

DNA 损伤致 p53-Mdm2 相互作用的动力学模型^{*}

张丽娟¹⁾²⁾ 晏世伟^{1)3)†} 卓益忠¹⁾

1) (北京师范大学低能核物理研究所, 北京 100875)

2) (首都师范大学物理系, 北京 100037)

3) (兰州重离子加速器国家重点实验室, 兰州 730000)

(2006 年 3 月 15 日收到, 2006 年 10 月 30 日收到修改稿)

最新实验结果表明, 在受到各种辐射而引起 DNA 损伤后, 在单体细胞和群体细胞情况下, 细胞中的 p53 蛋白浓度表现为非衰减振荡和衰减振荡两种不同的动力学行为. 通过研究 p53-Mdm2 负反馈回路的非线性动力学行为, 分析了各种 (特别是 DNA 损伤、p53 和 Mdm2 蛋白浓度三者之间) 动力学关系, 提出了一个能同时描述这两种不同动力学行为的非线性模型.

关键词: p53-Mdm2 负反馈回路, 非衰减振荡和衰减振荡, 非线性动力学模型

PACC: 8710, 8750, 1240E, 8715

1. 引言

生物体是一个非常复杂而又高度非均匀、极端动态的相互作用体系. 系统生物学的一个主要任务就是理解在活体细胞中各种蛋白质之间的相互作用以及周围环境的影响如何改变这种相互作用, 一个行之有效的方法就是把生物体看作是由相互作用的蛋白质组成的网络体系. 目前, 有关生物网络的研究大体上分为两个方向: 一是研究诸如网络动力学与其拓扑结构之间的相互关联等这样一些一般特征; 二是着眼于一些基本的网络单元 (network motif), 理解其特定结构与功能之间的关系. 在基因治癌上有特殊意义的 p53-Mdm2 负反馈回路就是这样一个非常基本的网络单元. 由于 p53 在细胞周期停滞、DNA 修复及细胞衰老、分化、凋亡等过程中所起的重要作用^[1], 因此, 近年来 p53-Mdm2 负反馈回路引起了人们广泛的关注^[2-9].

Bar-Or 等^[2]通过观测群体细胞发现, 在受到一定强度的辐照损伤后, p53 和 Mdm2 蛋白浓度随时间的变化呈现一种衰减振荡, 辐照越强振荡的振幅就越大. 但是, 这种对群体细胞的测量给出的是 p53 和 Mdm2 蛋白浓度的平均行为, 从而掩盖了单个细胞

中 p53 蛋白质的动力学特征. Lahav 等^[3]随后对单个细胞进行了测量, 揭示了不同于群体测量中的 p53 和 Mdm2 蛋白质的动力学行为. 文献^[3]指出, 单个细胞在不同强度的辐照下, 释放出不同数量的 p53 和 Mdm2 蛋白质, 动力学上表现为蛋白浓度随时间具有不同数目的脉冲, 脉冲的高度和宽度不随辐照的强度而变化, 平均脉冲的数目依赖于辐照的强度.

这种对于损伤的振荡或脉冲响应, 对许多生物过程 (如助催化剂的周期性代谢回转及激素的产生^[10,11]等过程) 都带有一定的普遍意义. 基于 p53-Mdm2 网络单元负反馈回路的生物学特征, 理论上人们提出了各种各样描述 p53-Mdm2 负反馈回路的动力学模型^[2,7-9]. 这些模型仅能定性地描述群体细胞情况下, p53 和 Mdm2 蛋白浓度随时间的衰减振荡, 尚不能很好地描述单细胞情形下的非衰减振荡. 因此, 进一步理解单细胞情形下的非衰减振荡及其与群体细胞情况下的衰减振荡二者之间的关系, 从而揭示 p53-Mdm2 负反馈回路的生物结构与功能之间的关系以及与 DNA 损伤之间相互作用的规律, 仍然是一个具有挑战性的理论课题^[3]. 实验结果表明, 由环境影响 (诸如离子辐照等) 所导致的 DNA 分子损伤 (即损伤信号) 应该是决定 p53 和 Mdm2 蛋白质动力学行为的一个重要因素, 而已有的大部分工

^{*} 国家自然科学基金 (批准号: 20475008, 10435020)、教育部留学回国人员科研启动基金 (批准号: 2005383) 和北京市优秀人才专项基金 (批准号: 20041D1300120) 资助的课题.

[†] 通讯联系人. E-mail: yansw@bnu.edu.cn

作^[7-9]都没有计入损伤信号对系统动力学过程的影响.文献[2]用一个指数函数来描述群体细胞情况下信号的平均行为,然而这样的描述显然不能反映细胞在单体和群体这两种情况下对辐射损伤的不同响应.

本文提出了一个能同时统一并自治地描述单体细胞和群体细胞两种情形下 p53 和 Mdm2 动力学行为的非线性动力学模型.在这个模型中,不仅考虑了 p53-Mdm2 负反馈回路的生物化学因素,而且对损伤信号的动力学给予了特别的关注,因为损伤信号是一个非常关键的因素.在单体细胞情况下,我们引入一个开关型的信号,代表着信号的强度高于或低于一个特定的强度域.信号‘开’的时间长度取决于信号的强度、细胞响应损伤的不同方式以及细胞对损伤的修复能力等因素.在群体细胞情况下,p53 和 Mdm2 蛋白浓度是单体细胞情况下 p53 和 Mdm2 蛋白浓度的动力学细胞群体平均.由于不同细胞响应损伤的时间尺度(脉冲数)不同,其平均结果表现为衰减振荡.研究表明,非衰减和衰减振荡将能得到满意的描述,并与现有的实验结果^[2,3]相符合.

2. 模 型

假设在单体细胞情况下,p53 蛋白浓度 $P(t)$ 随时间 t 的变化所满足的动力学方程为

$$\frac{dP(t)}{dt} = S_p - \alpha_p M(t) P(t) \times [1 - \gamma_p S(t)] - \mu_p P(t). \quad (1)$$

方程(1)右边第一项 S_p 表示 p53 的合成速率,第二项代表由 Mdm2 和 DNA 辐照损伤所引起的 p53 的降解,最后一项表示与 Mdm2 无关的 p53 的降解.这里,系数 α_p 表示 Mdm2 对 p53 降解的作用程度,而且 α_p 控制着在没有辐照损伤的情况下 p53 的基底蛋白浓度; $S(t)$ 代表辐照引起的 DNA 损伤信号,是决定 p53-Mdm2 系统动力学行为的一个重要因素;参数 γ_p 的引入是为了表示辐照损伤 $S(t)$ 对由 Mdm2 引起 p53 降解的抑制作用的能力和程度.

Mdm2 蛋白浓度 $M(t)$ 随时间 t 的变化所满足的动力学方程为

$$\frac{dM(t)}{dt} = S_M + \alpha_M \Gamma(t) - \mu_M M(t). \quad (2)$$

方程(2)右边第一项 S_M 表示与 p53 无关的 Mdm2 的转录和转译速率,第二项表示由于 p53 浓度增加而引起的 Mdm2 的合成,最后一项表示 Mdm2 的降解

所引起的 Mdm2 蛋白浓度的变化.这里,系数 α_M 表示 p53 引起的 Mdm2 合成的最大合成速率; $\Gamma(t)$ 是一个‘山’型函数,由下列方程给出:

$$\Gamma(t) = \frac{\{P(t - \tau)\}^N}{K^N + \{P(t - \tau)\}^N}, \quad (3)$$

其中 τ 表示在 p53 的活化和由此引起的 Mdm2 的合成之间的转录或转译延迟时间, K 表示由 p53 蛋白浓度而引起 Mdm2 浓度增加的阈值, N 代表 $\Gamma(t)$ 函数的陡度.

3. 计算结果及讨论

3.1. 模型参数的确定

我们利用有关单细胞测量的最新实验结果^[3]来确定本文中的模型参数.文献[3]的实验结果表明,p53 浓度的振荡宽度为 350 ± 160 min,第一个振荡峰值发生在受辐射损伤后 360 ± 240 min,两个相邻振荡的峰值相差 440 ± 100 min,转录延迟时间 τ 为 100 min.

由于目前实验数据依然十分有限,精确确定模型中的全部参数还有赖于进一步的实验支持.然而,我们可以根据实际生物过程唯象地估计某些参数的值.例如,方程(1)中的参数 μ_p 取值很小,这是因为考虑到实际过程中虽然其他的生物过程对 p53 的降解有一定的影响,但是这些作用相对于 Mdm2 的作用很小,很多数据表明 Mdm2 对 p53 的降解起着最主要的作用^[2].在细胞未受辐射损伤的情况下,Mdm2 的半衰期大约为 20—25 min,因此 Mdm2 的降解速率 μ_M 选为 0.05/min.

根据文献[3]的实验结果并结合文献[2],本文模型中的参数确定为 $S_p = 0.5, \alpha_p = 1.8, \gamma_p = 0.996, \mu_p = 2.5 \times 10^{-4}, S_M = 2.35 \times 10^{-3}, \alpha_M = 0.1, \mu_M = 0.05, K = 120, N = 10$,转录延迟时间 $\tau = 100$ min. $P(t)$ 和 $M(t)$ 的初值由方程(1),(2)的定态解给出,即

$$P(0) = P(t \rightarrow \infty) = \frac{S_p \mu_M}{\alpha_p S_M + \mu_p \mu_M}, \quad (4)$$

$$M(0) = M(t \rightarrow \infty) = \frac{S_M}{\mu_M}. \quad (5)$$

$P(0)$ 和 $M(0)$ 是在没有辐照损伤的情况下,p53 和 Mdm2 的基底蛋白浓度.利用上述参数可以得到 $P(0) = 5.89, M(0) = 0.047$.

我们的数值结果表明,当上述参数在一定范围内变化时方程(1),(2)的动力学矩阵的本征值为负.

因此,该模型的动力学方程组的解是稳定的.

3.2. 单体细胞情形

当细胞受到各种辐照作用后会引引起 DNA 损伤,导致 p53 振荡第一个脉冲的产生.从分子生物学的角度看,在细胞水平上,损伤信号 $S(t)$ 可以看作处于‘开’的状态, p53-Mdm2 负反馈回路响应损伤,产生修复损伤的酶,使 DNA 损伤得到修复,当损伤完全被修复时,损伤信号 $S(t)$ 突然消失,快速地从状态‘开’跃迁为状态‘关’^[3].因此,在单细胞情形下损伤信号 $S(t)$ 可以表示为

$$S(t) = \Theta(t - \tau_{re}) = \begin{cases} 1 & (t \leq \tau_{re}) \\ 0 & (t > \tau_{re}) \end{cases}, \quad (6)$$

这里 $\tau_{re} = n\tau_{ch}$, τ_{ch} 是 $P(t)$ 的特征周期,在该周期内,蛋白浓度对信号作出振荡响应产生一个脉冲. τ_{re} 就是细胞对于辐射损伤的响应时间.结合实验结果^[3], τ_{ch} 取为 413 min, n 为非负整数.利用本文中所采用的参数可以得到, τ_{ch} 的这一取值与方程 (1), (2) 的特征振荡周期相同.

图 1 为利用方程 (1), (2) 计算得到的在单体细胞情形下 p53 和 Mdm2 蛋白浓度对由方程 (6) 给出的信号所做出的动力学响应.根据细胞对于辐射损伤不同的响应时间, p53 和 Mdm2 蛋白浓度表现为不同数目的脉冲,脉冲高度和宽度保持不变.而在 DNA 损伤得到修复(长时间)之后, p53 和 Mdm2 蛋白浓度下降到其基底值.这是因为在没有辐射损伤的‘正常’情况下, p53 蛋白质的浓度保持在较低的水平,并且严格受到 p53-Mdm2 基因网络的自动调控. p53 以恒定的速率合成并促进 Mdm2 蛋白的表达^[12],另一方面, Mdm2 和 p53 结合并且加速 p53 的降解^[13],使 p53 的浓度降低.当 DNA 分子受到损伤后,通过一系列的生化过程, p53 蛋白质中的一些丝氨酸发生磷酸化,使得 p53 对 Mdm2 的联结特性受到改变^[14],从而使得细胞中 p53 蛋白浓度突然增加,并且进一步激活一些使细胞周期中止和细胞凋亡的基因. p53 蛋白浓度的增加以及转录活性的提高引起 Mdm2 蛋白合成的增加,而 Mdm2 蛋白浓度的增加又加速 p53 的降解,因此便产生了持续的振

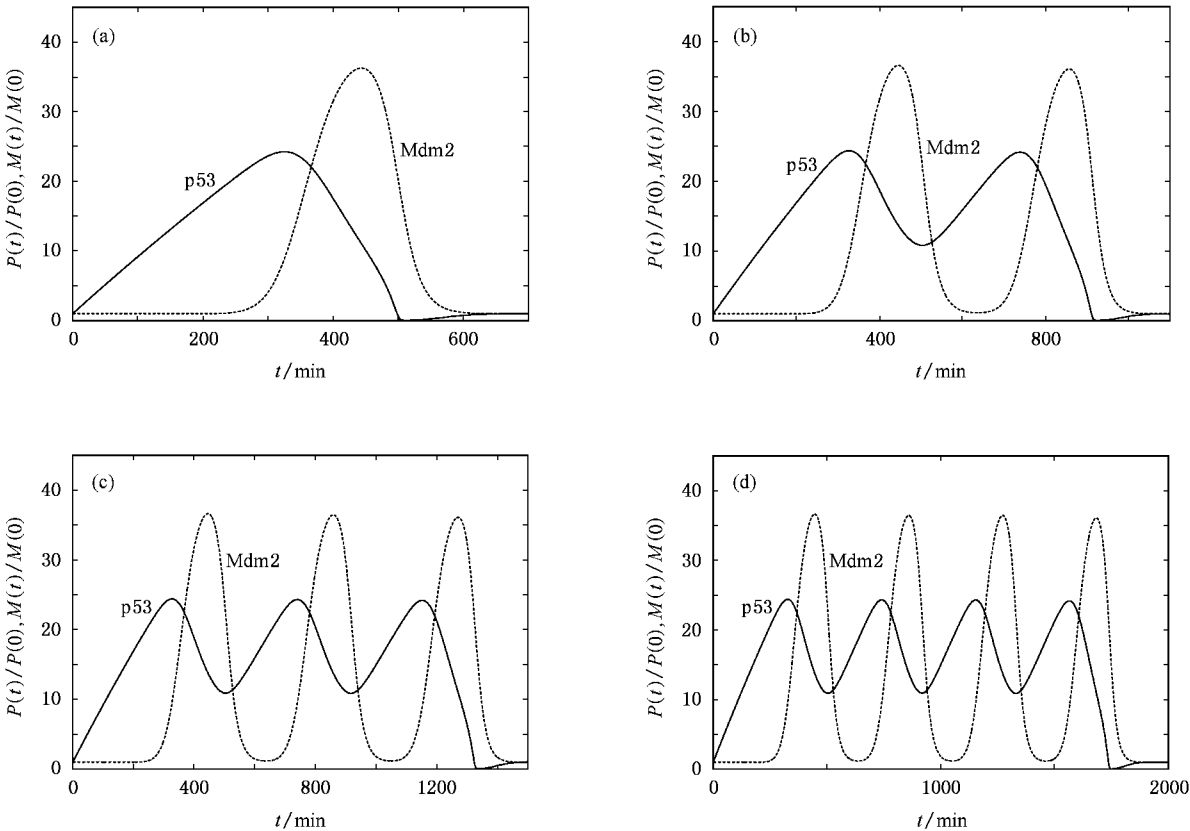


图 1 单细胞情况下 p53 和 Mdm2 蛋白浓度随时间的变化 模型参数分别为 $S_p = 0.5, \alpha_p = 1.8, \gamma_p = 0.996, \mu_p = 2.5 \times 10^{-4}, S_M = 2.35 \times 10^{-3}, \alpha_M = 0.1, \mu_M = 0.05, K = 120, N = 10, \tau = 100$ min. p53 和 Mdm2 的初始值分别为 $P(0) = 5.89, M(0) = 0.047$. (a) $n = 1$, (b) $n = 2$, (c) $n = 3$, (d) $n = 4$

荡,如图 1 所示.当损伤修复以后,p53-Mdm2 负反馈回路回到‘正常’情况,p53 和 Mdm2 蛋白浓度下降到原来的基底值.

从图 1 可以看出,由本文模型所得到的 p53 蛋白浓度具有如下动力学特征:每一个振荡的宽度均为 328 min.第一个振荡的峰值发生在 327 min,第二个振荡的峰值发生在 720 min,这两个峰的峰值间距为 413 min.转录延迟时间为 100 min.所有这些特征都能与实验结果^[3]很好符合.

3.3. 群体细胞情形

在群体细胞情况下,p53 和 Mdm2 蛋白浓度应该是细胞群体平均值.由于基因表达的随机性^[15-17],系综中每一个细胞对于辐照损伤具有不同的响应时间.如果整个细胞群体中包含的细胞数为 N_e ,第 i 个细胞对辐照损伤的响应时间为 τ_{re}^i ,损伤信号 $S^i(t) = \Theta(t - \tau_{re}^i)$,则由方程(1),(2)可以得到蛋白浓度分别为 $P_{re}^i(t)$ 和 $M_{re}^i(t)$.这样,整个细胞群体中 p53 和 Mdm2 蛋白浓度可以表示为

$$\begin{aligned} P(t) &= \frac{1}{N_e} \sum_{i=1}^{N_e} P_{re}^i(t), \\ M(t) &= \frac{1}{N_e} \sum_{i=1}^{N_e} M_{re}^i(t), \end{aligned} \tag{7}$$

其中 $\tau_{re}^i = n^i \tau_{ch}$, n^i 是随机的非负整数.考虑到基因表达的随机性, τ_{re}^i 服从指数分布 $\exp(-\tau_{re}^i/\lambda)$. λ 是单细胞对辐照损伤响应时间 τ_{re}^i 的泊松系综平均,表示细胞的平均修复速率. λ 值主要取决于辐照的强度(如文献[2]中的图 3(a)所示)和 DNA 分子对辐照损伤的修复能力.通常情况下, λ 值远远大于振荡的特征周期 τ_{ch} ,本文中 λ 取为 10000 min.

值得指出的是,在以前的研究^[2]中为了描述群体细胞情况下蛋白浓度的动力学行为,损伤信号 $S(t)$ 通常取指数函数.与此不同,本文采用同一个非线性方程组(方程(1),(2))来描述各个单体细胞中蛋白浓度的动力学行为($P_{re}^i(t)$ 和 $M_{re}^i(t)$),这是因为就群体细胞中的单个细胞而言,DNA 损伤所诱导的 p53 和 Mdm2 相互作用的规律应该是相同的.而每一个单体细胞对于辐照损伤具有不同的响应时间 τ_{re}^i .因此,群体细胞情况下的蛋白浓度就很自然地通过对细胞群体中所有单个细胞求统计平均而得到.

图 2 所示为群体细胞情况下 p53 和 Mdm2 蛋白浓度的动力学行为.从图 2 可以清楚地看出,蛋白浓

度随时间表现为一种衰减振荡.由于每个细胞对 DNA 损伤具有不同的响应时间,不同的响应时间对应不同的脉冲个数,长的响应时间对应较多的脉冲个数.因此,对大量细胞的群体平均就使得在群体细胞情况下蛋白浓度呈现为衰减振荡.

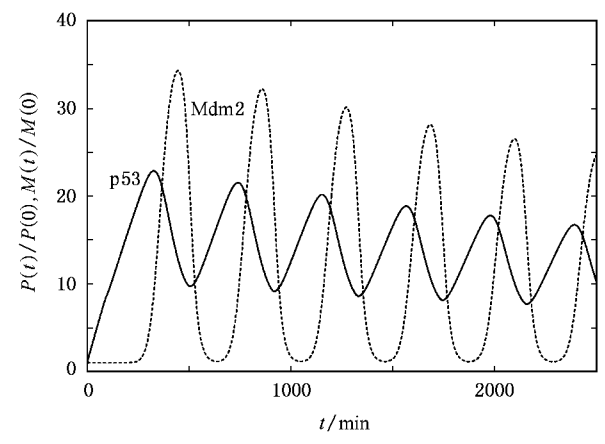


图 2 群体细胞中 p53 和 Mdm2 蛋白浓度的计算结果 细胞数为 $N_e = 5000$, $\lambda = 10000$ min,其他参数同图 1

在群体细胞中,各单个细胞的 DNA 损伤被完全修复后,p53 和 Mdm2 浓度都恢复到由(4),(5)式所确定的基底值.衰减振荡的持续时间由参数 λ 来确定, λ 值越大平均修复所用的时间越长,群体细胞的振荡行为衰减得就越慢.这一点可以这样理解:假设损伤永远不会被修复(在损伤很严重的情况下,这是可能的),即 $\lambda \rightarrow \infty$,那么将产生持续而稳定的振荡,振幅保持不变,不产生衰减;当 λ 逐渐变小时,振荡的衰减就会逐渐变快.图 3 所示是群体细胞情况下, λ 取不同值时 p53 蛋白浓度的衰减振荡.这里, λ 值应该远远大于振荡周期 τ_{ch} ,否则在一个周期内损伤就被快速地修复,也就不会产生振荡.总之,在群体细胞情况下,衰减振荡的机制可以归因为对大量单体细胞的系综平均,其中各单个细胞对于相同强度的辐照会响应不同数目的脉冲.

下面讨论振荡的物理机制.从生物化学结构角度看,振荡的动力学行为可以归因于 p53-Mdm2 负反馈回路的自动调节机制,其中 p53 能正向地调节 Mdm2 蛋白基因的表达,而 Mdm2 则负向地调节 p53 的浓度和活性,同时,p53 蛋白的增加和 Mdm2 合成之间的时间延迟也是产生振荡的一个重要因素.为了更清楚地理解这一点,可以考虑没有转录延迟(即 $\tau = 0$)的情况,这意味着 p53 对 Mdm2 合成的促进作用是即时的.从图 4 的结果可以看出,p53 和 Mdm2

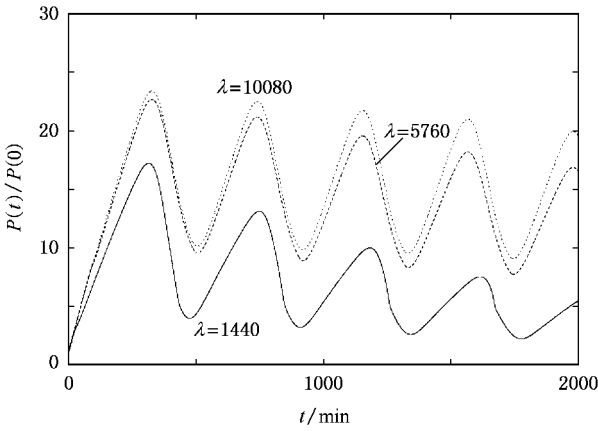


图 3 群体细胞情况下 p53 蛋白浓度的衰减振荡与 λ 的关系
参数同图 2

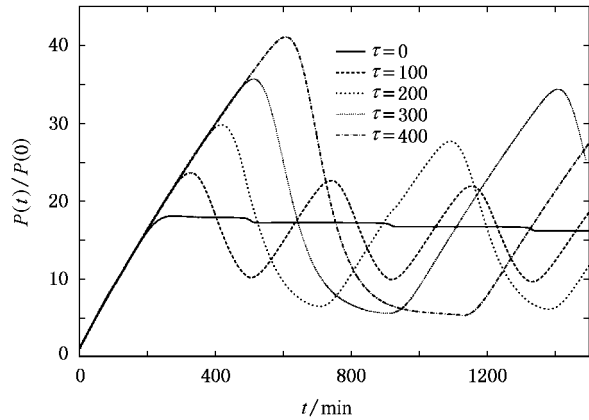


图 4 群体细胞情况下 p53 蛋白浓度的衰减振荡与 τ 的关系
参数同图 2

蛋白浓度很平滑地随时间演化并趋于定态值,没有振荡产生.在实验^[3]所给出的延迟时间范围内($\tau = 1-3$ h),利用本文模型可以得到有意义的 p53-Mdm2

蛋白浓度振荡的动力学行为.简言之,负反馈机制和转录的时间延迟共同导致了蛋白浓度的振荡行为.

利用傅里叶方法,我们分析了图 2 中 p53 蛋白浓度振荡行为的频率分布.结果表明,振荡频率可以分成实部和虚部两部分,

$$\omega = \omega_r + i\omega_i,$$

其中频率的虚部 ω_i 代表着振荡的衰减并与信号 $S(t)$ 的修复时间尺度 λ 一致,

$$\omega_i \propto 1/\lambda,$$

频率的实部对应于振荡的特征周期,

$$\omega_r = 2\pi/\tau_{ch}.$$

4. 结 论

本文提出了一个能同时统一自洽地描述单细胞情形和群体细胞情形下 p53-Mdm2 负反馈回路的动力学模型,并研究了单细胞和群体细胞情形下 p53 和 Mdm2 蛋白质的动力学行为.本文模型对信号 $S(t)$ 给予了特别的关注.结果表明,当恰当地引入信号的动力学行为,单细胞情形下非衰减振荡和群体细胞情形下的衰减振荡可以统一描述,其基本特征与现有的实验结果相一致.

研究表明,负反馈机制和转录的时间延迟共同导致了蛋白浓度的振荡行为,而群体细胞情形下振荡的衰减来自于对大量单体细胞的统计平均.

应当指出,根据现有的实验结果本文仅着重讨论了 DNA 损伤、p53 和 Mdm2 蛋白浓度三者之间的动力学关系.诸如旁观者效应、上游和下游过程对 p53-Mdm2 回路的影响尚未作尽可能详尽的讨论.对这些问题的研究,还有待于进一步的实验支持.

[1] Hofseth L J, Hussain S P, Harris C C 2004 *Trends Pharmacol Sci.* **25** 177
[2] Bar-Or R L, Maya R, Segel L A *et al* 2000 *Proc. Natl. Acad. Sci.* **97** 11250
[3] Lahav G, Rosenfeld N, Sigal A *et al* 2004 *Nat. Genet.* **36** 147
[4] Bray D 1995 *Nature* **376** 307
[5] Ferrell J J E, Xiong W 2001 *Chaos* **11** 227
[6] Tyson J J 2004 *Nat. Genet.* **36** 113
[7] Monk N A M 2003 *Curr. Biol.* **13** 1409
[8] Tiana G, Jensen M H, Sneppen K 2002 *Euro. Phys. J. B* **29** 135
[9] Mihalas G I, Simon Z, Balea G *et al* 2000 *J. Biol. Sys.* **8** 21

[10] Reid G, Hubner M R, Metivier R *et al* 2003 *Mol. Cell* **11** 605
[11] Goldbeter A 2002 *Nature* **420** 238
[12] Haupt Y, Maya Y, Kazaz A *et al* 1997 *Nature* **387** 296
[13] Kubbutat M H G, Jones S N, Vousden K H 1997 *Nature* **387** 299
[14] Unger T, Juven-Gershon T, Moallem E *et al* 1999 *EMBO J.* **18** 1805
[15] Sachs R K, Hahnfeld P, Brenner D J 1997 *Int. J. Radiat. Biol.* **72** 351
[16] Tobias C A, Blakely E A, Ngo F Q H *et al* 1980 *Radiation Biology in Cancer Research* (New York: Raven Press) pp 195-229
[17] McAdams H H, Arkin A 1997 *Proc. Natl. Acad. Sci.* **94** 814

A dynamical model of DNA-damage derived p53-Mdm2 interaction *

Zhang Li-Juan¹⁾²⁾ Yan Shi-Wei^{1)3)†} Zhuo Yi-Zhong¹⁾

1) (*Institute of Low Energy Nuclear Physics, Beijing Normal University, Beijing 100875, China*)

2) (*Department of Physics, Capital Normal University, Beijing 100037, China*)

3) (*National Laboratory of Heavy Ion Accelerator of Lanzhou, Lanzhou 730000, China*)

(Received 15 March 2006 ; revised manuscript received 30 October 2006)

Abstract

The recent experiments on the dynamics of a common biological network motif, p53-Mdm2 feedback loop in population and individual cells shows two different kinds of oscillatory behaviors, namely the damped and sustained oscillations, for the activities of p53 and Mdm2 proteins in response to DNA damage. By exploiting the nonlinear dynamics in the negative feedback loop and through analyzing the dynamical relation between the DNA damage and the activities of p53 and Mdm2 proteins, we propose a nonlinear dynamical model to describe the oscillatory behaviors for the activities of p53 and Mdm2 proteins both in individual and in population of cells in a self-consistent and unified way.

Keywords : p53-Mdm2 negative feedback loop, sustained and damped oscillations, nonlinear dynamical model

PACC : 8710, 8750, 1240E, 8715

* Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant Nos. 10475008, 10435020), the Scientific Research Foundation for Returned Overseas Chinese Scholars from Ministry of Education, China (Grant No. 2005383) and the Special Foundation for Excellent Talents of Beijing, China (Grant No. 20041D1300120).

† Corresponding author. E-mail : yansw@bnu.edu.cn