

Recenzja rozprawy doktorskiej pani Agnieszki Kozdęby pt. Zastosowanie kawałkami deterministycznych procesów Markowa w modelach stochastycznej ekspresji genów

Rozprawa doktorska poświęcona jest zastosowaniom kawałkami deterministycznych procesów Markowa (z ang. PDMP) w modelach ekspresji genów. Wyniki przedstawione w Rozdziałach 2 i 3 zostały opublikowane we wspólnej pracy z Andrzejem Tomskim (pozycja [30] w Bibliografii), oświadczenie współautora omawia wkład doktorantki. Recenzent przyjmuje założenie, że jej udział jest fundamentalny. Rozdział 4 zawiera wstępne wyniki doktorantki w modelach sieci regulatorowych dwóch oddziałujących genów.

W klasycznym deterministycznym modelu ekspresji genów, dwa procesy biochemiczne: transkrypcja (przepisanie informacji genetycznej do cząsteczek mRNA) oraz translacja (przetłumaczenie trójkowego kodu genetycznego na sekwencję aminokwasów tworzących białko) reprezentowane są układem równań różniczkowych zwyczajnych opisujących ewolucję czasową koncentracji cząsteczek mRNA oraz białka. Odpowiadający temu model stochastyczny jest skokowym procesem Markowa. Autoregulacja wprowadzana jest poprzez skokowe zmiany stanu genu: 1, w którym gen jest aktywny oraz 0, w którym jest nieaktywny czyli nie zachodzi wtedy transkrypcja. Intensywność zmian stanu genu może zależeć od koncentracji białka i/lub mRNA. Jeżeli zmiany koncentracji cząsteczek będziemy opisywać równaniami różniczkowymi a losowość będzie związana tylko z przeskokami stanu genu, to będziemy mieć do czynienia z PDMP.

Rozdział 1 zaczyna się od standardowego wprowadzenia do PDMP i półgrup stochastycznych. W 1.4 przedstawione są klasyczne modele PDMP ekspresji i regulacji genów. Na Rys. 1 i w równaniu 1.20 zaprezentowany jest klasyczny model autoregulacji genu. Autorka powinna wspomnieć, że wyjściowy mikroskopowy model jest skokowym procesem Markowa, gdzie skokowym zmianom podlega stan genu i liczba cząsteczek mRNA i białka. Następnie dokonywane jest swojego rodzaju przybliżenie, gdzie stochastyczna ewolucja liczby cząsteczek białka i mRNA zamieniana jest na deterministyczną ewolucję koncentracji tych substancji. Jest to uwaga metodologiczna. Odnosi się ona również do odpowiedniego miejsca we Wstępie gdzie autorka pisze: "Przy badaniu modeli biologicznych z wykorzystaniem metod przedstawionych w tej rozprawie interesuje nas przede wszystkim czy dany model rzeczywiście da się opisać za pomocą PDMP ...". Trudno zrozumieć co autorka ma na myśli. Miałoby to sens gdyby doktorantka konstruowała swoje modele na podstawie danych biologicznych.

Punktem wyjścia badań pani Agnieszki Kozdęby jest model Goodwina [16], w którym regulacja genu jest opisywana nieliniowymi równaniami różniczkowymi, gdzie szybkość transkrypcji jest osłabiana albo zwiększana przy użyciu tak-zwanej funkcji Hilla, której wartość zależy od koncentracji cząsteczek białka. Doktorantka konstruuje dwa modele, z ujemnym i dodatnim sprzężeniem zwrotnym, część deterministyczna jest dana przez równania Goodwina. Dodatkowo stan genu może zmieniać się stochastycznie ze stałymi albo zależnymi od koncentracji białka intensywnościami. Doktorantka połączyła

deterministyczny model Goodwina ze skokowym stochastycznym przełączaniem się genu i w ten sposób dostała PDMP. Powstaje pytanie czy jest to uzasadnione biologicznie. Mamy tutaj sytuację, gdzie te same białka ograniczają bądź wzmacniają transkrypcję w sposób ciągły (przy pomocy odpowiedniej funkcji Hilla) oraz powodują skokowe przełączanie się genu. Doktorantka nie przeprowadza tutaj żadnej dyskusji na ten temat. W obydwu biologicznych wprowadzeniach, 2.1 i 3.1, nie pojawia się uzasadnienie nowych autorskich modeli.

W 2.1 doktorantka pisze: „W prezentowanym poniżej modelu oprócz regulacji aktywności genu pojawia się pętla sprzężenia zwrotnego, w której wytworzone cząsteczki białka wpływają na tempo produkcji mRNA”. Zdanie to jest mylące. W oryginalnym modelu autoregulacji, regulacja aktywności genu (o której pisze powyżej doktorantka) odpowiada właśnie za sprzężenie zwrotne (autorepresję, kiedy białko powoduje przejście genu w stan nieaktywny albo autoaktywację, kiedy białko przerzuca gen w stan aktywny). Jednym zdaniem, nie potrzebujemy Goodwina aby mieć sprzężenia zwrotne. Głównym wynikiem tego rozdziału jest Tw. 2.1 dla modelu z ujemnym sprzężeniem zwrotnym: PDMP posiada globalnie asymptotycznie stabilny stan stacjonarny.

Dodatkowo, doktorantka rozważa granicę nieskończenie szybko przełączającego się genu. Wtedy możemy uważać, że dla każdego stanu układu reprezentowanego przez koncentrację mRNA i białek, gen znajduje się w stanie równowagi (jest to tak-zwana granica adiabatyczna) z prawdopodobieństwem każdego stanu proporcjonalnym do intensywności przejścia do tego stanu. Dostajemy w ten sposób układ równań różniczkowych. Doktorantka korzysta z kryterium Dulaca-Bendixsona i dowodzi, że układ nie posiada cyklu granicznego, w odróżnieniu od podobnego modelu rozpatrywanego w [56].

Na stronie 29, doktorantka pisze: „z biologicznego punktu widzenia nie ma konieczności zakładać, że przełączanie będzie zależne od poziomu mRNA”. Nie wiem czym poparta jest taka teza. Ostatnio wykryto rzeczywiste układy biologiczne, gdzie mRNA pełni istotną funkcję regulatorową. Tak więc mamy nowe modele gotowe do analizy matematycznej.

Doktorantka przeprowadza symulacje stochastyczne przy użyciu opracowanego narzędzia obliczeniowego bioPDMP, wykorzystującego klasyczny algorytm Gillespiego. Przykładowe trajektorie oraz histogramy stacjonarnej gęstości przedstawione są na rysunkach na końcu Rozdziału 2 (wyniki analogicznych symulacji stochastycznych zaprezentowane są w Rozdziale 3 dla modelu z dodatnim sprzężeniem zwrotnym). Opis procedury symulacji stochastycznych jest dość skąpy. W szczególności nie wiemy w jaki sposób estymowano gęstość stacjonarną, w jaki sposób uśredniano, jak długo czekano ...?

W obu modelach, z ujemnym i dodatnim sprzężeniem zwrotnym, doktorantka wyprowadza (czy raczej prezentuje) równania Fokkera-Plancka. Nie wydaje mi się, żeby w jakimkolwiek

miejsu rozprawy z nich korzystała, na przykład rozwiązując je numerycznie. Obecność tych równań w rozprawie jest więc raczej nieistotna.

W Rozdziale 3, doktorantka rozważa model z dodatnim sprzężeniem zwrotnym. Udowadnia, że odpowiednia półgrupa stochastyczna jest wymiatająca z wszystkich zwartych zbiorów (Tw. 3.1). Oznacza to, że w granicy nieskończonego czasu wszystkie cząsteczki zdegradują. Nie jest to zaskakujący wynik – w nieaktywnym stanie genu układ może się znaleźć dowolnie blisko zera. W układach biologicznych z samoaktywacją bierze się pod uwagę występowanie tak-zwanego „leakage” czyli włączania genu mimo braku białek. W klasycznym, w pełni stochastycznym modelu regulacji genu, intensywność przełączania genu do stanu aktywnego ma stały składnik niezależny od liczby białek. W modelu doktorantki powinniśmy w równaniu w 3.2 w drugiej linii dodać stałą intensywność k . Nie oczekujemy wtedy wymiatania, prawdopodobnie pojawią się niezerowe stany stacjonarne. Można wtedy też rozważać granicę adiabaticzną.

Rozdział 4 rozprawy poświęcony jest sieciom regulatorowym. Doktorantka prezentuje modele z dwoma oddziałującymi genami, gdzie pierwszy jest aktywatorem drugiego. Wypisuje odpowiednie równania Fokkera-Plancka oraz przeprowadza symulacje stochastyczne, które sugerują istnienie nietrywialnej miary stacjonarnej. Szkoda, że nie udało doprowadzić badań do końca i zamieścić wyniki w rozprawie.

Uwagi edytorskie

1. W przedostatnim paragrafie Streszczenia oraz we Wstępie, w opisie zachowania modelu z dodatnim sprzężeniem zwrotnym nie bardzo wiadomo o jakim zbiorze jest mowa, nie został on opisany.
2. Równanie 1.20 jest tajemnicze. Nie wiemy (oczywiście domyślamy się) jak przełącza się gen czyli jaka jest ewolucja $a(t)$. Krótko: brak jest tutaj precyzyjnego opisu modelu. Przy okazji, $x(t)$ nie jest liczba cząsteczek tylko koncentracją.
3. Nie wiadomo co oznacza indeks „i” przy K w Zakończeniu.

Podsumowując, doktorantka skonstruowała dwa oryginalne modele PDMP a następnie dokonała ich analizy matematycznej. Główne wyniki zostały zaprezentowane w dwóch twierdzeniach. Autorka udowodniła, że odpowiedni proces stochastyczny posiada asymptotycznie stabilną miarę niezmienniczą (Tw. 2.1) albo jest wymiatający do zera (Tw. 3.1). Stwierdzam, że rozprawa zawiera „oryginalne rozwiązanie problemu naukowego”. Moja końcowa ocena jest pozytywna. Dopuszczam panią mgr Agnieszkę Kozdębę do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

prof. Jacek Mięgisz
Uniwersytet Warszawski
Instytut Matematyki Stosowanej i Mechaniki
Banacha 2, 02-097 Warszawa