

## Abstrakt

hPrp8 je esenciální faktor účastnící se sestřihu pre-mRNA. Tento vysoce konzervovaný protein je součástí U5 malé jaderné ribonukleoproteinové částice (U5 snRNP), která představuje jednu ze základních komponent spliceozomu. hPrp8 působí jako klíčový regulátor aktivace spliceozomu a interaguje přímo s U5 snRNA a s oblastmi pre-mRNA, které se účastní transesterifikačních reakcí během sestřihu. Mutace v hPrp8 způsobují autozomálně dominantní formu retinitis pigmentosa (RP), dědičného onemocnění, které vede k postupné degeneraci sítnice. V této práci jsme zkoumali, jak mutace spojené s RP ovlivňují funkci proteinu hPrp8. Použili jsme metodu 'BAC recombineering' k vytvoření mutovaných variant hPrp8-GFP a připravili jsme stabilní buněčné linie exprimující tyto rekombinantní proteiny. Mutované proteiny byly exprimovány a lokalizovány do jádra, avšak jedna z bodových mutací výrazně ovlivnila lokalizaci a stabilitu hPrp8. Další experimenty napověděly, že mutace spojené s RP ovlivňují schopnost hPrp8 interagovat s dalšími komponenty U5 snRNP a s pre-mRNA. Dále jsme studovali biogenezi U5 snRNP komplexů. Pomocí siRNA jsme odstranili hPrp8 a narušili tak formování U5 snRNP komplexu. Zjistili jsme, že nekompletní U5 snRNP komplexy se hromadí v Cajalových tělíkách, což značí, že tyto jaderné struktury hrají roli v biogenezi U5 snRNP komplexu.