

Válasz Prof. Csermely Péter opponensi véleményére

Köszönöm Csermely Péter professor Úrnak, hogy elvállalta dolgozatom bírálatát, az arra adott pozitív megjegyzéseket és azt, hogy védeésre alkalmasnak értékelte azt.

Professzor úrnak teljesen igaza van, a tézises értekezésemben valóban, csak saját munkákat hivatkoztam. Ez alól az egyetlen kivétel az említett Nagoshi és mtsai. 2004-es cikke¹, amelynek kísérletes eredményeit szemléltetésképp mutatom a 8.c ábrán, mint a 8.b ábrán mutatott modell eredmények igazolása. Ahogy az opponens is helyesen feltételezte, a Ferrezuello és mtsai 2013-as idézet egy elírás, amiben a 2012-es cikkünkre² próbáltam utalni. Elnézést kérek ezért a hibáért!

Az opponensi kérdésekre, megjegyzésekre az alábbiakban válaszolnék:

1. Valóban, a sejtciklus szabályozó rendszere az átlagosnál sokkal több pozitív visszacsatolási hurkot tartalmaz. Erre az a magyarázat, hogy a sejtciklus fázisai közti átmeneteket ellenőrzési pontok szabályozzák, melyek kapcsolóként működnek. Csak abban az esetben tud a sejtciklus továbbhaladni, ha a kontroll pont ellenőrzése sikeres volt (pl. nincs DNS károsodás, mitózis orsók megtalálták a kinetokorokat). Az ilyen kapcsolószerű viselkedéshez szükségesek a pozitív visszacsatolások. Hasonló mechanizmusok szabályozzák a differenciációt is és talán ezzel magyarázható, hogy a rákos sejtekben is megnő a szerepe az ilyen kapcsolóknak, amikor a sejtek egyfajta dedifferenciáción mennek át és a jelátviteli útvonalaikat egy osztódás orientált irányba módosítják.

A sejtciklus központi rendszere tényleg egy hurkokban gazdag dinamikai rendszer. A sejtek proliferációjához szükséges a sejtciklus normális működése. Ez igaz a rákos sejtekre is, hisz ez esetben valóban a homeosztázisra jellemző negatív hurkok helyett a pozitív hurkok szerepe nő meg előidézve a rákos sejtek szaporodását. Tehát az, hogy a rák esetén sok pozitív visszacsatolás figyelhető meg, az részben a folyamatosan aktiválódó sejtciklus szabályozók pozitív visszacsatolásainak is köszönhető.

¹ Nagoshi E, Saini C, Bauer C, Laroche T, Naef F and Schibler U (2004) Circadian gene expression in individual fibroblasts: cell-autonomous and self-sustained oscillators pass time to daughter cells. *Cell* **119**: 693-705

² 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

2. A modelljeink alapján feltételezett lassú és gyors előreccsatolási hurkoknál a késleltetés mértékét 5 percre tettük³, átlagosan ennyi időt tehet ki egy sejtciklus fehérje transzkripciója, translációja és helyes konformációjának megtalálása. A koherens (azonos előjelű) előreccsatolási hurkok esetén jelentős problémát nem okoz ha a késleltetés elmarad, az ilyen rendszereknek inkább zajszűrő szerepe van, de a sejtciklus folyamán ezek a G1 és G2/M fázisok stabilitásáért felelősek. Az inkoherens (ellentétes előjelű) előreccsatolási hurkoknál viszont már komolyabb gond a késleltetés hiánya. Ezek a rendszerek adaptív kapcsolóként működnek, így a hurok célfehérjéje csak a késleltetés alatt képes aktiválódni. Mind a transzkripció, mind a poszttranszlációs szabályozást nemlineárisnak feltételezve az inkoherens előreccsatolási hurkok is nemlineárisan romlanak el, ahogy a késleltetés csökken. Eredményeink alapján, ilyen hurkokkal a DNS replikációt és a sejtosztódást indító fehérjék szabályozottak. Ahogy csökken a késleltetés, úgy ezek a fehérjék egyre rövidebb ideig aktiválódnak. Az, hogy mikor áll le ettől a sejtciklus az főleg attól függ, hogy az ilyen hurkok által szabályozott fehérjék az alsóbb jelátviteli útvonalakat milyen effektíven aktiválják és ehhez milyen szintet kell elérniük.

Transzkripcióra és poszttranszlációs módosításra lineáris (azonban biológiailag kevésbé helyes, mivel sok apró lépésből álló folyamat mindkettő) kinetikát feltételezve a rendszer is lineárisan romlik el, de ez inkább matematikai megfigyelés mintsem biológiai relevancia.

A dolgozatban nem jeleztem ezt, de itt megemlítem, hogy eredményeinkből kiindulva Kaizu és mtsai⁴ megmutatták, hogy a sarjadzó élesztő sejtciklus szabályozó hálózatában valóban nagyon sok CDK szabályozott előreccsatolási hurok szerepel.

3. Mivel a poszttranszlációs szabályozások adják a sejtciklus magját adó mechanizmust, így ezek sokkal inkább fehérje-fehérje szinten képesek 'tanulni'. Azonban a sejtciklus magját kívülről szabályozó útvonalak már sokkal inkább epigenetikai tanuláson esnek át. A dolgozatban bemutattam, hogyan kapcsolódik a sejtméret szabályzás a sejtciklus központi rendszeréhez. Legújabb eredményeink ebben az irányban azt mutatják, hogy a sejtek növekedési sebességét a szabadon felhasználható hősök fehérjék mennyisége kommunikálja a sejtciklus magja felé. HSP70-HSP40 komplexek felelősek az igen alacsony számban megtalálható sejtciklusindító ciklin molekulák feltekeredéséért, így a szabad hősök fehérjék szintje befolyásolja a sejtciklus

³ Adelman K, La Porta A, Santangelo TJ, Lis JT, Roberts JW, Wang MD (2002) Single molecule analysis of RNA polymerase elongation reveals uniform kinetic behavior. *Proc Natl Acad Sci USA* **99**:13538–13543

⁴ Kaizu K, Ghosh S, Matsuoka Y, Moriya H, Shimizu-Yoshida Y and Kitano H (2010) A comprehensive molecular interaction map of the budding yeast cell cycle. *Molecular Systems Biology* **6**: 415

beindítását. Jelenlegi kutatásaink épp azt vizsgálják, hogy a fehérje aggregáció a hősök fehérjéken keresztül hogyan hathat a sejtciklusra és ez hogyan változik a sejtek öregedésével.

4. Az, hogy melyik élőlény melyik sejtciklus átmenetet kontrollálja körültekintőbben attól függhet, hogy természetes közegében melyik sejtciklusfázisban tölti legtöbb idejét. A legtöbb diploid élőlény G1 (vagy G0) fázisban van a legtöbb ideig. Ez jellemző a természetben megtalálható *S. cerevisiae* sarjadzó élesztőkre is. Haploid életmódot folytató élőlények, mint például a *S. pombe* hasadó élesztő viszont G2 fázisban van a legtöbbet, mivel csak itt áll rendelkezésre két DNS kópia az esetleges DNS károsodások effektív javítására. Ezeknek megfelelően a sarjadzó élesztő a G1-ből a hasadó élesztő a G2-ből való kilépés sejtciklus átmenetét szabályozza a legkörültekintőbben. A diploid emlős sejtek szintén a G1 szabályozást végzik körültekintőbben.

Köszönöm Csermely professzor Úr elgondolkoztató kérdéseit és az azokhoz adott hivatkozásokat, amelyekből sokat tanultam.

Budapest, 2017. November 8.



Csikász-Nagy Attila