Abstrakt (Czech)

Fosfoinositidy jsou glycerofosfolipidy se záporným nábojem. Jako složky buněčných membrán se podílejí na membránové dynamice, buněčném pohybu, signalizaci a na modulaci iontových kanálů a membránových transportérů. Kromě cytoplazmy fosfoinositidy také lokalizují do buněčného jádra. Fosfoinositidy hrají roli v klíčových jaderných procesech, jako je transkripce DNA, zpracování pre-rRNA a pre-mRNA, reakce na poškození DNA, diferenciace buněk nebo apoptóza. Fosfatidylinositol 4-fosfát (PI(4)P) a fosfatidylinositol 4,5-bisfosfát (PI(4,5)P2) jsou nejhojnějšími fosfoinositidy v buňce. Lokalizace a funkce obou fosfoinositidů v buněčnem jádře je do značné míry neznámá. V této práci popisujeme lokalizaci PI(4)P a PI(4,5)P2 na úrovni superrozlišení a jejich zapojení do jaderných procesů.

PI(4)P je přítomen v jaderné lamině, jaderných speckles, jádérkach a tvoří malá ohniska v nukleoplasmě. Většina jaderného PI(4)P se lokalizuje do nukleoplasmy, zatímco jenom 16% je přítomno v jaderných speckles. V případe PI(4,5)P2 je situace opačná, většina je lokalizována v jaderných speckles, 30 % je v nukleoplasmě a menšina v jadérkách. V nukleoplazmě tvoří PI(4,5)P2 malé ložiska nazývané nukleární lipidové ostrůvky (NLIs). Jádro NLIs je bohaté na lipidy a je obklopené proteiny, RNA a DNA. Periferie NLIs je spojena s transkripcí katalyzovanou RNA polymerázou II (RNA pol II). Jaderný myosin 1 (NM1) lokalizuje na periferii NLIs, kde interaguje s PI(4,5)P2. Tato interakce je nezbytná pro transkripci zprostředkovanou RNA pol II. Hladiny aktivní transkripce RNA pol II jsou závislé na hladinách PI(4,5)P2. NLIs poskytují strukturální platformu podporující tvorbu transkripčních továren RNA pol II.

Analýza hmotnostní spektrometrie imunoprecipitovaných PI(4)P lipidovo-proteinových komplexů odhalila téměř 100 jaderných proteinů účastnících se podstatných jaderných procesů, jakými jsou zpracování pre-mRNA, transkripce nebo jaderný transport. Tyto výsledky poukazují na zásadní roli PI(4)P v podstatných jaderných procesech.

V této práci dále ukazujeme, že lysin-specifická histon demetyláza 1 (LSD1) interaguje přímo s PI(4)P a PI(4,5)P2. LSD1 odstraňuje metylovou skupinu z H3K4me2 a potlačuje tak transkripci genů. Vazba PI(4)P na LSD1 inhibuje aktivitu enzymu, avšak aktivita enzymu je stimulována interakcí s PI(4,5)P2 in vitro. Fosforylace PI(4)P nebo defosforylace PI(4,5)P2 představuje možnost rychlého regulačního mechanismu ovlivňujíci funkci LSD1 in vivo.