

*Les documents sont autorisés ;
ordinateurs, téléphones portables et autres moyens de communication sont interdits.*

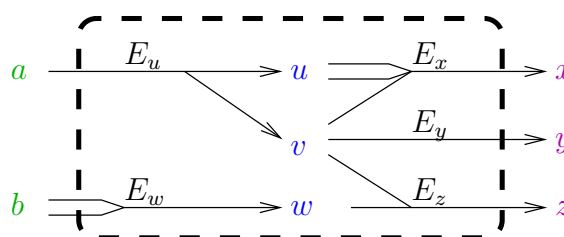
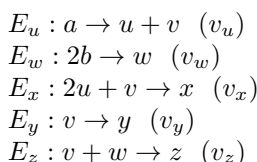
Cet énoncé contient 2 parties.

Rédigez sur **feuilles séparées chacune des parties.**

1 Modélisation en biologie synthétique : FBA et HSIM

La startup *VertBio*, soucieuse de l'environnement, souhaite produire deux molécules, que nous appellerons x et z , sans pollution chimique. Elle a isolé une souche bactérienne « presque parfaite » qui possède une bonne croissance *in vitro*, des substrats entrants a et b peu coûteux, et fournit trois substrats en sortie : x , y et z . Les voies métaboliques concernées de cette souche sauvage *Fere perfectum* sont les suivantes :

F. perfectum sauvage :



Le premier objectif est d'évaluer les vitesses des réactions enzymatiques ci-dessus pour optimiser la production de x et z . Pour ce faire, les exercices suivants développent la méthode *Flux Balance Analysis* (FBA).

Exercice 1 : Construisez la matrice de stœchiométrie.

Exercice 2 : Écrivez les contraintes d'état d'équilibre sur les vitesses qui rendent constantes les quantités de métabolites *internes*. Ensuite simplifiez-les pour exprimer les autres vitesses en fonction des vitesses des *réactions de sortie utiles* pour *VertBio*.

Exercice 3 : *VertBio* a besoin d'exactly autant de molécules x que de molécules z . Indiquez quels poids sur les réactions on doit choisir pour modéliser ce besoin et écrivez l'expression que l'on doit par conséquent optimiser (i.e. maximiser).

Exercice 4 : Donnez le jeu de vitesses qui optimise la production souhaitée en sachant que les réactions considérées sont non réversibles et que $v_u \leq 30$, $v_w \leq 15$, $v_x \leq 20$, $v_y \leq 5$ et $v_z \leq 8$.

Exercice 5 : On constate dans l'exercice précédent que l'optimisation à partir de la souche *Fere perfectum* sauvage produirait un excédent de x (puisque l'on veut autant de x que de z) et le sous-produit y arrive en plus. Il s'avère qu'aucune utilisation rentable de y n'existe actuellement et qu'il en est de même du surplus de x .

Une idée naturelle est de faire un KO du gène produisant l'enzyme E_y . Cela neutralise la catalyse de y . Quelles sont alors les vitesses qui optimisent la production souhaitée, et produit-on du x ou du z en excès ?

La suite logique avant d'effectuer réellement cette manipulation génétique sur *F. perfectum* est d'effectuer des simulations avec HSIM pour vérifier partiellement nos hypothèses. Faute de temps, on va se contenter ici de modéliser deux des catalyses concernées : celles de E_u et E_w . On ne gèrera pas ici les déclarations initiales, ni les vitesses de diffusion, ni les initialisations.

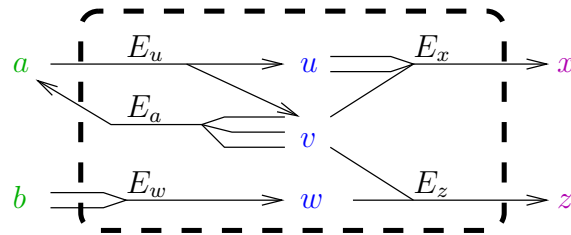
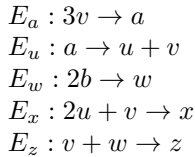
Exercice 6 : Écrivez les déclarations `maxlinks` de HSIM pour les métabolites et enzymes a , u , v , E_u , b , w et E_w , en ne prenant en compte que les liens nécessaires aux catalyses effectuées par E_u et E_w . (Vérifiez par la suite que vos déclarations sont en accord avec votre solution de l'exercice suivant.)

Exercice 7 : Écrivez en HSIM les règles qui modélisent l'action de E_u puis celles qui modélisent l'action de E_w . Pour ces deux catalyses, on veut représenter explicitement la fixation des substrats sur l'enzyme, la transformation des substrats en produits puis le relargage des produits. Pour optimiser les simulations, on donnera une probabilité de 1 à la catalyse ayant la vitesse la plus rapide.

2 Modélisation en biologie synthétique : réseaux de Petri

Après avoir effectué expérimentalement le KO du gène de E_y , et malgré les simulations effectuées préalablement, *VertBio* constate qu'un enzyme imprévu E_a devient fonctionnel à la suite de la non consommation de v par E_y , et cela modifie le réseau métabolique comme suit :

F.perfectum modifiée :



On décide cette fois de modéliser le réseau métabolique par *réseau de Petri*.

Exercice 8 :

- Tracez le réseau de Petri représentant les connaissances précédentes. On ne représentera pas de manière explicite les enzymes et les noms des réactions seront les noms des enzymes associées.
- On s'intéresse maintenant à la représentation de la dynamique de ce réseaux de Petri lorsque le marquage initial ne contient que 2 molécules de a et 2 molécules de b . Construisez le graphe de marquage.

Exercice 9 : Construisez la matrice d'incidence. N'oubliez pas d'indiquer votre choix pour l'ordre des colonnes et l'ordre des lignes.

Exercice 10 : On s'intéresse maintenant aux invariants de places. Un premier P-invariant se trouve facilement en cherchant un invariant contenant z et w ; un second contient x . Interprétez en terme de conservation de la matière, l'un de ces deux P-invariants. Montrez qu'il n'y a pas d'autres P-invariants en construisant une matrice obtenue par combinaison linéaire des lignes de la matrice d'incidence (à coefficients positifs) dont les deux dernières lignes sont nulles et dont la partie supérieure (sans ces 2 lignes nulles) est triangulaire supérieure.

Exercice 11 : Existe-t-il des invariants de transitions? Justifiez votre réponse.

Exercice 12 : En reprenant l'initialisation de la seconde question de l'exercice 8 (2 molécules de a et 2 molécules de b), écrire la formule CTL qui exprime qu'à partir de ce marquage, il existe un chemin le long duquel z est constamment absent.

Remarque : On considèrera que les atomes de la logique CTL sont de la forme : « *metabolite* = k », « *metabolite* $\leq k$ », « *metabolite* $\geq k$ », où *metabolite* $\in \{a, b, u, v, w, x, z\}$ et $k \in \mathbb{N}$.

Exercice 13 : Montrez que la formule est fausse.