

## 様式3

## 神戸大学バイオシグナル総合研究センター共同利用研究報告書

平成 29年 4月 28日

神戸大学バイオシグナル総合研究センター長 殿

所属機関・部局名 国立大学法人静岡大学・理学部  
職 名 教授  
研究代表者名 瓜谷眞裕

下記のとおり平成28年度の共同利用研究成果を報告します。

## 記

(課題番号:281014)

1. 共同利用研究 課題名	分裂酵母の TOR シグナル経路の解明			
2. 共同利用研究 目的	分裂酵母の TOR シグナル経路の解明のためには、TOR の基質タンパク質のリン酸化及び TOR のキナーゼ活性を測定する必要がある。そのため、優れたアッセイ系を開発した中嶋昭雄准教授と共同研究を行う。			
3. 共同利用研究 期間	平成 28年 7月 1日 ~ 平成 29年 3月 31日			
4. 共同利用研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役 割 分 担	
(申請代表者) 瓜谷眞裕	理学部	教授	全般	
(分担研究者) 北川慎悟	静岡大学大学院総合科学技術研究科理学専攻	修士1年	TOR2 の細胞機能及びキナーゼ活性の測定	
5. センター内受入研究者	研究部門・ 分野名	細胞情報研究分野	氏 名	中嶋昭雄

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

(課題番号:281014)

#### 6. 共同利用研究計画

分裂酵母は遺伝学および生化学の手法が容易に使える優れたモデル生物である。哺乳類の TOR 経路の因子の多くは分裂酵母に存在する。分裂酵母の TOR には Tor1 と Tor2 がある。このうち、Tor2 は TORC1 を構成し、栄養(主に窒素源)に応答したシグナル伝達の中心的な働きを担う。研究代表者らが作成した *tor2* のラパマイシン感受性変異株を使った研究により、アルギニン代謝の調節機構が Tor2 の下流に位置するという示唆が得られた。一方で、アミノ酸は TOR の活性化に関わる。上記機構はアルギニンなどアミノ酸の代謝に関わるので、Tor2 の活性が調節される可能性もある。この課題の解決が研究の方向性に重要な意味をもつので、Tor2 の活性測定により明らかにする必要がある。バイオシグナル総合研究センターの中嶋昭雄准教授の研究室では、TOR の基質タンパク質のリン酸化及び TOR のキナーゼ活性測定に関して優れたアッセイ系が確立してあるので、これを使って Tor2 の活性測定を行う。

#### 7. 共同利用研究の成果

Tor2 の活性は、Psk1 というプロテインキナーゼの部位特異的なリン酸化の度合いで測定する。そのためには Psk1 に Myc タグをつけた Psk1-myc 発現株を作成する必要があった。そこで、染色体上の *psk1* 遺伝子に相同組換えにより C 末に *myc* 遺伝子を連結した *psk1-myc* 株を得、Psk1-myc が発現することを確かめた。次に、アルギニン代謝の調節機構にかかる因子の遺伝子欠損変異株それぞれと、*psk1-myc* 株との掛け合わせにより、Psk1-myc が発現するアルギニン代謝の調節機構の各因子の変異株の作成を完了した。得られた株について、Psk1-myc の発現を確認した。また、Psk1-myc のリン酸化によるバンドシフトも検出できた。今後、継続して条件検討を行ない、再現性等の問題を解決する。

#### 8. 共同利用研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本センターの担当教員の氏名の記載、又はこの共同利用研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

該当なし

#### 9. 共同利用研究に関連した受賞、博士学位論文の取得、大型研究プロジェクトや競争的資金の獲得等がありましたらご記入ください。

該当なし