



## Modelado basado en agentes del ciclo celular de la levadura *Schizosaccharomyces pombe*

C. Castro<sup>1</sup>, D. Flores<sup>1</sup>, D. Cervantes<sup>1</sup>, E. Delgado<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Diseño, Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, México.

<sup>2</sup>College of Agriculture, Consumer and Environmental Sciences, New Mexico State University, USA.

**Resumen**— La levadura de fisión (*Schizosaccharomyces pombe*) es un organismo modelo del estudio de procesos celulares debido a que es un organismo simple y con un proceso celular conservado en otros organismos más complejos, siendo de gran interés el estudio de las proteínas que regulan su ciclo celular. Su estudio ha sido, además, de gran ayuda para desarrollar mejores tratamientos y terapias para cáncer en humanos debido a la similitud en sus ciclos celulares. En este trabajo, se creó un modelo computacional basado en agentes para representar este ciclo celular, además se obtuvo el tiempo teórico ideal de las fases del ciclo celular de esta levadura silvestre; el modelo propuesto basado en agentes mostró un patrón similar en la proporción de la duración de las fases comparado con otros enfoques de modelado utilizados por otros autores, teniendo como ventaja la facilidad de programación y de procesar la información, además de que este enfoque de modelado permite hacer cambios en tiempo real lo que lo hace más semejante a un proceso biológico real permitiendo estudiar otras características (por ejemplo, comportamientos emergentes si una proteína cambia de manera anormal).

**Palabras clave**—Ciclo celular, levadura de fisión, cáncer, MBA.

### I. INTRODUCCIÓN

La levadura de fisión (*Schizosaccharomyces pombe*) es un organismo modelo para la ciencia del estudio de los procesos celulares, debido a que es un hongo unicelular relativamente simple, lleva a cabo un ciclo celular eucariótico común con divisiones nucleares mitóticas [1]. Esta levadura ha sido de gran interés particularmente por su biología celular, siendo objeto de estudio su ciclo sexual, y los procesos de crecimiento y división que forman parte del ciclo celular [2, 3].

El ciclo celular es una secuencia de eventos bien definidos cuya correcta ejecución lleva a la división de la célula en dos células hijas del mismo tamaño. Como se muestra en la Figura 1, este ciclo se divide en cuatro fases; en la primera (G1), la célula crece hasta que tiene las condiciones necesarias para empezar el proceso de división; en la segunda (S), se sintetiza el ADN y los cromosomas se replican; la tercera (G2) es una brecha entre las fases S y M donde se sintetizan los demás componentes necesarios para pasar a la fase M; por último, en esta fase, la célula entra en

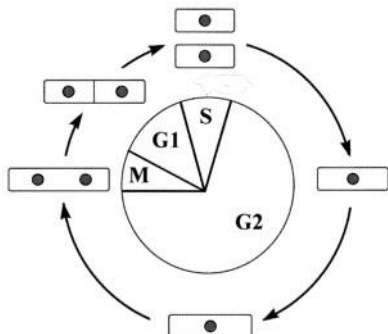


Fig. 1 Esquema del ciclo celular de la levadura de fisión. Tomado de [5].

mitosis y se divide. Después de esto la célula entra en la fase G1 completándose un ciclo y esperando a tener que dividirse de nuevo, es importante destacar que la regulación de las fases se lleva a cabo por varias proteínas [4].

Una de las áreas de estudio de la levadura de fisión es el desarrollo de tratamientos contra el cáncer debido a que los mecanismos de su ciclo celular son muy parecidos a los del humano. La inestabilidad de las células cancerosas se debe a defectos que afectan el ciclo celular (maquinaria, puntos de verificación, reparo de ADN, etc.); estos defectos diferenciarán en gran medida a una célula normal de una cancerosa y por lo tanto se tiene una ventaja para desarrollar terapias que se enfoquen en las células dañadas. Para esto se construyen células de levadura mediante mutaciones para introducir características de tumores específicos (alteraciones de la reparación, proteínas ciclinas del ciclo celular, etc.) de un tipo de cáncer humano (pulmón, colon, etc.); después, las levaduras mutadas y normales se prueban con medicamentos para el cáncer para ver cuáles matan a la levadura mutada de manera más efectiva que a las levaduras normales, teniendo así un medicamento que sea específico para ese tipo de cáncer [6].

El ciclo celular de la levadura de fisión se ha simulado de forma matemática en [5], [7 – 9] y computacional en [4], [10], [11], siendo estas investigaciones una prueba de que los modelos pueden ser útiles para analizar y estudiar este proceso biológico. Sin embargo, el uso de nuevas técnicas y enfoques de modelado es importante debido a que presentan ventajas que pueden ser de ayuda para estudiar este proceso, haciendo más fácil la abstracción del modelo y evitando el uso de constantes cinéticas.

Uno de los paradigmas de modelado computacional que ha generado más interés en los últimos años es el modelado

## II. METODOLOGÍA

Para construir un modelo basado en agentes se deben seguir estos pasos: diseñar, construir y analizar [13].

### Diseño del modelo

Este proceso consta en definir los agentes del modelo, así como las propiedades y reglas de interacción entre ellos, para así elaborar una abstracción del fenómeno biológico y obtener un modelo conceptual el cual sirva de base para la construcción del modelo.

El diseño de este trabajo está basado en la red booleana propuesta por [4]. Donde las proteínas son los nodos de la red teniendo un estado de 0 (ausente) o 1 (presente); esto debido a posibles mecanismos biológicos, expresión de genes o fosforilaciones de las proteínas; obteniendo como resultado la correcta secuencia de estados de las proteínas de acuerdo al ciclo celular biológico, en ese modelo no se obtuvieron los tiempos de las fases; es por esto que se optó por el uso de MBA debido a que es posible medir el tiempo de las fases agregando el factor de movimiento estocástico, en lugar de que sean entidades que cambian de estado solo por su red de interacción, los agentes se mueven aleatoriamente se genera un transcurso medible de tiempo y deben estar en el mismo espacio para que las interacciones se puedan llevar a cabo.

En el modelo propuesto basado en agentes, se definió un tipo de agente para cada proteína involucrada, teniendo al final un total de 10 agentes los cuales existirán en el mundo, que representa al interior de la célula. Cada agente tendrá la propiedad de estado inactivo (0) o activo (1); teniendo además un movimiento estocástico en el mundo (célula). Las proteínas pueden tener interacciones de activación, inhibición o ambos, esto significa que una proteína de activación generará un cambio de 0 a 1 en otra proteína; mientras que una proteína de inhibición generará un cambio de 1 a 0.

Todas las interacciones llevadas a cabo se muestran en la Figura 2, la cual fue tomada de [4]; donde las flechas verdes representan un proceso de activación de las proteínas, las flechas rojas un proceso de inhibición, y las líneas amarillas un proceso de auto-inhibición en donde la misma molécula pasa de estar en un estado de 1 a 0 después de haber llevado a cabo los procesos en los que está involucrada.

Las entradas del modelo se definieron como los estados iniciales de cada proteína; en el modelo hay seleccionadores de (0,1) para ajustar la actividad o inactividad de los agentes al inicio de la simulación. Y como salida, la correcta secuencia de fases del ciclo mostrada en un monitor que

basado en agentes (MBA), los cuales están formados por un conjunto de componentes llamados agentes (desde el punto de vista computacional, son pequeños programas de software) quienes tienen reglas de comportamiento, autonomía e interacciones entre ellos creando comportamientos complejos y emergentes [12].

El MBA se basa en la premisa de que cualquier fenómeno se puede modelar si se cuenta con agentes, un espacio en el que estos existen e interacciones entre los agentes y el espacio y los agentes [13]. En este modelo las proteínas reguladoras serán los agentes y los procesos de fosforilación y desfosforilación serán las interacciones entre ellos; la interacción con el espacio será el movimiento de las proteínas en la célula.

Siendo así en este trabajo se realizó el modelo computacional basado en agentes con la herramienta NetLogo del ciclo celular de la levadura de fisión sin hacer uso de parámetros cinéticos o concentraciones de las proteínas moléculas involucrada estudiando en su lugar los procesos celulares de forma cualitativa, ya sea la fosforilación o desfosforilación de moléculas o el movimiento de estas, mediante la programación de los agentes y sus interacciones; esto para reproducir la secuencia del ciclo celular de la levadura, así como el tiempo de duración de las cuatro fases G1, S, G2 y M y su posterior comparación con los resultados de las simulaciones de otros autores para validar que el modelo propuesto se comporta de la misma forma que con otros enfoques de modelado.

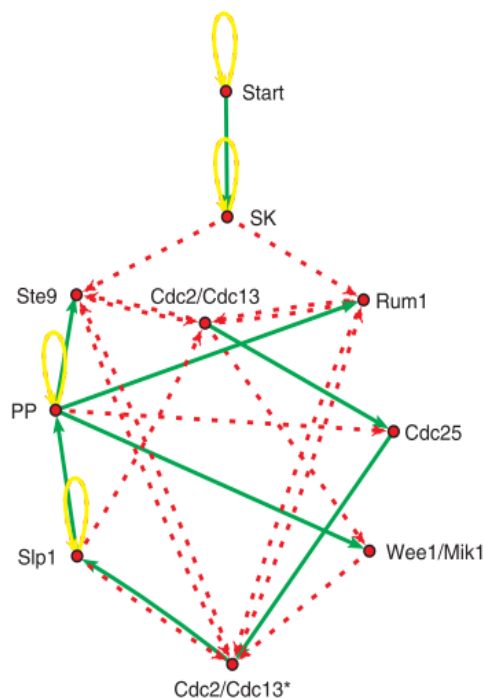


Fig. 2 Esquema de la red de interacciones entre los agentes.

muestra la fase que se está llevando a cabo en ese momento, así como el tiempo de cada fase al finalizar el ciclo.

Los estados iniciales de las moléculas se establecieron de la forma mostrada en [4], estos son: *Start* (1), *SK* (0), *Cdc2/Cdc13* (0), *Ste9* (1), *Rum* (1), *Slp* (0), *Cdc2/Cdc13\** (0), *Wee1 Mik1* (1), *Cdc25* (0), y *PP* (0). Este estado inicial es la configuración en la que se encuentra estas proteínas en la célula en el momento antes de empezar el ciclo, donde la célula cumple los requerimientos necesarios para que el ciclo celular empiece, esperando solamente la activación de *SK* por medio de la proteína *Start*, después de eso se llevan a cabo las interacciones mostradas en la red de la Figura 2, hasta terminar en un estado similar a la inicial, pero con *Start* en su estado inactivo.

### Construcción del modelo

Este paso consta de la programación del modelo conceptual definido en el diseño. Se realizó en el software NetLogo versión 6.1. Programando los agentes definidos, así como las interacciones entre ellos; en esta parte se programó la interacción por separado llevada a cabo entre cada par de agentes (por ejemplo, *SK* con *Rum1*, *PP* con *ste9*, etc.), generando el cambio de estado cuando el par se encontraba en el mismo espacio.

En la Figura 3 se observa la interfaz de NetLogo del modelo de este trabajo; en la parte superior e izquierda se encuentran las entradas del modelo donde se ajusta la actividad inicial de las agentes; en la parte inferior y derecha se encuentran los monitores para observar el estado en tiempo real de la actividad e inactividad de los agentes (proteínas), así como la fase actual y el tiempo de las fases al final del ciclo.

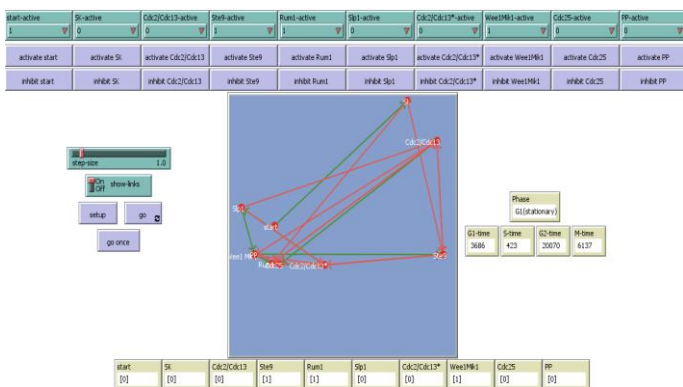


Fig. 3 Interfaz del modelo del ciclo celular en NetLogo.

Tabla 1 Tiempo de duración de las fases en diferentes modelos.

Fuente	G1		S		G2		M	
MBA	6246 ticks	25.74%	1833 ticks	7.56%	11239 ticks	46.32%	4944 ticks	20.38%
Anbumathi 2011	30 min	20.00%	15 min	10.00%	85 min	56.67%	20 min	13.33%
Novak 2001	19 min	12.50%	12 min	8.33%	113 min	75.00%	6 min	4.17%
Novak 1998	38 min	25.33%	17 min	11.33%	78 min	52.00%	17 min	11.33%

### Análisis del modelo

Para dar validez al modelo, y debido a la estocasticidad del mismo, se realizaron 100 corridas midiendo el tiempo de las fases y tomando su promedio para comparar los resultados obtenidos con los modelos de [9, 11] y con el tiempo que transcurre idealmente en el ciclo celular de una cepa silvestre [5].

### III. RESULTADOS

Se realizaron 100 corridas del modelo bajo las mismas condiciones de inicio (*Start* (1), *SK* (0), *Cdc2/Cdc13* (0), *Ste9* (1), *Rum* (1), *Slp* (0), *Cdc2/Cdc13\** (0), *Wee1 Mik1* (1), *Cdc25* (0), y *PP* (0)), obteniendo como resultado un promedio de duración en *ticks* (tiempo en que se completa una iteración del código y es dependiente del equipo de cómputo donde se ejecute el programa) de cada una de las fases del ciclo mostrados en la Tabla 1 junto con los tiempos en minutos de otros modelos y el respectivo porcentaje de duración en cada modelo. De igual manera se obtuvo una secuencia de las fases del ciclo de la misma forma como se muestra en [4].

Para hacer una comparación directa con los resultados de otros modelos se calculó el porcentaje de duración de cada fase, en la Figura 4 se observa un mismo patrón de

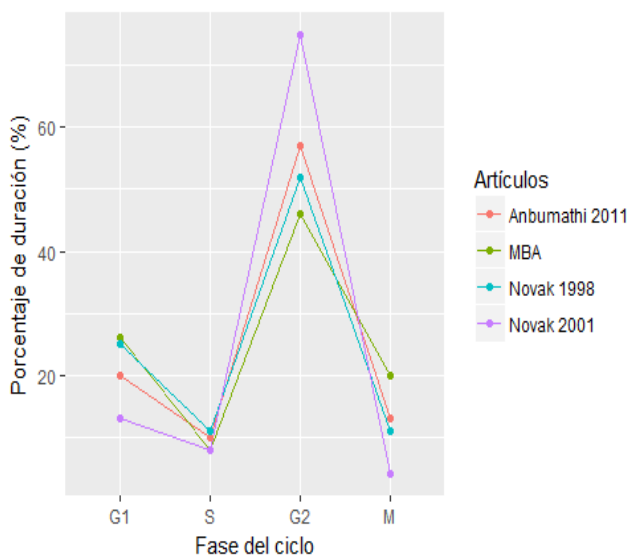


Fig. 4 Comparación de resultados de diferentes modelos.

predicción de los tiempos comparados con los datos teóricos obtenidos de [5], lo que sirve como evidencia de que el modelo propuesto basado en agentes permite estudiar el ciclo celular de forma computacional sin hacer uso de ecuaciones diferenciales.

#### IV. DISCUSIÓN

Como se observa en la Fig. 4 la relación de tiempo de cada fase tiene un patrón específico similar en los modelos realizados por otros autores con diferentes métodos de modelado y además con modelos basados en agentes (MBA). De este modo, se puede decir que el modelo basado en agentes propuesto, describe el comportamiento biológico del ciclo celular de la levadura de fisión con el fin de establecerlo como base para modelos del ciclo celular que sean más complejos y que permitan obtener otros resultados de interés, como por ejemplo, tiempo de las fases al modificar la regulación de las proteínas o efectos de agentes externos en el ciclo celular.

Una de las estrategias para encontrar tratamientos específicos para diferentes tipos de cáncer es realizar mutaciones en la levadura para que ésta tenga un ciclo celular semejante a esos tipos de cáncer. De esta manera, el MBA puede adaptarse para que la regulación de las proteínas no muestre como resultado el ciclo celular normal de la levadura si no un ciclo de una célula cancerosa, si a esto se agrega un agente externo (fármaco) podría obtenerse como resultado el efecto de éste en el ciclo celular, observándose la supervivencia o muerte celular de la levadura obteniendo un fármaco posiblemente eficaz para el tratamiento de tumores humanos.

Es importante destacar que realizar el estudio del ciclo celular de la levadura, así como el análisis de los tratamientos para el cáncer en el laboratorio es un proceso complejo y que podría llevar mucho tiempo en su realización. El modelo basado en agentes propuesto y sus mejoras planteadas permitirán acelerar computacionalmente el proceso de experimentación en el laboratorio, reduciendo en el número de fármacos a estudiar *in vivo* y por lo tanto reduciendo el uso de recursos económicos y de tiempo. Gracias a esto se dispone de una herramienta que puede ser utilizada por científicos para poder estudiar los procesos celulares de la levadura de fisión, organismo que sirve de modelo biológico para desarrollo y prueba de medicamentos, tratamientos y terapias contra el cáncer que quieran ser utilizadas en humanos.

#### V. CONCLUSIÓN

Se obtuvo un modelo basado en agentes del ciclo celular de la levadura de fisión el cual reproduce la secuencia del ciclo celular, así como el tiempo de duración de las fases G1, S, G2 y M el cual es una base para el estudio del ciclo celular ahorrando recursos económicos y tiempo, debido a que se obtuvieron resultados similares a modelos matemáticos realizados con ecuaciones diferenciales. Además de ser un modelo que puede ser usado de base para modelos que permitan probar y desarrollar fármacos contra el cáncer.

La biología computacional muestra ser de gran ayuda al momento de estudiar y analizar fenómenos biológicos que pueden ser difícil o imposibles de realizar en el laboratorio y es por esto que es necesario que sea un enfoque a considerar en futuras investigaciones.

#### BIBLIOGRAFÍA

- [1] R. Egel, *The Molecular Biology of Schizosaccharomyces Pombe*. 2010.
- [2] P. A. Fantes and C. S. Hoffman, "A Brief History of Schizosaccharomyces pombe Research: A Perspective Over the Past 70 Years," *Genetics*, vol. 203, no. 2, pp. 621–629, 2016.
- [3] P. Nurse, "Cyclin dependent kinases and cell cycle control (Nobel lecture)," *ChemBioChem*, vol. 3, no. 7, pp. 596–603, 2002.
- [4] M. I. Davidich and S. Bornholdt, "Boolean network model predicts cell cycle sequence of fission yeast," *PLoS One*, vol. 3, no. 2, 2008.
- [5] B. Novak, A. Csikasz-nagy, B. Gyorfyy, K. Chen, and J. J. Tyson, "Mathematical model of the fission yeast cell cycle with checkpoint controls at the G1 / S , G2 / M and metaphase / anaphase transitions," *Biophys. Chem.*, vol. 72, pp. 185–200, 1998.
- [6] L. H. Hartwell, "Yeast and cancer," *Biosci. Rep.*, vol. 24, no. 4–5, pp. 525–544, 2005.
- [7] A. Sveiczzer, A. Csikasz-Nagy, B. Gyorfyy, J. J. Tyson, and B. Novak, "Modeling the fission yeast cell cycle: quantized cycle times in wee1- cdc25Delta mutant cells.," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 97, no. 14, pp. 7865–70, 2000.
- [8] B. Novak, Z. Pataki, A. Ciliberto, and J. J. Tyson, "Mathematical model of the cell division cycle of fission yeast," *Chaos*, vol. 11, no. 1, pp. 277–286, 2001.
- [9] A. Sveiczzer, J. J. Tyson, and B. Novak, "A stochastic, molecular model of the fission yeast cell cycle: Role of the nucleocytoplasmic ratio in cycle time regulation," *Biophys. Chem.*, vol. 92, no. 1–2, pp. 1–15, 2001.
- [10] I. Mura and A. Csikasz-Nagy, "Stochastic Petri Net extension of a yeast cell cycle model," *J. Theor. Biol.*, vol. 254, no. 4, pp. 850–860, 2008.
- [11] P. Anbumathi, S. Bhartiya, and K. V. Venkatesh, "Mathematical modeling of fission yeast Schizosaccharomyces pombe cell cycle: Exploring the role of multiple phosphatases," *Syst. Synth. Biol.*, vol. 5, no. 3–4, pp. 115–129, 2011.
- [12] E. Manzanarez-ozuna, D. Flores, C. M. Gómez-gutiérrez, and A. Abaroa, "Modelo basado en agentes de la vía MAPK con NetLogo," no. October, pp. 5–10, 2015.
- [13] U. Wilensky and W. Rand, *An Introduction to Agent-Based Modeling*. 2015.