UNIVERSITAS
GADJAH MADA

Functional Assessment of CEP290 W7C in Ciliogenesis using Rescue Assay
Zephaniah Marceila Maelissa, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

FUNCTIONAL ASSESSMENT OF CEP290 W7C IN CILIOGENESIS USING RESCUE ASSAY

By

Zephaniah Marceila Maelissa

22/496225/BI/10991

Supervisor: Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.

ABSTRACT

Primary cilia are microtubule-based organelles that are involved in cellular signalling and development. Defects in cilia formation or ciliogenesis result in a group of disorders namely ciliopathies, including Joubert Syndrome (JBTS). A key centrosomal protein involved in ciliogenesis, CEP290 (~290 kDa), may undergo mutations in which its mutant's functional impact remains unclear. These mutants do not abolish protein expression entirely but may alter CEP290 function in more subtle ways. This study investigated the CEP290 W7C mutation on ciliogenesis using wild-type (WT) and CEP290$^{-/-}$ RPE1 hTERT RPE1 cells. Depletion of CEP290 significantly reduced the percentage of serum-starved ciliated cells, while cilia length remained comparable to WT cells, establishing its role in cilia initiation rather than elongation. To further confirm this, a rescue experiment was conducted by over-expressing WT and W7C CEP290; however, only partial restoration in elongation was detected, and not initiation. Optimised fixation confirmed basal body presence, validating the assay. Together, these findings indicate that W7C is consistent with a partial loss-of-function and may represent a hypomorphic allele, supporting its relevance to JBTS pathogenesis.

Key words: *primary cilia, ciliogenesis, CEP290, Joubert syndrome, rescue experiment*

UNIVERSITAS
GADJAH MADA

Functional Assessment of CEP290 W7C in Ciliogenesis using Rescue Assay
Zephaniah Marceila Maelissa, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

PENILAIAN FUNGSIONAL CEP290 W7C DALAM SILIOGENESIS MENGGUNAKAN UJI RESCUE

Oleh

Zephaniah Marceila Maelissa

22/496225/BI/10991

Pembimbing: Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.

INTISARI

Silia primer merupakan organel berbasis mikrotubulus yang berperan dalam transduksi sinyal seluler dan perkembangan organisme. Kelainan dalam siliogenesis mengakibatkan penyakit biasa dikelompokan sebagai siliopati, seperti Sindrom Joubert (JBTS). CEP290 (~290 kDa) merupakan protein sentrosomal yang esensial dalam pembentukan silia, namun dampak fungsional dari berbagai varian CEP290 masih belum sepenuhnya terkarakterisasi, mengingat varian-varian tersebut berpotensi mengubah fungsi CEP290 melalui penurunan efisiesi fungsional protein tanpa mengabolisi ekspresi protein secara keseluruhan. Penelitian ini mengkaji dampak mutasi CEP290 W7C terhadap siliogenesis menggunakan sel hTERT RPE1 *wild type*/WT dan CEP290 $^{-/-}$. Deplesi CEP290 secara signifikan menurunkan persentase sel bersilia pada kondisi *serum starvation*, sementara Panjang silia tetap sebanding dengan sel WT, yang mengindikasikan peran CEP290 dalam inisiasi silia dibandingkan elongasi. Guna mengkonfirmasi hal tersebut, eksperimen *rescue* dilakukan melalui overekspresi CEP290 WT dan W7C; namun demikian, hanya pemulihan parsial pada elongasi yang terdeteksi, tanpa adanya pemulihan pada inisiasi. Optimasi fiksasi juga dilakukan untuk mengkonfirmasi keberadaan badan basal, sehingga memvalidasi kelayakan uji yang digunakan. Secara keseluruhan, temuan ini mengindikasikan bahwa W7C konsisten dengan varian *partial loss-of-function* dan berpotensi merepresentasikan alel hipomorfik, yang mendukung relevansinya terhadap pathogenesis JBTS.

Kata kunci: *silia primer, siliogenesis, CEP290, Sindrom Joubert, eksperimen rescue*