

Lipin triggers rate-limiting steps during mitotic lamin phosphorylation and disassembly

Doctoral Thesis

Author(s):

Mall, Moritz

Publication date:

2011

Permanent link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-006527379>

Rights / license:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#)

DISS. ETH NO. 19663

LIPIN TRIGGERS RATE-LIMITING STEPS DURING MITOTIC
LAMIN PHOSPHORYLATION AND DISASSEMBLY

A dissertation submitted to
ETH ZURICH

for the degree of
Doctor of Sciences

presented by
MORITZ MALL

Master of Science, ETH ZURICH

15.04.1983

citizen of
Munich, GERMANY

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Iain Mattaj
Prof. Dr. Ulrike Kutay
Prof. Dr. Daniel Gerlich
Prof. Dr. Hemmo Meyer

2011

Abstract

The disassembly of the nuclear lamina represents a key step during mitotic breakdown of the nuclear envelope (NEBD) in higher eukaryotes and is triggered by several kinases.

Recently, we showed that the *C. elegans* phosphatidate phosphatase Lipin is essential for NEBD through its effect on mitotic Lamin disassembly. Lipins are conserved enzymes that catalyse the dephosphorylation of phosphatidate to diacylglycerol. Since protein kinase C isoenzymes that are involved in mitotic Lamin phosphorylation and disassembly are activated by diacylglycerol, we proposed that Lipin acts upstream in this pathway. In this thesis I provide evidence that Lipin facilitates mitotic Lamin phosphorylation and disassembly during NEBD.

To test if the NEBD-associated function of Lipin is evolutionarily conserved we established *in vivo* and *in vitro* assays to monitor the effect of Lipin depletion on Lamin disassembly in human cells. We could show by RNAi experiments that Lipin proteins are indeed essential for rate-limiting steps of mitotic A- and B-type Lamin disassembly in HeLa cells. In addition, Lipin depletion resulted in a prolonged prometaphase. The effect of Lipin depletion on Lamin disassembly was confirmed for human Lamin B1 *in vitro*. More importantly, Lipin knockdown by RNAi reduced Lamin phosphorylation in *C. elegans*. This data is in line with the observation that the inhibition of Lipin or protein kinase C prior to mitosis delayed Lamin disassembly to a similar extent in human cells. This supports our model of a protein kinase C-mediated Lipin function during NEBD.

Finally, we could show that depletion of the protein phosphatase Dullard, that is localised in the inner nuclear membrane and is known to activate Lipin, can phenocopy Lipin depletion in *C. elegans*. This suggests a spatial regulation of the proposed Lipin pathway during NEBD, through activation of Lipin at the nuclear envelope by Dullard.

Zusammenfassung

Während des mitotischen Abbaus der Kernhülle in höheren Eukaryonten, den man „nuclear envelope breakdown“ (NEBD) nennt, ist der Abbau der Zellkernlamina ein Schlüsselereignis, der von mehreren Kinasen eingeleitet wird.

Kürzlich konnten wir zeigen, dass die *C. elegans* Phosphatidatphosphatase Lipin aufgrund ihres Effektes auf mitotischen Laminnetzwerkabbau essentiell für den NEBD ist. Lipine sind konservierte Enzyme, welche die Dephosphorylierung von Phosphatidat zu Diacylglycerol katalysieren. Da Proteinkinase C-Isoenzyme, welche am mitotischen Abbau des Laminnetzwerks beteiligt sind, Diacylglycerol zur Aktivierung benötigen, haben wir die Hypothese aufgestellt, dass Lipin eine übergeordnete Rolle in diesem Signalübertragungsweg spielt. In dieser Doktorarbeit erbringe ich den Nachweis, dass Lipin während des NEBD die Laminphosphorylierung beeinflusst und den Abbau des Laminnetzwerks beschleunigt.

Um zu testen ob die Funktion von Lipin während des NEBD evolutionär konserviert ist, haben wir *in vivo*- und *in vitro*-Modelle etabliert, mit denen der Effekt von Lipindepletion auf die Auflösung des Laminnetzwerks in menschlichen Zellen untersucht werden kann. Wir konnten durch RNAi Experimente zeigen, dass Lipinproteine in der Tat essentiell für geschwindigkeitsbestimmende Schritte während der Auflösung des A- und B-Typ Laminnetzwerks in HeLa Zellen sind. Darüber hinaus resultierte Lipindepletion in einer Verlängerung der Prometaphase. Der Effekt von Lipindepletion auf den Laminnetzwerkabbau wurde für Lamin B1 *in vitro* bestätigt. Des weiteren reduzierte Lipin RNAi die Phosphorylierung von Lamin in *C. elegans*. Diese Daten stehen in Einklang mit der Beobachtung, dass die Inhibition von Lipin oder Proteinkinase C kurz vor der Mitose in menschlichen Zellen zu einer ähnlich Verzögerung des Laminnetzwerkabbaus führte. Sie stützen unser Modell einer Proteinkinase C-vermittelten Funktion von Lipin während des NEBD.

Schließlich konnten wir zeigen, dass die Depletion der Kernmembran-lokalisierten Proteinphosphatase Dullard, deren Funktion in der Aktivierung von Lipin besteht, einen ähnlichen Phänotyp in *C. elegans* hervorruft wie die Depletion von Lipin. Dies lässt auf eine lokale Regulierung des vorgeschlagenen Lipin Signalübertragungsweges während des NEBD schließen, und zwar durch Dullard-vermittelte Aktivierung von Lipin an der Kernmembran.