

## 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31年3月31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30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 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 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)	静岡大学・理学部	教授	研究計画立案、総括	
(分担研究者)	静岡大学・創造科学技術大学院	学生(D2)	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6～9の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6～9の項目全体では1頁に収めて下さい。

6. 共同利用研究計画

【1】出芽酵母における TORC1 局在移動における Pib2 の関与の検証

(1-1) 我々はすでに、出芽酵母 TORC1 を液胞膜上に繫留する EGO 複合体(EGOC)が、TORC1 のタンパク質凝集体への集積には必要なく EGOC 自身はタンパク質凝集体へ集積しないことを見出している。新規 TORC1 液胞膜繫留因子 Pib2 に関して同様に検証する。

【2】出芽酵母におけるタンパク質凝集体蓄積と TORC1 の局在移動との関連の検証

(2-1) タンパク質凝集体の液胞膜近傍への集積には Vac17-Vac8 が必要である。Vac17 もしくは Vac8 の欠損細胞を用いてタンパク質凝集体集積と TORC1 集積の因果関係を調べる。

【3】他生物（分裂酵母、ヒト）における進化的保存性の検証

(3-1) 上記現象が分裂酵母においても観察されるかどうか検証する。

(3-2) 同様に、ヒト培養細胞を用いて同様に検証する。

7. 共同利用研究の成果

【1】出芽酵母における TORC1 局在移動における Pib2 の関与の検証

(1-1) 変性タンパク質の蓄積を促す薬剤アゼチジン-2-カルボン酸 (AZC) を添加しタンパク質凝集体を形成させたが、Pib2 欠損はそこへの TORC1 の集積への集積を損なわなかった。しかし Pib2 自身はタンパク質凝集体へ集積しなかった。このことは、TORC1 は液胞膜繫留因子から離れてタンパク質凝集体に集積することを示す。EGOC と Pib2 のいずれかが TORC1 の液胞膜局在と活性維持に必要であり (Ukai et al. 2018)、このことは TORC1 が単独でタンパク質凝集体に集積することが活性低下を引き起こすことを示唆する。その一方で、EGOC と Pib2 を欠損した細胞においては集積が消失した。このことは、TORC1 の液胞膜繫留がタンパク質凝集体への集積に必要であることを示す。

【2】出芽酵母におけるタンパク質凝集体蓄積と TORC1 の局在移動との関連の検証

(2-1) Vac17、Vac8 の欠損はタンパク質凝集体の蓄積を阻害しただけでなく、TORC1 の局在移動も阻害した。このことは TORC1 の集積はタンパク質凝集体蓄積に依存することを示す。TORC1 の局在変化と活性低下との因果関係を明らかにする目的で、これらの欠損細胞においても TORC1 の活性低下が引き起こされるかどうか検証中である。

【3】他生物（分裂酵母、ヒト）における進化的保存性の検証

(3-1) 分裂酵母においても AZC 処理後に TORC1 活性の低下と Atg13 の脱リン酸化が観察されオートファジーが誘導された。その一方で、異なる TOR 複合体である TORC2 の活性は低下せず、この現象が TORC1 特異的であることを示す。しかし、分裂酵母では AZC 処理後も顕著な TORC1 の局在変化が観察されなかった。

(3-2) 同様に、ヒト培養細胞においても AZC 処理後に TORC1 活性の低下と Atg13 の脱リン酸化が観察されオートファジーが誘導された一方で、TORC2 の活性は変化しなかった。加えて、ヒト細胞でも AZC 処理後に TORC1 の局在変化が観察されなかった。これらのことは、真核生物において変性タンパク質ストレスが TORC1 の活性低下を引き起こす現象は保存されているものの、その分子機構は異なることを示唆する。

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。)

上記、研究結果の一部を下記の論文として発表した。

Kazuki Suda, Atsuki Kaneko, Mitsugu Shimobayashi, [Akio Nakashima](#), Tatsuya Maeda, Michael N Hall, [Takashi Ushimaru](#) (2019) TORC1 regulates autophagy induction in response to proteotoxic stress in yeast and human cells. **Biochem Biophys Res Commun.** 511(2):434-439. PMID: 30797551

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。

本研究を遂行するに当たり、国際共同研究としてスイス・バーゼル大学 Michael N. Hall 博士と下林貢博士のご協力を仰いだ。