

令和 2 年 5 月 27 日現在

機関番号：13802

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03802

研究課題名（和文）TORC1新規in vitroアッセイ系を用いたアミノ酸感知と活性制御機構の解析

研究課題名（英文）Study on the amino acid-sensing and the activity regulation mechanisms of TORC1 using a novel in vitro assay system

研究代表者

前田 達哉（Maeda, Tatsuya）

浜松医科大学・医学部・教授

研究者番号：90280627

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,300,000円

研究成果の概要（和文）：酵母のGtr/Rag非依存性・グルタミン応答性TORC1活性化機構であるPib2経路においては、液胞タンパク質Pib2がグルタミンに結合することにより構造変化し、TORC1に結合してこれを活性化することを明らかにし、この両者のみでグルタミン応答性TORC1活性化をin vitroで再現することに成功した。すなわち、Pib2はグルタミンセンサーであると同時にTORC1の直接の活性化因子であることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

TORC1は代謝を制御する主要なシグナル伝達因子で、さまざま疾患の発症・増悪に関与しており、その制御機構の解明が待たれている。アミノ酸を検知してTORC1を活性化する機構について、不明な点が多かったGtr/Rag非依存性・グルタミン応答性の分子機構を初めて明らかにした。この機構は多くの生物種を通じて広く保存されている可能性がある。また、細胞内に高濃度で存在する代謝物を特異的に検知する機構としての一般性を備えている。

研究成果の概要（英文）：In the Pib2 pathway, which is the Gtr/Rag-independent glutamine-responsive TORC1 activation mechanism in yeast, the vacuolar protein Pib2 changes its structure upon binding to glutamine and thereby binds to and activates TORC1. In addition, the glutamine-responsive TORC1 activation was reconstituted in vitro solely using Pib2 and TORC1. These observations indicate that Pib2 is the glutamine sensor as well as the direct activator of TORC1 in the Pib2 pathway.

研究分野：分子細胞生物学

キーワード：シグナル伝達 TOR TORC1 グルタミン

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

生育条件に応じて成長を適切に調節することは、生物にとって最も基本的な適応応答である。この制御に重要な役割を果たしているのが、免疫抑制剤/抗がん剤ラパマイシンの標的分子 TOR (哺乳類では mTOR) を触媒サブユニットとする TORC1 (TOR complex 1) キナーゼ複合体である。TORC1 は構造、機能とも真核生物を通じて保存されており、酵母では TOR-Kog1-Lst8 (哺乳類では mTOR-raptor-mLst8) というサブユニットからなっている。

TORC1 の活性は、アミノ酸、エネルギー、ストレス、哺乳類の場合にはさらに増殖因子にตอบสนองして制御されている。活性化された TORC1 は、種々の標的基質のリン酸化を介して、タンパク質翻訳活性や、栄養の取り込み、自食作用などを制御しており、これらの諸過程を介して、同化的か異化的かという包括的代謝パターンの切り替えの根本を担っている。さらに、哺乳類においては、発生・分化・神経機能・癌・免疫・生活習慣病・老化への決定的な関与が示されて、多くの分野にわたる関心を集めるようになってきている。

アミノ酸を感知して TORC1 活性を制御する機構には未だ不明な点が多い。アミノ酸が豊富な条件下では TORC1 が液胞 (哺乳類ではリソソーム) 膜上に局在化し、そのことが活性化に重要であることが分かっている。これは、リソソーム膜上にアンカーされている低分子量 G タンパク質 Gtr1/2 ヘテロ 2 量体 (哺乳類では Rag ヘテロ 2 量体) がアミノ酸依存的に活性化され、TORC1 をリクルートすることによる。さらに、アミノ酸にตอบสนองして Gtr/Rag ヘテロ 2 量体の活性化状態 (Guaninylated state) を制御する GAP (GTPase 活性化タンパク質) や GEF (Guaninylated state 交換因子) が同定されつつある。最近、哺乳類においては、RagA/B に対する GAP である GATOR 複合体の相互作用因子として同定された Sestrin と CASTOR が、それぞれロイシンとアルギニンに対するセンサーであるとの報告がなされた。センサーを含むこれら制御因子は全て Gtr/Rag ヘテロ 2 量体を介して TORC1 の活性を制御している。ところが、Gtr/Rag ヘテロ 2 量体を欠損した細胞においても、アミノ酸、特にグルタミンにตอบสนองして TORC1 が活性化されることが哺乳類と酵母で示された (J Biol Chem 289: 25010-20, 2014, Science 347: 194-8, 2015)。しかし、Gtr/Rag 非依存性・グルタミン応答性 TORC1 活性化の分子機構はこれまでのところ不明であった。

最近、酵母において、ホスファチジルイノシトール 3 リン酸 (PI(3)P) 結合ドメインである FYVE ドメインを有する機能未知タンパク質 Pib2 が、Gtr 依存的経路とは独立に TORC1 の活性化を担う経路で機能していることが示唆された (Mol Biol Cell 26: 4631-45, 2015)。Pib2 は液胞膜に局在するが、この局在は PI(3)P キナーゼ (PI3K) である Vps34 の KO 株では失われてしまうことから、Vps34 が液胞膜上に PI(3)P を産生し、これが Pib2 の FYVE ドメインと結合することにより Pib2 は液胞膜へと局在していると考えられる。しかしながら、Pib2 の液胞局在の意義や、Pib2 を介した TORC1 活性化が実体の不明であった Gtr 非依存性・グルタミン応答性 TORC1 活性化機構に相当するものであるのかどうかは不明であった。

生細胞内で 20 種のアミノ酸のいずれが TORC1 を活性化しているかを判別することは容易ではない。アミノ酸は細胞内で代謝され相互に変換されることに加え、アミノ酸ごとの取り込み効率も異なり、培地に加えたアミノ酸は細胞内のアミノ酸レベルにそのまま反映される訳ではないため、生細胞を用いたこれまでの *in vivo* アッセイ系ではアミノ酸ごとの TORC1 活性化能を評価することはできなかった。これらの問題は、*in vitro* のアッセイ系を用いることで原理的に解決しうる。しかしながら、免疫沈降法などで精製した TORC1 標品を用いて *in vitro* でキナーゼ活性をアッセイすることは広く行われてきたが、アミノ酸にตอบสนองした TORC1 活性化を *in vitro* で再現することは、長年の取組みにも関わらずこれまで誰も成功していなかった。これは、TORC1 を精製する過程でアミノ酸応答性を担う因子が失われることによると考えられる。

我々は精製 TORC1 を用いるという発想を捨て、透過性化した酵母細胞や酵母から精製した液胞をそのまま TORC1 キナーゼ標品として用い、哺乳類 TORC1 基質である 4EBP1 の特異的リン酸化残基 Thr37/Thr46 のリン酸化のみをリン酸化特異的抗体によるウェスタン法で検出するという *in vitro* キナーゼアッセイにより、アミノ酸依存的 TORC1 活性化を *in vitro* で再現することに世界で初めて成功した。アミノ酸ごとの特異性を評価したところ、生理的な濃度ではグルタミンのみが TORC1 活性化能を示した。さらに、この活性化は L-グルタミンでは起こるが D-グルタミンでは起こらず、ここで見られた活性化が生理的センサーを介した特異的なものであることが確認された。また、Gtr 経路の KO 株から調製した試料を用いても TORC1 活性化能は損なわれなかったことから、このアッセイ系は、実体が不明であった Gtr 非依存性・グルタミン応答性 TORC1 活性化機構を反映していることが明らかになった。さらに、Pib2 KO 株と Vps34 KO 株がこのアッセイにおけるグルタミン応答性を失っていることを見出した。このことは、Pib2 が Gtr 非依存性・グルタミン応答性 TORC1 活性化機構に関与しているという予測を裏付けるものである。Vps34 KO 株でもグルタミン応答性 TORC1 活性化が起こらないことは、Pib2 が TORC1 を活性化するためには液胞膜への局在化が必須であることを示唆している。また、共沈実験により Pib2 と TORC1 が液胞膜上でグルタミン依存的に相互作用することを見出した。このことは、グルタミン応答性 TORC1 活性化の分子基盤に Pib2-TORC1 相互作用の誘導というステップが存在することになるが、Pib2 経路におけるグルタミンセンサーや TORC1 活性化機構の実体は不明であった。

## 2. 研究の目的

本研究では、1. で述べた新規 *in vitro* TORC1 アッセイ系の利点を活かして、Pib2 依存的 TORC1 活性化機構の分子機構を明らかにすることを主要な目的とする。網羅的なスクリーニングなどでこの活性化機構の新規構成因子を同定し、グルタミンセンサーや TORC1 活性化機構の実体を明らかにする。さらに、得られた知見をもとに、グルタミン応答性 TORC1 活性化を精製票品のみを用いた *in vitro* の系で再構成することを目指す。また、アッセイ系を改良して Gtr 依存性 TORC1 活性化も再現し、新規 TORC1 活性化能を持つ化合物のスクリーニング系を確立することも目的とする。

## 3. 研究の方法

### (1) Pib2 依存的 TORC1 活性化機構における Vps34 の機能の解析

Pib2 は、Vps34 が産生した液胞膜上の PI(3)P に FYVE ドメインを介して結合し、液胞膜へと局在化し、この局在化が TORC1 の活性化に必須であることがわかっている。その理由を説明するのに以下の2つのモデルが考えられる。① PI(3)P は Vps34 により構成的に液胞膜で産生され、Pib2 の液胞膜局在を規定している。② Vps34 がグルタミンに反応して活性化され、産生された PI(3)P が Pib2 への結合を介して TORC1 活性化を引き起こす。いずれのモデルが正しいかを調べるため、*in vitro* アッセイ系において Vps34 活性を特異的阻害剤により阻害し、TORC1 活性化への影響を検討することを試みた。①であれば TORC1 活性化は影響を受けないが、②であれば TORC1 活性化は阻害されるはずである。このとき、市販の特異的阻害剤は哺乳類 Vps34 の活性を阻害するが酵母 Vps34 の活性を阻害することができないため、触媒ドメインのみをヒト Vps34 と置き換えたキメラ Vps34 を作製し実験に用いた。

### (2) Pib2 依存的 TORC1 活性化機構の新規構成因子の同定

Pib2 と Vps34 は、それぞれのノックアウト (KO) 株由来の透過性化細胞が *in vitro* でグルタミン応答性 TORC1 活性化を示さないことを指標に同定した。同様なスクリーニングを大規模に行い、Pib2 依存的 TORC1 活性化機構の新規構成因子を包括的に同定しようとした。候補としては、液胞に局在するタンパク質をコードする遺伝子、あるいは TORC1 と遺伝的相互作用を示す遺伝子をゲノムデータベース (Saccharomyces Genome Database) を参照して約 300 遺伝子を選別した。それらの KO 株を既存の KO コレクション (入手済) から得て、それぞれから調製した透過性化細胞のグルタミン応答性 TORC1 活性化の有無を調べた。

### (3) Pib2 依存的 TORC1 活性化機構におけるグルタミンセンサーの同定

(2)でセンサーの候補をコードし得る約 300 の遺伝子の KO 株を全て検討したところ、いずれもセンサー機能の欠如が認められなかった。そのため、Pib2 それ自身がグルタミンセンサーである可能性を検討した。Pib2 を組換えタンパク質として大腸菌で発現・発現し、TORC1 を酵母から tandem affinity purification 法を用いて精製した。*in vitro* における両者の結合がグルタミン添加により変化するか否かを検討した。

また、Pib2 がグルタミンと直接結合するか否かを検討するために、thermal shift assay や等温滴定型熱量測定 (Isothermal Titration Calorimetry, ITC)、平衡透析法、表面プラズモン共鳴法、NMR、示差走査熱量計 (Differential Scanning Calorimetry, DSC) といった物理化学的測定を行なった。L-グルタミンに対する特異性を検討するためには、D-グルタミンやアスパラギンをコントロールとして用いた。

### (4) グルタミンセンサーPib2 によるグルタミン検知機構の解明

Pib2 に種々の欠失を導入した変異体を作成し、*in vivo* における TORC1 活性化能と、*in vitro* におけるグルタミン応答性の TORC1 結合能を検討した。特に、Pib2 オルソログ間で保存されている配列モチーフに着目して変異体を作成し解析を進めた。

また、Pib2 が天然変性タンパク質としての性質を備え、*in vitro* で液滴 (liquid droplet) を形成することを見出したため、液滴形成がグルタミンの有無で変化するかどうかを検討した。

### (5) Pib2 による TORC1 活性化機構の解明

酵母細胞で発現することにより TORC1 をより強く活性化するような Pib2 変異体を、ラパマイシン耐性の充進を指標に多数単離した。得られた変異体をシークエンスすることで変異箇所を同定した。得られた活性化型変異体を組換えタンパク質として大腸菌で発現・精製し、*in vitro* におけるグルタミン応答性と TORC1 活性化能を検討した。

### (6) グルタミンセンサーPib2 を介した TORC1 活性化の *in vitro* 完全再構成

精製した Pib2 と精製した TORC1 を *in vitro* で混合し、グルタミン添加の有無によって TORC1 活性が変化するか否かを *in vitro* キナーゼアッセイにより検討した。このとき、組換え Pib2 タンパク質として、野生型と(5)で単離された活性化型変異体を用いた。

### (7) Gtr 依存的 TORC1 活性化機構の *in vitro* アッセイ系構築

Gtr 依存的 TORC1 活性化機構には、Gtr1/2 ヘテロ 2 量体や、液胞へのアンカータンパク質である Ego 複合体 (哺乳類 Regulator 複合体のオルソログ) のように液胞膜に存在するタンパク質に加え、細胞質に存在する制御タンパク質 (複合体) が知られている。そこで、細胞質に存在する制御タンパク質に依存しないポジティブコントロールとして、活性化型である GTP 結合

型 Gtr1 と GDP 結合型 Gtr2 を発現する酵母株から透過性化細胞を調製し、不活性化型を発現する細胞と比較して高い TORC1 活性を示すか否かを検討した。また、Gtr1/2 二量体を液胞膜に構成的に局在化させるため、Ego1 の N 末端に存在する脂質修飾モチーフを Gtr1 の N 末端側に融合した変異体を作成した。

#### 4. 研究成果

##### (1) Pib2 依存的 TORC1 活性化機構における Vps34 の機能の解析

グルタミン応答性 TORC1 活性化における Vps34 の役割を検証するために哺乳類 Vps34 特異的阻害剤を活用することを試みた。市販の阻害剤が酵母 Vps34 を阻害しないため、触媒ドメインのみをヒト Vps34 と置き換えたキメラ Vps34 を複数作製したが、いずれも酵母細胞内で活性を持たなかった。しかしながら、(3)に述べるとおり、TORC1 活性化機構の素過程である Pib2 と TORC1 の結合は、Vps34 ならびにその産物である PI(3)P を含まない条件でもグルタミン応答性を示すことを示すことができた。このことは、グルタミン依存的 TORC1 活性化における Vps34 の役割が、液胞膜上で構成的に PI(3)P を産生することにより、Pib2 の液胞膜局在を規定することにあることを示している。

##### (2) Pib2 依存的 TORC1 活性化機構の新規構成因子の同定

液胞タンパク質や TORC1 関連タンパク質の遺伝子 KO 株を網羅的に *in vitro* TORC1 活性アッセイ系に供することにより、グルタミン応答性 TORC1 活性化に必須な因子をスクリーニングしたところ、いずれの KO 株においても TORC1 活性化能が維持されていた。さらに、パラログの存在する遺伝子については二重 KO 株を作製したが、これも TORC1 活性可能が維持されていた。このことは、グルタミン応答性 TORC1 活性化に必要な因子は、Pib2 以外には存在しないことを示唆している。

##### (3) Pib2 依存的 TORC1 活性化機構におけるグルタミンセンサーの同定

Pib2 を組換えタンパク質として大腸菌で発現・精製し、これが精製した TORC1 と L-グルタミン依存的に結合することを見出した。また、結合に必要なグルタミン濃度は、この経路において TORC1 活性化に必要とされる生理的グルタミン濃度と一致していた。このことは、Pib2 自体、もしくは Pib2 と TORC1 の複合体がグルタミンセンサーであることを示している。

Pib2 とグルタミンの直接の結合を検出するために、タンパク質・リガンド相互作用の解析に一般に用いられる thermal shift assay や等温滴定型熱量測定 (ITC)、平衡透析法、表面プラズモン共鳴法といった物理化学的測定を行なったが、結合に必要なグルタミンが数十 mM ときわめて高濃度であるため結合の有無を判定することはできなかった。また、Pib2 は多くの部分が天然変性領域からなり、容易に分解したりアグリゲーションを形成したりするため、NMR 解析に必要な高濃度の組換えタンパク質として調製することも困難であった。そこで、示差走査熱量計 (DSC) を行なったところ、生理的濃度のグルタミンの添加により熱変性に伴うエンタルピー変化の増大が観測された。この変化は、D-グルタミンやアスパラギンで観測されず、L-グルタミンに特異的であった。これらのことから、Pib2 がグルタミンセンサーの本体であると結論した。

また、Pib2 は *in vitro* で液滴を形成するが、その挙動はグルタミンの有無に影響を受けなかったことから、液滴形成はグルタミン検知には直接は関係しないと考えられる。

##### (4) グルタミンセンサーPib2 によるグルタミン検知機構の解明

Pib2 の種々の欠失変異体の解析から、*in vivo* における TORC1 活性化能には、E モチーフ、FYVE ドメイン、tail モチーフの 3 つが必須であることがわかった。さらに、*in vitro* における精製 TORC1 との結合がグルタミン応答性に亢進するためには tail モチーフは必要ではなく、E モチーフと FYVE ドメインで十分であることが明らかになった。Pib2 オルソログ間で E モチーフに保存されている残基に点変異を導入したところグルタミン応答性の結合の亢進が失われたことから、E モチーフがグルタミン検知に必須の役割を果たしていると考えられる。

##### (5) Pib2 による TORC1 活性化機構の解明

Pib2 の欠失変異体を用いた解析から、tail モチーフはグルタミン応答性には必須ではないものの、TORC1 活性化には必須であることを見出した。また、Pib2 の活性化型変異体をスクリーニングしたところ、得られた変異体はいずれも tail モチーフに点変異を有していた。さらに、これらの活性化型変異体は、グルタミン応答性ではなく TORC1 活性化能が亢進していることを *in vitro* のアッセイで示した。また、tail モチーフと TORC1 の結合も観察された。これらのことから、tail モチーフが TORC1 を直接活性化することが示唆された。

##### (6) グルタミンセンサーPib2 を介した TORC1 活性化の *in vitro* 完全再構成

精製タンパク質のみを用いてグルタミン依存性の複合体形成を再現できたが、同じ条件で TORC1 キナーゼ活性化を確認することには現段階では成功していない。これは、可溶性タンパク質のみを用いた条件においては、複合体の構成因子が膜上に局在化している場合に比較して、複合体が解離する方向に平衡が傾くからである可能性が考えられる。しかしながら、Pib2 は上記のとおり精製状態ではアグリゲーションしやすいため、反応系に十分な濃度で加えることができない。そこで、(5)で単離した TORC1 を強く活性化することのできる Pib2 変異体を用いて同様のアッセイを行なったところ、グルタミン応答性の TORC1 活性化を *in vitro* で再構成することに成功した。このことは、Pib2 がグルタミンセンサーであると同時に TORC1 の直接の活

性化因子であり、**Pib2** 単独でグルタミン応答性に **TORC1** を活性化できる因子であることを示している。

#### (7) Gtr 依存的 TORC1 活性化機構の in vitro アッセイ系構築

1. で述べた in vitro アッセイ系は Gtr 非依存的な TORC1 活性化機構のみを反映するものであった。これは試料の調製の過程で Gtr 経路の制御因子が失われることが原因であると考えられた。そこで、活性化型 Gtr 二量体を発現する酵母株から透過性化細胞を調製し、in vitro アッセイ系に供したが、不活性化型を発現する細胞より高い TORC1 活性を検出することができなかった。試料に含まれる Gtr1/2 二量体を定量したところ、大部分が調製の過程で失われていることを見出した。これは、Gtr1/2 二量体と Ego 複合体の結合が安定なものではないことによると考えられた。そこで、Gtr1/2 二量体を液胞膜に構成的に局在化させるため、Ego1 の N 末端に存在する脂質修飾モチーフを Gtr1 の N 末端側に融合した変異体を作成したが、この変異体は十分な活性を示さなかった。Gtr1/2 二量体を液胞膜に安定に局在化するためには、別の方法を検討する必要がある。

#### (8)総括

本研究により、酵母における Gtr/Rag 非依存性・グルタミン応答性 TORC1 活性化機構である Pib2 経路においては、Pib2 がグルタミンセンサーであると同時に TORC1 の直接の活性化因子であり、Pib2 単独でグルタミン応答性に TORC1 を活性化できることが明らかになった。Pib2 のオルソログは植物を含む多くの生物種に存在することから、Pib2 経路は Gtr/Rag 経路より進化的に旧く、広く保存された機構である可能性がある。Pib2 によるグルタミン検知は、親和性が低い ( $K_d > 10 \text{ mM}$ ) にもかかわらず特異性が高いことが特徴であり、その検知機構に関する知見は、細胞内に高濃度で存在する他の代謝物の検知機構に一般化できることが期待される。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Suda Kazuki, Kaneko Atsuki, Shimobayashi Mitsugu, Nakashima Akio, Maeda Tatsuya, Hall Michael N., Ushimaru Takashi	4. 巻 511
2. 論文標題 TORC1 regulates autophagy induction in response to proteotoxic stress in yeast and human cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 434 ~ 439
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2019.02.077	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 Hericourt Francois, Larcher Melanie, Chefdor Francoise, Koudounas Konstantinos, Carqueijeiro Ines, Lemos Cruz Pamela, Courdavault Vincent, Tanigawa Mirai, Maeda Tatsuya, Depierreux Christiane, Lamblin Frederic, Glevarec Gaelle, Carpin Sabine	4. 巻 8
2. 論文標題 New Insight into HPTs as Hubs in Poplar Cytokinin and Osmosensing Multistep Phosphorelays: Cytokinin Pathway Uses Specific HPTs	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Plants	6. 最初と最後の頁 591 ~ 591
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/plants8120591	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 Kim Ik-Jung, Lee Jeongmin, Oh Seung J., Yoon Mee-Sup, Jang Sung-Soo, Holland Robin L., Reno Michael L., Hamad Mohammed N., Maeda Tatsuya, Chung Hee Jung, Chen Jie, Blanke Steven R.	4. 巻 23
2. 論文標題 Helicobacter pylori Infection Modulates Host Cell Metabolism through VacA-Dependent Inhibition of mTORC1	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Host & Microbe	6. 最初と最後の頁 583 ~ 593.e8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chom.2018.04.006	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 Yoneyama Yosuke, Inamitsu Tomomi, Chida Kazuhiro, Iemura Shun-Ichiro, Natsume Tohru, Maeda Tatsuya, Hakuno Fumihiko, Takahashi Shin-Ichiro	4. 巻 5
2. 論文標題 Serine Phosphorylation by mTORC1 Promotes IRS-1 Degradation through SCF <sup>E3</sup> Ubiquitin Ligase	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 1 ~ 18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2018.06.006	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 -

1. 著者名 Watanabe Daisuke, Kajihara Takuma, Sugimoto Yukiko, Takagi Kenichi, Mizuno Megumi, Zhou Yan, Chen Jiawen, Takeda Kojiro, Tatebe Hisashi, Shiozaki Kazuhiro, Nakazawa Nobushige, Izawa Shingo, Akao Takeshi, Shimoi Hitoshi, Maeda Tatsuya, Takagi Hiroshi	4. 巻 85
2. 論文標題 Nutrient Signaling via the TORC1-Greatwall-PP2AB55 Pathway Is Responsible for the High Initial Rates of Alcoholic Fermentation in Sake Yeast Strains of <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Applied and Environmental Microbiology	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) 10.1128/AEM.02083-18	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 -

1. 著者名 Sakai Yusuke, Kassai Hidetoshi, Nakayama Hisako, Fukaya Masahiro, Maeda Tatsuya, Nakao Kazuki, Hashimoto Kouichi, Sakagami Hiroyuki, Kano Masanobu, Aiba Atsu	4. 巻 9
2. 論文標題 Hyperactivation of mTORC1 disrupts cellular homeostasis in cerebellar Purkinje cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	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) 10.1038/s41598-019-38730-4	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 -

1. 著者名 Mirai Tanigawa, Tatsuya Maeda	4. 巻 37
2. 論文標題 An In Vitro TORC1 Kinase Assay That Recapitulates the Gtr-Independent Glutamine-Responsive TORC1 Activation Mechanism on Yeast Vacuoles	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Mol Cell Biol	6. 最初と最後の頁 e00075-17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/MCB.00075-17	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 -

1. 著者名 Kanayama Mayuko, Hayano Toshiya, Koebis Michinori, Maeda Tatsuya, Tabe Yoko, Horie Shigeo, Aiba Atsu	4. 巻 77
2. 論文標題 Hyperactive mTOR induces neuroendocrine differentiation in prostate cancer cell with concurrent up-regulation of IRF1	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 The Prostate	6. 最初と最後の頁 1489 ~ 1498
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/pros.23425	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計22件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 前田達哉
2. 発表標題 酵母のグルタミン検知に関する天然変性タンパク質Pib2の液滴形成
3. 学会等名 第19回日本蛋白質科学会年会 第71回日本細胞生物学会 合同年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小松楠於、石野裕子、谷元洋、上野俊哉、前田達哉、田中直孝、田淵光昭
2. 発表標題 出芽酵母スフィンゴ脂質代謝制御に関わる機能未知転写因子Mim2の機能解析
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 谷川美頼、山本勝良、前田達哉
2. 発表標題 細胞内グルタミン検知機構の解析
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 野村巨、後藤剛、高原照直、前田達哉、井上善晴
2. 発表標題 edelfosineを用いたTOR複合体2シグナル制御機構の解析
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 前田達哉
2. 発表標題 酵母のグルタミン検知に関する天然変性タンパク質Pib2の液滴形成
3. 学会等名 大阪大学蛋白研セミナー / 第3回LLPS研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野村亘、後藤剛、高原照直、前田達哉、河田照雄、井上善晴
2. 発表標題 出芽酵母cell wall integrity経路が関わるTOR複合体2シグナル制御機構の解析
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 坂井祐介、葛西秀俊、中山寿子、深谷昌弘、前田達哉、中尾和貴、橋本浩一、阪上洋行、狩野方伸、饗場篤
2. 発表標題 mTORC1シグナル亢進による小脳プルキンエ細胞の細胞内ホメオスタシスの攪乱
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 谷川美頼、山本勝良、前田達哉
2. 発表標題 細胞内グルタミン検知機構の解析
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 谷川美頼、山本勝良、前田達哉
2. 発表標題 TORC1経路における細胞内グルタミン検知機構
3. 学会等名 日本農芸化学会 2020年度（令和2年度）大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 谷川美頼、山本勝良、前田達哉
2. 発表標題 Pib2によるTORC1活性化機構の解析
3. 学会等名 酵母遺伝学フォーラム第51回研究報告会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 前田達哉
2. 発表標題 The glutamine-responsive TORC1 activation mechanism in yeast
3. 学会等名 第13回プロテインホスファターゼ国際カンファレンス（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 谷川 美頼、山本 勝良、前田 達哉
2. 発表標題 酵母のグルタミン特異的 TORC1活性化機構
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 前田達哉
2. 発表標題 酵母のアミノ酸検知機構 シグナルとしての栄養源
3. 学会等名 大隅基礎科学創成財団 第4回創発セミナー
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 前田達哉
2. 発表標題 Rag/Gtr非依存性・グルタミン応答性TORC1活性化機構
3. 学会等名 反町洋之博士追悼記念シンポジウム Three Decades of Calpain
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 前田達哉
2. 発表標題 酵母TORC1経路のアミノ酸検知機構
3. 学会等名 第86回酵母研究会講演会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mirai Tanigawa
2. 発表標題 An in vitro TORC1 Kinase Assay that Recapitulates the Gtr-Independent Glutamine-responsive TORC1 Activation Mechanism on Yeast Vacuole
3. 学会等名 28th International Conference on Yeast Genetics and Molecular Biology (ICYGMB) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 谷川美頼、前田達哉
2. 発表標題 Pib2を介したTORC1活性化機構の解析
3. 学会等名 酵母遺伝学フォーラム 第50回研究報告会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 野村 亘、後藤 剛、高原 照直、前田 達哉、河田 照雄、井上 善晴
2. 発表標題 Cdc42が関与する出芽酵母TOR複合体2シグナルの解析
3. 学会等名 酵母遺伝学フォーラム 第50回研究報告会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 坂井 祐介、葛西 秀俊、中山 寿子、前田 達哉、中尾 和貴、橋本 浩一、狩野 方伸、饗場 篤
2. 発表標題 小脳ブルキンエ細胞における mTORC1シグナルの活性化は、ブルキンエ細胞の細胞死および肥大化を引き起こす
3. 学会等名 2017年度 生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 谷川美頼、前田達哉
2. 発表標題 グルタミン特異的TORC1活性化機構
3. 学会等名 日本遺伝学会 第89回大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 谷川美頼、山本勝良、前田達哉
2. 発表標題 Pib2を介したTORC1活性化機構の解析
3. 学会等名 日本農芸化学会 2018年度（平成30年度）大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 渡辺 大輔、杉本 幸子、水野 恵、周 延、陳 佳文、赤尾 健、下飯 仁、前田 達哉、高木 博史
2. 発表標題 酵母のアルコール発酵調節におけるTORC1シグナリングとアミノ酸の効果
3. 学会等名 日本農芸化学会 2018年度（平成30年度）大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	藤木 克則  (Fujiki Katsunori)  (10646730)	東京大学・定量生命科学研究所・助教    (12601)	