

Laboratoire : de Compartimentation et dynamique cellulaires - UMR144 CNRS

## THÈSE DE DOCTORAT SUR TRAVAUX

SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTÉ

par

**Mercè GUZMÁN VENDRELL**

# Contrôle spatio-temporel de la division cellulaire par les nœuds corticaux médians organisés par Cdr2 chez la levure *S. pombe*

Date de soutenance : 30/09/2014

**Composition du jury :**

Directeur de thèse :	Anne PAOLETTI	DR2 CNRS, HDR (Institut Curie UMR144)
Rapporteurs :	Mohan BALASUBRAMANIAN Lionel PINTARD	Professeur (Warwick Medical School) DR2 CNRS, HDR (Institut Jacques Monod)
Examineurs :	Pierre CAPY Damien COUDREUSE	Professeur (Université Paris-Sud: LEGS) CR1 (Université Rennes1: IGDR UMR 6290)

## Table des matières

INTRODUCTION .....	3
La régulation de la taille cellulaire.....	4
L'horloge biochimique du cycle cellulaire .....	5
Régulation de l'activité des nœuds par le gradient du facteur de polarité Pom1 .....	6
- Régulation du cycle cellulaire par la voie Pom1-Cdr2-Cdr1-Wee1 .....	6
- Régulation de la cytokinèse par la voie Pom1-Cdr2-Mid1 .....	7
RESULTATS ET CONCLUSIONS .....	9

## INTRODUCTION

La cellule doit coordonner la division cellulaire au niveau spatial et temporel. Le choix d'où et quand se diviser est primordial afin d'assurer la viabilité cellulaire, et donc la survie de l'organisme que ce soit un organisme unicellulaire ou pluricellulaire. Dans cette thèse, l'objectif est d'approfondir la compréhension des mécanismes de coordination entre la mitose et la cytokinèse qui garantissent leur succès.

La levure *Schizosaccharomyces pombe* ou levure fissionnaire est grâce à sa simplicité morphologique, sa croissance stéréotypée et sa manipulation génétique aisée un très bon modèle en biologie cellulaire pour étudier les processus du cycle cellulaire tels que la mitose ou la cytokinèse. C'est pour cela que *S.pombe* est le modèle utilisé dans cette thèse.

C'est chez *S.pombe* que les premiers cribles génétiques permettant d'identifier les composants de l'horloge biochimique qui contrôle la progression du cycle cellulaire ont été faits (Nurse, Thuriaux et al. 1976; Nurse and Thuriaux 1977; Nurse and Thuriaux 1980).

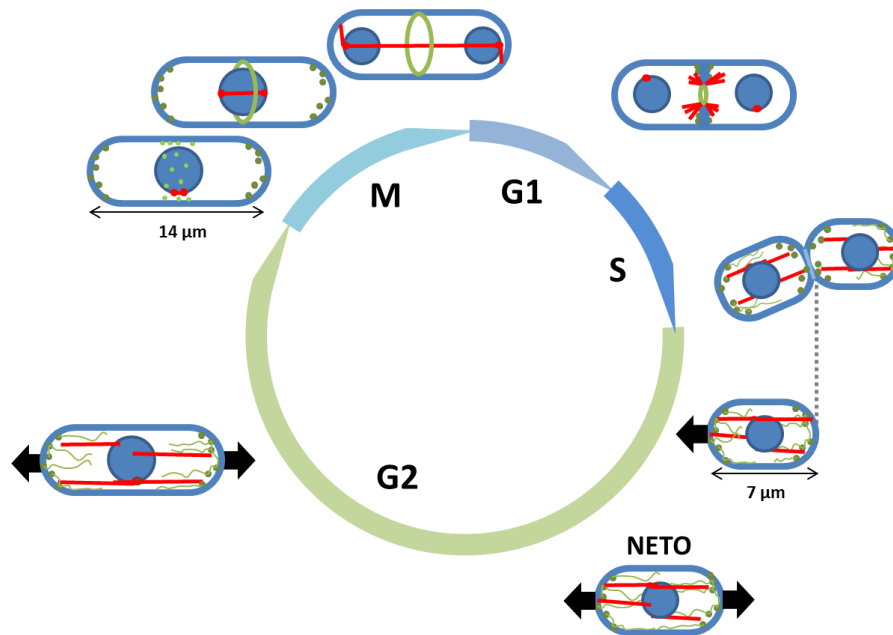


Figure F1 : le cycle cellulaire chez la levure *S.pombe*

*S.pombe* a une morphologie et un patron de croissance très simple. La croissance polarisée de *S.pombe* est régulée au cours de son cycle cellulaire qui dure de 2 à 3 heures. Les cellules ont une forme de bâtonnet et elles poussent d'abord de manière monopolaire par l'ancienne extrémité (celle qui existait avant la division). Puis, très tôt dans la phase G2, à environ un tiers du cycle cellulaire, un nouveau site de croissance polarisée apparaît à la nouvelle extrémité qui se met également à pousser : c'est le processus que l'on nomme NETO (*New End Take Off*). Lorsque ces cellules atteignent une longueur d'environ 14  $\mu\text{m}$ , la croissance s'arrête et elles entrent en mitose. Les cellules rassemblent en leur centre un anneau contractile acto-myosique. Ensuite, cet anneau se contracte de manière concomitante à la formation d'un septum, ce qui aboutit à la formation de deux cellules filles séparées physiquement tardivement en fin de mitose. L'abscission correspond à la digestion du septum par des glucanases.

### La régulation de la taille cellulaire.

Dans un tissu cellulaire ou dans une culture d'organismes unicellulaire de la même espèce, les cellules ont la tendance à avoir la même taille. Ce fait suggère l'existence de mécanismes de contrôle de la taille des cellules. Le contrôle de la taille cellulaire est important pour la physiologie de la cellule puisque la taille a un impact sur plusieurs fonctions cellulaires. Pour parvenir à avoir une homéostasie cellulaire en termes de taille, les cellules ont besoin d'un équilibre entre croissance et division cellulaire. L'existence de mécanismes de contrôle de la taille cellulaire est connu depuis longtemps (Marshall, Young et al. 2012) Il a été particulièrement bien décrit chez les levures *S.pombe* et *S.cerevisiae* (Turner, Ewald et al. 2012). Récemment, quelques études ont confirmé l'existence de mécanismes de contrôle de la taille cellulaire chez les eucaryotes supérieurs (Tzur, Kafri et al. 2009; Kafri, Levy et al. 2013) indiquant que l'existence de ces mécanismes est probablement universelle.

En dépit de l'importance de la question, aucun mécanisme moléculaire n'a été proposé jusqu'à très récemment.

## L'horloge biochimique du cycle cellulaire

Chez tous les eucaryotes la progression du cycle cellulaire est contrôlée par des protéines dont la concentration varie périodiquement à chaque cycle cellulaire, les cyclines. Les cyclines s'associent avec les CDKs (*Cyclin Dependent Kinase*), et chaque combinaison de cycline-kinase a une spécificité pour des substrats différents et est typique d'une phase particulière du cycle cellulaire. Chez *S.pombe* il existe une seule Cdk (Cdc2) et quatre cyclines (Cig1, Cig2, Puc1 et Cdc13) (Hagan, Hayles et al. 1988; Bueno, Richardson et al. 1991; Forsburg and Nurse 1991; Connolly and Beach 1994). La quantité de Cdc2 reste stable pendant tout le cycle cellulaire mais celle des cyclines oscille au cours du cycle. Cdc13 est la cycline mitotique qui, combinée avec Cdc2, forme le complexe Cdk1 contrôlant l'entrée en mitose.

L'activation de Cdc2 est fortement régulée pendant tout le cycle. Une légère activation permet le passage de la cellule à la phase S du cycle cellulaire et la duplication du DNA. Par contre le passage en mitose demande une forte activation de Cdk1. L'activité de Cdk1 pendant G2 est régulée négativement par la kinase Wee1, qui phosphoryle la tyrosine 15 de Cdc2 et l'inhibe, et la phosphatase Cdc25 qui enlève le phosphate et lève l'inhibition. L'équilibre entre ces deux molécules régule donc l'activation de Cdk1 et l'entrée en mitose.

Chez *S.pombe*, Wee1 est à son tour inhibée par les kinases Cdr1 et Cdr2 (Russell and Nurse 1987; Young and Fantès 1987). Cdr1 et Cdr2 phosphorylent Wee1 directement et causent son inhibition (Coleman, Tang et al. 1993; Parker, Walter et al. 1993; Wu and Russell 1993; Kanoh and Russell 1998). Cdr1 et Cdr2 se localisent pendant l'interphase dans des nœuds au cortex médian de la cellule.

Dans les nœuds médians corticaux on peut trouver 8 protéines différentes : Cdr1, Cdr2, Wee1, Mid1, Blt1, Gef2, Nod1 et Klp8. Cdr2 est le principal organisateur de ces structures puisque l'absence du reste des composants des nœuds n'a pas d'impact sur la localisation de Cdr2. En revanche, l'absence de Cdr2 affecte la localisation du reste de protéines des nœuds (Moseley, Mayeux et al. 2009).

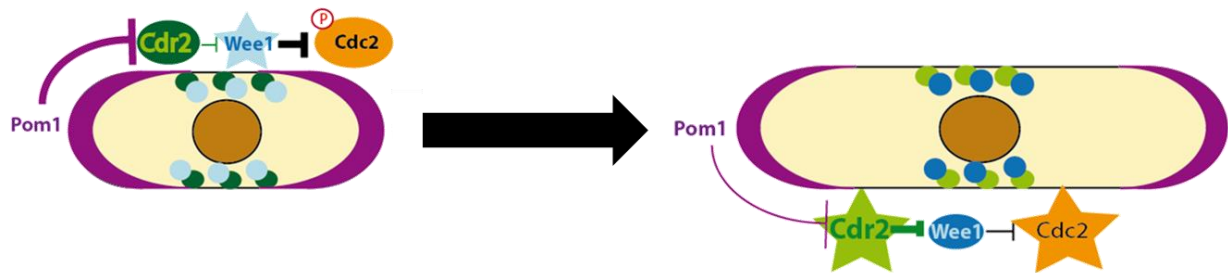
## Régulation de l'activité des nœuds par le gradient du facteur de polarité Pom1

Pom1 est une kinase de type DYRK qui forme un gradient émanant des extrémités de la cellule avec des concentrations décroissantes vers la région centrale de la cellule. Pom1 a une fonction dans l'établissement de la polarité cellulaire puisque qu'elle est nécessaire à l'activation de la croissance bipolaire,, mais cette kinase a aussi une fonction dans la régulation du cycle cellulaire et une fonction en cytokinèse. Pom1 régule négativement la distribution corticale des nœuds corticaux organisés par Cdr2 et en limite la localisation au cortex médian de la cellule. De la même façon Pom1 a aussi un effet négatif sur l'activité kinase de Cdr2 (Martin and Berthelot-Grosjean 2009; Moseley, Mayeux et al. 2009; Bhatia, Hachet et al. 2014; Deng, Baldissard et al. 2014; Rincon, Bhatia et al. 2014).

### - Régulation du cycle cellulaire par la voie Pom1-Cdr2-Cdr1-Wee1

Il y a quelques années le premier modèle biochimique proposant une régulation du cycle cellulaire par la taille des cellules a été proposé (Martin and Berthelot-Grosjean 2009; Moseley, Mayeux et al. 2009). Selon ce modèle dans des cellules jeunes et courtes une concentration élevée de Pom1 dans la région médiane de la cellule inhibe Cdr2, qui à son tour ne peut pas inhiber Wee1, bloquant ainsi l'entrée en mitose. Mais lorsque la cellule s'allonge par croissance polarisée, la région médiane contenant les nœuds corticaux s'éloigne de la source du gradient permettant l'activation de Cdr2 et l'entrée en mitose. Dans les années qui ont suivi la publication de ce modèle des modifications et apports ont été ajoutés au modèle. En particulier, il a été montré que Pom1 (kinase inhibitrice) antagonise l'activation de Cdr2 par la kinase Spp1 (kinase activatrice). On a aussi découvert que la concentration de Pom1 dans la région médiane de la cellule ne diminue pas quand les cellules s'allongent comme proposé au départ, mais que la zone de concentration minimale de Pom1 s'élargit (Deng, Baldissard et al. 2014). Enfin, Pom1 a un effet à deux niveaux sur Cdr2, sur son activité, qui peut être perturbée par une faible inhibition de Pom1, et sur l'assemblage des nœuds, dont

l'altération requiert un haut niveau d'inhibition de Pom1 (Bhatia, Hachet et al. 2014; Rincon, Bhatia et al. 2014).



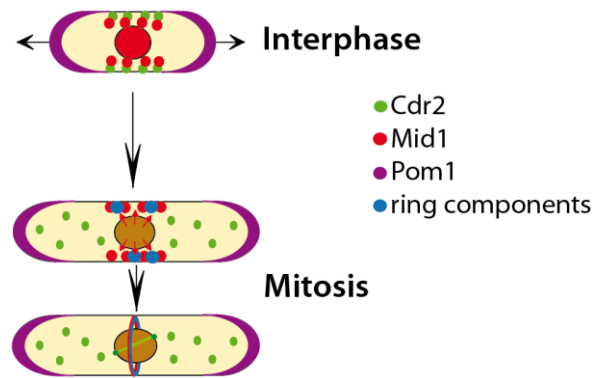
**Figure F2 : Influence de Pom1 sur les nœuds et l'entrée en mitose**

### - Régulation de la cytokinèse par la voie Pom1-Cdr2-Mid1

Mid1 est l'homologue fonctionnel de la protéine Anillin chez les eucaryotes supérieurs. La fonction de Mid1 est de recruter les composants de l'anneau contractile nécessaire à la cytokinèse, la dernière étape du cycle cellulaire permettant la séparation des deux cellules filles grâce à un anneau contractile acto-myosique. En effet, pour promouvoir l'assemblage de l'anneau contractile, Mid1 activée par Plo1 recrute séquentiellement les composants essentiels de l'anneau contractile, en particulier la myosin II, la formine Cdc12 qui nuclée l'actine et la protéine F-Bar Cdc15 qui lie la membrane plasmique (Almonacid 2011, padmanabathan, Laporte 2011). Les nœuds corticaux matures se compactent alors en anneau contractile. Ceci dépend d'évènements de traction entre les nœuds matures réalisés par des filaments d'actine nucléés par les nœuds, en interaction transitoire avec les filaments de myosin II des nœuds avoisinants.

Comme Cdr2 contrôle la localisation de Mid1 et à son tour Pom1 contrôle la localisation de Cdr2, Pom1 a un effet sur le positionnement correct de l'anneau contractile au milieu de la cellule en pré-positionnant les nœuds précurseurs de l'anneau en position médiane (Bahler and Pringle 1998; Celton-Morizur, Racine et al. 2006; Almonacid, Moseley et al. 2009).

En l'absence de Cdr2, Mid1 a un autre moyen pour assembler l'anneau là où le noyau se trouve. Une grande quantité de Mid1 localise au noyau pendant interphase. A l'entrée en mitose Mid1 est phosphorylé par la kinase Plo1 et massivement exporté en dehors du noyau et s'attache à la membrane plasmique à proximité du noyau grâce à son propre domaine d'association aux lipides, une hélice amphiphyle. Ces événements couplent la position du plan de division à celle du noyau. et favorisent une ségrégation correcte des chromosomes. Comme le noyau est lui-même centré par les microtubules, ce second mécanisme est redondant avec la voie Pom1-Cdr2-Mid1 qui assure pour sa part une division équitable du cytoplasme (Almonacid, Moseley et al. 2009; Almonacid, Celton-Morizur et al. 2011).



**Figure F3 : Influence de Pom1 sur les nœuds et la cytokinèse.** (Almonacid, Moseley et al. 2009)



## RESULTATS ET CONCLUSIONS

Deux projets ont été développés pendant cette thèse. Le premier concerne la fonction de la nouvelle protéine des nœuds corticaux Blt1 et a mis en évidence son rôle dans l'ancrage des nœuds médians au cortex en association avec Mid1 en début de mitose, lors de l'initiation de l'assemblage de l'anneau contractile. Le deuxième concerne l'organisation des nœuds corticaux par Cdr2 et son impact sur la voie de régulation de Wee1 promouvant l'entrée en mitose.

### **Fonction de Blt1 dans l'ancrage des nœuds corticaux médians en début de mitose**

L'ancrage au cortex de Mid1, le facteur majeur de définition du plan de division, est médiée par Cdr2 pendant interphase. Cdr2 possède un domaine d'interaction avec les lipides en C-terminus. Cependant, à l'entrée en mitose, Cdr2 quitte la région médiane alors que Mid1 est exportée du noyau et se concentre au cortex médian. Mid1 s'associe alors à la membrane plasmique à travers son propre motif d'association aux lipides composé d'une hélice amphiphyle C-terminale et d'une région polybasique ainsi que d'un domaine PH (Celton-Morizur, Bordes et al. 2004; Saha and Pollard 2012). Cependant, il a été observé que le N-terminus de Mid1 est aussi fonctionnel et capable d'assembler des anneaux dans la région centrale de la cellule alors qu'il ne possède pas de domaine de liaison membranaire. Ce résultat a mis en évidence l'existence d'un troisième mécanisme d'ancrage à la membrane pour Mid1.

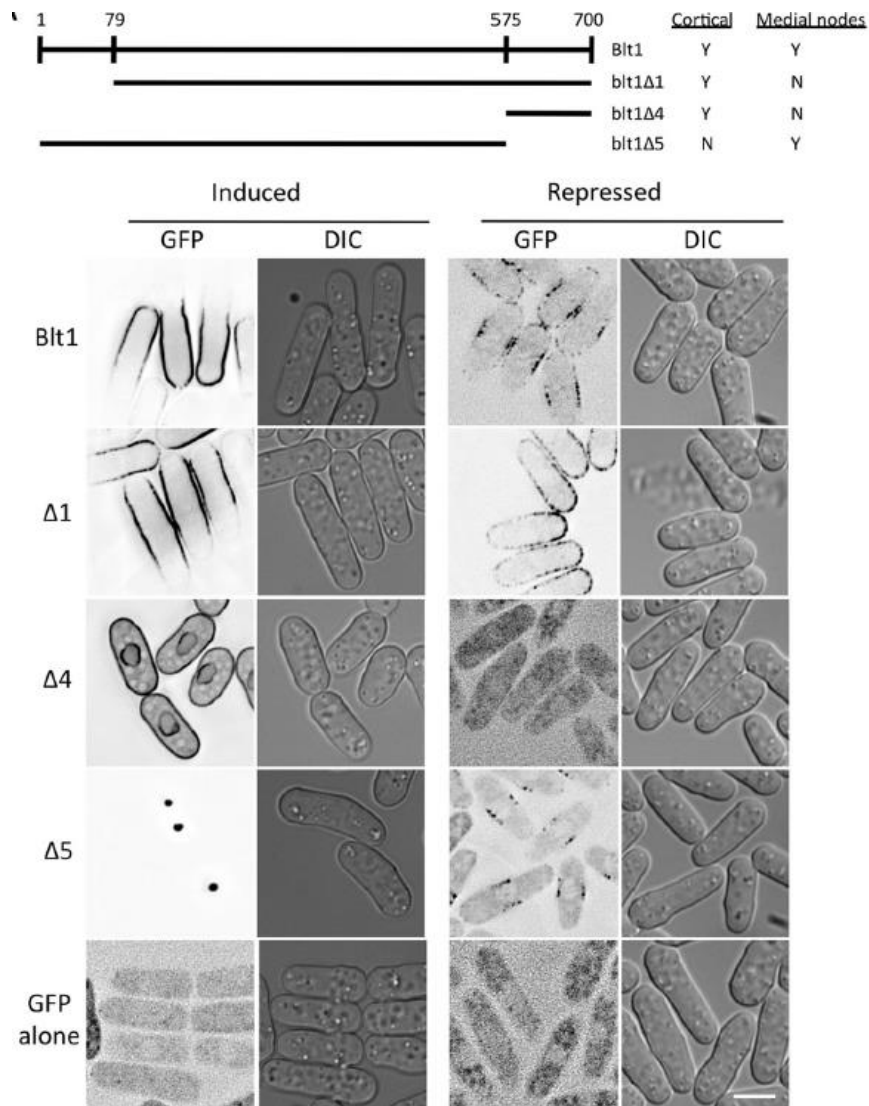
Pendant cette étude, en collaboration avec l'équipe de James Moseley, nous avons mis en évidence que ce troisième mode d'ancrage dépend de la protéine Blt1 qui interagit indirectement avec la région comprenant les acides aminés 300-350 de Mid1.

Blt1 a été décrite récemment (Moseley, Mayeux et al. 2009) et n'avait pour lors pas de fonction connue. Blt1 a été d'abord identifiée comme une protéine que interagissait avec Cdc15, une protéine F-BAR essentielle pour l'assemblage de l'anneau contractile. La protéine Blt1 a un patron de localisation particulier puisqu'elle se forme d'abord des nœuds corticaux aux extrémités de la cellule

en tout début de cycle, puis des nœuds qui co-localisent avec Cdr2 dans la région médiane de la cellule (Moseley, Mayeux et al. 2009)(Akamatsu, Berro et al. 2014). Blt1, contrairement à Cdr2, reste dans la région médiane de la cellule en début de mitose et s'associe ensuite à l'anneau contractile quand celui-ci se forme par compaction des nœuds. Ainsi, même si la localisation de Blt1 pendant interphase est dépendante de Cdr2, elle devient indépendante de Cdr2 pendant la mitose.

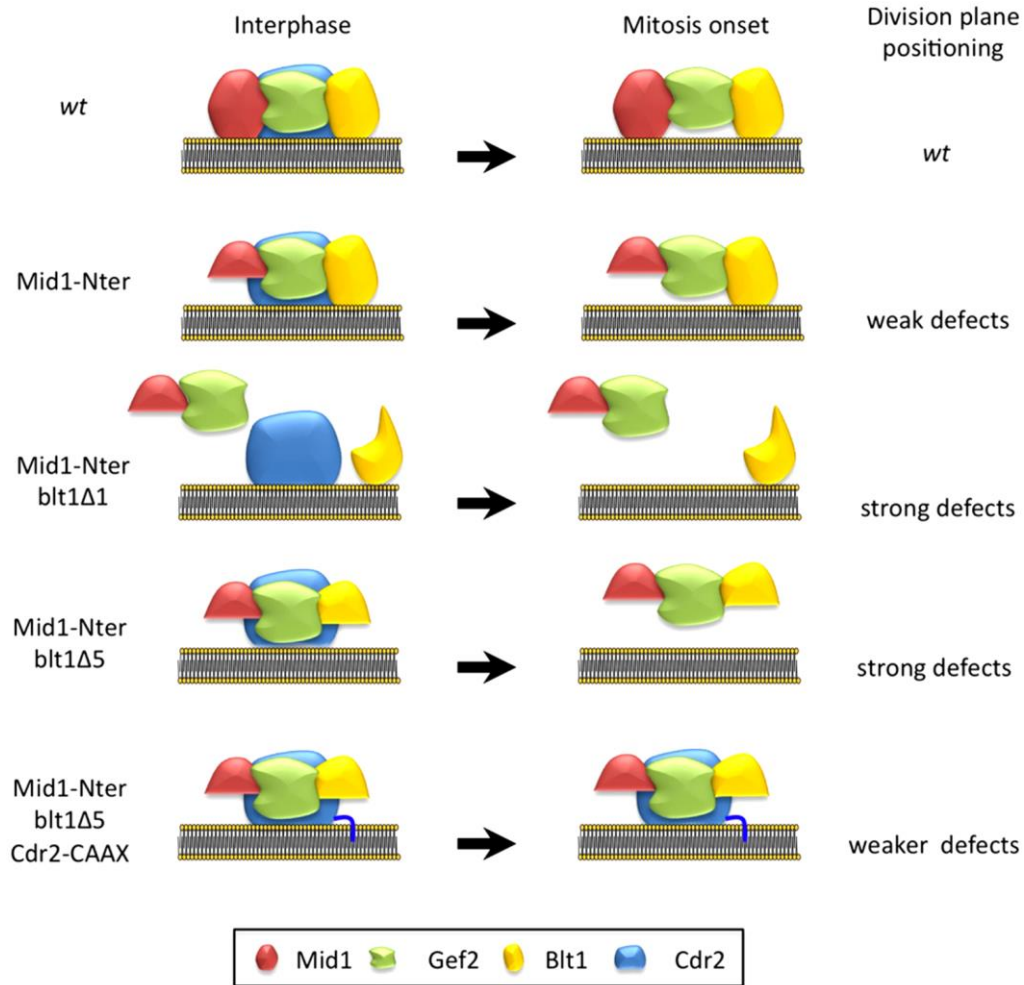
Une dissection moléculaire minutieuse nous a permis d'identifier le domaine d'ancrage à la membrane de Blt1 correspondant, encore une fois, à la partie C-terminal de la protéine. Elle est constituée d'un domaine riche en acides aminés basiques, qui établissent des interactions électrostatiques avec des lipides acides dans la membrane. Un mutant de délétion de ce domaine a été nommé Blt1 $\Delta$ 5. L'analyse de ce mutant a permis de mettre en évidence que Blt1 sert à l'ancrage membranaire des précurseurs de l'anneau contractile à l'entrée en mitose, quand Cdr2 se détache du cortex, en coopération avec Mid1. Ainsi des défauts combinés de l'ancrage de Blt1 et de Mid1 (double mutant blt1 $\Delta$ 5 Mid1-Nter) ont de forts défaut de position du plan de division. Ceux-ci sont compensés en partie si on maintient artificiellement Cdr2 sur le cortex pendant la mitose à l'aide d'un domaine de prenylation CAAX (mutant Cdr2-CAAX).

Le domaine de Blt1 qui établit les interactions avec le reste de composants des nœuds en interphase est lui localise dans les premiers 79 acides aminés de la protéine, et le mutant correspondant s'appelle Blt1 $\Delta$ 1 (figure F4).



**Figure F4 : Dissection moléculaire de Blt1 en ses domaines.**

(Guzman-Vendrell, Baldissard et al. 2013)



**Figure F5 : Modèle fonctionnel pour l'ancrage cortical des précurseurs de l'anneau contractile à l'entrée en mitose.** (Guzman-Vendrell, Baldissard et al. 2013)

Nos travaux, ainsi que d'autres études publiées en parallèle ont enfin mis en évidence que l'interaction entre Mid1 et Blt1 n'est pas directe mais elle est médiée par les protéines Gef2 et Nod1 (Ye, Lee et al. 2012; Jourdain, Brzezinska et al. 2013; Zhu, Ye et al. 2013).

## **Organisation des nœuds corticaux médians par la kinase Cdr2 et impact l'activité de la kinase Wee1**

Les nœuds médians corticaux établis par Cdr2 pendant l'interphase ont deux fonctions : préétablir le plan de division au milieu de la cellule à travers Mid1 et servir comme plateforme d'inhibition de Wee1 par Cdr1 et Cdr2. Les nœuds ont donc une double fonction de régulation de l'entrée en mitose et de la cytokinèse. Aussi trouve-t-on dans ces structures à la fois des protéines comme Mid1 qui a une fonction dans la cytokinèse et Cdr1 et Cdr2 qui fonctionnent dans le contrôle de l'entrée en mitose. D'autres protéines comme Blt1, Gef2, Nod1 et Klp8 semblent participer aux deux puisque en leur absence des défauts de taille des cellules et de cytokinèse ont été rapportés. Elucider comment Cdr2 organise ces protéines pour former une plateforme de signalisation et d'ancrage a été le deuxième objectif de cette thèse. Cette étude a abouti à un premier modèle d'organisation de la voie de contrôle de Wee1 par Cdr2.

Cdr2 et Cdr1 sont des kinases SAD appartenant à la famille de kinases AMPK. Cette famille de kinases a une série de caractéristiques communes. Elles ont un domaine serine/thréonine kinase en N-terminal qui est normalement régulé positivement à travers la phosphorylation du segment nommé "T-loop". De plus, les AMPKs ont un domaine UBA ou AID qui suit le domaine kinase et qui régule son activité. Les domaines UBA/AID sont parfois inhibiteurs parfois activateurs. Le domaine kinase et son UBA/AID sont suivis d'un long fragment d'acides aminés sans conformation précise et on trouve finalement dans la région C-terminale comportant une zone basique et le domaine KA1 qui coopèrent pour l'ancrage à la membrane.

Dans ce travail nous avons mis en évidence que Cdr2 est une kinase AMPK typique qui a toutes les caractéristiques de la famille. Le domaine UBA de Cdr2 constitue un domaine activateur puisque son absence mène à une inhibition de toutes les fonctions de Cdr2, même si cette mutation n'affecte pas la localisation de la protéine. On a découvert que Mid1 et Wee1, les deux effecteurs principaux de Cdr2, interagissent avec le domaine UBA de Cdr2 de façon dépendante de l'activité kinase de Cdr2.

L'absence d'activité kinase affecte en effet la localisation de Mid1 et Wee1 au cortex. En revanche, l'absence de Cdr1, Mid1, Blt1 ou Wee1 n'a aucun effet sur l'activité kinase de Cdr2. La relation est donc unidirectionnelle.

Cdr1, est quant à elle une kinase APMK atypique sans domaine KA1. Elle interagit avec Cdr2 à travers son domaine KA1 de façon indépendante de l'activité kinase de Cdr2.

La délétion systématique de fragments de 50 acides aminés dans la région centrale de Cdr2 nous a enfin permis d'identifier deux régions dont la délétion provoque des défauts de cytoténèse et de cycle cellulaire. Ces régions correspondent aux aa 381-430 et 481-530 de Cdr2. Nous avons déterminé que la région 481-530 elle correspond à un site d'interaction avec Blt1.

Comme exposé plus tôt dans ce résumé, Blt1 interagit avec Mid1. Ceci constitue un deuxième mode d'interaction, indirect, entre Mid1 et Cdr2. De plus, une troisième interaction semble exister entre Mid1 et la partie C-terminale de Cdr2. La complexité et multiplicité de points d'interaction entre les deux protéines pourrait permettre de stabiliser l'interaction entre les deux protéines une fois la kinase Cdr2 active.

De manière surprenant, alors que Wee1 s'associe au N-terminus de Cdr2, Cdr1 s'associe à l'extrémité C-terminale séparée par la longue région centrale de Cdr2. La délétion de Blt1 cause un retard d'entrée en mitose indiquant que Blt1 participe au contrôle de l'activité de Wee1 par Cdr2 et Cdr1. D'après nos résultats sur les domaines impliqués dans la liaison de Wee1, Cdr1 et Blt1, notre hypothèse est que la liaison de Blt1 sur le domaine central de Cdr2 pourrait créer des contraintes conformationnelles et rapprocher les régions C-terminale liant Cdr1 et N-terminale liant Wee1 quand Cdr2 est active, rapprochant ainsi Cdr1 de son substrat de phosphorylation Wee1 et favorisant l'inhibition de Wee1. Ceci constitue un tout premier modèle de régulation de l'activité de Wee1 par Cdr2

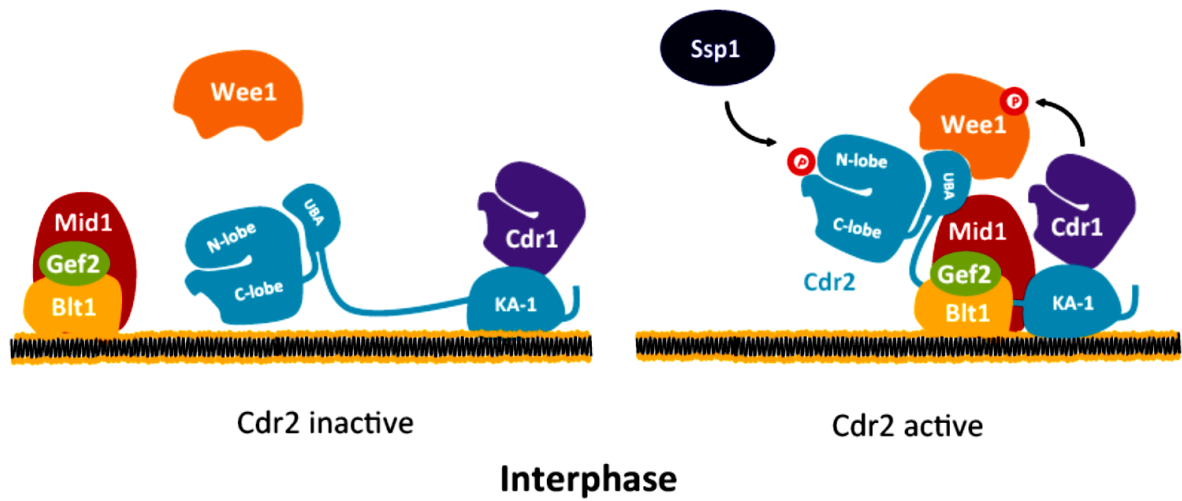


Figure F6 : Modèle sur l'architecture des nœuds et l'organisation par Cdr2 de la voie d'inhibition de Wee1

## BIBLIOGRAPHIE

- Akamatsu, M., J. Berro, et al. (2014). "Cytokinetic nodes in fission yeast arise from two distinct types of nodes that merge during interphase." *J Cell Biol* **204**(6): 977-988.
- Almonacid, M., S. Celton-Morizur, et al. (2011). "Temporal control of contractile ring assembly by Plo1 regulation of myosin II recruitment by Mid1/anillin." *Curr Biol* **21**(6): 473-479.
- Almonacid, M., J. B. Moseley, et al. (2009). "Spatial control of cytokinesis by Cdr2 kinase and Mid1/anillin nuclear export." *Curr Biol* **19**(11): 961-966.
- Bahler, J. and J. R. Pringle (1998). "Pom1p, a fission yeast protein kinase that provides positional information for both polarized growth and cytokinesis." *Genes Dev* **12**(9): 1356-1370.
- Bhatia, P., O. Hachet, et al. (2014). "Distinct levels in Pom1 gradients limit Cdr2 activity and localization to time and position division." *Cell Cycle* **13**(4): 538-552.
- Bueno, A., H. Richardson, et al. (1991). "A fission yeast B-type cyclin functioning early in the cell cycle." *Cell* **66**(1): 149-159.
- Celton-Morizur, S., N. Bordes, et al. (2004). "C-terminal anchoring of mid1p to membranes stabilizes cytokinetic ring position in early mitosis in fission yeast." *Mol Cell Biol* **24**(24): 10621-10635.
- Celton-Morizur, S., V. Racine, et al. (2006). "Pom1 kinase links division plane position to cell polarity by regulating Mid1p cortical distribution." *J Cell Sci* **119**(Pt 22): 4710-4718.
- Coleman, T. R., Z. Tang, et al. (1993). "Negative regulation of the wee1 protein kinase by direct action of the nim1/cdr1 mitotic inducer." *Cell* **72**(6): 919-929.
- Connolly, T. and D. Beach (1994). "Interaction between the Cig1 and Cig2 B-type cyclins in the fission yeast cell cycle." *Mol Cell Biol* **14**(1): 768-776.
- Deng, L., S. Baldissard, et al. (2014). "Dueling kinases regulate cell size at division through the SAD kinase Cdr2." *Curr Biol* **24**(4): 428-433.
- Forsburg, S. L. and P. Nurse (1991). "Identification of a G1-type cyclin puc1+ in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*." *Nature* **351**(6323): 245-248.
- Guzman-Vendrell, M., S. Baldissard, et al. (2013). "Blt1 and Mid1 provide overlapping membrane anchors to position the division plane in fission yeast." *Mol Cell Biol* **33**(2): 418-428.
- Hagan, I., J. Hayles, et al. (1988). "Cloning and sequencing of the cyclin-related cdc13+ gene and a cytological study of its role in fission yeast mitosis." *J Cell Sci* **91** ( Pt 4): 587-595.
- Jourdain, I., E. A. Brzezinska, et al. (2013). "Fission yeast Nod1 is a component of cortical nodes involved in cell size control and division site placement." *PLoS One* **8**(1): e54142.
- Kafri, R., J. Levy, et al. (2013). "Dynamics extracted from fixed cells reveal feedback linking cell growth to cell cycle." *Nature* **494**(7438): 480-483.
- Kanoh, J. and P. Russell (1998). "The protein kinase Cdr2, related to Nim1/Cdr1 mitotic inducer, regulates the onset of mitosis in fission yeast." *Mol Biol Cell* **9**(12): 3321-3334.
- Marshall, W. F., K. D. Young, et al. (2012). "What determines cell size?" *BMC Biol* **10**: 101.
- Martin, S. G. and M. Berthelot-Grosjean (2009). "Polar gradients of the DYRK-family kinase Pom1 couple cell length with the cell cycle." *Nature* **459**(7248): 852-856.
- Moseley, J. B., A. Mayeux, et al. (2009). "A spatial gradient coordinates cell size and mitotic entry in fission yeast." *Nature* **459**(7248): 857-860.
- Nurse, P. and P. Thuriaux (1977). "Controls over the timing of DNA replication during the cell cycle of fission yeast." *Exp Cell Res* **107**(2): 365-375.
- Nurse, P. and P. Thuriaux (1980). "Regulatory genes controlling mitosis in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*." *Genetics* **96**(3): 627-637.
- Nurse, P., P. Thuriaux, et al. (1976). "Genetic control of the cell division cycle in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*." *Mol Gen Genet* **146**(2): 167-178.
- Parker, L. L., S. A. Walter, et al. (1993). "Phosphorylation and inactivation of the mitotic inhibitor Wee1 by the nim1/cdr1 kinase." *Nature* **363**(6431): 736-738.



- Rincon, S. A., P. Bhatia, et al. (2014). "Pom1 regulates the assembly of Cdr2-Mid1 cortical nodes for robust spatial control of cytokinesis." *J Cell Biol* **206**(1): 61-77.
- Russell, P. and P. Nurse (1987). "The mitotic inducer nim1+ functions in a regulatory network of protein kinase homologs controlling the initiation of mitosis." *Cell* **49**(4): 569-576.
- Saha, S. and T. D. Pollard (2012). "Characterization of structural and functional domains of the anillin-related protein Mid1p that contribute to cytokinesis in fission yeast." *Mol Biol Cell* **23**(20): 3993-4007.
- Turner, J. J., J. C. Ewald, et al. (2012). "Cell size control in yeast." *Curr Biol* **22**(9): R350-359.
- Tzur, A., R. Kafri, et al. (2009). "Cell growth and size homeostasis in proliferating animal cells." *Science* **325**(5937): 167-171.
- Wu, L. and P. Russell (1993). "Nim1 kinase promotes mitosis by inactivating Wee1 tyrosine kinase." *Nature* **363**(6431): 738-741.
- Ye, Y., I. J. Lee, et al. (2012). "Roles of putative Rho-GEF Gef2 in division-site positioning and contractile-ring function in fission yeast cytokinesis." *Mol Biol Cell* **23**(7): 1181-1195.
- Young, P. G. and P. A. Fantes (1987). "Schizosaccharomyces pombe mutants affected in their division response to starvation." *J Cell Sci* **88 ( Pt 3)**: 295-304.
- Zhu, Y. H., Y. Ye, et al. (2013). "Cooperation between Rho-GEF Gef2 and its binding partner Nod1 in the regulation of fission yeast cytokinesis." *Mol Biol Cell* **24**(20): 3187-3204.