



**Silesian
University
of Technology**

Silesian University of Technology
Faculty of Automatic Control, Electronics and Computer Science

**Effects of low dose radiation exposure and ageing on T cell
receptor beta chain (TCR β) repertoire in human and mice**

Doctoral Dissertation
by

Justyna Mika

Supervisors

Professor Joanna Polańska, PhD, DSc

Serge Candéias, PhD, HDR

2022

Gliwice, Poland

Effects of low dose radiation exposure and ageing on T cell receptor beta chain (TCR β) repertoire in human and mice

Autor rozprawy doktorskiej: Justyna Mika

Promotorzy: Professor Joanna Polanska, PhD, DSc; Serge Candéias, PhD, HDR

Streszczenie

Geny kodujące receptory komórek T (TCR) powstają w procesie rekombinacji V(D)J, który zapewnia skuteczną odpowiedź immunologiczną przeciwko zmiennej kolekcji patogenów. Podczas tego procesu dyskretne segmenty genowe V, D i J są składane w celu utworzenia eksonu kodującego zmienną domenę tych receptorów. Końce genów V, D i J podczas rearanżacji ulegają losowej delecji lub insercji nukleotydów. Ten losowy charakter procesu rekombinacji V(D)J zapewnia powstanie unikalnych sekwencji TCR w każdej komórce.

Najczęściej mierzoną właściwością układu odpornościowego jest różnorodność receptorów limfocytów T. Celem niniejszej pracy było dostarczenie schematu analizy do badania różnorodności TCR w oparciu o dane uzyskane metodami wysokoprzepustowego sekwencjonowania i cytometrii przepływowej. Ilość danych pozyskiwanych tymi metodami jest ogromna. Dlatego wsparcie klasycznych metod statystycznych miarą wielkości efektu pozwoliło na przeprowadzenie kompleksowego badania różnorodności TCR. Ponadto zbadano wpływ wieku, płci i promieniowania jonizującego na różnorodność TCR, skupiając się na danych przekrojowych i podłużnych dla ludzi i myszy. Efekty promieniowania oszacowano wykorzystując dane od ocalałych z bomby atomowej w Hiroszimie i Nagasaki oraz dane od napromieniowanych myszy. Zastosowane do danych techniki uczenia maszynowego pozwoliły na skonstruowanie modeli wyjaśniających zależną od płci dynamikę zróżnicowania TCR w czasie. Wykazano, że wraz z wiekiem następuje spadek różnorodności TCR. Jednak średnia różnorodność receptorów komórek T jest inna dla mężczyzn i kobiet. Co więcej można zaobserwować odrębne wzorce dla kategorii wiekowych. Proporcje produktywnych i nieproduktywnych sekwencji TCR zmieniają się z wiekiem. Co ciekawe, promieniowanie o niskich dawkach przyspiesza starzenie się układu odpornościowego. Z drugiej strony, wyższe dawki promieniowania wpływają na wykorzystanie konkretnych genów V.

Zastosowanie empirycznych modeli prawdopodobieństwa insercji nukleotydów ujawniło nieznane wcześniej właściwości procesu rekombinacji V(D)J. Zaobserwowano i zweryfikowano nowe ukryte sekwencje sygnałowe rekombinacji u myszy, a także zauważono rzadkie zatrzymanie germinalnego DNA w obrębie zrearażowanych sekwencji TCR.

Mając na uwadze szybki rozwój metod sekwencjonowania długich odczytów, zweryfikowano ich zastosowanie do identyfikacji TCR. Wykorzystując dane z sekwencjonowania Oxford Nanopore zbadano działanie wielu algorytmów do detekcji i annotacji sekwencji TCR. Wykazano, że sekwencjonowanie długich odczytów RNA może być wykorzystane do analizy zmienności repertuaru genów V i J.