



MTA doktori értekezés tézisei

A sejtosztódás és sejtnövekedés matematikai modelljei

Dr. Csikász-Nagy Attila



Pázmány Péter Katolikus Egyetem
Információs Technológiai és Bionikai Kar

2016

Összefoglalás

Az egyedi sejtek osztódásának precíz szabályozása kulcsfontosságú az élőlények fejlődéséhez és növekedési egyensúlyának fenntartásához. A sejtek túlszaporodása rákhoz, míg az osztódások hiánya fejlődési rendellenességekhez vezet. Az eukarióta sejtek osztódását egy komplex molekuláris regulációs hálózat szabályozza. A fő szabályozó molekulák és azok kölcsönhatásai nagymértékben konzerváltak. A sejtciklus periodicitásáért az ugyancsak evolúciósan konzervált Ciklin-Függő Kinázok aktivitásának oszcillációja felel. Ezeket a központi sejtciklus regulátorokat szabályzó jelátviteli utak és az ő általuk szabályozott molekulák azonban már nagyobb diverzitást mutatnak. Munkám folyamán a központi konzervált rendszer, valamint az alsóbb és felsőbb jelátviteli útvonalak dinamikus viselkedését vizsgáltam matematikai modellekkel.

Tér- és időbeli szimulációkkal, valamint a nemlineáris dinamika módszereivel vizsgáltam a sejtosztódási ciklust szabályozó hálózatot és annak kapcsolatát a sejtnövekedéssel, valamint a napi ritmust szabályozó hálózatokkal. A munka legnagyobb része élesztőkön megfigyelt kísérleti eredményekre támaszkodik és modelljeink jóslásait is élesztőkön teszteltük, azonban modelljeink szerint a legtöbb megállapítás magasabb szervezettségű eukariótákra is érvényes.

Saccharomyces cerevisiae, sarjadzó élesztő modellünkben kiindulva megállapítottuk, hogy a sejtciklus központi regulációs moduljának molekuláris kapcsoltságában megfigyelhető pozitív visszacsatolások felelősek a sejtciklusátmenetek pontos sorrendjéért. Hasadó élesztő, *Schizosaccharomyces pombe* sejtekre kidolgoztuk a sejtnövekedés és a sejtosztódási ciklus kapcsolatának matematikai és hálózati modelljeit, és azok predikcióit kísérletesen igazoltuk. A napi ritmus és a sejtciklus kapcsolatának matematikai modelljei segítettek minket megérteni és később kísérletesen vizsgálni ezt a kapcsolatot *Neurospora crassa* modell organizmusban. Ezeken kívül számos megfigyelést tettünk a molekuláris szabályozó hálózatok általános dinamikai viselkedésére, és módszereket fejlesztettünk ki a modellek rendszerszintű vizsgálatára is. Eredményeink hozzájárulnak a sejtosztódás szabályozásának alaposabb megismeréséhez, és ezáltal megteremtik a rák kialakulásának és megfékezésének rendszerszintű vizsgálatának lehetőségét.

1. Bevezetés

A sejtek egészséges fejlődéséhez és szaporodásához elengedhetetlen, hogy az osztódási ciklusuk pontos ellenőrzés alatt álljon, és a sejtciklus egyes fázisai kötött sorrendben kövessék egymást. Egy komplex regulációs hálózat felelős a sejtciklus pontos szabályozásáért. A sejtciklust szabályozó molekulák kölcsönhatásai bonyolult előre- és visszacsatolási hurkokat hoznak létre a szabályozó hálózatban, és ezek által szabályozzák a sejtciklus fázisainak átmeneteit. A sejtciklust szabályozó molekulák nagy részét ismerjük, és a kapcsoltságukról is rendelkezünk információkkal, de sokkal kevésbé értjük, hogy a komplex kölcsönhatásaik hogyan vezetnek a megfigyelt fenotípusos válaszokhoz. A számítási rendszerbiológia módszereinek alkalmazásával vizsgálni tudjuk, hogy a kísérletes alapon feltételezett regulációs hálózatok milyen dinamikai viselkedéshez vezethetnek, és ezek mennyire egyeznek más, független kísérletes eredményekkel. Matematikai modellekkel összefoglalhatjuk eddigi tudásunk, és vizsgálhatjuk, hogy azok mennyire képesek a valóságot leírni (1. ábra). A modell egyezése a kísérlettel a rendszer megértését segítheti, míg ha a modell csak részben egyezik a kísérletekkel, akkor predikciók megalkotásában és a további kísérletes munka tervezésében segíthet.

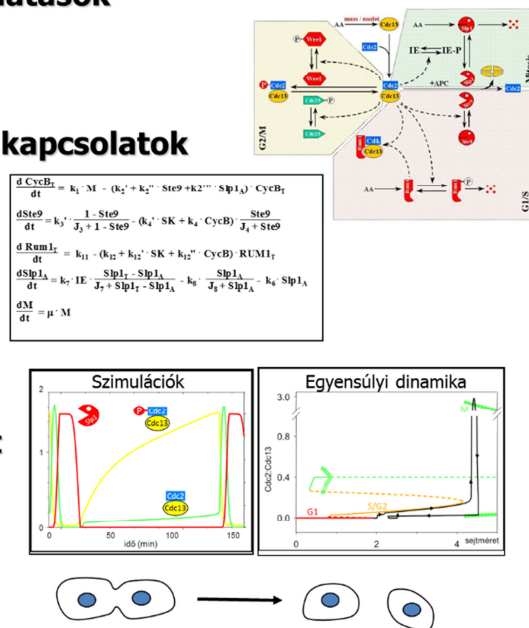
Molekuláris kölcsönhatások

Molekuláris hálózati kapcsolatok

Matematikai modell

Számításos vizsgálat

Sejtfiziológia



1. ábra: Biológiai rendszerek matematikai modellezéses vizsgálatának lépései.

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. Az 1. ábrán bemutatott példában a hasadó élesztő sejtciklus szabályozó hálózata alapján egy differenciálegyenlet-rendszert állítottunk fel, és az egyenletek megoldásának időbeni lefutását, valamint az egyensúlyi állapotok közötti átmeneteket vizsgáltuk. A szimulációs görbék alakja és az egyensúlyi állapotok megfeleltethetők a sejtek fiziológiai viselkedésének, így a módszer alkalmas arra, hogy megvizsgáljuk, hogy az ismert tudásanyag alapján képesek vagyunk-e megfelelően leírni a sejtek viselkedését.

Kutatásaim során a sejtciklust szabályozó központi regulációs hálózat és az ahhoz kapcsolt fiziológiai viselkedésért felelős jelátviteli útvonalakat vizsgáltam a fent bemutatott módszerekkel. Munkám során a következő kérdésekre kerestem a választ:

- Milyen molekuláris interakciók felelősek a sejtciklus fázisok közötti átmenetek pontos sorrendjéért?
- A sejtciklusszabályzás központi rendszerének dinamikai viselkedése mennyire konzervált eukariótákban?
- A sejtosztódási és sejtnövekedési ciklus hogyan kapcsolódik egymáshoz?
- A napi ritmus hogyan hat a sejtciklus periodicitására?

Doktori tézisem három részből áll: a második fejezetben összefoglalom a sejtciklus központi szabályozó hálózatának vizsgálatára irányuló munkánkat, a harmadik fejezetben a központi hálózat és a lokalizált sejtnövekedés, valamint sejtméret-szabályozás kapcsolatát ismertetem, míg a negyedik fejezetben a sejtciklus és a napi ritmus kapcsoltságát vizsgáló munkáinkat mutatom be. A fejezetek logikai felépítése azonos: irodalmi adatok alapján felállítunk egy, az 1. ábrának megfelelő modellt, azt különböző matematikai módszerekkel vizsgáljuk, majd az eredmények alapján javaslatokat teszünk a rendszer viselkedésének korábban ismeretlen pontjára, és sok esetben újabb kísérleteket javasolunk a rendszer pontosabb megértéséhez.

2. A sejtciklus-szabályozás matematikai modelljei

A sejtciklus központi szabályozó molekulái a Ciklin-Függő Kinázok (CDK). A szubsztrát felismerő ciklin molekulák a sejtciklus alatt periodikusan szintetizálódnak, és a CDK-val komplexet képezve több száz fehérjét foszforilálnak a sejtciklus különböző fázisaiban. A ciklin molekulák specifitása és a CDK saját foszforilációs állapota, valamint sztöchiometrikus inhibitorok felelősek a CDK aktivitásának periodikus szabályozásáért. Ugyanakkor a CDK-szabályozó molekulák nagy része a CDK-nak direkt szubsztrátja is, így a CDK szabályozza saját regulátorait is. Mind a ciklinek, a CDK és a visszacsatolási hurkok jelenléte is konzervált eukarióta sejtekben, ezáltal feltételezhetjük, hogy a visszacsatolásoknak is jelentős szerepük van a pontos sejtciklus-szabályozásban. Kutatásainkban azt vizsgáltuk, hogy milyen dinamikai viselkedéshez vezetnek a kísérletesen megfigyelt kölcsönhatások, és hogy a modellek számítógépes szimulációi mennyire egyeztethetők össze az egyes mutáns sejtek fenotípusos viselkedésével. Az alább ismertetett eredményeket két összefoglaló cikkben is tárgyaltam korábban (Tyson és mtsai. 2002, Csikász-Nagy 2009).

2.1. Célkitűzések

- Az élesztő sejtciklusok dinamikájának a vizsgálata

A legtöbb sejtciklus-szabályozó hálózattal foglalkozó kísérletes eredmény sarjadzó és hasadó élesztőn végzett kísérletekből származik. Először ezeket az eredményeket használtuk fel matematikai modelljeink megalkotására, és a modell paramétereinek beállítására.

- A sejtciklus konzervált dinamikai funkcióinak vizsgálata

A szabályozó molekulák és azok kapcsoltságának konzervációját felhasználva megnéztük, hogy az élesztőn megfigyelték mennyire terjeszthetők ki fejlettebb eukariótákra is.

- Egyedi sejtek viselkedésének szimulációja

A legújabb kísérletes technológiák már az egyedi sejtek sejtciklusáról is képesek adatot szolgáltatni. Fenti, átlag sejtet leíró modelljeinket kiterjesztjük egyedi sejtek vizsgálatára is.

2.2. Eredmények

Az élesztő sejtciklusok dinamikájának a vizsgálata

Az eukarióta szervezetek közül a *Saccharomyces cerevisiae* sarjadzó élesztő sejtciklusát ismerjük a legrészletesebben. Ez volt az első eukarióta, amelynek genomját leszekvenálták, és az első, amelyben teljes genomot átfogó vizsgálatokat végeztek. A központi sejtciklus-szabályozó rendszer kapcsoltsági hálóját megalkottuk, és egy átfogó matematikai modellt készítettünk, amely szimulálja a sejtciklus kezdő (G1-S) és befejező (M-G1) átmeneteinek dinamikáját (Chen és mtsai. 2004). A modell paraméterei úgy lettek beállítva, hogy az képes szimulálni 131 mutáns viselkedését (életképesség, sejt méret, sejtciklus fázisok hosszai). A modell részletes dinamikai elemzése megmutatta, hogy a sejtciklus két különböző időskálán mozog, egy lassú, a sejtek növekedésétől függő periódust egy megfutó periódus követ. A lassú fázisok megfeleltethetőek G1 és G2 fázisoknak, míg a gyors, autokatalitikus fázisok a sejtciklus átmeneteknél figyelhetőek meg (Lovrics és mtsai. 2006). A modell paramétereinek érzékenységtanulmányozása megmutatta, hogy az egyes paraméterek elhangolása által okozott dinamikai változások mely más paraméterek változtatásával kompenzálhatóak (Lovrics és mtsai. 2008).

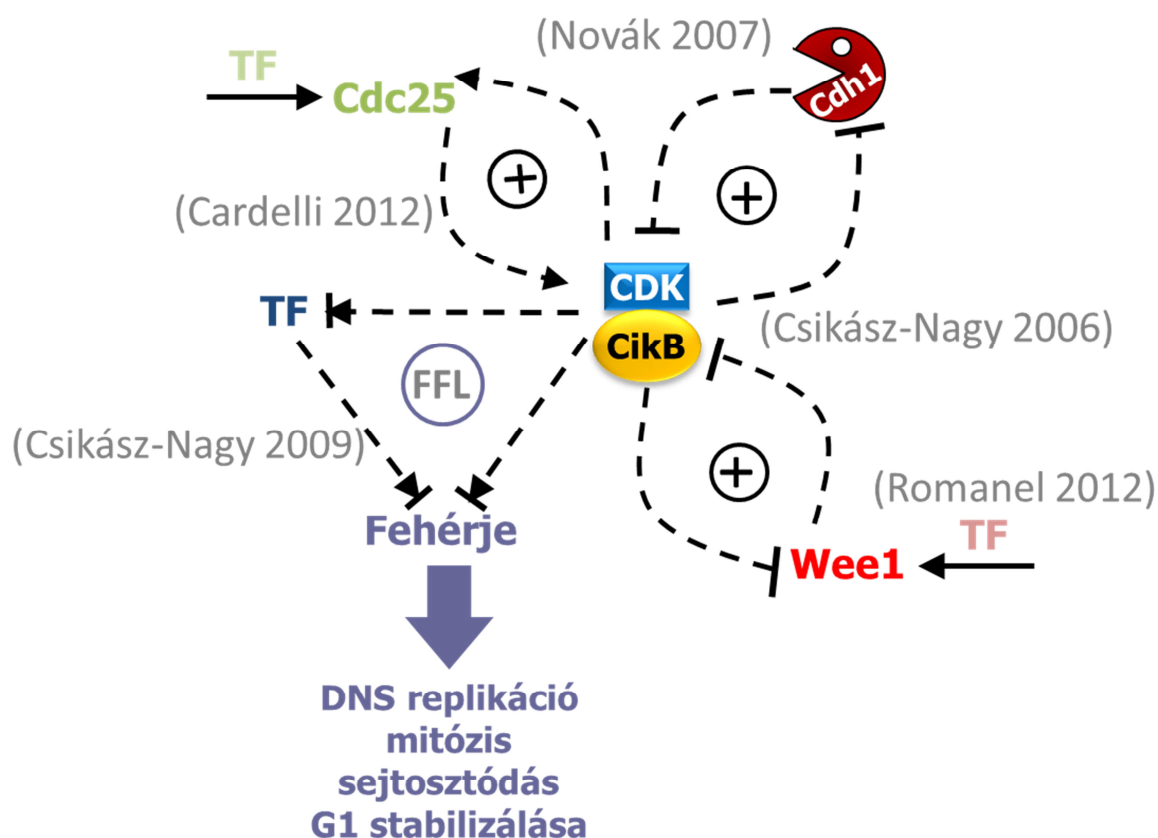
A sejtciklus kutatás második legismertebb élesztő tesztorganizmusa a *Schizosaccharomyces pombe* hasadó élesztő. Kísérletes partnerekkel együttműködve vizsgáltuk, hogy a sejtek hogyan reagálnak arra, ha az egyes sejtciklus-szabályozó génekből több kópiát tartalmaznak. Matematikai modellünk képes volt szimulálni a korábban leírt sejtciklus génhiányos mutánsok, valamint az újonnan megalkotott gén túlkifejezéses mutánsok viselkedését is (Moriya és mtsai. 2011).

A sejtciklus konzervált dinamikai funkcióinak vizsgálata

A két élesztő sejtciklusának vizsgálata rávilágított arra, hogy számos hasonló szabályozásbeli, molekuláris és dinamikai funkció konzervált a két organizmus között. Ebből kiindulva egy összehasonlító elemzést végeztünk a két élesztő, az afrikai karmos béka *Xenopus laevis* és egy általános emlős sejtciklus modell között. Megállapítottuk, hogy a különböző élőlények sejtciklus-szabályozó rendszere hasonlóan kapcsoltsági háló, és egy általános

modellt is megalkottunk, amely egyedi paraméter készletekkel képes szimulálni az összes vizsgált organizmus sejtciklusát (Csikász-Nagy és mtsai. 2006). Az általános eukarióta sejtciklus vizsgálatával megállapítottuk, hogy a sejtciklus központi regulációs moduljának molekuláris kapcsoltságában megfigyelhető pozitív visszacsatolások felelősek a sejtciklusátmenetek egyirányúságáért (Novák és mtsai. 2007) (2. ábra). Színén megmutattuk, hogy a CDK által szabályozott transzkripció – poszttranszlációs előreccatolási hurkok felelősek a sejtciklus fázisok pontos sorrendjéért (Csikász-Nagy és mtsai. 2009). Ezekben az előreccatolási hurkokban a CDK foszforilezéssel szabályozza a sejtciklusátmenetek legfőbb transzkripció faktorait (TF) és az azok által indukált sejtciklusátmenet-indító fehérjét is (2. ábra). A CDK indukált foszforiláció és a transzkripció faktorok is lehetnek pozitív és negatív hatással is a fehérjék képződésére és aktiválódására. Ez a két hatás különböző időskálán hat a fehérjékre, a foszforiláció sokkal gyorsabban változtatja meg a fehérjék aktivitását, mint ahogy a transzkripció változásai hatnak a fehérjeszintre. A CDK így egy lassú és egy gyors hatást is kifejthet ugyanarra a fehérjére. Modelljeink azt jósolták, hogy a különböző sejtciklusátmeneteknél ezeknek a hatásoknak az előjele változik. A különböző sejtciklus fázisoknál és azok átmeneteinél a gyors és lassú hatások előjelet válthatnak (CDK foszforilációval egyes fehérjét aktivál, másokat gátol), és ezáltal a CDK képes egyedül kontrollálni a sejtciklus összes fázisának kulcsfehérjéit. Protein-protein interakciós és transzkripció regulációt tartalmazó adatbázisok (<http://string.embl.de/> és <http://www.yeasttract.com/>) segítségével elemeztük az élesztőben előforduló CDK regulált előreccatolási hurkokat. Az eredmények egyértelműen afelé mutatnak, hogy a sejtciklus különböző fázisaiban valóban másfajta topológiájú előreccatolási hurkok működnek, a G1 fázisban a CDK mindkét ágon gátolja a fehérjét, a G1-S átmenetnél a CDK transzkripciósan gátol, míg foszforilációsan aktivál, G2 és korai M fázisban mindkét módon aktivál, a mitózis meta-anafázis átmeneténél pedig transzkripciósan aktivál, közvetlenül pedig gátol (Csikász-Nagy és mtsai. 2009). Bioinformatikai és modellezési módszerekkel szintén megmutattuk, hogy a CDK-aktivitást, és ezáltal a sejtciklusátmeneteket szabályozó fehérjék periodikus transzkripciója egyedi mintát mutat. Különböző élőlényekben az átmenetek más és más szabályozója íródik át periodikusan, annak függvényében, hogy az adott élőlény melyik sejtciklusátmenetet szabályozza a legkörültekintőbben (Romanel és mtsai. 2012). (2. ábra)

Az általános modellekből kiindulva kidolgoztunk egy modellt az emlős sejtek restrikciós pontjának szabályozására is, és a modell metabolikus kontroll analízise által megállapítottuk, hogy a p27 gátló hatása a Cdk2-CycE komplexekre a restrikciós pont egyik fő kulcsreakciója (Conradie és mtsai. 2010).



2. ábra: A sejtciklus kulcslépéseinek szabályozása a CDK - ciklin B komplexek által pozitív és negatív visszacsatolási és előreccsatolási (FFL) hurkok által. Az egyes lépéseket leíró főbb modelljeink referenciái szürkével jelölve. (TF: Transzkripció Faktor)

Egyedi sejtek viselkedésének szimulációja

A fent ismertetett differenciálegyenlet-rendszer alapú modellek egy átlagos sejt viselkedését tudják leírni. Azonban, hála a legújabb mikroszkópiás technikáknak, tudjuk, hogy egy sejtpopulációban egymástól sokban eltérő viselkedésű sejtek is megfigyelhetők. A fent említett sarjadzó élesztő modellt (Chen és mtsai. 2004) a Petri Net modellezési módszer felhasználásával átalakítottuk olyan rendszerré, amelyben az egyedi molekulák fluktuációit is le tudjuk írni, és a Gillespie-féle sztochasztikus szimulációs algoritmus segítségével vizsgáltuk

az egyedi sejtciklusok dinamikáját. Megállapítottuk, hogy a sejtciklushossz eloszlása a sarjadzó élesztő számos mutánsánál sokkal szélesebb, mint a vad típusú sejteknél. Ezzel magyarázatot tudtunk adni arra a megfigyelésre, hogy ezek a törzsek populáció szinten életképesek, de sok egyedi sejt képtelen a sejtosztódásra (Mura és Csikász-Nagy 2008). Sztochasztikus szimulációkkal megmutattuk, hogy az mRNS-ek többlépéses képződése és lebomlása adhat magyarázatot a kísérletesen megfigyelt alacsony molekuláris zajszintre (Csikász-Nagy és Mura 2010). Hasonló módszerekkel megállapítottuk, hogy a sejtciklusátmenetek szabályozóinak egyed szinten regulált transzkripciója szabhatja meg a sejtciklus egyes szakaszainak hosszát (Romanel és mtsai. 2012). Szintén a sztochasztikus sejtciklus modellek segítettek abban, hogy megmutassuk, hogy a sejtciklus G2 és M fázisa közötti átmenetet szabályozó Cdk-Cdc25-Wee1 hálózat mind dinamikájában, mind struktúrájában hasonlít a számítástechnikában, a disztributív rendszerek szabályozására egyik leggyakrabban használt algoritmus viselkedéséhez (Cardelli és Csikász-Nagy 2012). Később azt is megmutattuk, hogy ez a hasonlóság fennáll akkor is, ha a sejtciklus különböző komplexitású modelljeit hasonlítjuk össze egymással (Cardelli és mtsai. 2016)

3. A sejtnövekedés és a sejtciklus összehangolása

A sejtek osztódási ciklusa szorosan kapcsolt a növekedési ciklussal. A DNS-állomány megduplázása az S-fázis és két új sejtmagba osztása a mitózis alatt össze van hangolva a sejtek növekedésével, és a sejtosztódás csak akkor következhet be, ha a mitózis rendben befejeződött. A sarjadzó élesztőben az S-fázis, míg a hasadó élesztőben a mitózis áll úgynevezett sejtméretkontroll alatt, azaz ezek a sejtciklus szakaszok csak akkor kezdődhetnek el, ha a sejtek elérték egy kritikus méretet. Mindkét élesztő sejt képes polarizált sejtnövekedésre. A sarjadzó élesztők a sarj megjelenésekor, a hasadó élesztők egész interfázisuk alatt csak a sejtmembrán egy kis lokalizált területén növekednek. Ez a polarizált növekedés a G2-fázisban a sarjadzó élesztőnél átvált a sarj izotrópikus növekedésére, a hasadó élesztő sejtek pedig ekkor aktiválnak egy második polarizált növekedési zónát. A növekedés és a sejtciklus regulációjának kapcsoltságára számos matematikai modellt készítettünk.

3.1. Célkitűzések

- A lokalizált sejtnövekedés sejtciklusos kontrolljának vizsgálata

A hasadó élesztő sejtek a sejtciklus folyamán többször is változtatják a lokális növekedési zónáik helyzetét. Célunk az volt, hogy a kísérleteket helyesen szimuláló tér- és időbeni matematikai modelleket dolgozzunk ki a rendszer vizsgálatára, elemezzük a szabályozó molekuláris hálózatot, és ezek alapján kísérleteket javasoljunk a rendszer pontosabb megismerésére.

- A sejtosztódást szabályozó regulációs hálózat matematikai modellezése

A hasadó élesztő sejtosztódása egy komplex molekuláris regulációs hálózat által szabályozott. A sejtosztódás indításáért felelős molekuláris szabályozó hálózat viselkedését akartuk megérteni a rendszer tér- és időbeni matematikai modelljeinek vizsgálatával.

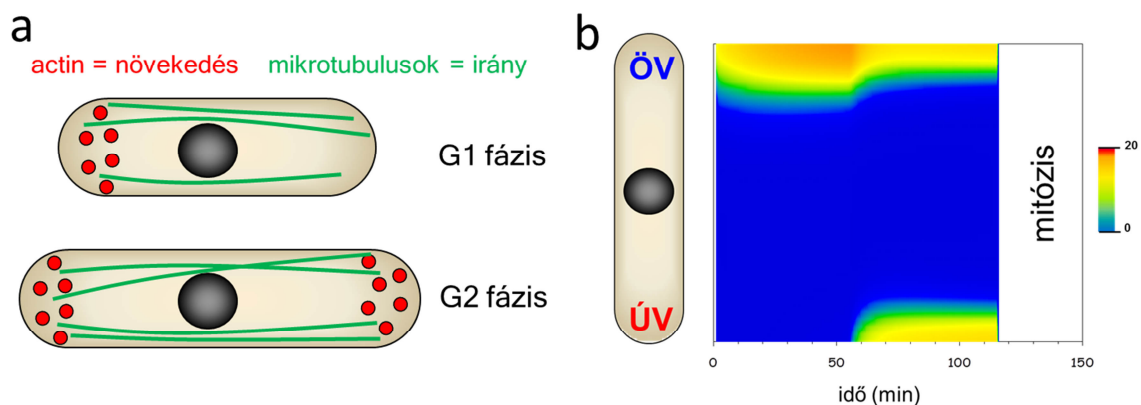
- A sejtméret szabályozásának vizsgálata

Homeosztatikus állapotban a legtöbb eukarióta sejt egy viszonylag szűk tartományban tartja méretét, és ez a sejtpopulációban egy kontrollált sejtméreteloszlást eredményez. Matematikai modellekkel vizsgáltuk a méretkontroll-szabályozó rendszert élesztőkben és azt, hogy ez hogyan módosul a környezeti paraméterek megváltoztatásával.

3.2. Eredmények

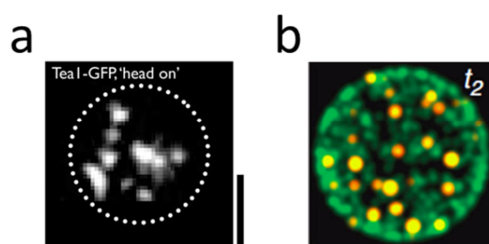
A lokalizált sejtnövekedés sejtciklusos kontrolljának vizsgálata

Számtalan eukarióta sejttípusnál megfigyelhető az egyes intracelluláris és membrán struktúrák polarizált lokalizációja. Neuronok, hámszöveti sejtek, makrofágok és egysejtű organizmusok is képesek a sejtmembrán egy adott zónájára lokalizálni bizonyos molekulákat. Ezek a molekulák fontosak lehetnek irányított kommunikáció, mozgás, vagy polarizált növekedés szabályozásában. A rúd alakú hasadó élesztő sejtek a növekedési zónájukat lokalizálják a rúd végeire, és csak itt nőnek. Még hozzá a sejtciklus G1 fázisában csak azon a végen, amelyik már létezett az előző hasadási sejtosztódás előtt (un. Öreg Vég – ÖV), és a G2 fázis kezdetekor aktiválják az Új Véget (ÚV), és egészen a mitózisig mindkét végen nőnek (3. ábra). A növekedésért a lokalizáltan polimerizált aktin felelős, míg a pontos lokalizációért a mikrotubulusokon szállított fehérjekomplexek felelnek. Érdemes megjegyezni, hogy a legfontosabb szabályozó fehérjék, amelyek felelősek a lokalizációért, konzerváltak az eukarióták között.



3. ábra: Hasadó élesztő növekedési mintázata (a) és a rendszer matematikai modelljének szimulációja (b).

A rendszer vizsgálatára kidolgoztunk egy reakció-diffúziós matematikai modellt, amelyben lassan diffundáló autokatalitikusan polimerizálódó, szubsztrát limitált komplexek indukálják a sejtnövekedést (Csikász-Nagy és mtsai. 2008). Ez a modell képes szimulálni az egyirányú növekedésből a kétirányú növekedésre váltást (3. b ábra), és különböző mutánsok fenotípusát is helyesen írja le. A későbbiekben kísérletes együttműködő partnereinkkel közösen megállapítottuk, hogy a sejtek végén a molekulák klasztereket képeznek, és ezek kialakulásáért a modellünkben feltételezett autokatalitikus asszociáció a felelős (Dodgson és mtsai. 2013) (4. ábra).



4. ábra: Hasadó élesztő sejt végén lokalizált fehérjék klaszterezett elrendeződése kísérletesen (a) és szimulációkban (b).

Az eredeti modellünket több lépésben továbbfejlesztettük, és a legújabb kísérletes eredmények alapján kiegészítettük a szimpla autokatalitikus aktivátort egyinhibitorral. Ezzel a publikálás alatt álló modellel már a legújabb kísérleti eredményeket is sikeresen tudjuk szimulálni.

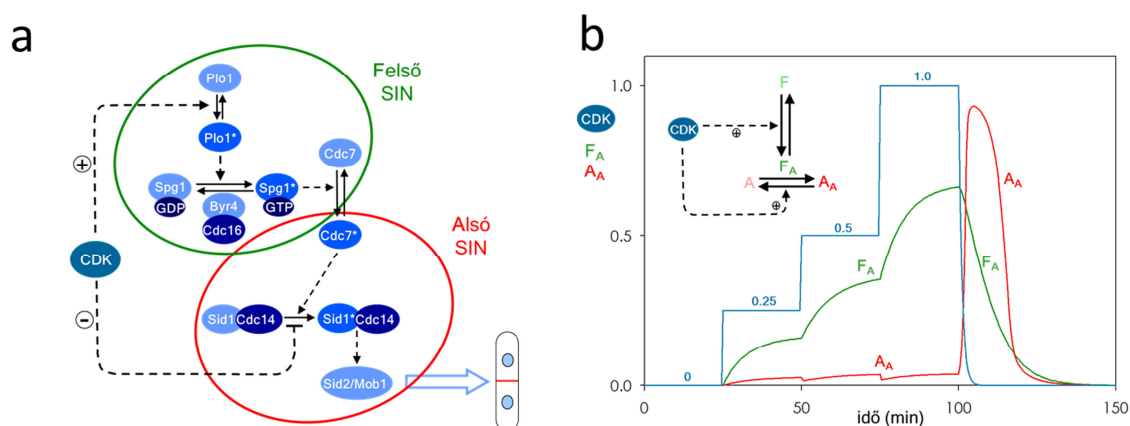
Mindezek az eredmények magyarázatot adnak arra, miért kell a sejteknek egy kritikus méretet elérniük az új vég növekedésének aktiválásához, de nem ad magyarázatot arra, miért szükséges, hogy a sejtek G2 fázisban legyenek ekkor. Hogy molekuláris szinten ezt megértsük, a hasadó élesztő sejt polarizációjával összefüggésbe hozott több mint 80 különböző fehérjét és azoknak a leírt kölcsönhatásait vizsgáltuk a gráfelmélet hálózati analízis módszereivel (Vaggi és mtsai. 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, és együttműködő partnereink kísérletei igazolták, hogy az Sts5 lokalizációja a sejt ciklus által szabályozott (Vaggi és mtsai. 2012). A hálózati megközelítést alkalmazva számos egyéb predikciót tudtunk tenni a sejt polarizációt szabályozó hálózat kölcsönhatásaira. Ezek a jóslások jelenleg kísérletes tesztelés alatt állnak.

Sejt polarizációs kutatási eredményeink alapján meghívást kaptam, hogy a Philosophical Transactions of the Royal Society Biological Sciences folyóirat egy különszámának társszerkesztője legyek. Egy szerkesztői közleményben mutattuk be a téma különböző kutatási eredményeit, és foglaltuk össze a sejtmorfológiai kutatások legnagyobb sikereit (Csikász-Nagy és mtsai. 2013).

A sejt osztódást szabályozó regulációs hálózat matematikai modellezése

Az eukarióta sejtek osztódása csak azután indulhat meg, hogy a mitózis befejeződött. Molekuláris szinten ez úgy szabályozódik, hogy a mitózisos CDK-ciklin B komplexek inaktiválódása szükséges a sejt osztódás megindulásához. A hasadó élesztő sejtek, mint azt a nevük sugallja, a sejt közepén kialakuló szeptum segítségével, hasadással osztódnak. A szeptum kialakulásának (szeptáció) több lépése van. Mitózis közben egy aktin gyűrű alakul ki a sejt közepén, ami a CDK-aktivitás csökkenésének hatására összehúzódik, és ahogy az aktin gyűrű záródik, a sejtmembrán betüremkedik, és új sejt fal szintetizálódik, ami elválasztja a két leánysejtet egymástól. A következő lépésben a leánysejteket összetartó szeptum rész feloldódik, és a sejtek elválnak egymástól. A szeptációt indukáló jelátviteli út vonal (SIN – Septation Initiation Network) aktiválódása indítja a szeptációt. Egy matematikai modellt

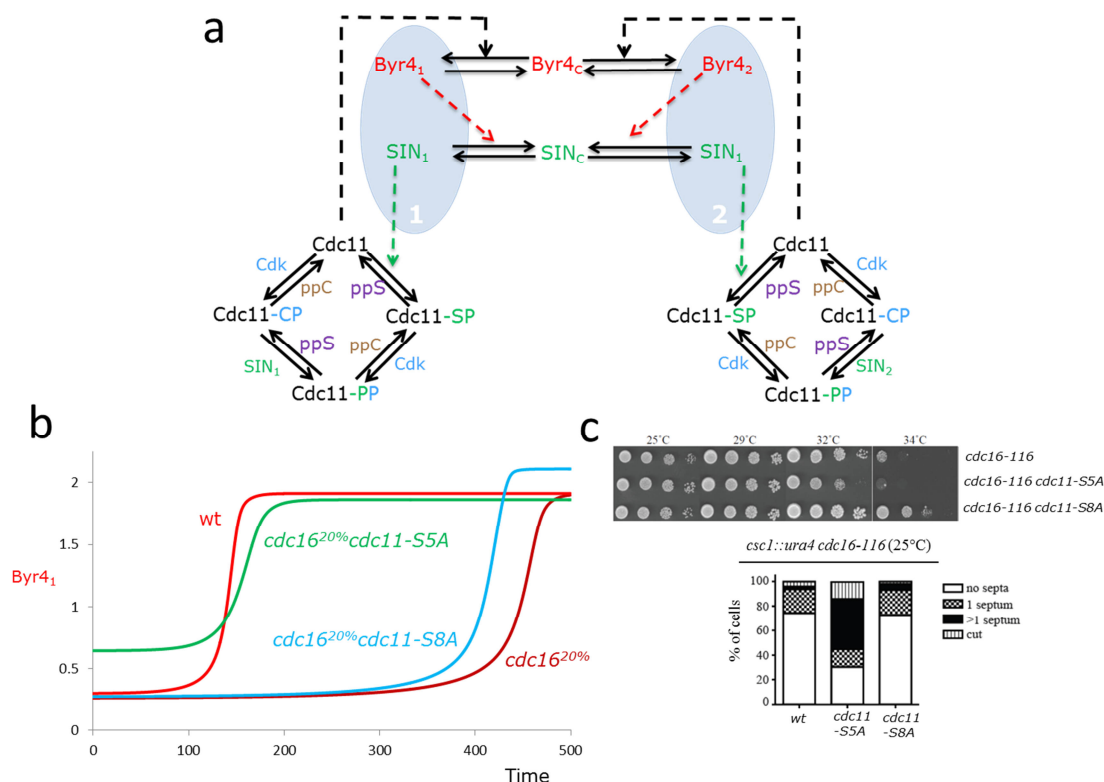
dolgoztunk ki annak megértésére, hogy a CDK-aktivitás mitózisban magas, majd azután alacsony szintje hogyan szabályozza azt, hogy a sejtosztódás a sejtciklus folyamán csak egyszer történik meg (Csikász-Nagy és mtsai. 2007)(5. ábra). A modell leírja a vad típusú sejtek és számos mutáns viselkedését, és segített annak megértésében, hogy a CDK egy előreccsatolós hurkon keresztül éri el, hogy a sejtosztódás csak egyszer történhet meg. Ez a megfigyelés vezetett a 2. fejezetben tárgyalt későbbi munkához, amelyben beláttuk, hogy a CDK ilyen előreccsatolós hurkokon keresztül képes az összes sejtciklusátmenetet szabályozni (Csikász-Nagy és mtsai. 2009).



5. ábra: Hasadó élesztő sejtosztódását szabályozó hálózat (a), és a hálózat matematikai modelljének szimulációja mutatja, hogy a SIN alsó útvonalai csak a CDK-aktivitás csökkenése után aktiválódnak (b).

Azt is megfigyelték, hogy a SIN minden komponense az élesztők sejtmagjába ágyazódott centroszómájához kötődik, és a mitózis elején a mindkét leány centroszómán aktiválódnak a SIN felső elemei. Ugyanakkor az alsó elemek aktiválódásukkor a kezdeti szimmetrikus eloszlásból aszimmetrikusra váltanak. Így a SIN alsó jelátviteli útja csak az egyik centroszómán aktiválódik, miközben a másikon az egész SIN inaktiválódik. Korábbi kísérleti eredmények kimutatták, hogy a SIN aktiválódása az egész SIN lokalizációjáért felelős Cdc11 molekulák foszforilezéséhez vezet. Az is ismert volt, hogy a CDK is képes a Cdc11-et foszforilezni, más helyeken. Arra voltunk kíváncsiak, hogy ezek a foszforilációs lépések hogyan hatnak a SIN aszimmetriájának kialakulására. Különböző matematikai modelleket dolgoztunk ki a foszforiláció esetleges hatásainak a vizsgálatára. A modellek közül sikerült kiválasztanunk egyet, amely a SIN komponenseinek időbeni lokalizációs változásait helyesen

írja le (6. ábra). A kiválasztott modell kísérletes tesztelésére javaslatot adtunk, és együttműködés keretein belül igazoltuk is, hogy a SIN aszimmetriájának kialakításáért a Cdc11 többlépéses foszforilációja a felelős (Bajpai és mtsai. 2013).



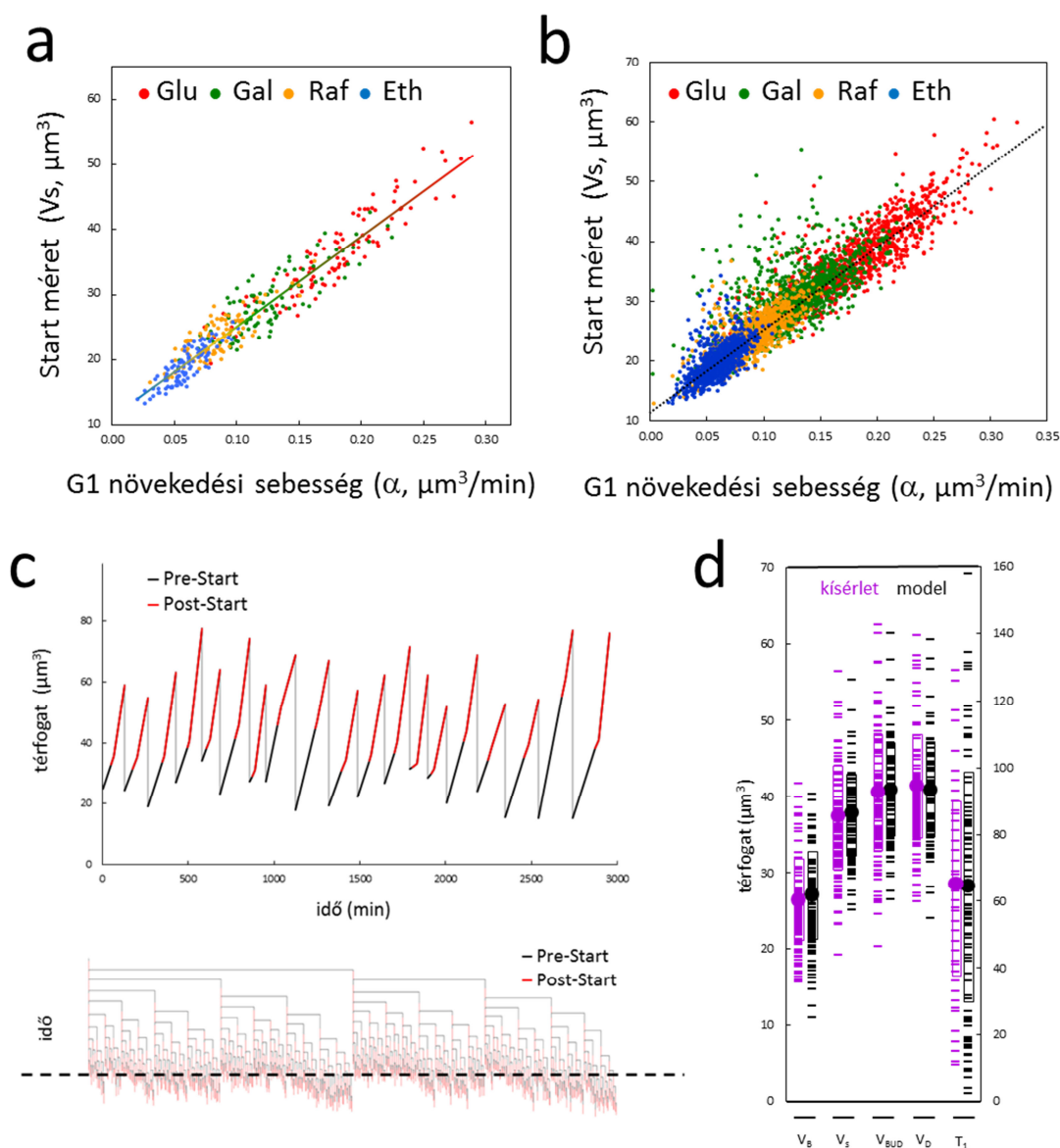
6. ábra: Hasadó élesztő sejtosztódását szabályozó hálózat aszimmetrikus aktivációja. (a) A kísérleteket helyesen leíró hálózat a két centroszóma (kék alapon számmal jelölve) és az azokhoz kapcsolódó Cdc11, SIN és Byr4 molekulák interakciójára. b) A modell szimulációja azt mutatja, hogy *cdc16^{ts}* mutáns sejtekben a SIN által indukált foszforilációk gátlása (zöld, *cdc11-S5A* mutáns) nem, míg a CDK által indukált foszforilációk gátlása (kék, *cdc11-S8A* mutáns) késlelteti az aszimmetria kialakulását. (c) A *cdc11-S5A* mutánsok valóbban nem képesek késleltetni a szeptációt *cdc16^{ts}* háttérben, azonban a *cdc11-S8A* mutánsok képesek erre, és ezáltal elősegítik a *cdc16^{ts}* mutáns sejtek túlélését és normális szeptációját.

A sejtméret szabályozásának a vizsgálata

A legtöbb eukarióta sejtípus egy viszonylag állandó mérettartományban tartja térfogatát azáltal, hogy két sejtosztódás között annyit nőnek a sejtek, hogy az újonnan megszülető leánysejtek az anyasejt kezdeti méretéhez hasonlóak lesznek. Ez a sejtméret homeosztázis úgy érhető el, hogy a sejtek csak akkor kezdik meg a sejtciklus egy kritikus lépését, ha már elérték egy bizonyos méretet. Ezt a kapcsoltságot a sejt osztódási és növekedési ciklusa között nevezzük méretkontrollnak. Több sejtípusnál azt is megfigyelték, hogy a tápanyagban gazdagabb táptalajon növesztett sejtek nagyobb, míg a minimális táptalajon növesztett sejtek kisebb méretnél osztódnak. Egyedi sarjadzó élesztő sejtek mikroszkópos vizsgálatával megfigyeltük, hogy egy adott populációban is igaz, hogy a gyorsabban növvő sejteknek egy nagyobb kritikus méretet kell elérniük, hogy átmenjenek a sejtciklus START eseményén (az emlős sejtek restrikciós pontjának megfeleltethető átmenet, amikor az S-fázist indító transzkripciós faktorok aktiválódnak). Azt is megállapítottuk, hogy különböző táptalajokon növesztett egyedi sejtekre is igaz, hogy nem a táptalaj maga, hanem a sejtek egyedi növekedési sebessége határozza meg kritikus méretüket (7. a ábra). A mérési adatok alapján felállított modellel egyrészt reprodukálni tudtuk ugyanezt az eloszlást (7. b ábra), másrészt a leánysejtek és a populáció kritikus méreteit (7. c ábra), és ezek jó egyezést mutattak a kísérleti eredményekkel (7. d ábra). A modell segített annak megértésében, hogy a kritikus méret kapcsoltsága a növekedési sebességgel milyen evolúciós előnyt ad a populációnak egy olyanhoz képest, amelyben minden sejt azonos kritikus méretet kell, hogy elérjen (Ferrezuelo és mtsai. 2013). A kísérleti eredmények megmutatták, hogy ez a kapcsoltság eltűnik több START szabályozó molekula együttes kiütésekor, de akkor is, ha az egyik sejtciklus szabályozásban is fontos dajkafehérjét (Ydj1, élesztő HSP40) kiütjük a sejtekből. Legújabb munkánkban azt vizsgáljuk, hogy milyen molekuláris mechanizmus áll ennek a kapcsoltságnak a hátterében.

Komoly tudományos vita folyik a méretkontroll szerepéről az emlős sejtek sejtciklus szabályzásában. Különböző kísérletek egymástól eltérő eredményt találtak arról, hogy mennyire fontos a méretkontroll különböző emlős sejttípusokban. Ennek a diszkrepanciának a feloldására a 4. fejezetben részletesen ismertetett napi ritmus és a sejtciklus kapcsoltságát vizsgáló egyik modellünk adott egy javaslatot. A szimulációink azt

sugallták, hogy a sejtek növekedési sebessége itt is hatással lehet a kritikus méretre, de ez a hatás elveszik, ha a sejtek a 24 órás, a napi ritmusnak megfelelő növekedési sebességgel nőnek, mert ekkor a sejtciklus fő szabályozója a napi ritmus (Zámborszky és mtsai. 2007).



7. ábra: A sarjadzó élesztő sejtek kritikus mérete (V_s) függ az egyedi sejtek növekedési sebességétől. (a) Kísérleti eredmények egyedi sejteken, (b) egyedi sejtciklusok szimulációs eredményei. (c) Felső ábra: egyedi leánysejt-vonal szimulációja, alsó ábra: egy anyasejt összes leszármazottjának szimulációja (fentről lefelé, a leánysejtek mindig jobbra jelennek meg az anyasejtek mellett, az osztódás időpillanatában). (d) Aszinkron populációk kísérleti és szimulációs (szaggatott vonal a c panel alsó ábráján) eredményeinek összevetése.

4. A sejtciklus és a napi ritmus kapcsoltságának vizsgálata

Számos fiziológiai és sejtfunció 24 órás periodicitást mutat, és ez az oszcilláló viselkedés sok esetben állandó körülmények (fény, hőmérséklet, stb.) között is fennmarad. Egy, a napi ritmust szabályozó molekuláris hálózat képes fenntartani ezeket az oszcillációkat, és ezáltal az élőlények és egyedi sejtek is képesek előre megjósolni a környezet változásait, és ahhoz alkalmazkodni. A napi ritmust szabályozó molekuláris hálózat több helyen is megjelent az evolúció folyamán, így a szabályozó molekulák nem konzerváltak, de az élőlények legnagyobb része egy transzkripciós – poszttranszlációs késleltetett negatív visszacsatolós hurkon alapuló oszcillátorral kontrollálja napi ritmusát. Sok élőlényben a sejtosztódási ciklus is hasonló 24 órás periódust mutat. Emiatt feltételezték, hogy a két periodikus rendszer kapcsolt, így a sejtciklus kritikus pillanatai (DNS-replikáció, mitózis) megfelelő napszakhoz köthető. Ezt a kapcsoltságot kimutatták emlős sejtekre is, és azt is megfigyelték, hogy a DNS-károsodás jelátviteli útvonala képes a napi ritmust is megzavarni, ezáltal a sejtciklus is vissza tud hatni a napi ritmusra. Ez a kapcsoltság napi ritmus, sejtciklus és DNS-károsodás jelátvitel között egészségügyileg is nagyon fontos. Rákos betegek kronoterápiás kezelésekor a DNS-károsító gyógyszereket vagy sugárzást a nap egy adott szakaszában adják, hogy ezzel elkerüljék a 24 órás periódusú normális sejtek megzavarását, és minimalizálják a mellékhatásokat, miközben a gyorsan szaporodó, napi ritmusukat vesztett rákos sejteket effektíven roncsolja. A rendszer jobb megértéséhez matematikai modelleket dolgoztunk ki, amelyekben vizsgáltuk a napi ritmus hatását a sejtciklus idejére, a DNS-károsodás hatását a napi ritmusra, és modelljeink alapján kifejlesztettünk egy módszert a kapcsolatok kísérletes vizsgálatára az egyik közkedvelt napi ritmus tesztorganizmusban. Eredményeink jó alapot nyújthatnak a terápiás célú DNS-károsító beavatkozások ideális napi időzítésének megjósolásának kifejlesztésére.

4.1. Célkitűzések

- A napi ritmus sejtciklusra gyakorolt hatásának matematikai modellezése

Kísérleti eredmények rámutattak, hogy a sejtciklus G2-M átmenetének egyik szabályozófehérjéje a napi ritmus kontrollja alatt áll. Meg akartuk érteni, hogy ez a kapcsoltság hogyan hat a sejtciklusok periodicitására.

- **Napi ritmus és sejtciklus kapcsolatának vizsgálata *Neurospora crassa* rendszerben**

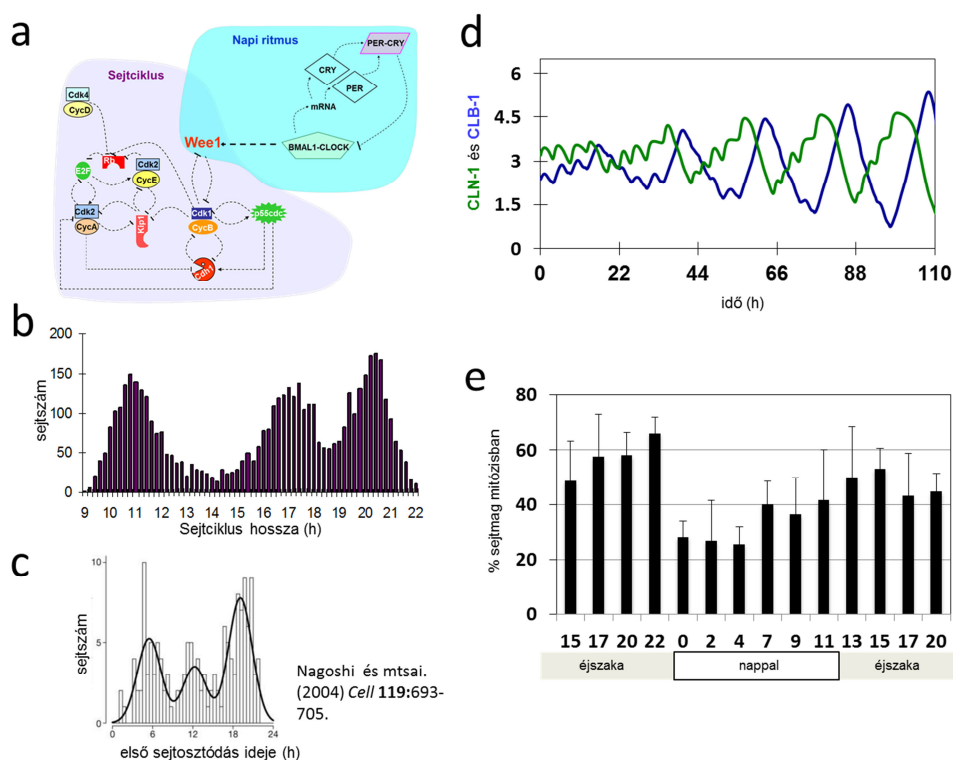
A más élőlényekben megfigyelt kapcsoltságot megpróbáltuk átültetni a napiritmus-kutatás egyik kedvenc tesztorganizmusára, amelynek azonban még nem volt ismert a sejtciklus szabályozása. Matematikai modellek és kísérletek kombinációjával vizsgáltuk, hogy a napi ritmus képes lehet-e szinkronizálni a fonalas gomba sejtmagjainak osztódási ciklusát.

4.2. Eredmények

A napi ritmus sejtciklusra gyakorolt hatásának matematikai modellezése

Az emlős sejtek sejtciklusa gyakran 24 órás periódussal fut, de számos már organizmus is összekapcsolja a sejtciklusát a napi ritmussal. Fiziológiai megfigyelések már több mint ötven éve leírták ezt a kapcsoltságot, de a kapcsolat molekuláris háttere csak a 2000-es évek eleje óta kezd ismertté válni. A napi ritmus szabályozásáért felelős molekulák egy késleltetett negatív visszacsatolós hurkon (8. a ábra) keresztül indukálják a BMAL1/CLOCK transzkripció faktor komplex 24 órás periodikus aktiválódását. Ugyanez a transzkripció faktor a sejtciklus G2-M átmenet egyik inhibitorának, a Wee1 kináznak az átírását is indukálja. Ezáltal a napi ritmus képes lehet szinkronizálni egy sejtpopulációban a sejtciklusokat, és azokat a 24 órás napi ritmushoz kapcsolni. Matematikai modelleket fejlesztettünk ki a két oszcillátor kapcsoltságának vizsgálatára (8. a ábra). Vizsgáltuk, hogy milyen feltételekkel tudja a napi ritmus elérni, hogy a sejtciklusok is 24 órás periódussal fussanak. Megállapítottuk, hogyha a sejtek tömegduplázódási ideje közel áll a 24 órához, akkor a napi ritmus 24 órás periódusát követik a szinkron sejtciklusok, de ha a sejtek növekedési sebessége ettől nagyban eltér, akkor a sejttömeg kompenzálása miatt egy sejtpopulációban a sejtciklusidő többcsúcsú elosztást mutat (8. b ábra) (Zámborszky és mtsai. 2007). Azaz, a populációban sejtek rövidebb és hosszabb ciklusidővel is előfordulnak, így hosszabb távon elérve, hogy az egyedi sejtek mérete ne térjen el túlzottan egymástól. Ez az eredményünk adhat magyarázatot arra, hogy a harmadik fejezetben már tárgyalt méretkontroll mechanizmus kölcsönhatása a napi ritmussal lehet felelős az irodalomban már megfigyelt kvantált sejtciklusidő eloszlásért (8. c ábra).

Szintén vizsgáltuk, hogy a DNS meghibásodásától aktiválódó jelátviteli útvonalak hogyan hatnak a napi ritmusra. Több napiritmus-modell összehasonlító vizsgálatával megállapítottuk, hogy a napi ritmus szabályozási hálózatában egy pozitív visszacsatolási hurok kell, hogy szerepeljen, máskülönben a modellek nem képesek leírni a kísérletesen megfigyelt viselkedést (Hong és mtsai. 2009). Az irodalomban megtalálható, pusztán negatív visszacsatoláson alapuló napiritmus-modellekhez nem tudtunk olyan paraméterkészletet találni, hogy azok pontosan leírják az indukált DNS-meghibásodás utáni válaszreakciókat. A modellekhez egy pozitív visszacsatolást hozzáadva viszont a kísérletekkel jó egyezést mutattak.



8. ábra: A napi ritmus és a sejtciklus kapcsolatának következményei. (a) A napi ritmus és a sejtciklus kapcsolatának modellje. (b) Egyedi sejtek osztódási periódus idejének eloszlása, amikor a napi ritmus 24h, a növekedési sebesség pedig 16h periódus időt diktál. (c) Kísérleti eredmény, napi ritmus szinkronizált sejtek első sejtciklusának hosszeloszlása (Nagoshi és mtsai. 2004 alapján). (d) Különböző kezdeti sejtciklus fázisokból elindított *Neurospora crassa* sejtmagok (30 db) G1-es (CLN-1) és G2-es (CLB-1) ciklinjeinek populáció szintű szinkronizációjának a szimulációja. (e) A mitózisban lévő sejtmagok százalékos eloszlása szinkronizált napi ritmusú *Neurospora crassa* fonalas gombában.

Napi ritmus és sejtciklus kapcsolatának vizsgálata *Neurospora crassa* rendszerben

Matematikai modellezéses eredményeinket és azok jóslásait *Neurospora crassa* fonalas gombák tenyésztésében kísérletesen teszteltük. A *Neurospora crassa* szélesen alkalmazott tesztorganizmusa a napiritmus-kutatásnak, de mivel ennek a fonalas gombának a sejtmagjai egy közös citoplazmában helyezkednek el, és azok aszinkron osztódnak, így sejtciklusáról korábban szinte semmit sem tudtunk. Genetikailag a *Neurospora crassa* nagyfokú hasonlóságot mutat egyéb élesztőkkel, és mivel teljes genomja leszekvenált, fehérjéi jelölhetőek és géndelációk nagy hatásfokkal indukálhatók, így megvizsgáltuk, hogy a sejtciklust szabályozó fehérjék hogyan viselkednek a napi ritmus kontrollja alatt. Matematikai modellünk azt jósolta, hogy a sejtciklusszabályzó fő ciklinek 24 órás periódust mutatnak majd populáció szinten (8. d ábra), és ettől a sejtmagok szinkron tudnak osztódni. Ha ilyen teljes fokú kapcsoltság nem is, de világos 24 órás periódusú mitózis hullámokat figyeltünk meg (8. e ábra), és a CLN-1 és CLN-2 fehérjék periodicitása is megfelelt a modell által jóslottnak (Hong és mtsai. 2014). Eredményeink rámutatnak, hogy a fonalas gomba sejtciklusa kontrollálható, és ezáltal ez az organizmus használható a napi ritmus és a sejtciklus kapcsolatának vizsgálatára. Az ezáltal kínálkozó kísérletes lehetőségeket és az eddigi eredményeket egy összefoglaló cikkben mutattuk be (Zámborszky és mtsai. 2014).

5. Az új tudományos eredmények összefoglalása

Tudományos eredményeim a sejtciklust szabályozó molekuláris rendszer és az azzal kölcsönható jelátviteli utak dinamikai viselkedésének megértésében tettek jelentős lépéseket.

Megmutattuk, hogy a sejtciklus fázisai közötti átmenetek pontos sorrendjéért a molekuláris szabályozó hálózatban található pozitív visszacsatolási és előreccsatolási hurkok felelősek. Matematikai modelljeink szintén igazolták, hogy a sejtciklus központi szabályozórendszerének dinamikai viselkedése konzervált eukariótákban.

Modelljeink alapján megjósoltuk, és kísérletesen bizonyítottuk, hogy a központi sejtciklust szabályzó rendszer milyen molekulákon keresztül indukál változásokat a hasadó élesztő sejtek polarizált növekedésében, és hogyan szabályozza a sejtek osztódását.

Matematikai modelljeinkkel és később kísérletesen is megmutattuk, hogy a napi ritmust szabályozó molekuláris hálózat milyen esetekben képes a sejtciklus periodicitását befolyásolni.

Ezeket és az ezekhez kapcsolódó egyéb eredményeket az alábbi pontokban foglalnám össze (a pontokhoz kapcsolódó két legfontosabb publikáció kiemelésével):

1. A sejtciklus szabályozásának rendszerszintű matematikai modelljeivel megmutattuk, hogy a sejtciklus fázisainak pontos dinamikájáért pozitív visszacsatolási és különböző előreccsatolási hurkok felelősek.

Csikász-Nagy A., Kapuy O., Toth A., Pal C., Jensen L.J., Uhlmann F., Tyson J.J. & Novák B. (2009) Cell cycle regulation by feed-forward loops coupling transcription and phosphorylation. *Mol Sys Biol* **5**:236

Csikász-Nagy A., Battogtokh D., Chen K.C., Novák B. & Tyson J.J. (2006) Analysis of a generic model of eukaryotic cell cycle regulation. *Biophys J* **90**, 4361-4379

2. Kidolgoztuk a sejtnövekedés és a sejtosztódási ciklus kapcsolatának matematikai és hálózati modelljeit, és azok predikcióit kísérletesen igazoltuk.

Bajpai A., Feoktistova A., Chen JS., McCollum D., Sato M., Carazo-Salas RE., Gould KL., **Csikász-Nagy A.** (2013) Dynamics of SIN Asymmetry Establishment. *PLOS Comp Biol***9(7)**:e1003147

Vaggi F., Dodgson J., Bajpai A., Chessel A., Jordan F., Sato M., Carazo-Salas RE., **Csikász-Nagy A.** (2012) Linkers of cell polarity and cell cycle regulation in the fission yeast protein interaction network. *PLoS Comp Biol***8(10)**: e1002732

3. A napi ritmus és a sejtciklus kapcsolatának matematikai modelljei segítettek minket megérteni, és később kísérletesen vizsgálni ezt a kapcsolatot *Neurospora crassa* modell organizmusban.

Hong CI., Zámboreszky J., Baek M., Labiscsak L., Ju K., Lee H., Larrondo LF., Goity A., Chong HS., Belden WJ., **Csikász-Nagy A.** (2014) Circadian Rhythms Synchronize Mitosis in *Neurospora crassa*. *Proc Natl Acad Sci USA***111(4)**:1397-402

Zámboreszky J., Hong CI. & **Csikász-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**: 542-53.

Ezek az alapkutatási eredmények hosszabb távon a rákkutatás és a sejtciklus-szabályozás egyéb betegségeinek megértését segíthetik elő. Modelljeink továbbfejlesztésével állatkísérleteket lehet majd kiváltani, különböző gyógyszeres beavatkozások kimenetele számítógépesen szimulálható, és a sejtek viselkedése ez alapján jósolható lehet. A kifejlesztett módszereknek és eredményeknek így messzire ható tudományos és egészségügyben felhasználható alkalmazásai lehetnek.

6. Közlemények

6.1. Az értekezés témakörében a PhD óta megjelent közlemények

26. Cardelli L., **Csikász-Nagy A.**, Dalchau N., Tribastone M., Tschaikowski M. (2016) Noise Reduction in Complex Biological Switches. *Scientific Reports*. 6:20214.

Impakt faktor: 5.578

25. Zámboreszky J., **Csikász-Nagy A.**, Hong CI. (2014) *Neurospora crassa* as a model organism to explore the interconnected network of the cell cycle and the circadian clock. *Fungal Genet Biol* **71**:52-7

Impakt faktor: 3.262

24. Hong CI., Zámboreszky J., Baek M., Labiscsak L., Ju K., Lee H., Larrondo LF., Goity A., Chong HS., Belden WJ., **Csikász-Nagy A.** (2014) Circadian Rhythms Synchronize Mitosis in *Neurospora crassa*. *Proc Natl Acad Sci USA* **111**(4):1397-402

Impakt faktor: 9.737

23. Bajpai A., Feoktistova A., Chen JS., McCollum D., Sato M., Carazo-Salas RE., Gould KL., **Csikász-Nagy A.** (2013) Dynamics of SIN Asymmetry Establishment. *PLOS Computational Biology* **9**(7):e1003147

Impakt faktor: 4.829

22. Dodgson J., Chessel A., Yamamoto M., Vaggi F., Cox S., Rosten E., Albrecht D., Geymonat M., **Csikász-Nagy A.**, Sato M., Carazo-Salas RE. (2013) Spatial segregation of polarity factors into distinct cortical clusters is required for cell polarity control. *Nature Communications* **4**:1834

Impakt faktor: 10.742

21. **Csikász-Nagy A.**, Sato M., Carazo-Salas RE. (2013) Projecting cell polarity into the next decade. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 368(1629):20130001.

Impakt faktor: 6.230

20. Vaggi F., Dodgson J., Bajpai A., Chessel A., Jordan F., Sato M., Carazo-Salas RE., **Csikász-Nagy A.** (2012) Linkers of cell polarity and cell cycle regulation in the fission yeast protein interaction network. *PLoS Computational Biology* **8**(10): e1002732

Impakt faktor: 4.867

19. Cardelli L., **Csikász-Nagy A.** (2012) The Cell Cycle Switch Computes Approximate Majority. *Scientific Reports***2**:656 **Impakt faktor: 2.927**

18. Ferrezuelo F., Colomina N., Palmisano A., Garí E., Gallego C., **Csikász-Nagy A.** & Aldea M. (2012) The critical size is set at a single-cell level by growth rate to attain homeostasis and adaptation. *Nature Communications***3**:1012 **Impakt faktor: 10.015**

17. Romanel A., Cardelli L., Jensen L.J., **Csikász-Nagy A.** (2012) Transcriptional regulation is a major controller of cell cycle transition dynamics. *PLoS One***7**: e29716 **Impakt faktor: 3.730**

16. Moriya H., Chino A., Kapuy O., **Csikász-Nagy A.**, Novak B. (2011) Overexpression limits of fission yeast cell-cycle regulators in vivo and in silico. *Mol Sys Biol***7**:556 **Impakt faktor: 8.626**

15. Conradie R., Bruggeman F.J., Ciliberto A., **Csikász-Nagy A.**, Novák B., Westerhoff H.V., Snoep J.L. (2010) Restriction point control of the mammalian cell cycle via the cyclin E/Cdk2:p27 complex. *FEBS J.***277**(2):357-67 **Impakt faktor: 3.129**

14. **Csikász-Nagy A.**, Mura I. (2010) Role of mRNA gestation and senescence in noise reduction during the cell cycle. *In Silico Biol.***10**:0006. **Impakt faktor: ?**

13. **Csikász-Nagy A.** (2009) Computational Systems Biology of the Cell Cycle. *Brief Bioinform.***10**(4):424-34 **Impakt faktor: 7.329**

12. Hong C.I., Zámboreszky J. & **Csikász-Nagy A.** (2009) Minimum Criteria for DNA Damage-Induced Phase Advances in Circadian Rhythms. *PLoS Comput Biol.***5**(5):e1000384 **Impakt faktor: 5.759**

11. **Csikász-Nagy A.**, Kapuy O., Toth A., Pal C., Jensen, L.J. Uhlmann, F. Tyson, J.J. & Novák B. (2009) Cell cycle regulation by feed-forward loops coupling transcription and phosphorylation. *Mol Sys Biol***5**:236 **Impakt faktor: 12.125**

10. Mura I, **Csikász-Nagy A.** (2008) Stochastic Petri Net extension of a yeast cell cycle model. *J Theor Biol.***254**(4), 850-60. **Impakt faktor: 2.454**

9. Lovrics A, Zsély IG, **Csikász-Nagy A**, Zádor J, Turányi T, et al. (2008) Analysis of a budding yeast cell cycle model using the shapes of local sensitivity functions. *Int J Chem Kinet***40**: 710-720.

Impakt faktor: 1.370

8. **Csikász-Nagy, A.**, Gyórfy, B., Alt, W., Tyson, J.J. & Novák, B., (2008) Spatial controls for growth zone formation during the fission yeast cell cycle. *Yeast*, **25**: 59–69.

Impakt faktor: 2.622

7. Zámboreszky J., Hong Cl. &**Csikász-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**: 542-53.

Impakt faktor: 4.211

6. Novák B., Tyson JJ., Gyórfy B. &**Csikász-Nagy A**. (2007) Irreversible cell cycle transitions due to systems-level feedback. *Nat Cell Biol*,**9**, 724 – 728

Impakt faktor: 17.774

5. **Csikász-Nagy A.**, Kapuy O., Gyórfy B., Tyson, J.J. & Novák, B.,(2007) Modeling the Septation Initiation Network (SIN) in Fission Yeast Cells. *Curr Genet*, **51**, 245-255

Impakt faktor: 2.507

4. Lovrics A.,**Csikász-Nagy A.**, Zsély I.G., Zádor J., Turányi T. & Novák B. (2006) Time scale and dimension analysis of a budding yeast cell cycle model. *BMC Bioinformatics*, **7**, 494

Impakt faktor: 3.617

3.**Csikász-Nagy A.**, Battogtokh D., Chen KC., Novák B. & Tyson JJ. (2006) Analysis of a generic model of eukaryotic cell cycle regulation. *Biophys J* **90**, 4361-4379

Impakt faktor: 4.757

2. Chen KC., Calzone L., **Csikász-Nagy A.**, Cross FR., Novak B., Tyson JJ. (2004) Integrative Analysis of Cell Cycle Control in Budding Yeast. *Mol Biol Cell***15**, 3841-3862.

Impakt faktor: 7.517

1. Tyson, J.J., **Csikász-Nagy A.** & Novák, B. (2002): The Dynamics of Cell Cycle Regulation. *Bioessays***24**, 1095-1109

Impakt faktor: 7.888

6.2. Az értekezéshez közvetlenül nem kapcsolódó PhD óta publikált közlemények

13. Rizzetto S., Priami C., **Csikász-Nagy A.** (2015) Qualitative and Quantitative Protein Complex Prediction Through Proteome-Wide Simulations. *PLoS Comput Biol.*

11(10):e1004424. doi: 10.1371/journal.pcbi.1004424

Impakt faktor: 4.62

12. Rivero D., Berná L., Stefanini I., Baruffini E., Bergerat A., **Csikász-Nagy A.**, De Filippo C., Cavalieri D. (2015) Hsp12p and PAU genes are involved in ecological interactions between natural yeast strains. *Environ Microbiol.* doi: 10.1111/1462-2920.12950.

Impakt faktor: 6.201

11. Kakui Y., Sunaga T., Arai K., Dodgson J., Ji L., **Csikász-Nagy A.**, Carazo-Salas R., Sato M. (2015) Module-based construction of plasmids for chromosomal integration of the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Open Biol*5(6). pii: 150054

Impakt faktor: 5.784

10. Honeth G., Schiavinotto T., Vaggi F., Marlow R., Kanno T., Shinomiya I., Lombardi S., Buchupalli B., Graham R., Gazinska P., Ramalingam V., Burchell J., Purushotham AD., Pinder SE., **Csikász-Nagy A.**, Dontu G. (2015) Models of Breast Morphogenesis Based on Localization of Stem Cells in the Developing Mammary Lobule. *Stem Cell Reports* 4,: 699-711.

Impakt faktor: 5.365

9. Fernandes de Abreu D.A., Caballero A., Fardel P., Stroustrup N., Chen Z., Lee K., Keyes W.D., Nash Z.M., López-Moyado I.F., Vaggi F., Cornils A., Regenass M., Neagu A., Ostojic I., Liu C., Cho Y., Sifoglu D., Shen Y., Fontana W., Lu H., **Csikász-Nagy A.**, Murphy C.T., Antebi A., Blanc E., Apfeld J., Zhang Y., Alcedo J. and Ch'ng Q. (2014). An Insulin-to-Insulin Regulatory Network Orchestrates Phenotypic Specificity in Development and Physiology. *PLoS Genet*10: e1004225.

Impakt faktor: 8.167

8. Vaggi F., Schiavinotto T., Lawson JLD., Chessel A., Dodgson J., Geymonat M., Sato M., Carazo-Salas RE., **Csikász-Nagy A.** (2014) A network approach to mixing delegates at meetings. *eLife*3:e02273

Impakt faktor: 8.519

7. **Csikász-Nagy A.**, Escudero LM., Guillaud M., Sedwards S., Baum B., Cavaliere M. (2013) Cooperation and competition in the dynamics of tissue architecture during homeostasis and tumorigenesis. *Seminars in Cancer Biology***23**:293-298

Impakt faktor: 7.436

6. Amara F., Colombo R., Cazzaniga P., Pescini D., **Csikász-Nagy A.**, Muzi Falconi M., Besozzi D., Plevani P., (2013) In vivo and in silico analysis of PCNA ubiquitylation in the activation of the Post Replication Repair pathway in *S. cerevisiae*. *BMC Systems Biology***7**:24

Impakt faktor: 2.982

5. Cavaliere M., Sedwards S., Tarnita CE., Nowak MA., **Csikász-Nagy A.** (2012) Prosperity is associated with instability in dynamical networks. *J Theor Biol***299**:126-138

Impakt faktor: 2.351

4. **Csikász-Nagy A.**, Cardelli L., Soyer OS. (2011) Response dynamics of phosphorelays suggest their potential utility in cell signaling *J R Soc Interface***8(57)**:480-8

Impakt faktor: 4.241

3. Soyer OS., Kuwahara H., **Csikász-Nagy A.** (2009) Regulating the total level of a signaling protein can vary its dynamics in a range from switch like ultrasensitivity to adaptive responses. *FEBS J.***276(12)**, 3290-3298

Impakt faktor: 3.042

2. **Csikász-Nagy A.**, Soyer OS. (2008) Adaptive dynamics with a single two-state protein. *J R Soc Interface*.**Suppl 1**:S41-7.

Impakt faktor: 3.621

1. Sveiczter Á., **Csikász-Nagy A.** & Novák, B. (2002): Morphogenetic checkpoint in fission yeast? Yes! *Microbiology* **148**, 2270-2271

Impakt faktor: 2.897

6.3. Tudománymetria Adatok

Tudományos folyóiratcikkek száma: **47**

Ezekre kapott hivatkozások száma (önhivatkozások nélkül): **1779 (1437)**

Hirsch index: **20**

Összesített impakt faktor: **225**

Első szerzős folyóiratcikkek száma: **13**

Utolsó szerzős folyóiratcikkek száma: **13**

PhD elnyerése utáni folyóiratcikkek száma: **42**

Utolsó 10 év tudományos folyóiratcikkek száma: **39**

Utolsó 10 év tudományos folyóiratcikkekre kapott hivatkozások száma: **509**

Utolsó 10 év tudományos folyóiratcikkek közül a folyóiratok felső negyedébe rangsorolt: **33**

Utolsó 10 év tudományos folyóiratcikkek közül a folyóiratok felső 10%-ba rangsorolt: **25**

Összes meghívott előadás: **35**

Egyéb konferencia előadás: **23**

Köszönetnyilvánítás

Köszönetemet szeretném kifejezni mindazoknak, akik támogattak tudományos karrierem alatt. Novák Béla és John J. Tyson professzorok voltak a mentoraim, ők alapozták meg tudásom, tőlük kaptam a tudományos szemléletet, ami segített ide eljutni. Rengeteg kiváló kutatót neveltek ki, akik közül sokaknak köszönöm az együttműködést és a barátságot, ami végig elkísért karrieremen. Különös köszönet Győrfy Bélának, Sveiczter Ákosnak, Kathy Chennek, Laurence Calzone-nak, Andrea Cilibertonak, Kapuy Orsolyának, Tóth Attilának.

Szintén köszönet illeti a rengeteg együttműködő kollégát, akik hittek modellezési eredményeimben, és kísérletesen tesztelték azokat. Kiemelt köszönet Christian I. Hongnak, Rafael Carazo-Salasnak, Marti Aldea-nak, Sean Thomasnak és Azeddine SiAmmournak, akikkel továbbra is öröm együtt dolgozni. Köszönöm az együttműködést azoknak, akikről új elméleti módszereket és tudást kaptam: Luca Cardelli, Matteo Cavaliere, Ivan Mura, Lars Juhl Jensen, Orkun Soyer. Köszönöm korábbi intézetvezetőimnek, Corrado Priaminak, Duccio Cavalierinek, Malcolm Irvingnek és Anne Ridley-nek, hogy megadták a lehetőséget új kutatási irányok felfedezésére.

Köszönet illeti a velem dolgozó briliáns posztdoktorokat, Federico Vaggit és Sean Sedwardst, valamint a korábbi és mostani doktoránsaimat (Zámborszky Judit, Archana Bajpai, Sreeharish Muppirisetty, Valentina Cappelletti, Dúl Zoltán, Rosa Hernansaiz Ballesteros, Kirsten Jenkins és Evguenia Usoskina), hogy mindig bíztak bennem, felfedeztek velem együtt és megtanítottak olyasmikre, amiket néha nekem kellett volna nekik tanítani.

Köszönet számos kollégának a Pázmány Péter Katolikus Egyetem Információs Technológiai és Bionikai Karán, különösen Szolgay Péter dékán úrnak a belém vetett bizalomért és Pongor Sándornak, azért mert visszavezetett a magyar tudományos életbe.

Családom nélkül ez biztos nem sikerült volna, sok lemondással és alkalmazkodással lehetővé tették, hogy a tudományra és ezzel a karrieremre és egyben a hobbitra fókuszáljak.