

De l'importance des organismes modèles pour l'étude des cils et des flagelles

Laetitia Vincensini, Thierry Blisnick et Philippe Bastin

Unité de Biologie Cellulaire des Trypanosomes, Institut Pasteur et CNRS URA 2581, 25 rue du Docteur Roux, 75724 Paris Cedex 15, France

Auteur correspondant : Laetitia Vincensini, lvincens@pasteur.fr

Reçu le 4 janvier 2011

Résumé – La plupart des cellules de mammifères ont la capacité d'assembler un ou plusieurs cils au cours du cycle cellulaire. Les cils immobiles, dont les cils primaires, participent à de nombreux processus sensoriels, alors que les cils mobiles sont essentiellement impliqués dans le déplacement cellulaire et la mise en mouvement de fluides extracellulaires. La longue liste de maladies dues à des défauts ciliaires met en exergue l'importance fonctionnelle de ces structures. Ces ciliopathies sont caractérisées par une impressionnante diversité de symptômes, et une étiologie génétique souvent complexe. La connaissance précise de la biologie des cils et flagelles s'avère donc essentielle pour la compréhension de ces maladies. Ces organites sont remarquablement conservés au cours de l'évolution eucaryote. Dans cette revue, nous illustrons l'importance de l'utilisation d'organismes modèles appropriés pour l'étude de divers aspects de la biologie des cils et flagelles : composition moléculaire, mode d'assemblage, mais aussi fonctions sensorielles et de motilité. Des études pionnières menées sur l'algue verte *Chlamydomonas* ont établi le lien entre les cils et certaines maladies génétiques. De plus, des organismes multicellulaires tels la souris, le poisson zèbre, le xénope, le nématode *C. elegans* ou la drosophile, ainsi que des protistes comme *Paramecium*, *Tetrahymena* et *Trypanosoma* ou *Leishmania* offrent chacun des atouts spécifiques pour l'étude de la biologie du cil. En particulier, des études fonctionnelles menées chez le trypanosome ont permis de caractériser la fonction de gènes impliqués dans les dyskinésies ciliaires primitives, une ciliopathie due à un défaut de mobilité des cils.

Mots clés : Cils / flagelles / motilité / trypanosome / ciliopathies

Abstract – The importance of model organisms to study cilia and flagella biology.

Cilia and flagella are ubiquitous organelles that protrude from the surfaces of many cells, and whose architecture is highly conserved from protists to humans. These complex organelles, composed of over 500 proteins, can be either immotile or motile. They are involved in a myriad of biological processes, including sensing (non-motile cilia) and/or cell motility or movement of extracellular fluids (motile cilia). The ever-expanding list of human diseases linked to defective cilia illustrates the functional importance of cilia and flagella. These ciliopathies are characterised by an impressive diversity of symptoms and an often complex genetic etiology. A precise knowledge of cilia and flagella biology is thus critical to better understand these pathologies. However, multi-ciliated cells are terminally differentiated and difficult to manipulate, and a primary cilium is assembled only when the cell exits from the cell cycle. In this context the use of model organisms, that relies on the high degree of structural but also of molecular conservation of these organelles across evolution, is instrumental to decipher the many facets of cilia and flagella biology. In this review, we highlight the specific strengths of the main model organisms to investigate the molecular composition, mode of assembly, sensing and motility mechanisms and functions of

cilia and flagella. Pioneering studies carried out in the green alga *Chlamydomonas* established the link between cilia and several genetic diseases. Moreover, multicellular organisms such as mouse, zebrafish, *Xenopus*, *C. elegans* or *Drosophila*, and protists like *Paramecium*, *Tetrahymena* and *Trypanosoma* or *Leishmania* each bring specific advantages to the study of cilium biology. For example, the function of genes involved in primary ciliary dyskinesia (due to defects in ciliary motility) can be efficiently assessed in trypanosomes.

Key words: Cilia / flagella / motility / trypanosome / ciliopathies

Abréviations :

ARNi, ARN interférence
 BBS, syndrome de Bardet-Biedl
 BDE, bras de dynéine externe
 BDI, bras de dynéine interne
 CMF, *components of motile flagella*
 DCP, dyskinesies ciliaires primitives
 Dvl, *dishevelled*
 Hh, *Hedgehog*
 IFT, transport intraflagellaire
 MDCK, *Madin-Darby Canine Kidney Cells*
 MET, microscopie électronique à transmission
 NOMPC, *no mechanoreceptor potential C*
 PCP, *planar cell polarity*
 PFR, *paraflagellar rod*
 TRP, *transient receptor potential*

Introduction

Les cils et les flagelles sont des organites dont l'architecture est très conservée des protistes aux mammifères, et qui sont présents à la surface de nombreux types cellulaires. La distinction entre les deux termes est essentiellement historique, dans la mesure où ces organites présentent la même architecture. Leur nombre, longueur et disposition peuvent varier énormément d'un type cellulaire à un autre (figures 1 et 2). Les cils et les flagelles se forment à partir d'un corps basal, composé de 9 triplets de microtubules organisés autour d'une structure en roue de charrette (*cartwheel*), qui constitue l'axe central du corps basal. La structure essentielle des cils et des flagelles est l'axonème, un cylindre composé de 9 doublets de microtubules (figures 2 et 3). La plupart des cils mobiles ont une structure de type « 9+2 », dans laquelle l'axonème entoure une paire centrale de microtubules et présente des appendices impliqués dans le battement ciliaire (figure 2B). La fonction de ces appendices peut être soit de générer la force nécessaire au battement, comme le font les bras de dynéine externes (BDE) ou les bras de dynéine internes, soit de réguler l'activité motrice du cil, c'est le rôle des ponts radiaires ou des projections de la paire centrale. À l'inverse, les cils primaires présentent une structure de type « 9+0 », ne possèdent pas de bras de dynéines, et ne semblent

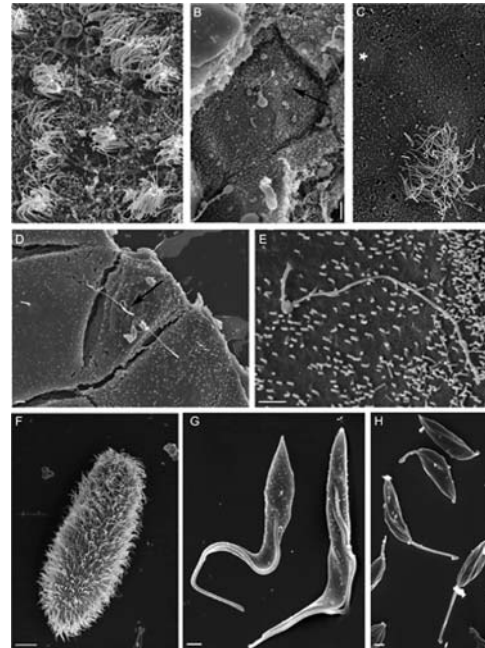


Fig. 1. Diversité des cils (flèches) : nombre, longueur et disposition. Clichés de microscopie électronique à balayage. (A) Épithélium des ventricules d'un cerveau de souris (âgée de 4 jours). (B) Tubules collecteurs de rein de souris visualisés après cryofracture. (C) Épithélium mucociliaire d'épiderme de xénope – incluant une cellule ciliée, une petite cellule sécrétrice (astérisque) et plusieurs grandes cellules à mucus –. (D) Cellules de canaux collecteurs de la medulla interne de rein de souris (IMCD). (E) Cellules de Madin-Darby de rein de chien (MDCK); (F) *Paramecium tetraurelia*. (G) Forme procyclique de *Trypanosoma brucei*. (H) Stade promastigote de *Leishmania donovani*. Cette figure a été initialement publiée dans *Biology of the Cell*. Vincensini et al., *Biol Cell*, 2011, © Portland Press Limited. Toutes les images sont originales, sauf le cliché du xénope, qui est adapté de (Hayes et al., 2007), avec permission. Barre d'échelle : 1 µm, sauf pour *Paramecium*, 10 µm.

pas être motiles (figure 2A). Des cas d'axonèmes atypiques ont été décrits : les spermatozoïdes d'insectes présentent des doublets surnuméraires (structure de type 12+0, voire 14+0 (Baccetti et al., 1973), alors que les gamètes mâles de grégarine ont un nombre

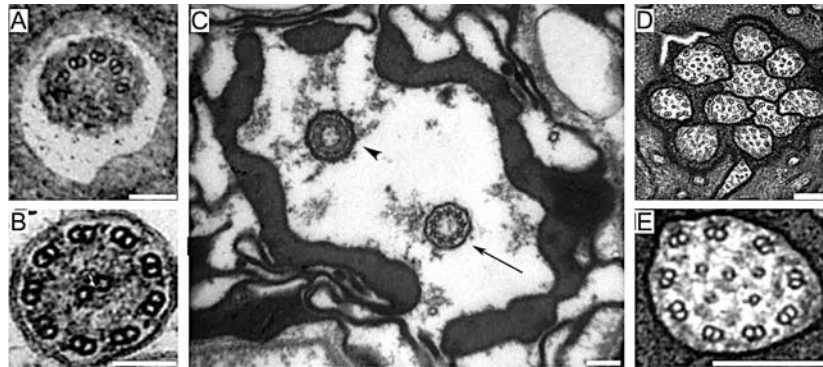


Fig. 2. Ultrastructure de cils primaires et mobiles. Clichés de microscopie électronique à transmission. Coupes transversales. (A) Cil primaire de cellules épithéliales rétinienne humaines (RPE1). (B) Cil de l'épithélium respiratoire humain. (C) Organe chordonotal de drosophile – la tête de flèche et la flèche indiquent le corps basal et l'axonème respectivement. (D, E) Pore amphidien de *C. elegans* – chaque cil contient 9 doublets de microtubules et un nombre variable de singulets internes. Barre d'échelle : 100 nm (A et B), 200 μ m (C, D, E). Cette figure a été initialement publiée dans *Biology of the Cell*. Vincensini *et al.*, *Biol Cell*, 2011, © Portland Press Limited. L'image de drosophile a été gracieusement fournie par C. Enjolras et B. Durand (Université de Lyon).

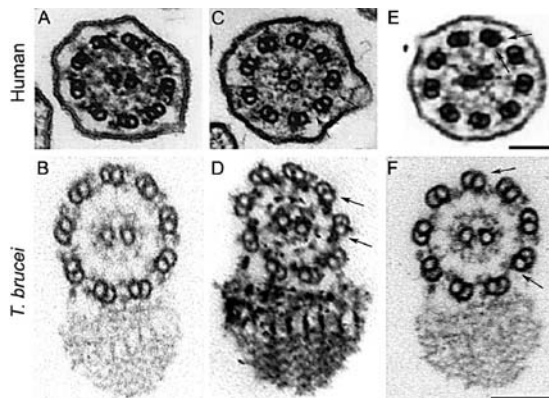


Fig. 3. L'ultrastructure des cils et flagelles est conservée entre l'Homme et *T. brucei*. Coupes transversales de cils respiratoires humains (panneaux A, C et E) et de flagelles de *T. brucei* (panneaux B, D et F) visualisées en microscopie électronique à transmission. Ultrastructure ciliaire normale (A) chez l'Homme et (B) le trypanosome. (C) Absence des bras de dynéine externes (flèches) chez un patient atteint de DCP ayant une mutation dans le gène *DNAI1* ou (D) chez le mutant *DNAI1*^{RNAi} de *T. brucei*. (E) Absence des deux bras de dynéine (flèches) chez un patient atteint de DCP ayant une mutation dans le gène *LRRC50*. (F) Absence uniquement des bras de dynéine externes (flèches) chez le mutant *ODA7*^{RNAi} de *T. brucei*. Barre d'échelle : 100 nm. Cette figure a été initialement publiée dans *Biology of the Cell*. Vincensini *et al.*, *Biol Cell*, 2011, © Portland Press Limited : adaptée de Pennarun *et al.*, 1999 ; Duquesnoy *et al.*, 2009) avec permission.

réduit de doublets de microtubules (par exemple 3+0 chez *Diplauxis*) (Prensier *et al.*, 1980).

Si les études de microscopie électronique ont révélé la complexité structurale des cils et flagelles, les

analyses protéomiques en ont révélé la complexité moléculaire. Réalisées sur des flagelles de type 9+2 purifiés chez diverses espèces, elles ont identifié jusqu'à 550 protéines différentes (Pazour *et al.*, 2005 ; Smith *et al.*, 2005 ; Broadhead *et al.*, 2006). Dans la mesure où le compartiment flagellaire ne contient pas de ribosomes, ces protéines sont synthétisées dans le cytoplasme et doivent être secondairement importées dans le flagelle. De surcroît, les protéines structurales sont incorporées au niveau de l'extrémité distale de l'axonème en croissance, ce qui signifie que le site d'assemblage s'éloigne de plus en plus du lieu de synthèse des protéines. Ce véritable casse-tête a été résolu par la découverte du transport intraflagellaire (ou *intraflagellar transport*, IFT), qui se réfère au transport bidirectionnel de particules protéiques le long de l'axonème, depuis le corps basal vers le site d'assemblage distal, et *vice-versa* (Rosenbaum & Witman, 2002). L'IFT a été observé pour la première fois dans les flagelles paralysés de l'algue verte *Chlamydomonas* par microscopie en contraste de phase interférentiel (Kozminski *et al.*, 1993) et s'est avéré essentiel pour l'assemblage et la maintenance de presque tous les flagelles eucaryotes (Hao & Scholey, 2009). Les protéines impliquées dans la motilité et la construction des flagelles sont remarquablement conservées au cours de l'évolution eucaryote. À l'inverse, la membrane des cils et flagelles présente beaucoup plus de variabilité : sa composition et sa fonction figurent parmi les aspects les moins bien connus de ces organites.

Le temps d'un battement de cils

La fonction la plus manifeste des cils est leur implication dans la motilité cellulaire. Chez les protistes,

les flagelles propulsent ou tractent l'organisme dans son environnement aqueux, une caractéristique que l'on retrouve chez les gamètes de beaucoup d'espèces. De nombreuses études menées sur les flagelles des spermatozoïdes, notamment chez des invertébrés marins comme l'oursin ou l'ascidie, ont contribué à la compréhension aussi bien de la structure flagellaire que des mécanismes du battement (Gibbons, 1981; Inaba, 2003). Chez l'Homme, la progression des spermatozoïdes dans le tractus génital féminin et la fécondation de l'ovocyte dépendent du battement flagellaire. Une autre fonction des cils mobiles des vertébrés est la mise en mouvement de fluides extracellulaires, comme le mucus dans le cas des cellules de l'épithélium respiratoire, ou le fluide cérébrospinal pour les cellules épendymaires qui tapissent les ventricules du cerveau (figure 1A) (Guirao *et al.*, 2010). Les cils mobiles de type 9+0 du noëud embryonnaire génèrent également un flux de liquide extra-embryonnaire orienté vers la gauche, qui détermine la mise en place de l'asymétrie gauche-droite de l'organisme (Nonaka *et al.*, 1998).

Les cils immobiles : longtemps délaissés, ils ont plus d'une corde à leur arc

On distingue deux catégories de cils immobiles : les cils primaires et les cils sensoriels des neurones. La quasi-totalité des types cellulaires chez les mammifères peut assembler un cil primaire lorsque la cellule entre en quiescence et quitte le cycle cellulaire (figures 1B, D, E et 2A). Ce cil est caractérisé par la présence d'un axonème de type 9+0, et ne semble pas mobile. Ironie du sort, cet organite a été longtemps considéré comme un vestige évolutif, et on ne lui attribuait aucune fonction particulière. Pourtant, au cours de la dernière décennie, il est apparu que le cil concentre de nombreux récepteurs capables de détecter les messagers biochimiques présents dans le milieu extracellulaire, et constitue à ce titre une sorte « d'antenne cellulaire ». D'autre part, plusieurs types de neurones possèdent des cils spécialisés qui présentent souvent des modifications architecturales élaborées et définissent ainsi au sein de la cellule un microdomaine spécialisé dans la signalisation. Les neurones ciliés de la rétine ou de l'épithélium olfactif en constituent les exemples les plus frappants.

Le cil primaire qui émerge de la surface des cellules est unique, et ne possède aucune des structures nécessaires au battement (bras de dynéines et paire centrale de microtubules). Le cil primaire, décrit chez presque toutes les cellules de mammifères, est une véritable plate-forme de signalisation. En effet, les cils sont impliqués dans une large gamme de processus biologiques, allant de la chémo- et mécano-détection au

déroulement de cascades de signalisation essentielles pour le maintien de l'homéostasie tissulaire (Singla & Reiter, 2006).

La longue liste de maladies dues à des défauts moléculaires du cil primaire illustre l'importance fonctionnelle de cet organite : polykystose rénale, syndrome de Bardet-Biedl, syndrome de Joubert, syndrome orofacial digital, syndrome d'Alström ou de Meckel-Gruber (Fliegauf *et al.*, 2007). Le syndrome de Bardet-Biedl (BBS; MIM209900) est une ciliopathie autosomale récessive aux manifestations pléiotropiques, dont la prévalence varie entre 1/160000 en Europe du nord et 1/13500 au Koweït. Les signes cliniques présentent une grande variabilité, mais six d'entre eux sont considérés comme caractéristiques de la maladie : (i) dégénérescence rétinienne; (ii) obésité; (iii) hypogonadisme; (iv) polydactylie; (v) dysfonctionnement rénal et (vi) retard mental. À ce jour 14 gènes impliqués dans la maladie ont été identifiés (*BBS1-12*, *MKS1*, *NPHP6/CEP290*). Les protéines BBS sont essentiellement localisées au corps basal; plusieurs d'entre elles appartiennent au BBSome, un complexe protéique associé à la région péricentriolaire et à la membrane ciliaire, et qui participe à la cilio-genèse (pour revue Zaghoul & Katsanis, 2009).

L'une des ciliopathies les plus sévères est certainement le syndrome de Meckel-Gruber (OMIM 249000), qui est létale *in utero* ou peu après la naissance. La fréquence de cette maladie autosomale récessive varie entre 1/135000 en Allemagne à 1/9000 en Finlande, où ce syndrome est particulièrement fréquent en raison d'un effet fondateur. Ce syndrome associe typiquement une polydactylie postaxiale, une polykystose rénale, et des défauts de fermeture du tube neural. À ce jour, 6 loci ont été identifiés en association avec le syndrome de Meckel, parmi lesquels 5 gènes ont été caractérisés : *MKS1*, *MKS3-6*. Ces gènes codent des protéines ciliaires ou centrosomales (pour revue, Coppieters *et al.*, 2010).

D'une manière générale, les ciliopathies présentent des signes cliniques très variés qui se recoupent partiellement : formation de kystes rénaux, polydactylie, malformation du cerveau ou du système nerveux, dégénérescence de la rétine ou obésité en sont quelques exemples. De plus, des mutations différentes dans un même gène peuvent conduire à des manifestations cliniques différentes. Le lien entre le cil primaire et les maladies génétiques a été établi par les travaux fondateurs de Pazour et collègues (2000) qui ont montré que le gène *IFT88*, essentiel pour la construction du flagelle chez *Chlamydomonas*, est muté dans une lignée de souris modèle des polykystoses rénales. La mutation entraîne la synthèse d'une protéine anormale, ce qui conduit à un phénotype hypomorphe. Ces travaux ont été déterminants car ils ont permis la découverte du rôle essentiel du cil dans le développement de divers

tissus chez les vertébrés (pour revue Berbari *et al.*, 2009).

Les quatre sens des cils

La première fonction sensorielle attribuée au cil fut la mécano-sensibilité, dans le contexte de la physiologie du rein. Selon le modèle actuel, le flux d'urine serait détecté par les cils primaires des cellules de l'épithélium des tubes collecteurs (figure 1B). La force du courant fait ployer le cil, ce qui active des canaux ioniques, les polycystines. Ces protéines ancrées dans la membrane des cils peuvent être activées expérimentalement soit par l'application d'une force de cisaillement, soit par l'activation des récepteurs tyrosine-kinase à la surface de la cellule (Tsiokas, 2009). Une fois activées, les polycystines convertissent les stimuli extracellulaires en courants ioniques, qui activent les voies de signalisation du calcium dans la cellule (Praetorius & Spring, 2001). Ces voies de signalisation participent au maintien de l'homéostasie et au développement tissulaire, ici en réponse au flux tubulaire. La plupart des cas de polykystose autosomale dominante sont causés par des mutations dans les deux gènes qui codent les polycystines, *PC1* et *PC2*. Dans le modèle murin, l'absence d'une des polycystines, ou leur inhibition par l'ajout d'anticorps n'a pas d'influence sur la formation du cil lui-même, mais abroge la voie de signalisation mécano-sensorielle (Nauli *et al.*, 2003). De surcroît, il est probable que certaines polycystines mutantes identifiées chez des patients atteints de polykystose rénale envoient des signaux erronés indiquant l'absence de flux, ce qui entraînerait en compensation la prolifération des cellules tubulaires et la formation de kystes.

Les cils jouent également un rôle mécano-sensoriel dans le contexte de la mise en place de l'asymétrie gauche-droite au cours du développement embryonnaire. Ce processus met en jeu deux populations de cils qui exercent des fonctions complémentaires au niveau du nœud embryonnaire. Les cils situés au centre du nœud expriment la dynéine lrd (*left-right dynein*), et possèdent des BDE mais pas de paire centrale. Leur battement coordonné génère un courant de fluide dirigé vers le futur côté gauche de l'embryon. Les cils situés en périphérie du nœud sont immobiles, et expriment la polycystine-2 qui détecte ce courant puis génère en réponse un courant calcique asymétrique qui définit le côté gauche de l'embryon (McGrath *et al.*, 2003).

Au niveau de la rétine des mammifères, les photorécepteurs détectent la lumière grâce à un cil modifié. Les cellules photoréceptrices sont constituées d'un segment interne qui contient le noyau et les autres organites et d'un segment externe composé de disques

membranaires qui contiennent le photorécepteur. Ces deux régions sont connectées entre elles par un cil modifié de type 9+0. Les photopigments sont synthétisés dans le corps cellulaire et transportés par IFT jusqu'au segment externe, une structure qui se renouvelle continuellement (Besharse *et al.*, 1977; Hollyfield *et al.*, 1977; Besharse & Hollyfield, 1979). En l'absence d'IFT, le segment externe dégénère, ce qui entraîne l'apoptose des cônes et bâtonnets et conduit *in fine* à la cécité, un symptôme commun à de nombreuses ciliopathies (Marszalek *et al.*, 2000).

Le neurone olfactif est une cellule ciliée très spécialisée, dont la dendrite apicale présente un renflement appelé bouton olfactif. Celui-ci contient des corps basaux, d'où émergent des cils immobiles qui baignent dans la couche de mucus tapissant la cavité nasale. Chez la souris, la perte des protéines BBS1 et BBS4 entraîne une forte réduction de la couche ciliaire des neurones olfactifs; parallèlement, des protéines de la cascade olfactive, dont l'adénylate cyclase III, ne sont plus transportées dans les cils restants (Kulaga *et al.*, 2004). Ces anomalies structurales et fonctionnelles des cils expliquent probablement l'anosmie partielle ou complète observée chez les patients atteints du syndrome de Bardet-Biedl.

Des études récentes menées chez l'Homme sur les cils des cellules respiratoires ont montré que leur membrane contient des récepteurs gustatifs impliqués dans la perception de l'amertume (Shah *et al.*, 2009). L'interaction de composés amers avec ces récepteurs entraîne une augmentation de la concentration intracellulaire en Ca^{2+} et une accélération du battement ciliaire. Ainsi, les cils mobiles, de même que leurs homologues immobiles, contiennent des senseurs moléculaires qui détectent l'environnement extérieur. Il est intéressant de souligner que l'augmentation de la fréquence du battement ciliaire en réponse à la détection de composés amers toxiques accélère leur élimination par épuration mucociliaire, ce qui suggère un couplage entre les fonctions sensorielles et mobiles. L'association de ces fonctions a pu être déterminante au cours de l'évolution des eucaryotes inférieurs, étant donné l'importance de la mobilité pour la nutrition, l'évitement des prédateurs ou la propagation de l'espèce.

Des organismes modèles pour pénétrer au cœur des cils et flagelles

Comme nous l'avons mentionné précédemment, les ciliopathies sont caractérisées par une impressionnante diversité de symptômes qui se recoupent souvent. Alors que des mutations dans des gènes différents peuvent causer la même maladie, des mutations dans le même gène peuvent à l'inverse se traduire par

des manifestations cliniques variées (Salomon *et al.*, 2009). La variabilité des phénotypes peut dépendre de l'impact des mutations sur la fonction de la protéine, du profil d'expression du gène muté et de la charge mutationnelle de l'ensemble des gènes ciliaires (Zaghloul & Katsanis, 2010). Cette complexité doit être mise en perspective avec la diversité des cils, qui porte aussi bien sur leur structure que leur fonction ou leur composition moléculaire. L'étude fonctionnelle de ces gènes peut être envisagée avec des cellules ou des tissus cultivés *in vitro*, mais les cellules multiciliées sont fortement différenciées et difficiles à manipuler, et une cellule n'assemble un cil primaire que lorsqu'elle sort du cycle cellulaire et cesse de se diviser. Dans ce contexte, l'utilisation d'organismes modèles devient cruciale pour élucider les mécanismes subtils sous-jacents à chaque pathologie. Les cils et flagelles présentent un degré de conservation élevé au cours de l'évolution, au niveau structural et moléculaire. Cela permet de recourir à de nombreux organismes modèles, dont la diversité reflète celle des types cellulaires ciliés chez les mammifères. Dans les sections suivantes, nous illustrons les avantages spécifiques de chacun des organismes modèles utilisés pour étudier les multiples facettes des cils et flagelles. De nombreuses découvertes majeures proviennent en effet d'organismes « simples », comme le nématode *C. elegans*, l'algue unicellulaire *Chlamydomonas*, les ciliés *Paramecium* et *Tetrahymena*, ou le kinétoplastidé *Trypanosoma*, qui se prêtent davantage à l'expérimentation et aux manipulations génétiques que les modèles vertébrés : souris, poisson zèbre et xénope.

Une observation précoce chez la souris

Chez la souris, l'absence de cils conduit à un phénotype létal embryonnaire, ce qui restreint le champ des études génétiques fonctionnelles. Cependant, des études de délétion génique, en particulier avec des mutants conditionnels utilisant le système *cre-lox*, ainsi que l'étude du mutant hypomorphe Tg737 ont conduit à des avancées significatives dans la compréhension de la biologie ciliaire. De plus, la souris peut s'accommoder, dans une certaine mesure, des dysfonctionnements du cil, ce qui permet l'analyse approfondie de gènes impliqués dans les ciliopathies chez l'Homme. La souris constitue donc un modèle intéressant pour l'étude des cils et flagelles, en dépit de la complexité et de l'échelle de temps requise pour générer des animaux mutants.

Le cil primaire est nécessaire à la survie et à la segmentation de l'embryon de souris, comme l'a révélé la première série de mutants de l'IFT chez lesquels la voie de signalisation Hedgehog (Hh) est inactivée (Huangfu *et al.*, 2003). Il est maintenant établi que, chez les

vertébrés, certains composants clés de cette voie de signalisation sont enrichis dans les cils, où leur forte concentration pourrait favoriser leurs interactions et le contrôle de leur activation. Chez la drosophile, la voie Hh est indépendante du cil, bien qu'elle possède de nombreux composants essentiels en commun avec celle des mammifères, ce qui illustre l'importance d'intégrer les données issues de différents organismes. Le cas de la protéine Cos2 de la drosophile en constitue un exemple révélateur. Il s'agit d'une protéine clé de la voie Hh, qui sert de support aux complexes protéiques de signalisation. Chez la souris, la protéine motrice kinésine KIF7 est le plus proche homologue de Cos2. Au repos, la protéine s'accumule à la base du cil ; lors de l'activation de la voie Hh, KIF7 est relocalisée vers l'extrémité distale du cil selon un processus qui requiert le domaine moteur de la protéine (Cheung *et al.*, 2009 ; Endoh-Yamagami *et al.*, 2009 ; Liem *et al.*, 2009). KIF7 participerait directement à l'IFT dans le cil, et cette hypothèse pourrait être mise en relation avec le fait que l'orthologue de la drosophile possède un domaine moteur divergent inactif (Farzan *et al.*, 2008). Chez les vertébrés, l'IFT pourrait médier la relocalisation dynamique de composants de la voie Hh en réponse au ligand (Scholey & Anderson, 2006). L'inactivation de la voie Hh se traduit par des manifestations pléiotropiques, qui reproduisent plusieurs symptômes caractéristiques des ciliopathies, comme la polydactylie, des malformations craniofaciales et du squelette, ou l'ataxie (Ruiz i Altaba *et al.*, 2002 ; Brancati *et al.*, 2009). Après la naissance, la voie Hh continue à participer au développement du cerveau *via* le cil primaire, qui contrôle la formation et la maintenance des progéniteurs des neurones granulaires de l'hippocampe impliqués dans la neurogenèse chez l'adulte (Han *et al.*, 2008).

En plus d'apporter une meilleure compréhension du rôle du cil dans le développement des mammifères, la souris est également apparue comme un modèle puissant pour l'étude des ciliopathies humaines (pour revue, Goetz & Anderson, 2010), en apportant un nouvel éclairage sur l'étiologie de ces maladies complexes. Par exemple, les souris délétées des gènes *BBS* deviennent aveugles par suite de la dégénérescence des photorécepteurs (Sheffield, 2010), et obèses en raison de défauts de signalisation dans la voie des leptines (Wang *et al.*, 2009).

Une observation en profondeur chez le poisson zèbre et le xénope

Le poisson zèbre et le xénope, dont les embryons possèdent de nombreuses cellules multiciliées, à la fois motiles et sensorielles, permettent d'étudier de multiples facettes de la biologie des cils. Le principal atout de ces organismes est qu'ils se prêtent aisément à des

cribles génétiques à grande échelle (par ENU ou mutagenèse par insertion de rétrovirus), qui ont déjà généré plusieurs mutants ciliaires d'intérêt. L'extinction de gènes est aisée grâce à des oligonucléotides antisens de type *morpholino* (en prenant soin de réaliser les contrôles appropriés pour s'assurer de la spécificité de l'extinction); les approches de génétique classique et inverse sont donc toutes les deux accessibles. Si l'on ajoute à cela les possibilités d'imagerie *in vivo* très performante (Wallingford, 2010a, 2010b, 2010c), la grenouille et le poisson constituent des modèles séduisants pour l'étude des cils chez les vertébrés.

La découverte du lien entre la formation des kystes rénaux et les dysfonctionnements ciliaires (Pazour *et al.*, 2000) a soudainement révélé l'intérêt du poisson zèbre (*Danio rerio*) pour l'étude des cils, en raison de la présence de cils dans le pronéphros. Toutefois, contrairement aux mammifères, ces cils semblent être mobiles et directement impliqués dans la génération d'un flux (Kramer-Zucker *et al.*, 2005). Ainsi, la diminution de la mobilité ciliaire, par exemple après l'extinction d'une dynéine axonémale, reproduit les effets de l'absence de cils (Kramer-Zucker *et al.*, 2005). Un crible génétique des mutations affectant le développement du pronéphros a permis d'identifier 15 gènes associés à la formation de kystes au niveau du tubule pronéphrique (Drummond *et al.*, 1998). Ces gènes se sont avérés coder des protéines ciliaires, dont des protéines de l'IFT (Sun *et al.*, 2004; Pathak *et al.*, 2007; Omori *et al.*, 2008; van Rooijen *et al.*, 2008; Sukumaran & Perkins, 2009). De même que chez les mammifères, les cils jouent de très nombreux rôles, et la mutation de ces gènes a des effets pléiotropiques, dont des défauts de la mise en place de l'asymétrie gauche-droite, la dégénérescence des photorécepteurs et l'hydrocéphalie.

Le xénope présente l'avantage d'offrir une plateforme pour étudier *in vivo* le développement des cellules multiciliées. En effet, l'épiderme de l'embryon de xénope s'apparente à l'épithélium respiratoire des mammifères, par la présence à la fois de cellules ciliées et de cellules sécrétrices de mucus (figure 1C). Il constitue à ce titre un excellent modèle *in vivo* pour l'analyse moléculaire du développement de l'épithélium mucociliaire et de sa fonction (Hayes *et al.*, 2007). Les études chez le xénope ont joué un rôle essentiel dans la démonstration du lien entre la mise en place de la polarité planaire (*Planar Cell Polarity*) (PCP) et la ciliogenèse, un processus commun au poisson, à la grenouille, et à la souris (pour revue, Wallingford, 2010b). La protéine cytoplasmique : Dishevelled (Dvl) apparaît comme un composant essentiel du contrôle de la polarité planaire des cellules de l'épiderme (Park *et al.*, 2008). La disruption de Dvl abolit la polarité planaire des cellules multiciliées : au sein d'une cellule donnée, l'orientation des corps ba-

saux devient aléatoire, ce qui désorganise le battement ciliaire et abroge le courant de fluide à la surface de l'épithélium. De plus, la voie de signalisation PCP contrôle la polarité des cellules ciliées à l'échelle du tissu, comme l'ont montré des expériences de transplantation (Mitchell *et al.*, 2009). Toutefois, le lien entre la voie PCP et la ciliogenèse ne se limite pas à l'orientation des corps basaux. En effet, certaines protéines de la voie PCP participent directement à l'assemblage des cils, comme Dvl, dont l'absence entraîne une réduction du nombre de cils et de leur longueur (Park *et al.*, 2008). Fritz est un autre effecteur de la voie PCP, qui agit avec des protéines du cytosquelette pour contrôler à la fois le mouvement cellulaire et la ciliogenèse chez le xénope. Chez l'Homme, des mutations du gène *Fritz* ont été associées aux syndromes de Bardet-Biedl et de Meckel-Gruber (Kim *et al.*, 2010), ouvrant des perspectives passionnantes pour l'étude des ciliopathies.

On entend les mouches voler

La drosophile assemble des cils exclusivement dans les neurones auditifs et mécano-sensoriels (figure 2C). Le cil est localisé à l'extrémité distale des neurones, à l'interface entre les stimuli externes et le corps cellulaire, et il est impliqué dans la transduction des signaux mécaniques et auditifs. Il est intéressant de constater que les cils sensoriels de type 9+0 sont assemblés par IFT, au contraire des longs flagelles des spermatozoïdes de type 9+2. Les mutants IFT chez la drosophile ont donc des cils défectueux, mais la spermatogenèse n'est pas affectée. Cela s'explique par le fait que la formation du flagelle a lieu dans le cytoplasme d'un syncytium, où 32 à 64 axonèmes sont assemblés simultanément; l'adjonction de membranes permet ensuite aux gamètes de s'individualiser (Han *et al.*, 2003; Sarpal *et al.*, 2003).

Le principal atout de la drosophile pour l'étude des fonctions ciliaires réside dans la disponibilité de tests fonctionnels non invasifs. En effet, l'altération des fonctions ciliaires va de pair avec des défauts de mécano-sensation, et les études de comportement basées sur la perception sensorielle permettent d'identifier des mutants ciliaires. Les tests comportementaux sont donc des outils de choix pour l'étude fonctionnelle des cils : plusieurs mutants de l'IFT ont ainsi été identifiés par le biais de leurs troubles comportementaux dus à des réponses sensorielles défectueuses (Kernan *et al.*, 1994; Lee *et al.*, 2008). De plus, les études génétiques bénéficient de nombreuses techniques très au point, notamment la mutagenèse par insertion de transposon qui facilite le clonage positionnel, l'expression de protéines dans leur propre contexte génétique grâce à l'insertion de transgène dans le locus endogène, ou encore la possibilité de fusionner des protéines avec

des épitopes ou la GFP pour les localiser. Ainsi, les études comportementales couplées à de puissants outils de génétique contribuent à faire de la drosophile un modèle privilégié pour l'étude de la transduction des signaux mécaniques au niveau du cil. Il faut cependant garder à l'esprit que l'audition chez les mammifères est basée sur d'autres mécanismes, et ne dépend pas directement des cils.

Le gène orthologue d'*IFT88* a été identifié chez la mouche à la faveur d'un crible génétique visant à étudier les troubles du comportement sensoriel (Kernan *et al.*, 1994). Les mouches mutantes présentent de graves défauts de coordination, et les neurones sensoriels ne répondent pas aux stimulations. Dans la situation normale, la stimulation auditive ou mécanique des neurones sensoriels conduit à l'émission d'un potentiel de récepteur que l'on peut enregistrer, ce qui constitue un test simple de la fonction ciliaire. Les canaux ioniques à l'origine de l'émission du potentiel de récepteur sont au cœur du processus de transduction du signal. Le canal NOMPC (*no mechanoreceptor potential C*) participe à chacune des voies de signalisation sensorielle : que la stimulation soit mécanique ou auditive, les mutants *nompC* n'émettent aucun potentiel de récepteur. Le gène correspondant code un membre de la superfamille des canaux de type TRP (*transient receptor potential*) (Walker *et al.*, 2000). Leur localisation ciliaire n'a pas été confirmée chez la drosophile, mais l'orthologue de *C. elegans*, TRP-4, est localisé dans les cils de certains neurones (W. Li *et al.*, 2006), et certains canaux ioniques de la superfamille des TRP sont transportés par l'IFT chez *C. elegans* (Qin *et al.*, 2005). L'ouverture de ces canaux fait probablement intervenir des contraintes mécaniques, dont les mécanismes précis constituent le prochain défi pour la compréhension de la transduction du signal au niveau des cils.

Une pincée de sel avec *Cænorhabditis elegans*

Le nématode *C. elegans* est dépourvu de cils mobiles (les gamètes se déplacent par reptation), mais possède des cils sensoriels immobiles à l'apex de 60 des 302 neurones sensoriels décrits chez l'adulte hermaphrodite (figure 2D et E) (Perkins *et al.*, 1986). L'architecture de ces cils présente une grande diversité de structures, avec la présence d'élaborations membranaires aux formes variées (pour revue, Silverman & Leroux, 2009). Le ver utilise ces neurones ciliés pour la détection des sels et d'autres éléments dans son environnement. Plusieurs collections de mutants qui ne répondent pas à ces stimuli ont été générés, et classés en deux catégories : *che* (chémodétection) ou *osm* (détection de l'osmolarité). Il s'est avéré que plusieurs de ces souches résultent de mutations dans des gènes de l'IFT, qui se traduisent par divers défauts de

construction des cils (Tabish *et al.*, 1995; Collet *et al.*, 1998).

C. elegans apporte le pouvoir de la génétique à l'étude des processus ciliaires. En plus des collections de mutants, les outils génétiques d'étiquetage à la GFP sont aisément mis en œuvre, ce qui permet de visualiser l'IFT *in vivo* dans des souches sauvages ou mutantes (Orozco *et al.*, 1999). Ces cils ne battent pas, et le ver peut être anesthésié pour faciliter les observations. Plusieurs types de cils sont présents, à la fois en termes de structure et de fonction (Perkins *et al.*, 1986), et fournissent un modèle idéal pour l'étude de la diversité des cils au sein d'un même organisme (S. Mukhopadhyay *et al.*, 2007). Les travaux menés chez *C. elegans* ont largement contribué à notre connaissance de la machinerie de la ciliogenèse (dont les moteurs de l'IFT, et les protéines cargo transportées par les moteurs de l'IFT), ainsi que du mécanisme de contrôle de l'expression des gènes ciliaires, et ont permis d'établir une liste exhaustive de protéines ciliaires avérées ou potentielles.

Une découverte majeure fut l'identification du double système de moteurs pour le transport antérograde : il s'agit de la kinésine II hétérotrimérique et de la kinésine homodimérique OSM-3 (Signor *et al.*, 1999; Snow *et al.*, 2004). Les deux moteurs coopèrent pour assembler les portions centrale et distale du cil des neurones sensoriels qui traversent la cuticule, et qui sont constituées de doublets et de singulets de microtubules respectivement. Dans le fragment central, la kinésine II et OSM-3 s'associent et fonctionnent de façon redondante. À la frontière entre le fragment central et le fragment distal, les moteurs se dissocient, la kinésine II est recyclée vers la base du cil, et OSM-3 transporte les particules IFT et leur cargo à l'extrémité distale du cil à sa propre vitesse, plus rapide. Au moins deux familles de protéines régulatrices coordonnent ces voies de transport antérograde. Tout d'abord DYF-1 arrime les particules IFT au moteur de kinésine OSM-3, tout en activant son activité motrice (Ou *et al.*, 2005). Ensuite, des orthologues des protéines BBS stabilisent les sous-complexes A et B des particules IFT, qui sont liés à la kinésine II et à OSM-3 respectivement (Blacque *et al.*, 2004; Ou *et al.*, 2005; Pan *et al.*, 2006). Plusieurs protéines cargos transportées par la machinerie de l'IFT ont également été identifiées, tels les canaux OSM-9 et OCR-2 de type TRP, qui participent à diverses réponses chémo-sensorielles (de Bono *et al.*, 2002). Un autre cargo potentiel est TUB-1, protéine de *C. elegans* homologue de la protéine Tubby des mammifères, dont les modifications sont associées à l'obésité chez la souris (Kleyn *et al.*, 1996; Noben-Trauth *et al.*, 1996). Chez *C. elegans*, cette protéine est requise pour l'homéostasie de la synthèse des lipides, l'espérance

de vie, et la chimiotaxie (A. Mukhopadhyay *et al.*, 2005).

Le transport intraflagellaire est récemment apparu comme un mécanisme contribuant à la diversité des cils. En effet, des études ont montré que la répartition des moteurs de l'IFT est différente dans les cils des neurones de type AWB, où OSM-3 n'est pas requise pour construire le segment distal du cil, contrairement aux cils des neurones des canaux traversant la cuticule. Les moteurs ne remplissent donc pas la même fonction dans tous les types cellulaires, et il est probable que cette différence repose sur une activation différentielle des protéines régulatrices des kinésines. Ce mécanisme pourrait être à l'origine de la diversité morphologique observée parmi les neurones sensoriels de *C. elegans*, à la fois en termes d'ultrastructure de l'axonème et de morphologie du segment distal (Mukhopadhyay *et al.*, 2007). Un autre élément de régulation de l'architecture des cils des neurones AWB est l'activation des voies de signalisation sensorielles : la diminution de leur stimulation entraîne le raccourcissement de l'axonème et l'expansion d'une structure membranaire (Mukhopadhyay *et al.*, 2008). Ceci souligne l'importance d'étudier le cil dans sa globalité.

L'assemblage d'un cil requiert la synthèse coordonnée de plus de 500 protéines au bon moment et au bon endroit. Chez *Chlamydomonas* et les ciliés, l'ablation des cils ou flagelles est suivie d'une augmentation rapide de l'expression des gènes flagellaires, puis du réassemblage de l'organite (Guttman & Gorovsky, 1979), ce qui implique l'existence d'un mécanisme de coordination de l'expression des gènes, probablement au niveau de la transcription. Les premiers éléments de ce mécanisme ont été décrits chez *C. elegans*, avec l'identification d'un facteur de transcription contrôlant l'expression des gènes ciliaires. Swoboda et collaborateurs (2000) ont démontré que de nombreux gènes impliqués dans la ciliogenèse sont placés sous le contrôle du facteur de transcription DAF-19, qui est de type RFX, et reconnaît un motif de régulation spécifique, la *X-box*, localisée en amont du codon initiateur. Il a été montré depuis que les facteurs de transcription de type RFX sont impliqués dans la ciliogenèse chez d'autres organismes, dont la drosophile et la souris (Bonnafé *et al.*, 2004). Un autre facteur de transcription appelé FOXJ1 contrôle l'expression de gènes codant des protéines de mobilité chez les vertébrés (Stubbs *et al.*, 2008; Yu *et al.*, 2008).

Ces découvertes ont conduit à des analyses globales du génome visant à établir une liste de gènes dont l'expression est sous le contrôle d'une *X-box* (Blacque *et al.*, 2005; Efimenko *et al.*, 2005), permettant l'identification de gènes codant de nouvelles protéines de l'IFT (Blacque *et al.*, 2006; Efimenko *et al.*, 2006; Schafer *et al.*, 2006), y compris des protéines qui n'avaient pas été identifiées dans l'expérience initiale

de purification de particules IFT chez *Chlamydomonas*. En parallèle, des études globales du profil d'expression ont identifié des gènes dont l'expression semble restreinte aux cellules ciliées (Blacque *et al.*, 2005; Chen *et al.*, 2006). Ces travaux, couplés aux études comparatives mentionnées précédemment (Avidor-Reiss *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2004), ont permis d'établir une liste exhaustive de protéines ciliaires avérées ou candidates, qui est accessible dans des bases de données telles Ciliome (www.ciliome.com) ou CilDB (<http://cildb.cgm.cnrs-gif.fr/>) (Arnaiz *et al.*, 2009), et dont plusieurs revues donnent un aperçu global (Fliegau & Omran, 2006; Gherman *et al.*, 2006; Inglis *et al.*, 2006).

Se mettre au vert avec *Chlamydomonas reinhardtii*

L'algue verte *Chlamydomonas* possède deux flagelles d'environ 12 μm de longueur, qui émergent au pôle apical de la cellule. Les flagelles, dont le battement s'apparente à des mouvements de brasse, jouent un rôle important dans la réponse à la lumière et l'adhérence des gamètes. Les flagelles ne sont pas essentiels au déroulement du cycle cellulaire : ils sont résorbés pendant la mitose, ce qui permet la migration des centrioles aux pôles du fuseau. *Chlamydomonas* présente de nombreux avantages pratiques et techniques pour l'étude du flagelle eucaryote. Tout d'abord, l'algue se cultive de façon synchrone, et en grandes quantités. Ensuite, les outils de la génétique classique ont permis de générer de nombreuses souches mutantes qui peuvent être croisées entre elles. Finalement l'algue verte *Chlamydomonas* présente divers types de nage en réponse à des stimulations lumineuses, ce qui permet de disséquer les voies de contrôle du battement des flagelles. La composition protéique des flagelles a fait l'objet d'analyses protéomiques, dans un premier temps par électrophorèse bidimensionnelle (Dutcher, 1995), et plus récemment par spectrométrie de masse globale (Pazour *et al.*, 2005). Ces études évaluent à plus de 500 le nombre de protéines flagellaires, ce qui signifie que *Chlamydomonas* mobilise plus de 3 % de son potentiel codant pour ce seul organite.

Des travaux pionniers menés sur cette algue verte ont conduit à la découverte et à la caractérisation d'un grand nombre de gènes impliqués dans le battement et la construction du flagelle, dont les dynéines axonémales (pour revue, Dibella & King, 2001), et les acteurs de l'IFT, aussi bien les moteurs (Kozminski *et al.*, 1995; Pazour *et al.*, 1998; Porter *et al.*, 1999) que les composants des particules (Piperno & Mead, 1997; Cole *et al.*, 1998) (pour revue, Rosenbaum & Witman, 2002). D'élégantes expériences de biologie cellulaire ont mis en évidence le rôle essentiel de l'IFT

dans le contrôle de la longueur du flagelle (Marshall & Rosenbaum, 2001 ; Engel *et al.*, 2009).

Des centaines, des milliers : le pouvoir des nombres

Les ciliés, tels *Paramecium* et *Tetrahymena*, appartiennent au groupe des alvéolates et sont des modèles reconnus de longue date pour l'étude des cils, en particulier de l'assemblage du corps basal et des centrioles. Les chiffres parlent d'eux-mêmes : *Tetrahymena* mesure 50 μm de long et contient environ 750 corps basaux, alors que la paramécie mesure 120 μm de long et contient environ 4000 corps basaux d'où émergent autant de cils mobiles, ancrés sur un réseau cortical de tubuline (figure 1F). Les corps basaux s'organisent en rangées, qui définissent un motif d'assemblage strict, chaque corps basal fils se positionnant antérieurement au corps basal père. On distingue différentes familles de cils selon leur longueur, leur âge, leur positionnement et leur taux de renouvellement (Iftode & Fleury-Aubusson, 2003). De plus, la duplication des corps basaux n'est pas strictement couplée au cycle cellulaire, contrairement à la plupart des centrioles des mammifères, et l'absence de point de contrôle qualité pour les corps basaux présente un grand avantage pour l'étude de leur assemblage (pour revue, Pearson & Winey, 2009). Ce très grand nombre de cils et de corps basaux présente également un avantage évident pour les études biochimiques. De surcroît, les études fonctionnelles sont rendues possibles par l'ARN interférence (ARNi), l'étiquetage par la GFP, les *knock-out* et *knock-in* de gènes. Les deux organismes se prêtent également aux études ultrastructurales, en microscopie électronique à transmission ou à balayage, et offrent la possibilité d'observer de multiples cils sur un même échantillon.

Les ciliés peuvent être déciliés simplement, par exemple par l'adjonction de dibucaïne au milieu de culture. Chez *Tetrahymena*, un protéome du corps basal contenant 97 protéines a été défini, parmi lesquelles 24 sont effectivement localisées dans cet organe, d'après les études de fusion de protéines avec la GFP et de microscopie électronique à transmission (MET) (Kilburn *et al.*, 2007). La localisation de protéines du corps basal dans des domaines discrets permet de formuler des hypothèses quant à leurs fonctions : les protéines localisées à l'extrémité distale du corps basal sont probablement requises pour la ciliogenèse ou l'arrimage à la membrane plasmique, alors que les protéines de la base du corps basal pourraient participer aux étapes précoces de l'assemblage ou à l'interaction du corps basal avec le cortex cellulaire.

L'assemblage du corps basal a pu être décomposé en une série d'étapes conservées, sur la base d'observation de clichés de MET (pour revue, Pearson

& Winey, 2009). La première structure de symétrie d'axe 9 qui émerge lors de la ciliogenèse est la roue de charrette, qui forme le socle d'où émergent les triplets de microtubules. Des travaux récents ont montré que la protéine Pocl1 est requise pour la stabilité des corps basaux et la ciliogenèse (Pearson *et al.*, 2009b). La dynamique d'incorporation des protéines du corps basal au cours de l'assemblage a pu être évaluée par des mesures de recouvrement de fluorescence après photoblanchiment de différentes protéines du corps basal fusionnées à la GFP. La dynamique observée varie selon le composant du corps basal étudié : échange permanent (Spag6), incorporation limitée à la période d'assemblage (α -tubuline), ou les deux (centrine et Sas6a) (Pearson *et al.*, 2009a). Des études menées chez *Chlamydomonas* ont permis de mieux comprendre ce processus : la protéine SAS-6, localisée dans la partie centrale de la roue de charrette, stabilise la symétrie d'ordre 9 au niveau du centriole (Nakazawa *et al.*, 2007). Une fois la roue de charrette correctement assemblée, la protéine Bld10p intervient dans la nucléation des microtubules à l'apex de chacune des 9 pointes, ce qui conduit à la formation des neuf triplets de microtubules (Hiraki *et al.*, 2007). De plus, la roue de charrette du corps basal peut être assemblée *in vitro* à partir d'extraits de corps basaux de *Tetrahymena* (Gavin, 1984), une découverte qui ouvre la voie à de multiples expériences en vue de définir les protéines requises pour cet assemblage.

Les modifications post-traductionnelles de la tubuline ont récemment émergé comme un processus important pour engendrer diversité et hétérogénéité parmi les molécules de tubuline. Toutes les modifications connues ont été initialement décrites chez les ciliés. L'acétylation, la tyrosination et la phosphorylation sont toutes conservées, des ciliés aux mammifères, mais leurs significations fonctionnelles demeurent mal connues. À l'inverse, la glycylation, identifiée pour la première fois chez *Paramecium* (Redeker *et al.*, 1994), intervient dans de nombreux aspects de la biologie ciliaire. L'élimination des divers sites de glycylation de la β -tubuline chez *Tetrahymena* est soit létale, soit délétère car elle affecte la croissance, la mobilité, et conduit à des défauts de division cellulaire. Au niveau du cil lui-même, une réduction du niveau de glycylation de la tubuline conduit à l'assemblage de cils courts, dépourvus de paire centrale ; la glycylation est également requise pour maintenir la longueur des cils précédemment assemblés. Chez les mutants de glycylation, les cellules présentent un nombre anormalement élevé de microtubules dans le cortex (Thazhath *et al.*, 2004). La glutamylation est une autre modification de la tubuline conservée au cours de l'évolution ; préférentiellement rencontrée dans les axonèmes (Edde *et al.*, 1990), elle joue un rôle central dans la biologie du cil et du corps basal. Chez

les mammifères, la glutamylation stabilise les triplets de microtubules des corps basaux (Bobiniec *et al.*, 1998). Wloga *et al.* (2008) ont montré que sa disruption n'altère pas l'assemblage des corps basaux, mais que la glutamylation intervient dans la maturation du pro-corps basal, sa stabilisation, et son insertion dans le cortex. Des travaux récents ont également démontré que la glutamylation intervient dans le contrôle du battement ciliaire, en modulant l'activité motrice des bras de dynéine interne, à la fois chez *Tetrahymena* et *Chlamydomonas* (Kubo *et al.*, 2010; Suryavanshi *et al.*, 2010).

Quand un conflit intergénérationnel devient une aubaine : le cas des parasites trypanosomatidés

Trypanosoma et *Leishmania* sont des parasites de l'ordre des Kinétoplastidés, caractérisés par la présence d'une unique mitochondrie dont l'ADN est condensé en un granule appelé kinétoplaste. Ces organismes ont fait l'objet de multiples études parce qu'ils sont les agents responsables de plusieurs maladies graves (voir plus bas), mais ils représentent aussi des modèles de choix pour l'étude fonctionnelle des flagelles, à la fois par leurs propriétés biologiques uniques et grâce aux puissants outils disponibles pour des approches moléculaires et cellulaires. Comme la majorité des protistes, dont *Giardia* (Nohynkova *et al.*, 2006), les trypanosomatidés conservent leur ancien flagelle pendant l'assemblage du nouveau flagelle (figure 1G), ce qui permet d'étudier dans une même cellule les processus de construction et de maintenance de cet organite. Cela implique d'ailleurs un mécanisme de contrôle de l'adressage au cours du cycle cellulaire, dans la mesure où les protéines doivent être préférentiellement incorporées au nouveau flagelle pendant sa synthèse. Le parasite *Trypanosoma brucei* se développe au cours d'un cycle dixène, où l'hôte intermédiaire est un mammifère et l'hôte définitif la mouche tsésé. Dans la mouche, le parasite subit d'importantes modifications morphologiques et biochimiques qui lui permettent de s'adapter aux variations environnementales. Au cours de ce processus de différenciation, la longueur du flagelle peut varier de 3 à 40 μm (Van Den Abbeele *et al.*, 1999), et il est important de souligner que ces variations sont physiologiques et contrôlées par la cellule. Chez *Leishmania*, le stade promastigote, qui se développe dans le phlébotome, possède un long flagelle mobile (figure 1H), alors que le stade amastigote présent dans les macrophages de l'hôte vertébré n'a qu'un flagelle très court (Alexander, 1978; Gluenz *et al.*, 2010). Cette différenciation peut être reproduite *in vivo* (dans les deux sens), ce qui fournit un système expérimental

puissant pour étudier le contrôle des mécanismes d'assemblage du flagelle au cours du développement. Des études génétiques ont notamment montré que la longueur du flagelle est contrôlée par plusieurs protéines, dont des MAP kinases (Wiese *et al.*, 2003; Bengs *et al.*, 2005; Erdmann *et al.*, 2006), des protéines G (Cuvillier *et al.*, 2000), la kinésine 13 (Blaineau *et al.*, 2007), ou encore la cofiline ou la myosine XXI (Tammana *et al.*, 2008; Katta *et al.*, 2010). Le flagelle du trypanosome présente un certain nombre de structures conservées chez les autres espèces, comme un axonème classique de type 9+2 (avec des bras de dynéine externes et internes, des ponts radiaires et des liens de nexine, figure 3B), et l'assemblage par IFT. Mais il présente également plusieurs particularités étonnantes : (i) il est attaché au corps cellulaire sur presque toute sa longueur (à l'exception de son extrémité distale) ; (ii) il possède une fibre paraflagellaire (PFR), qui est une structure extra-axonémale exclusivement rencontrée chez les kinétoplastidés et les euglénoïdes ; (iii) il émerge de la poche flagellaire, une invagination hautement spécialisée de la membrane plasmique, qui est aussi le seul lieu d'endocytose et d'exocytose de la cellule.

Le trypanosome possède également de nombreux avantages pour les études fonctionnelles. Tout d'abord il se cultive facilement *in vitro*, à des densités cellulaires élevées (10 millions de cellules par ml), ce qui s'avère très utile pour les analyses biochimiques et protéomiques. Une analyse protéomique a ainsi été faite sur la fraction squelettique du flagelle, contenant l'axonème et la PFR, préparée selon une procédure combinant un traitement avec un détergent et de fortes concentrations en sel (Broadhead *et al.*, 2006; Hart *et al.*, 2009). Cette analyse a identifié 499 protéines qui constituent le protéome du flagelle extrait, et la fonction flagellaire de huit d'entre elles a ensuite été validée par ARNi. Le protéome du flagelle extrait de *T. brucei* contient à la fois des composants conservés et spécifiques au trypanosome (Broadhead *et al.*, 2006). Néanmoins, ce protéome ne contient aucune protéine de la membrane ou de la matrice du flagelle, et les études à venir devraient donc identifier encore davantage de composants flagellaires. De plus, les génomes de plusieurs parasites trypanosomatidés ont été séquencés et annotés (Berriman *et al.*, 2005; El-Sayed *et al.*, 2005; Ivens *et al.*, 2005; Peacock *et al.*, 2007; Jackson *et al.*, 2008, 2010) et l'absence d'introns facilite grandement l'identification et le clonage de gènes. Ceci ouvre la voie à des analyses de génomique comparative, une approche qui a déjà permis de découvrir de nouveaux gènes flagellaires (Dawe *et al.*, 2005; Baron *et al.*, 2007b; Absalon *et al.*, 2008b; Adhiambo *et al.*, 2009) et qui a guidé les chercheurs dans leurs investigations (Avidor-Reiss *et al.*, 2004; Briggs *et al.*, 2004). Enfin, les trypanosomes

offrent de puissants outils de génétique inverse, dont l'inactivation de gène qui peut être constitutive ou conditionnelle, l'expression inductible de protéines étiquetées avec la GFP ou d'autres marqueurs, et l'extinction inductible par ARNi (Julkowska & Bastin, 2009; Oberholzer *et al.*, 2009). L'extinction de gènes par ARNi est efficace et spécifique; l'ARN cible est rapidement dégradé, mais la protéine disparaît selon son propre taux de renouvellement. L'émergence progressive du phénotype peut être visualisée par immunofluorescence ou vidéomicroscopie : on peut observer la situation normale dans l'ancien flagelle, mais pas dans le nouveau (Bastin *et al.*, 2000; Kohl *et al.*, 2003; Branche *et al.*, 2006; Davidge *et al.*, 2006). De surcroît, l'ARNi étant réversible, la réexpression de la protéine peut être observée sur un fond négatif (Bastin *et al.*, 2000).

Grâce à ces avantages biologiques et pratiques, le trypanosome apparaît comme un excellent modèle pour l'étude de la biologie du flagelle. Les premiers travaux utilisant les trypanosomatidés comme modèle visaient à identifier un signal d'adressage des protéines au flagelle en exprimant diverses protéines tronquées (Snapp & Landfear, 1997; Bastin *et al.*, 1999; Godsel & Engman, 1999; Hill *et al.*, 1999; Ersfeld & Gull, 2001; Pullen *et al.*, 2004). Plusieurs séquences essentielles au transport des protéines dans le flagelle ont été identifiées, mais l'absence de signal consensus suggère l'existence de multiples voies d'adressage des protéines au flagelle (Bloodgood, 2000). Les études menées ces dernières années s'intéressaient davantage à la fonction des protéines flagellaires. Cet aspect est d'un intérêt crucial, dans la mesure où les cribles génétiques, les analyses de génomique comparative et de protéomique ont identifié des centaines de protéines potentiellement flagellaires, dont la validation fonctionnelle s'impose désormais (Gherman *et al.*, 2006; Arnaiz *et al.*, 2009).

Le trypanosome, un modèle pour l'étude de la fonction de gènes impliqués dans les dyskinésies ciliaires primitives

Chez l'Homme, les dyskinésies ciliaires primitives (DCP, MIM 242650) constituent un groupe hétérogène de ciliopathies causées par des défauts de battement ciliaire. Leur transmission est typiquement autosomale récessive, et leur fréquence est estimée à environ 1/16000. Les principales manifestations cliniques des DCP reflètent la distribution des cils mobiles dans l'organisme, et incluent : (i) des infections respiratoires chroniques dues à un défaut d'épuration mucociliaire par les cils respiratoires; (ii) une hypofertilité mâle et femelle consécutive à des défauts de battement du flagelle des spermatozoïdes et des cils de l'oviducte respectivement; et (iii) des défauts de la mise en place

de l'asymétrie gauche-droite de l'organisme, qui s'expliquent par la perte de mobilité des cils du nœud embryonnaire (Nonaka *et al.*, 1998; Kennedy *et al.*, 2007; Zariwala *et al.*, 2007). Contrairement à ce qui est observé chez les modèles murins (Chen *et al.*, 1998; Sapiro *et al.*, 2002; Baas *et al.*, 2006), les sujets sont très rarement hydrocéphales. Le diagnostic des DCP repose sur l'observation d'anomalies ultrastructurales de l'axonème en microscopie électronique à transmission (figure 3). Les patients sont ensuite répartis en plusieurs catégories en fonction de l'anomalie structurale et des signes cliniques (Tamalet *et al.*, 2001). À ce jour, 10 gènes impliqués dans les DCP ont été identifiés, dont 8 sont liés à la fonction des dynéines. Néanmoins, ces gènes n'expliquent qu'environ 25 % des cas observés (tableau 1).

Les premières mutations associées aux DCP ont été identifiées dans le gène *DNAI1* (Pennarun *et al.*, 1999). Les études menées chez *Chlamydomonas* démontrant que cette chaîne intermédiaire de dynéine est requise pour la formation des bras de dynéine externes (Wilkerson *et al.*, 1995) furent le point de départ de la recherche de mutations chez les patients humains par une approche gène candidat (Pennarun *et al.*, 1999). Les travaux de Branche *et al.* (2006) ont ensuite apporté la validation de l'utilisation du trypanosome comme modèle pour l'étude des DCP : l'objectif était d'étudier la contribution de plusieurs composants conservés de l'axonème à l'ultrastructure ainsi qu'à la mobilité du flagelle, en utilisant une stratégie d'extinction par ARNi (figure 3C-D). La chaîne intermédiaire *DNAI1* du trypanosome s'est avérée indispensable à la formation du bras de dynéine externe et au battement du flagelle depuis son extrémité distale vers sa base. Ces cellules sont alors incapables de nager vers l'avant, mais conservent leur mobilité rétrograde, qui est liée au battement du flagelle de sa base vers son extrémité distale. Ces travaux démontrent ainsi que la structure mais aussi la fonction de la protéine sont conservées. De même, l'extinction du gène codant la chaîne légère de dynéine 1 (*LC1*), identifié par génomique comparative chez *T. brucei*, conduit à la chute du bras de dynéine externe, et à la perte de la mobilité antérograde, mais pas rétrograde (Baron *et al.*, 2007a). Ce phénotype diffère de celui des mutants de protéines de la paire centrale comme *PF16* ou *PF20* qui sont fortement paralysés (Branche *et al.*, 2006; Ralston *et al.*, 2006).

Les DCP constituent un groupe de maladies extraordinairement complexes : la maladie pourrait être due à des mutations dans n'importe lequel des gènes codant des composants impliqués soit dans la mobilité ciliaire soit dans sa régulation, sans compter la possibilité du multi-allélisme. En dépit de l'identification de mutations dans 10 gènes distincts (tableau 1), l'ensemble des mutations décrites ne rend

Tableau 1. Gènes impliqués dans les dyskinésies ciliaires primitives. Les gènes orthologues ont été identifiés par BLAST réciproque. \emptyset : pas de gène orthologue identifié. Les numéros d'accèsion renvoient aux bases de données de *Chlamydomonas* et *T. brucei* respectivement (<http://genome.jgi-psf.org/Chlre4/Chlre4.home.html> and <http://tritrypdb.org/tritrypdb/>). La plupart des gènes codent des composants de la machinerie de mobilité (dynéines et protéines des ponts radiaires), alors que *LRRC50* et *KTU* codent des éléments de la machinerie d'assemblage des bras de dynéine.

Gène	Anomalies ultrastructurales du cil chez les patients DCP	Espèce	Numéro d'accèsion des gènes
<i>DNAI1</i> (Pennarun <i>et al.</i> , 1999)	BDE	<i>C. reinhardtii</i> <i>T. brucei</i>	jgi Chlre4 129433 estExt_gwp_1H.C_180023 Tb11.02.2640
<i>DNAI2</i> (Loges <i>et al.</i> , 2008)	BDE	<i>C. reinhardtii</i> <i>T. brucei</i>	jgi Chlre4 188612 estExt_fgenesh2_pg.C_110110 Tb927.11.01
<i>DNAH5</i> (Olbrich <i>et al.</i> , 2002)	BDE	<i>C. reinhardtii</i> <i>T. brucei</i>	jgi Chlre4 155136 Chlre2_kg.scaffold_70a000005 Tb927.4.870
<i>DNAH11</i> (Bartoloni <i>et al.</i> , 2002)	Aucune	<i>C. reinhardtii</i> <i>T. brucei</i>	jgi Chlre4 130849 estExt_gwp_1H.C_270103 Tb11.02.0760
<i>RSPH4</i> (Castleman <i>et al.</i> , 2009)	Paire centrale*	<i>C. reinhardtii</i> <i>T. brucei</i>	jgi Chlre4 24016 estExt_fgenesh1_pm.C_60005 Tb11.02.2060
<i>RSPH9</i> (Castleman <i>et al.</i> , 2009)	Paire centrale	<i>C. reinhardtii</i> <i>T. brucei</i>	jgi Chlre4 182960 estExt_fgenesh2_kg.C_100107 Tb11.02.0140
<i>LRRC50</i> (Duquesnoy <i>et al.</i> , 2009 ; Loges <i>et al.</i> , 2009)	BDE+BDI	<i>C. reinhardtii</i> <i>T. brucei</i>	jgi Chlre4 116664 e_gwW.1.325.1 Tb11.01.5550
<i>KTU</i> (Omran <i>et al.</i> , 2008)	BDE+BDI	<i>C. reinhardtii</i> <i>T. brucei</i>	jgi Chlre4 175396 fgenesh2_pg.C_scaffold_30000074 Tb927.10.12860
<i>TXNDC3</i> (Ogawa <i>et al.</i> , 1996 ; Padma <i>et al.</i> , 2001)	66 % des cils ont des BDE courts ou absents	<i>C. reinhardtii</i> <i>T. brucei</i>	\emptyset \emptyset
<i>RPGR</i> (Moore <i>et al.</i> , 2006)	Complexe : BDE et/ou BDI, paire centrale, et/ou liens de nexine, doublets de microtubules périphériques	<i>C. reinhardtii</i> <i>T. brucei</i>	\emptyset \emptyset

* les images de MET publiées suggèrent aussi une absence de BDE.

compte de la pathologie que pour environ 25 % des patients. Les organismes modèles comme le trypanosome pourraient apporter des contributions significatives à (i) l'évaluation des conséquences fonctionnelles des mutations identifiées chez les patients atteints de DCP ou (ii) la définition de gènes candidats qu'il serait pertinent de séquencer chez les patients. En plus du protéome du cytosquelette flagellaire mentionné précédemment, Baron *et al.* (2007b) ont réalisé un crible *in silico* en se basant sur les génomes disponibles pour identifier les gènes conservés chez les organismes pourvus de cils mobiles mais absents chez les organismes qui possèdent des cils immobiles ou n'ont aucun cil. De tels composants ont été baptisés composants de flagelles mobiles (CMF) : parmi les

50 gènes *TbCMF* identifiés, l'implication de 41 d'entre eux dans les processus de mobilité a pu être confirmée après extinction par ARNi, et les études biochimiques ont montré que certains des candidats sont effectivement associés au flagelle de façon stable et spécifique (Baron *et al.*, 2007b). Les gènes dont l'inactivation chez le trypanosome conduit à des anomalies ultrastructurales identiques à ce qui est observé chez les patients constituent des gènes candidats de premier choix.

De récentes analyses fonctionnelles menées chez le trypanosome ont permis d'éclairer les mécanismes liés à la pathogénèse des DCP chez des patients présentant une absence des deux bras de dynéine, internes et externes. En utilisant une approche gène

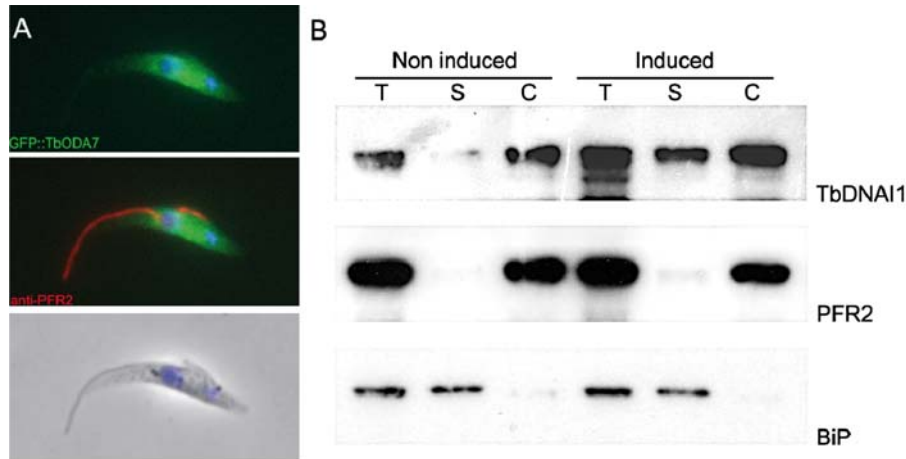


Fig. 4. TbODA7 est localisée dans le corps cellulaire et participe à la formation des bras de dynéine externes. (A) TbODA7 est localisée dans le corps cellulaire. Panneau supérieur, signal GFP dans des cellules exprimant GFP::TbODA7 ; panneau central, flagelle marqué avec un anticorps dirigé contre PFR2 ; panneau inférieur, marquage au DAPI superposé à l'image obtenue en contraste de phase. (B) TbDNAI1, un composant des BDE, est toujours synthétisé dans les cellules *TbODA7^{RNAi}* induites, mais n'est pas correctement incorporé au flagelle. T, extrait total ; S, fraction soluble ; C, cytosquelette (fraction résistante au détergent). Les protéines PFR2 et BiP35 sont utilisées comme contrôle de charge et de fractionnement pour les fractions cytosquelette et soluble respectivement. Figure reproduite de (Vincensini *et al.*, 2011), avec permission ; adaptée de (Duquesnoy *et al.*, 2009) avec permission.

candidat basée sur des résultats obtenus chez *Chlamydomonas* (Freshour *et al.*, 2007), Duquesnoy *et al.* (2009) ont identifié des mutations invalidantes dans le gène *LRRC50/HsODA7* chez 4 patients présentant une absence des deux bras de dynéine (figure 3E). Ce gène code une protéine contenant des répétitions riches en leucine, un motif qui médie des interactions entre protéines. La contribution d'ODA7 à l'architecture et au battement flagellaire a été étudiée chez *T. brucei*. Le mutant *TbODA7^{RNAi}* présente un phénotype de nage fortement altéré, avec une motilité antérograde réduite ; les tests de sédimentation confirment ce phénotype à l'échelle de la population. Ces observations évoquent les mutants *TbDNAI1^{RNAi}* et *TbLC1^{RNAi}* (Branche *et al.*, 2006 ; Baron *et al.*, 2007a). Les analyses de microscopie électronique à transmission ont mis en évidence l'absence d'un pourcentage significatif de BDE : 53 % des axonèmes ont perdu au moins un BDE (figure 3F). Or la protéine de fusion GFP::ODA7 chez *T. brucei* est exclusivement cytoplasmique (figure 4A). Des expériences de fractionnement cellulaire ont montré que l'extinction de *TbODA7* par ARNi n'affecte pas la quantité totale de DNAI1, mais entraîne la présence d'une quantité non négligeable de la protéine dans la fraction soluble (figure 4B). En l'absence d'ODA7, les composants des bras de dynéine sont donc synthétisés normalement, mais ils ne peuvent pas être assemblés et restent dans le cytoplasme. En conclusion, ces données démontrent que les mutations invalidantes du gène *LRRC50/HsODA7* sont à l'origine des cas

de DCP caractérisés par une absence des bras de dynéine. Les études fonctionnelles menées chez le trypanosome ont montré qu'ODA7 est une protéine soluble, localisée dans le cytoplasme, où elle est essentielle pour l'assemblage des bras de dynéine. Ces résultats sont corroborés par les études menées chez *Chlamydomonas*, qui ont établi que la fonction de la protéine est conservée des euglènozoaires aux algues et à l'Homme (Freshour *et al.*, 2007 ; Duquesnoy *et al.*, 2009). Une autre protéine impliquée dans ce processus a été identifiée avant ODA7 (Omran *et al.*, 2008), ce qui suggère qu'une machinerie complexe est nécessaire à la construction des bras de dynéine avant leur transport dans le compartiment flagellaire, où ils sont incorporés à l'axonème. Les gènes codant de telles protéines apparaissent donc comme une nouvelle famille de gènes candidats pour les DCP. Ce travail souligne par ailleurs l'intérêt d'associer la recherche fondamentale et la recherche clinique.

Le trypanosome présente encore un autre avantage : il permet d'évaluer les conséquences fonctionnelles des mutations identifiées chez les patients. Ces mutations peuvent en effet être transposées chez le trypanosome, avec deux approches possibles. La stratégie la plus directe est d'exprimer, chez le trypanosome, des protéines de trypanosome qui reproduisent la mutation trouvée chez les patients, après avoir remplacé l'allèle sauvage. Cette approche est facilitée par la très forte efficacité de la recombinaison homologue chez le trypanosome, mais elle est limitée par le statut diploïde de l'organisme.

L'autre stratégie consiste à compléter le gène du trypanosome préalablement éteint par ARNi par son orthologue humain. En effet, le transcrit du gène humain est suffisamment divergent pour échapper à l'ARNi (Durand-Dubief *et al.*, 2003), mais l'usage du code est assez proche entre les deux espèces pour permettre l'expression de la protéine (Shi *et al.*, 2006). De telles études sont extrêmement prometteuses, dans la mesure où les conséquences fonctionnelles des mutations sont parfois ambiguës : si des codons stop ou des anomalies d'épissage ont probablement pour effet d'abroger la fonction de la protéine, les effets de mutations faux-sens ou de petites délétions sont en revanche plus délicats à évaluer. De plus, le multi-allélisme peut être étudié aisément chez le trypanosome, grâce à la possibilité d'éteindre simultanément l'expression de plusieurs gènes par ARNi (Ralston *et al.*, 2006).

Au contraire de *Chlamydomonas*, le flagelle du trypanosome n'est pas dépolymérisé au cours du cycle cellulaire. Le criblage des banques de données a montré que presque tous les gènes impliqués dans l'IFT sont conservés (Briggs *et al.*, 2004; Berriman *et al.*, 2005; Kohl & Bastin, 2005; Julkowska & Bastin, 2009). Toutes les protéines de l'IFT étudiées jusqu'à présent sont localisées au niveau du corps basal et du flagelle, et dans une certaine mesure dans le corps cellulaire (Absalon *et al.*, 2008b; Adhiambo *et al.*, 2009). Le transport de particules IFT le long de l'axonème a pu être visualisé par vidéo-microscopie à la fois dans l'ancien et le nouveau flagelle, ce qui indique que l'IFT participerait à la fois à la construction et à la maintenance du flagelle (Absalon *et al.*, 2008b). Une douzaine de gènes IFT ont été éteints indépendamment ; leur extinction n'affecte que l'assemblage du nouveau flagelle, probablement parce que les protéines IFT préexistantes ne sont pas ciblées par l'ARNi, et persistent dans l'ancien flagelle. Alternativement, il est possible que l'IFT n'intervienne pas dans la maintenance du flagelle après son assemblage, mais participe à l'échange de matériel entre le compartiment flagellaire et le corps cellulaire. La compréhension du rôle de l'IFT dans la physiologie de l'ancien et du nouveau flagelle, en particulier chez des parasites étudiés *in vivo* dans la mouche tsé-tsé ou l'hôte mammifère s'annonce passionnante.

Les protistes aussi ont besoin de flagelles

L'étude du flagelle des trypanosomatidés pourrait également s'avérer pertinente du point de vue de la parasitologie classique. En effet, le trypanosome est l'agent causatif de la maladie du sommeil, une maladie tropicale fatale en l'absence de traitement, alors que les leishmanies sont responsables des leishmanioses. Dans les deux cas, il n'existe pas de vaccin, peu de traitements sont disponibles, et les médicaments utilisés

entraînent de nombreux effets secondaires (Kennedy, 2008; Maltezu, 2010). Le flagelle du trypanosome persiste tout au long des cycles parasitaire et cellulaire, et il est essentiel à la survie du parasite, à la fois *in vitro* et *in vivo* (Kohl *et al.*, 2003; Branche *et al.*, 2006; Broadhead *et al.*, 2006; Ralston *et al.*, 2006; Griffiths *et al.*, 2007). Chez *Leishmania*, le flagelle est essentiel pour l'infection du phlébotome (Cuvillier *et al.*, 2003), et le rôle potentiel du petit flagelle du stade amastigote dans la détection de signaux ou la formation de la poche flagellaire a été souligné récemment (Absalon *et al.*, 2008a; Rotureau *et al.*, 2009; Gluenz *et al.*, 2010). Dans ce contexte, les protéines spécifiquement parasitaires essentielles à la survie du parasite, de même que les protéines de la PFR, une structure unique aux trypanosomatidés (Branche *et al.*, 2006; Griffiths *et al.*, 2007; Demonchy *et al.*, 2009; Portman *et al.*, 2009), constituent des cibles thérapeutiques de choix.

Perspectives : la voie des cils et flagelles

En dépit d'une architecture globalement conservée, cils et flagelles exercent des fonctions biologiques variées. Leur caractéristique principale est peut-être de constituer un compartiment séparé du reste du corps cellulaire qui permet, grâce au transport intraflagellaire, d'y concentrer des protéines et donc des fonctions spécifiques. L'étude des processus qui assurent l'adressage de composants ciliaires ou flagellaires – lipides et protéines – à ce compartiment constitue un des domaines de recherche les plus prometteurs du moment. Dans le modèle actuel, des vésicules sont adressées directement à la base du cil (Rosenbaum & Witman, 2002). En accord avec cette hypothèse, le cil primaire est souvent enchâssé dans une dépression de la membrane plasmique enrichie en puits recouverts de clathrine, appelée la « poche ciliaire » (figure 5) (Molla-Herman *et al.*, 2010; Rohatgi & Snell, 2010). Par analogie avec la poche flagellaire des trypanosomes, la poche ciliaire pourrait constituer une plateforme de signalisation pour l'adressage au cil. Cependant, des données récentes indiquent que la protéine transmembranaire Smoothed (le récepteur de Hedgehog) est d'abord adressée à la membrane plasmique, puis transportée latéralement au cil par des mécanismes inconnus (Milenkovic *et al.*, 2009), ce qui suggère qu'il existe différentes voies d'adressage au cil.

Dans une revue récente, Baldari et Rosenbaum proposent une hypothèse audacieuse : au delà de la ciliogenèse, les protéines de l'IFT pourraient participer à l'échange de matériel entre le corps cellulaire et le flagelle, possiblement par exocytose (Baldari & Rosenbaum, 2010). Selon leur modèle, les protéines

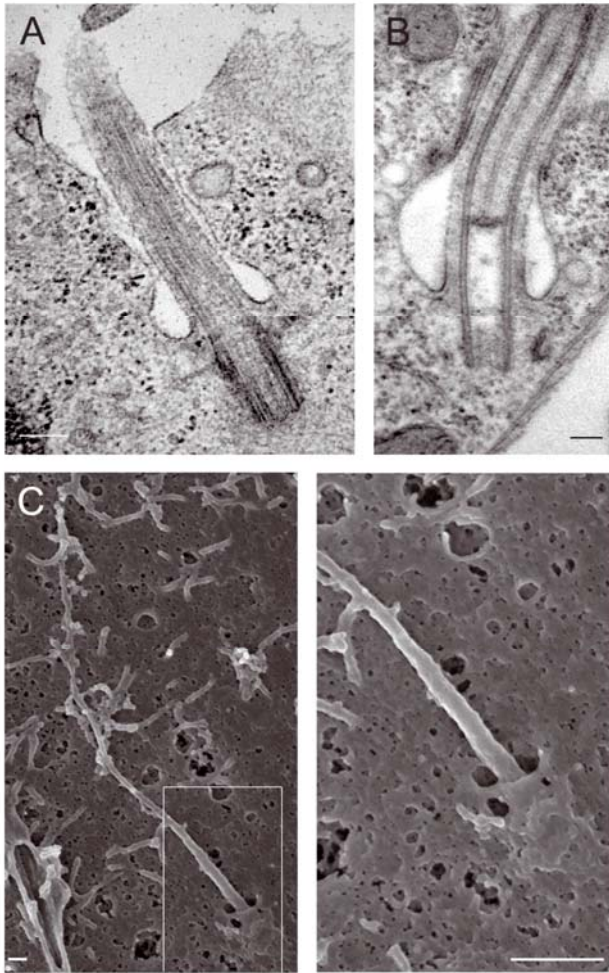


Fig. 5. L'ultrastructure des poches ciliaires et flagellaires est conservée entre les mammifères et *T. brucei*. Coupes transversales de la poche ciliaire de cellules RPE1 (A) et de la poche flagellaire de *T. brucei* (B), visualisées en microscopie électronique à transmission. Poche ciliaire de cellule IMCD visible en microscopie électronique à balayage (C et D). Barre d'échelle : 100 nm. Figure reproduite de (Vincensini *et al.*, 2011), avec permission; adaptée de (Absalon *et al.*, 2008a; Molla-Herman *et al.*, 2010).

seraient transportées du cytosol au corps basal par un processus d'exocytose mettant en jeu les protéines IFT. Encore plus audacieux, les protéines IFT pourraient intervenir dans l'exocytose chez les cellules dépourvues de cils! En effet, le système du transport intraflagellaire est associé à des processus d'exocytose dans les lymphocytes T lors de la formation de la synapse immunologique (Finetti *et al.*, 2009). De plus, le flagelle lui-même pourrait être considéré comme un compartiment sécrétoire, dans la mesure où l'on a décrit des vésicules bourgeonnant au niveau de l'extrémité distale. Ceci pourrait s'expliquer

par la présence d'un microenvironnement restreint à proximité du centrosome, qui a été décrit à diverses reprises au cours de l'évolution eucaryote (Griffiths *et al.*, 2010). L'exocytose médiée par le flagelle pourrait participer aux interactions entre cellules voisines. Une conséquence majeure de ce modèle est que les « ciliopathies » liées à un IFT défectueux pourraient résulter de défauts de l'exocytose, et non pas directement de l'altération des fonctions ciliaires. La recherche sur les cils et les flagelles s'est développée de façon exponentielle au cours des 10 dernières années, et promet de continuer sur sa lancée au fur et à mesure que les voies d'adressage au flagelle seront élucidées.

Financement. L.V. est financée par une bourse Roux postdoctorale. Les travaux du laboratoire sont financés par l'Institut Pasteur, le CNRS, et l'ANR.

Remerciements. Les auteurs souhaitent remercier Camille Enjolras et Bénédicte Durand pour les images de microscopie électronique à transmission de cils de drosophile, et Brice Rotureau pour la relecture du manuscrit.

Références

- Absalon S., Blisnick T., Bonhivers M., Kohl L., Cayet N., Toutirais G., Buisson J., Robinson D., Bastin P., Flagellum elongation is required for correct structure, orientation and function of the flagellar pocket in *Trypanosoma brucei*. *J Cell Sci*, 2008a, 121, 3704–3716.
- Absalon S., Blisnick T., Kohl L., Toutirais G., Dore G., Julkowska D., Tavenet A., Bastin P., Intraflagellar transport and functional analysis of genes required for flagellum formation in trypanosomes. *Mol Biol Cell*, 2008b, 19, 929–944.
- Adhiambo C., Blisnick T., Toutirais G., Delannoy E., Bastin P., A novel function for the atypical small G protein Rab-like 5 in the assembly of the trypanosome flagellum. *J Cell Sci*, 2009, 122, 834–841.
- Alexander J., Unusual axonemal doublet arrangements in the flagellum of *Leishmania* amastigotes. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1978, 72, 345–347.
- Arnaiz O., Malinowska A., Klotz C., Sperling L., Dadlez M., Koll F., Cohen J., Cildb: a knowledgebase for centrosomes and cilia. *Database (Oxford)*, 2009, bap022.
- Avidor-Reiss T., Maer A.M., Koundakjian E., Polyakov A., Keil T., Subramaniam S., Zuker C.S., Decoding cilia function: defining specialized genes required for compartmentalized cilia biogenesis. *Cell*, 2004, 117, 527–539.
- Baas D., Meiniel A., Benadiba C., Bonnafé E., Meiniel O., Reith W., Durand B., A deficiency in RFX3 causes hydrocephalus associated with abnormal differentiation of ependymal cells. *Eur J Neurosci*, 2006, 24, 1020–1030.

- Baccetti B., Dallai R., Burrini A.G., The spermatozoon of *Arthropoda*. 18. The non-motile bifurcated sperm of *Psychodidae* flies. *J Cell Sci*, 1973, 12, 287–311.
- Baldari C.T., Rosenbaum J., Intraflagellar transport: it's not just for cilia anymore. *Curr Opin Cell Biol*, 2010, 22, 75–80.
- Baron D.M., Kabututu Z.P., Hill K.L., Stuck in reverse: loss of LC1 in *Trypanosoma brucei* disrupts outer dynein arms and leads to reverse flagellar beat and backward movement. *J Cell Sci*, 2007a, 120, 1513–1520.
- Baron D.M., Ralston K.S., Kabututu Z.P., Hill K.L., Functional genomics in *Trypanosoma brucei* identifies evolutionarily conserved components of motile flagella. *J Cell Sci*, 2007b, 120, 478–491.
- Bartoloni L., Blouin J.L., Pan Y., Gehrig C., Maiti A.K., Scamuffa N., Rossier C., Jorissen M., Armengot M., Meeks M., Mitchison H.M., Chung E.M., Delozier-Blanchet C.D., Craigen W.J., Antonarakis S.E., Mutations in the *DNAH11* (axonemal heavy chain dynein type 11) gene cause one form of *situs inversus totalis* and most likely primary ciliary dyskinesia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99, 10282–10286.
- Bastin P., MacRae T.H., Francis S.B., Matthews K.R., Gull K., Flagellar morphogenesis: protein targeting and assembly in the paraflagellar rod of trypanosomes. *Mol Cell Biol*, 1999, 19, 8191–8200.
- Bastin P., Ellis K., Kohl L., Gull K., Flagellum ontogeny in trypanosomes studied *via* an inherited and regulated RNA interference system. *J Cell Sci*, 2000, 113, 3321–3328.
- Bengs F., Scholz A., Kuhn D., Wiese M., LmxMPK9, a mitogen-activated protein kinase homologue affects flagellar length in *Leishmania mexicana*. *Mol Microbiol*, 2005, 55, 1606–1615.
- Berbari N.F., O'Connor A.K., Haycraft C.J., Yoder B.K., The primary cilium as a complex signaling center. *Curr Biol*, 2009, 19, R526–535.
- Berriman M., Ghedin E., Hertz-Fowler C., Blandin G., Renauld H., Bartholomeu D.C., Lennard N.J., Caler E., Hamlin N.E., Haas B., Bohme U., Hannick L., Aslett M.A., Shallom J., Marcello L., Hou L., Wickstead B., Alsmark U.C., Arrowsmith C., Atkin R.J., Barron A.J., Bringaud F., Brooks K., Carrington M., Cherevach I., Chillingworth T.J., Churcher C., Clark L.N., Corton C.H., Cronin A., Davies R.M., Doggett J., Djikeng A., Feldblyum T., Field M.C., Fraser A., Goodhead I., Hance Z., Harper D., Harris B.R., Hauser H., Hostetler J., Ivens A., Jagels K., Johnson D., Johnson J., Jones K., Kerhornou A.X., Koo H., Larke N., Landfear S., Larkin C., Leech V., Line A., Lord A., Macleod A., Mooney P.J., Moule S., Martin D.M., Morgan G.W., Mungall K., Norbertczak H., Ormond D., Pai G., Peacock C.S., Peterson J., Quail M.A., Rabbinowitsch E., Rajandream M.A., Reitter C., Salzberg S.L., Sanders M., Schobel S., Sharp S., Simmonds M., Simpson A.J., Tallon L., Turner C.M., Tait A., Tivey A.R., Van Aken S., Walker D., Wanless D., Wang S., White B., White O., Whitehead S., Woodward J., Wortman J., Adams M.D., Embley T.M., Gull K., Ullu E., Barry J.D., Fairlamb A.H., Opperdoes F., Barrell B.G., Donelson J.E., Hall N., Fraser C.M., Melville S.E., El-Sayed N.M., The genome of the African trypanosome *Trypanosoma brucei*. *Science*, 2005, 309, 416–422.
- Besharse J.C., Hollyfield J.G., Turnover of mouse photoreceptor outer segments in constant light and darkness. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1979, 18, 1019–1024.
- Besharse J.C., Hollyfield J.G., Rayborn M.E., Turnover of rod photoreceptor outer segments. II. Membrane addition and loss in relationship to light. *J Cell Biol*, 1977, 75, 507–527.
- Blacque O.E., Reardon M.J., Li C., McCarthy J., Mahjoub M.R., Ansley S.J., Badano J.L., Mah A.K., Beales P.L., Davidson W.S., Johnsen R.C., Audeh M., Plasterk R.H., Baillie D.L., Katsanis N., Quarumby L.M., Wicks S.R., Leroux M.R., Loss of *C. elegans* BBS-7 and BBS-8 protein function results in cilia defects and compromised intraflagellar transport. *Genes Dev*, 2004, 18, 1630–1642.
- Blacque O.E., Perens E.A., Borojevich K.A., Inglis P.N., Li C., Warner A., Khattra J., Holt R.A., Ou G., Mah A.K., McKay S.J., Huang P., Swoboda P., Jones S.J., Marra M.A., Baillie D.L., Moerman D.G., Shaham S., Leroux M.R., Functional genomics of the cilium, a sensory organelle. *Curr Biol*, 2005, 15, 935–941.
- Blacque O.E., Li C., Inglis P.N., Esmail M.A., Ou G., Mah A.K., Baillie D.L., Scholey J.M., Leroux M.R., The WD repeat-containing protein IFTA-1 is required for retrograde intraflagellar transport. *Mol Biol Cell*, 2006, 17, 5053–5062.
- Blaineau C., Tessier M., Dubessay P., Tasse L., Crobu L., Pages M., Bastien P., A novel microtubule-depolymerizing kinesin involved in length control of a eukaryotic flagellum. *Curr Biol*, 2007, 17, 778–782.
- Bloodgood R.A., Protein targeting to flagella of trypanosomatid protozoa. *Cell Biol Int*, 2000, 24, 857–862.
- Bobiniec Y., Khodjakov A., Mir L.M., Rieder C.L., Edde B., Bornens M., Centriole disassembly *in vivo* and its effect on centrosome structure and function in vertebrate cells. *J Cell Biol*, 1998, 143, 1575–1589.
- Bonnafé E., Touka M., AitLounis A., Baas D., Barras E., Ucla C., Moreau A., Flamant F., Dubruille R., Couble P., Collignon J., Durand B., Reith W., The transcription factor RFX3 directs nodal cilium development and left-right asymmetry specification. *Mol Cell Biol*, 2004, 24, 4417–4427.
- Brancati F., Iannicelli M., Travaglini L., Mazzotta A., Bertini E., Boltshauser E., D'Arrigo S., Emma F., Fazzi E., Gallizzi R., Gentile M., Loncarevic D., Mejaski-Bosnjak V., Pantaleoni C., Rigoli L., Salpietro C.D., Signorini S., Stringini G.R., Verloes A., Zabluka D., Dallapiccola B., Gleeson J.G., Valente E.M.,

- MKS3/TMEM67* mutations are a major cause of COACH Syndrome, a Joubert Syndrome related disorder with liver involvement. *Hum Mutat*, 2009, 30, E432–442.
- Branche C., Kohl L., Toutirais G., Buisson J., Cosson J., Bastin P., Conserved and specific functions of axoneme components in trypanosome motility. *J Cell Sci*, 2006, 119, 3443–3455.
- Briggs L.J., Davidge J.A., Wickstead B., Ginger M.L., Gull K., More than one way to build a flagellum: comparative genomics of parasitic protozoa. *Curr Biol*, 2004, 14, R611–612.
- Broadhead R., Dawe H.R., Farr H., Griffiths S., Hart S.R., Portman N., Shaw M.K., Ginger M.L., Gaskell S.J., McKean P.G., Gull K., Flagellar motility is required for the viability of the bloodstream trypanosome. *Nature*, 2006, 440, 224–227.
- Castleman V.H., Romio L., Chodhari R., Hirst R.A., de Castro S.C., Parker K.A., Ybot-Gonzalez P., Emes R.D., Wilson S.W., Wallis C., Johnson C.A., Herrera R.J., Rutman A., Dixon M., Shoemark A., Bush A., Hogg C., Gardiner R.M., Reish O., Greene N.D., O’Callaghan C., Purton S., Chung E.M., Mitchison H.M., Mutations in radial spoke head protein genes *RSPH9* and *RSPH4A* cause primary ciliary dyskinesia with central-microtubular-pair abnormalities. *Am J Hum Genet*, 2009, 84, 197–209.
- Cevik S., Hori Y., Kaplan O.I., Kida K., Toivenon T., Foley-Fisher C., Cottell D., Katada T., Kontani K., Blacque O.E., Joubert syndrome *Arl13b* functions at ciliary membranes and stabilizes protein transport in *Cænorhabditis elegans*. *J Cell Biol*, 2010, 188, 953–969.
- Chen J., Knowles H.J., Hebert J.L., Hackett B.P., Mutation of the mouse hepatocyte nuclear factor/forkhead homologue 4 gene results in an absence of cilia and random left-right asymmetry. *J Clin Invest*, 1998, 102, 1077–1082.
- Chen N., Mah A., Blacque O.E., Chu J., Phgora K., Bakhoun M.W., Newbury C.R., Khattra J., Chan S., Go A., Efimenko E., Johnsen R., Phirke P., Swoboda P., Marra M., Moerman D.G., Leroux M.R., Baillie D.L., Stein L.D., Identification of ciliary and ciliopathy genes in *Cænorhabditis elegans* through comparative genomics. *Genome Biol*, 2006, 7, R126.
- Cheung H.O., Zhang X., Ribeiro A., Mo R., Makino S., Puvindran V., Law K.K., Briscoe J., Hui C.C., The kinesin protein Kif7 is a critical regulator of Gli transcription factors in mammalian hedgehog signaling. *Sci Signal*, 2009, 2, ra29.
- Cole D.G., Diener D.R., Himelblau A.L., Beech P.L., Fuster J.C., Rosenbaum J.L., *Chlamydomonas* kinesin-II-dependent intraflagellar transport (IFT): IFT particles contain proteins required for ciliary assembly in *Cænorhabditis elegans* sensory neurons. *J Cell Biol*, 1998, 141, 993–1008.
- Collet J., Spike C.A., Lundquist E.A., Shaw J.E., Herman R.K., Analysis of *osm-6*, a gene that affects sensory cilium structure and sensory neuron function in *Cænorhabditis elegans*. *Genetics*, 1998, 148, 187–200.
- Coppieters F., Lefever S., Leroy B.P., De Baere E., *CEP290*, a gene with many faces: mutation overview and presentation of CEP290base. *Hum Mutat*, 2010, 31, 1097–1108.
- Cuvillier A., Redon F., Antoine J.C., Chardin P., DeVos T., Merlin G., LdARL-3A, a *Leishmania* promastigote-specific ADP-ribosylation factor-like protein, is essential for flagellum integrity. *J Cell Sci*, 2000, 113, 2065–2074.
- Cuvillier A., Miranda J.C., Ambit A., Barral A., Merlin G., Abortive infection of *Lutzomyia longipalpis* insect vectors by aflagellated LdARL-3A-Q70L overexpressing *Leishmania amazonensis* parasites. *Cell Microbiol*, 2003, 5, 717–728.
- Davidge J.A., Chambers E., Dickinson H.A., Towers K., Ginger M.L., McKean P.G., Gull K., Trypanosome IFT mutants provide insight into the motor location for mobility of the flagella connector and flagellar membrane formation. *J Cell Sci*, 2006, 119, 3935–3943.
- Dawe H.R., Farr H., Portman N., Shaw M.K., Gull K., The Parkin co-regulated gene product, PACRG, is an evolutionarily conserved axonemal protein that functions in outer-doublet microtubule morphogenesis. *J Cell Sci*, 2005, 118, 5421–5430.
- de Bono M., Tobin D.M., Davis M.W., Avery L., Bargmann C.I., Social feeding in *Cænorhabditis elegans* is induced by neurons that detect aversive stimuli. *Nature*, 2002, 419, 899–903.
- Demonchy R., Blisnick T., Deprez C., Toutirais G., Loussert C., Marande W., Grellier P., Bastin P., Kohl L., Kinesin 9 family members perform separate functions in the trypanosome flagellum. *J Cell Biol*, 2009, 187, 615–622.
- DiBella L.M., King S.M., Dynein motors of the *Chlamydomonas* flagellum. *Int Rev Cytol*, 2001, 210, 227–268.
- Drummond I.A., Majumdar A., Hentschel H., Elger M., Solnica-Krezel L., Schier A.F., Neuhauss S.C., Stemple D.L., Zwartkruis F., Rangini Z., Driever W., Fishman M.C., Early development of the zebrafish pronephros and analysis of mutations affecting pronephric function. *Development*, 1998, 125, 4655–4667.
- Duquesnoy P., Escudier E., Vincensini L., Freshour J., Bridoux A.M., Coste A., Deschildre A., de Blic J., Legendre M., Montantin G., Tenreiro H., Vojtek A.M., Loussert C., Clément A., Escalier D., Bastin P., Mitchell D.R., Amselem S., Loss-of-function mutations in the human ortholog of *Chlamydomonas reinhardtii* *ODA7* disrupt dynein arm assembly and cause primary ciliary dyskinesia. *Am J Hum Genet*, 2009, 85, 890–896.

- Durand-Dubief M., Kohl L., Bastin P., Efficiency and specificity of RNA interference generated by intra- and intermolecular double stranded RNA in *Trypanosoma brucei*. *Mol Biochem Parasitol*, 2003, 129, 11–21.
- Dutcher S.K., Flagellar assembly in two hundred and fifty easy-to-follow steps. *Trends Genet*, 1995, 11, 398–404.
- Edde B., Rossier J., Le Caer J.P., Desbruyères E., Gros F., Denoulet P., Post-translational glutamylation of alpha-tubulin. *Science*, 1990, 247, 83–85.
- Efimenko E., Bubb K., Mak H.Y., Holzman T., Leroux M.R., Ruvkun G., Thomas J.H., Swoboda P., Analysis of *xbx* genes in *C. elegans*. *Development*, 2005, 132, 1923–1934.
- Efimenko E., Blacque O.E., Ou G., Haycraft C.J., Yoder B.K., Scholey J.M., Leroux M.R., Swoboda P., *Cænorhabditis elegans* DYF-2, an orthologue of human WDR19, is a component of the intraflagellar transport machinery in sensory cilia. *Mol Biol Cell*, 2006, 17, 4801–4811.
- El-Sayed N.M., Myler P.J., Blandin G., Berriman M., Crabtree J., Aggarwal G., Caler E., Renauld H., Worthey E.A., Hertz-Fowler C., Ghedin E., Peacock C., Bartholomeu D.C., Haas B.J., Tran A.N., Wortman J.R., Alsmark U.C., Angiuoli S., Anupama A., Badger J., Bringaud F., Cadag E., Carlton J.M., Cerqueira G.C., Creasy T., Delcher A.L., Djikeng A., Embley T.M., Hauser C., Ivens A.C., Kummerfeld S.K., Pereira-Leal J.B., Nilsson D., Peterson J., Salzberg S.L., Shallom J., Silva J.C., Sundaram J., Westenberger S., White O., Melville S.E., Donelson J.E., Andersson B., Stuart K.D., Hall N., Comparative genomics of trypanosomatid parasitic protozoa. *Science*, 2005, 309, 404–409.
- Endoh-Yamagami S., Evangelista M., Wilson D., Wen X., Theunissen J.W., Phamluong K., Davis M., Scales S.J., Solloway M.J., de Sauvage F.J., Peterson A.S., The mammalian Cos2 homolog Kif7 plays an essential role in modulating Hh signal transduction during development. *Curr Biol*, 2009, 19, 1320–1326.
- Engel B.D., Ludington W.B., Marshall W.F., Intraflagellar transport particle size scales inversely with flagellar length: revisiting the balance-point length control model. *J Cell Biol*, 2009, 187, 81–89.
- Erdmann M., Scholz A., Melzer I.M., Schmetz C., Wiese M., Interacting protein kinases involved in the regulation of flagellar length. *Mol Biol Cell*, 2006, 17, 2035–2045.
- Ersfeld K., Gull K., Targeting of cytoskeletal proteins to the flagellum of *Trypanosoma brucei*. *J Cell Sci*, 2001, 114, 141–148.
- Farzan S.F., Ascano M., Jr., Ogden S.K., Sanial M., Brigui A., Plessis A., Robbins D.J., Costal2 functions as a kinesin-like protein in the hedgehog signal transduction pathway. *Curr Biol*, 2008, 18, 1215–1220.
- Finetti F., Paccani S.R., Riparbelli M.G., Giacomello E., Perinetti G., Pazour G.J., Rosenbaum J.L., Baldari C.T., Intraflagellar transport is required for polarized recycling of the TCR/CD3 complex to the immune synapse. *Nat Cell Biol*, 2009, 11, 1332–1339.
- Fliegauf M., Omran H., Novel tools to unravel molecular mechanisms in cilia-related disorders. *Trends Genet*, 2006, 22, 241–245.
- Fliegauf M., Benzing T., Omran H., When cilia go bad: cilia defects and ciliopathies. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8, 880–893.
- Freshour J., Yokoyama R., Mitchell D.R., *Chlamydomonas* flagellar outer row dynein assembly protein ODA7 interacts with both outer row and I1 inner row dyneins. *J Biol Chem*, 2007, 282, 5404–5412.
- Gavin R.H., *In vitro* reassembly of basal body components. *J Cell Sci*, 1984, 66, 147–154.
- Gherman A., Davis E.E., Katsanis N., The ciliary proteome database: an integrated community resource for the genetic and functional dissection of cilia. *Nat Genet*, 2006, 38, 961–962.
- Gibbons I.R., Cilia and flagella of eukaryotes. *J Cell Biol*, 1981, 91, 107s–124s.
- Gluz E., Hoog J.L., Smith A.E., Dawe H.R., Shaw M.K., Gull K., Beyond 9+0: noncanonical axoneme structures characterize sensory cilia from protists to humans. *FASEB J*, 2010, 3117–3121.
- Godsel L.M., Engman D.M., Flagellar protein localization mediated by a calcium-myristoyl/palmitoyl switch mechanism. *Embo J*, 1999, 18, 2057–2065.
- Goetz S.C., Anderson K.V., The primary cilium: a signaling centre during vertebrate development. *Nat Rev Genet*, 2010, 11, 331–344.
- Griffiths G.M., Tsun A., Stinchcombe J.C., The immunological synapse: a focal point for endocytosis and exocytosis. *J Cell Biol*, 2010, 189, 399–406.
- Griffiths S., Portman N., Taylor P.R., Gordon S., Ginger M.L., Gull K., RNA interference mutant induction *in vivo* demonstrates the essential nature of trypanosome flagellar function during mammalian infection. *Eukaryot Cell*, 2007, 6, 1248–1250.
- Guirao B., Meunier A., Mortaud S., Aguilar A., Corsi J.M., Strehl L., Hirota Y., Desoeuvre A., Boutin C., Han Y.G., Mirzadeh Z., Cremer H., Montcouquiol M., Sawamoto K., Spassky N., Coupling between hydrodynamic forces and planar cell polarity orients mammalian motile cilia. *Nat Cell Biol*, 2010, 12, 341–350.
- Guttman S.D., Gorovsky M.A., Cilia regeneration in starved *Tetrahymena*: an inducible system for studying gene expression and organelle biogenesis. *Cell*, 1979, 17, 307–317.
- Han Y.G., Kwok B.H., Kernan M.J., Intraflagellar transport is required in *Drosophila* to differentiate sensory cilia but not sperm. *Curr Biol*, 2003, 13, 1679–1686.
- Han Y.G., Spassky N., Romaguera-Ros M., Garcia-Verdugo J.M., Aguilar A., Schneider-Maunoury S.,

- Alvarez-Buylla A., Hedgehog signaling and primary cilia are required for the formation of adult neural stem cells. *Nat Neurosci*, 2008, 11, 277–284.
- Hao L., Scholey J.M., Intraflagellar transport at a glance. *J Cell Sci*, 2009, 122, 889–892.
- Hart S.R., Lau K.W., Hao Z., Broadhead R., Portman N., Huhmer A., Gull K., McKean P.G., Hubbard S.J., Gaskell S.J., Analysis of the trypanosome flagellar proteome using a combined electron transfer/collisionally activated dissociation strategy. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2009, 20, 167–175.
- Hayes J.M., Kim S.K., Abitua P.B., Park T.J., Herrington E.R., Kitayama A., Grow M.W., Ueno N., Wallingford J.B., Identification of novel ciliogenesis factors using a new *in vivo* model for mucociliary epithelial development. *Dev Biol*, 2007, 312, 115–130.
- Hill K.L., Hutchings N.R., Russell D.G., Donelson J.E., A novel protein targeting domain directs proteins to the anterior cytoplasmic face of the flagellar pocket in African trypanosomes. *J Cell Sci*, 1999, 112, 3091–3101.
- Hiraki M., Nakazawa Y., Kamiya R., Hirono M., Bld10p constitutes the cartwheel-spoke tip and stabilizes the 9-fold symmetry of the centriole. *Curr Biol*, 2007, 17, 1778–1783.
- Hollyfield J.G., Besharse J.C., Rayborn M.E., Turnover of rod photoreceptor outer segments. I. Membrane addition and loss in relationship to temperature. *J Cell Biol*, 1977, 75, 490–506.
- Huangfu D., Liu A., Rakeman A.S., Murcia N.S., Niswander L., Anderson K.V., Hedgehog signalling in the mouse requires intraflagellar transport proteins. *Nature*, 2003, 426, 83–87.
- Iftode F., Fleury-Aubusson A., Structural inheritance in *Paramecium*: ultrastructural evidence for basal body and associated rootlets polarity transmission through binary fission. *Biol Cell*, 2003, 95, 39–51.
- Inaba K., Molecular architecture of the sperm flagella: molecules for motility and signaling. *Zoolog Sci*, 2003, 20, 1043–1056.
- Inglis P.N., Boroevich K.A., Leroux M.R., Piecing together a cilium. *Trends Genet*, 2006, 22, 491–500.
- Ivens A.C., Peacock C.S., Worthey E.A., Murphy L., Aggarwal G., Berriman M., Sisk E., Rajandream M.A., Adlem E., Aert R., Anupama A., Apostolou Z., Attipoe P., Bason N., Bauser C., Beck A., Beverley S.M., Bianchetti G., Borzym K., Bothe G., Bruschi C.V., Collins M., Cadag E., Ciarloni L., Clayton C., Coulson R.M., Cronin A., Cruz A.K., Davies R.M., De Gaudenzi J., Dobson D.E., Duesterhoeft A., Fazelina G., Fosker N., Frasch A.C., Fraser A., Fuchs M., Gabel C., Goble A., Goffeau A., Harris D., Hertz-Fowler C., Hilbert H., Horn D., Huang Y., Klages S., Knights A., Kube M., Larke N., Litvin L., Lord A., Louie T., Marra M., Masuy D., Matthews K., Michaeli S., Mottram J.C., Muller-Auer S., Munden H., Nelson S., Norbertczak H., Oliver K., O’Neil S., Pentony M., Pohl T.M., Price C., Purnelle B., Quail M.A., Rabbinowitsch E., Reinhardt R., Rieger M., Rinta J., Robben J., Robertson L., Ruiz J.C., Rutter S., Saunders D., Schafer M., Schein J., Schwartz D.C., Seeger K., Seyler A., Sharp S., Shin H., Sivam D., Squares R., Squares S., Tosato V., Vogt C., Volckaert G., Wambutt R., Warren T., Wedler H., Woodward J., Zhou S., Zimmermann W., Smith D.F., Blackwell J.M., Stuart K.D., Barrell B., Myler P.J., The genome of the kinetoplastid parasite, *Leishmania major*. *Science*, 2005, 309, 436–442.
- Jackson A.P., Quail M.A., Berriman M., Insights into the genome sequence of a free-living Kinetoplastid: *Bodo saltans* (Kinetoplastida: Euglenozoa). *BMC Genomics*, 2008, 9, 594.
- Jackson A.P., Sanders M., Berry A., McQuillan J., Aslett M.A., Quail M.A., Chukualim B., Capewell P., MacLeod A., Melville S.E., Gibson W., Barry J.D., Berriman M., Hertz-Fowler C., The genome sequence of *Trypanosoma brucei gambiense*, causative agent of chronic human african trypanosomiasis. *PLoS Negl Trop Dis*, 2010, 4, e658.
- Julkowska D., Bastin P., Tools for analyzing intraflagellar transport in trypanosomes. *Methods Cell Biol*, 2009, 93, 59–80.
- Katta S.S., Tammana T.V., Sahasrabudde A.A., Bajpai V.K., Gupta C.M., Trafficking activity of myosin XXI is required in assembly of *Leishmania* flagellum. *J Cell Sci*, 2010, 123, 2035–2044.
- Kennedy M.P., Omran H., Leigh M.W., Dell S., Morgan L., Molina P.L., Robinson B.V., Minnix S.L., Olbrich H., Severin T., Ahrens P., Lange L., Morillas H.N., Noone P.G., Zariwala M.A., Knowles M.R., Congenital heart disease and other heterotaxic defects in a large cohort of patients with primary ciliary dyskinesia. *Circulation*, 2007, 115, 2814–2821.
- Kennedy P.G., The continuing problem of human African trypanosomiasis (sleeping sickness). *Ann Neurol*, 2008, 64, 116–126.
- Kernan M., Cowan D., Zuker C., Genetic dissection of mechanosensory transduction: mechanoreception-defective mutations of *Drosophila*. *Neuron*, 1994, 12, 1195–1206.
- Kilburn C.L., Pearson C.G., Romijn E.P., Meehl J.B., Giddings T.H., Jr., Culver B.P., Yates J.R., 3rd, Winey M., New *Tetrahymena* basal body protein components identify basal body domain structure. *J Cell Biol*, 2007, 178, 905–912.
- Kim S.K., Shindo A., Park T.J., Oh E.C., Ghosh S., Gray R.S., Lewis R.A., Johnson C.A., Attie-Bittach T., Katsanis N., Wallingford J.B., Planar cell polarity acts through septins to control collective cell movement and ciliogenesis. *Science*, 2010, 329, 1337–1340.

- Kleyn P.W., Fan W., Kovats S.G., Lee J.J., Pulido J.C., Wu Y., Berkemeier L.R., Misumi D.J., Holmgren L., Charlat O., Woolf E.A., Tayber O., Brody T., Shu P., Hawkins F., Kennedy B., Baldini L., Ebeling C., Alperin G.D., Deeds J., Lakey N.D., Culpepper J., Chen H., Glucksmann-Kuis M.A., Carlson G.A., Duyk G.M., Moore K.J., Identification and characterization of the mouse obesity gene *tubby*: a member of a novel gene family. *Cell*, 1996, 85, 281–290.
- Kohl L., Bastin P., The flagellum of trypanosomes. *Int Rev Cytol*, 2005, 244, 227–285.
- Kohl L., Robinson D., Bastin P., Novel roles for the flagellum in cell morphogenesis and cytokinesis of trypanosomes. *Embo J*, 2003, 22, 5336–5346.
- Kozminski K.G., Beech P.L., Rosenbaum J.L., The *Chlamydomonas* kinesin-like protein FLA10 is involved in motility associated with the flagellar membrane. *J Cell Biol*, 1995, 131, 1517–1527.
- Kozminski K.G., Johnson K.A., Forscher P., Rosenbaum J.L., A motility in the eukaryotic flagellum unrelated to flagellar beating. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90, 5519–5523.
- Kramer-Zucker A.G., Olale F., Haycraft C.J., Yoder B.K., Schier A.F., Drummond I.A., Cilia-driven fluid flow in the zebrafish pronephros, brain and Kupffer's vesicle is required for normal organogenesis. *Development*, 2005, 132, 1907–1921.
- Kubo T., Yanagisawa H.A., Yagi T., Hirono M., Kamiya R., Tubulin polyglutamylation regulates axonemal motility by modulating activities of inner-arm dyneins. *Curr Biol*, 2010, 20, 441–445.
- Kulaga H.M., Leitch C.C., Eichers E.R., Badano J.L., Lesemann A., Hoskins B.E., Lupski J.R., Beales P.L., Reed R.R., Katsanis N., Loss of BBS proteins causes anosmia in humans and defects in olfactory cilia structure and function in the mouse. *Nat Genet*, 2004, 36, 994–998.
- Lee E., Sivan-Loukianova E., Eberl D.F., Kernan M.J., An IFT-A protein is required to delimit functionally distinct zones in mechanosensory cilia. *Curr Biol*, 2008, 18, 1899–1906.
- Li J.B., Gerdes J.M., Haycraft C.J., Fan Y., Teslovich T.M., May-Simera H., Li H., Blacque O.E., Li L., Leitch C.C., Lewis R.A., Green J.S., Parfrey P.S., Leroux M.R., Davidson W.S., Beales P.L., Guay-Woodford L.M., Yoder B.K., Stormo G.D., Katsanis N., Dutcher S.K., Comparative genomics identifies a flagellar and basal body proteome that includes the *BBS5* human disease gene. *Cell*, 2004, 117, 541–552.
- Li W., Feng Z., Sternberg P.W., Xu X.Z., A *C. elegans* stretch receptor neuron revealed by a mechanosensitive TRP channel homologue. *Nature*, 2006, 440, 684–687.
- Liem K.F., Jr., He M., Ocbina P.J., Anderson K.V., Mouse Kif7/Costal2 is a cilia-associated protein that regulates Sonic hedgehog signaling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106, 13377–13382.
- Loges N.T., Olbrich H., Becker-Heck A., Haffner K., Heer A., Reinhard C., Schmidts M., Kispert A., Zariwala M.A., Leigh M.W., Knowles M.R., Zentgraf H., Seithe H., Nurnberg G., Nurnberg P., Reinhardt R., Omran H., Deletions and point mutations of *LRRC50* cause primary ciliary dyskinesia due to dynein arm defects. *Am J Hum Genet*, 2009, 85, 883–889.
- Loges N.T., Olbrich H., Fenske L., Mussaffi H., Horvath J., Fliegau M., Kuhl H., Baktai G., Peterffy E., Chodhari R., Chung E.M., Rutman A., O'Callaghan C., Blau H., Tiszlavicz L., Voelkel K., Witt M., Zietkiewicz E., Neesen J., Reinhardt R., Mitchison H.M., Omran H., *DNAI2* mutations cause primary ciliary dyskinesia with defects in the outer dynein arm. *Am J Hum Genet*, 2008, 83, 547–558.
- Maltezos H.C., Drug resistance in visceral leishmaniasis. *J Biomed Biotechnol*, 2010, 2010, 617521.
- Marshall W.F., Rosenbaum J.L., Intraflagellar transport balances continuous turnover of outer doublet microtubules: implications for flagellar length control. *J Cell Biol*, 2001, 155, 405–414.
- Marszalek J.R., Liu X., Roberts E.A., Chui D., Marth J.D., Williams D.S., Goldstein L.S., Genetic evidence for selective transport of opsin and arrestin by kinesin-II in mammalian photoreceptors. *Cell*, 2000, 102, 175–187.
- McGrath J., Somlo S., Makova S., Tian X., Brueckner M., Two populations of node monocilia initiate left-right asymmetry in the mouse. *Cell*, 2003, 114, 61–73.
- Milenkovic L., Scott M.P., Rohatgi R., Lateral transport of Smoothed from the plasma membrane to the membrane of the cilium. *J Cell Biol*, 2009, 187, 365–374.
- Mitchell B., Stubbs J.L., Huisman F., Taborek P., Yu C., Kintner C., The PCP pathway instructs the planar orientation of ciliated cells in the *Xenopus* larval skin. *Curr Biol*, 2009, 19, 924–929.
- Molla-Herman A., Ghossoub R., Blisnick T., Meunier A., Serres C., Silbermann F., Emmerson C., Romeo K., Bourdoncle P., Schmitt A., Saunier S., Spassky N., Bastin P., Benmerah A., The ciliary pocket: an endocytic membrane domain at the base of primary and motile cilia. *J Cell Sci*, 2010, 123, 1785–1795.
- Moore A., Escudier E., Roger G., Tamalet A., Pelosse B., Marlin S., Clément A., Geremek M., Delaisi B., Bridoux A.M., Coste A., Witt M., Duriez B., Amsellem S., *RPGR* is mutated in patients with a complex X linked phenotype combining primary ciliary dyskinesia and retinitis pigmentosa. *J Med Genet*, 2006, 43, 326–333.
- Mukhopadhyay A., Deplancke B., Walhout A.J., Tissenbaum H.A., *C. elegans* *tubby* regulates life span and fat storage by two independent mechanisms. *Cell Metab*, 2005, 2, 35–42.
- Mukhopadhyay S., Lu Y., Qin H., Lanjuin A., Shaham S., Sengupta P., Distinct IFT mechanisms contribute to the generation of ciliary structural diversity in *C. elegans*. *Embo J*, 2007, 26, 2966–2980.

- Mukhopadhyay S., Lu Y., Shaham S., Sengupta P., Sensory signaling-dependent remodeling of olfactory cilia architecture in *C. elegans*. *Dev Cell*, 2008, 14, 762–774.
- Nakazawa Y., Hiraki M., Kamiya R., Hirono M., SAS-6 is a cartwheel protein that establishes the 9-fold symmetry of the centriole. *Curr Biol*, 2007, 17, 2169–2174.
- Nauli S.M., Alenghat F.J., Luo Y., Williams E., Vassilev P., Li X., Elia A.E., Lu W., Brown E.M., Quinn S.J., Ingber D.E., Zhou J., Polycystins 1 and 2 mediate mechanosensation in the primary cilium of kidney cells. *Nat Genet*, 2003, 33, 129–137.
- Noben-Trauth K., Naggert J.K., North M.A., Nishina P.M., A candidate gene for the mouse mutation *tubby*. *Nature*, 1996, 380, 534–538.
- Nohynkova E., Tumova P., Kulda J., Cell division of *Giardia intestinalis*: flagellar developmental cycle involves transformation and exchange of flagella between mastigonts of a diplomonad cell. *Eukaryot Cell*, 2006, 5, 753–761.
- Nonaka S., Tanaka Y., Okada Y., Takeda S., Harada A., Kanai Y., Kido M., Hirokawa N., Randomization of left-right asymmetry due to loss of nodal cilia generating leftward flow of extraembryonic fluid in mice lacking KIF3B motor protein. *Cell*, 1998, 95, 829–837.
- Oberholzer M., Lopez M.A., Ralston K.S., Hill K.L., Approaches for functional analysis of flagellar proteins in African trypanosomes. *Methods Cell Biol*, 2009, 93, 21–57.
- Ogawa K., Takai H., Ogiwara A., Yokota E., Shimizu T., Inaba K., Mohri H., Is outer arm dynein intermediate chain 1 multifunctional? *Mol Biol Cell*, 1996, 7, 1895–1907.
- Olbrich H., Haffner K., Kispert A., Volkel A., Volz A., Sasmaz G., Reinhardt R., Hennig S., Lehrach H., Konietzko N., Zariwala M., Noone P.G., Knowles M., Mitchison H.M., Meeks M., Chung E.M., Hildebrandt F., Sudbrak R., Omran H., Mutations in *DNAH5* cause primary ciliary dyskinesia and randomization of left-right asymmetry. *Nat Genet*, 2002, 30, 143–144.
- Omori Y., Zhao C., Saras A., Mukhopadhyay S., Kim W., Furukawa T., Sengupta P., Veraksa A., Malicki J., Elipsa is an early determinant of ciliogenesis that links the IFT particle to membrane-associated small GTPase Rab8. *Nat Cell Biol*, 2008, 10, 437–444.
- Omran H., Kobayashi D., Olbrich H., Tsukahara T., Loges N.T., Hagiwara H., Zhang Q., Leblond G., O'Toole E., Hara C., Mizuno H., Kawano H., Fliegauf M., Yagi T., Koshida S., Miyawaki A., Zentgraf H., Seithe H., Reinhardt R., Watanabe Y., Kamiya R., Mitchell D.R., Takeda H., Ktu/PF13 is required for cytoplasmic pre-assembly of axonemal dyneins. *Nature*, 2008, 456, 611–616.
- Orozco J.T., Wedaman K.P., Signor D., Brown H., Rose L., Scholey J.M., Movement of motor and cargo along cilia. *Nature*, 1999, 398, 674.
- Ou G., Blacque O.E., Snow J.J., Leroux M.R., Scholey J.M., Functional coordination of intraflagellar transport motors. *Nature*, 2005, 436, 583–587.
- Padma P., Hozumi A., Ogawa K., Inaba K., Molecular cloning and characterization of a thioredoxin/nucleoside diphosphate kinase related dynein intermediate chain from the ascidian, *Ciona intestinalis*. *Gene*, 2001, 275, 177–183.
- Pan X., Ou G., Civelekoglu-Scholey G., Blacque O.E., Endres N.F., Tao L., Mogilner A., Leroux M.R., Vale R.D., Scholey J.M., Mechanism of transport of IFT particles in *C. elegans* cilia by the concerted action of kinesin-II and OSM-3 motors. *J Cell Biol*, 2006, 174, 1035–1045.
- Park T.J., Mitchell B.J., Abitua P.B., Kintner C., Wallingford J.B., Dishevelled controls apical docking and planar polarization of basal bodies in ciliated epithelial cells. *Nat Genet*, 2008, 40, 871–879.
- Pathak N., Obara T., Mangos S., Liu Y., Drummond I.A., The zebrafish *fleer* gene encodes an essential regulator of cilia tubulin polyglutamylation. *Mol Biol Cell*, 2007, 18, 4353–4364.
- Pazour G.J., Wilkerson C.G., Witman G.B., A dynein light chain is essential for the retrograde particle movement of intraflagellar transport (IFT). *J Cell Biol*, 1998, 141, 979–992.
- Pazour G.J., Dickert B.L., Vucica Y., Seeley E.S., Rosenbaum J.L., Witman G.B., Cole D.G., *Chlamydomonas* *IFT88* and its mouse homologue, polycystic kidney disease gene *tg737*, are required for assembly of cilia and flagella. *J Cell Biol*, 2000, 151, 709–718.
- Pazour G.J., Agrin N., Leszyk J., Witman G.B., Proteomic analysis of a eukaryotic cilium. *J Cell Biol*, 2005, 170, 103–113.
- Peacock C.S., Seeger K., Harris D., Murphy L., Ruiz J.C., Quail M.A., Peters N., Adlem E., Tivey A., Aslett M., Kerhornou A., Ivens A., Fraser A., Rajandream M.A., Carver T., Norbertczak H., Chillingworth T., Hance Z., Jagels K., Moule S., Ormond D., Rutter S., Squares R., Whitehead S., Rabinowitsch E., Arrowsmith C., White B., Thurston S., Bringaud F., Baldauf S.L., Faulconbridge A., Jeffares D., Depledge D.P., Oyola S.O., Hilley J.D., Brito L.O., Tosi L.R., Barrell B., Cruz A.K., Mottram J.C., Smith D.F., Berriman M., Comparative genomic analysis of three *Leishmania* species that cause diverse human disease. *Nat Genet*, 2007, 39, 839–847.
- Pearson C.G., Winey M., Basal body assembly in ciliates: the power of numbers. *Traffic*, 2009, 10, 461–471.
- Pearson C.G., Giddings T.H., Jr., Winey M., Basal body components exhibit differential protein dynamics during nascent basal body assembly. *Mol Biol Cell*, 2009a, 20, 904–914.
- Pearson C.G., Osborn D.P., Giddings T.H., Jr., Beales P.L., Winey M., Basal body stability and ciliogenesis

- requires the conserved component Poc1. *J Cell Biol*, 2009b, 187, 905–920.
- Pennarun G., Escudier E., Chapelin C., Bridoux A.M., Cacheux V., Roger G., Clément A., Goossens M., Amselem S., Duriez B., Loss-of-function mutations in a human gene related to *Chlamydomonas reinhardtii* dynein IC78 result in primary ciliary dyskinesia. *Am J Hum Genet*, 1999, 65, 1508–1519.
- Perkins L.A., Hedgecock E.M., Thomson J.N., Culotti J.G., Mutant sensory cilia in the nematode *Cænorhabditis elegans*. *Dev Biol*, 1986, 117, 456–487.
- Piperno G., Mead K., Transport of a novel complex in the cytoplasmic matrix of *Chlamydomonas* flagella. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94, 4457–4462.
- Porter M.E., Bower R., Knott J.A., Byrd P., Dentler W., Cytoplasmic dynein heavy chain 1b is required for flagellar assembly in *Chlamydomonas*. *Mol Biol Cell*, 1999, 10, 693–712.
- Portman N., Lacomble S., Thomas B., McKean P.G., Gull K., Combining RNA interference mutants and comparative proteomics to identify protein components and dependences in a eukaryotic flagellum. *J Biol Chem*, 2009, 284, 5610–5619.
- Praetorius H.A., Spring K.R., Bending the MDCK cell primary cilium increases intracellular calcium. *J Membr Biol*, 2001, 184, 71–79.
- Prensier G., Vivier E., Goldstein S., Schrevel J., Motile flagellum with a « 3+0 » ultrastructure. *Science*, 1980, 207, 1493–1494.
- Pullen T.J., Ginger M.L., Gaskell S.J., Gull K., Protein targeting of an unusual, evolutionarily conserved adenylate kinase to a eukaryotic flagellum. *Mol Biol Cell*, 2004, 15, 3257–3265.
- Qin H., Burnette D.T., Bae Y.K., Forscher P., Barr M.M., Rosenbaum J.L., Intraflagellar transport is required for the vectorial movement of TRPV channels in the ciliary membrane. *Curr Biol*, 2005, 15, 1695–1699.
- Ralston K.S., Lerner A.G., Diener D.R., Hill K.L., Flagellar motility contributes to cytokinesis in *Trypanosoma brucei* and is modulated by an evolutionarily conserved dynein regulatory system. *Eukaryot Cell*, 2006, 5, 696–711.
- Redeker V., Levilliers N., Schmitter J.M., Le Caer J.P., Rossier J., Adoutte A., Bre M.H., Polyglycylation of tubulin: a posttranslational modification in axonemal microtubules. *Science*, 1994, 266, 1688–1691.
- Rohatgi R., Snell W.J., The ciliary membrane. *Curr Opin Cell Biol*, 2010, 22, 541–546.
- Rosenbaum J.L., Witman G.B., Intraflagellar transport. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2002, 3, 813–825.
- Rotureau B., Morales M.A., Bastin P., Spath G.F., The flagellum-MAP kinase connection in Trypanosomatids: a key sensory role in parasite signaling and development? *Cell Microbiol*, 2009, 11, 710–718.
- Ruiz i Altaba A., Palma V., Dahmane N., Hedgehog-Gli signaling and the growth of the brain. *Nat Rev Neurosci*, 2002, 3, 24–33.
- Salomon R., Saunier S., Niaudet P., Nephronophthisis. *Pediatr Nephrol*, 2009, 24, 2333–2344.
- Sapiro R., Kostetskii I., Olds-Clarke P., Gerton G.L., Radice G.L., Strauss I.J., Male infertility, impaired sperm motility, and hydrocephalus in mice deficient in sperm-associated antigen 6. *Mol Cell Biol*, 2002, 22, 6298–6305.
- Sarpal R., Todi S.V., Sivan-Loukianova E., Shirolkar S., Subramanian N., Raff E.C., Erickson J.W., Ray K., Eberl D.F., *Drosophila* KAP interacts with the kinesin II motor subunit KLP64D to assemble chordotonal sensory cilia, but not sperm tails. *Curr Biol*, 2003, 13, 1687–1696.
- Schafer J.C., Winkelbauer M.E., Williams C.L., Haycraft C.J., Desmond R.A., Yoder B.K., IFTA-2 is a conserved cilia protein involved in pathways regulating longevity and dauer formation in *Cænorhabditis elegans*. *J Cell Sci*, 2006, 119, 4088–4100.
- Scholey J.M., Anderson K.V., Intraflagellar transport and cilium-based signaling. *Cell*, 2006, 125, 439–442.
- Shah A.S., Ben-Shahar Y., Moninger T.O., Kline J.N., Welsh M.J., Motile cilia of human airway epithelia are chemosensory. *Science*, 2009, 325, 1131–1134.
- Sheffield V.C., The blind leading the obese: the molecular pathophysiology of a human obesity syndrome. *Trans Am Clin Climatol Assoc*, 2010, 121, 172–181 ; discussion 181–172.
- Shi H., Tschudi C., Ullu E., Functional replacement of *Trypanosoma brucei* Argonaute by the human slicer Argonaute2. *RNA*, 2006, 12, 943–947.
- Signor D., Wedaman K.P., Rose L.S., Scholey J.M., Two heteromeric kinesin complexes in chemosensory neurons and sensory cilia of *Cænorhabditis elegans*. *Mol Biol Cell*, 1999, 10, 345–360.
- Silverman M.A., Leroux M.R., Intraflagellar transport and the generation of dynamic, structurally and functionally diverse cilia. *Trends Cell Biol*, 2009, 19, 306–316.
- Singla V., Reiter J.F., The primary cilium as the cell's antenna: signaling at a sensory organelle. *Science*, 2006, 313, 629–633.
- Smith J.C., Northey J.G., Garg J., Pearlman R.E., Siu K.W., Robust method for proteome analysis by MS/MS using an entire translated genome: demonstration on the ciliome of *Tetrahymena thermophila*. *J Proteome Res*, 2005, 4, 909–919.
- Snapp E.L., Landfear S.M., Cytoskeletal association is important for differential targeting of glucose transporter isoforms in *Leishmania*. *J Cell Biol*, 1997, 139, 1775–1783.
- Snow J.J., Ou G., Gunnarson A.L., Walker M.R., Zhou H.M., Brust-Mascher I., Scholey J.M., Two anterograde intraflagellar transport motors cooperate to

- build sensory cilia on *C. elegans* neurons. *Nat Cell Biol*, 2004, 6, 1109–1113.
- Stubbs J.L., Oishi I., Izpisua Belmonte J.C., Kintner C., The forkhead protein Foxj1 specifies node-like cilia in *Xenopus* and zebrafish embryos. *Nat Genet*, 2008, 40, 1454–1460.
- Sukumaran S., Perkins B.D., Early defects in photoreceptor outer segment morphogenesis in zebrafish ift57, ift88 and ift172 Intraflagellar Transport mutants. *Vision Res*, 2009, 49, 479–489.
- Sun Z., Amsterdam A., Pazour G.J., Cole D.G., Miller M.S., Hopkins N., A genetic screen in zebrafish identifies cilia genes as a principal cause of cystic kidney. *Development*, 2004, 131, 4085–4093.
- Suryavanshi S., Edde B., Fox L.A., Guerrero S., Hard R., Hennessey T., Kabi A., Malison D., Pennock D., Sale W.S., Wloga D., Gaertig J., Tubulin glutamylation regulates ciliary motility by altering inner dynein arm activity. *Curr Biol*, 2010, 20, 435–440.
- Swoboda P., Adler H.T., Thomas J.H., The RFX-type transcription factor DAF-19 regulates sensory neuron cilium formation in *C. elegans*. *Mol Cell*, 2000, 5, 411–421.
- Tabish M., Siddiqui Z.K., Nishikawa K., Siddiqui S.S., Exclusive expression of *C. elegans* osm-3 kinesin gene in chemosensory neurons open to the external environment. *J Mol Biol*, 1995, 247, 377–389.
- Tamalet A., Clément A., Roudot-Thoraval F., Desmarquest P., Roger G., Boule M., Millepied M.C., Baculard T.A., Escudier E., Abnormal central complex is a marker of severity in the presence of partial ciliary defect. *Pediatrics*, 2001, 108, E86.
- Tammanna T.V., Sahasrabudhe A.A., Mitra K., Bajpai V.K., Gupta C.M., Actin-depolymerizing factor, ADF/cofilin, is essentially required in assembly of *Leishmania* flagellum. *Mol Microbiol*, 2008, 70, 837–852.
- Thazhath R., Jerka-Dziadosz M., Duan J., Wloga D., Gorovsky M.A., Frankel J., Gaertig J., Cell context-specific effects of the beta-tubulin glycylation domain on assembly and size of microtubular organelles. *Mol Biol Cell*, 2004, 15, 4136–4147.
- Tsiokas L., Function and regulation of TRPP2 at the plasma membrane. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2009, 297, F1–9.
- Van Den Abbeele J., Claes Y., van Bockstaele D., Le Ray D., Coosemans M., *Trypanosoma brucei* spp. development in the tsetse fly: characterization of the post-mesocyclic stages in the foregut and proboscis. *Parasitology*, 1999, 118, 469–478.
- van Rooijen E., Giles R.H., Voest E.E., van Rooijen C., Schulte-Merker S., van Eeden F.J., LRRC50, a conserved ciliary protein implicated in polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*, 2008, 19, 1128–1138.
- Vincensini L., Blisnick T., Bastin P., 1001 model organisms to study cilia and flagella. *Biol Cell*, 2011, 103, 109–130.
- Walker R.G., Willingham A.T., Zuker C.S., A *Drosophila* mechanosensory transduction channel. *Science*, 2000, 287, 2229–2234.
- Wallingford J.B., Low-magnification live imaging of *Xenopus* embryos for cell and developmental biology. *Cold Spring Harb Protoc*, 2010a, pdb prot5425.
- Wallingford J.B., Planar cell polarity signaling, cilia and polarized ciliary beating. *Curr Opin Cell Biol*, 2010b, 22, 597–604.
- Wallingford J.B., Preparation of fixed *Xenopus* embryos for confocal imaging. *Cold Spring Harb Protoc*, 2010c, pdb prot5426.
- Wang Z., Li V., Chan G.C., Phan T., Nudelman A.S., Xia Z., Storm D.R., Adult type 3 adenylyl cyclase-deficient mice are obese. *PLoS One*, 2009, 4, e6979.
- Wiese M., Kuhn D., Grunfelder C.G., Protein kinase involved in flagellar-length control. *Eukaryot Cell*, 2003, 2, 769–777.
- Wilkerson C.G., King S.M., Koutoulis A., Pazour G.J., Witman G.B., The 78 000 M(r) intermediate chain of *Chlamydomonas* outer arm dynein is a WD-repeat protein required for arm assembly. *J Cell Biol*, 1995, 129, 169–178.
- Wloga D., Rogowski K., Sharma N., Van Dijk J., Janke C., Edde B., Bre M.H., Levilliers N., Redeker V., Duan J., Gorovsky M.A., Jerka-Dziadosz M., Gaertig J., Glutamylation on alpha-tubulin is not essential but affects the assembly and functions of a subset of microtubules in *Tetrahymena thermophila*. *Eukaryot Cell*, 2008, 7, 1362–1372.
- Yu X., Ng C.P., Habacher H., Roy S., Foxj1 transcription factors are master regulators of the motile ciliogenic program. *Nat Genet*, 2008, 40, 1445–1453.
- Zaghloul N.A., Katsanis N., Mechanistic insights into Bardet-Biedl syndrome, a model ciliopathy. *J Clin Invest*, 2009, 119, 428–437.
- Zaghloul N.A., Katsanis N., Functional modules, mutational load and human genetic disease. *Trends Genet*, 2010, 26, 168–176.
- Zariwala M.A., Knowles M.R., Omran H., Genetic defects in ciliary structure and function. *Annu Rev Physiol*, 2007, 69, 423–450.