

Rozprawa doktorska: Identyfikacja i charakterystyka elementów strukturalnych genomowego RNA retrotranspozonu Ty1 oraz jego oddziaływań z białkiem Gag kluczowych dla dimeryzacji i pakowania genomu do cząstek wirusopodobnych.

STRESZCZENIE

Elementy transpozycyjne występują w większości, jeśli nie we wszystkich, dotychczas scharakteryzowanych genomach eukariotycznych i mają znaczący wpływ na ich organizację, ewolucję i funkcjonowanie. Dużą część mobilnych elementów genetycznych stanowią retrotranspozony typu LTR, które wykazują wiele podobieństw w strukturze i cyklu replikacyjnym do retrowirusów, nie są one jednak infekcyjne. Podczas retrotranspozycji tworzą one cząstki wirusopodobne (VLPs, ang. *virus-like particles*), przypominające wiriony retrowirusów. VLPs zbudowane są głównie z licznych cząsteczek białka Gag i zawierają genomowy RNA (gRNA) retroelementu w formie dimerycznej oraz specyficzne enzymy wymagane do odwrotnej transkrypcji i późniejszej integracji cDNA z genomem gospodarza. Pakowanie gRNA do VLPs jest jednym z kluczowych etapów replikacji retroelementów. Proces ten był intensywnie badany dla retrowirusów i dostępne dane literaturowe wskazują, że pakowanie gRNA jest ściśle związane z jego dimeryzacją, a oba procesy reguluje białko Gag. W odróżnieniu od retrowirusów, proces dimeryzacji i pakowania gRNA retrotranspozonów LTR poznany jest bardzo słabo.

Głównym celem mojej rozprawy doktorskiej było zbadanie procesów dimeryzacji i pakowania gRNA do VLPs u retrotranspozonów LTR. Moim modelem badawczym był retrotranspozon Ty1, naturalnie występujący w genomie *Saccharomyces cerevisiae*. W pracach naukowych, stanowiących moją rozprawę doktorską (Gumna et al. *RNA Biology*, 2019; Gumna et al. *IJMS*, 2021; Gumna et al. *PLoS One*, 2020), wskazałam, że mechanizm dimeryzacji genomowego RNA retrotranspozonu Ty1 wykazuje istotne podobieństwa z analogicznym procesem u retrowirusów, a białko Gag Ty1 jest ważnym czynnikiem regulatorowym dla tego procesu. W celu wyjaśnienia roli Gag Ty1 w selekcji i pakowaniu gRNA retrotranspozonu do VLPs przeanalizowałam właściwości oddziaływań Gag Ty1 z RNA oraz zdefiniowałam motywy strukturalne w RNA Ty1 istotne dla tych interakcji. Swoje doświadczenie w mapowaniu struktury drugorzędowej RNA wykorzystałam do opracowania, we współpracy z Zakładem Bioinformatyki Strukturalnej ICHB PAN, narzędzia obliczeniowego – RNAtor. Narzędzie to służy do w pełni zautomatyzowanej normalizacji, wizualizacji oraz analizy statystycznej danych uzyskanych w eksperymentach próbkowania strukturalnego RNA z wykorzystaniem elektroforezy kapilarnej.