

摘要

訊息核糖核酸前驅物剪接反應的發生包含了兩步的轉酯作用，此反應是由剪接體所催化的。剪接體是一個極為動態的核糖核酸蛋白質複合體，剪接反應過程中，剪接體歷經結構上的重組與組成成分的轉換，每一個反應步驟都需要一個專一性的 DExD/H box 核糖核酸旋解酶，DExD/H box 旋解酶水解 ATP 來調整剪接體結構以允許反應的發生。Prp2 旋解酶將 U2 小核糖核酸蛋白質成員 SF3a 和 SF3b 從剪接體上移除，以允許參與第一步反應的蛋白質(Yju2, Cwc25 和 HP-X)作用，進而促使第一步的反應發生。

本論文中，我們發現在第一步反應發生後，Yju2 和 Cwc25 將會被 Prp16 旋解酶從剪接體上移除，並允許參與第二步反應的蛋白質(Prp22 和 Slu7)結合上剪接體，併促使第二步的反應。此外 Yju2/Cwc25 與 Prp22/Slu7 這兩組蛋白是無法同時存在於剪接體上的。Cwc25 會直接結合到核糖核酸受質上，這樣子的接觸會因分歧點的突變(brG 和 brC)而變得不穩定。我們推測 Cwc25 可能位於剪接體的中心。我們進一步發現在分歧點突變核糖核酸受質的剪接反應過程中，第一步的剪接反應需要 Prp16 的參與，Prp16 可穩定 Cwc25。我們的結果顯示無論第一步的反應發生與否，Prp16 都具有從剪接體上移除 Cwc25 的能力，第一步轉酯作用的反應速率與 Prp16 所調控的 Cwc25 的移除速率之間的競爭決定了剪接反應的效率，為分歧點序列忠實性的調控提出了一個校正的機制。

我們進一步發現利用免疫沉澱純化下的剪接體，在適當的條件下，兩步的轉酯作用都是可逆的。剪接體也可以催化SER反應以及套索狀中間產物的去分支 (debranching) 兩種水解反應。這些反應彼此之間是互相競爭的，反應的方向取決於所培孕的環境或是抗體結合於Slu7 和Cwc25 的位置。這兩個蛋白是位於剪接體的催化中心。分歧點的突變同樣也會影響這些反應的相對效率。我們的結果推測在反應步驟中的剪接體，一旦剪接體組合好後，剪接體藉由稍微改變本身的結構即可催化各式各樣的反應，儘管剪接體需要不同組的蛋白來催化兩步的正向反應，對於各式各樣的反應而言，大規模的結構重組以及能量是不需要的。