

## Abstrakt (Česky)

Fosfatidylinositoly jsou podtřídou glycerofosfolipidů s jejich inositolovou hlavní skupinou spojenou s diacylglycerolovou kostrou. Diferenciální fosforylace inositolové hlavní skupiny poskytuje sedm různých fosfoinositidfosfátů (PIP), které mohou být mono-, bi- nebo tri-fosforylované. Role cytoplazmatických PIP byly rozsáhle studovány ve vezikulárním transportu, iontových kanálech, transportérech, generujících druhé posly a membránové a cytoskeletální dynamice. Zatímco jejich cytoplazmatické funkce jsou velmi dobře popsány, molekulární mechanismus jejich jaderných funkcí je stále málo pochopen.

Z jaderných PIP je fosfatidylinositol 4,5-bisfosfát (PIP2) nejhojnějším fosfoinozitem v buněčném jádru a podílí se na vytváření jaderné architektury regulací procesů, jako je remodelace chromatinu, reakce na poškození DNA a genová exprese. V buněčném jádře se lokalizuje většinou do jaderných skvrn, kde interaguje se sestřihovým aparátem RNA. V jádru je PIP2 zapojen do mechanismu regulace transkripce rDNA RNA polymerázou I. Nedávno jsme definovali nukleoplazmatický pool PIP2, který je pozorován v ostrůvcích o průměru 40 - 100 nm (NLI). Vznikající transkripty RNA polymerázy II (RNAPII) byly vizualizovány na jejich periférii a ukázalo se, že RNA je nezbytná pro jejich integritu. V této studii jsme se snažili prozkoumat roli PIP2 v transkripčním aparátu RNAPII.

Transkripční cyklus RNAPII je obecně rozdělen do čtyř kroků; Iniciaci, proximální pauza promotoru, elongace a ukončení. Specifické posttranslační modifikace C-terminální domény (CTD) RNAPII koreluje se stádiem transkripce RNAPII a vytváří termín „CTD kód“. Fosforylace zbytků Serinu5 této domény je spojena s iniciačními kondenzáty, které se tvoří separací kapalina-kapalina (LLPS). Fosforylace tyrosinu1 CTD nastává během proximální pauzy promotoru a označuje uvolnění RNAPII z iniciačního kondenzátu. Tento proces je nezbytný pro spuštění uvolňování RNAPII, protože následná fosforylace Serine2 CTD ruší afinitu RNAPII k iniciačnímu kondenzátu.

Pomocí této studie jsme identifikovali jaderný interaktom PIP2 a definovali procesy, které jsou spojeny s některými PIP2-efektory. Myosin Phosphatase Rho-Interacting Protein (MPRIP) byl odhalen jako slibný efektor pro zprostředkování PIP2-asociované RNAPII transkripce. V souladu s tím jsme identifikovali MPRIP ve stejném komplexu s RNAPII a NMI. Pomocí mikroskopie s vysokým rozlišením jsme lokalizovali MPRIP na jaderné struktury obsahující PIP2. V experimentech s vysokou expresí vykazuje MPRIP charakteristiky LLPS v jádře a vykazuje nové fázové chování, které ukazuje na regulační funkci týkající se polymerace jaderného aktinu. Dále jsme ukázali, že vyčerpání MPRIP podporuje tvorbu iniciačních

kondenzátů RNA polymerázy II a zvyšuje asociaci Ser5P-CTD (serin 5 fosforylovaný CTD) s PIP2. Poté se ukázalo, že MPRIP zprostředkovává spojení mezi Tyr1P-CTD a PIP2. Nakonec jsme ukázali, že MPRIP určuje lokalizaci Tyr1P-CTD na jaderné skvrny a NLI. V úhrnu naše data poskytují nový pohled na roli PIP2 v transkripci RNAPII prostřednictvím nového regulátoru transkripce, který definuje spojení mezi Tyr1P-CTD a PIP2.