

## Paper of the month Juli 2017

### The ciliary membrane-associated proteome reveals actin-binding proteins as key components of cilia

Priyanka Kohli, Martin Höhne, Christian Jüngst, Sabine Bertsch, Lena K Ebert, Astrid C Schauss, Thomas Benzing, Markus M Rinschen & Bernhard Schermer

EMBO Rep. 2017 Sep;18(9):1521-1535. doi: 10.15252/embr.201643846. Epub 2017 Jul 14.

---

Primäre Zilien sind sensorische fühlertartige Organellen auf der Zelloberfläche in vielen Geweben und Organen des Menschen. Zilien spielen eine wichtige Rolle als Koordinatoren verschiedener Signalwege der ziliären Membran und am zellzyklischen Kontrollpunkt vor dem Wiedereintritt in die Mitosephase. Die regulatorischen Mechanismen dieser Funktionen sind bisher noch nicht ausreichend verstanden.

Daher untersuchten WissenschaftlerInnen des Forschungsverbunds *NEOCYST - Netzwerk für frühkindliche zystische Nierenerkrankungen* - das membranassoziierte Proteom der Zilien mit Hilfe des gentechnisch veränderten Enzyms APEX2, das gezielt an der ziliären Plasmamembran (cmAPEX) unter Biotinphenol und H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Zugabe endogene Proteine mit Biotin markiert. Mit Hilfe von fluoreszenzmarkiertem Streptavidin konnte im hochauflösenden STED-mikroskopischen Bild eine Anreicherung biotinylierter Proteine an der ziliären Membran beobachtet werden. Nach massenspektrometrischen Proteomanalysen der purifizierten biotinylierten Proteine konnten 301 signifikant angereicherte ziliäre Proteine identifiziert werden. Unter diesen befanden sich zahlreiche bekannte ziliäre Proteine wie IFT-Proteinkomplexe, kleine GTPasen, mikrotubuli-assoziierte Proteine, Proteine der Basalkörperchen, sowie ziliäre Transmembranrezeptoren. Der Forschungsverbund konnte jedoch auch neue ziliäre Proteine identifizieren. Zu diesen zählten zahlreiche Aktin-bindende Proteine (ABP) wie Aktinine, Tropomyosine, Coronin, Ezrin, Gelsolin, Coractin, Utrophin und Drebrin-like Proteine. ABPs sind eine integrale Komponente der Zilien, die einen Teil des membranassoziierten Proteinnetzwerks darstellen. Die ABPs könnten nach Meinung der Forscher, neben ihrer Rolle im Vesikeltransport oder der Positionierung der Zentrosome während der Ziliogenese, eine Rolle in der Aktinregulation in Zilien spielen. Die ABP Rekrutierung könnte der Adaptation der ziliären Membran an die Verlängerung des zentralen Mikrotubulus der Zilie oder sogar der Stabilisation der Zilie und ihrer Membran während dynamischer Veränderungen der Zilienlänge dienen. Damit bestätigt sich die Abhängigkeit der ziliären Biogenese von der zytoplasmatischen und kortikalen Aktindynamik. Mehrere dieser ABPs waren jedoch nur nach einer Behandlung der Zilien mit Cytochalasin D (CytoD), einem Induktor der Aktindepolymerisation, nachweisbar. Dies unterstützt die Annahme, dass die Aktindepolymerisation eine Zielausrichtung der Aktinfilamentnetzwerkproteine auslöst, was in der Folge zu einer Verlängerung der Zilien führt. Außerdem konnten die Forscher zeigen, dass Myo5a, ein aktinbasiertes Motorprotein, für die Ziliogenese erforderlich ist.

Da genetische Veränderungen von ziliären Genprodukten Erkrankungen verursachen, die als Ziliopathien bezeichnet werden, ist die Identifizierung der ABPs in der ziliären Membran ein wichtiger Schritt bei der Erforschung der genauen Funktion des ziliären Aktinnetzwerkes. Diese Erkenntnisse können nun genutzt werden, um die molekularen Mechanismen von Ziliopathien besser verstehen zu können.

---

**Kommentar von:** Jessica Ritter, [ritter.jessica@campus.lmu.de](mailto:ritter.jessica@campus.lmu.de)

## Paper of the month, July 2017

### The ciliary membrane-associated proteome reveals actin-binding proteins as key components of cilia

Priyanka Kohli, Martin Höhne, Christian Jüngst, Sabine Bertsch, Lena K Ebert, Astrid C Schauss, Thomas Benzing, Markus M Rinschen & Bernhard Schermer

EMBO Rep. 2017 Sep;18(9):1521-1535. doi: 10.15252/embr.201643846. Epub 2017 Jul 14.

---

Primary cilia are sensory, antennae-like organelles present on the surface of virtually all mammalian cells. Cilia play an important role as coordinators of different signaling pathways of the ciliary membrane and at the cell cycle checkpoint before reentry into mitosis. The regulatory mechanisms of these functions have not yet been sufficiently understood.

Therefore, the research group *NEOCYST - Network for Early Onset Cystic Kidney Diseases* investigated the membrane-associated proteome of cilia with the aid of the engineered enzyme APEX2, which biotinylates specifically endogenous proteins at the ciliary plasma membrane (cmAPEX) after the addition of biotinphenol and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. By fluorescently labeled streptavidin, a slight accumulation on biotinylated proteins could be observed at the ciliary membrane using superresolution STED microscopy. Proteomic analysis of enriched biotinylated ciliary proteins revealed 301 statistically significant ciliary membrane proteins. Among these were numerous known ciliary proteins were identified, for instance the IFT machinery, small GTPases, microtubule-associated proteins, basal body proteins and ciliary transmembrane receptors. However, the research group was also able to identify new ciliary proteins including actin-binding proteins (ABP) like actinins, tropomyosins, coronin, ezrin, gelsolin, cortactin, utrophin and drebrin-like protein. ABPs are an integral component of cilia, which is a part of the membrane-associated protein network. In the opinion of the researchers, the ABPs, in addition to their role in vesicle transport or centrosome positioning during ciliogenesis, might play a role in actin regulation in cilia. The ABP recruitment could serve the adaptation of the ciliary membrane to the extension of the central microtubule of the cilia or even the stabilization of the cilia and its membrane during dynamic changes of the ciliary length. This confirms the dependence of ciliary biogenesis on cytoplasmic and cortical actin dynamics. Notably, several of these ABPs were detectable only after treatment of cilia with cytochalasin D (CytoD), an inducer of actin depolymerisation. This supports the assumption that the actin depolymerisation triggers targeting of actin branch network proteins, resulting in elongation of cilia. In addition, the researchers have shown that Myo5a, an actin-based motor protein, is necessary for ciliogenesis.

Genetic changes affecting ciliary proteins can cause diseases called ciliopathies. Therefore, the identification of ABPs in the ciliary membrane is an important step in the investigation of the exact function of the ciliary actin network. These results can lead to a better understanding of molecular mechanisms within ciliopathies.

---

### Comment by

Jessica Ritter, [ritter.jessica@campus.lmu.de](mailto:ritter.jessica@campus.lmu.de)