

# Dynamics extracted from fixed cells reveal feedback linking cell growth to cell cycle

利用固定细胞动力学来揭示细胞生长  
与细胞周期之间的反馈调节

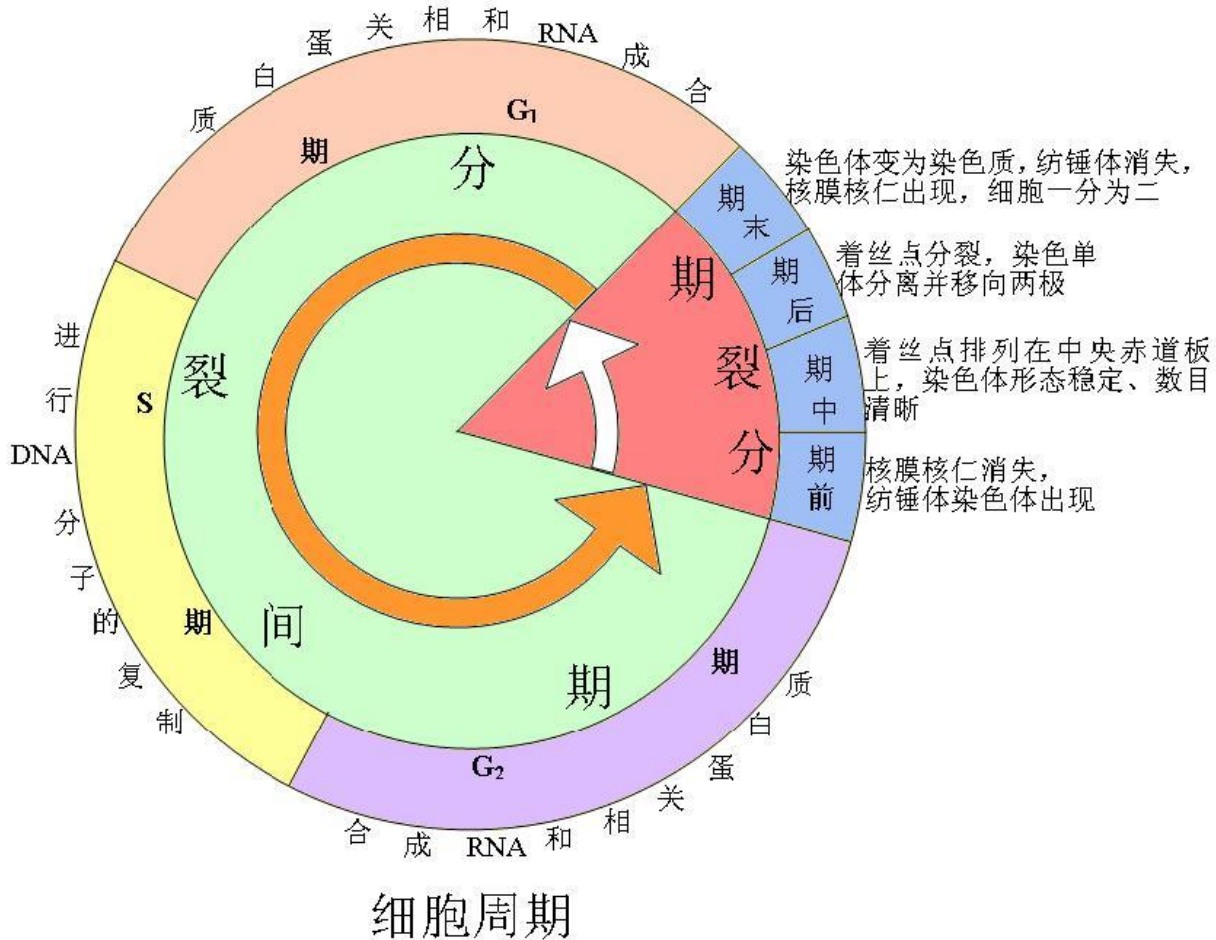
Ran Kafri, Jason Levy et al.

***Nature. 2013 494: 480-483***

**孙帅** Sun Shuai

2013-11-27

# 细胞周期



# Background

1. A barrier to studying size control in mammalian cells is the inaccuracy in measuring size, growth rate, and the dynamics of pathways controlling growth and proliferation.

(Source: *Int.Rev.Rev.Cyto.* 2003: 226,165-258)

2. 提出了新的方法，ERA(Ergodic Rate Analysis), 来研究对细胞大小的调控。
  - ERA exploits the fact that the **number of cells in a particular state** is related to the **average transit time** through that state.  
(Source: *cell* 2008: 132,165-258)
  - 对固定化的**稳态群体**进行**单细胞测量**来准确推断**分子事件速率**。

# Background

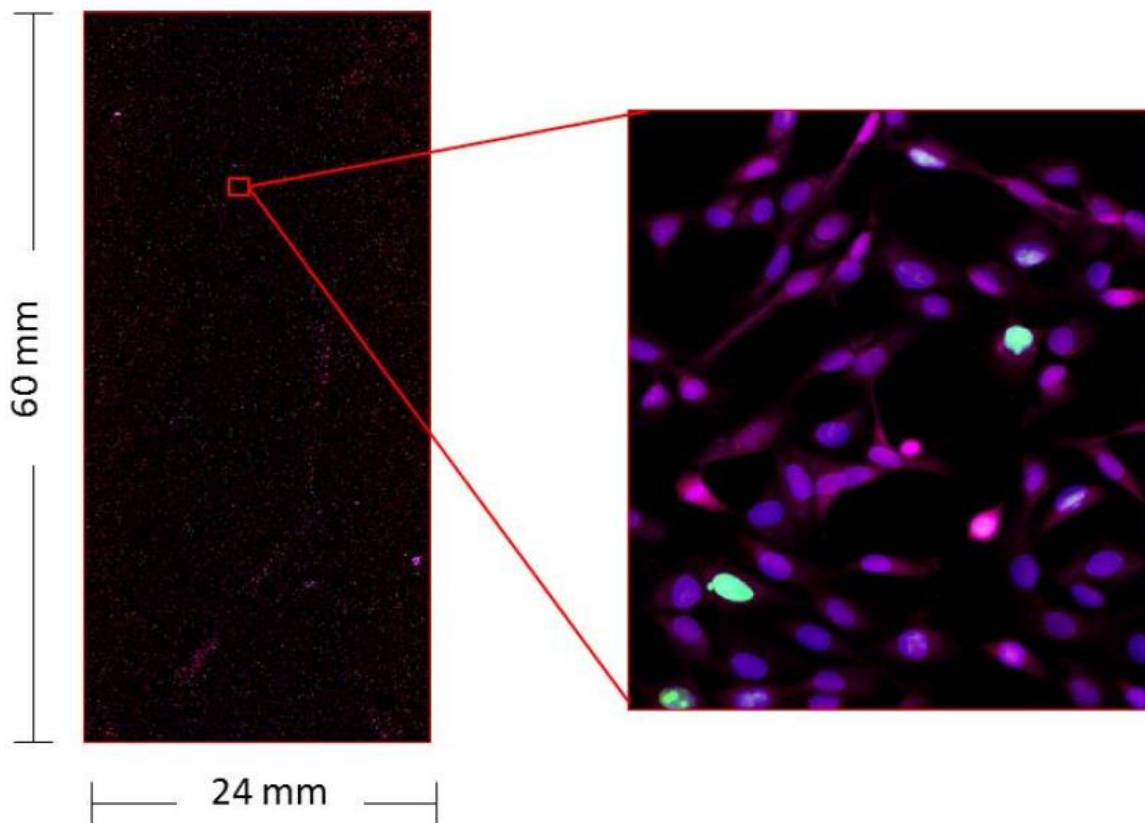
3. REA可以用来计算固定细胞（fixed cells）任何特征的时间轨迹（**前提**：该特征可以被标记）。

Eg: 蛋白磷酸化水平、细胞蛋白质含量随时间变化的轨迹。

- 确定细胞所处的细胞周期

- DNA含量,

- mAG-hGem含量 ( mAG-hGem , 二价染色体降解因子, 作为APC活性标记)



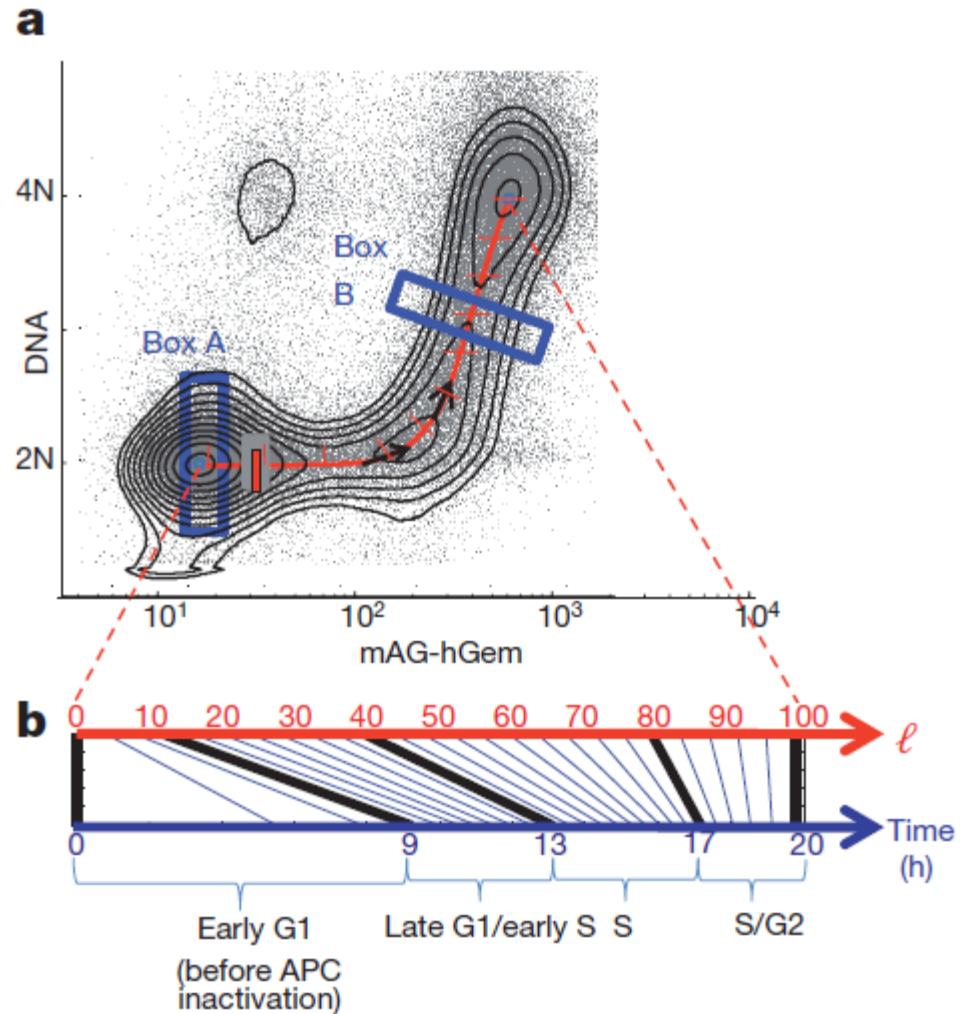
# REA 平衡方程

- 稳态的存在，使不同区域的细胞比例与分子事件的速率存在一种定量关系。
- The ERA balance equation

$$-\nabla \cdot (fv) + B = \alpha f \quad (1)$$

- Based on two main assumptions :
  - (1) **the representation axes**(which in the present study are DNA and APC activity) appropriately represent both individual and collective cell behaviour;
  - (2) **the steady-state assumptions**. Unsynchronized proliferating cells are often found to be in a quasi-steady state, in which the proportion of cells in each phase of the cell cycle is stable

- G1期，mAG-hGem 增加，APC活性下降；
- S期，（following G1）DNA 加倍；
- M期，mAG-hGem迅速下降，APC重新激活，DNA含量减半。



- A quantitative relationship between the proportion of cells in different regions of the plot and the rates of molecular events (that is, changes in DNA and APC activity).
- A区，细胞数量多，B区，细胞数量少→细胞遍历（经过）A区的速率（rate）更大。



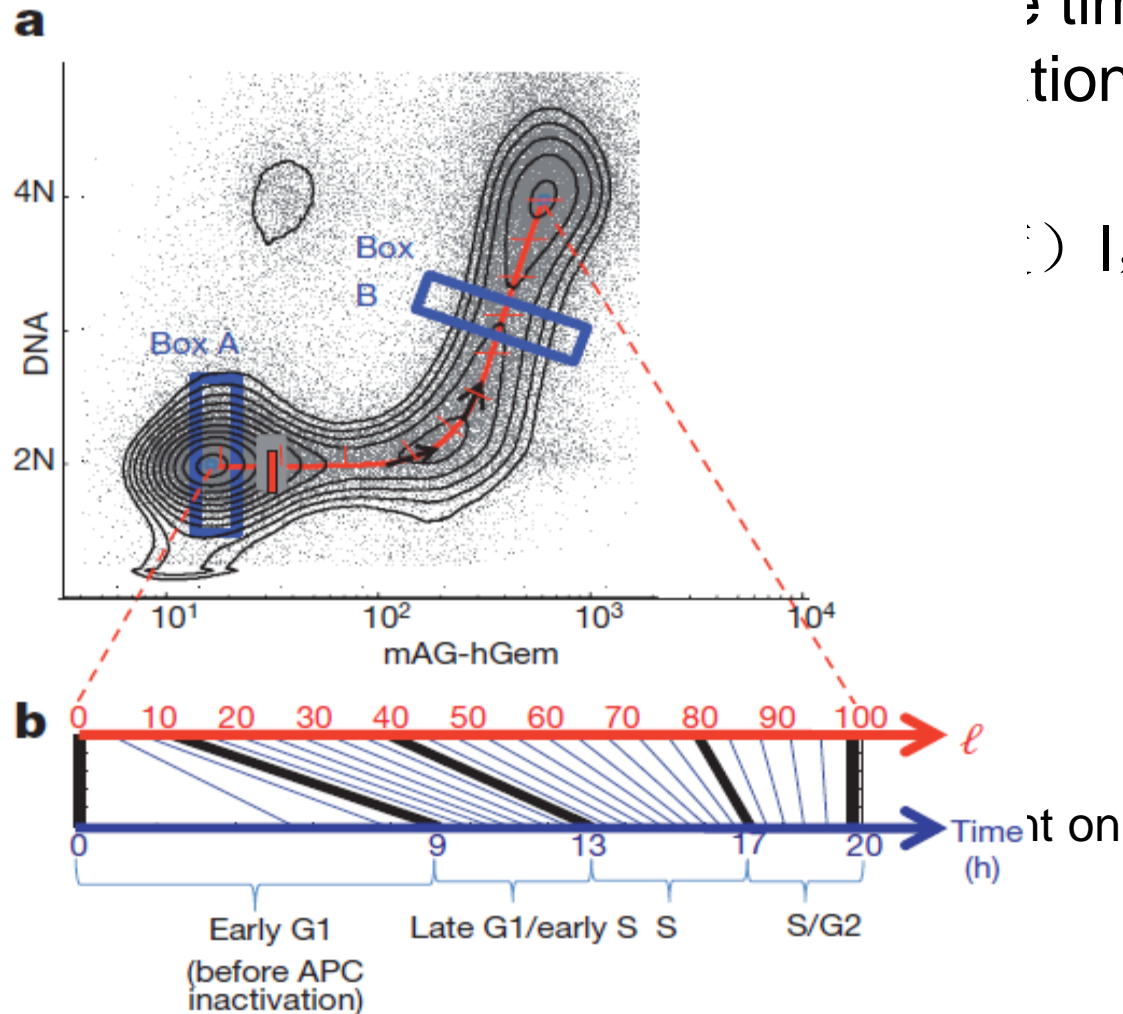
# 降维方程

- The equation profiles from fixed cells.
- 确定  $l$  (表示细胞周期)

$$\omega(l) = \alpha \frac{2}{l}$$

$$t(l_0) = \int_{l_0}^{l_1} \frac{1}{\omega(l)} dl$$

Equations (1)-fixed cells into



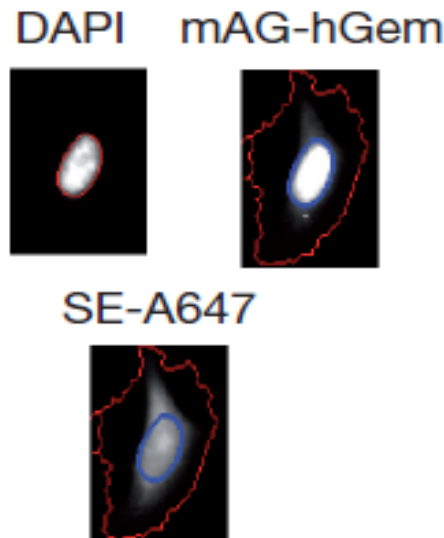
time  
tion of

)  $l$ , 表

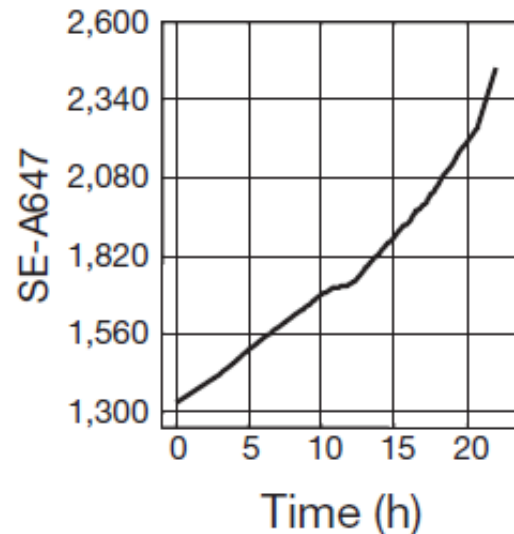
# 固定细胞的蛋白质分析

- 细胞生长动态刻画之Pr: 通过琥珀酰亚胺酯荧光染料（SE-A647）来定量单个细胞的蛋白质含量。染料与赖氨酸共价结合。
  - （其中，有doubling的过程）

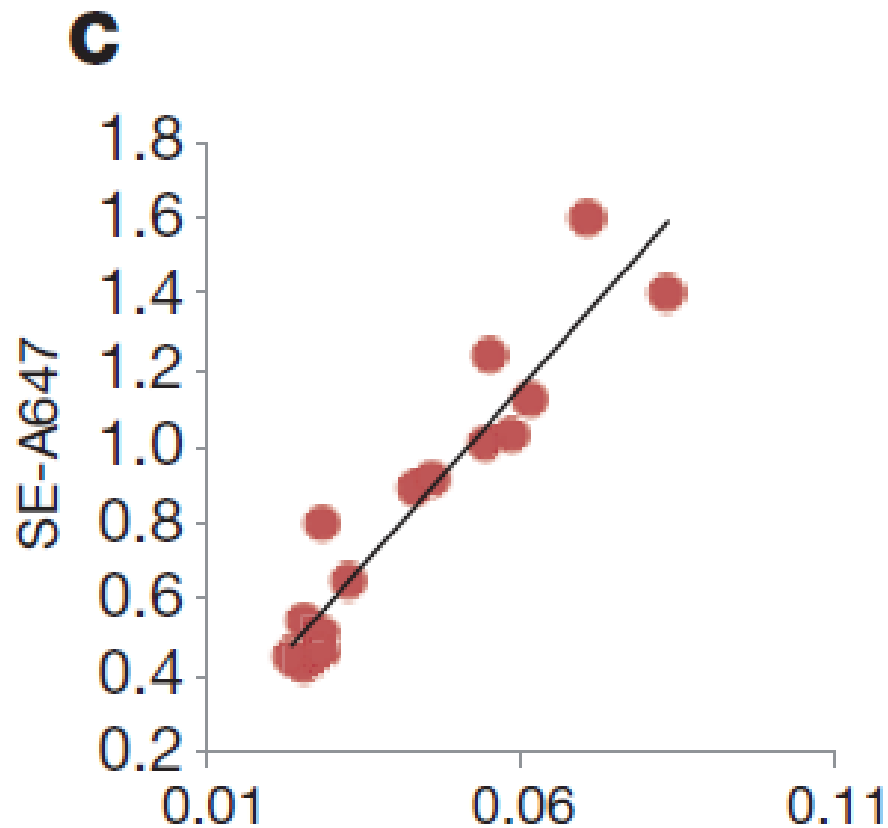
**a**



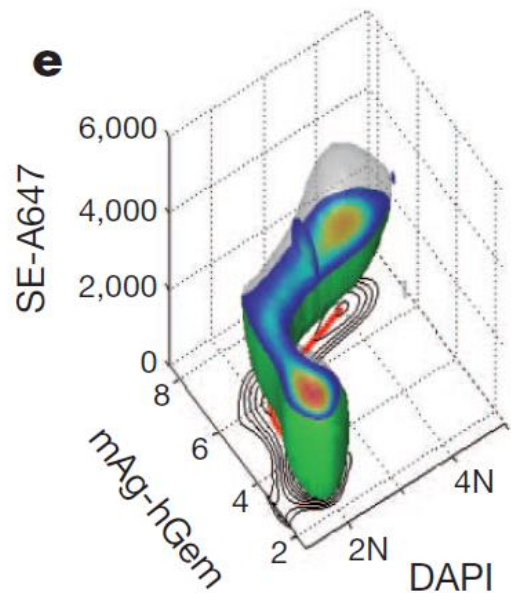
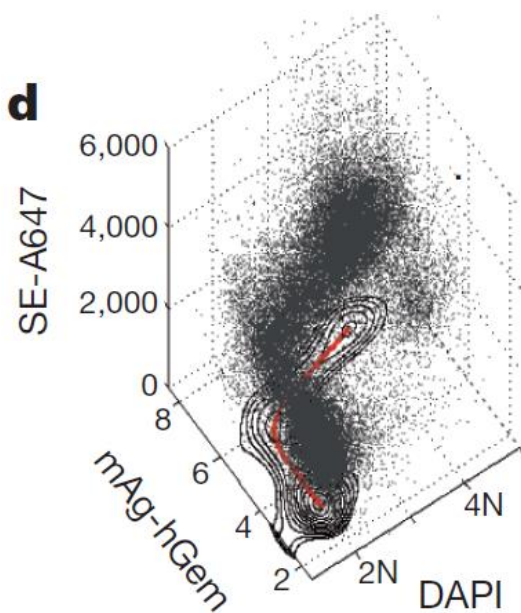
**b**



- SE-A647染色方法一个很好的方法，与QPM结果的吻合度很高。

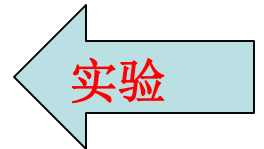
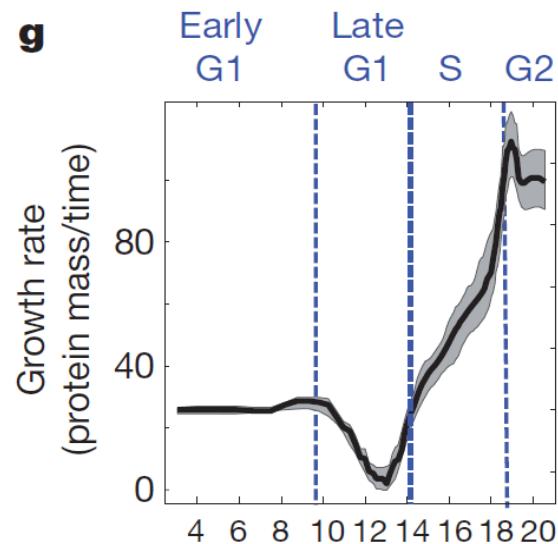
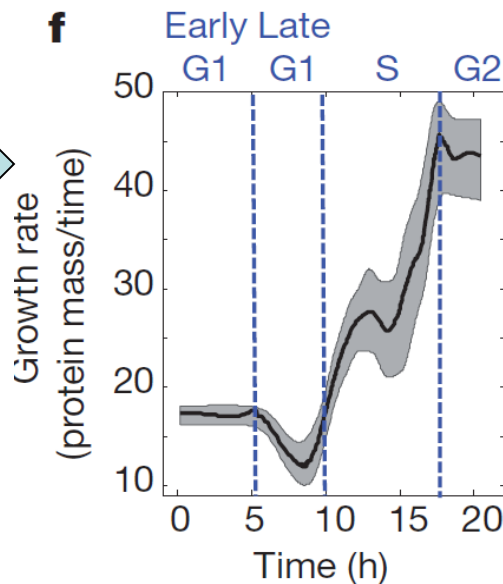
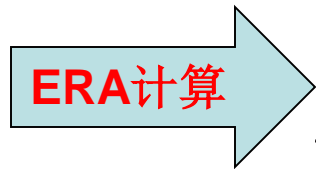


- 一个三维数据集，用来描述细胞大小和细胞周期阶段。



# 生长速率分析

- 对四个不同的细胞系：利用**REA**和实验方法同时得到生长速率随时间变化的轨迹。



非线性，非指数型，G2→max growth rate

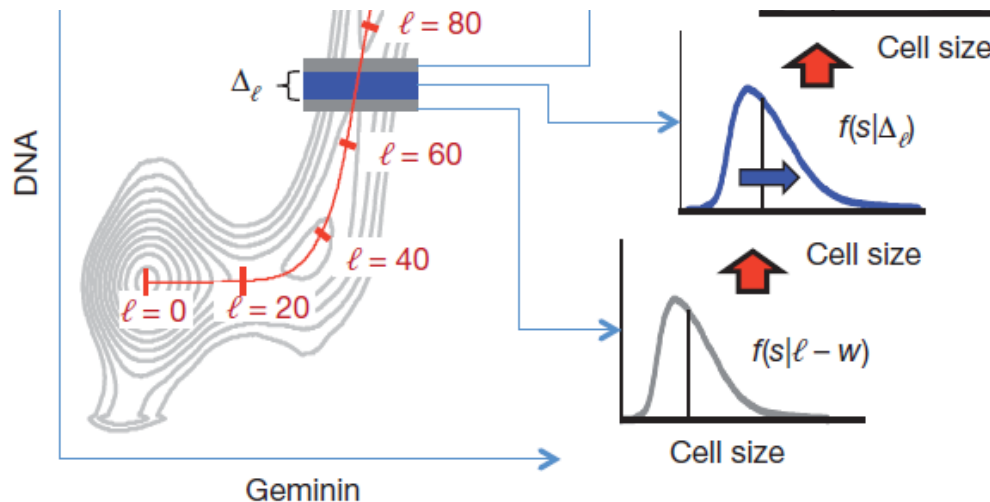
G1/S过渡期，有一个短暂的略降。在之前的时间同步群体中未发现。

ERA比较进程中的分子标记，而不是时间中的，避免了同步的模糊效应。

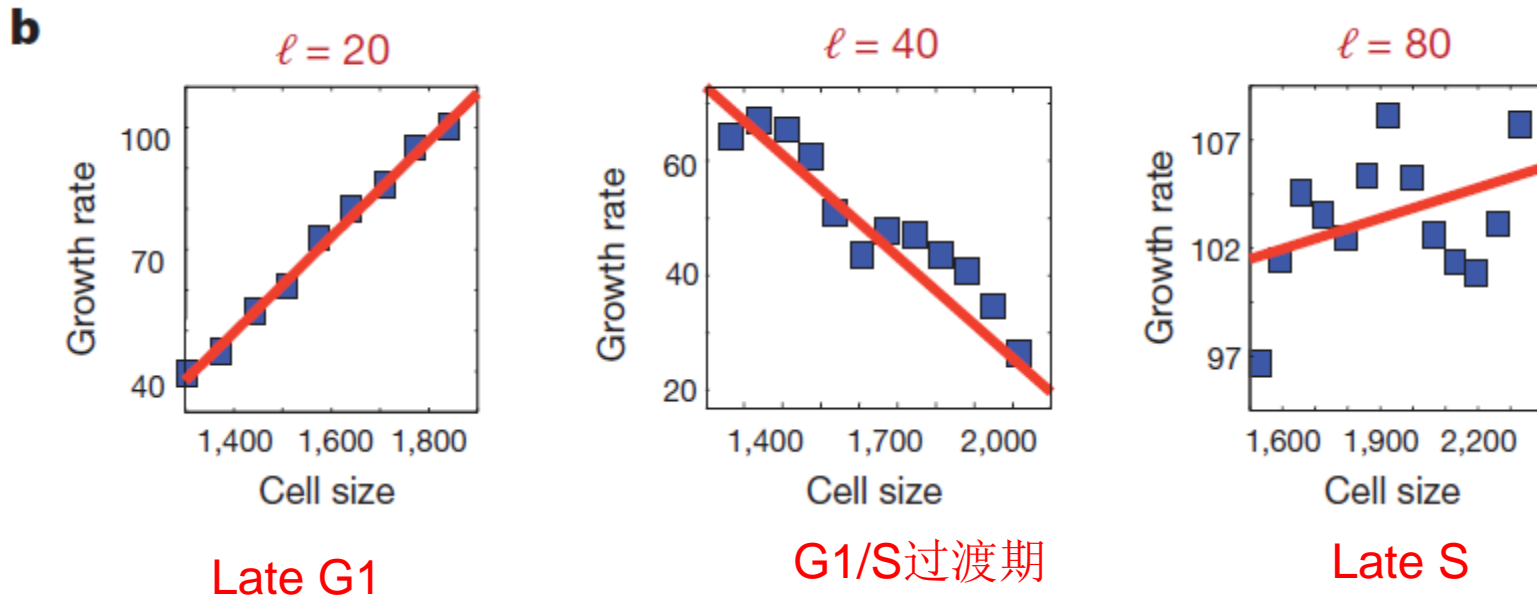
# Analysing growth as a function of size

- 计算growth rate,  $v$ , 依赖于细胞size,  $s$ 和 cell cycle position,  $l$ .即  $v=f(s,l)$ .
- 在生长路径 ( $l$ ) 中的任何一个阶段 ( $\Delta l=(l-w,l+w)$ ) 细胞大小 (**size**) 的分布与只以下三个因素有关: (1) 从上一个生长阶段进入该阶段时的细胞大小分布; (2) 从该生长阶段进入下一个生长阶段时的细胞大小分布; (3) 细胞在该阶段的生长。

$$v(s, \Delta \ell) = \alpha \frac{(2 - \lambda_A) F(s | \ell - w) - (2 - \lambda_A - \lambda_B) F(s | \ell + w) - F(s | \Delta \ell) \lambda_B}{f(s | \Delta \ell) \lambda_B} \quad (4)$$



- 不同的细胞生长阶段， $v$ 与 $s$ 的关系。

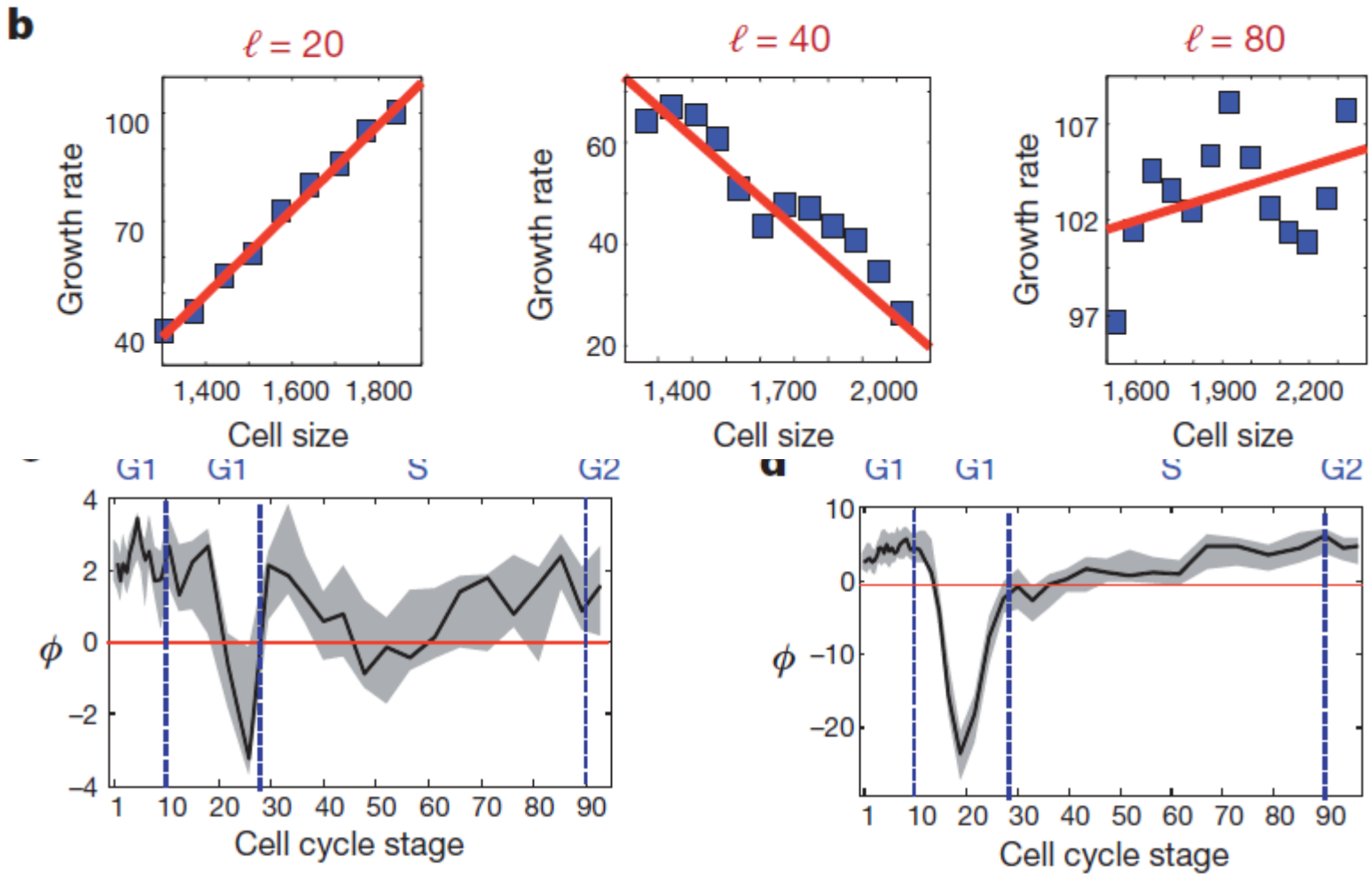


a negative slope

细胞越小，生长速度越快

细胞大小与生长速率存在负反馈调节。

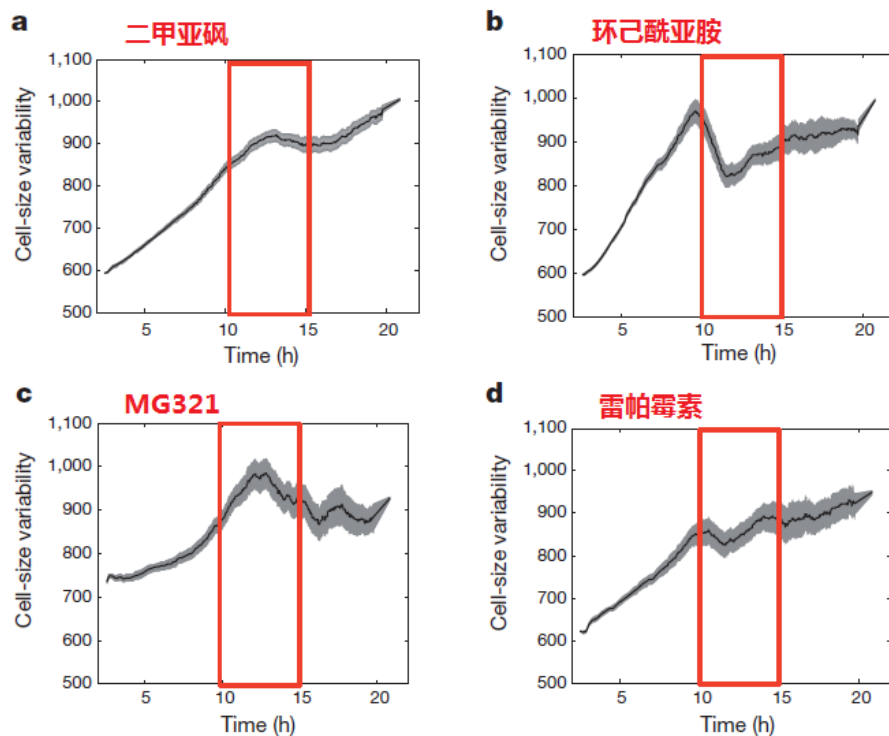
进而，减少群体中细胞大小的变异。



反馈出现在G1/S过渡期



- 进一步验证
- Why: 眼见为实



部分原因：细胞尺寸差异性蛋白引起；  
与细胞大小关联的转录活动似乎是不存在的。

**THANKS**

**for Your Attention!**