

第28屆王民寧獎

國內醫藥研究所博士班優秀論文獎

得獎者 吳千鼎

國立陽明大學

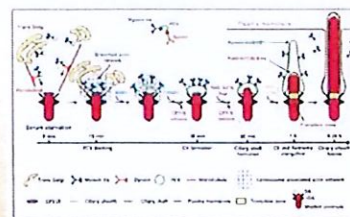
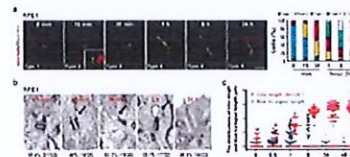
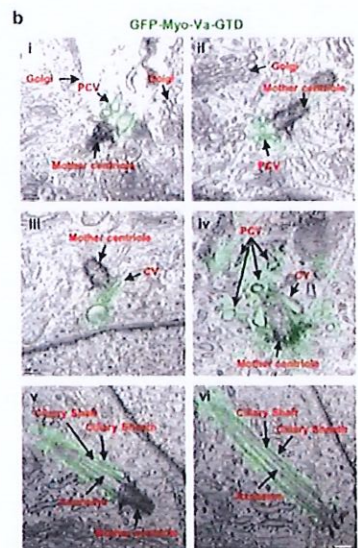
中央研究院跨領域神經科學

國際研究生博士學位學程



Myosin-Va所调控的前纖毛囊泡運輸開啟了纖毛形成初始步驟
Myosin-Va-mediated preciliary vesicle transportation is required for the
initial step of primary cilium assembly
Nat Cell Biol. 2018 Feb;20(2):175-185.

初級纖毛是由維管所組成的胞器。從細胞膜向外延伸至細胞外部來接收各式各樣的化學訊號。事實上，人體幾乎所有的細胞都具有初級纖毛，因此初級纖毛一但有缺陷，便會造成各式各樣影響器官發育的遺傳疾病，舉凡感覺器官、小腦、腎臟、肝臟、心臟、骨骼等，我們統稱為Ciliopathy。在初級纖毛形成的早期關鍵步驟，許多位於中心粒頂端的纖毛前囊泡會漸漸聚集融合成一個大的纖毛囊泡。但至今，我們不知道纖毛前囊泡以及纖毛囊泡上有什麼樣的蛋白，我們不知道纖毛前囊泡來自哪裡，我們也不知道這些纖毛前囊泡是怎麼被運送到中心粒頂端的。在我的研究裡，我運用3D結構光學顯微鏡(three-dimensional structured illumination microscopy)，以及整合式光學電子顯微鏡(correlative fluorescence light and electron microscopy)第一次發現到肌動蛋白運動蛋白，Myosin-Va會在纖毛前囊泡、纖毛囊泡，以及纖毛鞘上。我們也發現到Myosin-Va相聯繫的纖毛囊泡不只出現在以胞內機制來執行纖毛形成的纖毛細胞(像是RPE1、NIH3T3細胞)，也能發現在以胞外機制來執行纖毛形成的纖毛細胞(像是IMCD3細胞)。藉由CRISPR/Cas9技術剔除Myosin-Va基因會顯著的抑制早期以及晚期的纖毛前囊泡運輸，並且也抑制了纖毛的形成。表示Myosin-Va的確對於纖毛前囊泡運輸扮演重要的腳色。另外，藉由比較Myosin-Va與其他的纖毛蛋白在纖毛形成過程中被吸引到中心粒的相對時間，我發現跟EHD1、Smo、Rab11、MKS3以及TCTN2相比，Myosin-Va扮演更上游的腳色。此外，藉由破壞維管束以及動力蛋白(Dynein)，我們證實，Myosin-Va相聯繫的纖毛前囊泡可能來自於高基氏體，並且藉由維管束以及動力蛋白來運輸到中心體周邊區域。最後我們也發現利用Arp2/3抑制劑(CK-666)，以及利用siRNA來調降Arp2的蛋白表現會顯著的抑制在中心粒頂端的纖毛囊泡形成，但卻不會影響纖毛前囊泡被運輸到中心體周邊區域。總結，我們的研究清楚呈現Myosin-Va蛋白參與调控細胞纖毛組成的早期過程。Myosin-Va是目前唯一可用來辨識纖毛前囊泡、纖毛囊泡以及纖毛外膜的重要標的，並且Myosin-Va連結的纖毛囊泡在胞內機制或胞外機制都可以被發現，暗示Myosin-Va連結的纖毛囊泡普遍存在於不同型態的纖毛細胞。我們也發現Myosin-Va連結的纖毛囊泡被運送到中心體周邊區域是透過動力蛋白以及維管束所调控。接著，在進入中心體周邊區域後，Myosin-Va接手開始沿著分支型肌動蛋白網絡來運送纖毛前囊泡到中心粒頂端。



財團法人王民寧先生紀念基金會
WANG MING-NING MEMORIAL FOUNDATION