



Étude sur la modélisation de la boucle à rétrocontrôle négatif du système P53-MDM2

Raphaël BONNET, India LANGLADE*

8 mai 2015

Résumé

La boucle à rétroaction négative impliquant les protéines P53 et MDM2 est un élément central de l'homéostasie cellulaire. On sait aujourd'hui que MDM2 est le principal régulateur de P53 et donc de ses fonctions allant de la réparation de l'ADN à l'apoptose si nécessaire. Il a été découvert que P53 et MDM2 peuvent varier en concentration mais tous les mécanismes impliqués dans le choix du sort de la cellule n'ont pas encore été élucidés par les chercheurs. Nous présenterons comment MDM2 interagit avec P53 et comment en résulte une dynamique oscillatoire. Par une succession de modèles incluant de plus en plus d'acteurs, nous avons pu mettre en évidence que le délai entre la production des protéines et leur interaction est responsable de la dynamique oscillatoire du système. Nous présenterons un paramètre clé à l'origine du maintien de ces oscillations. Nous présenterons également les autres paramètres du système.

Mots clés : Boucle de rétrocontrôle négative, Lésions à l'ADN, MDM2, Oscillations, P53

*Nous tenons à remercier l'ensemble des enseignants et l'équipe de l'I.R.C.A.N pour leur suivi tout au long du projet.



Study on modelisation of a negative feedback loop in the P53-MDM2 system

Raphaël BONNET, India LANGLADE

May 8, 2015

Abstract

The P53-MDM2 feedback loop is one important parameter of homeostasis. Through the regulation of P53's concentration, MDM2 is the one regulator of many P53's functions in the cell going from DNA repair to apoptosis if necessary. It is well known that P53 and MDM2 may oscillate in concentration. Researchers do not fully understand the mechanisms of this system driving the cell through all possible pathways. We will try to understand how the regulator MDM2 interacts with P53 and as a result can create an oscillatory system. Afterwards we will point the mechanisms that provides oscillations and we will try to understand how the oscillations are sustained. We will also overlook the key parameters of this dynamics. By making models with more and more actors we've underlined that the delay between the production and the interactions of the proteins is responsible for the oscillatory behavior.

Keywords: DNA damage, Feedback loop, MDM2, Oscillations, P53

*Nous tenons à remercier l'ensemble des enseignants et l'équipe de l'I.R.C.A.N pour leur suivi tout au long du projet.

Table des matières

Table des matières	3
1 Introduction	4
2 P53, MDM2, et l'interaction P53-MDM2	5
2.1 TP53 et la famille de P53 : Facteurs de transcription.	5
2.2 MDM2 : Inibiteur de P53 dans les cellules normales	6
2.3 Lésions à l'ADN et arrêt du cycle cellulaire	6
2.4 Choix de la réparation de l'ADN ou de l'apoptose	7
3 Rythmes biologiques et boucles de rétroaction	8
4 Modélisation du système MDM2-P53	9
4.1 Présentation	9
4.2 Approche via Copasi	9
4.2.1 Modèle simplifié	9
4.2.2 Modèle avec intermédiaires biologiques et sans stress	11
4.2.3 Modèle avec intermédiaires biologiques et avec stress	13
4.2.4 Simulation multi-compartiments	15
4.3 Approche via Scilab	16
4.3.1 Présentation	16
4.3.2 Équilibre stable	18
4.3.3 Obtention des oscillations	18
5 Discussion	18
5.1 Choix du modèle	18
5.2 Modélisation sur Copasi	19
5.2.1 Modèle simple	19
5.2.2 Modèle intermédiaire	19
5.2.3 Simulation multi compartiments	19
5.3 Modélisation sur Scilab	19
5.4 Limites du projet	20
5.5 Dynamique oscillatoire et Vieillesse	20
5.6 Boucles analogues au système P53-MDM2	20
5.7 Simulation in silico	20
6 Conclusion	20
Références	21
Annexe A Modèle retenu : ARF	22
Annexe B Modèle non retenu	23
Annexe C Codes pour le modèle Scilab	24
Annexe D Gant Chart	26
Annexe E Capture LaTeX	27
Annexe F Échanges I.R.C.A.N	28

1 Introduction

La compartimentation est une étape vers la protection du matériel nécessaire au fonctionnement des organismes complexes. Malgré la protection offerte par la cellule aux agressions extérieures et face à tous les facteurs de stress pouvant mettre en péril son fonctionnement, il faut davantage d'outils adéquats. Il existe à l'échelle moléculaire un autre moyen de protection très efficace et utilisé dans tout l'organisme. Des protéines qui, jour après jour, maintiennent et contrôlent l'intégrité des cellules. C'est le principe d'homéostasie. Parmi les protéines les plus étudiées par les scientifiques, émerge la protéine facteur de transcription P53. Cette protéine que nos contemporains appellent : "Gardien du génome"[6] est un acteur de plusieurs systèmes appelés "boucles de rétrocontrôle". Ces boucles de rétrocontrôle peuvent avoir plusieurs rôles, l'un d'entre eux consiste à maintenir l'homéostasie. Un des effets des boucles dites négatives est de provoquer des oscillations quand une composante affecte l'homéostasie. Les chercheurs ont montré que chez la souris l'interaction entre P53 et le gène de la protéine MDM2 amène à un rétrocontrôle négatif associé à une dynamique oscillatoire des concentrations de ces deux molécules. Plusieurs modèles ont été présentés pour tenter d'expliquer le fonctionnement précis de ce système et de ces oscillations ainsi que le rôle des principaux acteurs impliqués. Les outils de modélisation "In silico" permettent alors de révéler l'origine des oscillations et faire apparaître les paramètres clés du système.

Pour cette étude nous commencerons par présenter la protéine P53 ainsi que la protéine MDM2 chez la souris. Nous détaillerons leurs fonctions et les mécanismes de leur interaction. Nous présenterons ensuite les différents types de boucles de rétroaction, leur fonctionnement et ce qui en résulte. Nous passerons ensuite à la partie modélisation du système P53-MDM2 grâce aux logiciels "Copasi" et "Scilab". Nous présenterons ainsi plusieurs modèles, du plus simple au plus complexe impliquant différents acteurs et un paramètre de stress. Pour chaque modèle une étude du modèle mathématique sera également présentée. Nous évoquerons les difficultés et les questionnements restés sans réponse en partie discussion. Les résultats seront également critiqués dans cette partie. Une brève conclusion sera présente en fin de document.



"Essentially, all models are wrong, but some are useful." *George E. P. Box*

2 P53, MDM2, et l'interaction P53-MDM2

P53 est l'un des régulateurs principaux de l'intégrité du génome grâce au contrôle de la prolifération cellulaire [16]. Il apparaît que P53 est mutée dans plus de 50% des cancers humains, l'approche thérapeutique est très étudiée [4]. Ceci souligne le fait que de nombreuses zones d'ombre persistent au sujet de P53. Par le biais de sa régulation par MDM2, P53 peut participer à la réparation de l'ADN endommagé ou lancer la cellule sur la voie de l'apoptose [3]. Depuis la découverte de P53 il y a plus de 30 ans de nombreux chercheurs s'attachent à comprendre les mécanismes auxquels cette molécule participe et de quelle manière elle y participe. Nous parlerons ici de la protéine P53, de ses fonctions et des molécules qui interagissent avec cette protéine.

2.1 TP53 et la famille de P53 : Facteurs de transcription.

La protéine P53 issue du gène *P53* du chromosome 17 chez l'homme est en effet impliquée dans de nombreuses fonctions. P53 fait son apparition en 1979 alors que plusieurs équipes de chercheurs travaillent sur le cancer. Les chercheurs découvrent alors une protéine de 53 kDa. 393 acides aminés [11]. C'est seulement à partir de 1984 que la protéine est baptisée TP53 communément P53 et son gène isolé chez l'homme. Dès 1989 P53 rejoint le groupe des suppresseurs de tumeurs. P53 est constituée de plusieurs domaines interdépendants ayant respectivement pour fonction : la trans-activation, la liaison à l'ADN (Fig. 1) et la multimérisation. On a dénombré 12 isoformes issus d'épissages alternatifs possédant tous un domaine de liaison à l'ADN [2]. Il est apparu que P53 a aussi des homologues appelés p63 et p73 que l'on peut regrouper dans ce qu'on appelle la superfamille de P53 [1]. Ils possèdent aussi le domaine de liaison à l'ADN et comportent comme P53 deux sites de début de transcription. Ceci indique que les protéines de ces gènes possèdent des isoformes et donc qu'elles peuvent assurer différents rôles.

Il existe aussi une autre molécule appelée MDM2 (Murine Double Minute 2). MDM2 intervient dans la voie moléculaire de P53. Cette molécule est dite IAP "protéine inhibitrice de l'apoptose", en terme pratique elle est le régulateur principal de P53. Nous allons maintenant décrire les mécanismes enzymatiques qui déstabilisent P53 et entraînent sa dégradation.

VISUALISATION 3D DU SITE DE LIAISON À L'ADN DE P53

- Trois protéines P53 (vert) se lient à l'ADN. Image obtenue grâce au logiciel libre Pymol [5].



FIGURE 1

2.2 MDM2 : Inhibiteur de P53 dans les cellules normales

Il existe de nombreuses IAP, MDM2 est l'une d'entre elles. C'est une protéine de 491 acides aminés d'un poids de 51kDa. Son action a pour effet de réduire la durée de vie de P53 qui est exprimée tout au long du cycle cellulaire pour réduire sa concentration quand la cellule n'est soumise à aucun stress.

En se liant à P53 sur son domaine de transactivation, MDM2 l'empêche d'agir en tant que facteur de transcription pour le gène de MDM2. C'est ce mécanisme qui est à la base de la stabilité de la concentration de P53. Avec un certain délai, MDM2 est aussi soumise à cette même régulation. Le mécanisme est le suivant : MDM2 est une E3 ubiquitine ligase qui catalyse la réaction d'ubiquitination. Grâce à l'ATP, une ubiquitine est alors ajoutée à une lysine de la protéine. D'autres enzymes pourront alors ajouter trois ubiquitines de plus. Une fois que P53 porte quatre ubiquitines, ce marquage correspond alors à une étiquette reconnue par le protéasome [15]. Le protéasome est un complexe multiprotéique chargé de la dégradation des protéines dont l'intégrité de la structure est compromise. Il se situe dans le noyau, le cytoplasme et dans la membrane du réticulum endoplasmique. Si la protéine porte une étiquette (au moins quatre ubiquitines), elle sera dégradée par le protéasome. En temps normal 95% des molécules P53 sont liées à MDM2 et de cette manière P53 est régulée.

Cette inhibition prend fin quand l'homéostasie de la cellule est déstabilisée. Différents facteurs de stress sont à l'origine de cette rupture d'inhibition. S'en suit alors l'arrêt du cycle cellulaire. Nous allons maintenant décrire les différents types de comportements adoptés par la cellule en réponse à un facteur de stress.

2.3 Lésions à l'ADN et arrêt du cycle cellulaire

Les lésions à l'ADN peuvent être provoquées par différents facteurs de types variés ; il peut s'agir de rayonnements ultraviolets (UV), de radiations ionisantes (IR), de lésions dues à la chaleur ou de certains produits de la chimie industrielle. Si l'ADN est exposé aux UV, comme les bases cytosine et thymine (pyrimidines) ne les absorbent pas et dans le cas où elles sont adjacentes, ces bases peuvent se lier en dimère compromettre alors la structure tridimensionnelle. Si l'ADN est irradié, il se peut que un des deux brins constituant la double hélice soit sectionné. Un grand nombre de mécanismes résultant des autres facteurs de stress cités plus haut (perte de base, désamination...) sont aussi à l'origine de problèmes affectant la conformation de l'ADN.

Quand les senseurs de l'intégrité de l'ADN relèvent un problème, P53 et d'autres molécules en aval sont soumises à des changements de conformation. En fonction du type de stress deux voies peuvent être empruntées. Il s'agit des voies ATM et ATR. ATM et ATR sont toutes deux des kinases. Elles ont pour fonction de phosphoryler leurs cibles. En changeant la structure, la fonction ou les interactions avec la molécule cible peuvent être altérées. Ceci empêche MDM2 d'interagir avec P53 et de le réguler. P53 peut alors activer la transcription de P21 responsable de l'arrêt du cycle cellulaire.(Fig. 2)

CONTRÔLE DU PASSAGE ENTRE LES DIFFÉRENTES PHASES DU CYCLE CELLULAIRE

- Cette figure représente les deux voies présentées plus haut : ATR et ATM qui amènent par phosphorylation la libération de P53 ce qui active P21 qui permet l'arrêt du cycle cellulaire [19].

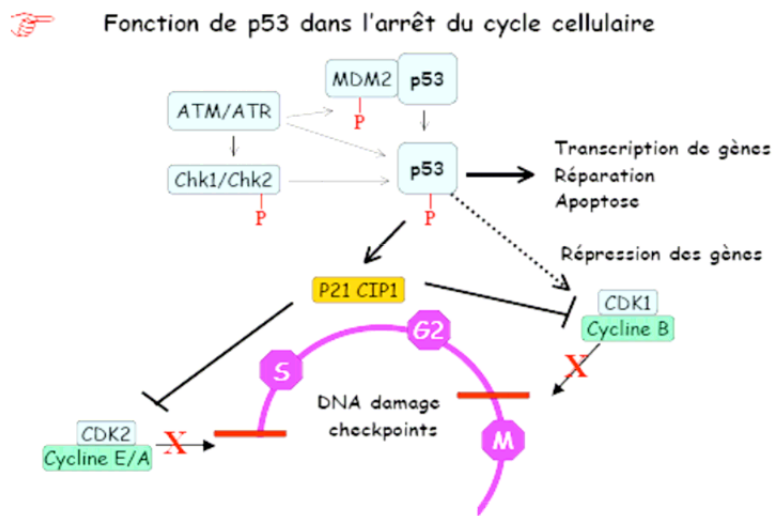


FIGURE 2

2.4 Choix de la réparation de l'ADN ou de l'apoptose

Différents modes de réparation de l'ADN, fortement conservés, conservatifs ou non, sont mis en œuvre par la cellule pour la réparation de l'ADN. Des protéines sont recrutées dans le but de détecter et de réparer les différents types de problèmes de conformation. Les mécanismes de réparation des défauts de conformations sont les suivants. Il peut s'agir d'une suppression d'une ou plusieurs bases (BER,NER), de recombinaisons homologues ou non (HR,NHEJ) et de correction de mésappariements (MMR). P53 participe aussi à la préservation du matériel génétique car elle coordonne la réponse au dommages à l'ADN [7]. Quand un dommage à l'ADN survient, les molécules de détection des dommages ARF et ATM, liées à la chromatine déclenchent une cascade de réactions enzymatiques jusqu'à P53. En temps que facteur de transcription, P53 peut alors favoriser la réparation de l'ADN en stoppant le cycle cellulaire. L'arrêt du cycle cellulaire permet de limiter la propagation des dégâts à l'ADN et d'allouer du temps à sa réparation. Cependant P53 ne doit pas être exprimée à forte concentration de manière constante, c'est pourquoi on peut observer des oscillations qui assurent à la fois la disponibilité de P53 pour la transactivation et le maintien du fonctionnement de la cellule. Avec le temps les oscillations permettent de ramener les composantes touchées à un état initial puis s'amortissent.

Lorsque les lésions à l'ADN sont trop importantes, et une fois libérée de son inhibition par MDM2, P53 agit comme facteur de transcription pour des ligands de la voie du récepteur de la mort $TNF\alpha$ ce qui provoquera l'apoptose. Aussi la libération de P53 permet la levée d'inhibition des facteurs pro-apoptotiques de la voie mitochondriale. La voie mitochondriale entraîne la mort cellulaire quand des hétéro-dimères de la famille Bcl-2 (Bax,bid,Bclx, etc) s'homodimérisent dans la membrane externe mitochondriale. La dimérisation des protéines spécifiques à ce mécanisme, provoque alors la sortie de molécules pro-apoptotiques de l'espace intermembranaire de la mitochondrie. Quand ce cocktail pro-apoptotique est libéré, certaines molécules vont alors activer des caspases dont le but est de déclencher l'apoptose.

3 Rythmes biologiques et boucles de rétroaction

Les rythmes biologiques sont un des produits de l'évolution. On peut trouver à différents niveaux d'organisation, des cellules aux populations[9]. Ils assurent le maintien et le fonctionnement d'un panel très large de fonctions biologiques. (prédation, sommeil, reproduction, etc...) On distingue plusieurs types de rythmes en fonction de leur période. Les cycles dont la période ne dépasse pas 20 heures sont dits ultradiens, les cycles d'environ 24 heures dits circadiens et les cycles de plus de 24 heures appelés cycles infradiens. Leur dynamique est synchronisée par des facteurs environnementaux locaux; ceci implique donc l'existence d'un agent d'entraînement ou un donneur de temps. Ces rythmes sont endogènes mais peuvent être modifiés par de nombreux facteurs (stress, maladies etc...). La plupart des rythmes sont dits anticipés. En mettant en jeu des mécanismes de régulation, ces rythmes sont capables de se maintenir malgré les nombreux facteurs de stress susceptibles de perturber leur fonctionnement. Des molécules sont capables d'interagir avec d'autres plus en amont ou en aval dans la voie de signalisation impliquée et de s'opposer ainsi aux facteurs extérieurs perturbateurs. On parle de boucles de rétroaction.

On distingue dans les mécanismes de régulation les rétroactions négatives et positives. Bien qu'elles aient toutes deux pour fonction d'éviter à l'organisme des dérèglements, elles sont significativement différentes et différenciables par les mécanismes de fonctionnement qu'elles impliquent. En premier lieu et comme leur nom l'indique ces boucles régulent positivement ou négativement leurs cibles. Outre cette spécificité, il est nécessaire de comprendre que ces régulations sont adaptatives, en réponse à un facteur déclencheur et que ce facteur est nécessaire au maintien du mécanisme de régulation. Trois composantes sont indispensables : un récepteur pour le signal, l'intégrateur qui lui traduit le signal et un effecteur qui agit en conséquence. Quand le récepteur ne reçoit plus l'information, la boucle cesse de fonctionner. Enfin, les boucles négatives servent à maintenir un paramètre autour d'un point d'équilibre physiologique alors que les boucles positives elles, éloignent le paramètre concerné du point de stabilité physiologique. La régulation de la température corporelle lors de la course à pied et le mécanisme impliquant l'ocytocine pendant l'accouchement sont deux exemples connus de boucles respectivement négatives et positives.

P53 est au cœur de la régulation homéostatique cellulaire. Il a été présenté que P53 était l'acteur de plus d'une dizaine de boucles de rétrocontrôle [12], c'est pourquoi nous allons nous intéresser ici au "noyau" du système et à la boucle de rétrocontrôle négatif qu'elle implique.

4 Modélisation du système MDM2-P53

Pour cette étude nous allons présenter une suite de modèles construits autour de l'interaction entre P53 et MDM2. Nous allons présenter les modèles du plus simple au plus complexe pour tenter d'expliquer et de comprendre les dynamiques alors qu'ils sont soumis ou non à des facteurs de stress.

4.1 Présentation

Deux fois trois modèles vont être présentés. Les deux premiers ont été construits pour cette étude, le troisième a été trouvé dans la bibliographie [17] ; ce dernier présente la boucle de rétroaction négative du système P53-MDM2 et servira de comparatif pour tenter de comprendre le système P53-MDM2 (Annexe A). Tous ces modèles ont été constitués grâce au logiciel libre "Copasi" et "Scilab". Le premier modèle est constitué du minimum d'acteurs essentiels c'est à dire P53 et MDM2. Le second modèle est plus complexe, il intègre plus d'acteurs. Il est constitué de la plupart des intermédiaires biologiques qui régulent et libèrent P53. De ce fait et comme P53 joue le rôle de facteur de transcription il existe un délai entre l'apparition des molécules de MDM2 et le moment où elles joueront leur rôle dans le système présenté. Nous verrons que ce délai ainsi que les facteurs de stress sont à la source de la dynamique oscillatoire. Le troisième modèle est un modèle incluant tous les intermédiaires biologiques de la voie ARF.

Pour commencer la modélisation nous avons choisi de respecter l'échelle de la cellule et de se placer en $\mu\text{mol}/l$. Les concentrations initiales sont celles du modèle de Proctor and Gray, 2008 et sont représentatives de l'état de la cellule quand l'homéostasie est maintenue où 95% des molécules de P53 sont liées avec MDM2 et sont sur le point d'être dégradées. Les paramètres utilisés dans ce modèle correspondent aux coefficients réactionnels trouvés en bibliographie [17]. Après une brève présentation du modèle décrit, le code des réactions de Copasi sera présenté entre crochets (ex : [P53 -> MDM2]). Les résultats seront ensuite présentés sous la forme de trois figures distinctes. L'analyse de sensibilité sera aussi présentée pour chaque modèle. L'interprétation des résultats quand à elle se fera en partie discussion.

4.2 Approche via Copasi

4.2.1 Modèle simplifié

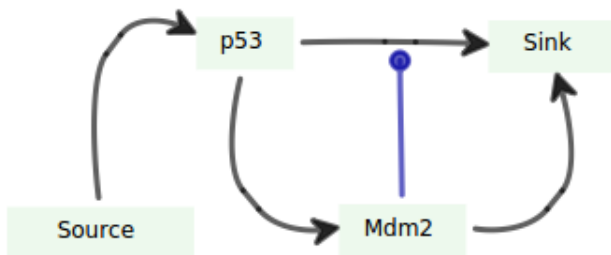
Comme précédemment indiqué, ce modèle est une version très simplifiée du mécanisme d'interaction entre P53 et MDM2. Ce sont les deux seuls acteurs biologiques réels représentés. Deux autres agents de ce système sont Source et Sink (l'évier) qui représentent respectivement le mRNA de la protéine P53 et la dégradation des molécules ; représentatif de la sortie du système. (Fig. 3a) Nous appellerons à partir d'ici les agents des systèmes présentés : "espèces" afin de suivre l'appellation utilisée dans Copasi.

Ce modèle comporte quatre réactions :

1. Dégradation de P53 dépendante de MDM2 – [P53 -> Sink ; MDM2]
2. Synthèse de P53 via précurseur – [Source -> P53]
3. Dégradation de MDM2 – [MDM2 -> Sink]
4. Synthèse de MDM2 par trans-activation via P53 – [P53 -> MDM2]

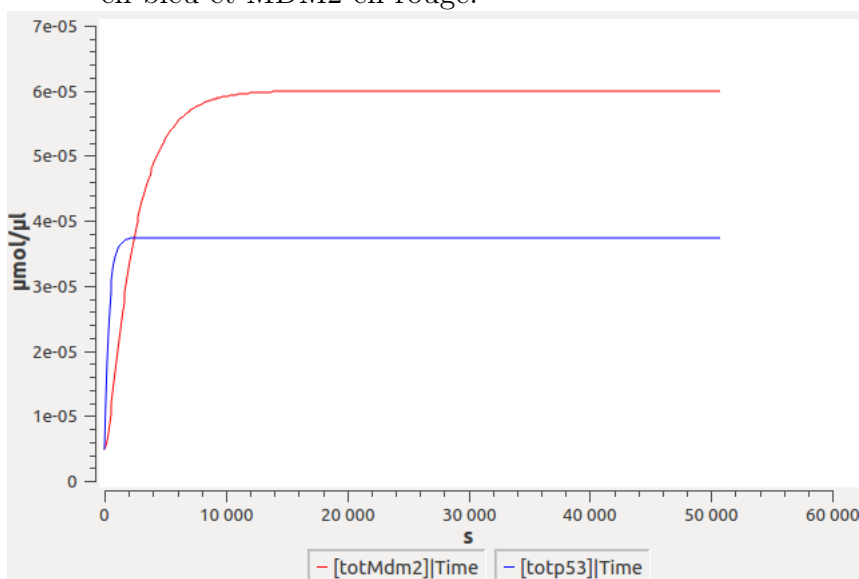
RÉSULTATS POUR LE MODÈLE SIMPLIFIÉ

- Ce diagramme représente les réactions du modèle. Les flèches indiquent le sens des réactions. La couleur bleu indique que la réaction que rejoint le point est une réaction induite par la molécule dont est issu le point.



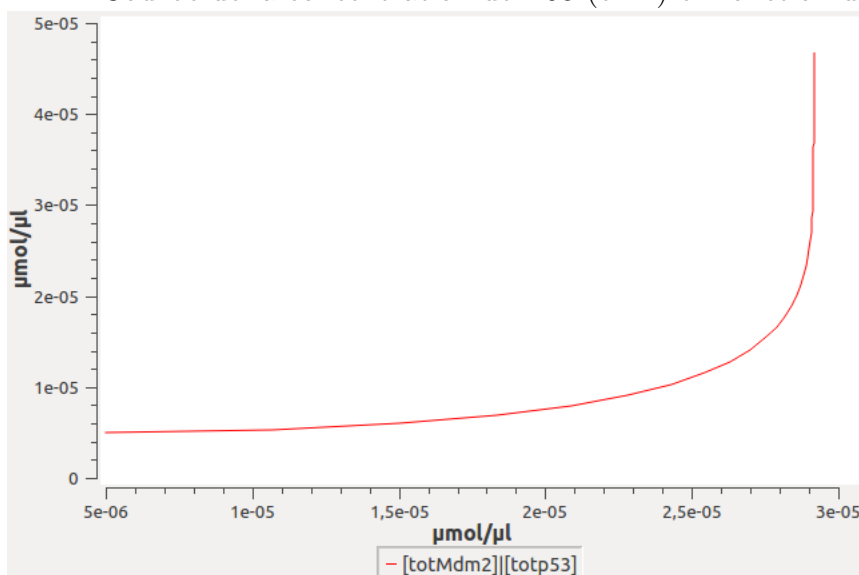
(a) Acteurs du système

- Les courbes ci-dessous représentent en fonction du temps les concentrations de P53 en bleu et MDM2 en rouge.



(b) Courbes de concentrations

- Courbe de la concentration de P53 (en x) en fonction de celle de MDM2 (en y).



(c) Point d'équilibre du système

FIGURE 3

Pour ce modèle aucune dynamique oscillatoire n'est observable. La concentration de P53 augmente jusqu'à ce qu'elle puisse être stabilisée par les molécules de MDM2. (Fig. 3b)

Nous pouvons également observer que le point d'équilibre du système est atteint de manière directe. (Fig. 3c) Nous verrons plus bas que le point d'équilibre est atteint d'une manière complètement différente pour les autres modèles.

4.2.2 Modèle avec intermédiaires biologiques et sans stress

Ce modèle intermédiaire comporte plus d'acteurs et rend compte avec plus de véricité du fonctionnement de la boucle de rétroaction. Des facteurs biologiques (traduction, transcription) ont été rajoutés et rendent le modèle plus complexe. Cette partie sera divisée en deux ; les résultats seront présentés avec ou sans facteur de stress.

On retrouve les mêmes acteurs que pour le modèle simplifié mais on trouve aussi de nouvelles espèces. MDM2_P53 représente les deux molécules une fois liées en hétérodimère. Les ARN messagers (mRNA) sont également représentés en tant que nouvelle espèce. (Fig. 4a)

Ce modèle comporte huit réactions :

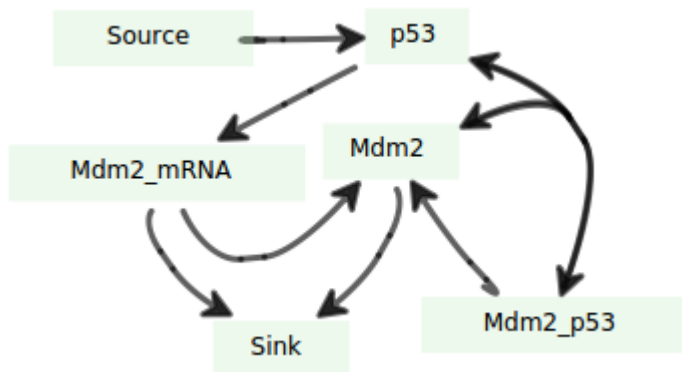
1. Synthèse de P53 via précurseur — [Source \rightarrow P53]
2. Synthèse de l'ARN de MDM2 via P53 — [P53 \rightarrow MDM2_mRNA]
3. Dégradation spontanée du mRNA de MDM2 — [MDM2_mRNA \rightarrow Sink]
4. Traduction du mRNA de MDM2 — [MDM2_mRNA \rightarrow MDM2]
5. Hétéro-dimérisation de P53 et MDM2 — [P53+MDM2 \rightarrow MDM2_P53]
6. Rupture de la liaison entre P53 et MDM2 — [MDM2_P53 \rightarrow MDM2 + P53]
7. Dégradation de MDM2 — [MDM2 \rightarrow Sink]
8. Dégradation de P53 via MDM2 — [MDM2_P53 \rightarrow MDM2]

On peut observer ici qu'une dynamique oscillatoire est présente (Fig. 4b). On atteint cependant très vite un état stable.

Le point d'équilibre est atteint de manière indirecte. On commence à se rendre compte ici que les concentrations s'équilibrent et que le système tend bien vers un état d'équilibre. On observe bien qu'une dynamique oscillatoire commence à se mettre en place (Fig. 4c).

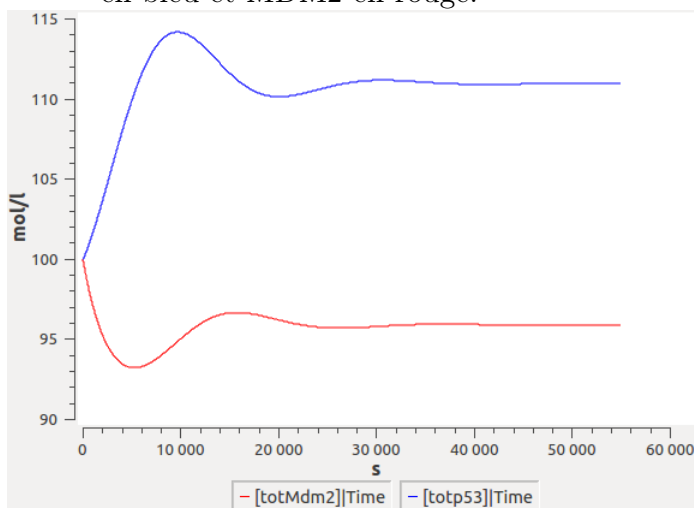
RÉSULTATS POUR LE MODÈLE INTERMÉDIAIRE SANS FACTEUR DE STRESS

— Ce diagramme représente les réactions du modèle. Les flèches indiquent le sens des réactions.



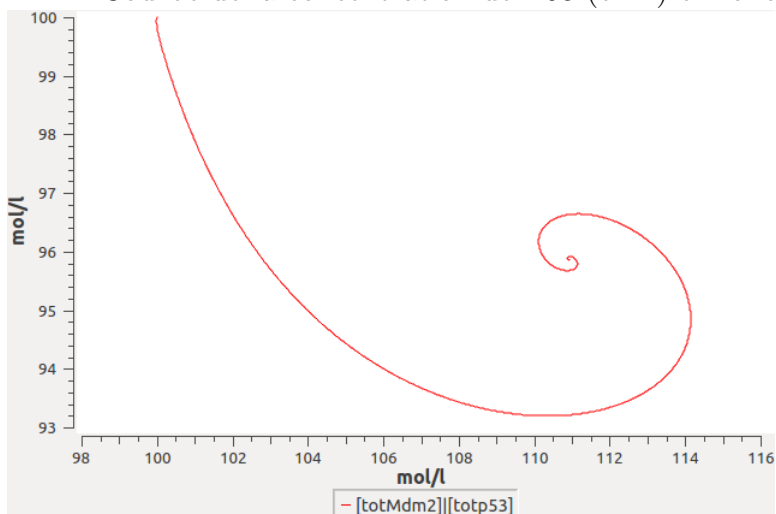
(a) Acteurs du système

— Les courbes ci dessous représentent en fonction du temps les concentrations de P53 en bleu et MDM2 en rouge.



(b) Courbes de concentrations

— Courbe de la concentration de P53 (en x) en fonction de celle de MDM2 (en y).



(c) Point d'équilibre du système

FIGURE 4

4.2.3 Modèle avec intermédiaires biologiques et avec stress

Dans Copasi l'arrivée d'un facteur de stress est représentée par l'expression d'un paramètre qui jusqu'ici avait une valeur nulle (IR). Nous avons aussi ici l'espèce P53P représentative de P53 phosphorylée et MDM2P représentative de MDM2 phosphorylée. (Fig. 5a)

Les deux réactions suivantes ont été rajoutées aux huit précédentes.

1. Phosphorylation de P53 — [P53 -> P53P]
2. Phosphorylation de MDM2 — [MDM2 -> MDM2P]

De cette manière les deux molécules impactées par le paramètre de stress deviennent des espèces différentes et de ce fait ne sont plus capables d'interagir dans le modèle précédemment décrit. Le facteur de stress a été ajouté par le biais des deux "events" suivant :

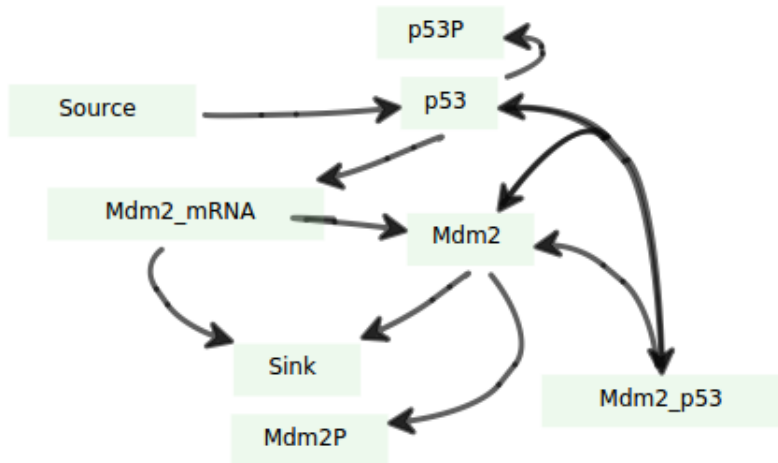
1. Arrivée du stress (values[IR], expression=25) — [Time ge 2550]
2. Arrêt du stress (values[IR], expression=0) — [Time ge 2600]

Le stress s'étend ici de 2550 secondes après le début de la simulation sur 50 secondes. On observe plus d'oscillations, elles ont été obtenues grâce à l'arrivée du stress et grâce à la diminution du paramètre : vitesse de traduction de MDM2_mRNA. On observe que la modification de ces paramètres rend le modèle plus instable. Il faut désormais plusieurs oscillations pour que celles-ci puissent s'amortir et que les concentrations s'équilibrent (Fig. 5b).

Sur ce modèle on peut observer que la courbe gravite autour du point d'équilibre. (Fig. 5c) On se rend bien compte de l'interaction entre P53 et MDM2 et que les concentrations finissent par s'équilibrer. On peut aussi voir le facteur de stress qui amène à la diminution brutale des concentrations. Il est maintenant plus facile de déterminer la nature de l'équilibre. On voit qu'il s'agit ici d'une spirale attractive [20].

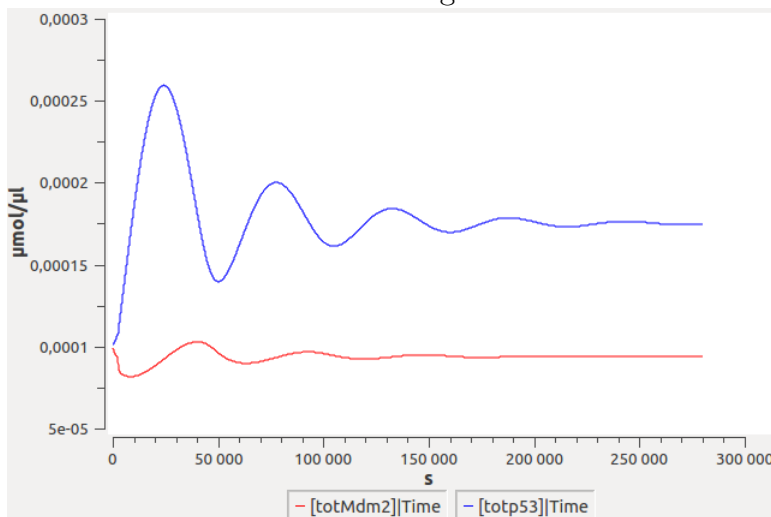
RÉSULTATS POUR LE MODÈLE INTERMÉDIAIRE AVEC FACTEUR DE STRESS

— Ce diagramme représente les réactions du modèle. Les flèches indiquent le sens des réactions.



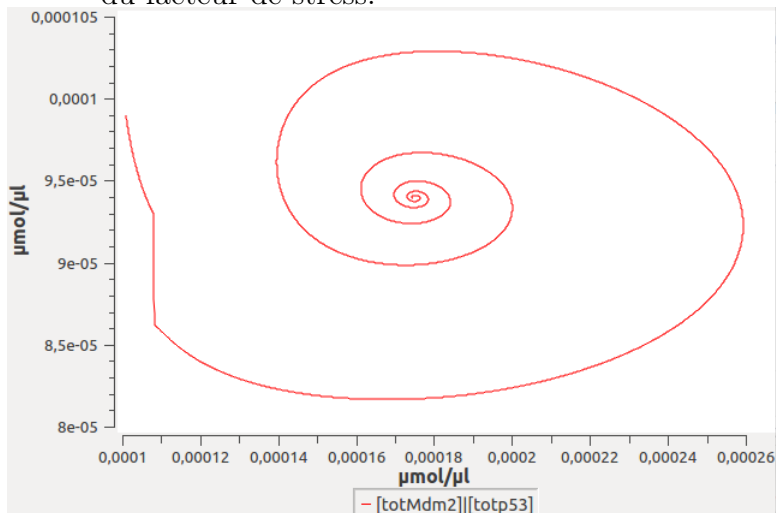
(a) Acteurs du système

— Les courbes ci dessous représentent en fonction du temps les concentrations de P53 en bleu et MDM2 en rouge.



(b) Courbes de concentrations

— Courbe de la concentration de P53 (en x) en fonction de celle de MDM2 (en y). On observe un forte chute de la concentration de MDM2 qui correspond à l'intervention du facteur de stress.

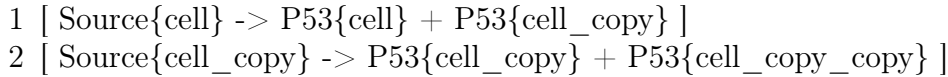


(c) Point d'équilibre du système

4.2.4 Simulation multi-compartiments

Nous avons aussi essayé en fin de projet de tenter de représenter la dynamique présente pour un ensemble de cellules. Nous avons pu voir durant nos recherches bibliographiques que les oscillations étaient amorties pour un groupe de cellules. Pour les modèles qui suivent, toutes les réactions présentées pour le modèle intermédiaire ont été dupliquées et ajoutées à de nouveaux compartiments. Des modifications ont cependant été apportées pour pouvoir simuler l'action des dommages d'une cellule à l'autre. En simulant la diffusion de P53 d'un compartiment à un autre nous avons pu retrouver la dynamique d'oscillations "amorties".

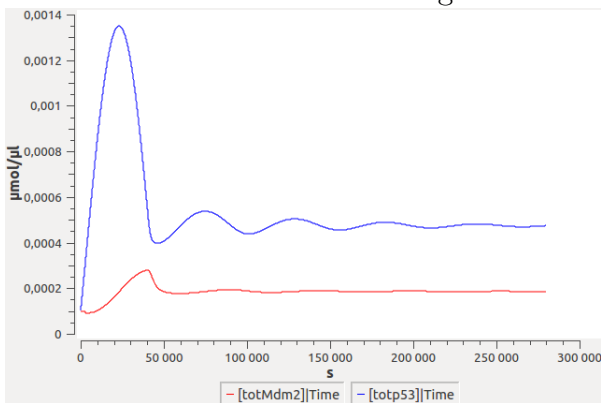
— Synthèse de P53 via précurseur pour le modèle à deux cellules



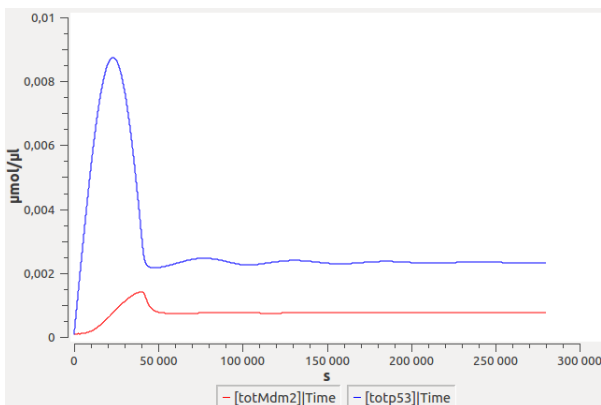
Nous pouvons observer qu'avec seulement deux cellules les oscillations présentées en Figure 5b sont bien plus amorties (Fig. 6a). On remarque également que la dynamique oscillatoire s'amortit quand on augmente le nombre de cellules impliquées dans le modèle (Fig. 6b).

SIMULATION AVEC PLUSIEURS COMPARTIMENTS DEUX ET SIX CELLULES

— Les courbes ci dessous représentent en fonction du temps les concentrations de P53 en bleu et MDM2 en rouge.



(a) Courbes de concentrations, trois cellules



(b) Courbes de concentrations, six cellules

FIGURE 6

4.3 Approche via Scilab

4.3.1 Présentation

Nous avons voulu utiliser une autre méthode afin de vérifier la véracité de notre modèle. Cette méthode s'applique avec le logiciel libre scilab. En effet nos recherches dans la bibliographie nous ont conduit à plusieurs moyens de faire apparaître les oscillations de P53 suite à un dommage à l'ADN. Nous avons ainsi étudié un modèle similaire à celui effectué sur Copasi [14].

L'état d'équilibre est caractérisé par la synthèse et la dégradation rapides des protéines de signalisation. C'est une fonction connue des paramètres d'entrée :

$$k_{\text{constante}} \rightarrow \frac{d(x)}{dt} = 0$$

Toutes les espèces, les réactions et les équations de taux exigées par notre modèle d'oscillations de p53 sont conformes au contexte biologique retrouvé dans la bibliographie. Ici seul P53 sera représentée, et nous retrouvons tout comme pour Copasi trois modèles, allant du plus simple au plus complexe. Le plus simple sera composé du minimum d'acteurs nécessaires, à savoir P53 et MDM2. Puis nous rajouterons les acteurs nécessaires à l'apparition des oscillations pour enfin prendre en compte tous les paramètres nécessaires. Le code du modèle simplifié de Scilab est en annexe. (Annexe C)

En faisant une réduction de modèle maximale, on obtient cinq réactions :

RÉACTION DU MODÈLE SCILAB

— Cette figure comprend les paramètres du modèle sur Scilab.

```

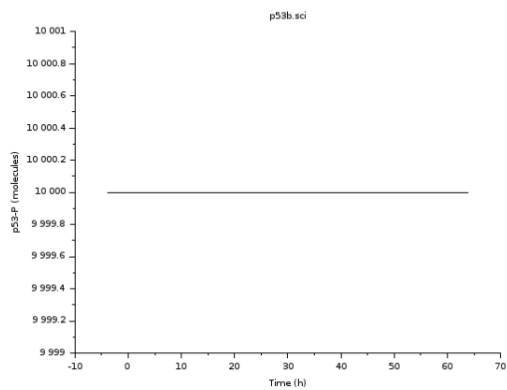
1 // Modèle simplifié
2 //
3 //--Index---- Symbol
4 //-----
5 //--x(1)---p53
6 //--x(2)---Mdm2
7 //
8 //--Index----Reaction
9 //-----
10 //--v(1)---p53-----(v1)->-null
11 //--v(2)---Mdm2-----(v2)->-null.*
12 //--v(3)---Mdm2 + p53-----(v3)->-Mdm2
13 //--v(4)---null-----(v4)->-p53
14 //--v(5)---null-----(v5)->-Mdm2.*
15
16 function [x_dot,v] = mod_ode(t,x)
17
18 // x_dot = zeros( length(x) ,1 );
19
20 //.*
21 //.* On définit les réactions:
22 //.*
23
24 // p53---(v1)->-null
25 v(1) = k(1) * x(1);
26
27 // Mdm2---(v2)->-null
28 v(2) = k(2) * x(2);
29
30 // Mdm2 + p53---(v3)->-Mdm2
31 v(3) = k(3) * x(1) * x(2);
32
33 // null---(v4)->-p53
34 v(4) = k(4);
35
36 // null---(v5)->-Mdm2
37 v(5) = k(5);
38
39 //.*
40 //.* On définit les dérivées:
41 //.*
42
43 // p53
44 x_dot(1) = v(4) - v(3) - v(1);
45
46 // Mdm2
47 x_dot(2) = v(5) - v(2);
48
49 endfunction

```

FIGURE 7

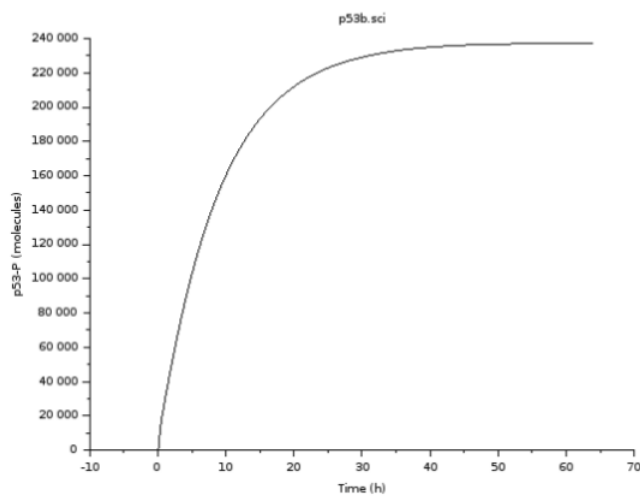
RÉSULTATS POUR LE MODÈLE SUR SCILAB

- La figure ci dessous représente en fonction du temps le nombre de molécules de P53.



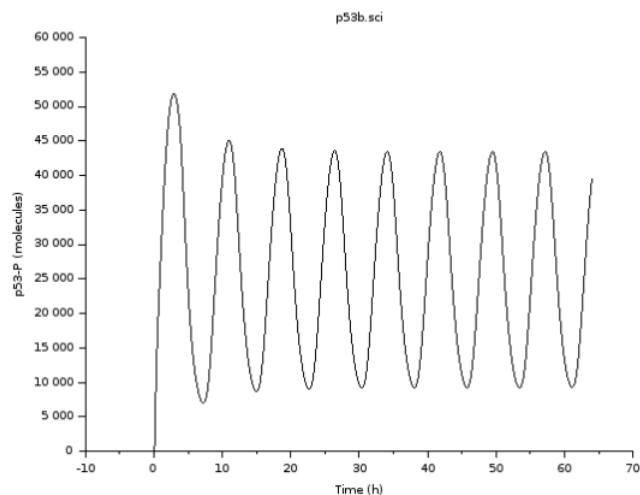
(a) Courbes de concentrations

- La courbe ci dessous représente en fonction du temps le nombre de molécules de P53.



(b) Courbes de concentrations

- La courbe ci dessous représente en fonction du temps le nombre de molécules de P53.



(c) Courbes de concentrations

4.3.2 Équilibre stable

Cependant, comme vu précédent sur Copasi, malgré un système qui tourne on ne retrouve pas d'oscillation, seulement un état d'équilibre de P53 du à la compensation par l'inhibiteur MDM2 (Fig. 8a)

Lorsque nous complexifions le modèle de la même manière que sur le modèle Copasi en rajoutant d'autres paramètres, notamment l'hétéro-dimérisation de P53 et MDM2 (P53_MDM2), la rupture de leur liaison, la phosphorylation de P53 (P53-P) etc. cela s'améliore et on observe une dynamique de P53 mais qui arrive très rapidement à son point d'équilibre (Fig. 8b)

4.3.3 Obtention des oscillations

Pour arriver à trouver des oscillations, on se rend compte qu'il faut rajouter une variable, qui est le délai de temps nécessaire à l'apparition de ces oscillations (variable DELAY sur Scilab). On va s'aider pour cela de la variable HISTORY-X, qui est une variable d'entrées. Chaque entrée de la liste correspond à une durée de temps, sous forme de vecteur regroupant toutes les variables calculées lors des différentes durées de temps (permet de "stocker").

Pour que notre système fonctionne et qu'on retrouve bien des oscillations, il faut également rajouter un facteur de stress. Ici pour simuler la réponse à un rayonnement ionisant, nous rajoutons au temps $t = 0$ un paramètre clé, k11, qui jusqu'ici avait une valeur nulle. Nous laissons le taux de production du signal aller à $5 \cdot 10^5$ molécules/heure. Cette stimulation est faite en continu par intervalle de temps, ce qui nous donne de très visibles oscillations (Fig. 8c)

5 Discussion

Tous les modèles sont exclusivement constitués de réactions d'action de masse irréversibles, le choix de partitionner les réactions s'explique par la volonté de simplifier les modèles qui peuvent comporter plus d'une dizaine de paramètres et aussi d'y ajouter du délai.

5.1 Choix du modèle

Après avoir passé en revue dans la bibliographie les différentes dynamiques des voies impliquant P53 [10] et comme il s'agit ici de mettre en évidence un système oscillant nous avons choisi de travailler sur la voie ARF. Cette voie est celle qui fait apparaître des oscillations maintenues avec le plus de robustesse. Les oscillations de la voie ATM sont d'une très grande diversité et sont plus complexes à étudier [17] [18]. Nous allons interpréter les résultats des différents modèles construits autour des acteurs biologiques qui constituent ces systèmes [12]. Pour cette étude nous nous sommes limités à la boucle négative qui met en jeu P53 [8].

Pendant la recherche bibliographique nous avons pu rejeter différents modèles (ex : Annexe C) qui explorent la dynamique de ce système. Nous voulions pour cette étude construire un modèle qui permettait à la fois de rendre compte de la dynamique oscillatoire mais qui aussi mettait en jeu les vrais acteurs biologiques de cette régulation.

5.2 Modélisation sur Copasi

5.2.1 Modèle simple

Ce modèle a permis de mettre en avant l'idée qu'en l'absence de délai il est impossible d'obtenir la dynamique oscillatoire attendue. Ceci place la notion de temps au centre du problème et en fait l'un des paramètres principaux de cette étude.

Les équations différentielles du modèles sont les suivantes :

$$\frac{d[MDM2] \cdot V_{cell}}{dt} = V_{cell} \cdot k1_{Syn_MDM2} \cdot [P53] - V_{cell} \cdot k2_{Deg_MDM2} \cdot [MDM2]$$

$$\frac{d[P53] \cdot V_{cell}}{dt} = V_{cell} \cdot k1_{Syn_P53} \cdot [Source] - V_{cell} \cdot k2_{Syn_MDM2} \cdot [P53] - V_{cell} \cdot k3_{binding_P53} \cdot [P53]$$

Concernant la sensibilité du modèle : les paramètres font changer l'allure de la courbe. Cependant comme il n'y a pas d'oscillation à observer, ces changement n'ont pas d'impact sur la dynamique générale du modèle.

5.2.2 Modèle intermédiaire

Ce modèle a permis de trouver les paramètres importants de l'interaction entre P53 et MDM2. C'est comme pour la durée des oscillations un résultat vérifiés en bibliographie [12]. Pour ce modèle nous avons pu nous rendre compte que les oscillations apparaissaient avec l'arrivée du facteur de stress. Nous avons aussi choisit à cette étape de la modélisation de cibler à la fois MDM2 et P53 pour obtenir plus d'oscillations. Nous n'avons pas pu trouver de paramètre qui fasse varier l'amplitude des oscillations. Il est probable que ces variations ne puissent pas encore être obtenues, du fait du manque d'intermédiaires et de délai. Ces points sont aussi relevables du fait que les oscillations sont moins nombreuses que dans le modèle ARF complet (Annexe A).

5.2.3 Simulation multi compartiments

Nous aurions aimé pousser la simulation du modèle un peu plus loin pour faire intervenir P53 dans plusieurs compartiments d'une même cellule. Ainsi nous aurions pu créer plus de délai et approcher de manière plus rigoureuse des origines de la dynamique oscillatoire. Cependant nous avons pu simuler le passage du signal apoptotique (ici l'augmentation de [P53]) d'une cellule à une autre en simulant des pulses de P53. Les résultats obtenus sont ceux attendus et décrits en bibliographie, les oscillations s'amortissent et les concentrations s'équilibrent plus vite que dans une seule cellule.

5.3 Modélisation sur Scilab

Le but ici était de vérifier nos recherches sur Copasi à l'aide d'un modèle similaire ainsi que d'en apprendre davantage sur les paramètres mis en jeu. Ainsi on a pu remarquer que P53 agit dans des compartiments (cellules) aux conditions physiologiques variées, qu'elle varie en concentrations et que dans les deux modèles certaines données importantes sont retrouvées (modification des paramètres, délais de stimulation, apparition d'un stress). L'étude des diverses méthodes nous ont conforté dans l'idée qu'il y a des paramètres clés permettant à nos molécules d'intérêt d'effectuer leur travail, et nous pouvons tester la robustesse de nos modèles. En effet en faisant varier chaque flux, nous montrons qu'un flux conséquent de P53 est nécessaire pour que cette dernière soit réactive aux rayonnements, et déclencher ainsi les oscillations. En revanche, un flux élevé MDM2 n'est pas nécessaire, mais sert plutôt à contrôler le temps réfractaire en réponse à la stimulation transitoire. Si le flux de MDM2 est faible, le second stimulus sera moins appréciable.

5.4 Limites du projet

5.5 Dynamique oscillatoire et Vieillesse

Pour cette étude il aurait aussi été très intéressant de poursuivre le travail de modélisation en ajoutant des paramètres d'efficacité. On aurait pu moduler ces paramètres afin de rendre compte du fonctionnement des cellules dans le temps. Une cellule plus vieille aurait eu une efficacité réduite. Si le modèle et les outils nécessaires sont réunis, on pourrait attendre de cette simulation d'observer les cellules choisir des voies différentes (apoptose, sénescence).

5.6 Boucles analogues au système P53-MDM2

Il est apparu que P53 n'est pas seulement soumise à une rétroaction négative mais aussi à d'autres et nombreux systèmes de régulation. Dans la démarche de comprendre, la source et les fonctions de ces oscillations, il aurait été intéressant d'étudier plus en profondeur ces systèmes.

5.7 Simulation in silico

La modélisation discrète n'est pas appréciable pour ce projet. On aurait pu faire une approche du modèle stochastique afin de mieux tester la robustesse du modèle, avec par exemple la théorie logique des réseaux de régulation de René Thomas (table des vérités, etc)

6 Conclusion

Dans cette étude, nous avons pu mettre en avant les fonctions premières de P53 et comment cette molécule évolue dans un système complexe de régulation. Grâce à Copasi nous avons pu reconstruire la dynamique de P53, depuis son interaction la plus élémentaire avec MDM2 jusqu'à sa participation à une simulation multi-cellules. Grâce à Scilab, une approche plus mathématique (nécessitant des lignes de code et de trouver nous-même les équations différentielles), nous a permis de vérifier grâce à un modèle similaire la véracité de notre modélisation sur Copasi. Ces deux approches, en plus de s'accorder, se complètent, et ensemble enrichissent le projet. La variabilité des paramètres, la robustesse des modèles, et l'approche biologique présentée sous-tendent l'incroyable progression de la science grâce à la bio-informatique, tant sur le point de la compréhension de la mécanique des systèmes que sur le plan des prévisions thérapeutiques.

Références

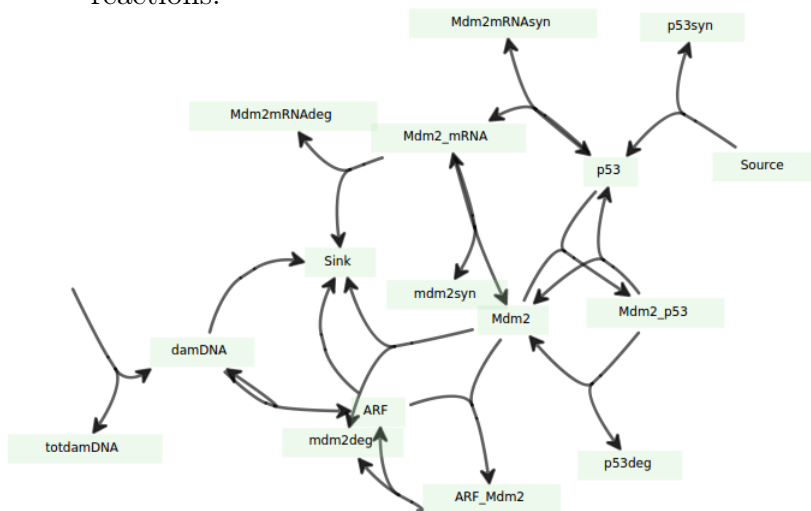
- [1] CH Arrowsmith. Structure and function in the p53 family. *Cell death and differentiation*, 6(12) :1169–1173, 1999.
- [2] Ling Bai and Wei-Guo Zhu. p53 : structure, function and therapeutic applications. *J Cancer Mol*, 2(4) :141–153, 2006.
- [3] Indrani Bose and Bhaswar Ghosh. The p53-mdm2 network : from oscillations to apoptosis. *Journal of biosciences*, 32(1) :991–997, 2007.
- [4] Patrick Chène. Inhibiting the p53–mdm2 interaction : an important target for cancer therapy. *Nature reviews cancer*, 3(2) :102–109, 2003.
- [5] Warren L DeLano. The pymol molecular graphics system. 2002.
- [6] Tamar Enoch and Chris Norbury. Cellular responses to dna damage : cell-cycle checkpoints, apoptosis and the roles of p53 and atm. *Trends in biochemical sciences*, 20(10) :426–430, 1995.
- [7] James M Ford. Regulation of dna damage recognition and nucleotide excision repair : another role for p53. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 577(1) :195–202, 2005.
- [8] Sandra L Harris and Arnold J Levine. The p53 pathway : positive and negative feedback loops. *Oncogene*, 24(17) :2899–2908, 2005.
- [9] Akihiro Isomura and Ryoichiro Kageyama. Ultradian oscillations and pulses : coordinating cellular responses and cell fate decisions. *Development*, 141(19) :3627–3636, 2014.
- [10] Xia Jun-Feng and Jia Ya. A mathematical model of a p53 oscillation network triggered by dna damage. *Chinese Physics B*, 19(4) :040506, 2010.
- [11] Marie P Khoury and Jean-Christophe Bourdon. p53 isoforms an intracellular microprocessor? *Genes & cancer*, 2(4) :453–465, 2011.
- [12] Galit Lahav, Nitzan Rosenfeld, Alex Sigal, Naama Geva-Zatorsky, Arnold J Levine, Michael B Elowitz, and Uri Alon. Dynamics of the p53-mdm2 feedback loop in individual cells. *Nature genetics*, 36(2) :147–150, 2004.
- [13] Chen Li, Marco Donizelli, Nicolas Rodriguez, Harish Dharuri, Lukas Endler, Vijayalakshmi Chelliah, Lu Li, Eno He, Arnaud Henry, Melanie I Stefan, et al. Biomodels database : An enhanced, curated and annotated resource for published quantitative kinetic models. *BMC systems biology*, 4(1) :92, 2010.
- [14] Paul Michael Loriaux and Alexander Hoffmann. A protein turnover signaling motif controls the stimulus-sensitivity of stress response pathways. *PLoS computational biology*, 9(2) :e1002932, 2013.
- [15] Carl G Maki, Jon M Huibregtse, and Peter M Howley. In vivo ubiquitination and proteasome-mediated degradation of p53. *Cancer Research*, 56(11) :2649–2654, 1996.
- [16] Carol Prives and Peter A Hall. The p53 pathway. *The Journal of pathology*, 187(1) :112–126, 1999.
- [17] Carole J Proctor and Douglas A Gray. Explaining oscillations and variability in the p53-mdm2 system. *BMC systems biology*, 2(1) :75, 2008.
- [18] Jeremy Rice, Lan Ma, John Wagner, Gus Stolovitzky, Arnie Levine, and Wenwei Hu. Predictions and validation of a model for the oscillatory response of p53 to dna damage.
- [19] Faculté des Sciences Université Aix Marseille. Mécanismes de surveillance du cycle cellulaire. http://biologie.univ-mrs.fr/upload/p100/poly_checkpoints.pdf.
- [20] Faculté des Sciences Université de Nice. Etude des équilibres d’un système différentiel. <http://math.unice.fr/~diener/MpB2011-2012/COURS5MpB.pdf>.

Appendices

A Modèle retenu : ARF

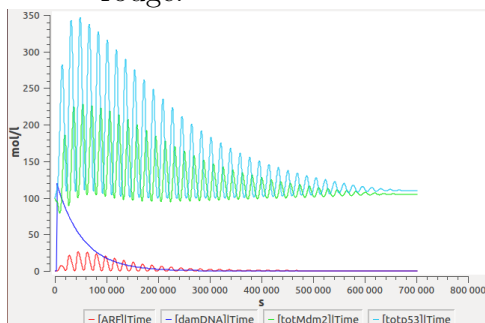
RÉSULTATS POUR LE MODÈLE ORIGINAL ARF [17]

— Ce diagramme représente les réactions du modèle. Les flèches indiquent le sens des réactions.



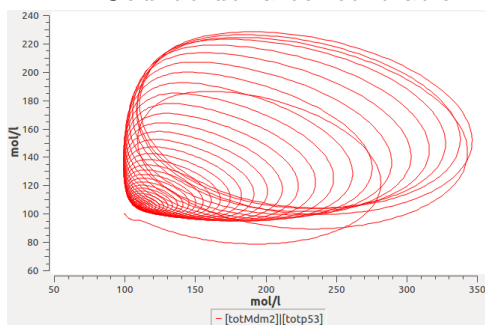
(a) Acteurs du système

— Les courbes ci dessous représentent en fonction du temps les concentrations de P53 en bleu clair, MDM2 en vert, de l'ADN endommagé en bleu foncé et ATM en rouge.



(b) Courbes de concentrations

— Courbe de la concentration de P53 (en x) en fonction de celle de MDM2 (en y).



(c) Point d'équilibre du système

FIGURE 9

B Modèle non retenu

- Ce modèle constitue une approche plus mathématique que biologique.[13]
Les paramètres n'ont pas pu être expliqués par la bibliographie et paraissent avoir été fixés arbitrairement pour obtenir les oscillations.

BIOMD000000154 - Zatorsky2006_p53_Model13

Download SBML | Other formats (auto-generated) | Actions | Send feedback

Model | Overview | Physical entities | Parameters | Curation

Create a submodel with selected elements Deselect All

Model

Publication ID: [16773083](#) | Submission Date: 14 Jan 2008 21:29:55 UTC | Last Modification Date: 20 Mar 2014 16:22:51 UTC | Creation Date: 10 Jan 2008 17:38:04 UTC

Mathematical expressions

Reactions
 [p53 production](#) [Mdm2 independent p53 degradation](#) [Mdm2 dependent p53 degradation](#) [p53 dependent Mdm2 production](#)
 [Mdm2 degradation](#)

Physical entities

Compartments Species
 cell [p53](#) [Mdm2](#)

Global parameters

beta_x	psi	alpha_x
beta_y	alpha_y	tau
		alpha_xy

C Codes pour le modèle Scilab

— D'après Loriaux et al., 2013 (modifié) [14]

Code scilab de la réduction de modèle :

1

2

```
1 // Modèle simplifié
2 //
3 // -Index- -Symbol-
4 // =====
5 // -x(-1)- -p53
6 // -x(-2)- -Mdm2
7 //
8 // -Index- -Reaction
9 // =====
10 // -v(-1)- -p53- --(v1)->- null
11 // -v(-2)- -Mdm2- --(v2)->- null.*
12 // -v(-3)- -Mdm2.+ -p53- --(v3)->- Mdm2
13 // -v(4)- -null- --(v4)->- p53
14 // -v(5)- -null- --(v5)->- Mdm2.*
15
16 function [x_dot,v] = mod_ode(t,x)
17
18     x_dot = zeros(length(x),1);
19
20     //.*
21     //.* On définit les réactions:
22     //.*
23     //
24     // -p53- --(v1)->- null
25     v(1) = k(1)*x(1);
26
27     // -Mdm2- --(v2)->- null
28     v(2) = k(2)*x(2);
29
30     // -Mdm2.+ -p53- --(v3)->- Mdm2
31     v(3) = k(3)*x(1)*x(2);
32
33     // -null- --(v4)->- p53
34     v(4) = k(4);
35
36     // -null- --(v5)->- Mdm2
37     v(5) = k(5);
38
39     //.*
40     //.* On définit les dérivées:
41     //.*
42     //
43     // -p53
44     x_dot(1) = v(4) - v(3) - v(1);
45
46     // -Mdm2
47     x_dot(2) = v(5) - v(2);
48
49 endfunction
```

```
50 //.*
51 //.*
52 //.* Initialization
53 //.*
54
55 function [x0,k] = mod_init(p)
56
57     if exists('p','l')
58         p = getP();
59     end
60
61 // -Steady-state concentrations
62 x0 = zeros(2,1);
63
64 x0(1) = p(1); // -p53
65 x0(2) = p(5)/p(2); // -Mdm2
66
67
68 // -Rate constants
69 k = zeros(5,1);
70
71 k(1) = p(4)/p(1) - (p(3)*p(5))/p(2); // -taux de dégradation de p53 inactive
72 k(2) = p(2); // -taux de dégradation mdm2
73 k(3) = p(3); // -taux de dégradation mdm2-p53 inactif
74 k(4) = p(4); // -taux de production p53 inactive
75 k(5) = p(5); // -taux de production p53+mdm2
76
77 endfunction
78
79 //
80 //
81 // -Returns the scaled parameterization vector p, where
82 // -we have let
83 //
84 // -1.Cs.(Batchelor et al.) ->- 5e4 molecules
85 //
86 // -1.hour.(Batchelor et al.) ->- 1.33.hours
87 //
88
89 function p = getP()
90
91     p = zeros(5,1);
92
93     p(1) = 1.5e4; // -p53- -Molecules
94     p(2) = 0.75; // -a_m- -h^-1
95     p(3) = 7.5e-5; // -a_mpi- -Cs^-1.h^-1
96     p(4) = 3.38e4; // -b_p- -Cs.h^-1
97     p(5) = 7.5e3; // -b_mi- -Cs.h^-1
```


3

```

10 --return( p );
11
12
13 endfunction
14
15 //
16 // -Simulates the p53 model.
17 //
18 // -Arguments:
19 //
20 // -theta_p - the p53 flux multiplier. Default is 1.
21 // -theta_m - the Mdm2 flux multiplier. Default is 1.
22 // -stim - if 0, a step-in-k11 is used (default). Else the 2x pulse.
23 // -tstep - time step. Default is 0.1.
24 // -tstim - the time at which to apply the stimulus. Default is 4.
25 // -tmax - time to which simulation is run. Default is 132.
26 // -plotflag - if 0, no plot is generated. Default is 1.
27
28 function [t,x] = simulate( theta_p, theta_m, stim, ...
29   tstim, tmax, plotflag )
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100
101
102
103
104
105
106
107
108
109
110
111
112
113
114
115
116
117
118
119
120
121
122
123
124
125
126
127
128
129
130
131
132
133
134
135
136
137
138
139
140
141
142
143
144
145
146
147
148
149
150
151
152
153
154
155
156
157
158
159
160
161
162
163
164
165
166
167
168
169
170
171
172
173
174
175
176
177
178
179
180
181
182
183
184
185
186
187
188
189
190
191
192
193
194
195
196
197
198
199
200
201
202
203
204
205
206
207
208
209
210
211
212
213
214
215
216
217
218
219
220
221
222
223
224
225
226
227
228
229
230
231
232
233
234
235
236
237
238
239
240
241
242
243
244
245
246
247
248
249
250
251
252
253
254
255
256
257
258
259
260
261
262
263
264
265
266
267
268
269
270
271
272
273
274
275
276
277
278
279
280
281
282
283
284
285
286
287
288
289
290
291
292
293
294
295
296
297
298
299
300
301
302
303
304
305
306
307
308
309
310
311
312
313
314
315
316
317
318
319
320
321
322
323
324
325
326
327
328
329
330
331
332
333
334
335
336
337
338
339
340
341
342
343
344
345
346
347
348
349
350
351
352
353
354
355
356
357
358
359
360
361
362
363
364
365
366
367
368
369
370
371
372
373
374
375
376
377
378
379
380
381
382
383
384
385
386
387
388
389
390
391
392
393
394
395
396
397
398
399
400
401
402
403
404
405
406
407
408
409
410
411
412
413
414
415
416
417
418
419
420
421
422
423
424
425
426
427
428
429
430
431
432
433
434
435
436
437
438
439
440
441
442
443
444
445
446
447
448
449
450
451
452
453
454
455
456
457
458
459
460
461
462
463
464
465
466
467
468
469
470
471
472
473
474
475
476
477
478
479
480
481
482
483
484
485
486
487
488
489
490
491
492
493
494
495
496
497
498
499
500
501
502
503
504
505
506
507
508
509
510
511
512
513
514
515
516
517
518
519
520
521
522
523
524
525
526
527
528
529
530
531
532
533
534
535
536
537
538
539
540
541
542
543
544
545
546
547
548
549
550
551
552
553
554
555
556
557
558
559
560
561
562
563
564
565
566
567
568
569
570
571
572
573
574
575
576
577
578
579
580
581
582
583
584
585
586
587
588
589
590
591
592
593
594
595
596
597
598
599
600
601
602
603
604
605
606
607
608
609
610
611
612
613
614
615
616
617
618
619
620
621
622
623
624
625
626
627
628
629
630
631
632
633
634
635
636
637
638
639
640
641
642
643
644
645
646
647
648
649
650
651
652
653
654
655
656
657
658
659
660
661
662
663
664
665
666
667
668
669
670
671
672
673
674
675
676
677
678
679
680
681
682
683
684
685
686
687
688
689
690
691
692
693
694
695
696
697
698
699
700
701
702
703
704
705
706
707
708
709
710
711
712
713
714
715
716
717
718
719
720
721
722
723
724
725
726
727
728
729
730
731
732
733
734
735
736
737
738
739
740
741
742
743
744
745
746
747
748
749
750
751
752
753
754
755
756
757
758
759
760
761
762
763
764
765
766
767
768
769
770
771
772
773
774
775
776
777
778
779
780
781
782
783
784
785
786
787
788
789
790
791
792
793
794
795
796
797
798
799
800
801
802
803
804
805
806
807
808
809
810
811
812
813
814
815
816
817
818
819
820
821
822
823
824
825
826
827
828
829
830
831
832
833
834
835
836
837
838
839
840
841
842
843
844
845
846
847
848
849
850
851
852
853
854
855
856
857
858
859
860
861
862
863
864
865
866
867
868
869
870
871
872
873
874
875
876
877
878
879
880
881
882
883
884
885
886
887
888
889
890
891
892
893
894
895
896
897
898
899
900
901
902
903
904
905
906
907
908
909
910
911
912
913
914
915
916
917
918
919
920
921
922
923
924
925
926
927
928
929
930
931
932
933
934
935
936
937
938
939
940
941
942
943
944
945
946
947
948
949
950
951
952
953
954
955
956
957
958
959
960
961
962
963
964
965
966
967
968
969
970
971
972
973
974
975
976
977
978
979
980
981
982
983
984
985
986
987
988
989
990
991
992
993
994
995
996
997
998
999
1000

```

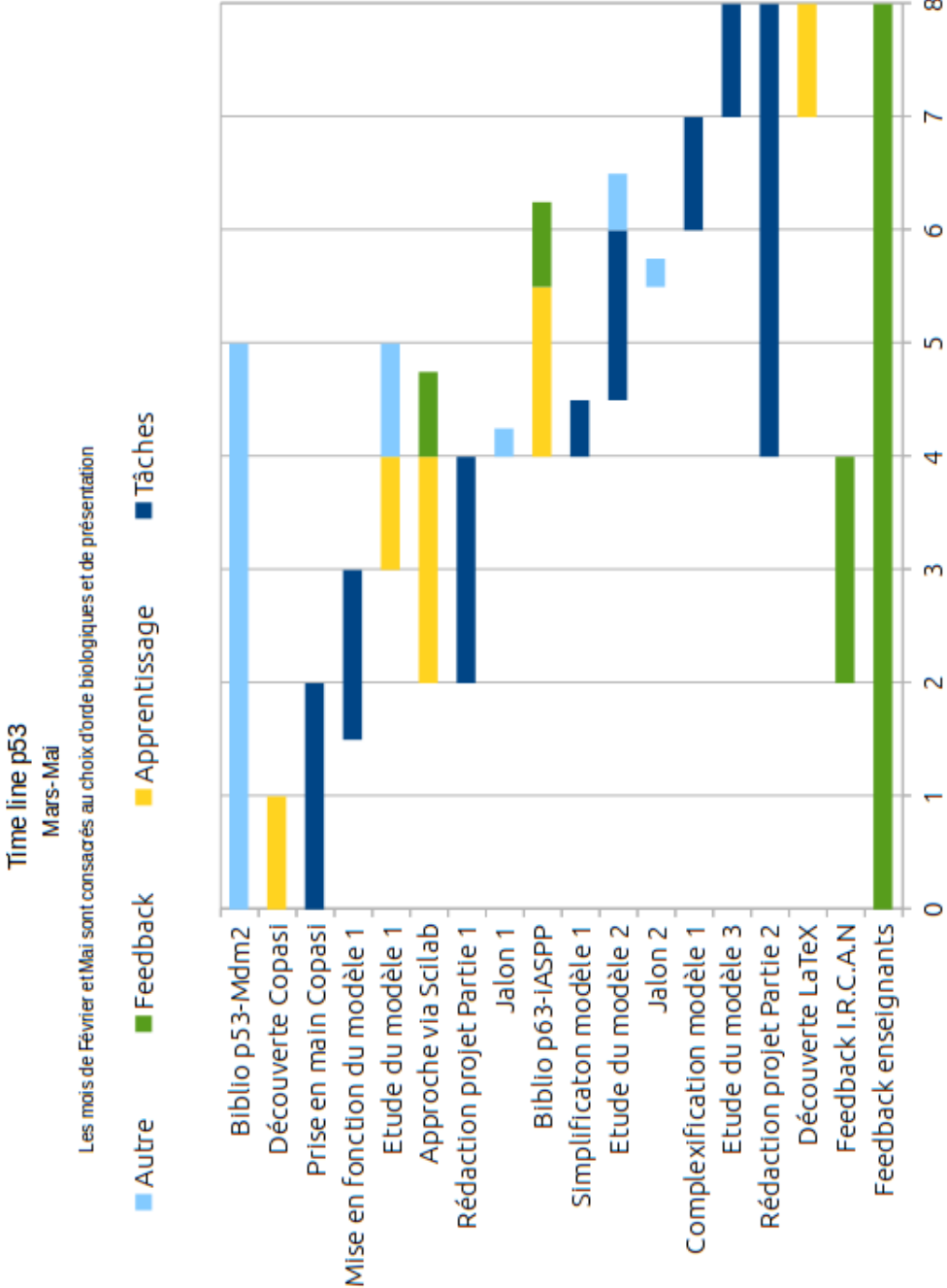
4

```

30 ... error("For pulse stimulus, argument tmax must be >= tstim+26.");
31 end
32
33 // -Get parameters
34 p = getP();
35
36 // -Vary the p53 flux
37 p(4) = p(4) + (p(4) - p(1)*p(3)*p(5)/p(2))*(theta_p-1);
38
39 // -Vary the Mdm2 flux
40 p(2) = p(2) + p(2)*(theta_m - 1);
41 p(5) = p(5) + p(5)*(theta_m - 1);
42
43 // -Initialize-
44 [x0,k] = mod_init( p );
45
46
47 // -The time-evolved history of species abundances
48
49 // -Prestimulate
50 t = 0:tstep:tstim;
51 x1 = ode('stiff', x0, 0, t, rtol=1e-3, atol=1e-4, mod_ode );
52 x0 = x1(:, $);
53
54 // -Stimulate
55 if ~stim
56 t = 0:tstep:tmax-tstim;
57 x2 = ode('stiff', x0, 0, t, rtol=1e-3, atol=1e-4, mod_ode );
58
59 // -Combine
60 t = [ 0:tstep:tstim tstim:tstep:tmax ]-tstim;
61 x = [ x1 x2 ];
62
63 else
64 t2 = 0:tstep:2;
65 t3 = 0:tstep:22;
66 t4 = 0:tstep:2;
67 t5 = 0:tstep:(tmax-tstim-26);
68
69 end
70
71 if plotflag
72 plot2d( t, x(2,:) );
73 xtitle('p53b.sci', 'Time (h)', 'p53-P (molecules)');
74 end
75
76 endfunction

```

D Gant Chart



E Capture LaTeX

The screenshot shows a LaTeX editor interface with a source code window and a log window. The source code window displays the following LaTeX code:

```

\usepackage{graphicx} %images
\usepackage{tocbibind} %table of content options
%\usepackage{subfig}
\usepackage{subcaption} % fig X (a), (b), (c)
\usepackage{url} %\bibli url
\usepackage{float} %
\usepackage[bookmarks=true,bookmarksopen=true,colorlinks,citecolor=black,linkcolor=black]{hyperref} %options ref

\geometry{hmargin=2.5cm,vmargin=1.5cm} %marges
\pagestyle{fancy}
\fancyhead[C]{--\leftmark} %options en tetes et pied
\fancyhead[L]{\uppercase{Partie:}}
\fancyhead[R]{ }

%opening 1
\pretitle{\logo fac
\begin{center}
\includegraphics[scale=0.5]{Logo.png}\}
\posttitle{\end{center}}
\title{\LARGE{Study on modelisation of a negative feedback loop in the p53-Mdm2 system}}
\author{Raphaël BONNET, India LANGLADE}
\date{\today}

\begin{document}

\begin{otherlanguage}{english}
\maketitle
\vspace{5em}
\begin{abstract}

```

The log window shows the following output:

```

./exemple.bbl:105:Underfull \hbox (badness 1292) in paragraph
./exemple.bbl:105:Underfull \hbox (badness 10000) in paragraph
./exemple.tex:560:Overfull \hbox (3.62619pt too wide) in paragraph
[PDFLaTeX] 0 errors, 14 warnings, 11 badboxes
[PDFLaTeX] Done!

```

The status bar at the bottom right indicates "Line: 35 Col: 1 INS LINE" and "Normal mode".

Eric.ROTTINGER@unice.fr wrote:

Bonjour Raphael,
Merci pour ton message et excuse ma réponse tardive mais j'étais en déplacement.
Je crois qu'il me faut un peu plus de renseignements pour bien comprendre ton graphe.

| J'ai enfin mis en place le premier jet de la simulation de p53. Il correspond à l'état stationnaire avant la détérioration de l'ADN avec régulation constante de p53.

p53 est un facteur de transcription (TF) qui possède également une activité indépendante de son rôle en tant que TF et dans les processus interagissant avec un grand nombre de partenaires.

cette protéine est, entre autre, connue pour être impliquée dans:

- 1) l'activation du mécanisme de réparation de l'ADN
- 2) arrêt du cycle cellulaire
- 3) induire l'apoptose

du coup quand tu dis "Il correspond à l'état stationnaire avant la détérioration de l'ADN avec régulation constante de p53", tu parles de quel contexte?

Est-ce que ton but est de modéliser la dégradation de p53 (via mdm2 et autres partenaires?). C'est quoi l'importance de la dégradation de p53 en conditions physiologiques?

| Je vous joins le premier diagramme contenant les acteurs que j'ai utilisés pour cette simulation et la courbe correspondante.

Dans ton diagramme, c'est quoi la "source"?
Mdm2 et p53 peuvent former un complexe, qui une fois dissocié peut redonner Mdm2 et p53 libre. ceci est indiqué par les flèches qui se joignent ou qui se séparent. a quoi correspond la flèche qui va de Mdm2_p53 directement?
La flèche de p53 sur Mdm2_mRNA correspond à quoi? Mdm2 est une cible transcriptionnelle de p53?
La flèche de Mdm2_mRNA qui va vers le haut ou celle de Mdm2 vers la gauche... elles correspondent à quoi?

Je n'ai pas encore le logiciel bien en main, il manque quelques éléments que je dois rajouter (dégradation de p53 indépendante de Mdm2).

J'ai présenté ce premier jet à mes enseignants qui semblent pour l'instant satisfaits de l'avancée du travail. Je vais continuer à ajouter des acteurs et à tester la robustesse du système. Les valeurs (constantes de vitesse, concentrations) pour cette simulation sont celles trouvées en biblio.

super.

J'ai vu par ailleurs que p53 est au cœur d'une boucle de rétroaction négative impliquant l'ASPP et deux micro-ARNs. La figure 8 de l'article ci-joint est assez parlante.
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1038/emboj.2011.302/full>