The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	A novel PIH1 protein Twister functions in cytoplasmic preassembly of axonemal dyneins
Author(s)	董, 楓嵐
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/60024
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【74】

氏　　名	董（トウ）　楓（フウ）　嵐（ラン）（Fenglan Dong）
博士の専攻分野の名称	博　士（理学）
学　位　記　番　号	第　２６２５５　号
学位授与年月日	平成 25 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 生命機能研究科生命機能専攻
学　位　論　文　名	A novel PIH1 protein Twister functions in cytoplasmic preassembly of axonemal dyneins （細胞質内軸糸 dyneins のプレアセンブリにおける新規 PIH1 タンパク質 Twister の機能）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　濵田　博司 （副査） 教　授　仲野　　徹　　教　授　近藤　寿人　　教　授　月田　早智子

論　文　内　容　の　要　旨

Cilia and flagella are long appendages that extend from the cell body, exist in ubiquitously from protozoa to mammals. They consist of a highly conserved microtubule-based axoneme. Two kinds of cilia exist: motile cilia and non-motile cilia (also known as primary cilia). Motile cilia contain outer dynein arms and inner dynein arms that hydrolyze ATP to power ciliary movement, defects of these two structures often cause primary ciliary dyskineisa including symptoms as respiratory infections, anosmia, male infertility, and situs inversus.

It has been revealed that subunits of axonemal dyneins are preassembly in the cytoplasm before being transported into cilia and flagella, however, the mechanism of how dyneins subunits assemble into complex in the cytoplasm is only partially understood. In the past few years, four dynein axonemal assembly factors PF13, ODA7, MOT48, PF22 were found to play important roles in this process. Here, in this paper, I report a novel dynein axonemal assembly factor *Twister*.

Twister was first identified in a genetic screen in zebrafish searching for polycystic kidney disease-related genes. Polycystic kidney disease is caused by dysfunction of cilia distribute in renal cells, and often co-occur with situs inversus. *Twister* null mice was generated to investigate its function in cilia and PKD. As the results, *Twister* is specifically expressed in the cytoplasm of spermatogenic cells in mouse testis, affecting the preassembly of subunits of outer dynein arms and inner arm dyneins. *Twister* protein contain a PIH1 domain, as well as PF13, MOT48. *Twister* is proved to have different roles with other dynein assembly factors. PF13, ODA7 and PF22 mainly function in affecting heavy chains stability in the cytoplasm, MOT48 affect stability of heavy chains and light chains of inner dynein arm, while here, *Twister* functions in earlier step, affecting the stability of intermediated chains possibly by assisting intermediate chains complex formation.

論文審査の結果の要旨

生体形態形成における繊毛の機能解析は、最近の生物学分野での特記課題のひとつとして、多方面から繊毛の重要な新規機能が明らかにされつつある。本研究では、一次繊毛の機能異常による病態のひとつである多発性嚢胞腎関連遺伝子として、ゼブラフィッシュで記載されている*Twister*遺伝子について、そのTwisterノックアウトマウス[*Twister(-/-)*マウス]の解析を行った。

一次繊毛の機能異常による多発性嚢胞腎の病態が予想されたが、*Twister(-/-)*マウスでは見いだされなかった。それは、ゼブラフィッシュにおいては腎臓の一次繊毛が運動性のものであるのに対し、マウスでは非運動性のものであるなど、種間に一次繊毛の機能の違いがあるのではないかと思われた。*Twister(-/-)*マウスの雌は正常であったが、雄は不妊であり精子形成に異常が認められた。*Twister(-/-)*マウスの精子は運動性を完全に失い、形態的には頭部は正常であったが尾部は断片化しやすい性質を示した。精子の明確な構造異常は、鞭毛軸糸に認められた。精子の鞭毛軸糸は、中心微小管とモーター分子ダイニンが付着した外側二重微小管からなる９＋２の構造を含むが、*Twister(-/-)*マウスの軸糸においては、その基本骨格構造に異常が認められた。すなわち外側と内側のダイニンアームの欠損とともに、微小管の９＋２構造も乱れていた。このダイニンア

ームの欠損が、精子の運動性の喪失や不妊の原因であると考えられた。

軸糸内のダイニンアームの欠損の原因としては，ダイニン複合体が軸糸に輸送される繊毛内トランスポート(intraflagellar transport:IFT)の異常、細胞質での複合体のpre-assemblyの異常、HSP70、HSP90等シャペロンによるダイニンホールディングの異常が考えられた。Twister蛋白質は精原細胞や精母細胞の細胞質には検出されるが、精子鞭毛軸糸には検出されないことより、IFTには直接関与していないことが示唆された。また、Twister蛋白質がPH1ドメインを持つこと，*Twister(-/-)*マウスの精原細胞・精母細胞の細胞質でのダイニン蛋白質が減少することより、Twister蛋白質は細胞質でのダイニン複合体形成に関与することが示唆された。

以上より、本研究においては、*Twister(-/-)*の表現系である精子形成の異常が、精子のライブ観察や電子顕微鏡観察により示されたことで、これまで未知であったTwister蛋白質の機能について、個体レベルでの検討が行われたことが評価に値する。Twister蛋白質の正確な機能に関しては，まだ不明な点が残るものの、細胞質における複合体形成に関与することを示唆し、今後の機能解析に方向性を与えた。以上を総合し、本研究内容は学位に値すると考える。