

Zróznicowane funkcje kompleksu U7 snRNP w cyklu komórkowym

W komórkach zwierząt wielokomórkowych synteza histonowych białek jest ściśle skorelowana z syntezą DNA. Gwarantuje to wysoki poziom histonów na potrzebę upakowania nowego DNA w chromosomy i zapobiega toksycznemu gromadzeniu się nadmiaru białek poza fazą S, kiedy nie są one już potrzebne. Deregulacja może prowadzić do zaburzeń w ekspresji innych genów, niestabilności chromosomów oraz zatrzymania cyklu komórkowego (areszt komórki). Tak więc, w fazie S cyklu komórkowego ekspresja genów histonowych wzrasta około 35-krotnie w wyniku aktywacji transkrypcji i wydajności dojrzewania końca 3' transkryptów oraz ich zwiększonej stabilności. Pod koniec fazy S, kiedy ilość histonowych białek musi być zredukowana, ekspresja ich genów zostaje zahamowana. Mała jądrowa rybonukleoproteina U7 snRNP (ang. U7 small nuclear ribonucleoprotein) jest jednym z kluczowych czynników w procesie dojrzewania końca 3' histonowych mRNA. Jednakże, mimo że jedyna do tej pory znana funkcja tej cząstki ograniczona jest do fazy S cyklu, poziom ekspresji jej trzech, specyficznych składników – U7 snRNA oraz białek Lsm10 i Lsm11, pozostaje niezmienny podczas trwania całego cyklu. Rodzi się więc pytanie: jaka jest rola kompleksu U7 snRNP lub jego komponentów poza fazą S cyklu komórkowego?

Głównym celem projektu jest więc poznanie dodatkowej funkcji, jaką kompleks lub jego składniki, mogą pełnić poza fazą S. Jedną z naszych hipotez zakłada, że U7 snRNP wraz z dwoma innymi białkami, FUS i hnRNP UL1, działa jako inhibitor transkrypcji histonowych genów w innych fazach cyklu, chroniąc tym samym komórkę przed toksycznym wpływem nadmiaru niewykorzystanych histonów. Przypuszczamy, że te dwie przeciwstawne funkcje U7 snRNP, represora i aktywatora ekspresji genów histonowych, mogą być przełączane poprzez zmianę modyfikacji potranslacyjnych białek FUS i/lub hnRNP UL1 w różnych fazach cyklu komórkowego, co wpływa następnie na ich wzajemne interakcje. Dalsze analizy stanu fosforylacji, lokalizacji komórkowej i wzajemnych oddziaływań U7 snRNP, FUS i hnRNP UL1 pozwolą głębiej poznać tę dwojaką funkcję U7 snRNP i opisać istotny mechanizm regulacji ekspresji genów histonowych w czasie trwania cyklu komórkowego.

Alternatywna hipoteza zakłada, że kompleks U7 snRNP lub jego specyficzne składniki, które mogą działać niezależnie poza kompleksem, pełnią dodatkową funkcję, która nie jest związana z ekspresją histonowych genów. Aby odpowiedzieć na to pytanie planujemy monitorować lokalizację komórkową całego kompleksu U7 snRNP lub jego specyficznych, poszczególnych komponentów w warunkach wyciszenia pozostałych z nich. Analizy przeprowadzimy w zsynchronizowanych komórkach lub przyżyciowo - podczas trwania pełnego cyklu komórkowego. Spróbujemy ponadto zidentyfikować inne białka, niezwiązane z ekspresją genów histonowych, wiążące się do U7 snRNP poza fazą S cyklu. Podejmiemy też próbę opisanie składu alternatywnej cząstki U7 snRNP, złożonej bez udziału białek Lsm10 i Lsm11, oraz składu innego kompleksu Lsm/Sm zawierającego dimer Lsm10/Lsm11 ale pozbawionego U7 snRNA. Wreszcie, zbadamy profil ekspresji genów na poziomie mRNA w komórkach z wyciszeniem U7 snRNA, ponieważ pokazano, że U7 snRNA może negatywnie regulować ekspresję genu poprzez blokowanie specyficznego czynnika transkrypcyjnego.

Nasze hipotezy badawcze oparte są na opublikowanych danych i naszych wstępnych wynikach. Jesteśmy przekonani, że zaproponowane w projekcie eksperymenty, mające na celu głębszą charakterystykę U7 snRNA, Lsm10 i Lsm11 oraz całego kompleksu U7 snRNP podczas pełnego cyklu komórkowego pozwolą opisać ich dodatkowe funkcje i wyjaśnić stabilny poziom ekspresji tych czynników w komórce. Opiszemy unikatowy mechanizm zależnej od U7 snRNP inhibicji transkrypcji genów histonowych poza fazą syntezy DNA, chroniący komórkę przed toksycznym wpływem nadmiaru histonów, który może prowadzić do niestabilności chromosomów czy aresztu komórkowego. Lub też poznamy nową ścieżkę molekularną, wymagającą zaangażowania U7 snRNP lub jego składników.