

様 式 F - 7 - 1

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実施状況報告書（研究実施状況報告書）（令和元年度）

			機関番号	1 4 6 0 3
所属研究機関名称 奈良先端科学技術大学院大学				
研究 代表者	部局	先端科学技術研究科		
	職	助教		
	氏名	両角 佑一		

1．研究種目名 基盤研究(C) (一般)

2．課題番号 19K06564

3．研究課題名 進化的に保存されたmTORC1キナーゼ複合体を介したシグナル経路の分子機構解明

4．補助事業期間 令和元年度～令和3年度

5．研究実績の概要

進化的に保存されたmTORタンパク質キナーゼは、複数のサブユニットと2種類の複合体(mTORC1、mTORC2)を形成することによって、栄養状態や増殖因子などの情報を統合し、成長や代謝を制御するシグナル伝達ネットワークにおいて中心的な役割を果たす。本研究では、このうちmTORC1に着目し、分裂酵母をモデルとしてmTORC1がどのようにしてその基質を認識、リン酸化するのか検討した。まず、分裂酵母mTORC1の基質として知られているPsk1（ほ乳類S6K1の相同因子）は、そのN末端領域の10アミノ酸残基を介してmTORC1の構成因子の一つであるMip1（ほ乳類RAPTORの相同因子）と相互作用することがわかった。またこの相互作用が、mTORC1によるPsk1のリン酸化に必須であることも見出した。ほ乳類S6K1は、そのN末端領域にあるTOSモチーフを介してRAPTORと相互作用する。Mip1とRAPTORのN末端領域にはほとんど相同性が見られないが、TOSモチーフに含まれる重要残基であるフェニルアラニンとアスパラギン酸はPsk1にも含まれていた。これらから、Psk1のN末端領域はTOSモチーフと同様に機能し、TOSモチーフを介したmTORC1の基質認識機構は酵母からヒトに至る幅広い真核生物に保存されていることが示唆された。

また、本研究は分裂酵母mTORC1経路によって制御されると考えられているRNAポリメラーゼIII抑制因子Maf1が、mTORC1によって直接リン酸化されていることを見出し、Maf1のリン酸化部位を特定することにも成功した。加えて、mTORC1の基質であるSck1キナーゼのリン酸化部位をも特定し、そのリン酸化がSck1の機能に必須であることを見出した。

6．キーワード

TORC1 分裂酵母

7．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	分裂酵母mTORC1の代表的な基質であるPsk1が、進化的に保存された基質認識機構を介してmTORC1と相互作用し、リン酸化されることを明らかにすることができた。加えて、当初の計画の通りいくつかの基質に関してそのリン酸化部位を同定することができ、そのリン酸化重要性性に関しても見出すことができたため、おおむね順調に進展していると判断した。

2 版

8．今後の研究の推進方策

まず、Maf1のTORC1によるリン酸化部位を特定することに成功したので、次にこのリン酸化がMaf1の機能にどのような影響を及ぼすのかを検討する。具体的には、RNAポリメラーゼIIIによるtRNAおよび5S rRNAの転写レベルなどを調べる。また、Sck2やAtg13などのmTORC1基質に関してもリン酸化部位の特定やmTORC1との相互作用部位の特定などを進めていく予定である。

また、Sck1のリン酸化部位の特定およびその機能に関して研究をすすめる中で、Sck1の遺伝子欠損や、リン酸化部位をアラニンに置換にしたSck1変異体を発現する分裂酵母株が、非常に興味深い表現型を示すことを見出している。今後は、この表現系にも着目し、どのようなメカニズムによってその表現型が生じるのかを調べていく予定である。

9．次年度使用が生じた理由と使用計画

2019度は、研究計画から若干予定を変更し、主に分裂酵母を用いた遺伝学的解析に集中して取り組んだため、消耗品費などが予定より低く抑えられた。2020度は、組換えタンパク質の調製およびそれを用いた生化学的解析など、費用の負担がより大きな題目にも取り組み、次年度使用額分を全て使用することを予定している。

10．研究発表（令和元年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1．発表者名 伊計 舞、両角 佑一、塩崎 一裕
2．発表標題 分裂酵母mTORC1によるPol III転写抑制因子Maf1のリン酸化制御
3．学会等名 酵母遺伝学フォーラム 第52回研究報告会
4．発表年 2019年

1．発表者名 両角 佑一、伊計 舞、塩崎 一裕
2．発表標題 分裂酵母TORC1によるRNAポリメラーゼIII抑制因子Maf1の機能制御
3．学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4．発表年 2019年

〔図書〕 計0件

1 1 . 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

計0件（うち出願0件 / うち取得0件）

1 2 . 科研費を使用して開催した国際研究集会

計0件

1 3 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

-

1 4 . 備考

-