

Opis popularnonaukowy

Prawidłowe funkcjonowanie roślin zależy od efektywnej adaptacji do zmiennych warunków środowiskowych. Jednym z elementów adaptacyjnych jest sprawna regulacja ekspresji genów, która może zachodzić m.in. za pośrednictwem krótkich, niekodujących cząsteczek RNA zwanych microRNA (miRNA). W cytoplazmie miRNA przyłączają się do komplementarnego mRNA i uczestniczą w jego degradacji lub hamowaniu translacji. MiRNA transkrybowane są przez RNA Polimerazę II (RNAPII) w postaci prekursorów pri-miRNA, zawierających strukturę spinki do włosów, gdzie znajduje się sekwencja dojrzałej cząsteczki miRNA oraz komplementarna do niej sekwencja miRNA*. Proces powstawania miRNA przebiega dwuetapowo. Po transkrypcji, z pri-miRNA odcinana jest struktura spinki do włosów, w wyniku czego powstaje pre-miRNA. Następnie wycinany jest dupleks miRNA/miRNA*, z którego powstaje dojrzała cząsteczka miRNA. Dojrzewanie miRNA zachodzi z udziałem kompleksu białkowego zwanego mikroprocesorem, który zbudowany jest z ryonukleazy DCL-1 oraz białek HYL1 i SERRATE (SE). W naszym laboratorium pokazano, że SERRATE, poza jego rolą w biogenezie miRNA, zaangażowane jest również w proces splicingowy oraz oddziałuje z białkami kompleksu U1snRNP. Jednym z tych białek jest PRP40. W ostatnim czasie pokazano również, że PRP40 oddziałuje bezpośrednio z domeną CTD RNA Polimerazy II.

W niniejszym projekcie postanowiłem zbadać rolę PRP40 w rekrutacji spliceosomu i białek mikroprocesora do kompleksu aktywnej Polimerazy RNA II. Wykorzystanie metody mikroskopowej oraz analizy statystycznej pozwoliło określić poziom takiej kolokalizacji oraz jej zmiany w różnych mutantach. W rezultacie, na podstawie otrzymanych danych było możliwe skonstruowanie modelu pokazującego powiązania pomiędzy transkrypcją, splicingiem oraz biogenezą miRNA. Zgodnie z nim, PRP40, wiążąc się z domeną CTD RNAPII pośredniczy w rekrutacji SE do kompleksu transkrypcyjnego. Na tym etapie białko PRP40 nie jest związane z U1-70K i U1snRNA w kompleksie U1snRNP. W początkowych etapach transkrypcji następuje także asocjacja HYL1, który poprzez fosfatazę CPL1 wiązane jest z domeną CTD RNAPII. Wiązanie HYL1 z kompleksem RNAPII jest niezależne od PRP40 i SERRATE. Po syntezie kilkudziesięciu nukleotydów, koniec 5' nowego transkryptu związany zostaje przez kompleks CBC, co wymaga obecności PRP40 i SERRATE. W trakcie elongacji następuje najprawdopodobniej włączenie PRP40 do cząstki U1snRNP, co w efekcie umożliwia splicing powstającego transkryptu. Białkami pośredniczącymi w interakcji U1-70K i PRP40 mogą być Luc7 i RBM25. Asocjacja DCL-1, zależna od PRP40, SERRATE i CBC umożliwia w dalszym etapie biogenezę miRNA.

