Analysis of Synthetic Lethality Reveals Genetic Interactions Between the GTPase Snu114p and snRNAs in the Catalytic Core of the *Saccharomyces cerevisiae* Spliceosome

Lily Novak Frazer, Simon C. Lovell and Raymond T. O’Keefe

Copyright © 2009 by the Genetics Society of America
DOI: 10.1534/genetics.109.107243
| Primer | Sequence, 5’ to 3’ |
|--------|---------------------|
| SnU114 into pRS416 | |
| Snu1l14F | TTTTACAGAAGCGATACACAATAGTCCTGAAACATAGCAACAGTGAGCTGCAGGAC |
| Snu1l14B | TATTTGAGCATAATTGCTTTAATTTTGTATACAGGATATAGATGAGG |
| ΔN114-DELN2 | |
| SNU114 mutagenesis | |
| V233D | CAGCAAGTAGTTTGGATTTAATCGTGATAG |
| L236D | CAAGTGGTTTTAATCGTGATAGATG |
| L236E | CAAGTGATTTGGTTGAGATCGTGATAGATG |
| L236P | CAAGTGATTTGGTTCCGATCGTGATAGATG |
| V266D | CAGCAATGGTGTGTTGATAAAATTAACACTC |
| V266A | CAATTTGTTTGGCTATAAAATTAACACTC |
| V266F | CAATTTGTTTGGCTATAAAATTAACACTC |
| V266H | CAATTTGTTTGGCTATAAAATTAACACTC |
| V266K | CAATTTGTTTGGCTATAAAATTAACACTC |
| V266S | CAATTTGTTTGGCTATAAAATTAACACTC |
| V266W | CAATTTGTTTGGCTATAAAATTAACACTC |
| V266D | CAATTTGTTTGGCTATAAAATTAACACTC |
| L563D | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| L563A | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| L563F | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| L563H | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| L563M | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| L563P | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| L563S | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| L563W | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| V562D | CAATTTTATTGGAAAGGATATCTATAGATG |
| V562A | CAATTTTATTGGAAAGGATATCTATAGATG |
| V562S | CAATTTTATTGGAAAGGATATCTATAGATG |
| V562K | CAATTTTATTGGAAAGGATATCTATAGATG |
| V562W | CAATTTTATTGGAAAGGATATCTATAGATG |
| V562D | CAATTTTATTGGAAAGGATATCTATAGATG |
| L563D | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| L563A | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| L563F | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| L563H | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| L563M | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| L563P | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| L563S | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| L563W | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| L563Y | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| V562A | CAATTTTATTGGAAAGGATATCTATAGATG |
| V562K | CAATTTTATTGGAAAGGATATCTATAGATG |
| V562W | CAATTTTATTGGAAAGGATATCTATAGATG |
| L563D | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| L563A | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| L563F | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| L563H | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| L563M | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| L563P | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| L563S | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| L563W | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| L563Y | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| V562A | CAATTTTATTGGAAAGGATATCTATAGATG |
| V562K | CAATTTTATTGGAAAGGATATCTATAGATG |
| V562W | CAATTTTATTGGAAAGGATATCTATAGATG |
| L563D | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| L563A | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| L563F | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| L563H | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| L563M | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| L563P | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| L563S | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| L563W | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| L563Y | AGGAGGAGATAGTGATACAAATTTGTTAATGATTAAGGAT |
| V562A | CAATTTTATTGGAAAGGATATCTATAGATG |
| V562K | CAATTTTATTGGAAAGGATATCTATAGATG |
| V562W | CAATTTTATTGGAAAGGATATCTATAGATG |
**U5 mutagenesis**

- **C79A**
  - AGAACATGATGCCTTATAGTGTTCA

- **G80U**
  - AAAAGCCATGTTTAAATAGTCTTCT

- **G80A**
  - AAAGCCCATTTGTTTAATAGTCTTCT

- **A100G**
  - GGTATGGTTTCTTGCAAAAGGCAAGAA

- **G646R (114-30)**
  - GAACATGTAATACTACGTGTTTCTGTGTT

- **M842R (114-40)**
  - CAAATTATTCCGCTAAGAAAAAGCCTGTTACG

- **ΔA41-U74**
  - ATGTTCGTTATGATGTTGACC

- **ΔG93**
  - TCTGGTAAAAGGAGAAGACCATGGT

- **ΔC94C95**
  - GCTGTAAAACAAGAACCATGT

- **ΔC79**
  - CAAGAAACCTGTTTATAAGTTCTATAG

- **ΔC79G80**
  - CAAGAAACCTGTTTTATAAGTTCTATAG

- **ΔC79G80**
  - CAAGAAACCTGTTTTATAAGTTCTATAG

- **ΔC79**
  - GCTGTAAAAGGAGAAGACCATGGT

- **ΔC112G113**
  - GAGACACACCGATGGTTCTGGTAAAAG

**U2 mutagenesis**

- **C22A**
  - CCTTTGGATAGATGATGATGACG

- **C22G**
  - CCTTTGGGATAGATGATGACG

- **U23C**
  - CCTTTGGCTAGATGATGATGACG

- **U23G**
  - CCTTTGGCTGAGATGATGATGACG

- **U24A**
  - CCTTTGGCTGAGATGATGATGACG

- **ΔA25**
  - CCTTTGGGATAGATGATGATGACG

**U4 mutagenesis**

- **G14C**
  - GGCTATTTGGGCGTCTAGAC

- **U57A**
  - AATTCCACCCACGCTAAGAACAACTCTCGGAC

- **G58A**
  - GTTTATACAAAAATTCCACCCAGTTAAAAACAG

- **G59U**
  - GTTTATACAAAAATTCCACCCAGTTAAAAACAG

- **U60C**
  - GTTTATACAAAAATTCCACCCAGTTAAAAACAG

- **U64G**
  - GTTTATACAAAAATTCCACCCAGTTAAAAACAG

- **U64A**
  - GTTTATACAAAAATTCCACCCAGTTAAAAACAG

**U6 mutagenesis**

- **A47G**
  - AATTGGAAACAAATGCATAGATGATGACG

- **G48A**
  - AATTGGAAACAAATGCATAGATGATGACG

- **A49C**
  - AATTGGAAACAAATGCATAGATGATGACG

- **G50U**
  - AATTGGAAACAAATGCATAGATGATGACG

- **G52U**
  - GGGGAAATCTGCTAGTCAACTCTCTTGTTTAAAACAC

- **A53U**
  - AATTTAAATTTGCGACAAAGAACAG

**U3 short form**

- **TAGAAAGATATAGTTTTCACAAAATATGGTCTCACGCGGAGATGCCAGTTCC**
U54C,G55A  AACAATACAGAGAATCAGCAGTTCCC
Ins 1U G55/A56  AATACAGAGATGTACAGCAGTTCCC
A56CU57C  CAATACAGAGATGCCGAGCAGTTTC
G38U  CAATACAGAGATTCAGTTTC
A59C  CAATACAGAGATTCGAGGAGTTCCCCTGCATAG
G61G  CAATACAGAGATTCGGAGTTCCCCTGCATAG
A62G  CAGAGATTCAGCCGCTGCCATAG

**hphNT1 into U4**
U4hphNT1F  ACTTACGTTTAAATGCATTTTCTTTTCTTTTCTACCTCCCTCCCTAGTTCACTCCGAGGTGGGCTG
U4hphNT1R  CGAC

**U4 into pRS416**
U4GF  CGGGATCTATAGAGGAGCAACATACGC
U4GR  GGGGTACCTCTCTGCTGTTTTAGTTTACCG

**SNV114 primer extension**
U3snoRNA-RT  CCAAGTTGGATTCAGTGCTC

**Met vector**
Met15F  ACGGCTACTAGTGGATAGATAGTTG
Met15B  CGGGATCCCTGCAGACTAGTATGTCCTGGCTATC