

M. Sc. M. Tech. Rakesh Pandey

## Modeling the AppA/PpsR Signal Transduction System of *Rhodobacter sphaeroides*

### Zusammenfassung

Nichtschwefelpurpurbakterien, wie *Rhodobacter sphaeroides* sind bemerkenswert vielseitig bezüglich ihrer Lebensbedingungen, denn sie passen den Mechanismus ihrer Energiegewinnung an die Verfügbarkeit von Sauerstoff und Licht an. Das AppA/PpsR-Regulationssystem ist eines der Systeme die in *R. sphaeroides* den Wechsel zwischen aerober Atmung und Photosynthese auf Transkriptionsebene kontrollieren. PpsR bindet spezifisch an die Promotorregion der Photosynthesegene und unterdrückt ihre Transkription unter aeroben Bedingungen. Das Flavoprotein AppA wirkt der Repressoraktivität von PpsR entgegen. Es verwendet zwei Cofaktoren, FAD und Häm um blaues Licht bzw. Sauerstoff zu detektieren. Es wird angenommen, dass die sauerstoff- und licht-abhängige Interaktion zwischen AppA und PpsR unter semi-aeroben Bedingungen zu einem einzigartigen Phänotyp führt, denn dann können die Photosynthesegene durch Blaulichteinstrahlung reprimiert werden.

Um den molekularen Mechanismus zu verstehen, der zu diesem Phänotyp führt, haben wir ein einfaches mathematisches Modell für das AppA/PpsR-System entwickelt. Es basiert auf zwei experimentellen Erkenntnissen: 1. AppA reduziert die Disulfidbrücke in PpsR und 2. Die Komplexbildung zwischen PpsR und AppA wird durch Licht inhibiert. Eine Analyse der Modellgleichungen im stationären Zustand zeigt, dass sich ein Maximum in der Antwortkurve für reduziertes PpsR entwickelt wenn unter semi-aeroben Bedingungen PpsR schneller von AppA reduziert wird als AppA regeneriert werden kann und der Elektronenfluss von AppA zu PpsR tatsächlich irreversibel ist.

Wir schlagen vor, dass die Bildung dieses Maximums eine qualitative Erklärung für die beobachtete Blaulichtrepression der Photosynthesegene unter semi-aeroben Bedingungen liefern könnte. Ausserdem fanden wir heraus, dass sich das Modell beim Wechsel von anaeroben zu aeroben Wachstumsbedingungen bistabil verhält, wenn die Zahl der AppA-Moleküle mindestens doppelt so groß ist wie die der PpsR-Moleküle.

Um noch tiefere Einblicke in das System zu erlangen, wurde das Modell

für das AppA/PpsR-System um einen detaillierteren Mechanismus für die Lichtregulation der Interaktion zwischen AppA und PpsR erweitert. Wir identifizierten die Kinetik und stöchiometrischen Grenzen, die notwendig sind, um die beiden Eigenschaften, sauerstoffabhängige Akkumulation von reduziertem PpsR und Bistabilität, des ursprünglichen Modells zu erhalten, wenn ein detaillierter Lichtregulationsmechanismus zum Einsatz kommt. Unsere Ergebnisse deuten daraufhin, dass das Verhältnis der beiden Proteine AppA und PpsR strikt reguliert werden muss um eine konsistente Regulation der Photosynthesegene unter semi-aeroben Bedingungen zu ermöglichen. Unsere Vorhersagen stimmen gut mit den neuesten Forschungsergebnissen über die lichtabhängige Repression der Photosynthesegene unter semi-aeroben Bedingungen überein.

Zusätzlich zeigen wir, dass das erweiterte Modell auch die geringere Blaulichtsensitivität einer AppA-Mutante wiedergeben kann. Die vorliegende Studie ist ein erster Schritt um die regulatorischen Möglichkeiten des AppA/PpsR-Systems qualitativ besser zu verstehen. Damit ist die Basis für den iterativen Prozess, bestehend aus experimenteller Modellverifikation und anschließender Modellanpassung, gelegt.

## Modeling the AppA/PpsR Signal Transduction System of *Rhodobacter sphaeroides*

### Abstract

Purple non-sulfur bacteria, such as *Rhodobacter sphaeroides*, are remarkably versatile in their growth capabilities. They switch their energy generation mechanism from photosynthesis to respiration depending on the oxygen levels and light conditions. The AppA/PpsR system is one of the regulatory systems in *R. sphaeroides* which mediates this transition at the transcription level. It specifically represses the photosynthesis (PS) genes under aerobic conditions. Actually, under aerobic conditions, the PpsR protein binds cooperatively to the target promoters of the PS genes and inhibits their expression. The repressor activity of PpsR is antagonized by the flavoprotein AppA, which utilizes the two cofactors FAD and heme to sense blue light and oxygen, respectively. It is believed that the oxygen- and light-dependent interaction between AppA and PpsR leads to a unique phenotype under semi-aerobic conditions, where PS genes are repressed by sufficiently intense blue light irradiance ( $LI \geq 0.2 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ ).

To understand the molecular mechanism that may lead to such a phenotype, we developed a simple mathematical model for the AppA/PpsR system. The model is based on two experimental findings: (i) the AppA-mediated reduction of a disulfide bond in PpsR, and (ii) the light-inhibited complex formation between AppA and PpsR. A steady state analysis of the model equations shows that a maximum develops in the steady state response curve of the reduced form of PpsR at intermediate oxygen levels, if PpsR is reduced on a faster time scale than AppA, and if the electron transfer from AppA to PpsR is effectively irreversible. We suggest that the maximum formation could provide a qualitative explanation for the observed blue light repression of PS genes under semi-aerobic conditions. We found that the transition from anaerobic to aerobic growth conditions can also occur via a bistable regime if the copy number of AppA is greater than that of PpsR by at least a factor of two.

To gain further insight into the system, we extended the model for the AppA/PpsR system by incorporating a more detailed mechanism for the light regulation of the interaction between AppA and PpsR. We identified the kinetic and stoichiometric constraints, which are required for the persistence of the two features of the simple model, namely (i) oxygen-dependent peak formation of reduced PpsR and (ii) bistability, if a detailed mechanism for the light regulation is employed. Our results suggest that the ratio of the two proteins AppA and PpsR must be tightly regulated for a proper light regulation of PS genes under semi-aerobic conditions. We found that the predictions of the extended model can be brought into a good agreement with recent experimental results of the light dependent repression of PS genes under semi-aerobic conditions. In addition, we show that the extended model can also account for the lowered blue light sensitivity observed in an AppA mutant strain. The present study is a first step towards a more qualitative understanding of the regulatory capabilities of the AppA/PpsR system. It will hopefully stimulate new experiments, which may help to validate and improve the current model for the AppA/PpsR system.