

Model łączny ścieżek sygnałowych NF-κB i p53

Krzysztof Puszyński
Tomasz Lipniacki

Funkcje czynników transkrypcyjnych NF- κ B i p53

NF- κ B:

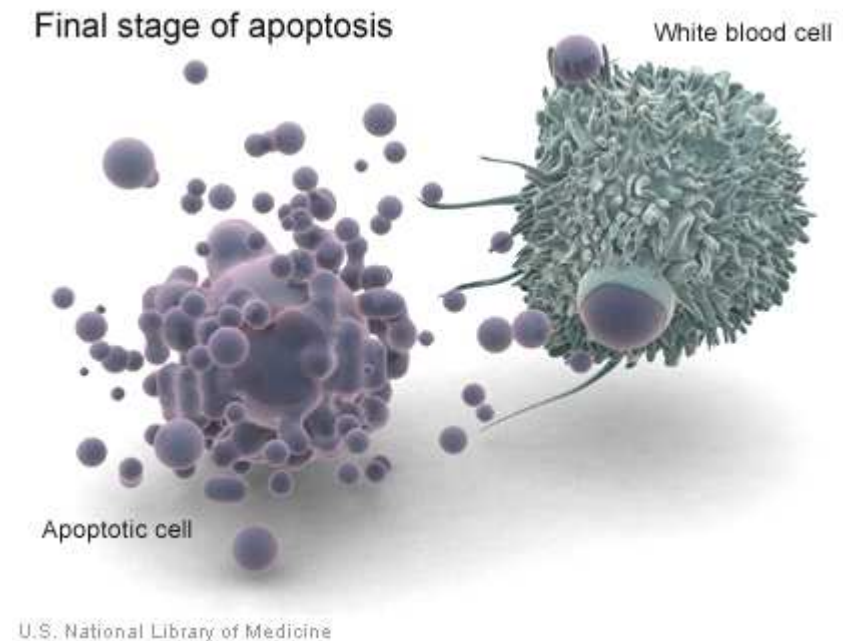
- wczesna odpowiedź immunologiczna
- proliferacja
- przeżycie komórki

p53:

- zatrzymanie cyklu komórkowego
- naprawa DNA
- inicjalizacja procesu apoptozy

Apoptoza

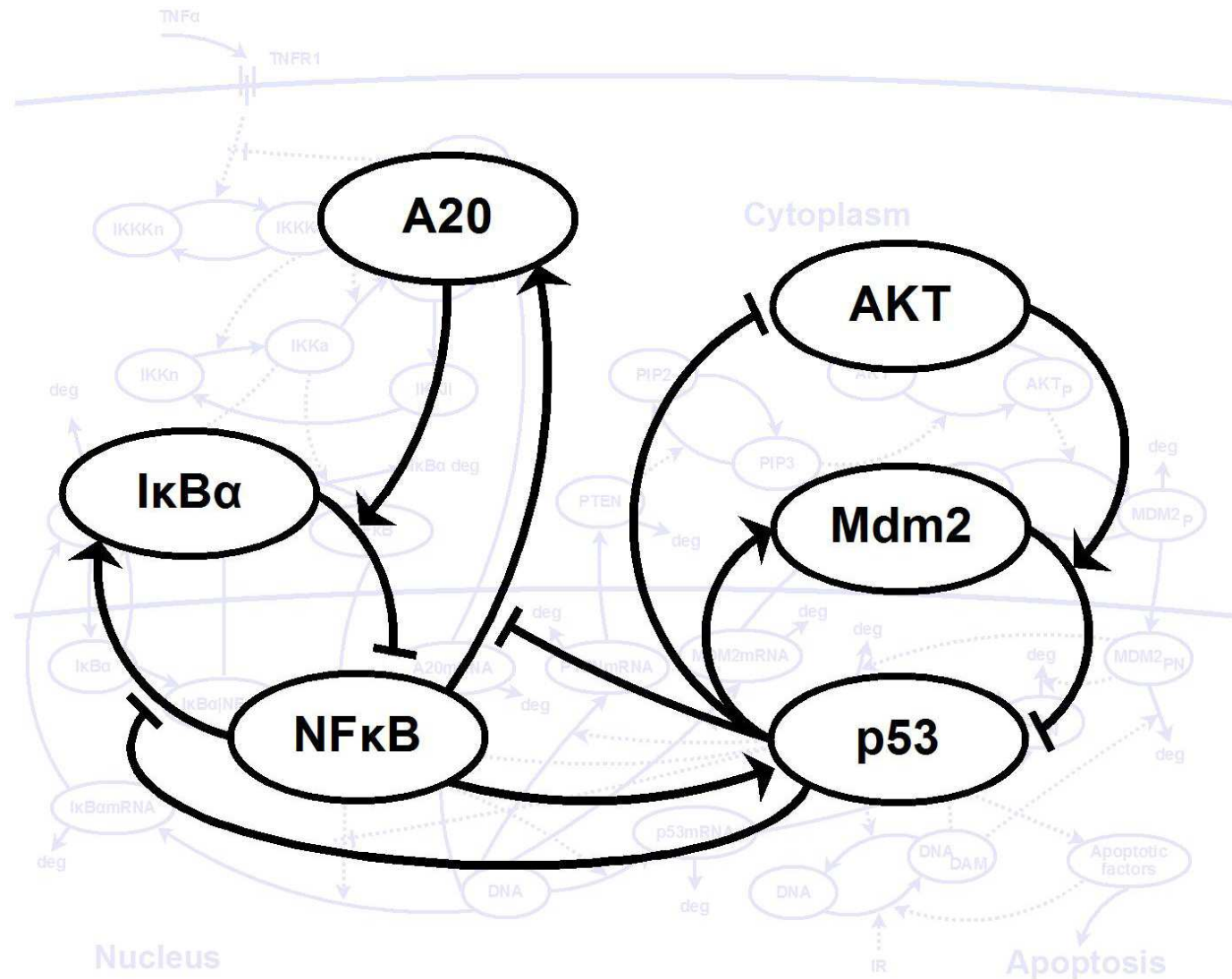
- Zaprogramowana śmierć komórki
- Charakterystyczna morfologia komórki
- Bezpieczne usunięcie fragmentów komórki
- U przeciętnego człowieka około 50 - 70 miliardów komórek umiera każdego dnia wskutek apoptozy.



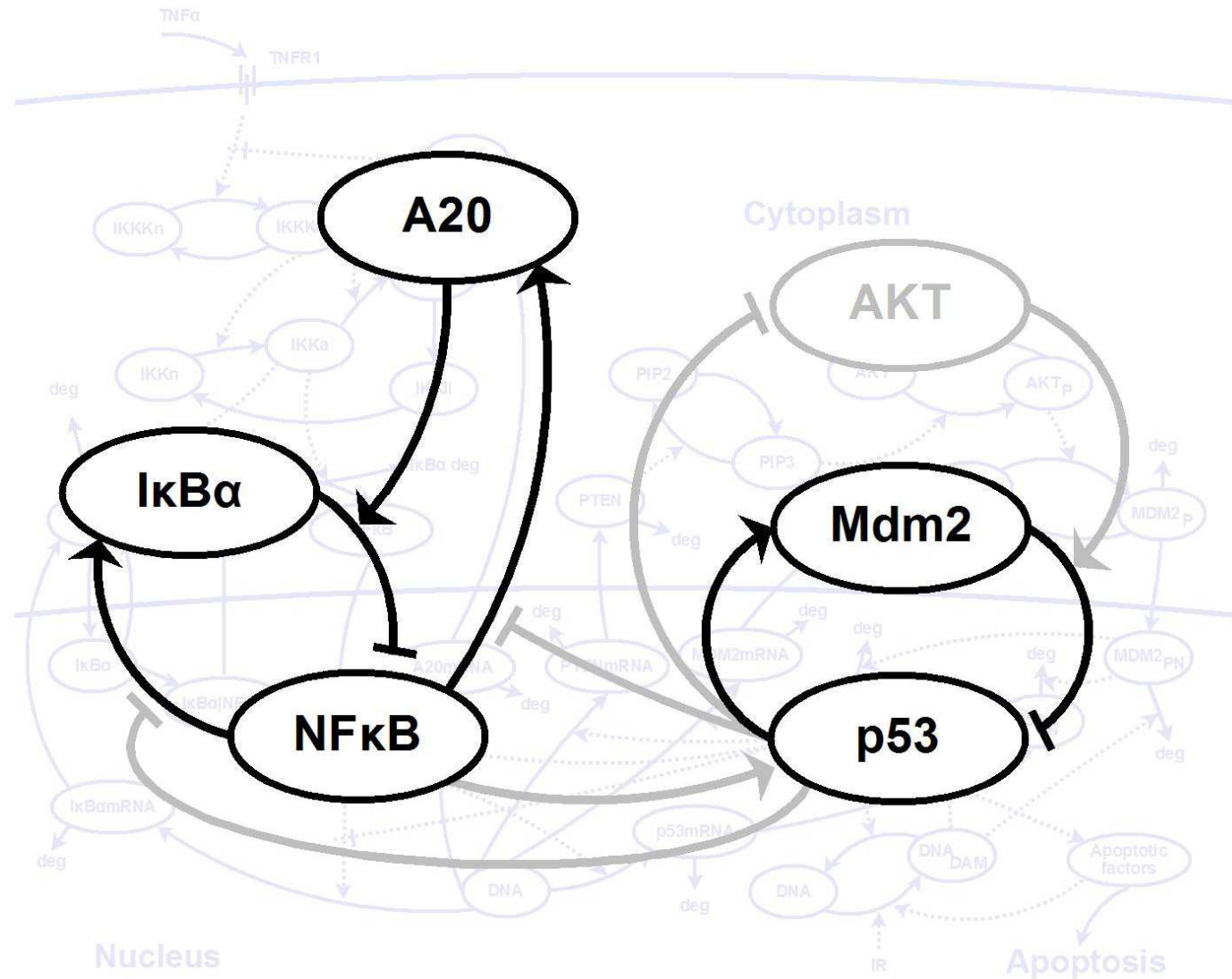
Istniejące sprzężenia modułów NF-κB i p53

- **NF-κB czynnikiem transkrypcyjnym p53 (Wu i Lozano 1994)**
- aktywne NF-κB niezbędne do apoptozy zależnej od p53 (Ryan i in. 2000)
- **p53 hamuje tempo transkrypcji genów zależnych od NF-κB (Bartke i in. 2001)**
- NF-κB może być aktywowane przez p53 (Bohuslav i in. 2004)
- **NF-κB zwiększa ekspresję p53 i jego stabilność (Fujioka i in. 2004)**
- Tax hamuje aktywność p53 przy udziale NF-κB (Jeong i in. 2005)
- p53 zwiększa powinowactwo NF-κB do nici DNA **hamując jednocześnie jego zdolności transkrypcyjne (Kawauchi i in. 2008)**
- NF-κB i p53 współzawodniczą o CBP (Wadgaonkar i in. 1999, Webster i Perkins 1999)
- fosforylacja CBP przez IKK zmienia jego preferencje reakcyjne z p53 na NF-κB (Huang i in. 2007)

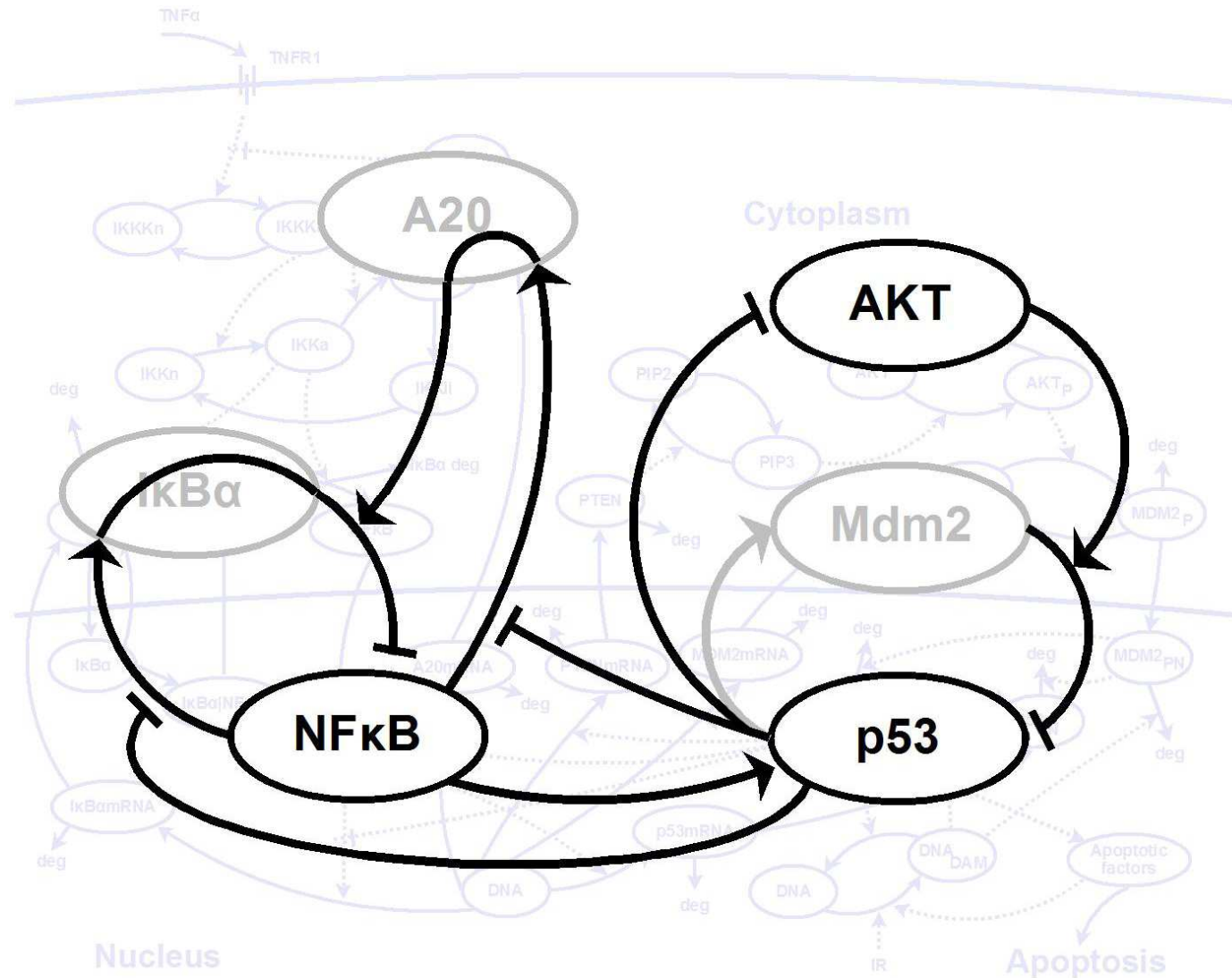
Struktura dynamiczna



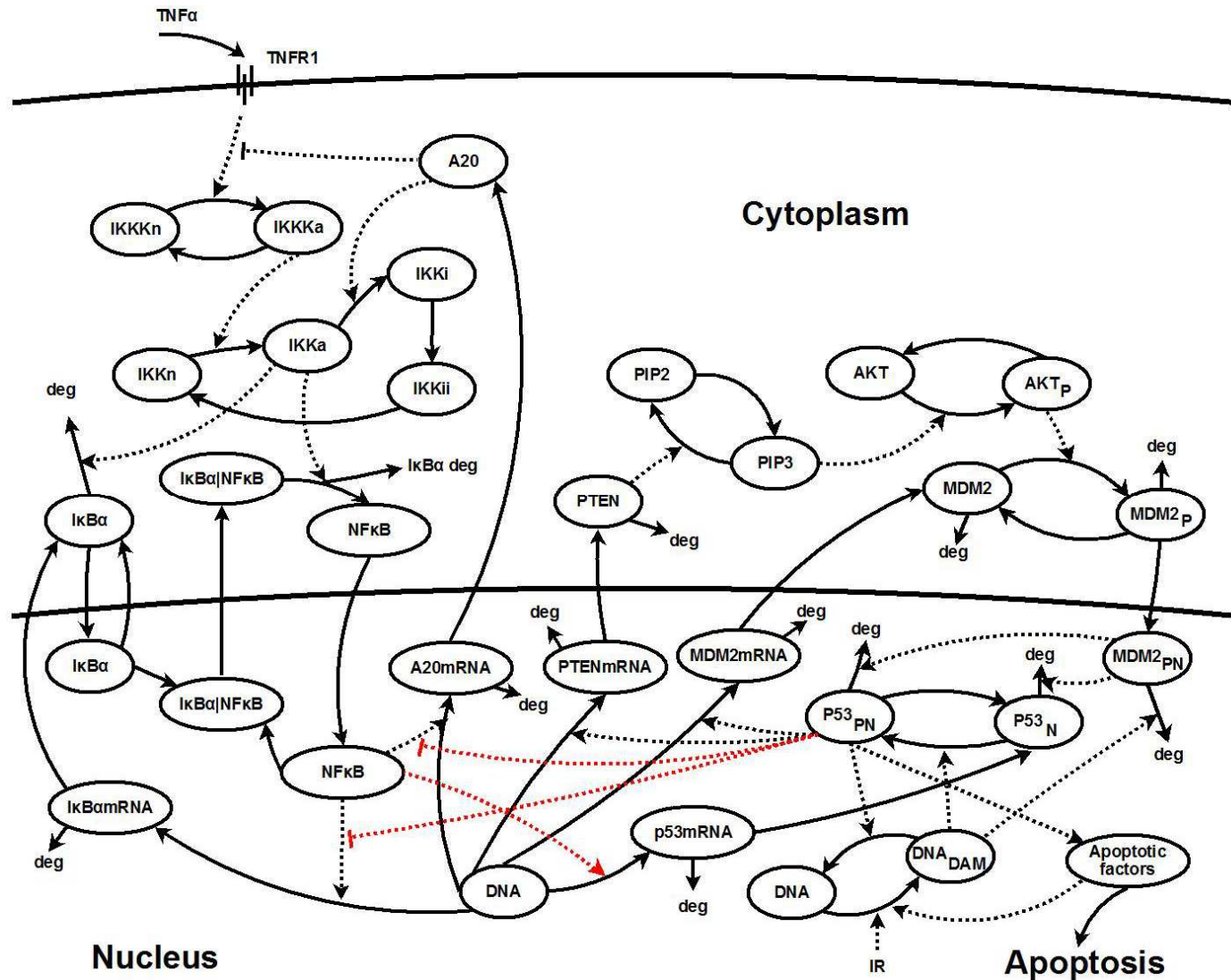
Sprzężenia ujemne



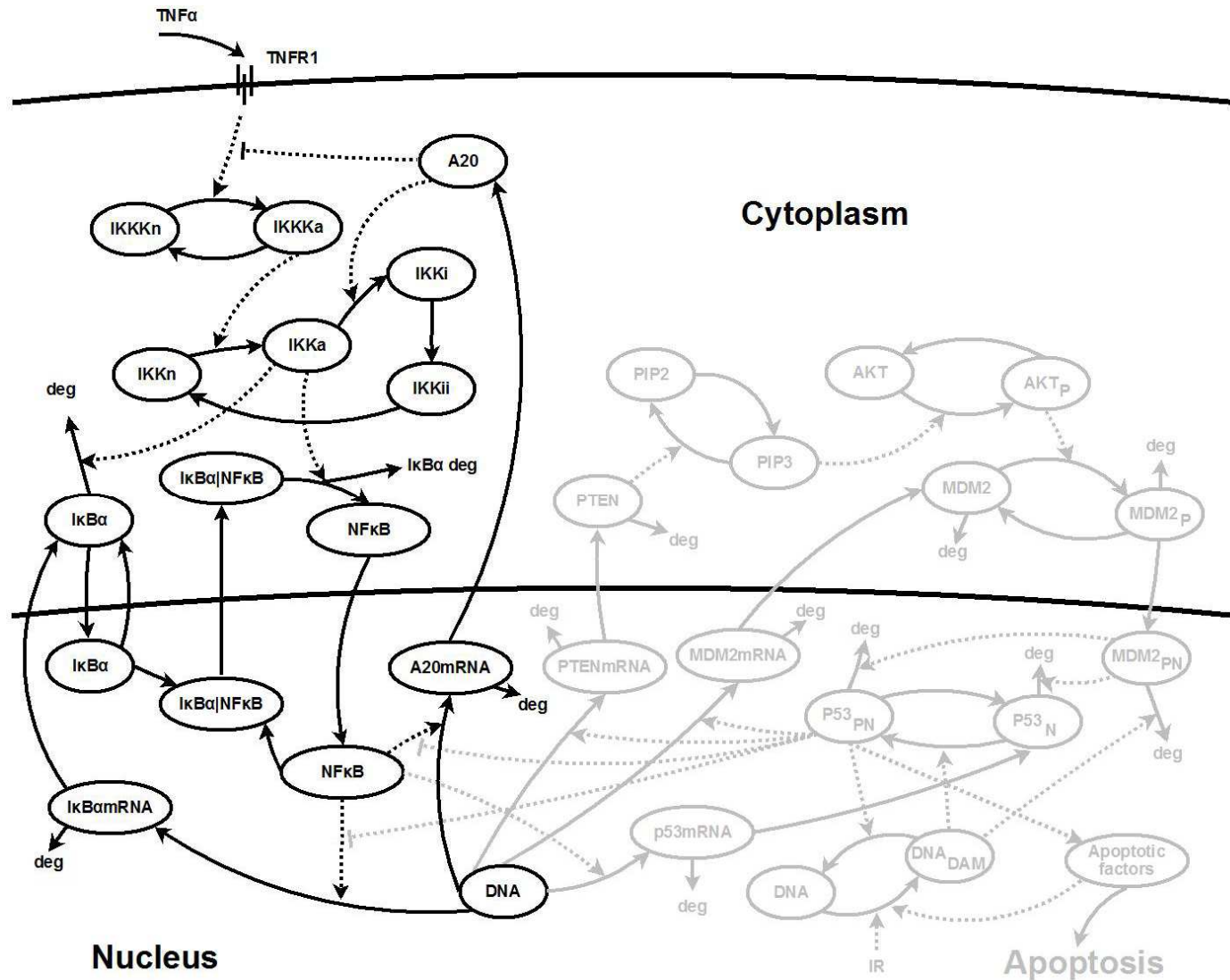
Sprzężenia dodatnie



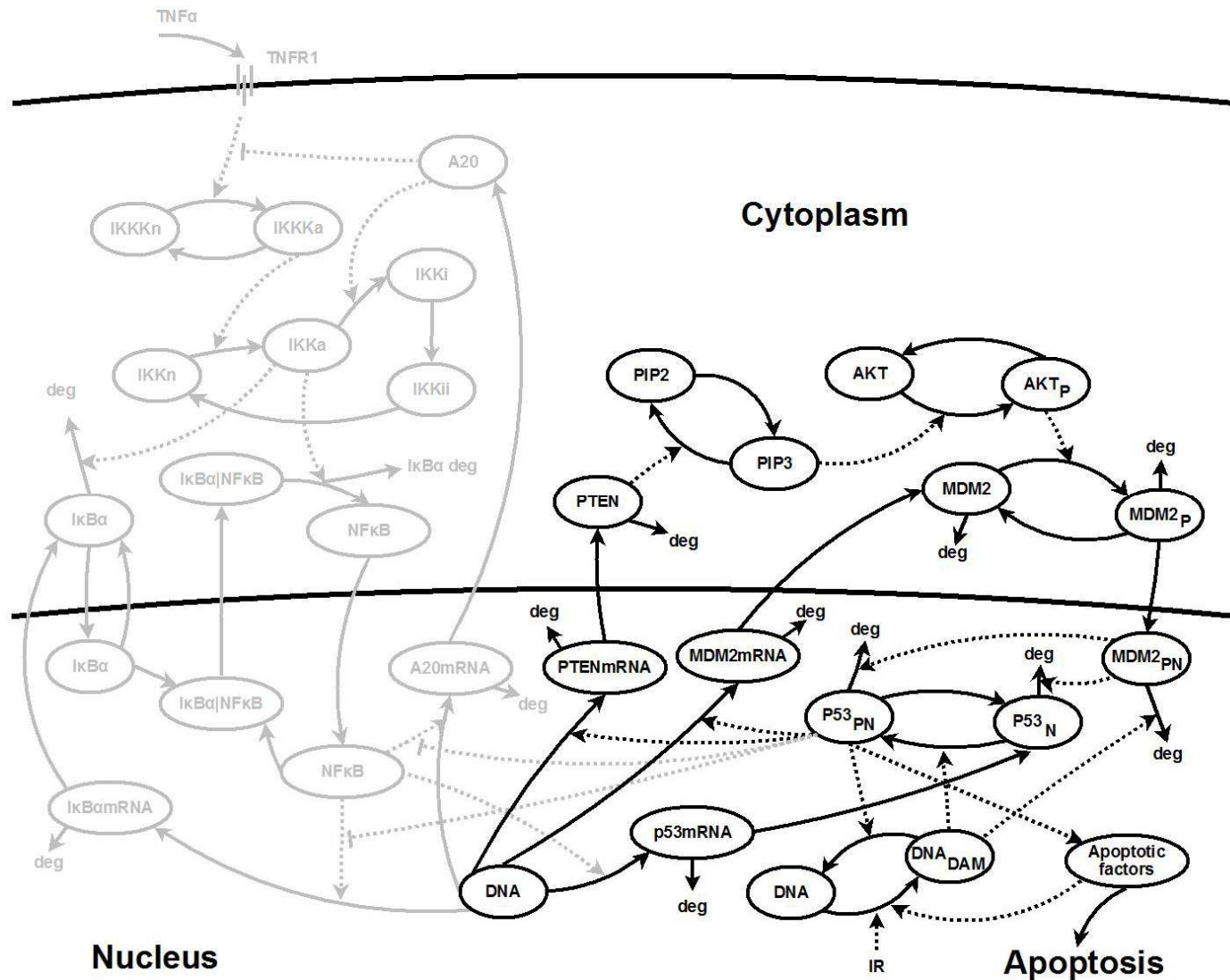
Model łączny NF-κB i p53



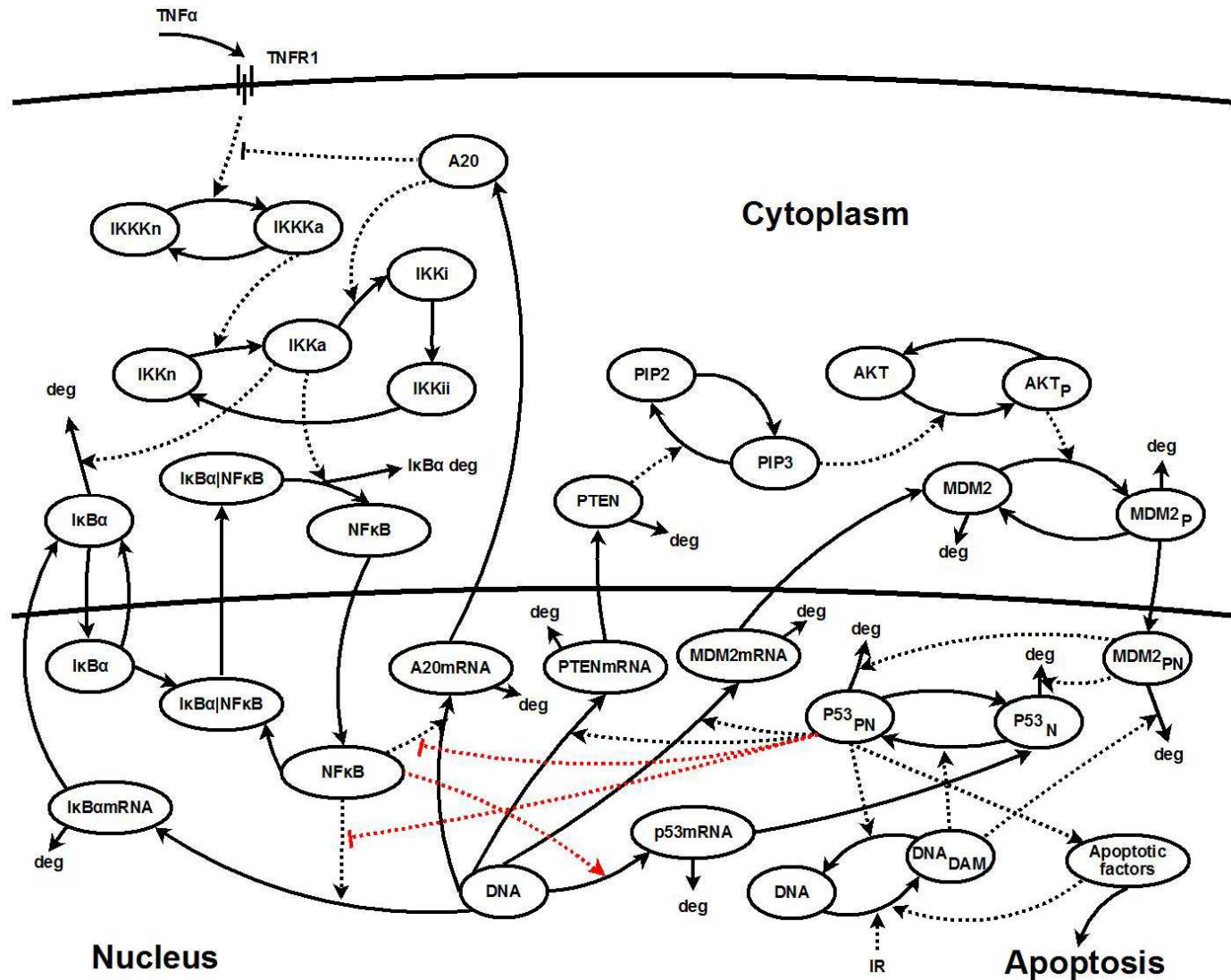
Moduł NF-κB



Moduł p53



Model łączny NF-κB i p53



Sprzężenie dodatnie PTEN-PIP3-Akt

p53 regulowane degradacją (Michael i Oren 2003)

Mdm2 ubikwitynuje p53 (Haupt i in. 1997)

ubikwitynowane p53 ulega degradacji (Stommel i Wahl 2004)

fosforylacja p53 chroni przed ubikwitynacją (Bode i Dong 2004)

aktywacja p53 zwiększa jego zdolności transkrypcyjne (Meek 1998, Meek i Milne 2000, Brooks i Gu 2003)

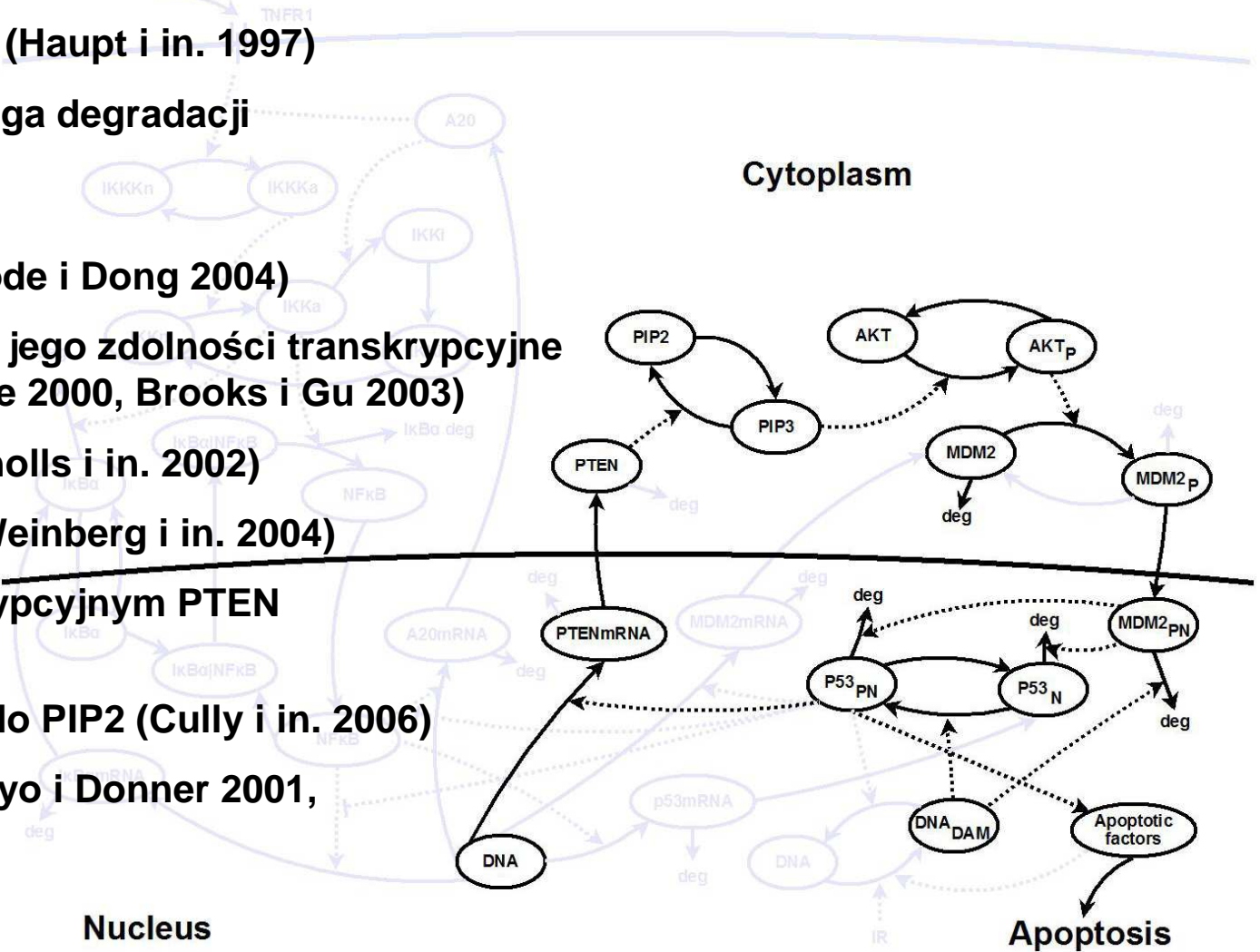
p53 tworzy dimery (Nicholls i in. 2002)

p53 tworzy tetramery (Weinberg i in. 2004)

p53 czynnikiem transkrypcyjnym PTEN (Stambolic i in. 2001)

PTEN hydrolizuje PIP3 do PIP2 (Cully i in. 2006)

Akt aktywuje Mdm2 (Mayo i Donner 2001, Zhou i in. 2001)



Nucleus

Apoptosis

Równania ODE

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt} P53_{pn}(t) &= \left(a_0 + a_1 \frac{N^2(t)}{h_0^2 + N^2(t)} \right) P53_n(t) - c_3 P53_{pn}(t) \\ &\quad - \left(d_5 + d_6 MDM_{pn}^2(t) \right) P53_{pn}(t) \end{aligned}$$

$$\frac{d}{dt} IKKKa(t) = k_a \frac{k_{a20}}{k_{a20} + A20(t)} B(t) IKKKn(t) - k_i IKKKa(t)$$

$$\frac{d}{dt} PTEN_t(t) = s_1 G_{PTEN} - d_8 PTEN_t(t)$$

Część stochastyczna

$$r_r^b(t) = k_b T N F(t), \quad r_r^d = k_f.$$

$$r_{NF\kappa B}^b(t) = q_{0n} + q_{1n} N F \kappa B_n(t), \quad r_{NF\kappa B}^d(t) = q_{2n} I \kappa B \alpha_n(t).$$

$$r_{p53}^b(t) = q_0 + q_1 P53_{pn}^2(t), \quad r_{p53}^d(t) = q_2,$$

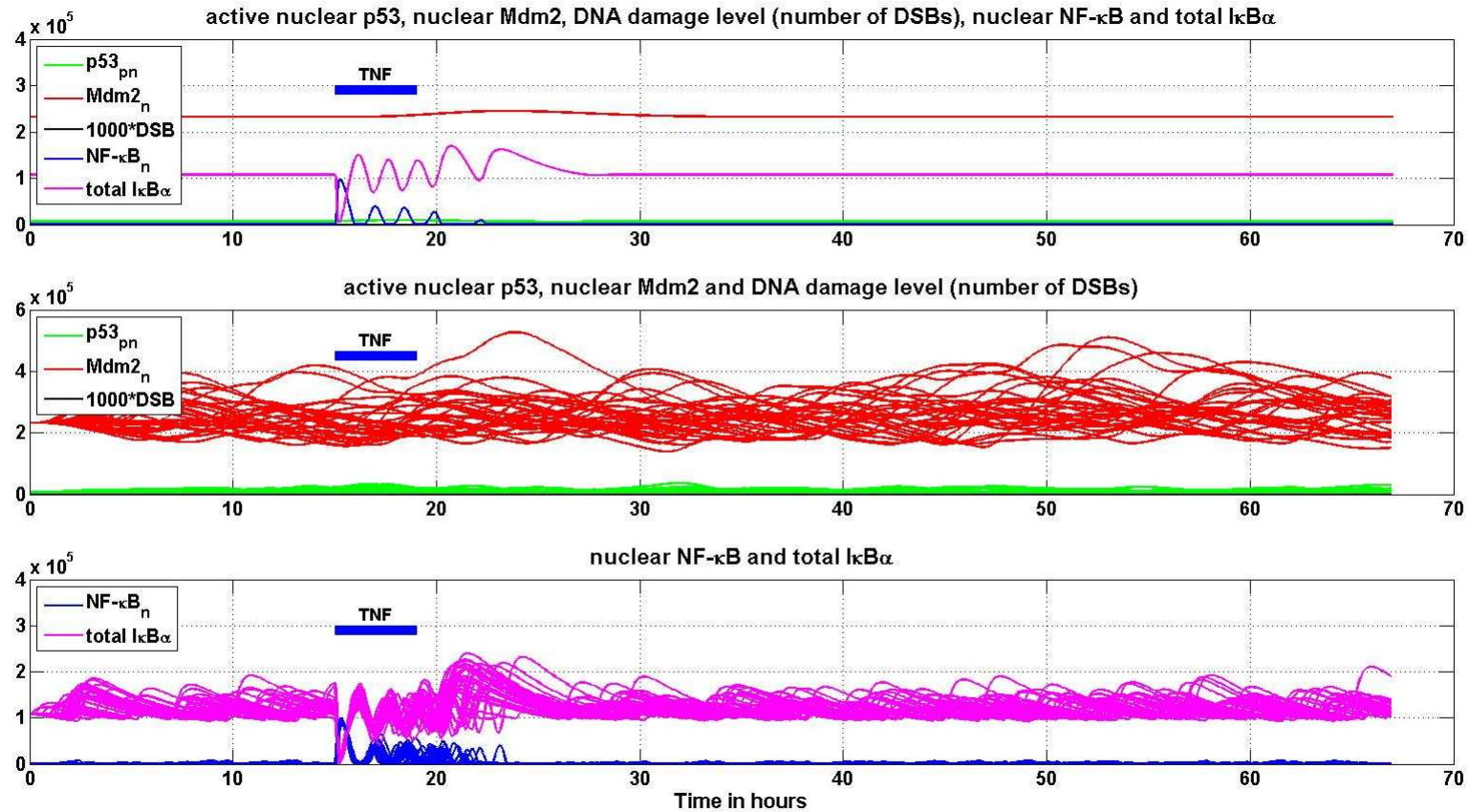
$$r_{DNA}^n(t) = d_{DAM} R(t) + a_6 \left(\text{sign}(A(t)) \frac{d_9}{p_1} - Th \right) + 1,$$

$$r_{DNA}^r(t) = d_{REP} \frac{N(t)}{N(t) + N_{SAT}} P53_{pn}^2(t).$$

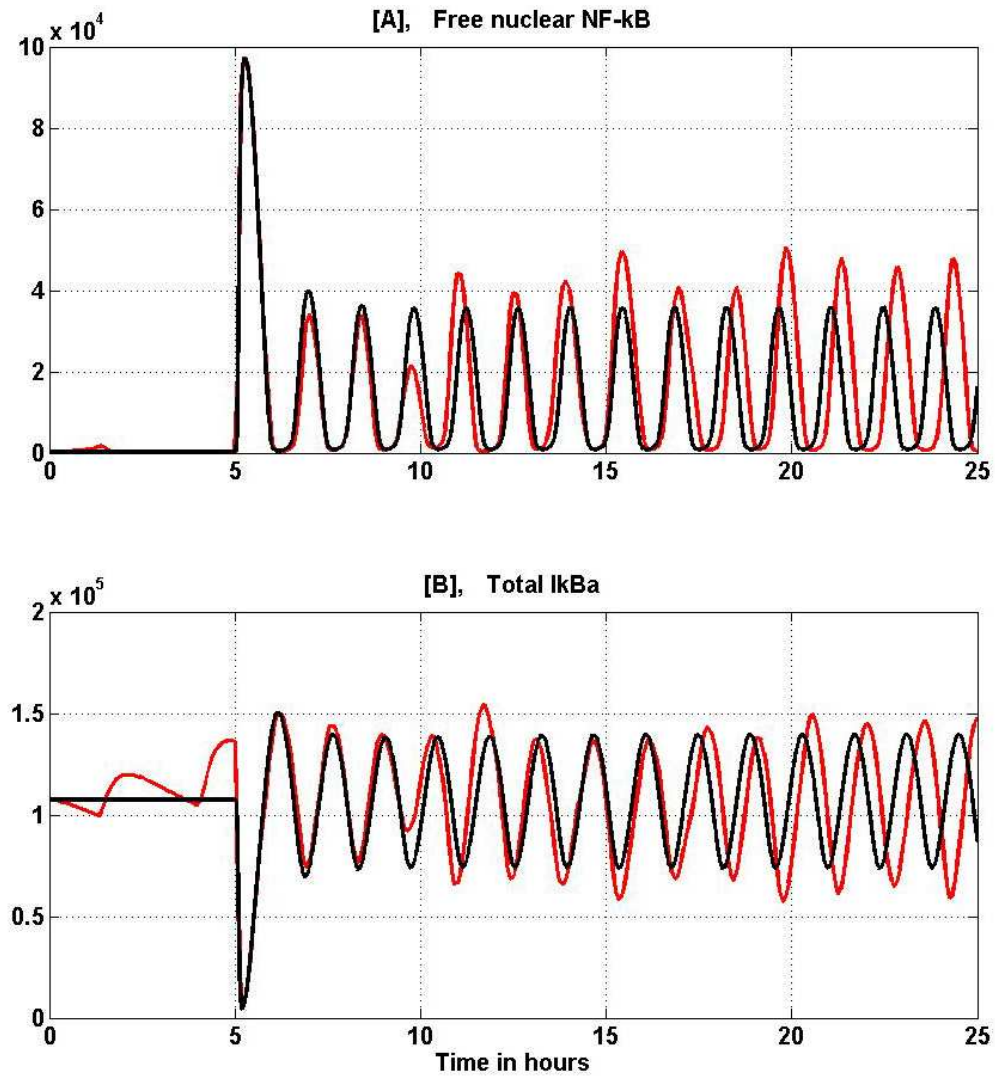
Parametry

Parametr	Opis	Wartość
$k_v=V/U$	stosunek objętości cytoplazmy do jądra	5
k_b	tempo aktywacji receptorów	$4 \times 10^{-6}/s$
k_f	tempo dezaktywacji receptorów	$6 \times 10^{-4}/s$
q_{1n}	tempo aktywacji genów p53, I κ B α i A20 zależne od NF κ B $_n$	$1.5 \cdot 10^{-7}/s$
q_{2n}	tempo dezaktywacji genów p53, I κ B α i A20 zależne od I κ B $_n$	$10^{-6}/s$
KN	całkowita liczba cząsteczek IKKK	10^4
KNN	całkowita liczba cząsteczek IKK	2×10^5
M	całkowita liczba receptorów TNFR1	10^3
NF κ B $_{tot}$	całkowita liczba cząsteczek NF κ B	10^5
k_a	tempo aktywacji IKKKn	$10^{-4}/s$
k_i	tempo dezaktywacji IKKKa	$10^{-2}/s$
c_{1n}	tempo transkrypcji A20 $_t$ i I κ B $_t$	$10^{-1}/s$
c_{3n}	tempo degradacji A20 $_t$ i I κ B $_t$	$7.5 \times 10^{-4}/s$
c_{4n}	tempo translacji A20 i I κ B	$5 \times 10^{-1}/s$
c_{5n}	tempo degradacji A20	$5 \times 10^{-4}/s$
$ka20$	współczynnik blokowania TNFR1 przez A20	10^4
k_2	tempo dezaktywacji IKKa przez A20	10^4
k_1	tempo aktywacji IKKn	$5 \times 10^{-6}/s$
k_3	tempo dezaktywacji IKKa	$3 \times 10^{-3}/s$
k_4	tempo transformacji IKKii	$5 \times 10^{-4}/s$
a_{1n}	tempo tworzenia kompleksów NF κ B I κ B	$5 \times 10^{-7}/s$
a_{2n}	tempo fosforylacji I κ B przez IKKa	$10^{-7}/s$
a_{3n}	tempo fosforylacji kompleksów NF κ B I κ B przez IKKa	$5 \times 10^{-7}/s$
tp	tempo degradacji I κ B $_p$ i I κ B $_p$ w kompleksie z NF κ B	$10^{-2}/s$
c_{5a}	tempo degradacji I κ B	$10^{-4}/s$
c_{6a}	tempo degradacji I κ B w kompleksie z NF κ B	$2 \times 10^{-5}/s$
i_1	import NF κ B do jądra komórkowego	$10^{-2}/s$
e_{2a}	export kompleksów NF κ B I κ B $_n$ z jądra komórkowego	$5 \times 10^{-2}/s$
i_{1a}	import I κ B do jądra komórkowego	$2 \times 10^{-3}/s$
e_{1a}	export I κ B z jądra komórkowego	$5 \times 10^{-3}/s$

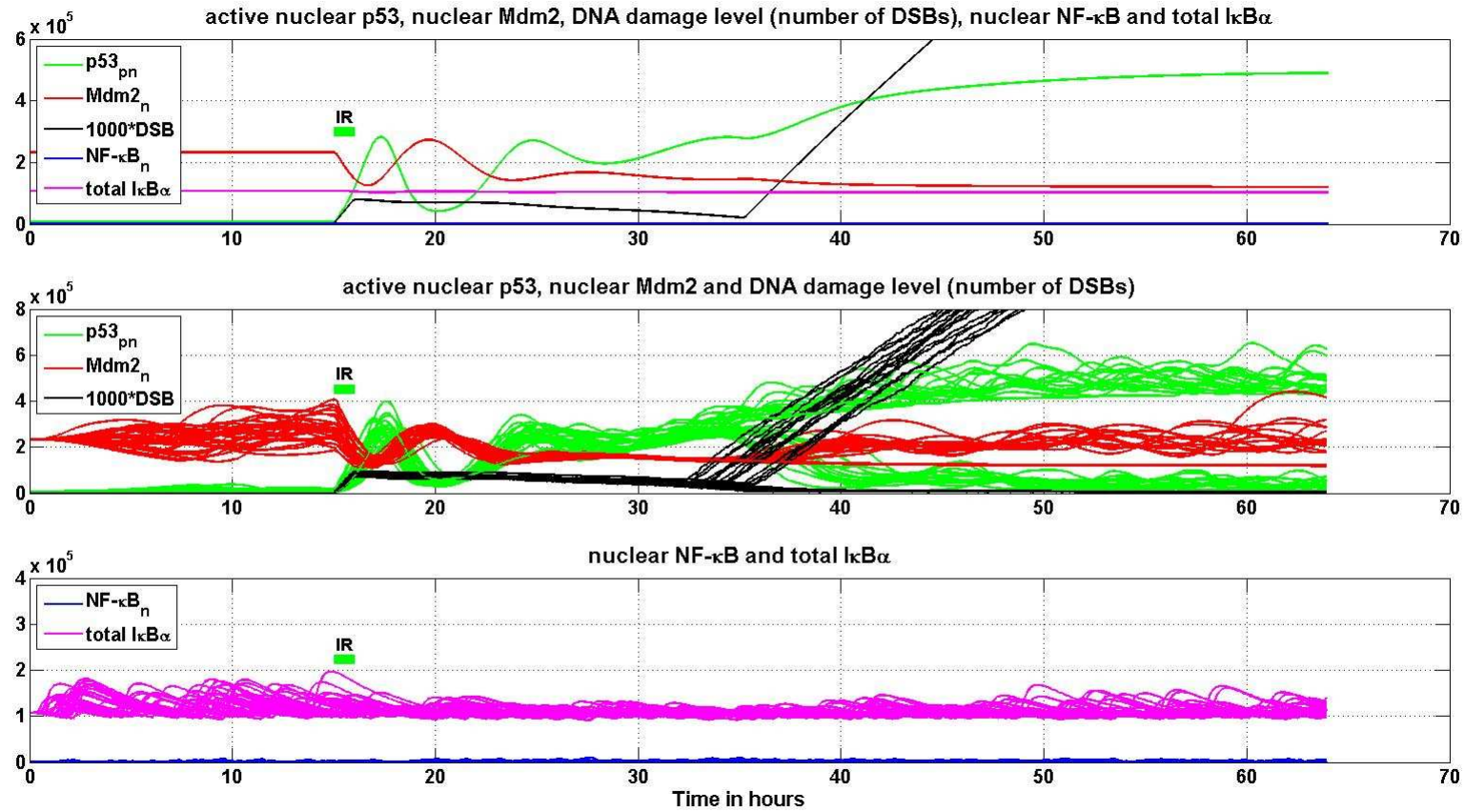
IR off TNF on



IR off TNF on

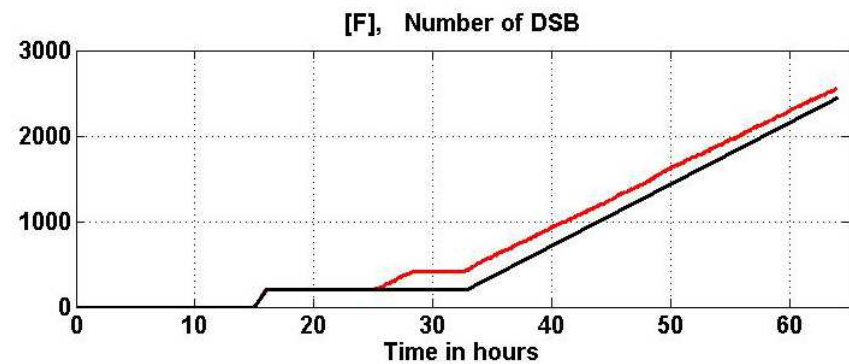
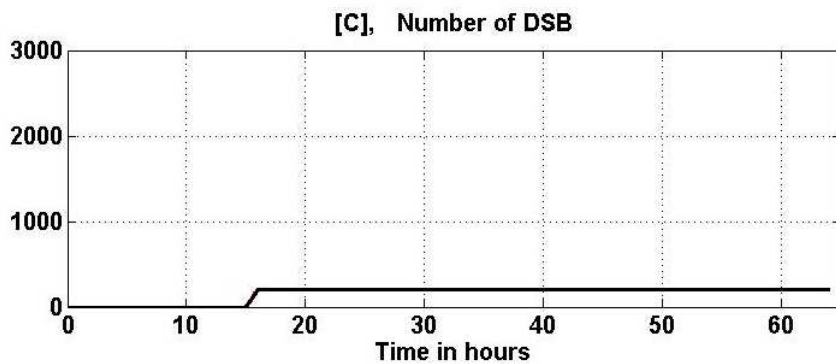
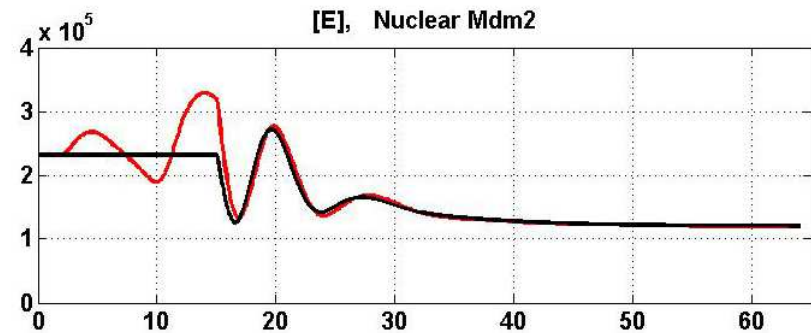
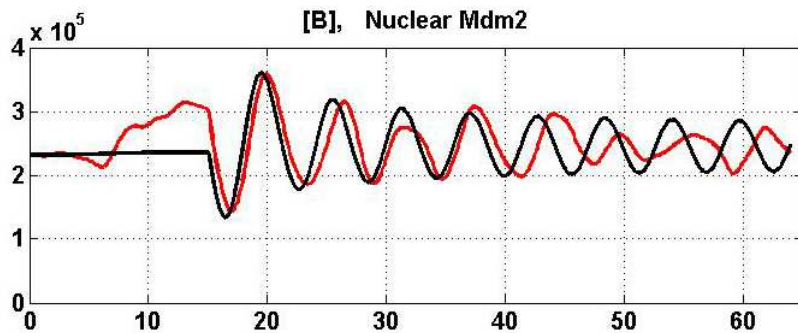
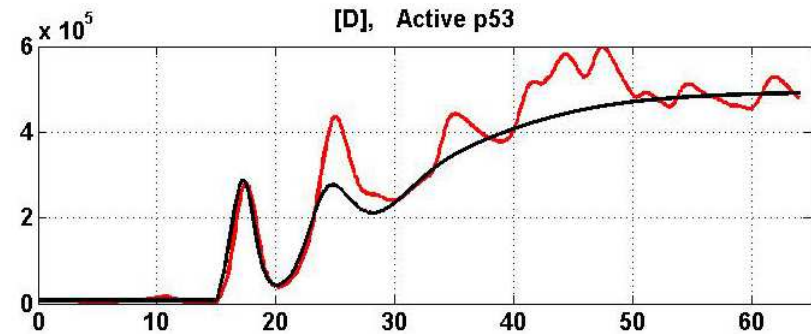
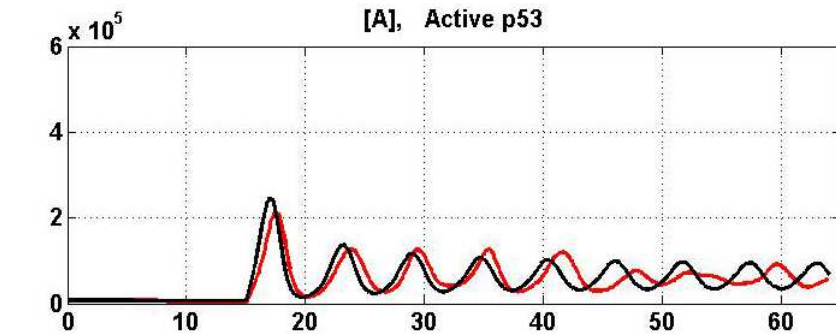


IR on TNF off



IR on TNF off

(1. oscylacje; 2. apoptoza)

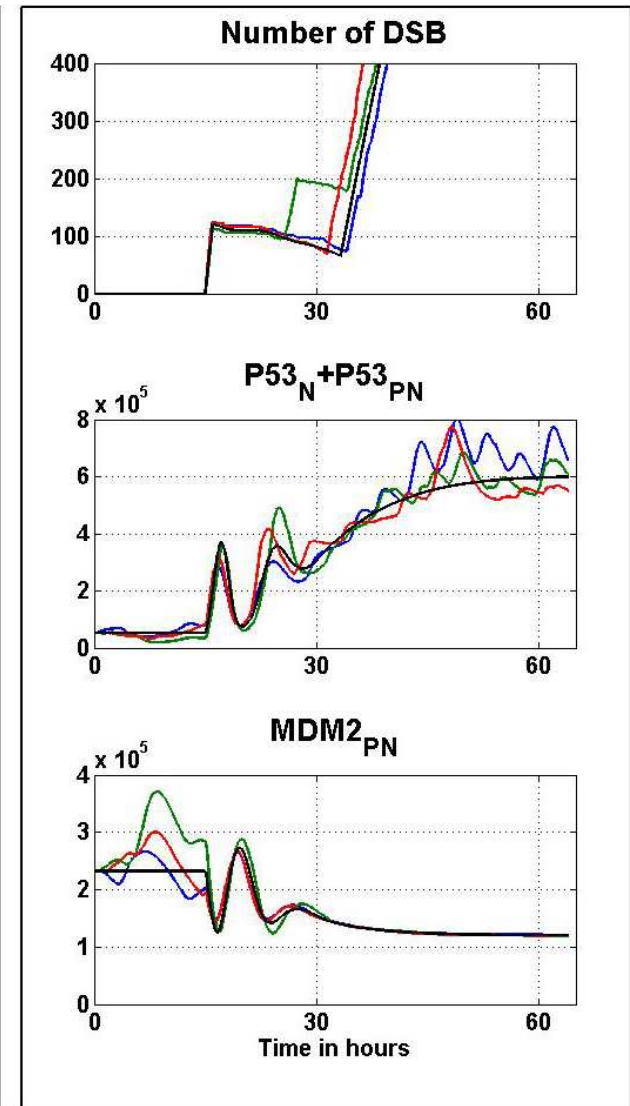
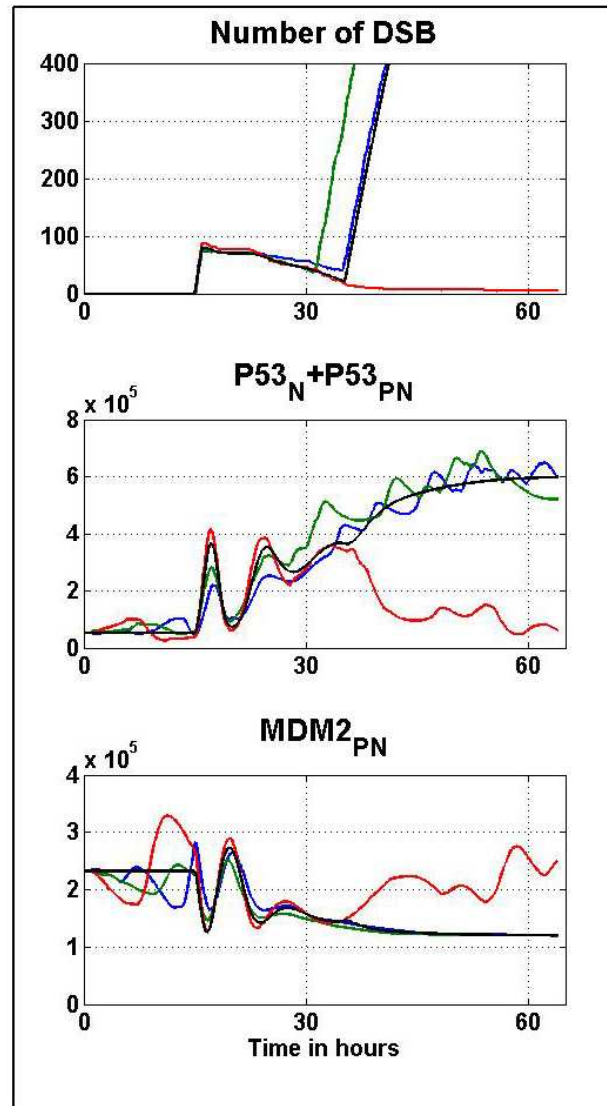
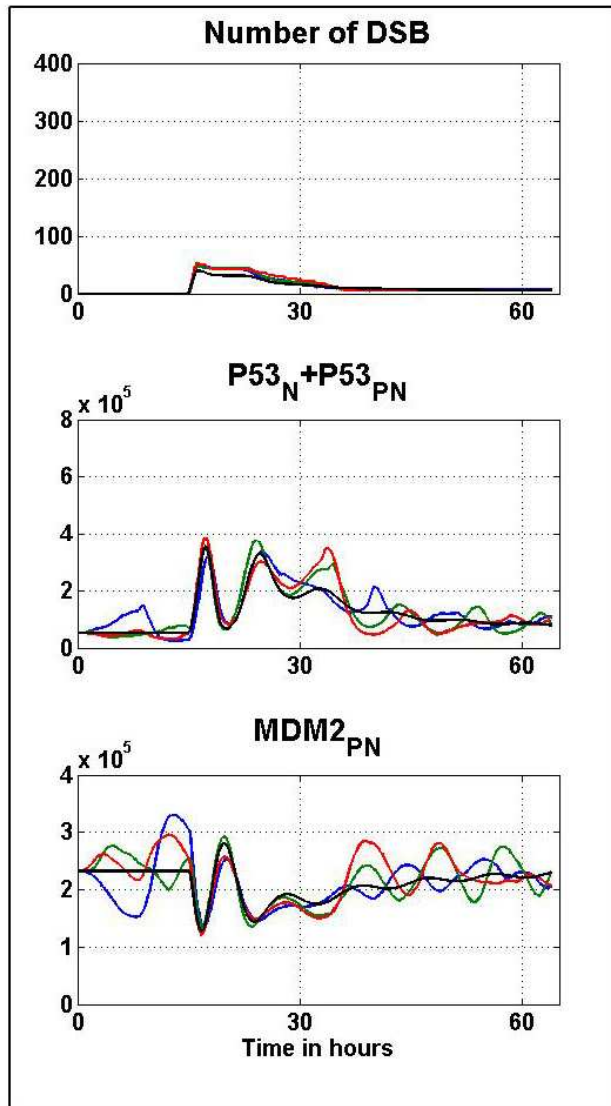


IR on TNF off (3. współzawodnictwo)

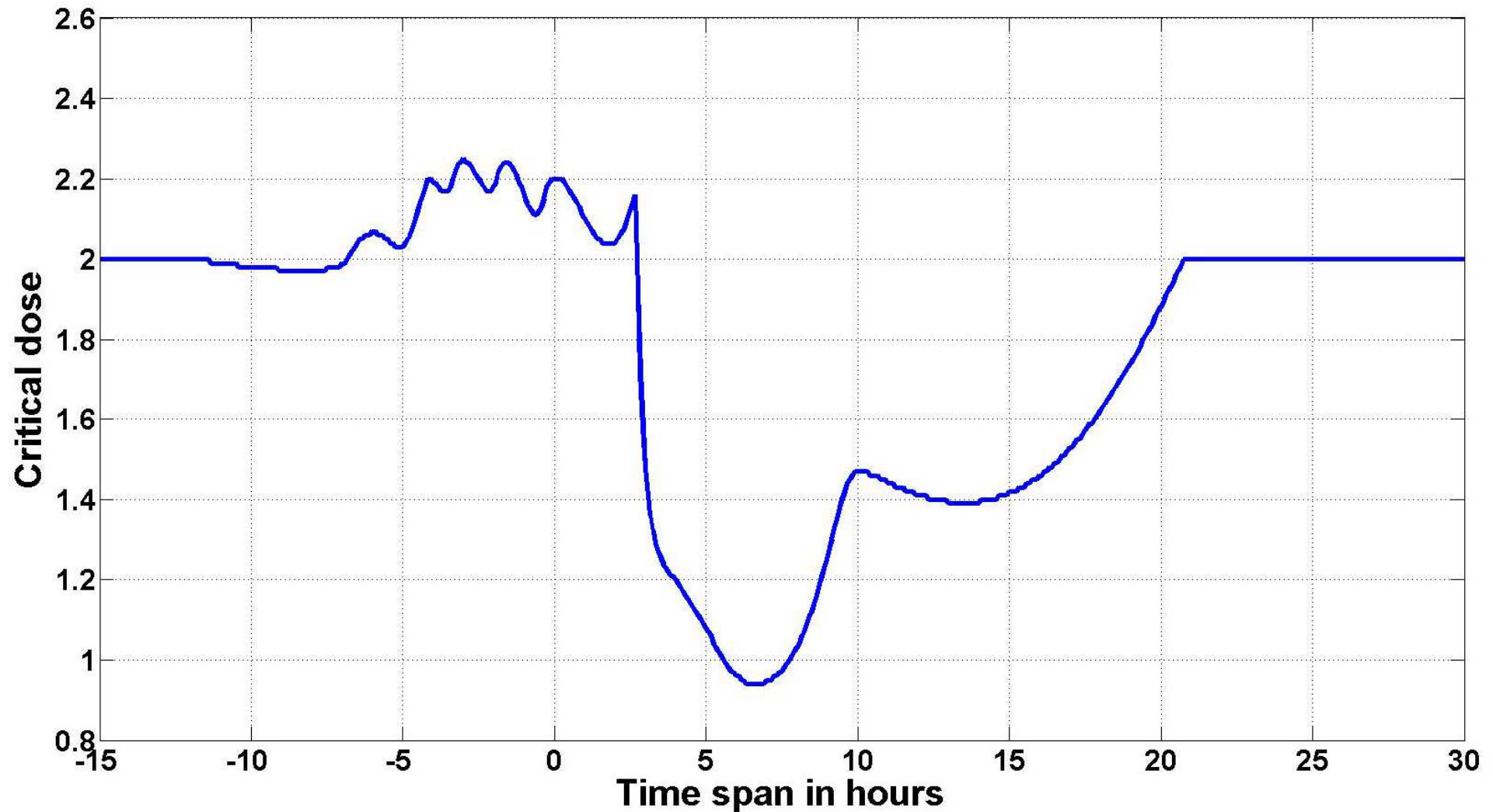
[A] Dose 1 Gy

[B] Dose 2 Gy

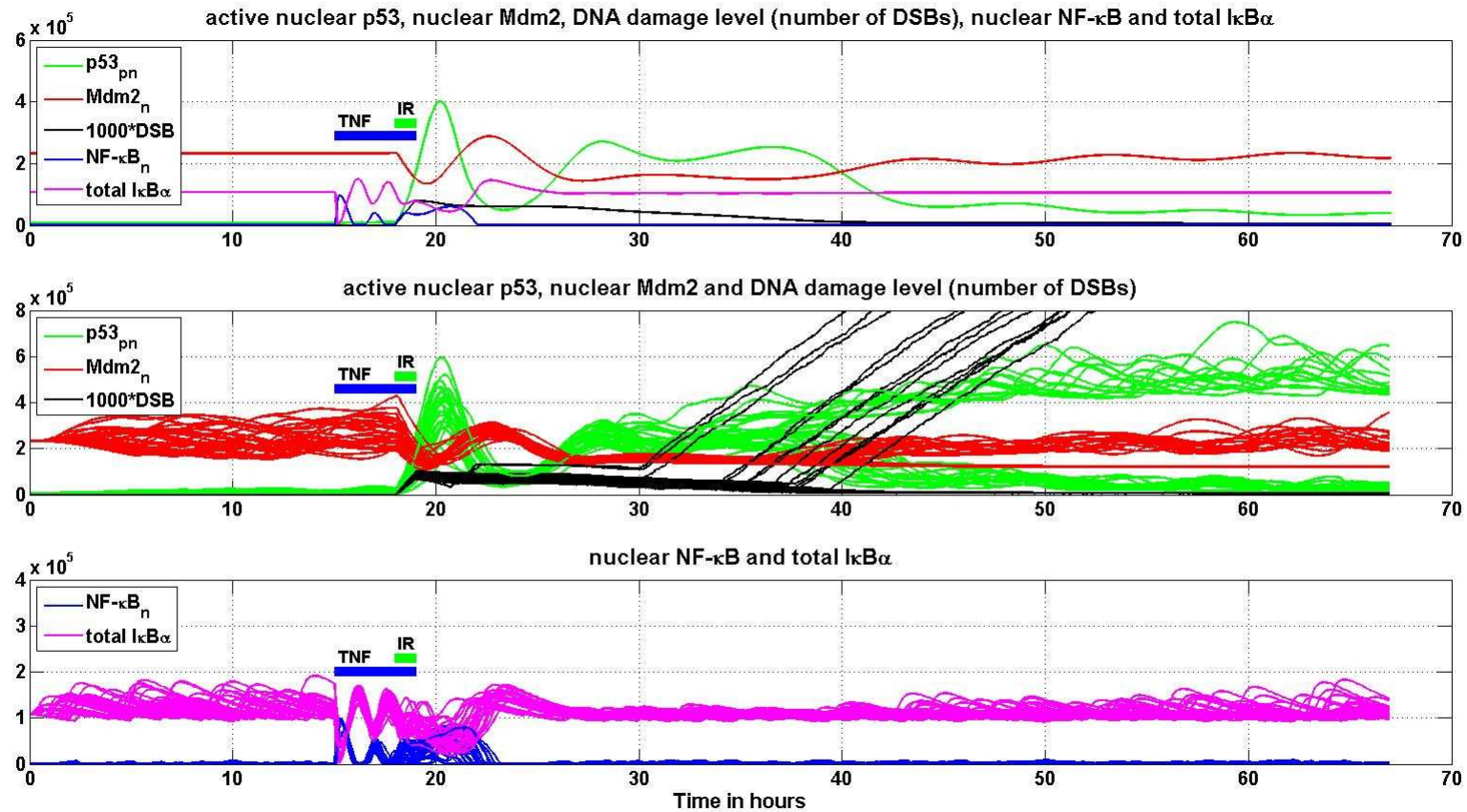
[C] Dose 3 Gy



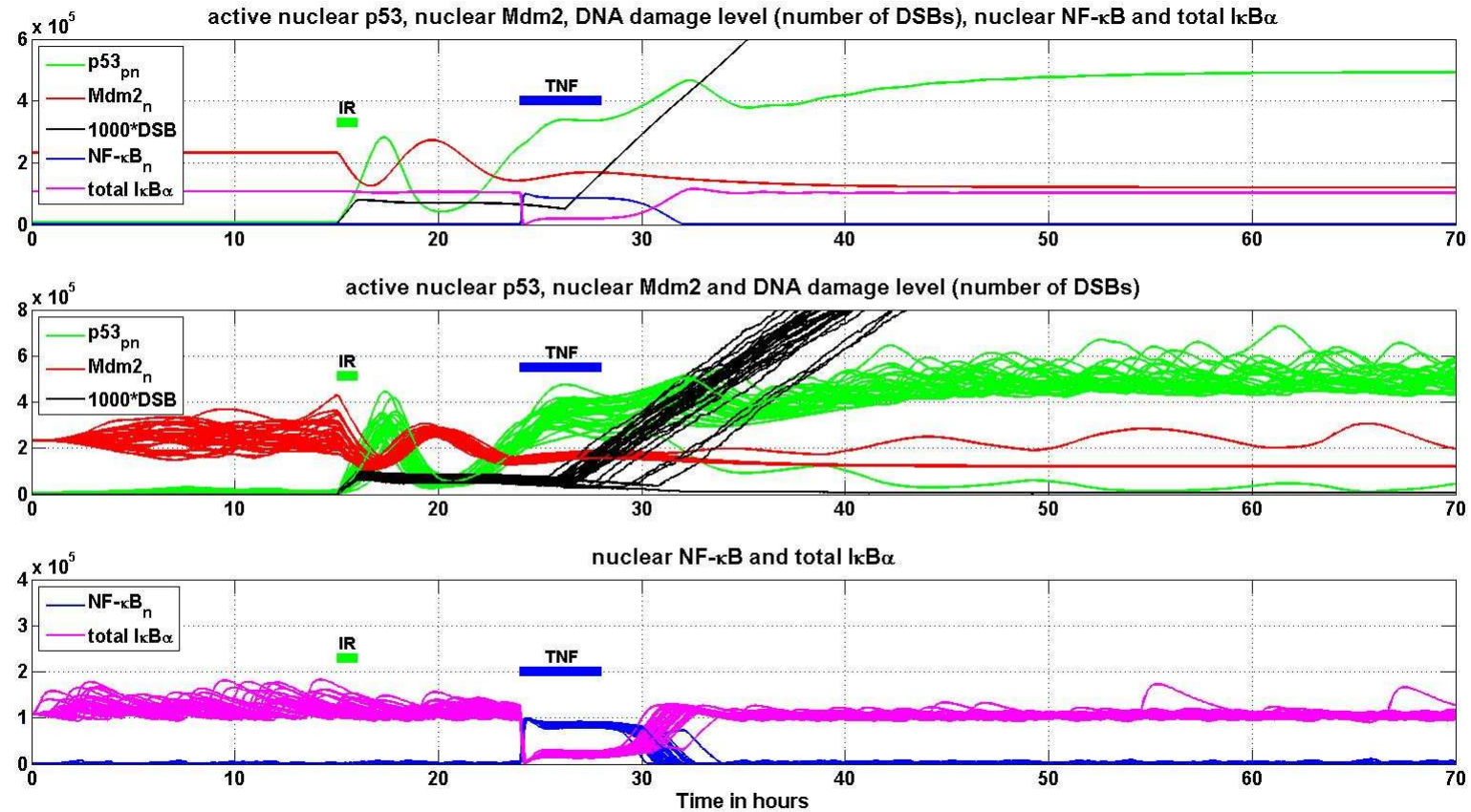
Przesunięcie początków wymuszeń: godzinnego pulsu IR i czterogodzinnego pulsu TNF



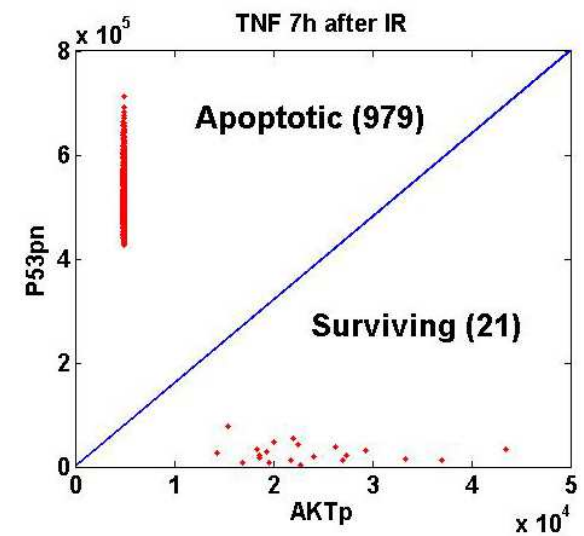
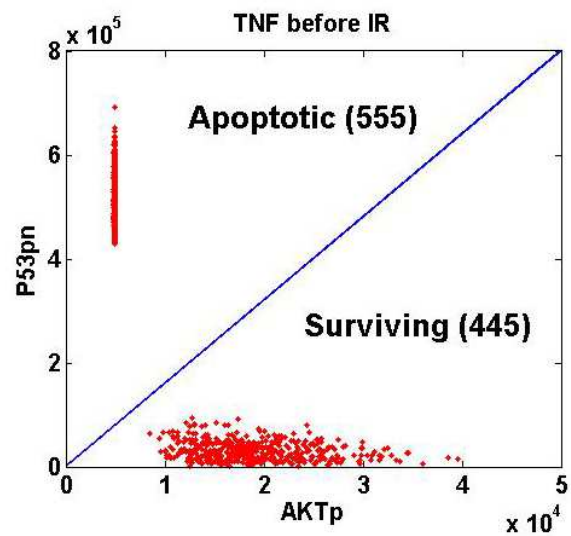
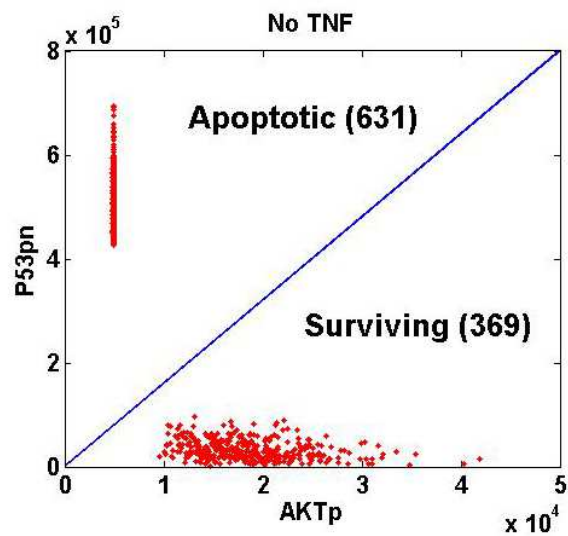
Początek pulsu TNF 3h przed IR



Początek pulsu IR 7h przed TNF



Wielkość frakcji apoptotycznej na 1000 komórek



Podsumowanie

- Model łączny zawiera pięć pętli sprzężeń zwrotnych: 3 ujemne i 2 dodatnie.
- Pętle ujemne łączą czynniki transkrypcyjne z ich inhibitorami wprowadzając do układu oscylacje.
- Pętle dodatnie działają na zasadzie podwójnej negacji odcinając czynniki transkrypcyjne od ich inhibitorów i wprowadzając do układu bistabilność.
- Model łączny tłumaczy obserwowaną eksperymentalnie pro- i anty-apoptotyczną rolę NF- κ B zastosowanym protokołem wymuszeń:

Wzbudzenie ścieżki NF- κ B za pomocą TNF α przed rozpoczęciem napromieniowywania wzbudzającego ścieżkę p53 zmniejsza frakcję komórek apoptotycznych podczas gdy podanie TNF α po napromieniowaniu ją zwiększa.

Dziękuję za uwagę

Równania

$$\frac{d}{dt}PTEN(t) = t_1 PTEN_t(t) - d_2 PTEN(t)$$

$$\frac{d}{dt}PIP_n(t) = c_0 PTEN(t) PIP_p(t) - a_2 PIP_n(t)$$

$$\frac{d}{dt}PIP_p(t) = a_2 PIP_n(t) - c_0 PTEN(t) PIP_p(t)$$

$$\frac{d}{dt}AKT_n(t) = c_1 AKT_p(t) - a_3 AKT_n(t) PIP_p(t)$$

$$\frac{d}{dt}AKT_p(t) = a_3 AKT_n(t) PIP_p(t) - c_1 AKT_p(t)$$

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt}MDM(t) = & t_0 MDM_t(t) + c_2 MDM_p(t) \\ & - a_4 MDM(t) AKT_p(t) - \left(d_0 + d_1 \frac{N^2(t)}{h_0^2 + N^2(t)} \right) MDM(t) \end{aligned}$$

Równania

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt} MDM_p(t) &= a_4 MDM(t) AKT_p(t) - c_2 MDM_p(t) - i_0 MDM_p(t) \\ &\quad + e_0 MDM_{pn}(t) - \left(d_0 + d_1 \frac{N^2(t)}{h_0^2 + N^2(t)} \right) MDM_p(t) \end{aligned}$$

$$\frac{d}{dt} MDM_{pn}(t) = i_0 MDM_p(t) - e_0 MDM_{pn}(t) - \left(d_0 + d_1 \frac{N^2(t)}{h_0^2 + N^2(t)} \right) MDM_{pn}(t)$$

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt} P53_n(t) &= t_2 P53_t(t) - \left(a_0 + a_1 \frac{N^2(t)}{h_0^2 + N^2(t)} \right) P53_n(t) + c_3 P53_{pn}(t) \\ &\quad - \left(d_3 + d_4 MDM_{pn}^2(t) \right) P53_n(t) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt} P53_{pn}(t) &= \left(a_0 + a_1 \frac{N^2(t)}{h_0^2 + N^2(t)} \right) P53_n(t) - c_3 P53_{pn}(t) \\ &\quad - \left(d_5 + d_6 MDM_{pn}^2(t) \right) P53_{pn}(t) \end{aligned}$$

Równania

$$\frac{d}{dt} MDM_t(t) = s_0 G_{Mdm2} - d_7 MDM_t(t)$$

$$\frac{d}{dt} PTEN_t(t) = s_1 G_{PTEN} - d_8 PTEN_t(t)$$

$$\frac{d}{dt} P53_t(t) = 2s_3 + s_2 G_{p53} - d_{10} P53_t(t)$$

$$\frac{d}{dt} IKKK_n(t) = k_i IKKK_a(t) - k_a \frac{k_{a20}}{k_{a20} + A20(t)} B(t) IKKK_n(t)$$

$$\frac{d}{dt} IKKK_a(t) = k_a \frac{k_{a20}}{k_{a20} + A20(t)} B(t) IKKK_n(t) - k_i IKKK_a(t)$$

$$\frac{d}{dt} IKK_n(t) = k_4 IKK_{ii}(t) - k_1 IKKK_a(t) IKK_n(t)$$

Równania

$$\frac{d}{dt} I K K a(t) = k_1 I K K K a(t) I K K n(t) - k_3 I K K a(t) \frac{k_2 + A_{20}(t)}{k_2}$$

$$\frac{d}{dt} I K K i(t) = k_3 I K K a(t) \frac{k_2 + A_{20}(t)}{k_2} - k_4 I K K i(t)$$

$$\frac{d}{dt} I K K i i(t) = k_4 I K K i(t) - k_4 I K K i i(t)$$

$$\frac{d}{dt} I \kappa B_p(t) = a_{2n} I K K a(t) I \kappa B(t) - t_p I \kappa B_p(t)$$

$$\frac{d}{dt} (N F \kappa B | I \kappa B_p)(t) = a_{3n} I K K a(t) (N F \kappa B | I \kappa B)(t) - t_p (N F \kappa B | I \kappa B_p)(t)$$

Równania

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt} NF\kappa B(t) &= c_{6a} (NF\kappa B|I\kappa B)(t) - a_{1n} NF\kappa B(t) I\kappa B(t) \\ &\quad + t_p (NF\kappa B|I\kappa B_p)(t) - i_1 NF\kappa B(t) \end{aligned}$$

$$\frac{d}{dt} NF\kappa B_n(t) = i_1 NF\kappa B(t) - a_{1n} k_v NF\kappa B_n(t) I\kappa B_n(t)$$

$$\frac{d}{dt} A20(t) = c_{4n} A20_t(t) - c_{5n} A20(t)$$

$$\frac{d}{dt} A20_t(t) = c_{1n} \frac{h_1}{h_1 + P53_{pn}} G_{A20} - c_{3n} A20_t(t)$$

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt} I\kappa B(t) &= -a_{2n} IKKa(t) I\kappa B(t) - a_{1n} NF\kappa B(t) I\kappa B(t) \\ &\quad + c_{4n} I\kappa B_t(t) - c_{5a} I\kappa B(t) \\ &\quad - i_{1a} I\kappa B(t) + e_{1a} I\kappa B_n(t) \end{aligned}$$

Równania

$$\frac{d}{dt} I\kappa B_n(t) = -a_{1n} k_v N F \kappa B_n(t) I\kappa B_n(t) + i_{1a} I\kappa B(t) - e_{1a} I\kappa B_n(t)$$

$$\frac{d}{dt} I\kappa B_t(t) = c_{1n} \frac{h_1}{h_1 + P53_{pn}} G_{I\kappa B} - c_{3n} I\kappa B_t(t)$$

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt} (NF\kappa B|I\kappa B)(t) &= a_{1n} NF\kappa B(t) I\kappa B(t) - c_{6a} (NF\kappa B|I\kappa B)(t) \\ &\quad - a_{3n} IKKa(t) (NF\kappa B|I\kappa B)(t) + e_{2a} (NF\kappa B|I\kappa B_n)(t) \end{aligned}$$

$$\frac{d}{dt} (NF\kappa B|I\kappa B_n)(t) = a_{1n} k_v N F \kappa B_n(t) I\kappa B_n(t) - e_{2a} (NF\kappa B|I\kappa B_n)(t)$$

$$\frac{d}{dt} A(t) = p_1 \frac{q_3 P53_{pn}^2(t)}{q_4 + q_3 P53_{pn}^2(t)} - d_9 A(t)$$

Przybliżenie deterministyczne

$$\frac{d}{dt}G_{Mdm2}(t) = (q_0 + q_1 P53_{PN}^2(t)) (2 - G_{Mdm2}(t)) - q_2 G_{Mdm2}(t)$$

$$\frac{d}{dt}G_{PTEN}(t) = (q_0 + q_1 P53_{PN}^2(t)) (2 - G_{PTEN}(t)) - q_2 G_{PTEN}(t)$$

$$\frac{d}{dt}G_{I\kappa B}(t) = q_{1n} NF \kappa B_n(t) (2 - G_{I\kappa B}(t)) - q_{2n} I\kappa B_n(t) G_{I\kappa B}(t)$$

$$\frac{d}{dt}G_{A20}(t) = q_{1n} NF \kappa B_n(t) (2 - G_{A20}(t)) - q_{2n} I\kappa B_n(t) G_{A20}(t)$$

$$\frac{d}{dt}G_{p53}(t) = q_{1n} NF \kappa B_n(t) (2 - G_{p53}(t)) - q_{2n} I\kappa B_n(t) G_{p53}(t)$$

$$\frac{d}{dt}B(t) = kb (M - B(t)) TNF(t) - kf B(t)$$

$$\frac{d}{dt}N(t) = d_{DAM}R(t) + a_6 \left(\text{sign}(A(t)) \frac{d_9}{p_1} - Th \right) + 1 - d_{REP} \frac{N(t)}{N(t) + N_{SAT}} P53_{pn}^2(t)$$

Parametry

Parametr	Opis	Wartość
a_0	tempo spontanicznej aktywacji $P53_n$	$1 \times 10^{-4}/s$
a_1	tempo fosforylacji $P53_n$ wymuszone uszkodzeniem DNA	$1 \times 10^{-3}/s$
a_2	tempo aktywacji PIP	$5 \times 10^{-5}/s$
a_3	tempo aktywacji AKT	$2 \times 10^{-9}/s$
a_4 (Z)	tempo fosforylacji MDM	$7.5 \times 10^{-9}/s$
c_0	tempo hydrolizacji PIP_p przez $PTEN$	$2.5 \times 10^{-9}/s$
c_1	tempo dezaktywacji AKT_p	$2 \times 10^{-4}/s$
c_2	tempo defosforylacji MDM_p	$1 \times 10^{-4}/s$
c_3	tempo spontanicznej defosforylacji $P53_{pn}$	0
d_0	tempo spontanicznej degradacji wszystkich form Mdm2	$3 \times 10^{-5}/s$
d_1	tempo deg. wszystkich form Mdm2 wymuszone uszk. DNA	$1.5 \times 10^{-4}/s$
d_2	tempo degradacji $PTEN$	$5 \times 10^{-5}/s$
d_3	tempo spontanicznej degradacji $P53_n$	$1 \times 10^{-4}/s$
d_4	tempo degradacji $P53_n$ wymuszonej przez MDM_{pn}	$1 \times 10^{-13}/s$
d_5	tempo spontanicznej degradacji $P53_{pn}$	$1 \times 10^{-4}/s$
d_6	tempo degradacji $P53_{pn}$ wymuszonej przez MDM_{pn}	$1 \times 10^{-14}/s$
d_7	tempo degradacji MDM_t	$3 \times 10^{-4}/s$
d_8	tempo degradacji $PTEN_t$	$3 \times 10^{-4}/s$
e_0	export MDM_{pn} z jądra komórkowego	0
i_0	import MDM_p do jądra komórkowego	$5 \times 10^{-4}/s$
s_0	tempo transkrypcji MDM_t	$6 \times 10^{-2}/s$
s_1	tempo transkrypcji $PTEN_t$	$6 \times 10^{-2}/s$
t_0	tempo translacji MDM	$5 \times 10^{-1}/s$
t_1	tempo translacji $PTEN$	$1 \times 10^{-1}/s$
h_0	stała Michaelisa dla aktywacji $P53_n$ i degradacji wszystkich form Mdm2	7
q_0	tempo spontanicznej aktywacji genów Mdm2 i PTEN	$1 \times 10^{-4}/s$
q_1	tempo aktywacji genów Mdm2 i PTEN zależne od $P53_{pn}$	$5 \times 10^{-13}/s$
q_2	tempo dezaktywacji genów Mdm2 i PTEN	$3 \times 10^{-3}/s$
N_{SAT} (Z)	współczynnik nasycenia kompleksów naprawczych DNA	3
d_{DAM} (Z)	tempo uszkodzania DNA	40/Gy
d_{REP} (Z)	tempo naprawy DNA	$2 \times 10^{-14}/s$
AKT_{tot}	całkowita liczba białek Akt ($AKT + AKT_p$)	2×10^5
PIP_{tot}	całkowita liczba białek PIP ($PIP + PIP_p$)	1×10^5
a_6 (Z)	maksymalne tempo uszk. DNA przez czynniki apoptotyczne	$1 \times 10^{-2}/s$
d_9 (Z)	tempo degradacji czynników apoptotycznych	$2 \times 10^{-4}/s$
p_1 (Z)	maksymalne tempo syntezy czynników apoptotycznych	200/s
q_3 (Z)	współczynnik syntezy czynników apoptotycznych	$2.5 \times 10^{-11}/s$
q_4 (Z)	współczynnik syntezy czynników apoptotycznych	1/s
Th (N)	próg śmierci apoptotycznej	6.5×10^{-1}

Parametr	Opis	Wartość
$k_v=V/U$	stosunek objętości cytoplazmy do jądra	5
k_b	tempo aktywacji receptorów	$4 \times 10^{-6}/s$
k_f	tempo dezaktywacji receptorów	$6 \times 10^{-4}/s$
q_{1n}	tempo aktywacji genów p53, I κ B α i A20 zależne od NF κ B $_n$	$1.5 \cdot 10^{-7}/s$
q_{2n}	tempo dezaktywacji genów p53, I κ B α i A20 zależne od I κ B $_n$	$10^{-6}/s$
KN	całkowita liczba cząsteczek IKKK	10^4
KNN	całkowita liczba cząsteczek IKK	2×10^5
M	całkowita liczba receptorów TNFR1	10^3
NF κ B $_{tot}$	całkowita liczba cząsteczek NF κ B	10^5
k_a	tempo aktywacji IKKK $_n$	$10^{-4}/s$
k_i	tempo dezaktywacji IKKK a	$10^{-2}/s$
c_{1n}	tempo transkrypcji A20 $_t$ i I κ B $_t$	$10^{-1}/s$
c_{3n}	tempo degradacji A20 $_t$ i I κ B $_t$	$7.5 \times 10^{-4}/s$
c_{4n}	tempo translacji A20 i I κ B	$5 \times 10^{-1}/s$
c_{5n}	tempo degradacji A20	$5 \times 10^{-4}/s$
$ka20$	współczynnik blokowania TNFR1 przez A20	10^4
k_2	tempo dezaktywacji IKK a przez A20	10^4
k_1	tempo aktywacji IKK $_n$	$5 \times 10^{-6}/s$
k_3	tempo dezaktywacji IKK a	$3 \times 10^{-3}/s$
k_4	tempo transformacji IKK ii	$5 \times 10^{-4}/s$
a_{1n}	tempo tworzenia kompleksów NF κ B I κ B	$5 \times 10^{-7}/s$
a_{2n}	tempo fosforylacji I κ B przez IKK a	$10^{-7}/s$
a_{3n}	tempo fosforylacji kompleksów NF κ B I κ B przez IKK a	$5 \times 10^{-7}/s$
tp	tempo degradacji I κ B $_p$ i I κ B $_p$ w kompleksie z NF κ B	$10^{-2}/s$
c_{5a}	tempo degradacji I κ B	$10^{-4}/s$
c_{6a}	tempo degradacji I κ B w kompleksie z NF κ B	$2 \times 10^{-5}/s$
i_1	import NF κ B do jądra komórkowego	$10^{-2}/s$
e_{2a}	export kompleksów NF κ B I κ B $_n$ z jądra komórkowego	$5 \times 10^{-2}/s$
i_{1a}	import I κ B do jądra komórkowego	$2 \times 10^{-3}/s$
e_{1a}	export I κ B z jądra komórkowego	$5 \times 10^{-3}/s$

Parametr	Opis	Wartość
d_{10}	tempo degradacji transkryptu p53	$2 \times 10^{-4}/s$
s_2	tempo transkrypcji p53 zależnej od NF- κ B	$5 \times 10^{-2}/s$
s_3	tempo transkrypcji niezależnej p53	$5 \times 10^{-2}/s$
t_2	tempo translacji p53	$5 \times 10^{-1}/s$
h_1	stała Michaelisa przy transkrypcji A20 i I κ B α	6×10^4