

Abstrakt

Sestřih je proces, během kterého jsou nekódující sekvence (introny) vystřiženy z pre-mRNA a exony spojeny. Celý tento proces je katalyzován multi-megadaltonovým sestřihovým komplexem, který se skládá z pěti malých jaderných ribonukleoproteinových částic (zkráceně snRNP částice), jenž každá obsahuje svoji vlastní malou jadernou RNA a sadu proteinů specifických pro každou částici. Během biogeneze snRNP částic jsou U4 a U6 snRNP částice spojeny za vzniku di-snRNP částice, která je dále asociována s U5 snRNP částicí a tím dává vzniku tri-snRNP. S pomocí hmotnostní spektrometrie jsme našly dříve necharakterizovaný protein interagující s U5 snRNP částicí, zvaný TSSC4. S použitím imunoprecipitace jsem potvrdila specifitu TSSC4 pro U5 snRNP a našla oblast TSSC4 zodpovědnou za interakci s U5 snRNP. Nezávisle na U5 snRNP částici, TSSC4 interaguje s PRPF19, komponentem komplexu, který se účastní katalytické aktivace sestřihového komplexu. Snížení koncentrace TSSC4 v HeLa buňkách způsobuje akumulaci di-snRNP specifických RNA a U5 snRNP částice v Cajalových tělíkách, jaderných organelách důležitých pro biogenezi snRNP částic. Podobný fenotyp byl dříve pozorován po zastavení tvorby tri-snRNP částice. Abych otestovala důležitost TSSC4 pro vznik tri-snRNP, pomocí gradientové ultracentrifugace jsem rozdělila jednotlivé snRNP částice podle jejich sedimentačních vlastností. Po depleci TSSC4 v HeLa buňkách jsem pozorovala snížený obsah tri-snRNP částice. Neefektivní skládání tri-snRNP dále podporuje akumulace proteinu 52K v Cajalových tělíkách, U5 snRNP specifického proteinu, který nebyl nalezen v tri-snRNP částici. Dále po snížení obsahu TSSC4 v HeLa buňkách ukazují sníženou interakci mezi dvěma klíčovými proteiny U5 snRNP částice – PRPF8 a SNRNP200. Navrhuji tedy TSSC4 jako nový U5 snRNP specifický faktor důležitý pro skládání tri-snRNP částice.

Klíčová slova

Sestřihový komplex, malé jaderné ribonukleoproteinové částice, TSSC4