

Ruchome elementy genetyczne (TE) to segmenty DNA zdolne do zmiany lokalizacji w genomie gospodarza w procesie transpozycji. TE stanowią dużą część genomów organizmów eukariotycznych, wśród nich miniaturowe ruchome elementy genetyczne (MITE), które nie posiadają enzymów niezbędnych do transpozycji. Te elementy nieautonomiczne są prawdopodobnie mobilizowane przez transpozazę dostarczaną za pośrednictwem pokrewnych autonomicznych transpozonów. Zgodnie z aktualnym stanem wiedzy stosunkowo niewiele wiadomo o mobilizacji MITE w roślinach dwuliściennych i obcopylnych, takich jak marchew (*Daucus carota* subsp. *saivus*). Coraz więcej dowodów wskazuje na to, że elementy mobilne, w tym MITE, są ważnymi czynnikami ewolucji roślin uprawnych, ich udomowienia oraz doskonalenia, poprzez zapewnienie zmienności genetycznej, która była wykorzystywana przez pierwszych rolników i współczesnych hodowców. Projekt sekwencjonowania genomu marchwi zapewnił dostępność genomu referencyjnego i wysokoprzepustowych danych genomowych, które wykorzystano do poszukiwania ruchomych elementów genetycznych i które doprowadziły do identyfikacji miniaturowych ruchomych elementów genetycznych z rodziny *Daucus carota* *Stowaway-like* (*DcSto*). Zidentyfikowano również powiązane z nimi, przypuszczalnie autonomiczne elementy *Mariner-like* (*DcMars*), prawdopodobnie zapewniające maszynę enzymatyczną do transpozycji *DcSto*. Opierając się na naszych wstępnych badaniach, postawiliśmy hipotezę, że **transpozazy elementów *DcMar* są odpowiedzialne za mobilizację miniaturowych ruchomych elementów *DcSto***. Dlatego zamierzamy przeanalizować interakcje funkcjonalne między transpozazami *DcMar* a miniaturowymi ruchomymi elementami *DcSto*.

Celem projektu jest odpowiedź na pytanie, czy transpozazy pochodzące z autonomicznych transpozonów DNA (*DcMar*) są zdolne do mobilizacji miniaturowych ruchomych elementów genetycznych *DcSto* obecnych w genomie marchwi.

Aby osiągnąć ten cel, zamierzamy wykorzystać protokół umożliwiający śledzenie transpozycji elementów *DcSto* marchwi, wywoływanej przez transpozazę pochodzącą z *DcMar* w drożdżach *Saccharomyces cerevisiae*. Protokół transpozycji w drożdżach pozwala jednoznacznie stwierdzić, czy nastąpiła transpozycja. Aby zweryfikować postawioną hipotezę, chcielibyśmy skonstruować wektory do transformacji drożdży zawierające funkcjonalne transpozazy *DcMar* oraz kilka miniaturowych ruchomych elementów genetycznych *DcSto*, a następnie przeprowadzić transpozycję w drożdżach. Zostanie to osiągnięte najpierw poprzez transformację drożdży, a następnie śledzenie zdarzeń transpozycji. Przeprowadzona zostanie weryfikacja transpozycji, w tym identyfikacja i analiza miejsc wycięcia i wstawienia aktywowanego MITE.

Proponowane badania są innowacyjne, do tej pory nie zbadano żadnych interakcji między transpozazami przypuszczalnie aktywnych autonomicznych transpozonów DNA i powiązanych z nimi MITE obecnych w genomie marchwi. Realizacja zadań badawczych zawartych w projekcie pozwoli na znaczne poszerzenie wiedzy o aktywności ruchomych elementów genetycznych w genomie marchwi oraz relacji między elementami autonomicznymi i nieautonomicznymi. Gruntowne badanie mechanizmów mobilizacji MITE jest kluczowe z punktu widzenia zrozumienia roli elementów mobilnych w kształtowaniu genomów marchwi i innych roślin. Wyniki uzyskane w projekcie będą interesującym punktem wyjścia do dalszej eksploracji genomowych zależności *DcMar/DcSto* i zbadania mechanizmu transpozycji *DcSto*. Jednocześnie opracowane narzędzia molekularne do analizy transpozycji drożdży można wykorzystywać w przyszłości do badania innych oddziaływań transpozaz z miniaturowymi ruchomymi elementami genetycznymi pochodzącymi z genomu marchwi.