

综述

mTORC1通路中氨基酸信号转导相关机制研究进展

高源 吴更*

(微生物代谢国家重点实验室, 上海交通大学生命科学技术学院, 上海 200240)

摘要 雷帕霉素靶点蛋白(target of rapamycin, TOR)作为细胞内重要的生长和代谢调节中枢, 主要通过形成两种复合物TORC1与TORC2发挥其功能。其中TORC1接收广泛的细胞内信号, 如氨基酸水平、生长因子、能量以及缺氧状态等, 通过调控蛋白质合成来促进细胞的增殖与生长。在这些信号当中, 氨基酸不仅能够激活TORC1通路, 还同时作为其他信号激活TORC1的必需条件。目前, 对于生长因子和能量水平激活TORC1过程的分子机制已有较深入的认识, 而对于氨基酸信号如何转导至TORC1的分子机制直到近年来才有了新的突破。该文通过梳理已发表的哺乳动物细胞中氨基酸信号调控mTORC1分子机制的相关实验结论, 对该领域的研究方向进行了总结和展望。

关键词 mTORC1; 氨基酸信号转导; Rag GTPase; Regulator; p62

1 引言

mTORC1是由哺乳动物雷帕霉素靶点蛋白mTOR所组成的两种蛋白复合物之一, 在调控细胞增殖过程中发挥核心作用^[1]。目前, 已发现包括糖尿病、神经退行性疾病和多种癌症在内的人类疾病与mTORC1通路失调紧密相关。同时, 研究人员通过抑制酵母^[2]、果蝇^[3]、线虫^[4]和小鼠^[5]等动物体内该通路活性而成功延长其寿命, 进一步显示了TORC1通路与细胞衰老过程的潜在关联。

mTORC1的主要成员有: mTOR, 一种属于磷脂酰肌醇3-激酶相关激酶蛋白家族(phosphatidylinositol 3-kinase-related kinase, PIKK)的进化保守的丝氨酸/苏氨酸激酶, 复合物的催化核心; raptor(regulatory-associated protein of TOR)作为支架蛋白, 协助复合物组装, 同时结合mTOR底物和调控因子^[6-9]; mLST8 (mammalian lethal with SEC13 protein 8)又称作GβL, 同时存在于mTORC1和mTORC2^[10]; 最新发现的该复合物成员还包括同作为负调控因子的PRAS40 (proline-rich AKT substrate 40 kDa)^[11]以及Deptor(DEP domain-containing mTOR-interacting protein)^[12]。mTORC1主要接收并整合来自细胞内外的四方面信号: 营养(如氨基酸)、生长因子(如胰岛素)、能量水平和环境压力(如缺氧环境)^[13]。其中生长因子和能量水平以及部分环境压力来源的信号主要经由

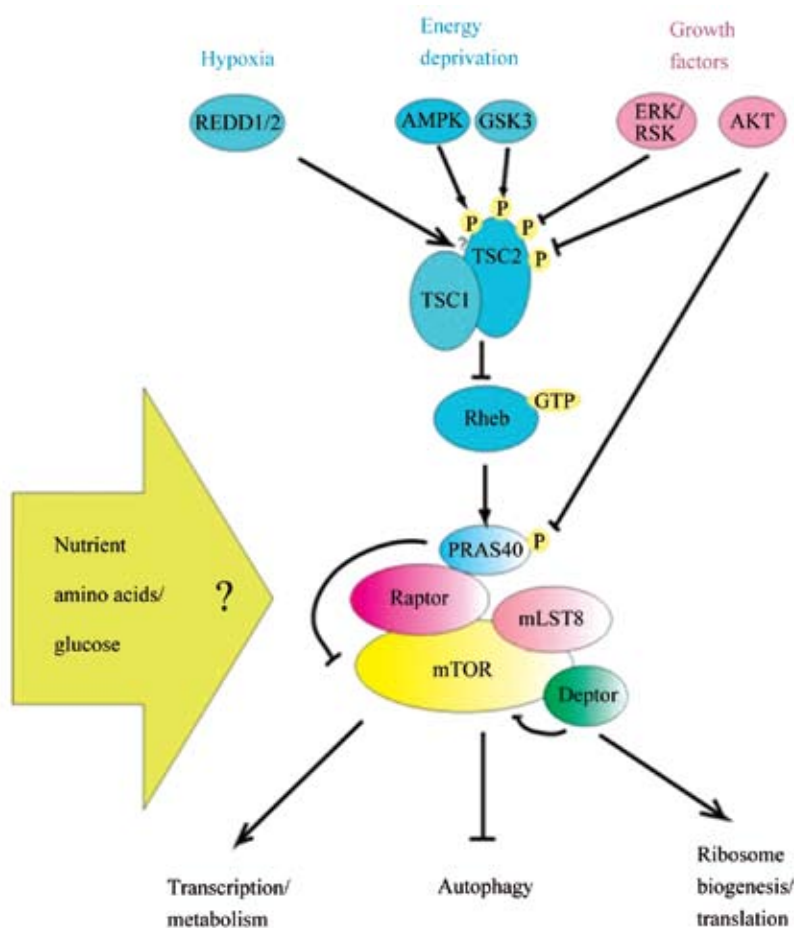
TSC1(tuberous sclerosis protein 1, 又称hamartin)和TSC2(tuberous sclerosis protein 2, 又称Tuberin)形成的抑癌复合物, 通过调控Rheb(一种Ras相关的GTP结合蛋白)所携带鸟苷的状态来传递到mTORC1。Rheb^{GTP}可激活mTOR激酶活性, 提高其下游底物的磷酸化水平, Rheb^{GDP}则抑制这一过程^[14], TSC1-TSC2作为Rheb的GTPase活化蛋白(GAP), 使Rheb携带GDP而降低mTORC1活性^[15]。胰岛素等生长因子通过激活PI3K(phosphoinositide 3-kinase)通路进一步激活蛋白激酶B(protein kinase B/AKT), AKT则可以通过磷酸化TSC2抑制其GAP活性, 而使mTORC1呈活性状态^[16](图1)。

氨基酸作为细胞生长和增殖的重要基础, 感受其在细胞内的水平对于mTORC1正确发挥功能至关重要。对于在无氨基酸培养基中生长的细胞, 加入氨基酸可激活mTORC1, 单独加入生长因子却无法正常激活mTORC1^[17]。显示出细胞内充足的氨基酸可能作为其他信号正常传递的必要条件。此外, TSC1-TSC2复合物对于氨基酸信号调控mTORC1的过程也不是必需的, 在TSC2缺失的细胞中, mTORC1

收稿日期: 2012-04-18 接受日期: 2012-05-09

国家自然科学基金(No.30900225, No.30821005, No.90919021)资助项目

*通讯作者。Tel: 021-34205914, E-mail: geng.wu@sytu.edu.cn



mTORC1活性受细胞内多种信号调控,其中生长因子、能量水平、环境等信号主要经由TSC1/TSC2-Rheb途径传递。氨基酸等营养分子类信号激活mTORC1的机制仍不清楚,但被认为是通过一条不同的、独立的途径。REDD: transcriptional regulation of DNA damage response 1; AMPK: AMP活化蛋白激酶; GSK3: 糖原合成激酶3; ERK: 细胞外信号调控激酶; RSK: 核糖体S6 激酶; AKT: 蛋白激酶B。

mTORC1 activity is regulated by various cellular factors. Signals like growth factors, energy level and environmental stresses are transmitted and mediated via TSC1/TSC2-Rheb pathway. Whereas how nutrients like amino acids activate mTORC1 remains unclear, which is thought to signal via a distinct route. REDD: transcriptional Regulation of DNA damage response 1; AMPK: AMP activated protein kinase; GSK3: glycogen synthase kinase 3; ERK: extracellular-signal-regulated kinase; RSK: ribosomal S6 kinase; AKT: protein kinase B.

图1 mTORC1通路概述(根据参考文献[33]改编)

Fig.1 Introduction to mTORC1 pathway(modified from reference [33])

活性仍受到氨基酸水平的调控, 但不再受到缺乏生长因子的影响^[18]。这显示出氨基酸信号可能通过独立于PI3K-AKT-TSC-Rheb通路的某种特殊方式进行传递。另外值得注意的是, 在持续表达Rheb^{GDP}突变体的细胞中, 加入氨基酸也无法激活mTORC1^[19]。即氨基酸也无法独立完全激活mTORC1, 需要其他来源的信号的协同作用。

不同于mTORC1通路中其他信号, 对于氨基酸信号转导过程的认识一直非常有限, 也一直作为领域内的难题之一。直到近年来, 来自于多个研究小组的一系列论文的发表, 才逐渐揭示出该过程的部

分环节与潜在机制。分析和总结各方所得到的实验结论与提出的模型, 将有助于我们更全面地认识这一过程, 从而为下一步研究方向提供思路。

2 mTORC1通路中氨基酸信号的转导与调控

2.1 Rag GTPase是特异性介导氨基酸信号转导的mTORC1调控因子

Rag GTPase是来源于Ras-related small GTP-binding蛋白家族的四种Rag蛋白, 包括RagA/B/C/D, 其中RagA和RagB之间相似性高(超过98%), 其在酵母中

的同源蛋白为Gtr1p, 而RagC和RagD同样也具有高度相似性(约87%), 其在酵母中的同源蛋白为Gtr2p^[20]。在酵母和人类中, Gtr蛋白和Rag蛋白均以异二聚体的形式存在, 包括Gtr1p、RagA/B中的一种与Gtr2p、RagC/D中的一种形成二聚体^[21]。Kim等^[22]和Sancak等^[23]两组独立的研究人员在mTORC1的免疫共沉淀实验中发现了Rag成员, 并检测了不同鸟苷状态的Rag异二聚体同mTORC1的结合情况, 发现含有RagB^{GTP}突变体的复合物比含有野生型RagB或者是RagB^{GDP}突变体的复合物在免疫共沉淀实验中检测到更多的mTOR与raptor。而当RagC^{GDP}存在时, 即RagB^{GTP}-RagC^{GDP}的组合则可以检测到最多的内源mTORC1。进一步研究显示, Rag与mTORC1的相互作用是由raptor介导的, 同时并没有检测到Rag和Rictor(rapamycin-insensitive companion of mTOR, mTORC2的代表成员)的相互作用, 说明其主要的功能只与mTORC1通路相关。

Rag复合物在mTORC1信号通路中发挥什么功能呢? 研究人员在HEK293T细胞中瞬转表达RagB^{GTP}-RagC^{GDP}突变体, 通过检测mTORC1重要底物S6K1(ribosomal S6 kinase 1, mTOR的重要底物)的T389磷酸化位点状态, 发现其不仅具有激活mTORC1通路的效果, 还使得该通路不再对无氨基酸或无亮氨酸的环境敏感。表达野生型Rag复合物产生的这一效果较弱, 而表达RagB^{GDP}-RagC^{GTP}突变体则对整个通路具有主导性的抑制作用。进一步在生理条件下的研究显示, 在稳定表达Rheb1和野生型RagB或RagB^{GTP}突变体的HEK293T细胞中, Rheb尽管作为mTORC1通路重要的激活因子, 稳定表达其野生型或Rheb1^{GTP}突变体仍无法激活无氨基酸状态下的细胞。而此时, 稳定表达RagB^{GTP}突变体则可以解除无氨基酸或无亮氨酸环境的抑制作用, 同时稳定表达野生型Rag复合物也能部分解除无亮氨酸环境的抑制作用。即处于特定状态的突变型Rag复合物可以使mTORC1通路呈现出特定的活性, 同环境中氨基酸存在与否时的情形非常类似。进一步的实验表明, 在稳定表达RagB^{GTP}突变体的细胞中, 除了氨基酸信号以外, 其他来源信号, 如氧化环境压力、线粒体抑制或能量限制依然能有效抑制S6K1的磷酸化水平; 另一方面, 稳定表达RagB^{GDP}突变体则能够抑制胰岛素激活mTORC1通路的功能, 如同在氨基酸被剥夺的细胞中的情形。这些结果均支持同一个

观点, 即Rag复合物是在氨基酸信号的下游, mTORC1的上游发挥功能的。同时, 实验结果还显示细胞内氨基酸的水平直接影响Rag复合物所载有鸟苷的状态, 而该状态又直接影响Rag复合物同mTORC1的亲合力, 这与其转导氨基酸信号的角色相吻合。最近对于酵母的Gtr1p-Gtr2p复合物的结构生物学研究也表明, 复合物中RagA/B所载鸟苷的状态是其中的关键因素, 直接影响其与raptor的亲合力^[24]。

此外, Kim等^[22]通过果蝇遗传学研究所取得的一系列结论也为Rag复合物在氨基酸调控mTORC1通路中发挥重要功能提供了令人信服的证据: 在饥饿状态下的果蝇细胞中过量表达呈活化的dRag复合物能够极大的增加细胞体积, 而在营养充足条件下同样过量表达却仅有微弱的效果。相反的是, dRagC的突变则选择性地使富营养细胞体积减小, 对于饥饿细胞则几乎没有影响。该研究还证实异位表达活化的dRagA能够抑制细胞在饥饿条件下的自噬作用, 并发现体内具有高活性dRagA的果蝇更易因饥饿而诱发死亡。

2.2 Regulator-Rag复合物在接受氨基酸信号、靶向mTORC1至溶酶体表面被激活过程中发挥重要作用

发现Rag复合物能够介导氨基酸信号激活mTORC1通路的同时, Sancak等^[25]又发现在稳定表达RagB^{GTP}突变体的细胞中, mTORC1不仅对氨基酸信号不敏感, 其在细胞内的分布也有一个特点——即主要分布在细胞核周围Rab7标记为阳性的区室内。他们指出该区室就是溶酶体表面, 氨基酸信号是通过由Rag复合物、Regulator复合物参与介导的mTORC1靶向转移至分布有mTORC1激活因子Rheb的溶酶体表面过程而激活这一通路的。

当环境中存在氨基酸时, mTORC1主要分布在含有LAMP2(lysosomal-associated membrane 2)标记的区室, 而LAMP2是典型的溶酶体标记蛋白。同时, Rag GTPase无论在有无氨基酸的环境下, 也均分布在该区域。联系Rag GTPase与mTORC1在不同氨基酸状态下的相互作用情况, 研究人员认为Rag GTPase作为一种受氨基酸调控的mTORC1在溶酶体表面的对接位点。

随之而来的疑问是, Rag GTPase是如何帮助mTORC1靶向到溶酶体表面的呢? 因为在其内部并未有发现明显的脂类修饰信号。为此, 研究人员

猜测,存在未知的与Rag相互作用的蛋白帮助其完成这一过程。通过对稳定表达FLAG-RagB、FLAG-RagD的细胞使用FLAG标签抗体得到免疫共沉淀样品进行质谱分析发现,三种分别由基因MAPKSP1、ROBLD3和c11orf59编码的,被分别称作MP1、p14和p18的蛋白形成的三聚体复合物帮助Rag复合物靶向到对应区域,该三聚体复合物被命名为Ragulator。三种蛋白的功能从其一级序列中仅能得到有限的信息,其中在p18氨基端存在的脂修饰位点可能在其定位过程中发挥作用。

进一步的免疫共沉淀实验表明,Ragulator同Rag GTPase有直接相互作用,且该相互作用不受环境中的氨基酸影响。同时,Ragulator内部成员间,即MP1、p14和p18之间的结合力也不受环境氨基酸影响。另外,没有检测到Rag GTPase同MP1和p14两者间的直接相互作用,其仅通过和p18的相互作用来结合整个Ragulator。这些结果表明,在细胞内存在一个由Ragulator、Rag GTPase异二聚体以及mTORC1共同组成的大复合物。

为了弄清Ragulator在帮助Rag GTPase和mTORC1靶向到溶酶体表面过程中发挥的作用,研究人员发现在敲除p14或p18的细胞系中,内源的Rag GTPase不再集中在溶酶体表面而是分布在整个胞质中。同时,在上述敲除两基因的细胞系或是通过RNAi下调MP1、p14或p18表达量的HEK293T细胞系中,氨基酸无法促进溶酶体表面mTORC1的招募,而无法激活mTORC1通路。因此,所有Ragulator的成员在靶向Rag GTPase和mTORC1至溶酶体表面的过程中均不可或缺。同时,研究人员还通过改造p18的脂修饰位点使其定位至线粒体表面,发现Rag GTPase和mTORC1也同时被靶向至相同的区域,进一步证实p18所在区域能够直接决定Rag GTPase-mTORC1的位置。此外,研究人员还通过对mTORC1成员raptor进行改造——在其羧基端加入特定的定位信号,通过将mTORC1直接定位于溶酶体表面,成功使细胞彻底摆脱了氨基酸对其活性的限制,从另一个角度阐释了Ragulator和Rag GTPase的功能可能仅限于mTORC1的准确定位。

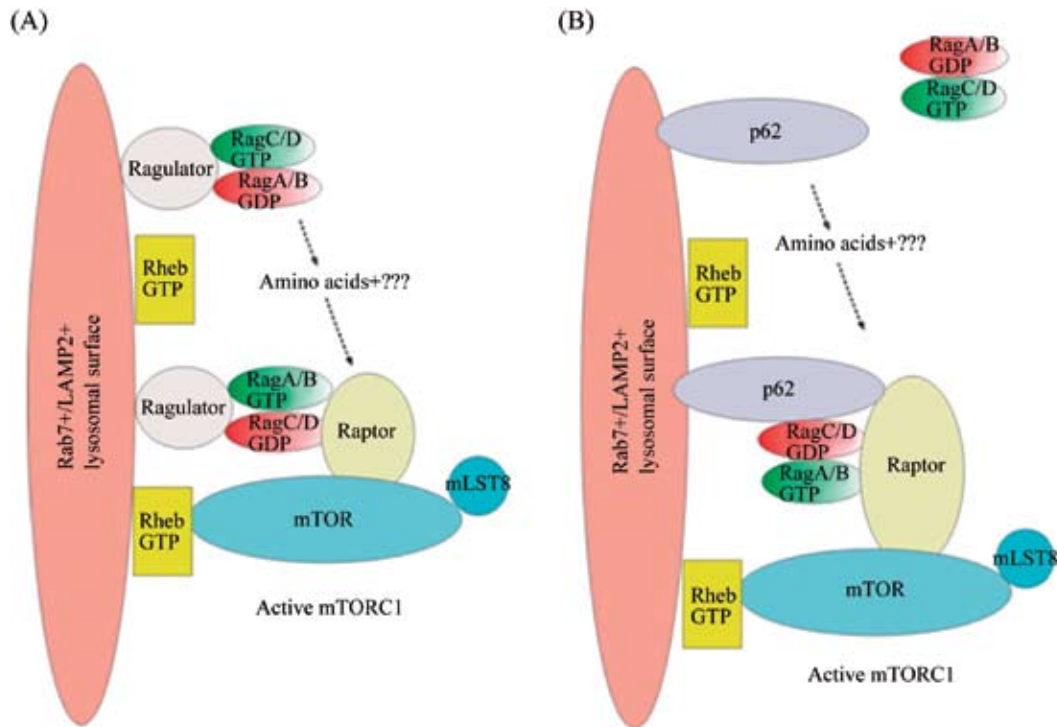
作者据此提出了一种模型,即Ragulator-Rag复合物作为一种受氨基酸水平调控的位于溶酶体表面的接合位点,特异性招募mTORC1至该区域而接收激活因子Rheb的信号(图2)。该模型解释了为

什么TSC2敲除的细胞中mTORC1仍对氨基酸敏感,以及在持续表达Rheb^{GDP}的细胞中氨基酸无法激活mTORC1,即只有同时存在活化的Rheb(反映生长因子、能量水平等信号)和Rag复合物(反映氨基酸水平)两种激活因子的情形下mTORC1才能够激活。Ragulator-Rag复合物介导的靶向作用则可能作为细胞内调控mTORC1与Rheb相互作用的机制之一。这种通过控制细胞内重要分子的空间分布来调控其活性的机制为我们进一步理解细胞内调控网络提供了新的思路。

2.3 p62——新发现的氨基酸信号调控mTORC1通路的重要调节因子

p62(又称作sequestome 1),作为一种具有多结构域的接口蛋白,可选择性地与多种信号蛋白相互作用,被认为参与调控包括细胞存活、炎症反应、凋亡及自噬等多种生理过程^[26-27]。Duran等^[28]最新通过对与p62互作蛋白肽段的液相色谱-质谱分析,发现了mTORC1中重要成员raptor的片段,后续进一步的实验结果还揭示了p62在转导氨基酸信号至mTORC1过程中发挥了重要作用。他们发现,在过量表达p62及mTORC1/2成员的细胞中,p62的免疫共沉淀实验可检测到mTORC1所有的成员,而没有检测到属于mTORC2的独特成员。内源表达的上述蛋白的相互作用情况也与之相符,同时还发现加入氨基酸(或亮氨酸一种)可以加强该相互作用,该结果初步显示了p62可能参与了氨基酸信号转导过程。在p62^{-/-}的基因敲除小鼠细胞中,氨基酸诱导的S6K1和4EBP1(eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein 1, mTOR的重要底物之一)两种底物的磷酸化过程受到抑制,mTORC1通路呈失活状态。细胞再度转染表达p62蛋白全长后,mTORC1恢复其活性,而仅转染羧基端缺失的p62突变体,则无法恢复其活性。另一方面,mTORC2的底物之一,AKT的磷酸化水平则不受基因敲除影响,显示出p62可能仅参与mTORC1通路,且其功能主要同氨基酸信号转导相关。

进一步的研究显示,p62不仅与raptor相互作用,还与已被证实在mTORC1通路氨基酸信号转导过程中发挥重要功能的Rag有相互作用。p62与RagC、RagD之间有特异性的相互作用,而与RagA和RagB没有。p62和raptor一样,也倾向于结合呈活化状态的Rag复合物即RagB^{GTP}-RagC^{GDP},而非RagB^{GDP}-



A: 细胞受到氨基酸刺激后, 通过某种未知机制改变Rag异二聚体所携鸟苷的状态, 随后Ragulator以及处于活化状态的Rag异二聚体与raptor相互作用, 帮助mTORC1复合物转移到溶酶体表面含有其激活因子Rheb^{GTP}的区域而激活之; B: p62作为锚定在溶酶体表面的接口蛋白, 与细胞受到氨基酸刺激后被激活的Rag异二聚体相互作用, 该相互作用又进一步增强了p62同raptor之间的作用力, 从而促进形成p62-Rag异二聚体-raptor三者的复合物。复合物的形成同样使mTORC1被招募到溶酶体表面而受激活。

A: in response to amino acids, the Ragulator complex and activated Rag GTPases interact with raptor, recruit mTORC1 to lysosomal surface which contains its activator-Rheb^{GTP}; B: upon amino acids stimulation, p62 interact with activated Rag GTPases which further enhance the formation of ternary complex of p62-Rag heterodimer-raptor. This complex then mediate the translocation of mTORC1 for activation.

图2 两种蛋白复合物在氨基酸介导的mTORC1激活中的作用模式(根据参考文献[32]改编)

Fig.2 Roles of two distinct protein complexes in activation of mTORC1 by amino acids(modified from reference [32])

RagC^{GTP}, raptor则通过同时与p62、Rag复合物相互作用, 进一步加强p62与Rag复合物之间的相互作用力。此外, 研究人员并没有发现p62与Ragulator复合物成员(p14、p18和MP1)间的相互作用。这描绘了一幅新图画, 即p62-Rag复合物-mTORC1三者所组成复合物在转导氨基酸信号过程中发挥关键作用(图2)。随即, 他们又在氨基酸刺激下的mTORC1定位实验中, 进一步证实了p62也在mTORC1转位到溶酶体表面含有其激活因子区域过程中发挥重要功能。在p62基因缺失的细胞内, mTORC1在氨基酸刺激下仍呈散在分布, 而转染表达p62后恢复其转位过程。值得注意的是, 如果在细胞内稳定表达永久呈活性状态的RagB^{GTP}突变体也能够恢复mTORC1的转位与激活过程, 显示了p62可能作为Rag复合物上游的调控因子参与整个过程。

目前, 普遍认为多种癌症发生与mTORC1通路

的失调紧密相关, 那么癌细胞中出现与mTORC1通路相关的氨基酸信号转导过程的失调则很有可能是其能够在营养匮乏的环境中仍保持持续生长和分裂的原因。Duran等^[28]的研究成果则支持了这一观点。其实验结果显示, 在前列腺癌细胞系中下调p62的表达量可以抑制其增殖和转化, 以及在裸鼠体内形成肿瘤, 而过量表达RagB^{GTP}或mTORC1激活因子Rheb则可以部分解除该抑制。该结果一方面支持了mTORC1通路失调, 尤其是营养因子信号感知和转导过程失调, 是癌症发生重要的诱因之一; 另一方面也肯定了p62在mTORC1通路氨基酸信号转导过程中发挥的不可或缺的作用。

3 总结与展望

协调好细胞内的氨基酸水平与细胞的生长过程, 是mTORC1核心的任务之一。近年来, 多项研究

成果均显示, 氨基酸信号调控mTORC1的过程可能独立于目前已深入研究的PI3K-AKT-TSC-mTORC1这一通路。在多种被提出可能参与该过程的因子中, Rag GTPase是大家一致公认的, 并且直接参与该过程的重要因子。上述几项研究成果均显示, Rag通过直接与mTORC1中raptor相互作用, 介导mTORC1在氨基酸刺激下转位至细胞内特定区室而受激活。其中, 氨基酸信号被认为是通过调节Rag异二聚体复合物所携带的鸟苷状态而影响Rag-mTORC1相互作用, 来间接影响转位激活过程。

溶酶体是细胞内主要的蛋白质降解以及氨基酸回收的场所^[29], 这恰恰与mTORC1定位至其表面而受氨基酸信号调控的过程相吻合。虽然由于技术的原因, 还未证实内源Rheb也分布于同样的位置, 并且某一时间细胞内仅有一部分的Rheb可能分布在上述区域, 但研究人员猜测, 在某个时间下, Rheb一定在溶酶体表面或其他未发现的细胞内区室与mTORC1相遇并激活之^[25]。

上述研究和提出的模型为我们认识氨基酸调控mTORC1过程提供了很好的思路, 然而随着研究的不断深入, 更多关键的问题有待解决。Rag GTPase所携带鸟苷的状态究竟是如何受氨基酸调控的? 酵母中进行的遗传学研究给了我们一点提示: Binda等^[30]发现过量表达Vam6——属于同型融合与液泡蛋白分拣(homotypic fusion and vacuole protein sorting, HOPS/class C-Vps)复合物的一种成员, 能解除Gtr1^{GDP}突变体造成的缺陷, 且生化实验进一步证实其能够作为Gtr1的鸟苷交换因子(GEFs)。但与在哺乳动物细胞中结果不同的是, 无亮氨酸环境并不影响酵母中TORC1、Ego1和Vam6的定位, 显示出氨基酸信号在酵母细胞可能采取与哺乳动物细胞中不同的分子机制来激活TORC1。那么Vam6在哺乳动物细胞中的同源蛋白是否也作为Rag的鸟苷交换因子存在呢^[31]? 当Sabatini和Diaz-Meco两组的研究成果放在一起, 我们又不得不思考p62-Rag复合物与Ragulator-Rag复合物的关系是什么? 为什么两种完全不同的复合物却采取类似机制促进同一过程? 会不会两种复合物事实上有未检测到的弱相互作用^[32]?

而目前, 有关哺乳动物细胞如何感知细胞内氨基酸水平, 并如何传递到上述各种因子之上的分子机制的研究仍在如火如荼地进行中, 这将最终帮助

我们全面地认识氨基酸等营养因子信号对mTORC1通路的调控机制。

参考文献 (References)

- 1 Loewith R, Jacinto E, Wullschlegler S, Lorberg A, Crespo JL, Bonenfant D, *et al.* Two TOR complexes, only one of which is rapamycin sensitive, have distinct roles in cell growth control. *Mol Cell* 2002; 10(3): 457-68.
- 2 Kaeberlein M, Powers RW 3rd, Steffen KK, Westman EA, Hu D, Dang N, *et al.* Regulation of yeast replicative life span by TOR and Sch9 in response to nutrients. *Science* 2005; 310(5751): 1193-6.
- 3 Kapahi P, Zid BM, Harper T, Koslover D, Sapin V, Benzer S. Regulation of lifespan in *Drosophila* by modulation of genes in the TOR signaling pathway. *Curr Biol* 2004; 14(10): 885-90.
- 4 Vellai T, Takacs-Vellai K, Zhang Y, Kovacs AL, Orosz L, Muller F. Genetics: Influence of TOR kinase on lifespan in *C. elegans*. *Nature* 2003; 426(6967): 620.
- 5 Harrison DE, Strong R, Sharp ZD, Nelson JF, Astle CM, Flurkey K, *et al.* Rapamycin fed late in life extends lifespan in genetically heterogeneous mice. *Nature* 2009; 460(7253): 392-5.
- 6 Hara K, Maruki Y, Long X, Yoshino K, Oshiro N, Hidayat S, *et al.* Raptor, a binding partner of target of rapamycin (TOR), mediates TOR action. *Cell* 2002; 110(2): 177-89.
- 7 Yonezawa K, Tokunaga C, Oshiro N, Yoshino K. Raptor, a binding partner of target of rapamycin. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 313(2): 437-41.
- 8 Kim DH, Sarbassov DD, Ali SM, King JE, Latek RR, Erdjument-Bromage H, *et al.* mTOR interacts with raptor to form a nutrient-sensitive complex that signals to the cell growth machinery. *Cell* 2002; 110(2): 163-75.
- 9 Nojima H, Tokunaga C, Eguchi S, Oshiro N, Hidayat S, Yoshino K, *et al.* The mammalian target of rapamycin (mTOR) partner, raptor, binds the mTOR substrates p70 S6 kinase and 4E-BP1 through their TOR signaling (TOS) motif. *J Biol Chem* 2003; 278(18): 15461-4.
- 10 Kim DH, Sarbassov DD, Ali SM, Latek RR, Guntur KV, Erdjument-Bromage H, *et al.* GbetaL, a positive regulator of the rapamycin-sensitive pathway required for the nutrient-sensitive interaction between raptor and mTOR. *Mol Cell* 2003; 11(4): 895-904.
- 11 Sancak Y, Thoreen CC, Peterson TR, Lindquist RA, Kang SA, Spooner E, *et al.* PRAS40 is an insulin-regulated inhibitor of the mTORC1 protein kinase. *Mol Cell* 2007; 25(6): 903-15.
- 12 Peterson TR, Laplante M, Thoreen CC, Sancak Y, Kang SA, Kuehl WM, *et al.* DEPTOR is an mTOR inhibitor frequently overexpressed in multiple myeloma cells and required for their survival. *Cell* 2009; 137(5): 873-86.
- 13 Zoncu R, Efeyan A, Sabatini DM. mTOR: From growth signal integration to cancer, diabetes and ageing. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2011; 12(1): 21-35.
- 14 Saucedo LJ, Gao X, Chiarelli DA, Li L, Pan D, Edgar BA. Rheb promotes cell growth as a component of the insulin/TOR signaling network. *Nat Cell Biol* 2003; 5(6): 566-71.
- 15 Inoki K, Li Y, Xu T, Guan KL. Rheb GTPase is a direct target of TSC2 GAP activity and regulates mTOR signaling. *Genes Dev* 2003; 17(15): 1829-34.

- 16 Inoki K, Li Y, Zhu T, Wu J, Guan KL. TSC2 is phosphorylated and inhibited by Akt and suppresses mTOR signalling. *Nat Cell Biol* 2002; 4(9): 648-57.
- 17 Hara K, Yonezawa K, Weng QP, Kozlowski MT, Belham C, Avruch J. Amino acid sufficiency and mTOR regulate p70 S6 kinase and eIF-4E BP1 through a common effector mechanism. *J Biol Chem* 1998; 273(23): 14484-94.
- 18 Smith EM, Finn SG, Tee AR, Browne GJ, Proud CG. The tuberous sclerosis protein TSC2 is not required for the regulation of the mammalian target of rapamycin by amino acids and certain cellular stresses. *J Biol Chem* 2005; 280(19): 18717-27.
- 19 Roccio M, Bos JL, Zwartkruis FJ. Regulation of the small GTPase Rheb by amino acids. *Oncogene* 2006; 25(5): 657-64.
- 20 Schurmann A, Brauers A, Massmann S, Becker W, Joost HG. Cloning of a novel family of mammalian GTP-binding proteins (RagA, RagBs, RagB1) with remote similarity to the Ras-related GTPases. *J Biol Chem* 1995; 270(48): 28982-8.
- 21 Sekiguchi T, Hirose E, Nakashima N, Ii M, Nishimoto T. Novel G proteins, Rag C and Rag D, interact with GTP-binding proteins, Rag A and Rag B. *J Biol Chem* 2001; 276(10): 7246-57.
- 22 Kim E, Goraksha-Hicks P, Li L, Neufeld TP, Guan KL. Regulation of TORC1 by Rag GTPases in nutrient response. *Nat Cell Biol* 2008; 10(8): 935-45.
- 23 Sancak Y, Peterson TR, Shaul YD, Lindquist RA, Thoreen CC, Bar-Peled L, *et al.* The Rag GTPases bind raptor and mediate amino acid signaling to mTORC1. *Science* 2008; 320(5882): 1496-501.
- 24 Gong R, Li L, Liu Y, Wang P, Yang H, Wang L, *et al.* Crystal structure of the Gtr1p-Gtr2p complex reveals new insights into the amino acid-induced TORC1 activation. *Genes Dev* 2011; 25(16): 1668-73.
- 25 Sancak Y, Bar-Peled L, Zoncu R, Markhard AL, Nada S, Sabatini DM. Ragulator-Rag complex targets mTORC1 to the lysosomal surface and is necessary for its activation by amino acids. *Cell* 2010; 141(2): 290-303.
- 26 Moscat J, Diaz-Meco MT, Albert A, Campuzano S. Cell signaling and function organized by PB1 domain interactions. *Mol Cell* 2006; 23(5): 631-40.
- 27 Moscat J, Diaz-Meco MT. p62 at the crossroads of autophagy, apoptosis, and cancer. *Cell* 2009; 137(6): 1001-4.
- 28 Duran A, Amanchy R, Linares JF, Joshi J, Abu-Baker S, Porollo A, *et al.* p62 is a key regulator of nutrient sensing in the mTORC1 pathway. *Mol Cell* 2011; 44(1): 134-46.
- 29 Li SC, Kane PM. The yeast lysosome-like vacuole: Endpoint and crossroads. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1793(4): 650-63.
- 30 Binda M, Peli-Gulli MP, Bonfils G, Panchaud N, Urban J, Sturgill TW, *et al.* The Vam6 GEF controls TORC1 by activating the EGO complex. *Mol Cell* 2009; 35(5): 563-73.
- 31 Kim J, Guan KL. Amino acid signaling in TOR activation. *Annu Rev Biochem* 2011; 80: 1001-32.
- 32 Proud CG. A new link in the chain from amino acids to mTORC1 activation. *Mol Cell* 2011; 44(1): 7-8.
- 33 Guertin DA, Sabatini DM. Defining the role of mTOR in cancer. *Cancer Cell* 2007; 12(1): 9-22.

Advances in the Mechanisms of Amino Acid Signaling in mTORC1 Pathway

Gao Yuan, Wu Geng*

(State Key Laboratory of Microbial Metabolism, School of Life Sciences and Biotechnology,
Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

Abstract The target of rapamycin, TOR, serves as a central hub for regulation of cell growth and metabolism. It forms two distinct structural complexes, TORC1 and TORC2, which play different roles in cells. TORC1 senses a wide range of cellular signals, from amino acids, growth factors, energy status to hypoxia, and regulates cell growth and proliferation via controlling protein synthesis. Among those signals, amino acids can not only activate TORC1 potently, but also serves as prerequisite for activation of TORC1 by other stimuli. Research took in the past decade had provided us much insight into the mechanism of how growth factors and energy status control TORC1 activity, but how cellular amino acids regulate the pathway remained mysterious until publication of several papers recently. In this review, we are going to present and summarize the results and conclusions from recent works on amino acid signaling in mTORC1 pathway, with the expectation of figuring out directions for future study.

Key words mTORC1; amino acid signaling; Rag GTPase; Ragulator; p62

Received: April 18, 2012 Accepted: May 9, 2012

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30900225, No.30821005, No.90919021)

*Corresponding author. Tel: 86-21-34205914, E-mail: geng.wu@sjtu.edu.cn