

様 式 Z - 7

平成 2 6 年度科学研究費助成事業 実績報告書 (研究実績報告書)

1. 機関番号

1	4	6	0	3
---	---	---	---	---

 2. 研究機関名 奈良先端科学技術大学院大学
3. 研究種目名 基盤研究(B) 4. 研究期間 平成 2 6 年度 ~ 平成 2 8 年度
5. 課題番号

2	6	2	9	1	0	2	4
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 主要栄養シグナルを感知・統合するTORキナーゼ複合体ネットワーク

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
0 0 6 1 0 0 1 5	シオザキ カズヒロ 塩崎 一裕	バイオサイエンス研究科	教授

8. 研究分担者

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名

9. 研究実績の概要

窒素源、および炭素/エネルギー源であるグルコースは代表的な “macronutrient” で、その両方の十分な供給が成長・増殖の最適化に必須である。本研究では、真核生物細胞で保存されたTarget of Rapamycin (TOR)キナーゼ含む2つの複合体、TOR complex 1および2 (TORC1およびTORC2) がこれら2種類の栄養シグナルを感知・統合し、増殖をコントロールする細胞内情報処理ネットワークを構成することを明らかにする。

われわれは既に分裂酵母TORC2の活性化因子として低分子量Gタンパク質Ryh1/Rab6を同定した (Tatebe et al. 2010)。Rab6エフェクターであるB1CD2の断片を用いて分裂酵母破砕液からGTPを結合した活性型Ryh1のみを吸着・定量するアッセイ系を確立してRyh1の活性化状態を調べたところ、細胞外グルコースに反応してRyh1がGTP結合型に変換されることが示された。最近、イスラエルの研究グループが、分裂酵母TORC2がcAMP-PKA経路を介してグルコースに反応すると報告したが (Cohen et al. 2014)、より厳密な方法によるわれわれの実験ではその結果を再現できず、Ryh1がグルコース刺激に反応してTORC2を活性化する主要因子であると考えられる。一方、Ryh1-TORC2経路は培地中の窒素源の有無には反応しなかった。

また、大阪大学・蛋白質研究所との共同研究によって、分裂酵母Sin1タンパク質の CRIMドメインのNMR立体構造を決定した。Sin1はTORC2の制御サブユニットの一つで、われわれは、そのCRIMドメインがTORC2のリン酸化基質を特異的に認識し、結合することを明らかにした。

10. キーワード

- (1) 細胞情報伝達機構 (2) _____ (3) _____ (4) _____
- (5) _____ (6) _____ (7) _____ (8) _____

(注) ・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷すること。

(1 / 5)

11. 現在までの達成度

(区分)(2) おおむね順調に進展している。

(理由)

Gタンパク質Ryh1がTORC2へのグルコースシグナル伝達を担っていることを明確に示し、さらにグルコース飢餓下でTORC2を活性化する新奇経路の存在を明らかにして論文発表することができた。Sin1 CRIMの構造解析も予定通り完了し、投稿準備中である。また、TORC1の制御機構解析のための各種遺伝子破壊株の構築も順調に進んでいる。

12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

Ryh1のGEFおよびGAPに焦点をおいて、グルコースによるRyh1活性の制御機構を遺伝学的・生化学的手法で探るとともに、Ryh1によるTORC2制御に重要な役割を果たすとみられるTORC2のBit61サブユニットの機能解析を進める。また、分裂酵母およびヒトSin1 CRIMドメインの基質認識部位に変異を導入し、TORC2基質のリン酸化レベルを測定することによって、CRIMドメインの *in vivo*での役割を評価する。TORC2およびアミノ酸シグナルによるTORC1活性の制御機構を解析するため、TORC1活性化因子であるRhb1の活性制御機構、特にTsc1-Tsc2 複合体と2量体Gタンパク質Gtr1-Gtr2の役割を遺伝学的解析によって確立する。

(次年度使用額が生じた理由と使用計画)

(理由)

平成26年度は、論文(Hatano et al., 2015; Cell Cycle)発表のために、目標1、特に酵母の実験に注力したため、消耗品費などが当初予定より低く抑えられた。

(使用計画)

H26年度の成果を基に展開する次年度の生化学実験やヒト培養細胞を用いた実験に必要な消耗品費を中心に使用する計画である。

13.研究発表(平成26年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(3)件 うち査読付論文 計(3)件

著者名		論文標題			
Hatano, T, Morigasaki, S, Tatebe, H, Ikeda, K, and Shiozaki, K		Fission yeast Ryh1 GTPase activates TOR complex 2 in response to glucose.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Cell Cycle	有	14	2 0 1 5	848-856	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.1080/15384101.2014.1000215					

著者名		論文標題			
Furuita, K, Kataoka, S, Sugiki, T, Hattori, Y, Kobayashi, N, Ikegami, T, Shiozaki, K, Fujiwara, T, and Kojima, C		Utilization of paramagnetic relaxation enhancements for high-resolution NMR structure determination of a soluble loop-rich protein with sparse NOE distance restraints.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Journal of Biomolecular NMR	有	61	2 0 1 5	55-64	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.1007/s10858-014-9882-7					

著者名		論文標題			
Kataoka, S, Furuita, K, Hattori, Y, Kobayashi, N, Ikegami, T, Shiozaki, K, Fujiwara, T, and Kojima, C		(1)H, (15)N and (13)C resonance assignments of the conserved region in the middle domain of S. pombe Sin1 protein.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Biomolecular NMR Assignments	有	9	2 0 1 5	89-92	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.1007/s12104-014-9550-6					

〔学会発表〕計(2)件 うち招待講演 計(1)件

発表者名		発表標題	
建部恒、秦野智行、森ヶ崎進、江森翠、塩崎一裕		TORキナーゼ複合体2(TORC2)の環境応答制御とその生理的意義	
学会等名		発表年月日	発表場所
日本分子生物学会年会(招待講演)		2014年11月25日～2014年11月27日	パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)

発表者名		発表標題	
江森翠、秦野智行、建部恒、塩崎一裕		分裂酵母TORキナーゼ複合体はスフィンゴ脂質合成の制御に関与する	
学会等名		発表年月日	発表場所
酵母遺伝学フォーラム 第47回研究報告会		2014年09月01日～2014年09月03日	東京大学弥生講堂(東京都文京区)

〔図書〕計(0)件

著者名		出版社		
書名			発行年	総ページ数

14. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

〔出願〕計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

(取得) 計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別
				出願年月日	

15.備考

奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科 細胞シグナル研究室
<http://bsw3.naist.jp/shiozaki/>