

P53 脉冲的研究现状与展望*

曹志^{1, 2)} 王卫东^{2)**}

(¹⁾广西医科大学研究生学院, 南宁 530021; (²⁾四川省肿瘤医院放疗科, 成都 610041)

摘要 P53 脉冲是指细胞内 p53 蛋白水平周期性或重复性的涨落。该脉冲产生的途径是调节 p53 的各种正负反馈环, 其核心的两个负反馈环是 p53-Mdm2 环和 Wip1-ATM-p53 环。这些负反馈环能产生极限环振荡, 在极限环振荡区, P53 水平成脉冲型变化。随着 P53 脉冲的增多, 不同形式的 p53 蛋白和促凋亡蛋白逐渐积累并到达一定阈值水平, 可打开凋亡“开关”, 引发不可逆的细胞命运。除了 P53 脉冲的数目, 其频率、振幅、波形等物理学参数也与细胞命运存在密切关系。这一研究进展对阐明诸多疾病发生机理和防治研究有重要意义。

关键词 P53 脉冲, DNA 损伤, p53-Mdm2 负反馈环, 动力学, 阈值, 细胞命运

学科分类号 Q71

DOI: 10.16476/j.pibb.2014.0144

通过对 P53 水平的动态量化分析和数学建模, Lev Bar-Or 等^[1]首次提出了“P53 振荡(P53 oscillations)”现象, 描述了一系列周期反复的 p53 蛋白水平涨落改变。通过对这种现象的进一步研究, 发现 p53 蛋白调控网络系统兼有振荡系统和脉冲系统的特征, 而这种现象更倾向于是一种“P53 脉冲(P53 pulses)”^[2]。近年来, 不少科学家致力于通过数学建模和实验证实的方式, 探讨了 P53 脉冲的产生机制及其调控细胞命运的生物学机制。随着研究的深入, P53 脉冲或动力学与细胞命运的关系逐渐得以阐明。本文围绕 P53 脉冲的主要物理特征、产生机制及其与细胞命运的关系以及该领域面临的主要问题加以综述。

1 P53 脉冲的实验发现

Lev Bar-Or 等^[1]在单次 γ 射线照射群体细胞后, 发现了 P53 衰减脉冲。由于群体水平的 P53 动力学行为很可能掩盖单细胞水平的真实情况。Lahav 等^[3]进行了具有开创意义的单细胞水平实验, 认为 P53 振荡是一种“数字脉冲”。后来, Geva-Zatorsky 等^[4]通过延长观测时间发现了单细胞脉冲的持续性(可达 10 个以上)和差异性。持续性可能是由转录的时间延迟、ATM-p53-Wip1 负反馈

环^[5]、p53-Ror α ^[6]正反馈、分子噪声^[7]等引起的; 差异性可能是 DNA 损伤和修复、蛋白质表达的随机效应、细胞的异质性等引起的^[8-9]。虽然单细胞内各个脉冲的振幅、频率、周期、数目等参数具有一定的差异, 但它的平均水平表现为“数字脉冲”。现普遍认为, 数字脉冲和持续脉冲都是一种非衰减脉冲, 其振幅和周期都相对精确, 平均脉冲数目依赖于辐射的剂量或 DNA 损伤的程度, 衰减脉冲是由于不同单细胞产生 P53 脉冲的平均效应导致的^[3-5]。2008 年, Batchelor 等^[5]通过实验发现, 周期性脉冲的产生, 仅仅依靠 p53-Mdm2 负反馈环是不够的, 它还依赖于 Wip1-ATM-p53 负反馈环。通过此反馈环, 持续的 DNA 损伤能反复激活 ATM, 以检查 DNA 损伤的情况。如果 DNA 损伤未完成修复, 将产生下一个周期的脉冲或者引发凋亡; 如果 DNA 损伤完成修复, 脉冲消失。2011 年, Batchelor 等^[9]通过实验对比研究了电离辐射刺激下和紫外线刺激下产生的 P53 脉冲, 后者产生的脉冲并非表现为

* 国家自然科学基金(11375124)和四川省自然科学基金(2013JY0106)资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 015196631297, E-mail: wwdwyl@sina.com

收稿日期: 2014-05-21, 接受日期: 2014-07-23

“数字脉冲”或持续脉冲，而是表现为单一脉冲，其振幅具有剂量依赖性，这不同于电离辐射引起的 P53 动力学。2012 年，Purvis 等^[10]采用 γ 射线刺激细胞后，通过一套精确的给药 (nutlin3, 一种 Mdm2 抑制剂) 方案，将 P53 脉冲信号转变为持续高水平 P53 表达的信号，证实了决定细胞命运的因素不是单纯的 p53 蛋白累积水平，而是 p53 蛋白的动力学。随后，Choi 等^[11]通过实验不仅证实了这点，还发现无论是否存在 DNA 损伤，同时抑制 wip1 和 Mdm2 基因的表达，也可产生持续高水平 P53 表达的动力学，并引发细胞凋亡，这为肿瘤的治疗提供了新的思路。2013 年，陈等^[12]采用不同剂量的依托泊苷诱导细胞 DNA 持续损伤，观察到 P53 脉冲和 p53 蛋白单调递增两种不同的双相动力学。这种脉冲与电离辐射刺激下产生的脉冲的特征并不完全一致，前者的各物理学参数变异性更大。研究表明，该脉冲可能是一种抑制细胞凋亡的机制，它可以维持低水平的 P53 诱导，抑制凋亡关键蛋白的表达，诱导细胞周期阻滞。

2 P53 脉冲的主要物理特征

研究发现，P53 脉冲的物理学参数与引起 DNA 损伤的因素、DNA 损伤程度、随机效应、细胞种类等因素密切相关。同时，它也蕴含丰富的调控细胞命运的信息。P53 脉冲的主要物理特征总结如下：

a. 频率。在 γ 射线刺激下，相同克隆来源的不同单细胞 p53 蛋白的动力学行为可表现为高低频双节律的振荡。一部分表现出频率较高的持续 P53 振荡(或脉冲)，随着时间变化，振荡频率可以改变^[4]；一部分细胞表现频率较低的波动，Ouattara 等^[13]把它看成一个低频的振荡，低频振荡的频率与辐射的剂量成负相关。

b. 周期。在 γ 射线刺激下，MCF-7 细胞产生的 P53 脉冲的周期相对精确，大约 5.5 h；低频振荡的周期大约 10h^[4]，与辐射剂量成正相关^[13]。依托泊苷诱导下产生的 P53 脉冲的平均周期和脉冲振幅与依托泊苷浓度成正相关^[12]。

c. 振幅。 γ 射线刺激下，第一个脉冲的振幅大于紧接着几个脉冲的振幅，振幅的变异性较周期的变异性大^[5,9]；紫外线刺激下，细胞可产生 P53 单一脉冲，脉冲的振幅有明显的剂量依赖性^[9]。依托泊苷持续诱导下产生的 P53 脉冲的振幅与依托泊

苷浓度成正相关^[12]。

d. 数目。 γ 射线刺激下，不同单个细胞，可以产生不同数目的振幅和周期相对固定的脉冲，平均脉冲数目依赖辐射的剂量或 DNA 损伤的程度^[4-5,9]。单个细胞的脉冲数目没有明显的剂量依赖性，但是当单细胞在接受一次电离辐射产生一个脉冲结束后，再接受第二次电离辐射，细胞再次产生脉冲机率增大^[14]。依托泊苷持续诱导下产生的 P53 脉冲的数目较多，与剂量无明显相关性^[12]。

e. 波形。 γ 射线刺激下，P53 的动力学在群体细胞水平表现为衰减脉冲^[1]，在单细胞水平表现为数字脉冲或持续脉冲^[3-4]。 γ 射线刺激一次后，再精确定时给药 Nutlin-3，细胞可产生 P53 水平持续维持在脉冲峰值水平的波形(或饱和曲线类似的波形)^[10]。紫外线刺激下，细胞可产生 P53 单一脉冲。在依托泊苷持续诱导下，细胞可产生 P53 脉冲和 P53 单调增高的双相动力学，P53 单调增高的幅度与依托泊苷的浓度无相关性^[12]。

3 P53 脉冲的发生机制

3.1 P53 脉冲产生的途径

P53 脉冲产生的途径是调节 p53 的各种正负反馈环。其中，负反馈环路主要包括 p53-Mdm2 环路和 Wip1-ATM-p53 环路，正反馈环主要是 p53-Ror α 环路^[6]。如图 1 所示，其中 p53-Mdm2 负反馈环是 P53 脉冲形成最核心的反馈环，而 Wip1-ATM-p53 负反馈环和 p53-Ror α 正反馈环是维持 P53 脉冲持续性的反馈环。此外，需特别注意以下几个新近发现的调控因子：a. Ninj^[15]，即神经损伤诱导蛋白质，不仅参与神经的再生，还能与 p53 形成负反馈参与细胞的衰老和凋亡；b. miR-605^[16]，一种被 p53 直接转录的 miRNA，能抑制 Mdm2，从而形成正反馈上调 p53；c. Mdm2p^[17]，即 Ser395 位点磷酸化的 Mdm2 蛋白，它能和 p53 转录后 mRNA 结合形成复合体，并增加 p53 mRNA 的翻译，从而提高 P53 水平。d. p21^[18]，不仅参与细胞周期阻滞，还能下调 P53 水平。e. Ror α (retinoid-related orphan receptor alpha)，即视黄酸相关孤核受体 α ，也能通过抑制 Mdm2 上调 p53。研究表明，这些新的调控因子不仅能通过 p53 下游的靶蛋白调节 p53，还能通过 p53 转录的 mRNA 调节 p53，这为研究 P53 脉冲或动力学提供了新的思路。

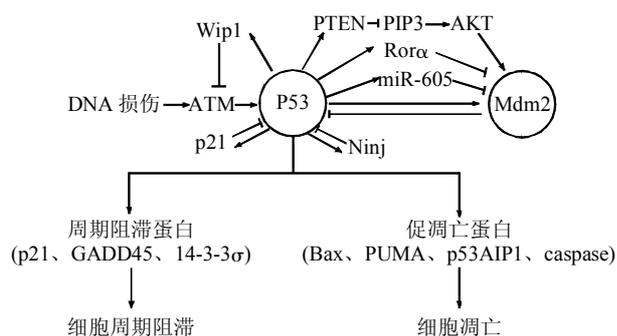


Fig. 1 The way to P53 pulses

图 1 P53 脉冲产生的途径

图 1 中箭头符号表示促进, T 型符号表示抑制, 呈现了 P53 脉冲的产生途径, 包括调节 p53 蛋白的各种正负反馈环和不同调控蛋白与细胞命运的关系。

3.2 P53 脉冲的数学模型

在选定一个或几个调节 P53 的反馈环和生物学效应基因后, 可以用不同的微分方程描述每个基因表达水平的变化和相互之间的作用, 从而构建出 P53 网络系统的数学模型. 由于 DNA 损伤相关的参数 D 取值不同, 这些微分方程解的形式也就完全不同. 参数 D 在某一临界值两侧, 解的性质可发生本质变化, 该系统的解在此临界值处出现分岔. 其中较为重要的分岔类型包括 Hopf 分岔、鞍结分岔等. 在这些分岔点(临界值), p53 网络系统状态可以发生突变, 表现为极限环振荡、双稳等. 其中双稳产生的条件是正反馈, 如 PTEN-AKT-Mdm2-p53 环路和 p53-miR-605^[16] 环路. 通过这些反馈环在不同阶段的作用, 可导致 P53 网络系统在不同的状态转换, 从而产生不同的 P53 动力学和生物学效应.

最初, 研究者们主要以 p53-Mdm2 环路为重点构建了 p53-Mdm2 振荡模块的数学模型, 分析单次电离辐射刺激后, P53 脉冲产生的机制. 如图 2a 所示, 在不同大小的 DNA 损伤相关参数的情况下, P53 网络系统表现为不同的稳态, 其中 D_1 值为一个临界点或 Hopf 分岔点(实心圆点表示). 当 D 值超过 D_1 临界值, 一个极限环振荡产生, P53 由低稳态向振荡态转变, P53 的动力学将表现为 P53 脉冲, 可引发细胞周期阻滞和 DNA 损伤修复反应; 随着脉冲增多, DNA 损伤修复完成, D 值小于 D_1 临界值, P53 由振荡态向低稳态转变, P53 脉冲消失, 回到初始低水平状态, 细胞可继续存活. P53 在极限环振荡区停留的时间决定了 P53 脉

冲的数目或持续时间^[19-20], 这就是 P53 脉冲产生的机制.

随后, 在 p53-Mdm2 振荡模块的基础上, 越来越多的研究者建立了 P53 网络的整合模型, 旨在揭示 P53 脉冲调控细胞命运的机制. 这些模型主要包括 DNA 损伤感应模块、DNA 损伤修复模块、p53-Mdm2 振荡模块、细胞命运抉择模块(如包含 PUMA、Bax 或 caspase 的凋亡模块、G1、G2 细胞周期阻滞模块)等. 随着对 P53 脉冲的深入研究, 一些新的反馈环路也融入到数学模型中, 如 ATM-p53-Wip1 负反馈环, PTEN-AKT-Mdm2-p53 正反馈环等. Wee 等^[21]以 p53-Mdm2 负反馈环和 p53-PTEN-AKT-Mdm2-p53 正反馈环为主要反馈环路构建了一个数学模型, 并首次将振荡和双稳态结合起来探讨了 P53 脉冲与细胞命运的关系. 在这个模型中, p53 网络系统存在 P53 高、低双稳态和 P53 振荡态, 分别表现为 P53 高水平、P53 低水平和 P53 振荡(或脉冲). 双稳态理论可以解释 P53 或促凋亡蛋白从低水平向高水平转变从而达到凋亡阈值的机制. 在 Wee 的模型基础上, Zhang^[22-25]等构建了一个 ATM/ATR 损伤感应模块、DNA 损伤修复、细胞命运抉择的整合模型. 研究表明, wip1 能调控细胞的命运, 高表达的 wip1 能将 p53_{killer} 转变成 p53_{arrest}, 低表达的 wip1 将增加 P53 脉冲的幅度和减少 P53 脉冲的宽度, 并将 p53_{arrest} 转变成 p53_{killer}. 如图 2a 所示, 在电离辐射刺激下, 如果 DNA 损伤程度较重, D 值超过 D_2 临界值, P53 振荡态产生的脉冲达到一定阈值后, 激活的 p53 蛋白和促凋亡蛋白最终由低稳态向高稳态转变, 其动力学将表现为 p53 蛋白和促凋亡蛋白持续增高, 引发细胞凋亡.

最近, Liu 等^[26]构建了三种不同修饰状态(磷酸化、去磷酸化、乙酰化)p53 蛋白的整合模型阐述了 p53 蛋白双相动力学的机制. 与上述不同的是, 脉冲型改变的 P53 是指磷酸化的 P53, 而达到高稳态的 P53 是指乙酰化的 P53(p53ac). 如图 2 所示, 当依托泊苷刺激时, 如果 DNA 损伤程度较轻, D 值在 D_3 和 D_4 临界值之间, P53 将由低稳态向振荡态转变, P53 的动力学将表现为“P53 脉冲”, 如果 DNA 损伤程度较重, D 值超过 D_4 临界值, P53 由低稳态向高稳态转变, P53 的动力学将表现为 P53 单调增高.

综上所述, 这些 P53 脉冲的数学模型, 其差异性主要表现 P53 脉冲和 P53 双稳态产生的途径.

其一致性主要表现在：a. p53-Mdm2 负反馈环都是 p53 网络数学模型中最核心的部分；b. P53 脉冲的数目与 P53 在振荡态的时间成正相关；c. 在

较大的 DNA 损伤相关参数时，不同形式的 p53 蛋白(如 p53_{killer}, p53ac)和促凋亡蛋白水平都能到达一个高稳态，超过凋亡阈值，引发细胞凋亡。

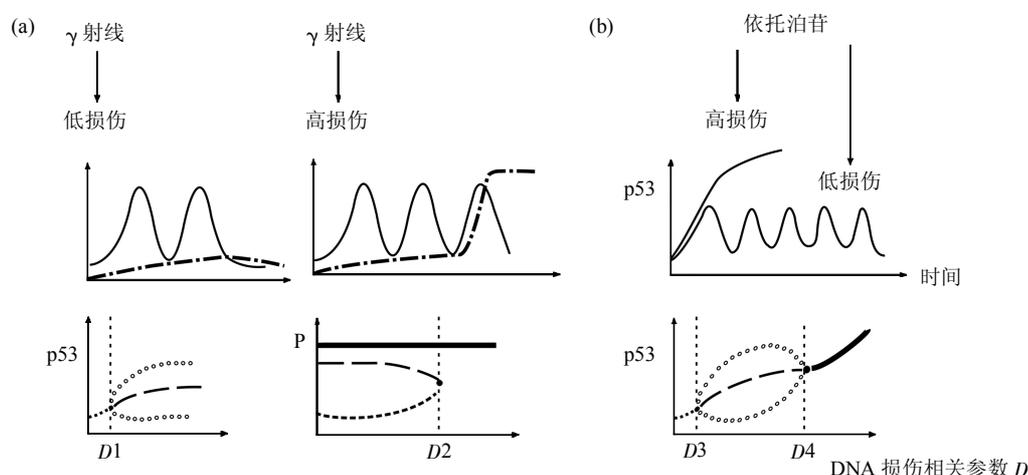


Fig. 2 Numerical simulation of the p53 and pro-apoptotic regulator and bifurcation diagram

图 2 p53 和促凋亡蛋白的数值模拟图(上)和分岔图(下)

---: P(p53 蛋白或促凋亡蛋白); —: p53 蛋白; —: 低稳态; oooo: 振荡; ---: 不稳定态; —: 高稳态。

4 P53脉冲与细胞命运的关系

基于损伤的形式和程度的不同，细胞可以产生不同的 P53 脉冲，主要表现在脉冲的频率高低、数目多少及振幅高低等不同，这些物理学参数的差异导致了不同的细胞命运。下面从 3 个方面阐述 P53 脉冲对细胞命运的精细调控。

a. Ouattara 等^[13]对 P53 振荡频率的差异性进行了随机模拟分析。研究发现，当 DNA 轻度损伤时，细胞产生低频振荡(或波动)，可引起细胞周期阻滞和 DNA 修复。当 DNA 损伤严重时，细胞产生高频振荡(或脉冲)，倾向于快速的凋亡；理论上讲，P53 脉冲的频率越快，一定时间内 P53 和 P53 诱导的促凋亡蛋白积累得越多，越容易达到一定阈值，引发细胞凋亡。因此，P53 脉冲的频率可能代表了一种调控细胞命运的信号，但还需要进一步研究证实是否存在一种优势调频的机制。

b. 大量的研究者把注意力集中在 P53 脉冲的数目与细胞命运的关系上，探讨了 P53 脉冲数目调控细胞命运的生物学机制。P53 脉冲产生的数目与持续的 DNA 损伤有关，持续的 DNA 损伤能反复激活 ATM，以检验 DNA 损伤的情况。Sun 等^[27-28]以 p53-Mdm2 负反馈为主构建了一个通过计数 P53

脉冲来调控 Bax 活化开关，从而决定细胞命运的数学模型。当 P53 脉冲达到一定阈值数目(图 2 中为 3 个)后，逐渐积累的 PUMA 将使下游的 Bax 水平迅速增高达到一定阈值，引发细胞凋亡。然而，Zhang 等^[29]以 p53-Mdm2 负反馈环、ATM-p53-Wip1 负反馈环和 p53-PTEN-AKT-Mdm2-p53 正反馈环为反馈网络构建了一个整合模型。他们假设存在 p53_{arrestor} 和 p53_{killer} 两种不同磷酸化修饰状态的 P53，前者激活后将导致 p53_{arrestor} 脉冲产生，促进细胞周期阻滞蛋白的表达，引发细胞周期阻滞；后者具有双稳的特性，当 p53_{arrestor} 脉冲达到一定数目后，将导致 Ser-46 位点磷酸化修饰的 p53_{killer} 迅速增高，随之促凋亡蛋白也迅速积累到达一定阈值，引发细胞凋亡。最近，Liu 等^[26, 30]将这种通过脉冲或振荡使下游信号蛋白积累达到一定阈值，从而打开一个基因活化开关的结构称为“OATGS”(oscillation accumulation triggered genetic switch)。研究发现，Lys-120 位点乙酰化的 P53 稳定性增加，可在细胞内快速积累并引发细胞凋亡。这些激活的不同形式的 P53 可能是指特定位点修饰或亚细胞定位(线粒体)并以四聚体形式存在的高水平的 p53 蛋白^[31-34]，具有只引发细胞凋亡，不引发细胞周期阻滞的特点，从而达到精细调控细胞命运的目的。

的. 当细胞在面临不同程度 DNA 损伤时, p53 的 Ser-20 位点和 Ser-46 位点均可被磷酸化修饰^[31-32], 细胞周期阻滞蛋白和促凋亡蛋白均可不同程度的表达^[12,34], 其表达的水平均与 P53 水平成正相关^[12,31-32,34]. 然而, 低水平的 P53 和高水平的 P53 持续作用一段时间后, 只有后者出现凋亡^[35]. 因此, P53 脉冲数目、不同翻译后修饰和亚细胞定位能共同决定细胞的命运.

c. 由于 P53 脉冲的振幅变异性极大, 因此, 在 Sun 等构建的模型基础上, Murakami 等^[36]进一步探讨不同差异性的 P53 脉冲与细胞命运的关系. 研究发现, 脉冲的振幅越大, 引发细胞凋亡所要求的脉冲数目越少. 当希尔系数变得更大时, 一个更大的脉冲振幅才能诱导细胞凋亡. 此外, P53 脉冲的差异性和 P53 诱导下游基因表达的放大作用, 降低了 P53 脉冲计数机制调控细胞命运的严格性. 这提示我们, 不同的细胞可能有不同的凋亡阈值, 通过调节 P53 脉冲的振幅, 从而决定细胞的生死. Li 等^[35]认为, 在 P53 脉冲振幅的最大值时, 细胞足以达到细胞周期阻滞的阈值, 使细胞周期停滞, 在 P53 脉冲的振幅最小值时, 则可重新进入细胞周期. 然而, 在设定的时间窗内, P53 处于极值水平的极短, 且 DNA 损伤后细胞进入细胞周期阻滞状态的时间比重新回到细胞周期状态的时间短得多. 这导致在下一个 P53 脉冲最大值来临前, 细胞没有足够的时间重新回到细胞周期状态, 继续停留在细胞周期阻滞状态, 以便使细胞有更多的时间完成 DNA 损伤修复.

总的来说, 不同的 P53 脉冲或 P53 动力学的物理特征, 可以使激活的 p53 蛋白和促凋亡蛋白水平持续增高达到一定阈值, 从而触发细胞凋亡; 反之, 导致细胞周期阻滞, DNA 损伤修复后可继续生长.

5 面临的问题和展望

P53 脉冲的发现使人类对生命存活现象本质的认识更进了一步, 对疾病发生机理和治疗研究将产生重大影响, 然而, 尚有不少问题需要解决, 总结如下:

5.1 P53 脉冲的数学模型

首先, 所有的模型都是建立在一定的假设之上, 但是这些假设(如双稳态、 $p53_{\text{killer}}$ 等)需要更多的实验证据支持. 模型中的参数设定是依据现有的 P53 动力学的实验数据. 如果这些数据误差较大,

将导致与真实情况相差较大的研究结论. 因此, 我们需要更加精确的实验测量手段和大量的实验数据来减少误差, 增强模型预测结论的说服力. 其次, 考虑数学模型的简化, 大部分数学模型只包含了一个或几个关键的的反馈环路和效应反应组件. 然而, p53 网络是一个拥有庞大基因和蛋白质的系统, 已经发现的调节 P53 的反馈环路就超过 10 个, 这些反馈环路对 P53 脉冲的产生有何影响? 是否还有其他的反馈环未被发现? 最近发现, miRNA 也能调控 p53 表达水平, 与之形成反馈环, 从而调控不同的细胞命运. 随着系统生物学的发展, 新的反馈环路和生物学机制很可能被发现. 此外, p53 网络的数学模型的建模方法种类繁多, 通过综合运用各种建模方法的优势和对模型预测结果的实验验证, 对发现 P53 脉冲的研究有重要价值.

5.2 P53 脉冲的动力学特征

P53 脉冲的各种物理学参数(特别是频率、振幅和数目)在不同的细胞和环境中分别蕴含了哪些调控信号? 哪些因素影响 P53 脉冲的物理学参数? 通过不同的 DNA 损伤因素(物理、化学、生物因素等)和施加方式(不同频率、不同次数、不同持续时间)来刺激正常细胞和肿瘤细胞, 并实时、精确、和足够长的观察时间来监测 p53 蛋白和决定细胞命运的关键蛋白, 对发现新的动力学形式和细胞调控机制有重要意义.

5.3 P53 脉冲与细胞生死的关系

不同的刺激类型和方式将导致细胞产生不同的 P53 脉冲. 在单次电离辐射刺激下, 脉冲的数目越多, 细胞越倾向于死亡^[37]. 在低浓度依托泊苷诱导下, 细胞可产生类似的脉冲, 并倾向于细胞周期阻滞. 但是, 由于观察时间的限制, 表现为细胞周期阻滞的细胞在持续的 DNA 损伤刺激下, 最终也将凋亡. 两种不同刺激下产生单次 DNA 损伤和持续 DNA 损伤的脉冲, 是否有本质的区别? 如果存在本质的区别, 这些区别是否是因为不同的反馈环或不同的细胞状态导致的呢?

5.4 P53 脉冲的其他生理意义

目前, 人们对 P53 脉冲生物学意义的研究还处于起步阶段. 虽然 P53 脉冲能影响细胞生死, 但是它在生物发育、进化、代谢、衰老, 以及癌变中有什么影响还有待进一步探讨.

5.5 展望

随着实验技术的进步和 P53 脉冲的深入研究, 上述问题将逐步得到解决. 这些研究成果不仅将深

化我们对疾病的认识, 而且还能对疾病的治疗产生积极的影响. 就肿瘤治疗而言, 根据 P53 脉冲的物理学参数, 如何优化现有的放疗、化疗和生物治疗, 以达到最佳治疗效果还需要进一步的深入研究.

参 考 文 献

- [1] Lev Bar-Or R, Maya R, Segel L A, *et al.* Generation of oscillations by the p53-Mdm2 feedback loop: a theoretical and experimental study. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97**(21): 11250–11255
- [2] Batchelor E, Loewer A, Lahav G. The ups and downs of p53: understanding protein dynamics in single cells. *Nat Rev Cancer*, 2009, **9**(5): 371–377
- [3] Lahav G, Rosenfeld N, Sigal A, *et al.* Dynamics of the p53-Mdm2 feedback loop in individual cells. *Nat Genet*, 2004, **36**(2): 147–150
- [4] Geva-Zatorsky N, Rosenfeld N, Itzkovitz S, *et al.* Oscillations and variability in the p53 system. *Mol Syst Biol*, 2006, **2**(1): 0033
- [5] Batchelor E, Mock C S, Bhan I, *et al.* Recurrent initiation: a mechanism for triggering p53 pulses in response to DNA damage. *Mol Cell*, 2008, **30**(3): 277–289
- [6] Kim J K, Jackson T L. Mechanisms that enhance sustainability of p53 pulses. *PLoS One*, 2013, **8**(6): e65242
- [7] Karanam K, Loewer A, Lahav G. Dynamics of the DNA damage response: insights from live-cell imaging. *Brief Funct Genomics*, 2013, **12**(2): 109–117
- [8] Tian X J, Liu F, Zhang X P, *et al.* A two-step mechanism for cell fate decision by coordination of nuclear and mitochondrial p53 activities. *PLoS One*, 2012, **7**(6): e38164
- [9] Batchelor E, Loewer A, Mock C, *et al.* Stimulus-dependent dynamics of p53 in single cells. *Mol Syst Biol*, 2011, **7**(1): 488–495
- [10] Purvis J E, Karhohs K W, Mock C, *et al.* p53 dynamics control cell fate. *Science*, 2012, **336**(6087): 1440–1444
- [11] Choi M, Shi J, Jung S H, *et al.* Attractor landscape analysis reveals feedback loops in the p53 network that control the cellular response to DNA damage. *Sci Signal*, 2012, **5**: ra83
- [12] Chen X, Chen J, Gan S, *et al.* DNA damage strength modulates a bimodal switch of p53 dynamics for cell-fate control. *BMC Biol*, 2013, **11**(1): 73–83
- [13] Ouattara D A, Abou-Jaoudé W, Kaufman M. From structure to dynamics: frequency tuning in the p53-Mdm2 network. II Differential and stochastic approaches. *J Theor Biol*, 2010, **264**(4): 1177–1189
- [14] Loewer A, Karanam K, Mock C, *et al.* The p53 response in single cells is linearly correlated to the number of DNA breaks without a distinct threshold. *BMC Biol*, 2013, **11**(1): 114–126
- [15] Cho S J, Rossi A, Jung Y S, *et al.* Ninjurin1, a target of p53, regulates p53 expression and p53-dependent cell survival, senescence, and radiation-induced mortality. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, **110**(23): 9362–9367
- [16] Zhou C H, Zhang X P, Liu F, *et al.* Involvement of miR-605 and miR-34a in the DNA damage response promotes apoptosis induction. *Biophys J*, 2014, **106**(8): 1792–800
- [17] Gajjar, M, Candeias M M, Malbert-Colas L. The p53 mRNA-Mdm2 interaction controls Mdm2 nuclear trafficking and is required for p53 activation following DNA damage. *Cancer Cell*, 2012, **21**(1): 25–35
- [18] Mirzayans R, Andrais B, Scott A, *et al.* Ionizing radiation-induced responses in human cells with differing TP53 status. *Int J Mol Sci*, 2013, **14**(11): 22409–22435
- [19] Monitoring p53's pulse. *Nat Genet*, 2004, **36**(2): 113–114
- [20] Elias J, Dimitrio L, Clairambault J, *et al.* The p53 protein and its molecular network: modelling a missing link between DNA damage and cell fate. *Biochim Biophys Acta*, 2014, **1844**(1 Pt B): 232–247
- [21] Wee K B, Surana U, Aguda B D. Oscillations of the p53-Akt network: implications on cell survival and death. *PLoS One*, 2009, **4**(2): e4407
- [22] Zhang L W, Cheng Y M, Liew K M. Liew, A mathematical analysis of DNA damage induced G2 phase transition. *Appl Math Comput*, 2013: 225765–225774
- [23] Zhang L W, Cheng Y M, Liew K M. Mathematical modeling of p53 pulses in G2 phase with DNA damage. *Appl Math Comput*, 2012, **232**: 1000–1010(DOI:10.1016/j.amc.2014.01.120)
- [24] Zhang L W, Cheng Y M, Liew K M. A regulatory network of G2/M phase transition for DNA damage. *Applied Mechanics and Materials*, 2014, **2796**(444): 1182–1186
- [25] Zhang L W, Cheng Y M, Liew K M. A mathematical study of the robustness of G2/M regulatory network in response to DNA damage with parameters sensitivity. *Appl Math Comput*, 2014, **232**: 365–374(DOI:10.1016/j.amc.2014.01.081)
- [26] Fan Q D, Wu G, Liu Z R. Dynamics of Posttranslational Modifications of p53. *Computational and Mathematical Methods in Medicine*, 2014, Article ID 245610, 8 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/245610>
- [27] Sun T Z, Chen C, Wu Y, *et al.* Modeling the role of p53 pulses in DNA damage induced cell death decision. *BMC Bioinformatics*, 2009, **10**(1): 190–201
- [28] Sun T Z, Cui J, Shen P P. Mathematical models of cell fate decision_ implications for ROS and p53. *Acta Biophysica Sinica*, 2012, **28**(5): 392–395
- [29] Zhang X P, Liu F, Wang W. Two-phase dynamics of p53 in the DNA damage response. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, **108**(22): 8990–8995
- [30] He Q, Liu Z. Investigation of oscillation accumulation triggered genetic switch in gene regulatory networks. *J Theor Biol*, 2014, **353**: 61–66(DOI:10.1016/j.jtbi.2014.03.017)
- [31] Shin Y J, Chen K Y, Sayed A H, *et al.* Post-translational regulation enables robust p53 regulation. *BMC Syst Biol*, 2013, **7**(1): 83(DOI: 10.1186/1752-0509-7-83)
- [32] Carvajal L A, Manfredi J J. Another fork in the road-life or death decisions by the tumour suppressor p53. *EMBO Reports*, 2013, **14**(5): 414–421
- [33] Gaglia G, Guan Y, Shah J V, *et al.* Activation and control of p53 tetramerization in individual living cells. *Proc Natl Acad Sci USA*,

- 2013, **110**(38): 15497–15501
- [34] Kracikova M, Akiri G, George A, *et al.* A threshold mechanism mediates p53 cell fate decision between growth arrest and apoptosis. *Cell Death Differ*, 2013, **20**(4): 576–588
- [35] Li Z, Ni M, Li J, *et al.* Decision making of the p53 network: Death by integration. *J Theor Biol*, 2011, **271**(1): 205–211
- [36] Murakami Y, Takada S. Rigor of cell fate decision by variable p53 pulses and roles of cooperative gene expression by p53. *Biophysics*, 2012, **8**: 41–50
- [37] Purvis J E, Lahav G. Encoding and decoding cellular information through signaling dynamics. *Cell*, 2013, **152**(5): 945–956

Advances in The Research of P53 Pulses*

CAO Zhi^{1,2)}, WANG Wei-Dong^{2)**}

⁽¹⁾ Graduate School of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China;

⁽²⁾ Department of Radiation Oncology, Sichuan Cancer Hospital, Chengdu 610041, China)

Abstract P53 pulses refer to the fluctuation of the p53 protein levels in the cells in a periodic or repetitive manner. The mechanisms for triggering P53 pulses lie in several kinds of the positive and negative feedback loops in the p53 network. Two core feedback loops include the p53-Mdm2 negative feedback loop and Wip1-ATM-p53 negative feedback loop. Owing to the existence of these feedback loops, a limit cycle and a given number of P53 pulses were generated when the p53 system entered the limit cycle region. Pro-apoptotic regulator and P53 existing in different form are gradually accumulated as the number of P53 pulses increases and then the irreversible cell fate is determined by opening apoptotic "switch" above the threshold level. The cell fate can be determined by the number of P53 pulses partly, but it also has close relationship with its frequency, amplitude and wave form. Therefore, it is of great significance for the mechanism investigation of diseases development, prevention and treatment.

Key words P53 pulses, DNA damage, p53-Mdm2 negative feedback loop, dynamics, threshold, cell fate

DOI: 10.16476/j.pibb.2014.0144

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China(11375124) , Natural Science Foundation of Sichuan Province(2013JY0106).

**Corresponding author.

Tel: 86-15196631297, E-mail: wwdwyl@sina.com

Received: May 21, 2014 Accepted: July 23, 2014