



Title	Ciliogenesis-induced localization of ciliary proteins in a non-ciliary and non-centriolar compartment
Author(s)	Lamri, Lynda
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/72625">https://hdl.handle.net/11094/72625</a>
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、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>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

## Abstract of Thesis

Name ( LAMRI Lynda )	
Title	<p>Ciliogenesis-induced localization of ciliary proteins in a non-ciliary and non-centriolar compartment (繊毛形成により誘起される非繊毛・非中心体区画における繊毛構成タンパク質の局在解析)</p>
<p>Abstract of Thesis</p> <p>Cilia are evolutionarily conserved organelles playing important functions in motility, sensory reception and signaling. Clusterin-associated protein 1 (Cluap1) Intraflagellar Transport (IFT) protein plays central importance in cilia formation. The aim of our study was to better characterize the localization of Cluap1's protein and mRNA. Our results show that Cluap1's localization at the base of the cilia correspond to the basal body, which makes Cluap1 a centriolar protein. In proliferating cells, this localization is cell cycle dependent as the protein remains in the centriole in all but M phases where it is delocalized and diffused in the cytoplasm. Immunocytochemistry experiments showed that Cluap1 co-localizes with Odf1 and is actually localized at the level of distal appendages, however, a preserved integrity of the proteins composing the distal appendages in Cluap1 mutant cells indicates that the Cluap1 protein is recruited in the complex at a later stage. Interestingly, 12h after induction of ciliogenesis by serum starvation, ~30% of cells showed a punctual Cluap1 protein signal negative for Centrin and acetylated Tubulin. We further showed that a similar pattern is also observable for other proteins of the IFT-B complex including IFT46 and IFT88. Co-immunostaining also revealed that Cluap1, IFT46 and IFT88 most likely all co-localize in the same spot. This non-centriolar non-ciliary Cluap1 spot was not observed in Cluap1 mutant, Kif3A<sup>-/-</sup> and Odf2 Null cells, suggesting its correlation with cilia formation. Further investigations on Cluap1's mRNA's localization using Cluap1 lacZ knock-in showed that, similar to the protein, Cluap1's mRNA was detected in a spot-like pattern. This mRNA is expressed at a low level and localized near the nucleus. This result was confirmed using the RNAscope technology, and a similar result was observed for the mRNA encoding IFT46. Finally, using two different transgenic mice lines, we demonstrate that the 5'UTR is responsible for targeting the transcript at the level of this peri-nuclear spot.</p>	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 ( Lamri Lynda )			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教授	近藤 滋
	副 査	教授	甲斐 歳恵
	副 査	教授	佐々木 洋
	副 査	教授	月田早智子

## 論文審査の結果の要旨

一次繊毛は、生体の形態形成や機能において重要な役割を担うことが知られており、その機能不全は肥満、網膜変性、腎不全、内臓錯位といった様々な病態を引き起こすことが知られている。全身のほとんどの細胞につき1本存在する一次繊毛は、細胞周期や細胞内外の状況に応じて、形成されたり、消失したりするため、その形成メカニズムの解明は、生体機能制御の面から注目される。しかしながら、その分子基盤の理解は十分ではない。

本研究では、ゼブラフィッシュの多発性嚢胞腎の原因遺伝子のひとつとして同定された機能未知の遺伝子について、そのマウス遺伝子Cluap1の機能解析を行った。Cluap1が、基底小体タンパク質であり、繊毛の伸長に本質的な役割を示すタンパク質であることを示した当該研究室の既報を基盤に、Cluap1が、細胞周期間期の繊毛形成時に中心体にも局在し、その局在が中心体に付随する構造体であるDistal appendageに特異的に依存することを示した。また、Cluap1は、一次繊毛形成時に、中心体以外に、細胞質にもspot状に存在し、過去に報告のない新たなオルガネラの存在を示唆した。そのspotは、Cluap1変異細胞では認められないが、種々の検出方法で認められたことから、実験上のアーチファクトではなかった。さらに、そのspotには、繊毛内輸送に重要なIFT46とIFT88 も共局在し、また繊毛形成能を失った種々の変異細胞では、そのspotが消失したことから、Cluap1/IFT46/IFT88を含むspotは、繊毛内輸送と関係しており、繊毛形成に重要であることが示唆された。

次に、Cluap1のmRNAの分布を検討するために、Cluap1の遺伝子にIRES-lacZを導入したマウスを作製した。その結果、Cluap1のmRNAも細胞内でspot状に検出された。IFT46のmRNAも同様のspot状の分布を示していたが、これらのタンパク質の分布との関連などは今後の課題として残された。

以上、繊毛形成の過程において、Cluap1のタンパク質やmRNAが細胞質でspot状に局在・分布することを見出した。Spotの機能的意義は不明であるが、繊毛形成の機構を理解する上で重要な発見と期待される。よって申請者Lamri Lynda氏は、博士の学位に値するものと認める。