

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr BEATY HAT-PLEWIŃSKIEJ

Wpływ ilości kopii genu na dynamikę sieci regulatorowych w komórce

Praca została napisana w Zakładzie Mechaniki i Fizyki Płynów pod kierunkiem doc. dr-a habilitowanego Tomasza Lipniackiego. Tematyka rozprawy wpisuje się w najnowsze trendy biologii obliczeniowej, w której analiza ścieżek sygnałowych zyskuje pierwszorzędne znaczenie. Rozprawa oparta jest na czterech pracach zamieszczonych w renomowanych czasopismach z listy filadelfijskiej. W dwu z nich mgr Beata Hat-Plewińska jest pierwszym autorem.

Zasadność podjęcia postawionego w tytule pracy zagadnienia

W zależności od rodzaju komórek liczba kopii danego genu może być różna. Dla komórek haploidalnych wynosi ona jeden, dla komórek diploidalnych dwa, a dla niektórych komórek zmutowanych np. komórek rakowych liczba ta może wynosić w ogólności $N=2,3,\dots$. W dalszej części pracy ten przypadek określa się mianem 'genu N-ploidalnego'. Uzasadnienie podjęcia tego rodzaju zagadnienia jest wielorakie i zostało przejrzysto sformułowane w podrozdziałach 1.2 i 1.3. Niektóre geny mogą być replikowane już w normalnych tj. zdrowych komórkach w odpowiedzi na stresogenne czynniki środowiskowe, gdy wzrasta zapotrzebowanie na kodowane przez dany gen białko. Liczba genów może zmieniać się na skutek pewnych procesów, np. błędów replikacyjnych. Sytuacja ta ma miejsce np. w przypadku komórek rakowych, w których następuje multiplikacja genomu. Przede wszystkim jednak konieczność rozważenia powyższego zagadnienia wynika z obecnego stanu techniki eksperymentów na żywych komórkach. Dotyczy to w szczególności eksperymentów na pojedynczych komórkach, które są niezbędne do uchwycenia dynamiki rozpatrywanych zjawisk. Niezmutowane zdrowe komórki obumierają w hodowli 'in vitro' na tyle szybko, że śledzenie procesów biochemicznych w nich zachodzących jest praktycznie niemożliwe. Obecne techniki eksperymentalne umożliwiają jedynie analizę praktycznie nieśmiertelnych komórek rakowych z dobrze zdefiniowanych linii (takich jak np. HeLa-cells). Co więcej, w celu rejestracji poziomu syntetyzowanego białka, należy dokonać tzw. transfekcji, tzn. wprowadzić do komórki odpowiednie sekwencje genomu kodujące białko. Sekwencje te mają dołączony czynnik fluoroscencyjny. Liczba transfekowanych sekwencji jest jednak słabo kontrolowalna. Analiza powyższych eksperymentów wymaga więc uwzględnienia w rozpatrywanych modelach wpływu liczby kopii genu na zachodzące zjawiska.

ZAWARTOŚĆ PRACY

Praca składa się z 144 stron. Zawiera 9 rozdziałów i spis 74 pozycji literaturowych.

Rozdział 1 wprowadza czytelnika w biologiczne podstawy ekspresji genów i sieci regulatorowych jako takich, omawia eksperymenty na pojedynczych komórkach stanowiące źródło danych doświadczalnych istotnie bogatsze od eksperymentów uśredniających po całych populacjach komórek.

Rozdział 2 podaje podstawowe pojęcia, jakie mogą być użyteczne przy tworzeniu stochastycznych modeli ścieżek regulatorowych: zmiennej losowej, procesu stochastycznego, procesu Markowa. Wprowadza się również równanie Chapmana-Kołmogorowa oraz równanie Mistrzów. Szczególnie ostatnie z nich jest eksploatowane przez autorkę w następnych częściach pracy.

W Rozdziale 3 analizuje się wpływ liczby kopii genu na procesy ekspresji genów w komórce z uwzględnieniem efektów stochastycznych. Przedmiotem analizy jest tutaj abstrakcyjny model uwzględniający procesy transkrypcji cząsteczek mRNA i tworzenia się kodowanych przez nie cząsteczek białka (translacja). Model ten oparty jest na referencji [15] (T. Lipniacki, P. Paszek, A. Marciniak-Czochra, A.R. Brasier and M. Kimmel. Transcriptional stochasticity in gene expression. *J. Theor. Biol.* 238:348-367 (2006)). W pierwszej części rozważa się gen posiadający tylko pojedynczą kopię (gen haploidalny). Gen może znajdować się w dwu stanach: aktywnym i nieaktywnym. Procesy transkrypcji mRNA mają miejsce tylko dla stanu, w którym gen jest aktywny. Aktywność genu zmienia się w sposób stochastyczny, przy czym prawdopodobieństwo przejścia ze stanu aktywnego w nieaktywny i odwrotnie jest proporcjonalne do współczynników kinetycznych, które mogą być zależne od liczby cząsteczek białka. Wykorzystując układ równań Mistrzów na gęstość prawdopodobieństwa liczby cząsteczek mRNA i białka, autorka wyznaczyła analitycznie średnie wartości oraz wariancje tych wielkości w przypadku dyskretnym bez autoregulacji, tzn. w przypadku, gdy współczynniki kinetyczne przejścia genu między stanami aktywnym i nieaktywnym nie zależą od liczby cząsteczek białka w komórce. Następnie, wykorzystując fakt, że średnie liczby cząsteczek mRNA i białka są znacznie większe od liczby kopii genu w komórce, przechodzi się do przybliżenia, w którym poziom mRNA oraz poziom białka stają się liczbami rzeczywistymi nieujemnymi. Obliczone w tym przypadku wariancje różnią się od odpowiednich wielkości w przypadku dyskretnym. Szkoda, że autorka nie zinterpretowała powyższych różnic. W celu dalszego uproszczenia analizy zakłada się, że tempo degradacji mRNA jest relatywnie duże, dokładniej, że średni czas życia cząsteczki mRNA jest o wiele krótszy niż średni czas przełączania genu. Pozwala to na zastąpienie 'liczby' molekuł mRNA przez ich asymptotyczną wartość odpowiadającą danemu stanowi genu. W tym przypadku opis rozważanego procesu Markowa

