

STRESZCZENIE

Kompleks białek ochronnych Shelterin ściśle połączony jest z pojęciem telomerów. Początkowa część pracy skupia się więc na ich dogłębnej charakterystyce, budowie i roli w organizmach żywych, w tym człowieka. Następnie przedstawia odpowiedzi na fundamentalne pytania na temat molekularnych aspektów funkcji telomerów, mających wpływ na homeostazę ich długości. Jak telomery rozwiązały problem końcowej replikacji oraz w jaki sposób przeciwdziałają niezliczonym ścieżkom komórkowym, mogącym wpływać i działać na końce DNA? Przeanalizowano działanie enzymu telomerazy, należącego do grupy odwrotnych transkryptaz, oraz kompleksu Shelterin, składającego się z sześciu odrębnych białek (TRF1, TRF2, TIN2, POT1, TPP1 i Rap1), które stanowią odpowiedzi na postawione pytania. Wykazano znaczenie wymienionych komponentów telomerowych w chorobach nowotworowych i wskazano celowane strategie w terapiach przeciwko nim. Zebrane informacje podkreśliły wagę osiągnięcia głównego celu niniejszej pracy.

Druga część rozważań teoretycznych opisuje wybrane właściwości białek, podkreślając te, które obecnie są wykorzystywane w procesach ich oczyszczania. Przedstawia zalety nowoczesnych podejść w preparatyce fuzyjnych preparatów białkowych z różnymi etykietami. Podkreśla przewagę bioprodukcji tych białek w bakteryjnych systemach ekspresyjnych oraz łatwość ich oczyszczania za pomocą dedykowanych technik chromatograficznych. Przedstawione informacje ułatwiają zrozumienie wybranych strategii uzyskania docelowych białek z kompleksu Shelterin.

Część eksperymentalna przedstawia wyniki potwierdzające uzyskanie pełnych wariantów hTRF1 i hTRF2 (ang. *human TRF1/2*) oraz ich domen wiążących Myb1 i Myb2 w bakteryjnym systemie *Escherichia coli* (*E. coli*). Otrzymane rezultaty z poszczególnych etapów ich preparatyki poparły opisane wcześniej zalety biosyntezy i oczyszczania rekombinantowych białek fuzyjnych z wybranymi etykietami. Przeprowadzone doświadczenia na specyficzność oddziaływań otrzymanych białek, przy wykorzystaniu metody EMSA oraz technologii BLItz, potwierdziły ich natywne właściwości. Wykazano interakcje rekombinantowych białek hTRF1 i hTRF2 oraz ich domen wiążących z telomerowym dsDNA oraz oddziaływanie hTRF1 i hTRF2 z peptydami TIN i Apollo. Spełniono w ten sposób cele szczegółowe, które umożliwiły

wypełnienie celu głównego, potwierdzając użyteczność otrzymanych białek kompleksu Shelterin w modelach oddziaływań *in vitro*.