



Title	Cep128 associates with Odf2 to form the subdistal appendage of the centriole
Author(s)	柏原, 宏香
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/72481
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 柏原 宏香			
論文審査担当者	(職)	氏	名
	主 査	大阪大学教授	月田 早智子
	副 査	大阪大学教授	高島 九二
	副 査	大阪大学教授	原田 彰宏

論文審査の結果の要旨

中心体は細胞分裂時の紡錘体極や、一次繊毛形成時の基底小体としてなど、多くの細胞機能において重要な役割を担っている。その構成分子の異常は種々の疾患の原因となることが知られていることから、中心体構成分子の制御機構を正確に理解することは医学的にも重要な課題である。

中心体には2種類のアペンデージ構造（distal appendage[DA]とsubdistal appendage[SDA]）が付随しており、それらの構築と機能はOdf2によって制御されている。近年、アペンデージを構成する分子群の同定が進み、アペンデージ構築機序について明らかになってきたにもかかわらず、Odf2結合分子としてアペンデージ構築を担う分子の存在は知られていなかった。

本論文では、既存の各種オミクスデータの比較解析により、新規アペンデージ構成分子の候補としてCep128を見出した。超解像度顕微鏡を用いた解析の結果、Cep128がSDA構成分子であることが示された。さらに、Cep128がOdf2と相互作用し、その相互作用が起点となって他のSDA分子が集積することによってSDAが構築されることが明らかになった。また、Cep128の機能として、中心体微小管の安定性制御への関与が示唆された。

中心体は進化的に保存された細胞小器官であるが、その機能については未知な部分も多い。SDA構築の分子基盤を明らかにした本研究は今後のSDAひいては中心体機能の解析に大きく貢献することが期待される。よって、学位に値するものと認める。

論 文 内 容 の 要 旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	柏原 宏香
論文題名 Title	Cep128 associates with Odf2 to form the subdistal appendage of the centriole (Cep128はOdf2と相互作用して中心小体サブディスタルアペンデージを形成する)
論文内容の要旨 〔目 的(Purpose)〕 中心体は、多くの細胞機能にとって重要な役割を果たしており、その機能異常は種々の病態につながる。実際に中心体構成分子の異常は小頭症や小人症など中心体症の原因となることが知られている。正常細胞において、中心体構成分子の局在や機能などは正確に制御されているが、その制御機構の分子基盤の理解は十分ではない。 中心体は2つの中心小体によって構成されており、親中心小体には特徴的な2種類のアペンデージ構造 (distal appendage [DA]とsubdistal appendage [SDA])が付随している。私たちはこれまでに、親中心小体構成分子Odf2の機能解析により、Odf2がDA、SDAの構築ならびに機能を制御する重要な分子であることを示してきた。しかしながら近年、エクソーム解析や網羅的プロテオーム解析により、DA、SDAの構成分子の同定が進み、アペンデージの構築機序についても明らかになってきたにもかかわらず、現時点でOdf2結合分子としてアペンデージ構築を担う分子の存在は知られていない。そこで、本研究は、Odf2相互作用分子の探索と、Odf2を起点としたアペンデージ構造の分子構築基盤の解明を目的とした。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 中心小体は光学限界に迫る微細な構造体であることから、従来の光学顕微鏡では中心小体における構成分子の詳細な位置情報を得ることが困難である。そこで本研究では、構造化照明法に基づく超解像イメージングを適用した。 新規のアペンデージ構成分子を同定するため、既存のオミクスデータを統合的に解釈し、候補としてCep128を見出した。Cep128と既知の中心体構成分子との共染色を行い、その局在を超解像イメージングで比較した結果、Cep128はSDA構成分子であることが明らかになった。アペンデージは円柱状の中心小体から放射状に伸びる構造体であるため、アペンデージ構成分子はリング状の染色パターンを示す。Cep128を含む既知のSDA構成分子各々のN末およびC末タグ融合型分子を細胞内強制発現して、それらがつくるリング径を算出した。その結果、Odf2以外のSDA構成分子のリング径はすべてCep128と比較して大きな値を示した。Odf2とCep128の詳細な空間配置を解析すると、Odf2とCep128のC末端同士は非常に近接して配向していることが明らかになった。さらに、細胞内共免疫沈降実験でCep128がOdf2と相互作用することを見出した。これは、Odf2とCep128の蛍光抗体染色による近接する位置関係と一致する結果であった。 次に、SDA構築の分子基盤を明らかにするために、Cep128を含む既知のSDA構成分子をそれぞれsiRNAによって発現抑制し、互いの局在に与える影響について解析を行った。その結果、現時点で最小のリング径を示すOdf2に次いで小さなリング径を示すCep128が起点となり、他のSDA構成分子が階層的に集積することによって、SDAが構築されることが示唆された。 SDAは中心体微小管を安定化させる役割を担っているため、Cep128を発現抑制し、Nocodazoleを加えて微小管を脱重合させたときの中心体微小管の安定性を検討した。その結果、Control細胞と比較して、Cep128発現抑制細胞における中心体微小管の安定性は低下していた。 〔総 括(Conclusion)〕 Odf2と相互作用するCep128が起点となり、さらに他のSDA分子が集積することによってSDAが構築されるという新しい知見が得られた。また、Cep128の機能として、中心体微小管の安定性制御への関与が新規に示唆された。	