

Részletes beszámoló**F-60414****Csikász-Nagy Attila****Az OTKA támogatás hasznosítása:**

A pályázat futamidejének felénél, 2007 májusában három éves adjunktusi szerződéselem lejártával megszűnt a munkaviszonyom a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetemmel. 2007 júniusától az olaszországi Microsoft Research – University of Trento Centre for Computational and Systems Biology kutatóintézetben folytattam a megkezdett támogatott munkát az OTKA engedélyével. Ez a különleges lehetőség lehetővé tette számomra, hogy a kapcsolatot aktívan fenntartsam anyaintézményemmel a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetemmel, gyümölcsöző együttműködésekkel folytassak hazai intézetek kutatóival (ELTE Kémiai Intézet és MTA – Szegedi Biológiai Központ) és részt vegyek magyarországi konferenciákon (Magyar Biokémiai Egyesület Vándorgyűlésein). Köszönöm az OTKA flexibilitását, azt hiszem az ilyen irányú kezdeményezések valóban segítik fenntartani a kapcsolatot a külföldön dolgozó kollégák és az otthoni intézmények között.

Tudományos eredmények bemutatása és felhasználása:

A 2006-ban indult OTKA támogatás segítségével 10 folyóiratcikket, egy referált konferencia cikket és egy könyvfejezetet sikerült publikálnom, köztük néhányat igen rangos folyóiratokban. A publikációk e rövid idő alatt is jelentős számú hivatkozást gyűjtöttek (Google Scholar szerint összesen 38, ISI szerint összesen 27). A támogatott témából készült dolgozattal diplomázóm, Zámorszky Judit, OTDK első helyezést ért el és Pro Scientia érmet kapott.

A pályázati idő alatt számos új együttműködést tudtam elindítani vezető külföldi intézetek munkatársaival. Publikációimban társszerzőként szerepelnek kollégák a következő külföldi intézményekből: Virginia Tech és Dartmouth College (USA), Oxford University és Cancer Research UK (Nagy Britannia), University of Bonn (Németország), NNF Center for Protein Research (Dánia).

Az OTKA támogatás segítségével számos konferencián tudtam bemutatni munkámat. Magyarországon a Magyar Biokémiai Egyesület 2006-os és 2008-as vándorgyűlésén is előadtam a támogatott témákról, valamint a rangos Cold Spring Harbor Laboratory által szervezett számítási sejtbiológiai konferenciákon is bemutattam munkámat 2008-ban és 2009-ben is előadás formájában. A bemutatott eredmények alapján felkérést kaptam a legrangosabb rendszerbiológiai konferencián (9th International Conference on Systems Biology, Göteborg, Svédország, 2008) előadás tartására. Ezeken kívül több tudományos intézetben (Beckman Institute - City of Hopes Hospital, Duarte, CA, USA; Kahli Institute for Theoretical Physics - UCSB, Santa Barbara, CA, USA; Max-Planck-Institut für Physik komplexer Systeme, Drezda, Németország; Instituto Gulbenkian de Ciência, Oeiras, Portugália) is tartottam meghívott előadást a finanszírozott időszakban.

Részletes tudományos eredmények:

Az elért tudományos eredményeket két fő csoportba lehet osztani a vizsgált sejtípus szerint: (I) Emlős sejtek osztódásának és napi ritmusának viselkedését és (II) élesztő sejtek szignalizációs útjainak és sejtosztódásának regulációját vizsgáltuk a biokémiai reakciókinetika módszereit felhasználva számítógépes szimulációkkal.

I. A cirkadián óra és a sejtciklus kapcsolata emlős sejtekben

A cianobaktériumoktól az emberig minden élőlényre hatással van a nappalok és éjjelek váltakozása. Számos molekula aktivitása változik e 24 órás ritmus szerint. A legújabb kutatások során bizonyították, hogy a napi ciklusokat irányító cirkadián óra transzkripciós szabályzással befolyásolja a sejtciklust irányító hálózat egyik kulcsfontosságú enzimét, a Wee1-et is. A két oszcillátor közötti kapcsolat részleteit emlős sejtekben Matsuo és mtsai. (2003) fedezték fel.

Ahhoz, hogy a mindkét rendszert tartalmazó, számos molekulából álló bonyolult biológiai hálózatot vizsgálhassuk, matematikai modellt készítettünk. A rendszer tartalmazza az emlős sejtciklus szabályzó hálózat Novák Béla és John J. Tyson által kidolgozott modelljének (Novak and Tyson, 2004) továbbfejlesztésével (Csikász-Nagy *et al*, 2006) készült részletes modult és az általunk készített egyszerűsített cirkadián óra szabályzó hálózatot. Az így kapott nemlineáris differenciálegyenlet rendszer új paramétereit optimalizáltuk, és a modellt számítógépes szimulációkkal vizsgáltuk.

Különböző erősségű kapcsoltság a két oszcillátor között más eredményeket adott. Erős kapcsoltságnál ún. módusszinkronizációt és kvantált sejtciklus hossz eloszlást tapasztaltunk. Ilyen kvantált sejtciklus időket megfigyeltek élesztő és emlős sejtekben is (Klevecz, 1976), de ez idáig nem tudták azonosítani azok molekuláris hátterét. Matematikai analízisünk alapján feltételezhető, hogy a cirkadián óra sejtciklusra gyakorolt hatása okozza ezt a viselkedést. Ez a feltételezésünk jelenleg áll kísérletes tesztelés alatt Christina I. Hong (Dartmouth College, USA) által.

A modell alkalmas a napi ritmus és a rákbetegség kapcsolatának számítógépes vizsgálatához, és segítséget nyújthat a kezelések határfokának javításában is, mivel az eddig végzett kronoterápiás kezelések csak empirikus úton próbálták megtalálni az ideális gyógyszer adagolási időpontokat (Levi, 2001).

Ezen eredmények publikálása (Zamborszky *et al*, 2007) után fedezték fel, hogy a sejtosztódási ciklus, azon belül is a DNS sérülés szignalizációs hálózata hatással van a napi ritmusra (Oklejewicz *et al*, 2008). A kísérletben azt is megfigyelték, hogy a cirkadián óra mindig serkentődik a DNS meghibásodás hatására. Ennek magyarázatát kerestük matematikai modellekkel és megállapítottuk, hogy a regulációs hálózatban feltételezett pozitív visszacsatolási

hurok lehet a felelős az eddig megmagyarázhatatlan kísérleti eredményekért. Részletes analízisünkkel azt is megállapítottuk, hogy a fő szabályzó fehérje (Per1) stabil komplexet képez, hogy alkosson a BMAL1/CLK transzkripciós szabályozóval ahhoz, hogy a kísérleti eredményeket realiztikusan modellezni tudjuk. Az eredmények a PloS Computational Biology folyóiratban jelentek meg (Hong *et al*, 2009) és a cikkünk az aktuális szám címlapját is adta.

II. Élesztők sejtciklus átmeneteinek vizsgálata

Sarjadzó és hasadó élesztők osztódásának és növekedésének szabályozásában szerepet játszó molekuláris hálózatokat is számítógépes modellekkel vizsgáltam:

A hasadó élesztő osztódásának modellezése (Csikász-Nagy *et al*, 2007) közben megfigyelt adaptációs dinamikai modellt részletesebben vizsgálva feltételeztük (Csikász-Nagy and Soyer, 2008c), hogy a sejtciklus fázisainak átmeneteit ($G1 \rightarrow S \rightarrow G2 \rightarrow M$) előrecsatolós hurkok szabályozhatják. A sarjadzó élesztő teljes genomjának bioinformatikai vizsgálata során több ilyen előrecsatolós hálózati motívumot sikerült azonosítanunk és matematikai modellezéssel ezek viselkedését leírunk (Csikász-Nagy *et al*, 2009).

Szintén számítógépes modellezéssel megjósoltuk, hogy ezeknek a sejtciklus átmeneteknek a robusztusságát és egyirányúságát viszont pozitív visszacsatolási hurkok szabályozzák (Novak *et al*, 2007). Ezt a predikciót azóta kísérletesen igazolták (Lopez-Aviles *et al*, 2009), miközben a modellt továbbfejlesztve annak dinamikai viselkedését vizsgáltuk (Ballarini *et al*, 2009).

Korábbi sarjadzó élesztőre vonatkozó sejtciklus modelljeinket (Chen *et al*, 2004; Chen *et al*, 2000) tovább vizsgáltuk reakciókinetikai analízis módszereivel. A rendszer időskála és dimenzióanalízise (Lovrics *et al*, 2006) mellett, a paraméterek érzékenységeinek nem várt összefüggéseit is megfigyeltük (Lovrics *et al*, 2008). Valamint a rendszer sztochasztikus modelljét is vizsgáltuk, amivel megállapítottuk, hogyan reagálnak a mutáns sejtek a környezeti fluktuációkra (Mura and Csikász-Nagy, 2008).

A hasadó élesztőnél már nem csak a sejtciklus időbeni, hanem térbeli szabályozását is vizsgálni tudtam parciális differenciálegyenlet rendszerekkel és a modellel jóslni tudtam (Csikász-Nagy *et al*, 2008a) az élesztők viselkedését mikrotubulusok vegyszeres lebontása esetén (Castagnetti *et al*, 2007).

A sejtciklus számítógépes kutatásában szerzett tapasztalatomat tudtam felhasználni két összefoglaló dolgozat elkészítésében (Csikász-Nagy, 2009; Csikász-Nagy *et al*, 2008b).

Irodalomjegyzék:

Ballarini P, Mazza T, Palmisano A, Csikasz Nagy A (2009) Studying irreversible transitions in a model of cell cycle regulation. *Electronic Notes in Theoretical Computer Science* **232**: 39-53.

Castagnetti S, Novak B, Nurse P (2007) Microtubules offset growth site from the cell centre in fission yeast. *J Cell Sci* **120**: 2205-2213.

Chen KC, Calzone L, Csikasz-Nagy A, Cross FR, Novak B, Tyson JJ (2004) Integrative analysis of cell cycle control in budding yeast. *Mol Biol Cell* **15**: 3841-3862.

Chen KC, Csikasz-Nagy A, Gyorffy B, Val J, Novak B, Tyson JJ (2000) Kinetic analysis of a molecular model of the budding yeast cell cycle. *Mol Biol Cell* **11**: 369-391.

Csikasz-Nagy A (2009) Computational systems biology of the cell cycle. *Brief Bioinform* **nyomtatás alatt**.

Csikasz-Nagy A, Battogtokh D, Chen KC, Novak B, Tyson JJ (2006) Analysis of a generic model of eukaryotic cell-cycle regulation. *Biophysical Journal* **90**: 4361-4379.

Csikasz-Nagy A, Gyorffy B, Alt W, Tyson JJ, Novak B (2008a) Spatial controls for growth zone formation during the fission yeast cell cycle. *Yeast* **25**: 59-69.

Csikasz-Nagy A, Kapuy O, Gyorffy B, Tyson JJ, Novak B (2007) Modeling the septation initiation network (SIN) in fission yeast cells. *Curr Genet* **51**: 245-255.

Csikasz-Nagy A, Kapuy O, Toth A, Pal C, Jensen LJ, Uhlmann F, Tyson JJ, Novak B (2009) Cell cycle regulation by feed-forward loops coupling transcription and phosphorylation. *Mol Syst Biol* **5**: 236.

Csikasz-Nagy A, Novak B, Tyson JJ (2008b) Reverse engineering models of cell cycle regulation. *Adv Exp Med Biol* **641**: 88-97.

Csikasz-Nagy A, Soyer OS (2008c) Adaptive dynamics with a single two-state protein. *J R Soc Interface* **5 Suppl 1**: S41-47.

Hong CI, Zamborszky J, Csikasz-Nagy A (2009) Minimum criteria for DNA damage-induced phase advances in circadian rhythms. *PLoS Comput Biol* **5**: e1000384.

Klevecz RR (1976) Quantized generation time in mammalian cells as an expression of the cellular clock. *Proc Natl Acad Sci U S A* **73**: 4012-4016.

Levi F (2001) Circadian chronotherapy for human cancers. *Lancet Oncol* **2**: 307-315.

Lopez-Aviles S, Kapuy O, Novak B, Uhlmann F (2009) Irreversibility of mitotic exit is the consequence of systems-level feedback. *Nature* **459**: 592-595

Lovrics A, Csikasz-Nagy A, Zsely IG, Zador J, Turanyi T, Novak B (2006) Time scale and dimension analysis of a budding yeast cell cycle model. *BMC Bioinformatics* **7**: 494.

Lovrics A, Zsély IG, Csikász-Nagy A, Zádor J, Turányi T, Novák B (2008) Analysis of a budding yeast cell cycle model using the shapes of local sensitivity functions. *International Journal of Chemical Kinetics* **40**: 710-720.

Matsuo T, Yamaguchi S, Mitsui S, Emi A, Shimoda F, Okamura H (2003) Control Mechanism of the Circadian Clock for Timing of Cell Division in Vivo. *Science* **302**: 255-259.

Mura I, Csikasz-Nagy A (2008) Stochastic Petri Net extension of a yeast cell cycle model. *J Theor Biol* **254**: 850-860.

Novak B, Tyson JJ (2004) A model for restriction point control of the mammalian cell cycle. *J Theor Biol* **230**: 563-579.

Novak B, Tyson JJ, Gyorffy B, Csikasz-Nagy A (2007) Irreversible cell-cycle transitions are due to systems-level feedback. *Nat Cell Biol* **9**: 724-728.

Oklejewicz M, Destici E, Tamanini F, Hut RA, Janssens R, van der Horst GT (2008) Phase resetting of the mammalian circadian clock by DNA damage. *Curr Biol* **18**: 286-291.

Zamborszky J, Hong CI, Csikasz Nagy A (2007) Computational analysis of mammalian cell division gated by a circadian clock: quantized cell cycles and cell size control. *J Biol Rhythms* **22**: 542-553.