

5 Zusammenfassung

Die Stoffwechselwege und die Signalfunktionen der Phosphatidylinositole in der Plasmamembran und der Inositolphosphate im Zytoplasma sind gründlich untersucht. Offensichtlich gibt es in eukaryotischen Zellen ein nukleäres Gegenstück für diese Stoffwechselwege, da die entsprechenden Enzymaktivitäten und Inositolderivate auch im Zellkern gefunden werden. Darüberhinaus gehend wurde eine Rolle der nukleären Inositolphosphate im mRNA-Export und in der Transkriptionsregulation beschrieben. Letztgenannte Funktion wird wahrscheinlich durch Inositolphosphat-abhängige Chromatin-Remodellierung vermittelt [Rando et al., 2003].

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die intrazelluläre Zielsteuerung von Enzymen des Inositolphosphat-Stoffwechsels in Säugetierzellen eingehend untersucht. Ein humanes Homolog des Hefeproteins ArgRIII (genannt: humane Inositolphosphat Multikinase, HsIPMK) wurde erstmals identifiziert und die entsprechende Vollängen cDNA kloniert. Durch Lokalisationsstudien mit EGFP-Fusionsproteinen wurde ein für die Zielsteuerung in den Zellkern verantwortliches nicht-klassisches Kernlokalisierungssignal in der C-terminalen Region der HsIPMK identifiziert. Diese nukleäre Lokalisation ist bei der Hefe verantwortlich für zusätzliche Funktionen in der Transkriptionsregulation und im mRNA-Export. Außerdem konnten Hinweise für einen durch Bindungspartner der HsIPMK vermittelten Kotransport-Mechanismus charakterisiert werden, der beim Menschen eine ähnliche Rolle in der Transkriptionsregulation vermuten lässt. In weiteren Studien wurde gezeigt, dass die neuartige Isoform C der Inositol (1,4,5)-trisphosphat 3-Kinase (IP3K-C) aus Mensch und Ratte einem komplexen nukleozytoplasmatischen Shuttling unterliegt. In der N-terminalen Domäne befinden sich eine nicht-klassische Kernimport-Aktivität und ein Leucin-reiches Kernexportsignal. Der nukleäre Export wird durch das Exportin 1 vermittelt und durch das Toxin Leptomycin B zum Erliegen gebracht.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass in Säugetieren die IPMK und die neuartige Isoform C der IP3K durch aktive Mechanismen in den Zellkern transportiert werden. Ihre enzymatischen Aktivitäten ergänzen den nukleären Inositolphosphat-Stoffwechsel, der dadurch einen ähnlichen Grad an Komplexität erreicht wie sein zytoplasmatisches Gegenstück. Eine Interaktion der HsIPMK mit Bindungspartnern, möglicherweise Transkriptionsfaktoren wie beim homologen Protein in der Hefe, könnte die vor kurzem beschriebene Verbindung zwischen Inositolphosphaten und Transkriptionsregulation vermitteln.

Summary

The metabolism and signaling function of phosphatidylinositols in the plasmamembrane and of inositol phosphates in the cytoplasm have been well studied. Apparently nuclear counterparts of these pathways exist in eucaryotic cells, since the corresponding enzyme activities and inositol derivatives are also found in the nucleus. Roles of nuclear inositol phosphates in mRNA export and transcription regulation have been described. The latter function is probably mediated by inositol phosphate-dependent chromatin remodeling [Rando et al., 2003].

In this thesis the intracellular targeting of mammalian enzymes of inositol phosphate metabolism was examined. A human homolog of the yeast protein ArgRIII (named: human inositol phosphate multikinase, HsIPMK) was identified and the corresponding full length cDNA cloned. A non-classical nuclear localization signal in the protein's C-terminal region determining its targeting to the nucleus was identified by localization studies in mammalian cells using EGFP fusion proteins. The protein's nuclear localization is appropriate to additional tasks in transcription regulation and mRNA export as observed in yeast. Furthermore the possibility of a co-transport mechanism mediated by binding partners of HsIPMK was found, indicating a role in transcription regulation. Further studies show that the novel C-isoform of inositol 1,4,5-trisphosphate 3-kinase (IP3K-C) from man and rat undergoes a complex nucleocytoplasmic shuttling. A non-classical nuclear import activity and a leucine-rich nuclear export signal are located in the N-terminal domain. The nuclear export is mediated by exportin 1 and can be inhibited by the toxin leptomycin B.

In summing up, the HsIPMK and the novel C-isoform of IP3K-C are transported into the cell nucleus by active mechanisms in mammalian cells. Their enzymatic activities complete the nuclear inositol phosphate metabolism exhibiting a similar degree of complexity as its cytoplasmic counterpart. An interaction of HsIPMK with binding partners, probably transcription factors as observed in yeast, could mediate the previously described connection between inositol phosphates and transcription regulation.