



Title	The Drosophila AWP1 ortholog Doctor No regulates JAK/STAT signaling for left-right asymmetry in the gut by promoting Domeless receptor endocytosis
Author(s)	Lai, Yi-Ting
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/92177
rights	This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution and reproduction in any medium provided that the original work is properly attributed.
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 (Lai Yi-Ting)	
論文題名	<p>The <i>Drosophila</i> AWP1 ortholog Doctor No regulates JAK/STAT signaling for left-right asymmetry in the gut by promoting Domeless receptor endocytosis (AWP1のショウジョウバエ・オーソログであるDoctor NoはDomeless受容体のエンドサイトーシスを促進することで腸の左右非対称性形成においてJAK/STATシグナルを制御する)</p>
<p>論文内容の要旨</p> <p>The molecular mechanisms of left-right (LR) asymmetric development are a principal question in developmental biology. In invertebrates, the mechanisms to establish their LR asymmetry are not as conserved as the well-known systems including nodal flow in vertebrates. Many internal <i>Drosophila</i> organs show stereotypical LR asymmetry, for which the underlying mechanisms remain elusive. Through genetic screens, an evolutionarily conserved ubiquitin-binding protein, AWP1/Doctor no (Drn) was identified as a novel factor required for the LR asymmetry of the embryonic anterior gut in <i>Drosophila</i>. In this study, the results showed that <i>drn</i> is essential in the circular visceral muscle cells of the midgut for JAK/STAT signaling, which contributes to the first known cue for anterior gut lateralization via LR-asymmetric nuclear rearrangement. Mutants of various JAK/STAT signaling components also showed LR laterality defects in the embryonic anterior gut. Taken together, these results suggest a role of JAK/STAT signaling in regulating LR-asymmetric development. To confirm whether <i>drn</i> interacts with JAK/STAT signaling in other contexts during development, characteristic phenotypes associated with JAK/STAT signaling were examined. Embryos homozygous for <i>drn</i> and lacking its maternal contribution showed phenotypes similar to that of depleted JAK/STAT signaling, such as disturbed expression of a pair-rule gene, <i>even-skipped</i> (<i>eve</i>), and truncation of the trachea in the embryos, suggesting that Drn acts as a general component that positively regulates JAK/STAT signaling.</p> <p>Since the mammalian ortholog AWP1 binds ubiquitin and modulates functions of ubiquitinated proteins, I hypothesized that Drn might be involved in regulating endocytic trafficking of the JAK/STAT signaling pathway in <i>Drosophila</i>. To test this hypothesis, the colocalization of Drn with various endosomal compartments was examined. Drn appeared to localize to endocytic compartment markers such as Hrs, Rab5, Rab7, and LAMP1 at low frequency, which is consistent with the idea that Drn plays a role in endocytic trafficking. Furthermore, loss of Drn resulted in the specific accumulation of Domeless (Dome), the receptor for JAK/STAT signaling, in intracellular compartments including ubiquitinated cargos. Immunohistochemical data also showed that Dome colocalized with Drn in wild-type embryos. These results suggest that Drn is required for the endocytosis of Dome, which is a critical step in the activation of JAK/STAT signaling and subsequent degradation of Dome, as shown in previous studies. Overall, this study presents a working model of <i>drn</i>, a novel gene required for the strict regulation of JAK/STAT signaling through controlling endocytosis of Dome receptor, which is a mechanism involved in LR-asymmetric morphogenesis in the <i>Drosophila</i> anterior gut.</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (Yi-Ting Lai)			
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	教授	松野 健治
	副 査	教授	西田 宏記
	副 査	准教授	小田 広樹

論文審査の結果の要旨

ほとんどの動物は、内部器官の配置に個体差のない左右非対称性を持っており、その左右軸決定機構と非対称性の発生機構には多くの研究者が注目している。本学位論文の第一部では、**Doctor No (drn)** 遺伝子が、ショウジョウバエの消化器官前方部の左右非対称性の発生に必要であり、それには **JAK/STAT** 経路が関与していることを報告している。以前に行われた左右非対称性の発生に異常をきたすハエの変異体スクリーニングにおいて見つかった **drn** 遺伝子の **null** 突然変異体を新たに作成し、それらの変異体では消化器官前方部の左右非対称性に異常が見られることを確認している。次に、この遺伝子の機能が消化管を取り囲んでいる内臓筋肉細胞で働く必要があることを示している。ハエでは、消化管を取りまく筋肉細胞の核が、右側でのみ傾くことが知られている。**drn** 変異体ではこれが起こらないことがわかった。**Drn** は **JAK/STAT** 経路と何らかの関与があることが示されていたので、**JAK/STAT** 経路構成因子の変異体を解析したところ、これらも消化器官前方部の左右非対称性に異常を来すことがわかった。さらに、**STAT** の変異体に **drn** を過剰発現させたところ、その異常が救助された。また、**drn** 変異体では、**JAK/STAT** 経路が関与することがわかっている **even-skipped** 遺伝子の発現、気管の発生にも異常が見られることが判明した。これらのことは、**Drn** が **JAK/STAT** 経路を正に制御することで、消化管の左右非対称を決定していることを示している。

本学位論文の第二部では、**Drn** が **JAK/STAT** 経路の受容体である **Domeless (Dome)** の正常なエンドサイトーシスに必要であり、この機能を介して **JAK/STAT** 経路の活性を促進していることを報告している。ほ乳類の **Drn** ホモログはユビキチンと相互すると示唆されている。ユビキチン化は受容体のエンドサイトーシスにも関与している。そこでまず、**drn** 変異体で **Dome** タンパク質を可視化したところ、正常より多量の **Dome** タンパク質が細胞膜またはその近くに検出され、エンドサイトーシスによる **Dome** の取り込みと分解が阻害されていることが示唆された。

Drn は、色々なエンドサイトーシス小胞と低頻度で共局在することから、エンドサイトーシスで機能することが示唆された。また、**drn** 変異体では、**Dome** は、ユビキチン陽性の細胞内小胞に蓄積した。他のグループの研究成果から、ユビキチン化した **Dome** は、エンドソームに運ばれて分解経路に移行すると考えられている。したがって、本論文の成果から、**drn** 変異体では、**Dome** がエンドソームに正常に輸送されず、ユビキチン陽性の異常な細胞内小胞に蓄積したことが示唆される。さらに、他のグループの先行研究から、**Dome** がエンドソームに輸送されることが **Dome** の活性化に必要であることが示されていることから、本研究において、**drn** 変異体で **JAK/STAT** 経路の活性が低下するのは、**Dome** がエンドソームに輸送されないためだと示唆された。これらの結果は、**Drn** が **JAK/STAT** 経路の受容体である **Dome** のエンドサイトーシスを制御することにより **JAK/STAT** 経路の活性を制御し、ひいては左右非対称を決定していることを示唆している。

これらの研究成果は、細胞生物学、発生生物学研究において新しい見解をもたらしたのみならず、今後、この分野の研究の発展に寄与するもので、理学的貢献するところが大きい。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。