

Oscillations d'expression d'un gène auto-régulé : interaction d'un délai de transport avec la réponse transcriptionnelle

Jingkui Wang^{1,2}, Quentin Thommen^{1,2} & Marc Lefranc^{1,2}

¹ Université Lille 1, Laboratoire de Physique des Lasers, Atomes, Molécules, UMR CNRS 8523, UFR de Physique, Cité Scientifique, F-59655 Villeneuve d'Ascq

² Université Lille 1, Institut de Recherche Interdisciplinaire, USR CNRS 3078, Cité Scientifique, F-59655 Villeneuve d'Ascq

marc.lefranc@univ-lille1.fr

Résumé. Les fonctions cellulaires reposent en grande partie sur des réseaux de gènes et de protéines en interaction. Ces réseaux peuvent présenter des comportements dynamiques complexes, en particulier des oscillations. Nous étudions ici l'apparition d'oscillations dans un modèle minimal de circuit génétique, où un gène est réprimé par sa propre protéine. Un travail récent [6] a montré qu'une dynamique transcriptionnelle lente pouvait induire un délai et déclencher des oscillations, ce qui confirme que de tels délais jouent un rôle crucial dans la dynamique des réseaux génétiques. Mais d'autres sources de délai existent (transport des molécules, transcription, traduction, etc). Nous étudions donc des extensions du modèle précédent, où le délai lié au transport de la protéine est pris en compte de deux manières différentes, par un retard explicite et par une étape réactionnelle supplémentaire. Nous comparons les influences de ces deux types de délai sur la dynamique du gène auto-régulé.

Abstract. Most cell functions depend on networks of interacting genes and proteins. Such networks may display complex dynamical behavior, in particular oscillations. Here we study how oscillations appear in a minimal genetic circuit model where expression of a single gene is repressed by its own protein. A recent work showed that the transcriptional response of the gene can induce a delay and trigger oscillations, which confirms that delays play a crucial role in genetic networks. However, other sources of delay exist (e.g., molecule transport, transcription, translation,...). We study extensions of the previous model, where a delay due to protein transport is taken into account in two different way, as an explicit delay and as an additional reactional step. We compare the influences of these two types of delay on the dynamics of a autoinhibited gene.

1 Introduction

Au coeur de la cellule se trouvent des réseaux de régulation génétique constitués par des gènes et des protéines en interaction. Les gènes, portés par la molécules d'ADN, contrôlent la synthèse des protéines, dont certaines modulent en retour l'activité du gène en se fixant sur leur zone régulatrice. Les boucles de rétroaction ainsi formées, qui impliquent parfois un très grand nombre de gènes, peuvent présenter des comportements dynamiques typiquement non linéaires, tels que bistabilité ou oscillations.

Afin de mieux comprendre ces phénomènes dynamiques dans un cadre simple, des modèles minimaux de réseaux génétiques ont été largement étudiés, dont celui où l'activité d'un gène isolé est réprimée par sa propre protéine, formant ainsi la plus simple des boucles de rétroaction négative [1,2,3,4]. Ces travaux théoriques ont de manière générale supposé que l'activité d'un gène réagit immédiatement aux variations de concentration des protéines qui le régulent. Or des expériences récentes ont montré l'existence d'une dynamique transcriptionnelle intrinsèque, à des échelles de temps comparables aux autres processus cellulaires [5]. Dans un travail récent [6], nous avons donc étudié comment la prise en compte d'un temps de réponse fini du gène pouvait modifier la dynamique de ce circuit génétique minimal et en particulier induire des oscillations. Ce travail a montré que la rétroaction négative, le délai introduit par le temps de réponse du gène [4] et la non-linéarité des mécanismes de dégradation de la protéine, qui résultent de cinétiques enzymatiques parfois complexes [7], sont les ingrédients clés déclenchant les oscillations [6]. Une expression analytique du seuil d'instabilité a permis de comprendre le rôle joué par les différents paramètres.

Mais le délai d'activation du gène coexiste dans ce circuit avec plusieurs autres délais, qui correspondent au temps nécessaire à plusieurs processus importants de la machinerie cellulaire : transcription (recopie de l'information génétique dans une molécule d'ARN messager), traduction (synthèse de la protéine à partir de l'ARN), transport entre noyau et cytoplasme et réciproquement,.... Or ces différents délais peuvent être significativement plus grands que le temps de réponse du gène. On peut donc légitimement se demander si leur prise en compte n'est pas susceptible de modifier profondément les conclusions du travail précédent. Est-ce, comme on le suppose souvent, la somme totale des délais qui est le paramètre clé? De quelle manière deux délais différents interagissent-ils? Est-il toujours vrai qu'un délai plus long soit plus déstabilisant? Par ailleurs, les modèles de la littérature représentent un délai de deux manières différentes, soit comme un délai explicite (équation à retard) [8], soit comme le temps associé au temps de réalisation d'une réaction élémentaire, que nous appellerons ici délai réactionnel [9]. Quelle influence ce choix a-t-il sur la dynamique? Pour répondre à toutes ces questions, nous considérons deux extensions du modèle du gène auto-réprimé où sont pris en compte les temps de transport de molécules dans la cellule, et nous déterminons comment les seuils d'instabilité sont modifiés.

2 Modèle avec délai de transport explicite

Le modèle de Morant *et al.* [6], est tout d'abord modifié pour prendre en compte deux délais explicites τ_1 , correspondant au délai de transcription de la séquence génétique en ARN et τ_2 , lié aux processus de transport de l'ARN du noyau au cytoplasme et à la traduction de l'ARN. Ces délais se rajoutent à un temps de réponse fini du gène contrôlé par la constante θ , qui tend vers l'infini lorsque la réponse devient instantanée. Les équations sont les suivantes :

$$\begin{aligned}\frac{d}{dt}g(t) &= \theta (1 - g(1 + p)) \\ \frac{d}{dt}m(t) &= \lambda g(t - \tau_1) - h(m) \\ \frac{d}{dt}p(t) &= \delta (m(t - \tau_2) - f(p))\end{aligned}\tag{1}$$

où g, m, p sont respectivement l'activité du gène, le nombre de molécules d'ARN et de protéines; $h(m)$ et $f(p)$ sont des fonctions décrivant la cinétique de dégradation, que nous ne précisons pas par souci de généralité, et qui peuvent être fortement non linéaires. Les paramètres λ et δ caractérisent le taux maximal de transcription et le taux de dégradation de la protéine relativement à l'ARN.

Comme la solution stationnaire ne dépend pas des délais τ_1 et τ_2 , le point fixe (g_*, m_*, p_*) est celui du modèle original. Nous étudions la stabilité de ce point fixe en linéarisant les équations dans son voisinage, ce qui nous mène à l'équation caractéristique à laquelle obéissent les valeurs propres ξ de la matrice Jacobienne :

$$\xi^3 + \frac{1 + \tau_g(\delta s + u)}{\tau_g}\xi^2 + \frac{\delta s + u + \tau_g\delta s u}{\tau_g}\xi + \frac{\delta s u + \delta \lambda g_*^2 \exp[-(\tau_1 + \tau_2)\xi]}{\tau_g} = 0\tag{2}$$

où $\tau_g = g_*/\theta$ est le temps de réponse du gène et δs et u sont respectivement les taux de dégradation de la protéine et de l'ARN en régime stationnaire. L'équation (2) montre qu'avec des délais explicites, c'est toujours leur somme qui détermine la dynamique, quelle que soit la manière dont ils sont répartis, dans la transcription, la traduction, le transport ou ailleurs.

Puisque nous nous intéressons à l'apparition d'oscillations, nous cherchons les jeux de paramètres où le point fixe se déstabilise en donnant naissance à une solution périodique par une bifurcation de Hopf. Nous supposons donc que $\xi = i\omega$ dans (2) et séparons les parties réelles et imaginaires. Après les changements de paramètres suivants :

$$\sigma_c = g_* \sqrt{\delta \lambda}, \quad \sigma = \sigma_c \Sigma, \quad \gamma = \frac{\epsilon^2 \Sigma^2 \sigma_c^2}{4}, \quad (\tau_1 + \tau_2) = \frac{E}{\sigma_c}, \quad \tau_g = \frac{T_g}{\sigma_c}, \quad \omega = \Omega \sigma_c\tag{3}$$

le critère d'oscillation s'écrit :

$$\begin{aligned}\cos(\Omega E) &= (1 + \Sigma T_g)\Omega^2 - \frac{\epsilon^2 \Sigma^2}{4} \\ \sin(\Omega E) &= -T_g \Omega^3 + \left(\Sigma + \frac{\epsilon^2 \Sigma^2 T_g}{4}\right) \Omega\end{aligned}\quad (4)$$

où Σ est la somme des taux de dégradation réduits de l'ARN et de la protéine au point fixe ; ϵ quantifie l'asymétrie des deux taux de dégradation [$\epsilon = 1$ (resp. $\epsilon = 0$) lorsqu'ils sont égaux (resp. lorsque l'un des deux est nul)] ; T_g est le temps de réponse du gène ; E est la somme des délais explicites ; Ω est la pulsation de Hopf. Il n'est pas facile d'éliminer Ω , qui vérifie une équation polynomiale, pour obtenir une expression simple du critère d'instabilité, mais nous pouvons obtenir numériquement le taux total de dégradation $\Sigma_H(T_g, E)$ en-dessous duquel les oscillations apparaissent en fonction du temps de réponse du gène T_g et du délai total E . Nous discuterons les résultats obtenus dans la section 4.

3 Etude du modèle avec un délai réactionnel supplémentaire

Nous considérons maintenant l'ajout d'un délai lié à une étape réactionnelle supplémentaire. En introduisant un tel délai, nous rajoutons une dimension au système. Par souci de simplicité, nous nous limitons donc ici à un seul délai, associé au transport de la protéine du cytoplasme, où elle est synthétisée, au noyau où elle réprime l'expression du gène. Ce transport est modélisé par une réaction élémentaire de transformation d'une protéine cytoplasmique en une protéine nucléaire, et dont la cinétique peut être vue comme une réaction de diffusion. Par ailleurs, nous supposons que la dégradation de la protéine n'a lieu que dans le noyau. Le modèle correspondant s'écrit :

$$\begin{aligned}\frac{d}{dt}g(t) &= \theta (1 - g(1 + p_n)) \\ \frac{d}{dt}m(t) &= \lambda g - h(m) \\ \frac{d}{dt}p_c(t) &= \delta m - \frac{p_c}{\tau_p} \\ \frac{d}{dt}p_n(t) &= \frac{p_c}{\tau_p} - \delta f_n(p_n)\end{aligned}\quad (5)$$

où g, m, p_c, p_n sont respectivement l'activité du gène, le nombre de molécules d'ARN, de protéines dans le cytoplasme et dans le noyau ; le terme p_c/τ_p représente le transport de la protéine du cytoplasme au noyau ; comme précédemment θ caractérise la rapidité de réponse du gène, τ_p représente le délai de transport ; $f_n(p_n)$ décrit la dégradation de la protéine dans le noyau.

La solution stationnaire (g_*, m_*, p_{n*}) ainsi que les taux de dégradation en ce point ne dépendent pas du délai du transport τ_p . Nous pouvons donc varier ce dernier sans modifier l'activité moyenne du gène g_* ni les taux de dégradation, qui sont des paramètres importants pour l'apparition d'oscillations.

Pour examiner si le système peut présenter des oscillations, nous déterminons à nouveau le critère de passage par une bifurcation de Hopf. Après une mise à l'échelle des paramètres semblable à (3), nous obtenons la condition suivante pour que le point fixe se déstabilise vers un cycle limite :

$$H_{\epsilon, \eta}(\Sigma, T) = \left[\frac{\epsilon^2 \Sigma^2}{4} T^2 + \left(\Sigma - \frac{1}{\Sigma}\right) T + 1\right] + \Sigma T \eta^2 \left(\frac{\epsilon^4 \Sigma^3 T^3 \eta^2 - 64 - 32\epsilon^2 \Sigma T}{64(\Sigma T \eta^2 + 4)} - \frac{T}{4}\right) < 0 \quad (6)$$

où Σ et ϵ caractérisent comme précédemment les taux de dégradation ; T est le délai total (temps de réponse du gène plus délai de transport). L'indicateur η joue un rôle semblable à celui de ϵ et quantifie l'asymétrie des deux délais : $\eta = 1$ (resp. $\eta = 0$) quand ils sont égaux (resp. quand l'un des deux est nul).

On voit que le délai total T joue un rôle important pour l'apparition des oscillations. Quand $\eta = 0$, l'expression (6) se ramène d'ailleurs à l'expression obtenue par Morant *et al.* pour le gène auto-réprimé simple [6]. Le délai de réponse du gène et le délai de transport ont donc des actions très semblables, puisqu'ils ont, pris isolément, le même pouvoir déstabilisant pour une même valeur du délai. Mais le fait que l'expression (6) dépende aussi de η montre que ce n'est pas seulement le délai total T qui influe sur la dynamique, mais également la manière dont il se répartit en un temps de réponse du gène et un temps

de transport. Le dernier terme de (6) caractérise donc l'interaction entre les deux types de délai. On voit que selon le signe positif ou négatif de ce terme, la coexistence des délais peut stabiliser ou déstabiliser le circuit.

L'équation (6) détermine une série de courbes $\Sigma_{\epsilon, \eta}(T)$ paramétrées par les deux indicateurs de symétrie ϵ et η . Pour ϵ et η fixés, le système oscille si $\Sigma \leq \Sigma_{\epsilon, \eta}(T)$, c'est-à-dire si le point de fonctionnement du système se trouve sous la courbe. Nous avons tracé dans la figure 1 les quatre courbes correspondant aux quatre cas limites de l'expression (6), selon que les deux indicateurs ϵ et η prennent leur valeur minimale (0) ou maximale (1).

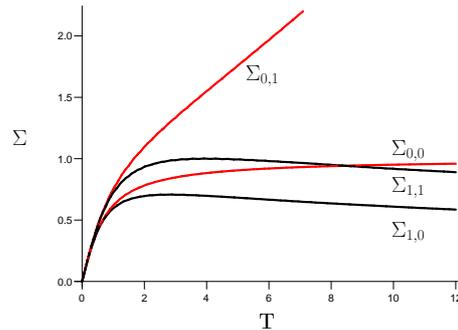


Fig. 1. Diagramme de bifurcation pour quatre cas limites des deux indicateurs de symétrie ϵ et η . Un système avec $\Sigma < \Sigma_{\epsilon, \eta}$ est oscillant. Les courbes correspondant à des taux de dégradation identiques sont représentées en noir, les courbes rouges correspondant au cas où l'un des deux taux de dégradation est nul.

Les courbes $\Sigma_{1,0}$ et $\Sigma_{0,0}$ correspondent au cas d'un seul délai, et ont été discutées dans la référence [6]. Pour étudier l'effet d'un délai supplémentaire, comparons à présent les courbes $\Sigma_{1,0}$ et $\Sigma_{1,1}$ qui correspondent à des taux de dégradation équilibrés ($\epsilon = 1$), avec un délai total se décomposant soit en deux délais identiques ($\Sigma_{1,1}$), soit en un délai unique ($\Sigma_{1,0}$). Pour un délai total petit, les deux courbes sont confondues, c'est alors la somme des délais qui contrôle uniquement la dynamique. Pour des délais plus grands, les deux courbes se séparent, celle à deux délais étant toujours au-dessus de l'autre. L'interaction de deux délais favorise donc systématiquement les oscillations. Par ailleurs, on note que l'existence d'une résonance est préservée : il existe toujours un temps de réponse du gène pour lequel la déstabilisation est maximale et ce temps caractéristique est peu modifié quand on passe à deux délais. De cette première comparaison, nous pouvons conclure que deux délais identiques induisent des oscillations plus facilement qu'un seul délai égal à leur somme, autrement dit, un même délai total réparti en plusieurs endroits favorise l'oscillation par rapport à un délai unique localisé dans une étape précise.

Enfin, considérons le cas où l'un des taux de dégradation est nul, ce qui correspond aux deux courbes rouges de la figure 1. On remarque immédiatement que contrairement aux autres courbes, la courbe $\Sigma_{0,1}$, qui indique la frontière d'instabilité avec deux délais égaux en séquence, croît sans borne quand le délai total augmente. Cela implique qu'un comportement oscillant peut être obtenu même pour des taux de dégradation élevés, à condition que le délai total soit suffisamment grand. Un tel comportement dynamique rappelle celui d'une équation à retard. Notre étude révèle donc comment reproduire le comportement de ces dernières avec des équations différentielles ordinaires.

4 Comparaison des effets d'un délai explicite et d'un délai réactionnel

Dans les deux sections précédentes, nous avons discuté respectivement l'influence d'un délai explicite et d'un délai réactionnel sur l'apparition d'oscillations. Dans la littérature, les auteurs modélisent un système biologique donné en utilisant soit l'un, soit l'autre, généralement sans motiver leur choix. Il est légitime de se demander si le choix d'un type de délai plutôt qu'un autre a une influence sur le comportement du modèle et dans quelles conditions apparaissent les différences quand il y en a, ou encore quel est le type de délai qui est le plus déstabilisant. Pour répondre à ces questions, nous avons comparé les influences des deux types de délais.

4.1 Diagrammes de bifurcation dégradation-délai

Le modèle de la référence [6] ne comporte qu'un délai de réponse transcriptionnelle du gène. Nous étudions maintenant comme le comportement de ce modèle se modifie quand on rajoute progressivement un type de délai ou bien l'autre. Nous analysons ces modifications dans le plan dégradation-délai. Comme précédemment, nous devons distinguer deux cas limites : les taux de dégradation symétriques et déséquilibrés (Fig. 2). Dans un cas comme l'autre, nous vérifions qu'ajouter un délai, soit explicite, soit réactionnel, étend progressivement la région d'oscillation. Lorsque le délai supplémentaire est suffisamment petit, l'influence des deux types de délais est la même. Lorsque le délai supplémentaire est suffisamment grand, par contre, le délai explicite est toujours plus déstabilisant que le délai réactionnel, même si la différence s'estompe quand le temps de réponse du gène est grand. De plus, dans le cas de taux de dégradation égaux, les deux types de délai préservent le phénomène de résonance et ont donc des propriétés dynamiques communes.

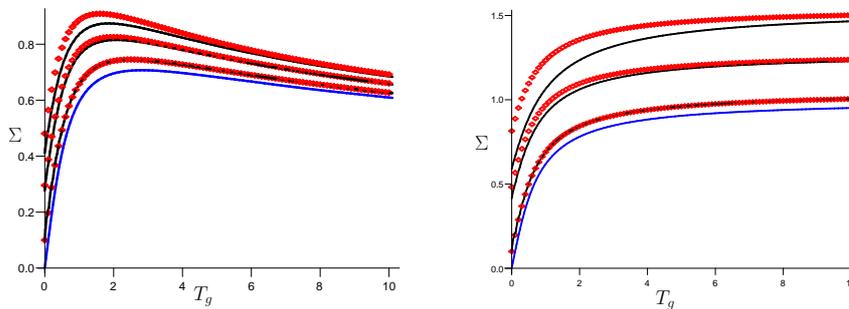


Fig. 2. A gauche, les taux de dégradation sont identiques, à droite l'un d'entre eux est nul. Le seuil d'instabilité est indiqué pour le cas sans délai supplémentaire par la courbe bleue ; en présence d'un délai explicite supplémentaire de valeur $E = 0.1, 0.3, 0.5$ par les points rouges ; en présence d'un délai réactionnel supplémentaire égal au délai explicite par les courbes noires.

4.2 Diagrammes de bifurcation temps de réponse-délai

Nous nous intéressons ici également à la géométrie de la zone d'oscillation, mais visualisée cette fois dans le plan des deux temps caractéristiques, le temps de réponse du gène et le délai supplémentaire, explicite ou réactionnel. Cette représentation est plus adaptée pour comprendre l'interaction des deux délais dans une grande gamme. Pour simplifier, nous nous limitons au cas de taux de dégradation identiques.

On voit tout de suite la différence entre les deux types de délai en comparant les figures 3 et 4. Dans le modèle avec réponse du gène et délai explicite, la zone d'oscillation n'est pas symétrique par rapport aux deux délais. Si l'on augmente la dégradation, la zone d'oscillation diminue. Lorsque les taux de dégradation sont suffisamment faibles, une partie de la zone d'oscillation correspond à un délai explicite négatif, ce qui indique que le système oscille systématiquement dans cette zone même sans délai explicite. Lorsque nous fixons un délai explicite et que nous augmentons le temps de réponse du gène progressivement, le système traverse la zone d'oscillation puis redevient stable ; par contre, lorsque nous fixons le temps de réponse et que nous augmentons progressivement le délai explicite, nous arrivons tôt ou tard dans la zone d'oscillation et nous y restons ensuite pour toute valeur du délai.

Dans le cas d'un délai réactionnel rajouté au temps de réponse du gène, la figure 4 indique que la zone d'oscillation est complètement symétrique. Lorsque la somme des taux de dégradation Σ augmente, la zone d'oscillation diminue, comme pour le délai explicite. Dans le cas limite $\Sigma = 1$, la zone se réduit à un point. Il faut également remarquer que si le temps de réponse du gène est fixé et que nous augmentons progressivement le délai réactionnel supplémentaire, l'oscillation se renforce d'abord puis disparaît progressivement. Donc, un délai réactionnel trop important peut supprimer les oscillations. Plus intéressant, on voit également qu'il est possible qu'un délai de transport ne déclenche pas les oscillations à lui tout seul lorsqu'il est très grand, mais qu'il suffit d'ajouter un petit délai de réponse transcriptionnelle pour

revenir dans la zone d'oscillation. De tels effets d'interaction font que le temps de réponse du gène, même petit devant les autres délais, peut avoir un effet important sur la dynamique.

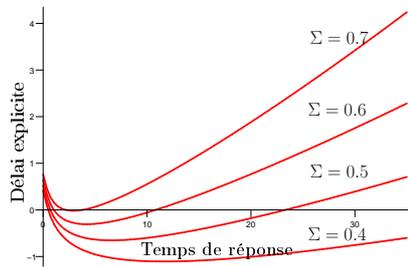


Fig. 3. Interaction entre le temps de réponse du gène et un délai explicite. Pour chaque valeur de Σ indiquée, la zone d'oscillation est située au dessus de la courbe associée.

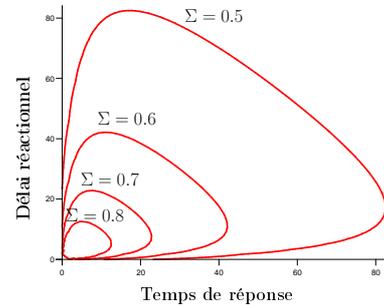


Fig. 4. Interaction entre le temps de réponse du gène et un délai réactionnel. Pour chaque valeur de Σ indiquée, la zone d'oscillation est située à l'intérieur de la courbe associée.

En analysant le diagramme de bifurcation dans le plan temps de réponse du gène-délai de transport, nous avons comparé les effets des deux types de délai, explicite et réactionnel. En augmentant un délai explicite, le système tend toujours à se déstabiliser, donc le délai explicite favorise toujours les oscillations. Par contre, en augmentant progressivement un délai réactionnel, le système peut être déstabilisé d'abord puis finalement stabilisé. Donc, l'ajout d'un délai réactionnel complique la modélisation, puisqu'il peut déstabiliser le système mais aussi le stabiliser.

5 Conclusion

Nous avons étendu le modèle proposé par [6] en prenant en compte des délais supplémentaires liés au transport de la protéine de deux manières, comme un délai explicite et comme un délai réactionnel. Nous avons montré que les conclusions de la référence [6] restent pertinentes. Un point remarquable est aussi la manière dont un délai réactionnel interagit avec un temps de réponse fini pour déstabiliser le système bien plus que ne le ferait un délai unique, ou bien supprimer au contraire les oscillations.

Références

1. J. LEWIS, Autoinhibition with Transcriptional Delay : A Simple Mechanism for the Zebrafish Somitogenesis Oscillator, *Current Biology*, **13**, 1398 (2003).
2. J. S. GRIFFITH, Mathematics of cellular control processes I. Negative feedback to one gene, *Journal of Theoretical Biology*, **20**, 202 (1968).
3. H. HIRATA *et al.*, Oscillatory expression of the bHLH factor Hes1 regulated by a negative feedback loop, *Science*, **298**, 840 (2002).
4. G. TIANA, S. KRISHNA, S. PIGOLATTI, M. H. JENSEN & K. SNEPPEN, Oscillations and temporal signalling in cells, *Physical Biology*, **4**, R1 (2007).
5. I. GOLDING, J. PAULSSON, S. M. ZAWILSKI & E.C. COX, *CELL*, **123**, 1025-1036 (2005).
6. P.-E. MORANT, Q. THOMMEN, F. LEMAIRE, C. VANDERMOERE, B. PARENT & M. LEFRANC, *Physical Review Letters*, **102**, 183901 (2009).
7. B. NOVAK & J. TYSON, Design principles of biochemical oscillators, *Nature Review/Molecular Cell Biology* **9**, 981 (2008).
8. B. S. BERNARD, B. CAJAVEC, L. PUJO-MENJOUET, M. C. MACKEY & H. HERZEL, Modelling transcriptional feedback loops : the role of Gro/TLE1 in Hes1 oscillations, *Philosophical Transactions of the Royal Society A*, **364**, 1155 (2006).
9. J.-C. LELOUP, D. GONZE & A. GOLDBETER, Limit cycle models for circadian rhythms based on transcription regulation in *Drosophila* and *Neurospora*, *Journal of Biological Rhythms* **14**, 433 (1999).