



Silesian  
University  
of Technology

**POLITECHNIKA ŚLĄSKA**  
**WYDZIAŁ AUTOMATYKI, ELEKTRONIKI I INFORMATYKI**

Rozprawa doktorska

Modelowanie i analiza wybranych mechanizmów regulacji procesów  
wewnątrzkomórkowych

Autor: Daria Kałużyńska

Promotor: prof. dr hab. inż. Jarosław Śmieja

Promotor pomocniczy: dr inż. Anna Lalik

Gliwice, wrzesień 2023

## Streszczenie

Procesy wewnątrzkomórkowe są utrzymywane w homeostazie między innymi dzięki konserwatywnie działającym tzw. ścieżkom sygnałowym, które odpowiadają za prawidłowy przebieg i tempo reakcji, transport molekuł czy kontrolowanie procesów syntezy/degradacji molekuł. Jednym z powszechniej badanych szlaków sygnałowych są szlaki związane z apoptozą. Apoptoza jest procesem aktywującym ścieżkę zaprogramowanej śmierci komórki, w momencie jej trwałego uszkodzenia i braku możliwości powrotu do stanu pierwotnego. Jednym z najbardziej znanych i zbadanych białek tej ścieżki jest białko p53, nazywane również strażnikiem genomu. Białko to jest odpowiedzialne za zatrzymanie cyklu komórkowego w celu naprawienia DNA, a także za „podjęcie decyzji” o uruchomieniu kaskad sygnałowych prowadzących do śmierci komórkowej.

Ciąg procesów prowadzących do powstania aktywnego, biorącego czynny udział w regulacji szlaków sygnałowych białka, jest nazywany ekspresją genów. Jednym z ostatnich etapów tego procesu jest translacja, w której powstałe w etapie poprzedzającym – transkrypcji, mRNA, jest tłumaczone przez rybosomy na łańcuch aminokwasów. Następnie, w wyniku odpowiednich obróbek potranslacyjnych łańcuch jest formowany do postaci aktywnego białka. Translacja jest bardzo silnie regulowanym procesem, na który wpływa wiele czynników, zarówno wewnątrz- jak i zewnątrzkomórkowych. Jednym z najintensywniej badanych czynników regulujących translację jest mikroRNA – są to krótkie (o długości około 21-25 nukleotydów) niekodujące cząsteczki RNA, które głównie są zaangażowane w represję translacji tzw. białek celowanych (targetów). Ze względu na złożoność mechanizmów regulacji oraz różne „efekty” powodujące inhibicję ekspresji (np. zahamowanie inicjacji czy degradacja mRNA), wynikające z tej regulacji, dokładne działanie mikroRNA nie zostało do końca poznane.

Niniejsza praca doktorska skupia się na analizie wybranych mechanizmów regulacji procesu translacji. Zaproponowano model matematyczny oparty na maszynach stanowych, opisujący proces translacji z uwzględnieniem profilu polisomalnego (struktur, gdzie na jednej nici mRNA występuje więcej niż jeden rybosom, i która pozwala na równoległą produkcję więcej niż jednego łańcucha aminokwasów z jednej cząsteczki mRNA). Dodatkowo do modelu został wprowadzony czynnik regulujący translację w postaci mikroRNA oraz promieniowania jonizującego (promieniowania X). Symulacje zostały przeprowadzone w oparciu o autorskie wyniki biologiczne, w których dla ludzkich komórek nowotworu okrężnicy (HCT116) zostały wyznaczone poziomy wybranych białek, transkryptów oraz mikroRNA w warunkach kontrolnych oraz w czasach 4 i 12 godzin od napromieniowania. Ponadto w badaniach wyznaczono profil polisomalny (rozkład rybosomów) w obrębie konkretnego transkryptu i mikroRNA. Wszystkie eksperymenty oparto na białkach szlaku sygnałowego apoptozy (p53 i PTEN), które są dobrze opisane w literaturze, jako białka biorące aktywny udział w procesie naprawczym DNA (uszkodzonym np. w wyniku promieniowania). MikroRNA dobrano na podstawie doniesień literaturowych, które jednoznacznie wskazywały na bezpośrednie oddziaływanie miRNA na wybrane białka oraz zahamowanie ich ekspresji.

Zaproponowany model miał na celu sprawdzenie, czy miRNA w wyniku promieniowania również zmienia swój poziom ekspresji i czy istotnie wpływa na dalszą regulację translacji. Ponadto, sprawdzono, czy mikroRNA może mieć dominujący efekt regulacji oraz czy pod wpływem promieniowania dominujący efekt może ulec zmianie.