

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---

氏 名 陈 丹

論 文 題 目

EML4 promotes the loading of NUDC to the spindle for mitotic progression


(EML4はNUDCを細胞分裂期の紡錘体に誘導する)

論文審査担当者

主 査


委員

名古屋大学教授

豊岡伸哉 


委員

名古屋大学教授

木山博資 


委員

名古屋大学教授

貝 瑞 弘 三 

指導教授

名古屋大学教授

奥 山 道 成 

## 論文審査の結果の要旨

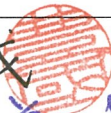


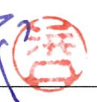
Echinoderm microtubule-associated protein (EMAP)-like (EML)ファミリータンパク質は保存された疎水性 EMAP 様タンパク質(HELP)ドメインと複数の WD40 ドメインを持つ微小管結合タンパク質である。本研究で我々は EML ファミリーである EML4 の細胞分裂期における機能を検証した。タイムラプス顕微鏡の解析により EML4 の欠損は分裂中期の染色体の整列異常を誘導し、分裂後期開始を遅延させることを明らかにした。さらに免疫染色法を用いた解析により EML4 は mitotic spindle の形成、動原体と微小管の正常な結合に必要であることが判明した。我々は質量分析器を用いて EML4 結合タンパク質を調べ、そして EML4 に結合する細胞分裂進行に必須な the nuclear distribution gene C (NUDC)タンパク質を見出した。これらは EML4 の WD40 リピートと NUDC の C 末端を介して結合している。EML4 を欠損した場合、NUDC は mitotic spindle に局在できなくなるが、EML4 の局在には NUDC は必要ない。我々の結果は、EML4 は分裂期進行時に NUDC を mitotic spindle 上に局在させるのに必要であることを示している。

本研究の新知見と意義は要約すると以上のとおりである。

1. EML4 は微小管に結合し、安定化するタンパク質である。Microtubule spin-down アッセイで、微小管との共沈が GST-EML4 を加えた場合に確認された。GFP-EML4 は間期、細胞分裂期共に微小管、spindle に局在する。これらの結果から EML4 は微小管に直接結合していると考えられる。
2. NUDC の欠損は spindle 形成の異常を誘導する。PLK1 による NUDC のリン酸化は微小管と動原体の end-on 結合に必要である。さらに NUDC は染色体凝集を誘導するための PLK1 の動原体凝集に必要である。これらの結果は NUDC が spindle 形成と微小管・動原体結合に必須であることを明確に示している。EML4 抑制によって誘導された微小管と動原体の結合と spindle 形成の欠失は NUDC の spindle への局在が失われたことが原因と思われる。
3. EML4 抑制細胞は最終的に分裂を完了する。しかしいくつかの細胞では細胞分裂完了後にアポトーシスが誘導されるものがある。
4. EML4 の N 末端と ALK の C 末端が EML4-ALK 融合タンパク質を形成する。EML4 の N 末端は HELP ドメインと NUDC と結合する一部の WD40 ドメインを有する。異常な EML4 の N 末端はがん形成において何かしらの機能をすると思われる。
5. Skp1, FBXW10, E3 ユビキチンリガーゼの MARCH11 が同定された。
6. 多くの場合で EML4 の N 末端と ALK の C 末端が EML4-ALK 融合タンパク質を形成し、(non-small cell lung carcinoma (NSCLC))の悪性を誘導、維持する。

以上の理由により、本研究は博士（医学）の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

## 試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※甲第	号	氏名	陈丹
試験担当者	主査	豊岡伸哉  木山博資  貝淵弘三 		
	指導教授	徳に道成 		
(試験の結果の要旨)				
<p>主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. EML4は微小管に直接結合するのか。</li> <li>2. EML4とNUDCのリン酸化の関係を説明せよ。</li> <li>3. EML4抑制細胞でアポトーシスはおきるか。</li> <li>4. EML4-ALK融合タンパク質のEML4機能は何ですか？</li> <li>5. 質量分析結果で他のEML4結合タンパク質は見つかったか。</li> <li>6. がんにおけるEML4の機能は何か。</li> </ol> <p>以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、腫瘍生物学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。</p>				