

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

Cet énoncé contient 2 parties.

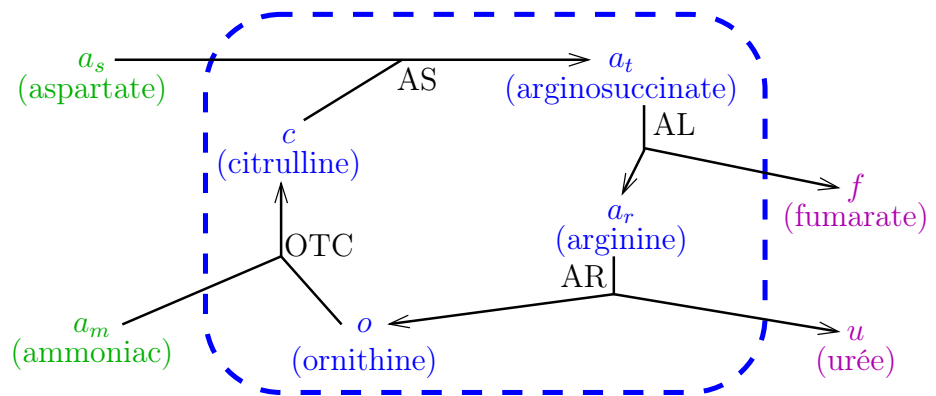
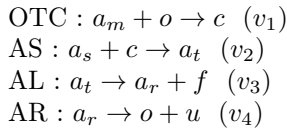
Rédigez sur **feuilles séparées chacune des parties.**

## 1 Modélisation avec FBA et HSIM

On se propose ici d'appliquer le cours sur FBA puis HSIM au cycle de l'urée, que l'on va simplifier pour rendre les calculs très faciles. Le cycle de l'urée a pour fonction principale de consommer l'ammoniac (noté  $a_m$  ci-dessous). Nous supposons que les molécules d'ATP, de dioxyde de carbone et d'eau sont en abondance, et les laisserons implicites. De plus nous n'allons modéliser que les flux cytoplasmiques et condenser en une seule étape le travail mitochondrial en considérant que l'ornithine transcarbamylase (notée OTC) catalyse directement la citrulline (notée  $c$ ) à partir de l'ammoniac et l'ornithine (notée  $o$ ). Ensuite l'arginosuccinate synthase (AS) permet de produire l'arginosuccinate ( $a_t$ ) à partir de la citrulline et d'aspartate ( $a_s$ ). Puis l'arginosuccinate est convertie en arginine ( $a_r$ ) et en fumarate ( $f$ ) par l'arginosuccinate lyase (AL). Enfin l'arginase (AR) catalyse la production d'ornithine et d'urée ( $u$ ) à partir de l'arginine.

Au bilan, le cycle de l'urée consomme de l'ammoniac et de l'aspartate, et produit du fumarate et de l'urée.

Cycle de l'urée simplifié :



Le premier objectif est d'évaluer les vitesses des réactions enzymatiques  $v_1$  à  $v_4$  ci-dessus pour maximiser la *consommation* de l'ammoniac  $a_m$ . Pour ce faire, les exercices suivants développent la méthode *Flux Balance Analysis* (FBA).

**Exercice 1 :** Pour simplifier les calculs, on suppose ici que tous les coefficients de stœchiométrie valent 1, comme représenté dans les règles ci-dessus. Construisez la matrice de stœchiométrie correspondante en respectant l'ordre  $a_m, a_s, c, a_t, a_r, o, f, u$  et OTC, AS, AL, AR.

**Exercice 2 :** Écrivez les contraintes d'état d'équilibre sur les vitesses qui rendent constantes les quantités de métabolites internes. Expliquez pourquoi, selon vous, on obtient un résultat remarquable.

**Exercice 3 :** Si l'on admet que le cycle de l'urée est optimisé pour se débarrasser de l'ammoniac, quels poids sur les réactions doit-on choisir pour formaliser cette connaissance et quelle expression sur les vitesses doit-on maximiser ?

**Exercice 4 :** Donnez le jeu de vitesses qui optimise la consommation d'ammoniac en admettant que les réactions considérées sont non réversibles et que  $v_1 \leq 10, v_2 \leq 10, v_3 \leq 5$  et  $v_4 \leq 8$ .

**Exercice 5 :** Plus généralement, si les vitesses maximales des vitesses  $v_1$  à  $v_4$  sont respectivement  $m_1$  à  $m_4$ , comment calculer les vitesses optimales pour la consommation d'ammoniac ?

On souhaite maintenant simuler notre modèle du cycle de l'urée avec HSIM. Faute de temps, on ne gèrera pas ici les déclarations initiales, ni les vitesses de diffusion, ni les initialisations, ni les probabilités d'application des règles. On suppose donc entre autres déjà déclarées les molécules OTC, AS, AL, AR,  $a_m, a_s, c, a_t, a_r, o, f$  et  $u$ , et leurs vitesses de diffusion.

**Exercice 6 :** Écrivez en HSIM les règles qui modélisent les actions de OTC et de AS (sans les probabilités d'application). Dans les deux cas, on supposera que la fixation des molécules internes ( $o$  et  $c$ ) est nécessaire pour la fixation des molécules externes ( $a_m$  et  $a_s$ ).

**Exercice 7 :** Écrivez de même les règles qui modélisent les actions de AL et AR.

**Exercice 8 :** Écrivez les déclarations `maxlinks` de HSIM pour que les règles des exercices précédents concernant les catalyses de OTC et AL puissent s'appliquer. Indiquer ensuite rapidement comment on construirait les déclarations `maxlinks` pour les catalyses effectuées par AS et AR.

**Exercice 9 :** Une modélisation du cycle de l'urée par automate cellulaire synchrone serait-elle judicieuse ? Pourquoi ?

## 2 Modélisation par réseau de Petri

On décide cette fois de modéliser ce réseau métabolique de l'urée par *réseau de Petri*.

Pour les raisons d'abstraction expliquées plus haut, la stoechiométrie des réactions n'a pas été prise en compte, et nous allons encore plus simplifier le système en considérant que les deux dernières réactions (AL et AR) sont indissociables : on les remplacera par une unique réaction *abstraite*  $ALA : a_t \rightarrow f_u + o$  où  $f_u$  représente une molécule de fumarate et une molécule d'urée.

Enfin, nous allons considérer que l'environnement s'occupe de l'excrétion simultanée d'une molécule de *fumarate* et d'une molécule d'*urée* (abstraites toutes les deux en une seule place  $f_u$ ), et qu'en même temps, il ajoute une molécule d'ammoniac et une molécule d'aspartate dans le système  $ENV : f_u \rightarrow a_m + a_s$ .

**Exercice 10 :** Tracez le réseau de Petri représentant les connaissances précédentes, prenant en compte les 4 réactions OTC, AS, *ALA* et *ENV*. On ne représentera pas de manière explicite les enzymes et les noms des transitions seront les noms des enzymes ou des transformations abstraites associées.

**Exercice 11 :** On s'intéresse maintenant à la représentation de la dynamique de ce réseau de Petri lorsque le marquage initial ne contient que 2 molécules d'*ammoniac*, 2 molécules d'*aspartate* et 1 molécule de *ornithine*. Construisez le graphe de marquage.

**Exercice 12 :** Construisez la matrice d'incidence en respectant l'ordre  $a_m, a_s, c, a_t, o, f_u$  et OTC, AS, *ALA*, *ENV*.

**Exercice 13 :** Calculez les invariants de places. Montrez qu'il n'y en a pas d'autres en construisant une matrice obtenue par combinaison linéaire des lignes de la matrice d'incidence (à coefficients positifs) dont les trois dernières lignes sont nulles et dont les premières colonnes de la partie supérieure (sans ces 3 lignes nulles) constitue une sous-matrice triangulaire supérieure.  
Comment peut-on interpréter ces invariants de places ?

**Exercice 14 :** Existe-t-il des invariants de transitions ? Justifiez votre réponse.

**Exercice 15 :** En reprenant le marquage initial de l'énoncé de l'exercice 11 (2 molécules d'*ammoniac*, 2 molécules d'*aspartate* et 1 molécule d'*ornithine*), écrivez la formule CTL qui exprime qu'à partir de ce marquage, il sera toujours possible pour  $f_u$  d'osciller entre 0 et 2.

Si la formule est vraie sur le graphe de marquages obtenu à l'exercice 11, expliquez pourquoi ; si elle est fausse, donnez un contre exemple.

*Remarque :* On considèrera que les atomes de la logique CTL sont de la forme : « *metabolite* =  $k$  », « *metabolite*  $\leq k$  », « *metabolite*  $\geq k$  », où *metabolite*  $\in \{a_m, a_s, c, a_t, o, f_u\}$  et  $k \in \mathbb{N}$ .

**Exercice 16 :** Toujours avec le marquage initial de l'énoncé de l'exercice 11 (2 molécules d'*ammoniac* et 2 molécules d'*aspartate* et 1 molécule d'*ornithine*), écrivez la formule CTL qui exprime l'invariant de place correspondant à la préservation de l'ornithine.

*Remarque :* On se donnera la possibilité d'écrire des expressions de la forme  $a_s + c = 36$  sur lesquelles on pourra construire des formules temporelles. Exemple :  $(a_t = 36) \Rightarrow EF(a_s + c = 36)$ .