

Colle de Biologie - L'opéron lactose

Bistabilité - Fait d'avoir deux états d'équilibre stable possibles.

La bistabilité de l'expression de l'opéron lactose est étudiée depuis 1957. Les composantes essentielles de ce réseau sont aujourd'hui bien caractérisées, ce qui en fait un candidat idéal pour une analyse plus poussée. L'opéron *lac* comprend 3 gènes nécessaires à l'assimilation et au métabolisme du lactose; *lacZ*, *lacY* and *lacA*. *LacZ* code pour la β -galactosidase, une enzyme responsable de la conversion du lactose en allolactose et autres intermédiaires métaboliques. *LacY* code pour la lactose-perméase (LacY), qui facilite l'assimilation du lactose et de molécules similaires, incluant le thio-methylgalactoside (TMG), un analogue non-métabolisable du lactose. *LacA* code pour une acyltransférase qui intervient dans le métabolisme des sucres.

L'opéron a deux régulateur transcriptionnels : un répresseur (LacI) et un activateur (la protéine réceptrice de l'AMP cyclique, CRP). Des inducteurs, parmi lesquels se trouvent l'allolactose et le TMG, se lient à LacI et inhibe son pouvoir répresseur, tandis que l'AMPc se lie à CRP et l'active. La concentration en AMPc chute en réponse à l'assimilation de différentes sources de carbone, dont le glucose et le lactose, l'assimilation de glucose interfère donc avec l'activité de LacY. Ensemble, ces effets arbitrent la répression catabolique - la capacité du glucose à inhiber l'expression de *lac*. Il est essentiel de noter que le taux d'AMPc n'est pas influencé par l'assimilation de TMG : les concentrations extracellulaire en glucose et TMG peuvent être utilisée indépendamment pour réguler l'activité de LacI et CRP, les deux *cis*-régulateurs de l'opéron *lac*. Cependant, la réponse de l'opéron doit être considérée dans le contexte du réseau dans lequel il est intégré. L'assimilation de TMG induit la synthèse de LacY, qui induit une augmentation de l'assimilation de TMG : cette boucle de rétroaction positive crée un potentiel pour une **bistabilité**.

Pour tester la bistabilité du réseau, on incorpore une copie du gène de la GFP (green fluorescent protein) sous le contrôle du promoteur de *lac*. La cellule contient également un plasmide qui encode un reporteur rouge fluorescent (HcRed) sous le contrôle du promoteur du galactitol (*gal*). Ce promoteur inclut un site de fixation de CRP. On fait ici l'hypothèse que la transcription mesurée par HcRed est une mesure directe du niveau de CRP-AMPc.

Question 1 - Réaliser un schéma du réseau d'activation/inhibition décrit dans le texte ci-dessus.

Question 2 - Quel gène de l'opéron lactose engendre la rétroaction positive dont parle l'article? Quelle composante du réseau d'interaction a un effet inhibitoire?

Question 3 - Quel est l'intérêt d'utiliser TMG plutôt que le lactose? Pourquoi introduit-on deux rapporteur fluorescents?

Question 4 - Proposer un graphe du niveau de fluorescence vert (ou rouge au choix) observé en fonction de la concentration extracellulaire en glucose (ou TMG au choix). Justifier.