

ARTÍCULO

LA FÍSICA EN LA DIFERENCIACIÓN CELULAR: ARABIDOPSIS THALIANA

José Roberto Romero Arias
Instituto de Física, UNAM.

La física en la diferenciación celular: *Arabidopsis thaliana*

Resumen

Abordamos el problema de diferenciación celular, suponiendo que las células reciben información espacio-temporal del medio en el que se encuentran y les permiten cambiar la expresión de sus genes, a través de la interacción entre campos físicos macroscópicos y sus redes genéticas. Describimos un modelo de coevolución entre dos sistemas físicos para visualizar la floración de *Arabidopsis thaliana*.

Palabras clave: morfogénesis, redes genéticas, modelos de floración.

Abstract

We address the cell differentiation problem assuming that cells receive information from spacetime environment in which they live and allow them to change the gene expression through physical fields and their genetic networks interaction. We describe a coevolution model between two physical system to show the inflorescence of the plant *Arabidopsis thaliana*.

Keywords: morphogenesis, genetic networks, models of inflorescence.

Introducción

Desde el descubrimiento del ADN que rige el funcionamiento, todas las formas de vida en la Tierra no han dejado de sorprenderse. La misma estructura de doble hélice en todas las células basta para formar cualquier ser vivo, simplemente cambiando la secuencia de sus bases nucleicas. La razón por la que las bases del ADN se ordenan en un ser vivo no se entienden aún. Actualmente hay miles de personas que se dedican a estudiar el genoma de las formas de vida, que se encuentren a su alcance. Los grupos de bases forman genes con funciones específicas bien identificadas. Estos genes son los que más nos importan, ya que actúan en conjunto, formando redes genéticas que se encargan de regular la síntesis de proteínas específicas, que intervienen en el metabolismo celular. Desde que Watson y Crick, propusieron su modelo físico de la estructura del ADN en el siglo pasado, la física ha tratado de adentrarse a los innumerables procesos que ocurren en la naturaleza viva.

Así, actualmente, existe mucha literatura que propone modelos para explicar la diferenciación celular basados puramente en los genes y su distinta expresión para explicar el desarrollo de los organismos, a partir de cierto grupo de células llamadas

“madre”, “troncales”, o indiferenciadas. En otras palabras, las células indiferenciadas comparten no sólo el mismo ADN, sino que también los mismos genes y las mismas redes genéticas, que durante el desarrollo de un ser vivo adquieren un destino específico que es gobernado por las diferencias en la expresión de sus genes [15].

Sin lugar a dudas, la diferenciación celular es una actividad compleja que involucra una comunicación constante entre los miembros celulares y no basta la sola expresión genética para realizarse. Sin embargo, con la información que tenemos sobre las redes genéticas podemos modelar estos procesos como un sistema co-evolutivo * donde se involucran la dinámica de las redes de cada célula y su respuesta al medio externo, mediante un campo físico, y viceversa.

Para ejemplificar lo que hemos dicho tomaremos la función de un ser vivo en particular: La floración de la planta *Arabidopsis thaliana*, que fue el primer vegetal en que se decodificó completamente el genoma y existe un enorme acervo de datos experimentales sobre su floración que nos ayudan a modelarla, además de ser la planta más estudiada actualmente en el mundo. Otro punto importante de la elección de este sistema es que su estructura espacial, que es representativa del cuarto de millón de especies de angiospermas que existen y que consta de tener los sépalos, pétalos, estambres y carpelos ordenados en anillos concéntricos de afuera hacia adentro. En lo que sigue describiremos, someramente, un modelo que nos ayude a entender la forma genérica de la floración de todas las plantas. Una descripción completa y detallada de este modelo se encuentra actualmente en preparación [4].

Bases biológicas de la floración

Dentro de los procesos más aludidos para explicar la diferenciación celular se encuentran los que describen los patrones espaciales mediante términos difusivos de sustancias químicas, mejor conocidos como sistemas de Turing. Estos patrones son modelados con ecuaciones diferenciales parciales que involucran una dinámica entre dos o más agentes químicos y fueron propuestas por Alan Turing en los 50 [18] y hoy en día nos ayudan a modelar los patrones en muchos animales, ya sean cebras, tigres, leopardos, peces, etcétera. [12].

La intrincada comunicación entre las redes genéticas de las células en las plantas y su medio se puede modelar mediante ecuaciones tipo Turing cambiando los agentes químicos por campos físicos, ya que a diferencia de los animales, la morfogénesis ocurre durante todo el ciclo de vida en los grupos de células indiferenciadas llamados meristemas, y que se pueden ver como una muestra pequeña de la floración. El meristemo de la inflorescencia o “shoot apical meristem” (SAM) se genera por un aumento de unas sustancias llamadas auxinas [1, 10] y es la responsable del inicio de la formación del meristemo que se desarrollará en las cuatro regiones concéntricas de células primordiales o “primordios”, que posteriormente se convertirán en los cuatro organelos sépalos, pétalos, estambres y carpelos [2, 3], en la figura 1 nos muestra la distribución de los organelos.

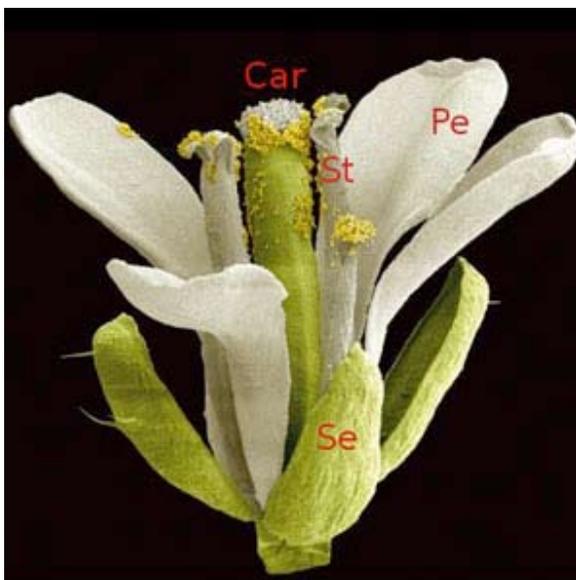


Figura 1: Se muestra la flor *Arabidopsis thaliana* y sus cuatro organelos. De afuera hacia adentro se encuentran los sépalos (Se), pétalos (Pe), estambres (St) y carpelos (Car)

Antes aplicar campos físicos al problema, es bueno partir de un modelo de la floración muy conocido y sustentado de *Arabidopsis thaliana*, llamado ABC [11, 16]. Este modelo propone un mecanismo basado en las concentraciones de tres sustancias químicas que actúan como activadores selectivos de las redes genéticas que producen los diferentes organelos. Cabe mencionar, que este modelo no explica por qué hay una distribución concéntrica y anillada de los organelos, que es lo que nos interesa.

El modelo ABC supone que existen interacciones con tres transcritores de genes que son activados en forma diferente según su concentración relativa. Los genes que se involucran en este modelo son llamados genes homeóticos, porque se traducen en proteínas que regulan la expresión del ADN. En otras palabras, el modelo divide a los genes en tres tipos de clases y propone la identificación de cada órgano con la interacción entre ellos. La forma en que queda determinada la floración en el modelo ABC es la siguiente:

- Los genes de la clase A inducen el desarrollo de los sépalos (Se).
- Los genes de la clase A junto con los de la clase B inducen el desarrollo de los pétalos (Pe).
- Los genes de la clase B junto con los de la clase C inducen el desarrollo de los estambres (St).
- Los genes de la clase C inducen el desarrollo de los carpelos (Car).

Un modelo más elaborado y basado en datos experimentales a la floración de *Arabidopsis* con el espíritu del ABC es el propuesto por Elena Álvarez-Buylla *et. al.* [2], el cual tiene una red de 15 genes cuyos atractores pueden reproducir los resultados del modelo ABC. Sin embargo, sigue siendo una forma estática de ver la formación de los organelos de la flor; aún así, nos sugiere que hay espacio epigenético donde hay 4 puntos fijos, uno para cada organelo y que se relacionan con la floración [2, 6]. Esto nos lleva a proponer un nuevo modelo de red genética que una resultados topológicos como la curvatura que describe la interfaz de cada organelo

5-xx

primordial, y que se basa en los estudios de Kwiatkoska [7–9] y Alvarez *et. al.* [2].

La red genética que proponemos es muy simple y está basada en la red construida con los experimentos. Tiene cuatro atractores robustos que se identifican con la aparición de los cuatro verticilos característicos de la flor. Esta red se encuentra descrita y analizada en detalle en la referencia 4.

Coevolución espacio-temporal

Si nos olvidamos del crecimiento del meristemo en el tiempo y consideramos el momento justo en el que aparece un primordio, entonces encontramos que el dominio geométrico del meristemo se divide en dos módulos celulares separados por una interfaz. Estos módulos interactúan entre sí, cuando la flor va creciendo lo que provoca que cada módulo se reajuste en el espacio-tiempo. En este sentido los procesos importantes ocurren en la superficie que separa ambos módulos.

Así, tenemos que estudiar la dinámica de la frontera mediante dos campos ϕ y u , el primero describiendo la frontera entre módulos y el otro que responde a los cambios de curvatura del perfil impuesto por ϕ y cuya concentración determina en forma combinada los atractores factibles de la red genética. Asimismo, la red genética modifica la dinámica de los campos, pero en escalas de tiempo mayor, debido a que la difusión química y las reacciones entre campos ocurren mucho más rápidamente que los tiempos requeridos por los genes para expresar el destino final de una célula. Esto reduce la morfogénesis espacio-temporal a un problema de interfases que se modela con ayuda de un campo-fase de curvatura espontánea [5], y cuya evolución dinámica se representa con ecuaciones diferenciales parciales acopladas entre los dos campos [4].

En este punto la distribución espacial de los primordios representaría los módulos de la floración como fases de 3 un sistema en equilibrio termodinámico. El valor del parámetro de orden $\phi = \pm 1$ en el espacio simularía dos fases, separadas por un perfil abrupto, si suponemos que ambas fases son excluyentes. Teniendo en cuenta que el meristemo en el momento justo antes de la diferenciación tiene un diámetro de ~ 50 células. Se puede realizar una simulación numérica para el modelo ABC y los campos en un espacio bidimensional con simetría circular donde cada pixel del dominio representara el estado de una célula, y así encontrar la configuración final de los campos ϕ (ver video 1) y u (ver video 2), al igual que la aparición de los organelos (ver video 3) en el esquema del ABC asignando la formación de los carpelos (Car) a $\phi > 0$ y $u < 0$. La formación de los estambres (St) se debe a $\phi > 0$ y $u > 0$, la de los pétalos (Pe) está dada por $\phi < 0$ y $u > 0$ y finalmente la formación de los sépalos (Se) se debe a $\phi < 0$ y $u < 0$.

La combinación de los signos de los dos campos más los cuatro genes de la red genética, que pueden estar activados (acción positiva o un 1 matemáticamente) o inertes (con un 0) representa 26 posibilidades, las cuales contribuyen a sólo 4 puntos fijos como resultado de las operaciones lógicas de la red. Al incluir todas las posibilidades los campos irán cambiando conforme coevolucionan con la red genética, que paulatinamente llega a uno de sus cuatro puntos fijos.

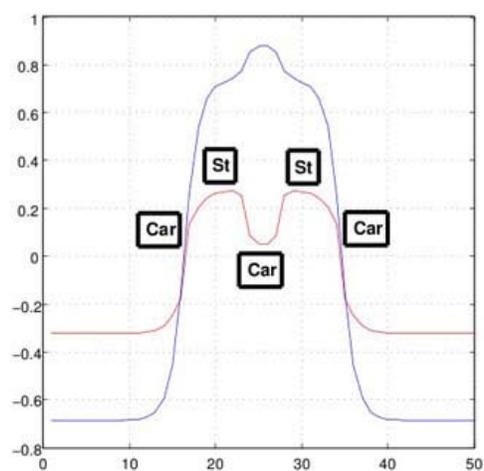
Para describir el crecimiento del meristemo es importante visualizar una forma matemática equivalente a la reproducción celular. Si pensamos que cuando una célula se divide hace que el espacio donde conviven las células aumente en un factor de dos, podemos entonces considerar

una nueva “célula” formada por dos células después de la división y así ver que el sistema inicial de un grupo de células ha cambiado de escala, pero sigue teniendo las mismas propiedades, en el espíritu del Grupo de renormalización en el espacio real. Por tanto, conforme se dividan las células encontraremos una nueva “célula” que describe al mismo sistema. De esta forma, los píxeles que representaban una célula representarán un grupo de células conforme el meristemo se desarrolle. Esta nueva forma de ver la reproducción como un cambio de escala nos ayuda a acoplar el modelo de campo-fase con el crecimiento celular y nos deja la libertad de expresar la dinámica del crecimiento de los primordios como la interacción entre sus fronteras [13] ya que los primordios crecen inicialmente en una forma casi homogénea e isotrópica [16].

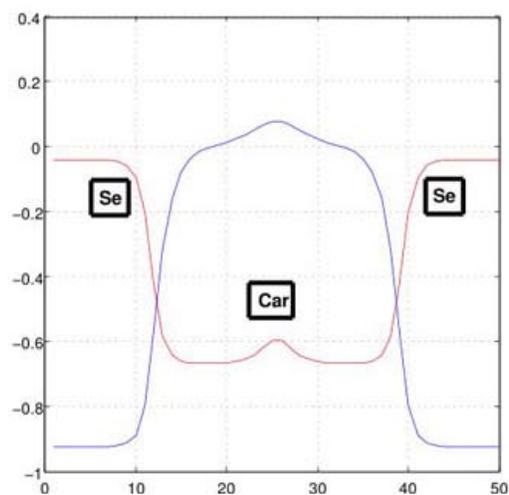
Resultados

Teniendo en cuenta que los primordios en la oración aparecen a diferentes tiempos, la RG tiene que guiarse por la curvatura de los campos para poder actuar. De esta manera podemos asociar la curvatura mayor de los campos a la aparición de los sépalos y a la aparición de los otros organelos a la disminución en la curvatura de dichos campos debido a que el meristemo se desarrolla. Los tiempos de aparición de los organelos y la curvatura de los campos se puede empatar con los estudios experimentales realizados por Smyth *et.al.* [15] y así obtener una or simulada vista en forma frontal (ver video 4) y una lateral (ver video 5). Cabe señalar que la dinámica de la red genética con la evolución de los campos y por ende la del meristemo cambia la situación de la curvatura de u y la identificación de los primordios, así que para compesar esta situación se tomó $u = 0.1$ como punto de referencia para la asignación de los organelos.

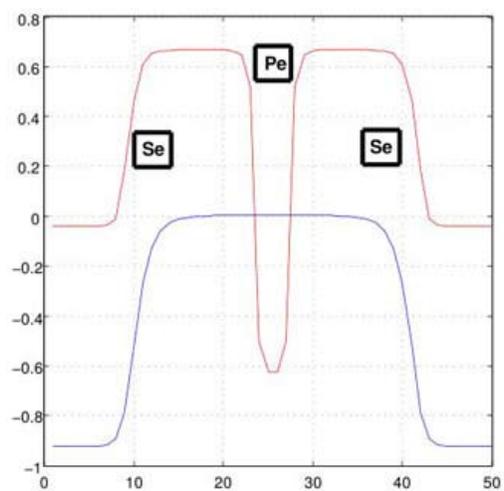
La robustez con la que operan los organismos biológicos es muy importante, pues les permite sobrevivir innumerables generaciones a pesar de los cambios repentinos en su medio ambiente. Esta propiedad fundamental parece estar plasmada en nuestro modelo, lo que lo hace válido para explicar el crecimiento de los primordios en la oración de *Arabidopsis*. Sin embargo, hay varios parámetros las mutaciones que se llevan a cabo en la planta e inclusive en otras plantas variando la forma del campo u . Para ver el mostrar el poder predictivo del modelo decidimos investigar los mutantes que produce cuando alguno de los genes falla. Para esto encontramos que en *Arabidopsis thaliana* hay tres tipos de mutantes en estado silvestre: los mutantes de la clase A que se forman con carpelos y estambres y que además se encuentran en la secuencia (Car,St,Car), los mutantes de la clase B que se forma de sépalos y carpelos y que tienen la secuencia (Se,Car) y los de la clase C que se forman por (Se,Pe,Se). El modelo predice los todos los mutantes, para los de las clases B y C ya que sólo hay que inhibir los genes AP3 y AG, mientras que el mutante A involucra la inhibición del gene AP1 y un aumento entre las interacciones de los campos y sus interfases, así como una disminución de la diferencia de escalas de tiempo entre las dos dinámicas. En la figura 2 mostramos los mutantes antes mencionados.



(a)



(b)



(c)

Figura 2: Vista central del meristemo y sus primordios en la formación de mutantes. (a) Mutante tipo A (Car,St,Car). (b) Mutante tipo B (Se,Car). (c) Mutante tipo C (Se,Pe,Se).

Conclusiones

Hemos expuesto un modelo de coevolución entre dos sistemas dinámicos interactuantes, que puede ser utilizado para investigar el problema de diferenciación celular en general. El modelo se basa en la idea de que es necesario que las células indiferenciadas reciban información espacio-temporal, necesaria para decidir su destino final. Hemos escogido la floración de *Arabidopsis thaliana* como sistema ejemplar debido a que se puede empatar con gran facilidad el amplio conocimiento que se tiene de los mecanismos biomoleculares con el desarrollo macroscópico del meristemo. Creemos que este mecanismo es aplicable; las otras 250 000 especies de plantas angiospermas, ya que todas presentan la misma estructura en la floración y que nuestro mecanismo es lo suficientemente general y robusto [4].

Agradecimientos

Al Posgrado en Ciencias Física por su gran labor y al personal que está detrás, en especial me gustaría darle las gracias al Dr. Manuel Torres por su confianza y a la secretaria del posgrado Yanalte Herrero por su paciencia y ayuda. También me encantaría agradecer a mi asesor, el Dr. Rafael Barrio por su su ayuda incondicional y sus valiosos comentarios en este trabajo.

Referencias

- [1] R. Aloni, E. Aloni, M. Langhans, and C. I. Ullrich. Role of auxin in regulating arabisopsis ower development. *Planta*, 223:315–328, 2006.
- [2] E. Alvarez-Bullya, A. Chaos, M. Aldana, M. Benítez, y Cortés-Poza, *et al*, Floral morphogenesis: Stochastic explorations of gene network epigenetic landscape. *Plos one*, 2008.
- [3] E. R. Alvarez-Buylla, E. Azpeitia, R. Barrio, M. Benitez, and P. Padilla-Longoria. From abc genes to regulatory networks, epigenetic landscapes and flower morphogenesis: Making biological sense of theoretical approaches. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 21:108–117, 2010.
- [4] R. Barrio, A. Hernández-Machado, C. Varea, and E. R. Alvarez-Buylla. Flower development as an interplay between dynamical physical fields and genetic networks. *To be published*.
- [5] F. Campelo, *Shapes in Cells. PhD thesis*, Universitat de Barcelona, 2005.
- [6] A. Chaos, M. Aldana, C. Espinosa-Soto, *et al*. From genes to flower patterns and evolution:dynamics models of gene regulatory networks. *JPGR*, 2006.
- [7] D. Kwiatkowska. Surface growth at the reproductive shoot apex of arabisopsis thaliana pin-formed 1 and wild type. *Journal of Experimental Botany*, 55:1021–1032, 2004.
- [8] D. Kwiatkowska. Flower primordium formation at the arabisopsis shoot apex: quantitative analysis of surface growth and gene expression. *Journal of Experimental Botany*, 57:571–580, 2006.

Botany, 59:187–201, 2008.

[10] J. Mattsson, W. Ckurshumova, and T. Berleth. Auxin signaling in arabidopsis leaf vascular development. *Plant Physiol*, 131:1328–1339, 2003.

[11] L. Mendoza and E. R. Alvarez-Buylla. Dynamics of the genetic regulatory network for arabidopsis thaliana flower morphogenesis. *J Theor Biol*, 193:307–319, 1998.

[12] J. Murray. **Mathematical Biology I**. Springer, 2001.

[13] R. Plaza, F. Sánchez-Garduño, P. Padilla, R. A. Barrio, and P. K. Maini. The effect of growth and curvature on pattern formation. *Journal of Dynamics and Differential Equations*, 16:1093–1121, 2004.

[14] R. Sablowski. Flowering and determinacy in arabidopsis. *Journal of Experimental Botany*, 58:899–907, 2007.

[15] B. Scheres. Plant cell identity. the role of position and lineage. *Plant Physiol*, 135:112–114, 2001.

[16] D. R. Smyth and E. M. Bowman, John L. and Meyerowitz. arly flower development in arabidopsis. *The Plant Cell*, 2:755–767, 1990.

[17] T. Szczesny, A.-L. Routier-Kierzkowska, and D. Kwiatkowska. Influence of *clavata3-2* mutation on early development in arabidopsis thaliana: quantitative analysis of changing geometry. *Journal of Experimental Botany*, 60:679–695, 2009.

[18] A. M. Turing. The chemical basis of morphogenesis. *Biological Science B*, 237:37–72, 1952.

