

		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	教授	
	氏名	塩崎 一裕	

1. 研究種目名	基盤研究(B)(一般)	2. 課題番号	19H03224
----------	-------------	---------	----------

3. 研究課題名 栄養レベルに応答して寿命を調節する細胞内情報ネットワークの研究

4. 研究期間 令和元年度～令和3年度 5. 領域番号・区分

-	
---	--

6. 研究実績の概要

本研究では、哺乳類細胞と同様のmTORシグナル経路をもち、遺伝学的解析の容易な分裂酵母をモデル系として、栄養源に応答したmTOR活性制御機構を明らかにするとともに、その下流因子の寿命決定における役割を解明する。

われわれは、分裂酵母RagA-RagC (Gtr1-Gtr2とも呼ばれる)の解析から、RagAがGDP結合型になると、mTORC1活性を抑制することを発見した(Chia et al. 2017 eLife)。RagAあるいはRagCを欠損した分裂酵母株は、アミノ酸の取り込みや接合に欠損が見られるなどの表現型を示し、また、これらの表現型がラバマイシンによって抑制されることから、TORC1活性の異常亢進が起きていると考えられる。さらに、RagAの制御因子として、哺乳類のGATOR複合体にあたるタンパク質複合体を分裂酵母で同定し、その機能を解析している。興味深いことに、分裂酵母GATOR2複合体構成因子の遺伝子破壊株は顕著な表現型を示さず、現在提案されている哺乳類GATOR2複合体の機能とは相入れない結果となっている。

また、われわれは、分裂酵母mTORC1の温度感受性変異を多コピーで相補する遺伝子として転写因子sfp1の遺伝子を単離した。Sfp1タンパク質の安定性はmTORC1活性で制御されており、栄養飢餓によってmTORC1が不活化すると、Sfp1タンパク質の急速な分解がおこる。出芽酵母の相同因子と同様、分裂酵母Sfp1はリボソームタンパク質遺伝子の発現を誘導しており、mTORC1の下流でタンパク質合成を正に制御していると考えられる。

7. キーワード

mTOR	分裂酵母
------	------

8. 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

今年度は、分裂酵母のGATOR2複合体の遺伝解析をさらに進めた。分裂酵母GATOR2複合体は、Sea2、Sea3、Sea4、Sec13、Seh1から構成されているが、遺伝子破壊実験を行ったところ、Sea3の遺伝子破壊が特徴的な表現型を示した。すなわち、野生株に比べ、生育が損なわれるが、mTORキナーゼの阻害剤であるラパマイシンを培地に添加することで生育阻害が相補される。この表現型は、GATOR1欠損表現型と酷似しており、Sea3がmTORC1経路の抑制制御に関わっていることを示唆した。生化学的解析によって、Sea3がGATOR1に直接結合していることが示され、また、恒常的にGDP結合型のRagA変異体を発現することでSea3欠損表現型が相補されたことから、Sea3はGATOR1複合体の一部としてGタンパク質RagAのGTPase-Activating Protein (GAP)として機能していることが明らかになった。これは、Sea3のヒト相同因子WDR59が、GATOR1の機能抑制に働くGATOR2複合体を構成しているという現在のモデルとは相反する結果であり、極めて興味深い。

この GATOR1-Sea3 複合体は、窒素源飢餓に応答したmTORC1の不活化に重要な役割を果たす。一方、アミノ酸飢餓に応答してmTORC1を不活化するのに必要な因子を探索したところ、Gcn2キナーゼが同定できた。Gcn2は酵母からヒトに至る真核生物に保存されており、アミノ酸飢餓状態の細胞内でアミノアシル化されていないtRNAが生じることによって活性化され、細胞の飢餓応答を誘導する。さらに、Gcn2の基質であるeIF2 α 、さらに下流の転写因子Fli1もアミノ酸飢餓に応答したmTORC1の抑制に必要であることを示すことができた。

3 版

9 . 今後の研究の推進方策

RagA-RagCやGATOR1複合体を欠損した分裂酵母株では、抑制制御を失ったmTORC1の活性が異常亢進し、生育が損なわれるが、生育の回復した復帰突然変異体が高頻度で単離できる。これらの変異体のゲノムsequencingによって、これまでにmTORC1経路との関係が知られていなかったタンパク質キナーゼ遺伝子の変異が新たに同定された。この遺伝子の変異の性質およびmTORC1経路との関係の解析を進める。この復帰突然変異体解析では、mTORC1の活性化因子の機能喪失変異が最も単離されやすいと予想されるが、興味深いことに、mTORC1の負の制御因子として知られるTSC複合体の点変異も同定された。この変異がどのようにmTORC1活性に影響を与えるのか分析を行う。また、これまで解析してきたStress-activated Protein Kinase (SAPK) のSpc1に加え、分裂酵母のもう一つのSAPKであるPmk1についてもmTORC1経路との機能的相互作用を検討することで、mTORC1経路とMAPキナーゼ経路とのクロストークを明らかにしていく。

10 . 研究発表（令和2年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著論文 2件 / うちオープンアクセス 2件）

1 . 著者名 Fukuda T, Sofyantor F, Tai YT, Chia KH, Matsuda T, Murase T, Morozumi Y, Tatebe H, Kanki T, Shiozaki K.	4 . 巻 10
2 . 論文標題 Tripartite suppression of fission yeast TORC1 signaling by the GATOR1-Sea3 complex, the TSC complex, and Gcn2 kinase	5 . 発行年 2021年
3 . 雑誌名 eLife	6 . 最初と最後の頁 e60969
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7554/eLife.60969	査読の有無 有
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）	国際共著 該当する

1 . 著者名 Morozumi Y, Shiozaki K	4 . 巻 12
2 . 論文標題 Conserved and divergent mechanisms that control TORC1 in yeasts and mammals	5 . 発行年 2021年
3 . 雑誌名 Genes	6 . 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/genes12010088	査読の有無 有
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）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

11 . 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）

12 . 科研費を使用して開催した国際研究集会

計0件

13. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

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

14. 備考

-