

Charakterystyka dynamiki strukturalnej i funkcjonalnej genomów RNA aktywnych retrotranspozonów LTR

Angelika Andrzejewska-Romanowska

STRESZCZENIE

Retrotranspozony LTR (ang. *long terminal repeat*) replikują za pośrednictwem genomowego RNA (gRNA), który służy jako matryca do syntezy białek i odwrotnej transkrypcji. Podobnie do wirusów RNA, zarówno sekwencja, jak i struktura gRNA retrotranspozonów niesie instrukcje niezbędne do replikacji. Rozwój metod chemicznego mapowania struktury RNA pozwala pozyskać coraz lepszą wiedzę na temat natywnej struktury cząsteczek RNA w środowisku komórkowym. Jest ona niezbędna do uzyskania kompleksowego obrazu wpływu architektury RNA na jego funkcję. Mimo rosnącej liczby modeli strukturalnych cząsteczek RNA, dane dotyczące struktury gRNA retrotranspozonów *in vivo* nie były dostępne.

Najważniejszym celem moich badań było określenie po raz pierwszy struktury gRNA aktywnych retrotranspozonów LTR podczas replikacji w komórkach. Moimi modelami badawczymi były retrotranspozony Ty1 (*Pseudoviridae*) oraz Ty3 (*Metaviridae*), naturalnie występujące w genomie *Saccharomyces cerevisiae*. Badania nad biologią drożdżowych elementów Ty są istotnym źródłem informacji na temat mechanizmów retrotranspozycji. Moją rozprawę doktorską tworzy cykl trzech powiązanych tematycznie publikacji. W pracy **Andrzejewska i in., NAR, 2021**, wykorzystałam metodę SHAPE-CE do zbadania struktury gRNA retrotranspozonu Ty1 (5,7 kpz) *in vivo*. Dokonałam również analizy porównawczej uzyskanego modelu gRNA Ty1 z modelem *in vitro*. Scharakteryzowałam kontekst strukturalny funkcjonalnych sekwencji, zaangażowanych w oddziaływania RNA-RNA istotne dla retrotranspozycji, wskazując, które z nich mogą zachodzić przed pakowaniem gRNA do cząstek wirusopodobnych. Dodatkowo, przeprowadziłam eksperymenty w warunkach zahamowanej translacji, pokazując wpływ rybosomów na destabilizację i reorganizację struktury gRNA Ty1. W publikacji **Andrzejewska-Romanowska i in., NAR, 2024** zastosowałam strategię SHAPE-MaP do ustalenia struktury gRNA Ty3 (5,1 kpz) w warunkach *in vivo* oraz *ex vivo*. Zidentyfikowałam motywy strukturalne specyficzne dla stanu eksperymentalnego, a także stabilnie zwinięty rdzeń tworzący się niezależnie od środowiska komórkowego. Opisałam kontekst strukturalny znanych sekwencji funkcjonalnych i zaproponowałam nową sekwencję dimeryzacji gRNA Ty3. Na koniec scharakteryzowałam kluczowe cechy strukturalne gRNA wspólne dla reprezentatywnych retroelementów (Ty1, Ty3 i HIV-1). Serię rozpoczyna praca przeglądowa **Andrzejewska i in., IJMS, 2020**, podsumowująca dostępną wiedzę na temat struktury RNA *in vivo*, wynikającą z najnowszych badań w komórkach różnych organizmów. Skupiliśmy się na czynnikach regulujących strukturę RNA wewnątrz komórek oraz na związkach pomiędzy strukturą cząsteczek RNA a ich funkcją.