

Modélisation dynamique de systèmes génétiques de régulation

II. L'induction de l'opéron lactose d'*Escherichia coli* : étude qualitative et numérique du modèle

Florence CORPET, C. CHEVALET, M. GILLOIS et A. MICALI*

*I.N.R.A., Laboratoire de Génétique cellulaire,
Centre de Recherches de Toulouse, B.P. 12, F 31320 Castanet-Tolosan
*Institut de Mathématiques, Université de Montpellier II,
Place Eugène-Bataillon, F 34060 Montpellier*

Résumé

Dans ce second article, nous faisons une analyse mathématique du modèle établi dans la première partie (*Genét. Sél. Evol.*, 15, 1-30). Nous donnons des formules reliant le niveau d'expression de l'opéron et les concentrations des différentes protéines régulatrices. Elles peuvent être très bien approchées par des relations hyperboliques. Quand l'induction est due à un inducteur gratuit, le système évolue vers un unique état induit stable et le niveau d'expression est une fonction sigmoïde de la concentration en inducteur. Dans le cas de l'induction naturelle et pour un certain nombre de souches, nous montrons que le système évolue encore vers un état unique et stable. Nous donnons des conditions sur certains paramètres pour définir des souches telles que l'expression de l'opéron présenterait des oscillations. L'intégration numérique du système permet de comparer l'évolution du système à l'expérience. Nous donnons les limites et les généralisations possibles du modèle.

Mots-clés : Opéron lactose, modèle mathématique, équations différentielles retardées, cinétiques.

Summary

Dynamical modeling of genetic systems of regulation

II. The induction of the Escherichia coli lactose operon: analytical and numerical properties of the model

This second paper deals with the mathematical analysis of the model built up in part I (*Genét. Sél. Evol.*, 15, 1-30). Three parts are devoted to the analysis of the control region responses to regulatory molecules (repressor, CAP, ARN-polymerase and inducer), of the induction process with a gratuitous inducer and of the induction under natural condition by lactose in the medium. By taking account of the known magnitude of some parameters, the qualitative characteristics of the system are derived by analytical methods. Variation of the values of known parameters is used to account for the effect of mutations, to define sets of values for which the system is expected to undergo some phase transition, to estimate values of parameters known only with poor accuracy, and to simulate the system in a quantitative way. Apart from numerical methods, involving the integration of differential systems of orders nine and four, the main technique used is stability analysis, including the effects of the delays inherent in the expression of enzymatic activity, on the stability of an equilibrium point. The main results are:

(i) From the description of the control region of the operon, exact formulae are derived that relate the expression level of the system to fixed intracellular concentrations of regulatory molecules. Although a complex expression has been derived for this relationship, it was observed that with the mutations considered, a simple hyperbolic function was a good approximation.

Further, it is shown by comparative numerical methods that a very accurate approximation of the kinetics of the induction process is obtained, if a fast adjustment of control region states to the concentrations of regulatory molecules is assumed.

(ii) When induction is promoted by a gratuitous inducer, it is proven that, given the known effect of cAMP on transcription, there exists only one stable equilibrium point that describes the induced state of the bacterium. The model allows a discussion about the observed sigmoidicity of the induction curve given by the β -galactosidase expression as a function of the inducer concentration in the medium; it is also suggested that the specificity of the permease is very high for lactose, as compared to other galactosides.

(iii) Theoretically, the model of induction by lactose could exhibit three equilibrium states for some values of the lactose concentration in the medium, but actual values of parameters, as evaluated from *in vitro* studies of the wild type operon, as well as on known mutant genotypes, suggest that there exists only one equilibrium point. Existence of multiple steady states would require a β -galactosidase enzyme that is infinitely more efficient than the wild type one. Also, for all the known mutants considered, the equilibrium point is found to be stable, whatever the lactose concentration. Destabilisation of the equilibrium point, and existence of sustained oscillations might occur in multiple mutants. Such a phenotype would require a mutant repressor with reduced affinity for inducer and an inversion of the assumed ratio of mean life times of permease and galactosidase enzymes. At present, such a combination does not seem realistic.

Computer simulation of the system yields a good approximation of the observed induction curves of galactosidase activity. The simulation suggests a two-step process, and yields some predictions about the relationships between the intracellular concentrations of lactose and allolactose and enzymatic activities. The quantitative comparison of multiple mutants grown in different lactose concentrations gives some insight into the combined effects of gene substitution and environmental change on the expression of a polygenic system.

The discussion stresses some proposals for further experiments, and limitations of the approach used. As in other related works, limitations of this general approach are imposed by the deterministic formulation and ignorance of the physiology of cell division and proliferation. Also discussed are the extension of the methodological tools developed in this paper to other systems and possible generalization of specific results.

Key-words: lac operon, mathematic model, differential equation with delays, kinetics.

I. Introduction

Dans la première partie de cette étude (cf. CHEVALET *et al.*, 1983) (*), nous avons établi un modèle mathématique décrivant l'induction de l'opéron lactose d'*Escherichia coli*. Ce modèle s'exprime par un ensemble d'équations différentielles qui relient les concentrations des enzymes (Y : la perméase du lactose et Z , la β -galactosidase) et celles des substrats (L : le lactose intracellulaire, I : l'allolactose) du système. Cette mise en équations se fait en tenant compte des différents états possibles de la région de contrôle de l'opéron (opérateur et promoteur). A chaque instant, la situation de cette région est décrite par les probabilités notées $x_i(t)$ ($i = 1, \dots, 6$) de ses six états.

Le modèle s'appuie, d'une part sur les propriétés connues de ses différents éléments (interactions entre les gènes de régulation et les molécules régulatrices, cinétiques des enzymes perméase et galactosidase) et, d'autre part, sur la description de mécanismes généraux du fonctionnement cellulaire (synthèse des protéines, perméation passive, etc.). Les équations présentées dans la première partie (I, § V.A.) font intervenir de nombreux paramètres dont la signification et des valeurs numériques probables sont données dans I, § V.B. et rappelées ici (tabl. 1).

(*) Dans la suite, ce travail sera référencé sous la forme (I, ...) suivie d'un numéro de paragraphe, figure ou tableau.

TABLEAU 1 (cf. I, tableau 3)

*Définitions et notations des paramètres et des variables du modèle.
Definitions and notations of parameters and variables in the model.*

1. INTERACTIONS ENTRE LES MOLÉCULES RÉGULATRICES ET LES GÈNES DE CONTRÔLE

Répresseur : R ; inducteur : I ; complexe activateur cAMP-CAP : C ; polymérase : P.

1.1. Paramètres

Interaction	Définition	Symbole	
Inducteur et répresseur lié à l'opérateur.	Coefficient d'équilibre de l'association.	l_2/l'_2	
Répresseur et opérateur.	Coeff. d'association. Coeff. de dissociation ($I = 0$). Coeff. de dissociation ($I = \infty$). Coeff. de dissociation apparent	Sans C k_1 k'_{11} K_1, k'_{11} $k'_1(I)$	Avec C k_2 k'_{21} K_2, k'_{21} $k'_2(I)$
Complexe activateur et promoteur.	Coeff. d'association. Coeff. de dissociation.	Sans R d_1 d'_1	Avec R d_2 d'_2
Polymérase et promoteur.	Avec R, la liaison est supposée impossible. Sans R, et : Coeff. d'association. Coeff. de dissociation. Probabilité d'initiation de la transcription par unité de temps à partir d'un état lié.	Sans C m_5 m'_5	Avec C m_6 m'_6 m'_e

1.2. Variables

Les probabilités $x_i(t)$ des six états possibles de la région de contrôle. La transcription peut être initiée à partir des états 5 ou 6.

2. TRANSCRIPTION, ET SYNTHÈSE DES ENZYMES PERMEASE ET β -GALACTOSIDASE

2.1. Paramètres

- délais globaux de la synthèse des enzymes, entre le début de la transcription et l'apparition de l'activité : τ_y et τ_z ;
- effets relatifs de la polarité de la transcription en absence du complexe activateur : α_y et α_z ;
- efficacités globales du processus de traduction : K_y et K_z .

TABLEAU 1 (suite)

2.2. Variables

Concentrations intracellulaires en perméase (Y) et en β -galactosidase (Z), exprimées en nombres de sites actifs par cellule.

3. ACTIVITÉS ENZYMATIQUES

3.1. Paramètres

Perméase :	constante de Michaelis : K_M constante catalytique : k_c coefficient de dégradation : K'_y
β -galactosidase :	constantes de Michaelis : β et β/α constantes catalytiques : a, b, c coefficient de dégradation : K'_z

3.2. Variables

E	: concentration d'un inducteur gratuit dans le milieu
L_e	: concentration du lactose dans le milieu
L	: concentration du lactose dans la cellule
I	: concentration de l'allolactose (inducteur) dans la cellule
$dG/dt = dGal/dt$: vitesse de production du glucose et du galactose, par hydrolyse du lactose.

L'état de la région de contrôle est régi par le système dynamique :

$$\begin{aligned} \frac{dx_1}{dt} &= -(d_1C + k_1R + m_5P)x_1 + d'_1x_2 + k'_1x_3 + m'_5x_5 + m'_6x_6 \\ \frac{dx_2}{dt} &= d_1Cx_1 - (d'_1 + k_2R + m_6P)x_2 + k'_2x_4 \\ \frac{dx_3}{dt} &= k_1Rx_1 - (k'_1 + d_2C)x_3 + d'_2x_4 \\ \frac{dx_4}{dt} &= k_2Rx_2 + d_2Cx_3 - (k'_2 + d'_2)x_4 \\ \frac{dx_5}{dt} &= m_5Px_1 - m'_5x_5 \\ \frac{dx_6}{dt} &= m_6Px_2 - m'_6x_6. \end{aligned} \quad (1a)$$

Si l'on désigne par $X(t)$ le vecteur colonne de composantes $x_i(t)$ ($i=1, \dots, 6$) et par A la matrice des coefficients, le système ci-dessus peut s'écrire sous forme matricielle :

$$\frac{dX}{dt} = A \cdot X(t).$$

Les coefficients k'_i ($i=1, 2$) s'écrivent :

$$k'_i = k'_i \frac{1 + K_i u}{1 + u} \quad (i=1, 2) \quad (1b)$$

où u est une variable sans dimension qui relie la concentration intracellulaire I de l'inducteur à son affinité pour le répresseur :

$$u = \frac{I_2 I}{I_2'} \quad (1c)$$

Cette quantité caractérise la capacité d'induction de l'allolactose pour un allèle défini du gène de structure du répresseur.

La synthèse des enzymes est décrite par les équations

$$\frac{dY}{dt} = K_y (\alpha_y x_5(t - \tau_y) + x_6(t - \tau_y)) - K_y' Y(t) \quad (2)$$

$$\frac{dZ}{dt} = K_z (\alpha_z x_5(t - \tau_z) + x_6(t - \tau_z)) - K_z' Z(t).$$

Finalement, pour les *concentrations des substrats* dans le cas d'une induction naturelle par le lactose en concentration L_c dans le milieu, on a le système différentiel

$$\frac{dL}{dt} = \frac{k_c L_c}{K_M + L_c} Y + k_s (L_c - L) - Z \frac{(a+b)L}{L + \alpha I + \beta} \quad (3a)$$

$$\frac{dI}{dt} = Z \frac{bL - \alpha cI}{L + \alpha I + \beta}$$

avec, comme taux de production de glucose :

$$\frac{dG}{dt} = Z \frac{aL + \alpha cI}{L + \alpha I + \beta} \quad (4)$$

Dans le cas d'une induction par un inducteur non métabolisé en concentration E dans le milieu, on a :

$$\frac{dI}{dt} = \frac{k_c^0 E}{K_M^0 + E} Y + k_s^0 (E - I). \quad (3b)$$

Par la suite on étudiera les systèmes (1), (2), (3b), décrivant l'induction par un inducteur gratuit et (1), (2), (3a), (4), représentant le mécanisme naturel de l'induction par le lactose. On se limitera aux situations où la concentration extracellulaire du glucose demeure constante, de sorte que les aspects dynamiques de la répression catabolique n'interviennent pas. Leur prise en compte serait nécessaire pour décrire la cinétique de la transition qui s'opère quand une population, cultivée sur les deux substrats, glucose et lactose, passe de l'utilisation exclusive du glucose à celle du lactose (phénomène de diauxie). Cette modélisation exigerait, en outre, un mode de description qui prenne en compte simultanément la croissance de la population.

On présente donc dans la suite l'étude du seul mécanisme de l'induction, que l'on peut observer quand une population, carencée en glucose, est mise en présence de lactose. Les résultats présentés concernent trois aspects du phénomène.

Une première section est consacrée à une analyse détaillée des modalités de la réponse de la région de contrôle de l'opéron (gènes opérateur et promoteur) selon les concentrations des molécules régulatrices : protéines régulatrices (le répresseur, la protéine CAP activatrice et réceptrice du médiateur cAMP), leurs effecteurs (inducteur ou anti-inducteur; cAMP) et l'ARN- polymérase. Cette analyse reprend en partie l'étude de MANDECKI (1979) et l'étend à l'étude systématique de la dépendance du niveau

d'induction selon la concentration intracellulaire de l'inducteur. Dans cette approche, on suppose d'abord que les concentrations des effecteurs sont constantes, mais on a étudié aussi le temps de réponse de ce mécanisme d'interactions moléculaires, quand les concentrations des effecteurs subissent des variations. Ce point, négligé dans de précédentes études, est évidemment fondamental pour l'étude du mécanisme autocatalytique de l'induction.

Les deux autres sections sont consacrées à l'étude des propriétés des solutions des systèmes d'équations décrivant une induction gratuite et l'induction naturelle par le lactose. Ces systèmes étant non linéaires, on ne peut donner de solution explicite, mais on peut exprimer les conditions dans lesquelles il existe un ou plusieurs états d'équilibre et celles dans lesquelles ce ou ces points d'équilibre sont stables, donc observables. Une caractéristique importante de ces équations est la présence d'arguments retardés, ces retards τ_y et τ_z traduisent les délais de la synthèse protéique. Les résultats qualitatifs concernant le système sans retard ($\tau_y = \tau_z = 0$) ont été présentés par ailleurs (CORPET *et al.*, 1983); nous en rappelons ici les énoncés mais renvoyons à cet article technique pour les démonstrations. Les démonstrations des résultats nouveaux tenant compte de l'effet des retards sont présentées en annexe, et s'appuient sur une étude générale de ce problème (CORPET, 1983). Cette approche qualitative est complétée par des résultats numériques, obtenus essentiellement par une intégration numérique des équations du modèle, qui permettent une confrontation aisée des conséquences du modèle aux données expérimentales simulées. Cette analyse, qui devient ainsi quantitative, montre que, en général, le modèle décrit très correctement les phénomènes biologiques qu'il représente, et peut donc servir à prédire le comportement de situations nouvelles (association de plusieurs mutations, conditions de milieu spéciales). Par ailleurs la comparaison quantitative s'avère aussi parfois un complément nécessaire à l'analyse qualitative, car elle conduit à rejeter certaines hypothèses qui conduisent à un bon accord qualitatif, mais à un écart quantitatif inadmissible.

II. Le modèle des interactions entre la région de contrôle de l'opéron et les molécules régulatrices

A. États d'équilibre de la région de contrôle

L'ajustement du modèle à quelques résultats expérimentaux (partie I, paragraphe V.B.) obtenus dans des conditions particulières (répresseur présent ou absent, protéine CAP et cAMP présents ou absents, inducteur absent ou saturant) a permis d'évaluer l'ordre de grandeur de certains paramètres encore inconnus. Pour cela on a supposé que, dans les conditions des expériences de référence, les concentrations des diverses molécules intervenant dans la régulation étaient maintenues constantes. Dans cette même hypothèse de concentrations constantes, mais quelconques, on peut analyser, par les équations (1a) et leur solution à l'équilibre ($dx_i/dt=0$), les effets des différentes molécules régulatrices sur l'expression de l'opéron (taux de transcription, activité de la β -galactosidase par cellule). En effet, si ces concentrations sont constantes, le système (1a) est autonome, et possède un unique point d'équilibre stable. En utilisant la variable u (1c), cet équilibre s'écrit

$$\bar{x}_i(u) = Q_i(u)/Q(u), \quad (i = 1, \dots, 6)$$

où les $Q_i(u)$ sont des polynômes du second degré en u , à coefficients positifs, et où

$$Q(u) = \sum_{i=1}^6 Q_i(u).$$

(CORPET *et al.*, 1983.)

Les valeurs \bar{x}_i représentent les probabilités pour la région de contrôle d'être dans les états i . Ces quantités ne sont donc pas directement observables, seuls certains de ces états ont été identifiés, d'autres réunissent sous un même symbolisme des associations moléculaires distinctes, d'autres sont conjecturels, enfin certains états jugés improbables ou impossibles sont peut-être importants dans certaines situations (MANABE, 1981). Par conséquent, seules les combinaisons observables des \bar{x}_i seront considérées. Il y en a principalement trois : $\bar{x}_5 + \bar{x}_6$, le taux d'initiation de la transcription que l'on peut assimiler au taux de transcription de courts brins d'ARN messager (MAJORS, 1975) et les deux combinaisons

$$P_y(u) = \alpha_y \bar{x}_5(u) + \bar{x}_6(u)$$

$$P_z(u) = \alpha_z \bar{x}_5(u) + \bar{x}_6(u) \quad (5)$$

qui caractérisent, à un coefficient de proportionnalité près, les taux de synthèse de la perméase Y et de la β -galactosidase Z. La distinction entre les trois quantités provient de l'effet de polarité, qui joue aussi sur les facteurs de proportionnalité entre les quantités P_y , P_z et les taux de synthèse enzymatique correspondant.

B. Effets des concentrations des molécules régulatrices

Chacune des expressions observables, en \bar{x}_5 et \bar{x}_6 , est le quotient de deux polynômes du second degré en R, en C, en P, et en I, à coefficients tous positifs. Cependant, ces relations peuvent être approchées avec précision par des fonctions homographiques. Ainsi, en admettant une relation linéaire entre les concentrations en cAMP et en complexe activé cAMP-CAP (noté C) (EPSTEIN, ROTHMANDENES, HESS, 1975), on rend compte de la relation homographique observée entre la concentration en cAMP et l'activité spécifique de la β -galactosidase (PERLMAN *et al.* 1970; PIOVANT, LAZDUNSKI, 1975). De même on peut comparer la relation entre le taux d'expression et la quantité de répresseur libre R, aux résultats obtenus avec des mutants surproducteurs de répresseur i^a et i^{sa} , bien que, dans certaines classes au moins, il semble que la mutation i^a sur le promoteur du gène i s'accompagne d'une modification des propriétés du répresseur (GILBERT, MULLER-HILL, 1970; JOBE, RIGGS & BOURGEOIS, 1972; SADLER & BOURGEOIS, 1974). La relation de dépendance vis-à-vis de la concentration en polymérase, en revanche, ne peut pas être discutée en termes quantitatifs puisque notre modèle ne distingue pas les paramètres m et P dans le coefficient cinétique unique mP .

La dépendance du niveau d'expression par rapport à la concentration en inducteur est particulièrement intéressante, car elle indique comment le système répond à l'incorporation de l'inducteur, tout au moins si l'on suppose que cette incorporation est lente et indépendante de l'induction de l'opéron (situation réalisable avec une souche y^- , déficiente en perméase et cultivée en présence de toluène, qui rend les membranes perméables). Qualitativement, selon notre modèle, la dépendance du taux d'expression en la concentration interne de l'inducteur est homographique pour toutes les valeurs des paramètres que nous avons envisagées au paragraphe suivant. On peut souligner cependant qu'il s'agit d'un résultat numérique et non d'une propriété structurelle du système d'équation (1a).

C. Effets des mutations dans la région de contrôle

Les mutations affectant les gènes de régulation de l'opéron peuvent être caractérisées par une modification d'un paramètre. Dans les cas des mutations constitutives de l'opérateur, 0^c , et des mutations i^a et i^{sa} sur le promoteur du gène i ,

TABLEAU 2

Expressions relatives de l'activité de la β -galactosidase dans différentes souches, selon le niveau d'induction et le génotype.
Relative expressions of β -galactosidase activity in different mutant strains, as function of the genotype and of the induction level.

Génotype	Génotype : concentration de l'inducteur		expressions relatives				taux d'initiation	
	paramètres modifiés		crp ⁻ i ⁻ ...	crp ⁻ i ⁺ 0	crp ⁻ i ⁺ ∞	crp ⁺ i ⁻ ...	crp ⁺ i ⁺ 0	crp ⁺ i ⁺ ∞
0°	k ₁₁ = 6, K ₁ = K ₂ = 1 variante A variante B	110 68	90 60	90 60	1270 1170	1150 1080	1150 1080	0,31 0,27 (1)
i ⁻	R = 0	107 70	1250 1200	0,34 0,30
i ⁰	R = 2	...	0,006	3	...	0,12	420	0,11
i ^{sq}	R = 10	...	0,001	0,6	...	0,02	110	0,03
PI(a)	d ₁ ' = d ₂ ' = 2	110 68	0,05 0,06	21 21	910 760	0,6 0,7	630 600	0,17 0,15 (2)
PI(b)	m ₆ ' = 2,5, α_{26} = α_{25} = 0,04	110 68	0,06 0,06	22 21	130 68	0,07 0,06	85 52	0,023 0,013
PII(a)	m ₅ P = m ₆ P = 0,075	11	0,006	2	240	0,13	170	0,045
PII(b)	m ₅ ' = 200, m ₆ ' = 10 m ₅ = m ₆ ' = 10	14 11	0,007 0,006	3 2	180 190	0,11 0,11	130 140	0,036 0,036 (3)
PIII PIII in vitro	m ₅ ' = 1, α_y = 0,2, α_z = 1 idem et m ₅ P = m ₆ P = 7,5	1660 3430	1,5 16	510 2310	1660 3430	1,5 16	1270 3120	0,33 0,81 (4)

Le niveau de base (1000) est celui de la souche sauvage induite par du lactose en excès. Le taux d'initiation est la probabilité pour qu'une initiation puisse avoir lieu dans les conditions de la colonne où le résultat est souligné.

Basis level (1000) is the completely induced wild type one. Initiation rate is the probability that an initiation occurs in the conditions of the underlined result.

(1) JACOB, MONOD (1961); JOBE *et al.* (1974).

(2) Les mutants PI ont un niveau d'expression bas et insensible à CAP (REZNIKOFF, ABELSON, 1978; BECKWITH *et al.*, 1972); l'hypothèse (a) est à rejeter.

(3) Les mutants PII ont un niveau d'expression bas mais sensible à CAP (REZNIKOFF, ABELSON, 1978). Les deux hypothèses (a) et (b) semblent acceptables.

(4) Le mutant PIII est insensible à CAP et a un niveau d'expression comparable à celui du sauvage; on obtient un niveau encore plus élevé in vitro, où la concentration de P peut être beaucoup plus élevée qu'in vivo.

on connaît les paramètres modifiés et leurs nouvelles valeurs. L'introduction de ces valeurs dans le modèle permet alors de comparer directement les prévisions du modèle aux résultats expérimentaux (tabl. 2, lignes 1-4). En revanche, les mutations sur le promoteur de l'opéron sont moins bien caractérisées, et plusieurs mécanismes moléculaires peuvent être invoqués. C'est le cas, par exemple, des mutations du promoteur de classe I (REZNIKOFF, ABELSON, 1978), ces mutants ont un faible niveau d'expression, insensibles à la stimulation de la CAP. La simulation de cette situation par le modèle (tabl. 2, lignes 5 et 6) suggère une modification du taux d'initiation de la transcription, qui deviendrait insensible à la CAP et demeurerait à son bas niveau comme dans les souches crp^- (variante (b)), plutôt qu'une moindre affinité de la CAP pour son site de liaison (variante (a)). Cette indication semble contradictoire avec le fait que les mutations de classe I se localisent sur le site de liaison de la CAP et non sur le site d'initiation de la transcription; la suggestion du modèle, en revanche, semble confirmer une autre hypothèse, selon laquelle le rôle de la CAP dans l'activation des opérons sensibles à la répression catabolique est de modifier à distance la conformation de l'ADN au niveau du site de liaison de la polymérase, pour la rendre aussi efficace que chez les promoteurs très efficaces et insensibles à la répression catabolique. Une mutation sur le site de liaison de la CAP empêcherait cette modification à distance de la conformation de l'ADN, sans affecter sensiblement l'affinité de la CAP pour son site. Les autres mutations, de classes II et III, posent moins de problèmes d'interprétation, car les paramètres modifiés pour en rendre compte correspondent aux sites où les mutations ont été localisées.

La figure 1 illustre la sensibilité à la concentration interne d'inducteur des différents mutants précédemment envisagés. De façon à mettre en évidence l'uniformité qualitative de la réponse, cette figure présente les valeurs de $1/(P_z(u) - P_z(o))$ en fonction de l'inverse $1/u$ du paramètre sans dimension $u = I_2 I_1 / I_2'$. Pour chacun des mutants, ces courbes sont pratiquement des droites, de telle sorte qu'une représentation empirique, mais néanmoins très précise, de ces relations est la suivante :

$$P_z(u) = \frac{P_z(o)u_{1/2} + P_z(\infty)u}{u_{1/2} + u}$$

Tout génotype ayant trait aux gènes i , p et o se trouve ainsi caractérisé par quatre paramètres : l'affinité I_2/I_2' du répresseur pour l'inducteur considéré; la valeur $u_{1/2}$ du paramètre u qui caractérise une demi-induction,

$$P_z(u_{1/2}) = (P_z(o) + P_z(\infty)) / 2 ;$$

et les deux valeurs extrêmes $P_z(o)$ et $P_z(\infty)$ du taux de transcription. Indépendamment de ces relations approchées, la forme presque hyperbolique des fonctions $P_y(u)$ et $P_z(u)$ peut être précisée, d'une façon moins stricte, par les inégalités suivantes

$$0 \leq P_y'(u)/P_y(u) \leq 1/u, \quad 0 \leq P_z'(u)/P_z(u) \leq 1/u \quad (6)$$

qui traduiront dans la suite cette observation.

D. Réductions de la dimension du système

Dans la plupart des précédentes études dynamiques de systèmes génétiques de régulation (GOODWIN, 1963, 1969; KNORRE, 1968, 1973; SANGLIER, NICOLIS, 1976), il est admis de façon implicite que l'état de la région de contrôle s'ajuste instantanément aux concentrations des molécules régulatrices. La justification de cette simplification doit néanmoins être donnée, car la force des interactions moléculaires entre répresseur et opérateur (l'association, en l'absence d'inducteur, a une demi-vie de plusieurs dizaines

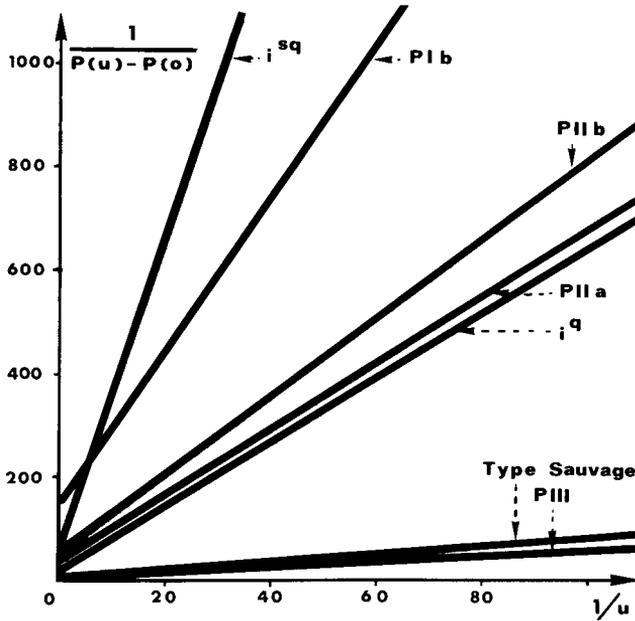


FIG. 1

Relation entre l'expression de la β -galactosidase et la concentration en inducteur.

The dependance of β -galactosidase expression on inducer concentration.

La concentration en inducteur est représentée par le paramètre $u = I_2 I / I_2'$, où I est la concentration de l'inducteur dans la cellule et I_2 / I_2' caractérise son affinité pour le répresseur. $P(u)$ est la probabilité pour que soit initié un ARN messenger contenant le gène z de la β -galactosidase. $P(0)$ est cette probabilité en absence d'inducteur. Nous avons représenté $1/u$ en abscisse et $1/(P(u) - P(0))$ en ordonnée pour que la relation homographique entre P et u soit décrite par une droite. Les notations des mutants correspondent à celles du tableau 2.

Inducer concentration is represented by parameter $u = I_2 I / I_2'$, where I is the internal inducer concentration and I_2 / I_2' is its affinity for the repressor. $P(u)$ is the probability that an mRNA containing the z gene of the β -galactosidase is initiated. $P(0)$ is this probability in absence of inducer. Abscissa is $1/u$ and ordinate is $1/(P(u) - P(0))$ so that the homographic relation between P and u is described by a straight line. Notations of the mutant strains are as on Table 2.

de minutes) ne permet pas *a priori* d'admettre que le système (1a) atteigne à tout instant un équilibre local, qui soit fonction des concentrations actuelles des molécules régulatrices. Deux types d'arguments peuvent justifier de telles réductions de la dimension d'un système différentiel; l'un se fonde sur les vitesses absolues des différentes étapes d'un processus, il a été utilisé dans l'élaboration du modèle (1a) de la région de contrôle (1, §§ II.A., II.C.). L'autre argument se fonde sur des hiérarchies de nombres, c'est en remarquant que, dans une réaction enzymatique — à l'exclusion des premiers instants — le nombre de molécules d'enzymes est très petit par rapport aux nombres de molécules des substrats et des produits, que l'on peut justifier les équations complètes de vitesse de la réaction (HEINEKEN, TSUCHIYA, ARIS, 1967; CHEVALET, GILLOIS, MICALI, 1978, 1981). Ce second argument peut être partiellement utilisé dans le système d'induction (1), (2), (3), si l'on suppose que les concentrations Y , Z , L et I en enzymes et en substrats sont de l'ordre de grandeur de celles atteintes en un point d'équilibre du système induit. Mais aucun des deux arguments ne s'applique

aux premières étapes de l'induction : les concentrations initiales L et I du lactose et de l'allolactose intracellulaires sont nulles, les concentrations des enzymes sont infimes; par ailleurs les vitesses absolues des différentes réactions varient de façon considérable. L'étude de cette question a donc été faite numériquement, en comparant les trajectoires du système complet (1), (2), (3 a), de neuf équations, et du système réduit associé, de dimension quatre, obtenu en remplaçant à chaque instant les variables $x_i(t)$ par les solutions à l'équilibre du système (1) :

$$x_i(t) = Q_i(u(t))/Q(u(t)).$$

En utilisant les notations P_y et P_z (5) le système de dimension quatre s'écrit :

$$\begin{aligned} \frac{dY}{dt} &= K_y P_y(u(t - \tau_y)) - K'_y Y(t) \\ \frac{dZ}{dt} &= K_z P_z(u(t - \tau_z)) - K'_z Z(t) \\ \frac{dL}{dt} &= k_s(L_e - L(t)) + \frac{k_c L_c}{L_c + K_M} Y(t) - Z(t) \frac{(a+b)L(t)}{L(t) + \alpha I(t) + \beta} \\ \frac{dI}{dt} &= Z(t) \frac{bL(t) - \alpha c I(t)}{L(t) + \alpha I(t) + \beta}. \end{aligned} \quad (7)$$

De la même façon, le système de l'induction par un inducteur non métabolisable se réduit à la dimension deux, et devient :

$$\begin{aligned} \frac{dY}{dt} &= K_y P_y(u(t - \tau_y)) - K'_y Y(t) \\ \frac{dI}{dt} &= k_s^0(E - I(t)) + k_c^0 \frac{E}{E + K_M^0} Y(t). \end{aligned} \quad (8)$$

L'étude numérique comparée des solutions des systèmes (1), (2), (3 a) d'une part, et (7), d'autre part, a été réalisée dans un grand nombre de cas, incluant plusieurs ensembles de paramètres, et concernant la phase initiale d'induction. Les écarts relatifs entre les valeurs de Y , Z , L et I sont présentés en Annexe 1 en fonction du temps. Ils sont uniformément inférieurs à 4 %, deviennent inférieurs à 1 % au-delà de la dixième minute, et décroissent régulièrement à l'approche de l'équilibre. Ces résultats montrent que la réduction de dimension est, pratiquement au moins, justifiée, même si d'un point de vue théorique elle demeure mal comprise. Cette propriété a été utilisée doublement, pour l'étude numérique des cinétiques d'induction (paragraphe IV.E.), et pour l'étude de la stabilité des équilibres du système complet (paragraphe IV.C.). Dans ce dernier cas, on étudie le système au voisinage d'un point d'équilibre, où la réduction de dimension est de toutes façons correcte.

Les résolutions numériques ont mis en évidence la possibilité d'une réduction supplémentaire de la dimension : sauf dans les premières minutes du processus d'induction, les valeurs $L(t)$ et $I(t)$ s'ajustent avec une bonne précision (moins de 1 % d'erreur relative) aux solutions des équations $dL/dt = 0$ et $dI/dt = 0$. Les concentrations L et I deviennent à leur tour des fonctions algébriques des concentrations en enzymes, Z et Y . Le système (7) se réduit alors à la dimension deux, cette réduction ne trouve pas de justification théorique, mais elle permet d'orienter l'étude de la stabilité des équilibres (paragraphe IV.B.).

III. Induction par un inducteur gratuit

L'induction est décrite par les équations (8), où l'inducteur I peut être soit de l'IPTG, non métabolisable, soit de l'allolactose, dans une souche z^-CRM , où le produit du gène z est présent, mais sans activité enzymatique, et détectable par un anticorps anti- β -galactosidase. Dans les deux cas, le coefficient l_2/l_2' d'association avec le répresseur est le même, ainsi que l'effet sur la liaison du répresseur et de l'opérateur (BARKLEY, BOURGEOIS, 1978), mais la perméation active de ces deux galactosides peut être différente.

A. Unicité de l'équilibre

Nous cherchons les solutions stationnaires du système (8). Elles sont données par

$$Y = \frac{K_y}{K_y'} P_y(\bar{u}) \quad (9)$$

$$I = \frac{l_2'}{l_2} \bar{u} \quad (10)$$

où \bar{u} est un zéro positif de la fonction :

$$R(u) = \alpha_y Q_5(u) + Q_6(u) k_c^0 \frac{E}{E + K_M^0} + k_s^0 \left(E - \frac{l_2'}{l_2} u \right) Q(u). \quad (11)$$

S'il n'y a pas d'inducteur à l'extérieur de la cellule ($E=0$), la solution est $u=0$: il n'y a pas non plus d'inducteur à l'intérieur! En présence d'inducteur, nous avons la proposition :

Proposition 1. Une condition suffisante pour que le système (8) ait un unique point d'équilibre est que les inégalités suivantes soient vérifiées :

$$K_2 \geq K_1 \geq 1 \quad (12)$$

$$\frac{K_2}{K_1} \frac{k_{21}'}{k_{11}'} \geq \text{Sup} \left(\frac{k_2 R + d_1 C + d_1' + m_6 P}{k_1 R + d_2 C + d_1' + m_6 P}, \frac{d_2'}{d_1' + m_6 P} \frac{d_1}{d_2} \frac{k_2}{k_1} \right) \quad (13)$$

$$m_5/m_5' \leq m_6/m_6' \quad (14)$$

$$\alpha_y \leq 1 \quad (15)$$

(CORPET *et al.*, 1983, théorème 3.1.1.).

Ces conditions sont remplies par le modèle puisqu'elles ne font que traduire les effets connus du complexe AMPc-CAP sur les taux de transcription et la polarité. Nous étudierons en III.C. la fonction $\bar{u}(E)$.

B. Stabilité du point d'équilibre

Pour que ce point d'équilibre soit observable, il faut qu'il soit asymptotiquement stable. Pour cela, d'après la théorie de Liapounoff, il suffit que les valeurs propres du système linéarisé autour du point d'équilibre aient une partie réelle négative.

Le système linéarisé, en $y = Y - \bar{Y}$ et $v = u - \bar{u}$, est :

$$\begin{aligned} \frac{dy(t)}{dt} &= K_y P'_y(\bar{u}) \cdot v(t - \tau_y) - K'_y y(t) \\ \frac{dv(t)}{dt} &= -k_s^0 v(t) + \frac{l_2}{l'_2} k_c^0 \frac{E}{E + K_M^0} y(t). \end{aligned} \quad (16)$$

Les valeurs propres sont les racines de l'équation :

$$(X + k_s^0)(X + K'_y) - \frac{l_2}{l'_2} k_c^0 \frac{E}{E + K_M^0} K_y P'_y(\bar{u}) \exp(-X\tau_y) = 0. \quad (17)$$

Si E est nul, les racines sont $-k_s^0$ et $-K'_y$: le point d'équilibre est stable. Il décrit une bactérie réprimée et sera le point initial de l'induction.

Si E est non nul, nous posons :

$$p(E) = \frac{l_2}{l'_2} k_c^0 \frac{E}{E + K_M^0} K_y P'_y(\bar{u}(E)). \quad (18)$$

L'étude de l'équation (17) permet de dire qu'une condition nécessaire et suffisante pour que le point d'équilibre de (8) soit stable pour toute valeur positive ou nulle de τ_y est (cf. Annexe 2) :

$$p(E) < k_s^0 K'_y. \quad (19)$$

Or,
$$p(E) - k_s^0 K'_y = \frac{l'_2}{l_2} K_y R'_1(\bar{u}) \quad (20)$$

où R'_1 est la dérivée par rapport à u de R/Q . Lorsque le point d'équilibre est unique, on a nécessairement $R'_1(\bar{u})$ négatif.

Proposition 2. Lorsque le système (8) a un unique point d'équilibre celui-ci est stable pour toute valeur positive ou nulle du retard τ_y .

C. Résultats numériques à l'équilibre

Soient \bar{Z} , \bar{I} , \bar{Y} les valeurs d'équilibre. En éliminant \bar{Y} entre les deux équations (8), on obtient la relation entre E et \bar{I} :

$$E^2 + E \left(\frac{k_c^0 K_y}{k_s^0 K'_y} P_y \left(\frac{l_2 \bar{I}}{l'_2} \right) + K_M^0 - \bar{I} \right) - \bar{I} K_M^0 = 0. \quad (21)$$

Cette équation donne une seule solution possible, la racine positive.

Comme par ailleurs on a montré (paragraphe III.A.) que pour toute valeur de E , il existait une seule solution \bar{I} , la relation entre E et \bar{I} est monotone, et croissante d'après le signe de la dérivée $dE/d\bar{I}$ calculée à l'origine ($E = \bar{I} = 0$). Si l'on admet l'approximation d'une dépendance homographique de P_y et P_z en I , on peut montrer analytiquement que la courbe représentant la fonction $E \rightarrow \bar{Z}(E)$ est une sigmoïde.

L'aspect sigmoïdal de cette courbe est d'autant plus marqué que la perméation active est plus efficace, c'est-à-dire que le rapport k_c^0/k_s^0 est plus grand. A la limite, et

si le rapport $\bar{Z}(\infty)/\bar{Z}(0)$ est grand, la relation entre E et $\bar{Z}(E)$ tend vers :

$$\begin{aligned}\bar{Z}(E) &= \bar{Z}(0) && \text{si } E \leq 1/2 E_{1/2} \\ \bar{Z}(E) &= \bar{Z}(0) + \left(1 - \frac{E_{1/2}}{2E}\right) \bar{Z}(\infty) && \text{si } E > 1/2 E_{1/2},\end{aligned}$$

où $E_{1/2}$ est la concentration assurant une demi-induction, qui admet alors la valeur approchée suivante,

$$E_{1/2} \approx I_{1/2} \frac{2K_M^0}{(\bar{Y}(\infty) - \bar{Y}(0))} \frac{k_s^0}{k_c^0}.$$

Au contraire, si le rapport k_c^0/k_s^0 est assez petit, et si K_M^0 est grand, l'inducteur est très peu concentré par la perméase, et la relation $E \rightarrow \bar{Z}(E)$ est pratiquement homographique. Dans ce cas, on obtient à la limite :

$$\bar{Z}(E) = \frac{\bar{Z}(0)I_{1/2} + \bar{Z}(\infty)E}{I_{1/2} + E}.$$

Le caractère sigmoïdal de la relation apparaît donc seulement pour des concentrations inférieures à $E_{1/2}$, et n'est observable que si cette valeur est assez élevée. Les résultats apportés par JOBE & BOURGEOIS (1972) pour l'IPTG et l'allolactose, dans une souche (z^- CRM, y^+) sont insuffisants pour mettre en évidence cette propriété. Les résultats de BOEZI & COWIE (1961) et de CLARK & MARR (1964) montrent une relation sigmoïdale très nette, mais ne semblent pas interprétables par notre analyse. En effet, le génotype de la souche ML3, sur laquelle ces travaux ont été faits, est présumé y^- : l'inducteur (IPTG) ne devrait donc pas être concentré dans la cellule, et la relation $E \rightarrow \bar{Z}(E)$ devrait être homographique. La contradiction a déjà été signalée par BARKLEY & BOURGEOIS (1978). Par ailleurs, la concentration $E_{1/2}$ est dans cette souche ML3 beaucoup plus élevée que la concentration $I_{1/2}$ correspondant à un opéron sauvage. Cette souche possède une β -galactosidase capable d'hydrolyser l'ONPG (o-nitro-phényl- β -D-galactoside), elle est inducible par l'IPTG et d'autres inducteurs gratuits, mais pas par le lactose. Il serait intéressant de tester si l'allolactose est inducteur : si ce n'était pas le cas on pourrait imaginer que la souche ML3 est sauvage pour y , mais mutante sur le gène i , de telle sorte que le répresseur présente une affinité réduite pour l'IPTG et quasiment nulle pour l'allolactose.

L'analyse quantitative apporte d'autres enseignements. L'adoption, pour les paramètres de perméation k_s^0 , k_c^0 et K_M^0 , de valeurs voisines de celles attribuées au lactose (10^{-3} s^{-1} , 50 s^{-1} et 10^{-4} M) conduit à des résultats qui s'écartent très largement des valeurs observées. Un moyen simple de caractériser la réponse est de considérer la concentration $E_{1/2}$ qui assure un taux d'induction égal à la moitié du taux maximum. Expérimentalement, cette concentration est d'environ 5.10^{-5} M pour l'IPTG, et 5.10^{-6} M pour l'allolactose (JOBE, BOURGEOIS, 1972), alors que le modèle avec les paramètres indiqués, donne environ 5.10^{-8} M . Comme ces derniers auteurs, il faut sans doute invoquer une capacité différentielle de la perméase d'assurer la pénétration des divers galactosides. La perméation passive elle-même (paramètre k_s) est plus ou moins grande selon le substrat (KEPES, 1978); d'autre part la constante catalytique de la perméase est connue avec beaucoup d'incertitude (WRIGHT, RIELDE, OVERATH, 1981). L'incidence de variations de ces trois paramètres est illustrée par le tableau 3. On peut penser que l'IPTG étant moins bien reconnu que le lactose par la perméase et étant plus petit, le rapport k_c^0/k_s^0 est plus petit pour ce substrat que pour le lactose. Le modèle donne alors une valeur $E_{1/2}$ plus proche du résultat expérimental.

TABLEAU 3

Influence du rapport k_c^o/k_s^o et de la constante de Michaelis sur la réponse du modèle à une induction gratuite.

k_c^o/k_s^o and Michaelis constant influence on the answer of the model to a gratuitous induction.

$k_c^o/k_s^o \backslash K_M^o(M)$	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}
55 000	$1,2 \cdot 10^{-8}$	$1,2 \cdot 10^{-7}$	$1,2 \cdot 10^{-6}$	$9 \cdot 10^{-6}$
16 500	$4 \cdot 10^{-8}$	$4 \cdot 10^{-7}$	$3,6 \cdot 10^{-6}$	$2 \cdot 10^{-5}$
5 500	$1,2 \cdot 10^{-7}$	$1,2 \cdot 10^{-6}$	$9 \cdot 10^{-6}$	$3 \cdot 10^{-5}$
1 650	$4 \cdot 10^{-7}$	$3,6 \cdot 10^{-6}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$3,6 \cdot 10^{-5}$
550	$1,2 \cdot 10^{-6}$	$9 \cdot 10^{-6}$	$3 \cdot 10^{-5}$	$4 \cdot 10^{-5}$

Pour certaines valeurs de k_c^o/k_s^o et de K_M^o , le tableau donne la concentration $E_{1/2}$ en inducteur gratuit dans le milieu qui assure un taux d'induction égal à la moitié du taux maximum. Cela correspond à une concentration intérieure en inducteur de $4 \cdot 10^{-5}M$.

For some values of k_c^o/k_s^o and of K_M^o , the table gives the gratuitous inducer concentration $E_{1/2}$ that yields an induction rate, half of the maximal one. This corresponds to an intracellular inducer concentration of $4 \cdot 10^{-5}M$.

D'autres hypothèses peuvent être avancées pour expliquer les divergences. On peut imaginer, par exemple, un mécanisme de détoxification qui abaisserait systématiquement la concentration interne de l'IPTG. La troisième enzyme de l'opéron, la thio-galactoside transacétylase, pourrait jouer ce rôle, mais la constante de Michaelis très élevée vis-à-vis de l'IPTG, et une constante catalytique très faible (ZABIN, FOWLER, 1978) semblent éliminer cette possibilité. Une diffusion limitée, liée à une certaine compartimentation de la cellule bactérienne, ou à un gradient de viscosité pourrait aussi conduire à surévaluer, dans le modèle, la concentration effective de l'inducteur au voisinage de l'opérateur.

IV. Induction par le lactose

L'induction de l'opéron lactose par le lactose est décrite par le système (7).

A. Conditions d'unicité de l'équilibre

Les solutions stationnaires du système (7) sont données par

$$\begin{aligned}
 Y &= \frac{K_y}{K'_y} P_y(\bar{u}) & Z &= \frac{K_z}{K'_z} P_z(\bar{u}) \\
 L &= \frac{\alpha c}{b} \frac{l'_2}{l_2} \bar{u} & I &= \frac{l'_2}{l_2} \bar{u}
 \end{aligned}
 \tag{23}$$

où \bar{u} est un zéro positif de la fonction F définie par

$$F(u) = k_s L_e + h(L_e) P_y(u) - \varphi u - \frac{gu}{1 + \varepsilon u} P_z(u)
 \tag{24}$$

avec

$$h(L_c) = \bar{h}L_c / (L_c + K_M), \quad \bar{h} = k_c K_y / K'_y$$

$$\varphi = k_s(\alpha c/b)(l'_2/l_2), \quad g' = ((a+b)/\beta)(\alpha c/b)(l'_2/l_2), \quad (25)$$

$$g = g'K_z/K'_z, \quad \varepsilon = (\alpha/\beta)(1+c/b)(l'_2/l_2)$$

S'il n'y a pas de lactose dans le milieu ($L_c = 0$), la solution unique est $u = 0$: il n'y a pas non plus ni lactose ni inducteur à l'intérieur. En présence de lactose dans le milieu, nous avons la proposition suivante (CORPET *et al.*, 1983).

Proposition 3. Avec les conditions (12) à (15) de la proposition 1 et avec les conditions

$$\varepsilon \leq 1 \quad (26)$$

$$\alpha_z \leq 1 \quad (27)$$

le système (7) a un unique point d'équilibre.

La condition (27) est toujours remplie. La condition (26) est remplie par les valeurs décrivant la souche sauvage ($\varepsilon = 0,46$) mais il existe des mutants de i (I^s) qui ne remplissent pas cette condition.

En utilisant les résultats numériques de la première partie et en particulier le fait que les fonctions P_y et P_z sont presque homographiques (fait traduit par les conditions (6)), nous pouvons donner une condition moins exigeante d'unicité (CORPET *et al.*, 1983) :

Proposition 4. En supposant (6) vraie, une condition nécessaire et suffisante pour que F ait trois zéros positifs est qu'il existe u positif tel que

$$V(u) = u(P'_y(u)/P_y(u) - P'_z(u)/P_z(u)) > 0 \quad (28)$$

et que les paramètres ε , φ/g , \bar{h} et $k_s K_M$ vérifient successivement les inégalités suivantes :

$$V_1(u) = V(u) - 1/(1 + \varepsilon u) > 0, \quad (29)$$

$$V_2(u) = V_1(u) - \frac{\varphi}{g} \frac{1 + \varepsilon u}{P_z(u)} (1 - u P'_y(u)/P_y(u)) > 0, \quad (30)$$

et

$$\bar{h} > \left(\varphi + g \frac{P_z(u)}{(1 + \varepsilon u)^2} + \frac{gu}{1 + \varepsilon u} P'_z(u) \right) \left(\frac{1}{P'_y(u)} + k_s K_M \frac{1 + \varepsilon u}{g P_y(u) P_z(u) V_2(u)} \right). \quad (31)$$

Ces conditions font intervenir différents paramètres génétiques du système : ceux de la région de contrôle (inégalités (6) et $V > 0$), ceux des enzymes et du système de traduction. Quand elles sont remplies, il existe des valeurs de la concentration L_c du lactose dans le milieu pour lesquelles le système présente plusieurs états d'équilibre. L'énoncé de ces conditions — comme ceux des propositions suivantes 6 et 9 — souligne qu'il est toujours possible de trouver un jeu de valeurs des paramètres conduisant, ici à une multiplicité des équilibres et là à l'instabilité de ces états. Il faut donc discuter numériquement la vraisemblance biologique de ces conditions. Avec les valeurs correspondant à la souche sauvage, les conditions sur ε ($V_1 > 0$) et sur φ/g ($V_2 > 0$) exigent, pour ε , une valeur dix millions de fois plus grande que chez le sauvage et pour φ/g une valeur dix millions de fois plus petite.

$$\frac{1}{\varepsilon} = \frac{\beta}{\alpha} \frac{b}{b+c} \frac{l_2}{l'_2} \quad \text{et} \quad \frac{\varphi}{g} = \frac{k_s \beta}{(a+b) K_z / K'_z}. \quad (32)$$

Or, nous voyons que pour remplir ces conditions il faudrait une β -galactosidase beaucoup plus efficace que l'enzyme sauvage (constante de Michaelis plus faible et vitesse maximale plus élevée). Il existe des mutants I^s qui permettraient d'accroître ε d'un facteur 10^2 à 10^3 , ce qui est encore loin de 10^7 . Nous pouvons donc conclure que pour tout ensemble de valeurs de paramètres décrivant un mutant concevable biologiquement, le système dynamique (7) a un unique point d'équilibre.

B. Étude de la stabilité du système réduit de dimension 2

En annulant dans le système (7) le deuxième membre des deux dernières équations, on a

$$Y = \frac{K_y}{K'_y} \left(\varphi u + Z \frac{g'u}{1 + \varepsilon u} - k_s L_c \right), \quad L = \frac{\alpha c}{\beta} \frac{l'_2}{l_2} u, \quad I = \frac{l'_2}{l_2} u \quad (33)$$

et en admettant que les valeurs de L et I s'adaptent rapidement aux variations de Y et Z, on obtient un nouveau système :

$$\frac{dZ}{dt} = K_z P_z(u(t - \tau_z)) - K'_z Z(t)$$

$$\frac{du}{dt} = \frac{1}{\varphi + \frac{g'u(t)}{(1 + \varepsilon u(t))^2}} \left\{ K'_y \left(h P_y(u(t - \tau_y)) - \varphi u(t) - \frac{g'u(t) Z(t)}{1 + \varepsilon u(t)} + k_s L_c \right) - \frac{g'u(t)}{1 + \varepsilon u(t)} \left(K_z P_z(u(t - \tau_z)) - K'_z Z(t) \right) \right\}. \quad (34)$$

Le système (34) ne saurait être utilisé pour représenter tout le processus d'induction, mais il permet d'étudier l'approche de l'équilibre de façon plus simple. En introduisant les notations

$$A = \frac{K'_y}{K'_z}, \quad B = \frac{g\bar{u}}{1 + \varepsilon\bar{u}} P'_z(\bar{u}) \left[\varphi + g \frac{P_z(\bar{u})}{(1 + \varepsilon\bar{u})^2} \right]^{-1}, \quad C = h P'_y(\bar{u}) \left[\varphi + g \frac{P_z(\bar{u})}{(1 + \varepsilon\bar{u})^2} \right]^{-1} \quad (35)$$

$$T_y = K'_z \tau_y, \quad T_z = K'_z \tau_z, \quad T = (T_y, T_z) \quad \text{et} \quad \theta = K'_z t,$$

le système linéarisé autour du point d'équilibre, en $z = Z - \bar{Z}$ et $v = u - \bar{u}$, est :

$$\frac{dz(\theta)}{d\theta} = -z(\theta) + \frac{K_z}{K'_z} P'_z(\bar{u}) v(\theta - T_z)$$

$$\frac{dv(\theta)}{d\theta} = \frac{g\bar{u}(1 - A)}{(1 + \varepsilon\bar{u}) + g P_z(\bar{u}) / (1 + \varepsilon\bar{u})} z(\theta) - (A v(\theta) - A C v(\theta - T_y) + B v(\theta - T_z)). \quad (36)$$

Les valeurs propres sont les racines de l'équation en X :

$$(X + 1)(X + A) + B(X + A)e^{-X T_z} - AC(X + 1)e^{-X T_y} = 0. \quad (37)$$

Si L_c est nul, B et C le sont aussi, les racines sont -1 et $-A$: le point d'équilibre est stable et décrit une bactérie réprimée. Si L_c est non nul, nous remarquons que

$$1 + B - C = -F'(\bar{u}) \left[\varphi + g \frac{P_z(\bar{u})}{(1 + \varepsilon\bar{u})^2} \right]^{-1} > 0 \quad (38)$$

si le point d'équilibre est unique, car alors $F'(\bar{u})$ est négatif.

Proposition 5. Une condition suffisante de stabilité de l'unique point d'équilibre de (34), lorsqu'il n'y a pas de retard ($T_y = T_z = 0$) est :

$$K'_z \geq K'_y. \quad (39)$$

En effet, avec cette condition la somme des valeurs propres $-1 - A - B - AC$ est négative; comme leur produit est positif, elles sont à parties réelles négatives.

Cette condition est vérifiée pour les valeurs que nous avons choisies. Cependant aucune valeur expérimentale de K'_y n'est connue et nous l'avons déduite du nombre d'enzymes à l'équilibre et de la polarité naturelle de l'opéron. Il serait très intéressant de savoir si cette condition est vérifiée expérimentalement, c'est-à-dire, si l'enzyme membranaire (Y) a une plus grande stabilité que l'enzyme cytoplasmique (Z).

Plus généralement, étant donné que le produit des valeurs propres est positif, une condition nécessaire et suffisante de stabilité est que leur somme soit négative.

Proposition 6. Une condition nécessaire et suffisante pour que le point d'équilibre de (34) soit instable lorsque les retards sont nuls est qu'il existe u positif tel que $F'(u)$ soit négatif et

$$W(u) = u(P'_y(u)/P_y(u) - AP'_z(u)/P_z(u)) > 0 \quad (40)$$

et que les paramètres ε , φ/g , \bar{h} et $k_s K_M$ vérifient

$$W_1(u) = W(u) - (1 + A)/(1 + \varepsilon u) > 0, \quad (41)$$

$$W_2(u) = W_1(u) - \frac{\varphi}{g} \frac{1 + \varepsilon u}{P_z(u)} (1 + A - uP'_y(u)/P_y(u)) > 0 \quad (42)$$

et

$$\bar{h} > \left((1 + A)\varphi + \frac{g(1 + A)}{(1 + \varepsilon u)^2} P_z(u) + \frac{AguP'_z(u)}{1 + \varepsilon u} \right) \left(\frac{1}{P'_y(u)} + k_s K_M \frac{1 + \varepsilon u}{gP_y(u)P_z(u)W_2(u)} \right) \quad (43)$$

(CORPET *et al.*, 1983, théorème 4.1.2.).

Les conditions sont ici plus faciles à remplir que celles de la proposition 4 et s'obtiennent sans changer les ordres de grandeur des paramètres. En désignant avec l'indice s les paramètres de la souche sauvage, nous pouvons concevoir un mutant dont les paramètres seraient ceux du sauvage sauf les suivants :

$$k_c = 6k_{cs}, \quad K'_y = 4K'_{ys} \quad \text{et} \quad \frac{l'_2}{l_2} = 500 \left(\frac{l'_2}{l_2} \right) s. \quad (44)$$

Un tel «génotype» est celui d'un mutant I^s qui aurait, de plus, une perméase modifiée. Pour cette souche, le point d'équilibre est instable si la concentration extérieure en lactose est dans le domaine

$$3.10^{-4} \text{ M} < L_c < 3,5.10^{-2} \text{ M}, \quad (45)$$

et stable à l'extérieur.

Lorsque les valeurs des retards sont non nulles, nous ne pouvons obtenir des résultats analytiques que pour des cas particuliers. En effet, selon les valeurs des paramètres, la plupart des situations décrites par CORPET (1983) peuvent se présenter, mais l'interprétation des inégalités entre les paramètres contractés A , B et C n'est pas simple. On peut citer ici la condition pour laquelle le point d'équilibre est stable pour toutes les valeurs positives ou nulles des retards.

Proposition 7. Le point d'équilibre du système (34) est stable pour toute valeur des retards si :

$$B + C \leq 1. \tag{46}$$

La démonstration est présentée à l'Annexe 3. On y trouve aussi des résultats plus précis dans les cas particuliers où $A = 1$ ou bien $T_y = T_z$. Dans les cas généraux, seule une étude numérique permet d'analyser l'incidence des retards sur la stabilité de l'équilibre. Elle ne sera faite qu'en dimension 4.

C. Étude de la stabilité du système de dimension 4

Au système (7) correspond un système linéarisé autour du point d'équilibre dont la matrice est la suivante :

$$\begin{pmatrix} -K'_y & 0 & 0 & K_y P'_y(\bar{u}) \frac{l_2}{l_2} \\ 0 & -K'_z & 0 & K_z P'_z(\bar{u}) \frac{l_2}{l_2} \\ \delta & \frac{g\bar{u}}{1 + \epsilon\bar{u}} & -\left(\varphi + \frac{gP_z(\bar{u})(1 + \eta\bar{u})}{(1 + \epsilon\bar{u})^2}\right) \frac{b}{\alpha c} \frac{l_2}{l_2} & \frac{l_2}{l_2} \frac{gP_z(\bar{u})\eta\bar{u}}{(1 + \epsilon\bar{u})^2} \\ 0 & 0 & \left(\frac{b}{\alpha c}\right)^2 \frac{l_2}{l_2} \frac{jP_z(\bar{u})}{1 + \epsilon\bar{u}} & -\frac{b}{\alpha c} \frac{l_2}{l_2} \frac{jP_z(\bar{u})}{1 + \epsilon\bar{u}} \end{pmatrix}$$

où : $\eta = \frac{\alpha}{\beta} \frac{l_2}{l_2}, \quad j = \frac{K_z}{K'_z} \frac{\alpha c}{b} \frac{l_2}{l_2} \frac{\alpha c}{\beta} \quad \text{et} \quad \delta = k_c L_c / (L_c + K_M).$ (48)

Nous posons :

$$S = \frac{1}{K'_z} \frac{b}{\alpha c} \frac{l_2}{l_2} \left[\varphi + g \frac{P_z(\bar{u})(1 + \eta\bar{u})}{(1 + \epsilon\bar{u})^2} + j \frac{P_z(\bar{u})}{1 + \epsilon\bar{u}} \right] \tag{49}$$

$$P = \left(\frac{1}{K'_z} \frac{b}{\alpha c} \frac{l_2}{l_2} \right) \frac{jP_z(\bar{u})}{1 + \epsilon\bar{u}} \left[\varphi + g \frac{P_z(\bar{u})}{(1 + \epsilon\bar{u})^2} \right] \tag{50}$$

On peut remarquer que :

$$S^2 > 4P. \tag{51}$$

Avec (35) et ces nouvelles notations, la fonction caractéristique s'écrit :

$$F(X, T) = (X + 1)(X + A)(X^2 + SX + P) + PB(X + A)e^{-XT_c} - PAC(X + 1)e^{-XT_y}. \tag{52}$$

Pour une valeur T des retards, les valeurs propres du système sont les racines de l'équation en X :

$$F(X, T) = 0. \tag{53}$$

Si L_c est nul, B et C le sont aussi, les valeurs propres de (37) sont à parties réelles négatives : le point d'équilibre est stable et décrit une bactérie réprimée.

Si L_c est non nul, nous étudions d'abord le cas où T est nul. Dans ce cas la fonction caractéristique est un polynôme que nous pouvons réécrire sous la forme :

$$F(X, 0) = X^4 + a_1 X^3 + a_2 X^2 + a_3 X + a_4. \tag{54}$$

On voit facilement que a_1 et a_2 sont positifs; d'autre part on a

$$a_4 = AP(1 + B - C) \quad (55)$$

donc, dans le cas d'un point d'équilibre unique (38), a_4 est positif. En utilisant le théorème de Liennard-Chipard (PHILIPPOV, 1976), nous pouvons exprimer la condition pour que les valeurs propres aient des parties réelles négatives avec les déterminants d'Hurwitz. La condition nécessaire et suffisante de stabilité devient :

$$a_3(a_1a_2 - a_3) - a_1^2a_4 > 0. \quad (56)$$

Cette condition est assez complexe et ne peut être utilisée que pour tester des résultats numériques. Nous pouvons cependant donner une condition suffisante de stabilité.

Proposition 8. Une condition suffisante pour que le système (7) ait un unique point d'équilibre et que celui-ci soit stable lorsqu'il n'y a pas de retard est que :

$$B \leq 1 \quad \text{et} \quad C \leq 1. \quad (57)$$

Démonstration. Avec (57), nous avons

$$0 < AS + P \leq a_3 \leq AS + (2 + A)P \quad (58)$$

$$0 < a_4 \leq 2AP \quad (59)$$

d'où, en utilisant (51)

$$a_1a_2 - a_3 \geq (1 + A + S)[A + (1 + A)S + P] - AS - (2 + A)P > 0 \quad (60)$$

$$a_1^2a_4 \leq 2AP(1 + A + S)^2 \quad (61)$$

$$a_3(a_1a_2 - a_3) - a_1^2a_4 > A(1 + A)^2S^2 - A(1 + A)(2A + 1)P + A(1 + A)S^3 + [(1 + A)^2 - A - 4A(1 + A)]SP + S^2P - P^2 > 0. \quad (62)$$

La condition (56) est remplie.

La condition (57) est remplie pour toutes les souches que nous avons étudiées (sauf I^s) et pour toute concentration en lactose dans le milieu extérieur.

Une étude numérique de la condition (56) pour les mutants I^s montre que le système est encore stable pour ces souches. Si l'on veut trouver une souche pour laquelle le point d'équilibre est instable, il semble qu'il faille choisir une souche présentant au moins deux mutations, comme le montre la condition suivante (CORPET *et al.*, 1983, théorème 4.2.1.).

Proposition 9. Une condition suffisante pour que le point d'équilibre du système (7) soit instable quand les retards sont nuls est qu'il existe un point u positif tel que

$$W(u) > 0 \quad (40)$$

et que les paramètres $\beta/\alpha c$, l'_2/c_2 , c/b , a , φ/g , \bar{h} et $k_s K_M$ vérifient les inégalités

$$W_3(u) = W(u) - (\beta/\alpha c)(K'_z)^2 / (K_z P_z(u)) > 0, \quad (63)$$

$$W_4(u) = W_3(u) - (l'_2/c_2)u(K'_z)^2 / (K_z P_z(u)) > 0, \quad (64)$$

$$W_5(u) = W_4(u) - (1 + A)/(1 + \varepsilon u) > 0, \quad (65)$$

$$W_6(u) = W_5(u) - (\beta/(a + b))(1 + \varepsilon u)(K'_z)^2 / (K_z P_z(u)) > 0, \quad (66)$$

$$W_7(u) = W_6(u) - \frac{\varphi}{g} \frac{1 + \varepsilon u}{P_z(u)} \left(1 + A - u \frac{P'_y(u)}{P_y(u)} + \frac{\beta}{\alpha c} \frac{(1 + \varepsilon u)(K'_z)^2}{K_z P_z(u)} \right) > 0 \quad (67)$$

et

$$\bar{h} > \left(\varphi u \frac{P'_y(u)}{P_y(u)} + \frac{gP'_z(u)}{1 + \varepsilon u} \left(u \frac{P'_y(u)}{P_y(u)} - W_7(u) \right) \right) \left(\frac{1}{P'_y(u)} + k_s K_M \frac{1 + \varepsilon u}{gP_y(u) P_z(u) W_7(u)} \right) \quad (68)$$

Le mutant double défini par (44) remplit ces conditions pour certaines valeurs de la concentration en lactose dans le milieu extérieur. Une étude numérique montre que le point d'équilibre est instable pour :

$$5,25 \cdot 10^{-4} \text{ M} < L_e < 5,75 \cdot 10^{-3} \text{ M}. \quad (69)$$

Dans ce cas, on montre numériquement, qu'il y a un cycle limite autour de ce point et que toutes les variables sont des fonctions périodiques du temps. Pour $L_e = 1,25 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, la période se situe autour de 160 minutes. Lorsqu'on tient compte des retards, la fonction caractéristique (52) est transcendante. Nous avons alors :

Proposition 10. Le point d'équilibre du système (7) est unique et stable pour toute valeur de T si :

$$B + C \leq 1. \quad (70)$$

La démonstration est donnée en Annexe 3.

Cette condition est remplie pour la souche sauvage si la concentration en lactose dans le milieu est supérieure à $2 \cdot 10^{-5} \text{ M}$. Ainsi, dans ce cas, le type sauvage présente un unique point d'équilibre stable donc observable, quelles que soient les valeurs des retards. Nous ne pouvons pas obtenir plus de résultats théoriques sur le système (7) mais l'étude numérique montre que tous les simples mutants que nous avons décrits possèdent un point d'équilibre unique et stable pour des valeurs convenables des retards et de la concentration en lactose dans le milieu. Ce n'est pas toujours le cas pour des souches présentant deux mutations.

D. Description de doubles mutants imaginaires

Reprenons tout d'abord le mutant décrit par (44). Nous avons vu que pour une concentration de lactose dans le milieu de $1,25 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ le point d'équilibre était instable si l'on ne tenait pas compte des retards. Une étude numérique montre que pour

$$\tau_x = 240 \text{ s}, \quad \tau_y = 300 \text{ s}, \quad (71)$$

le point d'équilibre est stable pour toute valeur de L_e .

La figure (2a) montre les valeurs des retards pour lesquels il y a stabilité, lorsque $L_e = 1,25 \cdot 10^{-3} \text{ M}$.

Les valeurs de τ_y et τ_x dépendent à la fois des conditions de culture et des gènes de la bactérie, extérieurs à l'opéron lactose. Des variations assez faibles dans ces conditions semblent pouvoir transformer un mutant « stable » en un mutant « oscillant ».

Nous avons imaginé un autre mutant qui porte une mutation I^s sur i et des mutations sur y telles que

$$\frac{I'_2}{I_2} = 50 \left(\frac{I'_2}{I_2} \right)_s, \quad K'_y = 10K'_{y_s}, \quad K_y = 10K_{y_s}. \quad (72)$$

Il existe une zone de concentration de lactose dans le milieu telle que le point d'équilibre soit instable. Pour $L_e = 1,25 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, sans tenir compte des retards, la solution stationnaire est un cycle limite de période environ 65 minutes. Si on introduit les retards

(71), le point d'équilibre est encore instable et le cycle limite a une période de 75 minutes. La figure (2b) montre pour cette concentration les valeurs des retards qui rendent le point d'équilibre instable.

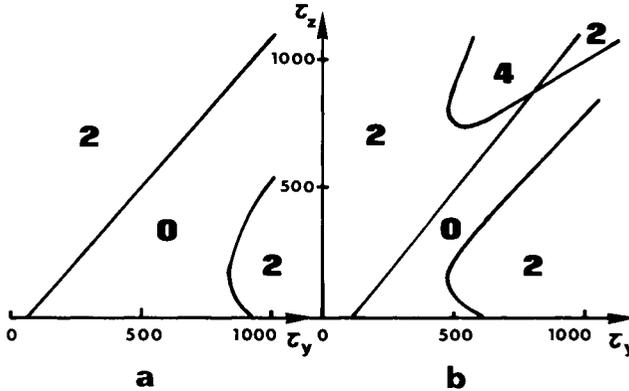


FIG. 2

Effet des retards sur la stabilité de l'équilibre.

Delays effects on equilibrium stability.

Pour des valeurs des retards τ_y et τ_z comprises entre 0 et 1000 secondes, on donne les zones où il y a 0, 2 ou 4 valeurs propres du système qui ont des parties réelles positives. Le domaine de stabilité correspond à la zone 0. Les constantes qui décrivent les mutants sont celles de la souche sauvage sauf les suivantes :

pour a) $k_c = 330 \text{ s}^{-1}$, $K'_y = 2,2 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, $l_2/l'_2 = 10^{-8} \text{ mol}^{-1}$;

pour b) $K_y = 250 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, $K'_y = 5,5 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, $l_2/l'_2 = 1,1 \cdot 10^{-7} \text{ mol}^{-1}$.

La concentration du lactose dans le milieu est égale à $1,25 \cdot 10^{-3} \text{ M}$.

For delays τ_y and τ_z values that are between 0 and 1000 seconds, areas where there are 0, 2 or 4 eigen values with positive real parts, are given. The stability domain corresponds to the 0 area. Constants that describe the mutant strains are those of the wild type except the following ones :

for a) $k_c = 330 \text{ s}^{-1}$, $K'_y = 2,2 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, $l_2/l'_2 = 10^{-8} \text{ mol}^{-1}$;

for b) $K_y = 250 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, $K'_y = 5,5 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, $l_2/l'_2 = 10^{-7} \text{ mol}^{-1}$.

Extracellular lactose concentration is $1,25 \cdot 10^{-3} \text{ M}$.

E. Résultats numériques et quantitatifs

L'analyse théorique précédente montre que le modèle de l'induction, tel qu'il a été établi, est caractérisé par des propriétés qualitatives simples et vérifiées pour tous les ensembles de paramètres qui peuvent représenter un génotype décrit. Il existe un seul point d'équilibre stable, qui dépend du génotype, et de la concentration dans le milieu de culture du substrat inducteur. L'étude numérique des valeurs d'équilibre et de la cinétique d'induction sont donc susceptibles de décrire, de façon quantitative, des comportements observables. Le premier paragraphe de cette section est consacré à l'étude des prévisions du modèle sur les caractéristiques des états d'équilibre et à leurs

comparaisons avec les données expérimentales disponibles. Les deux autres paragraphes décrivent les simulations dynamiques réalisées, et l'incidence de variations génétiques sur le comportement du système.

1. Niveau d'expression de l'opéron en fonction de la concentration de l'inducteur dans le milieu

Peu d'expériences quantitatives semblent avoir été réalisées dans ces conditions naturelles, en raison de la lenteur du mécanisme autocatalytique, et du métabolisme du lactose qui complique l'interprétation des résultats. La figure 3 donne la relation déduite du modèle, la forme sigmoïdale est ici uniquement due au choix d'une échelle logarithmique des concentrations; une échelle linéaire fait apparaître une courbe de

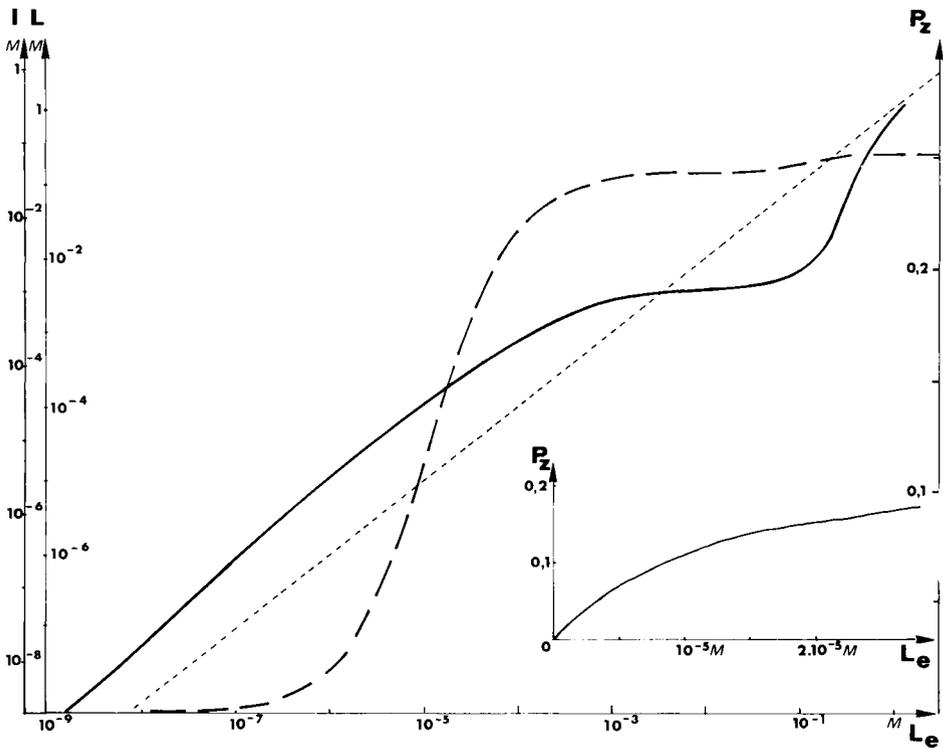


FIG. 3

Effet de la concentration en lactose dans le milieu.

Effect of exterior lactose concentration.

L_e , I, L sont les concentrations respectives du lactose dans le milieu, de l'allolactose et du lactose dans la cellule. P_z est la probabilité de transcription du gène z. La courbe en trait plein représente I ou L en fonction de L_e , la courbe en pointillés, P_z en fonction de L_e . Les échelles en L_e , I et L sont logarithmiques. Le cartouche donne P_z en fonction de L_e avec une échelle linéaire.

L_e , I, L are the respective concentrations of extracellular lactose, cellular allolactose and lactose. P_z is the probability of gene z transcription. The solid curve represents I or L, function of L_e , the dashed curve, P_z , function of L_e . L_e , I and L scales are logarithmic. The small curve gives P_z , function of L_e , with a linear scale.

forme hyperbolique, au moins jusqu'à des concentrations L_c de 10^{-2} M. D'après ces résultats, la concentration nécessaire pour obtenir la moitié de l'induction maximale se situerait aux alentours de 10^{-5} M, et l'induction maximale serait atteinte à partir de 10^{-4} à 10^{-3} M, concentrations correspondant au K_M de la perméase pour le lactose. Ceci est compatible avec une expérience de JOBE & BOURGEOIS (1973), sur une souche 0^c (partiellement constitutive), à 10^{-4} M. Cependant, dans la même expérience, ils ont mis en évidence l'effet anti-inducteur du lactose quand sa concentration dans le milieu est accrue. Le lactose peut en effet se lier au répresseur, et renforcer sa liaison avec l'opérateur; il se lie au répresseur au même site que les inducteurs, de sorte que son effet anti-inducteur, observé *in vivo* chez des souches z^- , capables d'incorporer le lactose, de l'accumuler dans la cellule, mais pas de le dégrader, se comprend bien. En revanche, dans une souche z^+ , le lactose est métabolisé, et les paramètres cinétiques de la β -galactosidase prévoient que le rapport des concentrations (lactose)/(allolactose) = L/I , est d'environ 4. Dans ces conditions, les coefficients d'association entre ces galactosides et le répresseur, d'une part, et les constantes de dissociation des complexes opérateur-répresseur-galactoside, d'autre part, conduisent à considérer que l'effet anti-inducteur du lactose est négligeable par rapport à l'effet inducteur de l'allolactose. De ce fait, les résultats rapportés par JOBE & BOURGEOIS (1973, tabl. 1) sur une souche sauvage (C6000), et mettant en évidence que le lactose diminue l'effet inducteur de l'IPTG, ne sont pas explicables uniquement par les propriétés anti-inductrices établies *in vitro*. L'effet anti-inducteur du lactose, *in vivo*, est observé pour des concentrations élevées, 10^{-2} M dans le milieu, soit environ 1 M dans la cellule (*ibid.*). A de telles concentrations, le mécanisme de la β -galactosidase est modifié (HUBER, KURZ & WALLENFELS, 1976). Le lactose et l'allolactose peuvent contribuer à la formation de trisaccharides. Une meilleure caractérisation des mécanismes de l'enzyme serait nécessaire pour savoir si, dans ce cas, le rapport (lactose)/(allolactose) devient assez grand pour que l'effet anti-inducteur établi *in vitro* puisse s'exprimer.

2. Cinétique initiale de l'induction

Le système dynamique (7) n'est pas linéaire, la forme des trajectoires ne peut donc pas être déduite de la seule connaissance du point initial (bactérie réprimée) et du point d'équilibre. Nous l'avons résolu numériquement pour quelques valeurs des paramètres, représentant une bactérie sauvage et quelques variants de la perméase et de la β -galactosidase (fig. 4).

Dans tous les cas étudiés, le processus d'induction se décompose en deux étapes, visibles sur les courbes donnant les valeurs de L et de I en fonction du temps. Dans la première étape, les enzymes Y et Z restent en quantités pratiquement égales aux valeurs initiales, en raison des délais de synthèse, et le système est pratiquement autonome en I et L . La seconde étape correspond aux situations où la concentration interne en inducteur a atteint une valeur suffisante pour induire l'opéron. La transition a toujours lieu dans les dix premières minutes du processus, dans toutes les situations que nous avons envisagées. Sauf pour les mutants de type I^s , où la constante l_2/l_2' est très petite, une concentration intracellulaire très faible en inducteur suffit pour que le taux de synthèse enzymatique soit maximal (cf. fig. 1). Dans la deuxième étape, on peut donc admettre que les équations en Y et Z sont pratiquement autonomes, et que l'approche vers l'équilibre des quantités Y et Z est conforme à celle d'un système linéaire. Pour justifier ce point, on peut considérer les équations décrivant, dans la première étape, la cinétique de I et L . Celles-ci peuvent être approchées par le système suivant :

$$\frac{dL}{dt} = \delta Y(0) + k_s L_c - Z(0) \frac{a+b}{\beta} L - k_s L$$

$$\frac{dI}{dt} = Z(0) \frac{bL - \alpha cI}{\beta} \quad (73)$$

où $\delta = k_c L_e / (L_e + K_M)$.

Ces équations sont des approximations valables tant que $I(t)$ et $L(t)$ restent petits par rapport aux valeurs des constantes de Michaelis de la β -galactosidase. Selon ces équations, $L(t)$ et $I(t)$ sont des fonctions croissantes du temps, et la valeur asymptotique de I vaut

$$I_a = \frac{\delta Y(0) + k_s L_e}{Z(0) \frac{a+b}{\beta} + k_s} \quad \text{si } Z(0) > 0 \quad \text{ou} \quad I_a = 0 \quad \text{si } Z(0) = 0 \quad (74)$$

et compte tenu des valeurs numériques décrivant le génotype sauvage, I_a vaut environ $0,3 \cdot 10^6$ molécules par cellule (pour $L_e = 10^{-3}$ M) et la moitié de cette valeur est atteinte en une dizaine de minutes. Cela correspond bien à la durée de la première étape (fig. 4) et la concentration intracellulaire d'inducteur ainsi obtenue ($u = 0,7$ à $1,4$ dans une souche I^+) est suffisante pour un taux d'induction élevée. Ces observations corroborent l'étude de la stabilité de l'équilibre, qui a montré que tous les mutants considérés sauf éventuellement ceux du type I^s présentaient une induction stable, parce que maintenue par de très faibles concentrations en inducteur.

Les courbes de la figure 4 indiquent de grandes variations dans les cinétiques d'incorporation du lactose, d'apparition de l'allolactose inducteur, et de synthèse des enzymes codées par l'opéron, selon l'activité de la perméase ou selon la concentration du lactose dans le milieu (paramètre δ) et selon la stabilité des enzymes (paramètres

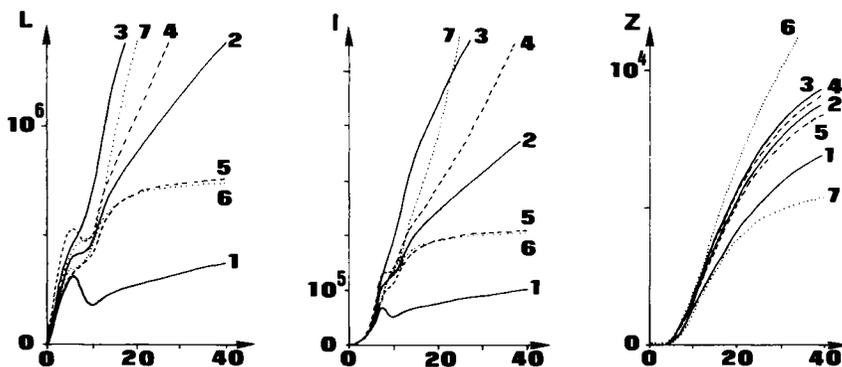


FIG. 4

Cinétiques d'induction dans plusieurs souches.

The kinetics of induction in several strains.

En abscisse, le temps en minutes; en ordonnées, le nombre de molécules de lactose (L), d'allolactose (I) et de monomères de β -galactosidase (Z).

Courbes : (1) type sauvage, avec $\delta = 20$; (2) id. avec $\delta = 50$; (3) id. avec $\delta = 70$; (4) mutant $Y^{(+)}$; (5) mutant $Y^{(-)}$; (6) mutant $Z^{(+)}$; (7) mutant $Z^{(-)}$. Ces mutants sont définis dans le tableau 4.

Abscissa: time in minutes; ordinates: numbers of molecules of lactose (L), allolactose (I), and β -galactosidase units (Z). Curves are numbered as follows: (1) wild type with $\delta = 20$; (2) id. with $\delta = 50$; (3) id. with $\delta = 70$; (4) mutant $Y^{(+)}$; (5) mutant $Y^{(-)}$; (6) mutant $Z^{(+)}$; (7) mutant $Z^{(-)}$. These mutant strains are defined in table 4.

TABLEAU 4

Valeurs des concentrations au point d'équilibre théorique et évaluation de la durée du processus d'induction, pour la souche sauvage et pour certains mutants.

Equilibrium states under natural induction in the wild type and in several mutant strains. Evaluation of the duration of the induction process.

Génotype paramètres modifiés	Type sauvage		$\delta = 70$	Y^{+1} $K'_y = 2,75 \cdot 10^{-4}$	Y^{+1} $K'_y = 1,1 \cdot 10^{-3}$	Z^{+1} $K'_z = 5,5 \cdot 10^{-4}$	Z^{+1} $K'_z = 2,2 \cdot 10^{-3}$
	$\delta = 20$	$\delta = 50$					
$\bar{P}_z (s^{-1})$	0,20	0,24	0,25	0,25	0,21	0,21	0,25
$\bar{Y} (\text{mol})$	9 100	10 000	11 200	23 000	4 800	9 600	11 300
$\bar{Z} (\text{mol})$	9 200	10 900	11 300	11 400	9 700	19 000	5 700
$\bar{L} (10^6 \text{ mol})$	0,56	2,9	13	270	0,76	0,76	136
$\bar{I} (10^6 \text{ mol})$	0,15	0,80	3,7	74	0,21	0,21	38
$\bar{G} (10^6 \text{ mol s}^{-1})$	0,18	0,54	0,77	0,87	0,24	0,48	0,43
$t_{1/2}$	2 h 40'	1 h 15'	1 h 0'	1 h 5'	1 h 50'	1 h 20'	1 h 20'
t_d	4 h 35'	2 h 0'	1 h 35'	1 h 35'	3 h 20'	2 h 5'	2 h 10'
$Y(t_d)/\bar{Y}$	1	0,96	0,92	0,73	1	0,98	0,98
$Z(t_d)/\bar{Z}$	1	0,99	0,99	0,98	1	0,98	1
$L(t_d)/\bar{L}$	1	0,91	0,63	0,07	1	1	0,80
$I(t_d)/\bar{I}$	1	0,91	0,61	0,07	1	1	0,77

P_z est le taux d'initiation de la transcription, G est le taux de variation de la production de glucose à l'équilibre.

t_d est le temps mis pour accumuler l'énergie nécessaire au doublement de la bactérie.

$t_{1/2}$ est le temps mis pour accumuler la moitié de cette énergie.

\bar{P}_z is the transcription initiation rate, \bar{G} is the equilibrium rate of glucose production variation.

t_d is the time needed to accumulate the energy for division.

$t_{1/2}$ is the time needed to accumulate half of this energy.

K'_y et K'_z). On peut ainsi prévoir que, selon les conditions, la bactérie sera capable de se diviser dans un délai plus ou moins bref, et que dans les cas d'induction très rapide, il est probable qu'une division intervienne avant que les différentes variables aient atteint une valeur proche de leurs valeurs théoriques d'équilibre. Pour préciser cet aspect, on peut se référer à la production cumulée de glucose, obtenu par hydrolyse du lactose, depuis l'instant initial. Le rendement, mesuré par le rapport (poids sec de bactérie/poids de sucre utilisé), est de 0,23 avec le glucose comme substrat (COHEN, 1976). Cela conduit à une valeur d'environ $5 \cdot 10^9$ molécules de glucose nécessaires pour permettre à la bactérie de se dédoubler. Comme chaque molécule de lactose produit par hydrolyse deux hexoses, le taux de production de glucose, calculé dans le modèle, doit être doublé pour représenter l'apport énergétique. Ceci permet d'évaluer, dans chaque situation, le temps nécessaire pour atteindre l'instant de la première division, t_d . Ces valeurs sont présentées au tableau 4 pour les variants considérés dans la figure 4, en même temps que les valeurs théoriques d'équilibre des concentrations des enzymes Y et Z, et des sucres L et I. Ce tableau suggère que le système est surtout sensible aux mutations sur la perméase, et que dans des cas où celle-ci est plus active (cas « $\delta = 70$ ») ou plus abondante (cas Y^{++}), la division peut intervenir pour des valeurs des concentrations éloignées des valeurs d'équilibre données par le modèle.

Au contraire des variations génétiques ou environnementales considérées plus haut, les variations concernant les conditions initiales de l'état de la bactérie ont des effets très faibles (fig. 5). Quelles que soient les concentrations initiales des bactéries en enzymes Y et Z dans la situation réprimée, les cinétiques d'induction demeurent pratiquement identiques, et devraient assurer, au cours des premières heures, une bonne synchronisation des divisions. Néanmoins ces résultats ne concernent que des bactéries ayant *au moins* une enzyme active de β -galactosidase : si, à l'instant de l'induction, une bactérie n'en possède aucune, elle n'est pas inductible par le lactose. Une telle

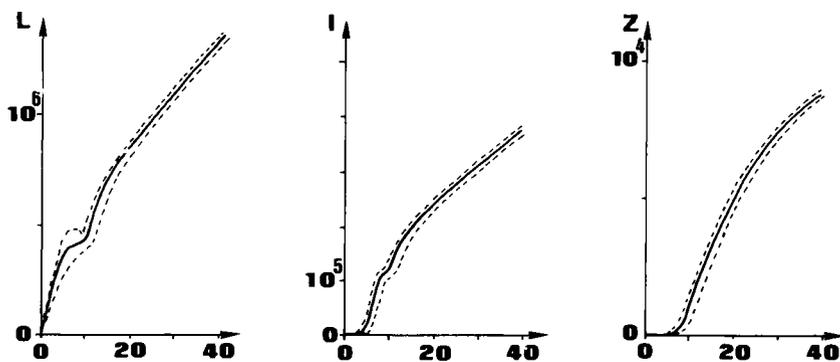


FIG. 5

Cinétiques d'induction : effet de variations sur les conditions initiales.

Kinetics of induction : effect of variable initial conditions.

En abscisse, le temps en minutes; en ordonnées, le nombre de molécules de lactose (L), d'allolactose (I) et de monomères de β -galactosidase (Z). La souche étudiée est le type sauvage, avec $\delta = 50$. La courbe centrale représente le cas moyen ($Y_0 = Z_0 = 13$ molécules). Les courbes en pointillés représentent les enveloppes inférieures et supérieures des trajectoires lorsqu'on fait varier Y_0 et Z_0 entre 1 et 30 molécules.

Abscissa: time in minutes; ordinates: numbers of molecules of lactose (L); allolactose (I) and β -galactosidase units (Z). The studied strain is the wild type one, with $\delta = 50$. The solid curve represents the medium case ($Y_0 = Z_0 = 13$ molecules). The dashed lines represents the trajectories upper and lower envelopes when Y_0 and Z_0 vary between 1 and 30 molecules.

bactérie peut devenir inductible, soit par suite d'une transcription de l'opéron en situation réprimée (cet événement intervient en moyenne toutes les 20 ou 30 minutes, d'après les données concernant l'interaction opérateur-répresseur (I, § II.A.) soit par coopération métabolique si les bactéries induites relâchent dans le milieu une quantité suffisante d'allolactose. Dans les deux cas, cela peut introduire une variabilité importante des instants où se produisent les premières divisions.

3. Effets conjoints de plusieurs mutations

Malgré la signification limitée des valeurs d'équilibre calculées selon le modèle, car elles peuvent ne pas être représentatives si les cellules se divisent rapidement, celles-ci peuvent néanmoins être utilisées pour étudier les effets conjoints de variations affectant plusieurs gènes dans un même système. Parmi les valeurs ainsi obtenues, les plus intéressantes sont les concentrations internes de lactose et d'allolactose, difficilement observables, et la vitesse de production de glucose, qui peut être rapportée au temps moyen entre divisions cellulaires.

Pour la souche sauvage, les niveaux intracellulaires de lactose et d'allolactose en phase induite sont respectivement d'environ $3 \cdot 10^6$ et $0,8 \cdot 10^6$ molécules par cellule, avec un taux de production de glucose de $0,6 \cdot 10^6$ molécules par cellule et par seconde. Les deux premiers nombres sont plutôt faibles, comparés aux niveaux les plus élevés trouvés chez des mutants $i^+z^-y^+$ induit par l'IPTG où la concentration est d'environ 10^9 molécules par cellule (JOBE & BOURGEOIS, 1973), comparés aussi au fait que le lactose représenterait 5 % du poids sec d'une bactérie induite (MALONEY & WILSON, 1978) ce qui correspond à $2 \cdot 10^8$ molécules par cellule. Par contre le taux de production du glucose est en accord avec les valeurs expérimentales sur le rendement du glucose (cf. paragraphe précédent) et conduit à un temps de dédoublement d'environ 70 minutes. Cette caractéristique, selon le tableau 4, est d'ailleurs beaucoup moins sujette à des variations importantes que les concentrations internes en lactose et allolactose auxquelles elle semble peu corrélée. Comme c'est d'autre part le trait le plus important du système, qui en exprime l'efficacité, une étude plus systématique des effets conjoints de plusieurs mutations et de variations du milieu lui a été consacrée. Les mutations considérées affectent simultanément les gènes de la perméase, de la β -galactosidase, et du promoteur du gène i codant pour le répresseur. Pour les gènes y et z , nous avons considéré à nouveau les variants (+) et (-) déjà introduits (tabl. 4 et fig. 4); pour le répresseur nous avons considéré, outre le niveau sauvage ($R^* = 0,2$), deux autres niveaux : $R^{*(-)} = 0,02$ et $R^{*(+)} = 2$. Enfin nous avons considéré trois valeurs pour la concentration du lactose dans le milieu de culture : $L_c = 10^{-4}$ M, 10^{-3} M et 10^{-2} M. Pour chacune des 81 combinaisons, nous avons calculé selon le modèle la vitesse de production de glucose (\dot{G}), dont on peut tirer une évaluation du temps moyen de division correspondant qui est, exprimé en minutes, de l'ordre de $40/\dot{G}$ où \dot{G} est exprimée en millions de molécules par bactérie et par seconde.

Les résultats sont présentés dans les figures 6 a, 6 b.

La confrontation des figures 6 a et 6 b montre immédiatement que des mutations sur les gènes y et z ont des effets de natures distinctes, et fortement dépendants : d'une façon générale les mutations assurant une plus grande stabilité de la perméase ($Y'^{-} \rightarrow Y'^{0'} \rightarrow Y'^{+}$), et donc un contenu cellulaire plus élevé en perméases, sont bénéfiques (fig. 6 a), alors que celles affectant la β -galactosidase paraissent être le plus souvent neutres, sauf en présence d'une perméase Y'^{+} et dans un milieu assez riche en lactose. Dans plusieurs situations, l'« allèle sauvage » Z^0 semble même être optimal (fig. 6 b). La concentration interne en répresseur, et la concentration externe en lactose jouent des rôles opposés sur l'expression du système; leurs effets amplifient les

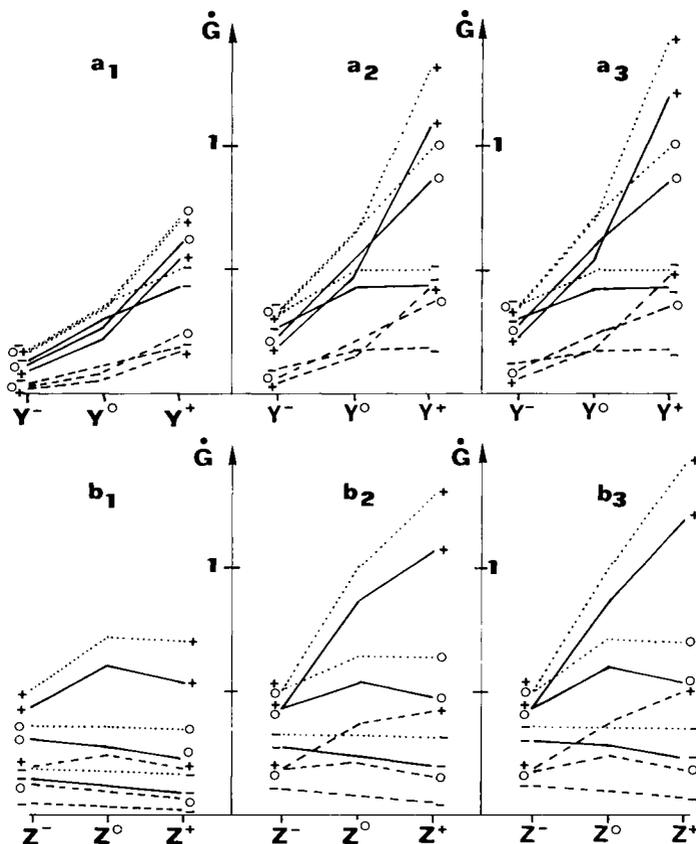


FIG. 6

Effets conjoints de la concentration extérieure du lactose (L_e), et de mutations sur les gènes de la perméase, de la β -galactosidase, et du répresseur, sur l'activité de l'opéron.

Joint effects of lactose concentration in the medium, and of mutations in the genes coding for the permease, the β -galactosidase and the repressor, on the activity of the operon.

En ordonnées : la production de glucose à l'équilibre, en millions de molécules par seconde et par bactérie.

Figures a1, a2, a3 : les résultats sont présentés en fonction des mutations sur le gène y. Y^- , Y^0 et Y^+ sont caractérisés respectivement par leurs valeurs de K_y (s^{-1}) : $1,1 \cdot 10^{-3}$; $5,5 \cdot 10^{-4}$ et $2,75 \cdot 10^{-4}$. Les courbes en pointillés, en traits continus, et en tirets correspondent aux trois valeurs de R: 0,02, 0,2 et 2 du nombre moyen de molécules libres de répresseur par cellule. Chaque courbe, indiquée par (-), (0) ou (+), décrit les résultats obtenus avec les variants Z^- , Z^0 et Z^+ de la β -galactosidase, caractérisés respectivement par les valeurs suivantes de K_z' (s^{-1}) : $2,2 \cdot 10^{-3}$; $1,1 \cdot 10^{-3}$ et $5,5 \cdot 10^{-4}$. Chacune des figures a1, a2 et a3 correspond à une concentration L_e du lactose dans le milieu de culture, respectivement : 10^{-4} M, 10^{-3} M et 10^{-2} M.

Figures b1, b2, b3 : les mêmes résultats sont présentés, en inversant les rôles des gènes y et z.

Ordinates: equilibrium rate of glucose production (millions of molecules per second per cell).

Figures a1, a2, a3: results are shown as function of the y mutations. Y^- , Y^0 and Y^+ are described by their K_y values (s^{-1}): $1,1 \cdot 10^{-3}$; $5,5 \cdot 10^{-4}$ and $2,75 \cdot 10^{-4}$. Dotted, solid and dashed lines refer to three values of R: .02, .2 and 2, respectively. Each curve is indexed by (-), (0) or (+), according to the β -galactosidase mutation it describes; these mutations are characterized by the following values of K_z' (s^{-1}): $2,2 \cdot 10^{-3}$, $1,1 \cdot 10^{-3}$ and $5,5 \cdot 10^{-4}$. Figures a1, a2 and a3 refer to outer concentrations of lactose of 10^{-4} M, 10^{-3} M and 10^{-2} M respectively.

Figures b1, b2, b3 show the same results, but the roles played by genes y and z are reversed.

différences entre génotypes, et se manifestent par un effet de seuil. Les variants R^0 et R^- diffèrent peu l'un de l'autre mais s'écartent de R^+ , qui n'est pratiquement pas inductible. L'effet d'un accroissement de la concentration en lactose est sensible entre 10^{-4} M et 10^{-3} M mais ne l'est plus guère au-delà. L'ensemble de ces résultats suggère que, dans une culture, les bactéries possédant une perméase plus stable auront tendance à être sélectionnées. En revanche, il ne semble pas que la sélection puisse s'exercer directement sur la β -galactosidase : seules des souches ayant déjà acquis une bonne perméase auraient leurs β -galactosidases soumises à la sélection (fig. 6b), alors que, dans des souches à perméase « moyenne », la β -galactosidase pourrait être soumise à une sélection pour une valeur intermédiaire optimale. Ces tendances mériteraient d'être analysées plus en détail, en envisageant des mutations sur d'autres fonctions de ces enzymes (leurs constantes catalytiques et de Michaelis), mais elles suggèrent néanmoins quelques idées sur le lien entre la fonction d'un gène et sa sensibilité à une sélection, naturelle ou artificielle.

Dans les 81 combinaisons du génotype et du milieu, on a vérifié la stabilité du point d'équilibre. Dans tous les cas sauf un, on a trouvé, de plus, que les retards de synthèse τ_y et τ_z , quelles que soient leurs valeurs, n'avaient pas d'influence sur la stabilité du système. L'exception correspond à la combinaison (R^+ , Y^- , Z^+ , $L_e = 10^{-4}$ M). Dans ce cas il apparaît que pour des retards τ_z assez grands, il existe des valeurs de τ_y pour lesquelles l'équilibre devient instable. Néanmoins, ces cas d'instabilité supposent des valeurs non vraisemblables des retards, en particulier une valeur de τ_z supérieure à 40 minutes; de plus, pour toute valeur de τ_z inférieure à 30 minutes, la stabilité est assurée quel que soit τ_y . On peut donc admettre, pratiquement, que ce cas est, également, toujours stable.

V. Discussion et conclusion

L'élaboration d'un modèle quantitatif d'un système polygénique soulève au moins trois questions :

(i) Le modèle est-il cohérent, dans sa structure mathématique, et rend-il compte convenablement des phénomènes qu'il est censé décrire?

(ii) Les développements mathématiques suscités par cette démarche apportent-ils une meilleure compréhension du fonctionnement de l'ensemble du système ou une meilleure connaissance quantitative de certains paramètres difficiles à mesurer directement; peuvent-ils contribuer à la conception d'expériences nouvelles?

(iii) L'élaboration et l'étude d'un modèle sont-elles utiles pour aborder l'analyse de nouveaux systèmes génétiques décrits avec moins de détails que l'opéron lactose; dans quelle mesure les méthodes employées et les résultats acquis ici seront-ils transposables?

Par sa structure mathématique, notre modèle est susceptible de décrire des comportements variés : selon le jeu choisi de paramètres, il peut présenter un point d'équilibre stable, un point instable et un cycle limite, un point col et deux points stables ou instables. Une partie essentielle du travail présenté a été de rechercher quels comportements correspondaient à des valeurs biologiquement possibles des paramètres, et quelles variations de paramètres provoquaient un changement de comportement. Un des résultats les plus frappants de cette étude est l'unicité du point d'équilibre : quelles que soient les conditions initiales, le système évolue vers un même état qui ne dépend que du génotype et de la concentration finale du lactose dans le milieu. Ce résultat est obtenu en tenant compte des valeurs connues des paramètres et malgré des incertitudes

parfois considérables. En effet, pour obtenir une situation à trois points d'équilibre, c'est-à-dire où l'état final dépend non seulement de la concentration finale du lactose dans le milieu mais aussi de cette concentration dans le passé, nous avons montré qu'il faudrait diminuer d'un facteur 10^7 le rapport de la vitesse d'entrée passive sur la vitesse de métabolisation du lactose, par rapport à sa valeur dans le type sauvage : ceci paraît être biologiquement impossible. Cette circonstance simplifie beaucoup l'étude générale du modèle : les seuls comportements possibles restent l'évolution d'un état réprimé vers un état plus ou moins induit selon le génotype et le milieu, ou bien l'évolution vers une oscillation entre états induit et réprimé. Cette situation topologique est analogue à celle rencontrée dans un modèle simple de la dynamique de l'opéron tryptophane (BLISS, PAINTER, MARR, 1982). Nous avons établi des conditions suffisantes, toujours remplies par les génotypes connus considérés, pour que le modèle décrive le premier comportement, et nous avons désigné des paramètres dont des variations vraisemblables étaient susceptibles de faire passer le système d'un comportement à l'autre.

L'uniformité topologique des solutions, pour tout mutant décrit et isolé, autorise l'usage numérique du modèle pour réaliser une étude qualitative et quantitative des effets de la variation des paramètres. Notre modèle permet ainsi de retrouver comme MANDECKI (1979) les relations, de type homographique, entre les concentrations des molécules régulatrices et le niveau d'expression de l'opéron. De plus, il établit que la relation entre la concentration d'un inducteur gratuit dans le milieu et le niveau d'expression de l'opéron est plus ou moins sigmoïdale, selon la capacité de la perméase à concentrer l'inducteur dans la cellule. La simulation dynamique de l'induction donne, pour une souche sauvage, un délai apparent d'une dizaine de minutes entre l'introduction de l'inducteur dans le milieu et l'induction complète de la synthèse des enzymes, ce qui est en bon accord avec les observations. Le modèle peut également être utilisé pour évaluer l'ordre de grandeur de paramètres mal connus. Ceci a permis déjà de situer les valeurs de certains coefficients décrivant la région de contrôle (partie I). Un paramètre important mais difficile à mesurer est la constante catalytique k_c de la perméase : les résultats rapportés par WRIGHT *et al.* (1981) font état de valeurs disparates, allant de 4 s^{-1} à 300 s^{-1} . Selon notre modèle, des valeurs inférieures à 50 s^{-1} semblent exclure la possibilité d'une induction efficace et assez rapide; inversement des valeurs très supérieures signifieraient que les états induits observés correspondent à des états très éloignés du point d'équilibre, et impliqueraient un certain gaspillage d'énergie. L'étude à l'équilibre de l'induction par un inducteur non métabolisé, IPTG ou allolactose, suggère en revanche une valeur faible de la constante catalytique pour ces substrats. Les différences semblent justifiées entre les paramètres concernant le lactose et l'IPTG, mais celles entre les paramètres du lactose et de l'allolactose posent un problème et nécessiteraient d'entreprendre des expériences complémentaires. D'autres informations, difficiles à obtenir par l'expérience, sont apportées par le modèle. Il indique en particulier que les concentrations intracellulaires en lactose et en allolactose sont peu corrélées à la vitesse de production de glucose et de galactose (donc au temps de division cellulaire), mais très sensibles à la concentration extérieure du lactose et à la constante catalytique k_c de la perméase. Là encore, certaines observations (JOBE & BOURGEOIS, 1973; MALONEY & WILSON, 1978) conduisent à proposer une valeur élevée de k_c . Pour des valeurs élevées de ce paramètre, cependant, on prédit une concentration intracellulaire très élevée du lactose, qui peut induire une modification des mécanismes de la β -galactosidase (HUBER *et al.*, 1976). Si cela conduit à une valeur du rapport L/I supérieure à celle calculée pour une concentration plus faible, l'effet anti-inducteur du lactose pourrait s'exprimer et des comportements nouveaux du système pourraient apparaître. Nous ne connaissons pas d'étude indiquant la possibilité d'une grande valeur du rapport L/I, même à hautes concentrations, mais il est certain que l'existence d'un effet anti-inducteur du lactose, *in vivo*, demeure incomprise et nécessite une nouvelle approche.

Les modifications des valeurs numériques des paramètres permettent aussi de décrire des mutants. L'étude de la stabilité du point d'équilibre nous a conduits à imaginer des génotypes dont les phénotypes présenteraient un comportement oscillant. Pour obtenir une telle transition, deux paramètres au moins doivent être modifiés : le coefficient d'association l_2/l_1 entre le répresseur et l'inducteur doit être diminué (mutant de type I^s), et le rapport, $A = K'_y/K'_z$, entre les demi-vies des deux enzymes du système, doit être augmenté. L'hypothèse d'une plus grande stabilité de la perméase ($A < 1$) implique la stabilité de l'équilibre.

La vérification de cette condition par les paramètres de notre modèle n'a cependant pas de support expérimental direct, nous l'avons déduite de deux observations : la polarité de la transcription et l'égalité approximative des nombres de sites actifs des deux enzymes dans une bactérie induite. Il serait très intéressant d'étudier expérimentalement ce rapport A, et d'analyser si sa modification peut induire in vivo des comportements anormaux. Les génotypes que nous avons imaginés pour répondre aux critères d'instabilité comportent une mutation I^s, et une mutation sur le gène y qui augmenterait le rapport A ainsi que la constante catalytique k_c , ou bien la production de perméase par ARN messager (paramètre K_y). Les oscillations théoriques prévues ne semblent pas observables car de périodes supérieures à celle du cycle cellulaire. Pour obtenir des périodes plus brèves, le modèle suggère d'augmenter les retards globaux de synthèse τ_y et τ_z , et de rendre le retard τ_y très supérieur à τ_z : la sélection, et même l'existence de tels génotypes semblent difficiles à concevoir.

Cette analyse tend à prouver que le mécanisme de l'induction de l'opéron lactose est extrêmement robuste à l'égard des mutations possibles. Par cette propriété, l'opéron lactose semble s'opposer à l'opéron tryptophane. Ce système de biosynthèse est réprimé par la conjonction de plusieurs mécanismes mettant en jeu le tryptophane, produit final de la voie de biosynthèse (PLATT, 1978) : le tryptophane réprime sa propre synthèse à deux niveaux, sur l'ADN en formant un répresseur avec le produit du gène *trp R*, dans la voie de sa synthèse en inhibant la première enzyme; l'ARN de transfert spécifique du tryptophane, chargé, provoque, de plus, une atténuation de la transcription de l'opéron. BLISS *et al.* (1982) ont formulé un modèle simple des deux premiers mécanismes de cette répression et mis en évidence que l'inhibition de la première enzyme par le tryptophane était une composante essentielle de la stabilité de l'induction. L'approche de ces auteurs est plus globale que la nôtre, de sorte que la comparaison des résultats n'est pas simple; on peut penser néanmoins que les différences entre les structures dynamiques des deux systèmes sont significatives et reflètent les rôles opposés que jouent ces deux opérons, l'un assurant la dégradation d'un substrat, l'autre permettant la synthèse d'un acide aminé. Par ailleurs, la simplicité et la quasi-unicité du comportement que nous avons décrit avec notre modèle, tranchent avec la richesse des situations topologiques suggérées par le modèle de SANGLIER & NICOLIS (1976). En réalité, et indépendamment des critiques que l'on peut formuler à l'égard de ce dernier travail (GILLOIS, TABARY, CHEVALET, 1981), ces deux modèles de l'opéron lactose ne sont pas comparables. En effet nous avons ici exclu les aspects dynamiques de la répression catabolique, et admis que les enzymes de la partie haute de la glycolyse, ainsi que la glucokinase, étaient suffisamment actives pour maintenir la concentration intracellulaire du glucose à un niveau où elle ne perturbe pas l'hydrolyse du lactose.

Comme les travaux analogues (GOODWIN, 1963, 1969; KNORRE, 1968, 1973; SANGLIER, NICOLIS, 1976; BLISS *et al.*, 1982), notre analyse souffre de deux limitations générales liées à la structure mathématique : nous avons retenu une description déterministe des phénomènes, qui peut masquer des éventualités importantes dans les phases initiales de l'induction, et nous avons délibérément omis l'étude de la division cellulaire et de la croissance d'une population. Cette dernière restriction est gênante pour relier les résultats à l'équilibre du modèle aux données expérimentales : on admet

implicitement que dans la phase induite, les variations de concentration des effecteurs, dues aux divisions successives, ne sont pas susceptibles de modifier sensiblement les taux de transcription. Il existe des modèles généraux de croissance d'une population, qui prennent en compte un métabolisme cellulaire en relation avec la vitesse de division, mais ils se traduisent par un formalisme assez lourd (FREDRICKSON, RAMKRISHNA, TSUCHIYA, 1967). De plus, il faut intégrer dans les équations le fait que selon la vitesse de croissance, une bactérie contient un ou plusieurs exemplaires de chaque gène (ALBERGHINA & MARIANI, 1980). Enfin, de nouveaux paramètres mal connus s'introduisent : la loi de distribution de la durée séparant deux initiations de la réplication du chromosome, celle décrivant la durée séparant la naissance d'une cellule et sa division, et leur dépendance vis-à-vis d'une activité métabolique. L'adoption de relations analytiquement simples, semi-empiriques mais qualitativement justifiées par une étude détaillée analogue à celle que nous avons présentée, semble être une voie nécessaire pour aborder ce niveau supérieur de complexité. Cependant, ce type de manipulation implique la perte du caractère génétique de la description que nous avons adoptée. Cette approche s'est pourtant révélée essentielle pour comprendre et analyser l'effet, sur la dynamique du processus d'induction, des mutations déjà prises en compte par MANDECKI (1979) dans son étude de la région de contrôle. Tout en utilisant et en confirmant ses résultats, notre extension a montré que, par delà la complexité des interactions moléculaires et la diversité des valeurs numériques des paramètres, une propriété qualitative unique du système de régulation, vérifiée par tous les mutants considérés, suffisait à rendre compte des principales propriétés qualitatives du modèle d'induction. Cette propriété se traduit par une inégalité (6), elle peut être remplacée par l'adoption d'une loi homographique, une sorte d'extension empirique de la loi de Michaelis. Cependant les paramètres de la loi empirique n'ont pas la signification intrinsèque des paramètres de la loi complexe, de la même façon que dans une équation de cinétique enzymatique, les constantes de Michaelis et les constantes catalytiques ne sont pas des expressions simples des coefficients d'association entre l'enzyme et ses ligands. Inversement, il semble que l'adoption d'un modèle très détaillé des interactions moléculaires entre l'ADN et les protéines régulatrices (MANABE, 1981) n'apporte pas nécessairement une meilleure description du fonctionnement global du système alors qu'elle introduit de nouveaux paramètres inconnus. La description des mécanismes moléculaires de la régulation génétique progresse rapidement, elle fait apparaître des analogies de structure (entre les gènes des répresseurs de l'opéron lactose, de l'opéron galactose, et du phage λ , par exemple), ou de logique (entre les systèmes de commutation de la lysogénie de plusieurs bactériophages). Ainsi peut-on imaginer, comme cela a été réalisé pour les réactions enzymatiques, une classification de ces mécanismes, et la définition pour chaque type de quelques paramètres observables.

Une autre caractéristique de la région de contrôle, essentielle dans le développement de notre étude, est son adaptation instantanée aux concentrations des effecteurs. Cette hypothèse a toujours été faite dans les travaux analogues; pourtant elle est difficile à justifier si l'on considère par exemple que le complexe entre opérateur et répresseur peut avoir une demi-vie de 10 à 30 minutes, et nous n'avons pu la justifier que par des considérations numériques. Quelle est la généralité de cette propriété, parmi les systèmes connus? L'adoption directe de cette hypothèse, dans l'étude d'un nouveau système, est tentante mais risquée. En effet si les temps moyens de réponse de la région de contrôle sont du même ordre de grandeur que ceux du système métabolique contrôlé^(*), les propriétés qualitatives de l'ensemble pourraient être profondément modifiées. Cette éventualité peut exiger un formalisme stochastique, ou bien, si l'analyse biologique le

(*) L'intégration numérique des équations (7), sans introduction des retards ($\tau_v = \tau_z = 0$), fait apparaître un délai intrinsèque d'environ 3 minutes pour l'amorçage du processus autocatalytique de l'induction (résultats non présentés).

justifie, l'introduction de nouveaux arguments retardés. Cette approche, tout en suscitant une recherche mathématique d'intérêt général (CORPET, 1983), s'est révélée fructueuse dans l'analyse de l'opéron lactose en montrant comment ce type de paramètre pouvait être utilisé pour caractériser globalement un ensemble de processus, et quel type de conclusion on pouvait en tirer.

Cette première étude détaillée d'un système polygénique nous a permis d'évaluer les possibilités et les limites d'une modélisation dynamique, d'illustrer l'apport d'un tel travail à la compréhension d'un système, et de dégager quelques propriétés qui sont peut être partagées par d'autres modèles biologiques.

Le parti pris réductionniste auquel nous nous sommes rangés s'est révélé fructueux, malgré la lourdeur de l'écriture. En effet, non seulement cela n'a pas interdit le développement d'une analyse qualitative, mais encore cela nous a permis de distinguer les parties du système susceptibles d'être représentées par un résumé semi-empirique (la région de contrôle), de celles qui étaient irréductibles. Ainsi la stabilité relative des deux enzymes du système est-elle apparue comme un paramètre important dans la dynamique du processus : une représentation directe du système par les équations de Goodwin, comme celle adoptée par BLISS *et al.* (1982) pour l'opéron tryptophane, n'aurait pas permis de mettre en évidence cette propriété. Ce type d'approche détaillée nous semble toujours utile pour aborder un nouveau système, et nécessaire pour établir un formalisme plus simple, qui est indispensable pour aborder les niveaux de complexité supérieure. A l'occasion de ces simplifications, la relation directe entre les paramètres et leurs significations génétiques est inévitablement perdue, mais les équations doivent garder la capacité de décrire tout génotype, faute de quoi elles ne traduiraient plus la réalité biologique.

Reçu le 7 février 1983.

Accepté le 20 avril 1983.

Remerciements

Nous remercions MM. les Professeurs GUMOWSKI I. (Université Paul-Sabatier, Toulouse), et MIRA C. (I.N.S.A., Toulouse) pour leur aide et leur soutien.

Références bibliographiques

- ALBERGHINA L., MARIANI L., 1980. Analysis of a cell cycle model for *Escherichia coli*. *J. Math. Biol.*, **9**, 389-398.
- BARKLEY M.D., BOURGEOIS S., 1978. Repressor recognition of operator and effectors. In : *The Operon* (ed. Miller J.H. and Reznikoff N.S.), Cold spring harbor laboratory, Cold Spring Harbor, New York, 177-220.
- BECKWITH J., GRODZICKER T., ARDITTI R., 1972. Evidence for two sites in the *lac* promoter region, *J. Mol. Biol.*, **69**, 155-160.
- BLISS R.D., PAINTER P.R., MARR A.G., 1982. Role of feedback inhibition in stabilizing the classical operon. *J. Theor. Biol.*, **97**, 177-193.
- BOEZI J.A., COWIE D.B., 1961. Kinetic studies of β -galactosidase induction. *Biophys. J.* **1**, 639-647.
- CHEVALET C., GILLOIS M., MICALI A., 1978. Sur un modèle en cinétique enzymatique. *C.R. Acad. Sci. Paris*, **287**, Série D, 169-172.
- CHEVALET C., GILLOIS M., MICALI A., 1981. Sur un modèle en cinétique enzymatique, II. In : *Modèles Mathématiques en Biologie* (Chevalet C. et Micali A., ed.), Lecture Notes in Biomathematics, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, **41**, 28-39.
- CHEVALET C., CORPET F., GILLOIS M., MICALI A., 1983. Modélisation dynamique de systèmes génétiques de régulation. I. L'induction de l'opéron lactose d'*Escherichia coli* : élaboration d'un modèle. *Génét. Sél. Evol.*, **15**, 1-30.

- CLARK D.J., MARR A.G., 1964. Studies on the repression of β -galactosidase in *Escherichia coli*. *Biochim. Biophys. Acta*, **92**, 85-98.
- COHEN G., 1976. *Microorganismes et biologie moléculaire*. Hermann, Paris.
- CORPET F., 1983. Influence des retards sur la stabilité d'un point d'équilibre. *C.R. Acad. Sci. Paris*, **296** (10 janvier 1983), série I, 31-34.
- CORPET F., CHEVALET C., GILLOIS M., MICALI A., 1983. *Dynamics and stability of induction of the lactose operon of Escherichia coli*. In : Cosnard M., Demongeot J., Le Breton A. (ed.), *Rhythms in Biology and other Fields of Applications*. Lecture Notes in Biomathematics, **49**, 123-143. Springer Verlag, Berlin.
- EPSTEIN W., ROTHMANDENES L., HESS J., 1975. Adenosine 3' : 5'-cyclic monophosphate as mediator of catabolite repression in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **72**, 2300-2304.
- FREDRICKSON A.G., RAMKRISHNA D., TSUCHIYA H.M., 1967. Statistics and dynamics of procaryotic cell populations. *Math. Bio-Sci.*, **1**, 327-374.
- GILBERT W., MULLER-HILL B., 1967. The *lac* operator is DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **58**, 2415-2418.
- GILLOIS M., TABARY F., CHEVALET C., 1981. Biologie et Mathématiques. In : *Modèles Mathématiques en Biologie* (Chevalet C., et Micali A., ed.), Lecture Notes in Biomathematics, vol. **41**, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 3-13.
- GOODWIN B.C., 1963. *Temporal Organization in Cells*. Academic Press, London.
- GOODWIN B.C., 1969. Control dynamics of β -galactosidase in relation to the bacterial cell cycle. *Eur. J. Biochem.*, **10**, 515-522.
- HEINEKEN F.G., TSUCHIYA H.M., ARIS R., 1967. On the mathematical status of the pseudo-steady state hypothesis of biochemical kinetics. *Math. Bio-Sci.*, **1**, 95-113.
- HUBER R.E., KURZ G., WALLENFELS K., 1976. A quantitation of the factors which affect the hydrolase and transgalactosylase activities of β -galactosidase (*E. coli*) on lactose. *Biochemistry*, **15**, 1994-2001.
- JACOB F., MONOD J., 1961. On the regulation of gene activity. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, **28**, 193-210.
- JOBE A., RIGGS A.D., BOURGEOIS S., 1972. *Lac*-repressor operator interaction. V. Characterisation of super and pseudo-wild type repressors. *J. Mol. Biol.*, **64**, 181-199.
- JOBE A., BOURGEOIS S., 1972. *Lac*-repressor-operator interactions. VI. The natural inducer of the *lac* operon. *J. Mol. Biol.*, **69**, 397-408.
- JOBE A., BOURGEOIS S., 1973. *Lac*-repressor operator interaction. VIII. Lactose is an anti-inducer of the *lac* operon. *J. Mol. Biol.*, **75**, 303-313.
- JOBE A., SADLER J.R., BOURGEOIS S., 1974. *Lac*-repressor operator interaction. IX. The binding of *lac* repressor to operators containing 0° mutations. *J. Mol. Biol.*, **85**, 231-248.
- KEPES A., 1978. *Aspects moléculaires des fonctions membranaires*. Masson, Paris.
- KNORRE W.A., 1968. Oscillations of the rate of synthesis of β -galactosidase in *Escherichia coli* ML 30 and ML 308. *Biochem. biophys. Res. Commun.*, **31**, 812-817.
- KNORRE W.A., 1973. Oscillations in the epigenetic system : biophysical model of the β -galactosidase control system. In : Chance B., Pye E., Glosch A., Hess B. (ed.), *Biological and Biochemical Oscillators*, 449-457, Academic Press, London.
- MAJORS J., 1975. Specific binding of CAP factor to *lac* promoter DNA. *Nature*, **256**, 672-674.
- MALONEY P.C., WILSON T.H., 1978. Metabolic control of lactose entry in *E. coli*. *Biochim. Biophys. Acta*, **511**, 487-498.
- MANABE T., 1981. Mathematical expression for the rate of initiation and certain prediction on the non-competitive binding operon : the *E. coli* lactose operon. *J. Theor. Biol.*, **89**, 271-302.
- MANDECKI W., 1979. A kinetic model for interaction of regulatory protein and RNA polymerase with the control region of the *lac* operon of *E. coli*. *J. Theor. Biol.*, **81**, 105-122.
- PERLMAN R., CHEN B., de COMBRUGHE B., EMMER M., GOTTESMAN M., VARMUS H., PASTAN I., 1970. The regulation for *lac* operon transcription by cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, **35**, 419-423.
- PHILIPPOV A., 1976. Conditions de négativité de toutes les parties réelles des racines de l'équation à coefficients réels : $a_0\lambda^n + \dots + a_n = 0$. In : *Recueil de problèmes d'équations différentielles* (trad. franç. PETROSSOV G.), 79-81, Éditions Mir, Moscou.
- PIOVANT M., LAZDUNSKI C., 1975. Different cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate requirements for induction of β -galactosidase and tryptophanase. Effect of osmotic pressure on intracellular cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate concentrations. *Biochemistry*, **14**, 1821-1825.

- PLATT T., 1978. Regulation of gene expression in the tryptophan operon of *Escherichia coli*. In : *The Operon* (ed. Miller J.M. and Reznikoff W.S.), Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, 263-302.
- REZNIKOFF W.S., ABELSON J.N., 1978. The *lac* promoter. In : *The Operon* (ed. MILLER J.H. and REZNIKOFF N.S.), Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, 221-243.
- SANGLIER M., NICOLIS G., 1976. Sustained oscillations and threshold phenomena in an operon control circuit. *Biophys. Chem.* **4**, 113-121.
- WRIGHT J.K., RIELDE I., OVERATH P., 1981. Lactose carrier protein of *Escherichia coli* : Interaction with galactosides and protons. *Biochemistry*, **20**, 6404-6415.
- ZABIN I., FOWLER A., 1978. β -galactosidase, the lactose permease protein and thiogalactoside transacetylase. In : *The Operon* (ed. Miller J.H. and Reznikoff N.S.), Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, 89-121.

Annexe 1

Validité de l'approximation en dimension 4

Pour justifier numériquement l'approximation qui permet d'utiliser le système (7) au lieu du système (1, 2, 3 a, 4), nous avons comparé les valeurs des différentes concentrations au cours du temps pour les deux systèmes. Pour une concentration X, nous appelons e(X) l'erreur définie par

$$e(X) = 100(X_4 - X_9)/X_9$$

où X_4 est la valeur de X calculée avec le système de dimension 4 et X_9 , avec l'autre système.

Les tableaux donnent les valeurs de e pour les 40 premières minutes de l'induction de la souche sauvage par du lactose en concentration de 10^{-3} M dans le milieu, variante A pour le tableau A 1.1., variante B pour le tableau A 1.2.

TABLEAU A 1.1.

t : (minutes)	e(Y)	e(Z)	e(L)	e(I)
1	0	0	0	0
2	0	0	0	0
3	0	0	0	0
4	0	3,7	-0,072	0,79
5	0	3,3	-0,36	1,9
6	3,9	2,6	-0,41	1,2
7	2,5	2,0	-0,084	0,38
8	1,7	2,0	0,035	0,12
9	1,9	1,6	0,26	0,17
10	1,4	1,1	0,55	0,55
11	1,1	0,84	0,47	0,49
12	0,89	0,65	0,33	0,34
13	0,66	0,52	0,24	0,24
14	0,55	0,46	0,18	0,18
15	0,52	0,39	0,16	0,16
16	0,46	0,33	0,15	0,14
17	0,38	0,30	0,13	0,12
18	0,34	0,27	0,12	0,11
19	0,28	0,23	0,11	0,11
20	0,29	0,21	0,11	0,11
25	0,18	0,12	0,087	0,088
30	0,13	0,083	0,077	0,077
35	0,097	0,057	0,069	0,069
40	0,074	0,045	0,063	0,060

TABLEAU A 1.2.

t (minutes)	e(Y)	e(Z)	e(L)	e(I)
1	0	0	0	0
2	0	0	0	0
3	0	0	0	0
4	0	3,7	-0,074	0,83
5	0	3,4	-0,37	2,0
6	3,9	2,7	-0,42	1,3
7	2,5	2,0	-0,072	0,40
8	2,1	1,9	0,068	0,15
9	1,7	1,5	0,28	0,20
10	1,6	1,1	0,53	0,53
11	1,1	0,80	0,45	0,47
12	0,86	0,62	0,32	0,33
13	0,64	0,53	0,23	0,24
14	0,54	0,44	0,18	0,18
15	0,46	0,39	0,16	0,16
16	0,45	0,33	0,14	0,14
17	0,37	0,27	0,13	0,12
18	0,33	0,25	0,12	0,12
19	0,27	0,22	0,11	0,11
20	0,25	0,20	0,10	0,11
25	0,17	0,13	0,085	0,084
30	0,12	0,078	0,075	0,075
35	0,090	0,051	0,067	0,067
40	0,080	0,039	0,061	0,061

Annexe 2

Stabilité du point d'équilibre dans le cas de l'induction gratuite

Si l'on suppose le retard nul ($\tau_y = 0$) dans l'équation (17), la condition nécessaire et suffisante de stabilité s'écrit

$$k_s^0 K_y' - p(E) > 0 \quad (19)$$

où $p(E)$, défini par (18), est le coefficient du terme exponentiel de l'équation (17). L'influence du retard sur la stabilité de l'équilibre dépend du nombre de racines réelles positives du polynôme suivant, associé à l'équation (17) (CORPET, 1983) :

$$\begin{aligned} \Pi_1(X) &= \|(i\sqrt{X} + k_s^0)(i\sqrt{X} + K_y')\|^2 - \|p(E)\|^2 \\ &= X^2 + X(k_s^0 - K_y')^2 + (k_s^0 K_y')^2 - (p(E))^2 \end{aligned}$$

Par conséquent, la même condition (19) est nécessaire et suffisante pour que le retard τ_y n'ait pas d'influence sur la stabilité de l'équilibre, quelle que soit sa valeur, positive ou nulle.

Annexe 3

Résultats sur l'influence des retards

A. Démonstration de la Proposition 7

C'est un cas particulier de la proposition 10 pour lequel P est infini.

B. Cas particuliers de l'équation (37)

1) $A = 1$. Dans ce cas l'équation s'écrit :

$$(X+1)[X+1+B \exp(-XT_z) - C \exp(-XT_y)] = 0. \quad (A3.1)$$

D'après CORPET (1983), l'existence de racines à partie réelle positive dépend du nombre de racines positives d'un polynôme associé à l'équation caractéristique (A3.1) :

$$\Pi(X) = ((C+B)^2 - 1 - X)(1 + X - (C-B)^2).$$

En tenant compte de la condition (38) d'unicité, on obtient les résultats suivants :

Si $B+C \leq 1$, le point d'équilibre est stable pour toute valeur des retards.

Si $B-C > 1$, il existe T_{z1} et T_{z2} tels que le point d'équilibre soit stable pour $T_z < T_{z1}$, T_y quelconque et instable pour $T_z \geq T_{z2}$, T_y quelconque. Pour $T_{z1} \leq T_z < T_{z2}$, il existe des valeurs de T_y tel que le point soit stable et d'autres tel qu'il soit instable. Si $B-C \leq 1$ et $B+C > 1$ il existe T_{z1} tel que le point d'équilibre soit stable pour $T_z < T_{z1}$, T_y quelconque. Le point est stable si $|T_y - T_z| < 1/\sqrt{BC}$.

2) $T_y = T_z$ (fig. 7). Avec un seul retard le polynôme associé à A3.1 s'écrit :

$$\begin{aligned} \Pi_1(X) &= \|(i\sqrt{X} + 1)(i\sqrt{X} + A)\|^2 - \|(AC - B)i\sqrt{X} + A(C - B)\|^2 \\ &= X^2 - X[(AC - B)^2 - 1 - A^2] + A^2[1 - (B - C)^2]. \end{aligned}$$

Selon les valeurs de A, B et C ce polynôme possède zéro, une ou deux racines réelles positives. En utilisant l'inégalité (38), on a les résultats suivants :

a) pour $B - C \leq 1$, $(AC - B)^2 - 1 - A^2 < 2A\sqrt{1 - (B - C)^2}$ (ou bien $B - C = 1$ et $(AC - B)^2 = 1 + A^2$), le point d'équilibre est stable pour toute valeur de T;

b) pour $B - C < 1$, $(AC - B)^2 - 1 - A^2 = 2A\sqrt{1 - (B - C)^2}$, le point d'équilibre est stable pour toute valeur de T n'appartenant pas à une certaine suite dénombrable de valeurs;

c) pour $B - C < 1$, $(AC - B)^2 - A - A^2 > 2A\sqrt{1 - (B - C)^2}$ et $AC - B - 1 - A < 0$ le point d'équilibre est stable pour T appartenant à un élément d'une suite finie d'intervalles ouverts de longueur décroissante. Cette suite peut être vide de longueurs décroissantes ainsi qu'à un premier intervalle de la forme $[0, T_1[$;

d) pour $B - C < 1$, $AC - B - 1 - A \geq 0$, le point d'équilibre est stable pour T appartenant à un élément d'une suite finie d'intervalles ouverts de longueur décroissante. Cette suite peut être vide (cas d_2) ou non (cas d_1). Ce cas n'existe pas pour $A < 1$;

e) pour $B - C > 1$ (ou $B - C = 1$, $(AC - B)^2 - 1 - A^2 > 2A\sqrt{1 - (B - C)^2}$) et $AC - B - 1 - A < 0$, le point d'équilibre est stable pour T inférieur à une certaine valeur T_1 ;

f) pour $B - C > 1$ et $AC - B - 1 - A \geq 0$, le point d'équilibre est toujours instable. Ce cas n'existe pas pour $A < 1$.

C. Démonstration de la proposition 10

Nous avons vu (proposition 8) qu'avec cette condition (70) le point d'équilibre est stable pour T nul. Une condition suffisante pour qu'il soit stable pour toute valeur de T est, d'après CORPET (1983), que le polynôme suivant n'ait pas de racine réelle positive, et soit donc positif pour tout $X > 0$:

$$\Pi(X) = (X + A^2)(X + 1)^2[(X - P)^2 + S^2X]^2$$

$$-2P^2[B^2(X+A^2)+A^2C^2(X+1)](X+A^2)(X+1)[(X-P)^2+S^2X] + P^4[B^2(X+A^2)-A^2C^2(X+1)]^2.$$

Or, pour tout $X > 0$,

$$\Pi(X) = \{(X+A^2)[\sqrt{(X+1)[(X-P)^2+S^2X}] - PB]^2 - P^2A^2C^2(X+1)\} \\ \cdot \{(X+A^2)[\sqrt{(X+1)[(X-P)^2+S^2X}] + PB]^2 - P^2A^2C^2(X+1)\}$$

et avec (70), et $\mu = \pm 1$,

$$(X+A^2)[\sqrt{(X+1)[(X-P)^2+S^2X}] + \mu PB]^2 - P^2A^2C^2(X+1) \\ > (X+A^2)[\sqrt{(X+1)[(X-P)^2+S^2X}] + \mu PB]^2 - P^2A^2(1-B)^2(X+1).$$

En considérant cette dernière quantité comme un trinôme du second degré en B ($0 \leq B \leq 1$), on montre qu'elle est toujours positive, pour $\mu = +1$ (cas trivial), comme pour $\mu = -1$, et qu'elle est supérieure ou égale à ses valeurs en $B=0$ et en $B=1$, donc à :

$$\inf \{(X+1)[(X+A^2)[(X-P)^2+S^2X] - P^2A^2], \quad (X+A^2)[\sqrt{(X+1)[(X-P)^2+S^2X}] + \mu P]^2 > 0.$$

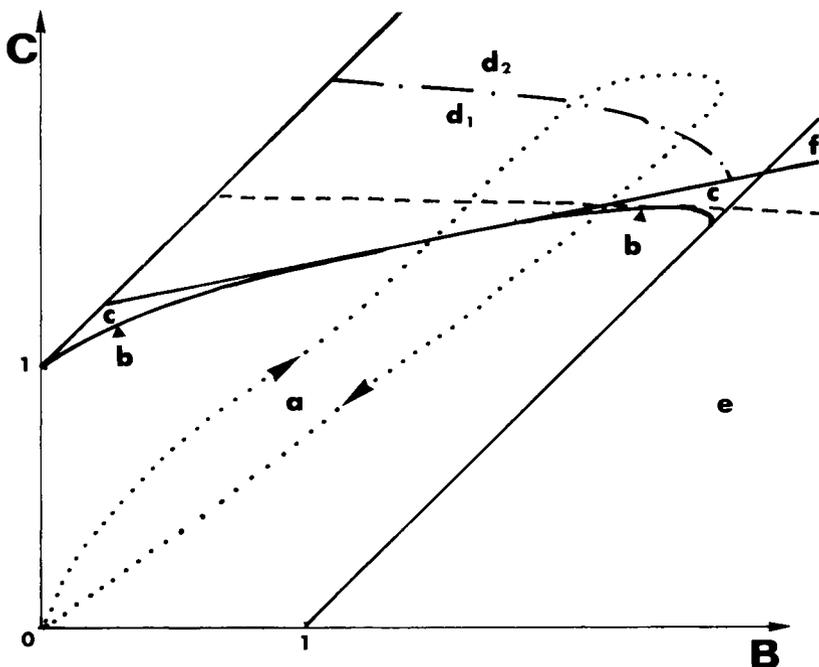


FIG. 7

Définition du domaine de stabilité lorsque les retards sont égaux.

The stability domain definition when delays are equal.

Dans le plan des paramètres B et C , pour $A=5$, on donne les différentes zones indiquées de a à f décrites dans le texte. Les limites de zones sont en lignes continues. La courbe en tirets représente la limite du domaine de stabilité pour $\tau_y = \tau_z = 300$ s. La courbe en pointillés donne les valeurs de B et C pour le mutant décrit par les équations (72), lorsque la concentration en lactose extérieure varie, les flèches indiquant le sens de la concentration croissante.

In the B and C plan, for $A=5$, a to f areas are given (on text). Areas limits are in solid lines. The dashed curve represents the limit of the stability domain when $\tau_y = \tau_z = 300$ s. The dotted curve gives B and C values for the mutant strain described by equations (72), when extracellular lactose concentrations varies, arrows indicate the direction of increasing concentration.