

ABSTRAKT

Malá jaderná ribonukleoproteinová částice U5 (U5 snRNP) je jednou z hlavních komponent spliceozomu, komplexu který katalyzuje sestřih pre-mRNA. U5 snRNP je tvořena molekulou RNA a několika proteiny, nicméně o tom jak jsou jednotlivé díly postupně skládány v maturovanou částici, se mnoho neví. Ukázali jsme, že po depleci proteinu PRPF8, jedné z klíčových složek U5 snRNP, se částice správně neskládají a akumulují se v jaderných strukturách zvaných Cajalova tělíška. K objasnění role PRPF8 v biogenezi U5 snRNP jsme se dále rozhodli využít mutace tohoto proteinu, které byly identifikovány u pacientů s degenerativním onemocněním oční sítnice, retinitis pigmentosa (RP). Vytvořili jsme stabilní buněčné linie exprimující mutantní varianty proteinu PRPF8 a ukázali jsme, že RP mutace narušují skládání U5 snRNP, což následně vede ke snížení efektivity sestřihu pre-mRNA v buňkách. Mutantní PRPF8 se spolu s proteinem EFTUD2 hromadí v cytoplazmě a vytvoření tohoto komplexu je zdá se prvním krokem skládání U5 snRNP. Dále jsme s využitím proteomických metod identifikovali řadu nových faktorů včetně komplexu HSP90/R2TP a proteinu ZNHIT2, které se váží na U5 snRNP. Naše výsledky ukazují, že tyto faktory preferenčně interagují s nehotovými U5 snRNP včetně komplexů s mutantními PRPF8 proteiny. Prokázali jsme, že chaperon HSP90 se podílí na udržení stability některých proteinů specifických pro U5 snRNP částici, konkrétně proteinů PRPF8 a SNRNP200. V neposlední řadě ukazujeme, že komplex R2TP je nezbytný pro správné formování U5 snRNP a je zodpovědný za zadržování mutantních proteinů PRPF8 v cytoplazmě. Z našich výsledků vyplývá, že komplex HSP90/R2TP se nejen přímo podílí na skládání U5 snRNP částic, ale také dohlíží na správný průběh tohoto procesu.