

# Charakterystyka struktury genomowego RNA retrotranspozonu Ty1 w warunkach *in vitro* oraz na wybranych etapach replikacji w drożdżach

mgr Małgorzata Festina Zawadzka

## STRESZCZENIE

Ty1 jest retroelementem naturalnie występującym w genomie drożdży *Saccharomyces cerevisiae*. Pod wieloma względami przypomina on proste retrowirusy, jednak w czasie cyklu życiowego nie opuszcza komórki gospodarza. Ty1 replikuje poprzez cząsteczkę RNA o długości 5652 reszt nukleotydowych, pełniącą funkcję zarówno matrycy do syntezy białek Ty1, jak i genomu RNA (gRNA), który pakowany jest do cząsteczek wirusopodobnych (VLPs, ang. *virus like particles*), gdzie ulega odwrotnej transkrypcji do cDNA, który może integrować do chromosomalnego DNA gospodarza. W odróżnieniu od gRNA wirusów dla których coraz częściej publikowane są kompletne struktury *in vitro*, *in virio*, *ex virio*, a także *in vivo*, bardzo mało wiadomo na temat struktury gRNA retrotranspozonów LTR. Zupełnie niezbadany pozostaje również temat zmian strukturalnych gRNA wirusów i retrotranspozonów, zachodzących podczas ich replikacji w poszczególnych kompartmentach komórki.

Badania podjęte w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej pozwoliły na poznanie drugorzędowej struktury Ty1 gRNA w warunkach *in vitro*, a także na wybranych etapach jego replikacji w drożdżach. Wykorzystując metodę SHAPE (ang. *selective 2'-hydroksyl acylation and primer extension*) otrzymałam model struktury całego gRNA retrotranspozonu Ty1 w warunkach *in vitro* (**Andrzejewska, Zawadzka et al. NAR, 2021**). Wykazałam, że struktura ta różni się istotnie od struktury *in vivo*, jednocześnie pozostaje bardziej stabilna i strukturalnie homogenna. Następnie podjęłam się scharakteryzowania zmian strukturalnych Ty1 gRNA zachodzących w trakcie jego cyklu replikacyjnego w komórce (**Zawadzka et al. Viruses, 2022**). Wykorzystując metodą SHAPE, otrzymałam po raz pierwszy, jądrową strukturę gRNA retrotranspozonu LTR. Na podstawie dogłębnej analizy porównawczej otrzymanych danych, ze strukturami Ty1 gRNA w cytoplazmie, *in virio* oraz *in vitro* wykazałam, że gRNA retrotranspozonu podlega licznym rearanżacjom strukturalnym, i jego architektura jest ściśle zależna od środowiska kompartmentu komórki w którym się znajduje. Aby lepiej zrozumieć temat zwijania się cząsteczek RNA w

różnych stanach biologicznych wraz z zespołem przygotowaliśmy obszerną pracę przeglądową podsumowującą najnowszą wiedzę dotyczącą wzajemnej korelacji struktury RNA i jego funkcji w komórce (**Andrzejewska, Zawadzka et al. *IJMS*, 2020**).