

MATEMATYCZNE MODELOWANIE ROLI MIKRO-RNA W REGULACJI POZIOMU TRANSKRYPTÓW I EFEKTYWNOŚCI TRANSLACJI W KOMÓRKACH NAPROMIENIOWANYCH

Funkcjonowanie komórki w istotnym stopniu zależy od poziomu ekspresji genów. Zmiana poziomu ekspresji genów może być indukowana zarówno przez czynniki zewnętrzne jak i wewnątrzkomórkowe. Do endogennych cząsteczek odgrywających znaczącą rolę w potranskrypcyjnej regulacji ekspresji genów należą mikroRNA (cząsteczki RNA zbudowane z ok. 22 nukleotydów). MikroRNA wiąże się z mRNA prowadząc do degradacji mRNA lub do zahamowania translacji. Wysokoprzepustowe techniki stosowane w badaniach biologicznych i medycznych pozwalają na określenie globalnych zmian mRNA i miRNA w przebiegu procesów normalnych i chorobowych, ale problematyczne jest określenie wpływu i wagi poszczególnych miRNA na zmiany spowodowane przez dany czynnik lub proces.

Opracowany przez nas model matematyczny umożliwił identyfikację grup miRNA o największym znaczeniu dla zmian transkryptomu w komórkach napromieniowanych [Mura i in. BMC Genomics, 2019]. Przeprowadzenie symulacji modelu, przy założeniu, że tylko pojedyncze miRNA wpływają na zmiany transkryptomu, i określenie korelacji tych symulacji z wynikami eksperymentu mikromacierzowego pozwala na zbudowanie listy rankingowej wszystkich miRNA działających w badanej populacji i zidentyfikowanie tych, które mają największy wpływ na zmiany ekspresji genów.

Model opiera się na założeniu, że wszystkie zmiany poziomu transkryptów wynikają ze zmian w interakcji miRNA–mRNA. W symulacjach uwzględniamy tylko stan początkowy określający poziomy mRNA i miRNA, a znajomość ostatecznego stanu poziomów mRNA jest używana do określenia parametrów modelu i określenia korelacji między wynikami uzyskanymi z modelu i rzeczywistymi. Stanowi to podstawę do identyfikacji miRNA odgrywającego najważniejszą rolę w zmianach ekspresji mRNA. Ponieważ wcześniejszy model wykorzystuje dane tylko z jednego punktu czasowego i nie uwzględnia przyczyny zmiany w oddziaływaniu miRNA-RNA, więc głównym celem niniejszego projektu jest rozszerzenie obecnego modelu interferencji miRNA–mRNA o krótkim czasie działania tak, by uwzględnić dynamikę długoterminową i połączyć wyniki eksperymentów z modelowaniem. Pozwoli to na określenie, czy waga poszczególnych miRNA w zmianach poziomów mRNA w różnych czasach i warunkach jest charakterystyczna dla typu komórek lub rodzaju bodźca działającego na komórkę. W celu uzyskania niezbędnych danych eksperymentalnych wykonane zostanie głębokie sekwencjonowanie mRNA i miRNA wyizolowanych z dwóch różnych linii komórkowych poddanych działaniu promieniowania jonizującego.

W ramach niniejszego projektu planujemy również rozszerzenie wyników modelowania, aby uwzględnić wpływ miRNA o dużym znaczeniu dla zmian transkryptomu w procesie translacji i produkcji białka. Na podstawie wstępnych badań proponujemy opracowanie modelu matematycznego, który umożliwi przewidywanie roli miRNA w zmianach wydajności translacji w czasie w sytuacjach wymuszonych, w tym określonych zmian spowodowanych terapiami nowotworowymi.

Celem dodatkowym niniejszego projektu jest zbadanie mechanizmów biologicznych kontrolujących zmiany parametrów modelu w czasie, w zależności od typu komórki i rodzaju bodźca. Planujemy zbadanie zależności między miejscem w rankingu a sekwencją nukleotydową miRNA i jego pre-miRNA. Przeprowadzona zostanie również seria eksperymentów z genami reporterowymi zawierającymi różne sekwencje docelowych miRNA. Uzyskane wyniki wykorzystane zostaną do walidacji opracowanych w ramach niniejszego projektu modeli matematycznych.