

様 式 Z - 7

## 平成 2 8 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) (一般) 4. 研究期間 平成 2 6 年度 ~ 平成 2 9 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	バイオサイエンス研究科	教授
	塩崎 一裕		

## 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

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2種類の栄養シグナル(窒素源、および炭素/エネルギー源であるグルコース)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。

われわれは分裂酵母において、グルコース刺激がTORC2を活性化し、その基質であるGad8キナーゼをリン酸化・活性化することを既に報告した(Hatano et al., 2015)。このTORC2からGad8へのシグナル伝達に、TORC2複合体の制御サブユニットであるSin1が必須の機能を持つことを明らかにした(Tatebe et al., 2017)。Sin1は、TORC2がリン酸化により活性化する基質タンパク質を認識し、結合する役割を持つ。加えて、ヒト培養細胞を用いた実験によって、Sin1の機能はヒトのTORC2複合体においても保存されていることを示し、このSin1の機能を阻害することでTORC2によるガン遺伝子産物AKTの活性化を抑制できる可能性を見出した。

また、アミノ酸やアンモニアなどの窒素源によって活性化されるTORC1複合体についても分裂酵母をモデル系とした解析を進め、ヒト細胞でTORC1を負に制御することが知られているGATOR1複合体が分裂酵母でも保存されていることを明らかにした。したがって、遺伝学的解析の容易な分裂酵母は、高等真核生物TORC1のGATOR1による制御機構を理解するためのモデル系として活用できる。

## 10. キーワード

- (1) TOR (2) TORC1 (3) TORC2 (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. 現在までの進捗状況

(区分)(2) おおむね順調に進展している。

(理由)

TORC2のSin1が、分裂酵母およびヒトの両方において、基質結合サブユニットであることを確立し、さらにSin1中央部のConserved Region in the Middle (CRIM)が基質結合部位であることを明らかにして、その立体構造を決定し、論文として発表した (Tatebe et al., 2017)。

分裂酵母細胞破碎液からのアフィニティー精製と質量分析によって、ヒトGATOR1と相同な複合体の同定に成功した。この分裂酵母GATOR1は、Iml1, Npr2, Npr3の3つのサブユニットからなり、それらの遺伝子破壊実験によって、ヒトGATOR1と同様に分裂酵母においてもGATOR1がTORC1活性を負に制御することを明らかにした。

## 12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

Sin1 CRIMドメインの構造解析により、酸性アミノ酸に富むループが発見され、さらにこの部分に変異導入を行うことによって、このループがTORC2基質との結合に必須であることを明らかにした。今後、このループ構造とTORC2基質 (Gad8およびAKT) との相互作用を化学架橋法等により検証する。

ヒトGATOR1複合体は、TORC1の活性化に関わるRag GTPaseのGTPase-Activating Protein (GAP)として働くことで、TORC1を負に制御することが知られている。分裂酵母においてもRag GTPaseであるGtr1-Gtr2のGAPとしてGATOR1が働いているのか、また、TORC1の窒素源に応答した活性制御にGATOR1がどのように関わっているのかを明らかにしていく。

(次年度使用額が生じた理由と使用計画)

(理由)

当該分野の他の研究者からの最近の論文発表の内容に鑑み、本事業の目的に沿ってさらに追加実験を行うことによって、よりインパクトの大きい論文の投稿を目指すため、次年度への延長申請を行った。

(使用計画)

追加実験を行うための物品費、国際学会で成果を発表すると共に情報収集を行うための旅費、および論文掲載料に使用する。

## 13. 研究発表 (平成 28 年度の研究成果)

〔雑誌論文〕 計 (1) 件 / うち査読付論文 計 (1) 件 / うち国際共著論文 計 (1) 件 / うちオープンアクセス 計 (1) 件

著者名		論文標題 【掲載確定】				
Tatebe H, Murayama S, Yonekura T, Hatano T, Richter D, Furuya T, Kataoka S, Furuita K, Kojima C, Shiozaki K		Substrate specificity of TOR complex 2 is determined by a ubiquitin-fold domain of the Sin1 subunit				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
eLIFE	有	6	2017	e19594	該当する	
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)						
10.7554/eLife.19594						
オープンアクセス						
オープンアクセスとしている (また、その予定である)						

〔学会発表〕 計 (3) 件 / うち招待講演 計 (2) 件 / うち国際学会 計 (2) 件

発表者名		発表標題	
Shiozaki K		Genetic dissection of Target Of Rapamycin (TOR) signaling conserved from yeast to humans: Substrate recognition by TOR complex 2	
学会等名	発表年月日	発表場所	
Philippine Society for Developmental Biology 8th Annual National Convention (招待講演) (国際学会)	2016年10月22日	Manila, Philippines	

発表者名		発表標題	
Shiozaki K		Genetic dissection of Target Of Rapamycin (TOR) signaling conserved from yeast to humans: Regulation of TOR complex 1	
学会等名	発表年月日	発表場所	
Philippine Society for Cell Biology 1st International and 7th Annual Convention and Scientific Meeting (招待講演) (国際学会)	2016年10月20日 ~ 2016年10月21日	Manila, Philippines	

発表者名	発表標題	
松田 崇斗、Chia Kim Hou、Fajar Sofyantoro、天井貴光、福田智行、建部恒、塩崎一裕	分裂酵母GATOR1-Gtr1経路によるTORC1活性制御機構の解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
酵母遺伝学フォーラム 第49回研究報告会	2016年09月09日～ 2016年09月11日	ホテル舞子ピラ（兵庫県神戸市）

〔図書〕 計（1）件

著者名	出版社	
Tatebe H, Shiozaki K	Springer	
書名【発行確定】	発行年	総ページ数
"PP2C" in Encyclopedia of Signaling Molecules, 2nd Edition	2 0 1 7	-

## 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. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計（0）件

国際研究集会名	開催年月日	開催場所

## 16. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

## ( 1 ) 国際共同研究 : 国際共同研究である

共同研究相手国	相手方研究機関			
米国	University of California, Davis	-	-	-
インドネシア	Universitas Gadjah Mada	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	/	/	/	/

## 17. 備考

プレスリリース：ガン増殖を引き起こすタンパク質Sin1の構造を明らかに  
<http://www.naist.jp/pressrelease/2017/03/003673.html>