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30年4月11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　静岡大学・理学部
職　　名　教授
研究代表者名　丑丸　敬史

下記のとおり平成29年度の共同利用研究成果を報告します。

記

（課題番号:291001）

1. 共同利用研究課題名	タンパク質ストレスによる TORC1 への影響の解析研究
2. 共同利用研究目的	TORC1 キナーゼ複合体は栄養源飢餓だけでなく、様々なストレスによりその活性が制御されている。申請者は、タンパク質凝集体の蓄積で TORC1 が不活性化しオートファジーが誘導されることを見出した。本研究は、この分子機構と生物学的意義の解明を目的とする。
3. 共同利用研究期間	平成29年4月1日　～　平成30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
(研究代表者) 丑丸　敬史	静岡大学・理学部	教授	研究計画立案、総括
(分担研究者) 小池直暉	24	男	実験の実行

5. センター内受入研究者	研究部門・分野名	シグナル機能制御研究部門・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:291001）

6. 共同利用研究計画

【１】タンパク質凝集体蓄積による TORC1 の局在移動の分子機構の解析

（１−１）タンパク質凝集体蓄積時に、TORC1 が繋留因子 EGO 複合体を伴って液胞膜ごとタンパク質凝集体にリクルートされるのかを検証する。

（１−２）TORC1 繋留因子 EGO 複合体が TORC1 のタンパク質凝集体部位への集積に必要であるのかを、EGO 複合体欠損株を用いて評価する。

（１−３）変性タンパク質化する変異型アクチン Act1-E364K を発現させた場合のタンパク質凝集体蓄積においても、TORC1 および EGOC 複合体が局在移動するかを検証する。

【２】タンパク質毒性ストレスにおける TORC1 の局在移動現象の普遍性の検証

（２−１）タンパク質凝集体蓄積による TORC1 の活性低下という現象が真核生物で保存されているのか、分裂酵母を用いて検証する。

7. 共同利用研究の成果

【１】タンパク質凝集体蓄積による TORC1 の局在移動の分子機構の解析

（１−１）毒性プロリン類似化合物アゼチジン酸（AZC）が誤ってタンパク質合成に用いられるとタンパク質凝集体が細胞中で蓄積する。我々は、この薬剤処理後に、TORC1 のみならず、TORC1 が局在する液胞膜（特に脂質ラフト部位）が断片化しタンパク質凝集体部位に集積することを見出した。このことは、断片化した液胞膜ごと TORC1 はタンパク質凝集体と共局在することを示す。その一方で、TORC1 繋留因子 EGO 複合体因子（Ego1 および Gtr1）および Pib2 はタンパク質凝集体にリクルートされなかった。このことは、TORC1 は EGO 複合体と Pib2 から切り離されてタンパク質凝集体に蓄積することを示す。

（１−２）EGO 複合体もしくは Pib2 を欠損した細胞でも TORC1 のタンパク質凝集体への集積は観察された。しかし、EGO 複合体と Pib2 を同時に欠損した細胞ではタンパク質凝集体蓄積も TORC1 のタンパク質凝集体への集積も認められなかった。このことは TORC1 が液胞膜に適切に繋留されていることが、タンパク質凝集体形成と TORC1 を含む液胞膜断片のそこへの集積に必要であることを示す。さらにこのことは、TORC1 の液胞膜繋留がタンパク質凝集体の形成そのものに必要であることが示唆する。

（１−３）Act1-E364K を発現させ凝集体を形成された場合にも、TORC1 は Act1-E364K 凝集体に集積した。驚いたことにこの場合には、EGO 複合体因子（Ego1 および Gtr1）も凝集体に集積した。

【２】タンパク質毒性ストレスにおける TORC1 の局在移動現象の普遍性の検証

（２−１）現在、分裂酵母におけるタンパク質凝集体指標タンパク質に蛍光タンパク質を融合させたコンストラクトの作成を進めている。それが構築でき次第、出芽酵母で観察された上記の現象の追試を行う予定である。

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。）

すでに本研究の一部は国内の学会で発表しており、投稿論文を執筆中である。

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