



**Politechnika  
Śląska**

Wydział Automatyki, Elektroniki i Informatyki

Katedra Inżynierii i Biologii Systemów

mgr inż. Karolina Kurasz

*Zmiany epigenetyczne w żywych komórkach — modelowanie procesu  
metylacji DNA*

Rozprawa doktorska napisana pod  
kierunkiem prof. dr hab. inż.  
Krzysztofa Fajarewicza

Gliwice 2024

## Streszczenie

*Zmiany epigenetyczne w żywych komórkach — modelowanie procesu metylacji DNA*

mgr inż. Karolina Kurasz

Modyfikacje epigenetyczne, do których zalicza się metylację DNA, mogą się przyczynić do powstawania i progresji wielu chorób, w tym nowotworowych. W odróżnieniu od genetycznych jest to modyfikacja, która nie zależy od sekwencji DNA, a epigenom w dużej mierze pozostaje stabilny przez całe życie organizmu. Metylacja DNA zachodzi w każdej żywej komórce i jest odwracalną zmianą epigenetyczną, ale żeby ten proces miał sens, musi zachodzić reakcja odwrotna — demetylacja.

Metylacja polega na przyłączeniu grupy metylowej do zasady azotowej, najczęściej cytozyny w wyniku czego powstaje 5-metylocytozyna, a proces ten jest katalizowany przez enzymy z grupy metylaz DNA- DNMT1. Podczas demetylacji 5-mC jest oksydowana do 5-hydroksymetylocytozyny, która jest produktem pośrednim. 5-hmC ulega dalszemu przekształcaniu do 5-formylocytozyny, a następnie do 5-karboksycytozyny. Za demetylację odpowiadają enzymy z rodziny TET: TET1, TET2, TET3. 5-fC oraz 5-caC, są rozpoznawane przez systemy naprawcze DNA, wstawiając w miejsce uszkodzenia niemetylowaną cytozynę. 5-hmC może być deaminowana do 5-hydroksyuracylu, który podobnie jak uracyl może być rozpoznawany przez enzymy SMUG i TDG, prowadzące do podstawienia w ich miejsce cytozyny.

W niniejszej pracy w oparciu o dane pochodzące z eksperymentów biologicznych, został opracowany model matematyczny metylacji cytozyny i demetylacji pochodnych jej form. Do jego budowy zostały wykorzystane przybliżone poziomy białek na podstawie poziomów ich transkryptów, jak i ilości deoksynukleozydów- nukleozydów, w których zasada azotowa jest połączona z deoksyrybozą.

W celu obliczenia rzeczywistych wartości przepływów pomiędzy poszczególnymi formami modyfikowanych cytydyn, należy znać wartości parametrów charakteryzujących działanie uczestniczących w tych przemianach enzymów oraz poziomy modyfikowanych cytydyn. Parametry modelu zostały wyestymowane z wykorzystaniem nieujemnej metody najmniejszych kwadratów NLLS. Zdolność predykcyjna modelu została oceniona na podstawie walidacji krzyżowej leave-one-out.

Nie wiadomo dokładnie, które z białek TET działają, na poszczególnych etapach oksydacji 5-metylocytozyny do 5-karboksycytozyny (poprzez 5-hydroksymetylocytozynę i 5-formylocytozynę). W niektórych reakcjach mogą brać udział wszystkie TETy, w innych tylko jeden. W niniejszej rozprawie dokonano selekcji modelu w celu wyjaśnienia działania roli i działania białek TET.

W tym celu została stworzona została seria modeli z wszystkimi możliwymi kom-

binacjami działania TET1, TET2 i TET3 w różnych reakcjach modyfikacji cytydyny, począwszy od pełnej struktury modelu, do takiej, gdzie na danym etapie działa tylko jeden TET. Struktura była określona przez 9-cio elementowy wektor zer i/lub jedynek. Istnieją 343 możliwe wersje takich modeli.

Zgodnie z symulacjami modelu, najlepszy wynik oznaczający najlepsze dopasowanie do wyników eksperymentalnych, uzyskano w przypadku, gdy między 5-mdC a 5-hmdC aktywne były TET1 i TET2, a wykluczony został TET3, podczas gdy między 5-hmdC, a 5-fdC aktywne były TET1 i TET3. Niemniej jednak wskaźnik jakości najlepszego modelu nie różni się znacznie od wskaźnika jakości drugiego najlepszego i kolejnych modeli. Trudno by się opierać na jednym najlepszym modelu, dlatego zamiast patrzeć tylko na jedną strukturę modelu z najniższym wskaźnikiem jakości, wzięto pod uwagę 10 kolejnych struktur modeli, na podstawie których zostały wyciągnięte wnioski, że podczas oksydacji 5-mdC do 5-hmdC nie ma aktywności enzymatycznej TET3, podczas oksydacji 5-hmdC do 5-fdC nie ma aktywności enzymatycznej TET2, natomiast pomiędzy 5-fdC i 5-cadC TET1 może być zastąpiony przez TET3 lub TET2.

Model matematyczny został rozwiązany numerycznie z wykorzystaniem funkcji ODE, na podstawie wyestymowanych parametrów modelu w celu zbadania, jaki wpływ na model, ma zmiana poziomów enzymów TET.

Zaproponowany w niniejszej pracy rodzaj modelowania, a w szczególności sposób dopasowywania modeli do niektórych danych eksperymentalnych, może stanowić narzędzie do badań nie tylko działania enzymów TET, ale także innych modyfikacji i reakcji komórkowych. Symulacje modeli pokazują, że poprzez inaktywację jednego z enzymów TET w jednej konkretnej reakcji (na przykład poprzez specyficzną modyfikację białkowych składników kompleksu), można zmienić poziom jednej modyfikacji, utrzymując poziomy innych modyfikacji w komórce.