



دانشگاه شاهرود

دانشگاه شاهد

دانشکده فنی و مهندسی

پایان نامه دوره کارشناسی ارشد مهندسی برق-کنترل

مدلسازی بخش مرکزی پروتئین p53 با استفاده از systemC

محمد فرید بیات

استاد راهنما:

محمد باقر غزنوی قوشچی

پائیز ۱۳۸۸

کلیه حقوق این پایان نامه متعلق به دانشگاه شاهد می باشد.

تقدیم به مولایم صاحب الزمان، حضرت ولی عصر (عجل الله تعالی فرجه الشریف) و تقدیم به پدرم که با زحمت فراوان، راه پیشرفت را برایم هموار کرد و راه و رسم زندگی به من آموخت و تقدیم به مادرم که زندگیم را مرهون تلاش‌های فداکارانه او و دعا‌های شبانه او هستم.

خال لب‌ت ای دوست گرفتارم کرد.
چشم بیمار تو باز تیمارم کرد.
من ملامت بکشم از غم هجران رخت
شوق وصل و غم هجران تو باز بیدارم کرد.

با تشکر فراوان از استاد گرامی، جناب آقای دکتر غزنوی که صبورانه، مرا در به ثمر رسیدن این پروژه یاری فرمودند و تقدیم به جناب آقای احمدیان پور، بابت راهنمایی‌های سودمند ایشان

چکیده

همزمانی، یکی از جنبه‌های مهم در شبیه‌سازی سیستم‌های مختلف است. یکی از ابزارهای بسیار مناسب جهت شبیه‌سازی سیستم‌های همزمان، شبکه‌های پتری هستند. شبکه‌های پتری تاکنون برای شبیه‌سازی سیستم‌های مختلفی از جمله سیستم‌های بیولوژیکی به کار برده شده‌اند. در این پروژه، با ادغام ویژگی‌های یکی از کاملترین نسل‌های خانواده شبکه پتری با توانایی‌های یک زبان توصیف سخت‌افزار، ما روشی نوین جهت مدل‌سازی شبکه‌های بیولوژیک فراهم نموده‌ایم. استفاده از شبکه‌های بیولوژیکی، به‌ویژه شبکه‌های نورونی طبیعی، مزایای بسیار زیادی را در سخت‌افزارهای آینده فراهم خواهد نمود. روش پیشنهادی در این پروژه، به دلیل استفاده از یک زبان توصیف سخت‌افزار به همراه یکی از اعضاء خانواده شبکه پتری که برای پیاده‌سازی شبکه‌های بیولوژیک طراحی شده است، قادر خواهد بود که بستری فراهم آورد تا شبکه‌های بیولوژیک را بتوان در کنار یک سیستم سخت‌افزاری، به صورت توأم و با دقت زیاد شبیه‌سازی نماید.

کلید واژه: شبکه پتری، SystemC، همزمانی، P53

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
ط	فهرست جدول‌ها.....
۱	فصل ۱- مقدمه
۴	فصل ۲- ملکول P53.....
۴	۱-۲- مقدمه:
۴	۲-۲- تاریخچه:
۴	۳-۲- ساختار:
۵	۴-۲- مکانیزم:
۵	۵-۲- ژن‌های هدف:
۶	۶-۲- تنظیم p53 :
۷	۷-۲- نقش‌های p53.....
۸	۸-۲- نقش در بیماری:
۸	۹-۲- مدل‌سازی شبکه تنظیمی P53:.....
۸	۱-۹-۲- مقدمه:.....
۱۱	۲-۹-۲- اعضای اصلی شبکه مابین آسیب و تنظیم p53:.....
۱۲	۱۰-۲- هسته شبکه:
۱۲	۱-۱۰-۲- p53 :.....
۱۲	۲-۱۰-۲- MDM2 :.....
۱۴	فصل ۳- روش‌های مدل‌سازی شبکه بیولوژیک:
۱۴	۱-۳- مقدمه:
۱۵	۲-۳- شبکه‌های پتری:
۱۵	۱-۲-۳- ساختار شبکه پتری:.....
۱۶	۲-۲-۳- اعضای خانواده Petri با کاربرد در حوزه بیولوژی:.....
۱۶	۱-۲-۲-۳- شبکه پتری مرکب:
۱۷	۲-۲-۲-۳- شبکه پتری دینامیک:
۱۸	۳-۲-۲-۳- شبکه پتری عملیاتی مرکب:.....
۲۰	فصل ۴- TCHFPN
۲۰	۱-۴- مروری سریع بر SystemC :
۲۰	۱-۱-۴- ماژول‌ها و وراثت:
۲۱	۲-۱-۴- Methodها و Threadها در SystemC:.....

۲۲	رویداد، حساسیت، اعلان	۳-۱-۴
۲۲	کانال‌ها و واسط‌ها:	۴-۱-۴
۲۳	جمع‌بندی اجزاء SystemC:	۵-۱-۴
۲۳	هسته شبیه‌سازی در SystemC:	۶-۱-۴
۲۵	پیاده‌سازی اجزاء اصلی HFPN در SystemC:	۲-۴
۲۵	پیاده‌سازی Place:	۱-۲-۴
۲۶	پارامترهای تنظیمی Species:	۱-۱-۲-۴
۲۷	شرح دقیق کد نوشته شده برای Species:	۲-۱-۲-۴
۳۱	پیاده‌سازی Transition:	۲-۲-۴
۳۲	بخش ۱، پارامترهای Reaction:	۱-۲-۲-۴
۳۳	بخش ۲، پورت‌های ورودی و خروجی Reaction:	۲-۲-۲-۴
۳۳	بخش ۳، متغیرهای تعریف‌شده برای Reaction:	۳-۲-۲-۴
۳۳	بخش ۴، module_constructor:	۴-۲-۲-۴
۳۴	بخش ۵، Process Definition:	۵-۲-۲-۴
۳۸	پیاده‌سازی ARC:	۳-۲-۴
۴۰	پارامترهای تعریف شده برای ماژول Connector:	۱-۳-۲-۴
۴۱	تعریف پورت‌های ورودی/خروجی:	۲-۳-۲-۴
۴۲	متغیرهای داخلی:	۳-۳-۲-۴
۴۳	تعریف پروسس prc_connector:	۴-۳-۲-۴
۴۳	پروسس connector_initializer:	۵-۳-۲-۴
۴۴	بخش Constructor:	۶-۳-۲-۴
۴۴	نحوه ایجاد یک شبکه ساده در TCHFPN:	۴-۲-۴

فصل ۵ - CSML2SystemC، روشی خودکار برای ساخت TCHFPN از HFPN ۴۷

۴۷	مقدمه	۱-۵
۴۷	Cell System Markup Language	۲-۵
۴۸	نرم‌افزار CSML2SystemC:	۳-۵
۴۹	Class های CSML2SystemC:	۱-۳-۵
۴۹	Entity:	۱-۱-۳-۵
۴۹	Process:	۲-۱-۳-۵
۴۹	Connector:	۳-۱-۳-۵
۵۰	ماژول Monitor	۴-۱-۳-۵

فصل ۶ - بررسی عملکرد TCHFPN: ۵۱

۵۱	مسیر عملکرد:	۱-۶
۵۲	شبیه‌سازی شبکه تنظیمی پروتئین P53	۲-۶
۵۶	مقایسه هسته شبیه‌سازی طراحی شده برای TCHFPN با CellIllustrator™:	۳-۶
۵۶	مقایسه از نظر سرعت محاسباتی:	۱-۳-۶

۵۶ مقایسه از نظر دقت: ۲-۳-۶

۵۹ **ضمیمه أ - CSML:**

۶۴ **ضمیمه ب - نرم افزار Cell Illustrator:**

Error! Bookmark not defined. فهرست مراجع

Error! Bookmark not defined. واژه نامه فارسی به انگلیسی

Error! Bookmark not defined. واژه نامه انگلیسی به فارسی

فهرست جدول‌ها

صفحه	عنوان
۴۴	جدول ۱-۴- پارامترهای مرتبط با ماژول‌های Specie استفاده شده در شکل ۹
۴۴	جدول ۲-۴- پارامترهای مربوط به ماژول Reaction استفاده شده در شکل ۹
۴۵	جدول ۳-۴- پارامترهای مرتبط با ماژول‌های Specie استفاده شده در شکل ۹
۵۴	جدول ۱-۶- رویدادهای بیولوژیکی مربوط به HFNP نمایش داده شده در شکل ۲-۶
۵۵	جدول ۲-۶- مقادیر اولیه Place‌های نمایش داده شده در شکل ۲-۶
۵۸	جدول ۳-۶- مقایسه نتایج بدست‌آمده از شبیه‌سازی شبکه تنظیمی پروتئین P53 بوسیله نرم‌افزار Cell-Illustrator و TCHFPN

فصل ۱ - مقدمه

بشر در راه پیشرفت، همواره با مشکلات بسیار زیادی روبرو بوده است. که در بسیاری از موارد، طبیعت با استفاده از راه‌حل‌هایی بسیار کارآمد، بر مسائل مشابه فائق آمده است. در علم طراحی سخت‌افزار نیز موارد بسیار زیادی از این دست مشکلات وجود دارند که با الگوبرداری از طبیعت، امیدهای بسیار زیادی برای حل آن مسائل ایجاد خواهد شد. مصرف توان، قدرت محاسبات، الگوریتم‌های خطایابی، قابلیت اطمینان، قدرت بازیابی، تکثیر و غیره، نمونه‌ای از مسائل روز علم طراحی سخت‌افزار هستند که از هزاران و میلیون‌ها سال قبل، خداوند راه‌حل‌هایی بسیار کارآمد و اعجاب‌انگیز برای آن‌ها ارائه نموده است. خداوند متعال، در بیش از ۷۵۰ مورد، به پدیده‌های طبیعی اشاره نموده و انسان را به تفکر در آفرینش و خلقت دعوت می‌نماید. *قُلْ انظُرُوا مَاذَا فِي السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَمَا تُغْنِي الْآيَاتُ وَالنُّذُرُ عَنْ قَوْمٍ لَّا يُؤْمِنُونَ ، قُلْ سِيرُوا فِي الْأَرْضِ فَانظُرُوا كَيْفَ بَدَأَ الْخَلْقَ ثُمَّ اللَّهُ يُنشِئُ النَّشْأَةَ الْآخِرَةَ إِنَّ اللَّهَ عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ قَدِيرٌ ، أَلَمْ يَخْلُقْ سَبْعَ سَمَاوَاتٍ طِبَاقًا مَّا تَرَىٰ فِي خَلْقِ الرَّحْمَنِ مِن تَفَوتٍ فَارْجِعِ الْبَصَرَ هَلْ تَرَىٰ مِن فُطُورٍ ، ثُمَّ ارْجِعِ الْبَصَرَ كَرَّتَيْنِ يَنقَلِبْ إِلَيْكَ الْبَصَرُ خَاسِئًا وَهُوَ حَسِيرٌ*^۱ نمونه‌هایی از آیات فوق هستند. تفکر در آیات الهی، علاوه بر کمک به خداشناسی، انسان را در یافتن راه‌حل‌های مناسب برای فائق آمدن بر مشکلاتش بر سر راه پیشرفت و تکامل، یاری می‌فرماید.

در مقایسه با سیستم سخت‌افزاری، سیستم بیولوژیک نکات قوت بسیار زیادی دارد که پیاده‌سازی هر کدام از آن‌ها در علم سخت‌افزار، می‌تواند به منزله یک انقلاب بزرگ تکنولوژیک در نظر گرفته شود. به عنوان مثال، مصرف توان یکی از مسائل مهم تعیین‌کننده در طراحی مدارهای مجتمع است. در تکنولوژی‌های زیر میکرون، چگالی مصرف توان به میزانی بالا می‌رود که به عاملی محدودکننده در طراحی‌های فشرده‌تر تبدیل می‌گردد.

برای الگوبرداری صحیح از یک سیستم، ابتدا نیاز به شناخت آن سیستم داریم. مدلسازی، یکی از ابزارهای مناسب جهت شناخت بیشتر یک سیستم، و بررسی رفتارهای گوناگون سیستم در برابر عوامل مختلف است. چنان‌چه در فصول قبل اشاره شد، تلاش‌های بسیار زیادی جهت مدلسازی سیستم‌های بیولوژیکی صورت پذیرفته است. که بیشتر آن‌ها، مبتنی بر شبکه‌های پتری به عنوان یکی از بهترین ابزار مدلسازی برای سیستم‌های همزمان^۲ می‌باشد. در بیشتر این تلاش‌ها، چنان‌چه اشاره شد، جهت پیاده‌سازی و تعریف شبکه‌های بیولوژیک مبتنی بر پتری، دانشمندان از زبان‌های مبتنی بر XML به دلیل توانایی‌های آن‌ها برای کار با پایگاه داده استفاده می‌کنند. در این پروژه، روش جدیدی برای پیاده‌سازی این شبکه‌ها، بر مبنای systemC توسعه داده شده است. Systemc، یکی از ابزارهای استاندارد

^۱سوره یونس، آیه ۱۰۱

^۲سوره عنکبوت، آیه ۲۰

^۳سوره ملک، آیات ۳ و ۵

[۱] برنامه‌نویسی توصیف سخت‌افزار^۱، در واقع یک افزونه به صورت Library به زبان برنامه‌نویسی C++ است که امکان پیاده‌سازی سیستم‌های همزمان را در آن ایجاد نموده، همچنین با تعریف متغیرهای جدید مانند سیگنال، پیاده‌سازی دقیق سیستم‌های سخت‌افزاری را در آن امکان‌پذیر می‌نماید. امروزه، systemC به صورت گسترده‌ای جهت مدلسازی و شبیه‌سازی سیستم‌های سخت‌افزاری بزرگ و پیچیده استفاده می‌گردد که این امر، بیانگر توانایی‌های بسیار زیاد این استاندارد جهت کار با سیستم‌های بزرگ همزمان است. استفاده از systemC جهت پیاده‌سازی شبکه‌های بیولوژیک همزمان، از یک سو، امکان شبیه‌سازی دقیق‌تر همزمانی را ایجاد کرده، و از سوی دیگر، مدلسازی این شبکه‌ها را یک قدم به سخت‌افزار نزدیکتر نموده است. پیاده‌سازی این سیستم‌ها در سخت‌افزار، می‌تواند ابزار بسیار مناسبی جهت الگوبرداری از سیستم‌های بیولوژیک در طرح‌های آینده سخت‌افزار بوده، و راه استفاده از ویژگی‌های حیرت‌انگیز آن‌ها را در سخت‌افزارهای آینده هموار نموده و مشکلات موجود در راه طراحی سخت‌افزار را حل نماید.

روش پیشنهادی در این پروژه، بر Hyper Functional Peti Net به عنوان آخرین نمونه از تلاش‌های صورت‌گرفته برای مدلسازی سیستم‌های بیولوژیکی مبتنی بر شبکه‌های پتری بنانهاده شده است. در این بخش، در ابتدا نحوه پیاده‌سازی اجزاء اصلی HFPN در systemC به تفصیل شرح داده خواهد شد. سپس، روشی برای پیاده‌سازی خودکار شبکه‌های مبتنی بر systemC از شبکه‌های HFPN ارائه خواهد گردید. شبکه‌های بیولوژیک، معمولاً شبکه‌های با تعداد عناصر زیاد هستند که پیاده‌سازی دستی آن‌ها، بسیار زمان‌گیر و پرخطا است. این سیستم خودکار، کمک می‌کند که در با کمترین خطا، شبکه‌های موجود مبتنی بر HFPN را بتوانیم با روش طراحی شده، در systemC پیاده‌سازی نماییم.

در این پروژه، با استفاده از روش مدلسازی پیشنهادی، پروتئین P53 مدلسازی و شبیه‌سازی می‌گردد. لازم به ذکر است که این پروتئین، چنانچه در بخش مربوطه مورد بررسی قرار خواهد گرفت، می‌تواند با بررسی زنجیره DNA، خطاهای رخ داده را در هنگام کپی‌برداری دریافت کرده و بسته به موقعیت، جهت رفع خطا اقدام نماید و در نتیجه، به عنوان عامل ضد سرطان شناخته می‌شود. هسته هر سلول، حاوی ملکول DNA است که حاوی برنامه‌ریزی‌های لازم برای هر سلول جهت تعیین نحوه عملکرد آن در موقعیت قرار گرفته و تعامل آن با ملکول‌های دیگر است و در نتیجه، حاوی حجم بسیار زیادی از اطلاعات است. در نتیجه، شناخت مناسب از نحوه عملکرد ملکول P53، می‌تواند منجر به کشف روش‌های نوین و کارا برای بررسی و خطایابی اطلاعات در حجم زیاد باشد.

این پایان نامه، به صورت زیر چارچوب‌بندی شده است. فصل ۱، به صورت خلاصه به معرفی این پروژه می‌پردازد. در فصل ۲، ملکول P53، شبکه تنظیمی آن و نقش آن در فرآیندهای مربوط به DNA توضیح داده شده است. فصل ۳، به معرفی برخی روش‌های رایج مدلسازی شبکه‌های بیولوژیک و کاربرد شبکه‌های پتری در مدلسازی سیستم‌های بیولوژیکی می‌پردازد. فصل ۴، روش پیشنهادی (TCHFPN) در این پروژه را به تفصیل معرفی می‌نماید. در فصل ۵، CSML2SystemC به عنوان ابزاری خودکار برای

¹ Hardware Description Language (HDL)

پیاده‌سازی TCHFPN با استفاده از مدل موجود مبتنی بر شبکه پتری معرفی و شرح داده شده است. در فصل ۶، ما عملکرد روش پیشنهادی را با استفاده از مقایسه با نتایج حاصله از روش‌های رایج، مورد بررسی قرار داده‌ایم.

فصل ۲- ملکول P53

۲-۱- مقدمه:

ملکول p53 که به نام TP53 و یا پروتئین تومور (EC: 2.7.1.37) نیز نامیده می‌شود، ژنی است که می‌تواند سیکل سلولی را از طریق سرکوب کردن تومور^۱ تنظیم نماید. سرکوب تومور برای ارگانسیم‌های چندسلولی بسیار مهم است. P53 به صورت "محافظ ژنوم"^۲ توصیف می‌شود، چرا که می‌تواند جلوی جهش ژنتیکی را بگیرد [۲]. نام این ملکول، به دلیل جرم ملکولی آن است.

۲-۲- تاریخچه:

پروتئین P53 در سال ۱۹۷۹ توسط Arnold Levine ، David Lane و William Old که به ترتیب در دانشگاه Princeton، دانشگاه Dundee در بریتانیا و بیمارستان Sloan-Kettering Memorial کار می‌کردند، شناسایی شد. در ابتدا، فرض می‌شد که این ملکول، هدف ویروس SV40 است. این ویروس، رشته‌ای است که سبب گسترش تومور می‌گردد. اگرچه در ابتدا فرض می‌شد که این ملکول، یک آنکوژن^۳ باشد، اما ویژگی آن به عنوان سرکوبگر تومور در ۱۹۸۹ مشخص شد. در سال ۱۹۹۳، مجله ساینس^۴، پروتئین p53 را "ملکول سال" نامید.

۲-۳- ساختار:

ملکول p53، یک فسفوپروتئین است که از ۳۹۳ اسید آمینه تشکیل شده است. این ملکول، دارای ۴ بخش است:

- ناحیه‌ای که فاکتورهای رونویسی^۵ را فعال سازی می‌کند.
- ناحیه‌ای که رشته‌های بخصوصی از دی‌ان‌ای^۶ را شناسایی می‌کند (ناحیه مرکزی).
- ناحیه‌ای که مسئول چهاربخشی شدن^۷ پروتئین است.
- ناحیه‌ای که دی‌ان‌ای آسیب‌دیده (همانند جفت‌بازهای ناهم‌جور^۸ و ناحیه تک-رشته‌ای^۹) را شناسایی می‌کند.

¹ Tumor Suppression

² The Guardian of the Genome

³ Oncogene

⁴ Science Magazine

⁵ Transcription Factors

⁶ DNA

⁷ Tetramerization

⁸ Misaligned Base Pairs

⁹ Single-Stranded

پروتئین P53 نوع وحشی، یک پروتئین ناپایدار^۱ است که از نواحی تاخورد^۲ و بدون ساختار تشکیل شده است که به صورت همکاری کننده^۳ عمل می کند [۳].

۲-۴- مکانیزم:

پروتئین P53، نقش مهمی در کنترل سیکل سلولی و مرگ برنامه ریزی شده سلول^۴ ایفا می کند. این پروتئین، در حالت ناسالم، می تواند به سلول های غیرطبیعی اجازه تکثیر^۵ دهد، این امر، در سرطان رخ می دهد. جهش p53 در حدود ۵۰٪ سرطان های انسان مشاهده می شود.

در سلول های نرمال، میزان پروتئین p53 کم است. آسیب دی ان ای و یا سیگنال های استرس دیگری می توانند سبب افزایش میزان پروتئین p53 گردند. پروتئین p53 سه عمل اصلی می تواند انجام دهد: جلوگیری از رشد^۶، بازسازی دی ان ای^۷ و مرگ برنامه ریزی شده.

جلوگیری از رشد، پیشرفت سیکل سلولی را متوقف کرده، از کپی برداری دی ان ای آسیب دیده جلوگیری می کند. هنگام جلوگیری از رشد، p53 سبب فعال سازی پروتئین هایی می گردد که در بازسازی دی ان ای دخیل هستند. مرگ برنامه ریزی شده سلول، آخرین راه حل است که از تکثیر سلولی که حاوی دی ان ای غیر طبیعی است، جلوگیری می کند.

غلظت سلولی p53 باید به صورت دقیق^۸ تنظیم شود. اگرچه می تواند تومورها را سرکوب کند، اما میزان زیاد آن می تواند با انجام مرگ های برنامه ریزی شده سلولی به میزان فزاینده، سبب تسریع روند سالخوردگی^۹ شود. مهمترین تنظیم کننده p53، Mdm2 است که سبب کاهش میزان p53 می گردد.

۲-۵- ژن های هدف:

پروتئین P53 یک فعال کننده کپی برداری است که میزان Mdm2 (و در نتیجه خودش را) و نیز ژن هایی که در به دام انداختن رشد^{۱۰}، تعمیر دی ان ای و مرگ برنامه ریزی شده سلول دخیلند، فعال سازی می کند. برخی از ژن های مهم در زیر آمده اند:

۱. به دام انداختن رشد: p21، Gadd45 و 14-3-3σ.

۲. تعمیر دی ان ای: p53R2.

۳. مرگ برنامه ریزی شده سلول: Bax، Apaf-1، PUMA و NoxA.

¹ Labile

² Folded

³ Synergistic

⁴ Apoptosis

⁵ Proliferate

⁶ Growth Arrest

⁷ DNA Repair

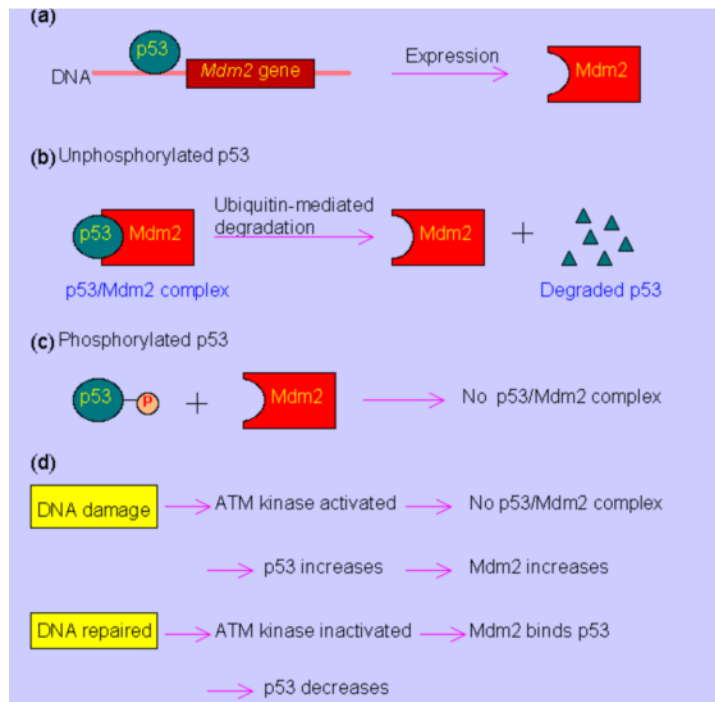
⁸ Tightly

⁹ Aging

¹⁰ Growth Arrest

۲-۶- تنظیم p53:

چنانچه در بالا ذکر شد، کنترل اصلی p53 با Mdm2 صورت می‌پذیرد. مکانیزم تنظیم در شکل ۱-۲ نشان داده شده است.



شکل ۱-۲ تنظیم p53

توضیح شکل ۱-۲ تنظیم p53:

- (a) فعال‌سازی تولید Mdm2 به وسیله p53.
(b) اتصال p53 به Mdm2 سبب کاهش میزان p53 می‌گردد.
(c) فسفوریل^۱ شدن p53، سبب قطع اتصال^۲ آن از Mdm2 می‌گردد. در سلول‌های عادی، p53 فسفوریل نشده و به وسیله Mdm2، در میزان کم باقی می‌ماند.
(d) آسیب دی‌ان‌ای سبب فعال‌سازی کینازهای^۳ پروتئین (مانند ATM، DNA-PK یا CHK2) می‌شود که این کینازها، سبب فسفوریل شدن p53 می‌گردند، در نتیجه، میزان p53 زیاد می‌گردد. از آنجاییکه تولید Mdm2 نیز به وسیله p53 فعال‌سازی می‌گردد، افزایش p53 سبب افزایش Mdm2 نیز می‌گردد، اما Mdm2‌های تولیدشده، تاثیری روی p53‌های فسفوریل شده

¹ Phosphorylation

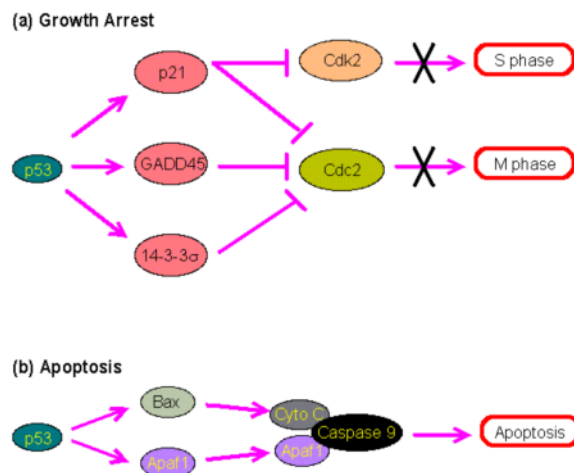
² Disrupt

³ Kinase: (آنزیمی که واکنش تبدیل پیش‌آنزیم به آنزیم را کاتالیز می‌کند).

ندارند. پس از تعمیر دی‌ان‌ای آسیب‌دیده، کیناز ATM دیگر وجود نداشته و p53 سریعاً به حالت غیر فسفوریل برمی‌گردد و توسط Mdm2 های انباشت شده، تخریب می‌شود.

۲-۷- نقش‌های p53

نقش‌های p53 در به دام‌انداختن رشد و نیز مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده، در نشان داده شده است. همچنین، p53 مستقیماً در تعمیر دی‌ان‌ای شرکت می‌کند. یکی از ژن‌های هدف کپی‌برداری^۱ آن، p53R2 است که برای تعمیر دی‌ان‌ای بسیار مهم است. همچنین، p53 مستقیماً با AP endonoclease و DNA polymerase تعامل دارد که هر دو در تعمیر به روش برش^۲ دخیلند.



شکل ۲-۲. نقش‌های p53 در به دام‌انداختن رشد و مرگ برنامه‌ریزی شده سلول

توضیح شکل ۲-۲. نقش‌های p53 در به دام‌انداختن رشد و مرگ برنامه‌ریزی شده سلول : پیشرفت سیکل سلول به فاز S نیازمند آنزیم Cdk2 است که به وسیله p21 از عمل آن جلوگیری می‌شود.^۳ پیشرفت به فاز M نیازمند Cdc2 است که از عمل آن به وسیله p21، GADD45 یا 14-3-3σ جلوگیری می‌شود. P53، تولید این پروتئین‌های بازدارنده^۴ را تنظیم کرده و با این کار، سبب توقف رشد سلولی می‌شود.

(a) مرگ سلولی برنامه‌ریزی به وسیله اتصال Caspase 9 به سیتوکروم^۵ c و Apaf1 است. p53 سبب فعال‌سازی تولید Apaf1 و Bax می‌گردد. Bax، می‌تواند سبب آزادسازی سیتوکروم c از میتوکندری^۶ گردد.

¹ Transcriptional
² Excision Repair
³ Inhibit
⁴ Inhibitor

⁵ Cytochrome : دسته‌ای از پروتئین‌های خونی که عملکرد بیولوژیکی اصلی آن همانند حامل‌های الکترون است.

⁶ Mitochondria

۲-۸- نقش در بیماری:

چنانچه p53 آسیب ببیند، میزان سرکوب تومور شدیداً کاهش میابد. افرادی که تنها یک کپی عمل کردی^۱ را به ارث می‌برند، احتمال بیشتری برای ابتلا به سرطان در دوران طفولیت دارند، این بیماری لی-فرامنی^۲ نام دارند. همچنین، این احتمال وجود دارد که p53 درون سلول و به وسیله عوامل جهش‌دهنده، جهش پیدا کند که احتمال رخ دادن^۳ تقسیم کنترل نشده سلولی را بیشتر می‌کند. بیش از ۵۰٪ تومورهای انسان، شامل جهش در p53 و یا حذف ژن p53 است. در حالت سالم، p53 دائماً تولید شده و در سلول، میزان آن کاهش داده می‌شود. کاهش میزان p53، همانطوری که اشاره شد، با اتصال به Mdm2 انجام می‌گردد. مابین p53 و Mdm2 یک فیدبک منفی وجود دارد.

۲-۹- مدل‌سازی شبکه تنظیمی P53:

۲-۹-۱- مقدمه:

ژن p53، یک سرکوب‌گر تومور است [۴] و به عنوان محافظ ژنوم^۴ نامیده می‌شود [۵]. این ملکول، نقش حیاتی در سلول ایفا می‌کند، چنانچه نتواند وظیفه خود را به درستی انجام دهد، سرطان به وجود می‌آید [۶].

پروتئین p53، گره اصلی در شبکه‌ای است که کارش توقف کپی‌برداری و در برخی مواقع، مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول^۵ است. کار اصلی این پروتئین، عمل به عنوان یک فاکتور کپی‌برداری^۶ است. در سلول‌های نرمال و آسیب‌ندیده، میزان p53 بسیار کم است. هنگامی که به دی‌ان‌ای آسیب برسد، اعضای این شبکه، با هم تعامل کرده و سبب می‌گردند p53 فعال، به میزان ۳ تا ۱۰ برابر افزایش یابد [۷، ۸]. این پروسه، بسیار سریع انجام می‌شود، به طوری که در برخی سلول‌ها، اولین رویداد مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده تنها پس از چند ساعت صورت می‌پذیرد [۹]. افزایش p53، از طریق سه مسیر اصلی می‌تواند انجام پذیرد:

▪ آسیب به دی‌ان‌ای:

۱- آسیب دی‌ان‌ای، چنانچه تعمیر نشود، ممکن است مهلک^۷ باشد، علاوه‌براین، دی‌ان‌ای آسیب‌دیده که به درستی تعمیر نشده باشد، ممکن است منجر به تولید پروتئین‌های جهش‌یافته شود که سبب ایجاد سرطان خواهد شد، این امر، اهمیت عمل به موقع این پروتئین را در

¹ Functional Copy

² Li-Fraumeni Syndrome

³ Likelihood

⁴ Guardian of the Genome

⁵ Apoptosis

⁶ Transcription Factor

⁷ Lethal

هنگامی که دی‌ان‌ای آسیب می‌بیند، نشان می‌دهد. برای پاسخ به آسیب دی‌ان‌ای، دو مسیر جداگانه وجود دارد:

۱. ATM^۱: یک پروتئین کلیدی است که در هنگام مشاهده شکستگی دو-رشته‌ای در دی‌ان‌ای، شروع به خبررسانی^۲ می‌کند. این مسیر، بسیار حساس است و حتی یک شکستگی دو-رشته‌ای در دی‌ان‌ای، می‌تواند سبب فعال‌سازی^۳ عمل افزایش سطح p53 گردد[۶].

۲. آسیب دی‌ان‌ای که به وسیله داروهای شیمی‌درمانی، نور ماوراء بنفش و بازدارنده‌های کیناز^۴-پروتئین ایجاد شده، سبب فعال‌سازی مسیری خواهد شد که برای تحریک شبکه p53،^۵ به جای ATM، CHK2 یا p14^{ARF}، به ATR^۶ و کیناز کازئین^۸ بستگی دارد[۶].

▪ سیگنال‌های رشد ناهنجار^۹

۲- این مسیر، توسط تولید ژن‌های سرطانی^{۱۰} مانند RAS یا Myc تحریک می‌شود[۱۰]. ژن‌های سرطانی، سبب تحریک رشد سلول شده، در نتیجه تولید بسیار زیاد نشان می‌هد که سلول سرطانی شده و نیاز به واکنش مناسب دارد. در انسان، ARF این تولید زیاد را یافته^{۱۱}، شبکه p53 را تحریک می‌کند[۱۱].

برای فعال‌سازی p53، باید در ترکیب^{۱۲} آن، یک تغییر به وجود آید، به گونه‌ای که چهارپاره^{۱۳} تشکیل داده و با دی‌ان‌ای، تشکیل پیوندی محکم دهد. این تغییر، با کم یا اضافه شدن گروه‌های شیمیایی گوناگونی انجام می‌پذیرد [۶]. در حالت فعال، پایداری p53 افزایش یافته، نیمه‌عمر آن از ۶ الی ۲۰ دقیقه، به ۱ ساعت می‌رسد [۱۱].

پس از اینکه پروتئین p53 پایدار و فعال شد، در هسته تجمع کرده و به رشته‌های خاصی از دی‌ان‌ای و پیش‌برنده‌ها^{۱۴} اتصال پیدا کرده و یا کپی‌برداری ژن‌های مجاور را سرکوب^{۱۵} می‌کند. p53، ژنی

¹ Ataxia Telangiectasia Mutated

² Signal

³ Trigger

⁴ Inhibitor

⁵ Kinase: an enzyme that catalyzes the conversion of a proenzyme to an active enzyme (Visual Thesaurus).

⁶ Stimulate

⁷ Ataxia Telangiectasia Related

⁸ Casein: a milk protein.

⁹ Aberrant Growth Signals

¹⁰ Oncogene

¹¹ Detect

¹² Conformation

¹³ Tetramer

¹⁴ Promoter

¹⁵ Suppress

بسیار پرکار^۱ است و بیش از ۱۵۰ ژن را هدف‌گیری می‌کند [۱۲]. کلاس‌های مختلفی از پروتئین وجود دارد که در پروفایل هدف p53، غلبه^۲ داشته و اثرات سرکوب تومور دارند [۶].

▪ مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده:

۳- p53، تعداد زیادی از پروتئین‌هایی را که در مسیرهای مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده شرکت دارند، کپی‌برداری می‌کند [۱۳]. این گروه، شامل پروتئین‌هایی از خانواده Bcl2، پروتئین‌های حوزه مرگ^۳، پروتئین‌هایی که سبب تحریک اجزاء اکسیژن می‌شود، پروتئین غشائی p53 که مجری^۴ مرگ سلولی است و با PMP-22 مرتبط است (PERP)، فاکتور رشد مشابه با انسولین که به پروتئین ۳ (IGF-BP3) متصل شده و رقیب^۵ فاکتور بقاء^۶ است، و فعال‌ساز پروتئاز مرگ سلولی که فاکتور مرگ سلولی یک (APAF1) را فعال می‌کند، است [۱۱]. Bax، عضوی از خانواده Bcl2، اولین فاکتور مرگ سلولی بود که به عنوان هدف p53 معین شد [۸].

▪ به دام انداختن رشد سلولی^۷:

۴- p53، سبب کپی‌برداری ژن‌هایی می‌شود که باعث توقف سیکل تقسیم سلولی می‌شوند. نشان داده شده است که p53 برای به دام انداختن طولانی مدت سیکل سلولی لازم است، اما برای کوتاه‌مدت، به دام انداختن اولیه سیکل سلولی مستقل از p53 است [۱۱]. پروتئین *p21^{Waf1/Cip1}*، پروتئینی است که به وسیله p53 کپی‌برداری می‌شود، نقشی بسیار مهم در نگهداری به دام انداختن سیکل سلولی دارد [۱۴]. اعتقاد بر این است که پریودهای کوتاه رکود^۸ سلول، به دلیل اتصال CHK1 به Cyclin D1 است و ATM احتمالاً سبب فعال‌سازی CHK1 است.

▪ جلوگیری از تشکیل عروق^۹:

۵- برای حفظ^{۱۰} رشد، تومور نیاز به مواد خام^{۱۱} دارد که برای رسیدن این مواد، نیاز به ارتباط با رگ‌های خونی زیاد دارد، برای نیل به این مقصود، بسیاری از تومورها از خود سیگنال‌های شیمیایی رها می‌کنند که سبب تشکیل رگ‌های جدید خونی می‌شود. نشان داده شده است که در حضور p53، با فعال‌سازی یا سرکوب ژن‌های تنظیم‌کننده ساخت رگ‌های جدید خونی، از تشکیل رگ‌های خونی جدید بازداری می‌شود [۱۵، ۱۶].

▪ پایدارسازی ژنتیک^{۱۲}:

¹ Prolific

² Predominate

³ Death Domain Proteins

⁴ Effector

⁵ Antagonist

⁶ Survival Factor

⁷ Growth Arrest

⁸ Stagnation

⁹ Angiogenesis Inhibition

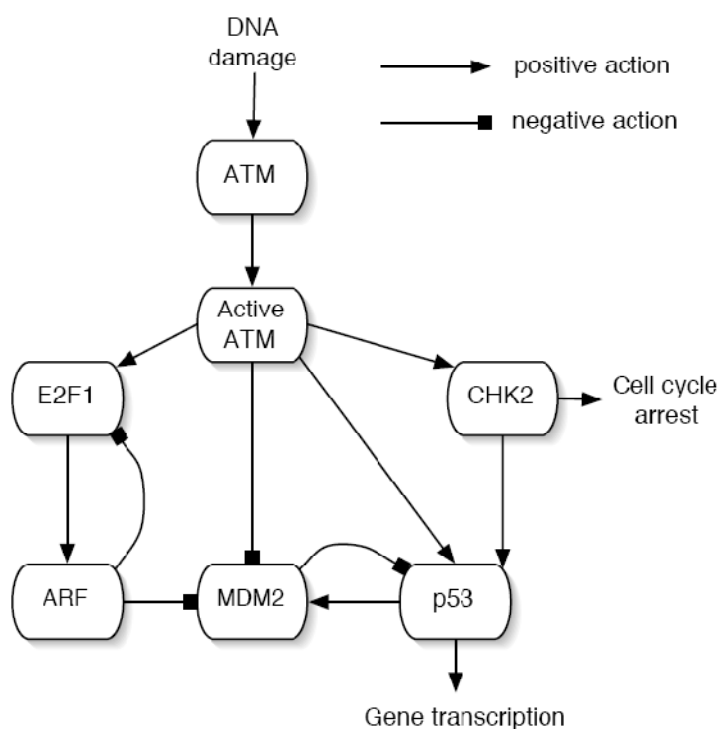
¹⁰ Sustain

¹¹ Raw Material

¹² Genetic Stabilization

۶- p53، در تعمیر دی‌ان‌ای شرکت می‌کند، و برخی از مکانیزم‌های عمل آن، هنوز کاملاً شناسایی نشده است. p53، سبب کپی‌برداری ژن‌های هدف مانند (p48)DDB2، GADD45 [۱۷] و p53R2 [۱۸] می‌شود که برای تعمیر برش-نوکلئوتید^۱ دی‌ان‌ای، ترکیب^۲ کروموزوم و جداسازی^۳ لازم هستند [۵]. نشان داده شده است که در سلول‌هایی که کمبود p53 دارند، تعمیر برشی نوکلئوتید در آن‌ها دیده نمی‌شود [۱۹]. همچنین پیشنهاد شده است که p53 خودش نقشی را در پایدارسازی ژنتیک به وسیله اتصال ترمینال^۴ C به اشکال مختلف آسیب دی‌ان‌ای ایفا می‌کند [۲۰].

۲-۹-۲- اعضای اصلی شبکه مابین آسیب و تنظیم p53:



شکل ۲-۳ دیاگرامی برای جمع‌بندی اجزاء عمده و روابط آن‌ها در فعال‌سازی بخش پروتئینی شبکه کنترل آسیب دی‌ان‌ای p53 [۴]

در شکل ۲-۳، اجزاء اصلی شبکه p53 را مشاهده می‌فرمائید. البته، شبکه آسیب دی‌ان‌ای p53، بسیار پیچیده‌تر از شکل نشان داده شده است.

¹ Nucleotide-Excision Repair

² Recombination

³ Segregation

⁴ C-terminal