

果蝇昼夜节律调控网络的一个修正模型*

谭宁[†] 李晓艳 陈玲莉

(西安交通大学强度与振动国家重点实验室/力学教学实验中心, 西安 710049)

摘要 PER 和 TIM 是果蝇两个重要的生物钟蛋白. 以往的研究一直认为 PER 和 TIM 是在细胞质中结合为二聚体并以二聚体的形式进入细胞核. 但 2006 年 Pablo Meyer 等人的实验研究表明, PER/TIM 复合物在细胞质中分离, 然后 PER 和 TIM 在很短的时间内独立进入细胞核. 根据该项实验结果, 我们对果蝇昼夜节律调控模型进行了修正, 修正模型反映了 per 和 tim 基因的转录翻译及蛋白质的翻译后修饰过程, 二次磷酸化的蛋白质 PER(P2)、TIM(T2) 分别独立进入细胞核并参与后续的调控过程. 计算了修正模型的振荡周期并由此确定了新模型所引入的参数值. 对修正模型的振荡节律进行数值分析, 发现修正模型振荡节律在 DD、LD 条件下均产生了近于 24h 的持续周期振荡而在 LL 条件下呈现出振荡衰减, 这些结果与原模型相似, 反映出所建模型的合理性. 但修正模型对参数对称性的依赖性则更加强烈, 具体解释还有待于进一步的工作.

关键词 昼夜节律, 调控网络, 动力学

引言

昼夜节律(circadian rhythm)是生命活动以 24 小时左右为周期的变动, 又称近日节律, 是生物生命活动中最常见的一类生物节律, 控制着众多的分子、生理和行为过程^[1-7]. 因此, 了解昼夜节律细胞和分子的振荡机制对理解生命的动力学本质至关重要.

果蝇是研究昼夜节律的优秀模式生物, 迄今为止, 在果蝇中鉴定了 10 多个时钟基因, 其中包括四个核心时钟基因 per、tim、clk 和 cyc. 这些时钟基因及相应的表达产物组成相互依赖的转录-翻译反馈环路, 调控果蝇昼夜行为的周期变化. per 和 tim 是果蝇两个重要的生物钟基因, 与相应的表达产物 PER、TIM 组成的转录-翻译反馈环路是果蝇昼夜节律调控系统的基本组成部分. 围绕着这一基本反馈环路, 一些理论模型被提出以研究昼夜节律的动力学性质, 如经典的 Goldbeter 五维模型、Leloup 十维模型^[8-10]. 在生理范围内选取适当参数, 这些模型都得到了周期约为 24 h 的振荡节律, 能很好的吻合实验结果.

然而, 在这些以往的研究中, 一直认为 PER、TIM 以二聚体的形式进入细胞核, 如上述五维经典

模型和十维经典模型. 2006 年, Pablo Meyer 等人的实验研究表明, 在细胞质中, PER 和 TIM 这两个蛋白质迅速的绑定 (< 30min) 并逐渐在离散位点累积, 大约 6 小时后, 复合物突然分离, PER 和 TIM 在很短的时间段内独立进入细胞核^[11]. 根据该项实验结果, 我们对果蝇昼夜节律调控模型进行了修正, 修正模型反映了 per 和 tim 基因的转录翻译及蛋白质的翻译后修饰过程, 二次磷酸化的蛋白质 PER(P2)、TIM(T2) 分别独立进入细胞核并参与后续的调控过程. 计算了修正模型的周期振荡, 根据各参数对振荡周期的影响选取使周期近于 24h 的参数值, 由此确定了新模型所引入的参数值. 对修正模型的振荡节律进行数值分析, 发现修正模型振荡节律在 DD、LD 条件下均产生了近于 24h 的持续周期振荡而在 LL 条件下呈现出振荡衰减, 这些结果与原模型相似, 反映出所建模型的合理性. 但修正模型对参数对称性的依赖性则更加强烈, 具体解释还有待于进一步的工作.

1 修正模型的提出

Leloup、Goldbeter 等人于 1998 年提出了基于 PER 和 TIM 多重磷酸化的负反馈模型. 该模型有 10 个控制方程, 在适当的参数范围内可产生周期

2011-12-18 收到第 1 稿, 2012-03-09 收到修改稿.

* 国家自然科学基金资助项目(10602003, 10972170, 10972179)

[†] 通讯作者 E-mail: tanning@mail.xjtu.edu.cn

振荡^[9,10]. 然而,以往研究一直认为,PER 和 TIM 是在细胞质中结合,以二聚体的形式进入细胞核并参与进一步调控. 2006 年 Pablo Meyer 等人采用 C-端融合的方法,利用单细胞荧光同步成像,通过荧光共振能量法测量发现:在细胞质中,PER 和 TIM 这两个蛋白质迅速的绑定 (<30min) 并逐渐在离散位点累积,大约 6 小时后,复合物突然分离,PER 和 TIM 在很短的时间段内独立进入细胞核^[11]. 对 PER 和 TIM 细胞核累积速度的测量表明,每个蛋白质细胞核累积的速度是不同且独立的^[11,12]. 根据这一实验结果,我们对 Leloup、Goldbeter 等人提出的模型进行了修正,修正后模型调控图如图 1 所示(假设经过磷酸化的 PER、TIM 直接进入细胞核并参与下一步调控).

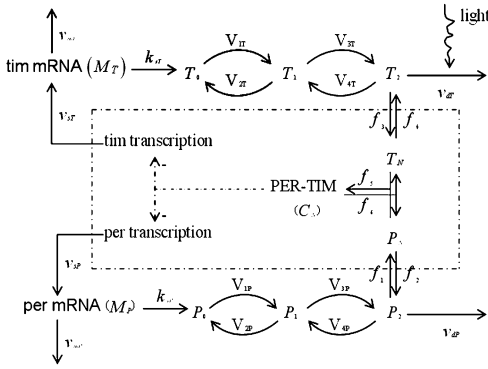


图 1 修正模型调控图

Fig. 1 The regulation network of revised model

该调控图反映了 per 和 tim 基因的转录翻译及蛋白质的翻译后修饰过程,二次磷酸化的蛋白质 PER(P_2)、TIM(T_2) 进入细胞核后分别标记为 P_N 、 T_N . 得到控制方程如下,其中 $f_1 - f_6$ 是因为模型修正而引进的新参数.

$$\begin{aligned} \frac{dM_p}{dt} &= v_{sp} \frac{K_{IP}^n}{K_{IP}^n + C_N^n} - v_{mp} \frac{M_p}{K_{mp} + M_p} - k_d M_p \\ \frac{dP_0}{dt} &= k_{sp} M_p - V_{1P} \frac{P_0}{K_{1P} + P_0} + V_{2P} \frac{P_1}{K_{2P} + P_1} - k_d P_0 \\ \frac{dP_1}{dt} &= V_{1P} \frac{P_0}{K_{1P} + P_0} - V_{2P} \frac{P_1}{K_{2P} + P_1} - V_{3P} \frac{P_1}{K_{3P} + P_1} + \\ &V_{4P} \frac{P_2}{K_{4P} + P_2} - k_d P_1 \\ \frac{dP_2}{dt} &= V_{3P} \frac{P_1}{K_{3P} + P_1} - V_{4P} \frac{P_2}{K_{4P} + P_2} - f_1 P_2 + \\ &f_2 P_N - v_{dp} \frac{P_2}{K_{dp} + P_2} - k_d P_2 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \frac{dP_N}{dt} &= f_1 P_2 - f_2 P_N - f_5 P_N T_N + f_6 C_N - k_{dN} P_N \\ \frac{dM_T}{dt} &= v_{st} \frac{K_{IT}^n}{K_{IT}^n + C_N^n} - v_{mT} \frac{M_T}{K_{mT} + M_T} - k_d M_T \\ \frac{dT_0}{dt} &= k_{sT} M_T - V_{1T} \frac{T_0}{K_{1T} + T_0} + V_{2T} \frac{T_1}{K_{2T} + T_1} - k_d T_0 \\ \frac{dT_1}{dt} &= V_{1T} \frac{T_0}{K_{1T} + T_0} - V_{2T} \frac{T_1}{K_{2T} + T_1} - V_{3T} \frac{T_1}{K_{3T} + T_1} + \\ &V_{4T} \frac{T_2}{K_{4T} + T_2} - k_d T_1 \\ \frac{dT_2}{dt} &= V_{3T} \frac{T_1}{K_{3T} + T_1} - V_{4T} \frac{T_2}{K_{4T} + T_2} - f_1 T_2 + \\ &f_2 T_N - v_{dT} \frac{T_2}{K_{dT} + T_2} - k_d T_2 \\ \frac{dT_N}{dt} &= f_1 T_2 - f_2 T_N - f_5 P_N T_N + f_6 C_N - k_{dN} T_N \\ \frac{dC_N}{dt} &= f_5 P_N T_N - f_6 C_N - k_{dN} C_N \end{aligned} \quad (1)$$

其中:

$$\begin{aligned} P_t &= P_0 + P_1 + P_2 + P_N + C_N, \\ T_t &= T_0 + T_1 + T_2 + T_N + C_N. \end{aligned}$$

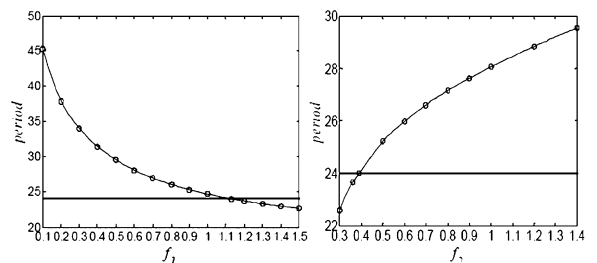
2 新增参数值 $f_1 - f_6$ 的确定

数值仿真表明,方程(1)在适当的参数下呈现出周期振荡. 我们计算了振荡周期关于新增参数 $f_1 - f_6$ 的变化规律,如图 2 所示. 根据各参数变化对周期的影响,我们选取使周期近于 24h 的参数值,如表 1 所示. 其他控制参数取值参见文献[9].

表 1 新增参数的取值及物理意义

Table 1 The values and definition of new parameters $f_1 - f_6$

Value (nMh ⁻¹)	Definition
f_1 1.13	Rate constant for entry of P_2 from cytoplasm into nucleus
f_2 0.39	Rate constant for transfer of P_2 from nucleus into cytoplasm
f_3 24.8	Rate constant for entry of T_2 from cytoplasm into nucleus
f_4 8.55	Rate constant for transfer of T_2 from nucleus into cytoplasm
f_5 0.59	Rate constant for association of PER and TIM
f_6 0.19	Rate constant for dissociation of PER/TIM complex



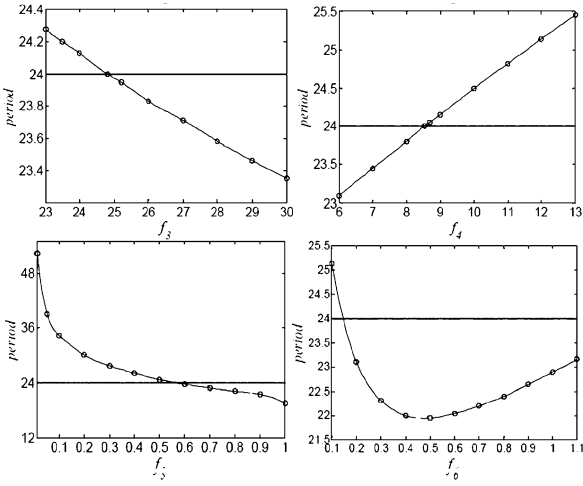


图2 振荡周期关于新增参数 $f_1 - f_6$ 的关系曲线

Fig. 2 The relation curves between vibration frequency and new parameters $f_1 - f_6$

3 DD 节律、LD 节律、LL 节律的研究

昼夜节律是一种内源性节律,在无外界环境作用时仍可呈现生理的昼夜周期变化.对方程(1)进行数值积分,系统在持续黑暗条件(DD:Darkness - Darkness)下产生了近于 24h(约为 23.97h)的周期振荡,如图 3 所示.

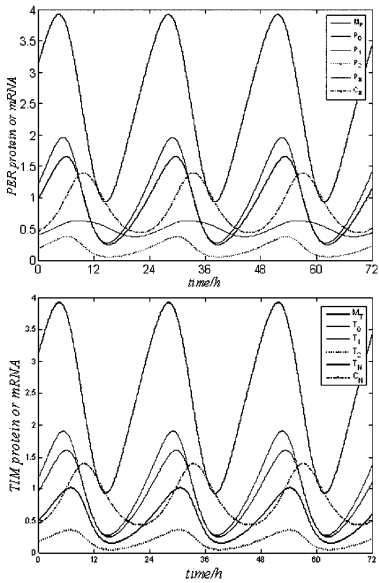


图3 DD 条件下各变量的时间历程

Fig. 3 Time evolution of each variable under DD conditions $f_1 - f_6$

现在考虑光照的影响.由于光照会引起 TIM 的降解,我们通过提高 TIM 的降解率来模拟光照的影响.有光照时的 TIM 降解参数 v_{dT} 为无光照时的 2 倍, v_{dT} 的变化范围为 [5, 10], 图中标记的折线即为 v_{dT} 的取值.介入光照后,即 LD (Light - Dark-

ness) 条件下,振荡仍持续,周期约为 24h,如图 4 所示.

在持续光照时,即 LL (Light - Light) 条件下,方程(1)的周期振荡消失,振荡出现衰减,最终达到一个稳定状态,如图所示.这表明,高强度的长时间光照必将影响果蝇的正常生命活动,最终会使果蝇丧失生命.

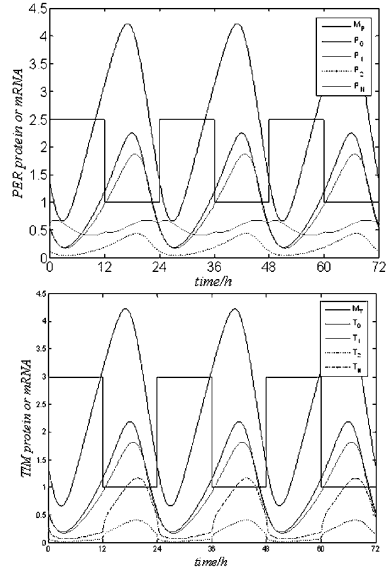


图4 LD 条件下各变量的时间历程

Fig. 4 Time evolution of each variable under LD conditions

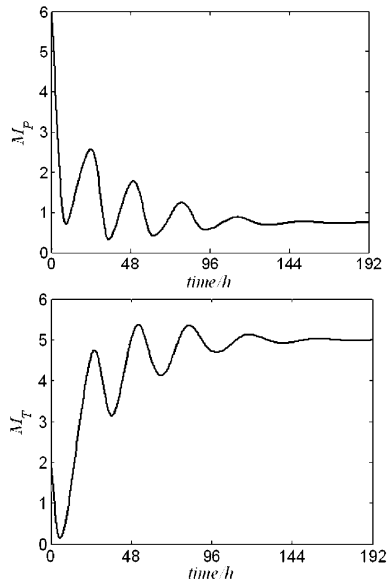


图5 LL 条件下变量 M_p 、 M_T 的时间历程

Fig. 5 Time evolution of variable M_p and M_T under LL conditions

以上结果表明,方程(1)在适当的参数取值下,在 DD、LD 条件都产生了近于 24h 的持续周期振荡,在 LL 条件呈现出振荡衰减,表现出与原模型在 DD、LD、LL 条件时的相似结果.这些结果符合果蝇真实的生命活动,反映出原模型及修正模型的合理性.

4 关于参数对称性的讨论

在昼夜节律研究中,per 和 tim 的相关参数通常取为相同的数值,可称之为参数的对称性.然而,由于真实的生物体中存在着大量的内噪声,这种绝对的参数对称性是不可能存在的.有文献指出,Leloup 模型在参数不对称时可出现混沌现象^[13].针对原模型,当参数不对称时($v_{mP} = v_{mT} = 0.28nMh^{-1}$, $v_{dP} = 2nMh^{-1}$ 、

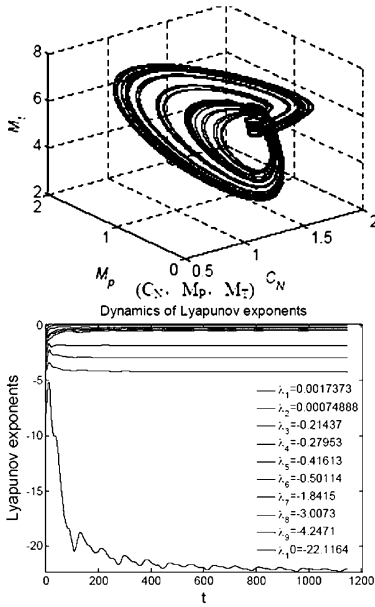


图6 原模型在 per 和 tim 的相关参数不对称时表现出混沌行为
Fig.6 The phase portrait and Lyapunov exponents of original model when the relative parameters of per and tim are asymmetric

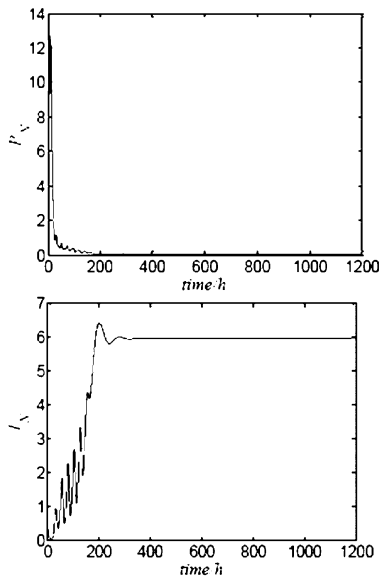


图7 修正模型在 per 和 tim 的相关参数不对称时表现出振荡的衰减
Fig.7 The oscillations are damping in revised model when the relative parameters of per and tim are asymmetric

$v_{dT} = 4.8nMh^{-1}$),我们计算了其吸引子并计算了 Lyapunov 指数,验证了混沌现象.

随后,当参数不对称时我们计算了修正模型的吸引子.与原模型不同,修正模型在相同参数下并没有出现混沌现象,而是很快出现了振荡的衰减,如图7所示.这表明修正模型对参数对称性的依赖性更加强烈,进一步的解释还有待于后继的工作.

5 结论

本文根据 Pablo Meyer 等人的实验研究对果蝇昼夜节律调控模型进行了修正,修正模型反映了 per 和 tim 基因的转录翻译及蛋白质的翻译后修饰过程,二次磷酸化的蛋白质 PER(P_2)、TIM(T_2)分别独立进入细胞核并参与后续的调控过程.计算了修正模型的周期振荡,根据各参数变化对振荡周期的影响选取使周期近于24h的参数值,由此确定了新模型所引入的参数值.对修正模型的振荡节律进行数值分析,发现修正模型振荡节律在 DD、LD 条件下均产生了近于24h的持续周期振荡而在 LL 条件呈现出振荡衰减,这些结果与原模型相似,反映出所建模型的合理性.在关于参数对称性的分析上,原模型与修正模型表现出不同的动力学行为,我们推测,修正模型对参数对称性的依赖性更加强烈,具体解释还有待于进一步的工作.

参 考 文 献

- 1 Forger D B, Kronauer R E. Reconciling mathematical models of biological clocks by averaging on approximate manifolds. *SIAM J. MATH.*, 2002, 62(4): 1281 ~ 1296
- 2 Brumby A M, Richardson H E. Using drosophila melanogaster to map human cancer pathways. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5(8): 626 ~ 639
- 3 万永奇,谢维. 生命科学与人类疾病研究的重要模型-果蝇. *生命科学*, 2006, 18(5): 425 ~ 429 (Wan Y Q, Xie W. *Drosophila: an important model organism for understanding basic biological and human disease mechanisms. Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2006, 18(5): 425 ~ 429 (in Chinese))
- 4 周先举,袁春燕,杨旭科,郭爱克. 果蝇昼夜节律的分子机制研究进展. *生物化学与生物物理进展*, 2005, 32(1): 3 ~ 8 (Zhou X J, Yuan C Y, Yang X K, Guo A K. *Progress in molecular mechanisms of circadian rhythm in Dro-*

- sophila. *Prog. Biochem. Biophys.*, 2005, 32(1): 3 ~ 8 (in Chinese))
- 5 Jay C D. Running a clock requires quality time together. *Science*, 2006, 311(184): 183 ~ 186
 - 6 Xie Z, Kulasiri D. Modelling of circadian rhythms in drosophila incorporating the interlocked PER/TIM and VRI/PDP1 feedback loops. *Journal of Theoretical Biology*, 2007, 245: 290 - 304
 - 7 Leloup J C, Goldbeter A. Toward a detailed computational model for the mammalian circadian clock. *PNAS*, 2003, 100(12): 7051 ~ 7056
 - 8 Goldbeter A. A model for circadian oscillation in the drosophila period protein(PER). *Proc. R. Lond. B*, 1995, 261: 319 ~ 324
 - 9 Leloup J C, Goldbeter A. A model for circadian rhythms in drosophila incorporating the formation of a complex between the PER and TIM proteins. *J. Biol. Rhythms*, 1998. 13(1): 70 ~ 87
 - 10 Leloup J C, Goldbeter A. Modeling the molecular regulatory mechanism of circadian rhythms in Drosophila. *Bio Essays*, 2000, 22: 84 ~ 93
 - 11 Meyer P, Saez L, Michael W Y. PER-TIM Interactions in Living Drosophila Cells: an interval timer for the circadian clock. *Science*, 2006, 311: 226 ~ 229
 - 12 Dunlap J C. Running a clock requires quality time together. *Science*, 2006, 311: 183 ~ 185
 - 13 Forger D B, Peskin C. A detailed predictive model of the mammalian circadian clock. *PNAS*, 2003, 100(25): 14806 ~ 14811

A REVISED MODE OF DROSOPHILA CIRCADIAN REGULATION NETWORK *

Tan Ning[†] Li Xiaoyan Chen Lingli

(State Key Laboratory for Strength and Vibration/center for mechanical experimental teaching,
Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China)

Abstract PER and TIM are two important clock proteins in Drosophila. In the previous research, PER and TIM were considered to combine as heterodimers in the cytoplasm, then the heterodimers PER/TIM can be transported into the nucleus. But the experimental research, made by Pablo Meyer et al. in 2006, has indicated that PER/TIM heterodimers dissociated in cytoplasm, and then PER and TIM can be independently transferred into the nucleus in a narrow time frame. This paper revised the circadian regulation model of Drosophila according to the above experimental result. The revised model considers the process of the transcription and translation of gene per and tim, the protein post-translational modification, the separate entry of the secondary phosphorylation of protein PER (P2) and TIM (T2) into the nucleus and the subsequent regulatory process. Then we calculate the periodic oscillation of the revised model, and determine the values of new parameters introduced by the modification process. Subsequently we calculate the oscillation rhythm of the revised model. It is found that the revised model exhibits similar properties as original model. That is to say, the oscillation is periodic and the rhythm is close to 24h under the condition of DD and LD, but the oscillation is damping under the condition of LL. The results reflect the rationality of the revised model. On the other hand the revised model shows more dependencies on the parameter symmetry than the original model. The detailed explanation for this phenomenon needs further work.

Key words circadian rhythms, regulation network, dynamics