

P53, MDM2 уургуудын харилцан үйлчлэлийн стохастик симуляци

Б.Одгэрэл

Ерөнхий Эрдмийн Тэнхим
Эм зүй, Био-Анагаахын сургууль
Анагаахын Шинжлэх Ухааны
Үндэсний Их Сургууль
Монгол улс, Улаанбаатар хот
Odgerel.b@mnums.edu.mn

Л.Пүрэвдолгор

Ерөнхий Эрдмийн Тэнхим
Эм зүй, Био-Анагаахын сургууль
Анагаахын Шинжлэх Ухааны
Үндэсний Их Сургууль
Монгол улс, Улаанбаатар хот
purevdolgor@mnums.edu.mn

Л.Ажнай

Ерөнхий Эрдмийн Тэнхим
Эм зүй, Био-Анагаахын сургууль
Анагаахын Шинжлэх Ухааны
Үндэсний Их Сургууль
Монгол улс, Улаанбаатар хот
ajnai@mnums.edu.mn

Хураангуй— Эс хуваагдахад алдаагүй генетикийн мэдээлэл бүхий төл эс үүсгэх нь чухал. Эс нь ДНХ-ийн гэмтлийг шалгах, гэмтэл илэрвэл засварлах механизмтай байдаг. Уг механизмд *P53, MDM2* уургууд чухал үүрэг гүйцэтгэдэг бөгөөд засварлах механизм эсэд ДНХ-ийн гэмтлийг илрүүлбэл, гэмтэл засварлагдаж дуусах хүртэл эсийн хуваагдлыг түр зогсооно. ДНХ-ийн гэмтлийг засварлаж чадахгүй үед *P53 (P53, tumor suppressor), MDM2 (Mouse Double Minute)* уургуудын харилцан үйлчлэлийн зохицуулга алдагдаж хавдар үүсдэг.

Бид энэхүү судалгаагаар эукариот эсийн хувьд ДНХ гэмтэлтэй үеийн *P53, MDM2* уургуудын харилцан үйлчлэлийн стохастик загвар хийж, зохицуулгын механизмыг судлав.

P53, MDM2 уургуудын хооронд нийт арван урвал явагдах бөгөөд урвал явагдах боломж (propensity)-ийн тэгшитгэлийг бичив. Дээрх урвалуудаас 4×10 хэмжээтэй төлөвийн өөрчлөлтийн матриц байгуулав. Симуляцийг Gillespie-н дөрвөн алхамт алгоритм ашиглан MATLAB 7, FORTRAN 95 програмууд дээр код бичиж бодов.

Түлхүүр үг—ДНХ гэмтэл, *P53, MDM2* уургуудын харилцан үйлчлэл, урвал явагдах боломж, Gillespie-н алгоритм

I. ОРШИЛ

ДНХ нь мэдэгдэж буй бүх амьд организмуудын өсөлт хөгжилт, ажиллагаанд ашиглагддаг генетикийн заавруудыг агуулсан нуклейны хүчил юм.

ДНХ гэмтэлгүй үед *MDM2* уураг нь *P53* уургийн задралыг эрчимжүүлж, эс дэх *P53* уургийн түвшинг тогтвортой бага байлгадаг [1-3].

ДНХ гэмтэл нь хэт ягаан туяа, ү цацраг, халууны цочрол, химийн нөлөөлөл, хүчилтөрөгчийн дутагдал зэрэг стрессээс үүсэлтэй [4].

P53, MDM2 уургуудын урвуу хамаарал нь ДНХ-ийн гэмтэл, хүчилтөрөгчийн дутагдал болон эсийн өсөлтийн хүчин зүйл болох шим тэжээлийн дутагдал зэрэг хүчин зүйлийн хариуд эсийн хуваагдалыг зогсоох, апоптоз болон ДНХ гэмтлийг засварлах зохицуулгуудыг хийдэг [5-7].

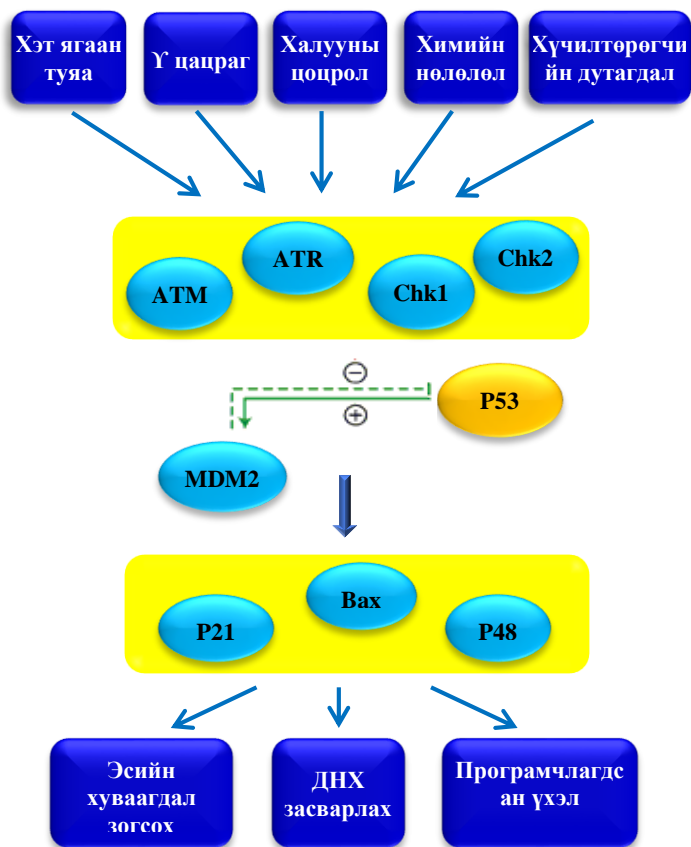
Хорт хавдрын 60 хувьд *P53* уургийн мутаци илэрсэн байдаг [8]. Мутацын улмаас эсэд үйл ажиллагаагаа гүйцэтгэх чадваргүй *P53* уураг нийлэгждэг. Иймээс эсэд *P53* уургийн үйл ажиллагаа алдагдаж, гэмтсэн ДНХ-тэй эс хяналтгүй хуваагдан олширч хавдар үүсдэг байна [9].

ДНХ гэмтэл үүсэхэд гэмтэлгүй үеийн сөрөг зохицуулга эргэдэг байна. Өөрөөр хэлбэл *MDM2* уураг *P53* уургийн төвшинг бага байлгах зохицуулга алдагдана.

MDM2 генийн идэвхгүйжил нь хулганы үр хөврөлийг үхэлд хүргэж байсан. Өөрөөр хэлбэл *MDM2* уураг байхгүй үед зохицуулга алдагдан *P53* уургийн хэмжээ хэт нэмэгдсэнээр хулганы үр хөврөлийг үхэлд хүргэсэн байна [10, 11]. Нөгөө талаас *MDM2* уургийн хэмжээ их байх нь *P53*-ийг хэт дарангуйлж хавдар үүсгэдэг [12].

P53 уургийн зохицуулгыг **Зураг 1**-д үзүүлэв. ДНХ-ийн гэмтэл *Chk1* (Chk1, Checkpoint kinase 1), *Chk2* (Chk2, Checkpoint kinase 2), *ATM* (ATM, Ataxia Telangiectasia Mutated), *ATR* (Ataxia Telangiectasia) зэрэг дохио дамжуулагч уургуудаар дамжин *P53* уургийг идэвхжүүлдэг. Үүний зэрэгцээ *P53* уургийн идэвхи нь *MDM2* уурагтай харилцан үйлчлэлцсэнээр зохицуулагдаж байдаг. Идэвхэжсэн *P53* уураг нь *P21, Vax, P48* зэрэг уургуудын транскрипцийг сонгон идэвхжүүлснээр эсийн хуваагдал түр зогсох, ДНХ-г засварлах, эс програмчлагдсан үхэлд орохыг шийдэх чухал зохицуулагч юм [4]. Иймээс хавдар дарангуйлагч *P53, MDM2* уургуудын харилцан үйлчлэлийн механизмыг ойлгох, тайлбарлах асуудал нь онолын төдийгүй практик ач холбогдол өндөртэй судалгааны чиглэл юм.

Бид энэхүү ажлаараа ДНХ гэмтэлтэй үеийн *P53, MDM2* уургуудын харилцан үйлчлэлийн стохастик загварчлал, зохицуулгын механизмыг илэрхийлэх зорилгын хүрээнд урвал явагдах боломжийн тэгшитгэлийг бичих, Gillespie-н алгоритмаар код бичих зорилтуудыг дэвшүүлэн биелүүлэв.



Зураг 1. P53 уургийн зохицуулга

Стрессийн нөлөөлөөр ATM, ATR, Chk2 зэрэг дохио дамжуулагч уургууд идэвхжихэд P53 уураг нийлэгжинэ. Идэвхжсэн P53 уураг MDM2 уурагтай харилцан үйлчлэлцэж P21, Вах, P48 генийн транскрипцийг сонгон идэвхжүүлсэнээр эсийн хуваагдал түр зогсох, програмчлагдсан үхэлд орох, ДНХ-г засварлах эсэхийг шийднэ.

II. СУДАЛГААНЫ ХЭРЭГЛЭГДЭХҮҮН, АРГА ЗҮЙ

Эукариот эс нь дундажаар 10-100 мкм хэмжээтэй, бөөмийн бүрхүүллээр тусгаарлагдсан бөөмтэй, тусгай үүрэг бүхий олон эрхтэнцэрүүдээс бүрдэнэ [13]. Эс нь удмын мэдээлэл болон уургийн нийлэгжилтийн мэдээллийг агуулах ДНХ-ээс гадна олон төрлийн уураг, фермент, тэжээлийн бодис, ионуудыг агуулна.

Загварчлалыг дараах зарчмаар хийлээ. Үүнд:

- Урвал, урвал явагдах боломжийн тэгшитгэлүүдийг туршилтын болон бусад стохастик загварын судалгааны ажил дээр үндэслэн Масс-үйлчлэлийн хууль ашиглан урвал тус бүр дээр бичив [14].
- Бүх уургуудын анхны утгуудыг нэгээр авав. Урвалын хурдны тогтмолуудыг бусад судлаачдын загварын утгуудтай болон бусад урвалын тогтмолуудын утгатай харьцуулан сонгож авав [4].
- Стохастик загварчлалыг Gillespie-н алгоритм ашиглан MATLAB 7, FORTRAN 95 програм дээр код бичиж, тооцоог хийв [15-18].

Стохастик загварчлалд тогтмол эзлэхүүнд N хэсгээс тогтох систем $S=(S_1, \dots, S_N)$ гэсэн төлөв байдалд орших бөгөөд эдгээр хэсгүүдийн хооронд R_μ урвал явагдах боломжтой гэж үзнэ (Хүснэгт 1). Системийн төлөв байдал нь эдгээр хэсгүүдийг бүрдүүлж буй молекулын тоогоор илэрхийлэгдэнэ. Молекулын тоо нь тодорхой урвал явагдсаны дүнд тухайн эгшин бүрд өөр өөр байна. Урвал нь урвал явагдах боломж (нэгж хугацаанд явагдах магадлал)-оор илэрхийлэгдэнэ [19].

t эгшинд S төлөвт орших системд, хугацааны төгсгөлгүй бага $(t + \tau, t + \tau + d\tau)$ интервалд R_μ урвал явагдах магадлал:

$$P(\mu, \tau)d\tau = a_\mu e^{-a^*\tau}d\tau \quad (2.1)$$

Хугацааны энэ завсарт M тооны урвалуудаас аль нь явагдах боломж:

$$a^* = \sum_{\mu=1}^M a_\mu \quad (2.2)$$

a_μ - μ дугаар урвал явагдах боломж. a^* - нийт боломж. Санамсаргүй r_1 тоогоор дараагийн урвал явагдах τ хугацааг олно.

$$\tau = -\frac{1}{a^*} \ln r_1 \quad (2.3)$$

Энэ τ хугацаанд μ дугаар урвал явагдах цөхцөлт магадлал:

$$P^2(\mu|\tau) = \frac{P(\mu, \tau)}{P(\tau)} = \frac{a_\mu}{a^*} \quad (2.4)$$

Санамсаргүй r_2 тоогоор аль урвал явах дугаарыг олно.

$$\sum_{j=1}^{\mu-1} \frac{a_j}{a^*} \leq r_2 < \sum_{j=1}^{\mu} \frac{a_j}{a^*} \quad (2.5)$$

Ийнхүү r_1 ба r_2 санамсаргүй тоонуудаар τ хугацааны дараа μ дугаар урвал явагдсаны дүнд молекулын тооны өөрчлөлтийг олсноор системийн төлөв байдлыг тодорхойлно.

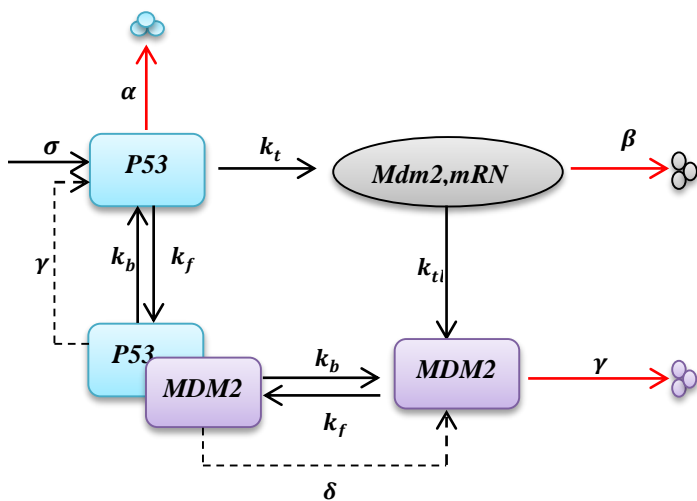
Хүснэгт 1-д стохастик тогтмолыг урвалын хурдны тогтмол k -ийн утгаас бодож гаргана. Энэ хүснэгтэд хөрвүүлэлтийн параметр Ω нь уургийн концентрацыг тухайн уургийн молекулын тоонд хөрвүүлнэ [20, 21].

Урвалын төрөл	Стохастик тогтмол	Урвал явагдах боломж
$S_1 \xrightarrow{k} \dots$	k	$k \cdot n_{S_1}$
$S_1 + S_2 \xrightarrow{k} S_3$	$\frac{k}{\Omega}$	$\frac{k}{\Omega} \cdot n_{S_1} \cdot n_{S_2}$
$2S_3 \xrightarrow{k} S_1 + S_2$	$\frac{k}{\Omega}$	$\frac{k}{\Omega} \cdot n_{S_3}$
$\emptyset \xrightarrow{k} S$	$k \cdot \Omega$	$k \cdot \Omega$

III. СУДАЛГААНЫ ҮР ДҮН

$P53$, $MDM2$ уургуудын харилцан үйлчлэлийн диаграммыг **Зураг 2**-д үзүүлэв. Диаграммд:

- $P53$ уураг нийлэгжих урвалын тогтмолыг σ
- $P53$ уураг аяндаа задрах урвалын тогтмолыг α
- $mdm2$, $mPHX$ транскрипци явагдах урвалын тогтмолыг k_t
- $mdm2$, $mPHX$ транскрипци задрах урвалын тогтмолыг β
- $P53/MDM2$ хос $P53$ уургийг нийлэгжүүлэх урвалын тогтмолыг γ
- $P53/MDM2$ хос салах урвалын тогтмолыг k_b
- $P53/MDM2$ хос үүсэх урвалын тогтмолыг k_f
- $MDM2$ трансляцийн тогтмолыг k_{tl}
- $P53/MDM2$ хос $MDM2$ уургийг нийлэгжүүлэх урвалын тогтмолыг δ ,
- $MDM2$ уургийн задрах урвалын тогтмолыг γ гэж тэмдэглэв.



Зураг 2. ДНХ гэмтэлтэй үеийн $P53$, $MDM2$ уургуудын харилцан үйлчлэлийн диаграмм

Диаграммд уургуудыг дөрвөлжин, $mPHX$ -г эллипсээр зурсан. Идэвхжих урвалыг хар сумаар, задрах урвалыг улаан сумаар, нийлэгжилтэнд нөлөөлөх урвалыг тасархай шугам ашиглан тус тус дүрсэлсэн. Тухайн урвалын хурдны тогтмолыг урвал тус бүрийн сумны хажууд тэмдэглэсэн.

ДНХ гэмтэлтэй үед $P53$, $MDM2$ уургуудын хооронд нийт арван төрлийн урвал явагдана гэж тооцоолов. Үүнд:

I урвал. $P53$ уураг нийлэгжих:

$$\emptyset \xrightarrow{\sigma} P53 \quad (3.1)$$

II урвал. $P53$ уураг $MDM2$ уурагтай холбогдоод $P53/MDM2$ хос үүсэх:

$$P53 + MDM2 \xrightarrow{k_f} P53/MDM2 \quad (3.2)$$

III урвал. $P53/MDM2$ хос $P53$ уургийг нийлэгжүүлэх:

$$P53/MDM2 \xrightarrow{c \cdot \gamma} P53 \quad (3.3)$$

IV урвал. $P53/MDM2$ хос $MDM2$, $P53$ болж салах:

$$P53/MDM2 \xrightarrow{k_b} P53 + MDM2 \quad (3.4)$$

V урвал. $P53/MDM2$ хос $MDM2$ уургийг нийлэгжүүлэх:

$$\emptyset \xrightarrow{c \cdot \delta} MDM2 \quad (3.5)$$

VI урвал. $mdm2$, $mPHX$ транскрипци:

$$P53 \xrightarrow{k_t \cdot n_{P53}} mdm2 \quad (3.6)$$

VII урвал. $P53$ уураг задрах:

$$P53 \xrightarrow{\alpha} \emptyset \quad (3.7)$$

VIII урвал. $MDM2$ трансляци:

$$mdm2 \xrightarrow{n_{mdm2} \cdot k_{tl}} MDM2 \quad (3.8)$$

IX урвал. $mdm2$, $mPHX$ задрах:

$$mdm2 \xrightarrow{\beta} \emptyset \quad (3.9)$$

X урвал. $MDM2$ уураг задрах:

$$MDM2 \xrightarrow{\gamma} \emptyset \quad (3.10)$$

Дээрх урвал тус бүрийн урвал явагдах боломжийг бичвэл:

I урвал. $P53$ уураг нийлэгжих урвал явагдах боломж:

$$a_1 = \sigma \cdot \Omega \quad (3.11)$$

II урвал. $P53$ уураг $MDM2$ уурагтай холбогдоод $P53/MDM2$ хос үүсэх урвал явагдах боломж:

$$a_2 = \frac{k_f}{\Omega} \cdot n_{P53} \cdot n_{MDM2} \quad (3.12)$$

III урвал. $P53/MDM2$ хос $P53$ уургийг нийлэгжүүлэх урвал явагдах боломж:

$$a_3 = \gamma \cdot \Omega \cdot C \quad (2.13)$$

IV урвал. $P53/MDM2$ хос $MDM2$, $P53$ болж салах урвал явагдах боломж:

$$a_4 = \frac{k_b}{\Omega} \cdot C \quad (3.14)$$

V урвал. $P53/MDM2$ хос $MDM2$ уургийг нийлэгжүүлэх урвал явагдах боломж:

$$a_5 = \delta \cdot \Omega \cdot C \quad (3.15)$$

VI урвал. $mdm2$, $mPHX$ транскрипци явагдах боломж:

$$a_6 = k_t \cdot n_{P53}^2 \cdot \Omega \quad (3.16)$$

VII урвал. $P53$ уураг задрах урвал явагдах боломж:

$$a_7 = \alpha \cdot n_{P53} \quad (3.17)$$

VIII урвал. $MDM2$ трансляци явагдах боломж:

$$a_8 = k_{tl} \cdot n_{mdm2} \cdot \Omega \quad (3.18)$$

IX урвал. $mdm2$, $mPHX$ задрах урвал явагдах боломж:

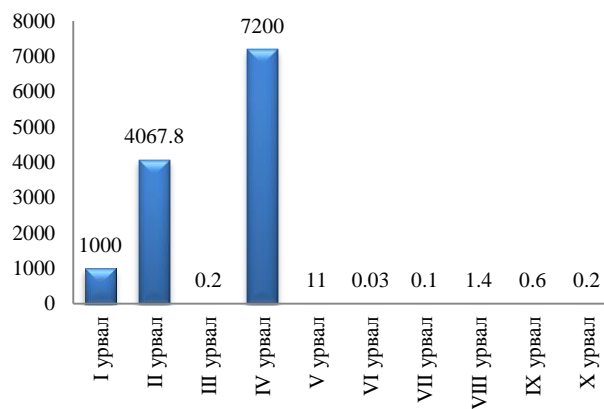
$$a_9 = \beta \cdot n_{mdm2} \quad (3.19)$$

X урвал. $MDM2$ уураг задрах урвал явагдах боломж:

$$a_{10} = \gamma \cdot n_{MDM2} \quad (3.20)$$

Дээрх томъёонд C -ээр $P53$, $MDM2$ уургуудын хосыг тэмдэглэв.

Урвал явах боломжийг бодож **Зураг 3**-д үзүүлэв.



Зураг 3. Урвал явах боломж

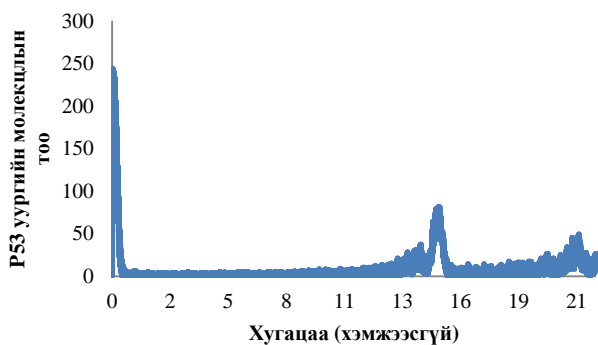
Урвал явах боломжийг n_{mdm2} , n_{P53} , n_{MDM2} , C , Ω молекулуудын анхны тоон утгыг 1 гэсэн утганд, $\beta = 0.6$, $\alpha = 0.1$, $\gamma = 0.2$, $\delta = 11$, $\sigma = 1000$, $k_t = 0.03$, $k_{tl} = 1.4$, $k_b = 7200$, $k_f = 4067.8$ гэсэн утгуудад тус тус бодов.

ДНХ гэмтэлтэй үеийн $P53$, $MDM2$ молекулуудын төлөвийн өөрчлөлтийн матрицыг Хүснэгт 2-д үзүүлэв.

Хүснэгт 2. Төлөвийн өөрчлөлтийн матриц

Урвалын дугаар	n_{P53}	n_{MDM2}	n_{mdm2}	n_C
1	1	0	0	0
2	-1	-1	0	1
3	1	0	0	-1
4	1	1	0	-1
5	0	1	0	-1
6	0	0	1	0
7	-1	0	0	0
8	0	1	0	0
9	0	0	-1	0
10	0	-1	0	0

Дээрх урвалуудаас аль урвал хэдий хэр хугацааны дараа явахыг Gillespie-н дөрвөн алхамт алгоритмаар Fortran 95 програм дээр код бичиж бодов (**Зураг 4**). **Зураг 4**-д $P53$ уургийн молекулын тоон өөрчлөлтийг үзүүлэв.



Зураг 4. P53 уургийн молекулын тоон өөрчлөлт

Бодолтыг n_{mdm2} , n_{p53} , n_{mdm2} , C , Ω молекулуудын анхны тоон утгыг 1 гэсэн утганд, $\beta = 0.6$, $\alpha = 0.1$, $\gamma = 0.2$, $\delta = 11$, $\sigma = 1000$, $k_t = 0.03$, $k_{cl} = 1.4$, $k_b = 7200$, $k_f = 4067.8$ гэсэн утгуудад тус тус бодов.

Зураг 4-ийн симуляциас харвал молекулын тооны өөрчлөлт динамик загварын шийдтэй төстэй үелэн өөрчлөгдөж байлаа. Гэхдээ молекулын тооны өөрчлөлтийн үеүд нь хоорондоо ялгаатай байв. Стохастик загварын хувьд молекулуудын тоо үелэн өөрчлөгдөх боловч нэг үеийн үргэлжлэх хугацаа, молекулын тооны максимум утга динамик загварын утгаас өөр байлаа.

IV. ДҮГНЭЛТ

1. P53, MDM2 уургуудын харилцан үйлчлэлийн стохастик загвар хийлээ. Энэхүү загварт P53, MDM2 уургуудын харилцан үйлчлэлд оролцох арван урвалыг бичиж урвал тус бүрийн урвал явагдах боломжийн тэгшитгэлийг бичиж бодов.
2. P53, MDM2 уургуудын төлөвийн өөрчлөлтийн матрицийг байгуулж, Gillespie-н дөрвөн алхамт алгоритмаар Fortran 95 програмд код бичиж бодуулахад P53 уургийн молекулын тоо нь хугацааны эгшин бүрд өөр өөр гарч байгаа нь динамик загвараас илүү бодит байлтыг тусган харуулж чадлаа.

V. ТАЛАРХАЛ

Энэхүү судалгааны ажлыг хийж гүйцэтгэхэд судалгааны зорилго чиглэлийг тодорхойлж, байнга зааж, зөвлөж байсан удирдагч ФУ-ны доктор Л.Пүрэвдолгор, ФУ-ны доктор профессор Л.Ажнай болон тэнхимийн нийт багш нартаа чин сэтгэлийн талархал илэрхийлье.

VI. АШИГЛАСАН МАТЕРИАЛ

- [1] Kubbutat, M.H., S.N. Jones, and K.H. Vousden, *Regulation of p53 stability by Mdm2*. Nature, 1997. **387**(6630): p. 299-303.
- [2] Michael, D. and M. Oren. *The p53-Mdm2 module and the ubiquitin system*. in *Seminars in cancer biology*. 2003. Elsevier.
- [3] Momand, J., H.-H. Wu, and G. Dasgupta, *MDM2—master regulator of the p53 tumor suppressor protein*. Gene, 2000. **242**(1): p. 15-29.

- [4] Hunziker, A., M.H. Jensen, and S. Krishna, *Stress-specific response of the p53-Mdm2 feedback loop*. BMC systems biology, 2010. **4**(1): p. 94.
- [5] Kruse, J.-P. and W. Gu, *Modes of p53 regulation*. Cell, 2009. **137**(4): p. 609-622.
- [6] Laptenko, O. and C. Prives, *Transcriptional regulation by p53: one protein, many possibilities*. Cell Death & Differentiation, 2006. **13**(6): p. 951-961.
- [7] Vousden, K.H. and C. Prives, *Blinded by the light: the growing complexity of p53*. Cell, 2009. **137**(3): p. 413-431.
- [8] Nigro, J.M., et al., *Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumour types*. Nature, 1989. **342**(6250): p. 705-708.
- [9] Harris, S.L. and A.J. Levine, *The p53 pathway: positive and negative feedback loops*. Oncogene, 2005. **24**(17): p. 2899-2908.
- [10] de Oca Luna, R.M., D.S. Wagner, and G. Lozano, *Rescue of early embryonic lethality in mdm2-deficient mice by deletion of p53*. Nature, 1995. **378**(6553): p. 203-206.
- [11] Jones, S.N., et al., *Rescue of embryonic lethality in Mdm2-deficient mice by absence of p53*. Nature, 1995. **378**(6553): p. 206-208.
- [12] Oliner, J., et al., *Amplification of a gene encoding a p53-associated protein in human sarcomas*. 358, 1992: p. 80-83.
- [13] Goldbeter, A., *A minimal cascade model for the mitotic ascillator involving cycle and CDC2 kinase*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1991. **88**: p. 9107-9111.
- [14] Calzone, L., *Temporal organization of the budding yeast cell cycle: General principles and detailed simulations*. 2003.
- [15] Wolkenhauer, O., *Systems Biology-Dynamic Pathway Modelling*. 2004.
- [16] Wang, P., *Bridging the gap between deterministic and stochastic modeling with automatic scaling and conversion*, 2008, Virginia Polytechnic Institute and State University.
- [17] MathWorks, I., *MATLAB: the language of technical computing. Desktop tools and development environment, version 7*. Vol. 9. 2005: MathWorks.
- [18] Metcalf, M., J.K. Reid, and M. Cohen, *Fortran 95/2003 Explained*. Vol. 416. 2004: Oxford University Press Oxford.
- [19] Ullah, M., et al., *Deterministic modelling and stochastic simulation of biochemical pathways using MATLAB*. Systems biology, 2006. **153**(2): p. 53.
- [20] Gonze, D., J. Halloy, and A. Goldbeter, *Deterministic versus stochastic models for circadian rhythms*. Journal of biological physics, 2002. **28**(4): p. 637-653.
- [21] Gonze, D., et al., *Stochastic models for circadian rhythms: effect of molecular noise on periodic and chaotic behaviour*. Comptes rendus biologiques, 2003. **326**(2): p. 189-203.