

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program:
Speciální chemicko-biologické obory

Studijní obor:
Molekulární biologie a biochemie organismů



Klára Hanušková

Role SMN komplexu v biogenezi snRNP částic

Role of the SMN complex in snRNP biogenesis

Bakalářská práce

Školitel: doc. Mgr. David Staněk, Ph.D.

Praha, 2024

Poděkování

Tímto bych ráda poděkovala především svému školiteli, doc. Mgr. Davidu Staňkovi, Ph.D., za jeho vstřícnost a pomoc během tvorby této bakalářské práce. Zároveň děkuji kolegům z Oddělení biologie RNA z Ústavu molekulární genetiky AV ČR, kteří mi jsou oporou při mých prvních krocích ve světě vědy. A v neposlední řadě děkuji mým kamarádům a rodině, za podporu během celého studia.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 30. 4. 2024

Klára Hanušková

Abstrakt

Malé jaderné ribonukleoproteinové částice (snRNP) jsou esenciální složkou spliceosomu, dynamického proteinového komplexu zajišťujícího RNA sestřih. Tyto částice jsou složeny z jedné malé jaderné RNA, podle níž nesou svůj název, kruhu sedmi Sm nebo LSm proteinů a dalších přídavných proteinů. Všechny snRNP podstupují složitou cestou zrání, probíhající v jádře a cytoplasmě buňky. Jedním z důležitých faktorů biogeneze snRNP je SMN komplex, který je složen z proteinů SMN, Gemin2-8 a Unrip. Jeho nejdůležitější funkcí je zprostředkování sestavení Sm core domény v cytoplasmě buňky, za pomoci proteinového komplexu PRMT5. Dále se také SMN komplex zapojuje do modifikace snRNA, importu snRNP do jádra, nebo samotného sestavení sestřihového komplexu. I přes více jak dvě dekády výzkumů nejsou některé funkce SMN komplexu a jeho částic zcela odhaleny a není tedy zcela jasné v jak velké míře tento komplex ovlivňuje nejen biogenezi snRNP, ale i celého spliceosomu. Cílem této práce je, dle dostupných výzkumů, hlubší popis SMN komplexu a pochopení jeho funkcí v biogenezi snRNP částic.

Klíčová slova: SMN komplex, snRNP, snRNA, Sm protein, sestřihový komplex

Abstract

Small nuclear ribonucleoprotein particles (snRNPs) are an essential component of the spliceosome, a dynamic protein complex that mediates RNA splicing. These particles are composed of a single small nuclear RNA, from which they take their name, a ring of seven Sm or LSm proteins and other accessory proteins. All snRNPs undergo a complex maturation pathway, taking place in the nucleus and cytoplasm of the cell. One important factor in snRNP biogenesis is the SMN complex, which is composed of the SMN, Gemin2-8 and Unrip proteins. Its most important function is to mediate the assembly of the Sm core domain in the cytoplasm of the cell, with the help of the PRMT5 complex. Furthermore, the SMN complex is also involved in snRNA modification, import of the snRNP core, or assembly of the spliceosome itself. Despite more than two decades of research, some of the functions of the SMN complex and its particles have not been fully revealed, and thus it is not clear from the cell to what extent this complex influences not only snRNP biogenesis but also the entire spliceosome. The aim of this work, according to the available research, is to describe the SMN complex in more depth and to understand its functions in snRNP particle biogenesis.

Key words: SMN complex, snRNP, snRNA, Sm protein, spliceosome

Seznam zkratek

γ-m-P₃	γ -monomethyl trifosfát	γ -monomethyl triphosphate
ARS2	Protein rezistenční vůči arzenitu 2	Arsenite resistance protein 2
ATP	Adenosintrifosfát	Adenosine triphosphate
CB	Cajalova tělíska	Cajal body
CBC	Čepičku vázající komplex	Cap binding complex
CTD	C-koncová doména	C-terminal domain
GDP	Guanosindifosfát	Guanosine diphosphate
GTP	Guanosintrifosfát	uanosine triphosphate
LSm	Podobný Sm	Like Sm
m₃^{2,2,7}G	2,2,7-trimethyl guanosin	2,2,7-trimethyl guanosine
m⁷G	7-methylguanosen	7-methyl guanosine
NLS	Jaderný lokalizační signál	Nuclear localization signal
PHAX	Fosforylovaný adaptor pro export RNA	Phosphorylated adaptor for RNA export
poII	Polymeráza II	Polymeraze II
poIII	Polymeráza III	Polymeráza III
pre-mRNA	Prekurzorová messengerová RNA	Precursor messenger RNA
PRMT5	Protein arginin metyltransferázy 5	Protein arginine methyltransferase 5

RBP	Protein vázající RNA	RNA binding protein
scaRNA	Malé RNA specifické pro CB	Small Cajal body-specific RNAs
SETX	Senataxin	Senataxin
SMA	Spinální svalová atrofie	Spinal muscular atrophy
SMN	Protein pro přežití motorických neuronů	Survival of motor neuron
snRNA	Malá jaderná RNA	Small nuclear RNA
snRNP	Malé jaderné ribonukleoproteinové částice	Small nuclear ribonucleoprotein particle
SPN1	Snurportin1	Snurportin1
TF	Transkripční faktor	Transcription factor
TGS1	Trimethylguanosin syntáza	Trimethylguanosine synthase
TUT	Terminální uridyl transferázou	Terminal uridyl transferase

Obsah

1. Úvod.....	1
2. Spliceosom a jeho struktura.....	3
2.1. Biogeneze snRNP částic	4
2.2. Biogeneze U7 snRNP	10
3. SMN komplex	12
3.1. SMN komplex v biogenezi snRNP	14
3.1.1. Komplex PRMT5	17
3.2. SMN a jeho funkce v jádře	17
3.2.1. Regulace transkripce.....	19
4. Spinální svalová atrofie	20
5. Závěr	22
Reference	23

1. Úvod

Cesta přenosu genetické informace je popsána Centrálním dogmatem molekulární biologie. V principu jde o tok genetické informace mezi nukleovými kyselinami, DNA a RNA, a přepis z RNA do proteinů. Proces, při kterém je genetická informace, uložená v genu, převedena nejčastěji do proteinu, se nazývá genová exprese. Genová exprese zahrnuje dva zásadní kroky, jimiž jsou transkripce a translace. Během transkripce dochází k přepisu genetické informace z DNA do prekurzorové messengerové RNA (pre-mRNA) a translací se rozumí překlad RNA do proteinu. Pre-mRNA prochází před přepisem do proteinu několika modifikacemi. Jednou z těchto modifikací je kriticky důležitý sestřih pre-mRNA neboli splicing, proces zodpovědný za vytěšňování velkých nekódujících částí primárního transkriptu (intronů) a spojování kódujících částí (exonů), za vzniku maturované mRNA. V současné době se odhaduje, že více než 80 % lidských genů prochází alternativním sestřihováním, které vede ke vzniku různých izoform mRNA z jednoho primárního transkriptu.

Splicing je katalizován velkým, dynamickým, ribonukleoproteinovým aparátem, zvaným spliceosom. Jednotlivé podjednotky a proteiny spliceosomu postupně nasedají během sestřihu na vlákno. Tento proces je komplexní a zahrnuje správné rozpoznání intronu a dvě esterifikační reakce, během kterých dochází k vystřížení intronu, spojení exonů a uvolnění mRNA. Sestavení celého sestřihového komplexu probíhá na základě vzájemné interakce spliceozomálních snRNP a přibližně stovky dalších přidružených proteinů. Spliceosom existuje ve dvou podobách. Častější variantou je U2 dependentní spliceosom a variantou, nacházející se jen u některých podskupin eukaryot, je U12 dependentní spliceosome. Tyto dva typy sestřihového komplexu se jen mírně liší ve složení malých jaderných ribonukleoproteinových částic (snRNP). snRNP jsou esenciální složkou sestřihových komplexů, jsou složeny z jedné malé jaderné RNA (snRNA), kruhu sedmi Sm nebo LSm proteinů a dalších přidružených proteinů. Biogeneze těchto snRNP částic probíhá v různých buněčných kompartmentech a je ovlivněna různými faktory. Jedním z nich je SMN komplex, faktor, který ovlivňuje především cytoplasmatickou fázi zrání, kde zprostředkovává sestavení Sm core domény a následný transport snRNP do jádra, ale zapojuje se i do dalších kroků této biogeneze nejen v cytoplasmě.

V této práci se věnuji souhrnu dostupných informací o krocích biogeneze snRNP částic a zapojení SMN komplexu do tohoto procesu. Taktéž zde zmiňuji další faktory spolupracující s tímto komplexem, které mají v biogenezi důležitou roli, jako je například komplex PRMT5, nebo složky předimportního komplexu. Kromě samotné biogeneze snRNP částic jsou zde nastíněny další pravděpodobné funkce SMN komplexu, ale mnoho z nich stále nebylo zcela

objasněno, nebo potvrzeno. Nechybí zde ani popis neurodegenerativního onemocnění Spinální svalové atrofie, která je způsobená mutací genu SMN a při níž dochází ke snížení hladiny snRNP částic.

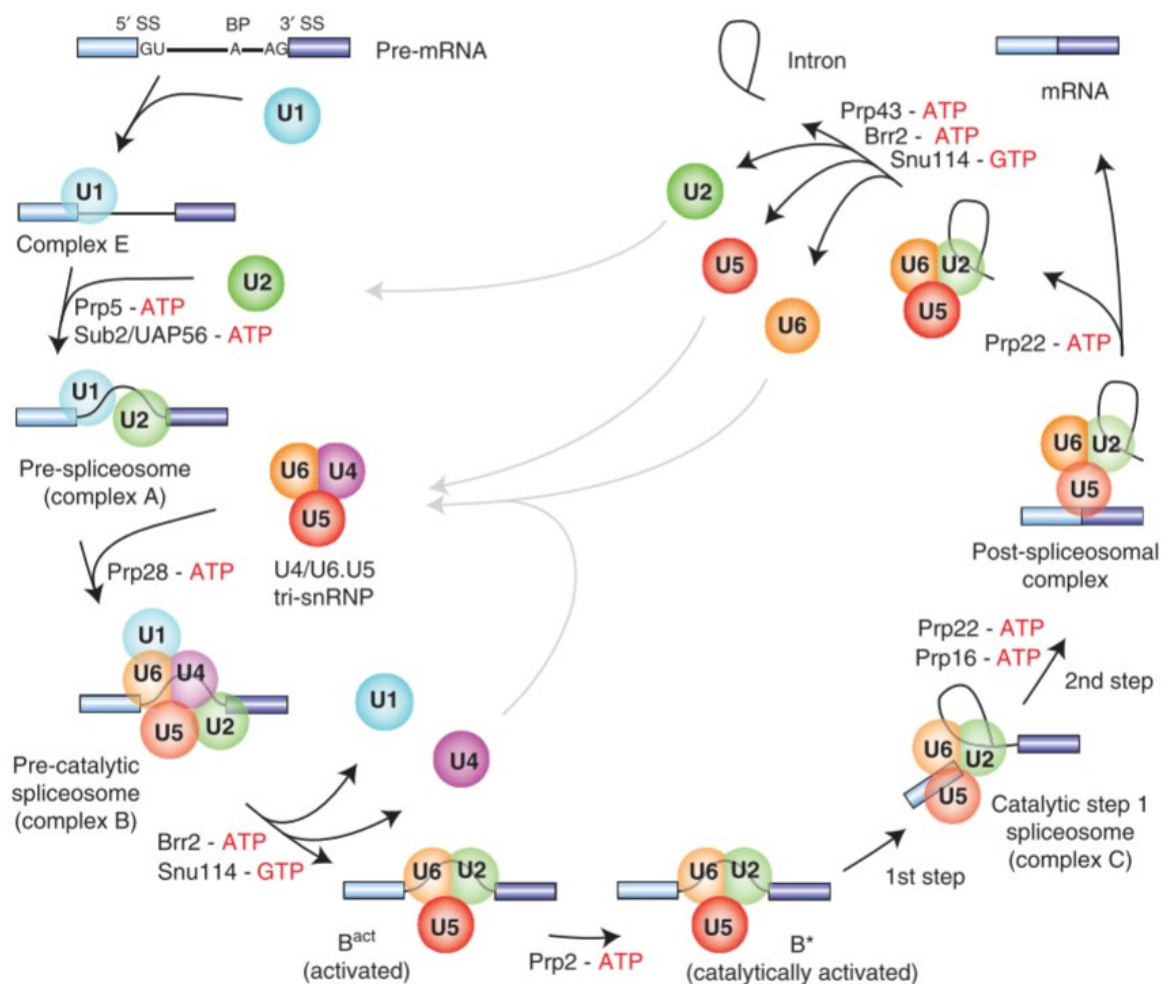
2. Spliceosom a jeho struktura

U většiny eukaryot se nachází dva typy sestřihového komplexu – majoritní, U2-dependentní spliceosom, který se stará o vystřížení kanonických intronů, a minoritní, U12-dependentní spliceosom, nacházející se pouze u některých podskupin eukaryot, umožňující odstranění vzácných ATAC intronů (Levine et al., 2001; Patel et al., 2002). Esenciální složkou U2-dependentního spliceosomu je pět malých jaderných ribonukleoproteinových částic (snRNP) – U1, U2, U4, U5 a U6. Hlavními podjednotkami minoritního U12 spliceosomu jsou U11, U12, U5, U4atac a U6atac snRNP (Patel et al., 2003).

Každá snRNP je složena z snRNA, bohaté na uridin, a 10-20 dalších přidružených proteinů, které přispívají ke stabilizaci spliceosomu a výběru sestřihového místa (Wu et al., 1993). Podle typu snRNA je pojmenována každá částice. U1, U2, U4 a U5 snRNA jsou prepisovány RNA polymerázou II (poII) a v konečné podobě nesou na 5' konci 2,2,7-trimethyl guanosinovou čepičku ($m_3^{2,2,7}G$) (Reddy et al., 1974). Dále se v snRNA nachází takzvané Sm místo, které je bohaté na uridin a je obklopeno dvěma vlásenkami (Branlant et al., 1982). Toto Sm místo se nachází na 3' konci U1, U2, U4 a U5 snRNP a okolo něj se do kruhu sestavuje heteroheptamer z Sm proteinů B/B', D1, D2, D3, E, F, G. (Bringmann et al., 1986; Hermann et al., 1995). Každý Sm protein je charakteristický svým N-koncovým α -helixem, který je následovaný pětiřetězcovým antiparalelním β -listem (Séraphin, 1995). β 4-řetězec jednoho Sm proteinu se váže na β 5-řetězec sousedního Sm proteinu, čímž dochází ke vzniku mezimolekulárního β -listu. Tato interakce umožňuje vytvoření core domény z Sm proteinů okolo Sm místa na snRNP (Stark et al., 2001; Urlaub et al., 2001).

Oproti tomu U6 snRNA je prepisována RNA polymerázou III (poIII) a je na 5' konci opatřena γ -monomethyl guanosinovou čepičkou (γ -m-P₃) (Kunkel et al., 1986; Singh et al., 1989). Na 3' konci U6 snRNP se nachází taktéž na uridin bohatá sekvence, okolo které je do kruhu sestaveno sedm paralogních proteinů LSm2-8 (Like Sm) (Séraphin, 1995).

Spliceosom během sestřihu nenasedá na pre-mRNA jako celek, ale je postupně během procesu skládán ze svých jednotlivých podjednotek a proteinů. Jakožto samostatné podjednotky se do komplexu začleňují jen U1 a U2 snRNP, zatímco U4 a U6 se spolu intenzivně párují, díky čemuž vzniká dimer U4/U6 di-snRNP (Bringmann et al., 1984). Následně dochází k připojení U5 snRNA za vzniku U4/U6·U5 tri-snRNP (Black et al., 1989). Podobný mechanismus se vyskytuje i u minoritního U12 spliceosomu, kde i U11 a U12 tvoří dimer (Wassarman et al., 1992).



Obr.1.: Schéma sestihu pre-mRNA a cyklu sestavení a rozpadu spliceosomu. Je zde znázorněn postupný proces sestavení a recyklace jednotlivých U snRNP částic a některých faktorů ovlivňující tento proces. Převzato od Will et al., 2011

2.1. Biogeneze snRNP částic

Biogeneze snRNP je komplexní proces, který zahrnuje jadernou i cytoplasmatickou fázi. Sestavení samotého spliceosomu na pre-mRNA sice probíhá výhradně v jádře, ale k biogenezi jednotlivých snRNP dochází v různých buněčných kompartmentech. snRNA je při tvorbě snRNP přechodně transportována z jádra do cytoplasmy, kde dochází k vytvoření Sm kruhu a sestavená částice je následně importována do jádra, kde se účastní splicingu (Murphy et al., 2004).

Proces biogeneze začíná v jádře transkripcí pre-snRNA (U1, U2, U4, U5, U11, U12 a U4atac) poII, nebo poIII (pro U6 a U6atac) (Kunkel et al., 1986; Ro-Choi et al., 1976) za pomoci vysoce specializovaných promotorů. Tyto promotory obsahují proximální a distální prvky, které jsou podobné TATA boxu, respektive enhancerovým sekvencím protein kódujících genů.

Iniciace transkripce snRNA vyžaduje obecné transkripční faktory, které se skládají z transkripčního iniciačního faktoru (TF) IIA, TFIIB, TFIIE a TFIIIF, a také vyžaduje vazbu pentamerického faktoru zvaného snRNA-activating protein complex (SNAPc) (Henry et al., 1998; Hung et al., 2011). Všechny snRNA, které jsou přepisovány poII, procházejí kotranskripčními modifikacemi, kam spadá přidání 7-methyl guanosinové (m^7G) čepičky na 5' konec (Reddy et al., 1974) a zpracování 3' konce komplexem zvaným Integrator (Baillat et al., 2005), čímž vzniká na 3' konci struktura stem-loop (Yong et al., 2010).

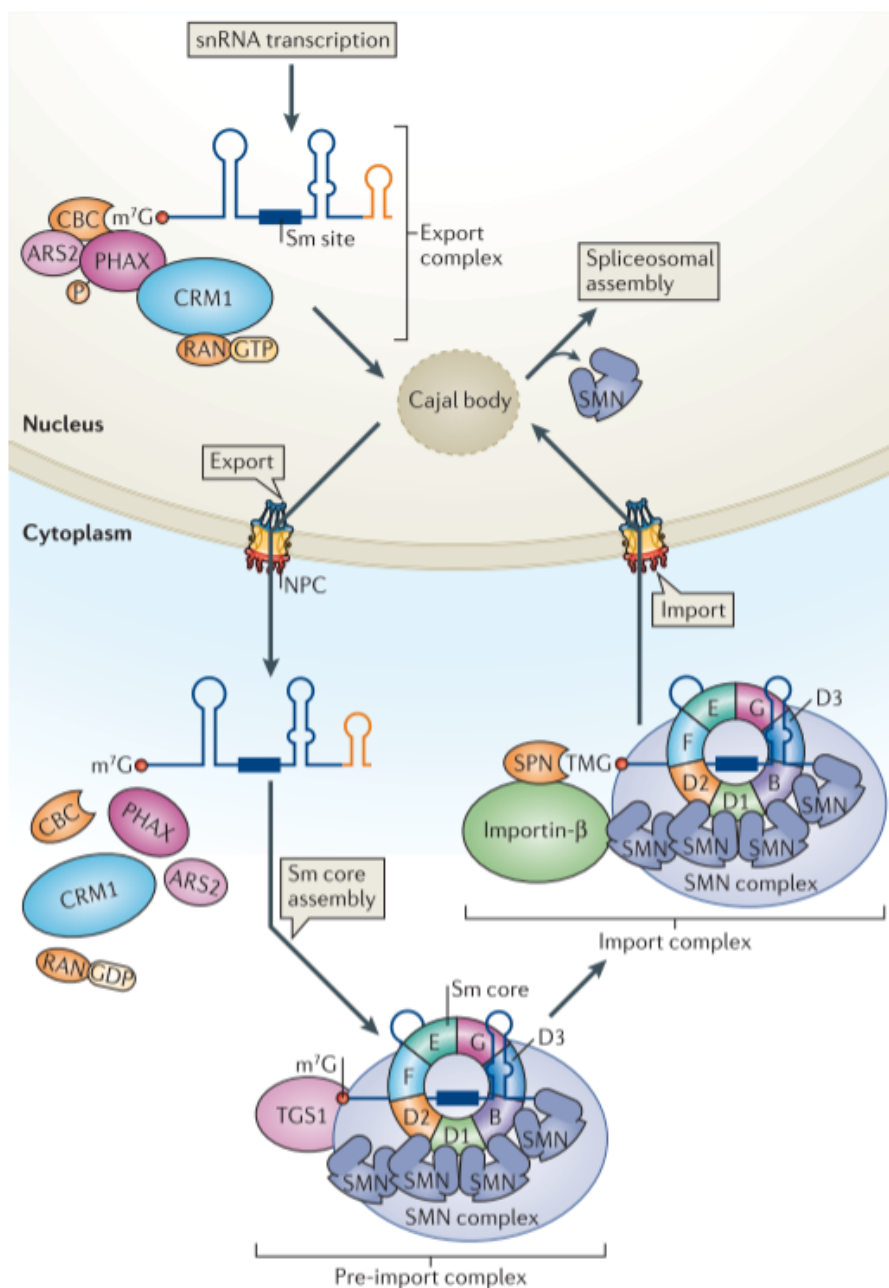
Po transkripci se na snRNA poskládá exportní komplex složený z několika proteinů. Nejprve m^7G čepička na 5' konci umožňuje navázat čepičku vázající komplex (CBC), složený z CBP20 a CBP80 (Izaurralde et al., 1995), a arsenite resistance protein 2 (ARS2), za vzniku komplexu CBC-ARS2 (Hallais et al., 2013). V této fázi dochází také ke zpracování 3' konce snRNA, které je úzce spjato s transkripcí a závisí na 3' boxu, který se nachází 9-19 nukleotidů za 3' koncem (Hernandez, 1985). Nejprve dochází k endonukleolytickému štěpení Integrátorem před 3' boxem, po kterém zde zůstává ocásek složený jen z několika málo nukleotidů, který vyžaduje další zkrácení. Štěpení je spojeno se správným ukončením transkripce prostřednictvím komplexu CBC-ARS2 (Andersen et al., 2013; Hallais et al., 2013).

CBC-ARS2 komplex rekrutuje hyperfosforylovaný adaptor pro export RNA (PHAX) (Ohno et al., 2000), který je následně rozpoznán exportním receptorem chromosome region maintrance 1 (Exportin1) (Fornerod et al., 1997). Exportin1 se váže na Ran GTPázu, díky čemuž dochází k vytvoření exportního komplexu snRNA, který transportuje snRNA přes jaderné póry. Ke skládání exportního komplexu dochází pravděpodobně v Cajalových tělískách (CB), o kterých se více rozeptší později v této kapitole (Darzacq et al., 2002; Sleeman et al., 1999; Suzuki et al., 2010). Po translokaci do cytoplazmy podléhá nukleotid GTP, vázaný na Ran GTPázu, hydrolyze na GDP. Tato hydrolyza je stimulována RanGAP1 a dochází tím k snížení její afinity k Exportinu1. Po defosforylaci PHAX se exportní komplex disociuje a snRNA je uvolněna do cytoplasmy (Ohno et al., 2000).

Disociace exportního komplexu na snRNA v cytoplasmě zahajuje fázi zrání na funkční snRNP. Jedním z kritických kroků zrání je tvorba Sm core domény. Tento krok představuje klíčovou událost ve fázi cytoplazmatického zrání všech UsnRNP, protože spojuje modifikaci snRNA s následným jaderným cílením (Bringmann et al., 1986; Hermann et al., 1995). Tvorba Sm core domény je zprostředkovávána komplexní sítí faktorů, které jsou spojeny v komplexu protein arginin metyltransferázy 5 (PRMT5) a dále SMN komplexem (Liu et al., 1997; Meister et al., 2002).

Studie *in vitro* odhalily, že k sestavení Sm core domény může dojít spontánně po spojení izolovaných proteinů Sm s UsnRNA za vhodných podmínek. Za nepřítomnosti UsnRNA tvoří proteiny Sm specifické heterooligomery složené ze SmB-SmD3, SmD1-SmD2 a SmE-SmF-SmG. Při dvoufázovém sestavování se dimer SmD1-SmD2 a trimer SmE-SmF-SmG naváží na místo Sm snRNA a vytvoří stabilní subjádrovou doménu, která je ve druhé fázi přeměněna na zralé jádro přidáním dimeru SmB-SmD3 (Raker et al., 1996).

Po sestavení Sm core se rekrutuje RNA metyltransferáza zvaná trimetylguanosin syntáza (TGS1), načež je 5' čepička hypermetylována za vzniku $m_3^{2,2,7}G$ čepičky (Bordonné, 2000; Mattaj, 1986; Plessel et al., 1994). Po sestavení snRNP dochází k jejich importu zpět do jádra, čehož se účastní specifické snRNP importní faktory (Fornerod et al., 1997; Görlich et al., 1997). Jaderný transport snRNP zahrnuje použití bipartitního jaderného lokalizačního signálu (NLS), který se skládá z $m_3^{2,2,7}G$ čepičky a Sm core domény (Fischer et al., 1990; Hamm et al., 1990). *In vitro* jsou tyto NLS cesty nezávislé, využívají diskrétní importní adaptéry, ale sdílejí společný importní receptor, importin β (Palacios et al., 1997). *In vivo* situace pravděpodobně zahrnuje synergické využití obou cest. V obou případech se ale adaptér pro $m_3^{2,2,7}G$ čepičku nazývá snurportin1 (SPN1), tento protein se váže přímo na $m_3^{2,2,7}G$ čepičku a významně zlepšuje kinetiku importu snRNP (Huber et al., 1998, Huber et al., 2002). Adaptér pro Sm kruh není znám, nicméně některé práce naznačují, že SMN komplex funguje jako adaptér mezi Sm kruhem a importinem β (Narayanan et al., 2002).



Obr.2.: Biogeneze snRNP vyžadující jaderné a cytoplazmatické regulační kroky. Převzato od Matera et al., 2014

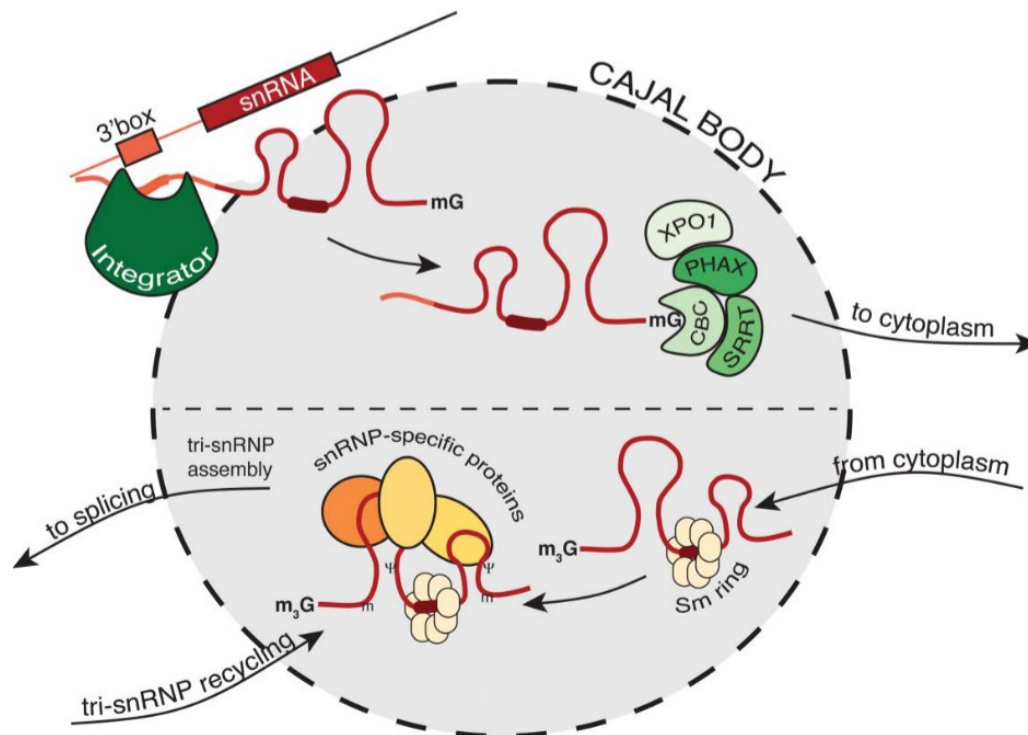
Po importu snRNP částic do jádra dochází k jejich hromadění v CB (Sleeman et al., 1999). Jedná se o velice konzervované, nemembránové, jaderné kompartmenty (Cajal, 1903; Gall, 2000), jejichž esenciálním scaffold proteinem je tzv. coilin (Raška et al., 1991). Konzervované motivy Sm proteinů v CB pravděpodobně interagují s tímto scaffold proteinem (Xu et al., 2005). CB pravděpodobně již v úvodu biogeneze snRNP částic regulují transkripci snRNA prostřednictvím mechanismu regulační zpětné vazby, kdy „vycítí“ množství celkových snRNA a podle toho regulují transkripci snRNA blízkých genů (Matera, 1998). V CB dochází

za pomoci exonukleázy TOE1 nejen k finálnímu zkrácení 3' konce za vzniku zralé formy snRNA, ale také k částečnému zkrácení 3' konců pre-snRNA po jejich transkripci, proteinem Integrator (Ma et al., 2023; Vegvar et al., 1990). Po částečném zkrácení 3' konce dochází k exportu snRNA do cytoplasmy za pomoci již zmíněného exportního komplexu, jehož proteiny Exportin1 a PHAX se taktéž vyskytují v CB (Boulon et al., 2004).

Kromě zkrácení 3' konců snRNA dochází v CB také k posttranslačním modifikacím, jde o metylaci 2'-O-ribózy a izomerizaci uridinů na pseudouridiny. Takto modifikované nukleotidy jsou selektovány krátkými nekódujícími RNA (scaRNA), které jsou specificky lokalizovány v CB (Jady et al., 2003).

Jeden z posledních kroků biogeneze snRNP je přidání snRNP-specifických proteinů. Několik výzkumů naznačilo, že k připojení těchto specifických proteinů dochází až po importu snRNP zpět do jádra, konkrétně v CB. Důkazy prokázaly, že U1 a U2 snRNP-specifické proteiny jsou do jádra importovány nezávisle na snRNA (Kambach et al., 1994; Romac et al., 1994). Podobně se snRNP U4 a U5 dostávají do jádra i po depleci snRNP-specifických proteinů PRPF8 a PRPF31. Také bylo prokázáno, že při připojení snRNP-specifických proteinů napomáhají některé chaperony. Například bylo zjištěno, že při biogenezi U4 snRNP napomáhají a interagují s U4-specifickým PRPF8 NUFIP a chaperonový systém HSP90/R2TP (Bizarro et al., 2015; Klimešová et al., 2021; Malinová et al., 2017). Na sestavování U5 snRNP se u *Drosophila melanogaster* podílí protein ECD, který interaguje s U5 snRNP proteiny (Claudius et al., 2014). U1 specifický SNRNP70 interaguje s SMN komplexem a napomáhá sestavení Sm core domény na U1 snRNA (Stejskalová et al., 2014), což naznačuje, že SNRNP70 interaguje s U1snRNA v cytoplasmě. Biogeneze U2 snRNP probíhá skrze tři různé komplexy: 12S, 15S a 17S. Tyto komplexy zahrnují navázání proteinů SNRNPA1 (U2A) a SNRPB2 (U2B") na U2 snRNA, poté se váže heptamer SF3b a jako poslední se váže trimerní komplex SF3a (Krämer et al., 1999). 17S U2 snRNP se spojuje s dalšími proteiny, včetně SMNDC1 (SPF30), helikázami DHX15 (hPrp43) a DDX46 (hPrp5), a dimerem U2AF (Will et al., 2002). Přidáním snRNP-specifických proteinů dochází k tvorbě sestřihově kompetentních snRNP.

CB se účastní i recyklace snRNP částic a některých přidružených proteinů. Například protein SART3, hojně se hromadí v CB, působí při opětovném sestavování U4/U6·U5 snRNP (Staněk et al., 2003). Protože snRNP opakovaně procházejí CB a snRNP U4/U6·U5 se po inhibici recyklace spliceosomu hromadí v CB, lze předpokládat, že se CB podílejí na opětovném sestavování snRNP po sestřihu (Staněk et al., 2008).



Obr.3.: Cajalovo tělísko se podílí na různých krocích biogeneze snRNP. Integrátor nejprve štěpí 3' konec snRNA. Poté se na konci 5' vytvoří exportní komplex a snRNA je exportována do cytoplazmy. Po sestavení Sm kruhu a hypermetylací čepičky se jádro snRNP vrací do Cajalova tělíska, kde se přidávají proteiny specifické pro snRNP a vytvoří se tri-snRNP U4/U6 U5. Převzato od Staněk, 2017

S CB jsou často spojeny Gemy, jaderné struktury obsahující vysokou koncentraci SMN (Liu et al., 1996). Pozdější studie ukázaly asociaci Gemů s CB v jádrech většiny buněčných linií dospělých tkání, ale ve fetálních tkáních jsou od Gemů CB odděleny (Carvalho et al., 1999; Young et al., 2001). Asociace těchto dvou autonomě nezávislých jaderných kompartmentů naznačuje, že dochází k dynamické interakci jejich marker proteinů. Jednou z možných výhod spojení obou struktur do jedné prostorově se překrývající domény může být to, že koncentrace substrátů (např. snRNP) a enzymů (např. komplexu SMN) zvyšuje účinnost metabolismu RNA. Jednou z možností je, že gemy představují zásobárnu přebytečných jaderných komplexů SMN, které se tvoří v reakci na metylační stav coilinu a/nebo Sm proteinů (Dundr et al., 2004). Jisté ale je, že ztráta gemů koreluje se zvýšenou závažností Spinální svalové atrofie a amyotrofické laterální sklerózy (Kariya et al., 2012; Shan et al., 2010).

Jak již bylo naznačeno výše, U6 a U6atac snRNP podstupují odlišnou cestu biogeneze. U6 snRNA je transkribována RNA pol III a v průběhu zrání zůstává v jádře (Singh et al., 1989). Nové U6 obsahují prodloužený 3' konec z uridinů, který je připojován terminální uridylyl transferázou (TUT) (Lund et al., 1992; Trippe et al., 2006). 3' konec bohatý na uridin je vázán tzv. La proteinem, který chrání RNA před degradací a napomáhá při dalších krocích biogeneze

(Rinke et al., 1985). Stejně jako ostatní snRNA, i U6 snRNA se spojuje s kruhem složeným ze 7 proteinů. Jedná se o proteiny Sm Like 2-8 (LSm2-8), přičemž kruh je složený i z dalších přidatných proteinů. Tento prsteneček je složen bez snRNA v cytoplazmě a díky LSm8 je transportován do jádra, aby mohlo dojít k jeho spojení s U6 snRNA (Achsel et al., 1999). V průběhu zrání se na 3' konci U6 vytvoří cyklický fosfát, který destabilizuje vazbu proteinu La a umožňuje navázání LSm kruhu (Licht et al., 2008), zatímco na 5' konci je vytvořena γ -m- P_3 čepička (Porat et al., 2023; Singh et al., 1989). U6 snRNA je také modifikována pseudouridylací a 2'-O-methylací, což je řízeno malými jadéřkovými RNA (snoRNA) (Ganot et al., 1999; Tycowski et al., 1998). Nakonec je zralá U6 snRNP exportována do CB, stejně jako ostatní snRNP.

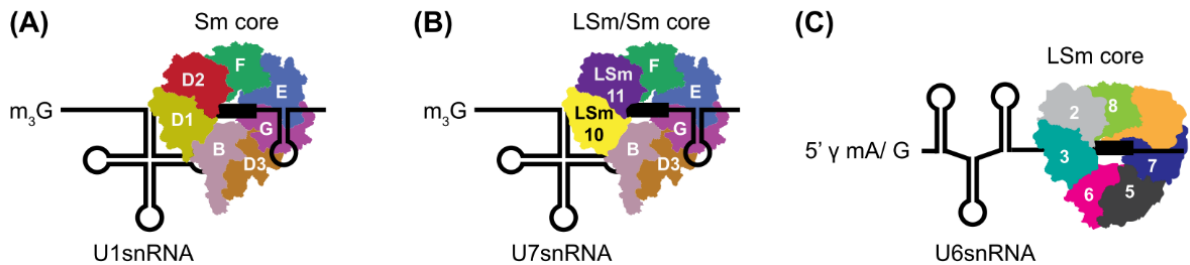
Celá biogeneze snRNP je doprovázena neustálou kontrolou produkce příslušné části RNA a jejich vazebných proteinů, včetně Sm/LSm proteinů. Tato kontrola se zdá být hlavním mechanismem, který zabraňuje potenciálně toxickým poruchám ve spliceosomu, potažmo buňce (Prusty et al., 2017).

2.2. Biogeneze U7 snRNP

Kromě spliceozomálních snRNP je komplex SMN nezbytný pro sestavení U7 snRNP, který má úlohu při zpracování 3' konce histonové mRNA (Strub et al., 1984). Geny pro histony u metazoí, které jsou závislé na replikaci, neobsahují introny a nemají polyadenylované konce (Pandey et al., 1990). Transkripty histonů mají na svém 3' konci vysoce konzervovanou strukturu stem-loop (Busslinger et al., 1979). Jediný 3' konec histonových mRNA vzniká prostřednictvím jediného endonukleolytického štěpení, při kterém dochází k párování bází U7 snRNA s konzervovanou sekvencí v 3' UTR histonových mRNA za místem štěpení (Scharl et al., 1994). Společně s proteinem vázajícím stem-loop, který se váže na horní 3' vlásenkovou strukturu, podporuje nábor U7 snRNP a správné umístění trans-akčních faktorů pro štěpení histonových transkriptů (Wang et al., 1996).

Vývoj U7 snRNP probíhá obdobně jako u spliceozomálního snRNP, nicméně s několika významnými rozdíly. U7 snRNA má mírně odlišné Sm místo ve srovnání s kanonickým Sm místem spliceozomální snRNA a vytváří unikátní heptamerický Sm kruh, obsahující proteiny LSm10 a LSm11 namísto SmD1 a SmD2 (Pillai et al., 2003; Pillai et al., 2001). Přítomnost LSm proteinů specifických pro U7 je klíčová pro správnou funkci U7 snRNP, neboť usnadňují důležité interakce stabilizující U7 na cílových místech histonové mRNA a rekrutují faktory zprostředkovávající štěpení (Schümperli et al., 2004). I přes funkční a kompoziční rozdíly

oproti spliceozomálním snRNP, komplex SMN rovněž umožňuje sestavení LSm/Sm jádra na U7 snRNA (Pillai et al., 2003; Tisdale et al., 2013). Stejně jako u spliceozomálních snRNA probíhá reakce sestavení na pre-snRNA U7 s dodatečnou strukturou stem-loop na 3' konci (Yong et al., 2010).

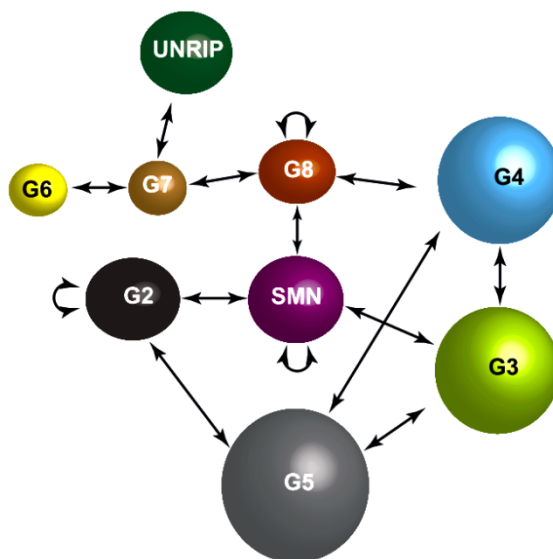


Obr.4.: Změny ve strukturách Sm core domény. (A) Kanonická Sm core doména sestávající z Sm proteinů SmD1/D2/F/E/G/D3/B uspořádaných ve formě prstencové struktury na Sm místě U1snRNA. (B) U7snRNA se skládá z hybridní LSm/Sm core domény, kde jsou pozice Sm D1/D2 nahrazeny LSm10/11. (C) U6snRNA se skládá z LSm core domény, tvořené LSm2-8 uspořádanými ve specifické orientaci. Převzato od Gruss et al., 2017

3. SMN komplex

Makromolekulární SMN komplex je tvořen SMN proteinem společně se sedmi proteiny Gemin2-8 a dále také proteinem zvaným Unrip (Baccon et al., 2002; Carissimi et al., 2005; Carissimi et al., 2006; Charroux et al., 1999, 2000; Gubitza et al., 2002; Liu et al., 1997; Pellizzoni et al., 2002). Gemin proteiny jsou vázány na SMN proteiny a společně jsou lokalizovány jak v cytoplasmě, tak i v jaderných strukturách zvané gemy (Liu and Dreyfuss, 1996), které jsou spojeny s Cajalovými tělísky (CB). Klíčovou vlastností SMN komplexu je jeho schopnost vytvářet částice vyššího řádu o velikosti od 20S do 80S (Battle et al., 2007).

Základ celého komplexu tvoří proteiny SMN a Gemin2. SMN protein interaguje s proteiny Gemin2, Gemin3 a Gemin7, zatímco Gemin5, Gemin4 a Gemin6 jsou ke komplexu připojeny prostřednictvím interakce s Gemin3, respektive Gemin7. Gemin8 váže heterodimer Gemin6-Gemin7 i SMN a zprostředkovává spojení Gemin6 a Gemin7 s dalším proteinem, zvaným Unrip (Carissimi et al., 2006a; Carissimi et al., 2006b; Pánek et al., 2023). Unrip je specificky cytoplasmatickou složkou SMN komplexu, interaguje s Gemin6 a Gemin7, ale společně s komplexem se nevyskytuje Gemin8 ani Cajalových tělískách (Carissimi et al., 2005).



Obr.5.: Znázornění jednotlivých podjednotek komplexu SMN (SMN, Gemin2-8, UNRIP). Převzato od Gruss et al., 2017

Evoluční pohled na SMN komplex naznačuje, že Gemin proteiny interagují v rámci SMN komplexu modulárním způsobem (Battle et al., 2007; Otter et al., 2007). Nejjednodušší SMN komplex se skládá pouze z proteinů SMN a Gemin2 a lze jej najít u jednobuněčných

organismů (Hannus et al., 2000) a u rostlin. Další úroveň je charakterizována výskytem proteinu Gemin3 u *D. discoideum*, čímž předchází vzniku skupin Fungi či Metazoa. Gemin5 je nepřítomný v genomech hub a suchozemských rostlin ale jeho přítomnost u zelené řasy *O. tauri* a u *D. discoideum* naznačuje nezávislou sekundární ztrátu genů hub a rostlin (Kroiss et al., 2008). Tato skutečnost může být způsobena tím, že Gemin5 hraje klíčovou roli v translaci RNA (Guo et al., 2022; Pacheco et al., 2009; Workman et al., 2015) a taktéž Gemin5 interaguje s ribozomy a reguluje translaci buď aktivací, nebo represí za účasti různých domén (Bradrick et al., 2009; Francisco-Velilla et al., 2016). Tyto úlohy proteinu Gemin5 se ve výše zmíněných organismech nezachovaly. Teprve později v evoluci, na úrovni, kdy se vyvinuli první metazoani, byl do souboru rodiny Geminů přidán stavební blok složený z proteinů Gemin6, Gemin7, Gemin8 a Unrip. Od této doby měly organismy potenciál exprimovat komplex SMN podobný svou architekturou tomu lidskému. Jedinou složkou, která v té době nebyla přítomna, byl Gemin4, který se nachází pouze v genomech deuterostomů. Výzkumy tedy naznačují, že komplex SMN se vyvinul blokovým přidáváním jednotlivých proteinů komplexu k prastarému jádru, složeného z proteinu SMN a Gemin2 (Kroiss et al., 2008).

38 kDa velký SMN protein je evolučně konzervovaný, obsahuje 294 aminokyselin, je exprimován ve všech typech buněk metazoi a je lokalizován v jádře i cytoplasmě (Liu and Dreyfuss, 1996). SMN protein v buňkách neexistuje samostatně, ale je součástí rozsáhlého bílkovinného SMN komplexu, v rámci kterého vykonává své zásadní funkce (Lefebvre et al., 1995). Gen kódující tento protein byl objeven v polovině 90. let 20. století, díky pátrání po genu, který je zodpovědný za Spinální svalovou atrofii (SMA). Jsou jimi telomerická (SMN1) a centromerická (SMN2) varianta genu SMN na chromozomu 5q13 (Lefebvre et al., 1995). Ukázalo se, že SMN protein je esenciální pro všechny typy buněk, jeho kompletní knockout je embrionálně letální (Schrank et al., 1997).

SMN protein ve své plné délce obsahuje vysoce konzervované funkční domény, které jsou velmi důležité pro jeho stabilitu a také funkce. Pro stabilizaci samoooligomerizace a tvorbu komplexu je důležitý interakční motiv pro vazbu na Gemin2, který se nachází na N-konci SMN (Zhang et al., 2011). Ve svém středu obsahuje Tudor doménu, která se podílí na interakci s dimetylovanými proteiny, včetně Sm proteinů (Buhler et al., 1999). Na C-konci SMN se nachází takzvaný YG box, který je nezbytný pro jeho samoooligomerizaci a pro interakci s jinými Gemin proteiny (Lorson et al., 1998; Pellizzoni et al., 1999).

Jednotka Gemin2 má dlouhou N-koncovou doménu, která se váže na pět Sm proteinů, které jsou předem uspořádané v komplexu 6S (Grimm et al., 2013; Zhang et al., 2011). Gemin3 je předpokládána RNA helikáza, jejíž stále nevysvětlená funkce může vysvětlovat závislost

montážního aparátu na ATP v buněčných extraktech (Charroux et al., 1999; Meister et al., 2001). Nedávná práce ukázala na nezbytnou úlohu Gemin3 při rozplétání primárních pre-snRNA transkriptů a rozvolnění Sm místa pro vazbu Sm proteinů (Pánek et al., 2023). Taktéž bylo prokázáno, že kromě proteinu Gemin2 jsou i Gemin3 a Gemin4 esenciální pro sestavení Sm core domény (Shpargel et al., 2005). Gemin5 specificky rozpoznává UsnRNA a Sm místo a pravděpodobně tedy funguje jako jednotka pro rekrutování RNA (Lau et al., 2009; Xu et al., 2016). Gemin6 a Gemin7 obsahují tzv. Sm fold, což naznačuje jejich interakci s Sm proteiny a tím pádem rovněž zapojení do biogeneze snRNP (Ma et al., 2005).

Nejlépe popsanou funkcí SMN komplexu je shromažďování malých jaderných ribonukleoproteinů (snRNP) hlavního a vedlejšího spliceosomu (Chen et al., 2014). Dále je SMN komplex nutný při sestavě core domény zahrnující Sm a LSm (LSm10 a LSm11) proteiny (Pillai et al., 2003). SMN komplex reguluje celou cytoplazmatickou fázi cyklu snRNP, nejen sestavení Sm core domény, ale i tvorbu $m_3^{2,2,7}G$ čepičky a vazbu snurportinu-1 na strukturu $m_3^{2,2,7}G$ čepičky. (Massenet et al., 2002; Mattaj, 1986; Narayanan et al., 2002)

Kromě své úlohy v biogenezi snRNP byla zaznamenána účast SMN v řadě dalších procesů v rámci metabolismu RNA. Například byly zdokumentovány interakce SMN s několika RNA binding proteiny (RBP), které se podílejí na sestřihu, transportu, stabilitě a translaci mRNA (Donlin-Asp et al., 2016; Li et al., 2014). Skutečnost, že SMN interaguje s několika RBP, které se nepodílejí na biogenezi snRNP, v kombinaci s pozorováním, že SMN se může lokalizovat do mobilních granulí v axonech, naznačila roli SMN v metabolismu axonální mRNA (Donlin-Asp et al., 2016).

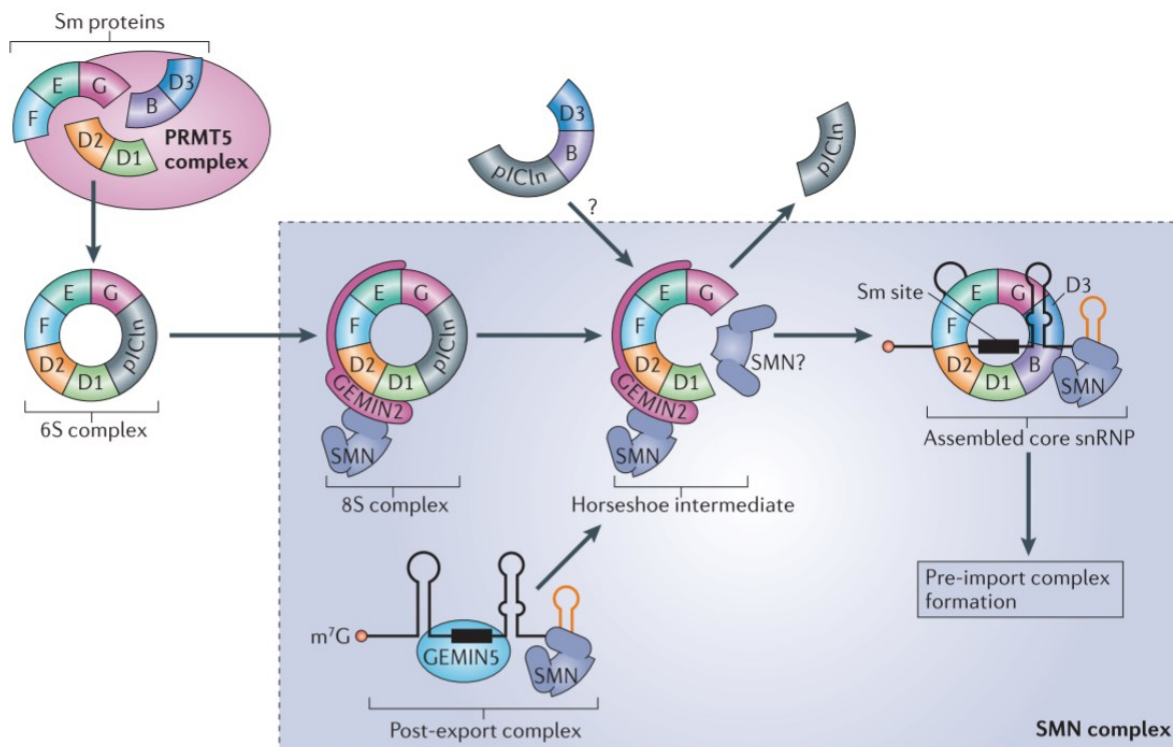
3.1. SMN komplex v biogenezi snRNP

Nejdůležitější funkcí SMN komplexu je jeho role v sestavě Sm core domény. SMN komplex spojuje nově exportované snRNA se sadou sedmi Sm proteinů (SNRPB/SmB/B', SNRPD1/SmD1, SNRPD2/SmD2, SNRPD3/SmD3, SNRPE/SmE, SNRPF/SmF a SNRPG/SmG), čímž vytváří sedmičlenný kruh kolem tzv. Sm vazebného místa, konzervované oblasti bohaté na uridin, přítomné v každé snRNA třídy Sm (Meister et al., 2001). Sm proteiny jsou dodávány do SMN komplexu prostřednictvím komplexu PRMT5 (Friesen et al., 2001). Protein SMN se nachází v centru SMN komplexu a zprostředkovává přímou vazbu s metylovanými zbytky PRMT5 (Friesen et al., 2001), čímž se do blízkosti proteinů Sm dostává více složek komplexu SMN. Interakci SMN komplexu s Sm proteiny napomáhá protein Gemin5, faktor který je zodpovědný za rozpoznání snRNA třídy Sm, m^7G čepičku a Sm místa

(Lau et al., 2009; Xu et al., 2016). Gemin2 se váže a stabilizuje pentamer SmD1/D2/E/F/G, přičemž navazuje rozsáhlé kontakty se všemi pěti podjednotkami. Taktéž bylo prokázáno, že pro stavbu Sm core domény je důležitý protein Gemin3, který se spojuje s faktory důležitými pro biogenezi snRNP (Borg et al., 2016). Dle nedávných studií je navrženou funkcí proteinu Gemin3 působení na vnitřní duplexy struktury blízké Sm místa a otevírá ji, čímž umožňuje vazbu Sm proteinů (Pánek et al., 2023). Proces sestavování je ukončen uzavřením kruhu po náboru symetricky dimethylovaného heterodimeru SmB/D3 (Grimm et al., 2013; Zhang et al., 2011).

Po vytvoření Sm core domény SMN komplex nedisociuje od RNA, což dokazuje fakt, že SMN rekrutuje TGS1 do komplexu (Mouaikel et al., 2003). Taktéž bylo prokázáno, že SMN komplex interaguje s Sm core doménou a importinem β a že SMN, SPN1 a importin β se nacházejí v předimportním komplexu, což naznačuje, že SMN funguje jako most mezi Sm core doménou a importním mechanismem (Narayanan, 2002).

SMN komplex se také účastní posledního kroku biogeneze snRNP částic, tedy připojení snRNP specifických proteinů. Konkrétně interaguje s U1 specifickým SNRNP70, který v cytoplasmě napomáhá sestavě Sm core domény na U1snRNA (So et al., 2016). SMN je, jak již bylo zmíněno výše, bohatě obsažen v Gemech, kde se taktéž vyskytuje U1snRNA i SNRNP70 (So et al., 2016; Stejskalová et al., 2014). SNRNP70 interaguje s komplexem SMN i v jádře buňky, což naznačuje, že jaderný SMN má úlohu při zrání a/nebo recyklaci U1 snRNP (Stejskalová et al., 2014; Yu et al., 2015).



Obr.6.: Asistované sestavování snRNP třídy Sm. Celý proces sestavování jádra Sm a tvorby předimportního komplexu probíhá v rámci komplexu SMN (fialový obdélník). Převzato od Matera et al., 2014

Kromě spliceozomálních snRNP, komplex SMN rovněž umožňuje sestavení LSm/Sm jádra na U7 snRNA (Pillai et al., 2003; Tisdale et al., 2013). Byl identifikován speciální komplex SMN specializovaný na sestavení U7 snRNP, který kromě proteinů SmB/D3/E/F/G interaguje i s LSm10 a LSm11 (Pillai et al., 2003). Bylo prokázáno, že existují různé komplexy SMN, které jsou spojeny s proteiny Sm nebo LSm/Sm pro sestavení spliceozomálních snRNP a U7 snRNP, nicméně není zřejmé, jak tyto individuální komplexy selektivně interagují s odpovídajícími snRNA. Nepřesná asociace by pravděpodobně mohla mít negativní funkční důsledky. K podpoře tohoto tvrzení a zdůraznění kritické otázky specifčnosti při sestavování snRNP dochází k přeměně unikátního Sm místa U7 snRNA na konsenzuální sekvenci Sm místa spliceozomálních snRNA, což vede k vytvoření U7 snRNP s kanonickou spliceozomální Sm core doménou. Tento komplex se často hromadí v jádře, avšak není funkční při zpracování histonové mRNA (Pillai et al., 2003; Tisdale et al., 2013). Ačkoli komplex SMN identifikuje spliceozomální snRNA prostřednictvím Gemin5, nebyla zaznamenána jeho přímá interakce s U7 snRNA (Battle et al., 2006). Nedostatek SMN způsobuje hromadění pre-snRNA U7, snížení hladiny U7 snRNP a narušení zpracování 3'-konce histonové mRNA (Tisdale et al., 2013).

Jak již bylo zmíněno, SMN komplex se vyskytuje v Gemech a CB, které hrají velkou roli v biogenezi snRNP částic. Důležité je, že metylace Coilinu reguluje jeho interakci s SMN a asociaci Gemů s CB (Hebert et al., 2002).

3.1.1. Komplex PRMT5

Počáteční fáze biogeneze snRNP se účastní spolu s SMN komplexem také faktory sdružené v komplexu PRMT5 (Liu et al., 1997; Meister et al., 2002). Tento komplex je složen ze tří hlavních složek, jednotky PRMT5, která udává jméno celého komplexu, dále proteinu WD-repeat (WD45) a pICln. Biochemické i strukturní studie ukazují, že PRMT5 a WD45 existují jako stabilní komplex čtyř heterodimerů, který rekrutuje čtyři molekuly pICln prostřednictvím přímé interakce s PRMT5 (Antonysamy et al., 2012).

Interakce PRMT5 a multiproteinových komplexů SMN při sestavování snRNP je přísně regulovaný proces a tento komplex zde má zásadní úlohu. Komplex PRMT5 v biogenezi snRNP působí jako metyltransferáza typu II a katalyzuje místně specifickou modifikaci C-koncových argininových zbytků SmB/B', SmD1 a SmD3 na symetrický dimetylarginin, čímž zvyšuje jejich afinitu k SMN (Friesen et al., 2001). pICln hraje v biogenezi klíčovou roli: na jedné straně rekrutuje proteiny Sm jako substráty pro PRMT5 a na druhé straně funguje také jako sestavovací chaperon tím, že vytváří stabilní prstencovitý meziprodukt bez RNA s proteiny Sm D1, D2, E, F a G. Tato struktura se dle svých sedimentačních vlastností nazývá komplex 6 S (Chari et al., 2008; Fisher et al., 1985; Pillai et al., 2003). Aby se vytvořil funkční snRNP, musí být pICln uvolněn z této mezistruktury 6S kruhu a musí být nahrazen dvěma chybějícími Sm proteiny B a D3. Tento mechanismus zprostředkovává komplex SMN, působící jako katalyzátor tvorby snRNP tím, že uvolňuje proteiny Sm v komplexu 6S (Fisher et al., 1985) z kinetické pasti vytvořené pICln a přenáší proteiny Sm na snRNA (Chari et al., 2008). Zásadní úlohu tohoto kroku má Gemin2, na jehož N-koncovou doménu se váží Sm proteiny D1, D2, E, F a G (Grimm et al., 2013; Zhang et al., 2011). Fosforylaci specifických C-koncových serinových zbytků pICln katalyzuje autofagii aktivující Ser/Thr Unc-51-like kináza, která taktéž po fosforylaci zprostředkovává uvolnění Sm proteinů na SMN komplex (Schmitz et al., 2021).

3.2. SMN a jeho funkce v jádře

Jedním z hlavních úkolů komplexu SMN je zprostředkovat sestavení UsnRNP třídy Sm a jejich následný import do jádra. Tento proces se odehrává v cytoplazmě, což vysvětluje

přítomnost SMN v tomto kompartmentu. Avšak, od doby svého objevení je známo, že SMN a mnoho dalších proteinů interagujících s komplexem SMN se nachází i v jádře. Kromě proteinu Unrip, nacházejícího se pouze v cytoplasmě, je složení proteinů komplexu SMN izolovaných buď z cytosolu nebo z jádra velmi podobné, ale jejich modifikační stav se zdá být značně odlišný. SMN, pravděpodobně ve spojení se svým komplexem, se soustřeďuje v jádře v CB (Liu et al., 1996), která hrají klíčovou roli při zrání UsnRNP tím, že poskytují místo pro specifické proteiny UsnRNP a modifikaci UsnRNA (Sleeman et al., 1999). Bylo prokázáno, že SMN interaguje s Coilinem (Hebert et al., 2001), hlavním proteinem v CB, a je klíčovým faktorem určujícím počet a integritu těchto jaderných tělísek (Girard et al., 2006; Lemm et al., 2006).

Rolí SMN v jádře může být několik. Je možné, že SMN komplex je po společném importu s UsnRNP do jádra znovu exportován do cytoplazmy, což může zahrnovat přechodnou interakci s CB. Ve prospěch této myšlenky bylo prokázáno, že inhibice importu UsnRNP vede k úbytku komplexu SMN z jádra (Takata et al., 2012).

SMN komplex, nebo jeho části, mohou zprostředkovávat funkce specifické pro jádro. Například mezi ně patří role při tvorbě spliceosomu (Makarov et al., 2012), transkripci poII (Pellizzoni et al., 2001; Zhao et al., 2016) a také při sestavování dalších RNP, včetně mRNP a telomerázové RNP (Bachand et al., 2002; Liu et al., 1996; Pellizzoni et al., 2001; Rossoll et al., 2002). Nedávná studie ukázala, že komplex SMN lokalizovaný v CB může hrát roli při přidávání specifických proteinů do pre-U4snRNP (Bizarro et al., 2015).

Další hypotézou je, že se SMN komplex podílí na obměně defektních nebo nadbytečných UsnRNP v jádře. Tuto hypotézu umocňuje fakt, že vysoké koncentrace SMN komplexu mohou *in vitro* zvrátit sestavování Sm core (Chari et al., 2008). Toto předpovídá, že snížené množství SMN komplexu, jak je pozorováno u nervového onemocnění (SMA), způsobuje nejen sníženou produkci snRNP (Winkler et al., 2005), ale také může vést ke snížené obměně nebo akumulaci nadbytečných nebo defektních částic (Prusty et al., 2017).

Vzhledem k tomu, že SMN doprovází nově sestavené cytoplazmatické UsnRNP do jádra (Narayanan et al., 2004), mohou buněčné mechanismy zajišťovat zpětný transport komplexu SMN do cytoplazmy a také komunikaci mezi jádrem a cytoplazmou o aktuální úrovni aktivity komplexu SMN v obou kompartmentech. Lze předpokládat, že existují regulační signály, které zajišťují rovnováhu montážního aparátu v obou kompartmentech, a tyto signály mohou být zprostředkovány pomocí posttranslačních modifikací.

3.2.1. Regulace transkripce

Jednou z dalších možných rolí SMN je i terminace poII. SMN se váže na symetrickou dimethylaci argininu 1810 (R1810me2s) C-koncové domény (CTD) RNA poII (Zhao et al., 2016). Asymetrická dimethylace tohoto zbytku vede ke snížené expresi snRNA a snoRNA (Sims et al., 2011).

Vazba SMN na R1810me2s stabilizuje interakci s CTD a dalším proteinem zvaným senataxin (SETX). SETX je RNA/DNA helikáza, která je zodpovědná za rozvíjení R-smyček kolem transkripčních terminačních míst (Suraweera et al., 2009). Toto rozvíjení umožňuje interakci 5'–3' exonukleázy XRN2, která ukončuje transkripci. Mutace argininu na alanin v této oblasti a knockdown SMN způsobují akumulaci RNA poII v terminačních oblastech aktivních genů v celém genomu. CRISPR knockout SMN vede ke zvýšení počtu R-smyček v terminačních oblastech a v těchto místech se hromadí γ -H2AX, marker poškození DNA (Skourti-Stathaki et al., 2011).

Bylo prokázáno, že R-smyčky stabilizují i destabilizují genom v závislosti na kontextu (Huertas et al., 2003; Santos-Pereira et al., 2015). Vlastnosti a mechanismy, které určují, zda je R-smyčka pro genom prospěšná, nebo škodlivá, nejsou známy. SMN ale může k tomuto určení přispívat prostřednictvím své interakce se SETX.

Pokud SMN skutečně ovlivňuje terminaci RNA poII prostřednictvím interakce se senataxinem, je možné, že se jeho strukturální a transkripční funkce shodují se sousedním CB.

4. Spinální svalová atrofie

SMA je neurodegenerativní lidské onemocnění a je jednou z nejčastějších genetických příčin dětské úmrtnosti (Carter, 1977; Pearn, 1973). Jedná se o autozomálně recesivní onemocnění charakterizované degenerací alfa motorických neuronů v míše, které vede k progresivní svalové slabosti a paralýze (Pearn, 1978). Je nejčastěji způsobena mutacemi v genu SMN na chromozomu 5q13. Gen SMN existuje ve formě dvou homologů – telomerického genu SMN1 a centromerického genu SMN2. Oba tyto geny jsou vysoce homologické a kódují SMN protein. Ve většině případů SMA jsou pacienti nositeli homozygotní delece exonu 7 genu SMN1. Gen SMN2 se také vyskytuje na chromozomu 5q13 a ačkoli SMN1 i SMN2 potenciálně kódují identické proteiny, tak SMN2 je pouze částečně funkční (Lefebvre et al., 1995). Mezi SMN1 a SMN2 je totiž nukleotidový rozdíl C→T na pozici 6 exonu 7, což má za následek velmi neefektivní začlenění exonu 7 do mRNA SMN2 u všech typů buněk (Lorson et al., 1999; Monani et al., 1999). Díky tomu dochází k produkci zkráceného nefunkčního SMN proteinu, známého též jako SMN Δ 7 (Cartegni et al., 2002). Cca 20 % genu SMN2 si ale zachovává exon 7, tím vzniká SMN protein plné délky, čímž pouze částečně nahrazuje zastavenou produkci SMN proteinu zmutovaným genem SMN1 (Lefebvre et al., 1997). Ztráta funkce SMN1 je při absenci SMN2 letální (Schrack et al., 1997). Počet kopií SMN2 je v lidském genomu variabilní a jedná se o hlavní faktor určující závažnost fenotypu SMA (Burghes, 1997; Feldkötter et al., 2002). Stále více důkazů spojuje funkci SMN komplexu v biogenezi snRNP s etiologií SMA (Chari et al., 2009; Li et al., 2014). Defekty v sestavování snRNP korelují se závažností onemocnění a vedou ke snížení hladin snRNP (Gabanella et al., 2007).

Oficiálně prvním lékem na SMA je lék zvaný Spinraza. Jedná se o antisens oligonukleotidy, které zvyšují množství proteinu SMN plné délky překládaného z genu SMN2 podporou retence exonu 7. Tímto Spinraza blokuje vazbu heterogenních jaderných ribonukleoproteinů a zabraňuje sestavení spliceosomu, což má za následek zachování exonu 7 a expresi proteinu SMN v plné délce (Hua et al., 2008; Porensky et al., 2012).

SMA byla oficiálně klasifikována na čtyři základní typy na základě úrovně maxima motorické funkce a věku nástupu onemocnění (Emery, 1971). Nejčastější klinickou formou SMA je akutní infantilní forma, SMA typu 1, neboli Werdnig-Hoffmanova nemoc (Pearn, 1978). Naopak nejlehčí formou je SMA typu 4, kde zůstává délka života jedince nezměněna, stejně jako u SMA typu 3, neboli Kugelberg-Welander SMA, u které je ale fenotyp o něco závažnější. Pacienti s 2. typem SMA mají sníženou délku dožití většinou až do čtvrté dekády

věku (Piepers et al., 2008; Zerres et al., 1995). Poslední formou je SMA typu 0 s obtížemi prenatálního původu, je zde snižená naděje na dožití, většina z pacientů není schopna dožítí více než 6 měsíců (Dubowitz, 1999; Macleod et al., 1999).

5. Závěr

SMN komplex je nepostradatelnou složkou buněk všech metazoi, jehož absence je pro každou buňku letální. Má spousty důležitých funkcí a tou nejvíce prozkoumanou je jeho role v biogenezi snRNP částic. Společně s proteinovým komplexem PRMT5 zprostředkovává vznik sedmičlenného kruhu (core domény) z Sm proteinů. Na tomto kroku se podílí většina proteinů obsažená v SMN komplexu. Nejprozkoumanější role má protein Gemin5 funguje jakožto faktor, který je schopný rozpoznávat snRNA a Sm místo, dále Gemin2, který funguje jako stabilizátor pentameru SmD1/D2/E/F/G a SMN protein, který taktéž interaguje s Sm proteiny. Krom těchto proteinů je taktéž prokázána důležitá role proteinů Gemin3, Gemin4, Gemin6 a Gemin7. V rámci biogeneze U7 snRNP, která se nepodílí na sestřihu RNA, nýbrž na zpracování 3' koncové mRNA, se SMN komplex taktéž účastní sestavení specifické LSm/Sm core domény na U7 snRNA. V tomto případě bylo ale prokázáno, že existují různé modifikace SMN komplexů, které se podílejí na sestavě spliceosomálních snRNP a U7 snRNP.

Dalším krokem biogeneze, kterého se pravděpodobně účastní SMN komplex je hypermetylace za vzniku $m_3^{2,2,7}G$ čepičky, kde SMN rekrutuje do komplexu RNA metyltransferázu TGS1. Taktéž se SMN nachází společně s SPN1 a importinem β v předimportním komplexu, což naznačuje jeho zapojení v importu Sm core domény do jádra buňky. Všechny tyto mechanismy se odehrávají v cytoplasmě buňky, ale bylo prokázáno, že SMN komplex se vyskytuje taktéž v buněčném jádře, a to především v CB a Gemech.

Funkcí, které SMN komplex zastává v jádře, je popsáno několik. SMN komplex je zapojen do sestavení spliceosomu, proteinového komplexu, který zprostředkovává RNA jaderný sestřih a taktéž se podílí na sestavě dalších RNP. V CB se SMN komplex váže na C-koncovou doménu RNA poII, čímž dochází k její terminaci a snížení exprese snRNA a snoRNA. SMN komplex se hypoteticky podílí na obměně defektních a vyčleňování přebytečných snRNP, protože vysoké koncentrace SMN komplexu mohou zastavit sestavování Sm core domény. Oproti tomu nízká koncentrace SMN v jádře způsobuje sníženou produkci snRNP. Nedostatek SMN proteinu může být způsoben například mutacemi v genu SMN, což je jedna z hlavních příčin neurodegenerativního onemocnění Spinální svalové atrofie.

Přesto, že bylo popsáno několik funkcí SMN komplexu, některé z nich ještě nejsou zcela odhaleny. K odhalení mechanismů nových a přesnému působení stávajících funkcí bude za potřebí dalšího zkoumání. Na úplné odhalení také stále čekají přesné funkce některých částic toho komplexu.

Reference

- Achsel, T., Brahms, H., Kastner, B., Bachi, A., Wilm, M., & Lührmann, R. (1999). A doughnut-shaped heteromer of human Sm-like proteins binds to the 3'-end of U6 snRNA, thereby facilitating U4/U6 duplex formation in vitro. *The EMBO Journal*, *18*(20), 5789–5802. doi: 10.1093/emboj/18.20.5789
- Andersen, P. R., Domanski, M., Kristiansen, M. S., Storvall, H., Ntini, E., Verheggen, C., Schein, A., Bunkenborg, J., Poser, I., Hallais, M., Sandberg, R., Hyman, A., LaCava, J., Rout, M. P., Andersen, J. S., Bertrand, E., & Jensen, T. H. (2013). The human cap-binding complex is functionally connected to the nuclear RNA exosome. *Nature Structural & Molecular Biology*, *20*(12), 1367–1376. doi: 10.1038/nsmb.2703
- Antonysamy, S., Bonday, Z., Campbell, R. M., Doyle, B., Druzina, Z., Gheyi, T., Han, B., Jungheim, L. N., Qian, Y., Rauch, C., Russell, M., Sauder, J. M., Wasserman, S. R., Weichert, K., Willard, F. S., Zhang, A., & Emtage, S. (2012). Crystal structure of the human PRMT5:MEP50 complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *109*(44), 17960–17965. doi: 10.1073/pnas.1209814109
- Baccon, J., Pellizzoni, L., Rappsilber, J., Mann, M., & Dreyfuss, G. (2002). Identification and Characterization of Gemin7, a novel component of the survival of motor neuron complex. *Journal of Biological Chemistry*, *277*(35), 31957–31962. doi: 10.1074/jbc.M203478200
- Bachand, F., Boisvert, F.-M., Côté, J., Richard, S., & Autexier, C. (2002). The Product of the *Survival of Motor Neuron (SMN)* Gene is a human telomerase-associated protein. *Molecular Biology of the Cell*, *13*(9), 3192–3202. doi: 10.1091/mbc.e02-04-0216
- Baillat, D., Hakimi, M.-A., Näär, A. M., Shilatifard, A., Cooch, N., & Shiekhattar, R. (2005). Integrator, a multiprotein mediator of small nuclear RNA processing, associates with the C-terminal repeat of RNA Polymerase II. *Cell*, *123*(2), 265–276. doi: 10.1016/j.cell.2005.08.019
- Battle, D. J., Kasim, M., Wang, J., & Dreyfuss, G. (2007). SMN-independent subunits of the SMN complex. *Journal of Biological Chemistry*, *282*(38), 27953–27959. doi: 10.1074/jbc.M702317200
- Battle, D. J., Lau, C.-K., Wan, L., Deng, H., Lotti, F., & Dreyfuss, G. (2006). The Gemin5 protein of the SMN complex identifies snRNAs. *Molecular Cell*, *23*(2), 273–279. doi: 10.1016/j.molcel.2006.05.036
- Bizarro, J., Dodré, M., Huttin, A., Charpentier, B., Schlotter, F., Branlant, C., Verheggen, C., Massenet, S., & Bertrand, E. (2015). NUFIP and the HSP90/R2TP chaperone bind the SMN complex and facilitate assembly of U4-specific proteins. *Nucleic Acids Research*, *43*(18), 8973–8989. doi: 10.1093/nar/gkv809
- Black, D. L., & Pinto, A. L. (1989). U5 small nuclear ribonucleoprotein: RNA structure analysis and ATP-dependent interaction with U4/U6. *Molecular and Cellular Biology*, *9*(8), 3350–3359. doi: 10.1128/mcb.9.8.3350-3359.1989
- Bordonné, R. (2000). Functional characterization of nuclear localization signals in yeast Sm proteins. *Molecular and Cellular Biology*, *20*(21), 7943–7954. doi: 10.1128/MCB.20.21.7943-7954.2000
- Borg, R. M., Fenech Salerno, B., Vassallo, N., Bordonne, R., & Cauchi, R. J. (2016). Disruption of snRNP biogenesis factors Tgs1 and pICln induces phenotypes that mirror aspects of SMN-Gemins

- complex perturbation in *Drosophila*, providing new insights into spinal muscular atrophy. *Neurobiology of Disease*, 94, 245–258. doi: 10.1016/j.nbd.2016.06.015
- Boulon, S., Verheggen, C., Jady, B. E., Girard, C., Pescia, C., Paul, C., Ospina, J. K., Kiss, T., Matera, A. G., Bordonné, R., & Bertrand, E. (2004). PHAX and CRM1 are required sequentially to transport U3 snoRNA to nucleoli. *Molecular Cell*, 16(5), 777–787. doi: 10.1016/j.molcel.2004.11.013
- Branlant, C., Krol, A., Ebel, J. P., Lazar, E., Haendler, B., & Jacob, M. (1982). U2 RNA shares a structural domain with U1, U4, and U5 RNAs. *The EMBO Journal*, 1(10), 1259–1265. doi: 10.1002/j.1460-2075.1982.tb00022.x
- Bringmann, P., Appel, B., Rinke, J., Reuter, R., Theissen, H., & Lührmann, R. (1984). Evidence for the existence of snRNAs U4 and U6 in a single ribonucleoprotein complex and for their association by intermolecular base pairing. *The EMBO Journal*, 3(6), 1357–1363. doi: 10.1002/j.1460-2075.1984.tb01977.x
- Bringmann, P., & Lührmann, R. (1986). Purification of the individual snRNPs U1, U2, U5 and U4/U6 from HeLa cells and characterization of their protein constituents. *The EMBO Journal*, 5(13), 3509–3516. doi: 10.1002/j.1460-2075.1986.tb04676.x
- Buhler, D., Raker, V., Luhrmann, R., & Fischer, U. (1999). Essential role for the Tudor domain of SMN in spliceosomal U snRNP assembly: Implications for spinal muscular atrophy. *Human Molecular Genetics*, 8(13), 2351–2357. doi: 10.1093/hmg/8.13.2351
- *Burghes, A. H. M. (1997). When is a deletion not a deletion? When it is converted. *The American Journal of Human Genetics*, 61(1), 9–15. doi: 10.1086/513913
- Busslinger, M., Portmann, R., & Birnstiel, M. L. (1979). A regulatory sequence near the 3' end of sea urchin histone genes. *Nucleic Acids Research*, 6(9), 2997–3008. doi: 10.1093/nar/6.9.2997
- Cajal S. R. (1903). Un sencillo metodo de coloracion seletiva del reticulo protoplasmatico y sus efectos en los diversos organos nerviosos de vertebrados e invertebrados. *Trab Lab Invest Biol (Madrid)*.
- Carissimi, C., Baccon, J., Straccia, M., Chiarella, P., Maiolica, A., Sawyer, A., Rappsilber, J., & Pellizzoni, L. (2005). Unrip is a component of SMN complexes active in snRNP assembly. *FEBS Letters*, 579(11), 2348–2354. doi: 10.1016/j.febslet.2005.03.034
- Carissimi, C., Saieva, L., Baccon, J., Chiarella, P., Maiolica, A., Sawyer, A., Rappsilber, J., & Pellizzoni, L. (2006). Gemin8 is a novel component of the survival motor neuron complex and functions in small nuclear ribonucleoprotein assembly. *Journal of Biological Chemistry*, 281(12), 8126–8134. doi: 10.1074/jbc.M512243200
- Carissimi, C., Saieva, L., Gabanella, F., & Pellizzoni, L. (2006). Gemin8 is required for the architecture and function of the survival motor neuron complex. *Journal of Biological Chemistry*, 281(48), 37009–37016. doi: 10.1074/jbc.M607505200
- Cartegni, L., & Krainer, A. R. (2002). Disruption of an SF2/ASF-dependent exonic splicing enhancer in SMN2 causes spinal muscular atrophy in the absence of SMN1. *Nature Genetics*, 30(4), 377–384. doi: 10.1038/ng854
- Carter, C. O. (1977). Monogenic disorders. *Journal of Medical Genetics*, 14(5), 316–320. doi: 10.1136/jmg.14.5.316

- Chari, A., Golas, M. M., Klingenhäger, M., Neuenkirchen, N., Sander, B., Englbrecht, C., Sickmann, A., Stark, H., & Fischer, U. (2008). An assembly chaperone collaborates with the SMN complex to generate spliceosomal SnRNPs. *Cell*, *135*(3), 497–509. doi: 10.1016/j.cell.2008.09.020
- *Chari, A., Paknia, E., & Fischer, U. (2009). The role of RNP biogenesis in spinal muscular atrophy. *Current Opinion in Cell Biology*, *21*(3), 387–393. doi: 10.1016/j.ceb.2009.02.004
- Charroux, B., Pellizzoni, L., Perkinson, R. A., Shevchenko, A., Mann, M., & Dreyfuss, G. (1999). Gemin3: A novel DEAD box protein that interacts with SMN, the spinal muscular atrophy gene product, and is a component of gems. *The Journal of Cell Biology*, *147*(6), 1181–1194. doi: 10.1083/jcb.147.6.1181
- Charroux, B., Pellizzoni, L., Perkinson, R. A., Yong, J., Shevchenko, A., Mann, M., & Dreyfuss, G. (2000). Gemin4. A novel component of the SMN complex that is found in both gems and nucleoli. *The Journal of Cell Biology*, *148*(6), 1177–1186. doi: 10.1083/jcb.148.6.1177
- Chen, W., Shulha, H. P., Ashar-Patel, A., Yan, J., Green, K. M., Query, C. C., Rhind, N., Weng, Z., & Moore, M. J. (2014). Endogenous U2·U5·U6 snRNA complexes in *S. pombe* are intron lariat spliceosomes. *RNA*, *20*(3), 308–320. doi: 10.1261/rna.040980.113
- Claudius, A.-K., Romani, P., Lamkemeyer, T., Jindra, M., & Uhlirova, M. (2014). Unexpected role of the steroid-deficiency protein ecdysoneless in Pre-mRNA splicing. *PLoS Genetics*, *10*(4), e1004287. doi: 10.1371/journal.pgen.1004287
- Darzacq, X., Jády, B. E., Verheggen, C., Kiss, A. M., Bertrand, E., & Kiss, T. (2002). Cajal body-specific small nuclear RNAs: a novel class of 2'-O-methylation and pseudouridylation guide RNAs. *The EMBO Journal*, *21*(11), 2746–2756. doi: 10.1093/emboj/21.11.2746
- *Donlin-Asp, P. G., Bassell, G. J., & Rossoll, W. (2016). A role for the survival of motor neuron protein in mRNP assembly and transport. *Current Opinion in Neurobiology*, *39*, 53–61. doi: 10.1016/j.conb.2016.04.004
- Dubowitz V. (1999). Very severe spinal muscular atrophy (SMA type 0): an expanding clinical phenotype. *European Journal of Paediatric Neurology*, *3*, 49–51. doi: 10.1053/ejpn.1999.0181
- Dundr, M., Hebert, M. D., Karpova, T. S., Stanek, D., Xu, H., Shpargel, K. B., Meier, U. T., Neugebauer, K. M., Matera, A. G., & Misteli, T. (2004). In vivo kinetics of Cajal body components. *The Journal of Cell Biology*, *164*(6), 831–842. doi: 10.1083/jcb.200311121
- *Emery, A. E. (1971). The nosology of the spinal muscular atrophies. *Journal of Medical Genetics*, *8*(4), 481–495. doi: 10.1136/jmg.8.4.481
- Feldkötter, M., Schwarzer, V., Wirth, R., Wienker, T. F., & Wirth, B. (2002). Quantitative analyses of SMN1 and SMN2 based on real-time LightCycler PCR: Fast and highly reliable carrier testing and prediction of severity of spinal muscular atrophy. *The American Journal of Human Genetics*, *70*(2), 358–368. doi: 10.1086/338627
- Fischer, U., & Lührmann, R. (1990). An essential signaling role for the m³G cap in the transport of U1 snRNP to the nucleus. *Science*, *249*(4970), 786–790. doi: 10.1126/science.2143847
- Fisher, D. E., Conner, G. E., Reeves, W. H., Wisniewolski, R., & Blobel, G. (1985). Small nuclear ribonucleoprotein particle assembly in vivo: Demonstration of a 6S RNA-free core precursor and posttranslational modification. *Cell*, *42*(3), 751–758. doi: 10.1016/0092-8674(85)90271-5

- Fornerod, M., van Deursen, J., van Baal, S., Reynolds, A., Davis, D., Murti, K. G., Fransen, J., & Grosveld, G. (1997). The human homologue of yeast CRM1 is in a dynamic subcomplex with CAN/Nup214 and a novel nuclear pore component Nup88. *The EMBO Journal*, *16*(4), 807–816. doi: 10.1093/emboj/16.4.807
- Fornerod, M., Ohno, M., Yoshida, M., & Mattaj, I. W. (1997). CRM1 is an export receptor for leucine-rich nuclear export signals. *Cell*, *90*(6), 1051–1060. doi: 10.1016/S0092-8674(00)80371-2
- Friesen, W. J., Massenet, S., Paushkin, S., Wyce, A., & Dreyfuss, G. (2001). SMN, the product of the spinal muscular atrophy gene, binds preferentially to dimethylarginine-containing protein targets. *Molecular Cell*, *7*(5), 1111–1117. doi: 10.1016/S1097-2765(01)00244-1
- Gabanella, F., Butchbach, M. E. R., Saieva, L., Carissimi, C., Burghes, A. H. M., & Pellizzoni, L. (2007). Ribonucleoprotein assembly defects correlate with spinal muscular atrophy severity and preferentially affect a subset of spliceosomal snRNPs. *PLoS ONE*, *2*(9), e921. doi: 10.1371/journal.pone.0000921
- *Gall, J. G. (2000). Cajal bodies: The first 100 years. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, *16*(1), 273–300. doi: 10.1146/annurev.cellbio.16.1.273
- Ganot, P., Jády, B. E., Bortolin, M.-L., Darzacq, X., & Kiss, T. (1999). Nucleolar factors direct the 2'-O-ribose methylation and pseudouridylation of U6 spliceosomal RNA. *Molecular and Cellular Biology*, *19*(10), 6906–6917. doi: 10.1128/MCB.19.10.6906
- Girard, C., Neel, H., Bertrand, E., & Bordonné, R. (2006). Depletion of SMN by RNA interference in HeLa cells induces defects in Cajal body formation. *Nucleic Acids Research*, *34*(10), 2925–2932. doi: 10.1093/nar/gkl374
- Görlich, D., Dabrowski, M., Bischoff, F. R., Kutay, U., Bork, P., Hartmann, E., Prehn, S., & Izaurralde, E. (1997). A novel class of RanGTP binding proteins. *The Journal of Cell Biology*, *138*(1), 65–80. doi: 10.1083/jcb.138.1.65
- Grimm, C., Chari, A., Pelz, J.-P., Kuper, J., Kisker, C., Diederichs, K., Stark, H., Schindelin, H., & Fischer, U. (2013). Structural basis of assembly chaperone-mediated snRNP formation. *Molecular Cell*, *49*(4), 692–703. doi: 10.1016/j.molcel.2012.12.009
- *Gruss, O. J., Meduri, R., Schilling, M., & Fischer, U. (2017). UsnRNP biogenesis: mechanisms and regulation. *Chromosoma*, *126*(5), 577–593. doi: 10.1007/s00412-017-0637-6
- Gubitz, A. K., Mourelatos, Z., Abel, L., Rappsilber, J., Mann, M., & Dreyfuss, G. (2002). Gemin5, a novel WD repeat protein component of the SMN complex that binds Sm proteins. *Journal of Biological Chemistry*, *277*(7), 5631–5636. doi: 10.1074/jbc.M109448200
- Hallais, M., Pontvianne, F., Andersen, P. R., Clerici, M., Lener, D., Benbahouche, N. E. H., Gostan, T., Vandermoere, F., Robert, M.-C., Cusack, S., Verheggen, C., Jensen, T. H., & Bertrand, E. (2013). CBC-ARS2 stimulates 3'-end maturation of multiple RNA families and favors cap-proximal processing. *Nature Structural & Molecular Biology*, *20*(12), 1358–1366. doi: 10.1038/nsmb.2720
- Hamm, J., Darzynkiewicz, E., Tahara, S. M., & Mattaj, I. W. (1990). The trimethylguanosine cap structure of U1 snRNA is a component of a bipartite nuclear targeting signal. *Cell*, *62*(3), 569–577. doi: 10.1016/0092-8674(90)90021-6
- Hannus, S., Bühler, D., Romano, M., Seraphin, B., & Fischer, U. (2000). The Schizosaccharomyces pombe protein Yab8p and a novel factor, Yip1p, share structural and functional similarity with

- the spinal muscular atrophy-associated proteins SMN and SIP1. *Human Molecular Genetics*, 9(5), 663–674. doi: 10.1093/hmg/9.5.663
- Hebert, M. D., Szymczyk, P. W., Shpargel, K. B., & Matera, A. G. (2001). Coilin forms the bridge between Cajal bodies and SMN, the Spinal Muscular Atrophy protein. *Genes & Development*, 15(20), 2720–2729. doi: 10.1101/gad.908401
- Henry, R. W., Mittal, V., Ma, B., Kobayashi, R., & Hernandez, N. (1998). SNAP19 mediates the assembly of a functional core promoter complex (SNAPc) shared by RNA polymerases II and III. *Genes & Development*, 12(17), 2664–2672. doi: 10.1101/gad.12.17.2664
- Hermann, H., Fabrizio, P., Raker, V. A., Foulaki, K., Hornig, H., Brahm, H., & Luhrmann, R. (1995). snRNP Sm proteins share two evolutionarily conserved sequence motifs which are involved in Sm protein-protein interactions. *EMBO Journal*, 14(9), 2076–2088. doi: 10.1002/j.1460-2075.1995.tb07199.x
- Hernandez, N. (1985). Formation of the 3' end of U1 snRNA is directed by a conserved sequence located downstream of the coding region. *The EMBO Journal*, 4(7), 1827–1837. doi: 10.1002/j.1460-2075.1985.tb03857.x
- Hua, Y., Vickers, T. A., Okunola, H. L., Bennett, C. F., & Krainer, A. R. (2008). Antisense masking of an hnRNP A1/A2 intronic splicing silencer corrects SMN2 splicing in transgenic mice. *The American Journal of Human Genetics*, 82(4), 834–848. doi: 10.1016/j.ajhg.2008.01.014
- Huber, J., Cronshagen, U., Kadokura, M., Marshallsay, C., Wada, T., Sekine, M., & Lührmann, R. (1998). Snurportin1, an m3G-cap-specific nuclear import receptor with a novel domain structure. *The EMBO Journal*, 17(14), 4114–4126. doi: 10.1093/emboj/17.14.4114
- Huber, J., Dickmanns, A., & Lührmann, R. (2002). The importin- β binding domain of snurportin1 is responsible for the Ran- and energy-independent nuclear import of spliceosomal U snRNPs in vitro. *The Journal of Cell Biology*, 156(3), 467–479. doi: 10.1083/jcb.200108114
- Huertas, P., & Aguilera, A. (2003). Cotranscriptionally formed DNA:RNA hybrids mediate transcription elongation impairment and transcription-associated recombination. *Molecular Cell*, 12(3), 711–721. doi: 10.1016/j.molcel.2003.08.010
- *Hung, K.-H., & Stumph, W. E. (2011). Regulation of snRNA gene expression by the *Drosophila melanogaster* small nuclear RNA activating protein complex (DmSNAPc). *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 46(1), 11–26. doi: 10.3109/10409238.2010.518136
- Izaurrealde, E., Lewis, J., Gamberi, C., Jarmolowski, A., McGuigan, C., & Mattaj, I. W. (1995). A cap-binding protein complex mediating U snRNA export. *Nature*, 376(6542), 709–712. doi: 10.1038/376709a0
- Jady, B. E., Darzacq X., Tucker K. E., Matera A. G., Bertrand E., & Kiss T. (2003). Modification of Sm small nuclear RNAs occurs in the nucleoplasmic Cajal body following import from the cytoplasm. *The EMBO Journal*, 22(8), 1878–1888. doi: 10.1093/emboj/cdg187
- Kambach, C., & Mattaj, I. W. (1994). Nuclear transport of the U2 snRNP-specific U2B'' protein is mediated by both direct and indirect signalling mechanisms. *Journal of Cell Science*, 107(7), 1807–1816. doi: 10.1242/jcs.107.7.1807
- Kariya, S., Re, D. B., Jacquier, A., Nelson, K., Przedborski, S., & Monani, U. R. (2012). Mutant superoxide dismutase 1 (SOD1), a cause of amyotrophic lateral sclerosis, disrupts the

- recruitment of SMN, the spinal muscular atrophy protein to nuclear Cajal bodies. *Human Molecular Genetics*, 21(15), 3421–3434. doi: 10.1093/hmg/dds174
- Klimešová, K., Vojáčková, J., Radivojević, N., Vandermoere, F., Bertrand, E., Verheggen, C., & Staněk, D. (2021). TSSC4 is a component of U5 snRNP that promotes tri-snRNP formation. *Nature Communications*, 12(1), 3646. doi: 10.1038/s41467-021-23934-y
- Krämer, A., Grüter, P., Gröning, K., & Kastner, B. (1999). Combined biochemical and electron microscopic analyses reveal the architecture of the mammalian U2 snRNP. *The Journal of Cell Biology*, 145(7), 1355–1368. doi: 10.1083/jcb.145.7.1355
- Kroiss, M., Schultz, J., Wiesner, J., Chari, A., Sickmann, A., & Fischer, U. (2008). Evolution of an RNP assembly system: A minimal SMN complex facilitates formation of UsnRNPs in *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(29), 10045–10050. doi: 10.1073/pnas.0802287105
- Kunkel, G. R., Maser, R. L., Calvet, J. P., & Pederson, T. (1986). U6 small nuclear RNA is transcribed by RNA polymerase III. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 83(22), 8575–8579. doi: 10.1073/pnas.83.22.8575
- Lau, C., Bachorik, J. L., & Dreyfuss, G. (2009). Gemin5-snRNA interaction reveals an RNA binding function for WD repeat domains. *Nature Structural & Molecular Biology*, 16(5), 486–491. doi: 10.1038/nsmb.1584
- Lefebvre, S., Bürglen, L., Reboullet, S., Clermont, O., Burlet, P., Viollet, L., Benichou, B., Cruaud, C., Millasseau, P., Zeviani, M., Le Paslier, D., Frézal, J., Cohen, D., Weissenbach, J., Munnich, A., & Melki, J. (1995). Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene. *Cell*, 80(1), 155–165. doi: 10.1016/0092-8674(95)90460-3
- Lefebvre, S., Burlet, P., Liu, Q., Bertrand, S., Clermont, O., Munnich, A., Dreyfuss, G., & Melki, J. (1997). Correlation between severity and SMN protein level in spinal muscular atrophy. *Nature Genetics*, 16(3), 265–269. doi: 10.1038/ng0797-265
- Lemm, I., Girard, C., Kuhn, A. N., Watkins, N. J., Schneider, M., Bordonné, R., & Lührmann, R. (2006). Ongoing U snRNP biogenesis is required for the integrity of Cajal bodies. *Molecular Biology of the Cell*, 17(7), 3221–3231. doi: 10.1091/mbc.e06-03-0247
- Levine, A., & Durbin, R. (2001). A computational scan for U12-dependent introns in the human genome sequence. *Nucleic Acids Research*, 29(19), 4006–4013. doi: 10.1093/nar/29.19.4006
- Licht, K., Medenbach, J., Lührmann, R., Kambach, C., & Bindereif, A. (2008). 3'-cyclic phosphorylation of U6 snRNA leads to recruitment of recycling factor p110 through LSm proteins. *RNA*, 14(8), 1532–1538. doi: 10.1261/rna.1129608
- *Li, D. K., Tisdale, S., Lotti, F., & Pellizzoni, L. (2014). SMN control of RNP assembly: From post-transcriptional gene regulation to motor neuron disease. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 32, 22–29. doi: 10.1016/j.semcdb.2014.04.026
- Liu, Q., & Dreyfuss, G. (1996). A novel nuclear structure containing the survival of motor neurons protein. *EMBO Journal*, 15(14), 3555–3565. doi: 10.1002/J.1460-2075.1996.TB00725.X
- Liu, Q., Fischer, U., Wang, F., & Dreyfuss, G. (1997). The spinal muscular atrophy disease gene product, SMN, and its associated protein SIP1 are in a complex with spliceosomal snRNP proteins. *Cell*, 90(6), 1013–1021. doi: 10.1016/S0092-8674(00)80367-0

- Lorson, C. L., Hahnen, E., Androphy, E. J., & Wirth, B. (1999). A single nucleotide in the *SMN* gene regulates splicing and is responsible for spinal muscular atrophy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *96*(11), 6307–6311. doi: 10.1073/pnas.96.11.6307
- Lorson, C. L., Strasswimmer, J., Yao, J.-M., Baleja, J. D., Hahnen, E., Wirth, B., Le, T., Burghes, A. H. M., & Androphy, E. J. (1998). SMN oligomerization defect correlates with spinal muscular atrophy severity. *Nature Genetics*, *19*(1), 63–66. doi: 10.1038/ng0598-63
- Lund, E., & Dahlberg, J. E. (1992). Cyclic 2',3'-phosphates and nontemplated nucleotides at the 3' end of spliceosomal U6 small nuclear RNA's. *Science*, *255*(5042), 327–330. doi: 10.1126/science.1549778
- Macleod, M. J., Taylor, J. E., Lunt, P. W., Mathew, C. G., & Robb, S. A. (1999). Prenatal onset spinal muscular atrophy. *European Journal of Paediatric Neurology*, *3*(2), 65–72. doi: 10.1016/S1090-3798(99)80015-4
- Makarov, E. M., Owen, N., Bottrill, A., & Makarova, O. V. (2012). Functional mammalian spliceosomal complex E contains SMN complex proteins in addition to U1 and U2 snRNPs. *Nucleic Acids Research*, *40*(6), 2639–2652. doi: 10.1093/nar/gkr1056
- Malinová, A., Cvačková, Z., Matějů, D., Hořejší, Z., Abéza, C., Vandermoere, F., Bertrand, E., Staněk, D., & Verheggen, C. (2017). Assembly of the U5 snRNP component PRPF8 is controlled by the HSP90/R2TP chaperones. *Journal of Cell Biology*, *216*(6), 1579–1596. doi: 10.1083/jcb.201701165
- Massenet, S., Pellizzoni, L., Paushkin, S., Mattaj, I. W., & Dreyfuss, G. (2002). The SMN complex is associated with snRNPs throughout their cytoplasmic assembly pathway. *Molecular and Cellular Biology*, *22*(18), 6533–6541. doi: 10.1128/MCB.22.18.6533-6541.2002
- *Matera, A. G. (1998). Of coiled bodies, gems, and salmon. *Journal of Cellular Biochemistry*, *70*(2), 181–192. doi: 10.1002/(SICI)1097-4644(19980801)70:2<181::AID-JCB4>3.0.CO;2-K
- *Matera, A. G., & Wang, Z. (2014). A day in the life of the spliceosome. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, *15*(2), 108–121. doi: 10.1038/nrm3742
- Mattaj, I. W. (1986). Cap trimethylation of U snRNA is cytoplasmic and dependent on U snRNP protein binding. *Cell*, *46*(6), 905–911. doi: 10.1016/0092-8674(86)90072-3
- Ma, T., Xiong, E. S., Lardelli, R. M., & Lykke-Andersen, J. (2023). The 3' exonuclease TOE1 selectively processes snRNAs through recognition of Sm complex assembly and 5' cap trimethylation. *BioRxiv*, 2023.08.15.553431. doi: 10.1101/2023.08.15.553431
- Ma, Y., Dostie, J., Dreyfuss, G., & Van Duyne, G. D. (2005). The Gemin6-Gemin7 heterodimer from the survival of motor neurons complex has an Sm protein-like structure. *Structure*, *13*(6), 883–892. doi: 10.1016/j.str.2005.03.014
- Meister, G., & Fischer, U. (2002). Assisted RNP assembly: SMN and PRMT5 complexes cooperate in the formation of spliceosomal UsnRNPs. *The EMBO Journal*, *21*(21), 5853–5863. doi: 10.1093/emboj/cdf585
- Meister, Gunter, Bühler, D., Pillai, R., Lottspeich, F., & Fischer, U. (2001). A multiprotein complex mediates the ATP-dependent assembly of spliceosomal U snRNPs. *Nature Cell Biology*, *3*(11), 945–949. doi: 10.1038/ncb1101-945

- Monani, U. R., Lorson, C. L., Parsons, D. W., Prior, T. W., Androphy, E. J., Burghes, A. H., & McPherson, J. D. (1999). A single nucleotide difference that alters splicing patterns distinguishes the SMA gene SMN1 from the copy gene SMN2. *Human Molecular Genetics*, *8*(7), 1177–1183. doi: 10.1093/hmg/8.7.1177
- Mouaikel, J., Narayanan, U., Verheggen, C., Matera, A. G., Bertrand, E., Tazi, J., & Bordonné, R. (2003). Interaction between the small-nuclear-RNA cap hypermethylase and the spinal muscular atrophy protein, survival of motor neuron. *EMBO Reports*, *4*(6), 616–622. doi: 10.1038/sj.embor.embor863
- Murphy, M. W., Olson, B. L., & Siliciano, P. G. (2004). The yeast splicing factor Prp40p contains functional leucine-rich nuclear export signals that are essential for splicing. *Genetics*, *166*(1), 53–65. doi: 10.1534/genetics.166.1.53
- Narayanan, U., Ospina, J. K., Frey, M. R., Hebert, M. D., & Matera, A. G. (2002). SMN, the spinal muscular atrophy protein, forms a pre-import snRNP complex with snurportin1 and importin beta. *Human Molecular Genetics*, *11*(15), 1785–1795. doi: 10.1093/hmg/11.15.1785
- Narayanan, Usha, Achsel, T., Lührmann, R., & Matera, A. G. (2004). Coupled in vitro import of U snRNPs and SMN, the spinal muscular atrophy protein. *Molecular Cell*, *16*(2), 223–234. doi: 10.1016/j.molcel.2004.09.024
- Ohno, M., Segref, A., Bachi, A., Wilm, M., & Mattaj, I. W. (2000). PHAX, a mediator of U snRNA nuclear export whose activity is regulated by phosphorylation. *Cell*, *101*(2), 187–198. doi: 10.1016/S0092-8674(00)80829-6
- Otter, S., Grimmler, M., Neuenkirchen, N., Chari, A., Sickmann, A., & Fischer, U. (2007). A comprehensive interaction map of the human survival of motor neuron (SMN) complex. *Journal of Biological Chemistry*, *282*(8), 5825–5833. doi: 10.1074/jbc.M608528200
- Palacios, I., Hetzer, M., Adam, S. A., & Mattaj, I. W. (1997). Nuclear import of U snRNPs requires importin beta. *The EMBO Journal*, *16*(22), 6783–6792. doi: 10.1093/emboj/16.22.6783
- Pandey, N. B., Chodchoy, N., Liu, T.-J., & Marzluff, W. F. (1990). Introns in histone genes alter the distribution of 3' ends. *Nucleic Acids Research*, *18*(11), 3161–3170. doi: 10.1093/nar/18.11.3161
- Pánek, J., Roithová, A., Radivojević, N., Sýkora, M., Prusty, A. B., Huston, N., Wan, H., Pyle, A. M., Fischer, U., & Staněk, D. (2023). The SMN complex drives structural changes in human snRNAs to enable snRNP assembly. *Nature Communications*, *14*(1). doi: 10.1038/s41467-023-42324-0
- Patel, A. A., McCarthy, M., & Steitz, J. A. (2002). The splicing of U12-type introns can be a rate-limiting step in gene expression. *The EMBO Journal*, *21*(14), 3804–3815. doi: 10.1093/emboj/cdf297
- *Patel, Abhijit A., & Steitz, J. A. (2003). Splicing double: insights from the second spliceosome. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, *4*(12), 960–970. doi: 10.1038/nrm1259
- Pearn, J. (1978). Incidence, prevalence, and gene frequency studies of chronic childhood spinal muscular atrophy. *Journal of Medical Genetics*, *15*(6), 409–413. doi: 10.1136/jmg.15.6.409
- Pearn, J. H. (1973). The gene frequency of acute Werdnig-Hoffmann disease (SMA Type 1). A total population survey in North-East England. *Journal of Medical Genetics*, *10*(3), 260–265. doi: 10.1136/jmg.10.3.260

- Pellizzoni, L., Baccon, J., Rappsilber, J., Mann, M., & Dreyfuss, G. (2002). Purification of native survival of motor neurons complexes and identification of Gemin6 as a novel component. *Journal of Biological Chemistry*, 277(9), 7540–7545. doi: 10.1074/jbc.M110141200
- Pellizzoni, L., Charroux, B., & Dreyfuss, G. (1999). SMN mutants of spinal muscular atrophy patients are defective in binding to snRNP proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(20), 11167–11172. doi: 10.1073/pnas.96.20.11167
- Pellizzoni, L., Charroux, B., Rappsilber, J., Mann, M., & Dreyfuss, G. (2001). A functional interaction between the survival motor neuron complex and RNA polymerase II. *The Journal of Cell Biology*, 152(1), 75–86. doi: 10.1083/jcb.152.1.75
- Piepers, S., Berg, L. H., Brugman, F., Scheffer, H., Ruitkamp-Versteeg, M., Engelen, B. G., Faber, C. G., Visser, M., Pol, W.-L., & Wokke, J. H. J. (2008). A natural history study of late onset spinal muscular atrophy types 3b and 4. *Journal of Neurology*, 255(9), 1400–1404. doi: 10.1007/s00415-008-0929-0
- Pillai, Ramesh S., Grimmler, M., Meister, G., Will, C. L., Lührmann, R., Fischer, U., & Schümperli, D. (2003). Unique Sm core structure of U7 snRNPs: assembly by a specialized SMN complex and the role of a new component, Lsm11, in histone RNA processing. *Genes & Development*, 17(18), 2321–2333. doi: 10.1101/gad.274403
- Pillai, R. S., Will, C. L., Lührmann, R., Schümperli, D., & Müller, B. (2001). Purified U7 snRNPs lack the Sm proteins D1 and D2 but contain Lsm10, a new 14 kDa Sm D1-like protein. *The EMBO Journal*, 20(19), 5470–5479. doi: 10.1093/emboj/20.19.5470
- Plessel, G., Fischer, U., & Lührmann, R. (1994). m3G cap hypermethylation of U1 small nuclear ribonucleoprotein (snRNP) in vitro: evidence that the U1 small nuclear RNA-(guanosine-N2)-methyltransferase is a non-snRNP cytoplasmic protein that requires a binding site on the Sm core domain. *Molecular and Cellular Biology*, 14(6), 4160–4172. doi: 10.1128/mcb.14.6.4160-4172.1994
- Porat, J., Slat, V. A., Rader, S. D., & Bayfield, M. A. (2023). The fission yeast methyl phosphate capping enzyme Bmc1 guides 2'-O-methylation of the U6 snRNA. *Nucleic Acids Research*, 51(16), 8805–8819. doi: 10.1093/nar/gkad563
- Porensky, P. N., Mitrpant, C., McGovern, V. L., Bevan, A. K., Foust, K. D., Kaspar, B. K., Wilton, S. D., & Burghes, A. H. M. (2012). A single administration of morpholino antisense oligomer rescues spinal muscular atrophy in mouse. *Human Molecular Genetics*, 21(7), 1625–1638. doi: 10.1093/hmg/ddr600
- Prusty, A. B., Meduri, R., Prusty, B. K., Vanselow, J., Schlosser, A., & Fischer, U. (2017). Impaired spliceosomal UsnRNP assembly leads to Sm mRNA down-regulation and Sm protein degradation. *Journal of Cell Biology*, 216(8), 2391–2407. doi: 10.1083/jcb.201611108
- Raker, V. A., Plessel, G., & Lührmann, R. (1996). The snRNP core assembly pathway: identification of stable core protein heteromeric complexes and an snRNP subcore particle in vitro. *The EMBO Journal*, 15(9), 2256–2269.
- Raška, I., Andrade, L. E. C., Ochs, R. L., Chan, E. K. L., Chang, C.-M., Roos, G., & Tan, E. M. (1991). Immunological and ultrastructural studies of the nuclear coiled body with autoimmune antibodies. *Experimental Cell Research*, 195(1), 27–37. doi: 10.1016/0014-4827(91)90496-H

- Reddy, R., Ro Choi, T. S., Henning, D., & Busch, H. (1974). Primary sequence of U 1 nuclear ribonucleic acid of Novikoff hepatoma ascites cells. *Journal of Biological Chemistry*, *249*(20), 6486–6494. doi: 10.1016/s0021-9258(19)42183-2
- Rinke, J., & Steitz, J. A. (1985). Association of the lupus antigen La with a subset of U6 snRNA molecules. *Nucleic Acids Research*, *13*(7), 2617–2629. doi: 10.1093/nar/13.7.2617
- Ro-Choi, T. S., Raj, N. B. K., Pike, L. M., & Busch, H. (1976). Effects of α -amanitin, cycloheximide, and thioacetamide on low molecular weight nuclear RNA. *Biochemistry*, *15*(17), 3823–3828. doi: 10.1021/bi00662a027
- Romac, J. M.-J., Graff, D. H., & Keene, J. D. (1994). The U1 small nuclear ribonucleoprotein (snRNP) 70K protein is transported independently of U1 snRNP particles via a nuclear localization signal in the RNA-binding domain. *Molecular and Cellular Biology*, *14*(7), 4662–4670. doi: 10.1128/mcb.14.7.4662-4670.1994
- Rossoll, W., Kröning, A. K., Ohndorf, U. M., Steegborn, C., Jablonka, S., & Sendtner, M. (2002). Specific interaction of Smn, the spinal muscular atrophy determining gene product, with hnRNP-R and gry-rbp/hnRNP-Q: a role for Smn in RNA processing in motor axons? *Human Molecular Genetics*, *11*(1), 93–105. doi: 10.1093/hmg/11.1.93
- *Santos-Pereira, J. M., & Aguilera, A. (2015). R loops: new modulators of genome dynamics and function. *Nature Reviews Genetics*, *16*(10), 583–597. doi: 10.1038/nrg3961
- Scharl, E. C., & Steitz, J. A. (1994). The site of 3' end formation of histone messenger RNA is a fixed distance from the downstream element recognized by the U7 snRNP. *The EMBO Journal*, *13*(10), 2432–2440. doi: 10.1002/j.1460-2075.1994.tb06528.x
- Schmitz, K., Cox, J., Esser, L. M., Voss, M., Sander, K., Löffler, A., Hillebrand, F., Erkelenz, S., Schaal, H., Kähne, T., Klinker, S., Zhang, T., Nagel-Steger, L., Willbold, D., Seggewiß, S., Schlütermann, D., Stork, B., Grimmmler, M., Wesselborg, S., & Peter, C. (2021). An essential role of the autophagy activating kinase ULK1 in snRNP biogenesis. *Nucleic Acids Research*, *49*(11), 6437–6455. doi: 10.1093/nar/gkab452
- Schrank, B., Götz, R., Gunnarsen, J. M., Ure, J. M., Toyka, K. V., Smith, A. G., & Sendtner, M. (1997). Inactivation of the survival motor neuron gene, a candidate gene for human spinal muscular atrophy, leads to massive cell death in early mouse embryos. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *94*(18), 9920–9925. doi: 10.1073/pnas.94.18.9920
- *Schümperli, D., & Pillai, R. S. (2004). The special Sm core structure of the U7 snRNP: far-reaching significance of a small nuclear ribonucleoprotein. *Cellular and Molecular Life Sciences*, *61*(19–20), 2560–2570. doi: 10.1007/s00018-004-4190-0
- Séraphin, B. (1995). Sm and Sm-like proteins belong to a large family: Identification of proteins of the U6 as well as the U1, U2, U4 and U5 snRNPs. *EMBO Journal*, *14*(9), 2089–2098. doi: 10.1002/J.1460-2075.1995.TB07200.X
- Shan, X., Chiang, P.-M., Price, D. L., & Wong, P. C. (2010). Altered distributions of Gemini of coiled bodies and mitochondria in motor neurons of *TDP-43* transgenic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *107*(37), 16325–16330. doi: 10.1073/pnas.1003459107

- Shpargel, K. B., & Gregory Matera, A. (2005). *Gemin proteins are required for efficient assembly of Sm-class ribonucleoproteins. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(48), 17372–17377. doi: 10.1073/pnas.0508947102
- Sims, R. J., Rojas, L. A., Beck, D., Bonasio, R., Schüller, R., Drury, W. J., Eick, D., & Reinberg, D. (2011). The C-terminal domain of RNA polymerase II is modified by site-specific methylation. *Science*, 332(6025), 99–103. doi: 10.1126/science.1202663
- Singh, R., & Reddy, R. (1989). Gamma-monomethyl phosphate: a cap structure in spliceosomal U6 small nuclear RNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86(21), 8280–8283. doi: 10.1073/pnas.86.21.8280
- Skourti-Stathaki, K., Proudfoot, N. J., & Gromak, N. (2011). Human senataxin resolves RNA/DNA hybrids formed at transcriptional pause sites to promote Xrn2-dependent termination. *Molecular Cell*, 42(6), 794–805. doi: 10.1016/j.molcel.2011.04.026
- Sleeman, J. E., & Lamond, A. I. (1999). Newly assembled snRNPs associate with coiled bodies before speckles, suggesting a nuclear snRNP maturation pathway. *Current Biology*, 9(19), 1065–1074. doi: 10.1016/S0960-9822(99)80475-8
- So, B. R., Wan, L., Zhang, Z., Li, P., Babiash, E., Duan, J., Younis, I., & Dreyfuss, G. (2016). A U1 snRNP-specific assembly pathway reveals the SMN complex as a versatile hub for RNP exchange. *Nature Structural & Molecular Biology*, 23(3), 225–230. doi: 10.1038/nsmb.3167
- *Staněk, D. (2017). Cajal bodies and snRNPs - friends with benefits. *RNA Biology*, 14(6), 671–679. doi: 10.1080/15476286.2016.1231359
- Staněk, D., Přidalová-Hnilicová, J., Novotný, I., Huranová, M., Blažíková, M., Wen, X., Sapra, A. K., & Neugebauer, K. M. (2008). Spliceosomal small nuclear ribonucleoprotein particles repeatedly cycle through Cajal bodies. *Molecular Biology of the Cell*, 19(6), 2534–2543. doi: 10.1091/mbc.E07-12-1259
- Staněk, D., Rader, S. D., Klingauf, M., & Neugebauer, K. M. (2003). Targeting of U4/U6 small nuclear RNP assembly factor SART3/p110 to Cajal bodies. *Journal of Cell Biology*, 160(4), 505–516. doi: 10.1083/jcb.200210087
- Stark, H., Dube, P., Lührmann, R., & Kastner, B. (2001). Arrangement of RNA and proteins in the spliceosomal U1 small nuclear ribonucleoprotein particle. *Nature*, 409(6819), 539–542. doi: 10.1038/35054102
- Stejskalová, E., & Staněk, D. (2014). Splicing factor U1-70K interacts with the SMN complex and is required for nuclear Gem integrity. *Journal of Cell Science*. doi: 10.1242/jcs.155838
- Strub, K., Galli, G., Busslinger, M., & Birnstiel, M. L. (1984). The cDNA sequences of the sea urchin U7 small nuclear RNA suggest specific contacts between histone mRNA precursor and U7 RNA during RNA processing. *The EMBO Journal*, 3(12), 2801–2807. doi: 10.1002/j.1460-2075.1984.tb02212.x
- Suraweera, A., Lim, Y., Woods, R., Birrell, G. W., Nasim, T., Becherel, O. J., & Lavin, M. F. (2009). Functional role for senataxin, defective in ataxia oculomotor apraxia type 2, in transcriptional regulation. *Human Molecular Genetics*, 18(18), 3384–3396. doi: 10.1093/hmg/ddp278
- Suzuki, T., Izumi, H., & Ohno, M. (2010). Cajal body surveillance of U snRNA export complex assembly. *Journal of Cell Biology*, 190(4), 603–612. doi: 10.1083/jcb.201004109

- Takata, H., Nishijima, H., Maeshima, K., & Shibahara, K. (2012). The integrator complex is required for integrity of Cajal bodies. *Journal of Cell Science*, *125*(1), 166–175. doi: 10.1242/jcs.090837
- Tisdale, S., Lotti, F., Saieva, L., Van Meerbeke, J. P., Crawford, T. O., Sumner, C. J., Mentis, G. Z., & Pellizzoni, L. (2013). SMN is essential for the biogenesis of U7 small nuclear ribonucleoprotein and 3'-end formation of histone mRNAs. *Cell Reports*, *5*(5), 1187–1195. doi: 10.1016/j.celrep.2013.11.012
- Trippe, R., Guschina, E., Hossbach, M., Urlaub, H., Lührmann, R., & Benecke, B.-J. (2006). Identification, cloning, and functional analysis of the human U6 snRNA-specific terminal uridylyl transferase. *RNA*, *12*(8), 1494–1504. doi: 10.1261/rna.87706
- Tycowski, K. T., You, Z.-H., Graham, P. J., & Steitz, J. A. (1998). Modification of U6 spliceosomal RNA is guided by other small RNAs. *Molecular Cell*, *2*(5), 629–638. doi: 10.1016/S1097-2765(00)80161-6
- Urlaub, H., V A Raker, S Kostka, & R Lührmann. (2001). Sm protein-Sm site RNA interactions within the inner ring of the spliceosomal snRNP core structure. *The EMBO Journal*, *20*(1), 187–196. doi: 10.1093/emboj/20.1.187
- Vegvar, H. E. N. De, & Dahlberg, J. E. (1990). Nucleocytoplasmic transport and processing of small nuclear RNA precursors. *Molecular and Cellular Biology*, *10*(7), 3365–3375. doi: 10.1128/mcb.10.7.3365-3375.1990
- Wang, Z. F., Whitfield, M. L., Ingledue, T. C., Dominski, Z., & Marzluff, W. F. (1996). The protein that binds the 3' end of histone mRNA: a novel RNA-binding protein required for histone pre-mRNA processing. *Genes & Development*, *10*(23), 3028–3040. doi: 10.1101/gad.10.23.3028
- Wassarman, K. M., & Steitz, J. A. (1992). The low-abundance U11 and U12 small nuclear ribonucleoproteins (snRNPs) interact to form a two-snRNP complex. *Molecular and Cellular Biology*, *12*(3), 1276–1285. doi: 10.1128/mcb.12.3.1276-1285.1992
- *Will, Cindy L., & Lührmann, R. (2011). Spliceosome structure and function. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, *3*(7), 1–2. doi: 10.1101/cshperspect.a003707
- Will, C. L., Urlaub, H., Achsel, T., Gentzel, M., Wilm, M., & Lührmann, R. (2002). Characterization of novel SF3b and 17S U2 snRNP proteins, including a human Prp5p homologue and an SF3b DEAD-box protein. *The EMBO Journal*, *21*(18), 4978–4988. doi: 10.1093/emboj/cdf480
- Winkler, C., Eggert, C., Gradl, D., Meister, G., Giegerich, M., Wedlich, D., Lagerbauer, B., & Fischer, U. (2005). Reduced U snRNP assembly causes motor axon degeneration in an animal model for spinal muscular atrophy. *Genes & Development*, *19*(19), 2320–2330. doi: 10.1101/gad.342005
- Wu, J. Y., & Maniatis, T. (1993). Specific interactions between proteins implicated in splice site selection and regulated alternative splicing. *Cell*, *75*(6), 1061–1070. doi: 10.1016/0092-8674(93)90316-I
- Xu, C., Ishikawa, H., Izumikawa, K., Li, L., He, H., Nobe, Y., Yamauchi, Y., Shahjee, H. M., Wu, X.-H., Yu, Y., Isobe, T., Takahashi, N., & Min, J. (2016). Structural insights into Gemin5-guided selection of pre-snRNAs for snRNP assembly. *Genes & Development*, *30*(21), 2376–2390. doi: 10.1101/gad.288340.116

- Xu, H., Pillai, R. S., Azzouz, T. N., Shpargel, K. B., Kambach, C., Hebert, M. D., Schümperli, D., & Matera, A. G. (2005). The C-terminal domain of coilin interacts with Sm proteins and U snRNPs. *Chromosoma*, *114*(3), 155–166. doi: 10.1007/s00412-005-0003-y
- Yanling Zhao, D., Gish, G., Braunschweig, U., Li, Y., Ni, Z., Schmitges, F. W., Zhong, G., Liu, K., Li, W., Moffat, J., Vedadi, M., Min, J., Pawson, T. J., Blencowe, B. J., & Greenblatt, J. F. (2016). SMN and symmetric arginine dimethylation of RNA polymerase II C-terminal domain control termination. *Nature*, *529*(7584), 48–53. doi: 10.1038/nature16469
- Yong, J., Kasim, M., Bachorik, J. L., Wan, L., & Dreyfuss, G. (2010). Gemin5 delivers snRNA precursors to the SMN complex for snRNP biogenesis. *Molecular Cell*, *38*(4). doi: 10.1016/j.molcel.2010.03.014
- Yu, Y., Chi, B., Xia, W., Gangopadhyay, J., Yamazaki, T., Winkelbauer-Hurt, M. E., Yin, S., Eliasse, Y., Adams, E., Shaw, C. E., & Reed, R. (2015). U1 snRNP is mislocalized in ALS patient fibroblasts bearing NLS mutations in FUS and is required for motor neuron outgrowth in zebrafish. *Nucleic Acids Research*, *43*(6), 3208–3218. doi: 10.1093/nar/gkv157
- Zerres, K., Rudnik-Schöneborn, S. (1995). Natural History in Proximal Spinal Muscular Atrophy. *Archives of Neurology*, *52*(5), 518. doi: 10.1001/archneur.1995.00540290108025
- Zhang, R., So, B. R., Li, P., Yong, J., Glisovic, T., Wan, L., & Dreyfuss, G. (2011). Structure of a key intermediate of the SMN complex reveals Gemin2's crucial function in snRNP assembly. *Cell*, *146*(3), 384–395. doi: 10.1016/j.cell.2011.06.043