

## Bcl-2蛋白抑制钙信号的建模与全局动力学分析\*

牛帅<sup>1)2)</sup> 帅建伟<sup>3)†</sup> 祁宏<sup>1)‡</sup>

1) (山西大学复杂系统研究所, 太原 030006)

2) (山西大学数学科学学院, 太原 030006)

3) (厦门大学物理系, 厦门 361005)

(2017年6月9日收到; 2017年7月18日收到修改稿)

钙离子( $\text{Ca}^{2+}$ )是生物体内一种“生死攸关”的信号分子, Bcl-2蛋白可以直接或间接调节 $\text{IP}_3\text{R}$ 通道释放 $\text{Ca}^{2+}$ 的能力, 借此决定细胞命运. 本文基于新近的实验成果, 针对Bcl-2蛋白间接调控 $\text{Ca}^{2+}$ 的信号通路建立数学模型, 得到了与实验数据相符合的结果, 从理论上证明了Bcl-2蛋白对钙信号有抑制作用. 在对模型进行鲁棒性检验之后, 本文对该信号通路中一些关键组分的作用进行了预测. 以 $[\text{IP}_3]$ 和 $[\text{Bcl-2}]$ 为双分岔参数分析的结果表明Bcl-2对刺激强度能产生 $\text{Ca}^{2+}$ 振荡的区域有重要影响. 以蛋白磷酸酶1[PP1]和蛋白激酶A[PKA]为单分岔参数分析的结果揭示: PP1可以有效地抑制钙信号, 而PKA对钙信号的促进作用有一定的局限性. 模型结果表明, 不同浓度组合的 $\text{IP}_3$ , Bcl-2和PKA会对钙信号发挥复杂的调控作用. 本文不仅对相关生物学实验有一定的指导作用, 而且可为治疗因钙信号失调而导致的疾病提供思路.

关键词: Bcl-2蛋白, 钙信号, 分岔分析

PACS: 87.18.Vf, 87.10.Ed, 82.40.Bj

DOI: 10.7498/aps.66.238701

## 1 引言

钙离子( $\text{Ca}^{2+}$ )作为细胞内重要的信使分子, 参与并控制着几乎一切重要的细胞活动过程<sup>[1]</sup>, 被认为是生物体的一种“生存因子”<sup>[2]</sup>. 在静息状态下, 细胞内的大部分 $\text{Ca}^{2+}$ 储藏于内质网中, 细胞质内的 $\text{Ca}^{2+}$ 浓度( $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{Cyt}}$ )处在一个较低的水平. 当细胞受到生理刺激时,  $\text{Ca}^{2+}$ 从位于内质网上的 $\text{IP}_3\text{R}$ 通道释放到细胞质中, 同时经心肌肌浆??????钙泵(SERCA)返回到内质网中, 因此 $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{Cyt}}$ 会以振荡的形式变化.  $\text{Ca}^{2+}$ 正是通过钙振荡的振幅、周期以及持续时间来控制各种生理活动<sup>[3]</sup>. 但钙信号是把双刃剑, 当 $\text{IP}_3\text{R}$ 通道过量释放 $\text{Ca}^{2+}$ 时, 细胞质中 $\text{Ca}^{2+}$ 会呈现高幅振荡<sup>[4-6]</sup>或持续提升<sup>[6-8]</sup>, 引发一系列灾难性事件, 从而导致细胞死亡<sup>[9,10]</sup>, 因此 $\text{Ca}^{2+}$ 也被认为是细胞的“无

情杀手”<sup>[2]</sup>.

正因为 $\text{Ca}^{2+}$ 是一种生死攸关的信号分子, 所以负责释放它的 $\text{IP}_3\text{R}$ 通道就成为细胞内的“信号中心”<sup>[11]</sup>. 实验表明细胞内存在多种直接或间接调控 $\text{IP}_3\text{R}$ 通道活性的蛋白<sup>[11,12]</sup>, 它们对钙信号的振幅和频率等发挥着复杂的调控作用, 从而使得 $\text{Ca}^{2+}$ 振荡对不同刺激信号有丰富的编码行为, 抗凋亡蛋白Bcl-2就是其中重要的一员<sup>[13]</sup>. 实验研究结果表明, Bcl-2抑制 $\text{IP}_3\text{R}$ 通道活性从而降低 $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{Cyt}}$ 的机制主要有两种: 一种是2009年文献<sup>[14]</sup>中提出的Bcl-2可以直接结合在 $\text{IP}_3\text{R}$ 通道上, 促使其构象发生改变, 从而减少 $\text{Ca}^{2+}$ 的释放, 称为直接机制; 另一种是2014年文献<sup>[15]</sup>中提出的Bcl-2可为多巴胺-cAMP调节的磷蛋白(DARPP-32)与钙调神经磷酸酶(CaN)提供结合平台, 它们的结合可以促使pDARPP-32去磷酸化, 从而减缓

\* 国家自然科学基金(批准号: 11504214, 31370830, 11675134)资助的课题.

† 通信作者. E-mail: jianweishuai@xmu.edu.cn

‡ 通信作者. E-mail: hongqi@sxu.edu.cn

它对蛋白磷酸酶 1(PP1) 的抑制作用, 导致 IP<sub>3</sub>R 通道去磷酸化, 最终削弱它释放 Ca<sup>2+</sup> 的能力. 简言之, 第二种机制是 Bcl-2 及其相关蛋白构成一个负反馈环改变 IP<sub>3</sub>R 通道的磷酸化状态, 间接减少它所释放的 Ca<sup>2+</sup>, 称为间接机制.

可以看出, 相比于直接机制, 间接机制非常复杂, 仅依靠实验现象很难全面理解各种信号之间复杂的相互作用关系, 所以该间接机制如何具体调控钙信号, 依然是一个有待探讨的重要问题. 如果利用数学建模的方法, 特别是分岔理论<sup>[16]</sup>, 定量研究它们之间的相互作用过程, 就可以更系统且深入地理解该机制<sup>[17]</sup>. 因此, 基于间接机制, 建立了 Bcl-2 调节钙信号的数学模型, 利用数值模拟方法定量研究 Bcl-2 对钙信号的抑制作用, 通过分岔理论对模型进行系统的分析, 以期能够全面理解 Bcl-2 间接抑制钙信号相关的信号通路, 并预测一些实验结果, 为治疗钙信号失调引起的相关疾病提供一些系列潜在的思路.

## 2 模型和方法

基于文献<sup>[15]</sup>总结的机制构建模型, 但只考虑图 1 中黄色部分, 用 IP<sub>3</sub> 的浓度 ([IP<sub>3</sub>]) 来反映刺激

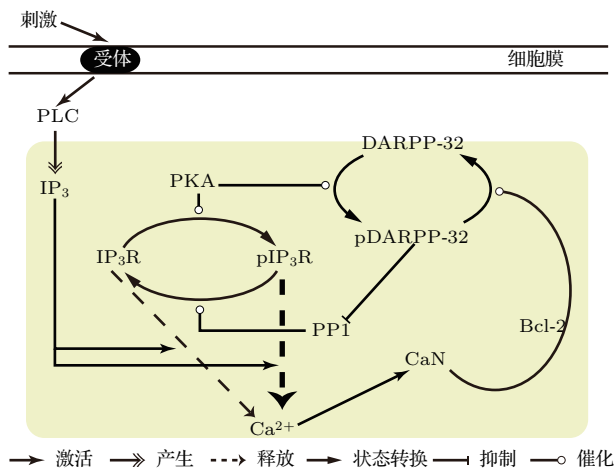


图 1 Bcl-2 及其相关蛋白调节 Ca<sup>2+</sup> 释放机制图外界刺激使细胞膜上的受体激活磷脂酶 C(PLC) 并产生 IP<sub>3</sub>, IP<sub>3</sub> 结合到 IP<sub>3</sub>R 通道使 Ca<sup>2+</sup> 释放. 虚线粗箭头表示 pIP<sub>3</sub>R 比 IP<sub>3</sub>R 释放 Ca<sup>2+</sup> 能力更强

Fig. 1. Mechanism of Bcl-2 and its related proteins on Ca<sup>2+</sup> release. An extracellular signal molecule binds to its receptor and activates phospholipase C (PLC). The latter stimulates the formation of IP<sub>3</sub>, which binds to IP<sub>3</sub>R channel and modulates Ca<sup>2+</sup> release. The bold dashed arrow depicts that the release of Ca<sup>2+</sup> from pIP<sub>3</sub>R is stronger than IP<sub>3</sub>R.

的大小, 其取值范围为 0—1 μM. 该模型包含 3 个模块: [Ca<sup>2+</sup>]<sub>Cyt</sub> 变化、IP<sub>3</sub>R 通道的磷酸化与去磷酸化、Bcl-2 及其相关蛋白构成的负反馈环.

### 2.1 Ca<sup>2+</sup> 模块

采用 Li-Rinzel 模型刻画 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>Cyt</sub> 的变化<sup>[18]</sup>. 在一个封闭的细胞中, [Ca<sup>2+</sup>]<sub>Cyt</sub> 的变化主要由三个因素决定: 1) Ca<sup>2+</sup> 通过 IP<sub>3</sub>R 通道从内质网释放到细胞质中, 记为 J<sub>chan</sub>; 2) Ca<sup>2+</sup> 从内质网渗漏到细胞质中, 记为 J<sub>leak</sub>; 3) 位于内质网上的 SERCA 钙泵将细胞质中的 Ca<sup>2+</sup> 泵回到内质网中, 记为 J<sub>pump</sub>. Li-Rinzel 模型的另一个动力学变量 h 是与 J<sub>chan</sub> 相关的 IP<sub>3</sub>R 通道开通的比例, 因此该模型表示为

$$\begin{cases} \frac{d[Ca^{2+}]_{Cyt}}{dt} = J_{chan} + J_{leak} - J_{pump}, \\ \frac{dh}{dt} = \frac{h_{\infty} - h}{\tau_h}, \end{cases} \quad (1)$$

其中,

$$J_{chan} = u_1 m_{\infty}^3 n_{\infty}^3 h^3 [C_0 - (1 + c_1)[Ca^{2+}]_{Cyt}],$$

$$J_{leak} = u_2 [C_0 - (1 + c_1)[Ca^{2+}]_{Cyt}],$$

$$J_{pump} = \frac{u_3 [Ca^{2+}]_{Cyt}^2}{[Ca^{2+}]_{Cyt}^2 + K_3^2},$$

$$m_{\infty} = \frac{[IP_3]}{[IP_3] + d_1},$$

$$n_{\infty} = \frac{[Ca^{2+}]_{Cyt}}{[Ca^{2+}]_{Cyt} + d_5},$$

$$h_{\infty} = \frac{Q_2}{Q_2 + [Ca^{2+}]_{Cyt}},$$

$$\tau_h = \frac{1}{a_2(Q_2 + [Ca^{2+}]_{Cyt})},$$

$$Q_2 = \frac{[IP_3] + d_1}{[IP_3] + d_3} d_2.$$

### 2.2 IP<sub>3</sub>R 通道磷酸化与去磷酸化模块

IP<sub>3</sub>R 通道 (本文指 IP<sub>3</sub>R-1 蛋白, 其第 1755 位氨基酸为丝氨酸) 有磷酸化 (pIP<sub>3</sub>R) 和非磷酸化 (IP<sub>3</sub>R) 两种状态, 且前者释放 Ca<sup>2+</sup> 的能力更强<sup>[15]</sup>. 若把每摩尔 IP<sub>3</sub>R 通道释放 Ca<sup>2+</sup> 的最大速率记为 k, pIP<sub>3</sub>R 与 IP<sub>3</sub>R 释放 Ca<sup>2+</sup> 的速率比记为 α (1 < α ≤ 9), 那么 Li-Rinzel 模型中 IP<sub>3</sub>R 通道释放 Ca<sup>2+</sup> 的最大速率 u<sub>1</sub> 可以表示为

$$u_1 = \frac{k}{1+\alpha}[\text{IP}_3\text{R}] + \frac{\alpha k}{1+\alpha}[\text{pIP}_3\text{R}]. \quad (2)$$

此外,  $\text{IP}_3\text{R}$  两种状态之间的转换是由两种酶催化的: 蛋白激酶 A (PKA) 可使其磷酸化成为  $\text{pIP}_3\text{R}$ , 而 PP1 则可使  $\text{pIP}_3\text{R}$  去磷酸化成为  $\text{IP}_3\text{R}$ . 磷酸化与去磷酸化的过程可用米曼方程描述<sup>[19]</sup>,  $\text{pIP}_3\text{R}$  的浓度变化可表示为

$$\frac{d[\text{pIP}_3\text{R}]}{dt} = v_1 - v_2, \quad (3)$$

其中,

$$v_1 = \frac{v_{\text{PKA}1}[\text{PKA}][\text{IP}_3\text{R}]}{K_{\text{IP}_3\text{R}} + [\text{IP}_3\text{R}]},$$

$$v_2 = \frac{v_{\text{PP1}}[\text{PP1}][\text{pIP}_3\text{R}]}{K_{\text{pIP}_3\text{R}} + [\text{pIP}_3\text{R}]}.$$

### 2.3 Bcl-2 及其相关蛋白构成负反馈环模块

细胞质中的  $\text{Ca}^{2+}$  可以激活 CaN, 它有 4 个  $\text{Ca}^{2+}$  结合位点, 两个对  $\text{Ca}^{2+}$  亲和系数高, 另外两个对  $\text{Ca}^{2+}$  亲和系数低<sup>[20]</sup>, 两者相差上百倍, 所以可以只考虑 CaN 与前两个  $\text{Ca}^{2+}$  结合的情况. 该过程可用质量作用定律来描述<sup>[21]</sup>, 活化的 CaN ( $\text{CaN}^*$ ) 的浓度变化可以用以下方程来描述:

$$\frac{d[\text{CaN}^*]}{dt} = k_1[\text{CaN}][\text{Ca}^{2+}]_{\text{Cyt}}^2 - k_2[\text{CaN}^*]. \quad (4)$$

此外, CaN 与  $\text{CaN}^*$  满足质量守恒

$$[\text{CaN}]_{\text{tot}} = [\text{CaN}] + [\text{CaN}^*]. \quad (5)$$

由于  $\text{Ca}^{2+}$  与 CaN 的结合与解离过程要比  $[\text{CaN}^*]$  的变化快很多, 因此可以用准稳态假设<sup>[21]</sup>得到,

$$[\text{CaN}^*] = \frac{k_1[\text{CaN}]_{\text{tot}}[\text{Ca}^{2+}]_{\text{Cyt}}^2}{k_1[\text{Ca}^{2+}]_{\text{Cyt}}^2 + k_2}. \quad (6)$$

$\text{CaN}^*$  可以通过 Bcl-2 使  $\text{pDARPP-32}$  去磷酸化成为  $\text{DARPP-32}$ , 其反应速率为

$$v_3 = \frac{v_{\text{CaN}^*}[\text{CaN}^*][\text{pDARPP-32}]}{K_{\text{pD32}} + [\text{pDARPP-32}]}, \quad (7)$$

其中  $v_{\text{CaN}^*}$  表示该过程的最大反应速率, 可用希尔方程<sup>[22]</sup>描述 Bcl-2 对它的调节

$$v_{\text{CaN}^*} = \frac{v_{\text{Bcl-2}}[\text{Bcl-2}]^4}{K_{\text{Bcl-2}}^4 + [\text{Bcl-2}]^4}. \quad (8)$$

PKA 还可使  $\text{DARPP-32}$  磷酸化, 其反应速率为

$$v_4 = \frac{v_{\text{PKA}2}[\text{PKA}][\text{DARPP-32}]}{K_{\text{D32}} + [\text{DARPP-32}]}. \quad (9)$$

$\text{pDARPP-32}$  对 PP1 有抑制作用, 该作用可以体现在 PP1 使  $\text{pIP}_3\text{R}$  去磷酸化的最大速率, 则有

$$v_{\text{PP1}} = \frac{v'_{\text{PP1}}K_{\text{PP1}}^2}{K_{\text{PP1}}^2 + [\text{pDARPP-32}]^2}. \quad (10)$$

综上所述, Bcl-2 蛋白调节  $\text{Ca}^{2+}$  的动力学模型为

$$\begin{cases} \frac{d[\text{Ca}^{2+}]_{\text{Cyt}}}{dt} = J_{\text{chan}} + J_{\text{leak}} - J_{\text{pump}}, \\ \frac{dh}{dt} = \frac{h_{\infty} - h}{\tau_h}, \\ \frac{d[\text{pIP}_3\text{R}]}{dt} = -\frac{d[\text{IP}_3\text{R}]}{dt} = v_1 - v_2, \\ \frac{d[\text{pDARPP-32}]}{dt} = -\frac{d[\text{DARPP-32}]}{dt} \\ = v_4 - v_3. \end{cases} \quad (11)$$

## 3 结果与分析

### 3.1 参数拟合确定

Li-Rinzel 模型中各参数的具体意义见文献<sup>[18]</sup>, 由该模型默认参数得到的  $\text{Ca}^{2+}$  振荡的最大振幅约为  $0.5\mu\text{M}$  ( $1\text{M} = 1\text{mol/L}$ ), 周期为 10—14 s, 由于要拟合文献<sup>[15]</sup>实验中  $\text{Ca}^{2+}$  振荡的振幅与周期, 对 Li-Rinzel 模型中相关参数取值进行了幅度和周期的标量变换(表 1). 对于其他两个模块中的各参数值,  $\alpha$  和  $[\text{IP}_3]$  是可调的, 各蛋白质浓度的值均来源于文献<sup>[23—26]</sup>, 反应速率参数较难从文献中获取, 仅查得  $k_1$  和  $k_2$  的值<sup>[25]</sup>, 其余参数值由对文献<sup>[15]</sup>中实验结果的拟合得到(表 2).

表 1 Li-Rinzel 模型中的参数  
Table 1. Parameters in Li-Rinzel model.

| 参数    | 取值     | 参数    | 取值      |
|-------|--------|-------|---------|
| $u_2$ | 0.0022 | $a_2$ | 0.008   |
| $u_3$ | 0.009  | $d_1$ | 0.13    |
| $c_1$ | 0.185  | $d_2$ | 0.5245  |
| $C$   | 1      | $d_3$ | 0.9434  |
| $K_3$ | 0.05   | $d_5$ | 0.04117 |

表2 模型中的参数值  
Table 2. Parameters in the model.

| 参数                                 | 取值     | 单位                                | 意义  |
|------------------------------------|--------|-----------------------------------|---|
| $\alpha$                           | 6      | —                                 | pIP <sub>3</sub> R 与 IP <sub>3</sub> R 释放 Ca <sup>2+</sup> 的速率比 |
| [IP <sub>3</sub> ]                 | 0.4    | μM                                | 细胞内 IP <sub>3</sub> 的浓度   |
| [PKA]                              | 0.05   | μM                                | 细胞内蛋白激酶 A 的浓度   |
| [PP1]                              | 10     | μM                                | 细胞内蛋白磷酸酶 1 的浓度  |
| [IP <sub>3</sub> R] <sub>tot</sub> | 0.01   | μM                                | 细胞内 IP <sub>3</sub> R 与 pIP <sub>3</sub> R 的总浓度                 |
| [CaN] <sub>tot</sub>               | 1      | μM                                | 细胞内 CaN 与活化的 CaN 的总浓度   |
| [DARPP-32] <sub>tot</sub>          | 50     | μM                                | 细胞内 DARPP-32 与 pDARPP-32 的总浓度                                   |
| $k$                                | 20     | μM <sup>-1</sup> ·s <sup>-1</sup> | 1 μM IP <sub>3</sub> R 通道释放 Ca <sup>2+</sup> 的最大速率              |
| $v_{PKA1}$                         | 0.003  | s <sup>-1</sup>                   | PKA 磷酸化 IP <sub>3</sub> R 的速率常数                                 |
| $K_{IP_3R}$                        | 0.005  | μM                                | PKA 磷酸化 IP <sub>3</sub> R 的半饱和和常数                               |
| $K_{pIP_3R}$                       | 0.008  | μM                                | PP1 使 pIP <sub>3</sub> R 去磷酸化的半饱和和常数                            |
| $v'_{PP1}$                         | 0.05   | s <sup>-1</sup>                   | pDARPP-32 对 PP1 的最大抑制常数   |
| $K_{PP1}$                          | 0.5    | μM                                | pDARPP-32 抑制 PP1 的半饱和和常数  |
| $k_1$                              | 0.005  | μM <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup> | Ca <sup>2+</sup> 与钙调神经磷酸酶 CaN 结合的速率常数                           |
| $k_2$                              | 0.0012 | s <sup>-1</sup>                   | 活化的 CaN 的解离速率常数   |
| $v_{Bcl-2}$                        | 12     | s <sup>-1</sup>                   | Bcl-2 使活化的 CaN 发挥最大作用的最大速率                                      |
| $K_{Bcl-2}$                        | 0.25   | μM                                | Bcl-2 使活化的 CaN 发挥最大作用的激活常数                                      |
| $K_{pD32}$                         | 8      | μM                                | 活化的 CaN 使 pDARPP-32 去磷酸化的半饱和和常数                                 |
| $v_{PKA2}$                         | 2.5    | s <sup>-1</sup>                   | PKA 磷酸化 DARPP-32 的速率常数  |
| $K_{D32}$                          | 5      | μM                                | PKA 磷酸化 DARPP-32 的半饱和和常数  |

### 3.2 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>Cyt</sub> 时间序列

图 2 所示为标准参数下 Bcl-2 取不同浓度 (其值在生理学范围 [27]) 时 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>Cyt</sub> 随时间变化的曲线. 当 Bcl-2 浓度低 (0.1 μM, 图 2(a)) 时, [Ca<sup>2+</sup>]<sub>Cyt</sub> 的振幅和峰值均高; 而当 Bcl-2 浓度高 (3 μM, 图 2(b)) 时, [Ca<sup>2+</sup>]<sub>Cyt</sub> 的振幅和峰值均低. 无论是 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>Cyt</sub> 的振幅还是周期, 数值模拟结果都与实验结果 (文献 [15] Fig. 1 B) 高度符合. 当 Bcl-2 浓度继续升高 (0.5 μM, 图 2(c)) 时, [Ca<sup>2+</sup>]<sub>Cyt</sub> 呈现衰减振荡. 这意味着 [Bcl-2] 取不同的值, [Ca<sup>2+</sup>]<sub>Cyt</sub> 既可能呈现周期性的变化, 即极限环振荡, 也有可能呈现衰减振荡至稳态.

### 3.3 [IP<sub>3</sub>] 和 [Bcl-2] 单参数分岔分析

从以上时间序列仅能得到某一特定 [IP<sub>3</sub>] 下, 即某一特定刺激强度时, 细胞质钙信号的信息, 而分岔分析可以更全面地了解系统的行为. 因为 IP<sub>3</sub>

对钙振荡起着决定性的作用 [28], 所以很多钙信号模型以 [IP<sub>3</sub>] 作为分岔参数 [29-32] 研究系统的动力学行为. 为探讨 Bcl-2 对细胞质钙信号的调节作用, 分别选取 [IP<sub>3</sub>] 和 [Bcl-2] 为分岔参数, 进行分岔分析 (图 3). 图中, 黑色实线是稳定的平衡点 (表示 Ca<sup>2+</sup> 不振荡, 其值为 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>Cyt</sub> 的稳态值), 红色虚线是不稳定的平衡点, 它们的交点为霍普夫分岔点 (Hopf bifurcation, HB, 表示系统在稳定态与振荡态之间的转换); 绿色和橙色实心点分别表示稳定极限环的最大值和最小值 (分别对应 Ca<sup>2+</sup> 振荡的峰值和谷值), 绿色和橙色空心圈分别表示不稳定极限环的最大值和最小值.

图 3(a)–(c) 为 Bcl-2 取不同浓度 (0, 0.25, 0.4 μM) 时, 以 [IP<sub>3</sub>] 为分岔参数得到的结果. 可以看出, 当 [Bcl-2] = 0 μM 时, 回归到原始的 Li-Rinzel 钙信号振荡模型, 这时, 钙信号在振荡区域的振幅随 [IP<sub>3</sub>] 的增加而变大; 但我们的模型表明,

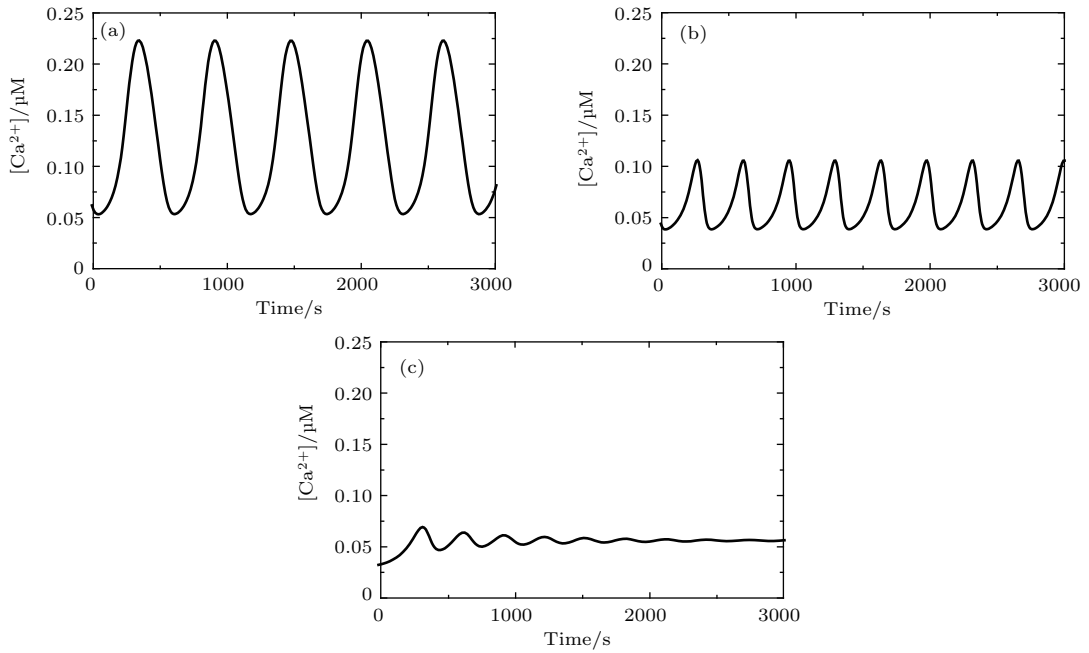


图2 不同 [Bcl-2] 对应的  $[Ca^{2+}]_{Cyt}$  时间序列图 (a) [Bcl-2] = 0.1  $\mu\text{M}$ ; (b) [Bcl-2] = 0.3  $\mu\text{M}$ ; (c) [Bcl-2] = 0.5  $\mu\text{M}$ .  
 Fig. 2. Time series of  $[Ca^{2+}]_{Cyt}$  for different [Bcl-2] as (a) [Bcl-2] = 0.1  $\mu\text{M}$ ; (b) [Bcl-2] = 0.3  $\mu\text{M}$ ; (c) [Bcl-2] = 0.5  $\mu\text{M}$ .

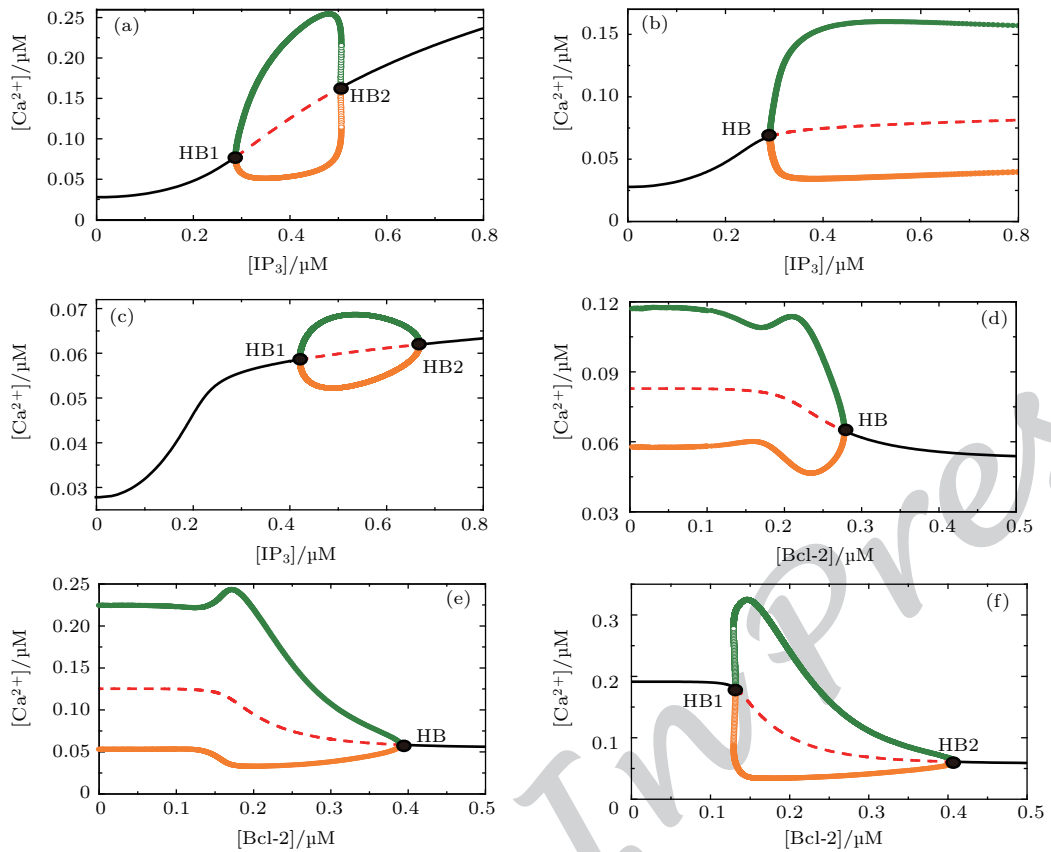


图3 (网刊彩色)  $[IP_3]$  对  $[Ca^{2+}]_{Cyt}$  的分岔图 (a) [Bcl-2] = 0  $\mu\text{M}$ , (b) [Bcl-2] = 0.25  $\mu\text{M}$ , (c) [Bcl-2] = 0.4  $\mu\text{M}$ ; [Bcl-2] 对  $[Ca^{2+}]_{Cyt}$  的分岔图 (d)  $[IP_3]$  = 0.3  $\mu\text{M}$ , (e)  $[IP_3]$  = 0.4  $\mu\text{M}$ , (f)  $[IP_3]$  = 0.6  $\mu\text{M}$ .  
 Fig. 3. (color online) The one-parameter bifurcation diagram for  $[IP_3]$ : (a) [Bcl-2] = 0  $\mu\text{M}$ , (b) [Bcl-2] = 0.25  $\mu\text{M}$ , (c) [Bcl-2] = 0.4  $\mu\text{M}$ ; the one-parameter bifurcation diagram for [Bcl-2]: (d)  $[IP_3]$  = 0.3  $\mu\text{M}$ , (e)  $[IP_3]$  = 0.4  $\mu\text{M}$ , (f)  $[IP_3]$  = 0.6  $\mu\text{M}$ .

当  $[Bcl-2] = 0.25 \mu M$  时, 钙信号的振幅随  $[IP_3]$  的增加基本不变, 当  $[Bcl-2] = 0.4 \mu M$  时, 钙信号的振幅随  $[IP_3]$  的增加主要呈现减小的行为. 比较不同浓度的 Bcl-2 的结果时发现, 高浓度的 Bcl-2 会抑制钙信号的振幅.

图 3(d)–(f) 为  $IP_3$  取不同浓度 (0.3, 0.4, 0.6  $\mu M$ ) 时, 以  $[Bcl-2]$  为分岔参数得到的结果. 可以看出, 当  $[IP_3] = 0.3 \mu M$  时, 随着  $[Bcl-2]$  的增加, 钙信号的振幅在接近稳定点前, 主要呈现基本不变的行为; 当  $[IP_3] = 0.4 \mu M$  时, 随着  $[Bcl-2]$  的增加, 钙信号的振幅先呈现基本不变趋势, 然后线性减小, 最后变成稳定点; 当  $[IP_3] = 0.6 \mu M$  时, 钙信号的振幅随  $[Bcl-2]$  的增加主要呈现减小趋势. 所以, 正如实验所观察到的<sup>[15]</sup>, Bcl-2 对细胞质钙信号确实有抑制作用, 但我们的模型同时表明, 当  $[IP_3]$  低时钙信号的振幅呈现出对 Bcl-2 的鲁棒行为.

### 3.4 $\alpha$ 单参数分岔分析

本模型的参数中,  $\alpha$  为最重要的一个, 它表示  $pIP_3R$  与  $IP_3R$  释放  $Ca^{2+}$  的速率比. 文献<sup>[15]</sup>中仅提到前者释放  $Ca^{2+}$  的能力更强, 但强多少并未定量检测. 在标准参数 (表 1) 中将其假设为 6, 因此

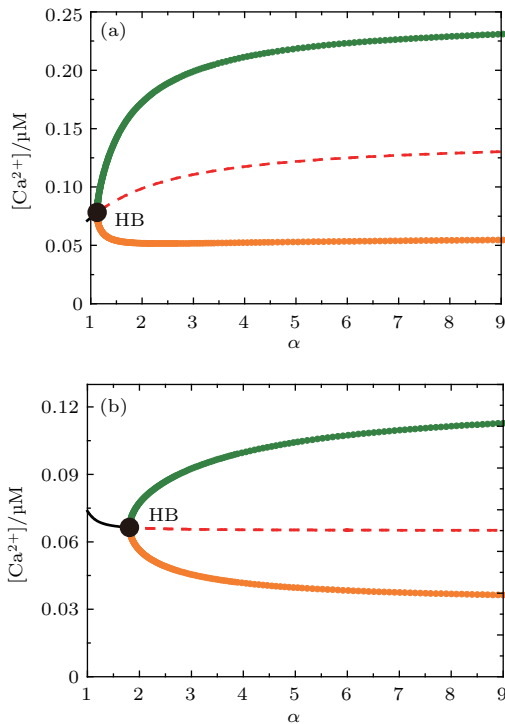


图 4 (网刊彩色)  $\alpha$  对  $[Ca^{2+}]_{Cyt}$  的分岔图 (a)  $[Bcl-2] = 0.1 \mu M$ ; (b)  $[Bcl-2] = 0.3 \mu M$   
 Fig. 4. (color online) The one-parameter bifurcation diagram for  $\alpha$ : (a)  $[Bcl-2] = 0.1 \mu M$ ; (b)  $[Bcl-2] = 0.3 \mu M$ .

有必要通过参数敏感性分析来检验该参数是否可靠. 图 4(a) 和图 4(b) 分别为 Bcl-2 取 0.1 和 0.3  $\mu M$  时, 以  $\alpha$  为分岔参数得到的结果, 结果显示  $\alpha$  的改变并不会显著地影响细胞质钙信号的振荡, 证明该参数有很强的鲁棒性, 其取值是合理的.

从以上模拟结果可以看出, 本文的理论模型可以很好地重复和验证实验结果, 且具有很好的鲁棒性. 所以, 接下来利用该模型进行了一系列预测.

### 3.5 $[IP_3]$ 和 $[Bcl-2]$ 双参数分岔分析

从以上单参数分岔分析我们发现, Bcl-2 不仅可以调节  $Ca^{2+}$  振荡的幅度, 而且影响极限环产生的条件 (即能产生振荡的  $[IP_3]$  的区域). 通过对  $[IP_3]$  和  $[Bcl-2]$  的双参数分岔分析, 得到了系统产生极限环振荡的参数区域 (图 5 阴影部分), 图中灰色线为左 Hopf 分岔点, 黑色线为右 Hopf 分岔点. 在非振荡区域系统稳定, 其稳定吸引子为相应参数组合下系统的稳定平衡点. 结果表明, 当  $[Bcl-2]$  较小时, 系统有两个 Hopf 分岔点, 且 Bcl-2 对系统的影响较小; 当  $[Bcl-2]$  较大时, 系统在  $[IP_3]$  的取值范围内, 只有一个 Hopf 分岔点; 当  $[Bcl-2]$  很大时, 极限环振荡消失. 这表明 Bcl-2 对细胞质钙信号有很重要的调节作用, 在生物学相关实验中需要注意它的使用量.

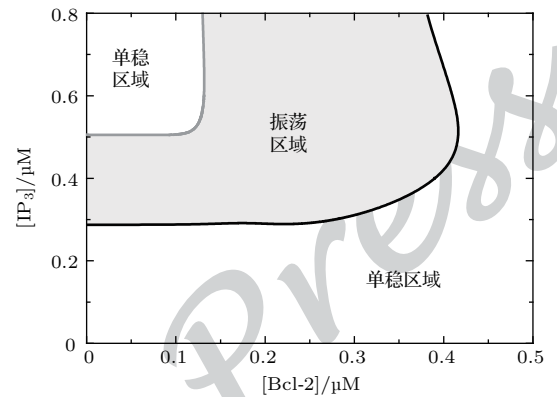


图 5  $[IP_3]$  和  $[Bcl-2]$  双参数分岔图 图中灰色部分表示  $Ca^{2+}$  持续振荡区域, 白色部分表示  $Ca^{2+}$  稳定区域  
 Fig. 5. Two-parameter bifurcation diagram for  $[IP_3]$  and  $[Bcl-2]$ . In the grey region, sustained oscillations of  $Ca^{2+}$  occur, while in the white region, the level of  $Ca^{2+}$  is stable.

### 3.6 $[PP1]$ 单参数分岔分析

Bcl-2 间接抑制钙信号最终是通过 PP1 使  $pIP_3R$  去磷酸化实现的, 因此 PP1 起着关键且更

直接的作用,但是文献[15]并未对PP1调节钙信号进行分析,可以借助模型定量预测PP1对钙信号的影响.图6(a)和图6(b)分别为Bcl-2取0.1和0.3  $\mu\text{M}$ 时,以[PP1]为分岔参数得到的结果.该结果表明,PP1可以显著地抑制细胞质钙信号,而且其调节钙信号的方式与Bcl-2极其相似(图3(e)和图3(f)).这对生物学家有两方面的启示:一是重视PP1在抑制细胞质钙信号方面的作用,二是在检测Bcl-2间接抑制钙信号的实验中可以建立PP1与Bcl-2的定量关系,用PP1代替Bcl-2,这样可以节约实验成本,简化实验设计,加快实验进程.

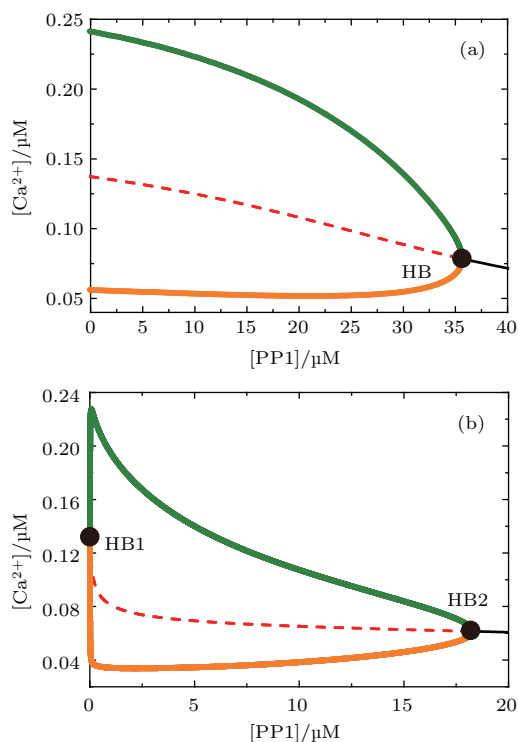


图6 (网刊彩色) [PP1]对 $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{Cyt}}$ 的分岔图 (a)  $[\text{Bcl-2}] = 0.1 \mu\text{M}$ ; (b)  $[\text{Bcl-2}] = 0.3 \mu\text{M}$

Fig. 6. (color online) The one-parameter bifurcation diagram for [PP1]: (a)  $[\text{Bcl-2}] = 0.1 \mu\text{M}$ ; (b)  $[\text{Bcl-2}] = 0.3 \mu\text{M}$ .

### 3.7 [PKA]单参数分岔分析

从模型机制图中可以发现,除了文献[15]中提出的 $\text{Ca}^{2+}$ 通过Bcl-2作用于DARPP-32进而降低 $\text{IP}_3\text{R}$ 通道释放 $\text{Ca}^{2+}$ 构成的负反馈环之外,还存在一个由PKA引发的一致前馈环(coherent feed-forward loop)[33]:PKA一方面直接促进 $\text{IP}_3\text{R}$ 磷酸化,另一方面通过增加pDARPP-32对PP1的抑制作用从而减弱PP1对p $\text{IP}_3\text{R}$ 的去磷酸化.选取不同的 $\text{IP}_3$ 和Bcl-2的浓度组合,以[PKA]为分岔参数得到了3种具有代表性的分岔图(图7).

图3(d)—(f)和图7结果对比显示,PKA与Bcl-2的分岔图形状正好相反,说明了PKA和Bcl-2在 $\text{Ca}^{2+}$ 的释放中起着相反的作用.当 $[\text{IP}_3]$ 和 $[\text{Bcl-2}]$ 均较高时(图7(c)),PKA对钙信号的振幅有促进作用,这与已发表的实验结果相一致[34,35].但是随着 $[\text{IP}_3]$ 和 $[\text{Bcl-2}]$ 的减小,钙信号振幅对PKA呈现越来越强的鲁棒性(图7(a)和图7(b)),这种情况还未见实验报道.

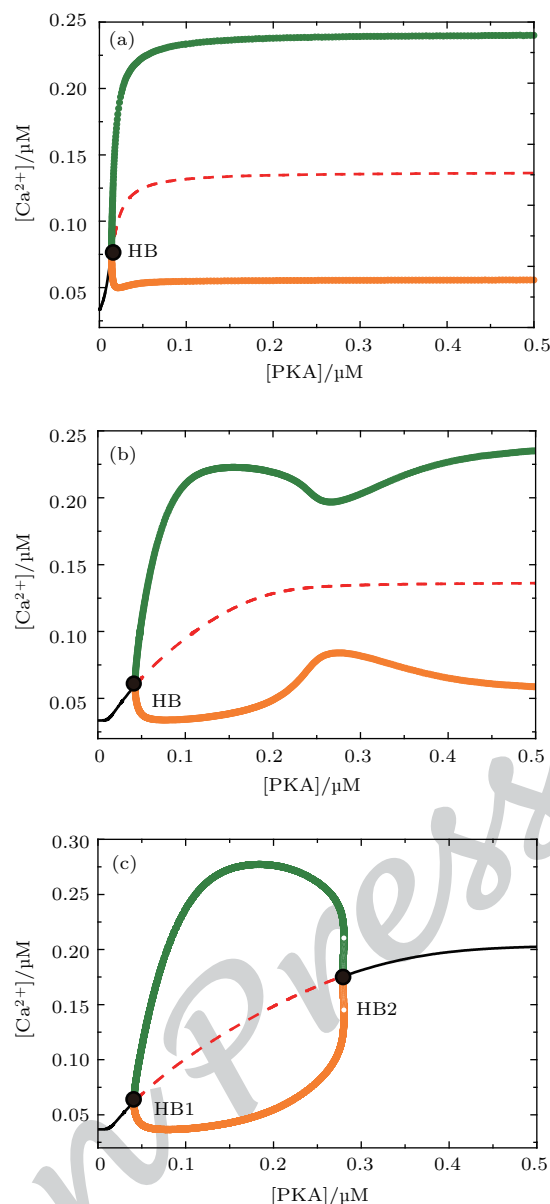


图7 (网刊彩印)[PKA]对 $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{Cyt}}$ 的分岔图 (a)  $[\text{IP}_3] = 0.4 \mu\text{M}$ 且 $[\text{Bcl-2}] = 0.1 \mu\text{M}$ ; (b)  $[\text{IP}_3] = 0.4 \mu\text{M}$ 且 $[\text{Bcl-2}] = 0.3 \mu\text{M}$ ; (c)  $[\text{IP}_3] = 0.6 \mu\text{M}$ 且 $[\text{Bcl-2}] = 0.3 \mu\text{M}$

Fig. 7. (color online) The one-parameter bifurcation diagram for [PKA]: (a)  $[\text{IP}_3] = 0.4 \mu\text{M}$  and  $[\text{Bcl-2}] = 0.1 \mu\text{M}$ ; (b)  $[\text{IP}_3] = 0.4 \mu\text{M}$  and  $[\text{Bcl-2}] = 0.3 \mu\text{M}$ ; (c)  $[\text{IP}_3] = 0.6 \mu\text{M}$  and  $[\text{Bcl-2}] = 0.3 \mu\text{M}$ .

## 4 结 论

$\text{Ca}^{2+}$  在细胞命运抉择中起着关键作用, 而 Bcl-2 蛋白是钙信号的主要抑制因子之一<sup>[13-15]</sup>, 所以对其进行定量研究有重要的意义. 本文针对最新的生物学重要实验成果, 建立了 Bcl-2 调控钙信号的数学模型, 模型结果与实验结果符合得很好. 但是对于这一复杂的调控机制, 实验仅能给出部分定性信息. 进一步采用单参数分岔分析的方法全面系统地理论证明了 Bcl-2 对细胞质钙信号确实具有抑制作用.

在对模型进行鲁棒性检验之后, 预测了一些有生物学意义的结果. 双参数分岔分析表明 Bcl-2 对  $\text{IP}_3$  能产生振荡的区域有很大影响, 预示着它可以改变细胞对刺激强度的响应; 且当 [Bcl-2] 很大时, 极限环振荡消失. 因此 Bcl-2 不仅会影响细胞的钙信号动力学, 而且会改变细胞命运.

此外, 人体内约 1/3 的蛋白质可被蛋白激酶磷酸化, 而磷酸酶可将其去磷酸化, 而且大部分癌基因所编码的蛋白质为蛋白激酶, 所以蛋白激酶和磷酸酶的平衡在很大程度上决定着细胞的命运<sup>[36,37]</sup>. PKA 和 PP1 就是一对调控  $\text{IP}_3\text{R}$  通道磷酸化和去磷酸化的蛋白激酶和磷酸酶<sup>[38]</sup>. 本文利用单参数分岔分析分别预测了 PKA 和 PP1 对细胞质钙信号的影响, 发现 PKA 对钙信号的促进作用有一定的局限性, 特别是随着  $[\text{IP}_3]$  和 [Bcl-2] 的减小, PKA 对钙信号的影响越来越弱. 而 PP1 可以有效地抑制钙信号, 而且预测其调节钙信号的方式与 Bcl-2 极其相似. 这些结果表明, 在对该信号通路进行干预时需要注意 PKA 和 PP1 的用法和用量.

本文的模型表明,  $\text{IP}_3$  对钙信号振幅有促进作用, Bcl-2 对钙信号振幅的影响整体呈现抑制作用, PKA 和 Bcl-2 对钙信号有相反的作用. 当不同浓度的  $\text{IP}_3$ , Bcl-2 和 PKA 相互组合时, 它们对钙信号振幅有复杂的调控作用: 有时呈现鲁棒性, 有时呈现促进作用, 有时呈现抑制作用. 这些复杂而丰富的调控作用使得  $\text{Ca}^{2+}$  振荡对不同刺激信号有丰富的编码行为, 恰好说明了  $\text{Ca}^{2+}$  能成为细胞内重要的信使分子, 参与并控制许多细胞活动过程的原因.

根据模型的动力学讨论, Bcl-2 蛋白通过钙信号调控细胞命运的机制如下: 高浓度的 Bcl-2 会加快 pDARPP-32 的去磷酸化, 减小后者对 PP1 的抑制作用, 使更多的 PP1 促进 p $\text{IP}_3\text{R}$  的去磷酸化, 降

低 p $\text{IP}_3\text{R}$  的浓度, 从而减少内质网  $\text{Ca}^{2+}$  的释放, 有利于细胞存活. 相反, 低浓度的 Bcl-2 使 pDARPP-32 去磷酸化的过程减慢, 后者可以充分发挥对 PP1 的抑制作用, 使得 PP1 不能很好地将 p $\text{IP}_3\text{R}$  去磷酸化, 从而增加内质网  $\text{Ca}^{2+}$  的释放, 引起细胞凋亡.

本研究的局限之处在于: 一方面, Bcl-2 通过抑制  $\text{IP}_3\text{R}$  通道活性降低  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{Cyt}}$  的机制有两种, 为了研究清楚间接机制而未考虑直接机制, 事实上两者之间可能存在一定程度的耦合, 这是以后将要研究的问题; 另一方面, Bcl-2 蛋白作为细胞中一个关键的抗凋亡蛋白, 也可与其他促凋亡蛋白, 如 PUMA, Bax 等结合<sup>[39]</sup>, 从而影响它与  $\text{IP}_3\text{R}$  的结合效率; 此外,  $\text{Ca}^{2+}$  信号动力学也受其他多种信号分子, 如 p53 蛋白的调控<sup>[40]</sup>. 总之, 细胞生理活动是一个极其复杂的过程, 本文的研究仅是为了深刻揭示 Bcl-2 间接抑制  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{Cyt}}$  的机制, 并不能完全反映实际的情况.

虽然本文的研究有一定的局限性, 但是它不仅能够使人们更系统、深入地了解 Bcl-2 蛋白抑制钙信号的机制, 而且可以揭示该信号通路中相关的蛋白如何通过调节钙信号决定细胞的命运, 因此可为因钙信号失调而导致的多种疾病, 如癌症<sup>[41,42]</sup>、阿尔兹海默症等<sup>[10]</sup> 提供有用信息.

## 参考文献

- [1] Berridge M J, Bootman M D, Roderick H L 2003 *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **4** 517
- [2] Orrenius S, Zhivotovsky B, Nicotera P 2003 *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **4** 552
- [3] Parekh A B 2011 *Trends Biochem. Sci.* **36** 78
- [4] Gerasimenko J V, Gerasimenko O V, Palejwala A, Tepikin A V, Petersen O H, Watson A J 2002 *J. Cell Sci.* **115** 485
- [5] Scorrano L, Oakes S A, Opferman J T, Cheng E H, Sorcinelli M D, Pozzan T, Korsmeyer S J 2003 *Science* **300** 135
- [6] Florea A M, Spletstoesser F, Dopp E, Rettenmeier A W, Büsselberg D 2005 *Toxicology* **26** 1
- [7] Boehning D, Patterson R L, Sedaghat L, Glebova N O, Kurosaki T, Snyder S H 2003 *Nat. Cell Biol.* **5** 1051
- [8] Piacentini R, Gangitano C, Ceccariglia S, Fà A D, Azzena G B, Michetti F, Grassi C 2008 *J. Neurochem.* **105** 2109
- [9] Kim I, Xu W, Reed J C 2008 *Nat. Rev. Drug Discov.* **7** 1013
- [10] Qi H, Shuai J W 2016 *Med. Hypotheses* **89** 28
- [11] Prole D L, Taylor C W 2016 *J. Physiol.* **594** 2849



- [12] Foskett J K, White C, Cheung K H, Mak D O D 2007 *Physiol. Rev.* **87** 593
- [13] Vervliet T, Parys J, Bultynck G 2016 *Oncogene* **35** 5079
- [14] Rong Y P, Bultynck G, Aromolaran A S, Zhong F, Parys J B, de Smedt H, Mignery G A, Roderick H L, Bootman M D, Distelhorst C W 2009 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **106** 14397
- [15] Chang M J, Zhong F, Lavik A R, Parys J B, Berridge M J, Distelhorst C W 2014 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **111** 1186
- [16] Lu B Y, Yue H 2010 *Acta Biophys. Sin.* **26** 406 (in Chinese) [鲁保云, 岳红 2010 生物物理学报 **26** 406]
- [17] Li X, Liu F, Shuai J W 2016 *Acta Phys. Sin.* **65** 212 (in Chinese) [李翔, 刘锋, 帅建伟 2016 物理学报 **65** 212]
- [18] Li Y X, Rinzel J 1994 *J. Theor. Biol.* **166** 461
- [19] Ferrell J E, Ha S H 2014 *Trends Biochem. Sci.* **39** 496
- [20] Li H, Rao A, Hogan P G 2011 *Trends Cell Biol.* **21** 91
- [21] Yi M, Zhao Q, Tang J, Wang C 2011 *Biophys. Chem.* **157** 33
- [22] Goldbeter A 1991 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **88** 9107
- [23] Parys J, Bezprozvanny I 1995 *Cell Calcium* **18** 353
- [24] Svenningsson P, Nishi A, Fisone G, Girault J A, Nairn A C, Greengard P 2004 *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **44** 269
- [25] Shin S Y, Choo S M, Kim D, Baek S J, Wolkenhauer O, Cho K H 2006 *FEBS Lett.* **580** 5965
- [26] Neves S R, Tsokas P, Sarkar A, Grace E A, Rangamani P, Taubenfeld S M, Alberini C M, Schaff J C, Blitzer R D, Moraru I I 2008 *Cell* **133** 666
- [27] Lindner A U, Prehn J H, Huber H J 2013 *Mol. Biosyst.* **9** 2359
- [28] Alzayady K J, Wang L, Chandrasekhar R, Wagner L E 2016 *Sci. Signal.* **9** ra35
- [29] De Young G W, Keizer J 1992 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **89** 9895
- [30] Shuai J W, Jung P 2003 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **100** 506
- [31] Qi H, Li L X, Shuai J W 2015 *Sci. Rep.* **5** 7984
- [32] Sneyd J, Han J M, Wang L, Chen J, Yang X, Tanimura A, Sanderson M J, Kirk V, Yule D I 2017 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **114** 1456
- [33] Alon U 2007 *Nat. Rev. Genet.* **8** 450
- [34] Dyachok O, Gylfe E 2004 *J. Biol. Chem.* **279** 45455
- [35] Chaloux B, Caron A Z, Guillemette G 2007 *Biol. Cell* **99** 379
- [36] Ceulemans H, Bollen M 2004 *Physiol. Rev.* **84** 1
- [37] Bononi A, Agnoletto C, De Marchi E, Marchi S, Patergnani S, Bonora M, Giorgi C, Missiroli S, Poletti F, Rimessi A, Pinton P 2011 *Enzym. Res.* **2011** 26
- [38] Tang T S, Tu H, Wang Z, Bezprozvanny I 2003 *J. Neurosci.* **23** 403
- [39] Luna-Vargas M P, Chipuk J E 2016 *Trends Cell Biol.* **26** 906
- [40] Giorgi C, Bonora M, Sorrentino G, Missiroli S, Poletti F, Suski J M, Ramirez F G, Rizzuto R, Di Virgilio F, Zito E 2015 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **112** 1779
- [41] Roderick H L, Cook S J 2008 *Nat. Rev. Cancer* **8** 361
- [42] Monteith G R, Prevarskaya N, RobertsThomson S J 2017 *Nat. Rev. Cancer.* **17** 367

# Modeling of Bcl-2 protein suppressed calcium signaling and its global dynamics analysis\*

Niu Shuai<sup>1)2)</sup> Shuai Jian-Wei<sup>3)†</sup> Qi Hong<sup>1)‡</sup>

1) (Complex Systems Research Center, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

2) (School of Mathematical Sciences, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

3) (Department of Physics, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

( Received 9 June 2017; revised manuscript received 18 July 2017 )

## Abstract

Calcium ion ( $\text{Ca}^{2+}$ ) is a signal for both life and death in cells. Either directly or indirectly, Bcl-2 protein can regulate  $\text{Ca}^{2+}$  release from  $\text{IP}_3\text{R}$  channel, thereby determining the cell fate. In this work, based on recent experimental results, a mathematical model is constructed to describe the signaling pathway of  $\text{Ca}^{2+}$  release regulated by Bcl-2 indirectly. The model output fits nicely to the experimental data. The model demonstrates that Bcl-2 can suppress  $\text{Ca}^{2+}$  signaling. After the robustness test of the model, the roles of some key components in the signaling pathway are predicted. Two-parameter bifurcation analyses of  $[\text{IP}_3]$  and  $[\text{Bcl-2}]$  are conducted to show that Bcl-2 has a crucial role in the oscillatory region of  $\text{Ca}^{2+}$  signaling. Single-parameter bifurcation analyses of  $[\text{PP1}]$  and  $[\text{PKA}]$  reveal that the PP1 can inhibit  $\text{Ca}^{2+}$  from signaling potently, while PKA only promotes  $\text{Ca}^{2+}$  signaling to some extent. Our model also indicates that the different combinations of concentrations of  $\text{IP}_3$ , Bcl-2 and PKA generate complex regulations on  $\text{Ca}^{2+}$  signaling. This work not only plays a guiding role in relevant biological experiments, but also provides some insights into the treatment of diseases caused by disruption of  $\text{Ca}^{2+}$  homeostasis.

**Keywords:** Bcl-2 protein, calcium signaling, bifurcation analysis

**PACS:** 87.18.Vf, 87.10.Ed, 82.40.Bj

**DOI:** 10.7498/aps.66.238701

\* Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant Nos. 11504214, 31370830, 11675134).

† Corresponding author. E-mail: [jianweishuai@xmu.edu.cn](mailto:jianweishuai@xmu.edu.cn)

‡ Corresponding author. E-mail: [hongqi@sxu.edu.cn](mailto:hongqi@sxu.edu.cn)