^0 proche de $\rho(x^0)$).

A.2 Lemme de séparation

Ce lemme de séparation permet de décomposer un système dynamique en plusieurs sous-systèmes [69].

Considérons le système :

$$\begin{cases} \dot{x} = f(x, y) \\ \dot{y} = g(y) \end{cases} \quad (\text{A.3})$$

avec $y \in \mathbb{R}^k$ et $x \in \mathbb{R}^{n-k}$

- $y^* \in \mathbb{R}^k$ est un équilibre globalement asymptotiquement stable pour $\dot{y} = g(y)$
- $x^* \in \mathbb{R}^{n-k}$ est un équilibre globalement asymptotiquement stable pour $\dot{x} = f(x, y^*)$
- Toutes les trajectoires du système (A.3) sont bornées.

Alors $(x^*, y^*) \in \mathbb{R}^n$ est un équilibre globalement asymptotiquement stable pour le système (A.3).

Certains des systèmes que nous étudions dans cette thèse sont hiérarchisés. Avec ce théorème, nous pourrons réduire ces système en mettant les blocs de dessus à leurs équilibres et en les remplaçant dans les blocs de dessous par leurs équilibres comme dans la figure A.1.

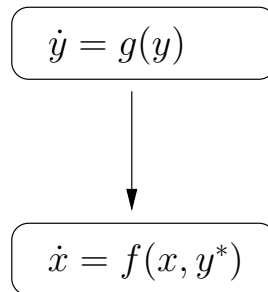


FIG. A.1 – Exemple d’application du Lemme de séparation

Annexe B

Modèle intégré de la glycolyse et la néoglucogenèse dans *E. coli*

Modèle construit par D. Ropers et al., Ibis INRIA Grenoble (communication privée).

The model equations are detailed in Figures B.2 to B.4.

| | | |
|-------------------------|--|--------|
| Global regulators : | | |
| $v_{GyrAB \cdot GyrI}$ | $= k_{GyrAB \cdot GyrI}^{on} x_{GyrI \cdot free} x_{GyrAB \cdot free} - k_{GyrAB \cdot GyrI}^{off} x_{GyrAB \cdot GyrI}$ | (B.1) |
| $v_{Cya \cdot PTSp}$ | $= k_{Cya \cdot PTSp}^{on} x_{Cya \cdot free} x_{PTSp \cdot free} - k_{Cya \cdot PTSp}^{off} x_{Cya \cdot PTSp}$ | (B.2) |
| v_{cAMP} | $= x_{Cya \cdot PTSp} k_{Cya, cAMP} \frac{x_{ATP}}{x_{ATP} + \theta_{ATP}^2}$ | (B.3) |
| $v_{cAMP, e}$ | $= k_{cAMP, e} x_{cAMP \cdot free}$ | (B.4) |
| $v_{CRP \cdot cAMP}$ | $= k_{CRP \cdot cAMP}^{on} x_{Crp \cdot free} x_{cAMP \cdot free} - k_{CRP \cdot cAMP}^{off} x_{CRP \cdot cAMP}$ | (B.5) |
| $v_{RssB^* \cdot free}$ | $= k_{Glc6P} x_{RssB \cdot free}$ | (B.6) |
| $v_{RpoS \cdot RssB^*}$ | $= k_{RpoS \cdot RssB^*}^{on} x_{RpoS \cdot free} x_{RssB^* \cdot free} - k_{RpoS \cdot RssB^*}^{off} x_{RpoS \cdot RssB^*}$ | (B.7) |
| v_{deg} | $= k_{deg} x_{RpoS \cdot RssB^*}$ | (B.8) |
| $v_{FruR \cdot FBP}$ | $= k_{FruR \cdot FBP}^{on} x_{FruR \cdot free} x_{FBP} - k_{FruR \cdot FBP}^{off} x_{FruR \cdot FBP}$ | (B.9) |
| Cellular growth : | | |
| μ | $= constante$ | (B.10) |

FIG. B.1 – Kinetic rate laws (continued).

Glycolysis – Gluconeogenesis :

$$v_{PTS_p} = k_{PTS_p} x_{PEP} x_{PTS.free} - k_{PTS} x_{PYR} x_{PTS_p.free} \quad (B.11)$$

$$v_{Glc6P} = v_{PTS_p} \quad (B.12)$$

$$v_{ppp} = \frac{1}{5} v_{Glc6P} \quad (B.13)$$

$$v_{G3Pppp} = \frac{1}{3} v_{ppp} \quad (B.14)$$

$$v_{F6Pppp} = \frac{2}{3} v_{ppp} \quad (B.15)$$

$$v_{Pgi} = x_{Pgi} k_{Pgi} \frac{\frac{x_{G6P}}{K_{Pgi,G6P}} - V_{Pgi} \frac{x_{F6P}}{K_{Pgi,F6P}}}{1 + \frac{x_{G6P}}{K_{Pgi,G6P}} + \frac{x_{F6P}}{K_{Pgi,F6P}}} \quad (B.16)$$

$$v_{PfkA} = x_{PfkA} k_{F6P} \frac{\frac{x_{F6P}}{K_{PfkA,F6P}} (1 + \frac{x_{F6P}}{K_{PfkA,F6P}})^{n_{PfkA}-1}}{(1 + \frac{x_{F6P}}{K_{PfkA,F6P}})^{n_{PfkA}} + L_{PfkA} \frac{(1 + \frac{x_{PEP}}{K_{PfkA,PEP}})^{n_{PfkA}}}{(1 + \frac{x_{ADP}}{K_{PfkA,ADP}})^{n_{PfkA}}}} \quad (B.17)$$

$$v_{Fbp} = x_{Fbp} k_{Fbp} \frac{\frac{x_{Fbp}}{K_{Fbp,FBP}} (1 + \frac{x_{Fbp}}{K_{Fbp,FBP}})^{n_{Fbp}-1}}{(1 + \frac{x_{Fbp}}{K_{Fbp,FBP}})^{n_{Fbp}} + L_{Fbp} \frac{(1 + \frac{x_{G6P}}{K_{Fbp,G6P}})^{n_{Fbp}}}{(1 + \frac{x_{PEP}}{K_{Fbp,PEP}})^{n_{Fbp}}}} \quad (B.18)$$

$$v_{FbaA} = x_{FbaA} k_{FbaA} \frac{\frac{x_{Fbp}}{K_{FbaA,FBP}} - V_{FbaA} \frac{x_{DHAP}}{K_{FbaA,DHAP}}}{1 + \frac{x_{Fbp}}{K_{FbaA,FBP}} + \frac{x_{DHAP}}{K_{FbaA,DHAP}}} \quad (B.19)$$

$$v_{TpiA} = x_{TpiA} k_{TpiA} \frac{\frac{x_{DHAP}}{K_{TpiA,DHAP}} - V_{TpiA} \frac{x_{G3P}}{K_{TpiA,G3P}}}{1 + \frac{x_{DHAP}}{K_{TpiA,DHAP}} + \frac{x_{G3P}}{K_{TpiA,G3P}}} \quad (B.20)$$

$$v_{GapA} = x_{GapA} k_{GapA} \frac{\frac{x_{G3P}}{K_{GapA,G3P}} - V_{GapA} \frac{x_{DPG}}{K_{GapA,DPG}}}{1 + \frac{x_{G3P}}{K_{GapA,G3P}} + \frac{x_{DPG}}{K_{GapA,DPG}}} \quad (B.21)$$

$$v_{P_gk} = x_{P_gk} k_{P_gk} \frac{x_{DPG}}{K_{P_gk,DPG} + x_{DPG}} \quad (B.22)$$

$$v_{GpmI} = x_{GpmI} k_{GpmI} \frac{x_{3PG}}{K_{GpmI,3PG} + x_{3PG}} \quad (B.23)$$

$$v_{Eno} = x_{Eno} k_{Eno} \frac{x_{2PG}}{K_{Eno,2PG} + x_{2PG}} \quad (B.24)$$

$$v_{PykF} = x_{PykF} \frac{k_{PykF} x_{PEP}}{1 + K_{PykF,PEP} x_{PEP}} \frac{(1 + K_{PykF,PEP} x_{PEP})^{n_{PykF}}}{(1 + K_{PykF,PEP} x_{PEP})^{n_{PykF}} + \frac{L_{PykF} (1 + K_{PykF,PEP} x_{PEP})}{(1 + K_{PykF,FBP})^{n_{PykF}}}} \quad (B.25)$$

FIG. B.2 – Kinetic rate laws.

Glycolysis and gluconeogenesis reactions :

$$\frac{dx_{PTS\cdot free}}{dt} = v_{G6P} - v_{PTS_p} - \mu x_{PTS\cdot free} \quad (B.26)$$

$$\frac{dx_{PTS_p\cdot free}}{dt} = v_{PTS_p} - v_{G6P} - v_{Cya\cdot PTS_p} - \mu x_{PTS_p\cdot free} \quad (B.27)$$

$$\frac{dx_{Glc}}{dt} = -v_{G6P} - \mu x_{Glc} \quad (B.28)$$

$$\frac{dx_{G6P}}{dt} = v_{G6P} - v_{ppp} - v_{Pgi} - \mu x_{G6P} \quad (B.29)$$

$$\frac{dx_{F6P}}{dt} = v_{Pgi} + v_{Fbp} + v_{FBPppp} - v_{PfkA} - \mu x_{F6P} \quad (B.30)$$

$$\frac{dx_{FBP}}{dt} = v_{PfkA} - v_{FbaA} - v_{Fbp} - \mu x_{FBP} \quad (B.31)$$

$$\frac{dx_{DHAP}}{dt} = v_{FbaA} - v_{TpiA} - \mu x_{DHAP} \quad (B.32)$$

$$\frac{dx_{G3P}}{dt} = v_{FbaA} + v_{TpiA} + v_{G3Pppp} - v_{GapA} - \mu x_{G3P} \quad (B.33)$$

$$\frac{dx_{DPG}}{dt} = v_{GapA} - v_{Pgk} - \mu x_{DPG} \quad (B.34)$$

$$\frac{dx_{3PG}}{dt} = v_{Pgk} - v_{GpmI} - \mu x_{3PG} \quad (B.35)$$

$$\frac{dx_{2PG}}{dt} = v_{GpmI} - v_{Eno} - \mu x_{2PG} \quad (B.36)$$

$$\frac{dx_{PEP}}{dt} = v_{Eno} - v_{PfkF} - \mu x_{PEP} \quad (B.37)$$

$$\frac{dx_{PYR}}{dt} = v_{PfkF} - v_{PYRloss} - \mu x_{PYR} \quad (B.38)$$

Global regulators :

$$\frac{dx_{GyrAB\cdot GyrI}}{dt} = v_{GyrAB\cdot GyrI} - (\gamma_{GyrAB} + \mu) x_{GyrAB\cdot GyrI} \quad (B.39)$$

$$\frac{dx_{Cya\cdot PTS_p}}{dt} = v_{Cya\cdot PTS_p} - (\gamma_{Cya} + \mu) x_{Cya\cdot PTS_p} \quad (B.40)$$

$$\frac{dx_{cAMP\cdot free}}{dt} = v_{cAMP} - v_{cAMP,e} - v_{Crp\cdot cAMP} - \mu x_{cAMP\cdot free} \quad (B.41)$$

$$\frac{dx_{Crp\cdot cAMP}}{dt} = v_{Crp\cdot cAMP} - (\gamma_{Crp} + \mu) x_{Crp\cdot cAMP} \quad (B.42)$$

$$\frac{dx_{RssB^*\cdot free}}{dt} = v_{RssB^*\cdot free} + v_{deg} - v_{RpoS\cdot RssB^*} - (\gamma_{RssB} + \mu) x_{RssB^*\cdot free} \quad (B.43)$$

$$\frac{dx_{RpoS\cdot RssB^*}}{dt} = v_{RpoS\cdot RssB^*} - v_{deg} - \mu x_{RpoS\cdot RssB^*} \quad (B.44)$$

$$\frac{dx_{FruR\cdot FBP}}{dt} = v_{FruR\cdot FBP} - (\gamma_{FruR} + \mu) x_{FruR\cdot FBP} \quad (B.45)$$

FIG. B.3 – Model equations for metabolic reactions and formation of biochemical complexes and biomass.

Glycolysis – gluconeogenesis :

$$\frac{dx_{Pgi}}{dt} = \kappa_{Pgi} - (\gamma_{Pgi} + \mu) x_{Pgi} \quad (B.46)$$

$$\frac{dx_{PfkA}}{dt} = \kappa_{PfkA} h^-(x_{FruR.free}, \theta_{FruR}^1, m_{FruR}^1) - (\gamma_{PfkA} + \mu) x_{PfkA} \quad (B.47)$$

$$\frac{dx_{Fbp}}{dt} = \kappa_{Fbp} - (\gamma_{Fbp} + \mu) x_{Fbp} \quad (B.48)$$

$$\frac{dx_{FbaA}}{dt} = \kappa_{FbaA} h^+(x_{Crp.cAMP}, \theta_{Crp.cAMP}^1, m_{Crp.cAMP}^1) h^-(x_{FruR.free}, \theta_{FruR}^2, m_{FruR}^2) \quad (B.49)$$

$$- (\gamma_{FbaA} + \mu) x_{FbaA} \quad (B.50)$$

$$\frac{dx_{TpiA}}{dt} = \kappa_{TpiA} - (\gamma_{TpiA} + \mu) x_{TpiA} \quad (B.51)$$

$$\begin{aligned} \frac{dx_{GapA}}{dt} = & \kappa_{GapA}^1 h^-(x_{FruR.free}, \theta_{FruR}^3, m_{FruR}^3) \\ & + \kappa_{GapA}^2 h^+(x_{Crp.cAMP}, \theta_{Crp.cAMP}^2, m_{Crp.cAMP}^2) - (\gamma_{GapA} + \mu) x_{GapA} \end{aligned} \quad (B.52)$$

$$\begin{aligned} \frac{dx_{Ppk}}{dt} = & \kappa_{Ppk} h^+(x_{Crp.cAMP}, \theta_{Crp.cAMP}^3, m_{Crp.cAMP}^3) h^-(x_{FruR.free}, \theta_{FruR}^4, m_{FruR}^4) \\ & - (\gamma_{Ppk} + \mu) x_{Ppk} \end{aligned} \quad (B.53)$$

$$\frac{dx_{GpmI}}{dt} = \kappa_{GpmI} - (\gamma_{GpmI} + \mu) x_{GpmI} \quad (B.54)$$

$$\frac{dx_{Eno}}{dt} = \kappa_{Eno} h^-(x_{FruR.free}, \theta_{FruR}^5, m_{FruR}^5) - (\gamma_{Eno} + \mu) x_{Eno} \quad (B.55)$$

$$\frac{dx_{PpkF}}{dt} = \kappa_{PpkF} h^-(x_{FruR.free}, \theta_{FruR}^6, m_{FruR}^6) - (\gamma_{PpkF} + \mu) x_{PpkF} \quad (B.56)$$

Global regulators :

$$\begin{aligned} \frac{dx_{TopA}}{dt} = & \kappa_{TopA}^1 h^+(sc, \theta_{sc}^2, m_{sc}^2) h^+(x_{Fis}, \theta_{Fis}^4, m_{Fis}^4) \\ & + \kappa_{TopA}^2 h^+(x_{RpoS.free}, \theta_{RpoS}^2, m_{RpoS}^2) - (\gamma_{TopA} + \mu) x_{TopA} \end{aligned} \quad (B.57)$$

$$\begin{aligned} \frac{dx_{GyrAB.free}}{dt} = & \kappa_{GyrAB} h^-(sc, \theta_{sc}^3, m_{sc}^3) h^-(x_{Fis}, \theta_{Fis}^5, m_{Fis}^5) - v_{GyrAB.GyrI} \\ & - (\gamma_{GyrAB} + \mu) x_{GyrAB.free} \end{aligned} \quad (B.58)$$

$$\begin{aligned} \frac{dx_{GyrI.free}}{dt} = & \kappa_{GyrI} h^+(x_{Crp.cAMP}, \theta_{Crp.cAMP}^3, m_{Crp.cAMP}^3) h^+(x_{RpoS.free}, \theta_{RpoS}^3, m_{RpoS}^3) \\ & - v_{GyrAB.GyrI} - (\gamma_{GyrI} + \mu) x_{GyrI.free} \end{aligned} \quad (B.59)$$

$$\begin{aligned} \frac{dx_{Fis}}{dt} = & \kappa_{Fis}^1 h^-(x_{Crp.cAMP}, \theta_{Crp.cAMP}^1, m_{Crp.cAMP}^1) h^-(x_{Fis}, \theta_{Fis}^6, m_{Fis}^6) \\ & + \kappa_{Fis}^2 h^+(sc, \theta_{sc}^1, m_{sc}^1) h^-(x_{Fis}, \theta_{Fis}^6, m_{Fis}^6) - (\gamma_{Fis} + \mu) x_{Fis} \end{aligned} \quad (B.60)$$

$$\begin{aligned} \frac{dx_{Cya.free}}{dt} = & \kappa_{Cya}^1 + \kappa_{Cya}^2 h^-(x_{Crp.cAMP}, \theta_{Crp.cAMP}^4, m_{Crp.cAMP}^4) - v_{Cya.PTSP} \\ & - (\gamma_{Cya} + \mu) x_{Cya} \end{aligned} \quad (B.61)$$

$$\begin{aligned} \frac{dx_{Crp.free}}{dt} = & \kappa_{Crp}^1 + \kappa_{Crp}^2 h^-(x_{Fis}, \theta_{Fis}^2, m_{Fis}^2) h^+(x_{Crp.cAMP}, \theta_{Crp.cAMP}^1, m_{Crp.cAMP}^1) \\ & + \kappa_{Crp}^3 h^-(x_{Fis}, \theta_{Fis}^1, m_{Fis}^1) - v_{Crp.cAMP} - (\gamma_{Crp} + \mu) x_{Crp.free} \end{aligned} \quad (B.62)$$

$$\frac{dx_{RpoS.free}}{dt} = \kappa_{RpoS} - v_{RpoS.RssB*} + v_{deg} - (\gamma_{RpoS} + \mu) x_{RpoS.free} \quad (B.63)$$

$$\begin{aligned} \frac{dx_{RssB.free}}{dt} = & \kappa_{RssB}^1 + \kappa_{RssB}^2 h^+(x_{RpoS.free}, \theta_{RpoS}^1, m_{RpoS}^1) - v_{RpoS.RssB*} \\ & - (\gamma_{RssB} + \mu) x_{RssB.free} \end{aligned} \quad (B.64)$$

$$\begin{aligned} \frac{dx_{FruR.free}}{dt} = & \kappa_{FruR} h^-(x_{FruR.free}, \theta_{FruR}^7, m_{FruR}^7) - v_{FruR.FBP} \\ & - (\gamma_{FruR} + \mu) x_{FruR.free} \end{aligned} \quad (B.65)$$

$$\text{With : } sc = a + b \frac{x_{GyrAB.free}}{x_{TopA}} \frac{x_{ATP}}{x_{ATP} + \theta_{ATP}^1} \quad (B.66)$$

FIG. B.4 – Model equations for gene expression.

Annexe C

The extended carbon starvation response network [58]

C.1 Variables and parameters for the extended carbon starvation response network

| Concentration variables | | | |
|--|--|----------------------|--|
| x_y | Cya protein | $x_{y\sim p}$ | Cya-ATP complex |
| x_p | ATP metabolite | x_m | cAMP metabolite |
| x_c | CRP protein | $x_{c\sim m}$ | CRP-cAMP |
| x_f | Fis protein | x_a | GyrAB complex |
| $x_{a\sim i}$ | GyrAB-GyrI complex | x_i | GyrI protein |
| x_t | TopA protein | x_o | RpoS protein |
| $x_{o\sim b}$ | RpoS-RssB complex | x_b | RssB protein |
| x_n | Stable RNAs | | |
| Threshold parameters (CRP-cAMP complex) | | | |
| $\theta_{c\sim m}^1$ | regulation of <i>fis</i> , <i>gyrI</i> , and <i>crp</i> expression | $\theta_{c\sim m}^2$ | regulation of <i>cya</i> expression |
| Threshold parameters (Fis protein) | | | |
| θ_f^1 | regulation of <i>crp</i> expression from promoter P2 | θ_f^2 | regulation of <i>crp</i> expression from promoter P1 |
| θ_f^3 | regulation of <i>rrn</i> expression | θ_f^4 | regulation of <i>gyrAB</i> expression |
| θ_f^5 | regulation of <i>topA</i> expression | θ_f^6 | regulation of <i>fis</i> expression |
| Threshold parameters (DNA supercoiling) | | | |
| θ_{sc}^1 | regulation of <i>fis</i> expression | θ_{sc}^2 | regulation of <i>gyrAB</i> expression |
| θ_{sc}^3 | regulation of <i>topA</i> expression | | |
| Threshold parameters (RpoS protein) | | | |
| θ_o | regulation of <i>rssB</i> , <i>gyrI</i> , and <i>topA</i> expression | | |
| Threshold parameters (RssB) | | | |
| θ_b | regulation of <i>rpoS</i> degradation | | |
| Cooperativity numbers | | | |
| $m_{c\sim m}^{1,2}$ | CRP-cAMP | $m_f^{1,\dots,6}$ | Fis protein |
| $m_{sc}^{1,2,3}$ | DNA supercoiling | m_o | RpoS protein |
| (Maximum) synthesis rates | | | |
| κ_y^1 | <i>cya</i> (P1 and P1 promoters) | κ_y^2 | <i>cya</i> (promoter P2) |
| κ_c^1 | <i>crp</i> (promoter P1) | κ_c^2 | <i>crp</i> (derepressed promoter P1) |
| κ_c^3 | <i>crp</i> (promoter P2) | κ_f^1 | <i>fis</i> (promoter P) |
| κ_f^2 | <i>fis</i> (promoter P regulated by DNA supercoiling) | κ_a | <i>gyrAB</i> (promoter P) |
| κ_i | <i>gyrAB</i> (promoter P) | κ_t^1 | <i>topA</i> (promoter P1) |
| κ_t^2 | <i>topA</i> (promoter P5) | κ_o | <i>rpoS</i> (promoters <i>nlpD</i> P1, P2, and <i>rpoS</i> P1) |
| κ_b^1 | <i>rssB</i> (promoter P) | κ_b^2 | <i>rssB</i> (promoter P regulated by RpoS) |
| κ_n^1 | <i>rrn</i> (promoter P1) | κ_n^2 | <i>rrn</i> (promoter P2) |
| Degradation rate constants | | | |
| γ_y | Cya | γ_c | CRP |
| γ_f | Fis | γ_a | GyrAB |
| γ_i | GyrI | γ_t | TopA |
| γ_o | RpoS | γ_b | RssB |
| γ_n | Stable RNAs | | |
| Rate constants for first-order or pseudo-first-order reactions | | | |
| k_2 | cAMP synthesis | k_3 | cAMP export/degradation |
| k_7 | RpoS degradation | k_{-1} | dissociation of Cya-ATP |
| k_{-4} | dissociation of CRP-cAMP | k_{-5} | dissociation of GyrAB-GyrI |
| k_{-6} | dissociation of RpoS-RssB | | |
| Rate constants for second-order reactions | | | |
| k_1 | association of Cya-ATP | k_4 | association of CRP-cAMP |
| k_5 | association of GyrAB-GyrI | k_6 | association of RpoS-RssB |
| Supercoiling parameters | | | |
| SC | level of negative DNA supercoiling | b | empirical parameter |

C.2 Intervals for concentration and parameter values in the carbon starvation response model

| Name | Value | Name | Value |
|---|---|----------------------|--|
| Cellular concentrations (M) | | | |
| x_y | $[10^{-12}, 10^{-8}]$ | $x_{y\sim p}$ | $[10^{-12}, 10^{-8}]$ |
| x_p | $[10^{-8}, 10^{-3}]$ | x_m | $[10^{-8}, 10^{-3}]$ |
| x_c | $[10^{-8}, 4 \cdot 10^{-5}]$ | $x_{c\sim m}$ | $[10^{-8}, 4 \cdot 10^{-5}]$ |
| x_f | $[10^{-8}, 4 \cdot 10^{-5}]$ | x_a | $[10^{-9}, 10^{-6}]$ |
| $x_{a\sim i}$ | $[10^{-9}, 10^{-6}]$ | x_i | $[10^{-8}, 10^{-4}]$ |
| x_t | $[2 \cdot 10^{-8}, 1.6 \cdot 10^{-5}]$ | x_o | $[10^{-9}, 10^{-6}]$ |
| $x_{o\sim b}$ | $[10^{-10}, 10^{-7}]$ | x_b | $[10^{-10}, 10^{-7}]$ |
| x_n | $[10^{-8}, 4 \cdot 10^{-5}]$ | | |
| Supercoiling level (dimensionless) | | | |
| SC | $[0.0158, 0.1259]$ | | |
| Threshold concentrations (M) | | | |
| $\theta_{c\sim m}^1$ | $[4 \cdot 10^{-8}, 1.6 \cdot 10^{-5}]$ | $\theta_{c\sim m}^2$ | $[4 \cdot 10^{-8}, 1.6 \cdot 10^{-5}]$ |
| θ_f^1 | $[4 \cdot 10^{-8}, 1.6 \cdot 10^{-5}]$ | θ_f^2 | $[4 \cdot 10^{-8}, 1.6 \cdot 10^{-5}]$ |
| θ_f^3 | $[4 \cdot 10^{-8}, 1.6 \cdot 10^{-5}]$ | θ_f^4 | $[4 \cdot 10^{-8}, 1.6 \cdot 10^{-5}]$ |
| θ_f^5 | $[4 \cdot 10^{-8}, 1.6 \cdot 10^{-5}]$ | θ_f^6 | $[4 \cdot 10^{-8}, 1.6 \cdot 10^{-5}]$ |
| θ_{sc}^1 | $[0.016, 0.126]$ | θ_{sc}^2 | $[0.016, 0.126]$ |
| θ_{sc}^3 | $[0.016, 0.126]$ | θ_o | $[3.1 \cdot 10^{-9}, 3.1 \cdot 10^{-7}]$ |
| θ_b | $[2.5 \cdot 10^{-10}, 5 \cdot 10^{-9}]$ | | |
| Cooperativity numbers (dimensionless) | | | |
| $m_{c\sim m}^1$ | $[1, 3]$ | $m_{c\sim m}^2$ | $[1, 3]$ |
| m_t^3 | $[1, 3]$ | m_f^4 | $[1, 3]$ |
| m_f^5 | $[1, 3]$ | m_f^6 | $[1, 3]$ |
| m_t^7 | $[1, 3]$ | m_o^8 | $[1, 3]$ |
| m_{sc}^1 | $[1, 6]$ | m_{sc}^2 | $[1, 6]$ |
| m_{sc}^3 | $[1, 6]$ | m_o | $[1, 3]$ |
| m_b | $[1, 3]$ | | |
| (Maximum) synthesis rates ($M^{-1} \cdot s^{-1}$) | | | |
| κ_y^1 | $[3.2 \cdot 10^{-14}, 10^{-7}]$ | κ_y^2 | $[3.2 \cdot 10^{-14}, 10^{-7}]$ |
| κ_c^1 | $[10^{-11}, 2.5 \cdot 10^{-4}]$ | κ_c^2 | $[10^{-11}, 2.5 \cdot 10^{-4}]$ |
| κ_c^3 | $[10^{-11}, 2.5 \cdot 10^{-4}]$ | κ_f^1 | $[10^{-11}, 2.5 \cdot 10^{-4}]$ |
| κ_f^2 | $[10^{-11}, 2.5 \cdot 10^{-4}]$ | κ_f^2 | $[10^{-11}, 2.5 \cdot 10^{-4}]$ |
| κ_i^1 | $[10^{-11}, 2.5 \cdot 10^{-4}]$ | κ_a | $[10^{-11}, 2.5 \cdot 10^{-4}]$ |
| κ_t^1 | $[10^{-11}, 2.5 \cdot 10^{-4}]$ | κ_t^1 | $[10^{-11}, 2.5 \cdot 10^{-4}]$ |
| κ_t^2 | $[10^{-11}, 2.5 \cdot 10^{-4}]$ | κ_o | $[10^{-11}, 2.5 \cdot 10^{-4}]$ |
| κ_t^3 | $[10^{-11}, 2.5 \cdot 10^{-4}]$ | κ_o^2 | $[10^{-11}, 2.5 \cdot 10^{-4}]$ |
| κ_n^1 | $[10^{-11}, 2.5 \cdot 10^{-4}]$ | κ_n^2 | $[10^{-11}, 2.5 \cdot 10^{-4}]$ |
| Degradation rate constants (s^{-1}) | | | |
| γ_y | $[4 \cdot 10^{-4}, 6 \cdot 10^{-2}]$ | γ_c | $[4 \cdot 10^{-4}, 6 \cdot 10^{-2}]$ |
| γ_f | $[4 \cdot 10^{-4}, 6 \cdot 10^{-2}]$ | γ_a | $[4 \cdot 10^{-4}, 6 \cdot 10^{-2}]$ |
| γ_i | $[4 \cdot 10^{-4}, 6 \cdot 10^{-2}]$ | γ_t | $[4 \cdot 10^{-4}, 6 \cdot 10^{-2}]$ |
| γ_o | $[4 \cdot 10^{-4}, 6 \cdot 10^{-2}]$ | γ_b | $[4 \cdot 10^{-4}, 6 \cdot 10^{-2}]$ |
| γ_n | $[4 \cdot 10^{-4}, 6 \cdot 10^{-2}]$ | | |
| Rate constants for first-order or pseudo-first-order reactions (s^{-1}) | | | |
| k_2 | $[1, 316]$ | k_3 | $[1, 1000]$ |
| k_7 | $[0.63, 10]$ | k_{-1} | $[0.63, 10]$ |
| k_{-4} | $[0.63, 10]$ | k_{-5} | $[0.63, 10]$ |
| k_{-6} | $[0.63, 10]$ | | |
| Rate constants for second-order reactions ($M^{-1} \cdot s^{-1}$) | | | |
| k_1 | $[10^3, 10^{11}]$ | k_4 | $[10^3, 10^{11}]$ |
| k_5 | $[1.6 \cdot 10^4, 10^8]$ | k_6 | $[10^3, 10^{11}]$ |
| Empirical constant (dimensionless) | | | |
| b | $[0.016, 0.126]$ | | |

Annexe D

Supplementary material for : Oscillations induced by different timescales in signal transduction modules regulated by slowly evolving protein-protein interactions

D.1 Parameter estimates

D.1.1 Bistability

To obtain analytic explicit expressions for the “high” and “low” steady states of the system

$$\dot{x} = \Phi(x) - \gamma_0 x = \left(k_1(w_0 + u) + V_1 \frac{x^n}{x^n + \theta_1^n} \right) (1 - x) - \gamma_0 x, \quad (\text{D.1})$$

the function Φ in (D.1) is approximated as follows :

$$\Phi(x) \approx \begin{cases} \Phi_l(x) = \Phi_0(1 - x), & x < (1 - \Delta)\theta_1 \\ \Phi_m(x) = \left(\Phi_0 + \frac{V_1}{2\Delta\theta_1} (x - (1 - \Delta)\theta_1) \right) (1 - x), & (1 - \Delta)\theta_1 \leq x \leq (1 + \Delta)\theta_1 \\ \Phi_r(x) = (\Phi_0 + V_1)(1 - x), & x > (1 + \Delta)\theta_1, \end{cases} \quad (\text{D.2})$$

where $\Delta = 2/n$ and $\Phi_0 = k_1(w_0 + u)$. Using this approximation, the steady states of the system as functions of the input u can be obtained by finding the solutions to :

$$\Phi_l(x) = \gamma_0 x, \quad \Phi_m(x) = \gamma_0 x, \quad \text{or} \quad \Phi_r(x) = \gamma_0 x.$$

The “low” steady state is always given by the intersection of the line $\gamma_0 x$ with the left branch $\Phi_l(x)$. The “high” steady state can be given by intersection of the line $\gamma_0 x$ with either the middle or the right branch, depending on the parameters. The two cases are illustrated in Fig. D.1, blue and red lines.

To determine the beginning and end points of the bistability interval, $[u_{\min}, u_{\max}]$, note that the u_{\max} is found by the last intersection possible between $\Phi_l(x)$ and $\gamma_0 x$. There are two possible cases

for u_{\min} , shown in Fig. D.1, depending on which branch intersects the line $\gamma_0 x$ first, as u decreases from large values. Thus

$$\begin{aligned} u = u_{\max} &\Rightarrow \bar{x}_{\text{low}}(u_{\max}) = (1 - \Delta)\theta_1 \\ u = u_{\min} &\Rightarrow \bar{x}_{\text{high}}(u_{\min}) = \beta \end{aligned}$$

where

$$\beta = \begin{cases} (1 + \Delta)\theta_1, & \text{if } \Phi_r(\beta; u_{\min}) - \gamma_0\beta = 0 \text{ (Fig. D.1, right)} \\ -\frac{1}{2}\frac{c_1}{c_2}, & \text{if } \Phi_m(\beta; u_{\min}) - \gamma_0\beta = 0 \text{ (Fig. D.1, left)} \end{cases}$$

with

$$\begin{aligned} c_0 &= w_0 + u - \frac{1}{2\Delta\theta_1} \frac{V_1}{k_1} (1 - \Delta)\theta_1, \\ c_1 &= \frac{1}{2\Delta\theta_1} \frac{V_1}{k_1} (1 + (1 - \Delta)\theta_1) - \left(w_0 + u + \frac{\gamma_0}{k_1} \right), \\ c_2 &= -\frac{1}{2\Delta\theta_1} \frac{V_1}{k_1}. \end{aligned}$$

For the optimal set of parameters, the function $\Phi(x; u)$ is of the form seen at left in Fig. D.1. [h]

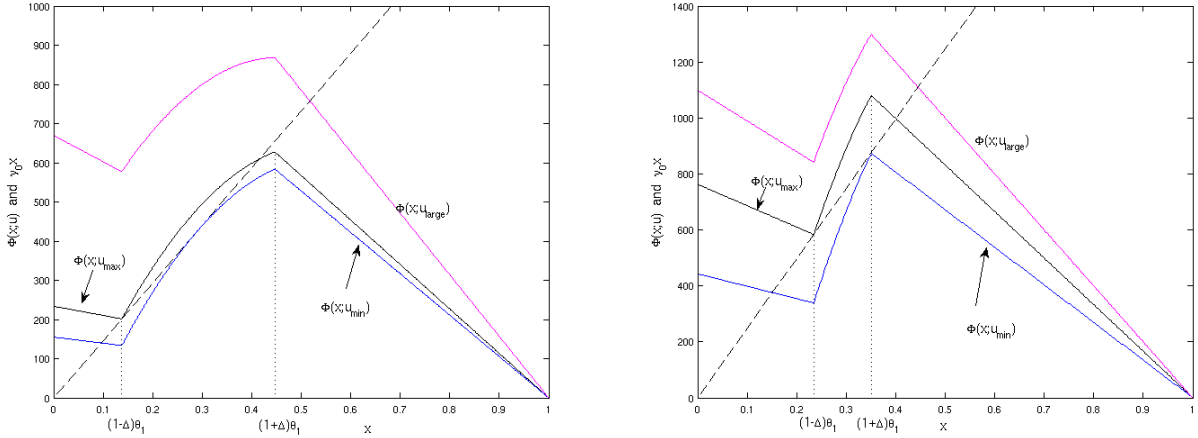


FIG. D.1 – The two possible cases for calculating the expressions of the bistability interval, $[u_{\min}, u_{\max}]$. The value of u_{\max} is always obtained from $\Phi_l((1 - \Delta)\theta_1; u_{\max}) = \gamma_0(1 - \Delta)\theta_1$ (black lines). A very large value of u lead to the existence of a unique steady state defined by the intersection with the right branch $\Phi_r(\bar{x}_{\text{high}}; u_{\text{large}}) = \gamma_0\bar{x}_{\text{high}}$ (red lines). Left : u_{\min} is obtained from $\Phi_m(\beta; u_{\min}) = \gamma_0\beta$, where β is such that the two roots of this quadratic expression are equal (see explicit expression in the Appendix of the article). Right : u_{\min} is obtained from $\Phi_r((1 + \Delta)\theta_1; u_{\min}) = \gamma_0(1 + \Delta)\theta_1$ (blue line). The parameters used in each case were : $V_1/k_1 = 901$, $w_0 = 88.5$, $\theta_1 = 0.29$, and on the left $\gamma_0/k_1 = 1466$, $\Delta = 0.5$, while on the right $\gamma_0/k_1 = 2492$, $\Delta = 0.2$.

Since we assume that $n = 4$ is fixed from the start (to simplify the estimation algorithm), the vector of parameters is :

$$p(1) = \frac{V_1}{k_1}, \quad p(2) = \theta_1, \quad p(3) = \frac{\gamma_0}{k_1}, \quad p(4) = w_0.$$

The function to minimize is

$$J(p) = 10 \sum_{i=\min, \max} \left| \frac{u_i - u_{obs,i}}{u_{obs,i}} \right|^2 + \sum_{u \in U} \left| \frac{\frac{\bar{x}(u)}{\bar{x}_{\text{high}}(100)} - \frac{w_u}{w_{100}^*}}{\frac{w_u}{w_{100}^*}} \right|^2$$

where $U = [0, 25, 40, 45, 50, 60, 75]$, w_u , $u_{obs, \min} = 42.5$, $u_{obs, \max} = 72.5$ denote the data points, $w_{100}^* = 160$, and $\bar{x}(u)$ denotes the corresponding “low” or “high” steady state expression. The factor 10 multiplying the first sum aims to increase the weight of the error related to the bistability region, since this was a very important part of the modelling. The computation of the cost $J(p)$ includes an algorithm to verify which of the forms of $\bar{x}_{\text{high}}(u)$ is the correct one.

To solve the optimization problem, we followed a Monte Carlo approach by randomly choosing 1000 initial conditions in the 4-dimensional set G , and optimizing the cost J with the Matlab function `lsqnonlin`. Numerical experiments showed that values of $\frac{V_1}{k_1}$, $\frac{\gamma_0}{k_1}$ lower than 100 yielded very high costs, and similarly for w_0 larger than 100. Recall that θ_1 is normalized to 1. Therefore we considered :

$$G = \left\{ p : \frac{V_1}{k_1}, \frac{\gamma_0}{k_1} \in [100, 2000], \theta_1 \in [0.1, 0.9], w_0 \in [1, 100] \right\}. \quad (\text{D.3})$$

The parameter set p^* corresponding to the lower final cost was chosen as best fit. It satisfies :

$$p^*(1) = 430.86, \quad p^*(2) = 0.2752, \quad p^*(4) = 843.42, \quad p^*(5) = 61.98,$$

$$J(p^*) = 0.9872.$$

The sets of parameters satisfying to $J(p) \leq 0.99$ are shown in Fig. D.2. They correspond to the 6% lower costs :

$$P = \{p \in G : J(p) \leq 1.06J(p^*)\}.$$

Note that, for all $p \in P$, each parameter $p(i)$ falls on a reasonably small subinterval of its initial interval in G , with $V_1/k_1 \in [420, 445]$, $\gamma_0/k_1 \in [800, 900]$, $\theta_1 \in [0.27, 0.28]$, and $w_0 \in [58, 68]$.

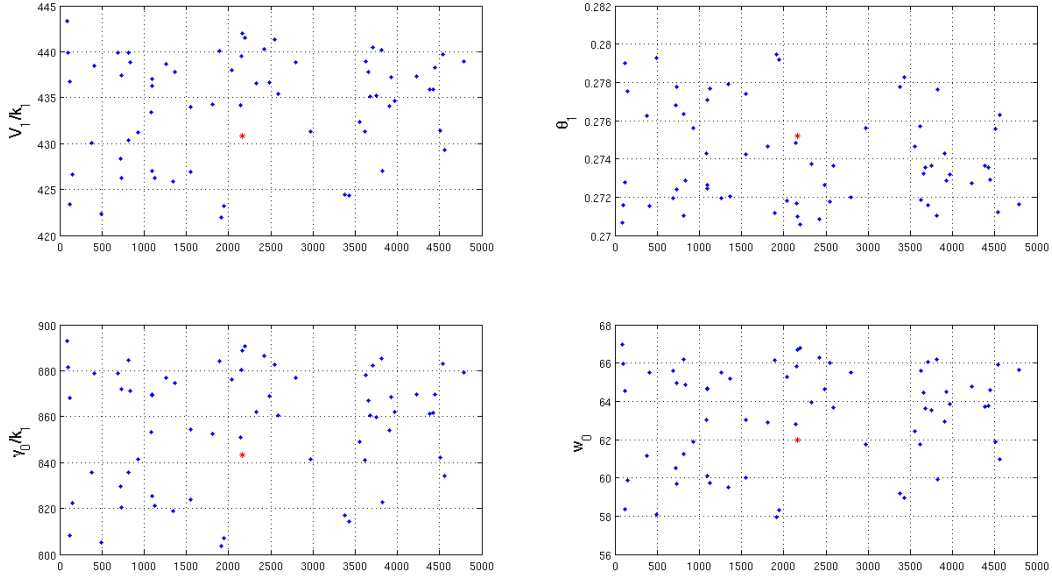


FIG. D.2 – Sets of parameters satisfying $J(p) \leq 0.99$ (the top 6% best parameters). The optimal parameter is represented by the red star.

To access the quality of the parameter estimation, a classical method is the covariance matrix. For linear models this matrix provides the basis for computation of confidence intervals and correlation values [14]. However, our model is highly nonlinear and, in addition, involves some discontinuities in the functions to be fitted. For our case, the covariance matrix was ill-conditioned, and no useful confidence intervals could be deduced. Therefore, we used another classical method to compute a local *confidence region* for the parameters [14]. A $100(1 - \alpha)\%$ confidence region is given by :

$$P_{cr} = \{p : J(p) \leq J_{cr}\},$$

with

$$J_{cr} = J(p^*) \left(1 + \frac{N_p}{N_{data} - N_p} F(1 - \alpha; N_p, N_{data} - N_p) \right)$$

where $N_p = 5$ is the number of parameters, $N_{data} = 16$ is the number of data points and $F(1 - \alpha; N_p, N_{data} - N_p)$ is the value at $1 - \alpha$ of the F -distribution with N_p and $N_{data} - N_p$ degrees of freedom. The diameter of this region can be computed by letting only one parameter vary at a time, as in a sensibility analysis (see Fig. D.3). For $\alpha = 0.05$, the confidence region P_{cr} consists of the points p such that $J(p) \leq 1.22$. The approximate diameter of the 95% confidence region is given by :

| Parameter | Diameter of 95% conf. region |
|-----------|------------------------------|
| $p(1)$ | [426.77, 434.95] |
| $p(2)$ | [0.2740, 0.2764] |
| $p(3)$ | [838.36, 848.48] |
| $p(4)$ | [60.28, 63.75] |

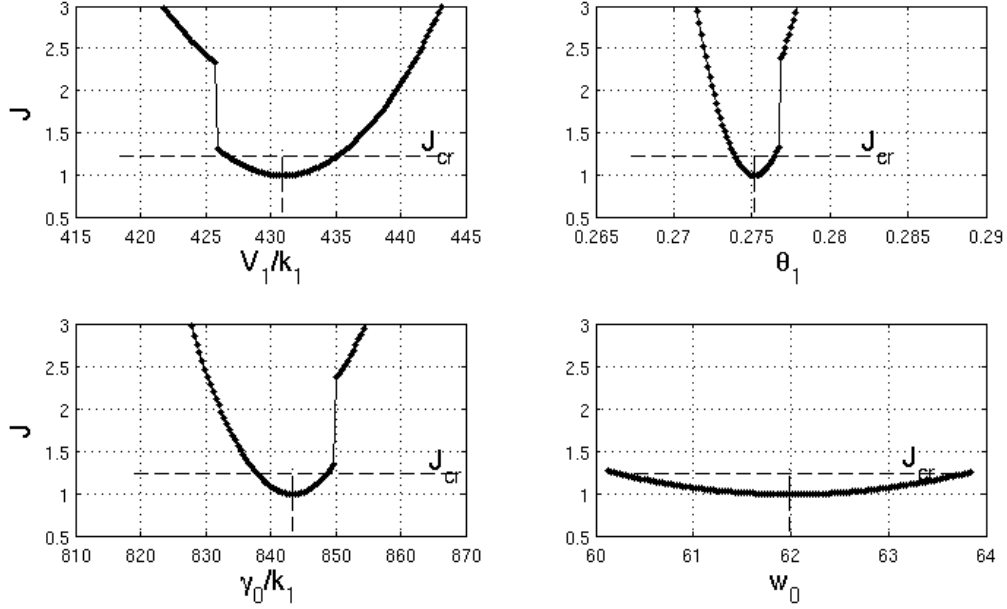


FIG. D.3 – Estimating the diameter of a 95% confidence region (bistability data).

D.1.2 Oscillations

Using the time series data the following parameters were estimated :

$$p_o(1) = \gamma_1, p_o(2) = a_1, p_o(3) = \theta_2, p_o(4) = \frac{V_2}{\gamma_2}, p_o(5) = \gamma_2, p_o(6) = k_1, p_o(7) = w_0.$$

The cost function to be minimized was

$$J_o(p(1), \dots, p(7)) = 5J_x + J_y,$$

where a larger weight was assigned to J_x because preliminary experiments showed that typically $J_x < J_y$.

$$J_x(p) = \sum_{t \in T} \left| \frac{x(t)}{\max_{t \in T} x(t)} - \frac{W^c(t)}{\max_{t \in T} W^c(t)} \right|^2 / \left| \frac{W^c(t)}{\max_{t \in T} W^c(t)} \right|^2$$

$$J_y(p) = \sum_{t \in T} \left| \frac{1/y(t)}{\max_{t \in T} 1/y(t)} - \frac{W^B(t)}{\max_{t \in T} W^B(t)} \right|^2 / \left| \frac{W^B(t)}{\max_{t \in T} W^B(t)} \right|^2$$

where $t \in \{22, 24, \dots, 94\}$ (the data points used here start at $t = 22$, and are spaced 2mins apart), $W^c(t)$ denotes the concentration of cdc2-cyclin B, and $W^B(t)$ that of cyclin B.

As above, a Monte Carlo approach was used to find a good initial guess. The cost J_o was evaluated at randomly chosen points in the set G_o (some preliminary tests were performed to avoid

a too large G_o) :

$$G_o = \left\{ p : \begin{array}{l} w_0 \in [1, 30], k_1 \in [10^{-4}, 10^{-3}], a_1 \in [0.8, 10], \gamma_1 \in [0.1, 1], \\ \frac{V_2}{\gamma_2} \in [2, 10], \theta_2 \in [0.5\theta_1, \theta_1], \gamma_2 \in [0.01, 0.1] \end{array} \right\}$$

The initial conditions corresponding to the 1% lower costs were used to find an optimal set of parameters with the Matlab function `fminsearch`. The best fit parameter set is

$$\begin{aligned} p_o^*(1) &= 0.358, p_o^*(2) = 1.504, p_o^*(3) = 0.269, p_o^*(4) = 9.438, \\ p_o^*(5) &= 0.0266, p_o^*(6) = 3.769 \times 10^{-4}, p_o^*(7) = 19.72, \end{aligned}$$

with $J(p_o^*) = 52$. The covariance matrix (V) and confidence intervals for these parameters were then computed with `nlinfit` and `nlparci`, built-in functions in the Matlab Statistics toolbox. V is :

$$\begin{bmatrix} 2.06 \times 10^{-3} & 3.21 \times 10^{-3} & 0.98 \times 10^{-3} & 10.5 \times 10^{-3} & 0.06 \times 10^{-3} & 4.81 \times 10^{-8} & -0.053 \\ 3.21 \times 10^{-3} & 10.90 \times 10^{-3} & 1.95 \times 10^{-3} & -7.83 \times 10^{-3} & 0.26 \times 10^{-3} & -5.22 \times 10^{-8} & -0.187 \\ 0.98 \times 10^{-3} & 1.95 \times 10^{-3} & 0.52 \times 10^{-3} & 3.31 \times 10^{-3} & 0.04 \times 10^{-3} & 1.40 \times 10^{-8} & -0.032 \\ 10.5 \times 10^{-3} & -7.83 \times 10^{-3} & 3.31 \times 10^{-3} & 153.4 \times 10^{-3} & -0.38 \times 10^{-3} & 76.9 \times 10^{-8} & 0.163 \\ 0.06 \times 10^{-3} & 0.26 \times 10^{-3} & 0.04 \times 10^{-3} & -0.38 \times 10^{-3} & 0.006 \times 10^{-3} & -0.22 \times 10^{-8} & -0.005 \\ 4.81 \times 10^{-8} & -5.22 \times 10^{-8} & 1.40 \times 10^{-8} & 76.9 \times 10^{-8} & -0.22 \times 10^{-8} & 3.88 \times 10^{-12} & 103.5 \times 10^{-8} \\ -0.053 & -0.187 & -0.032 & 0.163 & -0.005 & 103.5 \times 10^{-8} & 3.24 \end{bmatrix}$$

| Parameter | 95% conf. interval | 75% conf. interval |
|-----------|--|--|
| $p_o(1)$ | [0.27, 0.44] | [0.31, 0.41] |
| $p_o(2)$ | [1.28, 1.70] | [1.37, 1.61] |
| $p_o(3)$ | [0.225, 0.315] | [0.244, 0.296] |
| $p_o(4)$ | [8.66, 10.22] | [8.98, 9.89] |
| $p_o(5)$ | [0.022, 0.032] | [0.024, 0.030] |
| $p_o(6)$ | $[3.73 \times 10^{-4}, 3.80 \times 10^{-4}]$ | $[3.75 \times 10^{-4}, 3.79 \times 10^{-4}]$ |
| $p_o(7)$ | [16.20, 23.37] | [17.70, 21.87] |

The error for $V_2 = \left[\frac{V_2}{\gamma_2} \right] \gamma_2 = p_o(4) \cdot p_o(5)$ was computed by error propagation :

$$dV_2 = dp_o(4) \cdot p_o(5) + p_o(4) \cdot dp_o(5).$$

A similar formula was used to compute the error for $V_1 = p(1) \cdot p_o(6)$. Finally, for the optimal set of parameters, sensibility analysis was also performed by varying one parameter at a time, as shown in Fig. D.4.

D.2 Period Estimates

As the difference between timescales becomes more marked, the sum $T_1 + T_2$ will provide better estimates, and their sum gives a reasonable estimate of the full cycle period. For instance, for the parameter set :

$$\begin{aligned} n &= 3, m = 20, w_0 = a_1 = 1, k_1 = 0.1, V_1 = 2, V_2 = 0.1, \\ \gamma_1 &= 0.14, \gamma_2 = 0.003, \theta_1 = 0.25, \theta_2 = 0.2, \end{aligned} \tag{D.4}$$

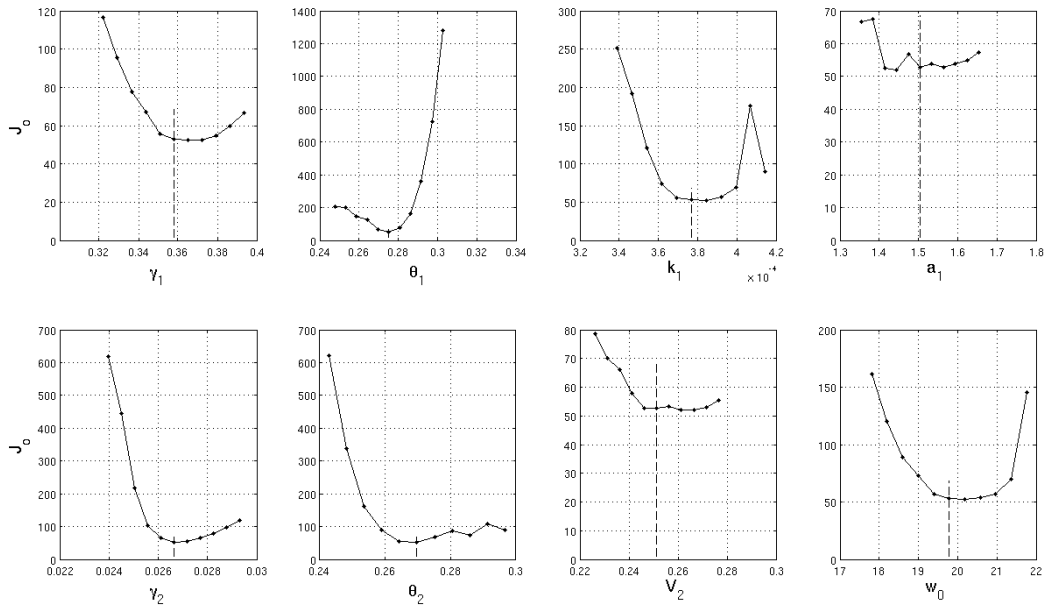


FIG. D.4 – Sensitivity of the cost function J_o with respect to each of the final parameters. Each parameter was varied between 90% and 110% of its original value (only one parameter is varied at a time).

the ratio $(T_1+T_2)/\text{Period} \approx 404.6/434.3 = 0.93$, i.e., an error of 7%, as opposed to $(T_1+T_2)/\text{Period} \approx 27.55/79.76 = 0.3$, an error of 66% for the optimized parameter set (see also Fig. D.5).

The quality of the $T_1 + T_2$ estimate depends on how well the values $f_0(x_B) = f_0((1 - \Delta)\theta_1)$ and $f_0(x_A) = f_0(\theta_1)$ approximate the actual value of y as x jumps between low and high levels ;

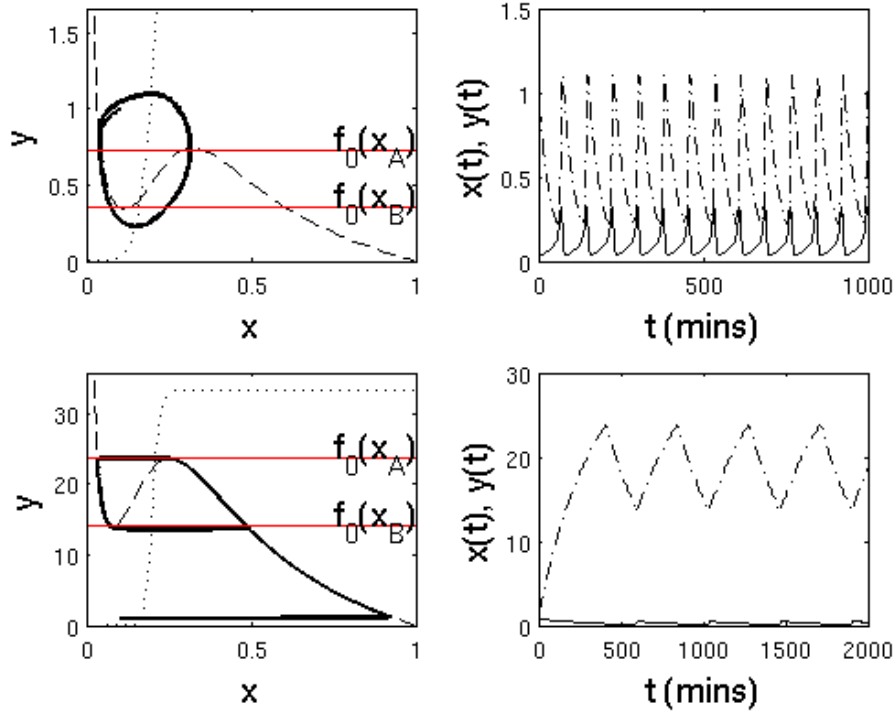


FIG. D.5 – Periodic orbit and trajectories for system, with parameters as in Table 2 (top row), or with the parameters listed above (bottom row), which enhance the difference between timescales.

Méthodes d'analyse de modèles de régulation cellulaire

L'objet de cette thèse est de proposer des méthodes originales d'étude et de réduction de modèles métabolico-génétiques. Les systèmes considérés sont constitués d'une partie génétique (réseau de gènes) et d'une partie métabolique couplée au réseau génétique. Ils sont décrits par des équations différentielles. Ces méthodes utilisent le graphe d'interaction du système, la monotonie des interactions, la réduction par différence d'échelles de temps et l'étude des modèles hybrides et linéaires par morceaux. Nous donnons dans la première partie quelques notions biologiques concernant le principe de la régulation cellulaire et des préalables pour la modélisation de réseaux de régulation cellulaire. Dans la deuxième partie, nous présentons les différentes méthodes mises en place. En premier, nous exposons une méthode basée sur la hiérarchisation et qui permet de décomposer un modèle complexe en composantes fortement connexes. Nous nous sommes ensuite intéressés à l'unicité et à la stabilité de l'équilibre de modèles métaboliques réversibles. Nous prouvons que s'il existe, l'équilibre est globalement asymptotiquement stable. Troisièmement, nous avons appliqué des méthodes d'étude de systèmes couplés basées sur des techniques de systèmes monotones à un petit exemple de modèle métabolico-génétique. L'identification paramétrique et la réduction de modèle basée sur la différence d'échelles de temps sont traitées dans le chapitre suivant. Nous terminons par un modèle composé de 14 variables qui nous est fourni par l'équipe Ibis de l'INRIA Grenoble auquel nous appliquons quelques unes de ces méthodes ; nous sommes en mesure de l'étudier dans son intégralité.

Methods for analysis of models of cellular regulation

The purpose of this thesis is to propose original methods of study and reduction of metabolic and genetic models. The considered systems consist of one genetic part (gene network) and one metabolic part coupled with the genetic network. They are described by differential equations. These methods use the interaction graph of the system, the monotony of the interactions, reduction using the timescale order of magnitude and study of hybrid and piecewise linear models. We give in the first part some notions about the biological principles of cellular regulation and for the modeling of cellular regulatory networks. In the second part, we present the different methods we have implemented. First, we outline a method based on the hierarchisation, which allows to decompose a complex model in strongly connected components. We further discuss the uniqueness and stability of the equilibrium of reversible metabolic models. We prove that if exists, the equilibrium is globally asymptotically stable. Third, we apply methods based on monotony theory to study complex systems ; we give one small example of metabolic and genetic models. Parameter identification and model reduction based upon the difference of time scales are discussed in the next chapter. We conclude with a model composed of 14 variables provided by the Ibis team of INRIA Grenoble ; we apply some of these methods, and are able to study the full model.