

STRESZCZENIE

Małe niekodujące RNA (ang. *small non-coding RNAs*, sncRNA) są ważnymi regulatorami ekspresji genów, jednak interpretacja ich funkcji w nieklasycznych modelach regeneracji jest często ograniczona ze względu na niekompletne zasoby referencyjne. Celem niniejszej rozprawy było opracowanie i udoskonalenie metod bioinformatycznych do analizy sncRNA u wypławka *Schmidtea mediterranea* oraz zastosowanie tych narzędzi do określenia, w jaki sposób zaburzenia metabolizmu RNA wpływają na przebieg regeneracji.

Najpierw opracowano oparty na zebranych dowodach, zautomatyzowany proces adnotacji genomu (SmedAnno) w celu wygenerowania referencji i udoskonalenia kluczowych loci, w tym skorygowanego modelu genu i transkryptu *Smed ELAC2* niezbędnego do dokładnej analizy ilościowej mRNA i eksperymentów zależnych od sekwencji. Następnie zastosowano strategię wyciszania *Smed ELAC2* (kodującego rybonukleazę przetwarzającą tRNA) za pomocą interferencji RNA w celu zbadania wpływu zmian w puli sncRNA na regenerację. Zmiany transkryptomiczne wywołane wyciszeniem *Smed ELAC2* zostały zbadane poprzez sekwencjonowanie sncRNA i mRNA po 3 i 5 dniach od amputacji oraz za pomocą sekwencjonowania RNA pojedynczych komórek w różnych punktach czasowych. Analizy sncRNA wykazały selektywną, zależną od etapu odpowiedź skoncentrowaną w fragmentach pochodzących z tRNA i miRNA, przy czym najbardziej wyraźne spadki zaobserwowano w przypadku 5' tiRNA-Gly-GCC.

Sekwencjonowanie RNA typu *bulk* wykazało niewielkie zmiany transkrypcyjne. Analizy pojedynczych komórek zlokalizowały ekspresję *Smed ELAC2* w określonych populacjach komórek i wykazały zmienione różnicowanie z ogólnych komórek macierzystych neoblastów w kierunku wybranych linii komórkowych pod wpływem wyciszenia. Uzupełniające profilowanie frakcji posortowanych przy niskim poziomie wejściowym oraz modelowanie aktywności docelowej oparte na sekwencjonowaniu scRNA wykazały potencjał regulacyjny 5'-tiRNA-Gly-GCC, szczególnie w populacjach tkanki mięszonej i fagocytów wykazujące ekspresję *PGRN*.

Wyniki te łącznie stanowią dostosowane do wypławków zasoby referencyjne oraz kompleksową strukturę analityczną, która łączy przebudowę sncRNA z programami regeneracji z rozdzielczością na poziomie linii komórkowej, podkreślając znaczenie 5' tiRNA-Gly-GCC jako cząsteczki regulatorowej, której biogeneza jest zależna od *Smed ELAC2*.

Słowa kluczowe: *Schmidtea mediterranea*; regeneracja; małe niekodujące RNA; fragmenty pochodzące z tRNA; ELAC2; adnotacja genomu; sekwencjonowanie RNA pojedynczych komórek.