

## 論文内容の要旨

申請者氏名 秦野 智行

TORは酵母からヒトにいたるまで、進化的に保存されたタンパク質キナーゼで、機能の異なる二種類の複合体、TORC1およびTORC2を形成する。これら複合体は異なる刺激に応答し、異なる基質をリン酸化する事が報告されているが、これら複合体の活性化機構や、基質の選択性を確立するメカニズムは完全には理解されていない。TORC2は、触媒活性を担うTORキナーゼに加えてmLST8、Rictor、Sin1、Protorなどの制御サブユニットから構成される。申請者は、TORC2の基質特異性と活性化の機構を解明するため、これら制御サブユニットの機能解析を行った。

申請者の研究室ではSin1サブユニットがTORC2の基質と結合し、これを触媒サブユニットであるTORにリクルートし、リン酸化を導くことを明らかにした。申請者は、Sin1の更なる機能解析を通じて、Sin1はリン酸化状態のTORC2基質とは結合できないことを見出し、Sin1は脱リン酸化状態の基質をTORC2へとリクルートし、リン酸化を促す機能を持つことを示した。さらに申請者は、Sin1がTORキナーゼに安定的に結合するために、mLST8のホモログであるWat1タンパク質が必要であることを発見し、Wat1がSin1をTORキナーゼに固定する役割を持つことを示した。

高等真核生物において、TORC2経路はインスリンや成長因子により活性化するがその分子メカニズムは明らかになっていない。一方、分裂酵母において、TORC2の制御因子として低分子量型Gタンパク質Ryh1が同定されているが、この経路がどのような刺激に応答するかは不明であった。申請者はTORC2の基質であるGad8のリン酸化がグルコース飢餓時に低下することを見いだした。さらに、GTPに結合した活性型のRyh1に選択的に結合するプローブを用いてRyh1の活性を検出する方法を確立し、Ryh1がグルコース存在下において活性型となり、TORC2を正に制御する事を明らかにした。また、Ryh1を恒常的に活性化する変異体は、グルコース飢餓時においても高いGad8のリン酸化を示した事から、Ryh1がグルコースに応答してTORC2を制御する主要な活性化因子である事が示された。さらに、これまでに機能が未知であったProtorサブユニットのホモログBit61がRyh1によるTORC2の活性化に必要なことも明らかにした。

以上のように申請者は、TORC2を構成するSin1、Wat1、及びBit61サブユニットの機能を明らかにし、TORC2の活性制御と基質認識の分子メカニズムの一端を解明した。これらの構成因子の構造は進化的に高度に保存されている事から、ヒトを含めた高等真核生物においても、これら因子の機能は保存されていると考えられる。TORC2経路の異常はがん等の疾病の原因となり得ることから、本研究は今後、高等真核細胞を用いてこれら因子の機能解析を進める基盤を提供する。

## 論文審査結果の要旨

申請者氏名 秦野 智行

TOR は進化的に保存されたタンパク質キナーゼで TORC1 および TORC2 の機能の異なる二種類の複合体を形成する。これらの複合体はインスリンや成長因子などのホルモンやアミノ酸などの栄養に応答して活性化し、細胞増殖や代謝を亢進する。これらシグナル伝達経路の破綻はがんや肥満、糖尿病などの疾病を引き起こすことを示唆する研究結果が蓄積してきており、TOR シグナル伝達経路を標的とした新薬の開発と実用化の可能性が模索されている。

例えば、ヒト TORC2 が、がん遺伝子産物 Akt をリン酸化し活性化することが確認されており、また、がん抑制遺伝子 PTEN をノックアウトしたマウスにおいて、Akt 活性の亢進と腫瘍形成が見られるが、このがんモデルマウスにおいて TORC2 の不活性化が腫瘍形成を抑制することが報告された。さらに、がん患者の細胞から TORC2 の活性を増大する変異も同定されている。これらの研究を受けて、TORC2 経路を標的とする新規がん治療基盤の確立が望まれているが、現在迄に抗ガン剤の標的足り得る TORC2 活性化機構や TORC2 が細胞内標的を特異的にリン酸化する分子メカニズムは未解明である。

申請者は TORC2 経路が進化的に非常に良く保存されていることに着目し、強力かつ迅速な遺伝学的解析の技術基盤が確立されている分裂酵母を用いて TORC2 経路が基質を認識しリン酸化する機構、および TORC2 の活性化機構の解析を行った。

申請者の研究室における先行研究により、TORC2 機能に必須のサブユニット Sin1 が TORC2 の基質と結合し、これを触媒サブユニットである TOR キナーゼにリクルートすることでリン酸化を導くことが示唆された。申請者は Sin1 と基質との相互作用の生化学的解析を通じて、Sin1 が脱リン酸化状態の基質と選択的に結合し、TORC2 によるリン酸化を導くことを示唆する結果を得た。さらに、Sin1 を TOR キナーゼへと固定し、Sin1 による基質のリクルートを可能にする機構を解明した。また申請者は、TORC2 の活性化因子として報告されていた低分子量型 G タンパク質 Ryh1 がグルコースにより活性化し、そのシグナルを TORC2 経路へと伝える事を明らかにした。加えて、Ryh1 による TORC2 の活性化においてはその Bit61 サブユニットが必須の役割を果たすことが示唆され、Ryh1 による TORC2 の活性化機構の一端が明らかとなった。

以上のように、本論文により TORC2 が基質をリン酸化する分子機構の一端が理解された。また、本論文はこれまでに明らかにされていなかった TORC2 の活性化機構に関する新規の知見を見いだしており、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。