

A POLARIZÁLT SEJTNÖVEKEDÉS ÉS A SEJTCIKLUS KAPCSOLATA

COORDINATION BETWEEN POLARISED CELL GROWTH AND CELL CYCLE

Csikász-Nagy Attila

egyetemi docens, Pázmány Péter Katolikus Egyetem Információs Technológiai és Bionikai Kar,
Randall Division of Cell and Molecular Biophysics and Institute for Mathematical and Molecular Biomedicine,
King's College London, UK
csikasz-nagy.attila@itk.ppke.hu

ÖSSZEFOGLALÁS

A sejtpolaritás létrehozását és fenntartását szabályozó molekuláris hálózat nagymértékben konzervált az eukariótákban. Számításos rendszerbiológiai módszerekkel vizsgáljuk a *Schizosaccharomyces pombe* hasadó élesztő sejtpolarizációt szabályozó hálózatát. Az *S. pombe* a sejtciklus G1 fázisában csak az egyik végén növekszik, míg G2 fázisban egy második növekedési zónát is elindít, így ideális tesztorganizmusként szolgálhat a sejtciklus és a sejtpolaritás szabályozó hálózatai közötti kapcsolat megértéséhez. Parciális differenciálegyenleteket írtunk fel a sejtpolaritást szabályozó kulcsmolekulák tér- és időbeli lokalizációjára és aktivitására, hogy megértsük, milyen típusú visszacsatolási hurkok fontosak a polarizált növekedés sejtciklusfüggő változásaihoz. Megállapítottuk, hogy az *S. pombe* polaritás-szabályozó rendszere egy térbeli gradiensthez kapcsolódó Turing-mintázatot kialakító hálózaton alapul. A továbbiakban a sejtciklust és a sejtpolaritást vezérlő fehérje-fehérje kölcsönhatási hálózatot analizáltuk, és ez alapján azonosítottunk új molekulákat, amelyek fontos szerepet játszanak a két biológiai folyamat összekapcsolásában.

ABSTRACT

The molecular regulatory network that regulates cell polarity establishment and maintenance is well conserved in eukaryotes. We investigate this system by computational systems biology approaches based on data from the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. This organism is growing only at one end in G1 phase, but turns on a second growth zone in G2 phase, so it can serve as an ideal testbed for understanding the coupling between the cell cycle and cell polarity networks. We wrote partial differential equations to describe the spatiotemporal localization and activity of the key molecules regulating cell polarity to understand what type of feedback loops are important for the cell cycle dependent changes in polarized growth. We found that the polarity control system of *S. pombe* is based on a Turing-pattern generating network coupled to a spatial gradient. We went further and analysed the protein-protein interaction network controlling the cell cycle and cell polarity to identify new factors that are important in the coupling between these processes.

Kulcsszavak: rendszerbiológia, matematikai modellezés, hálózatok, sejt polarizáció, sejt ciklus, mintázatok kialakulása

Keywords: systems biology, mathematical modelling, networks, cell polarity, cell cycle, pattern formation

ELŐZMÉNYEK

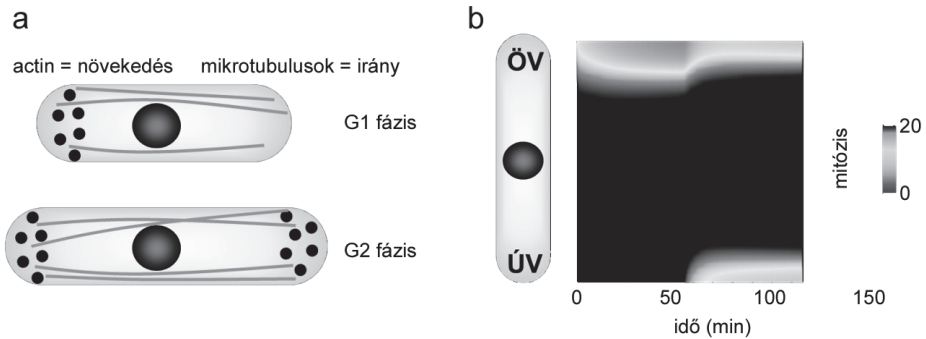
Számtalan sejt típusnál megfigyelhető az egyes sejtstruktúrák polarizált lokalizációja. Neuronok, hámszöveti sejtek, makrofágok és egysejtű organizmusok is képesek a sejtmembrán egy adott zónájára lokalizálni bizonyos molekulákat (Nelson, 2003). Ezek a molekulák fontosak lehetnek irányított kommunikáció, mozgás vagy polarizált növekedés szabályozásában. A rúd alakú hasadóélesztő-sejtek a növekedési zónájukat lokalizálják a rúd végeire, és csak itt nőnek (Mitchison–Nurse, 1985). Méghozzá a sejt ciklus G1 fázisában csak azon a végen nőnek, amelyik már létezett az előző hasadási sejtosztódás előtt (ún. öreg vég – ÖV), és a G2 fázis kezdetekor aktiválják csak az új véget (ÚV), és egészen a mitózisig mindkét végen nőnek (*I. ábra*). A növekedésért a lokalizáltan polimerizált aktin felelős, míg a pontos lokalizációért a mikrotubulusokon szállított fehérjekomplexek felelnek. Érdeemes megjegyezni, hogy a legfontosabb szabályozó fehérjék, amelyek felelősek a lokalizációért, konzerváltak az eukarióták között (Nelson, 2003). A sejt polarizációt szabályozó molekulák kölcsönhatásai nagymértékben ismertek, de a rendszer működését, különösképpen, hogy a polarizált növekedési minták mitől változnak meg a sejt ciklus előrehaladtával, még nem értjük (Csikász-Nagy et al., 2013). Az alábbiakban bemutatjuk, hogy a szabályozó hálózat különböző szintű matematikai modelljei hogyan segíthetnek bennünket közelebb kerülni a rendszer megértéséhez.

SZÁMÍTÁSOS MEGKÖZELÍTÉSI MÓDSZEREK

A számítási rendszerbiológia módszereinek alkalmazásával vizsgálni tudjuk, hogy a kísérletes alapon feltételezett szabályozó hálózatok milyen dinamikai viselkedéshez vezethetnek, és ezek mennyire egyeznek más, független kísérletes eredményekkel (Kitano, 2002; Nurse, 2003). Matematikai modellekkel összefoglalhatjuk eddigi tudásunkat, és vizsgálhatjuk, hogy az így megalkotott modellek mennyire képesek leírni a valóságot. A modell egyezése a kísérlettel a rendszer megértését segítheti, míg ha a modell csak részben egyezik a kísérletekkel, akkor predikciók, jóslások megalkotásában és a további kísérletes munka tervezésében segíthet (Gunawardena, 2014). A biológiai rendszerek vizsgálatához az ismert molekuláris kölcsönhatások hálózata alapján egy egyenletrendszert állítunk fel. Az egyenleteket szimulációkkal és a dinamikai

rendszerek vizsgálati módszereivel elemezzük, és ezáltal megpróbáljuk megérteni a sejtek fiziológiai viselkedését.

A sejt polarizáció modellezésekor nemcsak a molekulák aktivitásának időbeni változásait próbáljuk leírni, hanem a molekulák térbeni mozgását is. Ehhez parciális differenciálegyenleteket használunk, így komplexebb számítási feladatot kell megoldanunk, de a reakciókban részt vevő molekulák aktivitását térben és időben is jóslni tudjuk.



1. ábra. Hasadó élesztő növekedési mintázata (a) és a rendszer matematikai modelljének szimulációja (b), ahol egy autokatalitikusan polimerizálódó növekedést serkentő fehérjekoncentráció eloszlása van jelölve az idő és az egydimenzióssá egyszerűsített tér függvényében. A G1 fázisban a sejt csak az öreg végén (ÖV) nő, amelyik vég már jelen volt az anyasejtben is. Az utolsó osztódásnál keletkezett új vég (ÚV) csak G2 fázisban kapcsol be, amikor a sejt elért egy kritikus méretet.

A HASADÓ ÉLESZTŐ SEJTPOLARIZÁCIÓJÁNAK MATEMATIKAI MODELLEZÉSE

A hasadóélesztő-sejtek sejtciklusa és sejtnövekedési mintázata összekapcsoltságának a vizsgálatára kidolgoztunk egy reakció-diffúziós matematikai modellt (Gierer–Meinhardt, 1972; Turing, 1952), amelyben lassan diffundáló autokatalitikusan polimerizálódó, szubsztrát limitált fehérjekomplexek indukálják a sejtnövekedést (Csikász-Nagy et al., 2008). Ez a parciális differenciálegyenletekkel definiált matematikai modell képes szimulálni az egyirányú növekedésből a kétirányú növekedésre váltást (*1.b ábra*), és különböző mutánsok fenotípusát is helyesen írja le. Modellünkkel azt is megállapítottuk, hogy a sejteknek a kritikus méretet el kell érniük a kétirányú növekedés aktiválásához, és ez a kritikus méret a szabályozó molekulák diffúziójától is nagymértékben függ. A későbbiekben kísérletes együttműködő partnereinkkel közösen megállapítottuk, hogy a sejtek végén a szabályozó molekulák nagyméretű fehérjeklasztereket képeznek, és ezek kialakulásáért a modellünkben feltételezett autokatalitikus asszociáció a felelős (Dodgson et al., 2013).

2012-ben felfedezték, hogy a váltás egyirányúról kétirányú növekedésre nem mindig pontosan történik meg. A sejtek negyedénél megfigyelték, hogy a váltás előtt a két vég között oszcillál a növekedés indításáért felelős jelátviteli útvonal egyik kulcsmolekulájának, a Cdc42-nek az aktivitása (Das et al., 2012). Ezután az átmeneti állapot után stabilizálódik a mindkét végen növekedő mintázat, azonban az oszcillációk jelenléte arra engedett következtetni, hogy egy sejt-polarizációt gátló molekula is fontos szerepet tölt be a mintázat kialakulásáért felelős molekuláris hálózatban. Ezen a gátló molekulán keresztül egy negatív visszacsatolási hurok jöhet létre, ahol a növekedés aktivátora serkenti a gátló molekulát is, amely visszahat, és gátolja az aktivátort. Ilyen aktivátorgátló molekulapárokat feltételezett Alan Turing is eredeti munkájában (Turing, 1952) mint a mintázatképződés alapmechanizmusának szabályozóit. Maitreyi Das és munkatársai (2012) azonban nem találták meg, hogy milyen molekula lehet felelős ezért a gátlásért, így egy késleltetett negatív visszahatással modellezték a rendszert.

Az eredeti modellünket (Csikász-Nagy et al., 2008) több lépésben továbbfejlesztettük, és Das és munkatársai (2012) kísérletes eredményei alapján kiegészítettük a szimpla autokatalitikus aktivátort egy inhibitorral. Modellünk alapján megállapítottuk, hogy G1 fázisban, amikor csak az egyik végén nő a sejt, a gátló molekula úgy is ki tudja fejteni hatását, ha legnagyobb mennyiségben a sejtek nem növekedő végén van jelen. Modellünk alapján az feltételezhető, hogy a gátló molekula csak a növekedő végén aktív, miközben nagyobb mennyiségben van jelen a nem növekedő végén, de itt inaktív formában. Ezáltal tudtuk modellünkben elérni, hogy az aktivátort gátló molekula a két végén való növekedésre serkentőleg hatson, hiszen így a gátló molekula megbontja kissé az aktív növekedési zónát, és ezáltal elérhetővé teszi az aktivátort a nem növekedő végnek is. Ugyanez a hatás vezethet a Das és munkatársai (2012) által megfigyelt oszcillációkhoz. Ha túl gyors a gátló molekula ezen megbontó hatása, akkor a növekedési zóna instabil lesz, és a két vég között oszcillációk figyelhetőek meg. Kísérletes együttműködőinkkel közreműködésben találtunk is egy molekulát, amely megfelel a modellünk által leírt feltételeknek. A Tea3 fehérje főleg a nem növekedő végén lokalizálódik, és hiánya a kétvéges növekedés késleltetéséhez vezet (Arellano et al., 2002). Megállapítottuk, hogy modelljölésainknak megfelelően, a Tea3 molekulák szintén mutatnak oszcillációt a két vég között, és a gátlás mechanizmusára is találtunk egy molekuláris szintű magyarázatot. Ezzel a publikálás alatt álló modellel más kísérleti eredményeket is sikeresen tudunk szimulálni.

A SEJTPOLARIZÁCIÓ KAPCSOLTSÁGA A SEJTCIKLUSHOZ

Eredményeink magyarázatot adnak arra, hogy miért kell a sejteknek egy kritikus méretet elérniük az új vég növekedésének aktiválásához, de nem ad magyarázatot arra, miért szükséges, hogy a sejtek G2 fázisban legyenek ekkor.

Hogy molekuláris szinten ezt megértsük, a hasadó élesztő sejt polarizációjával összefüggésbe hozott több mint nyolcvan különböző fehérjét és azoknak a leírt kölcsönhatásait is megvizsgáltuk a gráfelmélet hálózati analízis módszereivel (Vaggi et al., 2012). Kidolgoztunk egy új hálózati mérőszámot, ami segít felderíteni, hogy mely molekulák szolgálhatnak információátvivőként a sejt ciklus és a sejt polaritás szabályozó hálózata között. Ezzel a módszerrel jutottunk el az Sts5 RNS-kötő fehérjéhez mint potenciális kapcsolóelemhez a sejt ciklus és a sejt polarizáció között. Korábban felderítették, hogy ez a fehérje fontos a második növekedési vég aktiválásához (Toda et al., 1996), és együttműködő partnereink kísérletei igazolták, hogy az Sts5 lokalizációja a sejt ciklus által szabályozott (Vaggi et al., 2012). Eredményeinket felhasználva Illyce Nuñez és munkatársai (2016) később megfejtették a kapcsolat molekuláris mechanizmusát is. A hálózati megközelítést alkalmazva számos egyéb predikciót tudtunk tenni a sejt polarizációt szabályozó hálózat kölcsönhatásaira. Ezek a jósolások jelenleg kísérletes tesztelés alatt állnak.

KITEKINTÉS

A számítógépes rendszerbiológia (Kitano, 2002) számos biológiai rendszer jobb megértéséhez vezetett minket, és a matematikai modelleken alapuló kísérletek mára beivódtak a tudományos köztudatba (Vidal, 2009). A sejtek polarizációjának megértéséhez is közelebb kerültünk hasonló megközelítésekkel (Mogilner et al., 2012), de számos nyitott kérdést rejteget még a sejt polarizáció, még oly egyszerű élőlényekben is, mint a hasadó élesztő. De ezen az egysejtű organizmuson megfigyelt eredményeink akár már most is alapul szolgálhatnak fejlettebb eukarióták polarizációs mechanizmusának jobb megértéséhez. A polarizációt kialakító aktivátorgátló pár tagjainak vannak humán ortológjai, amelyek potenciális kölcsönhatásait még nem ismerjük. De a modell maga is átalakítható a magasabb szervezeteknél megfigyelt molekuláris kölcsönhatások leírására. További feladat, hogy a jelenlegi egydimenziós modellt is továbbfejlesszük, hogy a növekedési zónák pontos, háromdimenziós térbeli struktúráját is jósolni tudjuk.

IRODALOM

- Arellano, M. – Niccoli, T. – Nurse, P. (2002): Tea3p is a Cell End Marker Activating Polarized Growth in *Schizosaccharomyces pombe*. *Current Biology*, 12, 9, 751–756. DOI: 10.1016/S0960-9822(02)00821-7, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960982202008217>
- Csikász-Nagy A. – Gyórfy B. – Alt, W. et al. (2008): Spatial Controls for Growth Zone Formation during the Fission Yeast Cell Cycle. *Yeast*, 25, 59–69. DOI: 10.1002/yea.1571, <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/yea.1571/full>

- Csikász-Nagy A. – Sato, M. – Carazo-Salas, R. E. (2013): Projecting Cell Polarity into the Next Decade. *Philosophical Transactions of the Royal Society London B: Biological Sciences*, 368, 1629, 20130001. DOI: 10.1098/rstb.2013.0001, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3785955/>
- Das, M. – Drake, T. – Wiley, D. J. et al. (2012): Oscillatory Dynamics of Cdc42 GTPase in the Control of Polarized Growth. *Science*, 337, 6091, 239–243. DOI: 10.1126/science.1218377, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3681419/>
- Dodgson, J. – Chessel, A. – Yamamoto, M. (2013): Spatial Segregation of Polarity Factors into Distinct Cortical Clusters Is Required for Cell Polarity Control. *Nature Communications*, 4, Nr. 1834 DOI:10.1038/ncomms2813, <https://www.nature.com/articles/ncomms2813>
- Gierer, A – Meinhardt, H (1972): A Theory of Biological Pattern Formation. *Kybernetik*, 12, 30–39. DOI: 10.1007/BF00289234, <https://link.springer.com/article/10.1007%2FBF00289234>
- Gunawardena, J. (2014): Models in Biology: ‘Accurate Descriptions of Our Pathetic Thinking’. *BMC Biology*, 12, 1, 29. DOI: 10.1186/1741-7007-12-29, <https://bmcbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1741-7007-12-29>
- Kitano, H. (2002): Computational Systems Biology. *Nature*, 420, 6912, 206–210. DOI:10.1038/nature01254
- Mitchison, J. M. – Nurse, P. (1985): Growth in Cell Length in the Fission Yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Journal of Cell Science*, 75, 357–376. <https://pdfs.semanticscholar.org/3c68/9b-71665f8ce8d0074817ff322045ae9f2129.pdf>
- Mogilner, A. – Allard, J. – Wollman, R. (2012): Cell Polarity: Quantitative Modeling as a Tool in Cell Biology. *Science*, 336, 6078, 175–179. DOI: 10.1126/science.1216380, <https://cims.nyu.edu/~mogilner/ScienceRev.pdf>
- Nelson, W. J. (2003): Adaptation of Core Mechanisms to Generate Cell Polarity. *Nature*, 422, 766–774. DOI: 10.1038/nature01602, https://www.researchgate.net/publication/10799608_Adaptation_of_core_mechanisms_to_generate_cell_polarity
- Núñez, I. – Pino, M. R. – Wiley, D. J. et al. (2016): Spatial Control of Translation Repression and Polarized Growth by Conserved NDR Kinase Orb6 and RNA-binding Protein Sts5. *eLife*, 5, e14216. DOI: 10.7554/eLife.14216, <https://elifesciences.org/articles/14216>
- Nurse, P. (2003): Systems Biology: Understanding Cells. *Nature*, 424, 883–883. DOI:10.1038/424883a
- Toda, T. – Niwa, H. – Nemoto, T. et al. (1996): The Fission Yeast *sts5+* Gene Is Required for Maintenance of Growth Polarity and Functionally Interacts with Protein Kinase C and an Osmosensing MAP-kinase Pathway. *Journal of Cell Science*, 109, 9, 2331–2342. <http://jcs.biologists.org/content/joces/109/9/2331.full.pdf>
- Turing, A. M. (1952): The Chemical Basis of Morphogenesis. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 237, 37–72. <http://www.dna.caltech.edu/courses/cs191/paperscs191/turing.pdf>
- Vaggi, F. – Dodgson, J. – Bajpai, A. (2012): Linkers of Cell Polarity and Cell Cycle Regulation in the Fission Yeast Protein Interaction Network. *PLoS Computational Biology*, 8, 10, e1002732. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1002732, <http://journals.plos.org/ploscompbiol/article?id=10.1371/journal.pcbi.1002732>
- Vidal, M. (2009): A Unifying View of 21st Century Systems Biology. *FEBS Letters*, 583, 24, 3891–3894. DOI: 10.1016/j.febslet.2009.11.024, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014579309009260>