

4. félévi beszámoló

Kiss Máté

kissmateforum@gmail.com

ELTE TTK

Statistikus Fizika, Biológiai Fizika és Kvantumrendszerek Fizikája Program

Minimizing the number of cell divisions in spatially constrained tissues

Témavezető: Szöllösi Gergely János

Társ-témavezető: Derényi Imre

Könnyen eshetünk abba a hibába, hogy az többsejtű élőlények evolúciójának tanulmányozása során a jelenséget csak a populációkban mérhető nagyskálájú genomikus változások kontextusában vesszük figyelembe. Ezt a folyamatot a legegyszerűbben az állatok ivarvonalában bekövetkező mutációk és az ezekre gyakorolt természetes szelekciós hatás összegeként a legegyszerűbb elképzelni. Azonban létezik egy ugyanennyire fontos evolúciós folyamat, amely a populációt alkotó egyéneken belül zajlik le: a szomatikus evolúció. Ez a többsejtűek szomatikus, azaz nem ivarvonalban található sejtjeinek genomjában a mutációk felhalmozódása. Kutatásom során ennek jelenségnek a témakörét jártam körbe.

A szomatikus mutációk állatokban ugyan nem örökölhetőek, azonban az egyén számára több, különféle káros folyamatban játszanak szerepet. Erre példák lehetnek a rákos daganatok, az öregedés és egyéb genetikai rendellenességek [1]. A túl korai elhalálozás megelőzése érdekében a szervezetre szelekciós nyomás hat, amely a szomatikus evolúciót és ezzel a begyűjtött mutációk számát minimalizálja. A mutációk egyik elkerülhetetlen forrása a sejtosztódás, amelynek során a tökéletlen DNS replikációs mechanizmus, valamint az ezt ellenőrző hibajavító mechanizmusok hibákat hagyhatnak az újonnan létrehozott szálon [2]. Ennek következtében a szervezet számára előnyös a sejtosztódások számának minimalizálása a szomatikus evolúcióval szembeni veszélyeztettség csökkentésének érdekében. Ebből kiindulva élhetnénk azzal a feltételezéssel, hogy azok a szervezetek, amelyek a teljes élettartamuk alatt kevesebb sejtosztódáson esnek át, kevésbé vannak kitéve a szomatikus evolúció negatív következményeinek. Ezzel azonban szembe megy az a gyakra Peto paradoxonként említett megfigyelés, amely szerint nincs összefüggés az élettartam alatti sejtosztódások száma és rák incidenciája között [3]. Tehát léteznie kell olyan biológiai mechanizmusoknak, amelyek képesek a mutációk számát minimalizálni. Ezeknek a mechanizmusoknak hatékonyabbnak kell lennie megújuló szövetekben, mint például a hámszövetekben, ahol az élet során mért sejtosztódások száma nagyságrendekkel lehet nagyobb az átlagnál. Ilyen mechanizmus lehet például a szöveti hierarchiák bevezetése, amelyek képesek minimalizálni a sejtosztódások számát a sejtek leszármazási fája mentén [4].

A kutatásom során először egy ilyen hierarchikus szövetmodell felépítésében vettem részt [6]. Az általam bevezetett modell a megújuló szövetek egy általános modellje. A megújuló szövetekben gyakran találhatunk térben jól meghatározott struktúrákat, mint például a bélben található kriptákat, vagy a növényi merisztémákat. Ezekben a struktúrákban az egyik végpontban találhatóak az őssejtek, majd a struktúra vége felé haladva egyre inkább differenciáltabb sejtrétegek következnek. Sejtosztódás során a térbeli limitációk miatt a keletkező leánysejt a rendszerben található többi sejtet fizikailag eltolja a rendszer végpontja felé. Elkészítettem ezeknek a rendszereknek egy matematikai modelljét, amelyben felírtam az adott sejtrétegekben mérhető átlagos osztódási számot és ennek időfejlődését. Ebből meg tudtam határozni az adott rétegekhez tartozó optimális osztódási rátákat. Meghatároztam a rendszerre jellemző osztódási terhet, amely szervezet szomatikus

evolúcióval szembeni veszélyeztetettségét jellemzi. Fel tudtam írni ezt az osztódási terhet a sejtrétegek számának függvényében. Ebből az derült ki, hogy a modell rendkívül hatékony a nagy méretű rendszerek szomatikus evolúcióval szembeni védelmében.

A továbbiak során a szövetmodellt és annak továbbfejlesztett változatát a növényi fejlődés mélyebb megismerésére használtam. Bár növények esetében nem beszélhetünk metasztatikus rák kialakulásáról, a szomatikus evolúció káros hatásait ezeknek az élőlényeknek is ugyanolyan fontos elkerülniük. Egy fontos megfigyelés a növényi egyedfejlődésben, hogy általánosságban nem beszélhetünk külön növényi ivarvonalról. Ehelyett létezik egy ún. funkcionális ivarvonal, amely a szomatikus sejtek létrehozása mellett ivarsejteket is képez [8]. Ennek komoly következményei vannak, ugyanis ez azt jelenti, hogy a növény képes továbbörökíteni a szomatikus sejtjeiben begyűjtött mutációit, így egy mutációnak halmozott hatása lesz az összes további generációra. Emiatt a növényeknek fokozottan kell ügyelniük a begyűjtött mutációk számának minimalizálására. Ezt alátámasztja egy kutatás, amely kimutatta, hogy egy 234 éves tölgy egymástól távoli ágaiból vett minták között csak 17 SNV-t (egy pontos nukleotid-variáns) találtak, ami a meglepően kevés genetikai különbséget jelent [7], figyelembe véve, hogy a korán elágazott ágak között így több, mint 400 évnyi független evolúció zajlott le.

A növényi fejlődés alapvető egysége az apikális hajtáscsúcs, más néven merisztéma. Ez a szövet az ágak végén található és itt zajlanak le az ágak meghosszabításához, vagyis a növény növekedéséhez szükséges sejtosztódások.

-

Létrehoztunk egy absztrakt matematikai modellt amely reprezentálja a növényi merisztémák centrális zónájának szövetdinamikáját. A modellben a szövetet sejtek sora alkotja és minden osztódás a sejtek eltolódásához vezet. A sejtek szövetben elfoglalt pozíciója reprezentálja a különböző differenciós állapotban lévő sejtrétegeket. A sejtek osztódási rátáját az egyes időlépések során mérhető osztódási valószínűségekkel reprezentáljuk. Az osztódási valószínűségek kizárólag a szövetben elfoglalt pozíciótól függenek. A modell segítségével az apikális és axilláris növényi merisztémákat és ezek kapcsolatát tanulmányoztuk. Az ágak növekedése során az ágvégi apikális merisztémák folyamatosan sejteket termelnek, melyek nagy része az ágak meghosszabításához járul hozzá, kisebbik része pedig axilláris merisztémákat alkot. Ezek embrionikus apikális merisztémák, amelyek aktiváció hatására növekedésbe kezdenek és egy új ágat hoznak létre. Az aktiváció bekövetkezhet sérülés hatására, vagy spontán módon. A kutatás során az utóbbit vizsgáltuk, mivel ez a folyamat egy elkerületlen velejárója a növényi növekedésnek. Minden elágazódás szükségszerűen sejtosztódásokkal jár, amelyek a mutációk következtében szomatikus evolúcióhoz vezetnek. A genetikai stabilitás megőrzése érdekében a szervezetek az így bekövetkező osztódások számának minimalizálására törekednek. Ez alapján célként tűztük ki az elágazódásonkénti legalacsonyabb számú osztódással rendelkező paraméterkiosztás megtalálását. Ennek érdekében létrehoztunk egy kinetikus Monte Carlo szimulációt, amellyel a növény növekedése során a szöveti sejtek sztochasztikus osztódását, valamint az apikális szövetről axillárisra áttérést szimuláltuk sok ággal rendelkező növények esetében. A sejtek osztódásainak számát mérve megállapítottuk az egy ágra jutó osztódási költséget. A szimuláció optimális paramétereit egy numerikus optimalizációs algoritmus segítségével kerestük. Ennek segítségével sikerült olyan osztódási valószínűségeket találni, amelyekkel megközelíthető az elméletileg meghatározható minimális költség, így közelítő képet kaptunk az osztódási paraméterek eloszlásának alakjáról. Az optimális paraméterek pontosabb és gyorsabb meghatározásának érdekében determinisztikus módon meghatároztuk a sejtek átlagos osztódási számát és létrehoztunk egy programot amely az ehhez szükséges számítást elvégzi. Ennek segítségével újabb numerikus optimalizációra került sor.

A továbbiakban feltérképeztem a modellt reprezentáló szimulációk paramétereit. Ennek során különböző értékekre állítva a paramétereket meghatároztam az osztódási költséget (c), amely az új

ágak létrehozásához szükséges sejtosztódások számát jelenti. A két legfontosabb vizsgált paraméter a merisztéma mérete, azaz a benne található sejtek száma (n), valamint az egy elágazásra jutó axilláris merisztémák száma (N_b). N_b -t és n -t változtatva kíváncsiak voltunk a többi paraméter, azaz az egyes szintekre vonatkozó osztódási valószínűségek optimális eloszlására. Ehhez egy általam implementált kombinált numerikus optimalizációs módszert alkalmaztam, amely ismételt Nelder-Mead szimplex metódusokon és az optimalizálandó paraméterek véletlenszerű variálásán alapszik. Ennek segítségével sikerült nagy pontossággal meghatározni az n -c, N_b -c görbéket és ezek függvényanalitikai paramétereit. Egy közelítő függvény segítségével fel tudtuk írni az optimális osztódási valószínűségek eloszlását az optimum közelében, majd ezt kiterjesztve meg tudtuk határozni a közel-optimális paramétereloszlást tetszőleges merisztémákra nézve.

Összességében sikerült megállapítanunk a merisztémák sejtrétegeinek optimális osztódási ráta profilját különböző paraméterek esetén. Meghatároztunk az osztódási költség elméleti minimális értékét, amely egy determinisztikus osztódási programon alapul. Ez a program biológiailag kivitelezhetetlen, mivel előre szükség lenne hozzá a növény élete során legyártott összes sejt tökéletesen meghatározott sejsorsának és pozíciójának előzetes ismeretére. Ehelyett a mi modellünk egy sztochasztikus, stacionárius folyamatot ír le, amely a fejlődés bármelyik időbeli és térbeli pontján ugyanolyan jól működik. A modell optimális paraméterbeállítások mellett az általunk vizsgált intervallumokon rendkívül jó teljesítményt mutat, az osztódási költség csak kis mértékben tér el az elméleti minimumtól.

A félévek során extenzív irodalomkutatást végeztem, amelynek célja olyan biológiai cikkek megismerése volt, amelyek az általunk felépített matematikai modellt igazolják és további megértést szolgáltatnak a növényi hajtáscsúcsok működésére vonatkozóan. Ezek az eredményeink alátámasztásaként bekerültek a készülő cikkekbe. Ezekre néhány példa: Arabidopsis növényben megfigyelték az ivarvonalban mért sejtosztódások számának függetlenségét a vegetatív életszakasz hosszától [10]. Ez alátámasztja a modell implikációját, miszerint egy lassan osztódó őssejt képes alacsonyan tartani az osztódások számát. A cikkben a modellhez hasonló elrendezést említene a jelenség egy lehetséges magyarázataként. Picea sitchensisben megfigyelték a szomatikus mutációk hatását a generációs mutációs rátára [11]. Egy másik cikkben több pontból vett minták szekvenálásával elkészítették több növény ontogenetikai fáját [12]. Az utódokban találtak mutációkat, amelyek az eredeti növényke egyfejlődéséből származtak. Ezek további bizonyítékok a növényi funkcionális ivarvonal létezésére, amely a modellünk egyik alapfeltevése. Emellett az utolsó félév során további irodalomkutató tevékenységet folytattam amelynek célja újabb kutatási területek feltérképezése, amelyben az eddigiekhez hasonló modellezést tudunk alkalmazni és amelyeket a következő félévek során vizsgálhatunk.

Készülő első szerzős cikkek:

- Tissue hierarchies in plants can efficiently minimize somatic evolution and act as a functional germline
- Heterogeneous divisional rates in spatially constrained tissues provide a near optimal mechanism to reduce cancer risk

Tanulmányi tevékenység:

Részt vettem a következő ELTE által meghirdetett kurzusokon:

- Őssejtbiológia I. (BIO/06/10E)
- Evolúciós Játékelmélet (FIZ/3/059E)
- Őssejtbiológia II. (BIO/06/10E)
- Adatmodellek és adatbázisok a tudományban (FIZ/3/086)

- A rák biológiája (BIO/06/22E)
- Mélytanulás és gépi tanulás a tudományokban (FIZ/3/089)
- Gráfok a bioinformatikában (FIZ/3/063E)
- Elméleti evolúcióbiológia (FIZ/3/005E)

Egyéb szakmai tevékenységek

- Az előző négy félév során oktatási tevékenységben vettem részt az ELTE TTK Fizika Intézet Modern Fizika Laborjában, ahol a Kvantumradár mérések levezetését és a mérési jegyzőkönyvek javítását végeztem.
- Részt vettem a 2019-es Országos Tudományos Diákköri Konferencia Fizika, Fizika, Földtudományok és Matematika szekcióján, ahol az Orvosi- és Biofizika kategóriában második helyezést értem el.
- Részt vettem a Gordon Research Center 2019 februárjában megtartott Physical Science of Cancer konferenciáján, ahol poszterrel szerepeltem.
- Részt vettem a Magyar Biofizikai Társaság 2019-es kongresszusán, ahol szóbeli előadással vettem részt.
- Részt vettem az International Society for Evolution, Ecology and Cancer 2019 júliusában tartott konferenciáján, ahol szóbeli előadással vettem részt.
- Részt vettem a Society for Molecular Biology and Evolution 2019 júliusában tartott konferenciáján, ahol poszterrel vettem részt.

Irodalomjegyzék

- [1] Hanahan, Douglas, and Robert A. Weinberg. "Hallmarks of Cancer: The Next Generation." *Cell*, vol. 144, no. 5, 2011, pp. 646–674., doi:10.1016/j.cell.2011.02.013.
- [2] Gao, Ziyue, et al. "Interpreting the Dependence of Mutation Rates on Age and Time." *PLOS Biology*, vol. 14, no. 1, 2016, doi:10.1371/journal.pbio.1002355.
- [3] Caulin, Aleah F., and Carlo C. Maley. "Petos Paradox: Evolutions Prescription for Cancer Prevention." *Trends in Ecology & Evolution*, vol. 26, no. 4, 2011, pp. 175–182., doi:10.1016/j.tree.2011.01.002.
- [4] Derényi, Imre, and Gergely J. Szöllősi. "Hierarchical Tissue Organization as a General Mechanism to Limit the Accumulation of Somatic Mutations." *Nature Communications*, vol. 8, 2017, p. 14545., doi:10.1038/ncomms14545.
- [5] Gatenby, Robert A., et al. "The Evolutionary Dynamics of Cancer Prevention." *Nature Reviews Cancer*, vol. 10, no. 8, 2010, pp. 526–527., doi:10.1038/nrc2892.
- [6] Kiss Máté "A rák kockázatának minimalizálása lineáris szövethierarchia bevezetésével" (2016) Fizikus BSc szakdolgozat, Eötvös Loránd Tudományegyetem Természettudományi Kar
- [7] Sarkar, Namrata, et al. "Low Rate of Somatic Mutations in a Long-Lived Oak Tree." *BioRxiv*. January 01, 2017, doi:10.1101/149203.
- [8] Lanfear, Robert. "Do Plants Have a Segregated Germline?" *PLOS Medicine*, Public Library of Science, journals.plos.org/plosbiology/article?id=10.1371/journal.pbio.2005439.
- [9] Romberger JA, Hejnowicz Z, Hill JF. *Plant Structure: Function and Development*. Springer; 1993.
- [10] Watson, J. Matthew and Platzer, Alexander and Kazda, Anita and Akimcheva, Svetlana and Valuchova, Sona and Nizhynska, Viktoria and Nordborg, Magnus and Riha, Karel. PNAS 2016. Germline replications and somatic mutation accumulation are independent of vegetative life span in *Arabidopsis*
- [11] Hanlon, Vincent C. T. and Otto, Sarah P. and Aitken, Sally N. *Evolution Letters* 2019. Somatic mutations substantially increase the per-generation mutation rate in the conifer *Picea sitchensis*

[12]Wang, Long and Ji, Yilun and Hu, Yingwen and Hu, Huaying and Jia, Xianqin and Jiang, Mengmeng and Zhang, Xiaohui and Zhao, Lina and Zhang, Yanchun and Jia, Yanxiao and et al. PLOS Biology 2019. The architecture of intra-organism mutation rate variation in plants