

P19-2006-127

О. В. Белов

ПОДХОДЫ К МАТЕМАТИЧЕСКОМУ
МОДЕЛИРОВАНИЮ ЭКСПРЕССИИ
recA-, *umuD*-ГЕНОВ БАКТЕРИЙ
Escherichia coli ПРИ УФ-ОБЛУЧЕНИИ

Белов О. В.

P19-2006-127

Подходы к математическому моделированию экспрессии *recA*-, *umuD*-генов бактерий *Escherichia coli* при УФ-облучении

Представлены современные результаты исследований экспрессии *recA*-, *umuD*-генов системы *SOS*-репарации у классического объекта радиационно-генетических исследований — бактерий *Escherichia coli* после воздействия ультрафиолетового облучения. Рассмотрен принципиально новый метод анализа экспрессии *SOS*-генов. Показано, что с помощью данного метода возможно более точно определить характер индукции ряда генов *SOS*-системы. В работе представлен возможный подход к математическому описанию *SOS*-ответа клеток путем построения системы дифференциальных уравнений.

Работа выполнена в Лаборатории радиационной биологии ОИЯИ.

Сообщение Объединенного института ядерных исследований. Дубна, 2006

Belov O. V.

P19-2006-127

The Approaches to Mathematical Modeling of *recA*, *umuD* Genes Expression in Bacteria *Escherichia coli* after UV-Irradiation

The modern data of *recA*, *umuD* genes expression of the system of *SOS*-repair at classical object of radiation genetic researches — bacteria *Escherichia coli*, after ultraviolet irradiation are presented. Essentially a new method of analysis of *SOS*-genes expression is considered. It was shown that using this method it is possible to determine the character of induction of some *SOS*-genes more precisely. The possible approach to the mathematical description of *SOS*-response of cells by construction of the system of the differential equations is presented.

The investigation has been performed at the Laboratory of Radiation Biology, JINR.

Communication of the Joint Institute for Nuclear Research. Dubna, 2006

ВВЕДЕНИЕ

Мутационный процесс у клеток бактерий *Escherichia coli* при действии различных типов излучений и химических ДНК-тропных агентов контролируется рядом генов, входящих в систему *SOS*-репарации генетических повреждений. Известно, что *SOS*-регулон клеток *E. coli* включает в себя более 40 индуцибельных генов, в том числе гены *recA*, *lexA*, *umuDC*, *polB*, *recN*, *sulA*, *uvrA*, *uvrB*, *uvrD*.

Важнейшими из всего комплекса генов *SOS*-системы являются *recA*, *lexA*, *umuD*, *umuC*, участвующие в формировании белкового комплекса UmuD₂C (ДНК-полимераза V), способного осуществлять *umuDC*-зависимый синтез ДНК по матрице, содержащей повреждения (translesion synthesis — TLS). Реализация этого процесса способствует закреплению большинства мутаций при действии излучений и химических агентов.

С учетом ранее разработанных нами подходов [3] возможно построение математической модели, описывающей кинетику образования и функционирование важнейших белковых комплексов: UmuD₂C, UmuDD₂C, UmuD₂C.

В последнее время получены экспериментальные данные по экспрессии ряда генов *SOS*-системы. В экспериментах последних лет динамика *SOS*-ответа исследуется не только на уровне целой популяции клеток, но и на уровне индивидуальной клетки *in vivo*.

Такой подход явился качественно новым шагом в понимании *SOS*-ответа генетической сети, так как при его использовании были получены принципиально новые данные по индукции ряда *SOS*-генов, в том числе *recA* и *umuD*. В частности, было отмечено, что кроме ответа с единственным пиком активности промотора, наблюдаемого в популяции клеток, присутствует и высокоструктурированный ответ, где имеет место точная временная модуляция уровня генной экспрессии. В работе [1] был обнаружен колебательный характер активности промотора *recA*. Кроме того, результаты экспериментов показывают, что число пиков активности промотора возрастает с увеличением уровня повреждений ДНК. Так, после облучения при дозе УФ в 10 Дж/м² наблюдается единственный пик спустя 25 мин, после облучения при дозе в 20 Дж/м² возникают два пика активности спустя 29 и 57 мин соответственно. В результате облучения при дозе в 50 Дж/м² возникают три пика с временами, приблизительно равными 44, 82 и 123 мин соответственно. Аналогичные данные были найдены и для *umuD*-гена [1].

В работе [2] была разработана математическая модель регуляции *SOS*-ответа клеток *E. coli* при УФ-облучении. С учетом колебательного характера экспрессии *recA*-гена в ходе *SOS*-ответа данная модель была пересмотрена [3] и получены более точные решения, в частности, для RecA-белка и для протеазы (RecA*). Полученные данные согласуются с экспериментальными результатами, касающимися исследований регуляции временной активности продуктов *umuDC*-оперона. Так, в работе [4] была исследована динамика UmuD и UmuD'. Были представлены данные, также указывающие на колебательный характер динамики продуктов UmuD и UmuD'. Кроме того, показано, что распределение пиков UmuD по времени зависит от количества повреждений, полученных клеткой (рис. 1).

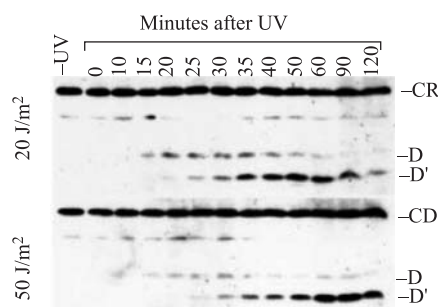


Рис. 1. Динамика синтеза белков UmuD и UmuD' в ходе ответа на повреждения ДНК. D — позиция UmuD; D' — позиция UmuD'; CR — контроль реакции. Измерения проводились в культурах после экспоненциального роста [4]

С учетом изложенного целью настоящей работы явилось моделирование кинетики экспрессии основных генов, участвующих в образовании мультиферментного комплекса, формирующегося в ходе *SOS*-ответа клеток *E. coli* при УФ-облучении, и ведущего TLS.

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ

Картину распределения фракций, полученную в эксперименте (рис. 1), можно интерпретировать в виде кривых, представив визуальное появление фракций в относительных единицах. Данная процедура была выполнена с помощью программного пакета Microcal(TM) Origin ver. 6.0. Результаты проведенных преобразований представлены на рис. 2, 3.

Рассмотрим процессы, связанные с формированием одного из главнейших белковых комплексов *SOS*-системы: ДНК-полимеразы V (UmuD'₂C). Как известно [5], этот комплекс отвечает за индуцированный мутационный процесс у *E. coli*. В ходе работы *SOS*-системы этот комплекс претерпевает определенные изменения. Установлено, что избыточный UmuD-белок замещает UmuD'

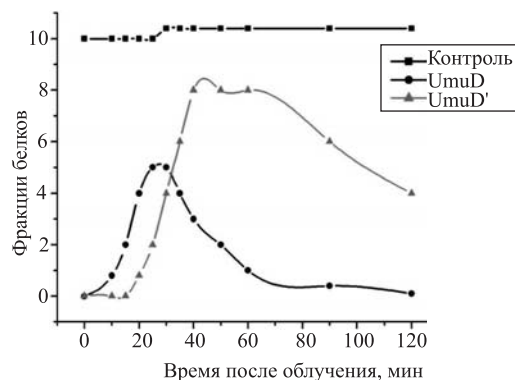


Рис. 2. Динамика синтеза белков UmuD и UmuD' при УФ-облучении дозой 20 Дж/м². Фракции белков представлены в относительных единицах

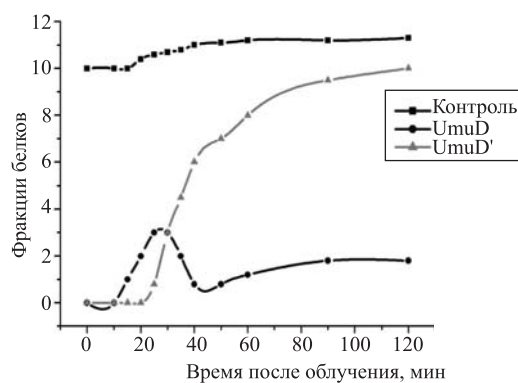


Рис. 3. Динамика синтеза белков UmuD и UmuD' при УФ-облучении дозой 50 Дж/м². Фракции белков представлены в относительных единицах

в комплексе UmuD₂'C. Данный процесс носит название обмена субъединиц polV, в результате чего активность polV уменьшается. Это отчетливо видно из материалов, представленных на рис. 4.

Обмен субъединиц комплекса UmuD₂'C с UmuD-белком является биологическим механизмом, инактивирующим ДНК-полимеразу V, вызывающую ошибки во время TLS, и, таким образом, предотвращающим формирование мутаций в ДНК, не имеющей повреждений. В процессе SOS-ответа возможен и обратный эффект, а именно: в избытке UmuD' активность polV может повышаться (рис. 5).

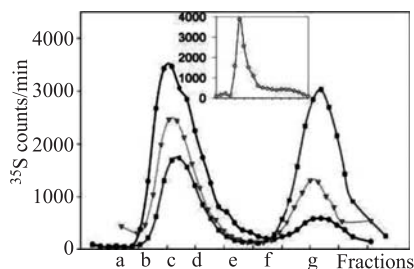


Рис. 4. Обмен субъединиц polV с помеченным ^{35}S UmuD. polV была инкубирована с помеченным ^{35}S UmuD. Уровень радиоактивности в каждой фракции был измерен с помощью жидкого сцинтиллятора и изображен в порядке уменьшения молекулярной массы слева направо. Время инкубации: \bullet — 1 мин; \blacktriangledown — 10 мин; \blacksquare — 1 ч. Молярное отношение UmuD к polV 3:1. Вставка: помеченный ^{35}S UmuD в отсутствие polV, инкубированный в течение 1 ч [5]

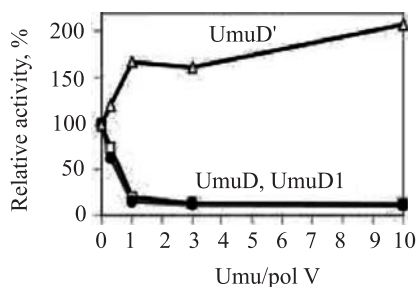


Рис. 5. Уменьшение и увеличение активности UmuD' $_2$ C (polV) в присутствии UmuD и UmuD'. \bullet — UmuD; \square — UmuD1 (UmuD-мутант); Δ — UmuD' [5]

К настоящему времени имеются экспериментальные данные, описывающие процесс связывания комплекса UmuD' $_2$ C с нуклеопротеиновыми филаментами RecA (рис. 6) [6].

Сопоставляя полученные данные, можно сделать следующее предположение, касающееся математического моделирования работы SOS-системы, точнее, той ее части, где происходит образование важнейших белковых комплексов: UmuD' $_2$ C, UmuDD' $_2$ C, UmuD $_2$ C. Используя экспериментальные данные по синтезу белков UmuD, UmuD' и динамику формирования RecA* [3], можно получить производные по времени: $\frac{d[\text{UmuD}]}{dt}$, $\frac{d[\text{UmuD}']}{dt}$, $\frac{d[\text{RecA}^*]}{dt}$.

На этой основе можно составить систему из трех дифференциальных уравнений, в которую будет входить концентрация комплекса UmuD' $_2$ C: [UmuD' $_2$ C] (а возможно, и концентрации двух других основных комплексов).

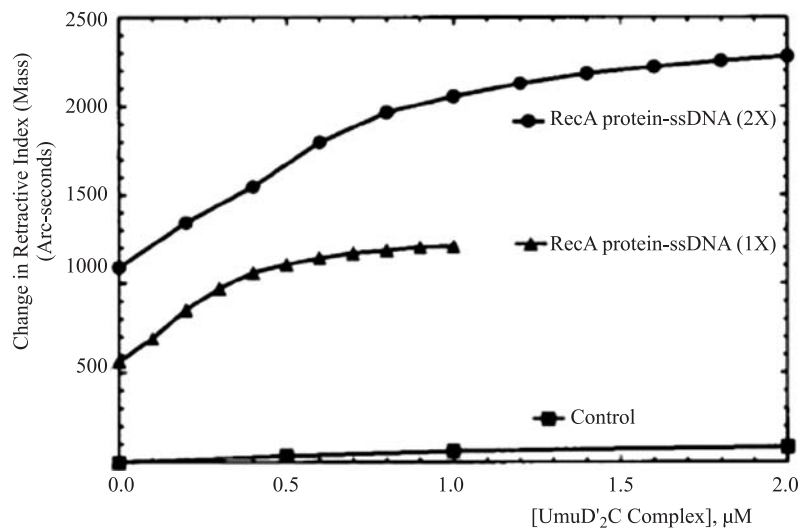


Рис. 6. Связывание комплекса UmuD₂C с нуклеопротеиновыми филаментами RecA. Представлены две кривые для различных начальных концентраций RecA и кривая контроля. Контроль представляет собой неспецифическое связывание с декстрановой поверхностью [6]

Исходя из этого можно приблизительно определить вид системы дифференциальных уравнений:

$$\begin{aligned} \frac{d[\text{UmuD}]}{dt} &= \dots(\text{параметры})\dots[\text{UmuD}'_2\text{C}]\dots\dots\dots; \\ \frac{d[\text{UmuD}']}{dt} &= \dots(\text{параметры})\dots[\text{UmuD}'\text{DC}]\dots\dots\dots; \\ \frac{d[\text{RecA}^*]}{dt} &= \dots(\text{параметры})\dots\dots\dots \end{aligned}$$

Таким образом, в настоящей работе проведен анализ современных экспериментальных данных, касающихся исследования кинетики *recA*-, *umuD*-генов, проведена графическая интерпретация ряда экспериментальных данных. На основе ранее разработанной и усовершенствованной модели предложен подход к математическому моделированию кинетики экспрессии основных генов SOS-системы. Реализация данного подхода возможна путем усовершенствования предложенной системы дифференциальных уравнений. Поэтому главной задачей будущих исследований является поиск параметров системы и дальнейшая формализация полученных экспериментальных данных.

Автор выражает искреннюю благодарность научному руководителю профессору Е. А. Красавину за помощь при выполнении работы и за обсуждение результатов.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Friedman N. et al.* Precise temporal modulation in the response of the *SOS* DNA repair network in individual bacteria // *Plos Biology*. 2005. V. 3. P. 1261–1268.
2. *Аксенов С. В.* Математическое моделирование генетической регуляторной системы *SOS*-ответа у бактерий *Escherichia coli*. Дис. . . . канд. физ.-мат. наук. Дубна, 1999; *Aksenov S. V.* Dynamics of the inducing signal for the *SOS* regulatory system in *Escherichia coli* after ultraviolet irradiation // *Math. Biosci.* 1999. No. 15.
3. *Белов О. В., Шахматов В. С.* Временная зависимость индуцирующего сигнала *SOS*-системы *E. coli*. Анализ экспериментальных данных для концентрации белка LexA // *Вестн. Междунар. ун-та природы, о-ва и чел. «Дубна»*. Дубна, 2006 (в печати).
4. *Opperman T. et al.* A model for a *umuDC*-dependent prokaryotic DNA damage checkpoint // *Genetics*. 1999. V. 96. P. 9218–9223.
5. *Shen X., Woodgate R., Goodman M. F.* *Escherichia coli* DNA Polymerase V Subunit Exchange // *J. Biol. Chem.* 2003. V. 278, No. 52. P. 52546–52550.
6. *Rehrauer W. M. et al.* Modulation of RecA Nucleoprotein Function by the Mutagenic UmuD'C Protein Complex // *J. Biol. Chem.* 1998. V. 273, No. 49. P. 32384–32387.

Получено 15 сентября 2006 г.

Редактор *Е. В. Сабеева*

Подписано в печать 22.11.2006.

Формат 60 × 90/16. Бумага офсетная. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 0,37. Уч.-изд. л. 0,47. Тираж 220 экз. Заказ № 55553.

Издательский отдел Объединенного института ядерных исследований
141980, г. Дубна, Московская обл., ул. Жолио-Кюри, 6.

E-mail: publish@jinr.ru

www.jinr.ru/publish/