

Introny jsou vystříženy z eukaryotických transkriptů a exony jsou spojeny dohromady během procesu zvaného sestřih pre-mRNA. Sestřih je katalyzován sestřihovým komplexem. Jedná se o velký ribonukleoproteinový komplex složený z pěti malých jaderných RNA a více než stovky proteinů. Tento komplex rozpoznává 5' sestřihové místo, místo větvení a 3' sestřihové místo a následně provádí dvě transesterifikační reakce, jejichž výsledkem je zralá molekula mRNA. V rámci časného sestřihového komplexu je 5' sestřihové místo definováno pomocí U1 snRNP a na rozpoznání místa větvení a 3' sestřihového místa se podílí U2 pomocný faktor (U2 auxiliary factor, U2AF). Spolupráce sestřihových míst byla částečně popsána in vitro, ale situace in vivo není dosud zcela objasněna. V této studii jsme použili fluorescenční rezonanční energetický transfer (Fluorescence resonance energy transfer, FRET) a RNA imunoprecipitaci (RIP) k popsání časných kroků skládání sestřihového komplexu. Abychom detekovali interakce proteinů na RNA molekule přímo v buněčném jádře, uplatnili jsme sestřihové reportéry kódující -globinový gen a vlásenky z fága MS2. Výsledky FRETu ukazují, že intaktní 5' sestřihové místo je vyžadováno pro vazbu U2AF35 na 3' sestřihové místo a že vazba U1C je částečně omezena v přítomnosti mutace 3' sestřihového místa. Dále jsme pomocí RIPu prokázali, že vazba U2 snRNP na pre mRNA je podmíněna přítomností 5' sestřihového místa. Naše výsledky jsou prvním in vivo důkazem spolupráce komponent sestřihového komplexu během rozpoznání intronu.