

Promotionsprojekt:

Molekulare Mechanismen der Auswahl von Integrationszielen durch *Dictyostelium*-Retrotransposons

Mobile genetische Elemente sind genomische Parasiten, die sich als "egoistische DNAs" amplifizieren und dadurch die Genomevolution ihrer Wirte maßgeblich beeinflussen. Retrotransposons amplifizieren über RNA-Intermediate, die durch reverse Transkription in DNA umgeschrieben und permanent in das Genom der Wirtszelle integriert werden. In Genomen mit hoher Gendichte stehen mobile Elemente unter einem besonders großen Selektionsdruck, eine übermäßige Schädigung des Wirtsgenoms und damit der Fitness des Wirtsorganismus zu vermeiden. Dieser Selektionsdruck führte zur Entwicklung von Mechanismen zur positionsspezifischen Integration an „sicheren“ Orten des Wirtsgenoms. Solche sicheren Orte sind beispielsweise Bereiche in direkter Nachbarschaft von tRNA-Genen, die in vielen Kopien im gesamten Genom verteilt sind. Wir interessieren uns für tRNA-Gen-spezifisch integrierende Retrotransposons im Genom von *Dictyostelium discoideum* und wir möchten herausfinden, wie die Retrotransposons tRNA-Gene als Integrationsziele identifizieren.

In dem Promotionsprojekt wollen wir das Retrotransposon DGLT-A näher untersuchen. Wir haben in Vorarbeiten festgestellt, dass DGLT-A kodierte Proteine mit bestimmten Untereinheiten eines für die Transkription von tRNA-Genen spezifischen Transkriptionsfaktors direkt interagieren. Nun wollen wir einen zellbasierten Retrotranspositionstest entwickeln, mit dem gezeigt werden könnte, dass diese Protein-Interaktionen für eine positionsspezifische Integration an tRNA-Genen in der Zelle tatsächlich benötigt werden. Für den Aufbau eines solchen Assays soll ein DGLT-A-Element genutzt werden, das mit einem Selektionsmarker zum Nachweis produktiver Retrotransposition ausgestattet wird. Zunächst muss das Retrotranspositionsverhalten dieses Elementes bestimmt werden, indem eine Methode zum genomweiten Mapping von Integrationsstellen entwickelt wird (Anwendung von Illumina-Sequenzierung und bioinformatischen Methoden). Dann soll untersucht werden, wie sich das Retrotranspositionsverhalten von DGLT-A ändert, wenn in *D. discoideum*-Mutanten erzeugt werden, die eine Proteininteraktion zwischen DGLT-A und den tRNA-Gen-spezifischen Transkriptionsfaktoren nicht mehr zulassen. Außerdem soll ein Assay entwickelt werden, mit dem es möglich wird, DGLT-A an artifizielle Integrationsziele zu „locken“.

Ausgewählte Literatur:

T. Spaller, M. Groth, G. Glöckner & T. Winckler (2017). TRE5-A retrotransposition profiling reveals putative RNA polymerase III transcription complex binding sites on the *Dictyostelium* extrachromosomal rDNA element. *PLoS ONE* 12(4): e0175729

T. Spaller, E. Kling, G. Glöckner, F. Hillmann & T. Winckler (2016). Convergent evolution of tRNA gene targeting preferences in compact genomes. *Mob. DNA* 7, 17

A. Schmith, T. Spaller, F. Gaube, Å. Fransson, B. Boesler, S. Ojha, W. Nellen, C. Hammann, F. Söderbom & T. Winckler (2015). A host factor supports retrotransposition of the TRE5-A population in *Dictyostelium* cells by suppressing an Argonaute protein. *Mob. DNA* 6, 14 (PubMed)

T. Winckler, J. Schiefner, T. Spaller & O. Siol (2011). *Dictyostelium* transfer RNA gene-targeting retrotransposons - Studying mobile element-host interactions in a compact genome. *Mob. Genet. Elements* 1(2), 145-150

O. Siol, T. Spaller, J. Schiefner & T. Winckler (2011). Genetically tagged TRE5-A retrotransposons reveal high amplification rates and authentic target site preference in the *Dictyostelium discoideum* genome. *Nuc. Acids Res.* 39(15), 6608-6619